

消毒剂 Neopredisan135-1 对大熊猫西氏贝蛔虫卵的体外杀灭效果观察

熊浪¹, 张浩杰¹, 王承东², 李才武², 兰景超³, 罗婳³, 刘礼³, 杨光友^{1*}

(1. 四川农业大学动物医学院, 四川成都 611130; 2. 中国保护大熊猫研究中心, 四川卧龙 625006;

3. 成都大熊猫繁育研究基地, 四川成都 610081)

摘要:西氏贝蛔虫是危害圈养大熊猫的主要寄生虫, 西氏贝蛔虫卵是圈养大熊猫重复感染该蛔虫的来源, 虫卵在外界环境中有着极强的生存能力。测定了消毒剂 Neopredisan135-1 对西氏贝蛔虫卵的体外杀灭效果, 为圈养大熊猫西氏贝蛔虫的防控提供参考。将分离自大熊猫新鲜粪样中的西氏贝蛔虫卵通过消毒剂 Neopredisan135-1 不同浓度(2.5、5、10、20、40 mg/mL)与不同作用时间(30、60、90、120 min)处理后, 将处理后的蛔虫卵和未用消毒剂处理的平行对照组一并置于 25 mg/mL 的重铬酸钾溶液 28 °C 温箱内, 培养后在显微镜下观察虫卵的发育与死亡情况。结果发现, 2.5 mg/mL 浓度组处理虫卵 30、60、90 min, 其虫卵杀灭率均在 50% 左右; 5 mg/mL 浓度组处理虫卵 30 min 和 60 min, 其虫卵杀灭率在 74.71%~87.64%; 而在 10、20、40 mg/mL 浓度下处理 30 min 其杀灭率均达到 90% 以上, 10、20、40 mg/mL 的 Neopredisan135-1 对西氏贝蛔虫卵均具有较强的杀灭作用。考虑到成本、杀灭效果以及环境等因素, 消毒剂 Neopredisan135-1 的推荐使用浓度为 20 mg/mL。

关键词:大熊猫; 西氏贝蛔虫; 虫卵; Neopredisan135-1

中图分类号: S859.7991; S852.731

文献标识码: B

文章编号: 1007-5038(2019)01-0125-06

大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)是中国特有的濒危、珍稀野生动物, 野生大熊猫主要分布在中国的秦岭、岷山、邛崃等山系。根据中国第四次大熊猫调查报告, 中国野生大熊猫种群数量达到 1 864 只^[1], 截止 2016 年 11 月, 全球圈养大熊猫种群数量达到 471 只^[2]。

西氏贝蛔虫(*Baylisascaris schroederi*)是圈养大熊猫体内最为常见、危害最严重的一种寄生虫^[3-7], 圈养大熊猫蛔虫感染率可达 25.71%(54/210)^[8]。大熊猫经口食入感染性虫卵而引起感染, 感染蛔虫后, 主要表现为营养不良性消瘦、贫血、厌食、腹泻、腹痛或肠道功能紊乱等, 虫体大量寄生时还可出现肠梗阻或肠破裂, 异位寄生时可致胆管阻塞、肝坏死、胰腺出血性坏死和肺炎等, 可严重威胁大熊猫的生命^[9]。

西氏贝蛔虫的产卵量大, 且虫卵在环境中有着极强的生存能力, 常引起大熊猫的重复感染^[10]。目前对西氏贝蛔虫卵有杀灭作用的消毒剂尚未见报道。筛选对西氏贝蛔虫卵具有体外杀灭作用的消毒剂, 可有助于减轻西氏贝蛔虫对大熊猫的重复感染。为

此, 本试验测定了消毒剂 Neopredisan135-1 不同浓度及处理时间对西氏贝蛔虫卵的体外杀灭效果, 为圈养大熊猫蛔虫病的防控提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 粪样 感染西氏贝蛔虫的大熊猫排出 1 d~3 d 的新鲜粪样, 成都大熊猫繁育研究基地提供。

1.1.2 消毒剂 Neopredisan135-1 消毒剂, 购自德国 Menno Chemie-Vertrieb GmbH 公司。

1.1.3 试剂 重铬酸钾溶液、100 mg/L 次氯酸钠溶液、饱和硫酸镁溶液、伊红-美蓝-硼砂染色剂, 四川农业大学动物医学院动物寄生虫病研究中心提供。

1.1.4 仪器 NIKON ECLIPSE 50i 显微镜, Nikon 公司产品; DNP-9052 型电热恒温培养箱, 上海三发科学仪器有限公司产品; Thermo Scientific Sorvall ST16R 通用台式离心机, Thermo Electron LED GMBH 公司产品。

1.2 方 法

1.2.1 虫卵的收集与处理 采用自然沉淀法与饱

收稿日期: 2018-02-05

基金项目: 成都大熊猫繁育研究基金会项目(CPF2014-17); 卧龙大熊猫俱乐部资助项目(WPC-20(16-18)-07)

作者简介: 熊浪(1992-), 男, 贵州遵义人, 硕士研究生, 主要从事动物寄生虫病学研究。* 通讯作者

和硫酸镁离心漂浮法进行蛔虫卵收集,收集的虫卵置4℃冰箱内备用。进行试验时,用麦克马斯特式计数法进行虫卵计数^[9,11]。通过对消毒剂说明书以及Mielke D等^[12]进行的实验方法作为参考,将消毒剂稀释为2.5、5、10、20、40 mg/mL共5个浓度组,每个浓度组分别对虫卵处理30、60、90、120 min。每个浓度或时间处理组设定3个平行试验组。最后取3个平行组死亡率的平均值作为每个浓度或处理时间组最终的死亡率。同时,设定3个不用消毒剂处理的平行对照组,每个组大约100个蛔虫卵。按上述消毒剂浓度组分别加入虫卵作用相应的时间后,将混合液放入离心管中以4 500 r/min离心5 min,弃上清,用蒸馏水洗涤,再离心,反复4次。将作用过后的虫卵中加入25 mg/mL的重铬酸钾溶液在28℃恒温培养。每3 d定期摇匀,防止虫卵缺氧死亡。对照组虫卵中加25 mg/mL的重铬酸钾溶液在与试验组相同条件下培养。

1.2.2 虫卵的镜检观察与统计 将西氏贝蛔虫卵培养20 d以后分批次观察虫卵形态。将培养在25 mg/mL的重铬酸钾溶液中的蛔虫卵以4 000 r/min离心去除大量重铬酸钾,剩余的蛔虫卵液按10:1的比例加入100 mg/mL的次氯酸钠溶液,作用2 min~5 min,充分振荡,再用蒸馏水反复洗涤,用4 000 r/min离心2次后,再用4 500 r/min离心2次,即可脱掉蛋白膜也可去除次氯酸钠溶液防止其杀死虫卵。虫卵经伊红-美蓝-硼砂染色后在显微镜下鉴别虫卵死活及观察虫卵形态^[13]。

经过伊红-美蓝-硼砂染色后,虫卵内容物蓝色者为死卵,颜色较浅或者不着色者为活卵。虫卵杀灭率的计算公式: $K = 100(N_1 - N_2)/N_1$ [式中:K:蛔虫卵的杀灭率(%);N₁:镜检总卵数;N₂:培养后镜检死卵数]^[14]。

1.2.3 数据处理 所有数据采用SPSS 20.0和Excel 2013统计软件进行处理,数据采用单因素方差分析、可重复双因素方差分析、多重比较进行各組间差异性显著检验,数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 Neopredisan135-1 消毒剂的杀灭效果

所有浓度时间梯度组与对照组差异极显著($P < 0.01$)。2.5 mg/mL浓度组处理虫卵30、60、90 min,其虫卵杀灭效率均在50%左右,差异不显著($P > 0.05$),120 min与其余时间段杀灭效率差异显著($P < 0.05$)。5.0 mg/mL浓度组处理虫卵30 min

和120 min,其虫卵杀灭效率为74.71%和98.37%,差异极显著($P < 0.01$),而10、20、40 mg/mL浓度组处理虫卵的各时间段,其虫卵杀灭效率均在90%以上,差异不显著($P > 0.05$)。30 min处理组10、20、40 mg/mL浓度的虫卵杀灭效率与2.5 mg/mL和5.0 mg/mL浓度的虫卵杀灭效率差异显著($P < 0.05$)。60 min处理组2.5 mg/mL浓度的虫卵杀灭效率与5.0、10、20、40 mg/mL浓度的虫卵杀灭效率差异极显著($P < 0.01$)。90 min处理组2.5 mg/mL浓度的虫卵杀灭效率与2.5、5、10、20、40 mg/mL浓度的虫卵杀灭效率差异极显著($P < 0.01$)。120 min处理组各浓度组的虫卵杀灭效率差异不显著($P > 0.05$)。2.5 mg/mL浓度组处理30、60、90 min与其他浓度时间梯度组的虫卵杀灭效率差异极显著($P < 0.01$)。5 mg/mL浓度组处理30 min与60 min、90 min的虫卵杀灭效率差异不显著($P > 0.05$),与其他浓度时间梯度组的虫卵杀灭效率差异极显著($P < 0.01$)。消毒剂的效力与浓度和作用时间密切相关,消毒剂的浓度越高,效果越好,但浓度达到一定程度后效果就不再增强。当消毒剂浓度大于10 mg/mL时,不同时间、不同浓度消毒剂对西氏贝蛔虫卵的杀灭效果差异就不再显著。消毒剂效力的改变还会受到其他条件的影响。如温度、湿度、pH、有效成分挥发情况以及蛔虫卵自身对消毒剂的抵抗力等因素^[15]。因此,消毒剂在一定浓度下,作用一定时间后效力就不再增加。当浓度小于10 mg/mL时,随着作用时间的延长,杀灭效果增加,当浓度大于10 mg/mL时,浓度达到临界值,杀灭效果就不再随时间延长而增强。因此,在使用消毒剂时,选择最佳浓度对环境进行消毒处理至关重要。表1和表2结果表明,Neopredisan135-1消毒剂在浓度为10 mg/mL以上时,对西氏贝蛔虫卵具有较好的体外杀灭效果。

2.2 消毒剂作用后虫卵的形态变化

经过次氯酸钠溶液和染色处理后,在高倍镜下,可以清晰地观察到脱落的外层呈锯齿状的蛋白膜以及透明的几丁质膜层。死亡的蛔虫卵,内部出现蓝色或者深蓝色的卵黄颗粒(图1a~f)。而活虫卵可观察到出现桑椹期、蝌蚪期、I期幼虫、II期幼虫等不同发育时期的形态(图1g~j)。

3 讨论

消毒剂主要用于杀灭圈养动物生活的外环境中各种病原生物,防止动物发生重复感染,环境消毒是防止动物疫病的重要技术措施。按其化学结构消毒

表1 不同浓度和不同处理时间的 Neopredisan135-1 对大熊猫蛔虫卵的杀灭效果记录

Table 1 The records of killing effect of Neopredisan135-1 on *Baylisascaris schroederi* eggs under different concentrations and time

处理时间/min Treating time	浓度/(mg·mL ⁻¹) Concentration	虫卵杀灭率/% Killing rate of eggs			
		1组 Group 1	2组 Group 2	3组 Group 3	平均值 Mean
30	2.5	29.09(16/55)	58.49(31/53)	66.30(61/92)	51.29
	5.0	76.72(89/116)	65.78(50/76)	81.60(71/87)	74.70
	10	91.07(51/56)	97.59(81/83)	98.07(51/52)	95.57
	20	87.17(102/117)	94.52(69/73)	90.90(50/55)	90.86
	40	95.91(47/49)	98.07(51/52)	97.95(48/49)	97.31
60	2.5	50.70(36/71)	55.78(53/95)	63.44(59/93)	56.64
	5.0	81.81(90/110)	86.77(105/121)	94.31(83/88)	87.63
	10	96.00(96/100)	97.08(100/103)	95.06(77/81)	96.04
	20	96.29(52/54)	94.54(52/55)	94.59(35/37)	95.14
	40	90.00(27/30)	95.92(47/49)	93.94(31/33)	93.28
90	2.5	51.00(51/100)	58.22(46/79)	48.19(40/83)	52.47
	5.0	87.83(65/74)	92.59(50/54)	91.11(41/45)	90.51
	10	96.36(106/110)	96.07(49/51)	91.93(57/62)	94.78
	20	96.82(61/63)	93.33(42/45)	95.74(45/47)	95.29
	40	95.38(62/65)	98.30(58/59)	95.92(47/49)	96.53
120	2.5	94.39(101/107)	92.23(95/103)	93.54(145/155)	93.38
	5.0	98.03(100/102)	98.00(98/100)	99.09(110/111)	98.37
	10	91.93(57/62)	91.74(100/109)	97.87(46/47)	93.84
	20	96.49(55/57)	96.15(75/78)	98.07(102/104)	96.90
	40	94.34(50/53)	94.83(55/58)	96.15(50/52)	95.10
对照组 Control group		0(179/0)			0(179/0)

表2 不同浓度和不同处理时间的 Neopredisan135-1 对大熊猫蛔虫卵的杀灭效果统计

Table 2 The statistics of killing effect of Neopredisan135-1 on *Baylisascaris schroederi* eggs with different concentrations and time

浓度/(mg·mL ⁻¹) Concentration	卵平均死亡率/% Average mortality of eggs			
	30 min	60 min	90 min	120 min
2.5	51.29±11.32 ^{cd}	56.64±3.70 ^{cd}	52.47±2.98 ^{cd}	93.38±0.62 ^{aA}
5.0	74.70±4.67 ^{bBC}	87.63±3.63 ^{abAB}	90.51±1.40 ^{abAB}	98.37±0.35 ^{aA}
10	95.57±2.25 ^{aA}	96.04±0.58 ^{aA}	94.78±1.43 ^{aA}	93.84±2.01 ^{aA}
20	90.87±2.12 ^{aAB}	95.14±0.57 ^{aA}	95.29±1.03 ^{aA}	96.90±0.59 ^{aA}
40	97.31±0.70 ^{aA}	93.28±1.73 ^{aA}	96.53±0.89 ^{aA}	95.10±0.54 ^{aA}
对照组 Control group	0 ^{dE}	0 ^{dE}	0 ^{dE}	0 ^{dE}

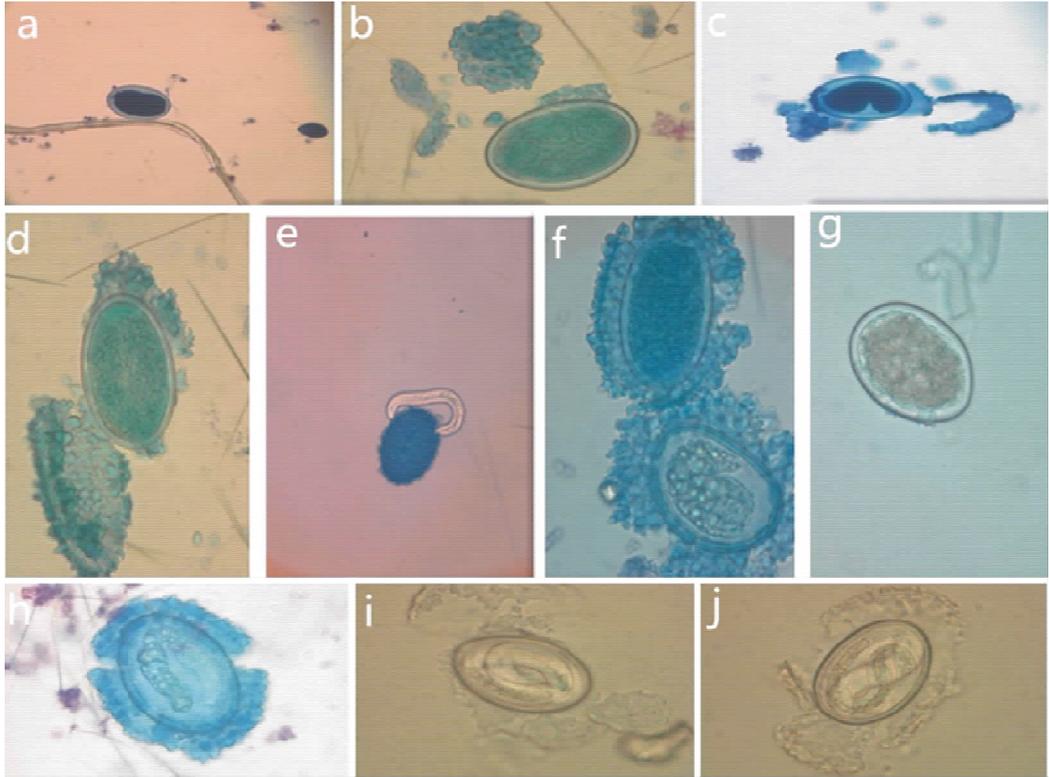
注:角标相同字母表示差异不显著($P>0.05$);不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: Values with same letters indicate no significant difference in the same column($P>0.05$), with different small letters mean significant difference($P<0.05$), and with different capital letters mean extremely significant difference($P<0.01$).

剂可分为以下8类:酚类、醇类、醛类、含氯消毒剂、含碘消毒剂、过氧化物消毒剂、季铵盐类消毒剂和胍类消毒剂等^[15]。

蠕虫类(包括吸虫、绦虫和线虫)寄生虫的虫卵有2层~3层很厚的卵壳,原虫类寄生虫的包囊或卵囊其卵壁也较厚。因此,大多数的消毒剂对寄生虫的虫卵或卵囊杀灭效果很差。据报道,当有效氯浓度为3 mg/L,常温下作用120 min,对水中微小

隐孢子虫(*Cryptosporidium parvum*)卵囊的平均灭活率仅为37.43%^[16];50 mg/mL的次氯酸钠对隐孢子虫卵囊处理1 h,对卵囊的活力影响很小或无影响^[17]。2 mL/L的百毒消(有效成分为双链季铵盐结合碘)、0.1 mL/L的七消毒液(有效成分为啉甲氯铵)、20 g/L的烧碱以及自配的一种消毒剂(10 mg/mL的酚剂+1 mg/mL的表面活性剂)对鸡球虫卵囊处理10、20、60 min,其杀灭率低于10%^[18]。



a. 去膜死亡虫卵(20×); b. 去膜死亡虫卵(100×); c. 去膜死亡虫卵(囊胚期)(40×); d. 去膜死亡虫卵(100×); e. 未去膜活虫卵(二期幼虫)(20×); f. 去膜死亡虫卵(上)、活虫卵(囊胚期)(下)(100×); g. 去膜活虫卵(桑椹期)(100×); h. 去膜活虫卵(蝌蚪期)(100×); i. 去膜活虫卵(一期幼虫)(100×); j. 去膜活虫卵(二期幼虫)(100×)

a. The dead egg without cuter membrane(20×); b. The dead egg without cuter membrane(100×); c. The dead egg without cuter membrane (Blastula stage)(40×); d. The dead egg without cuter membrane(100×); e. Live egg with cuter membrane(Second-stage larva)(20×); f. The dead egg without cuter membrane(Upper), live egg (Blastula stage) (Lower) (100×); g. Live egg without cuter membrane (Morula stage) (100×); h. Live egg without cuter membrane(Tadpole stage)(100×); i. Live egg without cuter membrane(First-stage larvae)(100×); j. Live egg without cuter membrane(Second-stage larvae)(100×)

图1 消毒剂作用后蛔虫卵的形态变化

Fig. 1 The morphological changes of *Baylisascaris schroederi* eggs after treatment with Neopredisan135-1

2.5 mg/mL的复合酚消毒剂在室内对马肠道线虫卵处理 30 min 后,其杀灭效果为 33.33%,而在室外处理 30 min 后,其虫卵杀灭率也仅为 58.70%^[19]。2.0、1.4、1.0 mg/mL 三个浓度的新洁尔灭(化学名苯扎溴铵)对蛲虫卵作用 4 h,死亡率为 0.70%~2.50%,3 种浓度分别作用 12 h 后,虫卵死亡率为 7.90%~46%^[20]。

100 mg/mL 的漂白粉对猪蛔虫卵处理 180 min 杀灭率仅为 18.75%±6.20%^[21]。3.3 mL/L 菌毒灭(复合酚)对猪蛔虫卵处理 5 min 后,其杀灭率为 70%^[22]。猪蛔虫卵在浓盐酸中浸泡 20 min 后仍然能够胚胎化^[23]。含氯成分的消毒威(20 g/L)对犬蛔虫卵处理 60 min 后,杀灭率为 50.00%。醛类消毒剂新菌敌(20 mg/L)对犬蛔虫卵处理 60 min 后杀灭率为 66.67%^[24]。2.0 mg/L 浓度的百消净(季铵类消毒剂)对人蛔虫卵作用 30 min 后无明显的杀灭效果^[25]。

Neopredisan135-1 消毒剂是一种氯和酚类联合制作的复方消毒剂,对大多数细菌、病毒、寄生虫虫卵或卵囊均具有良好的杀灭效果。文献报道该产品对球虫卵囊、线虫虫卵和隐孢子虫卵囊等均具有极好的杀灭效果^[26-29],而在 30 mg/L 的浓度下作用 15 min 对猪蛔虫卵的杀灭率可达到 100%^[12]。根据德国兽医协会推荐,对线虫类推荐使用浓度为 20 mg/mL,使用后 2 h 具有良好效果;对球虫类推荐使用浓度为 30 mg/mL,使用后 4 h 具有良好效果;对隐孢子虫类推荐使用浓度为 10 mg/mL,使用后 1 h 具有良好效果;对梭菌类推荐使用浓度为 40 mg/mL,使用后 1 h 具有良好效果;对细菌或病毒推荐使用浓度为 20 mg/mL,使用后 2 h 具有良好效果。一般来说,消毒剂的效力与浓度和作用时间密切相关,消毒剂的浓度越高,效果越好,但达到一定浓度后效果就不再增强。消毒剂效力的改变还会受到其他条件的影响,如温度、湿度、pH 以及有效

成分挥发等因素。因此,消毒剂作用一定时间后效力就不再增加^[30]。

西氏贝蛔虫卵在其发育为感染性虫卵的整个过程中经过原胚期、二球期、四球期、八球期、桑椹期、囊胚期、蝌蚪期、幼虫期(分 1 期幼虫期和 2 期幼虫感染期)^[31-32],在本试验中对照组与消毒剂处理组可以观察到处于各发育期的死卵与活卵的形态。10、20、40 mg/mL 浓度的 Neopredisan135-1 处理西氏贝蛔虫卵 30 min,其虫卵杀灭效率均在 90%以上,但未达到 100%。与猪蛔虫卵一样西氏贝蛔虫卵呈黄色至黄褐色,椭圆形或长椭圆形,卵壳分为 3 层,但其最外层(蛋白质外壳)较厚达 4.86 μm ~6.75 μm ,布满长 5.67 μm ~10.80 μm 的棘状突起,这是西氏贝蛔虫卵与其他蛔虫卵卵壳的主要区别特征^[9]。可能由于该虫卵的卵壳较厚其抵抗消毒剂渗透的能力更强,导致 Neopredisan135-1 消毒剂对西氏贝蛔虫卵的杀灭效果与猪蛔虫卵存在差异。考虑到圈养大熊猫室外运动场的地面湿度较大,因此建议在使用 Neopredisan135-1 消毒剂杀灭环境中西氏贝蛔虫卵时,推荐使用浓度为 20 mg/mL。由于 Neopredisan135-1 消毒剂是一种含氯和酚类的复方消毒剂,氯和酚可能会对动物产生一定的刺激性,在对大熊猫的兽舍和运动环境进行消毒时,应考虑到消毒剂在消毒时可能会对动物造成一定的影响^[28],因此,应对大熊猫进行隔离,同时还应该考虑大熊猫的活动范围、饮食习性、交配产仔等情况,避免消毒剂对大熊猫造成不良影响。

参考文献:

- [1] 耿国彪. 1864 只我国野生大熊猫保护取得新成效——全国第四次大熊猫调查结果公布[J]. 绿色中国, 2015(4):10-12.
- [2] 刘倩玮. 全球圈养大熊猫种群数量 471 只[J]. 绿色中国, 2016(23):7.
- [3] 冯文和, 胡铁卿, 毕凤洲. 大熊猫濒危原因剖析[J]. 动物世界, 1985, 2(1):1-7.
- [4] 邬捷, 胡洪光. 大熊猫蛔虫病[J]. 野生动物学报, 1985(5):42-43.
- [5] 张华声, 张再历. 危及大熊猫生存的蛔虫病[J]. 野生动物学报, 1988(2):23-24.
- [6] 杨光友. 大熊猫寄生虫与寄生虫病研究进展[J]. 中国兽医学报, 1998, 18(2):206-208.
- [7] Zhang J S, Daszak P, Huang H L, et al. Parasite threat to panda conservation[J]. Ecohealth, 2008, 5(1):6-9.
- [8] 李德生, 何燕, 吴虹林, 等. 圈养大熊猫蛔虫病感染情况调查[J]. 经济动物学报, 2014, 18(4):214-216.
- [9] 杨光友, 张志和. 野生动物寄生虫病学[M]. 北京: 科学出版社, 2013
- [10] 张华, 张再历. 大熊猫蛔虫病的诊治[J]. 甘肃畜牧兽医, 2002, 32(6):25-26.
- [11] Sloss M W, Kemp R L. Veterinary clinical parasitology[M]. Iowa US: Iowa State University Press, 1978:310.
- [12] Mielke D, Hiepe T. The effectiveness of different disinfectants based on pchloromcresol against *Ascaris suum* eggs under laboratory conditions[J]. Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochensh, 1998, 111(7-8):291.
- [13] 周炳福, 李凤玲, 梁君谋. 美蓝、伊红、硼砂染色法鉴别蛔虫卵死活的实验观察[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1985, 3(1):48-49.
- [14] 胡涛, 李芬, 谢汝婷, 等. 3 种消毒药对猪蛔虫卵的杀灭作用试验[J]. 中国兽医杂志, 2013, 49(11):32-35.
- [15] 范红艳. 化学消毒剂[J]. 化学教育, 2015, 36(20):1-5.
- [16] 王尚, 王华然, 王福玉, 等. 含氯消毒剂灭活水中微小隐孢子虫卵囊的效果评价[J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(4):411-414.
- [17] 陈兆国, 史天卫. 消毒剂对贝氏隐孢子虫卵囊活力影响的初步研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 1994(6):2.
- [18] 陈汉忠, 王忠田, 苏勇, 等. 消毒剂抑杀鸡球虫卵囊的初步试验[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(10):37-39.
- [19] 郭媛华, 白音巴图, 刘珍莲. 农牧宝(SM 多能强力消毒液)杀灭马肠道线虫卵效力试验[J]. 兽医导刊, 1986(4):14-18.
- [20] 何竞智, 丁步兰, 郭润秀, 等. 新洁尔灭溶液对蛲虫卵杀灭作用的实验研究[J]. 广州医学院学报, 1985(4):15.
- [21] Ondrašovič M, Juriš P, Papajová I, et al. Lethal effect of selected disinfectants on *Ascaris suum* eggs[J]. Helminthologia, 2002, 39(4):205-209.
- [22] 胡涛, 李芬, 谢汝婷, 等. 3 种消毒药对猪蛔虫卵的杀灭作用试验[J]. 中国兽医杂志, 2013, 49(11):32-35.
- [23] 袁森泉. 清洁不能彻底解决蛔虫问题[J]. 国外畜牧学:猪与禽, 1997(6):57.
- [24] 唐得淋, 王先坤, 韦冬妹, 等. 四种消毒药对犬蛔虫卵的杀灭作用试验[J]. 湖南畜牧兽医, 2016(1):40-43.
- [25] 吴钦华, 胡银安, 许洪波, 等. 钩蚋及蛔虫卵对三种药物的敏感性实验观察[J]. 公共卫生与预防医学, 2002, 13(6):58.
- [26] Dausgschies A, Bise R, Marx J, et al. Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts[J]. Vet Parasitol, 2002, 103(4):299-308.
- [27] Joachim A, Eckert E, Petry F, et al. Comparison of viability assays for *Cryptosporidium parvum* oocysts after disinfection[J]. Vet Parasitol, 2003, 111(1):47-57.
- [28] Straberg E, Dausgschies A. Control of piglet coccidiosis by chemical disinfection with a cresol-based product (neopredisan 135-1)[J]. Parasitol Res, 2007, 101(3):599-604.
- [29] Mielke D, Hiepe T. The effectiveness of different disinfectants based on pchloromcresol against ascaris suum eggs under laboratory conditions[J]. Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift, 1998, 111(7-8):291.
- [30] 赵勇, 郭士明. 影响化学消毒剂作用的因素[J]. 动物科学与动物医学, 2000, 17(5):75-76.
- [31] 邬捷, 姜永康, 吴国群, 等. 熊猫蛔虫卵发育期的观察[J]. 中国兽医科学, 1985(10):9-11.
- [32] 邬捷, 姜永康, 何高志, 等. 熊猫蛔虫生活史的研究[J]. 中国兽医科学, 1985(6):21-23.

禽霍乱多杀性巴氏杆菌的分离鉴定

刘 杰, 王志红, 刘守川*, 习向锋, 赵坤坤, 孙 哲
(洛阳中科基因技术有限公司, 河南洛阳 471000)

摘 要: 确定某鸭场疑似禽霍乱病的病原种类, 为其临床用药提供参考。采用细菌分离技术对病原菌进行实验室分离培养, 对分离到的病原菌进行了鉴定、动物攻毒试验、药敏试验和基因分型。结果显示, 分离菌 20170549 具有多杀性巴氏杆菌典型培养特征, 菌落形态和菌体染色特征、生理生化特性, 基因测序结果均与多杀性巴氏杆菌相符; 该菌株对小鼠有强致病性; 分离株对头孢噻唑、甲砒霉素、硫酸黏菌素、阿米卡星、恩诺沙星、卡那霉素、庆大霉素、多西环素、氟苯尼考高敏; 采用 5 对分型引物对分离菌进行基因分型, 结果仅扩增到大小为 1 050 bp 的目的基因片段, 与 A 型结果相符。研究结果可为禽霍乱的防控提供参考。

关键词: 禽霍乱; 多杀性巴氏杆菌; 分离鉴定; 药敏试验; 基因分型

中图分类号: S852.612; S858.31

文献标识码: B

文章编号: 1007-5038(2019)01-0130-05

2017 年 5 月河南信阳某鸭场 17 周龄种鸭发生大规模死亡, 急性死亡成年鸭未表现明显临床症状, 剖检可见肝脏表面有大量针尖大小的灰白色坏死

点; 其余表现为呼吸困难, 口鼻流出混有泡沫的黏液, 剖检肝脏质脆、肿大, 棕红色。为了确定病原, 为临床治疗提供帮助, 无菌采集肝脏样品进行细菌分

收稿日期: 2017-12-29

作者简介: 刘 杰(1987—), 男, 山西运城人, 助理兽医师, 硕士, 主要从事动物传染病的研究工作。* 通讯作者

Killing Effect of Neopredisan135-1 Against *Baylisascaris schroederi* Eggs *in Vitro*

XIONG Lang¹, ZHANG Hao-jie¹, WANG Cheng-dong², LI Cai-wu²,
LAN Jing-chao³, LUO Li³, LIU Li³, YANG Guang-you¹

(1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan, 611130, China;

2. China Giant Panda Research Center of Conservation, Wolong, Sichuan, 625006, China;

3. Chengdu Research Base of Giant Panda Breeding, Chengdu, Sichuan, 610081, China)

Abstract: *Baylisascaris schroederi* is one of the most harmful parasites in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). Eggs of *B. schroederi* play a key role in leading to a high prevalence of the parasite among captive giant pandas due to its strong viability in the environment. In this study, the killing effect of the disinfectant Neopredisan135-1 was evaluated *in vitro* to provide a reference for the prevention and control of *B. schroederi* in captive giant pandas. Eggs of *B. schroederi* were isolated from the fresh feces of giant pandas, then treated with different concentrations of Neopredisan135-1 (0, 2.5, 5.0, 10, 20 and 40 mg/mL) along with different time (30, 60, 90 min and 120 min). The eggs in control and treatment groups were cultured with 2.5 mg/mL potassium dichromate solution at 28 °C, respectively. After culture, the development and mortality of eggs were observed under a microscope and recorded. The results showed that the killing rates of eggs were around 50% after treating with 2.5 mg/mL Neopredisan135-1 for 30 min, 60 min or 90 min, while the killing rates were 74.71%-87.64% after treating with 5 mg/mL Neopredisan135-1 for 30 min and 60 min. It was noteworthy that 10, 20 and 40 mg/mL Neopredisan135-1 could casue more than 90% killing efficiency. Our findings demonstrated that 10, 20 and 40 mg/mL Neopredisan135-1 have strong killing effect on *Baylisascaris schroederis* eggs *in vitro*. Considering cost, killing effect and environmental factors, we recommended concentration of disinfectant Neopredisan 135-1 is 20 mg/mL.

Key words: *Ailuropoda melanoleuca*; *Baylisascaris schroederi*; egg; Neopredisan135-1