

邓 亮, 苏晓倩, 贺 娜, 等. 血促性素生产用原料血液采集技术规程[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 170-172.

血促性素生产用原料血液采集技术规程

邓 亮¹, 苏晓倩¹, 贺 娜¹, 刘春环², 李竞敏², 郝国成², 韩国才^{1,3}

(1. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193; 2. 内蒙古赤峰博恩药业有限公司, 内蒙古赤峰 024000;

3. 中国农业大学马研究中心, 北京 100193)

摘要: 从血促性素孕马血液采集的场地与设备、供血马的选择与饲养管理、采血操作技术与注意事项、血液贮存与运输等方面制定血促性素生产用原料血液采集技术规程, 对提高我国血促性素原料采集效率、保障生产用母马健康福利等具有重要的指导意义。

关键词: 血促性素; 原料血液采集; 母马福利; 技术规程

中图分类号: TP391.44 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0170-03

血促性素 (serum gonadotrophin) 是从妊娠期 40~130 d 母马血清或血浆中提取的一种促性腺激素^[1-2], 是马绒毛膜促性腺激素 (equine chorionic gonadotrophin, eCG) 或孕马血清促性腺激素 (pregnant mare serum gonadotrophin, PMSG) 的商品名, 被收入《中华人民共和国兽药规范》^[3], 兼有促卵泡发育和促黄体形成的双重作用, 广泛应用于家畜同期发情、超数排卵和治疗家畜生殖性疾病及提高家畜繁殖率等方面^[4]。由于至今尚无法通过体外人工合成血促性素^[5],

因此国内外必须使用活体母马作为血促性素产品生产的来源^[6-8]。我国是血促性素生产大国, 经调查, 近年来每年约有 3000 匹妊娠母马用于原料血液采集, 浙江 (杭州、宁波)、内蒙古赤峰、江苏苏州等地制药企业对原料血液进行提纯加工制成产品, 再对外销售^[9]。然而, 至今我国对于血促性素原料血液采集的场地设备、供血马的选择与饲养、血液采集技术程序及原料贮存与运输等环节均未规范统一, 亟需建立一套科学规范、操作性强的技术规程。笔者通过多年校企联合研究与生产实践, 制定了血促性素生产用原料血液采集技术规程, 对提高我国血促性素原料血液采集效率、保障生产用母马健康福利等具有重要的指导意义。

收稿日期: 2012-11-05

基金项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (编号: 201003075)。

作者简介: 邓 亮 (1984—), 男, 江苏宝应人, 博士研究生, 研究方向为马属动物遗传育种与繁殖。Tel: (010) 62733300; E-mail: ldeng-cau@hotmail.com。

通信作者: 韩国才, 副教授, 研究方向为马属动物遗传育种与繁殖。Tel: (010) 62733388; E-mail: hanguocai@263.net。

研究表明, 海塞克斯鸡种蛋蛋形指数在 0.780~0.799 时, 蛋的失重最大, 大于和小于这个范围蛋的失重逐渐减少^[11]; 何宗亮研究表明, 三穗种鸭蛋蛋形指数与失重和失重率呈显著正相关^[12]。本试验结果也表明, 原鸡与文昌鸡杂交 F₂ 种蛋蛋形指数与失重量呈显著的正相关, 但与失重率相关性不大。所以在实际生产中, 应尽量选择蛋形指数相近的种蛋进行孵化, 从而保证雏禽的孵化率和较高的整齐度。

本试验通过对原鸡与文昌鸡杂交 F₂ 代种蛋孵化失重规律及蛋重、蛋形指数与失重相关关系的研究表明, 原鸡与文昌鸡杂交 F₂ 种蛋孵化期间失重呈快—慢—快的规律, 最佳失重范围在 11.36%~14.64% 之间, 且蛋重与失重量呈极显著的正相关, 而与失重率呈极显著的负相关, 蛋形指数与失重量呈显著的正相关, 与失重率相关性不大。

参考文献:

- [1] 霍海龙, 霍金龙, 李大林, 等. 红色原鸡群体遗传多样性[J]. 动物学杂志, 2007, 42(5): 131-135.
- [2] 周杰珑, 郭爱伟, 郭子发, 等. 原鸡与茶花鸡杂交 F1 代生长发育与生长曲线拟合分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010(4): 58-60.

1 范围

本技术规程规定了血促性素生产用原料血液采集术语和定义、生产场地与设施设备、供血马选择、供血马饲养管理、采血量与采血频率、采血操作技术、贮存和运输等各环节应遵循

- [3] 耿照玉, 张云芳. 海南文昌鸡若干种质特征和遗传多样性研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(4): 562-564.
- [4] 李明晖, 李 慧, 廖言萍, 等. 鸡、鸭种蛋同机孵化的失重分析[J]. 畜牧兽医杂志, 2007, 26(4): 14-16.
- [5] 李文铭. 孵化期种蛋的失重及其与孵化效果的关系[J]. 衡水师专学报, 2001, 3(2): 44-45.
- [6] 张会刚. 藏鸡种蛋孵化期间失重与气室变化规律[J]. 当代畜牧, 2006(3): 5-6.
- [7] 左连社, 张淑芬, 韩永胜. 鹅种蛋孵化失重率的初探[J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(9): 107.
- [8] 蒋小松, 赛 兵. 相对湿度与种蛋的失水关系[J]. 禽业科技, 1994, 10(6): 26-27.
- [9] 王瑞云. 孵化期间种蛋失重规律与孵化效果的关系[J]. 中国家禽, 1998, 20(10): 10.
- [10] 彭晓军. 蛋的保存期和蛋在孵化期间失重规律与孵化效果观察[J]. 贵州畜牧兽医, 2002, 26(2): 28.
- [11] 杨海明, 郭春燕, 万秋蓓, 等. 鸡蛋蛋形指数对蛋壳强度、孵化失重、羊水及尿囊液量影响的研究[J]. 江苏农业科学, 2006(6): 310-312.
- [12] 何宗亮, 匡 伟, 姚 远, 等. 蛋重对蛋形指数孵化失重及初生重的影响[J]. 当代畜牧, 2012(2): 38-39.

的标准。

本技术规程适用于血促性素生产用原料血液采集的企业及科研院所。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用成为本标准的条款。凡是注明日期的引用文件,其随后所有修改单(不包括勘误的内容)或修订版不适用于本标准。凡是不注明日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 3095—2012《环境空气质量标准》;NY/T 388—1999《畜禽场环境质量标准》;GB 7959—1987《粪便无害化卫生标准》;GB 18596—2001《畜禽养殖业污染物排放标准》;GB 8979—1996《污水综合排放标准》;GB 16549—1996《畜禽产地检疫规范》;中华人民共和国兽药规范;生物制品生产用马匹检疫及管理规程;血液制品管理条例(国务院第 208 号令)。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。血促性素:孕马血清或血浆中提取的糖蛋白促性腺激素,也称孕马血清促性腺激素、马绒毛膜促性腺激素,具有促卵泡素和促黄体素活性,主用于母畜催情和促进卵泡发育,也用于胚胎移植时的超数排卵。原料血液:按技术规程采集的供血促性素生产用的健康妊娠母马血液。工作采血:在一段较短时间间隔内连续采集相对较多的血液。供血马:用于工作采血的妊娠母马。

4 生产场地与设施设备

4.1 企业的建立

血促性素生产用原料血液采集企业的建立,必须符合农业部 GMP 认证,并经省级兽医行政部门审核批准。

4.2 生产区的设置

生产场区应按生产区、生活区、办公区严格分开。生产区严格实行定人、定责、定时、定位、定量的卫生消毒制度。生产区内必须配备有供血马疾病临床诊断及血液生化(红细胞压积、血红蛋白含量)分析的场所与设备,并且必须配有地磅或其他称重设备,以用于每次采血前称量马体重。

4.3 马厩和采血室的建设

马厩、采血室建筑应符合卫生要求,内墙表面应光滑平整,不易脱落,耐磨损和不含有毒有害物质,具备防鼠、防虫、防鸟和防火等条件。马厩、采血室内的设施必须保证马安全,防止马因触碰电线或尖锐物体等受伤。采血室内必须建有合格的采血栏或保定架便于马的保定,以使采血工作顺利进行。

5 供血马选择

供血马应是来自非疫区、经防疫部门检疫合格的母马。所有供血马必须有详细的个体信息记录,包括年龄、体高、体重、体况评分、饲草饲料、健康状况、工作采血量、采血频率、血液生化数值、采血史等。供血马的适宜年龄为 3~8 岁,体高为 115~148 cm,体况评分必须达到 4 分及以上(9 分制^[10]),供血期间健康。

供血马应是通过直肠检查或 B 超诊断或激素检测后判

定为妊娠的母马,有相对准确的妊娠日期记录,且最好选择经过调教、对人亲和、易于控制的供血马,以便工作采血时能够较为放松、平静。

6 供血马的管理措施与饲养技术

6.1 供血马的管理措施

良好的马匹管理,是保证马体健康、发挥其生产能力的重要措施。具体管理要点为:(1)在开始工作采血之前,必须保证有专业采血人员使供血马充分适应,时间不得少于 7 d。(2)在采血期间必须由有经验且负责心的饲养员管理供血马,必须确保马体卫生,并且提供适宜的营养条件、良好的自由活动与遮阴场所。(3)对供血马采取必要的疾病防控措施,选择对妊娠无影响的药物为其驱虫。(4)饲养员或兽医应定期评估供血马的健康状况。发现马匹健康状况不佳或体况显著下降(体重下降 10%)时,应及时采取治疗或救助措施并记录,停止工作采血。(5)必须对每匹马的饲养管理状况建立档案记录,包括采血日期、采血颈部(左/右)、采血人员、每次采血量、采血间隔、体重、健康状况、血液生化值(红细胞压积、血红蛋白含量)、治疗措施、饲料、添加剂等。(6)每匹供血马每次工作采血之前,必须进行红细胞压积和血红蛋白含量检测。马红细胞压积正常范围为 24%~44%,马血红蛋白含量正常范围为 80~140 g/L,在正常范围之外应立即停止工作采血。重新恢复工作采血的时间间隔不得短于 6 周^[11]。

6.2 供血马的饲养技术

供血马在工作采血期间的饲喂水平必须高于妊娠需要,以满足因血液流失造成的营养损失。无优质放牧条件时,除干草外,必须饲喂富含蛋白质和维生素的精料并补充添加剂。为了避免贫血症的发生,尤其要注意保证饲料中蛋白质含量充分,并补充足量的铁元素。体重 400 kg、妊娠日期为 1~4 个月的供血马需保证摄入消化能 60.61 MJ/d、粗蛋白 650 g/d、赖氨酸 23 g/d、钙 28 g/d、磷 21 g/d、钠 6.7 g/d、铁 280 mg/d、锌 268 mg/d、铜 67 mg/d、钴 0.7 mg/d、碘 0.7 mg/d、硒 0.7 mg/d、维生素 C 24 000 IU/d、维生素 E 529 IU/d。注意不能饲喂发霉、变质的饲料。

水的洁净程度与马的健康息息相关,因此必须为供血马随时提供新鲜干净的饮水。每次采血结束,必须保证供血马的饮水。

7 采血量与注意事项

7.1 采血量

供血马应在母马妊娠第 45 天至第 100 天进行工作采血,且采血间隔不得短于 2 周。工作采血量的计算方法包括:(1)若根据马的体重来计算,则每次采血量不得超过体重的 1.1%,即工作采血量(L)≤体重(kg)×1.1%;(2)若根据马的总循环血量来计算,由于马总循环血量(L)约为体重(kg)的 0.075,即体重的 1%为总循环血量的 13%,总循环血量(L)=体重(kg)×0.075。因此,每匹供血马每 2 周之内工作采血量不得超过总循环血量的 15%,即工作采血量(L)≤总循环血量(L)×15%^[12]。

7.2 注意事项

(1)一次工作采血量超过总循环血量的 15%,应该立即

补充葡萄糖生理盐水。(2)特殊情况。某些供血马每 2 周之内工作采血量也可以达到总循环血量的 20%,但要保证给予充足的营养和良好的饲养管理条件。(3)一次采取总循环血量的 15%~20% 会减少心脏血液输出,造成血压下降。一次采取总循环血量的 30%~40% 会引起供血马休克,严重者造成死亡^[13-14]。

8 采血操作技术

8.1 操作技术流程

8.1.1 采血前的材料准备 采血瓶(5、10 L)、采血管、采血针头、试管、医用乙醇(75% 乙醇)棉球、5% 碘酒棉球、剃刀、夹子、喷雾器、0.1% 新洁尔灭、17%~20% 枸橼酸钠抗凝剂(血浆分离)。

8.1.2 采血程序 采血程序包括:(1)按采血计划安排进行。(2)称量供血马体重,计算采血量。(3)将马牵到保定架内,核对马号、采血量,检查采血瓶有无破损,若采用分浆法检查采血瓶内是否装好足量抗凝剂。(4)用 0.1% 新洁尔灭对马体、保定架进行喷雾消毒。(5)对供血马颈部采血部位用温水洗净,剃毛,面积 8 cm×10 cm,用 0.1% 新洁尔灭冲净,涂抹碘酒。(6)采血人员穿戴好工作服、口罩,用 0.1% 新洁尔灭洗手或用医用乙醇擦手。(7)从消毒盒内取出采血管时,应有无菌纱布盖好针头,另一端插入采血瓶中,并用无菌纱布盖好,以减少污染。(8)再次核对马号、采血瓶签、采血量。用乙醇棉擦净采血部位碘酒,采血。(9)采血过程中,若采用分浆法应随时轻摇采血瓶,防止血液凝固,并观察马匹状况,发现马体有异常时,及时请兽医检查。(10)每次采血时需用试管取样,待做血促性素效价检测。采血后拔出针头时,涂上碘酒。发现针眼处漏血时,应用消毒后的夹子夹住针眼处皮肤 5~10 min,取下夹子无漏血时方可将马送回马厩或运动场内。(11)采血后,将采血瓶运至低温(4~8℃)库房中沉淀分离血清或血浆。(12)采血后及时冲洗干净采血管、采血针头,并取下针头,把采血管浸泡于消毒液中,再控干备用。冲净采血室,保持其干净、整洁,关好水、电源、门窗。

8.2 注意事项

在操作过程中应注意:(1)采血操作应快速、准确、伤害性小,使供血马在采血时出现最小的应激反应。(2)采血必须由经过专业培训的兽医或技术人员进行操作。(3)每次采血前必须称量供血马的体重。(4)每隔 2 次采血必须进行直肠检查或 B 超检查妊娠 1 次,确认供血马是处于妊娠状态,流产马停止采血。(5)采血时供血马必须站立,不得卧倒采血。(6)颈静脉采血针刺位置可使用局部麻醉,两侧颈静脉应当轮换采血。(7)必须保证采血针使用前严格消毒,一马一针,严禁混用采血针。(8)采血针头口径粗细应适当,过粗则不宜控制血液流速,避免出现颈静脉破裂、血肿、血压快速下降等不良情况。(9)每次采血结束,必须立即保证供血马饮水。(10)使用红细胞回输的方法减少供血马血液有形成分损失,应提倡推广使用。(11)采好的孕马血必须低温(2~8℃)冷藏,不可温度过高,以免损失血促性素效价,低温冷藏 24 h。若采用分浆法,自然沉淀出血浆后方可分浆,注意分浆时不要混入红细胞。

9 贮存

分离好的原料血清或血浆应分别装袋做好标记,放置 2~8℃ 冷藏,若保存 5 d 以上则必须放入冷库冷冻。冷冻保存应贮存在消毒卫生的 -18℃ 以下的冷冻库,并有温度记录。不与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀的物品同处贮存,库温一昼夜升温幅度不得超过 3℃,留待运输或投产时使用。

10 运输

液体原料血清或血浆应在 8~15℃ 运输,冰冻原料血清或血浆应在 -15℃ 以下运输,并记录。原料血清或血浆须有完整的外包装,以防运输过程中造成损坏。

参考文献:

- [1] Cole H H, Hart G H. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat[J]. Am J Phys, 1930, 93(1): 57-68.
- [2] Murphy B D, Martinuk S D. Equine chorionic gonadotropin[J]. Endocr Rev, 1991, 12(1): 27-44.
- [3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药规范[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 21-22.
- [4] 张家骅. 家畜生殖内分泌学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 187-196.
- [5] Legardinier S, Cahoreau C, Klett D, et al. Involvement of equine chorionic gonadotropin (eCG) carbohydrate side chains in its bioactivity: lessons from recombinant hormone expressed in insect cells[J]. Reprod Nutr Dev, 2005, 45(3): 255-259.
- [6] 黄英森, 李惠发. 提取 PMSG 时大量采血对妊马的影响观察[J]. 吉林畜牧兽医, 1984(4): 16-18.
- [7] 廉 嵩, 李 焕, 鲍海港, 等. 蒙古马、纯血马 eCG 分泌水平的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(7): 25-27.
- [8] Wisher S, Allen W R. Factors influencing equine chorionic gonadotropin production in the mare[J]. Equine Vet J, 2011, 43(4): 430-438.
- [9] 苏晓倩, 邓 亮, 贾 瑜, 等. 马绒毛膜促性腺激素单克隆抗体的制备及鉴定[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(9): 18-21.
- [10] Henneke D R, Potter G D, Kreider J L, et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares[J]. Equine Vet J, 1983, 15(4): 371-372.
- [11] Animal Welfare Advisory Committee. Guidelines for the welfare of livestock from which blood is commercially harvested for commercial and research purposes[EB/OL]. [2012-09-20]. <http://www.biosecurity.govt.nz/files/regs/animal-welfare/pubs/blood-harvesting-guidelines.pdf>.
- [12] Department of Primary Industries, State of Victoria. Guidelines for the harvesting of blood from livestock for commercial and research purposes[S/OL]. Australia. (2007-10-16) [2012-09-20]. <http://www2.dpi.qld.gov.au/extra/pdf/animalwelfare/GuidelinesForBloodHarvesting0907.pdf>.
- [13] Gonzales G L. How to establish an equine blood donor protocol[J]. AEEP proceedings, 2001, 47: 262-265.
- [14] Malikides N, Mollison P J, Reid S W, et al. Haematological responses of repeated large volume blood collection in the horse[J]. Res Vet Sci, 2000, 68(3): 275-278.