

动物检疫资料汇编

(二)

(畜产品中口蹄疫的检疫)

中华人民共和国动植物检疫总所

一九八四年六月

前 言

畜产品中的检查（如肉、乳制品、皮毛等），国外着重于对口蹄疫实施检疫。该病是偶蹄兽的一种急性发热高度接触性传染病，是现有家畜传染病中最复杂、最重要的疾病之一。本册于收集美国梅岛动物病研究中心 L. Bachrach 博士、D. Bancher 教授和 W. Jorchan 等专家多年来从事对肉和乳制品传播口蹄疫的实验室研究所发表的公开论文，这对从事检疫、科研和生产的同志将有一定的参考价值。现组织口岸动植物检疫所的部分同志，将全文译出。由于译者水平有限，错误难免，请同志们批评指正。

中华人民共和国动植物检疫总所

一九八四年七月

目 录

1、口蹄疫病毒在牛和食品中的国际性传播及残存.....	(1)
2、残留在碎肉中口蹄疫病毒的热处理效果.....	(10)
3、口蹄疫病毒在乳酪中的存活情况.....	(18)
4、口蹄疫病毒在用感染牛的乳汁制成的酪蛋白和酪蛋白酸钠中的存活情况.....	(25)
5、口蹄疫病毒在干酪中的存活期研究.....	(30)
6、乳清成份中口蹄疫病毒的潜在传染性.....	(33)
7、模拟野外条件下感染的奶牛乳汁中口蹄疫病毒的浓度.....	(37)
8、超高温灭活牛奶中传染性口蹄疫病毒.....	(43)
9、巴氏德消毒法和脱水法对全脂乳内口蹄疫病毒的影响.....	(47)
10、染病绵羊羊毛上的口蹄疫病毒.....	(52)

口蹄疫病毒在牛和食品中的 国际性传播及残存

梅岛动物病研究中心

摘 要

口蹄疫病毒是家畜和各种动物的一种疾病，它能在全世界范围内传播，并引起严重的经济损失。本病屡次暴发的后果是封锁患病国的边境。在历史上，动物及其产品被视为本病的传播媒介。

对本病的控制程序包括严格的进口政策，接种疫苗、检疫和扑杀。以前成功地控制活动是建立在各个环节的共同努力下，而且这将使口蹄疫接近大规模消灭的手段。

序 言

从第三世纪起，由于欧洲与东方之间较多的战争，结果把外国食品及其制备方法引入欧洲，由于欧美人坚持多年食用这些食品，故此也随同殖民主义者的移动一起输送到新的世界。使本病（FMD）传入欧洲、非洲、南北美洲并造成家畜严重的经济损失，出现以下相同的情况。早在1514年Verolawo Fracastron首先对此病作了精确的描述，他描述了意大利北部的一种动物流行病。

在FMD的流行期间，尽管人们看不见成片死尸或濒危的动物，但暴发后的经济影响是很大的。本病的传播主要是通过吸入空气中的病毒，被感染动物尿、粪、泪、奶、唾液、精液、血液及其它体液所排泄的病毒。这种简单的临床过程给人造成了在短期内造成经济影响的假象，一般为15~30天。临床症状有：发热、大量流涎并常在口腔、舌、鼻镜、鼻孔，乳头、蹄冠及趾间等处发生水泡性病变。

水泡破裂后，大面积的上皮脱落，脱落处可能很快痊愈，但是继发细菌、微生物、寄生虫或复杂的损伤时，常推迟或阻止痊愈。大多数动物最终康复甚至对抗原形成1—3年的短期免疫，但同群康复的动物其生产能力或市场价值比病前降低。FMD的后遗症是：不孕、流产、体重极度下降，产奶量明显降低，心脏受损，跛行以及营养不良。

FMD具有很强的传染力，它可通过被感染的动物及其产品传播，除驯养的偶蹄兽外，如各种牛、绵羊、山羊、猪和水牛均可感染。对野生动物的感染已有报道，如鹿、Zmpala、羚羊，西端（美国的一种野猪，译者注）骆驼，长颈鹿及大象，几内亚猪、地鼠、鼠和兔子都对实验性感染呈阳性。

FMD对人很少感染，据文献报道已证明了的病例不足此例。但由于病毒能在鼻咽处存活24小时，在无生命的物体表面包括衣服可存活更长的时间，在病毒传播过程中作为机械传

播的人都充当了一个积极的传播者。所以在国际方面不仅对发病国关系重大，而且对尚未发病的国家也有重大关系。

自从1929年以来，美国大陆从未发生此病，但是可以断言，如果在美国畜群的易感动物中爆发一次，单就第一年总的直接经济损失可达40亿美元，由于被感染的家畜所造成的直接主观损失和间接的农业损失将接近其10倍多。

在1967~1968年间，美国爆发的一次损失超过20亿美元，在1952年，加拿大发生一次，包括扑杀1073头乳牛，损失达10亿美元。

预 防 与 控 制 措 施

各国用来消灭FMD的三条主要措施是：

(1) 对本病的传播媒介——进口畜产品加强管理，从而减少其传入无病国的危险性(预防)。

(2) 对易感动物接种疫苗。

(3) 对爆发期间的病畜及接触病畜的动物进行扑杀(控制)。

预防

大多数国家的进口政策是根据从特定的国家或其地区进口活的动物或动物产品的危险性而拟定的。其动物产品有：肉，肉产品及包装物、皮革及腺体产品。例如精液只有在许可的情况下方能进口，而且在有些情况下，必须经过对FMD病毒检疫后才行，所有食品必须经过检查然而对估计适合人们消费的肉品中的淋巴腺是一定不能进口，因为这种产品对家畜可能具有潜在的危险性。要尽量减少由农场主携带2—3个动物靠步行、骑马和空中巡逻等方式越境，在这方面大多数情况被退回。一定要没收那些由水路进入国境被扣留的避难者所携带的动物。这些政策法规虽然严密有力，但在此同时要密切注视本病爆发的各种变化。

接种疫苗

从灭活的病毒中制备疫苗来接种已在亚洲、欧洲和南美洲获得成功地应用，该疫苗要求含有一种或多种亚型病毒。

据情况有如下三种接种疫苗方案，普遍接种、隔离接种及围圈接种。对普遍的群体接种方案中被接种的所有易感动物要根据疫苗免疫力的期限而决定；对于隔离接种，在丹麦、墨西哥、哥伦比亚已成功地应用于爆发的亚型病毒，在缓冲地带接种所有易感动物以将本病控制在疫区内；包围圈接种，即对爆发区周围所划定的区域内所有易感动物进行接种。通常在给动物接种疫苗的同时，常结合对病畜及已与病畜接触过的动物进行扑杀。

扑杀是许多国家选用的政策，如澳大利亚、加拿大、英国、爱尔兰、墨西哥、新西兰和美国等。对没有本病流行的国家和本病已经被控制的地区以及经常有本病爆发的国家，一旦确定了FMD后，要立即扑杀患畜及与病畜接触过的动物，然后将尸体烧毁或用石灰复盖并深埋，结合采用适当的消毒手段。

采取扑杀政策结合普遍接种疫苗的方案认为在西欧一些国家对没有本病的地区可以大大减少传染的危险。

检疫

一旦诊断为口蹄疫时就要立即封锁邻近无病国家的边境，并禁止向其它国家调运。当地

兽医部门应禁止动物从疫区进出，只有在当地兽医当局授权下，疫区的动物、供应的物品以及媒介物才能在半径10公里的范围内移动，对疫区的清洁和消毒可用酸或碱性化合物，其浓度可通过筛选的方法去选择，巡视此区所剩余的动物一直到确无本病，并且由医部门确认兽可以开放时方可重新进货。

卷入口蹄疫传播的动物及动物产品情况，早在1600年，口蹄疫就成为欧洲家畜的流行疾病。由于欧洲大陆内繁忙的运输业，使此病传入英国。据记载，第一次爆发是在1839年，到1852年本病只是散发，但在这十多年间再没有报道。早在1860年曾发生过周期性爆发，而且一直持续到1886年。英国政府为了防止FMD的传播，停止了从已了解到有本病爆发的欧洲地区进口所有家畜，由于传染病的传播而强化了已有的控制措施。

这一行动最显著的结果是对每次爆发都提供了包括传播方式，发病头数和确定疾病来源等大量文献，对爆发中的病畜，及与病畜接触过的动物全部扑杀的方案，作为一种根除的方法已被引用了。在1896年那时的法规中规定，为了食肉进口的动物，必须在港口扑杀。很显然从1895—1899年持续多年没发生此病的状况，就是这些控制措施的作用。然而由于在20世纪初就爆发过21次，这便引起了对疫区的全部健康动物更加严格的检疫，扑杀病畜及与病畜接触过的动物，然后埋入沟里，并去确定传染来源。有关爆发的文献指出：比较早的两次是由于1892年从丹麦进口动物及1908年向爱丁堡进口被污染的干草所致。

查阅以前有关FMD爆发的文献，发现英国南面和东西附近的海岸，在爆发本病的大量来源中有贸易船只，所制定的法规禁止经商的船员当船停在港口时出售船货（内食兽），因为大多数肉品进口均要求是活动物，除马、狗外，禁止进口其它家畜。而且这些都被安排在进口前检疫。FMD病毒在与非动物体有关物品上存活的这一重要发现提出了反复爆发的机制。这些非动物体如干草、农具、建筑物、衣料及蹄、骨、角、内脏、皮张及毛发，以前曾公开宣布上述物品不带毒。此外，还认识到了人在被感染的FMD传播中的重要作用。

在第一次世界大战末，随着国际贸易的增加，导致了英国爆发数量的增多，据报道，1919—1921年间，其爆发次数多于以前20年间的爆发数，这是因为英国不愿意建立中心实验基地，而在殖民地印度建了一个化验室，而且仅仅保留了很短时间，由于在1922—1924年流行时的扑杀政策结果使136,000头牛、76,000只羊和61,000头猪被杀掉，当局意识到：杀掉大批家畜对种畜的更换变得越来越困难了，英国人和英帝国的家畜饲养者无能力供应英国对肉的要求，所以扑杀政策暂时被放弃。

随着FMD在欧洲大陆和英国致死性的爆发指出了鸟和风在此病传播中的作用，为了给根除此病提供有效方案，对实验资料的要求随着时间的推移在增加，为此当局决定在英国萨里Pirbright建立一个研究实验基地，当实验室投入使用后，很快证实了以前在FMD传播方式中所考虑的问题，包括本病的空气传播，研究结果被作为有关立法的依据。这些发现包括从由欧洲进口的新鲜猪尸体的蹄子上分离的口蹄疫病毒，并发现被感染动物的组织甚至在尸僵后仍保持传染性，血液保持传染性为36天，骨髓为96天，在其它的研究中用压碎的冷冻驱体并含有被感染了的骨髓的骨骼来喂猪，仍可患病。根据这些研究结果英国的FMD委员会建议：禁止从欧洲进口所有生肉。然而来自南美洲的Sipment没有被污染。自1921年持续暴发到1961年，接着从1961年到1966年出现低潮，1962~1965年

没有发病。在英国曾有过散发，无条件地允许从无病国进口肉及肉产品；但从有病国进口肉及肉产品时一定要从离FMD暴发处半径至少20公里的农场，来自这些农场的家畜必须是在20公里内没有接触过其它动物，而且对这些动物要在生前和死后进行检查。在1928年英国与阿根廷、巴西、智利、乌拉圭签定了Bledisloe协议，其中允许附有证明的牛肉和内脏进入联合王国，这些产品必须来自无FMD并进行了适当消毒的牧场，而且在没有口蹄疫的屠宰场处理的；输出国同意报道所有暴发病，确定来自被感染的所有活动物，输入国只能接受获得政府颁发的动物接种免疫证书的肉品。进口这样的付产品如包装物、用具、干草、稻草、草、精液，血浆和有腺产品也要合乎协议中的规定。

必须指出，对FMD传播中被感染的碎肉用来喂动物时这些废物需按规定煮沸1小时。虽然人们存在或进入联合王国在FMD暴发期间不受限制，但旅客往来过去曾暂时禁止进入农业区。最后一次暴发是在1967—1968年，有450,000头家畜被感染，虽然其暴发原因没有最后证实，但当局者估计可能是由于从阿根廷或乌拉圭进口羔羊所致，因此从南美洲进口肉仅限于进口无骨的分割肉。尽管美国早期也有FMD发生，可并不象欧洲、亚洲危害大家畜饲养业那样流行，这主要是由于履行严格的进口规定以保持无病状态。1870年初暴发是由于从西部地带引进种畜和增加进口家畜所致。1902年和1908年暴发的原此是由于污染物和日本牛痘疫苗、火腿、干草所致，政府立即禁止进口疫苗。第一次大的暴发是在1914年，并且认为是从猪开始的，因为这些猪饲喂了由国外进口的牲畜屠宰加工厂的内脏和付品。美国动物健康组织很快认识到FMD在经济上损失极大，消灭此病的经费在一年半多就花费近900万美元，包括22个洲的方案。虽然在1922年美国停止进口家畜，但1924年却出现两次更大的暴发。美国官员把德里萨斯暴发的原因归于船员来自把污染的物质带到岸上或由于装有活动物的货船上的船员的衣服所引起的；把加利福尼亚暴发的原因归于将患有传染病动物运到洛杉矶牲畜屠宰加工厂所致。该病通过畜群在16个国家迅速传播，而且当局发现本病还能感染与家畜一起放牧的野生动物群，由此额外增加了忧虑，除屠宰了牛以外还有22,000只鹿被杀掉。在10%的鹿中发现轻度水泡病变，故扑杀的决定是正确的。1926年消灭此病的费用上升到2,000万美元。美国时常暴发的结果和Pirbright研究所在病畜组织上发现存有FMD病毒。美国农业部长奉畜产局的298号命令禁止从口蹄疫流行国家内的地区进口货物，因此在1927年就停止了从南美洲进口新鲜及冷冻肉。

1929年该病又在加利福尼亚发生了，尽管再三指出其暴发可能与阿根廷的肉食品有关，但“洛杉矶城”客运船重新装上阿根廷的肉类返回美国，到达加利福尼亚港，分割后剩下的肥肉被转移到其它客船上，这些碎肉又转卖给农场主作猪的饲料，销售后不久，加利福尼亚北部暴发了FMD。调查期间，在染患农场中发现了标有“洛杉矶城”的陶器。考虑暴发次数的增加而且由此对国际经济损失影响较大，故美国迫使畜产工业局开始制定一系列有力的防护措施。措施之一，1930年Smoot-Hawfey关税法306条决定禁止从任何患病国家进口肉食及畜产品，禁令阻止了从任何国家的各个地区进口甚至轻微的而且是局部发生的病例。所以在欧洲除了斯堪的那维亚，在美洲除了玻利维亚、哥伦比亚、厄瓜多尔、委内瑞拉，其余国家均被感染。履行Smoot-Hawfey关税法对阿根廷的经济影响最大，令人啼笑皆非，因为阿根廷是世界上牛最多的生产者和牛肉输出者。这就促进了预定出口贸易动物和肉食品兽医卫生法规的发展。虽然认为美国作为南美洲用户及产业商品的进口者潜力较大，但相对来说与美国所进口的几项比较其投资是相当大的，特别是对南美洲和阿根廷所销售的输出商品，

降低期间，认为最危险的是贸易出现负平衡。用美国通过的卫生禁止贸易令，阿根廷当局开始执行“谁买我的我买谁的”活动。其结果是来自美国和大不列颠的出口项目显著减少。但英国对进口新鲜和冷冻的肉食品不征税。渥太华协议事先反复预计好的经济政策中，从阿根廷进口减少30%，尽力预防冷藏牛肉限额的进一步减少，阿根廷贸易代表团同大不列颠达成Rocarun-Ciman协议，协议保证进口冷藏牛肉不得低于渥太华协议中的所规定的。经济收入减少致使阿根廷当局到处欠债，这种欠债靠与外国交换是无法偿还的，因此在美国的委托下开设了新的买卖。此时总统罗斯福特和美国国务院在改进外贸与有关政策的行动中，解脱阿根廷对大不列颠的经济依赖，同阿根廷签定了1935年的卫生协议，该协议是根据折中的办法去解释Smoot-Hawley关税法第三部分“国家”那条产生的，好象宁愿地区性的统一而不要政策性的统一。此外在卫生协议的第三章中指出，每一个国家有权禁止从怀疑为被感染的地区进货。可以断言国际外贸协会及阿根廷——美国商会支持这一协议，但美国国家畜股份小组及畜产工业局则不支持。然而在卫生协议签字之前FMD在阿根廷北部及乌拉圭曾广泛的暴发过。严格的检疫措施增加了肉的价格，因此几乎没有牛抵达屠宰场。

虽然1935年的卫生协议没有指定区域，但受条约批护的国家仍然从巴塔哥尼亚进口冷冻羊肉，美国参议院外事委员会以前不承认1935年的卫生协议，最终考虑撤消，在这同时美国对阿根廷出口减少50%，进而引起条约失效。一连串的经济萧条接踵而来，致使其关系更加紧张。首先是不允许阿根廷的肉食品进入美国纽约世界交易会的饭馆，不允许进入1938年圣弗朗西斯科展览会。而且在严格的法规下大量的熟肉受限制，包括销毁碎肉，最后偶然才允许进入美国。另外的损失是由于阿根廷肉食品出口者的所做所谓导致的，美国着重反对向其大陆进口肉食品，希望将肉食品卖给美国海军做为海上消费，因为卫生的关系美国国会禁止购买。

随着第二次世界大战的进行，定量配给及增长的肉食品短缺，按实施租借法的要求致使美国农业部不得不限制反对从Tierra del Fuego进口羊肉，在存养的家畜中没有发现FMD但待买的350,000只羊，因怕对美国农业有危险故农业部长没有批准。本地曾出现过一次广泛性的暴发，其传染源认为是来自巴拉圭或巴西，而且感染了1,500多个地区，以后在1942年发生过。作为第三者由于FMD而造成国家经济损失的例子，哥伦比亚警告委内瑞拉，如果委内瑞拉继续从有FMD传染的阿根廷购买家畜的话，就停止进口。第二次世界大战后，美国从阿根廷购买牛肉罐头增长到1,200万美元，这一增长阿根廷感到乐观，他认为有可能向美国出售新鲜肉。

后来，在美国第四次农业学术会上，乌拉圭、巴拉圭与阿根廷联合发表了地区性合作声明，企图打破美国的关税控制，从联合王国获得较高的价格，并且宁愿设立地区性的也不愿受美国所谓国际边界的约束。由于美国投票表决使这一幻想破灭了。后来不久在阿根廷的首都布宜若斯艾利地区反复暴发。

自从在布宜若斯艾利当地的患牛身上发现较大的过于粗壮的FMD第三型病毒以后，问题就进一步复杂化了，这一发现直到1957年造出三价疫苗为止，一直阻止了有效的接种方案。在1955年美国市场最终开放，随同引进阿根廷的冷冻、康复腌制的无骨牛肉，从1955年出售稳定增加，而且在1958年几乎获得30亿美元，但到1959年市场仅持续开放了6个月。

由于墨西哥(1946—1954年)FMD长期而持续的暴发和加拿大1952年暴发

的作用。美国国会通过立法使美国农业部成立实验室，梅岛动物病实验室（现在著名的梅岛动物病研究中心），离开美国大陆的海岸研究口蹄疫存在的因素，其重要发现开始后不久即将出现。早期的研究中最初发现FMD病毒可以幸存在康复腌制并未加工的牛肉中。这些发现是美国农业部在1959年5月份禁止进口这些无骨肉的依据，当美国FMD委员会部长报告时指出，他们认为大不利颇最初爆发FMD大部分是由于来自阿根廷、巴西、智利、乌拉圭冷藏和冷冻的牛肉所引起的，因此对肉食品进口商有关的卫生要求增加了。由于这些批评，迫使阿根廷不得不加快对疾病的控制，一年进行三次接种疫苗，并且对小范围采取扑杀的方案，但美国农业部仍然认为进口肉产品的危险性是相当大的问题。

半球上所有国家的合作方案

南美洲许多国家想独自成功地采取控制方案，但失败了，使其不得不联合起来。阿根廷——智利FMD委员会就是如此联合起来的。这一联合创始了控制潜在的传染动物及动物产品，Tierra del Fuego 流行病学委员会没有发现FMD的踪迹，由于大规模地接种疫苗，在这地区的周围设立了防疫线，阿根廷保健局及全国其它部门一起履行这一方案。

1961年在Punta del Este会议上，该联盟系统阐述了这一方案的进展，继承了1930年友好邻邦政策，该方案对拉丁美洲与美国援助一起作为一种安全保健方案是预先安排好的。可惜的是该方案对农业生产发展并不是直接需要的。Punta del Este会议后，肯尼迪总统提出限制从Tierra del Fuego进口肉产品要重新评价，总统顾问小组选举并立即成立了食品技术学、兽医学、微生物学以及受过其它多种训练的专家研究小组，使口蹄疫在本地区达到接近控制和消灭。该小组由J.G. Harrar领导在阿根廷直接与阿根廷同事们一起工作，这样联合努力最终演变成阿根廷——美国FMD联合委员会。Harrar小组提议，研究已康复和煮熟了的牛肉，对Tierra del Fuego继续进行联合调查，加强全美洲口蹄疫研究中心，为了国际发展，美国的一些机构为此方案提供的资助，甚至使其在政治动乱中生存下来，来自与梅岛动物实验室一起协作研究的重要成果是接种疫苗可以减少从最近与患畜接触的牛淋巴结中重新发现口蹄疫病毒的机会，此据N.D. Heidelbaugh和J.H. Graues与阿根廷口蹄疫联合委员会报道，提纯处理后在被感染淋巴结中的FMD病毒失去了活性。

墨西哥——美国之战

早在1900年，美国西南部的种畜往往来源于墨西哥的北方，在一定的时间里，有许多报道指出这些畜群中存有FMD的事实，但从来没有被美国农业部证实过。稍后，随着墨西哥革命的结果，使该国牛猛烈下降，并企图以合情合理的价格购买南美洲的牛来补充种畜。美国发生二次FMD以及墨西哥发生一次和墨西哥最近购买的阳性牛，所有这些都与从南美传入FMD有关。从而中断了美国的扑杀政策，但美国政府还是默认了。这是因为牲畜增长不足的问题，而且可以预言幼畜增长不足将造成巨大的政治困境。

最初的疫苗是来自阿根廷、丹麦、荷兰和瑞士，然而墨西哥的目标是自力更生发展自己的疫苗，一旦实现了，所有外来疫苗均被禁止。

由于墨西哥北方罐头厂的发展而缓解了封锁边境的经济影响，在1948年美国农业部购买了3,300万公斤罐头，1953年购买了9,900万公斤，其中6,600万公斤卖给了欧洲的国

家，此外政府还允许墨西哥北方把经过处理的牛肉输入美国。

在这期间危地马拉指控美国政府为了保护边境仅在美国北方安排扑杀方案，然而参与运动表明，Chipas的墨西哥洲在危地马拉边境是首先消灭FMD的地区之一。

伴随着扑杀方案的停止，美国政府开展了防治运动，导致了职员和边境巡逻警戒增强，严密检查进口港，而且其货物经严格检疫才允许通过边境。

1950年8月接种疫苗方案停止了，然而4个月后来在Vera Cruz爆发了FMD，散发性爆发不断发生，从而出现边境相应的封锁和开放。墨西哥损失家畜直接花费了一亿五千万美元后，于1954年最终宣布消灭了FMD。

关于全美洲的交通干线及环境影响声明

在经济上，从阿拉斯加道向阿根廷的公路继续延伸的主意是一件有兴趣的事情。这样一条公路可用于快速运输工具，相对来说消费者的货物可以廉价运到难进的地区，并很容易进入许多国家，1973年该公路除巴拿马与哥伦比亚间320公里外，余者全部竣工。巴拿马无FMD。然而在哥伦比亚的某些地区FMD被看作一种地方性动物疫病。两国之间的边境地区密集的植物、沼泽和浮动的岛屿等构成自然屏障。这些屏障在巴拿马已被证实是防止FMD传入的有效屏障。这段公路的完成将涉及到无FMD的巴拿马以及美洲北部和中部的国家。直到美国农业部确定在巴拿马和哥伦比亚建立有效的监督和控制口蹄疫之前，美国国际安全理事会才让该段公路进一步动工建筑，在1975年10月，美国区域理事会传下命令在没有做出环境影响声明之前，企图命令禁止美国联邦政府公路管理(美国交通部)强制或花费存款订立进入合同或建筑公路的任何行动，这个声明必须符合1969年国际环境影响声明条例，特别要注意美国控制FMD方案失败的影响。在顾问的作用下，美国与巴拿马和哥伦比亚签定了合同协议，然而巴拿马早已与国际农牧卫生区域组织及墨西哥动物健康官员开始自己的协作方案。在哥伦比亚边境附近建立了40公里宽的检查区，该区的所有家畜被运走，而当地居民每户只许养三头猪。建立检查哨的作用是禁止未经批准的家畜运输，在美国的西北部允许第二控制区(40—80公里)生产牛(限于1966年存养的)，所有动物要经常检疫并做记录。

在哥伦比亚养牛的三个区域是 loskatips 国立公园、森林保护区、森林保留区。

Los katios国立公园其位于巴拿马和 Afrato 河之间设50公里宽的区域，此处无开拓者及动物，只允许游览者的建筑，当地居民每户只允许存养三头猪。

森林保护区，该区域宽5—8公里，位于loskaties公园东北面，延伸到加勒比海。此处没有开拓者和动物，然而可以无忧无虑地建成露营地。允许当地居民保留所养的猪。

森林保留区、这一区域位于Los Katios 西南，并延伸至太平洋，此区只允许发展森林，不允许发展农业，这个区域和乔克斯省北部的剩余部分指定为I区(FMD消灭区)，此区不许接种疫苗，对被感染的各种动物必须扑杀，焚尸或深埋，该处最后一次爆发是1914年。

I区或FMD控制区(缓冲地带)，位于扑杀区域与哥伦比亚间，此处要强制进行疫苗接种防治FMD，根据哥伦比亚和美国的协议，当爆发时，牧群(牛群)和与患畜接触过的所有动物必须进行检疫，并且要以患病区为中心，周围建立30公里的检疫区，所有动物将以强化的环状接种网接种疫苗。

许多国家的认识及控制措施

直到1951年哥伦比亚无FMD后,该病从委内瑞拉传入。巴拿马同其它中美洲国家号召开展国际防治FMD,并组成了国际农牧卫生组织。它的目的是提供情报交流,制定进口条例和培训控制此病的各方面人材。在1951年全美洲卫生局还建立了全美洲FMD实验中心,位于里约热内卢由巴西里亚政府提供的90公顷土地上。巴西为建立简易的设备捐赠530,000美元,该中心的主要使命是帮助患病国控制和扑灭FMD,并企图使那些尚未发病的地区保持无病。四大职能包括培训、实验室诊断、野外顾问所及科研。在其成立的第一年对英国圭亚那、哥斯大加和委内瑞拉提供了必要的援助,所发放的教育材料宣布了FMD的危险及经济细节,培训过程的三个环节也有所发展。预防措施(北美洲、中美洲及加勒比海),预防控制及扑灭(南北美洲),为扑灭所预备的控制方案(巴西、智利和普利顿国家),该中心负责其它国际组织的联络工作,并接受国际发展银行成员国,美洲的美国组织提供的技术援助方案,美国提供整个操作费用的66%,其它成员国负担所分配的数额,该中心已积极着手创始边境协议,共同防治FMD、浆液性病毒的防治及控制疫苗。

概要及战略

在呈地方性流行的国家中积极地结合接种疫苗方案,在无病国严格加强进口管理,以及当FMD暴发时,采取有效的扑灭方案,对目前世界上降低FMD发病率反应较好,至少自从第三世纪以来,FMD存在于畜群中的事实是所有更多的理由不能放松对本病的监督和控制。阻碍家畜移动的自然屏障,例如各种浩瀚的海洋,象澳大利亚、日本、新西兰或联合限制了内陆边境,象美国,这对过去保持无病状态是作了贡献的,然而空中运输的急剧增加,动物及动物产品的销售,值得注意是人在本病传播中的潜在作用,而且屏障作用似乎消失了。由于动物及动物产品在国内迅速销售,包括肉及日常产品,这样便进一步减少了对该病的防护效果,而增加了其迅速传播的可能性。

国内牛群的改良,是通过引进国外的牛种,放宽贸易海关、海卡对经济上的萧条形成殖民主义者政府和不适宜居住区域的开拓是不一样的,但为了国家经济的稳定,还是必须实施的。然而所有这些努力本来就是FMD传入易感畜群国家的潜在因素。在历史上,由于墨西哥广泛的暴发FMD而证实赞成国际外交胜过国内优先的结论是行不通的,这是由于美国对墨西哥从有FMD暴发区的巴西进口保持沉默所造成的结果。也是由于罗斯福和肯尼迪任总统时对国际贸易坚信不移,从而对1926年关于从FMD流行区出售的新鲜牛肉和羊肉的卫生法放松要求所致。对盛行暴发FMD的发生作为总统的要求已正在商定,梅岛动物病实验室研究结果表明:FMD在牛乳腺上的复制(Blackwell未发表的研究),在患畜乳汁的经巴氏消毒、短期高温消毒后,以及各种乳制品,如黄油、酪蛋白、干酪、乳清等的残存,因此这些产品可以看作是FMD传入无病区的潜在媒介物,在FMD传播中乳汁的作用,美国1967—1968年暴发期间已有过描述。

在美国,从患FMD的国家进口所有酪蛋白干乳和干乳产品,必须获得政府的书面批准,但黄油、脂油和干酪例外,而澳大利亚要求所有干酪在商业销售前必须贮存180天。

考虑政治上不受妨碍，各主权国制定认真的农业计划以减少 FMD 发病率。并在发病流行地区采取扑灭的方案做了大量工作。对如此努力的最大障碍包括缺乏国家之间的地理屏障；少数主世界强国主要的经济状况降低，具有高度经济影响的其他家畜疾病发病率的增高，受影响国家不得不优先考虑扑灭，短期的生物学活苗以及国家间的培养差异等，然而尽管这些巨大的问题，但就当前对疾病的性质和扑灭方案的认识还是容易接受的。虽然这些努力需要可能要超过任何一个受害国的能力范围，作为墨西哥扑灭活动的成功则是联合努力的典型。联合努力成功的主要部分在于墨西哥和美国无政治性的交换技术援助，恰好常常是该方案不断发展的考证。虽然美国现行的政策是屠杀患畜及与患畜接触过的动物，但墨西哥和英国执行的是屠杀和接种疫苗的联合方案，并取得了显著的成功。由于肉食品短缺造成居民饥饿的原因使屠杀方案100%的停止了。根据目前世界各国蛋白质短缺的问题要求更改屠杀方案。泛美公路的完成可能是导致FMD从发病的哥伦比亚传入无病的巴拿马的原因。因此缓解FMD传播的主要着眼点应将其消灭于哥伦比亚，这项任务的规模需要动员巴拿马、全美洲FMD研究中心、国际农牧卫生区域组织、墨西哥及美国熟悉动物卫生方面的全体人员，该方案的成功引起爱好者的信任，使扑杀方案不仅仅在美洲大陆的其他地方施行，而且将进一步在非洲、亚洲及欧洲施行。

译自奶品科学杂志 1980年6月63卷第六期第1019—1030页

烟台动植物检疫所校译

残留在碎肉中口蹄疫病毒的热处理效果

J.H. BLACKWELL, D.RICKANSRUD, P.D.McKERCHER,

J.W.McVICAR

摘 要

作者测定了病牛组织中口蹄疫病毒在蒸煮过程中的稳定性。经 69°C 加热 2 小时, 82°C 1—2 小时, 90°C 15 分钟—0.5 小时后, O₁ (CANEF A₂) 血清型口蹄疫病毒仍残留在淋巴结组织内。用 1% NaCl 与染病淋巴结组织悬浮液混合, 经 90°C 加热 0.5—1 小时提高了病毒的存活性。当用商业性的热处理程序处理混有染病淋巴结组织的碎肉和肉丸时, 内部温度达到 93.3, 96.1, 98.8°C, 病毒在两者中均不复存在了。本研究所用的感温指示盘获得精确的测量温度。

引 言

肉类老化过程发生的那种化学变化, 特别是氢离子浓度 (肌乳酸的形成) 增大时, 会加快纯化病牛组织中口蹄疫 (FMD) 病毒 (Cottcal 等, 1960)。然而, 由于淋巴结、骨髓和血块不受尸僵变化的影响, 肌乳酸不会达到使口蹄疫病毒纯化的浓度 (Herdecson 和 Brooksby, 1948)。Cottcal (1969) 和 Cottcal 等 (1960, 1963), Gailiunas 等 (1966) 以及 Suge de mello 等 (1966) 已经报告过在 4°C 时口蹄疫 (FMD) 病毒能存留在这些组织中。据报道, 屠宰后的牛, 储存在 4°C 下, 其淋巴结中的口蹄疫病毒可存活 70 天, 骨髓中的可存活 210 天, 血块中的可存活 60 天。因此, 上述各组织与肌肉组织相混能够形成一个活毒灶, 甚至在胴体陈旧之后亦是如此 (Cottcal, 1969; Cox 等, 1961)。

按照 Heidelberg 和 Geaves (1968) 描述的热处理方法, 采用罐头食品消毒器在 69°C 下蒸煮 25 小时, 纯化了存在于病牛淋巴结组织中的口蹄疫病毒。另外, Mckenchen 等 (1980) 报告用水浴以同样的温度加热淋巴结组织, 也能达到纯化效果。因此许多国际动物卫生条例要求从口蹄疫国家进口肉类, 必须限于经过这种温度蒸煮过的肉类。诸如限制来自口蹄疫国家的肉产品的便利措施, 发展新的商品肉出口, 以及确保存栏牲口无口蹄疫 (de las Caccenas, 1978) 的显著经济效益可以通过发展使混在碎肉中的口蹄疫病毒纯化的蒸煮技术来获得。结合工业食品加工原理, 诸如碎牛肉蒸煮管, 使能加工出无口蹄疫病毒的碎肉产品热处理工艺得到令人满意的发展。

因此本研究的目的是评价商业蒸煮法对淋巴结、骨髓和血块以及碎肉产品中口蹄疫病毒耐热性的效果。

材 料 与 方 法

病毒：

O₁血清型口蹄疫病毒(CANEFAq株系)最初是从阿根廷疫区的病牛舌上皮分离到的,并是从Comision Sresola Nacional raca la Ecadicacion de Fiebee clftosa (CANEFA)获得的。随后,该病毒在原生牛肾(BK)细胞内继代八次后才使用的(Mc Vican和Sutmollec, 1969)。

牛：

Callis和Cottcal (1968)所述赫勒福德改良种(Hecefold)小公牛, 1.5—3岁, 体重300—400公斤, 关在带有空调系统的动物隔离房里。

感染病毒组织的制备：

McVicas和Sutmallec (1976)早先的资料证明在感染48小时后的牛淋巴结, 骨髓及血液中能够取到高浓度的口蹄疫病毒。因此, 通过一条接有5ml注射器的12cm长的无菌橡胶管, 将7.0ml log₁₀蚀斑形成单位(PFu)的病毒悬浮液注入牛每个鼻道的垂直部分, 然后杀死接毒48小时后的牛, 取下这些组织(Mc Vicas和Sutmallec 1969)。

淋巴结：

采取寰椎、下颌、腮腺、咽上、肩胛骨上部、前股、膈淋巴结, 剔去脂肪, 切成小块, 然后通过家用绞肉机的3.12mm模将其绞碎。

骨髓：

采取长骨(桡骨、胫骨), 剔除肌肉, 用劈刀将其砍断, 用勺状刮刀将骨髓刮出, 在4℃下置18小时, 然后捣碎。

血块：

从动脉管、静脉管以及其它输血管中采血, 注入无菌标本瓶中, 在4℃下放置过夜, 使其凝结成块, 然后切碎并按上述处理淋巴结的方法作进一步处理。

为了测定加热时在病毒残留物上盐的稳定性, 还须制备含有终点浓度为1%NaCl组织。1%或更高浓度的盐(NaCl), 会提高口蹄疫病毒的稳定性(Cottcal, 1969; Facid等, 1976; Fellowes 1966)。因此, 在目前研究中常使用含有3%NaCl配方的普通肉丸。

检查热处理后残留在组织中口蹄疫病毒

在三十五个13×100mm的玻璃管中逐一加入1克绞碎的组织试样, 置于冰浴箱内。用橡胶塞将管口塞住, 储存在4℃下, 直到使用时才拿出来(不超过24小时)。

实验室用蒸煮缸由一个容量为20升的玻璃壁水浴箱构成, 水浴箱中装入12升蒸馏水。通过用一个循环加热器和一个棒式浸没加热器来获得并保持热处理过程的温度(69°, 82°和90°C)。将十一支装有绞碎组织的冷却试管垂直放入一个13×26×7.5cm的金属试管架内, 并且使其完全浸入12.5cm高的水中。用其中一支试管, 通过橡胶塞的切口插入一根6×62mm的热电偶于样品块中, 组成一个温度监测管。一条180cm的电线从试管的热电偶后端引出, 插在一个12频道的高温计上。当监测管中的组织样品达到所要求的温度时。将一对试管从热水中取出, 立即放入冰浴箱中(0—2°C)。另外几对试管分别在0.25小时, 0.5小时, 1小时和2小时取出。在2小时的样品从水浴箱内取出后再用次高温加热处理第二组样品。

然后在无菌条件下,从那些试管内取出冷冻的样品,集中放入Ten Broeck玻璃的组织捣碎机中,用HEPES缓冲液均化成20%的悬浮液。〔HEPES缓冲液: N—2 羟乙基哌嗪—N—2 磺基乙烷酸 (Caibiochen Behcing公司, Lagolla, CA), 含0.5%水解乳蛋白和浓度为每毫升100单位青霉素, 100g链霉素和50g fungigone (二性霉素B商品名)〕。然后用传代牛肾细胞培养检查一份这种样品的感染力。将牛肾细胞培养阴性的样品接种到易感牛上。

温度指示盘:

为了保证加工的产品内部温度达到稳定,使用一种由五个感温点组成的温度记录盘。当达到指定的温度时,这五个感温点会不可逆地从银色变为黑色(Telatemp公司, Fullerton, CA)。这几个感温点分别是76.7°C, 82.2°C, 87.8°C, 93.3°C和98.8°C。由于温度指示盘必须保持干燥,所以指示盘是夹于两块直径为1.5cm,厚为0.8mm的圆形有机玻璃片之间,用纯净的环氧树脂密封。初步试验表明各个感温误差在标示温度的 $\pm 0.7\%$ 之内。

混有病毒的碎牛肉产品的制备和热处理过程:

牛肉试样的制备:

碎牛肉和肉丸试样由Camrbell技术研究院(CIRI)拟定配方并制备,贮藏在4°C温度下,在制备后96小时内使用。

碎牛肉:

从当地屠宰场取来冰冻牛肉(80%为瘦肉),切成2.5cm的条状,然后用Hobact碎肉机分别以1.6cm和0.3cm的模板搅碎2次。将搅碎的牛肉装入聚乙烯塑料袋里冷藏。这些碎肉的分析及PH值测定见表一。

热处理条件:

如图1所示,将碎牛肉(1.23公斤)用手装入一个17.5×32cm,厚为80um的软性尼龙蒸煮管(MQ塑料公司, Fceeholol, NJ),然后罩上一层纱布,在纱布的正上方先确定装满碎牛肉蒸煮管的冷点,装入260克碎牛肉,其中有36克是感染口蹄疫病毒的淋巴结组织材料。将一温度指示盘放在混合的碎牛肉中央,再盖上一层纱布。将一根热电偶探测器刺穿纱布的中央,置于混合层中,与温度指示盘垂直。蒸煮管其余的地方填上0.9公斤碎牛肉。管的底部系上一个重物以防漂浮,然后整袋放入装有沸水的45×47.5cm的不锈钢罐内。热处理必须在做好混合层后一小时内开始。用二台循环加热泵(Naake, E—52, Fishes Scientific, Srcingficed, NT),四个石英型浸没式加热器和一条18公斤蒸汽管输送蒸汽,将水温保持在98°C—100°C。蒸煮这些肉,使其内部温度达到98.8°C,这时将其取出置于冰浴箱内,经蒸煮管温度冷却至70°C或更低。将尼龙管和冷却的肉沿纵向切开,取出两层纱布之间的碎肉层,最后回收中间混合层。从混合层中心取出大约50克的试样,用少量的基础培养液(MEM)(F—15, GIBCO, Nr)将其均化成20%的悬浮液,然后在4°C下以800g(相对离心力)的速度离心20分钟。取其上清液以牛肾细胞培养测定其感染力,然后储存于-70°C下。如果细胞培养病毒为阴性,将试样接种到牛体内。

肉丸的制备:

将用来作肉丸的碎肉置于Seydecmann切肉机中,低速切碎,同时在2分钟内加完表2所列的配料,然后高速运转3分钟,彻底切碎并使所加的配料达到充分的混合。

用一把直径为3.2cm的冰淇淋勺子将以上混合物做成 10 ± 2 克,直径大约为2.2cm的肉

丸，然后置于金属丝网篮里，浸在沸水中10秒钟使其表面硬化。表面硬化是在热处理过程中防止肉丸粘连或变形的必要步骤。

将肉丸（0.5公斤）加入蒸煮管，高度为10cm（达到预先确定的冷点）。用来监测病毒纯化的肉丸制作方法如下：用9克含有3% NaCl普通配制的肉丸混合物（表2）与1.0克含有3% NaCl的感染口蹄疫病毒的淋巴结组织（表2）相混合。将表面硬化了的，用来监测的肉丸切成两半，把温度指示盘置于其中一半的底部中央，然后将两半压在一起。将热电偶探测管穿过肉丸的上半部中央，使之与温度指示盘垂直相触。用一块四方形纱布把监测肉丸和热电偶探测器捆牢并用线扎紧（图2）。监测肉丸置于“冷点”位置上。另一监测肉丸放在前一个监测肉丸上面的一层肉丸中。然后把其余的1.7公斤肉丸加到蒸煮管里，另一个装有热电偶探测器的肉丸单独放在蒸煮管的顶端以测量该部分的蒸煮温度（图3）。然后用1250ml的自来水将肉丸淹没。压低蒸煮管、扎紧，置于蒸煮罐内，处理方法同上述碎肉处理。蒸煮肉丸使“冷点”内部温度最后分别达到93.3、96.1和98.8℃。达到各自的温度时。立即把管子置于冰浴箱内，任肉丸子的温度降至70℃或更低。然后取出两个混有病毒组织的肉丸，合在一起，均化成20%的悬浮液，按以下病毒检测方法，测其感染力。

病毒检测：

将传代牛肾细胞培养物融合成单层细胞培养物，在六孔反应板上（Linbco塑料有限公司，Hambec，CT）用添加5%牛血清最少量基础培养基（MEM）在37℃ 3% CO₂的潮湿条件下培养。

热处理和澄清后，在冷却的最少量基础培养基（MEM）制备20%上清液连续稀释十倍的试样。其余试样储存在-70℃下。取0.05ml接种物试样于37℃下在反应板单层细胞培养物上吸附1小时，然后用3ml 1.2%甲基纤维素悬浮液将该细胞淹没，如前所述，用等体积的最少基础培养基（MEM）和抗菌素稀释。然后在37℃下保湿培养18小时。把单层细胞固定后，用溶于20%福尔马林的结晶紫溶液染色，蒸馏水褪色，然后风干。在显微镜下进行感染细胞计数。按每毫升多少蚀斑形成单位（PFU）记录病毒浓度。每个稀释试样至少重复检查三次。

牛的接种：

把利用细胞培养分析作检测病毒用的阴性试样迅速置于37℃水浴锅里使其解冻，然后取2ml在牛舌上选20个点进行皮内（ID）注射接种，并另取5ml分别在两头小公牛的臀部进行肌肉注射接种。每天观察小公牛注射部位的水泡病变，有病变发生时，即可收集病料并进行血清学测定。10天之内，每天收集血液和咽—食道（EP）液（Sutmolec和Cottcal，1967），检查口蹄疫病毒的存在情况。

经临床检查为阴性的牛，取21天的血清来测定抗体和病毒的中和力的存在。

结 果

病牛组织中口蹄疫病毒的存在情况：

从病牛提供的淋巴结、骨髓及血块中检查口蹄疫病毒。病毒平均滴度（ $10 \log_{10}$ PFU/m）分别为：淋巴结组织（5.1）；血块（4.1），最低的是骨髓（2.34）。含有1% NaCl的组

织平均滴度为：淋巴结（5.5），血块（4.7），骨髓（1.6）。

热处理后组织内病毒的残留情况：

在初热试验中使用淋巴结组织，因其染病滴度在受检的三种组织中最高。残留病毒经过特殊条件的处理（温度/暴露时间）后，被认为在各种组织中均为阳性。然而，三种组织都必须进行试验，并在发现阴性病毒后，才能确定给予的处理条件是有效的。只有通过含有1%NaCl的血块试样的细胞培养感染力测定，才能查出残留的病毒（温度达到69°C时立刻抽样检查）。用动物接种观察时，69°C加热2小时，82°C1小时，90°C0.25小时，病毒仍然存活（表3）。当组织中加入1%NaCl时，90°C加热0.5小时（不到1小时），病毒仍然存活。

用蒸煮管蒸煮后混合碎牛肉中病毒的残留情况：

已经观察出热电偶读数与指示盘中感温颜色所指示的温度完全吻合。

用尼龙管蒸煮，内部温度达到98.8°C时，在制备的碎肉或肉丸中均查不到口蹄疫病毒（图4）。虽然用细胞培养检测在生的混合碎肉制品中未查出口蹄疫病毒，但是用三种制品的其中二种接种到牛身上却发生了口蹄疫病毒（表4）。混在肉丸制品（3%NaCl）中的淋巴结的病毒浓度仍然稳定（表5）。

碎肉内部温度达到98.8°C时的平均加热时间为3.4小时，在90°C或高于90°C时平均加热时间大约为1小时（表4）。如图4和表5所示，肉丸制品的平均加热时间不同：93.3°C—16.3分钟（90°C或90°C以上3.3分钟）；96.1°C—20.3分钟（90°C或90°C以上6.6分钟）；98.8°C—39.6分钟（90°C或90°C以上19.6分钟）。

用蒸煮后的碎肉和肉丸试样接种，牛血液或咽—食道液均没有病毒存在。临床也未发生口蹄疫病，经过21天观察发现血清中有中和抗体。

讨 论

带毒碎肉产品经蒸煮管蒸煮后，检查O型（CANIFA）口蹄疫病毒的纯化效果。

在磨碎的感病淋巴结材料中较容易查到口蹄疫病毒，而在混有同一染病组织的碎肉中用细胞培养检测法，却找不到该病毒，同一感病组织在制备后一小时取样。在有酸存在的情况下，磨碎的淋巴结——肌肉混合物中的口蹄疫病毒很快就纯化。Cottcal（1969）在一篇关于口蹄疫病毒在肌肉中纯化的报告中支持了这一论断。

在肉丸混合物中，虽然其PH值只比碎牛肉混合物高出0.2（PH6.2），但是PH值低的反而不能使口蹄疫病毒纯化。混合物中盐的浓度比较高（3%），很可能就是该病毒在碎淋巴结、肉丸混合物中稳定的主要因素（Cottcat 1969）。

暴露在酸性环境下，没有使之稳定的化合物和随后的高温加热处理，促成了碎牛肉中口蹄疫病毒的纯化。

在肉丸中口蹄疫病毒的纯化，只是由于热处理所造成的。盐的存在否定了PH值的作用。如图4蒸煮曲线所示，随着热传导的对流，其热处理的时间大大减少。

这些方法经常用来监测来自口蹄疫和其他外来疾病流行国家的出口肉品的蒸煮处理效果，是属于定性分析的性质，且又带有高度的主观性。不过，这项研究的结果表明，用带有感色色素的仪器能够获得定温测量的效果。