

王凤云,林 峰,陈玉霞,等. 猪瘟与猪链球菌病混合感染的诊断与防治[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):183-185.

# 猪瘟与猪链球菌病混合感染的诊断与防治

王凤云<sup>1</sup>, 林 峰<sup>2</sup>, 陈玉霞<sup>2</sup>, 李晓飞<sup>2</sup>, 郭林林<sup>2</sup>, 黄承俊<sup>2</sup>

[1. 河南农业大学现代实验技术(管理)中心,河南郑州 450002; 2. 河南农业大学牧医工程学院,河南郑州 450002]

**摘要:**猪瘟和猪链球菌病是制约养猪业发展的 2 种主要传染病,并造成了巨大的经济损失。针对河南省漯河市某猪场的 2 种疫病感染,采用流行病学、临床诊断、细菌学检查和兔体交叉免疫试验对发病仔猪进行了诊断,确诊为猪瘟和猪链球菌病混合感染;并提出了行之有效的防治措施,取得了较好的治疗效果,为猪瘟与猪链球菌病混合感染的诊治提供参考依据。

**关键词:**猪瘟;猪链球菌病;混合感染;诊断;防治

**中图分类号:** S858.28 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0183-02

猪瘟病毒(HCV)属于黄病毒科瘟病毒属。该病毒含有单股 RNA,粒子大多为圆形,直径为 40~50 nm。具有脂蛋白囊膜,在胞浆中复制,通过芽生的方法成熟而释放。猪瘟病毒可通过口、鼻、泪腺、唾液及分泌物、尿和粪便排泄出来,易感猪采食了被污染的饲料和饮水或吸入含病毒的飞沫和尘埃时,均可感染发病;而感染猪瘟后,若病程稍长,继发猪链球菌病,则表现出复杂的症状,给诊断工作带来极大的难度。为此,应从多方面给猪场的疫病做进一步的诊断<sup>[1-3]</sup>。2013 年 5 月,在河南省漯河市某规模化养猪场暴发了以母猪繁殖为主要特征的传染病。该养殖场母猪 800 头,仔猪发病率 15%、死亡率 23%,母猪产死胎、木乃伊胎和流产。对送检 4 头濒死仔猪进行了病理剖检实验室诊断,通过临床症状及发病情况来观察,从而诊断为猪瘟及猪链球菌混合感染,并通过采取有效的综合防治措施,使疫情及时得到有效的控制,具体情况介绍如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要器材 37℃恒温箱、微量加样器、冰箱、暗箱、离心机、手术器械、显微镜、血液琼脂平板、普通琼脂平板。

1.1.2 病料 濒死仔猪血清 4 份、濒死仔猪 4 头。

1.1.3 试验动物 健康家兔 2 只(由河南农业大学牧医工程学院动物房提供)。

1.1.4 试剂 革兰氏染色液、猪瘟兔化弱毒疫苗、猪瘟病原测试剂盒(爱德士公司提供)。

### 1.2 方法

1.2.1 临床诊断 在养猪场通过向猪场的养殖人员、技术人员询问疾病的发生、发展及流行情况、疫苗使用情况,并结合该猪场流行病发生情况等方法,进行流行病学调查。

1.2.2 动物剖检 逐一对 4 头濒死仔猪的心、肝、肺、脾、肠、喉头和膀胱进行仔细检查,并认真记录观察到的结果。

1.2.3 细菌学检查 取每头猪的心、肝、肺的病料分别接种于普通琼脂、血液琼脂平板培养基上,置于 37℃恒温箱中培养 24 h,挑去单个菌落涂片、革兰氏染色、镜检,并进一步做必要的生化试验。

1.2.4 猪瘟病原的 ELISA 试验 (1)每头猪取病变的扁桃体、脾、淋巴结各 2 g,用剪刀剪碎、研磨,移至 10 mL 的离心管中,加入 5 mL 的样品稀释液,涡旋振荡;在室温下孵育 2 h,并不时涡旋混合,然后在 1 500 r/min 的离心机上离心 30 min;取上清液备用。(2)每孔加入 25 μL CSFV 特异单克隆抗体,在相应的孔中加入 75 μL 做阳性和阴性对照,注意更换滴头。(3)在其余孔中分别加入 75 μL(1)中备好的样品,轻轻吹打酶标版,使样品混合均匀。(4)将其置于室温(18~22℃)孵育过夜。(5)甩掉孔中的液体,用洗涤液洗涤 5 次,每次间隔 3~5 min,在每次洗涤时都要将孔加满。将孔中所有的液体甩掉,用力拍打酶标版,使所有的液体拍出。(6)每孔加入 100 μL 稀释好的酶标二抗,室温下孵育 1 h。(7)重复操作步骤(5)。(8)每孔加入 100 μL 底物,在暗处室温孵育 15 min。(9)每孔加入 100 μL 终止液终止反应,加入终止液的顺序与上述底物的顺序一致。(10)在酶标仪上测量样品与对照孔在 450 nm 的吸光度( $D$ ),参照阳性对照计算结果。 $D_{校正} = D_{样品} / D_{阳性对照} - D_{阴性对照}$ (注意:阳性相对照值  $D > 0.500$  和阴性相对照值  $D < 0.150$  检测有效)。结果判断标准: $D_{校正} \geq 0.300$ ,结果为阳性; $D_{校正} < 0.200$ ,则为阴性; $0.200 \leq D_{校正} < 0.300$ ,则为可疑。

1.2.5 兔体交叉免疫试验 取濒死猪的脾 5 g,灭菌生理盐水 50 mL 悬液,加入青霉素、链霉素各 1 000 IU/mL,4℃冰箱过夜;接种 3 kg 重的健康家兔,每只家兔肌肉注射脾组织悬液上清液 3 mL,观察 7 d 后再与对照组家兔分别静脉注射 1:20 猪瘟兔化弱毒疫苗,接种后 24 h 开始测温,6 h 1 次,连续测 3 d。

## 2 试验结果

### 2.1 临床诊断

病猪外观消瘦,被毛粗乱,精神不振,不愿意活动。如果

收稿日期:2014-04-10

基金项目:国家自然科学基金(编号:31001086)。

作者简介:王凤云(1977—),女,硕士,实验师,从事实验技术及管理方面的研究。E-mail:345994020@qq.com。

通信作者:陈玉霞,硕士,高级实验师,从事兽医病理学与临床诊断方面的研究。E-mail:cyx7304@163.com。

强制使猪站起,个别猪呈弓背姿势。病猪食欲减退,体温升高至 40.5~42℃,稽留热;病猪有结膜炎、便秘、腹泻,皮肤有紫色或出血,指压部褪色。大多数 3~6 d 即可出现死亡现象;仔猪出现磨牙、运动障碍、痉挛和后驱麻痹等神经症状,常喘气。

2.2 动物剖检

病死猪颌下和腹股淋巴结发黑,切面为紫黑色(4/4);心内膜有少量的针尖状出血点(3/4);肺脏心叶、尖叶和小叶气肿、虾肉样肉变,胸部腹水增多(3/4);血液凝固不良,呈紫黑色(4/4);脾脏边缘梗死,呈黑色,中间有黑色梗死斑(4/4);胃底黏膜有少量针尖状出血点(1/4);肾脏呈褐色,黏膜有弥漫性针尖状出血点(4/4);肠系膜淋巴结呈棕黄色,回盲口处有钮扣样坏死灶,膀胱黏膜有少量出血点(1/4)。

2.3 细菌学检查

普通琼脂中生长有灰白色、半透明、露滴状菌落;直径为 1~2 mm;血液琼脂中形成光滑、边缘整齐、半透明、露滴状细小菌落。挑取单菌落涂片,革兰氏染色、镜检,可见大量成对或短链状或长链状排列的革兰氏阳性球菌,菌体 0.5~1 μm。对分离出来的细菌进行生化试验,结果该菌发酵甘露醇、水杨酸、山梨醇、乳糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖,不发酵木糖、阿拉伯糖,判定该菌为链球菌。猪瘟疫病的 ELISA 试验结果见表 1。

表 1 猪瘟疫病的 ELISA 试验结果

原始编号	试验编号	$D_{校正}$ 值	试验结果
1	1	0.63	+
2	2	0.27	±
3	3	0.46	+
4	4	0.48	+

注:阳性对照组  $D_{校正}$  = 1.230,阴性对照组  $D_{校正}$  = 0.110。

从表 1 可见,送检的 4 头仔猪中,3 头已经感染上猪瘟,1 头可疑。

2.4 兔体交叉免疫试验

接种脾组织病样的家兔和对照家兔体温均升到 41~41.5℃,并持续 48 h,与 4 头仔猪的结果相同。可以证明其已经感染上猪瘟。

3 讨论与小结

根据临床诊断、动物剖检、细菌学检查、猪瘟疫病的 ELISA 试验和兔体交叉免疫试验结果,充分证明仔猪为猪瘟和猪链球菌混合感染。

第一,该猪场是在引进外来猪后发生本病的。因此,要坚持自繁自养,若必须由外地引进新猪,应该到无病区和无病猪场选购;同时注意调查了解猪群的免疫情况和抗体水平,再决定是否引进。猪购回后必须隔离饲养 1 个月,并经临床检查、血清学检测,确认健康无病,方可进入生产区饲养。第二,该猪场未坚持用链球菌疫苗,同时接种猪瘟疫苗后的抗体水平也不足以抵抗病毒的侵袭,造成疫病流行。在此提醒,规模化养猪场对传染病的防治方面,应坚持“预防为主,防重于治”的原则,制定科学的免疫程序后应该严格按照防疫程序进行全面预防接种,注射剂量、途径必须确实,决不能造成漏防和

防疫失败。第三,应建立健全的免疫检测制度,加强抗体水平检测,定期进行抗体检测,至少每隔半年进行 1 次免疫,以便根据抗体检测结果,及时进行实时免疫和采取其他相应措施,防止疫病发生。第四,规模化养猪场必须建立健全兽医卫生防疫制度,严格控制监督执行。预防接种不是万能的,一定要结合搞好环境卫生、严格消毒、药物预防等综合防治措施,才能避免疫病的侵入。目前,规模化养猪场的疾病情况日趋复杂多样化,往往是 2 种或 2 种以上的疾病同时感染,作为养猪场的经营管理者,必须了解国内外疫情的流行动态及发展趋势,熟练掌握新的防治措施,才能做到防病于未然<sup>[4-5]</sup>。

目前主要采取以预防接种为主的综合性防疫措施来控制疾病,建议以后要合理制定免疫程序和治疗方案,主要有以下方面:

(1)猪瘟的预防。常规预防:猪瘟兔化弱毒疫苗用法:非流行区,在仔猪 60~70 日龄时免疫接种 1 次;流行区,仔猪 20 日龄第 1 次接种,60 日龄再补防接种 1 次,种猪群每年加强免疫 1 次;母猪在临产前 20~30 d 再注射 1 次。

紧急接种:对疫区的健康猪和受威胁猪,应立即注射猪瘟兔化弱毒疫苗,剂量可加大 2~3 倍,但注射针头应该一猪一消毒,以防人为传播;对有体温升高症状的病猪可用 10~30 倍的剂量进行肌肉注射,剂量视病情和体重酌情加减,同时配合使用抗生素药物(在 100 kg 饲料中添加罗生素 20 g、诺信 20 g、百热定 20 g、维生素 C 10 g,混匀全天喂,连用 5 d,加 50 g 多维更佳。此配方由河南农业大学牧医工程学院禽病研究所提供)。

(2)链球菌病的预防。预防接种是防治猪链球菌病的重要措施。不论大小猪一律肌肉注射猪链球菌多价浓缩灭活疫苗 3 mL/头。

(3)猪瘟的治疗。处方 1:抗血清 25 mL,硫酸庆大霉素 16 万~30 万 IU;用法:一次肌注或静脉注射,1 次/d,连用 3 d。处方 2:仙人掌疗法:仙人掌 5 片(去皮、捣碎)、蚯蚓 25 条、白砂糖 200 g、麸皮(少许即可)。用法:取蚯蚓放入白砂糖的容器中,加入仙人掌再放麸皮少许拌匀,每天早晚各 1 剂,3 d 后即有明显的疗效。

目前猪瘟尚无有效的治疗药物,可选用高免血清进行治疗,但又很不经济,而该猪场又继发了猪链球菌病,所以在临床上采用对症治疗和控制继发感染,抗生素、磺胺类药物和退热药联合使用、中西药结合的方法治疗,也取得了比较好的效果。此病之所以流行很广、危害极大,主要原因:(1)猪瘟和猪链球菌病流行很广,在很大程度上是养殖户对病猪的处理不当所致,不是采取深埋或焚烧,而是随处丢弃,甚至充当健康猪肉,在市场上流通,必然会扩大该病的流行区域,这也是这 2 种病很难控制的主要原因。(2)在市场上猪瘟疫苗和猪链球菌疫苗的混乱,加剧了该病的传播,特别是不合格的疫苗和假疫苗的出现,使猪注射过疫苗后半个月仍不产生抗体,起不到预防作用。(3)疫苗使用知识缺乏。在紧急接种时,选用 1 个针头注射多头猪,若有病猪,会造成人为传播,扩大疫情。(4)对该病诊断错误,按其他类似传染病进行治疗,结果无效<sup>[6-7]</sup>。由此可见,必须充分了解猪瘟和猪链球菌病的相关知识,根据其病原特征、流行病学、临床症状等作出判断,必要时通过实验室诊断来进一步确诊。

冯秀娟,李忠生. 氟尼辛葡甲胺注射液对靶动物犬的安全性研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):185-188.

# 氟尼辛葡甲胺注射液对靶动物犬的安全性研究

冯秀娟, 李忠生

(公安部南京警犬研究所, 江苏南京 210012)

**摘要:**本研究评价了氟尼辛葡甲胺注射液对靶动物犬的安全性,为其临床应用剂量选择提供科学依据。选用 24 只健康史宾格犬随机分成 4 组,试验组分别按氟尼辛葡甲胺注射液临床推荐剂量的 1 倍(2 mg/kg)、3 倍(6 mg/kg)、5 倍(10 mg/kg)肌肉注射给药,空白对照组肌肉注射给予注射用水,连续给药 5 d。给药后观察临床症状,并于不同时间点(给药前、给药中、给药后)采集血液进行血常规以及血液生化指标测定。试验结束后尸体剖检并进行病理组织学检查。结果显示:在整个试验过程中,试验犬只精神正常,无死亡,无其他不良反应。各试验组部分血常规及血生化指标值在给药前后存在一定的显著性差异,但基本上都在参考值范围内波动。尸体剖检无明显眼观病理变化,病理组织学检查结果显示高剂量组与对照组脏器组织(肝、心、脾、肺、肾)均无异常,无明显病理变化。以上结果表明,氟尼辛葡甲胺注射液在 2~10 mg/kg 对犬的血液生理及生化指标影响小,无毒性反应,临床应用安全。

**关键词:**氟尼辛葡甲胺;注射液;犬;靶动物;安全性

**中图分类号:** S859.83 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0185-04

氟尼辛葡甲胺(flunixin meglumine, FM),系氟胺烟酸的葡甲胺盐,为动物专用的非甾体类解热镇痛抗炎药(NSAIDs),其作用机制在于通过抑制花生四烯酸反应链中的环氧化酶,减少前列腺素和血栓烷等炎性介质生成,有效缓解机体的发热、炎症和疼痛<sup>[1]</sup>。起效迅速,一般在 15 min 内可减轻疼痛,效力比镇痛新、哌替啶、可待因更高。参照《宠物用药物对靶动物安全性试验指导原则》<sup>[2]</sup>,结合实际情况进行本试验,考察了肌肉注射氟尼辛葡甲胺对靶动物犬的安全性试验,为其临床安全应用提供剂量选择依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验药品

氟尼辛葡甲胺注射液,规格 2 mL:0.01 g,批号 20121211,由南京金盾动物药业有限责任公司提供。

### 1.2 试验动物

健康史宾格犬 24 只,体重 8~10 kg,雌雄均有,由江苏省南京市西岗安德圣犬业有限公司提供。试验前适应性饲养 1 周,自由饮水,采样期间正常饲养管理。

### 1.3 仪器设备

全自动动物血细胞分析仪:XFA6130 型,南京普朗医用

设备有限公司。全自动生化分析仪:BS-300,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。组织切片机:德国 Leica 公司生产。光学显微镜(BH-2),日本 Olympus 公司生产。

### 1.4 试验方法

**1.4.1 试验动物分组及给药** 24 只健康犬称重后编号,随机分为 4 组,每组 6 只。试验组分别按氟尼辛葡甲胺注射液临床推荐剂量的 1 倍(2 mg/kg)、3 倍(6 mg/kg)、5 倍(10 mg/kg)肌肉注射给药,空白对照组按 0.4 mL/kg 肌肉注射生理盐水<sup>[3]</sup>。各组每天给药 1 次,连续给药 5 d。

**1.4.2 样品采集与处理** 各组动物分别在第 1 次给药前(0 d)、给药中(3 d)、最后一次给药后的第 2 天(6 d)的同一时间采血,每次分别采集 1 mL 的抗凝血(用枸橼酸钠抗凝)和 4 mL 的非抗凝血。抗凝血用于血常规检查。非抗凝血样品先置于 4℃ 冰箱中静置 1 h,37℃ 水浴 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上层血清用于血液生化指标测定。

### 1.5 观察指标

**1.5.1 临床观察** 观察动物是否有与药物相关的不良反应,如行为异常、呼吸异常、精神抑制及排便异常等变化情况。

**1.5.2 血常规指标检查** 按“1.4.2”节方法采集抗凝血,进行血常规指标检查,检查指标主要有:血红蛋白(HGB)、红细胞计数(RBC)、白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)和红细胞压积(HCT)等。

**1.5.3 血液生化指标检查** 按“1.4.2”节方法制备血清,进

收稿日期:2013-12-13

作者简介:冯秀娟(1978—),女,博士,助理研究员,从事新兽药产品开发工作。E-mail:kingdunfxj@126.com。

## 参考文献:

- [1] 王林云,张金枝. 现代中国养猪[M]. 北京:金盾出版社,2007:554-557.
- [2] 陈博言. 家畜传染病学[M]. 北京:中国农业出版社,2006:210-217.
- [3] 杜向党,李新生. 猪病类症鉴别诊断彩色图谱[M]. 北京:中国农业出版社,2010:48-53.

- [4] 张旭东. 猪瘟的综合防治技术[J]. 畜牧兽医科技信息,2013(10):96-96.
- [5] 宋培贤,肖建华,赵 靓,等. 猪瘟国内外流行情况概述[J]. 东北农业大学学报,2013,44(9):155-160.
- [6] 王 义. 浅析规模化猪场猪瘟免疫存在的问题[J]. 中国科技博览,2013(20):561.
- [7] 马小明,吕 翠,常 凯,等. 猪瘟免疫失败的原因与对策[J]. 湖北畜牧兽医,2013,34(8):85-87.