

胡新岗,黄银云,徐婷婷,等. 江苏泰州地区山羊传染性胸膜肺炎血清学调查[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):228-230.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.078

江苏泰州地区山羊传染性胸膜肺炎血清学调查

胡新岗¹,黄银云¹,徐婷婷¹,朱止南²,田亚军³,许余良⁴

(1. 江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300; 2. 江苏省泰州市高港区动物卫生监督所,江苏泰州 225300;

3. 江苏省泰州市高港区胡庄镇畜牧兽医站,江苏泰州 225300; 4. 江苏省泰兴市畜牧兽医技术推广中心,江苏泰兴 225400)

摘要:为了调查江苏省泰州市山羊传染性胸膜肺炎的流行情况,利用山羊支原体山羊肺炎亚种(Mccp)、丝状支原体山羊亚种(Mmc)、绵羊肺炎支原体(Movi)抗体检测间接血凝试剂盒对江苏省泰州市各市(区)的1157份山羊血清进行检测。结果发现,发病场山羊Mccp、Mmc血清平均阳性率为51.85%、39.81%;未发病场Mccp、Mmc血清平均阳性率为10.52%、5.84%,合计支原体感染阳性率为16.37%。由此可见,泰州市的山羊支原体性疫病的感染率较高,应加强对该病的防控。

关键词:江苏泰州地区;山羊;支原体;传染性胸膜肺炎;血清学;调查

中图分类号:S858.272.62 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)07-0228-03

山羊传染性胸膜肺炎(contagious caprine pleuropneumonia,CCPP)是山羊特有的急性或慢性高度接触性传染病,以呈现纤维素性肺炎和胸外膜炎为特征^[1],该病严重影响亚洲和非洲山羊养殖业的发展,被世界动物卫生组织(OIE)列为法定报告动物传染性之一,自20世纪末首次分离到CCPP病原并证实该病病原为山羊支原体山羊肺炎亚种(Mccp)以来,已经有40多个国家报道过有此病发生^[2]。在我国,由支原体引起且与CCPP类似的山羊胸膜肺炎症状的山羊支原体性肺炎广泛流行,据文献报道,我国各省(市、区)不同地区流行株各不相同,除了Mccp,主要还有丝状支原体山羊亚种(Mmc)、绵羊肺炎支原体(Movi),而且同一羊群中常出现几种支原体的混合感染现象,使病情复杂化,给疫病的防控带来了困难^[3]。由于支原体分离比较困难,加上基层兽医技术条件的限制,长期以来广大基层兽医工作者甚至研究人员对山羊传染性胸膜肺炎病原的认识还比较模糊,由Mmc、Movi引起的这些病例在临床上往往因依据临床症状及病理剖检结果被诊断为CCPP^[4]。

近年来,泰州各市(区)大力发展山羊养殖业,从山东省、

江苏省的其他县(市、区)大批引进羊,由于长途运输、饲养管理水平与地域性差异等因素影响,羊群引进后常发生支原体性肺炎,给养羊场(户)造成了很大的损失。为尽快探明泰州市各地支原体性肺炎的流行情况,为该病的防制提供理论依据,2013年9月至今,江苏农牧科技职业学院课题组联合有关基层兽医及防检部门专家开展该病的血清学微量间接血凝试验抽样检测,现将检测情况报道如下,供同行们参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 被检血样 被检山羊来自泰州市各地的35个养羊场(户),共分为2类:一是疑似支原体感染发病羊群,共采集12个场(户)血样216份;二是无临床表现羊群(均未接种山羊传染性胸膜肺炎疫苗),共采集28个场(户)血样941份。均于羊群早晨喂料前,随机抽样,用一次性采血盛血管经静脉采血3~5 mL,摆成30°~45°斜面,置于4℃冰箱内5 h后取出放在室温下,待血清析出后分装,-20℃保存待检^[5]。

1.1.2 试剂盒材料 采用购自中国农业科学院兰州兽医研究所研制的山羊支原体性肺炎病原体山羊支原体山羊肺炎亚种Mccp正向间接血凝诊断试剂盒、丝状支原体山羊亚种Mmc正向间接血凝诊断试剂盒、绵羊肺炎支原体Movi正向间接血凝诊断试剂盒,按照使用说明书操作,分别对分离的待检血清进行血清学正向微量间接血凝试验检测。

existence of two genotypes of PRRSV in the U. S. A. and Europe[J]. Archives of Virology,1995,140(4):745-755.

[2] Magar R, Larochelle R, Dea S, et al. Antigenic comparison of Canadian and US isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using monoclonal antibodies to the nucleocapsid protein[J]. Canadian Journal of Veterinary Research - Revue Canadienne de Recherche Veterinaire,1995,59(3):232-234.

[3] Suárez P, Zardoya R, Martín M J, et al. Phylogenetic relationships of European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome

virus (PRRSV) inferred from DNA sequences of putative ORF-5 and ORF-7 genes[J]. Virus Research,1996,42(1/2):159-165.

[4] Murtaugh M P, Elam M R, Kakach L T. Comparison of the structural protein coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus strains of the PRRS virus[J]. Archives of Virology,1995,140(8):1451-1460.

[5] Gao Z Q, Guo X, Yang H C. Genomic characterization of two Chinese isolates of porcine respiratory and reproductive syndrome virus[J]. Archives of Virology,2004,149(7):1341-1351.

1.1.3 器械 96 孔“V”型微量反应板、微量振荡器、微量加样器等。

1.2 方法

1.2.1 操作准备 取置于 6~8℃或低温保存的冻干的 10% 抗原致敏红细胞,加稀释液 10 mL/瓶,即为 1% 抗原致敏红细胞,供作抗原用。取于 4~8℃或低温保存的冻干的阴性、阳性血清,使用时各加 1 mL/瓶,混匀,供作阴性、阳性血清对照用。稀释液为含 1% 健兔血清的 0.15 mol/L 磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 值为 7.2)。

1.2.2 操作方法 在 96 孔“V”型微量反应板上加 25 μL/孔 PBS,取被检血清 25 μL 于第 1 孔中,与 PBS 混匀后吸取 25 μL 加于第 2 孔,依次进行倍比稀释到第 4 孔(定性检测)。同时,设标准阴性、阳性血清对照,对照稀释至第 8 孔。分别加入抗原 25 μL/孔,加完后将反应板置于微量振荡器上振荡 1~2 min 直至诊断液中的红细胞分布均匀,从振荡器上取下反应板,盖上 1 块与反应板大小相近的玻璃板,置于 37℃的恒温箱中 2~3 h,再观察结果。

1.2.3 判定标准 在阳性血清滴度不低于 1:128(第 7 孔),阴性对照血清除第 1 孔允许存在前带现象(+)外、其余各孔均为阴性(-)的前提下,对被检血清进行判定,否则应重新试验。被检血清抗体滴度≥1:8(+++)判为阳性,血清血清抗体滴度≤1:4(+++)判为阴性。

2 结果与分析

2.1 发病羊群流行病学调查结果

从表 1 可以看出,山羊支原体性肺炎流行一般发生在秋冬季节,泰州地区平均发病率为 24.18%,病死率为 28.27%。不同场发病率、病死率有一定差异,这可能与各场的饲养管理及卫生防疫水平有关,其中泰兴丙场为农户养羊,饲养环境差,不懂管理、防疫和饲养知识,因此发病率较高,发病后存在误诊误治、延误诊治时机情况,导致病死率较高。山羊支原体性肺炎混合感染羊口疮、山羊痘后导致病情复杂化,增加诊治难度,也是病死率较高的原因之一。

表 1 发病羊群流行病学调查结果

发生地	场地	养殖量 (只)	发病时间 (年-月)	发病数 (只)	发病率 (%)	病死数 (只)	病死率 (%)	备注
泰兴	甲场	400	2013-10	113	28.25	35	30.97	
泰兴	乙场	289	2013-12	71	24.56	15	21.13	
泰兴	丙场	82	2014-01	45	54.88	22	48.89	70%死亡羊混合感染羊口疮
高港	甲场	520	2013-11	104	20.00	44	42.31	80%死亡羊混合感染羊痘
高港	乙场	362	2013-12	95	26.24	23	24.21	
海陵	甲场	256	2013-10	44	17.19	8	18.18	
海陵	乙场	300	2014-01	67	22.33	17	25.37	
姜堰	甲场	240	2013-11	62	25.83	8	12.90	
姜堰	乙场	160	2013-12	35	21.87	13	37.14	
兴化	甲场	320	2013-12	84	26.25	20	23.81	
兴化	乙场	90	2014-01	12	13.33	2	16.67	
开发区	甲场	170	2013-12	39	22.94	11	28.21	
合计		3 189		771	24.18	218	28.27	

2.2 发病羊间接血凝试验调查结果

从表 2 可以看出,泰州地区山羊感染 Mccp、Mmc 情况客观存在。疑似发病羊场的 Mccp 阳性检出率为 51.85%,Mmc 阳性检出率为 39.81%,说明泰州地区山羊传染性胸膜肺炎的病原以 Mccp 为主。泰州地区抽样山羊群中未测出 Movi,可能与本地区以山羊养殖为主,绵羊养殖极少,且养殖场(户)大多直接从外地山羊场引进有关。部分发病羊并未检出支原体,临床症状可能是其他病原感染引起的,因为小反刍兽疫、巴氏杆菌等也可引起山羊传染性胸膜肺炎的呼吸系统症状^[6]。

2.3 未发病羊群间接血凝试验调查结果

从表 3 可以看出,泰州地区 Mccp 自然感染阳性率为 10.52%,Mmc 自然感染阳性率为 5.84%,合计支原体感染阳性率为 16.37%,说明支原体感染在该地区山羊群中存在一定的量。由于很多养羊场(户)在引进羊时,从不要求进行检疫,也未向售羊方索要羊检疫证明,因此实际上很多羊在引进时已经感染了支原体,特别是从本病疫区引进的羊慢性感染较常见,不仔细检查,很难发现。

3 结论与讨论

国际上及行业部门(农业行业标准)一般认为,山羊传染性胸膜肺炎的病原为山羊支原体山羊肺炎亚种,但在一些国内高等院校及科研院所由于分离出的病原不同,则对其病原说法不一,主要有山羊支原体山羊肺炎亚种、丝状支原体山羊亚种、绵羊肺炎支原体 3 种^[5]。本研究证实了临床上山羊传染性胸膜肺炎(别称山羊烂肺病)病原的多样性。

血清学调查结果显示,泰州地区不同程度地存在包括山羊传染性胸膜肺炎在内的山羊支原体性疫病流行。泰州地区山羊养殖业正处于蓬勃上升之时,支原体性疫病对山羊养殖业具有较大的威胁,养殖场(户)及兽医部门必须深刻认识到该病的危害并给予足够的重视。兽医卫生监督部门应严格要求羊的引进检疫和进场前的隔离检疫,同时要广泛宣传,做到早发现早治疗。

发病羊场(户)基本上是新办养羊场(户),属于新手或外行养羊,饲养管理经验不足,兽医卫生知识欠缺,未经检疫就从山东、江苏(海安、如皋)等地引进病原携带羊,长途运输、

表 2 发病羊间接血凝试验调查结果

发生地	场地	被检羊数 (只)	间接血凝试验结果						备注
			Mccp 感染情况		Mmc 感染情况		Movi 感染情况		
			阳性数 (只)	阳性率 (%)	阳性数 (只)	阳性率 (%)	阳性数 (只)	阳性率 (%)	
泰兴	甲场	26	0	0	24	92.31	0	0	混合感染羊口疮 混合感染羊痘
泰兴	乙场	14	11	78.57	0	0	0	0	
泰兴	丙场	18	16	88.89	0	0	0	0	
高港	甲场	19	19	100.00	0	0	0	0	
高港	乙场	13	9	69.23	0	0	0	0	
海陵	甲场	22	20	90.91	0	0	0	0	
海陵	乙场	16	0	0	16	100.00	0	0	
姜堰	甲场	23	23	100.00	0	0	0	0	
姜堰	乙场	18	0	0	14	77.78	0	0	
兴化	甲场	16	0	0	15	93.75	0	0	
兴化	乙场	14	14	100.00	0	0	0	0	
开发区	甲场	17	0	0	17	100.00	0	0	
合计		216	112	51.85	86	39.81	0	0	

表 3 未发病羊间接血凝试验调查结果

发生地	被检羊数 (只)	间接血凝试验结果						合计支原体感染 阳性率(%)
		Mccp 感染情况		Mmc 感染情况		Movi 感染情况		
		阳性数(只)	阳性率(%)	阳性数(只)	阳性率(%)	阳性数(只)	阳性率(%)	
泰兴	204	31	15.20	13	6.37	0	0	21.57
高港	185	22	11.89	15	8.11	0	0	20.00
海陵	170	15	8.82	11	6.47	0	0	15.29
兴化	156	17	10.90	9	5.77	0	0	16.67
姜堰	134	11	8.21	7	5.22	0	0	13.43
开发区	92	3	3.26	0	0	0	0	3.26
合计	941	99	10.52	55	5.84	0	0	16.37

环境改变、饲养管理不善、饲料变化、气候变幻等多种因素导致山羊发病,病初未能及时发现,病情发展后又不能及时正确进行诊治与防控,存在误诊误治情况,导致发病率、病死率较高,造成较大损失。

目前,我国使用的山羊传染性胸膜肺炎灭活疫苗系用丝状支原体山羊亚种制备,由于临床上多种支原体性病原的存在,该疫苗从理论和实践上对预防山羊传染性胸膜肺炎都具有一定的局限性,这也是目前生产实践上该疫苗很少应用且应用效果并不十分理想的原因之一^[7]。

由于支原体较难分离与培养,临床上仅靠症状及病理剖检很难确诊支原体性疫病^[8]。由于血清学检测技术具有针对性,而且方便快捷,可以作为基层对山羊支原体性肺炎诊断与检测的首选方法。

参考文献:

[1] 胡新岗,黄银云. 1 例引入性波尔杂交羊传染性胸膜肺炎的诊治

[J]. 江苏农业科学,2013,41(4):189-190.
[2] 赵 萍,郭 晗,贺 英,等. 山羊支原体山羊肺炎亚种湖北株的鉴定及其外膜蛋白的免疫原性研究[J]. 畜牧兽医学报,2011,42(4):593-599.
[3] 王 华,杨发龙,王 永,等. 山羊支原体性肺炎流行病学调查[J]. 中国畜牧兽医,2011,38(1):210-214.
[4] 储岳峰,赵 萍,高鹏程,等. 从山羊中检测山羊支原体山羊肺炎亚种[J]. 江苏农业学报,2009,25(6):1442-1444.
[5] 储岳峰,赵 萍,高鹏程,等. 羊霉形体与霉形体病[J]. 安徽农业科学,2008,36(19):8106-8108.
[6] 邓光明,赵 焯,梁桂香,等. 类山羊传染性胸膜肺炎诊断和防治的研究——病原诊断[J]. 中国兽医科学,1991(6):5-8.
[7] 赵 萍,储岳峰,高鹏程,等. 羊霉形体病的疫苗预防及药物治疗[J]. 甘肃畜牧兽医,2008,38(4):44-46.
[8] 储岳峰,逯忠新,赵 萍,等. 丝状支原体山羊亚种抗体间接血凝检测方法的建立及应用[J]. 畜牧与兽医,2007,39(10):64-66.