

编号: 0143

内部

科学技术成果报告

仔猪红痢病的研究

科学技术文献出版社

科学技术成果报告
仔猪红痢病的研究
(内部发行)

编辑者: 中国科学技术情报研究所
出版者: 科学技术文献出版社
印刷者: 中国科学技术情报研究所印刷厂
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

开本: 787×1092¹/₁₆ 印张: 1 字数: 22.4千字

1980年4月北京第一版第一次印刷

印数: 1—4,270册

科技新书目: 157—27

统一书号: 14176·36 定价: 0.20元

目 录

一、前言.....	(1)
二、病原诊断.....	(1)
三、菌苗研究及免疫试验.....	(3)
四、小结.....	(9)
五、菌苗制造及检验规程.....	(9)
六、参考文献.....	(11)
七、附录 (4)	(11)

仔猪红痢病的研究

农业部兽医药品监察所*

北京市畜牧兽医站

一、前言

1970年中,北京市郊区发生了一种过去罕见的新生仔猪的烈性传染病,仔猪出生后发病迅速,死亡率极高,不少是全窝死亡,饲养人员称之为“全窝端”。给发展养猪事业带来很大损失。许多兽医工作者曾致力于本病的治疗,但一般药物和抗菌素对本病的疗效很差甚至无效,从而更引起了人们的注意。

从1970年发现本病时开始,我们即着手对本病进行了流行病学调查,观察了患病仔猪的临床症状,检查了病理解剖变化,进行了细菌学检查,对分离的细菌进行了鉴定,结果证明,这种仔猪疫病是由C型魏氏梭菌引起的肠毒血症。这种病在我国还是首次发现。

C型魏氏梭菌引起的仔猪红痢,国外是在50年代发现的。Field, H. I. 和Gibson, E. A. ⁽¹⁾1955年在英国, Szent-Jvanyi, Tn. 和Szabo, St. ⁽²⁾1956年在匈牙利首先诊断了本病。以后1964年, Barnes, D. M. 和Moon, H. W. ⁽³⁾在美国, 1965年, Hogh, P. ⁽⁴⁾在丹麦也报道了这种疫病的发生。

据Bergeland, M. E. 的报告⁽⁵⁾, 由C型魏氏梭菌引起的仔猪红痢有许多病名, 诸如仔猪肠毒血症, 未断乳仔猪传染性坏死性肠炎, 坏死性传染性肠炎, 出血性肠炎, 出血性肠毒血症, 传染性胃肠炎, 血痢和C型魏氏梭菌肠炎等。我们根据本病主要侵害新生仔猪, 尤其是产后三天以内的仔猪, 患病的临床症状是拉稀, 而主要是拉红稀屎, 一般均称之为红痢, 故此把它叫做“仔猪红痢”。

在确诊病原以后, 为了有效地预防这种为害严重而又没有有效疗法的疫病, 我们立即进行了仔猪红痢菌苗的研究, 仔猪的免疫试验, 以及菌苗的进一步改进与提高, 使用方法等试验与研究。其试验研究结果如下。

二、病原诊断

(一) 流行情况

仔猪红痢是近几年来首先在北京郊区发现的一种新病。据了解某些地区也有本病的发生, 这种疫病专侵害初生仔猪, 而且几乎都是3天以内的, 生后超过3天的仔猪很少发病, 这是本病的一个特征。这种情况和Field, H. I. 和Gibson, E. A. 的报道是十分吻合的。在流行本病的地区, 仔猪的发病率很高, 平均50%左右, 有些疫点则几乎100%。例如1972年我们调查了北京市郊区仔猪红痢的流行情况, 据13个点的调查材料, 共产仔猪202窝1,733

* 参加研究的主要人员: 文希喆、王品杰、项大实。

头，死于仔猪红痢的有787头，占产仔总数的46.4%。其中有4个点，产仔35窝，319头，全部死亡。Hogh, P. 报道，丹麦仔猪红痢的发病率和死亡率也是这样。

(二) 临床症状

患病仔猪的主要临床症状是拉稀，特别是拉红稀，有特殊腥臭味。最急性的几乎没有明显的临床症状即行死亡。急性型的发病后离群独处、不食，消瘦衰弱，卧倒四肢伸开、不自主地四肢乱蹬、口流白沫，有的呕吐，内股和腹部皮下有轻度水肿。本病发病急骤，病程短促，一经发现打蔫、拒食等症状即迅速死亡，来不及治疗，这是本病的又一特征。在Howard W. Dunne和Allen D. Leman^[6]编著的猪病一书中，介绍了慢性型仔猪红痢，病程一周或更长，粪便色灰黄粘稠，病猪几周后死亡，或者因生长不良而淘汰扑杀。我们尚没有观察到这种病例。

(三) 病理解剖变化

自从发现仔猪红痢以来，我们先后共解剖仔猪100余例。最具有特征的病理变化为小肠特别是空肠有长短不一的一段深红~黑紫色出血性坏死，肠浆膜面有很多大小不同的气泡，密密麻麻布满全段，气泡较小时，肠浆膜面有粗糙肥厚感。肠系膜也同样布满很多气泡，这是本病的又一明显特征。这种特征与Hutyra, Marek和Manninger, Macsy^[7]以及Howard W. Dunne和Allen D. Leman等描述的酷似。其次比较常见的变化是心包液、胸水特别是腹水较多，腹部皮下往往有浅黄色胶样浸润。肠管充气膨胀，肠壁呈广泛性的充血出血，构成一致的红色和粉红色。另外的一些变化是肝脏淤血、斑状出血、色泽深浅不均、质较脆；胆囊充盈血性胆汁；脾脏充血，或在边缘有小点状出血；肾脏皮质表面散在许多针尖大小暗红色出血点；肺脏充血或小叶融合性出血；心脏扩大，表面血管怒张呈树枝状。

(四) 细菌学检查

1970~1971年，共剖检死亡仔猪53例，除去观察临床症状，检查病理解剖变化以外，还进行了细菌学检查。

1. 肠内容物涂片镜检：

取肠道病变明显的部位，多半是空肠的内容物涂片用革兰氏染色镜检，看到很多革兰氏阳性、单个、两连或短链、菌端较齐、形态与魏氏梭菌一致的大杆菌。

2. 细菌分离培养：

将病理材料——肠内容物接种于厌氧肉肝汤中后，加热80℃15分钟，然后放37℃温箱中培养。生长后用血液琼脂平皿进行厌氧培养分离纯菌。剖检的53个病例中有36个由肠内容物分离出厌氧菌，有少数病例由肝、脾、肾、心血、肠淋巴结、胸水、腹水、和心包液等某一种或几种材料分离出同样的厌氧菌。有10例未分离出这种细菌，这10例也没证明肠内容物中有毒素。

3. 分离细菌的鉴定：

①形态：革兰氏阳性，单个、两连或短链的大杆菌，菌端较齐。

②菌落：在血液琼脂平皿表面厌氧培养时，形成正圆形、边缘整齐、表面光滑、隆起、直径约2~3毫米的菌落。菌落周围环绕明显的透明 β 溶血环，其外围还有一圈较宽的不明显溶血晕。在葡萄糖血琼脂表面生长的菌落，接触空气后变绿。

③生长特性：在厌氧肉肝汤中生长较快，接种后在37℃培养3~4小时即开始生长，产气，培养基很快即显著变浊并产生大量气体。在普通肉汤中有时也生长，产生少量气体，培养基变浊。在琼脂斜面表面好气培养时无菌生长。但有时培养基底部背侧产气，并有细菌生长。

④生化特性：分离的厌氧菌均发酵葡萄糖、单奶糖、麦芽糖、果糖、乳糖、蔗糖，不发酵甘油、水杨素、菊糖、甘露醇、卫茅醇。石蕊牛奶呈爆性发酵。液化明胶。

⑤产生毒素试验：试验了分离的36个菌种。每一个菌种均用厌氧肉肝汤培养24小时，然后用每分钟3000转离心15分钟，取其上清用生理盐水稀释，静脉注射小白鼠。0.0025 ml 上清10小时内均能致死体重16~20克的小白鼠。证明这些菌种均能产生较强的外毒素。用这些细菌产生的毒素0.1ml分别与C型和D型魏氏梭菌抗毒素0.1ml做中和试验，均能被C型魏氏梭菌抗毒素中和，而不能被D型魏氏梭菌抗毒素中和。

通过上述鉴定，证明分离出来的细菌是魏氏梭菌。据培养物上清与C型和D型魏氏梭菌抗毒素中和试验；和下述死亡仔猪肠内容物中的毒素与C型和D型魏氏梭菌抗毒素中和试验结果；以及细菌培养物按Pivirick, H. Hauschild, A. H. W. Gorenstein, B. 和Habeeb, A. F. S. A^[8]的方法加胰酶试验，毒素被灭活，证明细菌培养液中不存在被胰酶活化的强亲合毒素。肯定被鉴定的细菌应属于C型魏氏梭菌。

4. 测定肠内容物中的毒素：

剖检的53个病例，均采取小肠内容物，视其浓度，酌加适量生理盐水，混合均匀后，用每分钟3000转离心30~60分钟，然后取其上清0.2~0.5ml静脉注射16~20克小白鼠，小白鼠迅速死亡，证明有毒素的43例。取这43例的上清0.2~0.5ml，分别加0.1ml C型或D型魏氏梭菌抗毒素混合，于37℃放40分钟后，静脉注射小白鼠。C型魏氏梭菌抗毒素能中和这些毒素，小白鼠生存；D型魏氏梭菌抗毒素不能中和这些毒素，小白鼠死亡。证明死亡仔猪肠内的有毒物质是C型魏氏梭菌产生的毒素。另外的10个病例没证明肠内容物中有毒素，这些病例也没有仔猪红痢的典型病理解剖变化。

三、菌苗研究及免疫试验

本着预防为主的精神，我们进行了仔猪红痢菌苗的研究。经过一系列试验，制成了安全而且效果良好的仔猪红痢菌苗。通过测定免疫母猪初乳中的抗毒素含量，仔猪血清中的抗毒素效价，仔猪攻毒试验等，证明免疫母猪的初乳中含有大量抗毒素，仔猪通过吃免疫母猪的初乳获得了坚强的免疫力。实际使用进一步证明了菌苗的安全性和显著的预防效果，深受养猪单位的欢迎。菌苗的研究及实用情况如下。

(一) 菌苗的研制

参照羊梭菌五联菌苗试验结果，进行了仔猪红痢菌苗的研究。

1. 制造菌苗的主要成分：

①菌种：选用了抗原性良好的C型魏氏梭菌C59-2制造菌苗。

②培养基：使用了肉肝胃酶消化汤，其成分和制造方法与羊梭菌五联菌苗使用的培养基相同。

③佐剂：采用氢氧化铝胶。用新法合成氢氧化铝胶时，菌液与氢氧化铝胶的比例为5:2。用现在各生药厂使用的氢氧化铝胶时，其比例为5:1。

2. 菌苗的制造方法：参照羊梭菌五联菌苗的猝狙部分，用前项菌种和培养基，在33~35℃培养16~20小时，加0.5~0.8%福尔马林杀菌脱毒后再加氢氧化铝胶配制成菌苗。

(二) 菌苗的安全性

在实验室内用家兔试验，每只家兔肌肉注射菌苗 5 ml，没有不良反应，试验的家兔均健活。

用怀孕母猪试验以及通过实际防疫注射观察, 不仅没有发现任何不良反应, 而且没有招致怀孕母猪流产。证明菌苗十分安全。

(三) 菌苗的效力

1. 家兔免疫试验: 家兔4只各肌肉注射菌苗2ml, 14天后静脉攻击致死量的C型魏氏梭菌毒素测定菌苗的效力, 同时用2只未注射过菌苗的家兔攻同量毒素作为对照。试验结果, 几批菌苗的免疫家兔均可保护3/4以上, 而对照家兔均2/2死亡。

2. 怀孕母猪及仔猪的免疫试验: 怀孕母猪在分娩前15~30天注射菌苗。注射一次菌苗的是在分娩前15天; 注射两次菌苗的是在分娩前30天和15天各一次。分娩后24小时内采取初乳作中和试验, 衡量母猪获得的免疫程度。初乳用离心机每分钟3000转离心30~60分钟, 取上清0.1ml与不同致死量的C型魏氏梭菌毒素混合后在37℃放40分钟, 然后静脉注射体重16~20克小白鼠, 测定初乳的中和效价。

对仔猪的免疫力, 除用测初乳中和效价的方法测定仔猪血清中和效价以外, 还用静脉攻击C型魏氏梭菌毒素的方法, 测定了仔猪获得的保护力。并同时测定未注射过菌苗的母猪初乳中和作用作为对照。

(1) 共测定了4只未注射过菌苗的母猪初乳, 均不能中和1小白鼠MLD的C型魏氏梭菌毒素, 证明未免疫的母猪初乳中, 没有中和抗体。

(2) 注射菌苗的母猪初乳的中和效价: 在未注射过仔猪红痢菌苗的猪场, 试验了一次免疫不同免疫剂量和两次免疫不同免疫剂量对怀孕母猪的免疫效果。注射一次菌苗的有5、10和15ml三种剂量; 注射两次菌苗的有5ml和10ml各一次及10ml两次两种剂量。初乳的中和效价如表1。

由右下表结果看, 注射一次5ml菌苗者, 初乳的中和效价最低, 增加菌苗剂量, 可以提高初乳中的抗毒素, 但母猪个体不同, 产生中和抗体的能力相差很大。注射两次菌苗时, 5ml和10ml各一次者, 母猪初乳中的抗毒素并不比一次注射15ml的高, 注射两次10ml者产生的免疫力最好, 而且稳定。这次试验猪数尚少, 有待进一步试验证明。

(3) 仔猪吃初乳后血清中出现抗毒素的时间: 选免疫母猪生产的2只仔猪, 于生后未吃初乳和吃初乳后48小时及96小时采血分离血清, 分别做中和试验。母猪初乳能中和160MLD。未吃初乳时仔猪的血清没有中和作用, 哺乳48小时的仔猪获得了中和抗体。但最高只测到4MLD, 均未测出终点。结果如表2

(4) 免疫母猪初乳中和效价与仔猪血清中和效价的关系: 母猪均注射两次菌苗各10ml。仔猪于生后48小时前后采血分离血清与母猪初乳一起作中和试验。结果两者的中和效价大致平行。因此测定母猪的初乳中和水平, 即可推知仔猪血清中的抗毒素水平及其获得免疫的程度。详见表3。

表1 一次或两次免疫不同免疫剂量母猪初乳的中和效价

免疫次数	菌苗剂量(ml)	母猪号	0.1ml初乳中和的MLD
1	5	1	1~2
	"	2	1~2
	10	1	1~2
	"	2	> 20
	15	1	≥ 60
	"	2	< 10
2	5、10	1	< 10
	"	2	10
	10、10	1	60
	"	2	60
	"	3	60
	"	4	70
	"	5	60

表2 仔猪吃初乳后血清中出现抗毒素的时间

仔 猪 号	0.1ml 血 清 中 和 的 MLD		
	未 吃 初 乳 的 血 清	吃 初 乳 48 小 时 的 血 清	吃 初 乳 96 小 时 的 血 清
1	不 能 中 和 1 MLD	≥ 2	> 4
2	”	≥ 2	> 4

表3 免疫母猪初乳中和效价和仔猪血清中和效价

母 猪 号	0.1ml初乳中和的MLD	仔 猪 号	0.1ml血清中和的MLD
1	≥ 10	1	≥ 10
		2	≥ 10
2	5	1	1~2
		2	1~2
3	≥ 100	1	≥ 100
		2	≥ 100
4	≥ 100	1	”
		2	”
5	≥ 100	1	”
		2	”
6	≥ 150	1	”
		2	”
7	≥ 100	1	”
		2	”
8	≥ 100	1	”
		2	”
9	≥ 150	1	≥ 100
		2	≥ 100
10	≥ 100	1	≥ 100
		2	≥ 100
11	≥ 70	1	< 70
		2	70
12	≥ 100	1	≥ 100
		2	≥ 100
13	≥ 80	1	≥ 100
		2	≥ 100
14	≥ 10	1	10
		2	10

(5) 仔猪血清中和效价和仔猪攻毒后获得保护的关系：选过去未发生过仔猪红痢的猪场并且一向未用过仔猪红痢菌苗的母猪4头供试验用。4头母猪均注射一次菌苗，其中2头注射5ml，另2头注射10ml。产仔后测母猪的初乳，并由每头母猪所产仔猪中选4头，采血测血清的中和效价，同时，静脉攻击致死量C型毒素。结果5ml菌苗免疫的2头母猪初乳中和效价很低，0.1ml初乳只中和1~2MLD毒素，仔猪血清的中和力也都低于1MLD，攻毒后8只仔猪中有7只与2只对照猪均死亡。10ml免疫的2头母猪，1头初乳中和效价也很低，与2只5ml免疫的相同，另1头母猪的初乳中和效价较高，前1头母猪产的4头仔猪血清有2头中和不到1MLD，但小白鼠死的较慢；2头中和1MLD。后1头母猪产的4头

仔猪的血清中和效价都很高。这两头母猪产的 8 头仔猪攻毒后全部健活，由未免疫母猪产的作为对照的 2 只仔猪全部死亡。结果见表 4。

表 4 仔猪血清的中和效价与仔猪攻毒后的保护作用

免疫剂量 (ml)	母猪号	初乳中和的 MLD	仔猪号	仔猪体重 (市斤)	仔猪血清中和的 MLD	静脉攻毒结果
5	1	1~2	1	1.8	<1	死 (17~30分钟)
			2	1.2	<1	死 (17~30分钟)
			3	2.4	无血清	死 (17~30分钟)
			4	1.2	≥1	死 (17~30分钟)
5	2	1~2	1	2.0	<1	生
			2	1.6	<1	死 (8~24小时)
			3	2.2	<1	死 (8~24小时)
			4	1.8	<1	死 (8~24小时)
10	1	1~2	1	2.7	<1 (小白鼠死的慢)	生
			2	2.9	<1 (小白鼠死的慢)	生
			3	2.0	1	生
			4	2.2	1	生
10	2	>20	1	2.3	≥60	生
			2	1.5	≥60	生
			3	2.2	≥60	生
			4	2.1	≥60	生
对照			1	1.4	<1	死 (5小时)
			2	2.4	<1	死 (30分钟)

由上表结果可看出①免疫剂量为 5 ml 的母猪初乳中和效价低的仔猪血清的中和效价也低，仔猪攻毒后除极个别的仔猪生存以外，绝大多数未获得保护。②母猪初乳中和效价高的，仔猪血清中和效价也高，攻毒后仔猪均获得了保护。③一次注射 5 ml 菌苗可说无效。④猪个体产生免疫的能力相差很大。

(6) 仔猪获得免疫的途径：选怀孕母猪 1 头，注射两次菌苗，第一次产前 30 天，注射 5 ml，第二次产前 15 天，注射 10 ml。产仔后选仔猪 8 头，分成两组每组 4 头，第一组不吃免疫母猪的奶，而令其吃无仔猪红痢猪未注射过红痢菌苗并与免疫母猪同时产仔的猪的奶，并选该母猪生产的仔猪 2 头作为对照。第二组令吃免疫母猪的奶，吃奶 6 小时后，两组仔猪及对照仔猪同时静脉攻击致死量的 C 型魏氏梭菌毒素。结果如表 5。第一组 4 只仔猪和

表 5 仔猪获得免疫的途径

组别	仔猪号	体重(市斤)	0.1ml血清中和MLD	静脉攻毒结果
1 (未吃免疫 母猪奶)	1	1.5	<1	死
	2	2.4	<1	死
	3	2.2	<1	死
	4	1.6	<1	死
2 (吃免疫母 猪奶)	5	1.9	>10	生
	6	2.05	>10	生
	7	1.8	>10	生
	8	2.05	>10	生
对照	9	2.55	<1	死
	10	2.14	<1	死

2只对照仔猪全部死亡，第二组4只仔猪全部健活，很明显仔猪通过吃免疫母猪初乳获得了良好的免疫，耐过了人工攻击。

攻毒前，由对照仔猪同一猪场，未注射红痢菌苗的母猪产的仔猪中选择4头，静脉注射C型魏氏梭菌毒素测其MLD。该母猪的初乳及仔猪血清均无中和作用。结果注射0.1ml和0.5ml毒素的仔猪分别在42分钟和40分钟死亡，而注射0.05ml和0.01ml毒素的两只仔猪无反应。免疫试验的仔猪，攻击了0.2ml毒素。

(四) 菌苗实用效果观察

1. 菌苗的安全性：据不完全统计，在实际防疫中已注射过几千头次怀孕母猪，均没有发现不良反应，也没有因注射菌苗而引起母猪流产，进一步证实了菌苗的安全性。

2. 菌苗的效力：

(1) 怀孕母猪注射一次菌苗的效力：在母猪分娩前3~22天，一次注射菌苗7~15ml，结果如表6。除分娩前4天以内注射菌苗的效力较差以外，其它均收到了明显的保护作用。

表6 怀孕母猪注射一次菌苗的效力

菌苗剂量(ml)	注射菌苗距分娩日(天数)	注射头数	产仔头数	红痢死亡数(头)
7~8	10~22	15	172	0
7~8	10~18	5	?	0
10	10天以内	7	52	7*
10	20天以内	49	421	1**
12~15	8~13	8	81	0

*：其中1只为距分娩4天、6只为距分娩3天注射的母猪所产仔猪。

**：为距分娩13天注射的母猪所产仔猪。

(2) 怀孕母猪注射两次菌苗的效力：菌苗的注射剂量各地略有出入，据不完全统计，第一次注射菌苗5~10ml，第二次注射菌苗一般均为10ml。注射菌苗距分娩的时间及免疫效果见表7。

表7 怀孕母猪注射两次菌苗的效力

注射菌苗距分娩天数		注射头数	产仔头数	红痢死亡头数
第一次注射	第二次注射			
13~18	2~5	11	64	0
20~30	5~10	30	209	0
20~30	11~20	97	917	0
30~35	5~10	1	10	0
30~35	11~20	19	187	0
30~35	21~30	22	219	0
40~60	5~20	6	46	0
40~60	30~40	9	62	0

注射两次菌苗收到了明显的效果，可能第一次注射已打下良好的免疫基础，因此尽管有部分母猪第二次注射距分娩日期很短，但也收到了预防的效果。

(3) 在发病地区同一时期, 注射菌苗和不注射菌苗, 仔猪红痢发病率的比较: 1972年春在北京市调查了13个养猪点, 据初步统计, 注射两次菌苗的怀孕母猪246头, 共产仔猪2,060头, 没有死于红痢的。而没有注射菌苗的怀孕母猪334头, 共产仔猪2,969头, 死于仔猪红痢的1,502头占产仔总数的50.59%。

(4) 在流行仔猪红痢的猪场怀孕母猪注射菌苗和停止使用菌苗, 仔猪红痢的发病情况: 北京四季青公社北高庄大队猪场, 发生仔猪红痢。用菌苗预防注射母猪后所产仔猪即停止发病。母猪停止注射后产的仔猪又发病, 象这样起伏过好几次。其它猪场也发生过相同的情况。

· (五) 讨论

1. 从菌苗的实际防疫效果看, 怀孕母猪注射一次菌苗7~15ml, 虽也收到很好的果, 但注射菌苗日期距分娩期近的母猪产的仔猪仍有少数死于红痢, 从测定过初乳中和效价的免疫母猪中有少数母猪的初乳中和能力很低看, 可能有少数母猪产生的免疫力较差; 从菌苗的免疫剂量看, 注射一次菌苗5ml的母猪的初乳中含抗毒素很少, 这样注射可能产生不了坚强的免疫力, 因此为了增强免疫效果, 避免上述情况, 以注射两次菌苗为宜。菌苗的应用结果也证实了这一点。据部分统计, 195头注射两次菌苗的怀孕母猪, 共产仔猪1714头, 没有一头发生红痢。

Szabo, St. 和 Szent-Ivanyi, Th.^[9]用明矾沉淀菌苗, 给怀孕母猪注射两次, 每次5ml, 收到了良好效果, 仔猪红痢的死亡率由35%以上, 下降到5%以下。报告中没有提及菌苗的详细制法和试验过程。

我们推测, 注射过两次菌苗的母猪连续产仔时, 1~2胎以后, 每胎可注射一次, 目前正在进行试验, 结果待以后报告。

2. 为了探知母猪获得的免疫程度, 以及仔猪是否能获得保护, 我们测定了母猪初乳和仔猪血清的抗毒素效价。由于母猪初乳采集不易, 仔猪的血采的也较少, 因此不论是母猪初乳或仔猪血清, 多未测出终点。仅就测得的数据判断母猪初乳的中和效价与仔猪血清的中和效价大致是相平行的。

3. 在仔猪攻毒试验中, 10ml 菌苗免疫的一头母猪, 初乳的中和效价并不比5ml 菌苗免疫的二头母猪的初乳高, 但在攻毒后, 后者所产的8头仔猪死亡7头, 而前者产的4头仔猪却获得全保护, 这是值得推敲的。母猪初乳中和抗体虽表现无差别, 但仔猪血清的中和效价却有所不同, 10ml菌苗免疫的母猪产的4头仔猪, 有2头0.1ml血清中和1个小白鼠MLD毒素, 另2头虽未能中和1MLD毒素但小白鼠死的很慢, 表明血清中仍含有一定的抗毒素, 而5ml菌苗免疫的母猪产的8头仔猪, 0.1ml血清都不能中和1个小白鼠MLD毒素, 这可能是所得结果不同的一个原因, 再加上对仔猪攻击的毒素量很小, 只有1个MLD, 也可能是出现这种情况的因素。另外, 母猪初乳中和效价的测定也可能存在某些差异。

4. 在发生仔猪红痢的地区, 凡是注射过两次菌苗的母猪生产的仔猪, 均无仔猪红痢发生。检查了部分注射过两次菌苗的母猪的初乳, 绝大多数初乳0.1ml能中和60个以上小白鼠MLD毒素, 极少数只中和5~10个小白鼠MLD毒素。在人工攻击试验中, 0.1ml血清能中和1个小白鼠MLD毒素的仔猪即可获得保护。在羊猝狙和肠毒血症菌苗的免疫试验中, 凡0.1ml血清能中和1~2个相应的小白鼠MLD毒素的羊, 在人工攻毒时, 即可获得对该毒素的保护, 而用试验剂量的菌苗防疫时, 均可控制这些疫病的发生, 由此推断, 仔猪血清0.1ml能中和1~2个小白鼠MLD毒素者, 对自然感染也可获得保护。既然免疫母猪初乳的中和效价与仔猪血清的中和效价相平行, 则初乳0.1ml能中和1个小白鼠MLD毒素时, 仔猪

可能获得保护。但考虑到仔猪人工攻毒时,只攻1MLD,毒素量很少,而自然感染时,却未必与此相同,肠内毒素或许比此要多,仔猪血清0.1ml能中和1个小白鼠MLD毒素能否抗住自然感染,是值得考虑的。另外,仔猪感染在生后8小时已完全得到证明,如初乳含抗毒素过低,而仔猪又不能在短小时内吃足初乳,则将影响其获得免疫的能力。根据试验结果,我们推断初乳0.1ml中和10个小白鼠MLD毒素以上,仔猪获得的免疫力将更为可靠。

四、小 结

1. 1970年在北京市郊区发生的仔猪以拉红稀并迅速死亡为特征的疫病,在观察了临床症状和病理解剖变化的基础上,经过细菌学检查,53个病例中,有43个分离出C型魏氏梭菌,这些病例的肠内容物中也存在C型魏氏梭菌毒素。据此确诊为C型魏氏梭菌引起的肠毒血症。群众根据仔猪拉红稀的特征称之为“红痢”,我们沿用了群众惯用的名称,定名为“仔猪红痢”,这是在我国第一次确诊有本病存在。

在确定了仔猪红痢的病原以后,我们在北京市郊区进行了调查,据初步了解,少数猪场反映,在60年代中期已遇到过这类疫病,但因死亡的均系生后1~3天的仔猪,都没有注意到它是危害严重的传染性疾病,而以为是一般饲养管理上的问题。直至1970年,某些猪场死亡甚多,才引起人们对过去认识的怀疑,开始寻找死亡的原因。我们经过细菌学检查,证明这种疫病是由于C型魏氏梭菌引起的传染病,给本病的防治打下了可靠的基础。

我国发生的仔猪红痢的发病率和死亡率与Hogh, P.报导的一致;其发病的时间,和Field, H.I.和Gibson, E.A.叙说的一样;我们观察到的仔猪红痢的病理解剖变化与Hutyra, Marek和Manninger, Macsy, Howard W. Dunne和Allen D. Leman描绘的相同。

据Brooks, M. E. Sterne, M. Warrack G. H.⁽¹⁰⁾和Warrack, G. H.⁽¹¹⁾以及Sterne, M. Warrack, G. H.⁽¹²⁾等人报道,仔猪红痢病原菌,按Wileelon分类虽属于C型魏氏梭菌,但在次要毒素 δ 和 μ ,尤其是 δ 毒素上,与典型的C型魏氏梭菌即羊猝狙菌不同,后者产生 δ 毒素,不产生 μ 毒素,而前者不产生 δ 毒素但有少数菌产生 μ 毒素,因而将其列为C型魏氏梭菌的一个亚型。我们对这两种病原菌也在进行产生的各种毒素的测定试验,结果另行报告。

2. 研究成功一种仔猪红痢菌苗,经试验室试验和实际使用,证明菌苗安全,效力显著。

3. 注射菌苗的怀孕母猪初乳中含有大量抗毒素,仔猪通过吃初乳可获得坚强的免疫。

4. 怀孕母猪注射两次菌苗效力可靠,注射剂量第一次可用5~10ml,第二次用10ml。注射日期,第一次在分娩前一个月前后,第二次在分娩前半个月前后较为适宜。

5. 注射一次菌苗如果剂量在10ml以上,时间在分娩前半个月,也能收到较好的效果。但如果注射剂量较小,注射日期又距分娩太近,则将降低菌苗的作用。再加上少数怀孕母猪产生免疫的能力较差,仔猪就会得不到充分的保护,因此,以注射两次菌苗为宜。

6. 菌苗的使用剂量似嫌偏大,有待进一步改进。

五、菌苗制造及检验规程

(一) 菌种

①制造及检验用菌种,由农业部兽医药品监察所统一鉴定、保管和供应。

⑤制造本菌苗用C型魏氏梭菌2—3个品系。

⑥真空冻干保存的菌种，每十年重新冻干鉴定一次。使用中的菌种，用多种蛋白胨牛心汤半固体，无糖厌氧肉肝汤继代，放冰箱或室温保存，每月移植一次，3个月后更换冻干菌种。

⑦菌种的毒力标准：菌种用肉肝胃酶消化汤培养16~20小时，然后离心取上清0.0025~0.001毫升，静脉注射体重16~20克的小白鼠，应于24小时内死亡。

(二) 培养基

⑧各种培养基的成分和制造：

1. 无糖厌氧肉肝汤，见附录（4）。
2. 多种蛋白胨牛心汤半固体，见附录（4）。
3. 肉肝胃酶消化汤，见附录（4）。

(三) 菌液制造

⑨种子繁殖：将各品系菌种接种于肉肝胃酶消化汤中，于35~37℃培养16~20小时，然后用普通琼脂斜面、普通肉汤、厌氧肉肝汤和石蕊牛奶各2管，每管接种种子菌液约0.2毫升，置37℃至少培养48小时，证明纯粹者方可使用。种子菌液放2~15℃保存，以不超过5天使用为宜。

⑩制苗菌液的培养：制苗用肉肝胃酶消化汤，应于培养基高压灭菌后，凉至37℃上下时立即接种。各品系分别接种，种子量均为1%，接种后放35℃培养16~20小时。

⑪纯粹检验：培养好的菌液，由每一容器抽取适量样品，用普通琼脂斜面，普通肉汤各1管，每管接种菌液约0.2毫升，放37℃培养2天以上，须无杂菌生长。

⑫测毒素：在纯检同时抽样测各品系培养菌液的毒素。用菌液离心上清，静脉注射体重16~20克小白鼠，其最小致死量不宜低于0.0025毫升。

⑬杀菌和脱毒：纯检同时，于菌液中加入0.5~0.8%福尔马林（按含甲醛40%折算），密封，在37℃杀菌脱毒7~14天，每天充分振荡1次。

⑭无菌检验：杀菌和脱毒后，由每一容器抽样，接种普通琼脂斜面1管约0.2毫升；50~100毫升普通肉汤和厌氧肉肝汤各1小瓶，每瓶接种0.5~1.0毫升，放37℃培养7~10天，均应无菌生长。

⑮脱毒检验：用培养液离心上清0.4毫升，静脉注射体重16~20克小白鼠，应健活。如果死亡，应继续脱毒直至小白鼠不死为止。

⑯矫正菌液pH：经（十一）（十二）两项检验合格的各品系菌液，用消毒的纱布或铜丝网滤过，以消毒的2N NaOH溶液调pH至7.0±0.2，即可用于配制菌苗。

(四) 菌苗配制

⑰菌苗的配制：将调好pH的各品系菌液等量混合，然后按5份菌液加2份新法合成的氢氧化铝（或加1份附录（4）规定的氢氧化铝），充分振荡后静置弃去上清液1/2，然后加入1/万~1/2.5万硫柳汞充分混和后分装。

⑱分装后的菌苗，每瓶应贴标签，注明菌苗名称，批号、容量、用量、用法、保存方法、失效日期、检验号码及制造厂名等，放于2~15℃冷暗处保存。

⑲每批菌苗的制造过程，应详细记载于专用表册中。

(五) 菌苗的检验

⑳按《成品检验的有关规定》抽样检验。

④无菌检验：按《成品检验的有关规定》进行。

⑤安全检验：用体重1.5~2公斤家兔2只，各肌肉注射菌苗5ml，观察10天均应健活，注射部位不应发生坏死。

⑥效力检验：用体重1.5~2公斤家兔4只，各肌肉注射菌苗1毫升，14天后静脉注射致死量的C型魏氏梭菌毒素，同时用同条件未免疫的健康家兔2只，注射同量毒素作为对照。攻毒后观察3~5天，免疫兔至少保护3只，对照兔全部死亡，即判定菌苗为合格。如免疫家兔死亡2只以上时，可重复检验1次。

⑦物理性状检验及留样：按《成品检验的有关规定》进行。

(六) 菌苗的保存与使用

①菌苗的保存期：菌苗放2~15℃冷暗处保存，自加福尔马林之日起，有效期暂定为一年半。

②用法及用量：怀孕母猪初次注射菌苗时应肌肉注射2次。第1次于分娩前1个月前后，第2次于分娩前半个月前后，剂量均为5~10ml。如果连续产仔，并且前1~2胎已在分娩前分两次注射过菌苗的母猪，可于分娩前半个月前后注射1次菌苗，剂量为3~5ml。

六、参 考 文 献

- (1) Field, H. I. and Gibson, E. A.: 1955. Vet. Rec. 67. 31—35.
- (2) Szent-Ivanyi, Th. and Szabo, St.: 1956 Acta Vet. Hung. 6. 217—227.
- (3) Barnes, D. M. and Moon, H. W.: 1964. J. A. V. M. A. 144. 1391—1394.
- (4) Hogg, P.: 1967. Office International Des Epizootics. 67. 1351—1359.
- (5) Bergeland, M. E.: 1972. J. A. V. M. A. 160. 568—571.
- (6) Howard W. Dunne and Allen D. Leman.: 1975. Diseases of swine. 第四版 525—530.
- (7) Hutyra, Marek and Manninger, Macsy: 1972. 家畜传染病. 中译本P. 42—43.
- (8) Pivirick, H. Hauschild, A. H. W. Gorenstein, B. and Habeeb, A. F. S. A.: 1965. Canada. J. Microbiology. 11. 45—55.
- (9) Szabo, St. and Szent-Ivanyi, Th.: (1957) Acta, vet. Hung. 7. 413—418.
- (10) Brooks, M. E. Sterne, M. and Warrack, G. H.: 1957. J. Path. and Bact. 74. 185—195.
- (11) Warrack, G. H.: 1963. Office International Des Epizootics Bulletin 59. 1393—1400.
- (12) Sterne, M. and Warrack, G. H.: 1964. J. Path. and Bact. 88. 279—283.

七、附 录 (4)*

第五条、无糖厌气肉肝汤

成份：牛肉	1份
牛(羊、猪)肝	1份
水	4份
蛋白胨	1%
氯化钠	0.5%
葡萄糖	0.2%
小肝块	1/10

“附录(4)”是摘自“兽医生物药品制造及检验规程”中的附录的有关部分。

液体石蜡

适量

制法

1. 取除去脂肪及筋膜的牛肉、用绞肉机绞碎与切成100克左右的肝块各1份、加蒸馏水4份，充分搅拌后，冷浸20~24小时。
 2. 煮沸30~60分钟，补足失去的水份，用白布过滤，弃去肉渣，取出肝块。
 3. 滤液加入蛋白胨1%和氯化钠0.5%，加热溶化，以2N氢氧化钠溶液校正pH为7.6~8.0，加热煮沸。
 4. 以滤纸或绒布过滤，按量加入葡萄糖0.2%，搅拌，使其溶化。
 5. 将煮过的肝块洗净，切成小方块，用蒸馏水冲洗后，分装于试管或中性玻璃瓶内，其量约为预计分装肉肝汤量的1/10。
 6. 将滤液分装于含有肝块之中性容器中（如为试管，并应加入适量之液体石蜡），以116℃高压消毒30~40分钟。
 7. 经37℃培养24~48小时应无菌生长。
- 用途：供一般厌气菌培养及无菌检验之用。专用于菌种保存时不加葡萄糖。

.....

第十五条、多种蛋白胨牛心汤半固体培养基

成份：牛心浸液	1000毫升
胰蛋白胨	10克
豚蛋白胨	2.5克
蛋白胨	2.5克
琼脂	1克
葡萄糖	5克
无水磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4)	4.2克
无水磷酸二氢钾 (KH_2PO_4)	0.54克
干燥牛心渣	适量

制法：

1. 牛心浸液：剔去脂肪绞碎的牛心500克，加水1,000毫升冷浸20—24小时。煮沸30分钟，用脱脂棉或纱布滤过，补足失去的水分。
2. 干燥牛心渣：剔除牛心的脂肪，用绞肉机绞碎，用电风扇吹干（或56℃烘干）。接近干燥时，再通过绞肉机一次，然后使之完全干燥备用。
3. 将牛心浸液等材料充分搅拌混合加热溶解，矫正pH7.6—7.8，煮沸10分钟，用脱脂棉或滤纸滤过。
4. 分装于小试管中，加入适量的干燥牛心渣（消毒后的含量约为培养基的1/2），盖液体石蜡。
5. 116℃消毒40分钟。

.....

第十六条、肉肝胃酶消化汤

成份：碎牛肉	200克
--------	------