

动物重点疫病

DONG WU ZHONG DIAN YI BING FANG ZHI JI SHU

防治技术

李凯伦 郑文波 主编

中国农业大学出版社



动物重点疫病防治技术

李凯伦 郑文波 主编

中国农业大学出版社

• 北 京 •

图书在版编目 (CIP) 数据

动物重点疫病防治技术/李凯伦, 郑文波主编. —北京:
中国农业大学出版社, 2001.1

ISBN 7-81066-283-X/S · 226

I. 动… I. ①李… ②郑… III. 动物疾病-防治 IV. S85

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 52594 号

责 编 董夫才

封面设计 郑 川

出 版 中国农业大学出版社
发 行
经 销 新华书店
印 刷 涿州市星河印刷厂
版 次 2001 年 1 月第 1 版
印 次 2001 年 1 月第 1 次印刷
开 本 32 印张 8.5 千字 209
规 格 850×1 168
印 数 1~2 000
定 价 15.00 元

动物重点疫病防治技术

主 编 李凯伦 郑文波

副 主 编 崔玉苍 李建国 张 强

编 者 (按姓氏笔画排序)

王玉清 王宗仪 王树文 刘 虹 许玉静

李同山 李志民 李晓云 李建国 李凯伦

李 鹏 谷军虎 杨秀女 郑文波 张少军

张 强 张德全 陶茂晖 崔玉苍 唱子明

逯纪成 韩庆安

编 排 轩秋燕

前 言

为了提高动物疫病的预防、控制、扑灭工作的技术水平，保障畜牧业产品经济发展和人民身体健康，促进动物产品对外贸易，我国无规定动物疫病区建设项目如期实施。建立无规定动物疫病区，对动物疫病防治实行区域化管理，是针对我国幅员辽阔，各地区自然条件和疫病流行情况不尽相同的特点，在一定的区域内集中人力、物力和财力，加强动物防疫基础设施建设，采取行政、法律、经济和技术手段在内的综合防治措施，有计划、有重点、有目的地扑灭国家计划的重点疫病，降低动物的发病率和死亡率，使疫病防治工作适应动物经济的发展，满足国内和国际两个市场的畜产品需要。

为了落实无规定动物疫病区建设项目，搞好疫病的防治和监测工作，我们编写了《动物重点疫病防治技术》一书，详细记述了19种危害较大的动物疫病。内容包括疫病防治技术、检测方法等。书中收集了当前主要的文献资料，内容广泛、丰富、实用，评述系统、深刻。本书面向动物防疫工作实际，既可作为各市、县动物防疫机构技术人员，特别是无规定动物疫病区项目实施单位技术人员的专用手册，又可供从事科研、教学及兽医预防专业本科、研究生参阅。

由于编者对这些动物疫病了解有限，书中难免有不足之处，敬请读者批评指正。

编 者

2000年8月

目 录

第一部分 疫病防治	(1)
口蹄疫	(1)
猪瘟	(20)
猪伪狂犬病	(34)
猪传染性水疱病	(42)
猪繁殖与呼吸综合征	(50)
猪囊尾蚴病 (猪囊虫病)	(57)
布鲁氏菌病	(64)
结核病	(75)
马传染性贫血	(88)
鼻疽	(101)
鸡新城疫	(106)
禽流感	(119)
鸡传染性法氏囊病	(137)
鸡马立克氏病	(145)
鸡白痢	(156)
禽白血病	(164)
鸡产蛋下降综合征	(169)
兔病毒性出血病 (兔瘟)	(174)
鸭瘟	(181)
第二部分 诊断方法	(185)
口蹄疫监测方法	(185)
猪瘟监测方法	(190)

伪狂犬病毒抗体检测试剂盒·····	(197)
猪生殖和呼吸系统综合征诊断试剂盒·····	(202)
猪囊虫病监测方法·····	(205)
布鲁氏菌病监测方法·····	(209)
牛结核病提纯结核菌素变态反应操作规程·····	(214)
马传染性贫血监测方法·····	(217)
马鼻疽监测方法·····	(223)
鸡新城疫监测方法·····	(226)
禽流感监测方法·····	(232)
传染性囊病监测方法·····	(236)
鸡马立克氏病琼脂免疫扩散试验操作规程·····	(240)
鸡白痢病监测方法·····	(243)
禽白血病抗体检测 (ELISA) 试剂盒·····	(248)
兔病毒性出血症监测方法·····	(254)

第一部分 疫病防治

口 蹄 疫

(Foot and mouth disease)

口蹄疫是世界上危害最严重的畜禽传染病之一，可感染动物 33 种，主要危害牛、羊、猪和其他偶蹄兽。目前世界上已有 68 个国家流行此病。早在 1514 年，意大利就曾记录了牛口蹄疫第一个明显病例。1897~1900 年，Löffler 和 Froch 证实其病原为滤过性病毒。

1 病原

口蹄疫病毒 (Foot and mouth disease virus) 属小核糖核酸病毒科 (Picornaviridae) 口疮病毒属 (*Aphthovirus*) 病毒，直径 20~25 nm，近似球形，为表面有 20 个顶点、30 条棱的正 20 面体，最外层为蛋白质衣壳，中心为核糖核酸，所含核酸为 RNA，全长 8.5 kb。5' 端侧编码结构蛋白有 1A、1B、1C 和 1D (Vp1、Vp2、Vp3 和 Vp4)，3' 端侧编码非结构蛋白有 2A、2B、2C、3A、3B、3C 和 3D。Vp1 全长 213 个氨基酸，是序列依赖型 Epitope 的主要结构基础，分离的 Vp1 可诱生中和抗体，是近年来免疫、诊断制剂研究的焦点。核糖核酸决定病毒的感染性和遗传性，外围的蛋白质则决定其抗原性、免疫性和型特异性，并保护核糖核酸不受外界的不利影响。口蹄疫病毒在同一培养物中，可看到存在有完全粒子、中空粒子、亚单位蛋白及 VIA 抗原 (Virus infection associated antigen) 4 种抗原 (Bachracn, 1969)。完全粒子为成熟粒子，具

有感染性、免疫原性、型特异性，含有制造疫苗必需的重要成分；直径为 (23 ± 2) nm，沉降系数为 140S，分子量为 6.9×10^3 u，氯化铯中的浮密度为 1.43 g/ml，电泳动力为 7.84×10^{-5} cm²/VS。中空粒子为空壳体，无感染性，但具有免疫原性，也是制造疫苗的主要成分；直径为 21 nm，沉降系数为 75S，分子量为 4.7×10^3 u，氯化铯中的浮密度为 1.31 g/ml。亚单位蛋白是整体裂解后形成的壳微体，无感染性，但有一定的免疫保护性，有群特异性，无型特异性；直径为 7~8 nm，沉降系数为 12S，分子量 0.38×10^3 u，氯化铯中的浮密度为 1.5 g/ml。VIA 抗原来自感染细胞，经病毒特异的核糖核酸聚合酶，形成先于成熟的病毒粒子，而且仅仅是病毒在动物细胞内导致才形成的无型特异性，如用灭活病毒接种动物，则不产生此种抗原或其抗体。因此，可以应用这种抗原测定动物是否感染过任何一型口蹄疫病毒。

每个完整病毒至少含有 3 条肽链，其中 1 条与 RNA 结合得不及其他 2 条紧密；病毒蛋白质具有碱基、羟基、酸基和烃基侧链的氨基酸，分别约占 12%、17%、19%、50%；肽链的碳末端的顺序为丝氨酸、丙氨酸、亮氨酸、谷氨酰胺（见表 1）。

表 1 口蹄疫病毒氨基酸组成

氨基乙酰丙酸	8.68±0.28	精氨酸	3.97±0.07	天门冬氨酸	10.28±0.18
胱氨酸	0.82±0.01	谷氨酸	8.63±0.06	甘氨酸	8.07±0.10
组氨酸	3.41±0.14	异亮氨酸	3.19±0.08	亮氨酸	7.41±0.07
赖氨酸	4.63±0.31	蛋氨酸	1.52±0.02	苯丙氨酸	3.72±0.02
脯氨酸	5.88±0.17	丝氨酸	6.40±0.19	苏氨酸	10.74±0.19
色氨酸	1.04±0.12	酪氨酸	4.86±0.14	缬氨酸	6.69±0.23

口蹄疫病毒的传染性 RNA 是单股的，其碱性组成 GACU=24:26:28:22，其沉降系数为 37S，分子量为 2×10^3 u，电泳动力为 1.165×10^{-4} cm²/VS。在琼脂糖凝胶中进行口蹄疫病毒特异

核糖核酸的电泳分析时,能辨出动力较慢的多股 RNA 和动力迅速的低分子量单股 RNA。

口蹄疫对外界环境和一般消毒药抵抗力较强。酚、酒精、氯仿等消毒药对此病毒不起作用。在自然情况,含病毒的组织 and 污染的饲料、器具、皮毛及土壤可保持传染数周至数月。用 50% 甘油生理盐水 5℃ 处理可保持病毒 1 年以上,而福尔马林、乳酸、高锰酸钾是较好的消毒剂,且 2% NaOH 溶液 1~2 min 杀死病毒。

2 口蹄疫病毒的血清型

口蹄疫病毒有 7 个血清型、80 多个亚型和众多差异明显的病毒株。7 个型分别是 A (甲) 型、O (乙) 型、C (丙) 型、SAT₁ (南非 I)、SAT₂ (南非 II) 型、SAT₃ (南非 III) 型和 Asia I (亚洲) 型。每个型内又有亚型,亚型内又有众多抗原差异显著的毒株。血清型间不存在交叉免疫现象,型内亚型间交叉免疫程度变化幅度较大,亚型内各毒株之间也有明显的抗原差异。

据世界口蹄疫咨询实验室 1977 年公布的资料,亚型编号 65 个,实际 61 个。其中 A 亚型 32 个 (缺 A₆、A₉)、O 亚型 11 个 (缺 O₄)、C II 型 5 个、SAT₁ 亚型 7 个 (缺 SAT₁₋₂)、SAT₂ 亚型 3 个、SAT₃ 亚型 4 个和 Asia 亚型 3 个,共计 63 个,见表 2。

口蹄疫病毒的多型性,反映了病毒的易变性,7 个型中尤以 A 型最为易变。变异内因是由于衣壳蛋白质肽链的抗原性发生变化,外因是由于免疫压力选择因素。通过疫苗接种后免疫不完全的动物继代病毒,可得到相当于新的亚型的变异毒株。

病毒复制,口蹄疫在牛源细胞培养中复制并产生 CPE,其能在猪、羔羊和山羊肾细胞、兔肺、猪(PK-15)和仓鼠(BHK-21)细胞中生长。大多数毒株能适应多种实验动物:6~8 日龄乳鼠对病毒敏感;病毒能使雏鸡舌部产生病变;某些毒株能在鸡胚绒毛尿

囊膜上生长。

口蹄疫病毒不能凝集各种动物的红细胞。

表 2 各型口蹄疫在世界的分布(世界口蹄疫查询实验室材料)

型 别	亚型数	在世界的分布	
欧洲型	O	11	有 11 个亚型编号, 缺 O ₄ , 实际为 10 个
	A	32	有 32 个亚型编号, 缺 A ₆ 、A ₉ , 实际为 30 个
	C	5	有 5 个亚型编号
非洲型	SAT ₁	7	有 7 个亚型编号, 缺 SAT _{1~2} , 分布于非洲、
	SAT ₂	3	欧洲、南美洲, 亚洲业已传入
	SAT ₃	4	分布于非洲
亚洲型	Asia I	3	通称亚洲型, 分布于亚洲、中近东

3 流行特点

病猪是主要传染源, 甚至在出现症状前就带毒。病猪可通过各种分泌物和排泄物排毒, 排毒以破溃的蹄皮为最多(每 10 g 含有 $10^{10.5}$ 感染单位), 其次为呼出的气体和粪便, 甚至猪精液也含毒并能传染疾病。由于猪的排毒量远远超过牛、羊, 因此认为猪在本病的传播中起相当重要的作用。从带毒牛分离的病毒(无论是强毒还是弱毒)对猪的毒力比对牛的更强些, 带毒牛所排出的毒在猪群中通过增强毒力后可能再传染牛而引起流行。

接触感染, 或者经空气传播。病毒在病变部大量存在, 随着水疱的破裂而污染厩床。可混于唾液、呼出气形成飞沫而传播。

猪较易感口蹄疫病毒, 但在流行严重的某地区, 可能不感染牛、羊, 同时流行牛、羊口蹄疫的地区, 可能不易感染猪。无明显季节性。一般在冬末春初, 或畜产品及猪频繁交易时猪口蹄

疫易发生。

4 临床症状

潜伏期一般2~3天,最长可达15天,体温升高至40~41℃,精神不振,食欲减少。口腔黏膜,包括舌唇、齿龈、鼻镜、颊腭和蹄部皮肤(蹄叉、蹄冠、蹄踵)和母猪乳房上出现水疱,水疱明显凸出,里面充满液体,很快破溃,形成烂斑。病猪疼感加剧,跛行严重,有的甚至蹄壳脱落。哺乳仔猪未见水疱前,就因急性心肌变性而死。

5 剖检变化

心脏病变为特征性。心包膜有弥散性及点状出血,肌纤维细胞由于颗粒变性,其外观有灰白色或淡黄色斑点或条纹,俗称“虎斑心”。

6 诊断

根据临床和流行病学特点,一般不难做出初步诊断。需确诊和定型则进行实验室检验,即分离病毒和血清学试验。

口蹄疫与下列几种疫病易混淆,应注意鉴别。

牛瘟:在口腔黏膜呈坏死性病变时,与口蹄疫糜烂相似,但患口蹄疫时,在口腔黏膜和蹄部先发生水疱,而后出现糜烂,一般取良性经过。牛瘟则不然,口腔、真胃和小肠黏膜呈坏死性炎症,有剧烈的下痢,病死率极高。

牛黏膜病:在口腔黏膜有糜烂病症时,口涎增多,与牛口蹄疫口腔症状有相似处,但牛黏膜病看不到明显的水疱过程,糜烂

面小且浅表，不如口蹄疫严重，一般呈地方流行性；羊和猪虽可感染，但不发病。

牛恶性卡他热：在口腔黏膜也有糜烂，但恶性卡他热在鼻腔黏膜和鼻镜上有坏死过程，角膜混浊，全身症状严重，病死率极高，呈散发，容易与口蹄疫区别。

水疱性口炎：可能会与口蹄疫相混淆，但水疱性口炎流行范围小，发病率低，极少发生死亡；除感染牛、猪外，还能感染马、骡。

一般性口蹄疫应与猪口蹄疫、猪水疱病、猪水疱性疹及水疱性口炎相鉴别。尤其猪口蹄疫，不易使牛、羊和豚鼠感染，且在临床症状、流行病学上与猪水疱病极为相似，因此必须根据其病毒特性和血清学试验加以区别，见表3。

6.1 病料采集

在发病猪中无菌采取水疱皮或水疱液，选症状典型的蹄部或鼻端（吻突）未破溃的病猪3~5头，侧卧保定，先用清水冲蹄部和鼻端，待脱脂棉拭干后，用注射器抽取水疱液，注入青霉素空瓶内，不加保存液和防腐剂。用有齿镊提起水疱皮，再用剪刀剪下整个水疱皮，疱皮重量不少于3g，置于盛有50%甘油生理盐水（1:1）的玻璃瓶内，冷藏送检。

6.2 诊断方法

口蹄疫的实验室诊断方法颇多，大致分为2类，即检测抗原（病毒）和检测血清（抗体）。现就当前较实用和可靠的诊断方法简述如下。

6.2.1 检测病毒抗原的方法

6.2.1.1 反向被动红细胞凝集试验（反向被动血凝） 红细胞膜具有吸附抗原或抗体的特性，将提纯的口蹄疫抗体（IgG）置于pH4.0醋酸缓冲液中致敏绵羊红细胞，当这种被致敏的红细胞（即

表 3 一般性口蹄疫与猪口蹄疫、猪水疱病、猪水疱性疹和水疱性口炎的鉴别

病名	一般性口蹄疫	猪口蹄疫	猪水疱病	猪水疱性疹	水疱性口炎
病原体	口蹄疫病毒	口蹄疫病毒	猪水疱病病毒	猪水疱疹病毒	水疱性口炎病毒
易感动物	牛、羊、猪等，人	猪，人	猪，人	猪	牛、猪、马等，人
流行形式	流行性或大流行性	流行性，主要发生于集中饲养的养猪场	流行性，主要发生于集中饲养的养猪场	地方流行性或散发	常在一定地区散发
发病率	高	较高	较高	10%~100%	30%~95%
病死率	成畜3%~5% 仔猪约60%以上	成猪3%~5% 仔猪约60%以上	无	无	无
口腔水疱 蹄部水疱	少 100%	少 100%	少 100%	100% 100%	100% 无或很少

流行病学

续表 3

病 名	一般性口蹄疫	猪口蹄疫	猪水疱病	猪水疱性疹	水疱性口炎
猪	+	+	+	+	+
黄牛	+	-	-	-	+
水牛	+	±	-	-	+
羊	+	±	-	-	+
马	-	-	-	A、C型+	+
2日龄乳鼠	+	+	+	-	+
7~9日龄乳鼠	+	+	-	-	+
豚鼠	+	±	-	-	+
乳兔	+	±	-	-	+
抗酸试验	对pH值 5.0敏感	对pH值 5.0敏感	对pH值 5.0敏感		
猪口蹄疫 血清保护试验	能保护	能保护	不能保护	不能保护	不能保护
猪水疱病 血清保护试验	不能保护	不能保护	能保护	不能保护	不能保护

红细胞表面均带有口蹄疫抗体)遇到相应的口蹄疫病毒抗原时,便产生抗原抗体的特异性反应,从而使红细胞发生肉眼可见的凝集现象。该法快速、简便、准确,可同步鉴定出口蹄疫毒型和鉴别口蹄疫猪水疱病病原。

6.2.1.2 微量补体结合试验 补体的作用是无特异性的,它能与任何一组抗原抗体复合物结合并不再游离,但不能单独与抗原或抗体结合。当抗原与其相应的抗体结合成复合物之后,又可与补体结合,但这种反应不能用肉眼观察。如果抗原是红细胞与其相应抗体(溶血素)形成复合物,当有补体存在时,红细胞就发生溶血,如补体已被其他抗原抗体复合物结合,则不溶血。这种现象用肉眼是可以观察到的。因此,利用溶血反应作为指示剂,以检验补体是否已被前一种抗原抗体系统所结合,这种试验叫做补体结合试验。前者称为溶菌系统或试验系统,后者称为溶血系统。如果溶菌系统的抗原抗体是相应的,则被结合,加入溶血系统后不发生溶血;反之,两者不对应,则补体游离,加入溶血系统后发生溶血。所以在补体结合试验中,溶血判为阴性,不溶血则判为阳性。

6.2.1.3 酶联免疫吸附试验(ELISA) 20世纪80年代以来,国外常采用ELISA鉴定口蹄疫和猪水疱病病毒。国内也有人试用该法对FMDV和XSDV进行检测,由于IgG的纯度不高,经常出现非特异性反应,影响了检测的准确性,使推广应用受到限制。

ELISA技术虽然多种多样,但一般以双抗体夹心法居多。用最适浓度抗口蹄疫血清的IgG包被酶标板孔4℃过夜,经洗涤后加入待检抗原于37℃保温1h,洗涤后再加辣根过氧化物酶标记的兔抗豚鼠血清的IgG于37℃保温1h,洗涤后加底物溶液(邻苯二胺和 H_2O_2),30min后用2M H_2SO_4 中止反应,751型分光光度计492nm测定光密值或在酶标检测仪上直接测定。阳性OD值为0.7~0.9;阴性OD值为0.1~0.3。

6.2.2 检测血清抗体的方法

6.2.2.1 正向间接红细胞凝集试验(间接血凝试验) 该试验是以口蹄疫 O、A、C、Asia 1 型病毒和猪水疱病病毒的细胞培养物(细胞毒)经 PEG 浓缩,蔗糖密度梯度超离后纯化的病毒抗原分别致敏戊二醛鞣酸处理的绵羊红细胞,而制成的血凝抗原试验,用于快速检测动物血清中的口蹄疫和猪水疱病特异抗体水平。

该法简易、快速、特异、直观,是当前测抗的实用方法之一。

6.2.2.2 琼脂扩散试验 抗原抗体在琼脂凝胶中,各以其固有的扩散系数扩散,当两者相遇时,在比例适当处发生结合而形成肉眼可见的沉淀带。

另外,还有免疫荧光直接检测口蹄疫带毒肉品、微量补体结合试验、对流免疫电泳检测抗体等方法,这里就不一一介绍了。

7 疫苗与免疫

在病毒感染细胞中可出现相关抗原 VIA(Virus infection associated),是一种不具活性的 RNA 聚合酶,当病毒粒子进入细胞,经细胞蛋白激活才有酶的活性,能诱发 VIA 抗体,但无型特异性。一般只有活毒感染后,在宿主血清中才有 VIA 抗体,则注射灭活苗不产生 VIA 抗体,故 VIA 琼扩试验可作为检疫口蹄疫的重要手段。

口蹄疫病毒似乎能够变异,不断有新亚型出现。各个亚型的抗原性互不相同。某一型口蹄疫感染康复的猪,一般具有抵抗同一型病毒的感染达 6 个月之久,但对另型病毒无抵抗力,可立即感染,呈典型症状。因此,预防口蹄疫就要有特异性的亚型疫苗。可应用补体结合和病毒中和试验定型。猪注射后可产生免疫应答数月。成年猪痊愈后可成为带毒猪。

国外大多数文献报道口蹄疫疫苗接种动物后是以体液免疫为