

黑龙江省冬春季重大动物疫病防控技术指南

黑龙江省冬春季气候寒冷,畜禽抗病力下降,疫病防控难度加大,动物疫病发生风险高。要全面强化畜禽养殖、屠宰、交易、运输等环节动物防疫措施,确保冬春季畜禽健康和养殖生产安全。

构筑有效免疫屏障

养殖场户要严格做好牲畜口蹄疫、高致病性禽流感、布鲁氏菌病强制免疫,统筹做好猪瘟、猪流行性腹泻、新城疫、羊痘、羊三联、猪圆环病毒病、猪气喘病等其他病种的常规免疫,确保免疫密度和质量,构筑有效免疫屏障。要加强免疫效果监测,对免疫抗体水平不达标的畜禽群体,及时加强免疫,确保畜禽始终处于免疫保护状态。

坚持临床巡查监测

养殖场户要加强畜禽健康状况巡查,重点关注畜禽饮食、排便、体温、行为状态等,定期开展病原学检测,发现疑似重大动物疫病症状以及畜禽异常死亡的,要立即报告当地农业农村主管部门或动物疫病预防控制机构,采集样品送检,并做好隔离、消毒等应急处置措施,防止疫情扩散。

加强畜禽饲养管理

养殖场户要注意畜禽防寒保暖,保证畜禽舍内光线充足,通风良好,维持舍内适宜的温湿度,防止温湿度骤变。需使用垫草的棚舍,要勤换垫草(垫料),勤清理粪污,避免病原滋生。饲料、饮水中

应加入适量维生素、电解质等营养物质。在制定药物预防方案时,要防止添加药物种类过多、用药时间过长、剂量过大及过分依赖药物预防等问题。

做好全面消毒灭原

养殖场、屠宰场所要坚持定期消毒,屠宰车间及生产线要坚持宰前宰后彻底清洗消毒,运载畜禽车辆装前卸后及时清洗、彻底消毒,防止病原污染和扩散。环境及用具清洗应选用去油渍等有机物质性能好的清洗剂,消毒药品应选用低温环境下消毒效果好的消毒剂,使用温水稀释配制消毒液,适当增加消毒液浓度和消毒频率。舍(车间)内墙壁也可用白灰粉刷,金属用具也可用火焰消毒,舍外冬季消毒可使用加入了防冻剂的消毒液,或撒布新鲜生石灰,确保消毒剂撒布(喷洒)均匀,避免出现消毒空白点。

确保环境生物安全

养殖、屠宰、无害化处理场所要完善并严格执行各项防疫制度,定期检查生物安全措施,检修防疫屏障设施,严格人员管理,规范作业行为,严禁场内外人员、车辆等交叉流动,严把入场人员、车

辆、物品等清洗消毒关,强化防鸟灭鼠驱蚊蝇措施。要保持无害化处理设施正常运行,确保安全处理病死动物及其污染物。畜禽尸体要用密封袋和专用车辆运输。相关人员要做好安全防护工作,防止人畜共患传染病病原侵袭,避免病原散播。

强化重点疫病防控

(一)非洲猪瘟:猪场要强化生物安全防护措施,严把进场关,严格控制人、车、物、猪在场内流动。加强临床巡查,一旦发现猪只出现嗜睡、轻触不起、采食量减少、发热、皮肤发红、关节肿胀/坏死、咳嗽、腹式呼吸、育肥猪死亡率增高、母猪流产或出现死胎/木乃伊胎等异常情况时,第一时间采样检测。日常监测要以核酸和抗体检测相结合的方式,核酸检测可同时采集口鼻拭子和血液混样检测,增加检出率。环境检测应重点采集料槽、粪沟、栏杆、风机、水帘、漏粪地板、饮水器等部位的样品。猪场一旦发现疫情,立即按程序报告,严格按照非洲猪瘟疫情应急实施方案处置。

(二)高致病性禽流感:要强化水禽和家禽的免疫,及时监测抗体水平,随时进行补免,构建免疫屏障。散养户避免

猪、鸡及水禽混养,规模场采取防鸟措施,阻断家禽与野禽接触。加强对野禽栖息地周边区域的消毒,必要时可采取隔离防范措施。

(三)口蹄疫:口蹄疫易感动物种类多,感染途径广,感染动物在潜伏期就可排毒,疫情传播风险大。疫苗免疫是口蹄疫防控的有效手段。规模场要根据动物生长周期、母源抗体、疫苗效力、免疫持续期、疫病流行状况等制定科学、合理的免疫程序。疫苗免疫后,要及时进行免疫抗体水平监测。牛羊免疫后21天、猪免疫后28天采样进行抗体监测,根据监测结果及时补免或调整免疫程序。口蹄疫群体免疫密度应常年保持在90%以上。散养牲畜要在集中免疫基础上,及时对免疫不合格和新补栏牲畜进行补免。

(四)牛结节性皮肤病:加强临床监测排查,提高冬春季动物舍内灭虫、消毒频次,切断疫病传播途径。一旦发现病牛浅表淋巴肿大,特别是肩前淋巴肿大,奶生产奶量下降,精神消沉,不愿活动,眼结膜炎,流鼻涕,涎液,头、颈、肩部、乳房、外阴、阴囊等部位形成皮肤结节,要立即向所在地农业农村主管部门和动物疫病预防控制机构报告,并严格按照《牛

结节性皮肤病防治技术规范》进行处置。

(五)布鲁氏菌病:要切实做好布鲁氏菌病免疫接种工作,对新补栏牲畜应及时进行补免,确保免疫密度。免疫时要注意做好人员安全防护,为防疫人员配备防护服、眼罩、口罩、手套等防护用品。要充分利用广播、报纸、电视、网络等媒体,广泛宣传布鲁氏菌病防控知识,提升养殖场户和公众防范意识,形成群防群控的良好社会氛围。

(六)小反刍兽疫:冬春季是羊肉消费高峰期,活羊调运频繁,小反刍兽疫疫情发生风险增大。要加强日常监测排查,及时发现和消除疫情隐患。要强化活羊调运监管,严禁由疫区调入活羊或羊肉产品。对用于屠宰的羊,经产地检疫合格后,直接运达目的地屠宰场屠宰,避免中途卸车或继续饲养。

(七)绵羊痘/山羊痘:养殖场户要加强饲养管理,避免舍内温度过低,提高舍内消毒和杀虫频次,消灭传播媒介。同时要加强对羊只体温和,一旦发现羊只体温升高,皮肤上有明显局灶性充血斑点、水泡、结节等现象,要立即向所在地农业农村主管部门报告,并严格按照《绵羊痘/山羊痘防治技术规范》处置。

(八)仔猪腹泻:冬春气候多变,天气寒冷,是仔猪腹泻的多发期。对猪流行性腹泻病毒、猪传染性胃肠炎病毒、轮状病毒等引起的腹泻,可对母猪进行免疫,使仔猪获得母源抗体。对大肠杆菌、沙门氏菌等引起的腹泻,可选择敏感药物进行药物预防和治疗。要把好产前预防关,产后护理关和仔猪断奶关。产前对产房进行彻底清扫、冲洗、消毒,换干净垫草。新生仔猪要注意防寒保暖,把初乳关,增强仔猪的抵抗力。仔猪断奶前提早补料,逐渐增加饲料的饲喂量,断奶后不宜突然更换饲料,要限制高蛋白、高碳水化合物饲料的饲喂,增加日粮中纤维素的含量。对于发病仔猪应立即隔离到清洁干燥、温暖的猪舍中,加强护理,及时清除粪便和污染物,并实行对症治疗。

(九)牛病毒性腹泻:冬季是牛病毒性腹泻病的高发期。养殖场户要加强临床观察,一旦发现病牛精神沉郁,厌食,鼻、眼处有浆液性分泌物,鼻翼及口腔黏膜表面糜烂,流产,产下先天性缺陷犊牛等异常情况,应立即进行检测确认,同时采取隔离、消毒等防控措施。必要时,采取淘汰和无害化处理措施,避免造成进一步经济损失。

(黑龙江省农业农村厅)

河南省犊牛腹泻隐孢子虫流行情况调查

薛永康 张震 李静茹 孙贝贝 鲁晓娜 闫磊

犊牛腹泻具有较高的感染率和高死亡率,临床上治愈率低,给牧场带来较大的损失。隐孢子虫则是世界上引起动物和人类腹泻的最常见的寄生性原虫之一。到目前为止,已报道的有效虫种有30多个。犊牛是隐孢子虫的主要宿主,有4种隐孢子虫在腹泻牛粪便中常检出,分别是安氏隐孢子虫(Cryptosporidium Andersoni, C.andersoni)、瑞氏隐孢子虫(Cryptosporidium ryanae, C.ryanae)、牛隐孢子虫(Cryptosporidium bovis, C.bovis)和微小隐孢子虫(Cryptosporidium parvum, C.parvum)。

不同阶段的牛感染隐孢子虫类型也有差异。微小隐孢子虫感染犊牛后,通常是无症状的,也可能发展为严重的脱水腹泻,是犊牛腹泻的重要因素,也是一种潜在的人畜共患病虫种。本研究通过采样检测河南省内犊牛腹泻隐孢子虫种类分布,旨在为河南省隐孢子虫导致的犊牛腹泻防控提供参考资料。

材料

1、试验样品

采用直肠取样法,采集3日龄到6月龄的犊牛粪便样品,同时记录牛只的其他相关信息。共收集腹泻症状犊牛粪便样品153份和非腹泻症状犊牛粪便样品65份。

2、主要试剂

琼脂糖(批号为A8201)、50×TAE缓冲液(批号为20200309),购自北京索莱宝;无水乙醇(批号为20160719),购自上海沃凯生物;DNA分子量标准(批号为DS2000)、2×PCR MIX(批号为20190507),购自广州东盛;异丙醇(批号为20180727),购自天津市大茂化学试剂厂;GV病毒DNA/RNA提取试剂盒,购自上海基灵。

3、主要仪器

电泳仪(型号为DYY-10C),购自北京市六一仪器厂;净化工作台(型号为SW-CJ-1D),购自苏州净化设备有限公司;Laboratory centrifuge(型号为Sigma 1-14),购自德国SIGMA实验室离心机股份有限公司;PCR仪(型号为ABI Veriti 96),购自美国应用生物系统公司;快速混匀器(型号为SZ1),购自金坛市晶玻实验仪器厂;超低温冰箱(型号为DW-88L728J),购自青岛海尔特种电器有限公司;冰箱(型号为BCD-332W),购自西门子股份公司;凝胶成像仪(型号为FluorChem E),购自美国Protein Simple公司;核酸提取仪(型号为Excycle-EP),购自上海基灵。

方法

1、样品DNA提取

样品到实验室后,使用快速混匀器振荡5分钟(如果样品比较浓稠可以1:1添加生理盐水稀释)。将样品冻融1次(-20℃冷冻0.5小时,然后室温解冻)。使用Excycle-EP核酸提取仪进行样品基因组提取。提取后,-20℃暂存,用作DNA扩增。

2、隐孢子虫种类鉴定

对隐孢子虫种的18 rRNA(SSUrRNA)进行基因序列分析,使用引物进

行PCR扩增(微小隐孢子虫阳性及阴性对照参照IDEXX隐孢子虫ELISA试剂盒检测结果)。

3、隐孢子虫SSU基因PCR扩增

隐孢子虫SSU基因PCR扩增分两轮进行。第一轮反应:按照表1进行配液,按照表2进行第一轮反应。第二轮反应:用去离子水对第一轮扩增产物进行10倍稀释,充分振荡,用作第二轮反应模板。第二轮PCR反应体系也按照表1配制,按照表2进行第二轮反应,每个样品扩增3个平行。

4、DNA序列分析

所有阳性样品PCR产物均使用SanPrep柱DNA凝胶提取试剂盒纯化,并使用ABI 3730(Applied Biosystems)自动测序仪测序。用二次PCR引物对两个方向进行测序,证实了测序的准确性。分别使用EditSeq 5.0和Chromas 1.62程序查看原始核苷酸序列和正向和反向的色谱图。使用ClustalX(ClustalX 2.1)软件对核苷酸序列进行排列和分析。然后使用基本的本地对齐搜索工具,将同源序列与GenBank中的同源序列进行比较,确定隐孢子虫的种类。

5、数据的统计分析

根据隐孢子虫种类、年龄组的不同,比较隐孢子虫感染在腹泻和非腹泻犊牛中的流行情况。变量之间的关系使用 χ^2 检验分析, $P < 0.05$ 时被认为是差异显著的。使用SPSS软件进行统计分析(V.22)。

结果

1、犊牛隐孢子虫检出情况

在14个牧场收集的153份腹泻犊牛粪便样品中,有45份(29.4%)隐孢子虫阳性,场内感染率从0.0%(0/4)到63.6%(7/11)不等。牧场1隐孢子虫感染率最高,为63.6%,牧场4、牧场6、牧场7、牧场12感染率最低,为0%($\chi^2=93.26, P < 0.005$,牧场1和牧场4、6、7、12之间差异显著)。14个牧场65份非腹泻样品检出15份隐孢子虫阳性,感染率为23.1%。

2、隐孢子虫种类在牧场和年龄上的分布

对153头腹泻犊牛的45份隐孢子虫阳性样本进行测序,分别为C.parvum、C.bovis、C.ryanae和C.andersoni。除了C.ryanae,其他三种在腹泻和非腹泻样品中均有检出。在14个牧场的腹泻样本中,22例为C.parvum,12例为C.bovis,6例为C.ryanae,5例为C.andersoni。此外,在14个牧场65份非腹泻样品中检出C.andersoni(n=11)、C.bovis(n=3)和C.parvum(n=1)。在所调查的腹泻和非腹泻样品中均未发现混合感染的现象。

本次研究中,在腹泻犊牛隐孢子虫感染率最高的牧场1中发现,C.bovis为优势种,占该牧场隐孢子虫感染的85.7%;C.ryanae占隐孢子虫感染率的14.3%。在牧场1、牧场2、牧场10,仅在腹泻犊牛粪便中检出隐孢子虫感染。在牧场12中,隐孢子虫感染仅在非腹泻犊牛粪便中检测到。调查发现,C.parvum和C.bovis是14个牧场的两个优势种,分别占隐孢子虫阳性腹泻样本的48.9%和26.7%。50%的牧场中均检出

C.parvum。腹泻牛的种群分布与年龄有关。在1周一1月龄时感染率最高,达58.3%(14/24),4—6月龄时感染率最低,为10.3%(3/29)。C.ryanae普遍在1周一1月龄检出,C.andersoni在1—2月龄时检出率较高,而C.parvum则在2个月龄以下时检出率高。与其他三种类型相比,C.andersoni的检出率随年龄增加而增加。

在腹泻和非腹泻牛之间,隐孢子虫感染率差异不显著($\chi^2=3.66, P > 0.05$),C.bovis的感染率也不显著($\chi^2=0.81, P > 0.05$)。然而,C.parvum和C.ryanae的感染率在腹泻和非腹泻牛之间差异显著($\chi^2=12.10, \chi^2=4, P < 0.05$)。在4种隐孢子虫中,C.andersoni在腹泻牛中的检出率低于非腹泻牛,其他3种隐孢子虫类型在非腹泻牛中检出率低于腹泻牛($\chi^2=6.45, P < 0.05$)。

讨论

隐孢子虫于1971年首次从腹泻牛只上分离出来。此后,不同国家和地区相继出现了关于隐孢子虫病的报道。本研究系统调查了河南省犊牛腹泻病隐孢子虫种类及分型,发现14个牧场的153头腹泻犊牛粪便样本中有45个隐孢子虫呈阳性。

本研究中腹泻犊牛粪便样品的隐孢子虫总感染率为29.4%,高于宁夏(20.7%, 251/1215)、山西(20.3%, 52/258)、黑龙江(5.3%, 27/507)及波兰(17%, 119/700)的感染率,但低于马来西亚的感染率(36%, 18/50)。在本研究中发现非腹泻牛只感染隐孢子虫,这与先前的相关报道一致。非腹泻牛只隐孢子虫的检出率为23.1%(15/65),高于中国西部地区(4.0%, 22/545),低于青海省(24.2%, 142/586)的检出率。隐孢子虫病在各地区的流行性存在一定的差异,造成差异的因素有很多,例如研究方法的区别、研究动物年龄的不同、样本量的大小、取样时宿主健康状况、取样时

组分名称	需量(μL)
2×PCR MIX	22.5
上下游引物各(20 μmol/L)	1
DNA模板	2
超纯水	23.5

▲表1 隐孢子虫SSU基因PCR反应体系(50μL)

反应阶段	第一轮		第二轮		
	温度(℃)	时间	温度(℃)	时间	
预变性	94	5 min	94	5 min	
	变性	94	50 s	94	50 s
		退火	55	30 s	58
延伸	72	90 s	72	90 s	
	72	10 min	72	10 min	

▲表2 隐孢子虫SSU基因PCR扩增条件



冬季犊牛多发病的防治



■本报记者 杨丽霞 摄

一、冬季犊牛多发病的类型

1、牛呼吸疾病综合征(BRD)

冬季牧场为了保温,通常导致牛舍通风不畅,处在相对密闭的环境下,因此最容易引发犊牛呼吸疾病。能引起牛呼吸疾病综合征的病原种类较多(细菌、病毒及支原体等),在牛群中不同病原菌常以混合感染的形式造成严重发病,导致临床诊断异常困难。

2、混合感染性腹泻

造成犊牛腹泻的因素有很多,包括环境因素、饲养管理和微生物感染等。而冬天比较寒冷,如不注意防寒保暖,冷空气会对腹部造成侵袭,导致胃肠道的蠕动加快,容易出现冬季腹泻。犊牛自身免疫力较低,容易受到病毒、细菌等微生物混合感染,导致胃肠道黏膜出现损伤、炎症,腹泻严重,从而对犊牛生产造成巨大的经济损失。

二、防治措施

1、优化养殖环境

在冬季之前做好养殖准备工作,为犊牛准备好专门的犊牛区,保证犊牛区内环境洁净,通风和保暖效果好,并给犊牛穿保暖马甲,垫草每天更换一次,防止湿气过重使得犊牛出现感冒或者其他疾病,影响其正常生长。

2、做好产房犊牛清洁工作

针对粪口感染风险,建议牧场购置带龙头的液体储存容器,准备一次性洁净纸巾和塑料手套。将新洁尔灭用烧开后冷却至25℃的温开水进行稀释,稀释至浓度为1%(操作过程中水温要保持在20℃以上)。然后打开水龙头,将纸巾打湿为犊牛擦拭,注意眼睛外周一鼻孔一嘴巴的顺序进行擦拭清洁,中间可更换纸巾。

3、做好免疫和药物预防

为了更好地防治各类疾病,还应建立科学的免疫程序,保证

各项免疫工作实施到位,提升免疫效果。保证各类防治疫病的疫苗都按时按量接种,尤其母牛在接种产气荚膜梭菌疫苗时,还需保证免疫次数(至少二针),具有免疫效用,保证初乳中有足够量的抗菌中和抗体让犊牛获得。同时,还可以在犊牛的饲料中加入一些黄芪多糖等药物,不仅能提高疫苗免疫抗体水平,也可抵抗病毒感染。

4、做好饲喂工作

做好饲喂工作能保证犊牛所摄入的各类营养均衡充足,有效提高其免疫力,抵御传染性疫病。首先,饲料的选择应结合犊牛的生长阶段,各类营养物质的摄入量要均衡,尤其是蛋白质和微量元素的补充必须及时适量。犊牛,建议饲喂犊牛的奶作巴氏灭菌后再给犊牛食用,否则可能会使大量微生物侵入到犊牛体内,导致其患病。饲喂最好是能够定时定量地进行,可以减少犊牛的应激反应。

5、治疗措施

针对冬季犊牛易发疾病还需及时采取措施对症治疗,争取从根源上解决疾病。如针对呼吸疾病可以使用甘草、板蓝根、冰片等药物,将药物与饲料混合在一起后喂给犊牛。同时在临床上还可以应用抗生素注射治疗,将中西医结合在一起,能够发挥更好的治疗作用。而针对肠道疾病则可以应用具有止泻作用的药物来缓解犊牛腹泻症状,对于因为腹泻脱水比较严重的犊牛,要及时应用口服补液盐,然后在此基础上应用抗生素进行治疗,防止继发性感染。针对细菌性疾病的,可以通过药敏试验选取高敏药物进行治疗,而针对免疫低下感染病毒的,则可以通过提升其免疫力有效预防疾病,比如可以给犊牛添加黄芪多糖和维生素C等。

(奶牛产业技术体系网)