

豫南地区布鲁氏杆菌的流行病学调查

陶长城

河南省信阳市动物卫生监督所,河南信阳 464000

摘要 2016–2017 年,对河南信阳市七县三区的年存栏 50 头以上的养牛场 94 个、年存栏 100 头以上的羊场 63 个、5 个规模养猪场进行布鲁氏杆菌病的流行病学调查,调查结果显示:采集 20 个养牛场 100 份血样,阳性率 8%,阳性场有 2 个,阳性场率 10%。养羊场病原学没有发现阳性,血清学检测 30 个场,阳性场数 21 个,阳性场率 70%,样品阳性数 126,样品阳性率 42%。养猪场病原学没有发现阳性,血清学 5 个场 100 份样,只有 1 个阳性,阳性率 1%。

关键词 布鲁氏杆菌;易感动物;流行病学调查;实验室检测

近年来,河南省很多地区布鲁氏杆菌病感染率呈现逐年增加的趋势,2016 年达 4 000 多例。为了防控布鲁氏杆菌病传播,2017 年河南省动物强制免疫实施“两进两退”,把布鲁氏杆菌作为牛、羊必免的疫病之一开始免疫接种。为了摸清布鲁氏杆菌病在信阳地区的感染情况和危害程度,制定科学的防控措施提供技术支持,2016–2017 年间,笔者在信阳七县三区范围内对牛、羊和猪开展布鲁氏杆菌病的流行病学调查和采样后进行实验室检测。

1 材料与方法

1.1 流行病学调查

2016–2017 年,对信阳市七县三区的年存栏 50 头以上的养牛场 94 个、年存栏 100 头以上的羊场 63 个、5 个规模养猪场进行布鲁氏杆菌病的流行病学调查,20 个牛场采集血样,每个牛场随机抽取 5 份血样,还抽取 3 个牛组织样(来自有流产发生的 2 个牛场);30 个羊场采集血样,每个羊场随机抽取 10 份血样,在有流产发生的羊场采集 18 例组织样;猪场采样 5 个场,每个场随机抽取血样 20 份。

1.2 实验室检测

1)病原学检测:采集流产胎儿或胎盘 21 例,直接涂片镜检。其中牛 3 例,羊 18 例,牛的其中 1 例

采集地是泌河区,另 2 例来自息县,羊的 18 例分布在各个县区。

2)血清学检测:初检使用国标(GB/T18646–2002)虎红平板凝集试验,复检使用国标(GB/T18646–2002)试管凝集试验。

①材料与准备:抗原、标准阴性血清、标准阳性血清都是购自青岛动物流调所,60 cm × 60 cm 的干净玻板 3 块(玻板上划成 4 cm × 4 cm 的方格),吸管(1 滴 0.03 mL),牙签,一次性手套、口罩等防护用具。

②操作方法:在干净的玻板方格中加注阴性血清、阳性血清、受检血清,再在血清旁加 1 滴抗原,用牙签混匀。

③判断:在阴性对照、阳性对照成立的情况下,对被检血清进行判定,受检血清 4 min 内出现肉眼可见凝集现象判为阳性,无凝集现象成均匀粉红色者判为阴性。

3)虎红平板凝集试验。虎红平板凝集试验阳性的受检血清样品带回实验室进一步做布病的试管凝集试验。

①材料与准备:0.5%石碳酸、10%盐溶液稀释液,抗原、标准阴性血清、标准阳性血清都是购自青岛动物流调所,凝集试管、试管架,吸管,恒温培养

箱,一次性手套、口罩等防护用具。

②以羊、猪为例稀释受检血清:第 1 试管加入 1.15 mL 的稀释液,第 2~4 试管各加入 0.5 mL 稀释液,然后用 1 mL 吸管吸取被检血清 0.1 mL 加入第 1 试管内混匀(混匀方法:将试管内混合液吸入吸管,再沿试管壁徐徐吹入试管中,如此吸入吹出 3~4 次充分混匀),用该吸管吸入 0.25 mL 混合液弃去。再从第 1 个试管内吸取 0.5 mL 混合液加入第 2 个试管,用该吸管如前法混合均匀,再从第 2 试管内吸取 0.5 mL 混合液加入第 3 个试管,如此倍比稀释至第 4 试管,弃去 0.5 mL 混合液,稀释完毕后从第 1~4 试管血清稀释度依次为 1:12.5、1:25、1:50、1:100。牛的血清稀释法与上述基本一致,只是第 1 管加 1.2 mL 稀释液和 0.05 mL 被检血清。将 0.5 mL 20 倍稀释的抗原加入已稀释好的血清管中并振摇均匀,羊和猪的血清稀比例释依次是 1:25、1:50、1:100、1:200,牛的血清稀释比例依次是 1:50、1:100、1:200、1:400。阴性对照、阳性对照稀释和加抗原的方法与被检血清相同,抗原对照:20 倍稀释抗原液 0.5 mL,再加 0.5 mL 稀释液观察抗原是否有自凝现象。放置在 37~40 °C 恒温培养箱中 24 h 取出检查并记录结果。

③判定:参照比浊管判定凝集度,比浊管的制备见表 1。

表 1 比浊管的制备

管号	1:40 稀释抗原/mL	稀释液/mL	清亮度/%	结果
1	0.00	1.00	100	++++
2	0.25	0.75	75	+++
3	0.50	0.50	50	++
4	0.75	0.25	25	+
5	1.00	0.00	0	-

注:++++:菌体完全凝集 100%下沉,上层液 100%清亮;+++ :菌体几乎完全凝集,上层液 75%清亮;++ :菌体凝集显著,上层液 50%清亮;+ :有凝集物,液体 25%清亮;- :无沉淀,液体均匀浑浊。

牛 的 1:100 血清稀释,猪、羊的 1:50 血清稀释出现 ++ 凝集时受检血清判为阳性;牛的 1:50

血清稀释,猪、羊的 1:25 血清稀释出现 ++ 凝集时受检血清判为可疑,可疑的家畜经 3~4 周后复检如果仍为可疑,牛、羊判为阳性,猪重检可疑,可根据临床症状和同场内有没有大量阳性病例判定,如没有则可判为阴性。

2 结果与分析

采集 20 个养牛场 100 份血清样品,只有 8 份阳性样品,阳性率 8%,阳性场有 2 个,阳性率 10%。根据流行病学调查和检测结果表明信阳地区养牛场有布鲁氏杆菌感染:采集 20 个养牛场 100 份血样,只有 8 份阳性,阳性率 8%,阳性场有 2 个,阳性率 10%。养羊场病原学没有发现阳性,血清学检测 30 个场,阳性场数 21 个,阳性率 70%,样品阳性数 126,样品阳性率 42%。养猪场病原学没有发现阳性,血清学 5 个场 100 份样,只有 1 个阳性,阳性率 1%。血清学检测阳性是疫苗免疫的结果。

3 讨论

1)养牛场的 2 个阳性场,一个是肉牛场,一个是奶牛场,其中奶牛场较为严重,5 份样品 2 次检验全是阳性,后来市、县动物疫病预防控制中心的工作人员对该场进行普检,检出染疫牛 20 多头,全部扑杀。另一个肉牛场普检查出 2 头阳性牛,也给予扑杀。

2)这 2 年国家要求对牛、羊布鲁氏杆菌病实施强制免疫,从流行病学调查来看,养牛场执行并不理想,养羊场执行较好,但从免疫效果来看并不理想。而从免疫学和生态学上看,对牛羊实施强制免疫还要进一步调研。

3)养羊场也经常见到流产,但大部分是机械性流产、营养性流产、中毒性流产,也有疾病性流产,不过因布鲁氏杆菌引起的流产很少见,可能有 2 个方面的原因:一是信阳地区养牛的数量和规模都较小,二是与信阳人的生活习惯有关,信阳人大部分都比较喜洁净,养殖场也很注重卫生和消毒。

【责任编辑:胡 敏】