

## 猪霉形体性肺炎病愈猪的带菌研究

金洪效 储静华 蒋宏林 顾方烈 张菊英 张大隆

(江苏省农业科学院畜牧兽医研究所)

(1983年7月18日收稿)

### 摘 要

人工感染猪霉形体肺炎自然病愈猪40头,用微粒凝集反应,定期测定血清中凝集素消长情况。测得病愈后601~661天,仍可检出凝集抗体。分别用病愈猪肺悬液接种健猪,能部分感染致病。用“活体分离法”和“病肺块接种法”分离培养出的病原菌,经血清学鉴定,证实为猪肺炎霉形体,并能对健猪致病。实验证明:人工感染病愈猪中部分猪只的带菌期至少在601天以上,仍有传染性。因此,病愈母猪不适宜作种猪繁殖用。

国内外许多学者在野外观察中认为猪只感染霉形体性肺炎,疑惑由于带菌猪是感染的主要源泉,但都未作病原菌的分离培养和回归健猪,得出肯定的结论。Pullar(1948)<sup>[1]</sup>报道在澳大利亚190个猪群中爆发肺炎。80%爆发猪群与从已有此病农场购买带菌猪只有关,20%与引进成年种猪有关。Whittlestone(1958)<sup>[2]</sup>称“猪初次感染地方性肺炎后,直到262天,肺内仍可发现形态类似霉形体的微生物。”Bertschinger, H. U. (1975)<sup>[6]</sup>在瑞士,所有感染过霉形体猪群,在肺部病变中,可以找到猪肺炎霉形体的形态(恢复多久不明)。Keller(1976)<sup>[7]</sup>在瑞士所作的无特定病原猪场计划中说,猪场的再感染最大的可能性是宿主带菌者的传染。Goodwin和Whittlestone, P. (1977)<sup>[5]</sup>在英国从1960年至1976年的16年中,实施猪地方性肺炎控制方案,每年“无猪霉形体肺炎场”的感染率为8.3~5.5%,但均查找不出原因。在我国,制定防控措施方案,对于感染猪场的病愈母猪,能否再作种用,意见分歧,但都未做有说服力的科学证据。为此,我们进行人工感染病愈猪的带菌试验,以说明病愈猪的带菌状况,作为指导生产的依据。

### 材 料 和 方 法

**试验健康猪:**购自经我们指导建立的12年未发生猪喘气病的猪场,经X射线透视肺部无阴影,血清检查不含猪肺炎霉形体的抗体的健康猪40头。分两次试验,第一次试验二花脸猪22头,第二次试验二花脸×约克杂交猪18头。

**病愈猪:**未经任何药物治疗,系自然病愈。X射线透视肺病变阴影消失,心肺清晰,定为病愈猪。

**病料:**猪病愈后每隔1~2个月采集血清,检测凝集素消长的情况。用灭菌的棉拭

本试验在何正礼研究员指导下完成,并经审阅修改;李兆发等同志曾参加本试验的部分工作,特此一并致谢。

子自鼻孔和喉头采集病料, 以培养基洗涤, 经蔡氏滤器过滤, 用滤液作“活体分离培养”。剖解后取肺脏作霉形体分离培养<sup>[11]</sup>, 并将肺制成 1:4 Hank's 悬浮液, 接种健猪, 每头猪滴鼻 5 毫升, 连续 3 次, 测病愈猪肺致病性。病肺分离培养按“病肺块接种法”接种于变通的 Swifer's 培养基(KM<sub>2</sub>)。分离培养所得的猪肺炎霉形体, 除逐代观察无细胞培养物的混浊度和 pH 变化外, 并作涂片, Wright's 染色, 以油镜检查肺炎霉形体, 再以猪肺炎霉形体国际参考菌株 J 株(NCTC10110)制备的高免兔血清, 用“微粒凝集反应”鉴定菌株<sup>[9]</sup>抽取已鉴定的猪肺炎霉形体菌株, 以人工感染健猪, 每猪滴鼻接种培养物 2 毫升 × 3 次, 测定分离病原菌对健猪的致病性。

## 试验结果

试验两批猪 40 头。自病状和透视肺部阴影消失后 136~661 天, 经微粒凝集试验检查均为阳性, 仅其中 1 头(83 号猪恢复后 661 天)为可疑。22 头二花脸猪中的 2 头; (31 号猪恢复后 421 天和 37 号猪恢复后 418 天) 的上呼吸道活体培养均分离到猪肺炎霉形体, 并经血清学鉴定所证实。31 号猪于恢复后 643 天和 37 号猪恢复后 641 天宰杀, 又均能自肺脏分离出猪肺炎霉形体, 且经回归健猪发病。18 头约克 × 二花脸杂交猪中, 75 号猪恢复后 614 天宰杀, 以肺悬液接种猪 1/2 发病。\*83 和 \*84 都在愈后 661 天宰杀, 取肺悬液接种猪各 2 头, 全病。这两头猪, 于同日在宰前, 作活体分离, 所得猪肺炎霉形体接种猪各 3 头, \*75 猪愈后 614 天, 作活体分离所得猪肺炎霉形体接种猪 2 头, 未病。很可能由于猪肺炎霉

表 1 第一批猪气喘病病愈猪带菌检查结果(二花脸种猪)

猪号	宰前凝集反应	病愈后活体(天)	血清学鉴定	分离菌接种数	病愈后至(天)	病检查肉变	病种分离培养	血清学鉴定	病接数	备 注
6	+++	—	ND	ND	158	局部萎陷	+	+	0/3	*6 病愈肺 1:4 悬液每头猪 5 ml × 3 次滴鼻
9	**	(409)+	+	ND	629	肺萎陷	+	+	3/3	*9 病愈肺 1:4 悬液每头猪 5 ml × 3 次滴鼻
10	+	(421)+	+	2/2①	644	肺气肿	+	+	ND	① *10 F <sub>11</sub> 4 ml/头 × 3 次滴鼻
13	**	(406)+	+	2/3②	629	肺全萎陷	+	+	ND	② *13 F <sub>11</sub> 2 ml/头 × 3 次滴鼻
14	+	(427)+	+	ND	651	局部气肿	+	+	ND	
15	**	病料污染	ND	ND	637	病肺萎陷	-	-	ND	
16	+++	—	ND	ND	300	肺气肿	-	-	ND	
17	+++	—	ND	ND	315	肺部萎陷	+	+	3/3	*17 病愈肺 1:4 悬液每头 5 ml × 3 次滴鼻
20	**	—	ND	ND	225	病肺萎陷	洁污失传	-	3/3	*20 病愈肺 1:4 悬液每头猪 5 ml × 3 次滴鼻
22	**	—	ND	ND	233	病肺萎陷	+	+	2/3	*22 病愈肺 1:4 悬液每头猪 5 ml × 3 次滴鼻
23	+++	—	ND	ND	136	病肺萎陷	-	-	2/3	*23 病愈肺 1:4 悬液每头猪 5 ml × 3 次滴鼻
28	+	(414)+	+	ND	637	病部萎陷	+	+	ND	
29	**	(406)+	+	ND	630	病部萎陷	-	-	ND	
31	+	(421)+	+	2/2③	643	病部萎陷	+	+	ND	③ *31 F <sub>5</sub> 每猪 2 ml × 3 次滴鼻
33	+	(414)+	+	ND	637	无变化	+	+	ND	
37	**	(418)+	+	ND	641	萎陷	+	+	2/2	*37 F <sub>12</sub> 每猪 2 ml × 3 次滴鼻
38	**	(435)+	+	ND	657	全肺萎陷	+	+	ND	
40	**	—	ND	ND	294	病部萎陷	-	-	2/3	*40 病愈肺 1:4 悬液每猪 5 ml × 3 次滴鼻
41	+++	—	ND	ND	150	病部萎陷	+	+	3/3	*41 病愈肺 1:4 悬液每猪 5 ml × 3 次滴鼻
42	+	—	ND	ND	319	病部萎陷	+	+	2/3	*42 病愈肺 1:4 悬液每猪 5 ml × 3 次滴鼻
44	**	病料污染	ND	ND	634	病部萎陷	病料污染	ND	ND	
8	**	(418)+	+	ND	641	病部萎陷	+	+	2/2	*8 F <sub>12</sub> 每猪 2 ml × 3 次滴鼻

ND = 未做, — = 未分离培养到, + = 分离培养到猪肺炎霉形体

形体经过传代易失去致病性之故。本试验结果说明,部分自然病愈猪在病状和透视肺部阴影消失之后,至少601天仍然带菌,并有致病力。(详见附表1,2)。

表2 第二批猪气喘病病愈猪带菌检查结果(约克×二花脸杂交猪)

猪号	宰前凝集反应	病愈后(天)	分离物鉴定	分猪发菌数	宰杀(天)	病肺肉眼检查病变	病种分离物培养	分离物鉴定	病愈种猪接液	备注
60	+++	(83)+	+	ND	576	萎陷局部有病变	+	+	ND	
61	+++	(83)+	+	ND	386	病部萎陷	+	+	0/2	*61病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻
62	+++	(83)+	+	ND	386	病部萎陷	+	+	0/2	*62病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻
63	+++	(83)+	+	ND	386	心叶萎陷	+	+	ND	
64	+++	(83)+	+	ND	386	心叶萎陷	+	+	ND	
65	+	(83)+	+	ND	386	肺间质增生萎陷	+	+	ND	
66	++	(49)+	+	ND	434	萎陷	+	+	0/2	*66病愈猪肺1:4悬液每猪5ml滴鼻3次
67	++	(40)+	+	ND	434	病部萎陷	+	+	0/2	*67病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻
68	+	(53)+	+	ND	607	间质增生萎陷	+	+	ND	
69	+	(53)+	+	ND	576	萎陷	+	+	ND	
71	+	(53)+	+	ND	493	左肺叶萎陷	宰杀材料沾污	ND	0/2	*71病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻
72	++	(53)+	+	ND	607	肺萎陷	培养物污染	ND	ND	
74	++	(40)-	ND	ND	607	间质增生萎陷	培养物污染	ND	ND	
75	++	(614)+	+	0/2	644	间质增生萎陷	+	+	1/2	*75病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻,分离物每猪4ml×3次
82	++	(53)-	ND	ND	576	萎陷	宰杀材料污染	ND	ND	
83	±	(661)+	+	0/3	661	间质增生萎陷	+	+	2/2	*83病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻全病,分离物未病。
84	+	(661)+	+	0/3	661	间质增生萎陷	+	+	2/2	*84病愈猪肺1:4悬液每猪5ml×3次滴鼻全病,分离物全病。
85	+	(455)-	ND	ND	480	萎陷	宰杀材料污染	ND	0/2	*85病愈猪肺1:4悬液5ml每猪滴鼻3次。

## 讨 论

一、Hogg, A.等(1976)<sup>[7]</sup>评述了用分离猪肺炎霉形体,试管胶乳凝集试验,微量滴定补体结合反应等方法建立无特定病原(SPF)猪群,在野外应用过程中存在困难,主要原因是难以检出带菌猪,因而继续传染健猪,影响健康猪场的建立与巩固。自1982~1983年,我们结合综防措施,在江苏省内部分种猪场推广使用微粒凝集反应检查猪气喘病感染率,检测17,987头次,检出并淘汰阳性病只,获得比较满意的结果<sup>[10]</sup>。在苏州市的太仓和常熟县种猪场,以及常州市武进县郑陆农场和南京郊区着手建立5个不同类型的无此病的健康场(群)。微粒凝集反应具有血清学特异性<sup>[8]</sup>,它能检出感染过本病而无临床症状和无可见X线透视阴影,剖解也无肉眼病变,而血清呈现微粒凝集反应阳性带菌的病愈猪。试验结果提示,曾感染过气喘病的病愈猪,其中有部分猪是长期带菌猪,它是潜在的传染源。不断剔除带菌猪是建立健康猪场的重要措施。

二、Whittlestone<sup>[2]</sup>和Keller<sup>[7]</sup>关于感染猪直到262天,肺触片发现形态类似霉形体的微生物和亚临床症状候残存病痕可达3~15个月的推测已被本实验反复证实,并查出带菌期长达601~661天(也可能更长)。用微粒凝集反应检查猪场中所有猪只,凡血清

中含有凝集素者,作“活体分离法”或“病肺块接种法”培养多数可分离培养出猪肺炎霉形体,并可经镜检菌体形态和参考菌株的高免兔血清鉴定所证实。

三、病愈猪带菌期长达601~661天以上,仍能感染健猪。国内有些单位以前认为病愈母猪不带菌,可以作为种用,恐仅是短时间的现象。对于临诊病愈母猪没有作病原学和血清学的检查,仅看到病愈母猪所产仔猪,在断奶后进行饲养观察、剖解和断奶后2个月内的X线透视检查,再由于母源抗体影响了检出率。今后在制订此病综防措施时,除建立严格的防疫制度外,对引进种猪要严格检疫,实行“自繁自养和全出全进”的饲养管理制度,还要定期地进行全群猪只的血清学检查,以剔除阳性猪,来建立和保持无猪气喘病种猪场是必要的。

### 参 考 文 献

- [1] Leman, A. D. et al. (1981). Diseases of swine. Fifth edition, 535~546.
- [2] Whittlestone, P. (1976), Advance of veterinary science and comparative medicine. Vol. 20. P. 277-303.
- [3] Tully, I. G., Whittlestone, P. (1979), The Mycoplasmas. Vol. II. P. 134-171.
- [4] Underdahl, N. R., Kennedy, G. A. (1980), Canadian Veterinary Journal. 21(9): 258-261.
- [5] Whittlestone, P. (1979), The Mycoplasma. Vol. II. P. 133-176.
- [6] Bertschinger, H. U. (1975), Vet Bull. Vol. 45. No 7. P. 700.
- [7] 江苏农学院、甘肃农业大学译, (1979), 猪病研究进展(国际猪病兽医学会第四届大会论文选译)。甘肃人民出版社出版。
- [8] 何正礼等, (1980), 畜牧兽医学报, 11(3): 175~186.
- [9] 金洪效等, (1981), 江苏农业科学, (3): 47.
- [10] 毛洪先等, (1982), 中国兽医杂志, 8(1): 2~3.
- [11] 金洪效, (1978), 畜牧兽医文摘, (3): 6~7.

DETECTION OF CARRIER PIGS CONVALESCENT FROM  
EXPERIMENTAL INFECTION WITH *MYCOPLASMA*  
*HYOPNEUMONIAE*

Jin Hongxiao and Chu Jinghua et al.

(*Institute of Animal and Veterinary Sciences, Jiangsu  
Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, China*)

Summary

To detect carriers of *Mycoplasma hyopneumoniae*, an experiment consisting of 40 pigs including 22 locally bred er-hua-lian-middle drawn face pigs and 18 Yorkshire × er-hua-lian hybrids was carried out. All of the pigs bought from a farm free from mycoplasmal pneumonia were instilled nasally with the homogenized lungs of pigs infected with mycoplasmal pneumonia. Most of them showed lesions in the lungs when the chests were examined by X-ray about two weeks post-infection. The pigs recovered within 2-3 months. After both clinical signs and lung lesions of all pigs had completely disappeared, the pigs were examined periodically with microagglutination tests, isolations of *M. hyopneumoniae* by nasal swabs and finally with autopsies. One-hundred-and-thirty-six to 661 days after recovery all the 40 pigs showed positive reactions to microagglutination tests, except one (#83, recovered 661 days later) with “±” sign. From 2 er-hua-lian pigs *M. hyopneumoniae* was isolated by nasal swabs 418-421 days after recovery, and also from the lungs with minimal lesions 641-643 days after recovery in autopsies. The isolates were serologically identified as *M. hyopneumoniae*, and could induce pneumoniae by nasal instillations. From the lungs of 3 pigs of Yorkshire × er-hua-lian, *M. hyopneumoniae* was isolated by nasal swab cultures 614-661 days after recovery and upon autopsy performed 664-661 days after recovery. The lung suspensions from these 3 pigs could induce mycoplasmal pneumonia in 5 out of 6 pigs by nasal instillations, and from the lungs of them *M. hyopneumoniae* were also recovered. The results demonstrated that the sows once infected with mycoplasmal pneumonia, even after long periods of convalescence (661 days as recorded in this experiment), can not be used for breeding a mycoplasmal pneumonia free herd.