

牦牛产气荚膜梭菌病防治技术规范

2026 - 03 - 09 发布

2026 - 04 - 09 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 诊断	1
5 预防	3
6 治疗	4
7 疫情监测与处理	4
附录 A（资料性） 产气荚膜梭菌的分离鉴定	5
附录 B（资料性） 产气荚膜梭菌的毒素检测	6
附录 C（资料性） 产气荚膜梭菌的 PCR 鉴定	7
附录 D（资料性） 瘤胃放气的操作步骤	8

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由西藏自治区农业农村标准化技术委员会提出并归口。

本文件起草单位：西藏农牧大学、西藏自治区动物疫病预防控制中心、西藏自治区农牧科学院畜牧兽医研究所、西藏自治区农畜产品质量安全检验检测中心、林芝市农业农村局畜牧兽医站、四川农业大学、四川省草原科学研究院。

本文件主要起草人：罗润波、索朗斯珠、吴丹、曹随忠、李继帅、蔡重振、甘富斌、李可欣、钟亚男、黄家艳、格桑卓玛、孙建春、石斌、马弘财、贡嘎、拜占春、官久强。

牦牛产气荚膜梭菌病防治技术规范

1 范围

本文件规定了牦牛产气荚膜梭菌病的诊断、预防、治疗和疫情监测与处理等方面的技术要求。
本文件适用于牦牛产气荚膜梭菌病的防治。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB 13078 饲料卫生标准
- GB/T 36195 畜禽粪便无害化处理技术规范
- NY/T 388 畜禽场环境质量标准
- NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范
- NY/T 682 畜禽场场区设计技术规范
- NY/T 1167 畜禽场环境质量及卫生控制规范
- NY/T 3075 畜禽养殖场消毒技术
- NY/T 3457 牦牛舍饲半舍饲生产技术规范
- NY/T 3467 牛羊饲养场兽医卫生规范
- NY/T 4656 动物源产气荚膜梭菌分离与鉴定技术规程
- SN/T 2709 国境口岸产气荚膜梭菌毒素检测方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

牦牛产气荚膜梭菌病

由产气荚膜梭菌引起的牦牛的一种急性传染病，以急性发病、病程短、肠炎、水肿、组织出血和死亡率高为特点，牦牛主要表现为猝死症（A型）和肠毒血症（C型）。

4 诊断

4.1 临床综合诊断

4.1.1 易感动物

犊牛和幼龄牛最易感。

4.1.2 传染源

主要是患病牦牛和带菌牦牛。

4.1.3 传播途径

主要通过消化道传播。

4.1.4 流行特点

一年四季均可发病，春秋季节多发。

4.2 临床症状

4.2.1 最急性型

病牛基本没有任何前期症状，突然死亡。死后腹部明显膨大，有混杂红色泡沫的液体从口腔流出，舌头从口内脱出，肛门外翻。

4.2.2 急性型

病牛体温保持正常或者升高，结膜发绀，呼吸急促，有红色或白色泡沫从口鼻流出，全身肌肉持续震颤，无法稳定行走，倒地不停狂叫，四肢不断划动，最后死亡。

4.2.3 亚急性型

病牛表现出阵发性的不安，发病时两眼圆睁，两耳竖立，呈现高度的精神紧张，之后又逐渐变成安静，重复发作。

4.2.4 慢性型

发病缓和，初期病牛精神状态良好，仅见呼吸加快，呈腹式呼吸；瘤胃蠕动和粪便表现均正常，其病程相对较长。

4.3 病理变化

发病牦牛常见病理变化如下。

- a) 多以全身实质器官广泛性出血和胸腔、腹腔积液为主要特征，瓣胃、肠管最为明显。
- b) A型菌所致的猝死症主要病变为胃黏膜脱落，瓣胃最为明显。
- c) A型、C型菌均可发生肠毒血症，部分病牛见严重的小肠炎，肠管大面积出血。特别是空肠段，呈红褐色，肠内有大量红棕色黏稠液体，肠黏膜脱落，呈弥散性出血，肠系膜呈树枝状出血。
- d) 伴有肺气肿，肺呈鲜红色，有出血斑；部分可见心脏质地变软，心耳表面及心外膜有大量出血点。
- e) 肝脏肿大，呈紫黑色，表面有出血斑；胆囊肿大；腹腔大量积液；淋巴结肿大，呈大理石样，切面黑褐色；脾脏肿大、出血，呈紫黑色；肾脏肿大，有出血点。

4.4 实验室诊断

4.4.1 样品采集及运送

采集肠内容物或粪便，置于无菌采样袋中。样品采集和运送符合NY/T 541的规定。

4.4.2 分离鉴定

具体操作步骤参照NY/T 4656，见附录A。

4.4.3 毒素检测

具体方法见附录B。

4.4.4 PCR 鉴定

参照SN/T 2709合成引物，PCR鉴定方法见附录C。

4.5 结果判定

临床症状、病理变化符合产气荚膜梭菌病特征且毒素检测为阳性，PCR鉴定含有相应毒素基因，确诊为牦牛产气荚膜梭菌病。

5 预防

5.1 饲养管理

饲养管理遵循以下要求。

- a) 场区设计、生产管理符合 NY/T 682、NY/T 3457、NY/T 3467 的规定。
- b) 牦牛常用的饲草饲料主要有青草、青干草、小麦、玉米、青稞，选择品质优良、无污染、无霉变的饲草饲料，饲料和饲料添加剂使用符合 GB 13078 的规定。
- c) 自由饮水，饮水水质符合 GB 5749 的规定，环境质量及卫生控制符合 NY/T 388、NY/T 1167 的规定。
- d) 放牧时根据不同年龄、性别、生产特征、生理阶段、采食习性进行合理组群，实行轮牧和休牧制度。冬春季做好补饲及保温工作，夏秋季做好抓膘配种工作。
- e) 避免在冰滩地放牧，春末夏初时应防止“跑青”加剧乏瘦。放牧时，先让其采食枯黄牧草，后采食青草芽，避免采食过量引起腹泻。

5.2 免疫接种

5.2.1 疫苗选择

符合《兽药管理条例》和《中华人民共和国动物防疫法》的牛产气荚膜梭菌病疫苗。

5.2.2 疫苗接种

对疫区和受威胁区的牛群接种疫苗，按照疫苗使用说明进行免疫。

5.2.3 注意事项

免疫接种遵循以下注意事项。

- a) 选择针对本地区流行菌株疫苗进行免疫接种。
- b) 疫苗保存、接种剂量严格按照使用说明书进行。
- c) 接种前核查牦牛健康状况，接种时避免交叉感染。
- d) 进行免疫抗体效价监测，开展补免工作。
- e) 根据本地区流行病学监测结果，优化免疫程序。

5.3 消毒

5.3.1 消毒制度

日常消毒和紧急消毒相结合，制定并严格执行消毒制度。

5.3.2 消毒管理

消毒管理遵循以下要求。

- a) 消毒剂选择符合《中华人民共和国药典》和《中华人民共和国兽药典》的规定，严格按照说明书使用。
- b) 定期对场区道路、牛舍内部环境及工具进行消毒，在疫病多发季节增加消毒频次。
- c) 场区入口设置可覆盖全车的消毒设施，严格执行消毒程序。生产区设置消毒通道，人员消毒后方可进出。
- d) 消毒记录包括消毒日期，消毒场所，消毒剂名称、生产厂家、生产批号，消毒浓度，消毒方法，消毒人员签字。
- e) 不同生产环节消毒符合 NY/T 3075 的规定。

6 治疗

6.1 治疗原则

臌气的牦牛，先进行放气处理再治疗。治疗遵循强心补液、解毒、镇静、调理肠胃的原则。

6.2 抗菌疗法

兽药的使用符合《中华人民共和国兽药典》的规定。推荐使用林可酰胺类（林可霉素）抗生素，具体使用方法严格按照药物使用说明书进行。有条件的可根据药敏试验选用敏感抗生素。

6.3 对症疗法

严重臌气的牦牛，先进行放气处理再治疗，放气步骤见附录D。严重下痢的牦牛，静脉注射复方氯化钠液或5%葡萄糖生理盐水（1500 mL~2000 mL）。可口服次硝酸铋（5 g~10 g）或活性炭（10 g~20 g）。同时取磺胺脒（40 g~60 g）、碳酸氢钠（40 g~60 g），加适量温水溶解后灌服；或口服黄连素（2 g~5 g）进行消炎。

7 疫情监测与处理

疫情监测与处理遵循以下要求。

- a) 根据养牛场（户或村或牧场）及周边地区产气荚膜梭菌病流行情况制定监测计划，按照计划开展病原学监测。
- b) 周边地区产气荚膜梭菌病流行时应进行紧急监测。
- c) 受威胁牛群进行紧急免疫接种。
- d) 病死牦牛、粪便等污染物按照《病死畜禽和病害畜禽产品无害化处理管理办法》和 GB/T 36195 的规定进行处理。
- e) 该病暴发流行时，按照农业农村部动物疫情报告的规定及时上报并处置。

附录 A
(资料性)
产气荚膜梭菌的分离鉴定

A.1 培养基

胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂、液体硫乙醇酸盐培养基、含铁牛奶培养基、乳糖亚硫酸盐培养基，均为商品化培养基，配置按说明书进行。

A.2 分离培养

产气荚膜梭菌的分离培养步骤如下。

- a) 无菌称取 1 g 牦牛粪便于 10 mL 的生理盐水中，振荡静置后吸取 1 mL 上清液接种于液体硫乙醇酸盐培养基，石蜡液封，在 43 °C 条件下培养 18 h~24 h。
- b) 选取其中有气泡产生的样品接种至胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂培养基。倒置于厌氧培养箱内，于 43 °C 培养 20 h~24 h 后观察菌落形态。典型的产气荚膜梭菌在胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂平板上为黑色菌落。
- c) 从单个平板上任选 5 个黑色菌落，分别接种到液体硫乙醇酸盐培养基，正置于厌氧培养箱内，43 °C 培养 20 h~24 h。

A.3 确证实验

产气荚膜梭菌的确证步骤如下。

- a) 用上述液体硫乙醇酸盐培养液涂片并按革兰氏染色试剂盒说明书所述的方法进行染色。产气荚膜梭菌为革兰氏阳性粗短的杆菌，两端钝圆，单个或成双排列。
- b) 取 1 mL 上述液体硫乙醇酸盐培养液接种于含铁牛奶培养基中，在 46 °C 水浴中培养 2 h 后，阳性菌观察到酪蛋白凝固大量产气，呈“爆裂发酵”现象。5 h 内不发酵者为阴性。
- c) 取 1 mL 上述液体硫乙醇酸盐培养液转接到乳糖亚硫酸盐培养基中，水浴中 46 °C 需氧培养 18 h~24 h 后，检查乳糖亚硫酸盐培养基中的倒管是否产气且呈黑色(为亚硫酸铁沉淀)，乳糖亚硫酸盐培养基变黑且产气超过 1/4 小倒管的确认为阳性菌；若乳糖亚硫酸盐培养基变黑但产气不足 1/4 小倒管的，立即从中转接 5 滴至另一管乳糖亚硫酸盐培养基，于水浴中 46 °C 培养 18 h~24 h 后；同上判断是否阳性菌。

附 录 B
(资料性)
产气荚膜梭菌的毒素检测

B.1 毒素的提取

用生理盐水将肠内容物制成10倍稀释的乳悬液，充分搅拌，室温放置30 min，4 ℃条件下12 000 r/min离心20 min，吸取上清液进行检测试验。

B.2 毒素试验

将毒素提取液分为两份，一份不加热，另一份加热至60 ℃保持30 min。分别静脉注射家兔(1 mL~3 mL)或小鼠(0.1 mL~0.3 mL)。如有毒素存在，不加热组动物应于数分钟至若干小时内死亡，而加热组动物不死亡。若要确定毒素的类别，需进一步做毒素的中和保护试验。

附录 C
(资料性)
产气荚膜梭菌的 PCR 鉴定

C.1 试剂

DNA聚合酶、琼脂糖、核酸染料、DNA分子量标准(DL2 000 DNA Marker)、TAE电泳缓冲液均为商品化试剂。

C.2 模板提取

取新鲜菌落，加灭菌水0.5 mL，煮沸10 min，冷却，12 000 r/min离心2 min，上清液即为DNA模板。也可选用商品化试剂盒，参照说明书进行DNA提取。

C.3 引物信息

表 C.1 毒素基因的引物信息表

毒素名称	引物序列 (5' -3')	片段大小 (bp)	退火温度 (°C)
α 毒素	F-GCTAATGTTACTGCCGTTGA	324	55
	R-GCTAATGTTACTGCCGTTGA		
β 毒素	F-GCGAATATGCTGAATCATCTA	196	55
	R-GCAGGAACATTAGTATATCTTC		
肠毒素	F-GGAGATGGTGGATATTAGG	233	55
	R-GGACCAGCAGTTGTAGATA		

C.4 PCR 反应体系及程序

设立阴性对照和阳性对照，具体反应体系及程序参照商品化DNA聚合酶说明书进行。

C.5 PCR 扩增产物电泳检测

PCR产物经1.2 %琼脂糖凝胶电泳，凝胶成像分析。

C.6 结果判定**C.6.1 质量控制**

反应结果同时符合以下3个条件，否则实验结果无效。

- a) 阴性对照和空白对照未出现特异性条带。
- b) A型产气荚膜梭菌阳性对照出现 324 bp 的 α 毒素和 233 bp 的肠毒素扩增带。
- c) C型产气荚膜梭菌阳性对照出现 324 bp 的 α 毒素和 196 bp 的 β 毒素扩增带。

C.6.2 结果分析

在实验结果有效情况下，如待测样品出现预期大小的扩增条带，则可初步判断产气荚膜梭菌中含有对应的毒素基因，初步判断为阳性结果的样品可通过复检和核酸序列测定进行确认。如待测样品中未出现预期大小的扩增产物，则可判断产气荚膜梭菌中不含有对应的毒素基因。

附 录 D
(资料性)
瘤胃放气的操作步骤

D.1 操作步骤

瘤胃放气操作步骤如下。

- a) 定位：左肷部，髻结节和最后肋骨连线的中点。瘤胃膨胀时，取其膨胀部的顶点。
- b) 消毒：站立保定，术部剪毛消毒；用碘伏对穿刺部位进行消毒。
- c) 穿刺：将皮肤切一小口，用套管针垂直迅速刺入瘤胃约 10 cm。
- d) 放气：固定套管，抽出针芯，用纱布块堵住管口行间歇放气；若套管堵塞，可插入针芯疏通或稍摆动套管。
- e) 闭创：排完气插入针芯，手按腹壁并紧贴胃壁，拔出套管针，对皮肤切口做一针结节缝合，术部涂以碘酊。
- f) 代用：如无套管针，可用大号针头、穿刺针等代替。

D.2 注意事项

经套管可以直接向瘤胃内注入药液；避免多次反复穿刺，第二次穿刺时不宜在原穿刺孔进行；放气速度不宜太快，以防虚脱。
