

ICS 11.220

CCS B41

T/NXSLX

宁夏饲料工业协会团体标准

T/NXSLX 0611—2025

规模化羊场羊肠道病毒病诊断与 防治技术规范

Technical Specification for Diagnosis, Prevention and Control of Sheep
enterovirus disease in Large - scale Sheep Farms

2025 - 11 - 17 发布

2025 - 12 - 17 实施

宁夏饲料工业协会 发布

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。

本文件由宁夏回族自治区科技厅提出提出。

本文件由宁夏饲料工业协会归口。

本文件起草单位：宁夏农林科学院动物科学研究所、宁夏动物疾病预防控制中心、宁夏大学。

本文件主要起草人：于有利、张玉玲、王建东、于正青、郭亚男、赵玉玺、李知新、王晓亮、蔡东东、宣小龙、高海慧、张久盘。

规模化羊场羊肠道病毒病诊断与防治技术规范

1 范围

本文件规定了规模化羊场羊肠道病毒病术语和定义、诊断、预防与治疗。
本文件适用于规模化羊场羊肠道病毒病诊断、预防与治疗。其他类型羊场可参照执行。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
GB 19489 实验室生物安全通用要求
NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范
NY/T 5151 无公害食品 肉羊饲养管理准则
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 5030 无公害农产品 兽药使用准则
SN/T 2025 动物检疫实验室生物安全操作规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 羊肠道病毒病 (Sheep enterovirus disease)

属于小RNA病毒科（**Picornaviridae**）肠道病毒属（**Enterovirus**）成员，是一种无囊膜、单股正链RNA病毒，可感染绵羊、山羊等反刍动物，主要引起消化道症状，也可导致呼吸道、神经系统损伤及繁殖障碍等多种临床病症的统称。

4 流行病学特征

4.1 易感动物

不同品种、年龄的羊均可感染羊肠道病毒，但以1月龄以内羔羊最为易感，发病率可达**60%**以上，死亡率可高达**30%~50%**。成年羊多呈隐性感染或轻度症状，成为潜在传染源。

4.2 传播途径

主要通过粪-口途径传播。病毒随病羊粪便大量排出，污染饲料、饮水、垫料、饲槽、运输工具及人员衣物等媒介物，经摄入而引发群体暴发。此外，也可通过飞沫经呼吸道传播，尤其是在高密度饲养环境中更具风险。

4.3 季节性与诱发因素

本病一年四季均可发生，但冬春季节高发，尤其在气温骤变、圈舍通风不良、湿度过高条件下更易流行。常见诱因包括：圈舍拥挤、饲养密度过大；卫生管理不到位，粪污清理不及时；饲料突变、营养失衡；断奶、转群、长途运输等应激刺激；免疫力低下群体未及时免疫。

4.4 流行特点

常表现为地方性流行或点状暴发，一旦引入带毒羊只或污染源，可在短时间内波及全群。潜伏期一般为 2~7 d，具有较强传染性，但传播速度较慢于典型烈性传染病。

5 临床症状

根据靶器官受损的不同，临床上可分为四种主要类型，部分病例可呈混合型表现。

5.1 消化道型（最常见）

多见于新生羔羊。初期表现为精神萎靡、食欲减退或废绝，体温升高至 39.5~41℃。随后出现急性腹泻，粪便呈黄绿色或灰白色糊状或水样，夹杂黏液至少量血液，伴有腥臭味。随着病情发展，迅速出现脱水征象：眼球凹陷、皮肤弹性下降、四肢无力、站立困难，最终因严重脱水、电解质紊乱及心功能衰竭而死亡。病程短者 1~2 d，长者可达 7 d。

5.2 呼吸道型

多发生于育成期羊只。表现为咳嗽、流浆液性或黏脓性鼻涕，呼吸频率加快，肺部听诊可见干啰音或湿啰音。伴有轻度发热（39.0℃~39.8℃）、采食减少、生长迟缓。少数继发细菌感染可发展为支气管肺炎。

5.3 神经型（较少见但致死率高）

通常由病毒直接侵犯中枢神经系统所致，或继发于严重全身性疾病过程中。病羊表现出共济失调、步态不稳、转圈行走、肌肉震颤、角弓反张、抽搐甚至昏迷。此类病例进展迅速，多数在 24~72 小时内死亡，治疗难度极大。

5.4 繁殖障碍型

妊娠母羊感染后可出现流产、早产、产出死胎或弱羔。弱羔常因吞咽反射差、呼吸功能不全而在出生后数小时内死亡。产后母羊可能出现子宫炎或泌乳障碍。

6 病理变化

剖检可见多系统损伤，具体表现依临床类型而异。

6.1 消化道型

胃肠黏膜广泛充血、出血，尤以空肠、回肠段明显；黏膜表面附着黏液或伪膜，肠壁变薄，肠腔内充满稀薄内容物，呈黄绿色或灰白色；肠系膜淋巴结显著肿大、切面出血；肝脏稍肿大，质地脆软，呈“土黄色”；肾脏轻度肿胀，皮质与髓质界限模糊；心肌苍白、松弛。

6.2 呼吸道型

肺组织呈现间质性肺炎特征：体积增大、质地坚韧，切面流出泡沫状液体；小叶间质增宽，肺泡间隔充血水肿；支气管和细支气管黏膜充血，管腔内有黏液性分泌物；气管环状软骨充血，喉头黏膜潮红。

6.3 神经型

脑组织肿胀，脑回扁平，脑沟变浅；软脑膜下可见散在点状出血灶，尤以大脑皮层和脑干为主；脊髓液增多，脑室扩张；显微镜下可见神经元变性坏死、胶质细胞增生及血管套现象。

6.4 繁殖障碍型

子宫内膜充血、水肿，黏膜表面覆盖炎性渗出物；死胎表现为皮下水肿、肝脏瘀斑、肺脏未扩张；胎盘组织可见坏死灶，绒毛间隙有炎细胞浸润。

7 实验室诊断

检测实验室满足GB 19489要求，实验室检测用水按照GB/T 6682执行，实验室检测操作按照SN/T 2025执行。

7.1 样本采集与处理

按照NY/T 541执行。

7.1.1 采集

活体样品，无菌采集发病羊的粪便（新鲜腹泻粪便最佳）、直肠拭子、鼻腔分泌物、咽喉拭子。病死羊样品，无菌采集小肠、大肠、肠系膜淋巴结、肝脏、脾脏、肺脏、脑组织等组织样品，以及胸水、腹水。

7.1.2 保存与运输

样品采集后立即置于含双抗（青霉素、链霉素终浓度各1000 IU/mL）的MEM或PBS缓冲液中，4℃条件下保存不超过24小时；若需长期保存或远距离运输，应置于-70℃以下低温或液氮中，避免反复冻融。运输时需使用符合生物安全要求的冷藏箱。

7.2 实验室检测

7.2.1 RT-PCR 检测

引物设计，参照GenBank中羊肠道病毒保守区域OEV 5'UTR序列设计特异性引物（附录A.3），片段大小约209 bp。操作步骤：按RNA提取试剂盒说明书提取样品总RNA，逆转录合成cDNA，再进行PCR扩增。扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳，若出现与预期大小一致的条带，判定为阳性。

7.2.2 病毒中和试验

用已知型别的羊肠道病毒抗血清与分离株进行中和试验，可确定病毒血清型。

7.2.3 病毒分离培养

7.2.3.1 细胞培养法

BHK-21细胞培养（附录A.1）：将处理后的样品接种于长成单层的细胞培养瓶中，37℃吸附1小时，加入维持液（含2%胎牛血清的MEM），37℃、5%CO₂培养箱培养，每日观察CPE。若出现细胞圆缩、脱落等典型CPE，盲传3代仍有CPE者判定为阳性。

7.2.3.2 鸡胚接种法

尿囊腔接种（附录A.2）：取9~11 d龄SPF鸡胚，每胚接种处理后的样品0.2~0.3 mL，37℃孵育，每日观察鸡胚活力。若24~72 h内鸡胚死亡，收获尿囊液，检测病毒抗原或进行RT-PCR鉴定。

8 结果判定

疑似病例：符合4流行病学特征、5临床症状及6病理变化中任一种类型者。

确诊病例：疑似病例经7.2.3病毒分离培养阳性，或7.2.1 RT-PCR检测阳性者。

9 预防

9.1 饲养管理

加强卫生消毒，定期对圈舍、器具、场地进行消毒（推荐使用2%氢氧化钠溶液或0.3%过氧乙酸），按照 NY/T 3075 执行。粪便及时清理并堆积发酵处理。应科学饲养，保证饲料营养均衡，提供清洁饮水，避免饲料霉变和突然更换。羔羊出生后及时哺喂初乳，增强免疫力。应减少应激，保持圈舍通风良好，控制饲养密度，避免温差过大、惊吓等应激因素，按照 NY/T 5151 执行。

9.2 生物安全

实行自繁自养的饲养管理，新引入羊只需隔离观察21 d以上，确认健康后方可混群。禁止无关人员进入生产区，工作人员进出需更衣换鞋并消毒，按照 NY/T 1167 执行，病死及病害动物按照《病死及病害动物无害化处理技术规范》执行。

10 治疗

目前尚无特效抗羊肠道病毒药物，主要采取对症治疗和支持疗法。

10.1 补液与纠正电解质紊乱

轻度脱水时（体重损失5%以下），口服补液盐，每次50~100 mL/kg，分次灌服；中重度脱水时（体重损失6%~10%，眼球明显凹陷、皮肤回弹延迟）需静脉输液，5%葡萄糖生理盐水加复方氯化钠溶液混合输入，按体重100 mL/kg/d计算总量，分次缓慢滴注；腹腔补液（适用于无法静脉输液的小羔羊）：加热至38~40℃的等渗液（如林格氏液），按50~80 mL/kg，每日1~2次，注射于后腹部两侧；

添加V_C (50 ~ 100 mg/kg)、ATP (10 ~ 20 mg/头)、辅酶A等,改善能量代谢,兽药使用按照NY/T 5030执行。

10.2 抗休克治疗

当病羊出现低血容量性休克代偿后期或失代偿期,应快速扩容,立即静脉给予低分子右旋糖酐 (Dextran-40) 或羟乙基淀粉 (HES),剂量为10 ~ 20 mL/kg,速度宜慢 (30 ~ 60分钟内滴完),防止肺水肿;若血压持续偏低,可配合使用多巴胺 (2 ~ 5 µg/kg/min IV infusion);血气分析显示pH < 7.2时,补充5%碳酸氢钠溶液,初始剂量为50 ~ 100 mL/头,视情况调整。

10.3 抗自体中毒治疗

在严重肠道损伤情况下,肠黏膜屏障破坏,导致肠道内毒素进入血液循环,引发“自体中毒”或“内源性中毒”,表现为高热、意识障碍等,需清除毒素来源,可使用活性炭或蒙脱石散 (3 ~ 5 g/kg·d) 口服,吸附肠道毒素。

附录 A

(规范性)

细胞培养基与鸡胚尿囊腔及羊肠道病毒引物的配制、操作和引物序列

A.1 Vero 细胞培养基配制

MEM培养基粉末9.5 g, Na_2HCO_3 2.2 g, 溶于1000 mL三蒸水中, 搅拌溶解后用1 mol/L HCl或NaOH调pH至 7.2~7.4, 0.22 μm 滤膜过滤除菌, 4℃保存。使用时加入10%胎牛血清和双抗(青霉素、链霉素终浓度各100 IU/mL)。

A.2 鸡胚尿囊腔接种操作

A.2.1 鸡胚标记: 在照蛋灯上标记气室和胚胎位置。

A.2.2 消毒: 用75%酒精棉球消毒气室端蛋壳。

A.2.3 打孔: 在气室边缘钻一小孔。

A.2.4 接种: 用1 mL注射器将样品注入尿囊腔, 每胚0.2~0.3 mL。

A.2.5 封口: 用融化的石蜡封口, 37℃孵育

A.3 羊肠道病毒 RT-PCR 引物序列

表 A.1 扩增 OEV 5'UTR 基因片段的引物序列信息

引物名称	引物序列 (5' - 3')	片段大小 (bp)
Primer name	Primer sequence(5' to 3')	Product length
OEV 5' UTR-F	5' - CCTGGAAGAGGTTGCGTTCA - 3'	209
OEV 5' UTR-R	5' - GGATTAGCAGCATTACGGC - 3'	

附录 B
(规范性)

羊肠道病毒感染细胞的显微形态

B.1 羊肠道病毒 CPE 形态

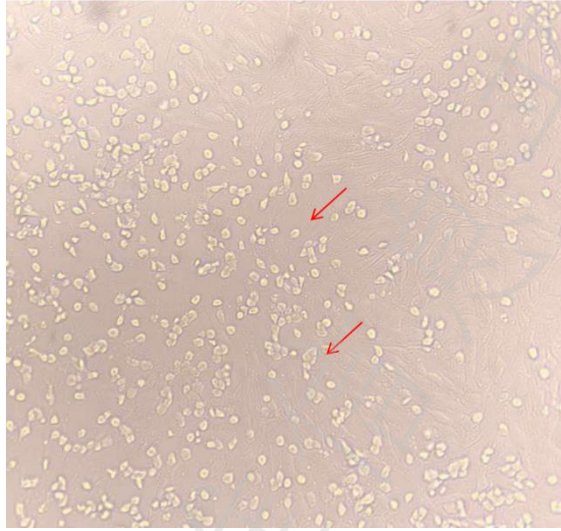


图 B.1 羊肠道病毒 CPE 形态

参 考 文 献

- [1] 农业部农医发〔2017〕25号《病死及病害动物无害化处理技术规范》。
-

全国团体标准信息平台