

团体标准

T/ NAIA×××-××××

羊结膜乳支原体防治技术规程

Technical regulations for the prevention and treatment of
Mycoplasma conjunctivae

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 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。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏农林科学院动物科学研究所。

本标准主要起草人：郭亚男、王建东、谢建亮、吴建宁、马科、李继东、李勇、徐婧祎、张永康、于有利、高海慧。

本文件为首次发布。

羊结膜乳支原体防治技术规程

1 范围

本文件规定了羊结膜乳支原体防治技术的术语和定义、诊断、预防和治疗。

本文件适用于羊结膜乳支原体防治。

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。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 羊结膜乳支原体病 *Mycoplasma conjunctivae*

是指由羊结膜乳支原体引发羊的一种呈现多种临床表现的传染病。

3.2 胸膜肺炎样微生物培养基 *pleuropneumonia-like organism medium PPLO*

即支原体培养基，主要用于多种支原体的分离和培养

4 诊断

4.1 流行病学

羊结膜乳支原体主要感染绵羊和山羊。长途运输、饲养环境变化、气候变化等因素可诱发羊结膜乳支原体病的发生。病畜的眼、鼻分泌物发生直接接触传播，也可通过蚊蝇、被污染的器具和饲料发生间接接触传播

4.2 临床症状

初期阶段：病畜单侧眼睛被感染，患眼羞明流泪、眼睑半闭、眼屎增多并伴有脓性分泌物

晚期阶段：双眼受到感染，角膜红肿充血、凸起且浑浊、逐渐变厚呈乳白色，凸起物呈云翳状遮盖整个眼球

4.3 样本采集

采集眼拭子，冷藏保存。如果 24 h 内不能送达实验室，-20 ℃保存。样品解冻时，置于 38 ℃～

40℃水浴解冻。

4.4 分离培养

羊结膜乳支原体液体培养基配制见附录 A.1，羊结膜乳支原体固体培养基配制见附录 A.2，实验用水应符合 GB/T 6682 规定。

在无菌操作条件下将采集的眼拭子接种至支原体固体培养基上，每份样品分别接种 3 个固体培养基。固体培养基放置于含有 5% CO₂ 培养箱中 37℃培养 24h 后，观察菌落形态，在低倍光学显微镜下呈现出典型的“油煎蛋”样。将其转入操净台中，无菌条件下切取含有多个单菌落的琼脂培养基，接种于新的 1mL 支原体液体培养基中，置于 37℃恒温摇床中培养 24h。

4.5 PCR 鉴别诊断

取液体培养物 2 mL，12 000r/min，离心 2 min，使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒对细菌体沉淀进行基因组 DNA 的提取。使用 16S rRNA 通用引物 MOLIGEN1-L ACTCCTACGGGAGGCAGCA，16SUNI-R GTGTGACGGGCGGTGTGTAC 和结膜乳支原体特异性引物（McoF1 GTATCTTTAGAGTCCTCGTCTTTTCAC McoR1 CAGCGTGCAGGATGAAATCCCTC，）对细菌分离菌株进行基因序列扩增，预计扩增片段大小分别为 1063 bp，748 bp 左右。

PCR 反应体系为 50 μL 体系，模板 2 μL，上下游引物各 1 μL，2×Tap Master Mix 25 μL，ddH₂O 21 μL。反应条件：94℃ 2 min；94℃ 30 s，分别以 51℃，54℃ 退火 30 s，72℃ 1 min，35 个循环；72℃延伸 8 min。PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳分析，用胶回收试剂盒，纯化回收 PCR 产物，将 PCR 纯化产物送生工生物工程（上海）股份有限公司测序。

结果判定

符合 4.1、4.2 和 4.3 的特征判断为疑似病例。

同时符合 4.5、4.6 或 4.7 的特征判断为确诊病例。

5 预防和治疗

5.1 预防

加强饲养及环境卫生管理，定期消毒，定期监测。不从疫区或发病区引进羊。羊群引进后应隔离观察并采取应激预防措施，确保无病后方可混群。育肥牛群采用全进全出制度，在空栏期要对牛舍进行彻底消毒。引种前应加强疫病检测，引种后应按照《兽医法律法规》的相关要求进行隔离，大中型动物的隔离检疫期为 45 天，小型动物的隔离检疫期为 30 天。在隔离检疫期时应提供干燥、清洁和通风良好等适宜的环境，

5.2 治疗

5.2.1 单一药物治疗

泰拉霉素注射液或加米霉素注射液，使用剂量参照说明书。

5.2.2 西药组合药物治疗

酒石酸泰乐菌素注射液或盐酸多西环素注射液，联合硫酸卡那霉素注射液或氟苯尼考注射液，使用剂量参照说明书。

5.2.3 中西药联合用药治疗

可使用 5.2.1 配合麻杏石干散饮水或拌料，使用剂量参照说明书。

附录 A

（规范性附录）

支原体培养基配制

A.1 羊结膜乳支原体液体培养基

PPL0肉汤粉21 g，酵母粉 2.5 g，丙酮酸钠 1 g，葡萄糖0.2 g溶于800 mL双蒸水中，121 ℃ 高压灭菌20 min后，添加马血清200 mL，8万单位青霉素0.1 g，0.05 %酚红1 mL，4℃保存。

A.2 羊结膜乳支原体固体培养基

PPL0琼脂粉30 g，酵母粉 2.5 g，丙酮酸钠 1 g，葡萄糖0.2 g溶于800 mL双蒸水中，121 ℃ 高压灭菌20 min后，添加马血清200 mL，8万单位青霉素0.1 g，0.05 %酚红1 mL，4℃保存。
