

牦牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病流行情况分析

文 侯,边 琼,次旦欧珠,黄丰立,米 平

(西藏自治区日喀则市动物疫病预防控制中心,西藏 日喀则 857000)

摘要:为掌握日喀则市牦牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病的流行情况,研判当前该区域内牦牛发病趋势,为进一步优化当前区域内牦牛疫病防控策略提供依据和建议。针对区域内牦牛个体进行抽样,用实验室检测技术开展牦牛巴氏杆菌抗体、牛病毒性腹泻病毒抗原、细菌培养鉴定、病原核酸检测等项目。针对疑似发病个体开展相关病原学检测,结合当地动物疫病防控工作历史经验,对检测结果进行研究分析。随机抽样检测结果显示,牦牛巴氏杆菌病抗体阳性率12.43%,牛病毒性腹泻病毒抗原阳性率9.04%,牛巴氏杆菌细菌培养分离鉴定阳性率为0,牛巴氏杆菌核酸检测阳性率为0,牛病毒性腹泻病毒核酸检测阳性率为0;发病牛群采样检测结果显示10头牛感染牛病毒性腹泻病毒,其中2头可能同时感染牛巴氏杆菌病。结果表明牦牛巴氏杆菌病以及牛病毒性腹泻在相关区域内广泛存在,牛病毒性腹泻病毒感染是导致当前该区域牦牛发病的主要原因,要进一步加强牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病的鉴别诊断,优化调整当前疫病防控策略,转变传统防控思维,消灭相关病原传播的风险因素。

关键词:牦牛;巴氏杆菌病;牛病毒性腹泻病;流行病学调查;实验室检测

中图分类号:S823.8*5;S852.65*3

文献标志码:A

Analysis on the Prevalence of Yak Pasteurellosis and Bovine Viral Diarrhea in Shigatse City

WEN Hou, BIAN Qiong, Cidanouzhu, HUANG Fengli, MI Ping

(Animal Disease Prevention and Control Center of Shigatse City, Tibet Shigatse 857000, China)

Abstract: To understand the prevalence of yak pasteurellosis and bovine viral diarrhea in Shigatse City, the current trend of yak diseases in this region was assessed, which provided a basis and suggestions for further optimizing the prevention and control strategies for yak diseases in this area. Samples were collected from individual yaks in the region. Laboratory detection techniques were employed to conduct tests such as detecting yak pasteurella antibodies, bovine viral diarrhea virus antigens, bacterial culture identification, and pathogen nucleic acid detection. Etiological detection was carried out on suspected diseased individuals. Combined with the historical experience of local animal disease prevention and control work, the test results were analyzed. The results of random sampling and detection showed that the positive rate of yak pasteurellosis antibodies was 12.43%, the positive rate of bovine viral diarrhea antigens was 9.04%, while the positive rates of bovine pasteurella bacterial culture isolation and identification, nucleic acid detection, and bovine viral diarrhea nucleic acid detection were both 0. The sampling and detection results of diseased cattle herds indicated that 10 cattle were infected with bovine viral diarrhea virus, and two of them might be simultaneously infected with yak pasteurellosis. Yak pasteurellosis and bovine viral diarrhea are widespread in related regions. Infection with bovine viral diarrhea virus is the main cause of yak diseases in this region. Therefore, it is necessary to further strengthen the differential diagnosis of yak pasteurellosis and bovine viral diarrhea, optimize and adjust the current disease prevention and control strategies, change the traditional prevention and control mindset, and eliminate the risk factors for the transmission of relevant pathogens.

Key Words: yak; pasteurellosis; bovine viral diarrhea; epidemiological investigation; laboratory detection

多杀性巴氏杆菌是一种多种动物的重要病原菌,导致急性或慢性感染;在世界范围内广泛流行,

可引起动物呼吸道疾病,并给畜牧业和人类健康安全带来威胁。据报道,北美和印度尼西亚每年因该病感染给养殖业分别造成8亿美元和400~6000万美元的经济损失^[1]。近几年,我国西藏、青海等地也出现该病的报道,其中西藏牦牛感染后发病率仅为2%,但死亡率却高达90%,给当地畜牧业造成了巨大的威胁^[2-4]。牛病毒性腹泻病毒能够感染多种家畜或野生动物,在牛的临床症状最为严重,可出

收稿日期:2024-07-05

基金项目:西藏日喀则市牦牛巴氏杆菌病流行病学调查研究项目(QYXTZX-RKZ2022-04)。

作者简介:文侯(1992-),男,本科,兽医师,主要从事动物疫病实验室检测、防控诊断技术操作,E-mail: qingchunjiyi2010@163.com。

现呼吸系统及消化系统症状。21世纪以来,我国的牛病毒性腹泻检出率不断上升,严重危害牛群的生产和健康^[5]。

日喀则市是西藏第二大畜牧业发展区域,下辖17县1区,可利用草场面积0.119亿hm²,牲畜存栏常年保持在470万头(只)以上,平均海拔4000m以上,随着日喀则市畜种改良以及养殖合作社等工作推进,畜牧产业现代化标准化集约化养殖模式进一步推广,导致了牲畜调运流通频率增加,进而引起常规动物疫病的常发多发,给当地畜牧养殖业发展带来了一定困扰。据传20世纪末多次发生大规模牛多杀性巴氏杆菌病,后随着动物疫病防控部门防控力度不断加强,动物疫病疫苗免疫工作的不断深化,近年发病率有所下降。牛病毒性腹泻病近两年出现发病情况。当前,该区域内针对牛巴氏杆菌病进行被动免疫防控策略,根据当地群众意愿重点针对历史发病区域开展疫苗免疫接种;针对牛病毒性腹泻病进行紧急免疫策略,对明确发病的群体进行免疫保护。日喀则市动物疫病防控工作近年经验表明,牦牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻在全市区域内出现过传播流行,从临床症状诊断情况分析,多数发病牛群往往伴有巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病常见的腹泻、咳嗽等非典型病状,区域内近期发生过两种病原混合感染的情况。为促进区域内牦牛产业健康发展,掌握牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻流行情况,综合分析评估日喀则区域内当前导致牦牛发病的相关因素,分析讨论相关疫病防控策略,为科学防控牦牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 研究策略

此次研究分为两个部分。第一部分采取区域分层采样法,按照不同方位分布,以区域内场点(村)作为抽样区域,对抽样区域内牦牛个体作为研究对象。按照日喀则市东西南北中的区域分布确定抽样区域,选择南木林、白朗、亚东、萨嘎和仲巴5县10个乡(镇)场点(村),目标群为区域内养殖户牦牛,采集牦牛个体血清生物样品,对样品进行牛巴氏杆菌抗体检测以及牛病毒性腹泻抗原检测。第二部分,针对阶段时间内选定区域内牦牛发病群体进行采样检测,对相关样品针对性开展病原学检测。综合相关检测结果,分析研究当前牦牛相关疫

病流行情况。综合整体情况对当前相关疫病防控策略提出优化措施。

1.2 检测方法

第一部分主要采集牦牛血液并分离血清,应用武汉中科友生物科技有限公司生产的牛巴氏杆菌抗体ELISA检测试剂盒(批号20230529),依据《牦牛巴氏杆菌病诊断技术规范》(DB51/T 2298—2016)标准,按照试剂盒操作要求进行牛巴氏杆菌抗体检测试验;应用广州悦洋生物技术有限公司生产的牛病毒性腹泻病毒抗原捕获ELISA检测试剂盒(批号BVDVAg15664),依据《牛病毒性腹泻/粘膜病检疫技术规范》SN/T 1129—2015标准,按照试剂盒操作要求进行牛病毒性腹泻病毒抗原检测。第二部分采集患病牦牛(可能被感染)个体全血,应用荧光定量检测方法,参照依据《猪巴氏杆菌病防治技术规程》DB34/T 3992—2021标准,进行牛多杀性巴氏杆菌核酸检测;应用荧光定量PCR检测方法,依据《牛病毒性腹泻诊断技术》(GB/T 18637—2018)标准,进行牛病毒性腹泻病毒核酸检测。

1.3 结果判断

牛巴氏杆菌抗体检测试验有效性判定:阳性对照OD_{450nm}值≥1.00,阴性对照OD_{450nm}≤0.20,试验成立。牛病毒性腹泻病毒抗原检测试验有效性判定:阴性对照的PP值<20%,阳性对照OD_{450nm}值≥0.6,试验成立。

核酸检测试验有效性判定:阳性对照Ct值为20.40,小于30,出现特异性扩增曲线;阴性对照无Ct值,无特异性扩增曲线,试验成立。

巴氏杆菌抗体抗原和牛病毒性腹泻抗原阳性个体为样本孔OD_{450nm}值大于临界值(Cut off)(阴性对照孔平均值+0.15)的样品对应样本个体。牛巴氏杆菌核酸检测阳性样本为VIC信号通道下样品的扩增结果有典型的扩增曲线且Ct值≤38。牛病毒性核酸检测阳性样本为FAM信号通道下样品的扩增结果有特异性扩增曲线且Ct值≤36。

1.4 数据计算和统计

根据相关检测结果,分类统计检测个体数和阳性个体数。以表格形式列出检测结果,按照
$$\text{阳性率} = \frac{\text{阳性个体数}}{\text{检测个体数}} \times 100\%$$
的公式计算出各类检测项目的阳性率。

2 结果与分析

2.1 牦牛巴氏杆菌抗体阳性率

抽取各点位血清样品共 177 份,阳性样品数 22 份,发现牦牛巴氏杆菌抗体阳性率较高。白朗县阳性率最高,其中旺丹乡阳性率达 28.57%;亚东县的阳性率较低,但平均阳性率也达到了 9.68%;该区域阳性率平均达到 12.43%,说明巴氏杆菌在区域内牦牛中普遍存在(表 1)。

表 1 牦牛巴氏杆菌抗体阳性率

县	乡(镇)	检测样本数/份	阳性样本数/份	阳性率/%
南木林县	拉布普乡	21	4	19.05
	芒热乡	24	2	8.33
白朗县	东喜乡	9	1	11.11
	旺丹乡	7	2	28.57
仲巴县	琼果乡	21	3	14.29
	偏吉乡	26	4	15.38
亚东县	帕里镇	16	1	6.25
	吉汝乡	15	2	13.33
萨嘎县	加加镇	17	2	11.76
	旦嘎乡	21	2	9.52
合计		177	22	12.43

2.2 牛病毒性腹泻抗原阳性率

抽取各点位血清样品 177 份,阳性样品数 16 份,发现牛病毒性腹泻病毒抗原阳性率也较高。其中萨嘎县阳性率达到 15.79%,为各县最高;萨嘎县旦嘎乡阳性率 19.05%,为各乡(镇)最高;亚东县阳性率 3.23%;南木林县阳性率 4.44%;相对较低。检测结果表明牛病毒性腹泻病毒在区域内牦牛中普遍存在,区域内平均阳性率为 9.04%(表 2)。

表 2 牛病毒性腹泻抗原阳性率

县	乡(镇)	检测样本数/份	阳性样本数/份	阳性率/%
南木林县	拉布普乡	21	0	0
	芒热乡	24	2	8.33
白朗县	东喜乡	9	1	11.11
	旺丹乡	7	1	14.29
仲巴县	琼果乡	21	3	14.29
	偏吉乡	26	2	7.69
亚东县	帕里镇	16	1	6.25
	吉汝乡	15	0	0
萨嘎县	加加镇	17	2	11.76
	旦嘎乡	21	4	19.05
合计		177	16	9.04

2.3 病原学检测初筛结果

在选定区域内随机抽取全血样本 64 份以乡为单位混管后进行巴氏杆菌细菌培养基划线培养,结果全为阴性;随机抽取全血样本 64 份混管样品进行牛病毒性腹泻病毒 qPCR 核酸检测,结果全为阳性。在南木林县、亚东县区域内抽取样本 36 份进行牛病毒性腹泻病毒核酸检测,检测结果均为阴性。

2.4 发病牛群病原核酸检测结果

2024 年初,选定区域内萨嘎县加加镇琼达村出现牦牛发病情况,主要症状表现为呼吸困难、发热以及腹泻。针对 11 头牦牛进行了采样检测,其中发病死亡牦牛 1 头,病畜 7 头,假定健康畜 3 头;收集到全血样品 20 份、粪便样品 18 份、鼻拭子样品 14 份,进行了牛巴氏杆菌核酸检测和牛病毒性腹泻核酸检测,其中牛巴氏杆菌核酸检测阳性样本个体 2 头,阳性率 18.18%;牛病毒性腹泻核酸检测阳性样本个体 10 头,阳性率 90.91%。检测结果表明该发病牛群 10 头感染了牛病毒性腹泻病毒,并有 2 头同时感染了巴氏杆菌(表 3)。

表 3 发病牛群病原检测统计

编号	个体状态	样品分类	检测项目	结果	判断
1 号	发病	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
2 号	死亡	鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,未感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	-	
3 号	发病	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	

续表

编号	个体状态	样品分类	检测项目	结果	判断
4号	发病	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
5号	发病	全血	牛巴士杆菌核酸	-	可能感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	+	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
6号	发病	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
7号	发病	全血	牛巴士杆菌核酸	-	可能感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		鼻拭子	牛巴士杆菌核酸	+	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
8号	假定健康	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
9号	假定健康	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		粪便	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
10号	假定健康	全血	牛巴士杆菌核酸	-	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
		全血	牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	
11号	发病	粪便	牛巴士杆菌核酸	+	未感染牛巴氏杆菌病,感染牛病毒性腹泻病
			牛巴士杆菌核酸	-	
			牛病毒性腹泻病毒核酸	+	

3 讨论与结论

3.1 讨论

本次研究发现牦牛巴氏杆菌抗体阳性率较高,与西藏当雄县^[3]以及2017年检测的西藏^[4]与青海牦牛巴氏杆菌抗体阳性率相近。表明了牛巴氏杆菌病在日喀则、拉萨等区域的传播流行趋势较为平稳,从时间和地域分布上也呈现出均衡状态。牛病

毒性腹泻病毒抗原阳性率也较高,总体阳性率达到9.04%,与西藏那曲市班戈县^[6]牛病毒性腹泻病抗体阳性率相近,在区域分布方面呈现出差异较大的现象。相关检测结果表明了这两种病在日喀则区域内均有流行。

从牛巴氏杆菌细菌培养鉴定结果来看,初步筛查阶段未发现阳性样本个体,整体发病率较低,从侧面反映出日喀则市动物疫病防控部门近年来针

对牛巴氏杆菌流行区域采取了持续免疫、加强诊断预警和规范治疗的防控策略是积极有效的,但是离达到净化牛巴氏杆菌病的目标还有不小差距。从牛病毒性腹泻病毒核酸病原初筛核酸检测结果分析,区域内一定程度存在牛病毒性腹泻病毒的隐性传播,且已形成持续感染(PI)动物^[7],牛病毒性腹泻近两年以来在日喀则市区域内呈散发态势,动物疫病防控部门主要采取紧急免疫策略,结果表明当前相关防控策略成效不显著。

结合动物疫病防控实际,近年来牦牛发病死亡病因复杂,其中牛巴氏杆菌和牛病毒性腹泻病毒感染占比相对较高,据相关疫病近年来历史监测情况分析,从发病群体病原学检测结果呈现出巴氏杆菌病流行趋势向下而牛病毒性腹泻病流行趋势向上的现状,从牛病毒性腹泻病毒核酸检测结果推测,该病将会成为今后一个阶段日喀则区域牦牛发病的重要病因,需要尽快调整当前牛病毒性腹泻病的防控策略。在牛巴氏杆菌病防控策略方面建议:①进一步加强牛巴氏杆菌病监测,通过实验室检测技术精准划定流行区域,对区域内牲畜开展疫苗免疫接种,实现精准防控;②加强饲养管理,清理饲养环境,定期消毒,加强对牲畜的健康状态观测,对患病牲畜及时发现及时处理;③规范牲畜调运流动监管,做好外来人员、车辆的清洗消毒以及牲畜的健康监测,防止输入性病原感染。在牛病毒性腹泻病防控策略方面建议:①分区域分阶段开展病原学筛查,重点针对持续感染动物、带病个体进行淘汰;②选择适合的疫苗进行免疫接种,资料显示国内研发的灭活疫苗免疫效果良好,可以在试点接种的前提下,结合实际制定免疫程序,开展主动防御性免疫;③禁止从疫点、疫区内引进牛类牲畜,确保种群健康生长,从非疫区引种时,要做好隔离饲养、健康监测程序;④进一步分析研究导致牛病毒性腹

泻传播的分险因素,进行针对性防控。

此次调查研究还存在一定的局限性,抽样方式过于简单,样本范围不广、数量不够多,同实际情况存在偏差。在后续动物疫病防控策略优化调整方面要增加调查样本数,扩大调查范围,有针对性地制定免疫防控措施,精确防控范围及目标,巩固疫苗免疫成果,强化牲畜调运流通监管,大力宣传推广相关疫苗免疫及疫病防治技术,达到控制、净化动物疫病的目的。

3.2 结论

该区域同时存在一定程度的牦牛巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病流行,当前牛巴氏杆菌病防控策略需要进一步优化,精准防控目标区域,降低防控成本。当前牛病毒性腹泻病防控策略需要调整,进一步加强重视程度,逐步筛除隐性传播动物源,采取主动免疫接种方式,力争达到净化病原的目标。该区域在日常疫病诊治方面要进一步加强巴氏杆菌病和牛病毒性腹泻病的鉴别,避免出现误诊导致疫病传播。

参考文献:

- [1]刘博华,符汉字,王玉恒,等.西藏那曲市牦牛源B型多杀性巴氏杆菌的分离鉴定及基因组分析[J].畜牧兽医学报,2024,55(7):3105-3118.
- [2]李家奎,索朗斯珠,贡嘎,等.牦牛重要传染病和寄生虫的防治与展望[J].中国奶牛,2012(1):30-33.
- [3]马弘财,王冬经,元振杰,等.西藏当雄县牦牛巴氏杆菌病血清流行病学调查[J].中国动物检疫,2021,38(9):17-19,23.
- [4]陈建春,索朗斯珠,罗润波,等.我国牦牛主产区巴氏杆菌流行病学调查与危险因素分析[J].甘肃畜牧兽医,2018,48(4):72-74.
- [5]袁梦仪,张真豪,王天坤,等.牛病毒性腹泻病的研究进展[J].当代畜牧,2024(2):19-23.
- [6]甘富斌,罗润波,扎西次仁,等.西藏班戈县牦牛病毒性腹泻病抗体血清学检测及分析[J].甘肃畜牧兽医,2020,50(10):68-70.
- [7]袁苏娅,谭倩,高兴.牛病毒性腹泻的发病趋势及综合防控[J].中国动物保健,2024,26(4):17-18.