

云南省牛病毒性腹泻—黏膜病血清流行病学调查

王丽屏¹, 金显栋², 毕峻龙³, 苏云顺⁴,
杨 聪⁵, 李蛟龙¹, 亏开兴^{2*}, 尹革芬^{1*}

(1. 云南农业大学动物医学院, 昆明 650201; 2. 云南省草地动物科学研究院, 昆明 650212;
3. 楚雄州动物疫病预防控制中心, 云南 楚雄 675000; 4. 姚安县动物疫病预防控制中心, 云南 姚安 675300;
5. 玉溪市江川区雄关乡兽医站, 云南 玉溪 652603)

摘 要: [目的] 牛病毒性腹泻—黏膜病 (bovine viral diarrhea-mucosal disease, BVD) 引起牛腹泻、呼吸系统疾病、生殖功能障碍、免疫抑制、母畜流产、死胎等, 对牛产业发展危害严重。牛病毒性腹泻—黏膜病病毒 (bovine viral diarrhea-mucosal disease virus, BVDV) 在我国大部分牛群中普遍存在, 各地流行情况严重程度不同, 本调查旨在调查云南省 BVDV 的流行情况。[方法] 调查通过采用商品化的酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒对 BVDV 感染和流行情况进行调查, 采集了云南省 4 个州 10 个县 (市) 的部分规模牛场及散养户的牛血清样品 456 份。[结果] 结果发现, 云南省不同地区所检的牛血清样品总抗体阳性率为 16.45% (75/456), 抗原阳性率为 0.53% (2/378), 其中抗体阳性率以大理州洱源县 60.0% (9/15) 最高, 而丽江市华坪县的血清样品中未检测到抗体阳性, 大理州宾川县和丽江市宁蒗县的抗原阳性率较低, 分别为 7.69% (1/13) 和 4.00% (1/25)。云南省规模场牛的血清样品抗体总阳性率为 27.27% (45/165), 抗原阳性率为 1.15% (1/87), 散养户牛的分别为 10.31% (30/291) 和 0.34% (1/291)。[结论] 云南省的牛群中存在着 BVDV 感染的情况, 其抗体抗原的阳性率水平跟地区有着紧密的联系, 不同的养殖方式抗原抗体水平存在着一定差异, 必须要加强云南省 BVDV 监测与防控, 减少其造成的经济损失。

关键词: 云南省; BVD; 血清学调查; 抗体、抗原检测

中图分类号: S855.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111 (2021) 01-0019-04

牛病毒性腹泻—黏膜病 (bovine viral diarrhea, BVD) 是由黄病毒科、瘟病毒属的牛病毒性腹泻—黏膜病毒 (bovine viral diarrhea-mucosal disease virus, BVDV) 感染牛后引起的一种传染性疾病, 牛、羊、鹿、猪等多种动物易感, 其中犊牛最易感^[1,2]。牛感染后导致发烧、腹泻、呼吸系统疾病、生殖功能障碍、生长迟缓、免疫抑制、母畜流产、死胎等临床表现, 可引起急性、亚急性和持续性感染而终身带毒, 通过分泌物和排泄物不断向外界排毒, 是病毒传播的主要途径, 也会成为更多动物的持续感染源^[1,3]。目前我国已发现有 20 多个省份感染此病, 感染范围还在不断扩大, 养牛业的经济损失也不断扩大, 呈现出明显的增长趋势^[4], 青海省 2 个不同地区牦牛 BVDV

感染率分别为 19.6% 和 23.42%^[5], 北京地区规模化奶牛场 BVDV 血清抗体平均阳性率为 48.2%^[6], 2014—2015 年西部四省区散养牛的血清抗体阳性率为 33.93%^[7], 新疆 14 家规模化奶牛场血清检测 BVDV 血清抗原和抗体, 其抗体阳性率 91.38%^[8]。因此, 可以看出散养和规模化养殖的牛群中存在着 BVDV 不同程度感染的情况, 并且饲养条件差、饲养密度较大的牛群中阳性率也较高。

随着肉牛产业迅速发展, 养殖业发生了巨大变化, 然而动物疾病突发变得越来越严重, 疾病暴发和流行病暴发日益增加, 伴随国际贸易交易频繁, 牛患传染性疾病的机率也随之增加, 这严重危害了养殖业的健康发展, 给畜牧业特别是肉牛养殖业造成了巨大的经济损失, 严重影响了肉牛养殖业的发展。

收稿日期: 2020-10-20 修回日期: 2020-10-28

基金项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才培养计划项目 (2018HB045); 云南省教育厅基金项目“云南省牛病毒性腹泻流行状况及病毒多态性研究” (2021J0142); 云南省重大科技专项 (2019ZG011); 云南省高校科技创新团队支持计划项目; 国家肉牛牦牛产业技术体系项目 (CARS-37)

作者简介: 王丽屏 (1971—), 女, 硕士, 实验师, 主要从事动物检验检疫相关教学及研究工作。

*** 通讯作者:** 亏开兴 (1975—), 男, 研究员, 主要从事动物遗传育种研究。

尹革芬 (1971—), 女, 教授, 主要从事动物分子流行病学研究。

于此,本调查研究对云南省部分地区 BVDV 的流行状况进行调查,以期对云南省防治 BVD 提供理论依据,助力云南省高原特色牧业发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2019—2020 年,采集到云南省 4 个州 10 个县(市)的牛血液样本总计 456 份,并进行了血清分离,其中规模养殖场牛血清样品份数 165 份,散养户的牛血清样品数 291 份(表 1)。在丽江市 5 个县共计采集了 257 份牛血清样品,其中玉龙县散养户牛血清样品 10 份、华坪县散养户牛血清样品 16 份,宁蒗县散养户牛血清样品 16 份,古城区散养户牛血清样品 14 份,永胜县规模养殖场牛血清样品 70 份和散养户牛血清样品 116 份;在大理州共计采集 69 份牛血清样品,其中宾川县规模养殖场牛血清 20 份,洱源县规模养殖场牛血清 15 份,漾濞县散养户牛血清样品 34 份;在玉溪市江川区共计采集 120 份牛血清样品,其中规模养殖场牛血清样品 60 份,散养户牛血清样品 60 份;在文山州丘北县共采集 10 份牛血清样品,均为散养户牛血清样品。

表 1 采集牛血清样品情况

样品采集地	样品数/份	规模养殖场样品数/份	散养户样品数/份
丽江市玉龙县	16	0	16
丽江市华坪县	16	0	16
丽江市宁蒗县	25	0	25
丽江市古城区	14	0	14
丽江市永胜县	186	70	116
大理州洱源县	15	15	0
大理州宾川县	20	20	0
大理州漾濞县	34	0	34
玉溪市江川区	120	60	60
文山州丘北县	10	0	12
合计	456	165	293

采集牛静脉血,每头牛采集血液总量不少于 1 mL。采血管逐一编号,并认真记录样品来源信息。采血后,用离心机 4 000 r/min 离心 10 min,收集血清,置于 4 ℃ 冰箱保存备用。

1.2 方法

牛病毒性腹泻病毒抗体检测试剂盒由北京爱德士元亨生物科技有限公司研制生产,批号为 M871;牛病毒性腹泻病毒抗原/血清诊断检测试剂盒,由北京爱德士元亨生物科技有限公司研制生产,批号为 P741;操作和结果判定按照说明书进行。

2 结果与分析

2.1 不同地区 BVDV 抗体检测

由表 2 可见,对云南省 4 个州的 10 个县(市)送检或采集的 456 份血清样品,使用 IDEXX 牛病毒性腹泻抗体检测试剂盒进行了 BVD 抗体检测,发现 75 份血清样品检测为阳性,平均抗体阳性率为 16.45%,其中大理州洱源县血清样品 BVDV 抗体阳性率为 60%,玉溪市江川区的血清样品中检测到的 BVDV 抗体阳性率为 5%,丽江市华坪县的血清样品中未检测到抗体阳性。

表 2 不同地区 BVDV 抗体阳性率

县(市)	样品数/份	阳性数/份	阳性率%
玉龙县	16	0	0
华坪县	16	2	12.5
宁蒗县	25	3	12
古城区	14	3	21.43
永胜县	186	35	18.82
洱源县	15	9	60
宾川县	20	6	30
漾濞县	34	6	17.65
江川县	120	6	5
丘北县	10	5	50
合计	456	75	16.45

2.2 不同地区的 BVDV 抗原检测

由表 3 可见,对云南省 4 个州的 10 个县(市)送检或采集的 456 份血清样品其中的 380 份血清样品使用 IDEXX 牛病毒性腹泻抗原检测试剂盒进行了 BVD 抗原检测,发现 2 份血清样品检测为阳性,平均抗原阳性率为 0.53%,其中大理州宾川县血清样品中检测到的 BVDV 抗原阳性率为 7.69%,丽江市宁蒗县的血清样品中检测到的 BVDV 抗体原性率为 4%,其余 8 个县(市)的血清样品中未检测到抗原阳性。

表 3 不同地区 BVDV 抗原阳性率

县(市)	样品数/份	阳性数/份	阳性率%
玉龙县	16	0	0.00
华坪县	16	0	0.00
宁蒗县	25	1	4.00
古城区	14	0	0.00
永胜县	175	0	0.00
洱源县	15	0	0.00
宾川县	13	1	7.69
漾濞县	34	0	0.00
江川县	60	0	0.00
丘北县	10	0	0.00
合计	378	2	0.53

2.3 不同养殖方式的 BVDV 血清抗体检测

由表 4 可见,将 456 份血清样品的抗体检测结果按不同的养殖方式进行分组,在规模养殖场饲养的牛血清样品(165 份)中检测到抗体阳性数 45 份,规模场的抗体阳性率较高为 27.27%,而在散养户饲养的牛血清样品(291 份)中散养户的抗体阳性数为 30 份,散养户的抗体阳性率较低为 16.35%。

表 4 不同养殖方式的 BVDV 抗体阳性率

养殖方式	样品数/份	阳性数/份	阳性率/%
规模场	165	45	27.27
散养户	291	30	10.31
合计	456	75	16.45

2.4 不同养殖方式的 BVDV 血清抗原检测

由表 5 可见,按不同的养殖方式进行分析统计,在规模养殖场饲养的牛血清样品(87 份)中检测到抗原阳性数 1 份,规模场的抗原阳性率较高为 1.15%,而在散养户饲养的牛血清样品(291 份)中散养户的抗原阳性数为 1 份,散养户的抗体阳性率较低为 0.34%。

表 5 不同养殖方式的 BVDV 抗原阳性率

养殖方式	样品数/份	阳性数/份	阳性率/%
规模场	87	1	1.15
散养户	291	1	0.34
合计	378	2	0.53

3 讨 论

BVDV 感染在国内广泛传播,并且具有较高的患病率和遗传多样性,在我国奶牛、牦牛、水牛、骆驼、梅花鹿、猪等动物上都有发现,BVDV 通过分泌物和排泄物不断向外界排毒,成为其他动物的持续感染源^[1,4],很容易就感染周边动物,从而在国内呈逐步扩大的趋势,每年对养殖业造成非常严重的经济损失。我国 BVDV 调查情况表明,其感染情况较为普遍,西北四省和四川省的黄牛和牦牛中发现黄牛的阳性率为 46.15%,牦牛阳性率为 30.08%^[9],西藏林芝不容乐观,抗体阳性率为 78.60%^[10],重庆市牛群的抗体阳性率为 22.49%^[11],青海省 2 个不同的地区牦牛的感染率分别为 19.6% 和 23.42%^[5],北京市 3 个区(县)31 个规模化奶牛场的平均阳性率为 48.2%^[6],新疆 13 个地区规模化养殖场 BVDV 阳性检出率为 22.5%~62.5%,平均总阳性率为 40.0%^[12],广西省部分牛养殖场的抗体阳性率为 36.52%^[13]。本调查对云南省 4 个州的 10 个县(市)的抗体阳性率在 0~60% 之间,整体抗体阳性率为 16.45%,以大理州洱源县的最高,达

60%,而丽江市玉龙县的最低为 0,可能原因是丽江市玉龙县的周围地区牛群中有不同程度的感染情况,可能由于笔者在采集样本数量偏少。

陈锐等对 2014—2015 年云南省保山市和大理州云龙县的散养牛调查 BVDV 的抗体阳性率为 10.0%,西部四省区的散养牛为 33.93%^[7],而本调查的抗体阳性率为 16.45%,处于其中间水平,这可能与样本采集的时间以及采集地不固定有关。此外,不同养殖方式下的阳性率差异明显,规模场 BVDV 的整体抗体阳性率 27.27%,比散养的 10.31% 高出 17 个百分点,这可能是因为规模化养殖的过程中养殖高度集中、密度较高,增加了接触和病毒传播的几率,同时由于该病没有明显的临床症状,往往会容易造成防控上的疏忽^[6,9,14-15],注重规模场的 BVDV 防控至关重要。

BVDV 能够引起宿主产生免疫抑制,降低机体抵抗力,出现持续性感染^[16],增加了罹患其他动物疫病的几率。但由于出现明显的临床症状较少,导致部分牛场对该病防治不够重视,可能会导致感染率持续上升。本研究检测的 378 份血清样品中有 2 份 BVDV 抗原呈阳性,阳性率为 0.53%。对抗原阳性的牛经过 1 个月后重新采样进行抗原和抗体检测排查持续感染牛,结果显示 2 头牛为持续感染牛,占牛群的 0.53%。持续感染牛是 BVDV 的主要传染源,因此检测和淘汰持续感染牛是控制该病的主要途径。

作为高原特色农业,云南省提出了打造世界一流“绿色食品牌”,其中肉牛产业正是我们着力打造世界一流“绿色食品牌”的重要组成部分和云南省重点发展的八大高原特色农业产业。2019 年云南省肉牛存栏 867.31 万头,出栏达到 356.90 万头,可是随着云南省肉牛产业迅速发展,养殖业结构发生了重大变化,伴随国际贸易的频繁,牛患传染性疾病的机率也随之增加,给肉牛产业造成巨大的经济损失,制约了肉牛养殖业的健康发展。下一步笔者将扩大样本采集的地理涵盖区域,并加强对犍牛的监测,控制犍牛流行性腹泻,不断提高犍牛成活率,提高牛群生产力^[17-18],为进一步摸清云南省 BVDV 及其混合感染情况,分离地方毒株以揭示其遗传变异,界定其遗传分化地位和综合防制提供理论参考^[19-21]。

参考文献:

[1] BAKER J C. Bovine viral diarrhea virus: A review[J]. Journal of American Veterinary Medical Association, 1987, 190(11): 1440-1458.

[2] BAKER J C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection[J]. Veterinary Clinics of North America. Food Animal

- Practice, 1995, 11(3):425-445.
- [3] 李佑民,刘振润,武银莲.牛病毒性腹泻-粘膜病病毒株(长春184)的分离与鉴定[J].兽医大学学报,1983(2):113-120.
- [4] 魏伟.牛病毒性腹泻病毒抗体间接ELISA检测方法的建立及临床血清学调查[D].哈尔滨:东北农业大学,2009.
- [5] 韩志辉,圈华,贺晓龙,等.牦牛病毒性腹泻/粘膜病血清抗体检测[J].畜牧与兽医,2011,43(8):78-80.
- [6] 傅彩霞,靳兴军,郑瑞峰,等.北京地区规模化奶牛场3种病毒性腹泻病的血清学调查[J].动物医学进展,2012,33(5):85-88.
- [7] 陈锐.中国西部四省区散养肉牛BVDV流行病学调查和一株分离毒株的全基因组测序[D].北京:中国兽医药品监察所,2016.
- [8] 王青青.新疆南疆部分规模奶牛场BVD流行病学调查及分析[D].阿拉尔:塔里木大学,2017.
- [9] 高双娣,邱昌庆,周继章,等.西北和西南五省(区)部分地区黄牛牦牛病毒性腹泻/粘膜病血清学监测[J].中国兽医科技,1999(7):17-18.
- [10] 赵霞玲,牛家强,次仁央金,等.牦牛腹泻病毒BVDV、BCV、BRV流行病学调查[J].高原农业,2020,4(3):298-302.
- [11] 杨泽林,冉智光,曾政,等.重庆市部分地区牛病毒性腹泻/粘膜病血清流行病学调查[J].畜牧市场,2009(10):28-29.
- [12] 魏其,屈勇刚,常军帅,等.新疆部分地区牛病毒性腹泻的流行病学调查[J].畜牧与兽医,2020,52(12):105-109.
- [13] 苏姣秀,梁晟,曹慧慧,等.广西奶牛场主要疫病血清流行病学调查[J].中国兽医杂志,2016(5):52-53.
- [14] 王伟,武华.欧美牛病毒性腹泻防控措施及对我国的启示[J].中国兽药杂志,2010,44(5):42-46.
- [15] 张保宁,秦建华,赵月兰,等.牛病毒性腹泻-粘膜病病毒地方株的分离及RT-PCR鉴定[J].中国农学通报,2006,22(8):1-4.
- [16] 宫晓炜,曹小安,郑福英,等.牛病毒性腹泻病毒感染的免疫应答研究进展[J].中国兽医科学,2012,42(11):1200-1205.
- [17] 亏开兴,张继才,李花,等.中甸牦牛犊早期断奶的综合技术措施[J].草食家畜,2020(1):19-22.
- [18] 郭启勇,柳国锁,黄海碧,等.规模化奶牛场牛病毒性腹泻流行病学调查与防控[J].畜牧与兽医,2020,52(12):132-135.
- [19] 邓波,李凯航,薛霞,等.上海地区奶牛场牛病毒性腹泻-粘膜病的血清学调查[J].动物医学进展,2011,32(4):126-128.
- [20] TAJIMA M. The prevalent genotypes of bovine viral diarrhea virus in Japan, Germany and the United States of America[J]. The Japanese Journal of Veterinary Research, 2006,54(2/3):129-134.
- [21] GONG X, CAO X, ZHENG F, et al. Identification and characterization of a novel subgenotype of bovine viral diarrhea virus isolated from dairy cattle in Northwestern China[J]. Virus Genes, 2013,46(2):375-376.

Seroepidemiological Investigation of Bovine Viral Diarrhea-mucosal Disease in Yunnan Province

WANG Li-ping¹, JIN Xian-dong², BI Jun-long³, SU Yun-shun⁴,
YANG Cong⁵, LI Jiao-long¹, QU Kai-xing^{2*}, YIN Ge-fen^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; 2. Yunnan Academy of Grassland and Animal Science, Kunming 650212; 3. Chuxiong Center for Animal Disease Control and Prevention, Chuxiong, Yunnan 675000; 4. Yaoan Center for Animal Disease Control and Prevention, Yao'an, Yunnan 675300; 5. Xionguan Veterinary Station of Jiangchuan District, Yuxi, Yunnan 652603)

Abstract: [Objective] Bovine viral diarrhea-mucosal disease (BVD) can cause bovine diarrhea, respiratory disease, reproductive dysfunction, immunosuppression, abortion, and stillbirth for female animals, harmful for cattle industry development. Bovine viral diarrhea-mucosal disease virus (BVDV) is widespread for many cattle populations in our country, of which the prevalence is different in the different regions. The objective of this survey was to investigate the prevalence of BVDV infection in some areas of Yunnan province. [Methods] It was used a commercial ELISA kit to show the investigation of the infection and prevalence of BVDV. A total of 456 bovine serum samples from some large-scale farms and free-range households in 10 counties/cities from 4 prefectures/cities in Yunnan province were collected in this survey. [Result] The results showed that the antibody detection and antigen detection of bovine serum samples from the different regions of Yunnan province, showing that the total antibody positive rate was 16.45% (75/456), and the antigen positive rate was 0.53% (2/378). The highest antibody positive rate was 60.0%, happened in Eryuan county of Dali prefecture (9/15). No antibody positive rate was detected in Huaping county of Lijiang city. The total antigen positive rates were lower for Binchuan county of Dali prefecture and Ninglang county of Lijiang city, of which the corresponding values were 7.69% (1/13) and 4.0% (1/25). After analyzing the different feeding systems, the positive rate of large-scale farms was 27.27% (45/165) and the positive rate of antigen was 1.15% (1/87), while the positive rate of free-range households was 10.31% (30/291) and the positive rate of antigen is 0.34% (1/291). [Conclusion] There existed BVDV infection for cattle herds in Yunnan, and the positive rate of antibody antigen is closely related to the different regions, and that there are certain differences in antigen and antibody levels in the different feeding systems. Therefore, the prevention and control of BVDV in Yunnan must be strengthened to reduce the economic losses.

Key words: Yunnan province; BVD; serological investigation; antibody and antigen detection