

牛病毒性腹泻的鉴定及讨论

苏文娟, 孔 伟, 张宝良

(甘肃省家畜繁育改良管理站, 甘肃 武威 733000)

摘 要:目的:为了鉴定甘肃武威地区某牛场中牛病毒性腹泻病的发病情况,分别采集了13只病牛的血液样品、粪便样品配合诊断。方法:通过血清学诊断方法和PCR鉴定的方法对样本进行了检测。结果:显示血清学方法中的13份血液样本有8份为抗原检测为阳性,粪便样本提取RNA,进行RT-PCR同样可以检测到8份样本中扩增得到片段大小为267bp的条带,检测的13份样本有8份样本的血清学检测和粪便PCR检测均为阳性。结论:本次检测的BVDV阳性率为61.54%,结果表明本次检测的甘肃武威地区某养殖场的牛病毒性腹泻抗原阳性率较高,需要加强牛病毒性腹泻的防控,采取科学的手段治理该类疾病降低其对养牛产业的损失。

关键词:牛病毒性腹泻;血清学检测;PCR鉴定

中图分类号:S858.23

文献标识码:B

文章编号:1001-9111(2021)06-0000-00

牛病毒性腹泻(BVD),亦被称为牛粘膜病,被归类为一种接触型传染病,且传播力强、传播途径广泛。本病主要是由牛病毒性腹泻病毒(BVDV),临床主要的特征可以表现为体温升高明显、萎靡不振、食欲减退甚至拒食、逐渐停止反刍行为、粘膜充血肿胀、产奶量受到严重影响等典型症状。本研究通过对甘肃武威地区某牛场中13份样本进行血清学和基因层面的检测,了解该养殖场BVD发病的情况。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 病料来源 甘肃武威地区某牛场中腹泻病牛13只,采集静脉血2 mL,每只牛粪便20 g。

1.1.2 样品采集 选择有明显腹泻的病牛,采集静脉血2 mL,每只牛粪便20 g。

1.1.3 试验材料 爱德士生产的牛病毒性腹泻抗原试剂盒,天根RNA提取试剂盒,Takara生产的反转录试剂盒和扩增试剂盒。

1.2 方 法

1.2.1 血清学检测 取病牛血液进行3 000 r/min离心5 min,取血清进行检测,实验步骤参考爱德士

牛病毒性腹泻抗原检测试剂盒说明说进行检测,结果进行数据分析判断阴性。

1.2.2 PCR鉴定 取粪便5 g进行反复冻融,过滤后进行提取,RNA提取方法参考天根RNA提取试剂盒使用说明书进行操作,反转录以及PCR参考Takara试剂盒使用说明书进行操作,引物采用BVDV 5'UTR引物进行扩增(F:5'-CCTAGCCAT-GCCCTTAGTAGGACT-3';R:5'-GGAAGTCCA-TGTGCCATGTACA-3')^[1],引物在上海生工进行合成。

2 结果

2.1 血清学检测结果

使用爱德士牛病毒性腹泻抗原检测试剂盒检测血清显示,13份样本中有8份样本血清学检测为阳性,5份样本血清学检测结果为阴性。本次检测的阳性率为61.54%。

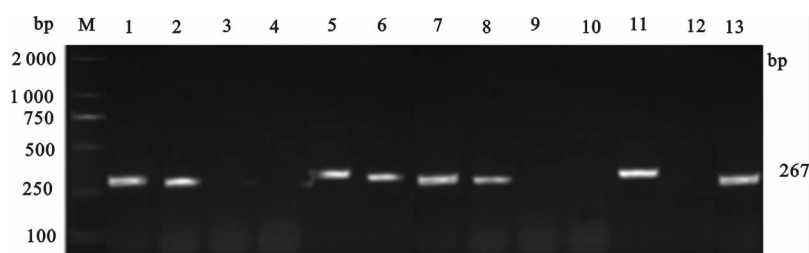
2.2 PCR鉴定结果

对13份菌株进行RNA提取,反转率,并使用BVDV 5'UTR引物进行扩增,结果显示其中8份样本可以扩增大小为267 bp的片段,如图1,本次检测

收稿日期:2021-08-07 修回日期:2021-08-15

作者简介:苏文娟,女,本科,主要从事家畜疫病防控和牛冷冻精液技术推广。

的 PCR 鉴定结果与血清学结果相符。



注:M 为 DL-2 000 Marker;1~13 号为样本。

图 1 13 份样本 PCR 鉴定结果

3 讨 论

在 1980 年以后我国首次发现牛病毒性腹泻病,在随后的几十年里,多省也陆续有该病的报道^[2]。2016 年曲萍等对我国西北 5 个省,自治区进行了 BVD 流行情况的调查,结果显示不同的养殖方式牛患病感染的抗体阳性率在 31%~100% 不等,散养的牛感染情况明显高于舍饲或者半舍饲的^[3]。2018 年闫晓玲等对张掖地区的 BVD 感染情况进行调查结果显示检测到的样本感染阳性率为 36.5%^[4]。2018 年 Bettina 等人对世界 BVD 的流行情况进行调查,调查的结果显示我国畜群水平的 BVD 抗体的阳性情况为 20%~40%^[5]。2017—2020 年王衡等对武威地区的牛粪便进行了 BVD 的 PCR 检测,鉴定结果为 12.5%~19.7%^[6]。本次检测的抗原阳性率高达 61.54%,阳性率相对较高,一方面可能由于本养殖场正处在 BVD 的急性发病期,且采集的样本均为有腹泻症状的病牛,所以检测到的阳性率较高,另一方面本次检测的样本量相对较少。后续笔者还会对武威地区该养殖场以及其他养殖场、散户的牛病毒性腹泻流行情况进行进一步研究,扩大数据量,更好地为牛病的防控情况做参考。

随着 BVD 在我国的流行越来越广泛,该病严重困扰着广大养殖户,当代的养殖业养殖场应该采取科学的手段,有效避免该病的发生。首先要加强对本养殖场牛的饲养管理,坚持自繁自养的模式,不从疫区引进牛只,新购买的牛必须要按照相关的规定做好隔离工作。第二,淘汰患病的牛,淘汰 PI 感染的牛,降低种群的阳性率,降低发病情况,减少传染源。第三,避免病毒的传播,对养殖场做好消毒工作,运输用具、水盆、食槽、圈舍进行彻底的消毒。第四,按照相关的规定,定期接种疫苗,使群体具有较强的抵抗力,且在平时的饲养中注重动物日粮搭配,

增加动物的营养情况。

养殖业良好的发展在于我们每一个从业人员的不断努力,在过去的几十年我们在畜牧业,养牛业取得了很大的成绩,在量增长的同时,发生疾病的可能也就同时增多了,如何能够更好地让养殖业能够良性的发是我们每一个从业人员值得重视的问题。为了更好的解决养殖业疾病的困扰我们要对目前的一些常见病,如消化系统疾病,营养代谢疾病,呼吸系统疾病都应该进行更加深刻地了解,本研究针对牛病毒性腹泻病,一种十分常见的消化系统疾病就行了调查,调查结果显示被检测的 13 份样本有 8 份样本血清学检测和 PCR 鉴定检测结果均为阳性,阳性率高达 61.54%,这也提示了该养殖场牛病毒性腹泻的发病率非常高,需要进行一些适当的措施来对牛群进行净化和治疗,降低自身的经济损失。同时本研究的调查结果也可以作为一手数据来为甘肃武威地区牛病毒性腹泻的流行情况以及疾病综合防控情况进行参考。

参考文献:

- [1] 张国华,吴丹丹,周玉龙,等. 牛病毒性腹泻病毒黑龙江分离株的分离鉴定[J]. 中国预防兽医学报,2015,37(10):805-807.
- [2] 杨永华,包淋斌,姚利平. 牛病毒性腹泻病诊断和防治措施[J]. 江西畜牧兽医杂志,2018,4(3):47-49.
- [3] 曲萍,赵柏林,胡冬梅,等. 我国西部地区牛病毒性腹泻病流行情况调查[J]. 黑龙江畜牧兽医,2016,4(6):111-113.
- [4] 闫晓玲,何彦春,李旭蓉,等. 张掖市牛病毒性腹泻黏膜病和传染性鼻气管炎的血清学调查[J]. 中国牛业科学,2018,44(3):48-49.
- [5] S BETTINA, R FFERDINAND, RVERONIKA, et al. A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. [J]. Scientific reports, 2018, 8:14 420.
- [6] 王衡,满海燕. 甘肃省武威市凉州区奶牛病毒性腹泻病毒的流行病学调查与分析[J]. 中国奶牛,2020,4(12):26-29.

Identification and treatment of bovine viral diarrhea

SU Wen-juan, KONG Wei, ZHANG Bao-liang

(Gansu Livestock Breeding and Improvement Management Station, Wu-wei, Gan-su 733000)

Abstract: objective: In order to identify the incidence of bovine viral diarrhea in a cattle farm in Wuwei area of Gansu Province, the blood and fecal samples of 13 sick cattle were collected for diagnosis. Method: The samples were detected by serological diagnosis and PCR identification. Results: It showed that 8 of 13 blood samples were positive, and RNA was extracted from fecal samples, RT-PCR could also detect the 267 bp band in 8 samples. Of the 13 samples tested, 8 samples were positive in serological test and fecal PCR test. The positive rate of this test was 61.54%. Conclusion: The results showed that the positive rate of bovine viral diarrhea in a farm in Wuwei area of Gansu Province was relatively high, it is necessary to strengthen the prevention and control of bovine viral diarrhea, take scientific measures to control the disease, and reduce the loss of cattle industry.

Key words: bovine viral diarrhea; serological test; PCR identification