牛结核病检测预警体系的研究进展

陈强斌[1]，房文斌[1]，窦立静[1]，王宏伟[1]，赵艳梅[1]，刘　强[1]，叶翠芳[2*]

1 第八师动物疫病预防控制中心，新疆石河子 832000
2 石河子大学动物科技学院，新疆石河子 832000

摘　要：牛结核病（BovineTuberculosis）主要由结核分枝杆菌复合群（MTBC）引起的慢性消耗性疾病，尤其对奶牛易感性较高，是一种人畜共患病。牛结核病对人类健康和养殖业造成极大威胁和影响，已被很多发达国家列为必须消灭疾病之一。尽管牛结核病诊断和治疗取得重大进展，但仍对全球牛只健康造成严重威胁。早期发现流行病是全世界公共卫生检测的挑战。基于统计数据建立预警体系可以对早期发现牛结核病提供帮助，已成为控制牛结核病传播的重要方法。本文综述牛结核病现状、常见检测方法和预警体系，以期为牛结核病综合防控提供参考。

关键词：牛结核分支杆菌；检测技术；预警体系

文章编号：1671–4393（2025）07–0099–06　　DOI:10.12377/1671–4393.25.07.16

0 引言

牛结核病（TB）是全世界流行的人畜共患病，也是困扰我国畜牧业的传染病之一。在一些发达国家，牛结核病已被根除，但一些发展中国家和不发达地区该病仍是影响经济和人类健康的威胁因素之一[1，2]。控制传播和及时扑杀是牛结核病的防控关键，其中，及时扑杀需依赖诊断技术提高，而控制结核病传播需要预警体系建立和完善。牛结核病诊断技术主要包括细菌学诊断、分子生物学诊断和免疫学诊断。在实际应用中，结核分枝杆菌主要通过PPD皮内变态反应试验和γ－干扰素ELISA试验[3]检测。而牛结核病预警体系是全球公共卫生事件应急

基金项目：兵团重点领域科技攻关项目–基于微滴数字PCR技术创建牛结核病检测方法研究与示范（2023AB009–02）；兵团指导性科技计划项目–荷斯坦牛MBL2基因多态性与支原体肺炎相关性研究（2023ZD041）

作者简介：陈强斌（1983–），男，甘肃会宁人，本科，兽医师，研究方向为动物疫病防控与检测；
房文斌（1967–），男，陕西临潼人，本科，农业技术推广研究员，研究方向为动物疫病防控检测；
窦立静（1975–），女，新疆昌吉人，本科，高级兽医师，研究方向为动物疫病防控与检测；
王宏伟（1968–），男，甘肃武威人，本科，高级兽医师，研究方向为动物疫病防控与检测；
赵艳梅（1985–），女，山东威海人，本科，兽医师，研究方向为动物疫病防控与检测；
刘　强（1970–），男，河北景县人，本科，兽医师，研究方向为动物疫病防控与检测。
*通信作者：叶翠芳（1991–），女，安徽阜阳人，硕士，讲师，研究方向为动物生产及疫病防控。

中国乳业线上阅读

管理体系的重要组成部分，近年来，加强公共卫生并建立预警体系仍然是全球相关领域专家的共同诉求[4，5]。在SARS暴发后，我国一直致力建立世界最大疾病检测系统，即中国疾病控制和预防信息系统[6]。作为人畜共患病防控体系的一部分，建立牛结核病预警体系尤为重要。笔者综述牛结核病诊断技术和预警体系研究进展，为我国畜牧工作者提供参考。

1 牛结核病概述

1.1 牛结核病概念和分类

牛结核病是由结核分枝杆菌复合群引起的一种人畜共患传染病。结核杆菌复合物中主要有牛型分枝杆菌、结核分枝杆菌和禽型分枝杆菌。其中，人型和牛型分枝杆菌可引发人畜共患传染性结核病[7]。牛结核病是世界卫生组织标注重要疫病，在我国被列为二类动物疫病。

1.2 牛结核病流行现状

牛结核病主要由结核分枝杆菌和牛型分枝杆菌引起，其中牛型分枝杆菌占15.6%[8]。全球畜牧业，每年约5 000 万头牛感染结核病，感染率高达9%，造成巨大经济损失[9]。一些欠发达地区甚至达到13.4%患病率[10]。因此，结核病对威胁人类健康和畜牧业发展造成重大阻碍。

2 牛结核病常见检测技术

2.1 细菌学检测法

2.1.1 涂片镜检法

收集病变组织进行涂片，运用齐尔-尼尔森染色法和齐尔-加贝特染色法，经初染、脱水、复染后在显微镜下观察形态特征，检测牛结核杆菌。涂片镜检该法相对简单，但易与其他杂菌混淆且需细菌浓度高于10 000 CFU/mL才可靠[11]。

2.1.2 细菌分离培养法

该方法利用培养基培养从牛排泄物提取菌群，并经过一系列生化实验，最终确定牛结核病感染情况。细菌分离培养该法可精准检出是否有结核杆菌，但对培养基要求较高，且菌落生长速度缓慢，往往需要1 个多月才可长出肉眼可见菌落，故此法用于精确研究，不适合临床试验[12]。

2.2 分子生物技术诊断法

2.2.1 聚合酶链式反应（PCR）法

PCR是一种体外扩增技术，被广泛运用于现代生物学和相关领域。常用有普通PCR、实时荧光定量PCR和数字PCR。该法具有特异性好、灵敏度高、耗时时间较短等优点，PCR的准确性和特异性达到88.41%和92.37%[13]。研究发现，PCR检测对结核分支杆菌及其他相关分枝杆菌病也具有重要的鉴别价值[14]。但该法技术要求相对较高，容易存在气溶胶和假阳性等问题，干扰检测结果，因此在实际操作当中应当对检测人员进行专业培训。

2.2.2 DNA核酸探针检测法

核酸探针技术是利用某一基因的部分序列或者非编码区为探针，再加入共有的DNA文库中筛选特定菌种的方法，广泛运用于细菌、病毒、真菌检测。由于分枝杆菌共有65 ku抗原，因此，只需要合成不同的特异性探针，就可以通过检测扩增产物而确定检测结果。该法具有制备简单、不易降解、结果准确等优点。有研究发现，基于核酸探针的快速检测技术对12 株常见非结核分枝杆菌具有很好的特异性[15]。但该法对检测人员的要求较高，可能存在人为误差。

2.2.3 基因芯片法

基因芯片是利用杂交测序技术，将已知序列的核酸探针杂交并被锚定在固体物上的一种检测技术。该法具有高效、微量、污染小等优点，被广泛用于基因突变的检测和基因测序工作。该方法的特异性高达85%，而且对不同亚型的菌株也有很强地鉴别能力，可用于结核病的防治[16]。

2.3 免疫学诊断法

2.3.1 结核菌素皮内变态反应（TST）

中国乳业编辑部

TST是指皮下注射纯蛋白衍生物（PPD）后，借助机体的免疫机制，通过观察皮试部位是否出现变态反应，诊断个体是否感染牛结核。该法是目前被世界卫生组织和多数国家所认同的一个标准的牛结核检疫方法，被我国列为动物结核病检疫行业标准。由于简单、有效和廉价的优点，TST已成为牛分枝杆菌感染的主要筛选手段。但这种方法也存在缺点，由于PPD中含有非分枝杆菌共有抗原，因此在接种卡介苗的地区很容易出现假阳性。这种假阳性可通过辅助检测排除，弥补TST的不足，如IFN-γ测试可以通过改变切断分枝杆菌中的特定抗原提高其特异性[17]。此外，一项研究还明确遗传标记筛选与TST反应筛选之间良好的关联性，这从遗传层面证明皮内变态反应实验的可靠性[18]，该方法也被世界卫生组织作为牛结核的标准检测实验。

2.3.2 血清学诊断法

血清学诊断即通过抗原抗体结合的一种检测方法，具有快速、特异性强、结果灵敏等优点，也被应用于牛结核病的实际检测。最常见的血清学诊断法是γ-干扰素诊断法和ELISA诊断法。在欧洲，γ-干扰素诊断法被认为能更早识别感染动物，而且具有与TST同样敏感度的诊断方法[19，20]。有研究采用离子交换层析法分离出结核分枝杆菌H37Rv胞外蛋白和分泌蛋白抗原，这两种混合抗原对结核分枝杆菌具有很高的特异性（98.06%）和灵敏度（98.67%），具备明显的商业推广价值[21]。

3 牛结核病预警评估体系的建立

3.1 牛结核病预警评估体系组成

预警体系一般由检测系统、预警信息系统、预警评价指标系统和预警评估系统构成。牛结核的监测系统包括常规皮肤测试、运输前监测和屠宰场监测[22]。牛结核的信息系统一般由国家通过年度报告、时期报告和网络监测报告进行梳理。预警体系指标和评估需要通过专家会议和已有数据库的双重信息来考量。预警体系的建立需要多学科的知识融合，并在结合牛结核病的发生和发展规律的基础上，通过建立模型预测系统，最终达到预警目的。

3.2 牛结核病预警体系发展

我国的结核病预警体系始于20世纪50年代，但直到1982年才初步建立结核病的预警体系，随后预警体系不断发展，从最初以省为单位的年度检测报告、季度报告，发展为现在网络实时报告，最终于2004年真正实现县级结核病实时信息。预警体系是指检测指标异常时，及时发出警报，从而根据相应程度执行制定干预办法的一个体系。由于预警体系必须要有灵敏、有效和可操作性强的特性，所以实践中建立传染病的检测预警体系的过程中，一般采用定性结合定量方法综合考虑。在我国，德尔菲法（DeLphi法）作为一种调查研究方法被广泛应用于评估传染病的预警体系[23]。

3.3 牛结核病预警体系建立方法

3.3.1 DeLphi法

DeLphi法是专家调查法中非常重要的一种方法，已经广泛应用于公共卫生的各领域。它是对预警体系指标进行推算，寻求变化规律，最终建立牛结核病预警体系的一种方法。该法一般通过以牛结核病为关键词检索各大数据库发表的文献、国家相关防控工作方针和专家讨论初步确定牛结核病的检测预警框架。一般根据风险因素确定至少3 个等级的指标体系，每个指标体系再细分为多个具体指标。经过专家会议讨论和综合分析，确定包括专家积极程度、意见集中程度、专家权威指数和协调系数在内的不同预警指标，之后计算各项指标权重系数，将指标分为多个等级分别给予权重评估。

后永春等[24]通过确定疫情指标、控制指标、经济学指标和影响因素指标为4 个一级指标，对结核病主要影响指标进行预警分析。此外，肾综合征出血和登革热等传染病预警体系成功建立，侧面验证该法可靠性和实用性[25，26]。

3.3.2 机械模型法

中国乳业线上阅读

机械模型法一般利用计算机技术，是空间上明确、随机、动态模拟模型。该模型可以对牛结核病常规检测、运输前检测和屠宰监测3 个主要流程进行预警分析。该模型表示牛群之间的传播，以及在清除感染个体时遇到的可能因素。2008—2010年英国牛结核病中应用了英格兰和威尔士牛结核病模型（BOTMEW法），这是一种典型的机械模型法，考虑牛结核病潜伏期，解决检测地区感染牛结核病预警问题[27]。机械模型能够兼顾牛结核病传播途径和地区差异，具有预警误差小、故障率低等优点[28]。

3.3.3 数学模型法

传染病的数学模型法是指利用农场流动数据和牛结核病发病率数据等，基于微积分方程理论建立传染病的数学模型并对模型进行动力学分析，梳理造成牛结核病传播和蔓延的动态因素，是制定流行病防控策略和评估防控措施效果的基本手段[29]。数学模型可在屠宰检查、隔离和免疫等过程对牛结核病进行预警[30]。数学模型主要包括密度依赖型模型、频率依赖型模型，其中，频率依赖型是指每个动物以一个固定的概率感染其他动物，而密度依赖型模型则强调病畜感染其他动物的机会与动物的总体密度成比例。叶贝斯法是密度模型中的典型方法，在评估2003—2005年英国牛结核病中发挥重要作用[31，32]。此外，比利时建立密度型随机模型提高牛结核病预警体系的敏感度和准确性[33]。频率依赖型模型则更适用于中小规模结核病传播预警，该模型主要关注运输前检测、群内传播和感染动物的检测。频率模型在荷兰1999年疫情中发挥重要作用，并通过调整检测时间、群体数量和变异系数提高模型的准确性[34]。总之，密度模密度依赖型模型对牛结核病的拟合程度和预测价值明显高于频率依赖型模型[35]。因此，在数学模型对牛结核病的预警体系中，叶贝斯法密度模型仍是更有效合理模型。

4 小结

在过去1 个世纪里，牛结核病全球形势发生很大变化。得益于诊断技术更新和发展，牛结核病诊断灵敏度和特异性均明显提高，越来越多发达国家已根除牛结核病。但部分发展中国家中还存在牛结核病感染。因此，一些发展中国家建立牛结核病预警体系仍然是一种战略性需求，一方面受感染地区建立群内传播模型对根除和控制疫情十分必要，另一方面低流行地区可用预警模型优化根除方案。但疫情爆发时，全面捕杀感染动物仍是首要方法。已根除地区建立预警模型是防控牛结核病复发的重要监控措施。

参考文献

[1] 杨德全，杨显超，沈海潇，等.欧盟、美国及澳大利亚牛结核病防控经验与启示[J].中国动物检疫，2021，38（9）：62–65.

[2] Ayalew S，Habtamu G，Melese F，et al.Zoonotic tuberculosis in a high bovine tuberculosis burden area of Ethiopia[J].Frontiers in Public Health，2023，11：1204525.

[3] 吴亚文，王晓亮，张玉玲，等.γ–干扰素ELISA检测方法在牛结核病流行病学调查中的应用[J].中国动物检疫，2016，33（9）：78–80.

[4] Morse S S.Public health surveillance and infectious disease detection[J].Biosecurity and Bioterrorism：Biodefense Strategy，Practice，and Science，2012，10（1）：6–16.

[5] Qiu Y，Guitian J，Webster J P，et al.Global prioritization of endemic zoonotic diseases for conducting surveillance in domestic animals to protect public health[J].Philosophical Transactions of the Royal Society B，2023，378（1887）：20220407.

[6] Wang L，Wang Y，Jin S，et al.Emergence and control of infectious diseases in China[J].The Lancet，2008，372（9649）：1598–1605.

[7] 孙雨，马世春，董浩，等.牛结核病的流行病学特征与实验室诊断技术的研究进展[J].畜牧与兽医，2015，47（10）：145–148.

[8] Anne N S，Ronald B，Kumar T S，et al.Molecular identification of Mycobacterium tuberculosis in cattle[J].Veterinary Microbiology，2017，198：81–87.

[9] Vordermeier H M，Jones G J，Buddle B M，et al.Bovine tuberculosis in cattle：Vaccines，DIVA tests，and host biomarker discovery[J].Annual Review of Animal Biosciences，2016，4：87–109.

[10] Picasso–Risso C，Grau A，Bakker D，et al.Association between results of diagnostic tests for bovine tuberculosis and

中国乳业线上阅读

Johne’s disease in cattle[J].The Veterinary Record，2019，185（22）：693.

[11] Sergeant E，Happold J，Langstaff I.Evaluation of Australian surveillance for freedom from bovine tuberculosis[J].Australian Veterinary Journal，2017，95（12）：474–479.

[12] Lucena A N，Cuartero L G，Mulcahy G，et al.The immunoregulatory effects of co–infection with Fasciola hepatica：From bovine tuberculosis to Johne's disease[J].The Veterinary Journal，2017，222：9–16.

[13] Lorente–Leal V，Liandris E，Castellanos E，et al.Validation of a real–time PCR for the detection of Mycobacterium tuberculosis complex members in bovine tissue samples[J]. Frontiers in Veterinary Science，2019，6：61.

[14] Asil E T A，El Sanousi S M，Gameel A，et al.Bovine tuberculosis in South Darfur State，Sudan：An abattoir study based on microscopy and molecular detection methods[J]. Tropical Animal Health and Production，2013，45：469–472.

[15] Zhao Y，Li G，Sun C，et al.Locked nucleic acid probe–based real–time PCR assay for the rapid detection of rifampin–resistant Mycobacterium tuberculosis[J].PloS One，2015，10（11）：e0143444.

[16] Chang H，Huang M，Yeh C，et al.Rapid diagnosis of tuberculosis directly from clinical specimens using a gene chip[J].Clinical Microbiology and Infection，2010，16（8）：1090–1096.

[17] Buddle B M，Livingstone P G，De Lisle G W.Advances in ante–mortem diagnosis of tuberculosis in cattle[J].New Zealand Veterinary Journal，2009，57（4）：173–180.

[18] Amos W，Brooks–Pollock E，Blackwell R，et al.Genetic predisposition to pass the standard SICCT test for bovine tuberculosis in British cattle[J].PloS One，2013，8（3）：e58245.

[19] De La Rua–Domenech R，Goodchild A，Vordermeier H，et al.Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle：A review of the tuberculin tests，γ–interferon assay and other ancillary diagnostic techniques[J].Research in Veterinary Science，2006，81（2）：190–210.

[20] Pollock J，Welsh M，Mcnair J.Immune responses in bovine tuberculosis：Towards new strategies for the diagnosis and control of disease[J].Veterinary Immunology and Immunopathology，2005，108（1/2）：37–43.

[21] Tiwari D，Tiwari R P，Chandra R，et al.Efficient ELISA for diagnosis of active tuberculosis employing a cocktail of secretory proteins of Mycobacterium tuberculosis[J].Folia Biologica，2014，60（1）：10–20.

[22] Napp S，Ciaravino G，De Val B P，et al.Evaluation of the effectiveness of the surveillance system for tuberculosis in cattle in Spain[J].Preventive Veterinary Medicine，2019，173：104805.

[23] Goodman C M.The Delphi technique：A critique[J].Journal of Advanced Nursing，1987，12（6）：729–734.

[24] 后永春，王敏，李晓倩，等.中国结核病监测预警指标体系的构建[J].中华流行病学杂志，2012，33（5）：505–508.

[25] 卢亮平，王丽，马芬，等.肾综合征出血热流行预警指标体系研究[J].中华预防医学杂志，2011，45（3）：235–238.

[26] 廖如燕，陈胤瑜，毛琛.构建输入性登革热风险预警量化指标体系的研究[J].中华疾病控制杂志，2009，13（3）：337–341.

[27] Birch C P D，Goddard A，Tearne O.A new bovine tuberculosis model for England and Wales（BoTMEW） to simulate epidemiology，surveillance and control[J].BMC Veterinary Research，2018，14（1）：273.

[28] Brooks–Pollock E，Roberts G O，Keeling M J.A dynamic model of bovine tuberculosis spread and control in Great Britain[J].Nature，2014，511（7508）：228–231.

[29] Conteddu K，English H M，Byrne A W，et al.A scoping review on bovine tuberculosis highlights the need for novel data streams and analytical approaches to curb zoonotic diseases[J]. Veterinary Research，2024，55（1）：64.

[30] Kao R R，Roberts M G，Ryan T J.A model of bovine tuberculosis control in domesticated cattle herds[J].Proceedings. Biological Sciences，1997，264（1384）：1069–1076.

[31] O'Hare A，Orton R J，Bessell P R，et al.Estimating epidemiological parameters for bovine tuberculosis in British cattle using a Bayesian partial–likelihood approach[J]. Proceedings of the Royal Society B：Biological Sciences，2014，281（1783）：20140248.

[32] Conlan A J K，McKinley T J，Karolemeas K，et al.Estimating the hidden burden of bovine tuberculosis in Great Britain[J]. Plos Computational Biology，2012.

[33] Welby S，Govaerts M，Vanholme L，et al.Bovine tuberculosis surveillance alternatives in Belgium[J].Preventive Veterinary Medicine，2012，106（2）：152–161.

[34] Fischer E A，Van Roermund H J，Hemerik L，et al.Evaluation of surveillance strategies for bovine tuberculosis（Mycobacterium bovis） using an individual based epidemiological model[J].Prev Vet Med，2005，67（4）：283–301.

[35] Smith R L，Schukken Y H，Lu Z，et al.Development of a model to simulate infection dynamics of Mycobacterium bovis in cattle herds in the United States[J].Journal of the American Veterinary Medical Association，2013，243（3）：411–423.

中国乳业线上阅读

Research Progress on Early Warning System for Bovine Tuberculosis Detection

CHEN Qiangbin[1]，FANG Wenbin[1]，DOU Lijing[1]，WANG Hongwei[1]，ZHAO Yanmei[1]，LIU Qiang[1]，YE Cuifang[2*]

[1]The Eighth Division Animal Disease Prevention and Control Center，Shihezi Xinjiang 832000

[2]College of Animal Science and Technology，Shihezi University，Shihezi Xinjiang 832000

Abstract：Bovine tuberculosis （BT） is a chronic wasting disease primarily caused by the Mycobacterium tuberculosis complex（MTBC），with a particularly high susceptibility among dairy cows. It is a zoonotic disease that poses a significant threat to human health and the livestock industry，and has been designated as a disease to be eradicated by many developed countries. Despite significant progress in the diagnosis and treatment of bovine tuberculosis，it continues to pose a serious threat to global cattle health. Early detection of epidemics remains a major challenge for public health surveillance worldwide. Establishing an early warning system based on statistical data can assist in the early detection of bovine tuberculosis and has become an important method for controlling its spread. This paper reviewed the current status of bovine tuberculosis，common detection methods，and early warning systems，with the aim of providing references for comprehensive prevention and control of the disease.

Keywords：Mycobacterium bovis；detection techniques；early warning system

▲上接98页

Research Progress on the Relationship Between *Staphylococcus aureus* Virulence Factors and Antibiotic Resistance in Bovine Mastitis

FU Guangda[1]，LIU Weihong[1]，HU Zhisheng[2*]

[1]Linyi Center for Animal Disease Control and Prevention，Linyi Shandong 276000

[2]Shandong Provincial Livestock Station，Jinan Shandong 250102

Abstract：*Staphylococcus aureus* is the main pathogen causing mastitis in dairy cows. Its virulence factors and antibiotic resistance have significant impacts on host health and dairy product production. Virulence factors such as biofilms, enterotoxins, and hemolysins can promote the colonization and persistent infection of pathogens in the breast, while the antibacterial resistance genes carried further increase the difficulty of treatment. With the advancement of molecular biology and genomics techniques, the interaction between virulence factors of *Staphylococcus aureus* and the mechanism of antibacterial resistance has gradually been revealed. This paper summarizes the research progress in recent years on the virulence factors and antibacterial resistance genes of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis, analyzes the synergy between the two and their impact on the infection process, and explores the regulatory effect of antibacterial drugs on the virulence and drug resistance of pathogens, aiming to provide theoretical support for the precise prevention and control of bovine mastitis and the rational use of antibacterial drugs.

Keywords：*Staphylococcus aureus*；virulence factor；antibiotic resistance；bovine mastitis；public health

中国乳业线上阅读