

颜 卫,赵莎莎,刘 静,等. 江苏省泰州地区宠物重要人兽共患细菌病流行现状[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):198-200.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.03.064

江苏省泰州地区宠物重要人兽共患细菌病流行现状

颜 卫,赵莎莎,刘 静,陈文芳,蒋姗姗

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:对江苏省泰州地区宠物犬样品进行沙门氏菌、弯曲菌、分枝杆菌和布鲁氏菌的分离鉴定,结果显示,肛拭样品、犬粮中沙门氏菌检出率分别为 1.91%、2.23%,空肠弯曲菌、结肠弯曲菌的阳性率分别为 4.69%、1.23%,分枝杆菌 *ESAT-6*、*CFP-10* 的基因检出率分别为 25.18%、18.09%;其余基因检出率较低,RBT 检出粗糙型布鲁氏菌感染犬的阳性率为 2.01%。

关键词:宠物;人兽共患细菌病;流行现状;防控

中图分类号: S855.99 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)03-0198-02

随着人们生活水平不断提高,人与动物的关系越来越密切,许多人将各种小动物,尤其是犬作为宠物饲养。但是由于缺乏正确的饲养管理和预防疫病知识,宠物人兽共患病的发病率也日渐增高。引起人致病的宠物重要人兽共患细菌病包括沙门氏菌、弯曲菌、结核分枝杆菌、布鲁氏菌等。沙门氏菌感染犬、猫、家禽、爬行动物较常见,人类接触粪便中含有大量沙门氏菌的动物会增加患病的概率。弯曲菌是全球范围内主要的人兽共患性肠道病菌之一^[1],它是包括犬、猫在内的许多野生、家养动物的正常寄生菌,动物感染后通常无明显病症,但可长期向外排菌,从而污染食物和饮水,引起人类感染^[1]。犬的结核病主要由人型和牛型分枝杆菌造成,多为亚临床表现,易与其他呼吸道疾病混淆。已知的布鲁氏菌宿主包括家畜、家禽、野生动物在内的 60 多种动物,能够通过犬、鹿等宠物传染给人^[2];大多数犬呈隐性感染,主要表现为生殖器官发炎,可引起流产和各种组织的局部病灶;人主要因为食入被污染的肉或处理布鲁氏菌感染而引起流产和分娩的犬而感染。本研究对江苏省泰州地区的宠物犬样品进行病原菌的分离鉴定,旨在了解宠物犬中重要人兽共患细菌病的流行状况,为有效防控疾病提供参考资料,具有公共卫生学意义。

1 材料与方法

1.1 样品来源

2011 年 10 月至 2013 年 10 月,从江苏泰州 7 家宠物医院就诊病犬和 2 个宠物犬养殖场的健康犬中采集肛拭样品 682 份,从 15 家宠物店采集 179 份犬粮样品进行沙门氏菌检测;对从宠物医院收集就诊的 405 份粪便样品进行弯曲菌检测;采集 282 份犬、猫鼻液、尿液及饲料样品进行结核分枝杆菌检测;采集 348 份血清样品进行布鲁氏菌血清学检测。

1.2 样品的分离培养和鉴定

按照 GB 4789.4—2010《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》^[3]及何晓青主编的《卫生防疫细菌检验》^[4]中的相关章

节进行沙门氏菌的培养、分离和鉴定。应用多重 PCR 方法^[5]结合常规分离方法对采集的宠物样品进行弯曲菌的流行状况分析。采用组织消化液提取法提取鼻拭子和尿液样本基因组 DNA,扩增 16S rRNA、*IS6110*、*Rv3878*、*IS1081*、*ESAT-6*、*CFP-10* 基因^[6]。参考国标《动物布鲁氏菌病诊断技术》进行虎红平板凝集试验(rose-bengal plate agglutination test, RBT),包括粗糙型 RBT 和光滑型 RBT;以及试管凝集试验(standard tube agglutination test, SAT),包括粗糙型 SAT 和光滑型 SAT。

1.3 培养基与试剂

增菌、分离、鉴定用的培养基由北京陆桥技术有限责任公司提供;弯曲菌培养基 CCDA 琼脂购自 OXOID 公司;Taq 酶、buffer、dNTPs、marker 购自北京天根生物工程公司;布鲁氏菌平板凝集抗原、试管凝集抗原及犬布鲁氏病标准阳性血清由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所生产;常规试剂为国产分析纯。

2 结果与分析

2.1 宠物犬携带沙门氏菌的情况

对 861 份样品进行检测,共分离到沙门氏菌 17 株,其中 7 家宠物医院和 2 个宠物犬养殖场被检犬肛拭子样品共计 682 份,检出沙门氏菌阳性样品 13 份,阳性率为 1.91%;15 家宠物店被检犬粮样品共计 179 份,检出沙门氏菌阳性样品 4 份,阳性率为 2.23%。

2.2 宠物群体中弯曲菌的流行病学分析

由表 1 可知,在宠物医院收集的 405 份粪便样品中,19 份检出空肠弯曲菌阳性,阳性率为 4.69%,5 份检出结肠弯曲菌阳性,阳性率为 1.23%。将收集的宠物犬样品按年龄分类,在 229 份幼年犬样品中,17 份为空肠弯曲菌阳性,阳性率为 7.42%,4 份为结肠弯曲菌阳性,阳性率为 1.75%;176 份成年犬样品中,2 份为空肠弯曲菌阳性,阳性率为 1.14%,1 份为结肠弯曲菌阳性,阳性率为 0.57%。进一步比较可知,幼年犬空肠弯曲菌的检测率极显著高于成年犬($P < 0.01$)。将收集的宠物犬样品按城区、郊区的饲养地区分类,城区 312 份样品中,6 份为空肠弯曲菌阳性,阳性率为 1.92%,1 份为结肠弯曲菌阳性,阳性率为 0.32%;郊区 93 份样品中,13 份

收稿日期:2014-04-14

作者简介:颜 卫(1983—),女,江苏泰州人,硕士,讲师,主要从事微生物学研究。E-mail: xiaozhuyanwei@163.com。

为空肠弯曲菌阳性,阳性率为 13.98%,4 份为结肠弯曲菌阳性,阳性率为 4.30%。进一步比较可知,郊区样本中空肠弯曲菌和结肠弯曲菌的检出率极显著高于城区($P<0.01$)。

表 1 不同年龄宠物弯曲菌的检测结果

影响因素	类别	样品总数 (份)	阳性情况		空肠弯曲菌		结肠弯曲菌	
			阳性数(份)	阳性率(%)	阳性数(份)	阳性率(%)	阳性数(份)	阳性率(%)
年龄	总体	405	24	5.93	19	4.69	5	1.23
	幼犬	229	21	9.17	17	7.42**	4	1.75
	成年犬	176	3	1.70	2	1.14	1	0.57
地域	城区	312	7	2.24	6	1.92	1	0.32
	郊区	93	17	18.28	13	13.98**	4	4.30**

注:年龄、地域同列数据后标有“**”表示差异极显著($P<0.01$)。

2.3 宠物样品分枝杆菌的 PCR 检测

采集 282 份犬、猫的鼻液、尿液及饲料样品进行检测,扩增 16S rRNA、*IS6110*、*Rv3878*、*IS1081*、*ESAT-6*、*CFP-10* 基因,结果(表 2)显示:非健康犬、猫样品 DNA 中,*ESAT-6*、*CFP-10* 基因的检出率分别为 38.51%、29.05%;对应的 16S rRNA 基因检出率仅为 2.70%;致病性分枝杆菌特异引物 *IS6110*、*Rv3878*、*IS1081* 基因不能被检出,健康犬、猫样品中基因检出率低下。

表 2 宠物样品的结核分枝杆菌 PCR 检测结果

样本	样品总数量 (份)	检出数(份)					
		<i>ESAT-6</i>	<i>CFP-10</i>	<i>IS6110</i>	<i>IS1081</i>	<i>Rv3878</i>	16S rRNA
非健康犬猫尿掖	52	23	21	0	0	0	0
非健康犬猫鼻液	96	34	22	0	0	0	4
健康犬猫尿掖	47	2	2	0	0	0	0
健康犬猫鼻液	68	3	3	0	0	0	0
犬猫主粮	19	9	3	0	0	0	0

2.4 布鲁氏菌血清学检测结果

对采集的 348 份血清样品进行布鲁氏病抗体检测,分别用粗糙型、光滑型抗原 RBT 初检,对阳性血清进行 SAT。结果 RBT 检出粗糙型布鲁氏菌感染犬的血样 7 份,占检测总样品数的 2.01%,SAT 检出粗糙型布鲁氏菌感染犬的血样 4 份,占检测总样品数的 1.15%。本试验调查的犬样年龄阶段分布较广,不同年龄犬对布鲁氏菌的感染率见表 3;性别比率为公犬 58%、母犬 42%,不同性别犬的调查结果见表 4。

表 3 不同年龄犬样布鲁氏菌感染率

年龄段 (月)	样品数 (份)	RBT 阳性				SAT 阳性			
		粗糙型样品数(份)	粗糙型样品比率(%)	光滑型样品数(份)	光滑型样品比率(%)	粗糙型样品数(份)	粗糙型样品比率(%)	光滑型样品数(份)	光滑型样品比率(%)
0~12	72	2	2.78	0	0	1	1.39	0	0
13~24	97	2	2.06	0	0	1	1.03	0	0
25~36	63	1	1.59	0	0	0	0	0	0
36 以上	116	2	1.72	0	0	2	1.72	0	0

表 4 不同性别犬样布鲁氏菌感染率

性别	样品数 (份)	RBT 阳性率(%)		SAT 阳性率(%)	
		粗糙型	光滑型	粗糙型	光滑型
公犬	201	1.99	0	1.49	0
母犬	147	2.04	0	2.72	0

3 结论

随着人们生活水平的不断提高,饲养宠物的人越来越多,而相关的饲养规范和疾病预防措施的缺失以及不到位导致宠物发病率日渐增高,加速了动物病原向人类传播的速度。犬感染沙门氏菌的途径很多,可能通过进食被污染的水、饲料或其他食物感染,也可经过伤口感染,甚至是可能由人感染后将细菌传染给犬,引起犬和人共同发病,从而形成循环感染。本研究采集的肛拭样品中,沙门氏菌检出率为 1.91%,健康犬可能曾被沙门氏菌隐性感染而未发病,或曾感染发病后成为

带菌者不断向外排菌,对于长期与犬密切接触的主人是很大的威胁。犬粮的沙门氏菌阳性检出率为 2.23%,沙门氏菌在原料选择、生产加工、运输储藏以及销售过程中都有可能污染犬粮,因此加强对饲料中沙门氏菌污染的控制不仅可以减少犬发病,也是减少人感染沙门氏菌的一项重要措施。

本研究采集的粪便样品中空肠弯曲菌阳性率为 4.69%,结肠弯曲菌阳性率为 1.23%。幼犬携带弯曲菌的阳性率要高于成年犬,这可能与抵抗力、身体状况及抗体水平有关。郊区饲养犬弯曲菌的阳性率要高于城区饲养犬,这可能与饲养环境、膳食结构有关,因为郊区饲养犬有与其他家禽、家畜接触的机会,可通过粪口传播交叉感染,此外郊区犬的疫病防治比率低于城区也是一个重要的方面。

分枝杆菌的检测结果显示,针对 *ESAT-6*、*CFP-10* 基因,从宠物医院采集的有病症样本的检出率远高于健康犬、猫样本,此外在宠物粮中存在率也较高。*ESAT-6*、*CFP-10* 基因除了存在于所有致病性结核分枝杆菌中,还存在于几种非

郭广富,曹军平,朱爱萍,等.猪伪狂犬病毒泰州株的分离鉴定[J].江苏农业科学,2015,43(3):200-202.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.03.065

猪伪狂犬病病毒泰州株的分离鉴定

郭广富,曹军平,朱爱萍,金彩莲,戴丽红

(江苏农牧科技职业学院动物医学院,江苏泰州 225300)

摘要:从泰州市姜堰区某猪场发生的疑似伪狂犬病病猪中采集病料,接种 PK15 细胞,收取细胞病毒液并提取 DNA,经 PCR 检测及间接免疫荧光鉴定,结果表明该分离株为猪伪狂犬病毒,命名为 TAIZ130417。分离的病毒在 PK15 细胞上的生长滴度可以达到 $10^{8.12}$ TCID₅₀/mL。将该病毒接种家兔,家兔很快出现奇痒并最终死亡等伪狂犬症状。

关键词:猪伪狂犬病毒;分离;鉴定

中图分类号: S858.285.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)03-0200-03

伪狂犬病(pseudorabies, PR)是由伪狂犬病病毒(pseudorabies virus, PRV)引起多种家畜和野生动物以发热、奇痒(猪除外)和脑脊髓炎为主要症状的急性传染病^[1]。以猪的感染最为普遍,该病毒能引起母猪的繁殖障碍,主要表现为流产、死胎、木乃伊胎等;新生仔猪发生感染时,死亡率可高达 100%;此外,育肥猪感染往往致使其生长缓慢,种公猪感染则导致精液品质下降甚至丧失种用价值^[2]。伪狂犬病最早在美国发现,我国于 20 世纪 40 年代末在猫中首次发现了该病

毒,60 年代初在猪群中也出现了该病毒流行。目前,该病在我国广泛流行,严重威胁着猪群的健康,并造成了养猪业严重的经济损失^[3-4]。本研究对泰州市某猪场疑似伪狂犬病患猪采集肝、肾及脾等组织病料,进行 PRV 的分离、鉴定,以期为今后深入研究和科学地防控该病提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 病料

疑似伪狂犬病病猪的肝、肾及脾等组织,于 2013 年 4 月 17 日采自泰州市姜堰区某猪场。将采集的病料研碎,按 1 g:5 mL 加入无菌含双抗的 PBS 溶液,混匀,反复冻融 3 次,离心取上清,用孔径 0.22 μm 滤器过滤后,-20 ℃ 保存备用。

1.2 试剂、细胞、阳性血清及家兔

基因组 DNA 快速抽提试剂盒(动物)、Taq DNA 聚合酶、dNTP Mix、25 mmol/L MgCl₂ 及 10 × PCR buffer 均为上海生工

收稿日期:2014-04-20

基金项目:江苏农牧科技职业学院青年基金(编号:NSFQN1304);江

苏农牧科技职业学院重点课题(编号:ZD201104)。

作者简介:郭广富(1979—),男,安徽蒙城人,硕士,讲师,从事动物医学类教学及科研工作。E-mail:ggf66@sina.com。

通信作者:曹军平,博士,副教授,从事动物医学类教学及科研工作。

E-mail:cccc62@163.com。

结核分枝杆菌中,由此可见,被检的患病犬、猫极有可能受到非结核分枝杆菌的广泛感染。

布鲁氏菌血清学检测结果显示,泰州地区犬布鲁氏病的阳性率为 2.01%,阳性犬感染的病原体主要是粗糙型。各年龄段的犬均存在布鲁氏菌感染,主要由于幼犬在 3 月龄左右,体质较差且是交易的高峰期,传染源主要来源于母犬、养殖场和交易中心等,12 月龄左右是犬发情期,配种感染的可能性较大,12~24 月龄和 24~36 月龄也是犬繁殖盛期,带菌配种交叉感染、垂直感染的风险较大。

针对江苏省泰州地区宠物人兽共患病的流行现状,应加强防控措施研究,进一步建立和健全宠物管理的法律法规与标准体系^[7],逐步实施系统性管理措施如宠物电子户口、强制定点免疫、流浪宠物收容、定期科普教育等;应积极开展宠物细菌病病原生态学、流行病学、新型疫苗及其他生物防治制品等研究;此外,还应开展宠物病原细菌耐药性监测工作,规范使用抗生素,积极开展抗生素替代品研究与应用。总的来说,完善宠物细菌病的报告、监测与溯源体系,可以更加有效地预防和控制人类疾病^[8]。

参考文献:

- [1] Huang J L, Xu H Y, Bao G Y, et al. Epidemiological surveillance of *Campylobacter jejuni* in chicken, dairy cattle and diarrhoea patients [J]. *Epidemiology and Infection*, 2009, 137(8): 1111-1120.
- [2] 崔丽瑾,王兴龙,王英超,等.野生动物布鲁氏菌病[J]. *中国人兽共患病学报*, 2010, 26(3): 283-288.
- [3] GB 4789.4—2010 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [4] 何晓青. 卫生防疫细菌检验[M]. 南昌:新华出版社,1989.
- [5] 何蕊,黄金林,许海燕,等.弯曲菌多重 PCR 检测方法的建立及其初步应用[J]. *扬州大学学报:农业与生命科学版*, 2007, 28(1): 5-8.
- [6] 王伟,刘佩红,陈鸿军,等.犬猫感染分枝杆菌的分子流行病学调查[J]. *畜牧与兽医*, 2009, 41(10): 73-76.
- [7] 耿庆华,林颖,付海滨,等.伴侣宠物管理机制的初探[J]. *中国动物检疫*, 2009, 26(4): 19.
- [8] 李金元,程抱林,王远清,等.宠物疫病防控的隐患与对策[J]. *养殖与饲料*, 2009, 4(1): 102-104.