

闵聪聪, 候强强, 于凡淞, 等. 牛呼吸疾病综合征诊断方法的研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(2): 17-23.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2023.02.003

牛呼吸疾病综合征诊断方法的研究进展

闵聪聪, 候强强, 于凡淞, 项志杰, 陈颖钰, 胡长敏, 郭爱珍

华中农业大学动物医学院/农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室/湖北洪山实验室, 武汉 430070

摘要 牛呼吸疾病综合征是危害国内外养牛业的一种重要传染病, 致病因素包括病毒、细菌以及支原体等病原体 and 多种应激。养殖一线人员常常只能通过观察牛的呼吸异常而做出初步诊断, 对病原体诊断的准确率较低。而且, 由于该病具有多病因混合感染的特征, 实验室诊断也常常针对性不强, 导致难以对患病动物的治疗效果及预后做出精准判断。为了给牛呼吸疾病综合征的早期诊断、及时治疗和综合防控提供参考依据, 本文就牛呼吸疾病综合征的病原学、流行和危害以及诊断方法进行综述, 包括常见病原, 临床诊断、分子生物学诊断等常用诊断方法, 以及含有急性期蛋白和应激相关激素的宿主生物标志物诊断、转录组学诊断等新型诊断方法, 简述其实际应用情况和优缺点, 并对未来诊断方法的方向及待解决问题等提出展望。

关键词 牛呼吸疾病综合征; 诊断方法; 病原; 诊断标志; 健康养殖; 综合防控; 转录组学

中图分类号 S858.23 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2023)02-0017-07

牛呼吸疾病综合征 (bovine respiratory disease complex, BRDC) 是由多种致病因子引起的、以呼吸道症状为主的一类传染性疾病, 是国内外目前危害严重的常发病种之一, 给肉牛业和奶牛业造成严重危害^[1]。近些年, 随着肉牛养殖业规模化的提高以及异地育肥模式的兴起, BRDC 的发生频率和引起的危害日渐严重。早期准确和快速的诊断是采取积极和有效防控措施的关键, 但仅凭临床症状难以对病因进行准确诊断, 实验室也常难聚焦重点检测对象。以往综述常从病原学角度入手^[2-3], 忽视了动物机体释放的疾病信号。疾病的发生和发展是病原与机体相互斗争的结果, 宿主生物标志物在疾病诊断中的作用不可忽视^[4]。因此, 本文对 BRDC 诊断方法进行综述, 除考虑常规方法外, 还特别关注了急性期蛋白和应激相关激素等宿主生物标志物在 BRDC 诊断中的应用, 以期对 BRDC 的早期诊断和治疗以及综合防控提供参考依据。

1 BRDC 的病原学

BRDC 的病原主要有牛支原体、细菌性病原和病毒性病原。牛支原体 (*Mycoplasma bovis*) 是国内

BRDC 的主要病原^[2-3]。细菌性病原包括溶血性曼氏杆菌 (*Mannheimia haemolytica*)、多杀性巴氏杆菌 (*Pasteurella multocida*) A 型、昏睡嗜组织杆菌 (*Histophilus somni*) (旧称昏睡嗜血杆菌) 和化脓隐秘杆菌 (*Arcanobacterium pyogenes*) 等。病毒性病原主要包括牛疱疹病毒 1 型 (bovine herpesvirus-1, BoHV-1)、牛病毒性腹泻病毒 (bovine viral diarrhea virus, BVDV)、牛副流感病毒 3 型 (bovine parainfluenzavirus-3, BPIV-3)、牛呼吸道合胞体病毒 (bovine respiratory syncytial virus, BRSV)、牛冠状病毒 (bovine coronavirus, BCV) 等。有研究表明, C 型流感病毒 (influenza C virus, ICV) 和 D 型流感病毒 (influenza D virus, IDV) 也可能导致 BRDC^[5]。在农业农村部 2022 年新发布的《一、二、三类动物疫病病种名录》中, 牛支原体病、巴氏杆菌病和溶血性曼氏杆菌病等被新列入其中, 表明这些病原体已成为养牛业的重点关注对象^[6]。

不同国家和地区牛群的 BRDC, 其病原体种类可能存在差异, 且常呈不同的混合感染组合。溶血性曼氏杆菌、BVDV 和牛支原体是导致美国和加拿大 BRDC 的常见病原^[7], 昏睡嗜组织杆菌、BRSV 和

收稿日期: 2022-11-04

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目 (2021BEF02028); 国家现代农业 (肉牛/牦牛) 产业技术体系专项 (CARS-37); 湖北省重点研发计划项目 (2020BBA055)

闵聪聪, E-mail: mincongcong@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 郭爱珍, E-mail: aizhen@mail.hzau.edu.cn

BCV是导致巴西BRDC的常见病原^[8]。牛支原体和多杀性巴氏杆菌A型是我国BRDC的常见病原^[9]。然而,这种优势病原体及其组合处于不断的变化之中。在澳大利亚,牛支原体现在牛群BRDC中的致病地位长期处于被忽视状态,直到近几年才得到关注^[10]。

2 BRDC的流行和危害

BRDC是影响牛的最常见且经济损失最大的疾病,也是研究最广泛的家畜疾病之一。美国等发达国家自从BRDC在20世纪80年代被首次提起,就开始对BRDC进行攻关研究。BRDC除了导致死亡和淘汰以及诊疗带来的直接损失外,还有因为饲料报酬下降、胴体肉质等级下降等带来的间接损失。在美国一些养殖场中,BRDC占整体发病率的65%~85%、整体死亡率的45%~75%^[8]。据估算,BRDC每年给美国肉牛养殖业造成的损失超过5亿美元^[2],每年给欧洲造成的损失约为5.76亿欧元^[10]。在我国,自2008年首次报道牛支原体肺炎后,育肥牛场新引入架子牛的BRDC发病率在60%以上,病死率平均10%,有些甚至高达40%以上。BRDC也是新生犊牛的常发病。BRDC还因为临床治疗效果差、治疗周期长(多在1个月以上)、康复牛生长缓慢、发生关节炎等后遗症严重影响养牛业的生产效益和动物福利^[11-12]。

3 BRDC的诊断方法

3.1 临床诊断

BRDC的及时诊断是遏止BRDC蔓延及减少经济损失的关键。BRDC多发生在新引进牛和犊牛^[13],目前常用的诊断方法是在运输背景下提出以观察临床症状和行为变化为主要内容的DART法,即抑郁、厌食、呼吸异常和直肠温度升高^[14]。抑郁包括情绪低落、头垂、眼睛呆滞或凹陷、动作迟缓等,厌食包括断食、少食和明显的体质量损失等,呼吸异常包括明显的呼吸困难、头部和颈部伸展以及呼吸音等,直肠温度升高是指直肠温度高于40℃。

由于DART法是一种临床定性评价方法,不能充分评估BRDC的严重程度,所以有时用全群治疗的方式以最大限度地阻止疾病的蔓延和降低疾病导致的损失。这种无差别的治疗方式由于对一些不需要干预的动物也采取了相同的措施,从而增加了治疗成本。

3.2 病原分离鉴定

病原分离鉴定是BRDC诊断的金标准,但这些病原体常在牛体内呈隐性感染,如牛支原体^[12]、多杀性巴氏杆菌、溶血性曼氏杆菌和昏睡嗜组织杆菌^[14-17]等细菌性病原,以及BVDV、BoHV-1、BPIV-3和BRSV等病毒性病原。当机体受到各类应激因素(如长途运输、分娩、初生、断奶、转群等)的刺激时,相关病原体移至下呼吸道大量增殖并致病^[18]。由于临床上缺少多联、快速、简易、低廉的病原学检测方法,往往难以确诊多病原混合感染,延误治疗的最佳时机,导致疗程长和疗效差、后遗症(肺炎病灶、关节炎等)多。

3.3 分子生物学诊断

分子生物学诊断技术有核酸探针杂交、核酸测序和聚合酶链式反应(PCR)等。核酸探针杂交是指使用标记的核酸片段同病原的靶片段进行特异性互补配对而进行检测的一种技术。核酸测序是指使用测序仪对全基因组或者某个基因进行核苷酸序列的测定并进行数据库比对从而得出结果的一种方法^[19]。PCR是检测BRDC的常用方法,根据PCR扩增产物的有或无来表示患病动物是否被特定病原体感染,其改进趋势是向多重检测及可视化方向发展^[20]。Loy等^[21]开发了一种使用Taqman探针的多重实时PCR,以同时检测牛支原体、多杀性巴氏杆菌、溶血性曼氏杆菌和昏睡嗜组织杆菌。Peltzer等^[22]开发了一种基于LAMP的可视化方法快速检测BoHV-1的方法。笔者所在课题组也已开发出针对BRDC病原的多重PCR以及LAMP的检测方法^[23-24]。但这些方法大多处于实验室研究阶段,离试剂盒商业化应用还有一定距离。

3.4 血清学方法

血清学检测的基础是抗原与抗体特异性结合,根据检测对象可分为检测抗体与检测抗原,常见的血清学检测方法有病毒中和试验(VNT)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、间接血凝试验(IHA)等^[25]。简单定性中和试验可以用于检出病料中的病毒或血清中的抗体。诊断BoHV-1感染的金标准是VNT,但其操作繁琐且需要细胞培养设施,该方法在IBR检测中逐渐被ELISA取代^[26]。Khan等^[27]建立了以*M. bovis*的特异性膜脂蛋白MbovP579作为包被抗原的间接ELISA用以检测血清抗体,该方法对临床样品的敏感性为90.2%,特异性为97.8%。李艳婷等^[28]以重组纯化的BRSV-G蛋白制备的抗G蛋白的单克

隆抗体与多克隆抗体作为包被抗体与待检抗体,建立了检测临床样品BRSV的双抗体夹心ELISA方法,该方法与RT-PCR的检测结果符合率高达95.6%。整体来说,虽然血清学方法尤其是ELISA方法操作简单、成本低,适合在临床广泛应用,但主要用于抗体检测^[29]。与分子生物学方法相比,血清学方法用于抗原检测的灵敏度还很低,基本上不能直接应用于BRDC的快速诊断,但结合增菌、病原富集等样本前处理手段,可提高检出率。

3.5 BRDC的转录组学诊断

基于RNA-Seq的转录组学可提供BRDC患牛的转录图谱,利用生物信息学工具比较分析患病牛和健康牛的基因表达情况,找到具有指示意义的发病差异表达基因或基因群,可作为BRDC的辅助诊断^[30]。Sun等^[31]使用纵向血液转录组学对处在亚临床、临床和健康状态等不同阶段下的动物样本进行检测,确定*OAS2*、*IFI6*、*IFIT3*、*ISG15*和*MXI*等关键基因是预测牛处于BRDC亚临床状态下的生物标志物(ROC>0.9)。Li等^[32]利用多组学数据分析BRDC感染的遗传和分子机制,在转录组数据中发现*IL3RA*和*LRG1*基因的上调表达、*HBB*基因的下调表达与BRDC具有强关联,其中上调表达的基因与Jimenez等^[33]的研究一致。*IL3RA*基因编码的白细胞介素3受体亚基 α 蛋白,是IL-3、GM-CSF和IL-5的细胞因子受体蛋白,*LRG1*基因编码富含亮氨酸的蛋白,这种蛋白在嗜中性粒细胞中存在,并在嗜中性粒细胞激活后释放^[32];下调表达的*HBB*基因与红细胞内携氧的血红蛋白有关,编码的 β -珠蛋白是构成血红蛋白的主要珠蛋白,上述基因的表达情况表明BRDC牛可能存在炎症性贫血^[34]。尽管转录组学在BRDC早期检测、风险评估和结果预测方面具有巨大潜力,但鉴于转录组学的复杂、耗时和高成本,目前转录组学尚不适用于BRDC的临床诊断。

4 BRDC的宿主生物标志物

宿主的生物标志物是一种可以用来客观地检测和评价正常生物学过程或病理过程的生物学标志分子,如蛋白质、多肽和细胞因子等,在疾病的早期诊断、治疗及预后评估方面等发挥着重要作用^[35]。

4.1 急性期蛋白(acute-phase protein)

1)结合珠蛋白。结合珠蛋白(haptoglobin, Hp)是一种通过结合血红蛋白而发挥抑菌作用的 α -2球蛋白,是目前在BRDC诊断中研究最多的一个蛋白。

Burciaga-Robles等^[36]和Kayser等^[37]研究发现,在溶血性曼氏杆菌人工感染前期,结合珠蛋白质量浓度显著增加($P<0.01$)。

在自然发生的BRDC中,El-Deeb等^[38]研究发现,患病牛的结合珠蛋白质量浓度极显著地高于健康牛($P<0.001$)。Carter等^[39]研究发现,需要多次治疗的犍牛的结合珠蛋白质量浓度高于仅需1次治疗或者不需要治疗的犍牛。

Wolfger等^[40]对自然发生BRDC病例的研究中,将结合珠蛋白质量浓度(>0.15 mg/mL)当作疾病诊断结果的一个组成部分,在牛到达饲养场的35 d内,使用商业化ELISA试剂盒对经饲养人员确认的BRDC阳性牛($n=124$)进行检测,其中94%的阳性牛的结合珠蛋白质量浓度 >0.15 mg/mL,最终确定如下BRDC发病诊断标准:直肠温度 ≥ 40.0 °C、至少2项临床症状(不愿活动,鼻结痂,鼻或眼有分泌物,耳朵或头下垂,外形瘦削)、结合珠蛋白质量浓度 >0.15 mg/mL。但是,Wolfger等^[40]的试验因为缺乏阳性对照以及BRDC阴性牛的验证,因此报告中的0.15 mg/mL尚不能作为确定的诊断临界值(cut-off points, COP)。Humblet等^[41]将结合珠蛋白质量浓度25 mg/L和纤维蛋白原(fibrinogen, Fb)2.7 g/L联合作为BRDC患牛是否需要进行治疗的诊断临界值,其敏感性和特异性分别为71%和83%。

综上所述,结合珠蛋白有望成为一个具有较大潜力的诊断标识蛋白,然而不同的研究提供了不同的结合珠蛋白质量浓度诊断临界值,这增加了结合珠蛋白作为BRDC诊断辅助工具的难度。不同的研究目标和测试方法可能是造成不同诊断临界值的原因。需要进一步增加健康牛和患病牛样本数量,设定一致的发病判断标准,以确定结合珠蛋白的诊断临界值和应用范围,更好地将结合珠蛋白用于BRDC的诊断。

2)纤维蛋白原。纤维蛋白原(fibrinogen, Fb)在检测BRDC及应用方面有较多研究,但是,关于纤维蛋白原在BRDC诊断中的作用目前有争议。Carter等^[39]和Berry等^[42]采用相同的测量方法却得到相互矛盾的结果,Carter等^[39]的结果显示仅需治疗1次的犍牛纤维蛋白原浓度显著高于接受多次治疗的犍牛,Berry等^[42]的结果却显示接受多次治疗的犍牛纤维蛋白原浓度高于从未经过治疗或仅治疗1次的犍

牛,因此,单独使用纤维蛋白原进行诊断可能会误诊,需结合其他生物标志物或临床体征进行判断。

3)血清淀粉样蛋白A。有学者对牛的炎症过程进行研究,结果显示血清淀粉样蛋白A(serum amyloid A, SAA)能够在组织损伤或感染期间调节免疫系统^[38]。El-Deeb等^[38]在自然感染的牛群中用血清淀粉样蛋白A评估BRDC并确定了24.36 μg/mL作为诊断临界值,其敏感性和特异性均>80%。

4)降钙素原。降钙素原(procalcitonin, PCT)可以随着特定细胞因子的诱导而迅速增加,因此已被用作细菌和寄生虫感染的生物标志物。在溶血性曼氏杆菌和昏睡嗜组织杆菌导致的BRDC的检测中,采用4.21 ng/mL的降钙素原作为诊断临界值具有高度敏感性和特异性(敏感性=100%;特异性=96%)^[38]。

5)其他急性期蛋白。脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein, LBP)向单核细胞、巨噬细胞和粒细胞提供脂多糖,在BRDC病例中,脂多糖结合蛋白浓度随着结合珠蛋白浓度的增加而增加,表明脂多糖结合蛋白具有诊断BRDC的潜力。当脂多糖结合蛋白的诊断临界值采用0.33 μg/mL时,用于检测BRDC病例可达93%的敏感性^[43]。

转铁蛋白(transferrin, Tf)是血浆中的一种铁结合阴性急性期蛋白,在炎症的急性期被消耗以抑制细菌对铁の利用^[44]。但是,单独使用转铁蛋白不能准确区分BRDC阳性牛和健康牛,所以常和其他检测指标共同使用。

4.2 应激相关激素

1)皮质醇。皮质醇(cortisol)是由下丘脑-垂体-肾上腺轴调节以应对应激的一种激素^[45],皮质醇已被用作牛到达饲养场时的应激指标之一。在一项自然感染的研究中,血清皮质醇的敏感性和特异性分别为100%和54%;唾液内皮质醇浓度在牛出现临床症状前4~6 d显著增加($P<0.01$),然而,患有BRDC的犊牛与健康犊牛之间没有显著差异。检测BRDC犊牛的唾液皮质醇敏感性和特异性仅为70%和53%^[46]。皮质醇是检测应激的一个指标,运输应激是引起BRDC的“必要条件”,而非“充分条件”,因此,仅采用皮质醇浓度的升高作为患病的诊断特异性较差^[47]。

2)P物质。P物质(substance P, SP)是一种多肽,在疼痛或炎症状态下分泌。在攻毒试验中,溶血性曼氏杆菌攻毒后12 h,P物质浓度增加。但是,P物

质可以随着多种因素而改变,所以P物质不是诊断BRDC的特定生物标志物^[48]。

3)促炎细胞因子。促炎细胞因子(proinflammatory cytokines)如IL-1β、IL-6、TNF-α和IFN-γ等也可用于BRDC的检测。溶血性曼氏杆菌感染犊牛72 h后,IFN-γ浓度显著增加($P<0.05$)^[36]。有研究评估了69头自然感染发病犊牛体内IL-1β、IL-8、TNF-α和IFN-γ的含量,其中IFN-γ和TNF-α在细菌感染72 h后显著增加($P<0.05$)^[38],说明促炎细胞因子可与急性期蛋白联合使用检测BRDC。

4.3 乳酸

乳酸(lactate)是另一种可以用于检测BRDC的宿主生物标志物。Zeineldin等^[49]通过手持式乳酸分析仪测定血液乳酸浓度,对乳酸在BRDC检测中的价值进行了评估,结果显示,BRDC牛的血液乳酸浓度显著高于健康牛($P=0.02$),因此,Zeineldin等^[49]建议血液乳酸浓度可以与其他检测指标共同使用,以提高BRDC检测的准确性。

鉴于宿主生物标志物在不同情况下的应用和功效不同、各个研究中关于“阳性”判断的阈值标准不一样、实验重复性差等原因,当前尚不能找出特定的宿主生物标志物作为BRDC诊断的唯一方法。众所周知,疾病的发生发展是病原微生物与机体相互斗争的结果,宿主生物标志物在因复杂病原体导致的BRDC的早期诊断中具有一定的应用前景,但仍值得进行深入研究。

5 展望

病原体的准确诊断是常规的BRDC诊断理念中的主要组成部分。因为病原体的分离鉴定可能非常复杂,基于核酸检测的系列方法在临床上具有更广泛的用途。基于病原体的复杂性,以PCR为基础的分子生物学方法需要开发多病原联合、快速检测技术,且成本在农场主的承受能力内。宿主生物标志物在BRDC诊断中的应用可弥补因病原检测的复杂性而带来的问题,有望在查明复杂病原体前进行早期诊断,具有应用前景。但存在宿主生物标志物的诊断临界值、各宿主生物标志物的非特异性、多个宿主生物标志物优化或联合应用等诸多问题^[50],需要深入研究。此外,由于BRDC多病因的特点,对该病的控制还需采取减少环境应激和增强牛体抵抗力等综合性防控措施。

参考文献References

- [1] BOOKER C W, LUBBERS B V. Bovine respiratory disease treatment failure: impact and potential causes[J]. The veterinary clinics of North America Food Animal Practice, 2020, 36(2): 487-496.
- [2] GUZMAN E, TAYLOR G. Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves[J]. Molecular immunology, 2015, 66(1): 48-56.
- [3] 谢倩茹, 童胜涛, 邵咏旋, 等. 牛呼吸道感染细菌病原的致病机理与防控研究进展[J]. 中国兽医学报, 2016, 36(12): 2183-2188. XIE Q R, TONG S T, SHAO Y X, et al. Research on pathogenic mechanism and prevention of bovine respiratory tract bacterial infection[J]. Chinese journal of veterinary science, 2016, 36(12): 2183-2188 (in Chinese with English abstract).
- [4] TRACEY I, WOOLF C J, ANDREWS N A. Composite pain biomarker signatures for objective assessment and effective treatment [J]. Neuron, 2019, 101(5): 783-800.
- [5] NISSLY R H, ZAMAN N, IBRAHIM P A S, et al. Influenza C and D viral load in cattle correlates with bovine respiratory disease (BRD): emerging role of orthomyxoviruses in the pathogenesis of BRD[J]. Virology, 2020, 551: 10-15.
- [6] 农业农村部. 一、二、三类动物疫病(中华人民共和国农业农村部公告 2022 年 第 573 号)[EB/OL](2022-06-29)[2022-11-04]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202206/t20220629_6403635.htm. The Ministry of Agriculture and Rural Affairs, PRC. Animal epidemics of class I, II and III (Announcement of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, PRC, 2022, No. 573) [EB/OL] (2022-06-29) [2022-11-04]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202206/t20220629_6403635.htm (in Chinese).
- [7] YOUNES J A, RAMSAY D E, LACOSTE S, et al. Changes in the phenotypic susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates to macrolide antimicrobials during the early feeding period following metaphylactic tulathromycin use in western Canadian feedlot calves[J]. Canadian veterinary journal, 2022, 63(9): 920-928.
- [8] HEADLEY S A, OKANO W, BALBO L C, et al. Molecular survey of infectious agents associated with bovine respiratory disease in a beef cattle feedlot in southern Brazil[J]. Journal of veterinary diagnostic investigation, 2018, 30(2): 249-251.
- [9] 王洪梅, 赵贵民, 侯佩莉, 等. 牛呼吸道疾病综合征流行现状及防控技术研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2015, 51(16): 33-39. WANG H M, ZHAO G M, HOU P L, et al. Advance on epidemic status and the researches of prevention and control of bovine respiratory disease complex[J]. Chinese journal of animal science, 2015, 51(16): 33-39 (in Chinese with English abstract).
- [10] HORWOOD P F, SCHIBROWSKI M I, FOWLER E V, et al. Is *Mycoplasma bovis* a missing component of the bovine respiratory disease complex in Australia? [J]. Australian veterinary journal, 2014, 92(6): 185-191.
- [11] CATANIA S, GASTALDELLI M, SCHIAVON E, et al. Infection dynamics of *Mycoplasma bovis* and other respiratory *Mycoplasmas* in newly imported bulls on Italian fattening farms [J/OL]. Pathogens (Basel, Switzerland), 2020, 9(7): 537 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070537>.
- [12] 胡长敏, 石磊, 龚瑞, 等. 牛支原体病研究进展[J]. 动物医学进展, 2009, 30(8): 73-77. HU C M, SHI L, GONG R, et al. Progress on bovine mycoplasmosis [J]. Progress in veterinary medicine, 2009, 30(8): 73-77 (in Chinese with English abstract).
- [13] EARLEY B, BUCKHAM SPORER K, GUPTA S. Invited review: relationship between cattle transport, immunity and respiratory disease [J]. Animal, 2017, 11(3): 486-492.
- [14] HADDADI S, KOZIEL J A, ENGELKEN T J. Analytical approaches for detection of breath VOC biomarkers of cattle diseases—a review [J/OL]. Analytica chimica acta, 2022, 1206: 339565 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339565>.
- [15] WALZ P H, CHAMORRO M F, M FALKENBERG S, et al. Bovine viral diarrhea virus: an updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination [J]. Journal of veterinary internal medicine, 2020, 34(5): 1690-1706.
- [16] BELL R L, TURKINGTON H L, COSBY S L. The bacterial and viral agents of BRDC: immune evasion and vaccine developments [J]. Vaccines, 2021, 9(4): 337 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040337>.
- [17] ALEXANDER T W, TIMSIT E, AMAT S. The role of the bovine respiratory bacterial microbiota in health and disease [J]. Animal health research reviews, 2020, 21(2): 168-171.
- [18] SRIKUMARAN S, KELLING C L, AMBAGALA A. Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. Animal health research reviews, 2007, 8(2): 215-229.
- [19] SHIN C, LEE H N, RYU J S, et al. Rapid naked-eye detection of Gram-positive bacteria by vancomycin-based nano-aggregation [J]. RSC advances, 2018, 8(44): 25094-25103.
- [20] 刘晓雅, 王朝好, 李婷, 等. 牛支原体病诊断技术的研究进展 [J]. 中国兽医科学, 2020, 50(10): 1294-1300. LIU X Y, WANG C H, LI T, et al. Research progress on diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection [J]. Chinese veterinary science, 2020, 50(10): 1294-1300 (in Chinese with English abstract).
- [21] LOY J D, LEGER L, WORKMAN A M, et al. Development of a multiplex real-time PCR assay using two thermocycling platforms for detection of major bacterial pathogens associated with bovine respiratory disease complex from clinical samples [J]. Journal of veterinary diagnostic investigation, 2018, 30(6): 837-847.
- [22] PELTZER D, TOBLER K, FRAEFEL C, et al. Rapid and simple colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of Bovine alphaherpesvirus 1 [J/OL]. Journal of virological methods, 2021, 289: 114041 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.114041>.
- [23] 肖滢文, 陈颖钰, 彭清洁, 等. 牛支原体、巴氏杆菌 A 型和化脓性梭杆菌多重 PCR 快速检测方法的建立 [J]. 中国奶牛, 2012

- (21):4-9. XIAO G W, CHEN Y Y, PENG Q J, et al. Establishment of multiple PCR to detect *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida* type A, and *Arcanobacterium pyogenes* [J]. China dairy cattle, 2012(21):4-9 (in Chinese with English abstract).
- [24] 白智迪. 牛支原体 LAMP 检测方法的建立及体外传代致弱菌株的特性鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011. BAI Z D. Establishment of lamp detection method for *Mycoplasma bovis* and characterization of the attenuated strain by culture *in vitro* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [25] AKTER A, CALDWELL J M, PIGHETTI G M, et al. Hematological and immunological responses to naturally occurring bovine respiratory disease in newly received beef calves in a commercial stocker farm [J/OL]. Journal of animal science, 2022, 100(2): skab363 [2022-11-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34902025/>. DOI: 10.1093/jas/skab363.
- [26] DUMMER L A, ARAUJO I L, CAMPOS F S, et al. Development of an indirect ELISA for serological diagnosis of bovine herpesvirus 5 [J/OL]. PLoS One, 2016, 11(2): e0149134 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149134>.
- [27] KHAN F A, FAISAL M, CHAO J, et al. Immunoproteomic identification of MbopV579, a promising diagnostic biomarker for serological detection of *Mycoplasma bovis* infection [J]. Oncotarget, 2016, 7(26): 39376-39395.
- [28] 李艳婷, 侯喜林. 牛呼吸道合胞体病毒双抗体夹心 ELISA 检测方法的建立 [J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33: 628-636. LI Y T, HOU X L. Establishment and evaluation of DAS-ELISA for detecting bovine respiratory syncytial virus [J]. Chinese journal of zoonoses, 2017, 33: 628-636 (in Chinese with English abstract).
- [29] 陈林军, 于志超, 赵治国, 等. 牛传染性鼻气管炎研究现状 [J]. 动物医学进展, 2019, 40(10): 102-106. CHEN L J, YU Z C, ZHAO Z G, et al. Progress on infection bovine rhinotracheitis [J]. Progress in veterinary medicine, 2019, 40(10): 102-106 (in Chinese with English abstract).
- [30] BOCHUKOVA E G, LAWLER K, CROIZIER S, et al. A transcriptomic signature of the hypothalamic response to fasting and BDNF deficiency in prader-willi syndrome [J]. Cell reports, 2018, 22(13): 3401-3408.
- [31] SUN H Z, SRITHAYAKUMAR V, JIMINEZ J, et al. Longitudinal blood transcriptomic analysis to identify molecular regulatory patterns of bovine respiratory disease in beef cattle [J]. Genomics, 2020, 112(6): 3968-3977.
- [32] LI J, MUKIIBI R, JIMINEZ J, et al. Applying multi-omics data to study the genetic background of bovine respiratory disease infection in feedlot crossbred cattle [J/OL]. Frontiers in genetics, 2022, 13: 1046192 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1046192>.
- [33] JIMINEZ J, TIMSIT E, ORSEL K, et al. Whole-blood transcriptome analysis of feedlot cattle with and without bovine respiratory disease [J/OL]. Frontiers in genetics, 2021, 12: 627623 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.627623>.
- [34] FRAENKEL P G. Anemia of inflammation; a review [J]. The medical clinics of North America, 2017, 101(2): 285-296.
- [35] OMRAN F, KYROU I, OSMAN F, et al. Cardiovascular biomarkers: lessons of the past and prospects for the future [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(10): 5680 [2022-11-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35628490/>. DOI: 10.3390/ijms23105680.
- [36] BURCIAGA-ROBLES L O, KREHBIEL C R, STEP D L, et al. Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus type 1b and *Mannheimia haemolytica* challenge on animal performance, nitrogen balance, and visceral organ mass in beef steers [J]. Journal of animal science, 2010, 88(6): 2179-2188.
- [37] KAYSER W C, CARSTENS G E, PARSONS I L, et al. Efficacy of statistical process control procedures to identify deviations in continuously measured physiologic and behavioral variables in beef steers experimentally challenged with *Mannheimia haemolytica* [J/OL]. Journal of animal science, 2020, 98(2): *skaa009* [2022-11-04]. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa009>.
- [38] EL-DEEB W, ELSOHABY I, FAYEZ M, et al. Use of procalcitonin, neopterin, haptoglobin, serum amyloid A and proinflammatory cytokines in diagnosis and prognosis of bovine respiratory disease in feedlot calves under field conditions [J/OL]. Acta tropica, 2020, 204: 105336 [2022-11-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31926143/>. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105336.
- [39] CARTER J N, MEREDITH G L, MONTELONGO M, et al. Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease [J]. American journal of veterinary research, 2002, 63(8): 1111-1117.
- [40] WOLFGER B, SCHWARTZKOPF-GENSWEIN K S, BARKEMA H W, et al. Feeding behavior as an early predictor of bovine respiratory disease in North American feedlot systems [J]. Journal of animal science, 2015, 93(1): 377-385.
- [41] HUMBLET M F, COGHE J, LEKEUX P, et al. Acute phase proteins assessment for an early selection of treatments in growing calves suffering from bronchopneumonia under field conditions [J]. Research in veterinary science, 2004, 77(1): 41-47.
- [42] BERRY B A, CONFER A W, KREHBIEL C R, et al. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response [J]. Journal of animal science, 2004, 82(3): 845-850.
- [43] IDOATE I, VANDER LEY B, SCHULTZ L, et al. Acute phase proteins in naturally occurring respiratory disease of feedlot cattle [J]. Veterinary immunology and immunopathology, 2015, 163(3/4): 221-226.
- [44] KAWABATA H. Transferrin and transferrin receptors update [J]. Free radical biology and medicine, 2019, 133: 46-54.
- [45] LEE D Y, KIM E, CHOI M H. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress [J]. BMB reports, 2015, 48(4): 209-216.

- [46] MCMANUS R, BODEN L A, WEIR W, et al. Thermography for disease detection in livestock; a scoping review [J/OL]. *Frontiers in veterinary science*, 2022, 9: 965622 [2022-11-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36016809/>. DOI: 10.3389/fvets.2022.965622.
- [47] 郭爱珍. 牛呼吸疾病综合征及其防治[J]. *中国奶牛*, 2011(24): 7-11. GUO A Z. The prevalence and control of bovine respiratory disease complex [J]. *China dairy cattle*, 2011(24): 7-11 (in Chinese with English abstract).
- [48] TSCHONER T, FEIST M. Substance P concentrations in the blood plasma and serum of adult cattle and calves during different painful procedures and conditions: a systematic review [J/OL]. *BMC veterinary research*, 2022, 18 (1) : 232 [2022-11-04]. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03304-6>.
- [49] ZEINELDIN M, GHANEM M, EL-RAOF Y A, et al. Clinical utilization of point-of-care blood *L*-lactate concentrations in naturally occurring respiratory disease in feedlot cattle [J]. *Pakistan veterinary journal*, 2017, 37(2): 210-215.
- [50] FERRARO S, FECTEAU G, DUBUC J, et al. Scoping review on clinical definition of bovine respiratory disease complex and related clinical signs in dairy cows [J]. *Journal of dairy science*, 2021, 104(6): 7095-7108.

Research progress on diagnostic methods of bovine respiratory disease complex

MIN Congcong, HOU Qiangqiang, YU Fansong, XIANG Zhijie,
CHEN Yingyu, HU Changmin, GUO Aizhen

*College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University/
State Key Laboratory of Agricultural Microbiology/
Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China*

Abstract Bovine respiratory disease complex (BRDC) is one of the most important infectious diseases that endangers domestic and international cattle industry. The etiological factors include multiple pathogens such as viruses, bacteria, mycoplasmas, as well as various stressors. Clinical diagnosis is preliminarily drawn by observing the abnormal signs such as dyspnea and the accuracy of pathogen diagnosis is low. Furthermore, because the disease has the characteristics of multi-etiological mixed infection, the laboratorial diagnosis is often not specific, which makes it difficult to judge the therapeutic effect and prognosis of the disease. In order to provide reference for early and accurate diagnosis, timely treatment and effective prevention and control of BRDC, this paper outlined the etiology, epidemiology, hazards, and diagnostic methods of BRDC, including both conventional clinical and molecular biological diagnostics, as well as new methods based on host biomarkers such as acute phase proteins, stress-related hormones, and transcriptomic diagnosis. Further, the practical application, advantages and disadvantages of these methods were briefly described, and the future direction of diagnostic methods and the problems to be solved were also prospected.

Keywords bovine respiratory disease complex (BRDC); diagnostic method; pathogens; diagnostic biomarkers; healthy breeding; comprehensive prevention and control; transcriptome

(责任编辑:边书京)