



## 防疫与检疫科学

## 青海甘德一起犏牛病毒性腹泻病原检测分析

聂尔求秀<sup>1</sup>, 简莹娜<sup>2</sup>, 彭毛卓玛<sup>3</sup>, 王志军<sup>3</sup>, 李志<sup>2</sup>, 付永<sup>2</sup>, 朵红<sup>2</sup>, 张学勇<sup>2\*</sup>

(1. 青海省甘德县岗龙畜牧兽医站, 青海果洛 814199; 2. 青海大学 畜牧兽医科学院, 青海省动物疾病病原诊断与绿色防控技术研究重点实验室, 青海西宁 810016;  
3. 青海省甘德县畜牧兽医站, 青海果洛 814199)

**摘要:** 2024年4~6月份, 青海甘德某牦牛养殖合作社的犏牛出现精神沉郁、消瘦、腹泻等临床症状。为检测病原探明发病原因, 采集腹泻犏牛肛拭子、粪便等样品10份, 采用PCR方法检测牛冠状病毒、牛轮状病毒、牛病毒性腹泻病毒、牛腺病毒、牛肠道病毒、牛环曲病毒、牛诺如病毒、牛纽布病毒、球虫、隐孢子虫和贾第鞭毛虫。结果表明, 在10份腹泻粪样中, 均仅检出牛冠状病毒, 其他病原未检出。这说明该合作社犏牛腹泻由牛冠状病毒感染引起。在犏牛发生腹泻后, 可通过静脉注射补液, 利用中药强心剂强心, 同时使用适当的抗菌素进行预防细菌性病原继发感染, 应加强营养管理, 增强免疫力, 减少环境应激, 注意圈舍消杀, 减少污染环境暴露及激发感染, 可达到有效地治疗与防控目的, 本研究为该合作社犏牛腹泻防治提供一定的参考。

**关键词:** 犏牛; 腹泻; 牛冠状病毒; PCR检测; 防控

[中图分类号] S856.4 [文献标志码] A [文章编号] 1004-6704(2025)-02-0031-06

## Detection and Analysis of the Pathogen of Viral Diarrhoea in Calves in Gande, Qinghai

Nieerqiuxiu<sup>1</sup>, JIAN Yingna<sup>2</sup>, Pengmaozhuoma<sup>3</sup>, WANG Zhijun<sup>3</sup>, LI Zhi<sup>2</sup>,  
FU Yong<sup>2</sup>, DUO Hong<sup>2</sup>, ZHANG Xueyong<sup>2\*</sup>

(1. Qinghai Province Gande County Ganglong Animal Husbandry and Veterinary Station, Gande County, Guoluo, Qinghai 814199, China;  
2. The Academy of Animal and Veterinary Sciences, Qinghai University; Qinghai Provincial Key Laboratory of Pathogen Diagnosis for Animal Disease and Green Technical Research for Prevention and Control, Xining, Qinghai 810016, China;  
3. Qinghai Province Gande County Animal Husbandry and Veterinary Station, Gande County, Guoluo, Qinghai 814199, China)

**Abstract:** From April to June 2024, calves at a yak farming cooperative in Gande, Qinghai, showed clinical symptoms such as depression, weight loss, and diarrhea. To confirm the causes of the disease, 10 samples, including anal swabs and feces from diarrhetic calves, were collected. PCR method was used to detect bovine coronavirus, bovine rotavirus, bovine viral diarrhoea virus,

[收稿日期] 2024-10-10

[基金项目] 青海省科技厅重点研发与转化计划——科技成果转化专项项目(2023-NK-135); 国家重点研发计划课题任务书(2022YFD1602311); 青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”项目(2022)

[第一作者] 聂尔求秀(1993-), 男, 兽医师, 主要从事动物疫病防控工作。E-mail: 1303417523@qq.com

\* [通信作者] 张学勇, E-mail: zhang\_xyong@163.com

bovine adenovirus, bovine enterovirus, bovine torovirus, bovine norovirus, bovine nebovirus, *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp., and *Giardia*. The results showed that bovine coronavirus was detected in all 10 diarrhetic fecal samples, while no other pathogens were found. The results indicated that the diarrhoea in the calves at the cooperative was caused by bovine coronavirus infection. After diarrhoea occurring in

calves, rehydration fluid can be injected intravenously, the use of traditional Chinese medicine to strengthen the heart, while the use of appropriate antibiotic for the prevention of bacterial pathogens secondary infections, nutritional management should be strengthened, immunity should be enhanced, environmental stress should be reduced, and attention should be paid to disinfection of pens to reduce exposure to contaminated environments, which can be effective in the treatment and prevention of the purpose of the control. The present study provides a references for the prevention and control of diarrhoea in calves in this cooperative.

**Key words:** calves; diarrhoea; bovine coronavirus; PCR; prevention and control

犊牛腹泻已经成为危害犊牛养殖最为严重的疾病之一,临床表现为腹泻、体温升高、精神沉郁不振、食欲废绝、粪便稀薄呈水样、不同程度脱水,在一定时期内发病率可达 70%~80%,是导致犊牛死亡的主要病因之一,给犊牛养殖造成重大的经济损失<sup>[1-4]</sup>。感染性因子和非感染性因子都能引起犊牛腹泻,目前养殖合作社中还是以感染性病原引起腹泻居多<sup>[5]</sup>。引起犊牛腹泻的感染性因子主要包括病毒、细菌和寄生虫等病原;非感染性因子主要包括气候天气及环境的骤变、饲养管理、自身免疫状态等。当犊牛发生腹泻时,合作社最关注的是导致腹泻的发病原因,往往先进行诊断性治疗,考虑常见病原因素以及防治对策。常见的细菌性病原主要有沙门氏菌、致病性大肠杆菌、魏氏梭菌、副结核分枝杆菌、空肠弯曲杆菌等,对症采用抗生素治疗均有效果<sup>[6]</sup>;病毒性病原主要有牛冠状病毒(BCV)、牛轮状病毒(BRV)、牛病毒性腹泻病毒(BVDV)、牛腺病毒(BAstV)、牛肠道病毒(BEV)、牛环曲病毒(BToV)、牛诺如病毒(BNoV)、牛纽布病毒(BNeV)等,一般抗生素治疗无明显效果<sup>[7]</sup>;寄生虫性病原主要有球虫(*Eimeria*)、隐孢子虫(*Cryptosporidium*)、贾第鞭毛虫(*Giardia*)、以及绦虫线虫等<sup>[8-9]</sup>。

在犊牛发生病原性腹泻时,快速而准确地检测鉴定病原体是关键,由于急需实施治疗措施和相应的防控手段,因此对腹泻病原体的实验室诊断非常重要。在合作社了解犊牛发病及用药治疗情况后,对腹泻犊牛采集粪便样本,在实验室进行 PCR 分子鉴定,确诊引起犊牛腹泻的主要病原,对传染源进行控制。同时,一些引起犊牛腹泻的病原体也会引起

人的腹泻,“人病兽防,关口前移”,控制犊牛腹泻也具有重要的公共卫生学意义。因此,在检测鉴定病原体后,针对病原合理采用对症、对因治疗和辅助支持治疗方法进行全面有效的防治,以期为临床上有效防治犊牛腹泻提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 样本采集

2024 年 4~6 月份,青海甘德某合作社共有牦牛 260 头,40 头哺乳犊牛,腹泻 8 头,采集患病犊牛肛拭子及粪便样品 10 份,粪便样品冰盒保存及时送至实验室,于 -20 °C 冰箱保存,待检测分析。

### 1.2 主要试剂

粪便基因组 DNA 提取试剂盒(DP328)、病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒(DP315)、普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(DP209)购自天根生化科技(北京)有限公司;PCR 试剂 2×TransStart FastPfu Fly PCR SuperMix(AS231-11-V4)、反转录试剂盒 EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(AE311-02)、Trans2K® DNA Marker(BM101-01)、核酸染料 GelStain(GS101-01)和琼脂糖 Agarose(GS201-01)购自北京全式金生物技术有限公司。

### 1.3 主要仪器

本次试验所用的主要仪器包括 PCR 仪(Mastercycler® Nexus PCR 仪,德国艾本德公司),电泳仪(DYCP-31CN,北京六一生物科技有限公司)、凝胶成像分析系统(凝胶成像仪 G: box F3-英国 Syngene 公司),离心机(Centrifuge5810R,德国艾本德公司)、微量移液器(10、20、200 和 1 000 μL,德国艾本德公司)等。

### 1.4 引物设计

根据相关参考文献中已发表的牛冠状病毒(BCV)、牛轮状病毒(BRV)、牛病毒性腹泻病毒(BVDV)、牛腺病毒(BAstV)、牛肠道病毒(BEV)、牛环曲病毒(BToV)、牛诺如病毒(BNoV)、牛纽布病毒(BNeV)、隐孢子虫、贾第鞭毛虫、*Eimeria* 属球虫相关基因序列设计特异引物,引物序列及扩增片段大小见表 1,PCR 引物合成由苏州金唯智生物科技有限公司完成。

### 1.5 样本基因组的制备

取腹泻犊牛的肛拭子及粪便样品加入适量 DEPC 水研磨成均浆,离心分离获得沉淀与上清液,沉淀利用天根粪便基因组 DNA 提取试剂盒进行基因组的提取,粪便基因组置于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。上清液利用病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒进行病毒基因组的提取,具体的操作步骤参考试剂盒说明书进行,病毒基因组  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。再利用反转录试剂盒 EasyScript<sup>®</sup> One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix 将病毒 RNA 反转录为 cDNA,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.6 PCR 扩增

分别以粪便样本基因组 DNA、病毒基因组

(DNA)和反转录获得的 cDNA 为模板为模板,采用表 1 中的特异性引物进行 PCR 扩增,反应体系为  $50.0\text{ }\mu\text{L}$ ,PCR SuperMix  $25.0\text{ }\mu\text{L}$ ,上下游引物(浓度  $10.0\text{ }\mu\text{mol/L}$ )各  $2.0\text{ }\mu\text{L}$ ,模板 DNA  $3.0\text{ }\mu\text{L}$ ,补充水  $18.0\text{ }\mu\text{L}$ ;反应条件为: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $5\text{ min}$ , $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $30\text{ s}$ 、退火  $40\text{ s}$ (退火温度见表 1)、 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $30\text{ s}\sim 2\text{ min}$ ,共 35 个循环,最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $10\text{ min}$ 。扩增后 PCR 产物在  $1.2\%$  的琼脂糖凝胶中进行电泳(电压  $120\text{ V}$ ,时间  $35\text{ min}$ )检测,电泳完成后在凝胶成像系统中观察结果并拍摄保存。

### 1.7 基因序列的测定及进化分析

将 PCR 产物送金唯智生物科技有限公司直接测序,测序结果经 Clustal X 软件校准后,在 NCBI

表 1 PCR 分子鉴定所用引物

Table 1 Primers used for PCR molecular identification

引物名称	引物序列(5'-3')	目的条带/bp	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$
BCVF	CTACTATTCTTGGTTCTCTGGAATTA	396	51
BCVR	CTTCCTGAGCCTTCAATATAGTAAC		
BRVF	CCACCAGGTATGAATTGGAC	231	52
BRVR	GAGTAATCACTCAGATGGCG		
BVDVF	GGGNAGTCGTCARTGCTTCG	200	55
BVDVR	GTGCCATGTACAGCAGAGWTTTT		
BAstVF	GCACGTTTCCTCCTCGATGT	376	54
BAstVR	ATACGTTTTGGCCTCGCTCACA		
BAdVF	CAACCTACCAGAAGCGGTATCAGTG	775	54
BAdVR	ACCCATTTGGAGACATAGAAGAGCC		
BEVF	CCGACTCCGCACCGATACGTCG	239	57
BEVR	CTCTCAGAGCTACCACTGGGGT		
BToVF	ATCTCACCCACCCAACAACG	176	60
BToVR	GCAGCCCTCTTAGCAATCTTC		
BNoVF	GGCAAACCACGCAAACAAC	542	52
BNoVR	CTTCCGAAAGGGCACAGA		
BNeVF	GTGTCCGGYCCWGTGTTTCCT	313	56
BNeVR	AAATAGCACGGGCTTCTTC		
Cry18SiCF2	GACATATCATTCAAGTTTCTGACC	763	58
Cry18SiCR2	CTGAAGGAGTAAGGAACAACC		
Cry18SiCF1	CCTATCAGCTTTAGACGGTAGG	587	58
Cry18SiCR1	TCTAAGAATTTACCTCTGACTG		
Gia $\beta$ G71sTF	AAGCCCACGACCTCACCCGAGTGC	753	55
Gia $\beta$ G7591sTR	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC		
Gia $\beta$ 2ndF	GAACGAACGAGATCGAGGTCCG	515	55
Gia $\beta$ 2ndR	CTCGACGAGCTTCGTGTT		
EimeriaITSF	GCAAAAGTCGTAACACGGTTTCCG	340~550	55
EimeriaITSR	CTGCAATTCACAATGCGTATCGC		

上进行 BLAST 比对分析,并利用 DNASTAR 软件分析测序获得的基因序列与 GenBank 中的参考序列的同源性;从 GenBank 下载相应的基因序列,采用 MEGA 5.0 软件以邻接法(Neighbor-Joining method)和 Kimura 2 模式构建系统发育树,Bootstrap 值设为 2000,进行种系发育分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 分子鉴定结果

利用 PCR 方法检测粪便样本中的 BCV、BRV、BVDV、BAstV、BAdV、BEV、BToV、BNoV、BNeV 等病毒核酸及球虫核酸,利用巢式 PCR 方法检测隐孢子虫核酸、贾第鞭毛虫核酸;仅检测到 BCV 核酸阳性,其他病原核酸均未检出。

### 2.2 PCR 产物测序及分析

PCR 扩增结果显示:BCV 在 400 bp 左右出现目的条带,均与预期目的片段长度相符,无非特异性条带,而阴性对照均无条带(图 1)。测序结果显示:BCV 的 N 基因与 GenBank 中的 BCV 的 N 基因相

似性均达到 100%,覆盖度达到 99%;进一步表明,扩增到的核酸即为牛冠状病毒核酸。

### 2.3 系统发育树分析

以牛副流感病毒 3 型(BPIV-3)为外群构建系统发育树(图 2)显示,基于 N 基因序列所构建的 NJ 系统发育树,牛冠状病毒(BCV\_China Yak QHGD/

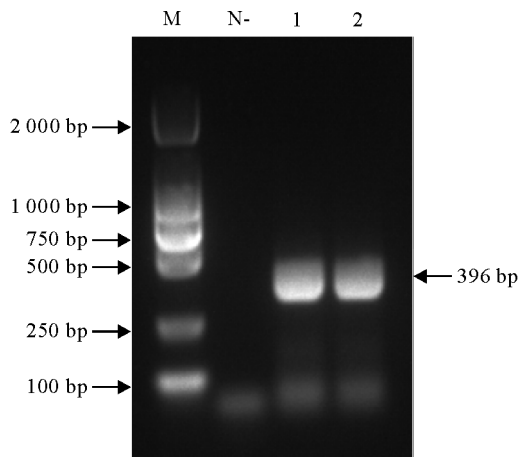


图 1 牛冠状病毒核酸 PCR 检测结果

Fig. 1 PCR detection results of the bovine coronavirus nucleic acid

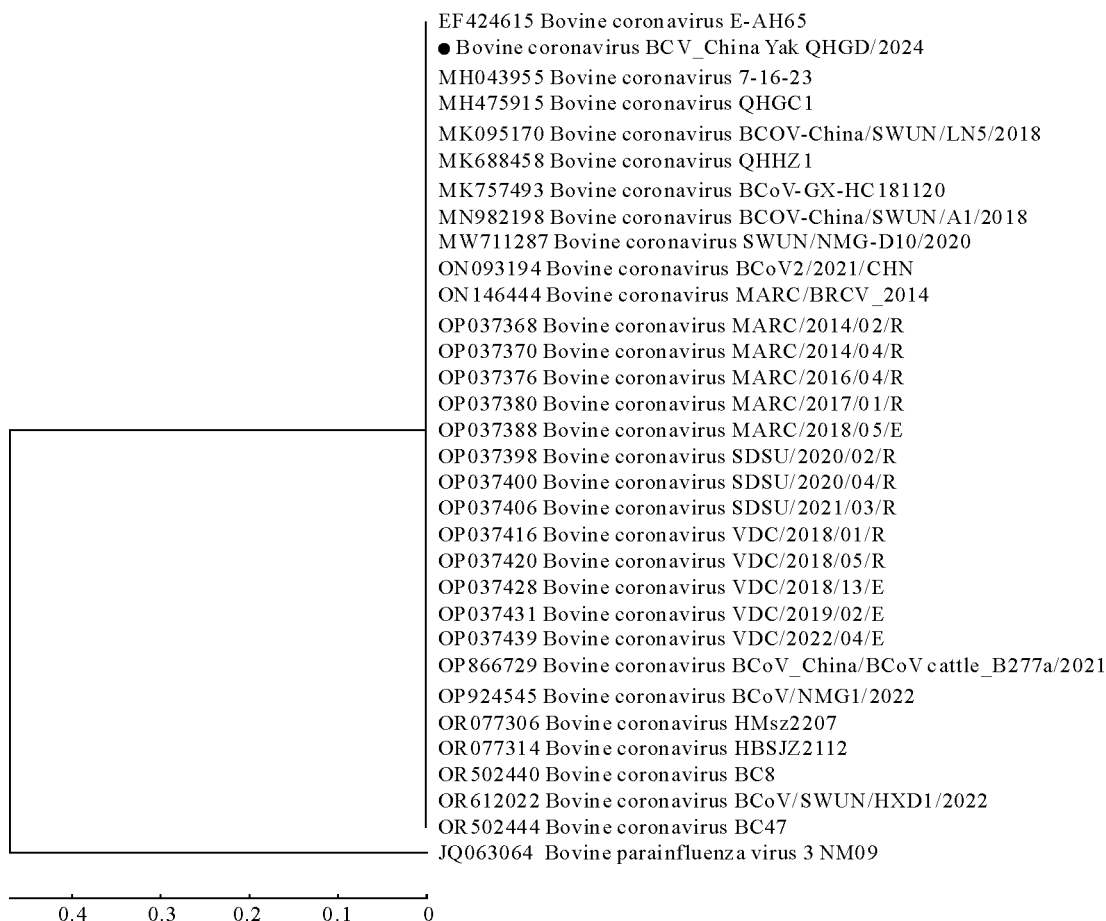


图 2 基于 N 基因序列以 NJ 法所构建的牛冠状病毒的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed by NJ method based on the N gene sequences



2024)青海甘德株与相应的牛冠状病毒分离株位于同一分支上,NJ系统发育树中的自举检验值较高,分支之间距离较远,在遗传进化上得到了很好的区分。

### 3 讨论

总体来说,在中国西北放牧地区犏牛腹泻疾病普遍且复杂,除了与放牧过程中天气变化、饲养管理密切相关外,疾病的发生多是有病原感染引起的。引起犏牛腹泻的致病性病原主要有 BVDV、BRV、BCV 等病毒性病原,也包括机会性致病性病原如大肠杆菌、隐孢子虫及贾第鞭毛虫等。张丁中等<sup>[10]</sup>对青藏高原地区引起牦牛犏牛腹泻的主要病原进行流行病学调查分析,发现青海、西藏、四川共 21 个场的 239 份腹泻犏牛粪便中,犏牛感染病原的个体阳性率为 64.44%,场阳性率为 42.86%~90.48%;BRV、BVDV、BCoV、IBRV、ETEC、沙门氏菌的个体阳性率分别为 28.87%、26.78%、5.44%、28.45%、17.57%、16.32%;李娟等<sup>[11]</sup>通过对青海海北地区 323 份牦牛腹泻样本检测,发现病毒性病原样本 214 份,检出率为 66.3%。可见,病毒性病原占比较大,应引起重视。张琳等<sup>[12]</sup>对青海玉树地区一牦牛养殖户 2~3 月龄犏牛爆发的腹泻进行诊断检测发现,9 份样本中有 6 份为牛冠状病毒阳性,其他病原未检测到,阳性率达 66.7%。何琪富等<sup>[13]</sup>对采自青藏高原 29 个牧场 336 份牦牛腹泻样本进行分子检测,结果显示 336 份腹泻样本中 BCV 的平均阳性率为 69.05%,场阳性率为 100%。由于合作社已经进行了一定时期的抗生素治疗,未见明显效果,本次诊断未进行细菌性病原的检测,但是细菌性病原也是主要病原。石田等对青海省玉树、果洛、海北地区采集的 99 份犏牛腹泻相关样本进行致病性大肠埃希氏菌的检测,分离到了 O25、O55 和 O107 等血清型。本团队前期研究也发现,引起牦牛犏牛腹泻的也有隐孢子虫、贾第鞭毛虫、邱氏艾美耳球虫、牛艾美耳球虫、椭圆艾美耳球虫等寄生虫感染。

综上所述,可见牦牛犏牛腹泻是多因素引起的疾病。首先,加强母牛的围产期的管理,在高原牧区放养的牦牛要特别增加怀孕母牛的营养,以保证犏牛妊娠后期的正常生长,减少发病率和死亡率。同时,也要保证母牦牛的体制状况和产奶量,如果母牦牛营养不良缺乏,生产的犏牛就会生长差生产性能低,且对病原更易感。其次,增强犏牛的免疫力,提高犏牛对初乳的摄入量,保证了犏牛吸收各种抗体、免疫细胞、免疫因子、营养因子等,从而增强犏牛的

免疫系统。再次,减少犏牛的环境应激。由于高原牧区,昼夜温差大,大风天气多,冷季经常发生低温、大雪等恶劣天气,要减少母牛及犏牛对此类极端气候的暴露,减少应激的发生。此外,减少犏牛对污染环境暴露。通过圈舍消杀,减少环境及畜群中病原体载量,减少疾病发生;同时,注意饲养环境不能过度拥挤。最后,可通过静脉注射补液,利用中药强心剂强心,同时继续使用适当的抗菌素进行预防细菌性病原继发感染,从而可达到有效的治疗与防控目的<sup>[14]</sup>。

通过对合作社患病犏牛发病情况、临床症状及实验室的检查结果,确诊该合作社患病犏牛为牛冠状病毒感染,且流行趋势较重,建议加强相应的饲养管理工作和支持疗法,确保短时间内控制病情,避免严重的经济损失。

#### 参考文献:

- [1] LI S Y, HUANG J, CAI X H, et al. Prevalence and evolutionary characteristics of bovine coronavirus in China[J]. *Veterinary Sciences*, 2024, 11(6): 230.
- [2] 刘蓉菁, 张志平, 王谢忠, 等. 我国牦牛源冠状病毒流行现状分析[J]. *中国动物检疫*, 2020, 37(3): 13-16.  
LIU R J, ZHANG ZH P, WANG X ZH, et al. Analysis on the prevalence status of yak-derived bovine coronavirus in China[J]. *China Animal Health Inspection*, 2020, 37(3): 13-16.
- [3] 张迪, 武瑞, 孙芳, 等. 黑龙江某规模化牛场犏牛腹泻病原检测及防控建议[J]. *中国奶牛*, 2021(6): 31-35.  
ZHANG D, WU R, SUN F, et al. Diagnosis and control of calf diarrhea pathogen in a large scale cattle farm in Heilongjiang Province [J]. *China Dairy Cattle*, 2021(6): 31-35.
- [4] 智海东, 高艳, 刘长明, 等. 病原性犏牛腹泻的实验室诊断与防控[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2016(13): 179-183.
- [5] GENG H L, MENG X Z, YAN W L, et al. Prevalence of bovine coronavirus in cattle in China: a systematic review and meta-analysis[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2023, 176: 106 009.
- [6] 石田, 韩生义, 李淑萍, 等. 青海牧区犏牛腹泻大肠埃希氏菌毒力基因及血清型分布特征研究[J]. *动物医学进展*, 2024, 45(6): 20-25.  
SHI T, HAN SH Y, LI SH P, et al. Analysis of virulence genes and serotype distribution characteristics of *E. coli* causing calf diarrhea in pastoral area of Qinghai Plateau[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2024, 45(6): 20-25.
- [7] 刘伯承, 王慧, 高帅, 等. 某奶牛场犏牛腹泻的病原

- 诊断及防控建议[J]. 中国奶牛, 2020(9):36-39.
- LIU B CH, WANG H, GAO SH, et al. The pathogen diagnosis and prevention and control suggestions of diarrhea in calves from a dairy farm[J]. China Dairy Cattle, 2020(9):36-39.
- [8] 张学勇, 简莹娜, 朵红, 等. 青海刚察某牧场牦牛犊牛腹泻病原的分子鉴定分析[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2022, 52(1):23-29.
- ZHANG X Y, JIAN Y N, DUO H, et al. Molecular identification and analysis of pathogens causing yak calf diarrhea in a farm in Gangcha of Qinghai Province[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2022, 52(1):23-29.
- [9] 张学勇, 简莹娜, 朵红, 等. 青海贵南某牧场犊牦牛腹泻病原的分子鉴定分析[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2020, 50(2):1-6.
- ZHANG X Y, JIAN Y N, DUO H, et al. Molecular identification and analysis pathogens causing young yak diarrhea in a pasture in Guinan of Qinghai Province[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2020, 50(2):1-6.
- [10] 张丁中, 滕焯, 程玉婷, 等. 青藏高原地区犊牦牛腹泻病原检测与分析[J]. 中国动物检疫, 2024, 41(4):1-5.
- ZHANG D ZH, TENG ZH, CHENG Y T, et al. Detection and analysis of diarrhea pathogens in yak calves in Qinghai-Tibetan Plateau Region[J]. China Animal Health Inspection, 2024, 41(4):1-5.
- [11] 李娟. 青海地区牦牛腹泻病调查与分析[J]. 今日畜牧兽医, 2019, 35(11):23.
- [12] 张琳, 汤承. 一起冠状病毒引起的牦牛犊牛腹泻的分子诊断[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2019, 49(6):6-10.
- ZHANG L, TANG CH. Molecular diagnosis of yaks diarrhea caused by bovine coronavirus[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2019, 49(6):6-10.
- [13] 何琪富. 牦牛冠状病毒的分子检测及基因组研究[D]. 成都:西南民族大学, 2019.
- [14] 聂江江, 雷祖建, 吴虹瑾, 等. 一例牛冠状病毒引起犊牛急性腹泻的分子生物学诊断与治疗[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2024(20):81-85.
- NIE J J, LEI Z J, WU H J, et al. Molecular biology diagnosis and treatment of a case of acute diarrhea in calves caused by Bovine coronavirus[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2024(20):81-85.

(上接第 30 页)

- [13] DEY A R, BEGUM N, ALIM M A, et al. Gastro-intestinal nematodes in goats in Bangladesh: A large-scale epidemiological study on the prevalence and risk factors[J]. Parasite Epidemiology and Control, 2020, 9:146.
- [14] 温晴. 泰来、锡林浩特、牙克石绵羊胃肠寄生虫调查及驱虫比较[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2021.
- [15] 昭日格图, 林鑫, 毛冉, 等. 赤峰地区舍饲肉羊消化道寄生虫感染情况调查[J]. 湖北畜牧兽医, 2021, 42(12):23-24.
- [16] 蒋社平. 道县山羊消化道线虫病病原学调查[J]. 湖南畜牧兽医, 2021(2):25-27.
- [17] 陈亮, 窦永喜, 田斌, 等. 兰州地区羊寄生虫感染情况调查及防治策略[J]. 甘肃畜牧兽医, 2008, 38(6):18-20.
- [18] 王金牛, 陈军良. 一例仔猪食道口线虫病的诊治体会[J]. 浙江畜牧兽医, 2024, 49(2):44.
- [19] 潘广林, 王俊伟, 张强, 等. 野生秦岭羚牛源食道口线虫的分离鉴定[J]. 动物医学进展, 2023, 44(6):46-52.
- PAN G L, WANG J W, ZHANG Q, et al. Isolation and Identification of *Oesophagostomum* sp. from *Budorcas taxicolor bedfordi*[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2023, 44(6):46-52.
- [20] 陈越, 谢昕言, 张誉方, 等. 滇金丝猴尖尾食道口线虫的鉴定[J]. 动物医学进展, 2023, 44(2):137-140.
- CHEN Y, XIE X Y, ZHANG Y F, et al. Identification of *Oesophagostomum aculeatum* in *Rhinopithecus bieti*[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2023, 44(2):137-140.
- [21] SEESAO Y, GAY M, MERLIN S, et al. A review of methods for nematode identification[J]. Journal of Microbiological Methods, 2017, 138:37-49.
- [22] MARZANO V, PANE S, FOGLIETTA G, et al. Mass spectrometry based-proteomic analysis of *Anisakis* spp.: A preliminary study towards a new diagnostic tool[J]. Genes, 2020, 11(6):693.
- [23] 要慧中. 基于 ITS 基因的羊三种胃肠道线虫 PCR 检测方法建立及应用[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2023.
- [24] ROEBER F, JEX A R, GASSER R B. Next-generation molecular-diagnostic tools for gastrointestinal nematodes of livestock, with an emphasis on small ruminants: A turning point? [J]. Advances in Parasitology, 2013, 83:267-333.