

郭广富,曹军平,吴艳涛,等. 江苏泰州地区猪圆环病毒 2 型感染情况调查[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):188-189.

江苏泰州地区猪圆环病毒 2 型感染情况调查

郭广富^{1,2}, 曹军平¹, 吴艳涛², 陆桂平¹

(1. 江苏农牧科技职业学院动物医学院,江苏泰州 225300; 2. 扬州大学兽医学院,江苏扬州 225009)

摘要:为进一步摸清江苏泰州地区猪群中猪圆环病毒 2 型(PCV2)的感染情况及危害程度,控制该病在泰州地区的流行,应用 PCR 方法对泰州所辖 6 个市(区)近 2 年 116 份病料进行 PCV2 的病原学检测。结果表明:总阳性率为 53.45%,每个地区都存在一定程度的感染。其中,规模化养猪场阳性率为 48.33%,散养户阳性率为 58.93%。由此可见,PCV2 在泰州地区猪群中普遍存在,应引起注意。

关键词:猪圆环病毒 2 型;PCR;PCV2 感染;调查

中图分类号: S852.65+9.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0188-02

猪圆环病毒 2 型(porcine circovirus type 2, PCV2)是无囊膜的单股环状负链 DNA 病毒,是圆环病毒科圆环病毒属成员,也是引起断奶仔猪多系统衰弱综合征(PMWS)的主要病原^[1-3]。此外,猪皮炎与肾炎综合征(PDNS)、猪增生性坏死性肺炎(PNP)及新生仔猪的先天性震颤(CT)也可能与 PCV2 型感染有一定的相关性^[4-5]。血清学和病原学调查结果证实,PCV2 呈世界性分布^[6]。PCV2 主要入侵机体的免疫系统,导致免疫抑制,从而有利于其他细菌或病毒继发感染,使发病率和死亡率明显升高,给养猪业的发展造成巨大的经济损失。为进一步弄清江苏泰州地区 PCV2 的分布和感染情况,2011—2012 年对泰州地区不同来源发病猪病料进行 PCV2 病原学检测,以期 PCV2 型感染的防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备 Mikro200R 冷冻高速离心机、JS-380A 自动凝胶图像分析仪、PCR 仪(PTC-200rev)、DYY-7C 型电泳仪、DYCP-31DN 琼脂糖水平电泳槽、恒温箱、微量移液器等。

1.1.2 试剂 基因组 DNA 快速抽提试剂盒(动物)、*Taq* DNA 聚合酶、dNTP Mix、25mmol/L MgCl₂ 及 10×PCR Buffer 均为上海生工生物工程有限公司产品,100 bp DNA Ladder 和 6×DNA 凝胶载入染料(loading dye)购自 Fermentas 公司,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 病料采集和处理 采集 2011—2012 年泰州海陵区、高港区及兴化市等 6 个地区发病猪的脾脏、淋巴结和肺等病变组织,研磨研碎,按 1:4 加入无菌含双抗的 PBS 溶液,混匀,反复冻融 3 次,4℃ 8 000 r/min 离心 7 min,取上清,于冰箱 -20℃ 保存待用。

1.2.2 引物的设计与合成 根据文献[7]的方法合成 1 对 PCV2 引物,片段针对 PCV2 *ORF2* 基因中的一段序列,长 487 bp。上游引物:5'-CTGTTTTCGAACGCAGTGCC-3',下游引物:5'-GCATCTTCAACACCCGCCT-3',由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2.3 组织病料 DNA 的提取 用基因组 DNA 快速抽提试剂盒,按说明书上的操作方法提取组织病料 DNA。

1.2.4 PCR 检测 PCV2 以提取的组织病料 DNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 采用 50 μL 反应体系:5 μL 10×buffer、3 μL 25mmol/L MgCl₂、1 μL 10 mmol/L dNTPs、20 μmol/L 上下游引物各 1 μL,用灭菌超纯水补足 50 μL。反应条件为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s,54℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,35 个循环;72℃ 延伸 10 min。用 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳,在紫外灯下观察电泳图谱,拍照记录结果。

2 结果与分析

2.1 发病猪临床症状与大体病变

病仔猪表现为被毛粗乱、精神不振,食欲减退、腹泻,体温略高、呼吸困难,贫血、黄疸,触诊可见腹股沟淋巴结肿大明显。病猪逐渐消瘦,生长发育不良。病猪往往皮肤上出现红紫色隆起的不规则斑块,有的脱皮溃烂(图 1)。剖检见淋巴结肿大,特别是腹股沟淋巴结、肠系膜淋巴结及气管支气管淋巴结等肿大数倍;脾肿大、坏死、色暗,部分病例见脾脏边缘分布有多少不等的锯齿状小突起(图 2);肺脏衰竭或萎缩,外观灰色至褐色呈斑驳状,质地似橡皮;肾苍白、肿大、有坏死或出血点等。



PCV2 感染后的病猪耳、胸腹及背部等皮肤出现大小不一、圆形斑

图1 PCV2 感染后的病猪耳、胸腹及背部等皮肤的情况

收稿日期:2013-03-31

基金项目:江苏畜牧兽医职业技术学院重点课题(编号:ZD201104)。

作者简介:郭广富(1979—),男,安徽蒙城人,硕士研究生,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和科研工作。

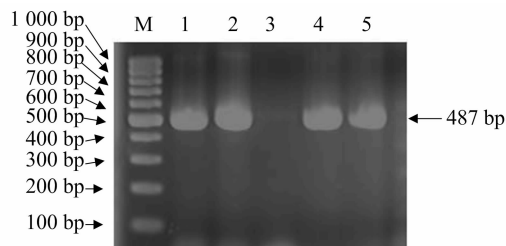
E-mail:cccc62@163.com。



PCV2感染病猪脾脏边缘锯齿状突起
图2 PCV2感染病猪脾脏的状况

2.2 PCR 扩增结果

对 2011—2012 年采集的 116 份猪病料进行 PCR 检测, 得到 PCV2 目的基因片段(图 3)。部分结果阳性, 其 PCR 扩增片段大小为 487 bp(图 3), 与预期结果相符。在 116 份检测的猪病料中有 62 份为阳性病料。



M—100 bp DNA Ladder; 1~2—阳性; 3—阴性; 4~5—阳性
图3 部分病料PCV2检测电泳结果

2.3 不同地区 PCV2 的感染情况

由表 1 可见, 不同地区 PCV2 的感染程度存在一定差异, 最高阳性率为 60% (12/20), 最低阳性率是 46.67% (7/15), 总阳性率为 53.45% (62/116)。

表 1 泰州地区 PCV2 感染情况

地区	样品数 (份)	阳性数 (份)	阳性率 (%)
海陵区	23	11	47.83
姜堰区	25	14	56.00
高港区	20	12	60.00
兴化市	15	8	53.33
靖江市	15	7	46.67
泰兴市	18	10	55.56
总计	116	62	53.45

2.4 PCV2 对规模化养猪场和散养户的感染情况

由表 2 可见, 规模化养猪场和散养户的 PCV2 感染情况存在一定的差异。近 2 年规模化养猪场的总阳性率为 48.33%, 而散养户则为 58.93%。

表 2 规模化养猪场和散养户的 PCV2 感染情况

年份	样品数(份)		阳性数(份)		阳性率(%)	
	散养户	规模场	散养户	规模场	散养户	规模场
2011	35	22	20	10	57.14	45.45
2012	21	38	13	19	61.90	50.00
合计	56	60	33	29	58.93	48.33

3 结论与讨论

全世界许多国家和地区的猪群中都存在着 PCV2, 但其流行情况不尽相同^[8]。对泰州所辖 6 个市(区)116 份病料 PCV2 抗原的检测结果显示, 每个市(区)均存在 PCV2 感染, 总阳性

率为 53.45%, 比刘捷等研究的结果^[9]高 1.45 个百分点。

调查结果显示, 泰州地区散养户养猪场 PCV2 感染情况比规模化更加严重。2011—2012 年, 散养户的阳性率均比规模化养猪场高约 10 百分点。笔者认为, 规模养猪场采取自繁自养方式, 饲养管理比较规范, 养殖环境和生物安全措施较好, 而散养户多数养殖条件较差, 饲养密度高, 设施简陋, 管理粗放, 防疫条件差。有些专业户虽养母猪, 不同批次猪群从不同地方购入, 有些专业户虽养母猪, 但为了在市场好、猪价高时有更多生猪出栏, 也从其他猪场购入猪苗, 造成疫病交叉感染、扩散和传播。本次调查的规模化养猪场近 2 年平均阳性率比曹正等对江苏省 9 个市 15 个规模化养猪场调查的平均阳性率(63.44%)低 15.11 百分点, 但比泰州市 2 个规模化养猪场平均阳性率(44.23%)高 4.1 百分点^[10]。

近 2 年泰州地区的 PCV2 感染率呈递增趋势。散养户由 2011 年的 57.14% 上升到 2012 年的 61.90%, 规模化养猪场由 2011 年的 45.45% 上升到 2012 年的 50%。由此可见, PCV2 在猪群中的高感染率将成为泰州地区养猪业发展的潜在威胁, 如不尽快采取有效防控措施, 将给养猪业造成不可估计的损失。应进一步加强养猪场 PCV2 型感染的生物安全控制, 即搞好场地建设, 做好免疫接种, 控制继发或混合感染等。

参考文献:

- [1] Allan G, McNeilly F, Meehan B, et al. Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs experimentally inoculated with a Swedish porcine circovirus 2 isolate[J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2003, 15(6): 553-560.
- [2] Hasslung F, Wallgren P, Ladekjær-Hansen A S, et al. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in Sweden and Denmark with a Swedish isolate of porcine circovirus type 2[J]. Veterinary Microbiology, 2005, 106(1/2): 49-60.
- [3] Firth C, Charleston M A, Duffy S, et al. Insights into the evolutionary history of an emerging livestock pathogen: porcine circovirus 2[J]. Journal of Virology, 2009, 83(24): 12813-12821.
- [4] Rosell C, Segalés J, Ramos-Vara J A, et al. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome[J]. The Veterinary Record, 2000, 146(2): 40-43.
- [5] Stevenson G W, Kiupel M, Mittal S K, et al. Tissue distribution and genetic typing of porcine circoviruses in pigs with naturally occurring congenital tremors[J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2001, 13(1): 57-62.
- [6] Liu Q, Wang L, Willson P, et al. Seroprevalence of porcine circovirus type 2 in swine populations in Canada and Costa Rica[J]. Canadian Journal of Veterinary Research, 2002, 66(4): 225-231.
- [7] 胡慧, 贾艳艳, 杨春华, 等. 多重 PCR 检测猪伪狂犬病毒、猪细小病毒和猪圆环病毒 2 型的研究[J]. 河南农业大学学报, 2010, 44(4): 421-424.
- [8] 徐延川, 王衡, 张得玉, 等. 广东省猪圆环病毒 2 型感染的血清学调查[J]. 动物医学进展, 2011, 32(12): 79-83.
- [9] 刘捷, 陆琪, 王先炜, 等. 猪圆环病毒 2 型、猪巨细胞病毒和 TTV-2 混合感染的流行病学调查[J]. 中国兽医学报, 2011, 31(8): 1095-1098.
- [10] 曹正, 季伟. 江苏省规模化猪场猪圆环病毒 2 型感染的流行病学调查[J]. 畜牧与兽医, 2011, 43(3): 85-88.