

董 波,张寄香,戴爱玲,等. 闽西地区仔猪病毒性腹泻流行情况调查[J]. 江苏农业科学,2018,46(12):144-146.
doi:10.15889/j. issn. 1002-1302. 2018. 12. 035

闽西地区仔猪病毒性腹泻流行情况调查

董 波^{1,2}, 张寄香³, 戴爱玲^{1,2}, 李晓华^{1,2}, 李静楠¹, 杨小燕^{1,2}

(1. 龙岩学院生命科学学院,福建龙岩 364012; 2. 福建省生猪疫病防控工程技术研究中心,福建龙岩 364012;
3. 湖南农业大学动物医学院,湖南长沙 410128)

摘要:分析 2014—2016 年间猪流行性腹泻病毒(PEDV)、猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)和猪轮状病毒(RV)在闽西地区的流行情况,以便更好地实施防控工作。采用 RT-PCR 对闽西地区规模化猪场的 135 份疑似病毒性腹泻样品进行检测。结果表明,PEDV 的阳性检出率为 30.37%,TGEV 的阳性检出率为 13.33%,RV 的阳性检出率为 11.11%。因此,闽西地区仔猪病毒性腹泻疾病的流行情况须要引起足够重视,采取积极的措施进行预防。
关键词:仔猪病毒性腹泻;传染性胃肠炎病毒;轮状病毒;流行情况;RT-PCR;阳性检出率
中图分类号: S858.285.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0144-02

猪病毒性腹泻病是由 1 种或多种病毒单独或混合感染各年龄段猪所引发的伴有腹泻、呕吐和脱水等典型症状的消化道机能紊乱疾病^[1]。猪病毒性腹泻病主要表现为病猪体温正常或稍高、精神沉郁、食欲减退或废绝,常常导致猪群生长发育迟缓,死亡率升高,给养猪业造成重大经济损失,严重阻碍畜牧行业发展。因此,了解仔猪病毒性腹泻病的流行局势,有助于更有效的施行防治措施。

猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)、猪传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)和猪轮状病毒(porcine rotavirus, RV)是引起猪病毒性腹泻的 3 种主要病原,均具有较强的传染性,哺乳仔猪的易感性最强,致死率高^[2]。3 种病毒皆为接触性传播,在致病性和流行病学上极为相似,皆以呕吐、腹泻、脱水为主要特征,临床上不易分辨。

近年来, PEDV 在我国多个省(市、区)的发病率呈上升趋势,是困扰养猪业的主要疾病之一。2011 年张世忠等对福建省各个地区的规模化养猪的顽固性腹泻病例进行检测, PEDV 感染率高达 52.2%^[3]。然而,部分病例存在 2 种或 3 种病毒混合感染的情况,对养猪业的潜在危害不容忽视。因此,本研究将 2014 年 1 月至 2016 年 12 月期间送至龙岩学院动物医学研究所的 135 例疑似患有病毒性腹泻仔猪的组织样品采用 RT-PCR 进行诊断,分析闽西地区猪病毒性腹泻的流行状况,以期对病毒性腹泻的防控提供资料依据。

1 材料与方法

1.1 样品

收稿日期:2017-09-28
基金项目:福建省高校自然基金青年重点项目(编号:JZ160481);福建省科技厅重大专项(编号:2014NZ0002);福建省教育厅中青年科技项目(编号:JAT160483)。
作者简介:董 波(1983—),男,天津人,博士研究生,讲师,主要从事动物病毒学研究。
通信作者:杨小燕,教授。Tel:(0597)2797255;E-mail:1906834157@qq.com。

收集 2014 年 1 月至 2016 年 12 月福建龙岩及周边地区规模化养猪场送往龙岩学院动物医学研究所进行诊断,患有腹泻的仔猪肠道组织及内容物,共计 135 份。

1.2 主要试剂

DL 2000 Marker、总 RNA 提取液(TaKaRa RNAiso Reagent)、病毒 RNA/DNA 提取试剂盒(TaKaRa miniBEST Viral DNA/RNA extraction Kit Ver. 3.0)、AMV 反转录酶、rTaq DNA 聚合酶、Oligo(dT)、dNTP、DNA Marker DL 2000、RNA 酶抑制剂、pMD19-T Vector 购自宝生物工程(大连)有限公司;DNA 凝胶回收试剂盒(DNA Gel extraction Kit)及质粒提取试剂盒(Plasmid Miniprep Kit)购自爱思进生物技术有限公司产品;感受态细胞制备试剂购自宝生物工程(大连)有限公司;三氯甲烷、异丙醇采用分析纯试剂。

1.3 引物设计与合成

参考 GenBank 上发表的 PEDV、TGEV、RV 基因序列,使用 Premier Premier 5.0 生物软件设计合成特异性引物,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物详情见表 1。

表 1 引物序列

引物名称	序列(5'→3')	扩增长度 (bp)	GenBank 登录号
PEDV-M1	TTCTATTCCCGTTGATGAGG	681	AF353511
PEDV-M2	CATGAAGCACTTCTCACTATC		
TGEV-T1	GTGGTTTGGTYRTAAATGC	1 031	FJ755618
TGEV-T2	CACTAACCAACGTGGARCTA		
RV-P1	AAAGATGCTAGGGACAAAATTG	309	FJ807867
RV-P2	TTCAGATTGTGGAGCTATTCCA		

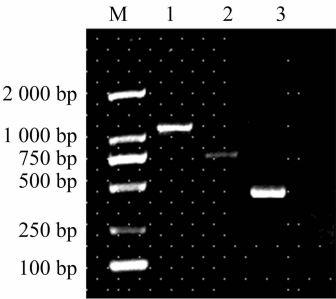
1.4 一步法 RT-PCR

按照病毒 RNA/DNA 提取试剂盒(TaKaRa MiniBEST Viral DNA/RNA Extraction Kit Ver. 3.0)提供的操作手册,自小肠组织及内容物中提取总 RNA 并作为模板,进行 PCR 扩增。PCR 反应程序:45℃作用 30 min,94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,循环 35 次;72℃延伸 10 min。产物经电泳分离,在凝胶成像系统下记录结果。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增结果

产物经凝胶电泳鉴定,结果获得与预期大小相同的片段(图 1)。将纯化后的 PCR 产物连接到 pMD19-T 载体,转化入 DH5 α 感受态细胞,涂板过夜,挑取单个菌落,提取质粒,将阳性克隆送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序,序列结果正确。



M—DNA maker DL2000; 1—TGEV; 2—PEDV; 3—RV
图1 PCR 扩增—电泳试验结果

2.2 PEDV、TGEV 和 RV 的感染情况统计

对 PEDV、TGEV 和 RV 的感染情况进行统计显示,PEDV 的检出率最高,达到 30.37%,而 TGEV 和 RV 的检出率分别为 13.33% 和 11.11%(表 2)。

表 2 PEDV、TGEV 和 RV 的感染情况

感染类型	阳性检出率 (%)
PEDV	30.37(41/135)
TGEV	13.33(18/135)
RV	11.11(15/135)
PEDV + RV	3.70(5/135)
TGEV + RV	2.22(3/135)
PEDV + TGEV	0.74(1/135)
PEDV + TGEV + RV	0.74(1/135)

2.3 PEDV、TGEV 和 RV 感染的季节性分布

3 种病毒全年均被检出,PEDV 和 RV 在冬季感染率较高,阳性检出率分别达到 45.95% 和 16.22%,TGEV 在春季的感染率相对其他季节较高,其阳性检出率为 17.65%(表 3)。

表 3 各季节仔猪腹泻病毒阳性检出率统计结果

季节	样品数 (份)	PEDV 检出率 (%)	TGEV 检出率 (%)	RV 检出率 (%)
春季(3—5 月)	68	26.47(18/68)	17.65(12/68)	7.35(5/68)
夏季(6—8 月)	15	20.00(3/15)	6.67(1/15)	13.33(2/15)
秋季(9—11 月)	15	20.00(3/15)	13.33(2/15)	13.33(2/15)
冬季(12—2 月)	37	45.95(17/37)	8.11(3/37)	16.22(6/37)
合计	135	30.37(41/135)	13.33(18/135)	11.11(15/135)

2.4 PEDV、TGEV 和 RV 年份分布

对各年份阳性检出率进行统计,结果显示,PEDV 的阳性检出率在 2015—2016 年间有所下降,仔猪流行性腹泻病的流行有所减缓;TGEV 阳性检出率从 2014—2015 年期间有明显下降,至 2016 年又出现小幅提升;RV 的阳性检出率变化不明显,波动平缓(表 4)。

表 4 各年份阳性检出率统计

年份	样品数 (份)	PEDV 检出率 (%)	TGEV 检出率 (%)	RV 检出率 (%)
2014	24	37.50(9/24)	45.83(11/24)	16.67(4/24)
2015	54	40.74(22/54)	5.56(3/54)	12.96(7/54)
2016	57	17.54(10/57)	7.02(4/57)	7.02(4/57)
合计	135	30.37(41/135)	13.33(18/135)	11.11(15/135)

3 讨论与结论

本研究自 2014 年 1 月至 2016 年 12 月对闽西地区部分规模化猪场中疑似患有病毒性腹泻疾病的样品进行诊断,数据统计得出,闽西地区 PEDV、TGEV、RV 的阳性检出率依次为 30.37%、13.33% 和 11.11%;PEDV 和 RV 混合感染、TGEV 和 RV 混合感染、PEDV 和 TGEV 混合感染和 3 种病毒均被感染的阳性检出率分别为 3.70%、2.22%、0.74% 和 0.74%,与我国其他地区检出率相近^[4-5]。已有报道指出,在 2012—2013 年期间,闽西地区 PEDV、TGEV、RV 的阳性检出率分别为 22.9%、25.0%、14.6%^[6]。对比本研究统计数据发现,TGEV 和 RV 的阳性检出率有所降低,PEDV 的感染率有一定升高,3 种病毒混合感染的比例有所降低。同时,相比全国近年来猪感染腹泻病毒的流行情况,闽西地区的 TGEV、RV 的阳性率均处于较低水平,而 PEDV 的阳性率仍然高于部分省(市、区),应当加强防控^[7-8]。

本研究中 3 种腹泻病毒在 1 年中均被检出,其中 PEDV 在冬季检出率最高,为 45.95%。春、夏和秋季的检出率分别为 26.47%、20.00%、2.00%,冬、春 2 季 PEDV 的检出率明显高于夏、秋 2 季,这一结果与 PEDV 在寒冷季节尤其在冬春季多发的流行特点相吻合,与我国部分地区的检出情况相似,说明寒冷季节有利于 PEDV 的感染与传播^[9]。RV 在春、夏、秋季的检出率分别为 7.35%、13.33%、13.33%,在冬季检出率最高,达到 16.22%,与往年闽西地区检出情况相比,RV 在冬季的检出率呈现出上升趋势,而在春、夏、秋季,RV 的感染情况没有明显变化。TGEV 的检出率与全国大部分地区的情况相近,与 2012—2013 年闽西地区 TGEV 感染情况相比,检出率有所下降^[6]。通过对不同年份阳性检出率统计发现,闽西地区 PEDV 感染率在近些年呈现下降趋势,感染情况有所好转。TGEV 在 2015 年后感染率下降显著,并保持较为稳定的感染情况。而 RV 的感染率总体波动不大,这也与我国部分省(市、区)RV 感染情况相近。

本研究显示,当前闽西地区以 PEDV 最为流行,对养殖业影响较大,造成经济损失更为严重,应当受到高度重视。同时,TGEV 和 RV 的感染率虽然相对较低,仍然应当加强防控,不可掉以轻心。因此,在养殖中应当加强预防力度,通过合理使用药物提高猪群抵抗力,做好免疫接种^[10]。从流行特点来看,病毒的流行与季节气候有一定联系,一般在冬、春季较寒冷潮湿的时期多发。冬、春季节由于气候多变,湿度大,作为传染源的粪便、乳汁和呼出的气体等在潮湿的环境下更容易传播病毒,携带病毒的传染源污染环境、饲料、饮水和用具,转而传入易感群体的消化道和呼吸道^[11]。因此,冬春 2 季更要谨防病毒的滋生,减少应激,提高饲料营养,改善饲养管理,严格维持舍内干燥清洁,定期消毒通风。同时,应适当调整猪舍

姚娜,汪敏,官玉仁,等. 塔里木河流域隆额高原鳅的生物学特征[J]. 江苏农业科学,2018,46(12):146-149.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.036

塔里木河流域隆额高原鳅的生物学特征

姚娜¹,汪敏²,官玉仁²,鞠明浩¹,王帅¹,陈生熬¹,宋勇¹

(1. 塔里木大学动物科学学院,新疆阿拉尔 843300; 2. 新疆克孜尔水库管理局,新疆拜城 842300)

摘要:2009—2010 年和 2014—2015 年塔里木河流域渭干河 4 季采集隆额高原鳅,运用传统生物学方法进行有关生物学测定和分析。结果显示,隆额高原鳅被定为“极危(CR)”,按照 $W = 0.054L^{2.240}$ 中 b 值与 3 差异显著($P > 0.05$),为异速生长。隆额高原鳅样本中, 3^+ 为优势年龄个体,最大年龄 6^+ ,占 26.9%; 4^+ 和 5^+ 占 25%。隆额高原鳅体长和尾柄长的关系式为: $PL = 0.303L + 0.258$;体长和体高相关方程为: $H = 0.153L - 0.183$, $R^2 = 0.933$,隆额高原鳅的渐进体长和体质量分别为 $L_{\infty} = 63.31$ cm, $W_{\infty} = 585.64$ g,拐点年龄 t_i 为 13.71,丰满度系数 $K = W/L^3 \times 100\%$ 。说明隆额高原鳅异速生长,机体偏瘦,生长不稳定,雌雄个体差异显著($P < 0.05$),拐点年龄偏大,是塔里木河流域亟待保护的鱼类。

关键词:塔里木河流域;隆额高原鳅;生物学特征

中图分类号:S917.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)12-0146-04

隆额高原鳅 [*Triplophysa bombifrons* (Herzenstein)] 别称球吻条鳅,隶属于鳅科 (Cobitidae) 条鳅亚科 (Nemachilinae) 高原鳅属 (*Triplophysa*)^[1-3]。2015 年 32 号文指出,环境保护部和中国科学院联合编制《中国生物多样性红色名录——脊椎动物卷》中隆额高原鳅被定为“极危(CR)”。其地方名为蛇棒子,主要是其尾柄细长如蛇而得名。

高原鳅属 (*Triplophysa*) 隶属于鳅科 (Cobitidae) 条鳅亚科 (Nemacheilinae),是条鳅亚科中最大的一类,广泛分布于高原地区,是栖息海拔最高的鱼类之一,高原鳅属是青藏高原的一个特殊类群,对高原生活环境适应性极强,是高原鱼类群体中

极为重要的类群之一^[1,4-6]。诸多研究者曾依据形态学特征和地理分布,对青藏高原及其邻近地区多种高原鳅属鱼类进行研究,认为高原鳅属鱼类的起源和演化与青藏高原的隆起密切相关^[1,4-8]。

对于隆额高原鳅研究报道较少,而对于其系统生物学研究未见报道^[3,9]。因此,本研究旨在通过鱼类生物学和生态特征,说明其高原鳅属鱼类在特殊地区生长性状,给高原鳅属鱼类生长积累数据,为进一步保护鱼类种质资源打基础。

1 材料与方法

1.1 材料

2009—2010、2014—2015 年在塔里木河流域渭干河 4 季采集样本 52 尾,用 4% 福尔马林固定保存,带回实验室,观察解剖,并测量体长 (L)、体高 (H)、尾柄长 (PL),称其体质量 (W)。体长和体质量分别精确到 0.01 cm 和 0.01 g。

试验器具和试剂:解剖器械、烧杯、电热炉、培养皿、20% H_2O_2 溶液、95% 乙醇溶液。

1.2 方法

本研究运用传统的形态学方法^[10-11],观察 2 种鱼类形态

收稿日期:2017-11-18

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360635、31460691);塔里木畜牧科技兵团重点实验室项目(编号:HS201505、HS201704)。

作者简介:姚娜(1987—),女,陕西渭南人,硕士,实验师,主要从事动物分类及解剖学方面的教学和研究。E-mail:51324086@qq.com。

通信作者:宋勇,讲师,主要从事鱼类学方面的教学和研究。E-mail:sy_514@qq.com。

密度,以便降低传播速度,对于哺乳仔猪更应加强护理。

参考文献:

- [1] 王小新,王昌斌,贝怀国,等. 洪泽县仔猪病病毒性腹泻流行病学调查[J]. 山东畜牧兽医,2014,35(10):58-59.
- [2] 张俊才,杨春光. 猪病病毒性腹泻的流行与鉴别诊断[J]. 现代畜牧科技,2015(2):88.
- [3] 张世忠,江斌. 2011 年福建省猪流行性腹泻的流行特点及其防治措施[J]. 福建畜牧兽医,2012,34(2):23-25.
- [4] 薛瑞雪,田野,田夫林,等. 山东省部分地区仔猪病病毒性腹泻流行病学调查[J]. 中国预防兽医学报,2015,37(4):254-257.
- [5] 沈思思,汤承,岳华. 四川某猪场仔猪腹泻病的病原学诊断[J]. 四川畜牧兽医,2017(2):34-36.

- [6] 郑新添,吴天兴,戴爱玲,等. 龙岩市仔猪病病毒性腹泻检测与分析[J]. 中国兽医杂志,2014,50(10):36-38.
- [7] 徐仲凯,徐新昌. 我国猪病病毒性腹泻病的流行现状与防控措施[J]. 中国动物保健,2014(5):44-46.
- [8] 杨丽梅,马力,徐倩倩,等. 我国猪病病毒性腹泻的诊断与流行病学调查研究概况[J]. 动物医学进展,2014,35(2):115-119.
- [9] Lu B X, Qin Y B, He Y, et al. Detection of porcine epidemic diarrhea virus in Guangxi Province from 2011 to 2014 and sequence analysis of its *M* gene[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2016, 8(1):14.
- [10] 李瑞香,王翠萍. 猪病病毒性腹泻病的流行特点及防控措施[J]. 畜牧与饲料科学,2016,37(2):111-112.
- [11] 张传亮,潘彬彬,黄晓兵,等. 猪病病毒性腹泻的流行病学与综合防控[J]. 畜牧兽医杂志,2015,34(5):122-124.