

## 河南省部分规模化养猪场猪圆环病毒 2 型的流行病学调查

金喜新<sup>1</sup>, 王宏亮<sup>2</sup>, 陈海涛<sup>1</sup>, 梁旭<sup>1</sup>, 刘凡<sup>1</sup>, 贾云飞<sup>3\*</sup>

(1. 河南省动物卫生监督所, 河南郑州 450008; 2. 河南省科学技术协会, 河南郑州 450008; 3. 河南农业大学, 河南郑州 450002)

**摘要** [目的]了解河南省部分地区猪圆环病毒 2 型的感染情况, 以便更好地掌握该病的流行现状。[方法]应用聚合酶链式反应技术 (PCR) 对来自河南省 12 个不同地区的 250 个疑似 PCV2 感染送检样品进行检测。[结果]总体阳性率为 91.20%。河南东部、西部、南部、北部、中部地区部分养猪场 PCV2 的阳性率分别为 81.82%、90.70%、89.66%、96.30% 和 93.75%。不同规模养猪场的 PCV2 阳性率也存在差异, 大型养猪场、中型养猪场、小型养猪场的 PCV2 阳性率分别为 94.19%、92.68% 和 86.59%。[结论]猪圆环病毒 2 型在河南省已经普遍流行, 应引起足够的重视, 各养猪场也应采取相应的防控措施: 优化断奶仔猪的饲养环境; 坚持自繁自养和全进全出的饲养模式; 加强对猪群的饲养管理; 认真落实防疫工作; 感染较严重的病猪予以淘汰, 感染较轻的病猪隔离饲养。

**关键词** 猪圆环病毒 2 型; PCR; 调查; 防控防疫

中图分类号 S851.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)12-0083-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.12.023



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Epidemiological Investigation of Porcine Circovirus Type 2 in Some Large-scale Pig Farms in Henan Province**JIN Xi-xin<sup>1</sup>, WANG Hong-liang<sup>2</sup>, CHEN Hai-tao<sup>1</sup> et al (1. Henan Animal Health Inspection Institute, Zhengzhou, Henan 450008; 2. Henan Association for Science and Technology, Zhengzhou, Henan 450008)

**Abstract** [Objective] To understand the infection situations of porcine circovirus type 2 in some areas of Henan Province, and better grasp the current status of the disease. [Method] Polymerase chain reaction (PCR) assay was used to detect 250 samples suspected of PCV2 infection from 12 different areas of Henan Province. [Result] The overall positive rate was 91.20%. The positive rates of PCV2 were 81.82%, 90.70%, 89.66%, 96.30% and 93.75% respectively in eastern, western, southern, northern and central part of Henan swine farms. PCV2 positive rates in large pig farms, medium pig farms and small pig farms were 94.19%, 92.68% and 86.59%, respectively. [Conclusion] The porcine circovirus type 2 has been wide prevalent in Henan Province. Swine farms should take corresponding preventive measures to prevent PCV2, by optimizing the feeding environment of weaned piglets, persisting in the breeding mode feeding, strengthening the management of pig breeding, conscientiously implementing epidemic prevention work. Pigs infected with more serious diseases should be eliminated, and pigs infected with less severe diseases should be kept in isolation.

**Key words** Porcine circovirus type 2; PCR; Investigation; Prevention and control of disease

猪圆环病毒属于圆环病毒科圆环病毒属、单股环状无囊膜 DNA 病毒<sup>[1]</sup>。目前报道的猪圆环病毒可分为 PCV1、PCV2、PCV3 三个基因型。PCV1 在猪群中广泛存在, 对猪没有致病作用, 可在 PK15 细胞系增殖但不产生细胞病变 (CPE)<sup>[2]</sup>。PCV2 对猪群具有广泛的致病性<sup>[3]</sup>, 可引起仔猪断奶后多系统衰竭综合征 (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)<sup>[4]</sup>, 猪繁殖障碍 (reproductive disorders)、猪皮炎与肾病综合征 (porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS)、仔猪先天性震颤 (congenital tremor, CT) 等, 这一系列的临床表现统称为猪圆环病毒相关疾病 (porcine circovirus-associated disease, PCVAD)<sup>[5]</sup>。2001 年, 我国报道猪群中存在 PCV2 感染<sup>[6]</sup>, 且蔓延至很多省市。近年来, PCV2 引起的 PCVAD 在我国的发生与流行呈上升趋势, 已成为严重危害养猪业的重要病原之一。2016 年, 美国科学家 Phan 和 Palinski 几乎同时报道了一个新的 PCV 基因型, 即 PCV3<sup>[7-8]</sup>。PCV3 最早是从发生 PMWS 等病症的母猪或仔猪体内检测出来, 且同时发现病猪 PCV2 检测呈阴性。2017 年我国首次在广东省的发病猪群中检测到 PCV3<sup>[9]</sup>。

目前, 猪圆环病毒病已成为对生猪养殖业威胁最大的传染病之一。河南省是生猪养殖大省, 每年出栏大量的生猪,

然而因为该病的影响, 每年都会造成巨大的经济损失, 严重制约着河南省生猪养殖业的持续健康发展。为了解河南省 PCV2 的感染情况, 以便更好地实施动物疫病防控工作, 笔者通过建立 PCR 方法在河南多地猪场进行了 PCV2 流行病学调查。

**1 材料与方法**

**1.1 病料来源** 来自河南省 12 个不同地区的疑似 PCV2 感染的 250 份送检样品, 包括脾、肺、肝、肾、扁桃体及腹股沟淋巴结组织样品。

**1.2 引物设计及合成** 利用基因分析软件 Primer Premier 5.0, 参照 GenBank 中的 PCV2 基因序列 (登录号 AF055391) 设计 1 对 PCV2 特异引物。PCV487F 为 5'-CTGTTTTCGAACGCAGT-GCC-3'; PCV487R6 为 5'-GCATCTTCAACACCCGCC-3'。该引物可特异性扩增出 487 bp 大小的基因片段, 引物由上海生物工程技术有限公司合成。

**1.3 病料处理与 DNA 提取** 采集病料中脾、肺、肝、肾、扁桃体及腹股沟淋巴结组织, 加入 PBS 液稀释并充分研磨, 反复冻融 3 次, 6 000 r/min, 离心 5 min, 取上清液至灭菌离心管中, 置于 -80 °C 冰箱中保存备用。按照病毒核酸提取试剂盒操作步骤提取病毒 DNA, 置于 -20 °C 冰箱中保存备用。

**1.4 PCR 扩增** 以提取的病毒 DNA 为模板, 用 1 对 PCR 引物进行 PCR 扩增。引物浓度为 20 pmol/μL, dNTPs 浓度为 2.5 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 浓度为 25 mmol/L, rTaq 酶为 5 U/μL, 整

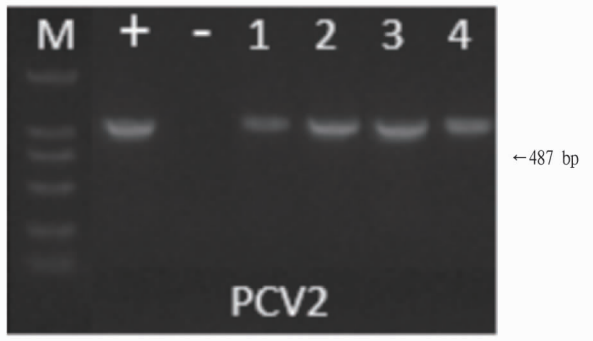
**作者简介** 金喜新 (1979—), 男, 河南光山人, 高级兽医师, 硕士, 从事动物防疫监督及其相关工作。\* 通信作者, 讲师, 博士, 从事绿色农业及动物疫病防控研究。

**收稿日期** 2019-11-04; **修回日期** 2019-11-28

个 PCR 反应体系为 50  $\mu$ L。PCR 反应体系如下:10 $\times$  Buffer 5  $\mu$ L,dNTPs 5  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub> 4  $\mu$ L,引物各 1  $\mu$ L,模板 DNA 10  $\mu$ L,rTaq 酶 0.5  $\mu$ L,加超纯水至 50  $\mu$ L,然后瞬时离心,进行 PCR 扩增。PCR 反应程序如下:94  $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94  $^{\circ}$ C 45 s,58  $^{\circ}$ C 45 s,72  $^{\circ}$ C 45 s,共 30 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 8 min。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检查。

## 2 结果与分析

**2.1 样品的 PCR 检测结果** 运用 PCV2 检测引物对样品进行 PCR 扩增,阳性样品能够扩增出 487 bp 特异性条带,其中部分琼脂糖凝胶电泳图如图 1 所示。由表 1 可知,在采集的 250 份病料中,228 份样品呈 PCV2 阳性,阳性率为 91.20%。



注:M.DL1000DNA 分子质量标准;+.阳性对照;-.阴性对照;1~4.部分阳性样品

Note:M.DL1000 DNA marker;+.Positive control;-.Negative control;1-4.Partial positive samples

图 1 PCV2 的 PCR 检测结果

Fig.1 The detection results of PCV2 by PCR

表 1 样品总检测结果

Table 1 The total detection results of samples

地区 Region	样品数量 Simple size//份	阳性数 Positive number 份	阳性率 Positive rate//%
商丘市 Shangqiu City	34	29	85.29
焦作市 Jiaozuo City	12	12	100.00
济源市 Jiyuan City	23	23	100.00
开封市 Kaifeng City	57	53	92.98
周口市 Zhoukou City	10	7	70.00
禹州市 Yuzhou City	23	22	95.65
南阳市 Nanyang City	43	39	90.70
林州市 Linzhou City	14	13	92.86
驻马店市 Zhumadian City	26	26	100
新乡市 Xinxiang City	1	0	0
信阳市 Xinyang City	3	0	0
孟州市 Mengzhou City	4	4	100
合计 Total	250	228	91.20

**2.2 不同地区的样品检测结果** 将 12 个不同地区送检的 250 份样品按照河南省东部(商丘市、周口市)、西部(南阳市)、南部(驻马店市、信阳市)、北部(焦作市、新乡市等)、中部(开封市、禹州市)划分为 5 部分,结果显示河南省东、西、南、北部、中部地区部分养猪场的 PCV2 阳性率分别为 81.82%、90.70%、89.66%、96.30%和 93.75%。其中北部地区部分生猪养殖场 PCV2 的阳性率最高,为 96.30%;东部部分生猪养殖场的 PCV2 阳性率最低,为 81.82%(表 2)。

表 2 不同地区样品的检测结果

Table 2 Sample testing results in different areas

地区 Region	样品数量 Simple size//份	阳性数 Positive number//份	阳性率 Positive rate//%
东部 Eastern areas	44	36	81.82
西部 Western areas	43	39	90.70
南部 Southern areas	29	26	89.66
北部 Northern areas	54	52	96.30
中部 Middle areas	80	75	93.75
合计 Total	250	228	91.20

**2.3 不同规模养猪场的样品检测结果** 根据不同养猪场年出栏商品肉猪量的不同将其划分为大型养猪场(10 000 头以上)、中型养猪场(3 000~5 000 头)、小型养猪场(3 000 头以下)。对检测结果进行统计,结果显示不同规模养猪场的 PCV2 阳性率存在差异,大型养猪场、中型养猪场、小型养猪场的 PCV2 阳性率分别为 94.19%、92.68%和 86.59%。其中大型养猪场的 PCV2 阳性率最高,为 94.19%;小型养猪场的 PCV2 阳性率最低,为 86.59%(表 3)。

表 3 不同规模养猪场的样品检测结果

Table 3 Testing results of samples from different scales of pig farms

养殖规模 Cultivation scale	样品数量 Simple size//份	阳性数 Positive number//份	阳性率 Positive rate//%
大型养猪场 Large-size pig farms	86	81	94.19
中型养猪场 Middle-size pig farms	82	76	92.68
小型养猪场 Small-size pig farms	82	71	86.59
合计 Total	250	228	91.20

## 3 结论与讨论

此次 PCV2 样本检测结果表明,河南省部分规模化养猪场 PCV2 的阳性率为 91.2%。2009 年,胡慧等<sup>[10]</sup>在河南省采集 226 份猪血样,应用 ELISA 方法对样品进行检测,结果表明 PCV2 的阳性率为 53.10%。此次调查 PCV2 的阳性率显著高于 53.10%,此次调查样本的来源全部为疑似发病的猪,此次样品来源为健康猪群,但都检测出 PCV2 阳性样品。究其原因,可能与 PCV2 在猪群中感染率较高有关,但因病毒含量不高,并未使感染猪表现出典型的临床症状,也可能与猪群中是否存在猪繁殖与呼吸综合症、猪伪狂犬病、猪瘟等其他免疫抑制病的流行有关<sup>[11]</sup>。

河南省不同地区规模化养猪场 PCV2 的阳性率存在差异,这与 2012—2013 年马少强等<sup>[12]</sup>在河南省不同地区采集的 338 份样品检测结果相同,PCV2 在河南省已经普遍流行,但部分养猪场户的防控意识相对薄弱,导致该病毒在该地区大肆传播。不同类型的养猪场 PCV2 的阳性率也有差异,但都较高,这可能与饲养管理过程中操作不够规范、生物安全意识不强、疫苗防疫措施落实不到位等有关。

## 4 PCV2 的防控措施

因为 PCV2 目前尚无特效的治疗方法,要防控 PCV2 就必须以预防为主,采取综合性防治措施,将 PCV2 的危害降低至最小。

**4.1 加强对断奶仔猪的饲养管理** 防控猪圆环病毒病的有

利时期主要在仔猪断奶后的 3~4 周龄,此段时期,养猪场对断奶后仔猪进行疫苗接种、转栏、并群、分群以及更换饲料、阉割等饲养管理操作工作,这些工作都是断奶仔猪产生应急刺激的主要因素。因此,在 PCV2 感染比较严重的养猪场,建议延迟仔猪断奶至 30 日龄左右。断奶时,应保持仔猪原地不动,母猪迁移出哺乳舍,并保证仔猪圈舍内有充足的水和饲料供给,以减少猪群之间的相互打斗,尽可能减少对仔猪产生的应激,也减少了 PCV2 在不同猪群中的传播。仔猪断奶后的 10 d 内,最好不要更换饲料,加强对猪群的饲养管理,注意圈舍的通风、温度控制,加强环境消毒工作。对仔猪的疫苗接种以及阉割等最好在断奶后 7~10 d 内分开进行,避免上述 2 项工作对仔猪一次性刺激过强。在疫苗接种时,应注意周边养猪场的疫病流行情况做出相应的防疫措施,防止过早或多次对仔猪进行免疫接种,尽可能减少对仔猪的不良刺激。

**4.2 坚持自繁自养和全进全出的饲养模式** 养猪场如果经常引进不同品种的种猪,由于个体健康状态和免疫力不同,将会使种猪群的免疫状态出现波动,加上可能会因为某个环节操作的疏忽大意而将含有隐性感染的种猪引进种猪场,从而使病原菌在种猪群中蔓延扩散,或许爆发其他一系列的疫病,而这一系列的疫病反过来又会使 PCV2 的疫情加重。综上所述,经常引进不同品种的种猪也是使养猪场 PCV2 以及其他相关综合征加重或爆发的一个危险因素<sup>[13]</sup>,因此,建议养猪场应尽量减少外来种猪的引进,坚持自繁自养的饲养模式,这样可以使隐性病原菌感染的概率降到最低。同时,养猪场还应对不同生长阶段的猪群采取全进全出的饲养模式,利于减少猪群感染 PCV2 以及其他病原的机率。

**4.3 加强猪群日常管理,提供良好的饲养环境** 不同生长阶段的猪群营养需求有较大差异,不同类型的饲料应按照其功能性供给不同生长阶段的猪群,从而保证猪群的全面均衡的营养需要,确保其正常的生长发育。同时,对于饲料的品质也要严格的把控,对于劣质、发霉的饲料应及时淘汰。在猪群的管理上,不同生长阶段的猪群应分开圈养,不混群饲养,猪舍内的环境应保持对猪群生长发育最有利的情形下,同时,应对猪舍进行定期消毒。猪舍在进猪之前应对猪舍进行彻底的打扫和消毒工作,包括入口设置消毒池以及杀虫灭鼠等工作。养猪场内不养殖其他动物(如猫、狗等),否则也会造成疾病的传播。另外,在不同的季节应对猪舍内的温度实施监控,做好适当的降温或升温工作,同时应保证猪舍的通风、定时进行氨气检测。养猪场应建立独立的粪污排放系统,集中收集粪污并进行发酵处理。养猪场应与周围的环境隔离,对于外来人员、外来车辆和物品应进行严格的消毒工作,有效切断 PCV2 传播途径。

**4.4 严格落实猪群的免疫接种** 对于 PCV2 感染严重的养猪场,应严格实施有计划地疫苗免疫接种。仔猪在 3~4 周龄首免,间隔 3 周进行加强免疫;后备母猪配种前做基础免疫 2

次,产前一个月加强免疫 1 次;经产母猪产前 1 个月免疫 1 次;公猪和其他成年猪实施普免,每半年免疫 1 次。按照制定的免疫程序对猪群进行常规免疫接种后,应定期采集猪群的血液样本进行抗体监测工作,及时掌握疫苗接种的免疫效果。此外,还应做好猪瘟、猪伪狂犬病、猪细小病毒病等其他常见疾病的基础免疫工作,防止混合感染的发生。在实际生产中,也可以制备自家苗来预防 PCV2,但制作和使用自家苗一定要严格按照规范流程进行,避免给猪场带来新的问题<sup>[14]</sup>。

**4.5 合理做好对已感染猪群的防治** 由于 PCV2 现在还没有特效的治疗方法,因此各养猪场应做好综合性预防工作,除了日常的饲养管理、检疫和消毒工作外,为了能更好地提高猪群的免疫力,可在饲料中适当添加中药作为添加剂,如党参、白术等,对防控猪圆环病毒相关疾病有一定帮助<sup>[15]</sup>。对发病猪,视发病轻重情况,对其采取隔离饲养或无害化处理。对于一些发病症状较轻的病猪,应予以隔离饲养。对于发病较为严重的病猪应予以淘汰和无害化处理,避免对其他猪群造成感染。

#### 参考文献

- [1] BASSAMI M R, BERRYMAN D, WILCOX G E, et al. Psittacine beak and feather disease virus nucleotide sequence analysis and its relationship to porcine circovirus, plant circoviruses, and chicken anaemia virus [J]. *Virology*, 1998, 249: 453-459.
- [2] CALSAMIGLIA M, SEGALÉS J, QUINTANA J, et al. Detection of porcine circovirus types 1 and 2 in serum and tissues samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome [J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(5): 1848-1850.
- [3] OLVERA A, CORTEY M, SEGALÉS J. Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: Phylogeny and clonality [J]. *Virology*, 2007, 357: 175-185.
- [4] HARDING J C, CLARK E G. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) [J]. *Swine health and production*, 1997, 5: 201-203.
- [5] ALLAN G, KRAKOWKA S, ELLIS J A. PCV2: Ticking time bomb [J]. *Pig progress*, 2002, 18: 14-15.
- [6] 郎洪武, 张广川, 吴发权, 等. 断奶猪多系统衰弱综合征血清抗体检测 [J]. *中国兽医科技*, 2000, 30(3): 3-5.
- [7] PHAN T G, GIANNITTI F, ROSSOW S, et al. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation [J]. *Virology journal*, 2016, 13: 1-8.
- [8] PALINSKI R, PIÑEYRO P, SHANG P C, et al. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure [J]. *Journal of virology*, 2016, 91(1): 1-13.
- [9] SHEN H, LIU X, ZHANG P, et al. Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China [J]. *Transboundary and emerging diseases*, 2018, 65(1): 264-266.
- [10] 胡慧, 王亚宾, 陈丽颖, 等. 河南地区猪圆环病毒 2 型感染的血清流行病学调查 [J]. *畜牧与兽医*, 2010, 42(10): 70-72.
- [11] 徐乐乐, 孟相秋, 和彦良, 等. 猪圆环病毒病及其免疫预防 [J]. *猪业科学*, 2016, 33(11): 136-137.
- [12] 马少强, 孙超, 张幸幸, 等. 猪圆环病毒 2 型感染的血清学调查 [J]. *当代畜牧*, 2014(17): 71-72.
- [13] 夏道伦, 李淑萍. 猪圆环病毒病的危害及其有效的防控措施 [J]. *广东饲料*, 2018, 27(4): 47-50.
- [14] 刘军, 吴洪涛, 李凤元. 应用自家组织灭活苗防制猪圆环病毒病的报告 [J]. *养殖*, 2006(1): 45.
- [15] 怀川, 王茜, 王升, 等. 猪圆环病毒相关病 (PCVAD) 及其防治措施 [J]. *中国畜禽种业*, 2013(3): 112.