DOI:10.15933/j.cnki.1004-3268.2011.12.037

河南农业科学,2011,40(12):145-148
Journal of Henan Agricultural Sciences

华南地区猪输血传播病毒流行病学调查与分析

南文金,娄高明*,黄健强,冯顺胜

(韶关学院 英东动物疫病研究所,广东 韶关 512005)

摘要:为了解华南地区规模化猪场猪输血传播病毒(TTV)感染状况,采用 PCR 方法对 2005－2007 年间来自广东、江西、湖南、福建和广西五省 44 个规模化猪场 193 份病料进行检测。结果显示,TTV1 型阳性率为 41.5%,TTV2 型阳性率为 21.8%,TTV1 型和 TTV2 型共同感染阳性率为 13.0%。TTV1 型阳性猪场占 72.7%,TTV2 型阳性猪场占 63.6%,TTV1 型和 TTV2 型共同感猪场占 43.1%,TTV 阴性猪场占 11.4%。研究表明,我国华南地区规模化猪场广泛存在 TTV 流行,各地区 TTV1 型阳性率为 33.3%～57.1%,TTV2 型阳性率为 5%～25.7%,除湖南外,其他地区均存在 TTV1 和 TTV2 混合感染情况。

关键词:猪;输血传播病毒;流行病学;PCR

中图分类号:S858.28 S852.65　**文献标识码**:A　**文章编号**:1004-3268(2011)12-0145-04

Investigation and Analysis on the Epidemiology of Swine Torque Teno Virus in South China

NAN Wen-jin,LOU Gao-ming*,HUANG Jian-qiang,FENG Shun-sheng

(Hnery Fok Institute For Animal Disease,Shaoguan University,Shaoguan 512005,China)

Abstract: To investigate the prevalence of swine torque teno virus (TTV) in south China,a total of 193 tissue samples collected from 44 pig farms in south China was detected by PCR. The results showed that the positive rate for TTV1 and TTV2 infection was 41.5% and 21.8%,respectively. Co-infection rate for both TTV1 and TTV2 was 13.0%. The farm positive rate of TTV1 was 72.7% while TTV2 was 63.6%. The farm co-infection rate was 43.1%. In addition,the TTV negative rate of farm was 11.4%. Our data suggests that swine TTV widespread in south China. The TTV1 positive rate ranged from 33.3% to 57.1% and TTV2 positive rate ranged from 5% to 25.7%. Co-infection of both TTV1 and TTV2 was observed in all investigated regions except Hunan province.

Key words: Swine; Torque teno virus; Epidemiology; PCR

输血传播病毒(torque teno virus,TTV)为无囊膜、负链、环状 DNA 病毒,属于圆环病毒科(Circinoviridae),指环病毒属(*Anelloviruses*)成员[1]。最早由日本学者从一位输血后肝炎病患者血清中分离出[2],2 a 后,美国学者 Leary 等[3]利用巢式 PCR(nested polymerrase chain reaction,nPCR)从猪血清中检测到 TTV。2005 年,Niel 等[4]利用多重引导滚环式扩增法(multiply primed rolling circle am-

收稿日期:2011-05-06

基金项目:广东省科技攻关项目(2007A020300006-5);广东省高等学校自然科学研究重点项目(06Z024);广东省农业厅科技攻关项目(粤农函[2006]612 号);韶关市技术创新项目(2008C/N01);韶关市人才基金项目;韶关学院科研项目(200909)

作者简介:南文金(1981-),男,河南灵宝人,研究实习员,硕士,主要从事动物疫病检测技术与防控技术研究。E-mail:nanwenjin@126.com

*通讯作者:娄高明(1965-),男,江西临川人,教授,博士,主要从事动物传染病的综合防控技术研究。E-mail:lougm01@tom.com

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

plification,RCA)检测到猪TTV的另一种亚型,命名为猪TTV2。研究表明,猪TTV已广泛存在于各国的猪群中,如日本、美国、泰国、加拿大、韩国、西班牙、法国等,其感染率为24%~100%不等[4-5]。TTV单独感染猪的临床病例还未见报道。鉴此,对2005—2007年间采集的华南地区部分规模化猪场病料进行检测分析,为了解我国猪TTV感染状况和进一步研究其致病性奠定基础。

1 材料和方法

1.1 病料样品

2005年7月至2007年3月,从湖南、江西、广东、福建、广西五省44个规模化猪场共计采集193份发病猪病料。

1.2 主要试剂和仪器

Taq DNA聚合酶、DL2000 Marker和DL600 Marker购自宝生物工程(大连)有限公司,低熔点琼脂糖和蛋白酶K均购自上海生工生物工程技术服务有限公司,其他试剂均为国产分析纯。主要仪器有SIGMA3-18K高速冷冻离心机(德国),PTC-200型基因扩增仪(美国),DYY-6C型电泳仪,VILBER LOURMAT凝胶成像系统(美国)。

1.3 样品处理及DNA提取

取病料组织放入研钵中,加入适量的PBS,充分研磨后,收集研磨组织于1.5mL的离心管中,反复冻融3次,4℃条件下5000r/min离心10min。取500μL组织上清液,加入50μL的10% SDS和蛋白酶K(20mg/mL),56℃水浴30min。之后加入等体积的Tris饱和酚混匀,4℃条件下12000r/min离心15min;取上清水相,加入等体积的酚/氯仿(1∶1),混匀,4℃下12000r/min离心15min;取上清水相,加入等体积的氯仿混匀,4℃下12000r/min离心15min;取上清加入1/10体积3mol/L的醋酸钠和2倍体积预冷的无水乙醇,−20℃过夜;次日取出,4℃下12000r/min离心15min,弃上清,用70%的乙醇重悬沉淀,短暂离心,弃上清,室温干燥20min后用适量的TE溶解。

1.4 PCR扩增方法

利用韶关学院英东动物疫病研究所建立的检测TTV1型和TTV2型核酸PCR方法进行目的片段扩增[6]。TTV1型PCR扩增引物为:TTV1-R:5′-CTGATTGAAGACTGAAAACCGT-3′,TTV1-F:5′-TCTGATTGGTTACACCCTATGC-3′。扩增的目的片段长度194bp。PCR反应条件:95℃ 5min;94℃ 30s,60℃ 30s,72℃ 30s,30个循环;最后72℃延伸10min。

TTV2型PCR扩增引物为:TTV2-R:5′-GAGTTTATGCCGCTGGTGGTAG-3′,TTV2-F:5′-TAACCGCCTAAAGGGGAGACAG-3′。扩增目的片段长度468bp。PCR反应条件:95℃ 5min,94℃ 30s,59℃ 30s,72℃ 30s,30个循环;最后72℃延伸10min。

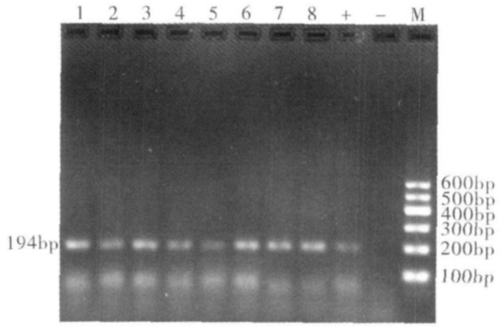
1.5 检测结果统计分析

按不同地区(5个省)和时间(2005—2007年),对单独感染(TTV1型或TTV2型)或混合感染(同时感染TTV1型和TTV2型)情况进行分析。

2 结果与分析

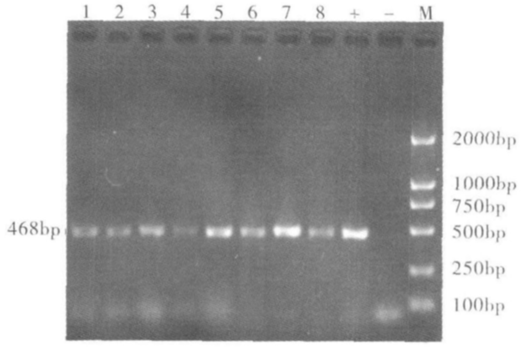
2.1 PCR扩增结果

从193份病料中检测出TTV1型阳性病料80份,阳性率为41.5%,TTV2型阳性病料42份,阳性率为21.8%,图1和图2为部分阳性样品的PCR检测结果。



M. DL600 Marker;+.阳性对照;−.阴性对照;1—8.阳性样品

图1 部分样品中TTV1型PCR扩增结果



M. DL2000 Marker;+.阳性对照;−.阴性对照;1—8.阳性样品

图2 部分样品中TTV2型PCR扩增结果

2.2 不同地区TTV感染情况

由表1可见,检测各地区病料中,福建地区TTV1型阳性率最低,为33.3%,湖南地区最高,达到57.1%;各地区TTV2型阳性率在5.0%~25.7%;TTV1型和TTV2型混合感染阳性率相对

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

较低,其中,湖南地区的混合感染率为0。在检测的44个规模化猪场中,TTV1型阳性的猪场占72.7%,TTV2型阳性猪场占63.6%,TTV1型和TTV2型混合感染的猪场占43.1%。

表1　不同地区TTV感染情况

地区	病料中TTV感染情况			猪场中TTV感染情况		
	TTV1	TTV2	TTV1+TTV2	TTV1	TTV2	TTV1+TTV2
湖南	8/14	1/14	0/14	2/2	1/2	0/2
江西	22/48	12/48	7/48	9/10	9/10	6/10
广东	39/105	27/105	16/105	15/24	16/24	11/24
福建	2/6	1/6	1/6	2/2	1/2	1/2
广西	9/20	1/20	1/20	5/6	1/6	1/6
总计	80/193	42/193	25/193	32/44	28/44	19/44
阳性率/%	41.5	21.8	13.0	72.7	63.6	43.1

注:病料中TTV感染情况为阳性病料数/病料数,猪场中TTV感染情况为阳性猪场数/猪场数,下同

2.3　不同年份TTV感染情况

检测的病料中,2005年TTV1型阳性率为47.2%,TTV2型阳性率为25%,TTV1型和TTV2型混合感染阳性率为13.9%;2006年TTV1型、TTV2型、混合感染阳性率分别为45.7%、21.7%和14.7%;2007年TTV1型、TTV2型、混合感染阳性率分别为14.3%、17.9%和3.6%。检测的猪场中,2005年TTV1型阳性猪场占69.2%,TTV2型阳性猪场占30.8%,TTV1和TTV2混合感染阳性猪场占23.1%;2006年检测的猪场阳性率分别占81.5%、63%和44.4%;2007年检测的猪场阳性率分别占25%、75%和25%(表2)。

表2　不同年份TTV感染情况

时间	样品中TTV感染情况			猪场中TTV感染情况		
	TTV1	TTV2	TTV1+TTV2	TTV1	TTV2	TTV1+TTV2
2005	17/36	9/36	5/36	9/13	4/13	3/13
2006	59/129	28/129	19/129	22/27	17/27	12/27
2007	4/28	5/28	1/28	1/4	3/4	1/4

3　讨论

在检测来自不同地区的193份样品中,福建地区TTV1型阳性率最低,为33.3%,湖南地区最高,达到57.1%;各地区TTV2型阳性率在5%~25.7%,低于TTV1型阳性率;TTV1型和TTV2型混合感染阳性率相对较低,除湖南地区检测的病料中没有混合感染外,其他地区均有混合感染,其中广东地区最高,为15.2%。

在检测的5个省44个规模化猪场中,TTV1感染阳性的猪场所占比例为62.5%~100%,其中湖南和福建各自2个规模化猪场TTV1型全部为阳性,阳性率100%,说明TTV1型在该地区流行严重,也可能与检测猪场数量少有关,还需增加样品来源,明确以上2个地区TTV1阳性猪场比例。各地区TTV2型阳性猪场所占比例等于或略低于TTV1型阳性猪场比例。各地区TTV1型和TTV2型混合感染猪场所占比例均低于单独感染比例,但混合感染猪场阳性率仍高达43.1%。

从时间上来看,所检测的病料TTV1型、TTV2型、TTV1型+TTV2型混合感染阳性率在2005年和2006年差别不大,2007年感染阳性率低于2005年和2006年,这可能与2007年检测的病料仅来源于4个规模化猪场,病料来源范围相对小有关系。此外,在检测的44个规模化猪场中,有5个规模化猪场TTV1型和TTV2型都为阴性(表中未给出数据),但这些阴性猪场所检测的病料都比较少,最多一个场为5份病料,其余4个场为1~3份。

检测结果表明,我国华南地区猪TTV感染比较广泛,TTV1型病料阳性率和猪场阳性率都高于TTV2型,这和刘建波等[7]的报道结果一致,但和王礤礤等[8]的报道结果不同。TTV1型和TTV2型混合感染病料阳性率比较低,为13.0%,但43.1%的猪场都存在这2种病毒混合感染的情况。

另外,2006年检测的病料基本都为"高热病"病料,但检测结果和2005年病料的阳性率差异不大,

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

这基本排除了TTV和猪“高热病”的关系。但有报道称，猪TTV和猪圆环病毒2型(PCV2)具有协同致病作用，促使断奶仔猪多系统衰竭综合征(PMWS)发生[9]。猪TTV和PCV2同属圆环病毒科成员，在猪群中广泛流行，需引起畜牧兽医科研人员重视，对其致病性和危害进行深入研究，做好预防该病发生流行的技术储备。

参考文献：

[1] Mushawar I K, Erker J C, Muerhof A S, *et al*. Molecular and biophysical characterization of TT virus: evidence for a new virus family infecting humans[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(6): 3177-3182.

[2] Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, *et al*. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 241(1): 92-97.

[3] Leary T P, Erker J C, Chalmers M L, *et al*. Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals[J]. J Gen Virol, 1999, 80: 2115-2120.

[4] Niel C, Diniz-Mendes L, Devalle S. Rolling-circle amplification of torque teno virus (TTV) complete genomes from human and swine sera and identification of a novel swine TTV genogroup[J]. J Gen Virol, 2005, 86: 1343-1347.

[5] McKeown N E, Fenaux M, Halbur P G, *et al*. Molecular characterization of porcine TT virus, an orphan virus, in pigs from six different countries[J]. Vet Microbiol, 2004, 104: 113-117.

[6] 娄高明，殷华平，冯顺胜，等. PCR检测猪输血传播病毒Ⅰ型和Ⅱ型方法的建立及初步应用[C]//金宁一，高宏伟，罗廷荣. 中国畜牧兽医学会家畜传染病学分会第七届全国会员代表暨第十三次学术研讨会论文集. 南宁：广西大学出版社，2009: 820-827.

[7] 刘建波，郭龙军，危艳武，等. 猪输血传播病毒(TTV)与猪圆环病毒混合感染的检测及TTV遗传变异分析[J]. 中国预防兽医学报，2011, 33(1): 6-10.

[8] 王礤礤，周艳君，侯军委，等. 猪圆环病毒2型与猪TTV混合感染的流行病学调查[J]. 中国动物传染病学报，2010, 18(1): 75-78.

[9] Ellis J A, Allan G, Krakowka S, *et al*. Effect of coinfection with genogroup 1 porcine torque teno virus on porcine circovirus type 2-associated postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic pigs[J]. Am J Vet Res, 2008, 69(12): 1608-1614.

(上接第144页) 疫情隐患，并确保全省无一起重大动物疫情发生，其他动物疫情也稳定可控，为河南省畜牧业发展和公共卫生安全提供了有力支撑。尤其是河南省根据动物疫情监测预警结果，总结了河南省高致病性猪蓝耳病流行时间、流行路线等规律，自2010年起，除按照农业部的要求于春秋两季进行集中免疫外，河南省于每年7—8月份单独进行了夏季高致病性猪蓝耳病强制免疫工作，使肆虐河南省的高致病性猪蓝耳病得到有效控制。

参考文献：

[1] 吴志明，刘莲芝，李桂喜. 动物疫病防控知识宝典[M]. 北京：中国农业出版社，2006.

[2] 闫若潜，李桂喜，孙清莲. 动物疫病防控工作指南[M]. 北京：中国农业出版社，2009.

[3] 徐百万. 动物疫病监测技术手册[M]. 北京：中国农业出版社，2010.

[4] 陈继明，黄保续. 重大动物疫病流行病学调查指南[M]. 北京：中国农业科学技术出版社，2009.

[5] 高伶慧. 重大动物疫情长效预警机制的建立及预警方式[J]. 中国动物保健，2007(1): 50-54.

[6] 阮书祥. 如何建立高致病性禽流感疫情预警机制[J]. 吉林畜牧兽医，2006, 27(5): 51-53.

[7] 吴泽明，宿鲁，段德辉. 疾病控制预警系统模式探讨[J]. 中国公共卫生，2003, 19(10): 6-7.

[8] 胡莉萍 张洪杰 李云岗. 当前山东省动物疫病预警系统建设的几个问题[J]. 山东畜牧兽医，2009(5): 44-46.

[9] 杨丁. 动物疫病早期预警体系的构建[J]. 中国牧业通讯，2005 (3): 31-34.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net