

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2016.01.003

川渝地区猪 TTV 血清流行病学调查 及危险性因素分析^①

聂奎¹, 周作勇², 曾政³, 黄奕兰⁴

1. 西南大学 动物科技学院, 重庆 400715; 2. 西南大学(荣昌校区) 动物医学系, 重庆 荣昌 402460;
3. 重庆市动物疫病预防控制中心, 重庆 401147; 4. 重庆市畜牧科学研究院, 重庆 400015

摘要: 该试验用 ELISA 和“病例—对照研究”方法, 对四川、重庆共 23 个区县的养殖场和散养农户进行猪 TTSuV 感染的血清流行病学调查及危险性因素分析. 试验共检测 1 918 头份猪血清, 检出阳性血清 341 份, 平均抗体阳性率为 17.78%, 其中种公猪的阳性率为 32.5%, 种母猪 31.4%, 育肥猪 19.6% 和仔猪 11.2%. 四川地区猪的阳性率为 15.98% (17.37%~23.26%); 重庆地区为 20.05% (12.22%~30.00%). 试验结果表明, 在四川、重庆地区存在 TTSuV 感染. 调查发现, 川渝两地的地理条件和养殖规模因素与猪发生 TTSuV 感染的关联程度很小(地理条件: $OR=1.08$, 95% $CI=0.49-1.58$; 养殖规模: $OR=1.04$, 95% $CI=1.01-1.47$). 生产期长或年龄大的种公猪、种母猪和育肥猪发生 TTSuV 感染的危险性则分别是仔猪的 3.8、3.6 和 1.9 倍(种公猪: $OR=3.8$, 95% $CI=1.878-7.752$; 种母猪: $OR=3.6$, 95% $CI=2.153-6.110$; 育肥猪: $OR=1.9$, 95% $CI=1.443-2.586$), 种公猪、种母猪发生 TTSuV 感染的危险性分别是育肥猪的 2.0 和 1.9 倍(种公猪: $OR=2.0$, 95% $CI=1.004-3.887$; 种母猪: $OR=1.9$, 95% $CI=1.165-3.026$), 表明饲养期或年龄这一暴露因素与猪发生 TTSuV 感染的危险性有较强或中等程度的关联.

关键词: Torque Teno sus virus(TTSuV); 血清流行病学; 危险性因素; 猪; 病例—对照研究; 四川; 重庆

中图分类号: S828 文献标志码: A 文章编号: 1673-9868(2016)01-0014-05

基于 TTV 在人群中高度流行状况的启示, 美国学者于 1999 年从猪血清中检测出猪输血传播病毒(Torque Teno sus virus, TTSuV)^[1], 随后在猪、牛、羊、猫、狗和家禽等多种动物体内也相继发现有 TTV 的感染^[2]. 流行病学调查显示, 猪群的 TTSuV 感染呈全球性分布, 目前已报道存在 TTSuV 的国家有加拿大、美国、日本、西班牙、德国、巴西、法国和中国等, 在不同年龄、不同性别和不同生产模式的猪群中均发现有感染, 但无病症表现, 呈隐形感染^[3]. 目前, 在我国 18 个省市的猪群中已证实有 TTSuV-1 和 TTSuV-2 流行^[4-7].

西南地区是我国生猪养殖优势区域之一, 四川和重庆的生猪产区基地县占有整个西南地区 126 个生猪基地县的 64.29%. 基于猪的 TTSuV 在我国各地存在不同程度的感染, 而多数的血清流行病学调查仅反映猪群中 TTSuV 的感染情况, 并未反映在养殖过程中影响 TTSuV 感染的流行因素, 本试验旨在根据免疫学的 ELISA 和流行病学的“病例—对照”方法, 对四川、重庆生猪的 TTSuV 感染进行血清流行病学调查, 并对影响 TTSuV 感染的地理条件、养殖方式及年龄阶段暴露因素进行危险性估计.

① 收稿日期: 2014-03-13
基金项目: 重庆市科委重点攻关项目(CSTC2011AB2030); 重庆市科技创新能力建设项目(CSTC2009CB1010).
作者简介: 聂奎(1958-), 男, 重庆城口人, 博士, 教授, 主要从事家畜传染病与寄生虫病研究.

1 材料与方法

1.1 采样地点选择及采样方法

四川、重庆位于中国的西南地区,属亚热带季风性湿润气候,年均气温为 16.5—18℃.除川西高原外,四川、重庆两地主要以盆地、丘陵和山地地形为主,生猪养殖多集中在盆地、丘陵地区.本试验根据两地的地理特点及生猪养殖情况,选取四川、重庆的 23 个区县作为采样地点.猪只经前腔静脉或耳静脉采血,血样置 3 000 r/min 离心 5 min,分离血清并分装于经灭菌后的 Eppendorf 管中,置-20℃冷冻待检.本次共采集猪血样 1 918 头份,其中四川 1 070 头份,重庆 848 头份.

1.2 主要试剂与仪器

猪 TTV-Ab ELISA 试剂盒(生产批号为 20110701,有效期为 20120101),购自上海裕平生物科技有限公司;JL-084 型 Thermo 酶标仪,美国 Thermo Fisher 公司;FZ-237 型 EL×405™洗板机,美国 BIOTEK 公司;Microfuge 22R 离心机,美国贝克曼库尔特公司.

1.3 猪 TTSuV 阳性抗体的检测及结果判定

按照 TTV Ab ELISA 试剂盒说明书进行操作,即稀释血清、加样、温浴、洗涤、加酶标记物和显色反应,最后置酶标仪 450 nm 处测各孔吸光度(OD)值.

阳性对照 OD 值超过 1.0,阴性对照 OD 值低于 0.15 时,试验方为有效. Cut off 值=阴性对照平均 OD 值+0.10(若阴性对照平均 OD 值低于 0.05,按 0.05 计算).检测样本 OD₄₅₀ 值≥Cut off 值,为阳性;样本 OD₄₅₀ 值<Cut off,为阴性.

1.4 猪 TTSuV 感染的危险性评估

基于检出的 TTSuV 感染血清抗体阳性率,按“病例一对照分析”方法计算比数比(Odds Ratio, OR)和 95%的可信限(95% Confidence Interval, 95% CI),评估地理、养殖以及年龄这些暴露因素与发生 TTSuV 感染流行的危险性及其关联程度.当比数比(OR)值为 0.9~1.1 时,暴露因素与猪发生 TTSuV 感染无关联;1.1~1.5 时,为较弱的关联;1.5~3.0 时,为中等程度的关联;>3.0 时,为较强的关联^[8].血清阳性率结果采用 SPSS11.5 软件进行卡方检验.

2 试验结果

2.1 四川、重庆地区猪 TTSuV 感染的抗体阳性率

本次共检测四川、重庆 23 个区县 1 918 头份种猪、仔猪和育肥猪的血清样品,检出 TTSuV 血清抗体阳性样 341 份,平均阳性率为 17.78%;其中四川 12 个区县的 TTSuV 抗体阳性率为 7.37%~23.26%,平均为 15.98%(171/1070);重庆 11 个区县的为 12.22%~30.00%,平均为 20.05%(170/848)(表 1).

表 1 四川、重庆猪群感染 TTSuV 的抗体阳性率

地区	样本总数/份	阳性数/份	阳性率/%
重庆	848	170	20.05(12.22~30.00)
四川	1 070	171	15.98(7.37~23.26)
合计	1 918	341	17.78(7.37~30.00)

四川、重庆两地不同饲养生长阶段猪的 TTSuV 感染情况,以仔猪的血清抗体阳性率最低、为 11.2%,种猪最高,种公猪和种母猪的分别达到 32.5%和 31.4%,育肥猪的为 19.6%(表 2).

表 2 四川、重庆不同生长阶段猪感染 TTSuV 的抗体阳性率

动物	猪样品中 TTV 的阳性率/%		
	样本总数/份	阳性数/份	阳性率/%
种公猪	40	13	32.5
种母猪	86	27	31.4
仔猪	598	67	11.2
育肥猪	1 194	234	19.6
合计	1 918	341	17.78

2.2 不同地域、养殖条件和年龄因素发生猪 TTSuV 感染的危险性估计

本次调查发现: 川渝两地不同的地理条件(如山区与丘陵)和不同养殖规模(规模养殖与农户散养)因素对 TTSuV 的感染传播影响很小(地理条件: $OR=1.08$, $95\% CI=0.49\sim1.58$, $X^2=0.25$; $p>0.05$; 养殖规模: $OR=1.04$, $95\% CI=1.01\sim1.47$, $X^2=0.09$; $p>0.05$), 表明地理和养殖条件暴露因素与猪发生 TTSuV 感染无关联(表 3).

饲养期或年龄这一暴露因素则对猪的 TTSuV 感染传播影响很大. 仔猪的 TTSuV 感染阳性率较低(11.2%), 发生 TTSuV 感染的危险性相对较小; 而与生产期长或年龄大的种公猪、种母猪和育肥猪相比, 种公猪、种母猪和育肥猪发生 TTSuV 感染的危险性则分别是仔猪的 3.8、3.6 和 1.9 倍(种公猪: $OR=3.8$, $95\% CI=1.878\sim7.752$; 种母猪: $OR=3.6$, $95\% CI=2.153\sim6.110$; 育肥猪: $OR=1.9$, $95\% CI=1.443\sim2.586$). 种公猪、种母猪发生 TTSuV 感染的危险性显著高于育肥猪, 发生 TTSuV 感染的危险性分别是育肥猪的 2.0 和 1.9 倍(种公猪: $OR=2.0$, $95\% CI=1.004\sim3.887$; 种母猪: $OR=1.9$, $95\% CI=1.165\sim3.026$), 但种公猪与种母猪间的 OR 值为 1.05, 无统计学意义($OR=1.05$, $95\% CI=0.471\sim2.349$), 表明饲养期或年龄这一暴露因素与猪发生 TTSuV 感染传播的危险性为中等程度的关联或为较强的关联(表 4、表 5).

表 3 川渝地区猪 TTSuV 感染的血清流行病学与危险性因素

危险性因素	阳性率/%			OR 值			95%置信度			X ² 值			p 值
	四川	重庆	川渝	四川	重庆	川渝	四川	重庆	川渝	四川	重庆	川渝	
丘陵	16.39	18.98	17.51	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	1.10—2.03	1.30—2.39	0.49—1.58	0.38	0.84	0.25	>0.05
山区	14.41	23.50	18.72	1.16	1.31	1.08							
规模养殖	17.46	18.93	18.10	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	1.34—1.69	1.10—1.74	1.01—1.47	1.59	0.49	0.09	
农户散养	14.45	21.10	17.46	1.25	1.14	1.04							

注: a 为参比值.

表 4 仔猪与种猪、育肥猪之间 TTSuV 感染的血清流行病学与危险性因素

动物	阳性率/%	OR 值	95%置信度	X ² 值	p 值
仔猪	11.2	1.0 ^a			
种公猪	32.5	3.8	1.878—7.752	13.6	<0.01
种母猪	31.4	3.6	2.153—6.110	24.2	<0.01
育肥猪	19.6	1.9	1.443—2.586	19.5	<0.01

注: a 为参比值.

表 5 种猪间及与育肥猪之间 TTSuV 感染的血清流行病学与危险性因素

动物	阳性率/%	OR 值	95%置信度	X ² 值	p 值
种公猪	32.5	1.0 ^a	0.471—2.349	0.007	>0.05
种母猪	31.4	1.05			
育肥猪	19.6	2.0	1.004—3.887	4.0	<0.05
种母猪	31.4	1.0 ^a	1.165—3.026	6.2	<0.05
育肥猪	19.6	1.9			

注: a 为参比值.

3 讨 论

从人体患者体内发现 TTV 以来, 该病毒感染多种动物, 包括其他灵长类及猪、鸡、牛、羊、猫和狗^[2]. TTV 经过血液传播的说法已成为共识, 但目前 TTSuV 的传播方式尚不很清楚, 水平传播和垂直传播都可能参与其中. 在 TTSuV 平行传播中, 粪口传播和交配传播已被证明^[5], 疫苗、生物制品及注射也可能是

TTSuV 在猪群中传播的重要方式. TTSuV 的垂直传播被证明是通过初乳、经胎盘和子宫内感染途径传播^[9], 但有一些研究不赞同这一观点^[3].

同人源 TTV 一样, 目前尚没有关于 TTSuV 直接致病、独立致病的报道. 多数学者认为, TTSuV 属于高度潜伏感染的病毒, 这种潜伏感染随时都有可能被机体内外和环境变化等应激因素刺激而引起疾病爆发. 一些研究只是证明了 TTSuV 与猪 PRRSV 和 PCV 等存在协同作用, 其混合感染时会加重猪皮炎肾病综合症(PDNS)^[10]和断奶仔猪多系统衰竭综合征(PMWS)的病状^[11]. TTV 广泛存在于人类、家畜、野生动物及一些伴侣动物体内, 特别是 TTSuV 在猪群中的高感染率^[1]是否成为对养殖业和人类健康的可能潜在威胁, 足应引起重视.

目前国内多数动物疾病的流行病学调查并未阐明影响疾病发生的因素, 而相关危险性因素评估是研究疾病流行病学的重要方法^[8, 13], 分析流行病学的“病例—对照”方法可比较不同因素下某种疾病发生的几率, 有利于更好地了解影响疾病发生的因素. 以往的研究发现, 养猪生产中的多种因素, 如猪只密度、猪群规模、饲养类型、地理环境等因素对猪病流行影响很大^[8, 12-15]. 本次调查发现, 在四川、重庆两地区存在 TTSuV 的感染情况. 不同地理条件和不同饲养规模对 TTSuV 感染流行有一定的影响, 但其关联强度较弱. 而饲养期或年龄这一暴露因素则对 TTSuV 感染传播的危险性为中等程度的关联或为较强的关联, 即饲养期或年龄大的猪只发生 TTSuV 感染的危险性很大.

参考文献:

- [1] THOMAS P L, JAMES C E, MICHELLE L C, et al. Improved Detection Systems for TT Virus Reveal High Prevalence in Humans, Non-Human Primates and FA [J]. Journal of General Virology, 1999, 80(8): 2115—2120.
- [2] OKAMOTO H, TAKAHASHI M, NISHIZAWA T, et al. Genomic Characterization of TT Viruses (TTVs) in Pigs, Cats and Dogs and Their Relatedness with Species-Specific TTVs in Primates and Tupaia [J]. J Gen Virol, 2002, 83(6): 1291—1297.
- [3] XIAO C T, GIMÉNEZ-LIROLA L, HUANG Y W, et al. The Prevalence of Torque Teno Sus Virus (TTSuV) is Common and Increases with the Age of Growing Pigs in the United States [J]. Journal of Virological Methods, 2012, 183(1): 40—44.
- [4] 王礞礞, 周艳君, 陈宗艳, 等. 我国猪群中 TTV 的鉴定及其分子流行病学分析 [J]. 中国预防兽医学报, 2009, 31(10): 751—755.
- [5] 孙泉云, 李凯航, 张维谊, 等. 上海地区猪和奶牛血清中 TTV(Torque teno Virus)感染的检测 [J]. 中国动物传染病学报, 2009, 17(2): 78—81.
- [6] 伍志伟, 王红宁, 杨 鑫, 等. 中国西南地区猪群中 TTV 分子流行病学调查 [J]. 中国兽医学报, 2011, 31(6): 779—782.
- [7] 南文金, 娄高明, 黄健强, 等. 华南地区猪输血传播病毒流行病学调查与分析 [J]. 河南农业科学, 2011, 40(12): 145—148.
- [8] 黄保续. 兽医流行病学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 163—164.
- [9] MARTINEZ-GUINO L, KEKARAINEN T, SEGALES J. Evidence of Torque Teno Virus (TTV) Vertical Transmission in Swine [J]. Theriogenology, 2009, 71(9): 1390—1395.
- [10] KRAKOWKA S, HARTUNIAN C, HAMBERG A, et al. Evaluation of Induction of Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome in Gnotobiotic Pigs with Negative Results for Porcine Circovirus Type 2 [J]. Am J Vet Res, 2008, 69(12): 1615—1622.
- [11] ELLIS J A, ALLAN G, KRAKOWKA S. Effect of Coinfection with Genogroup 1 Porcine Torque Teno Virus on Porcine Circovirus Type 2-Associated Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Hnotobiotic Pigs [J]. Am J Vet Res, 2008, 69(12): 1608—1614.
- [12] 聂 奎, 李竹青, 曾 政, 等. 川渝地区育肥猪伪狂犬病血清流行病学调查及危险性因素 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 35(9): 6—10.

[13] 聂奎,周作勇,周荣琼,等. 重庆地区家畜附红细胞体分子流行病学调查及危险性因素 [J]. 中国兽医学报, 2011, 31(6): 848—851.

[14] 周作勇,聂奎,罗洪林,等. 重庆市羊附红细胞体感染情况调查 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(12): 39—42.

[15] 周作勇,曹立亭,彭开政,等. 山羊无浆体 MSP4 全长基因的克隆测序与 B 细胞抗原表位预测 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 34(10): 1—8.

Seroprevalence and Risk Factor Analysis of Swine TTSuV Infection in Sichuan and Chongqing

NIE Kui¹, ZHOU Zuo-yong², ZENG Zheng³, HUANG Yi-lan⁴

1. School of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Veterinary Department, Southwest University (Rongchang Campus), Chongqing 402460, China;
3. Chongqing Animal Disease Prevention and Control Center, Chongqing 401147, China;
4. Chongqing Academy of Animal Science, Chongqing 400015, China

Abstract: Seroprevalence of swine Torque Teno sus virus (TTSuV) infection and risk factor analysis in Chongqing and Sichuan were performed with the methods of ELISA and case-control study. A total of 1,918 swine serum samples were obtained from 23 counties with different topographic conditions and different breeds style distributed in 2 provinces. All sera were tested for TTSuV antibodies by TTSuV-IgG-ELISA kit. Antibodies to TTSuV were detected in 341 (17.78%) of 1,918 pigs sera, and the prevalence of TTSuV infection were 15.98% (171/1070) and 20.05% (170/848) in Sichuan and Chongqing, respectively, of which the prevalence of TTSuV infection was 32.5%, 31.4%, 19.6% and 11.2% in boars, sows, finishing pigs and piglets, respectively. A case-control study carried-out to identify herd level risk factors for TTSuV antibodies in pigs showed no significant association between the geographical location (mountain and hill areas) and seroprevalence of swine TTSuV infection ($OR=1.08$, 95% $CI=0.49-1.58$), and between the breeds style and seroprevalence ($OR=1.04$, 95% $CI=1.01-1.47$), respectively. The risk of TTSuV infection significantly increased in adult animals vs. piglets (boars $OR=3.8$, 95% $CI=1.878-7.752$; and sows $OR=3.6$, 95% $CI=2.153-6.110$) and finishing pigs ($OR=1.9$, 95% $CI=1.443-2.586$), as well as in boars and sows vs. finishing pigs (boars: $OR=2.0$, 95% $CI=1.004-3.887$; sows: $OR=1.9$, 95% $CI=1.165-3.026$), respectively. The above results demonstrated that swine TTSuV infection was present in Sichuan and Chongqing and that the age of the animal appeared to be the major risk factors of prevalence of swine TTSuV infection.

Key words: Torque Teno sus virus(TTSuV); seroepidemiology; risk factor; pig; case-control study; Sichuan; Chongqing

