

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.01.02

凉山州腹泻仔猪猪圆环病毒 2 型感染情况调查

韩松伟¹, 郝桂英^{1*}, 何金川¹, 王辉¹, 蒲响林¹,
郭嘉玲¹, 曾令强¹, 张涛², 周国燕², 黄剑锋²

(1. 西昌学院动物科学学院, 四川西昌 615013; 2. 凉山州畜牧兽医科学研究所, 四川西昌 615000)

[收稿日期] 2019-10-16 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 01-0009-07 [中图分类号] S852.65

[摘要] 为了解凉山州腹泻仔猪猪圆环病毒 2 型(PCV2)的感染情况,采用 PCR 方法对采自四川省凉山州西昌市和喜德县 7 个猪场 85 份腹泻仔猪粪便、病变组织等样品进行 PCV2 检测,并将扩增到的 PCV2 ORF2 基因片段进行测序和序列分析。结果显示,PCV2 阳性样品有 22 份,阳性率为 25.9%,阳性猪场占 71.4% (5/7)。22 个 ORF2 基因片段长度均为 459 bp,核苷酸同源性为 92.8% ~ 100%,氨基酸同源性为 93.5% ~ 100%。构建的系统进化树显示 22 个测序序列分别处于 2 个分支:PCV2b 和 PCV2d,但未形成明显的地理分支。结果表明凉山州猪群中 PCV2 感染较为普遍,且以 PCV2d 亚型为主,并存在一定程度的遗传变异。

[关键词] 猪圆环病毒 2 型; ORF2; PCR; 凉山州

Investigation on the Infection Situation of Porcine Circovirus Type 2 in Diarrhea Piglets in Liangshan

HAN Song-wei¹, HAO Gui-ying^{1*}, HE Jin-chuan¹, WANG Hui¹, PU Xiang-lin¹,
GUO Jia-ling¹, ZENG Ling-qiang¹, ZHANG Tao², ZHOU Guo-yan², HUANG Jian-feng²

(1. School of Animal Science of Xichang College, Xichang, Sichuan 615013, China;

2. Liangshan Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Xichang, Sichuan 615000, China)

Corresponding author: HAO Gui-ying, E-mail: haoguiying@163.com

Abstract: In order to know the infection of porcine circovirus type 2 (PCV2) in diarrhea piglets in Liangshan prefecture, a total of 85 samples including feces of diarrhea piglets and pathological tissues from 7 pig farms in Xichang city and Xide county, Liangshan prefecture, Sichuan province were used to detect ORF2 gene of PCV2 by PCR and sequenced. The results showed that 22 samples were PCV2 positive detected by PCR, the positive rate was 25.9%, and positive farms were 71.4% (5/7). The lengths of 22 isolates were 459 bp, the nucleotide

基金项目: 西昌学院 2017 年度国家级大学生创新训练项目; 攀西动物疫病检测与防控四川省高校重点实验室基本科研业务费项目(341)

作者简介: 韩松伟, 本科, 从事动物疫病的分子流行病学研究。

通讯作者: 郝桂英。E-mail: haoguiying@163.com

sequence homologies of ORF2 gene were 92.8% ~ 100%, and the amino acid homologies were 93.5% ~ 100%. The phylogenetic tree showed that these 22 PCV2 strains isolated from Liangshan belonged to two subtypes: PCV2b and PCV2d, with not formed obvious geographical branch. This study indicated that the epidemic situation of PCV2 in Liangshan was common, PCV2d may be the dominant genotype in Liangshan, and certain genetic variation was presented.

Key words: porcine circovirus type 2; ORF2; PCR; Liangshan prefecture

猪圆环病毒 2 型 (Porcine circovirus type 2, PCV2) 属于圆环病毒科 (Circoviridae) 圆环病毒属 (Circovirus), 为无囊膜的单股负链环状 DNA 病毒, 是已知最小的动物病毒之一^[1], 也是当今危害世界养猪业的重要病原之一^[2]。

PCV2 可引起断奶仔猪多系统衰竭综合征 (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)、猪呼吸道病综合征 (porcine respiratory disease complex, PRDC)、猪皮炎与肾病综合征 (porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS)、增生性坏死性肺炎 (proliferative and necrotizing pneumonia, PNP)、猪坏死性淋巴结炎 (PNL)、新生仔猪先天性震颤 (congenital tremors of piglet, PCT) 及母猪繁殖障碍 (reproductive failure) 等猪圆环病毒相关疾病 (porcine circovirus associated diseases, PCVADs)^[3-5]。另外, PCV2 可导致感染猪免疫抑制, 易引发其他病原混合感染或继发感染, 给养猪业造成巨大的经济损失, 已引起世界各国的广泛关注。

PCV2 基因组包含 11 个可能的开放阅读框 (ORF1 - ORF11), 其中 ORF2 全长 702 bp 或 705 bp, 编码病毒的核衣壳蛋白——Cap 蛋白 (capsid protein), 并参与宿主的免疫应答和病毒复制^[6]。由于 PCV2 全基因组的大部分突变区主要集中在 ORF2 基因, 因此, ORF2 常用于 PCV2 分子流行病学调查的标记^[7]。

目前 PCV2 在四川省凉山彝族自治州猪群的感染情况尚不清楚, 仅见盐源县有报道^[8]。因此, 本研究于 2017 - 2019 年共采集西昌市和喜德县 7 个猪场 57 份腹泻仔猪粪便样品及 28 只病死仔猪病变组织样品 (淋巴结、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏等), 通过 PCR 扩增 PCV2 的 ORF2 基因片段, 并对 PCR

阳性扩增产物进行序列测定及分析, 以了解 PCV2 在凉山州的流行情况, 进一步丰富该病毒流行病学调查的相关数据, 以期为 PCV2 的防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 病料采集 2017 年 4 月 - 2019 年 6 月对凉山州西昌市和喜德县 7 个猪场的发病猪群进行病料采集, 共采集 85 份样品: 腹泻仔猪粪便样品 57 份、组织样品 28 套。组织样品采集自临床表现腹泻、咳嗽、呼吸困难、消瘦的 28 只病死仔猪的淋巴结、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏等, 编号后带回实验室 -60 ℃ 保存备用。其中西昌市 1[#] 猪场 5 份 (均为粪便, 标记为 XCXY1 ~ XCXY5)、2[#] 猪场 10 份 (9 份粪便、1 套病变组织, 标记为 XCKX1 ~ XCKX10)、3[#] 猪场 9 份 (6 份粪便、3 套病变组织, 标记为 XCZL1 ~ XCZL9)、4[#] 猪场 25 份 (10 份粪便、15 套病变组织, 标记为 XCXR1 ~ XCXR25)、5[#] 猪场 3 份 (3 套病变组织, 标记为 XCHT1 ~ XCHT3), 喜德县 1[#] 猪场 22 份 (16 份粪便、6 套病变组织, 标记为 XDZY1 ~ XDZY22)、2[#] 猪场 11 份 (均为粪便, 标记为 XDCY1 ~ XDCY11)。

1.2 主要试剂 病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒、DL2000 DNA Marker、GreenView 核酸染料、2 × Taq PCR Master Mix 等均购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

1.3 总 DNA 的提取 取采集的病死猪病变组织 0.5 g, 加入 2 倍体积灭菌生理盐水用球磨仪进行匀浆, 反复冻融 3 次; 粪便样品取适量装入干净的 EP 管中, 加入 2 倍体积灭菌生理盐水制成悬浮液, 反复冻融 3 次; 将冻融好的样品漩涡振荡混匀, 12000 r/min 离心 10 min, 取 200 μL 上清液于干净的 EP 管中, 按照病毒基因组 DNA/RNA 试剂盒说明书提

取总 DNA, -20 ℃ 保存备用。

1.4 PCR 检测及序列测定 参考索朗扎西等^[9]报道的一对扩增 PCV2 ORF2 基因片段的特异性引物进行检测。上游引物 F:5' - CGGATATTGTAGTC-CTGGTCG -3', 下游引物 R:5' - ACTGTCAAGGC-TACCACAGTCA -3', 预期扩增片段大小为 481 bp。引物由上海杰李生物技术有限公司合成。

PCR 扩增体系 50 μL:2 × Taq PCR Master Mix 25 μL, 上、下游引物 (10 pmol/μL) 各 2 μL, 模板 DNA 2 μL, ddH₂O 19 μL; 扩增条件:94 ℃ 预变性 5 min ;94 ℃ 变性 30 s ,55 ℃ 退火 30 s ,72 ℃ 延伸

30 s ,35 个循环;72 ℃ 延伸 6 min。反应结束后分别取 5 μL PCR 扩增产物用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统检测目的条带的有无及大小。将阳性 PCR 产物送上海杰李生物技术有限公司测序。

1.5 序列分析 检索 GenBank 收录的 PCV2 ORF2 基因序列并下载 (表 1), 用 DNASTar Lasergene7. 1 软件中的 MegAlign 程序将本研究的序列与下载的 PCV2 参考毒株 ORF2 基因序列进行核苷酸和氨基酸同源性比对;用 MEGA 5.0 软件进行遗传进化分析, 采用 Neighbor - Joining (NJ) 法生成系统进化树。

表 1 PCV2 参考毒株 ORF2 基因序列信息

Tab 1 The information about the ORF2 gene of PCV2 reference strains							
登录号	毒株名称	来源地	片段长度/bp	登录号	毒株名称	来源地	片段长度/bp
EU450632	C272	韩国 South Korea	702	JN133305	Slovak	斯洛伐克 Slovakia	702
JN989553	YN07	云南 Yunnan	702	JN006464	WB/ROM193	罗马尼亚 Romania	702
JN989554	YN08	云南 Yunnan	702	MG229681	FJ03	福建 Fujian	705
JN989555	YN09	云南 Yunnan	702	KF530835	Sich2010	四川 Sichuan	705
JN989556	YN12	云南 Yunnan	702	KY947579	WX2016 - 5	中国 China	705
JN989557	YN13	云南 Yunnan	702	KY947558	SS2016 - 2	中国 China	705
DQ534442	Shandong	山东 Shandong	702	KY947560	SYJH2016 - 3	中国 China	705
JX872376	GZ - T1	贵州 Guizhou	702	KY656023	HLJ - 2014A0561	中国 China	705
DQ856581	am3	巴西 Brazil	702	MF314308	RBR114	泰国 Thailand	705
DQ856580	am22	巴西 Brazil	702	HQ378157	NIVS - 1	塞尔维亚 Serbia	705
EF619971	MN - NL4	美国 USA	702	JQ034426	/	墨西哥 Mexico	476
KJ136262	M1	白俄罗斯 Belarus	702	KJ534663	HBHD - L6	河北 Hebei	494

2 结果与分析

2.1 PCR 检测结果 PCV2 总阳性率为 25. 9% (22/85), 其中西昌市 1[#] - 5[#] 猪场和喜德县 1[#] - 2[#] 猪

场的阳性率分别为 0% (0/5)、80% (8/10)、11. 1% (1/9)、44% (11/25)、0% (0/3)、4. 5% (1/22) 和 9. 1% (1/11)。阳性猪场占 71. 4% (5/7), 其中粪便、

病变组织阳性率分别为29.8% (17/57)和 17.9% (5/28),西昌市、喜德县发病猪群的阳性率分别为 38.5% (20/52)和 6.1% (2/33)。

2.2 ORF2 基因部分序列的分析 将 22 个阳性样品的测序序列对齐剪切多余序列后,长度均为 459 bp,不存在插入/缺失,核苷酸同源性为 92.8% ~ 100%,其中 XCKX1 与 XCKX2、XCKX3、XCKX4、XCKX10 序列相同,XCKX7 与 XCKX9 序列相同,

XCXR4 与 XCXR6、XCXR16、XCXR17、XCXR18、XCXR19 序列相同。因此,本研究共获得 12 个不同的测序序列,与 GenBank 下载的 PCV2 参考毒株核苷酸序列同源性为 86.7% ~99.8% (图1)。

本研究获得的 ORF2 氨基酸序列同源性为 93.5% ~ 100%,有 11 个氨基酸发生了变异,与 GenBank 下载的 PCV2 ORF2 的氨基酸序列同源性为 85.1% ~99.4% (图2)。

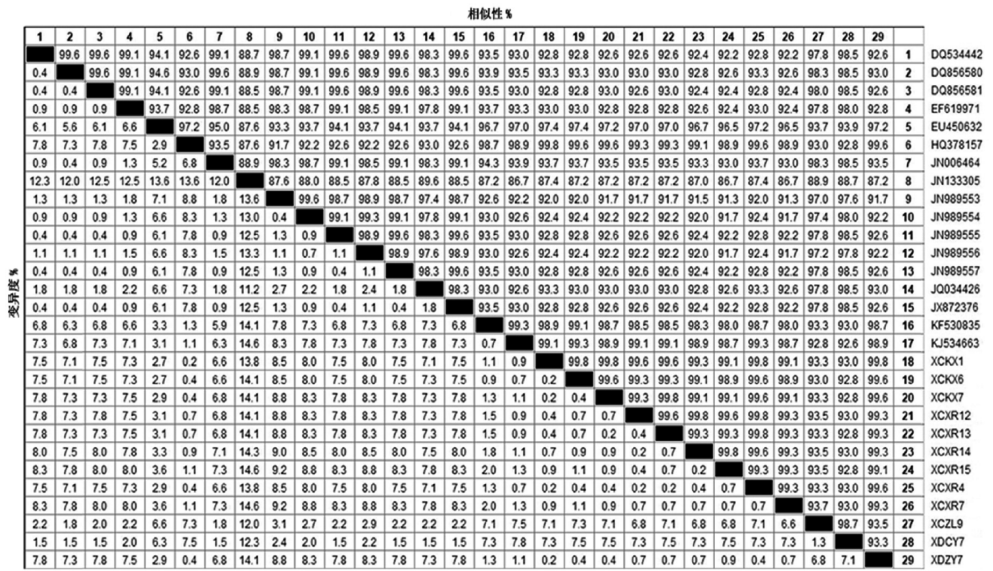


图1 ORF2 基因部分序列核苷酸同源性比较

Fig 1 Homologies comparison of partial nucleotide sequences of ORF2 gene

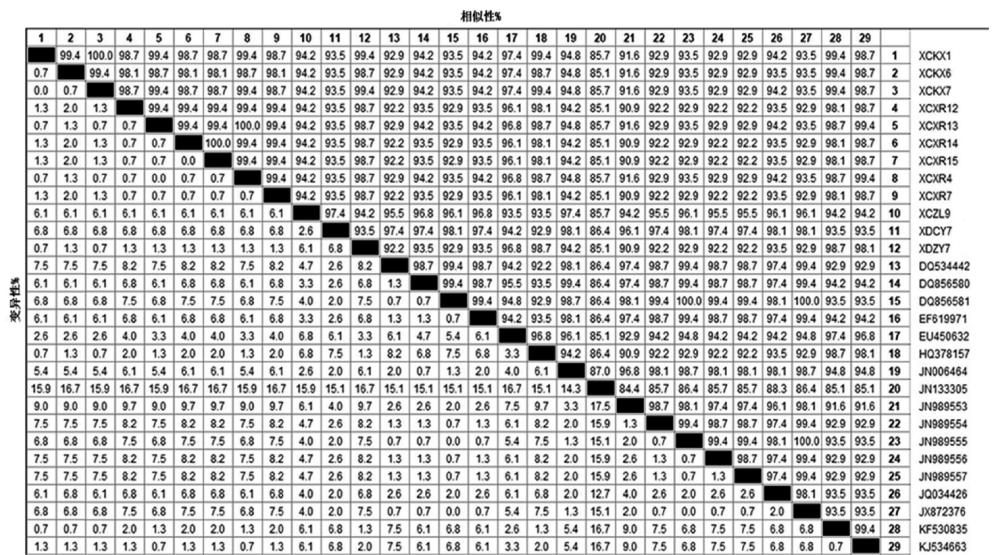


图2 ORF2 基因部分序列氨基酸同源性比较

Fig 2 Homologies comparison of partial amino sequences of ORF2 gene

2.3 基于 ORF2 基因部分序列构建的系统进化树

基于 ORF2 基因部分序列 (459 bp) 构建的 NJ 树 (图 3) 显示, 46 个 PCV2 ORF2 基因部分序列分成三大支, 未形成明显的地理分支。其中 Slovak 株 (斯洛伐克, JN133305) 单独为一支, 与其他 PCV2 分离株亲缘关系远; 在 22 个测序序列中, XDCY7 和 XCZL9 单独聚为一支, 与墨西哥参考毒株

(JQ034426) 亲缘关系最近, 与国内云南分离株、贵州分离株、山东分离株亲缘关系较近; 其余的 20 个序列均聚在另一支上, 与 NIVS-1 株 (塞尔维亚, HQ378157, PCV2d 亚型) 亲缘关系最近, 与国内的四川分离株、福建分离株、河北分离株等亲缘关系较近。根据遗传进化树, 将 XDCY7 和 XCZL9 推导为 PCV2b 亚型, 其余 20 个样品推导为 PCV2d 亚型。

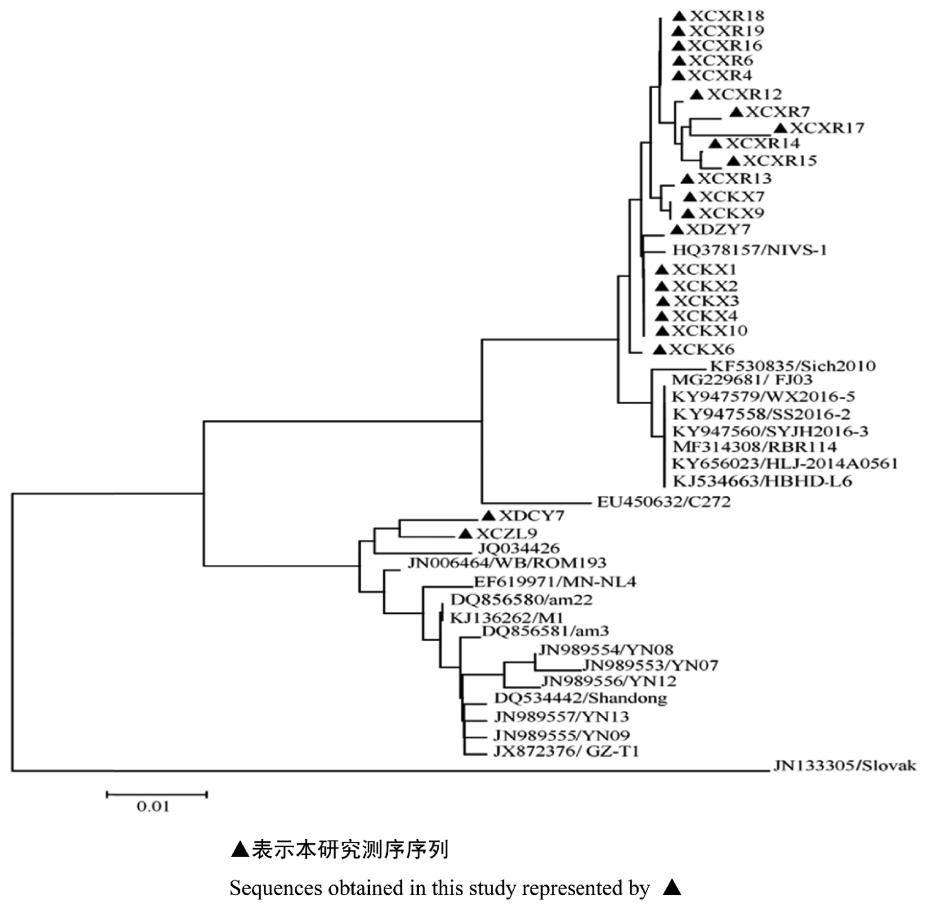


图3 基于 PCV2 ORF2 基因片段核酸序列的系统发育分析

Fig 3 Phylogenetic analysis based on the partial ORF2 gene nucleotide sequence of PCV2

3 讨论与结论

由于 PCV2 单独感染导致猪只大批死亡现象较少见, 因此很多养猪场对猪圆环病毒病不够重视。PCV2 对养猪业的危害呈逐年上升趋势, 猪圆环病毒病已成为目前危害猪场健康发展的重要疫病之一, 曾被我国农业部规定为二类动物疫病。

已有许多学者开展了 PCV2 分子流行病学调查, 且国内不同地方 PCV2 感染的分子检测率有差

异。吴瑗等^[10]报道江苏省金华地区 PCV2 感染阳性检出率为 59.8% (61/102); 刘涛等^[11]报道河南省信阳地区 220 份病料 (其中 50 份为血清) 的阳性检出率为 36.8% (81/220); 李海超等^[12]报道山东、广西等 8 省送检的病料平均阳性检出率为 71.4% (162/227), 其中安徽最高 (100%, 11/11), 山东最低 (50%, 8/16); 邓静等^[13]报道四川省 11 市的平均阳性检出率为 70.7%, 其中乐山市为 100%; 张

智明等^[14]报道黑龙江多个地区平均阳性检出率为 78.46%;赵军等^[15]报道四川省 13 市平均阳性检出率为 71.55%,其中攀枝花市阳性率最高(88.89%);焦文强等^[16]报道河南及周边地区平均阳性检出率为 43.7%(69/158);翟宝库等^[17]报道大庆市 5 区 4 县 5 家病猪场和 6 家屠宰场 448 套组织样本平均阳性检出率为 22.32%(100/448);王利丽等^[18]报道天津、河北和北京 10 个地区平均阳性检出率为 32.5%(117/360),其中天津市、河北省和北京市通州区分别为 25.0%~37.1%、28.0%~38.1%和 26.3%;何长生等^[19]报道安徽省 8 个县(区)17 个健康猪群 439 份生猪扁桃体样品平均阳性检出率为 23.0%(101/439)。

凉山彝族自治州地处四川省西部,养殖条件较为落后,规模化猪场较少。本次调查结果表明,凉山州西昌市和喜德县 PCV2 感染的平均阳性检出率为 25.9%,且西昌市猪群的阳性率高于喜德县,但均稍低于四川省其他地区的检出率。周厚继等^[8]报道盐源县平均阳性检出率为 78.52%(106/135);王刚等^[20]报道乐山市定点屠宰生猪脾脏样品阳性检出率为 68.1%(109/160);李海全等^[21]报道四川省 7 个市县 14 个猪场的平均阳性检出率为 49.2%(89/181),且 14 个猪场均检出了阳性。本次调查的阳性猪场占 71.4%(5/7),说明西昌市和喜德县猪群 PCV2 感染已比较普遍,应引起兽医主管部门、技术人员和养殖户的重视,加强对该病的防控工作,在凉山州对猪群采取有效的综合防控措施。PCV2 感染防控工作包括:(1)制定科学的免疫程序。建议怀孕母猪在怀孕第 10 周和 12 周各免疫 1 次;后备母猪和青年公猪配种前免疫 1 次,间隔 2 周后再免疫 1 次;仔猪在 5 周龄和 7 周龄各免疫 1 次,如果母猪未免疫,则提前至 2 周龄和 4 周龄免疫^[22]。由于本研究检测时仅选择了 ORF2 基因部分序列进行扩增,因此不能准确地推导出凉山州 PCV2 流行的基因型,但根据遗传进化树,推导有 PCV2b 和 PCV2d 两种亚型,且以 PCV2d 亚型为主。(2)加强日常饲养管理和卫生消毒工作,减少应激因素。如:严格引种检疫,实行全进全出制

度;严禁不同大小、批次猪只混养;保证初生仔猪吮吮初乳,提高仔猪抗病力;注意通风和保温,禁止饲喂霉变饲料;定期灭鼠、灭蚊,无害化处理污物;保持圈舍清洁卫生,建立消毒制度等。(3)定期开展 PCV2 检测工作,及时淘汰隐性感染猪只。建议每季度开展 1 次 PCV2 血清抗体检测,每半年进行 1 次 PCV2 病原检查,及时挑出和淘汰隐性感染猪只。(4)合理选用一些既有免疫增强功能,又有抗病毒、细菌等的中草药制剂或其他药物,以提高猪群抵抗力,防止猪群继发感染。

参考文献:

- [1] 陈溥言. 兽医传染病学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2015: 231-234.
Chen P Y. Veterinary Epidemiology [M]. 5th. Beijing: China Agriculture Press, 2015: 231-234.
- [2] Grau - Roma L, Fraile L, Segalés J. Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2 [J]. Vet J, 2011, 187(1): 23-32.
- [3] Tribble B R, Rowland R R R. Genetic variation of porcine circovirus type 2 (PCV-2) and its relevance to vaccination, pathogenesis and diagnosis [J]. Virus Res, 2012, 164(1/2): 68-77.
- [4] Chae C. Porcine circovirus type 2 and its associated disease in Korea [J]. Virus Res, 2012, 164(1/2): 107-113.
- [5] Ge X N, Wang F, Guo X, *et al*. Porcine circovirus type 2 and its associated disease in China [J]. Virus Res, 2012, 164(1/2): 100-106.
- [6] 陈禹, 杜谦, 霍瑞超, 等. 猪圆环病毒 2 型 ORF1、ORF2 和 ORF3 原核表达和多克隆抗体的制备 [J]. 中国兽医学报, 2015, 35(5): 686-691.
Chen Y, Du Q, Huo R C, *et al*. Prokaryotic expression and polyclonal antibodies preparation of ORF1, ORF2 and ORF3 of porcine circovirus type 2 [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2015, 35(5): 686-691.
- [7] 曾显成, 陈景杰, 林群群, 等. 猪圆环病毒 2 型福建分离株 ORF2 基因遗传变异分析 [J]. 中国兽医学报, 2015, 35(8): 1248-1253.
Zeng X C, Chen J J, Lin Q Q, *et al*. Genetic variation of ORF2 of porcine circovirus type 2 strains isolated from Fujian province [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2015, 35(8): 1248-1253.
- [8] 周厚继, 郑敏, 吴良涛, 等. 盐源县养猪场猪圆环病毒感染

- 情况调查与分析 [J]. 中国兽药杂志, 2017, 51(5): 12-15.
- Zhou H J, Zheng M, Wu L T, *et al.* Investigation and analysis of porcine circovirus infection in pig farms of Yanyuan county [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2017, 51(5): 12-15.
- [9] 索朗扎西, 许思遥, 杨凡, 等. 一例藏香猪混合感染猪流行性腹泻病毒与圆环病毒 2 型的报告 [J]. 养猪, 2016(5): 103-104.
- Suo L Z X, Xu S Y, Yang F, *et al.* A case of porcine epidemic diarrhea virus and circovirus type 2 infection in Tibetan fragrant pig [J]. Swine Production, 2016, (5): 103-104.
- [10] 吴瑗, 范红结, 李君荣, 等. 金华地区猪圆环病毒病原流行病学调查 [J]. 家畜生态学报, 2010, 31(6): 79-82.
- Wu A, Fang H J, Li J R, *et al.* Epidemiological investigation of porcine circovirus disease in Jinhua area [J]. Journal of Domestic Animal Ecology, 2010, 31(6): 79-82.
- [11] 刘涛, 王瑞, 曲哲会, 等. 信阳地区猪圆环病毒病流行病学调查 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013(3): 101-102.
- Liu T, Wang R, Qu Z H, *et al.* Epidemiological investigation of porcine circovirus disease in Xinyang area [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2013(3): 101-102.
- [12] 李海超, 王娟, 李一经, 等. 八省份猪圆环病毒 2 型与猪细小病毒混合感染的调查 [J]. 中国兽医科技, 2013, 43(12): 1313-1319.
- Li H C, Wang J, Li Y J, *et al.* Investigation on mixed infection of porcine circovirus type 2 and porcine circovirus in eight provinces [J]. Chinese Veterinary Science and Technology, 2013, 43(12): 1313-1319.
- [13] 邓静, 赵春荣, 曹三杰, 等. 2010~2013 年四川地区猪圆环病毒 2 型的分子流行病学调查 [J]. 中国兽医学报, 2014, 34(12): 1868-1876.
- Deng J, Zhao C R, Cao S J, *et al.* Molecular epidemiological investigate of porcine circovirus type 2 between 2010 and 2013 in some regions of Sichuan [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2014, 34(12): 1868-1876.
- [14] 张智明, 王全杰, 窦海燕, 等. 2012 年~2014 年黑龙江省部分地区猪圆环病毒 2 型分子流行病学调查 [J]. 动物医学进展, 2015, 36(10): 119-123.
- Zhang Z M, Wang Q J, Dou H Y, *et al.* Molecular epidemiological investigation of porcine circovirus type 2 between 2012 and 2014 in some regions of Heilongjiang [J]. Advances in Animal Medicine, 2015, 36(10): 119-123.
- [15] 赵军, 周桐枫, 刘鹏娟, 等. 四川地区腹泻仔猪群猪圆环病毒 II 型分子流行病学调查 [J]. 中国预防兽医学报, 2016, 38(7): 546-549.
- Zhao J, Zhou T F, Liu P J, *et al.* Molecular epidemiology of porcine circovirus type 2 in diarrhea piglets in Sichuan region [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2016, 38(7): 546-549.
- [16] 焦文强, 王治芳, 王克领, 等. 河南省及周边地区猪圆环病毒 2 型分子流行病学调查 [J]. 河南农业科学, 2017, 46(5): 125-129.
- Jiao W Q, Wang Z F, Wang K L, *et al.* Molecular epidemiological investigation of porcine circovirus type 2 in Henan and nearby provinces [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2017, 46(5): 125-129.
- [17] 翟宝库, 谭海东, 张冠群. 大庆市及周边地区非免疫猪群猪圆环病毒感染情况调查 [J]. 动物医学进展, 2017, 38(1): 119-124.
- Zhai B K, Tan H D, Zhang G Q. Study on PCV infection situation of non immune pigs in Daqing city and surrounding areas [J]. Advances in Animal Medicine, 2017, 38(1): 119-124.
- [18] 王利丽, 路超, 任卫科, 等. 天津及周边地区猪圆环病毒 2 型流行情况调查及分离鉴定 [J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(4): 1027-1034.
- Wang L L, Lu C, Ren W K, *et al.* Epidemic investigation, isolation and identification of PCV2 in Tianjin and its surrounding area [J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2018, 45(4): 1027-1034.
- [19] 何长生, 朱良强, 王倩, 等. 安徽省部分地区猪圆环病毒 2 型感染情况调查 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(11): 69-71.
- He C S, Zhu L Q, Wang Q, *et al.* Investigation on the infection of porcine circovirus type 2 in parts of Anhui province [J]. Anhui Agriculture Science, 2018, 46(11): 69-71.
- [20] 王刚, 廖娟, 喻世刚, 等. 乐山市定点屠宰生猪圆环病毒 2 型感染情况调查 [J]. 四川畜牧兽医, 2017(12): 30-31.
- Wang G, Liao J, Yu S G, *et al.* Investigation on infection of circovirus type 2 in pigs slaughtered at designated slaughter sites in Leshan city [J]. Sichuan Animal and Veterinary Sciences, 2017(12): 30-31.
- [21] 李海全, 万青山, 王雪, 等. 四川省部分地区猪圆环病毒 2 型流行病学调查 [J]. 养猪, 2018(2): 121-123.
- Li H Q, Wan Q S, Wang X, *et al.* Epidemiological investigation of porcine circovirus type 2 in some areas of Sichuan province [J]. Swine Production, 2018(2): 121-123.
- [22] 陈全中. 规模猪场猪圆环病毒病的诊断与临床控制 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2013(1): 43-45.
- Chen Q Z. The diagnosis and clinical control of porcine circovirus disease in scale pig farms [J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2013(1): 43-45.