

王怡, 李梅荣, 李树博, 等. 2021—2022年南京市野猪中8种病毒感染情况及PCV2全基因组遗传进化分析[J]. 畜牧与兽医, 2024, 56(1): 107–114.

WANG Y, LI M R, LI S B, et al. Infectious status of eight viruses and genetic analysis of PCV2 whole genome in wild boars during 2021–2022 in Nanjing [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56(1): 107–114.

## 2021—2022年南京市野猪中8种病毒感染情况及PCV2全基因组遗传进化分析

王怡<sup>1</sup>, 李梅荣<sup>2\*</sup>, 李树博<sup>3</sup>, 冯春燕<sup>4</sup>, 杜季梅<sup>5</sup>, 邓长林<sup>2</sup>, 程王琨<sup>2</sup>, 姜平<sup>1</sup>, 杨振<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学动物医学院/农业农村部动物细菌学重点实验室/“一带一路”国际重大跨境动物疫病诊断与免疫专业科技创新院, 江苏 南京 210095;

2. 南京市红山森林动物园, 江苏 南京 210028; 3. 辽宁省农业发展中心, 辽宁 沈阳 110001;

4. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123; 5. 河南农业大学动物医学院, 河南 郑州 450046)

**摘要:** 野猪是多种重要动物疫病的天然宿主, 为了解2021—2022年期间南京市野猪疫病感染情况、基因型及遗传变异特征, 为野猪疫病的防控提供科学依据, 在江苏省南京市共采集30头野猪的76份样品, 其中30份全血样品、30份血清样品、6份粪便样品和10份组织样品(心脏、肝脏、脾脏、肺脏和肾脏组织的混合样品)用于开展猪瘟病毒(CSFV)、非洲猪瘟病毒(ASFV)、猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)、伪狂犬病病毒(PRV)、口蹄疫病毒(FMDV)、猪流行性腹泻病毒(PEDV)、猪圆环病毒2型(PCV2)和猪圆环病毒3型(PCV3)的病毒核酸及抗体检测。不同样品PCR检测结果显示, 30头野猪中有12头PCV3阳性, 阳性率为40%; PCV2阳性率为6.7%; 其余病原核酸检测均为阴性。在PCV2检测阳性的野猪样品中成功获得2条PCV2全基因组序列, 且均属于PCV2d基因亚型。血清抗体检测结果显示, 野猪PCV3、PCV2、PRV gB、PRRSV、PEDV和FMDV A型抗体阳性率分别为53%、30%、30%、3.3%、3.3%和6.7%; 所有野猪CSFV、ASFV、PRV gE抗体和FMDV O型抗体检测均为阴性。本研究揭示了南京市野猪携带或感染过多种重要病毒, 需持续对野猪进行疫病监测, 并研究野猪与家猪间的疾病传播规律。

**关键词:** 野猪; 病毒; 监测; 抗体; 南京

**中图分类号:** S852.65 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)01-0107-08

### Infectious status of eight viruses and genetic analysis of PCV2 whole genome in wild boars during 2021–2022 in Nanjing

WANG Yi<sup>1</sup>, LI Meirong<sup>2\*</sup>, LI Shubo<sup>3</sup>, FENG Chunyan<sup>4</sup>, DU Jimei<sup>5</sup>, DENG Changlin<sup>2</sup>,  
CHENG Wangkun<sup>2</sup>, JIANG Ping<sup>1</sup>, YANG Zhen<sup>1\*</sup>

(1. College of Veterinary Medicine/Key Laboratory of Animal Bacteriology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Professional Sci-Tech Innovation Institute of the Belt and Road International Transboundary Animal Disease Diagnosis and Immunization, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Nanjing Hongshan Forest Zoo, Nanjing 210028, China;

3. Agricultural Development Center of Liaoning Province, Shenyang 110001, China;

4. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China;

5. College of Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract:** Wild boars are natural hosts for many important animal diseases. To conduct a comprehensive investigation into the prevalence, genotype, and genetic variability of wild boar diseases in Nanjing and to provide a scientific basis for effective prevention and control of these

收稿日期: 2023-04-16; 修回日期: 2023-11-08

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(BK20210401); 重大外来病动物疫病阻断与防控技术研发项目(2022YFD1800500); 辽宁省兴辽英才计划青年拔尖人才项目(XLYC2007098)

第一作者: 王怡, 女, 硕士, 助理兽医师

\*通信作者: 杨振, 副教授, 主要从事跨境动物传染病和家畜群体医学方面的研究, E-mail: yangzhen@njau.edu.cn; 李梅荣, 高级兽医师, 主要从事野生动物疫病方面的研究, E-mail: mr1971@126.com。

diseases in wild boar populations, 76 samples, including 30 blood, 30 serum, 6 feces and 10 tissue samples (a mixture of heart, liver, spleen, lung and kidney), from 30 wild boars in Nanjing, Jiangsu Province were collected from March 2021 to June 2022 for molecular and serological surveillance of classical swine fever virus (CSFV), African swine fever virus (ASFV), porcine respiratory and reproductive disorder syndrome virus (PRRSV), pseudorabies virus (PRV), foot-and-mouth disease virus (FMDV), porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), porcine circovirus type 2 (PCV2) and porcine circovirus type 3 (PCV3). The PCR results showed that PCV3 nucleic acid was detected in 12 wild boars with a positive rate of 34%, PCV2 nucleic acid was detected in 3 wild boars with a positive rate of 6.7%, and all the wild boars were negative for the remaining viruses. Two whole genome sequences were obtained from the PCV2-positive samples, and both sequences belong to the PCV2d genotype. The serological tests showed that the positive rates of PCV3 antibody, PCV2 antibody, PRV gB antibody, FMDV type A antibody, PRRSV antibody and PEDV antibody were 53%, 30%, 30%, 6.7%, 3.3% and 3.3%, respectively. All the wild boars showed negative for PRV gE, FMDV type O, CSFV and ASFV antibodies. This study revealed that the wild boar population in Nanjing carried or had been exposed to various important swine viral pathogens. In the future, continuous surveillance of wild boar diseases and research on the transmission patterns between wild boars and domestic pigs are required.

**Keywords:** wild boar; virus; surveillance; antibody; Nanjing

野猪 (*Sus scrofa*) 是全球分布最广的哺乳动物物种之一, 早在 2000 年就被我国列为国家保护的有益的或者有重要经济、科学研究价值的野生动物<sup>[1]</sup>。野猪与家猪具有密切的亲缘关系, 并有可能成为多种重要疾病的潜在宿主<sup>[2]</sup>。有许多重要动物病毒在野猪中流行, 包括猪瘟病毒 (CSFV)、伪狂犬病病毒 (PRV)、非洲猪瘟病毒 (ASFV)、口蹄疫病毒 (FMDV)、猪圆环病毒 (PCV)、猪繁殖和呼吸综合征病毒 (PRRSV) 和猪细小病毒 (PPV) 等<sup>[3-5]</sup>。野猪作为天然宿主可以直接或间接传播 ASFV, 是许多国家和地区引入和暴发 ASFV 的重要因素<sup>[6]</sup>。为控制及阻断疫情传播, 许多国家都针对野猪制定了病原监测和种群管理计划, 包括安装围栏限制野猪移动以防止病毒的空间传播, 实施诱捕和狩猎等措施降低野猪密度等<sup>[7-8]</sup>, 但到目前为止, 只有 2 个国家 (比利时和捷克) 通过主动和被动监测重新获得无 ASFV 感染状态<sup>[9]</sup>。

近年来, 随着养猪生产方式的转变和种群规模的扩大, 我国出现了多种新发和再发传染病, 其中非洲猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪流行性腹泻、伪狂犬病等给养猪业发展带来巨大挑战。多项研究表明, 中国野猪群体中存在多种猪源性疾病的流行。2011 年, 任杰涛等<sup>[10]</sup> 对中俄边境 24 头野猪的血清样品检测发现, CSFV 抗体和 PPV 抗体呈阳性; 在江西省狩猎所得的野猪样本中利用实时荧光定量 PCR 方法同时检测到了 PCV1/2/3/4 的核酸, 表明野猪可感染多种 PCVs<sup>[11-12]</sup>; 2018 年我国首次报道了野猪非洲猪瘟疫情, 2020 年在湖北省神农架林区的 7 头非正常死亡野猪中检测到 ASFV<sup>[13-14]</sup>。近年来, 由于我国野生动物保护工作不断加强, 野猪的生存环境得到极大改善, 加之其繁殖力强、成活率高, 野猪群体数量逐年上升, 局部地区存在野猪泛滥的情况<sup>[15]</sup>。因此加强对野猪的疾病监测可以提供重要的流行病学信息和疫

病预警, 以便更好地制定防控措施, 切断野猪和家猪间的疾病传播。然而, 由于采集野猪样品需要多单位、多部门协作, 因此开展野猪疾病监测研究难度大。南京红山森林动物园野生动物收容救护中心是江苏省和南京市两级野生动物收容救护中心, 负责全市乃至全省的野生动物收容救护工作。当接到有野猪迷途、受困等情况时, 救助中心工作人员将联合警方对野猪进行救助。本研究与南京红山森林动物园野生动物收容救护中心、国内动物疫病防控和检验检疫机构等多家单位合作, 开展了南京市野猪疾病监测和流行病学调查, 旨在研究南京市捕获野猪中 ASFV、CSFV、PRRSV、PRV、PEDV、FMDV、PCV2 和 PCV3 的感染状态和病原分子遗传特征, 扩充我国野猪疫病监测数据, 为制定野猪疫病防控策略提供科学支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

QIAamp DNA Mini Kit 核酸提取试剂盒购自 QIAGEN 公司; 病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒购自西安天隆有限公司; CSFV 抗体、PEDV IgA 抗体和 PRV gE 抗体 ELISA 检测试剂盒购自 IDEXX 公司; PRV gB 抗体 ELISA 检测试剂盒购自 BioChek 公司; PRRSV 抗体和 FMDV O 型抗体 ELISA 检测试剂盒购自 MEDIAN 公司; FMDV A 型抗体和 PCV2 抗体 ELISA 检测试剂盒购自北京金诺公司; ASFV 抗体 ELISA 检测试剂盒购自 INGENASA 公司; PCV3 抗体 ELISA 检测试剂盒购自内蒙古金迈诗生物科技有限公司; 2×Probe qPCR Mix 和 2×SYBR qPCR Mix 购自宝生物工程 (大连) 有限公司; 2×Taq Master Mix 和 2×Vazyme Lamp Master Mix 购自南京诺唯赞生物科技有限公司; 2×Phire animal tissue PCR buffer 和 Phire hot start II DNA polymerase 购自 ThermoFisher 公司。

### 1.2 样品来源

所有样品均采集于2021年3月至2022年6月期间在南京市红山森林动物园野生动物收容救护中心救助的南京地区野猪，共采集30头野猪的76份样品，其中30份全血样品、30份血清样品、6份粪便样品和10份组织样品（心脏、肝脏、脾脏、肺脏和肾脏组织的混合样品）。每只采样的野猪都记录其性别和救助日期等信息。

### 1.3 样品处理及保存

全血样品经3 000 r/min离心15 min后分离血清放入-80 ℃冰箱保存备用；取野猪的组织混合样品或粪便样品放入2 mL离心管内，加入2颗研磨珠，最后加入PBS缓冲液（0.1 mol/L，pH=7.0）10倍稀释，将离心管置于自动研磨仪中以60 Hz研磨3次，每次研磨90 s，然后将组织匀浆冻融3次后在4 ℃下

以12 000 r/min离心10 min，取上清液置于-80 ℃保存备用。

### 1.4 核酸提取

利用普通PCR方法进行抗原检测的样品DNA使用QIAamp DNA Mini Kit核酸提取试剂盒提取；基于荧光定量PCR（qPCR）方法进行抗原检测的样品核酸利用病毒基因组DNA/RNA提取试剂盒在全自动核酸提取仪上提取，并置-20 ℃保存。

### 1.5 引物设计

引物和探针信息如表1所示。在PCV2的检测中，引物通过Primer Premier软件设计，目标是检测GenBank上发表的PCV2序列ORF2基因的保守区域。所有引物和探针均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

表1 引物和探针信息

引物/探针	引物序列 (5'→3')	参考标准	片段大小/bp
PCV2-F	CATGCCCTGAATTTCCATAT	—	786
PCV2-R	CGTTTTCAGCGATGACGTATCCAAGGA		
PCV3-F	AAAGCCCGAAACACAGGTGGTGT	参考文献 [16]	510
PCV3-R	TTTTCCCGCATCCTGGAGGACCAAT		
CSFV-F	TACAGGACAGTCGTCAGTAGTTCGA	GB/T 2754—2011	96
CSFV-R	CCGCTAGGGTTAAGGTGTGTCT		
CSFV-Q	FAM-CCCACCTCGAGATGCTATGTGGACGA-TAMRA		
PRRSV-F (欧洲型)	GCACCACCTCACCCRRAC	WOAH 3.9.6	77
PRRSV-R (欧洲型)	CAGTTCCTGCRCCYTGAT		
PRRSV-F (美洲型)	TTGCTAGGCCGCAAGTAC	GB/T 35912—2018	105
PRRSV-R (美洲型)	ACGCCGACGACAAATGC		
PRRSV-Q (美洲型)	FAM-CTGGCCCCTGCCCACCAC-BHQ1		
PRV-F	GCTGTACTGTCTCGTGAT	GB/T 35911—2018	101
PRV-R	TCAGTCTCTGATGACCGTGA		
PRV-Q	HEX-CACAACGGCCACGTCGCCACCTG-BHQ1		
ASFV-F	GCTTTCAGGATAGAGATACAGCTCT	GB/T 18648—2020	181
ASFV-R	CCGTAGTGGAAGGTATGTAAGAG		
ASFV-Q	FAM-CCGTAACTGCTCATGGTATCAATCTTATCG-BHQ1		
PEDV-F	AAGCCTAACACTCCTTAG	SN/T 1699—2017	147
PEDV-R	GAAGCATTGAATGAACGAC		
PEDV-Q	FAM-TGTACGCCAGTAGCATTATAGCC-BHQ1		
PCV2-over-F	TTTCCGCGGGCTGGCTGAACTTTGAAGT	参考文献 [17]	1 791
PCV2-over-R	AGCCCGCGGAAATTTCTGACAAACGTTACA		

### 1.6 核酸检测

利用普通PCR方法进行PCV2和PCV3检测。其中PCV3检测的反应体系包括：模板DNA 2 μL，10

μmol/L上下游引物各1.2 μL，2×Phire animal tissue PCR buffer 10 μL，Phire hot start II DNA polymerase 0.4 μL，最后ddH<sub>2</sub>O补齐至20 μL。扩增程序为：

98 ℃ 5 min; 98 ℃ 5 s, 68 ℃ 7 s, 72 ℃ 15 s, 45 次循环; 72 ℃ 1 min。PCV2 检测的扩增体系总体积为 25 μL, 包括: 1 μL 模板 DNA, 10 μmol/L 上下游引物各 1 μL, 12.5 μL 2×Taq Master Mix 和 9.5 μL ddH<sub>2</sub>O。反应条件: 95 ℃ 3 min; 95 ℃ 15 s, 47 ℃ 15 s, 72 ℃ 1 min, 35 次循环; 72 ℃ 5 min。

利用基于 TaqMan 探针的 qPCR 方法对 CSFV、ASFV、PRV、PRRSV (美洲株) 和 PEDV 进行核酸检测。采用 20 μL 反应体系: 10 μL 2×Probe PCR Mix, 上下游引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL, DNA 或 cDNA 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 补齐。反应条件: 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 变性 10 s, 58 ℃ 退火, 延伸 20 s, 45 个循环。

利用 SYBR Green qPCR 方法对欧洲株 PRRSV 进行核酸检测, 采用 20 μL 反应体系: 10 μL 2×SYBR qPCR Mix, 上下游引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL, cDNA 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 补齐。反应条件: 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 变性 10 s, 58 ℃ 退火, 延伸 20 s, 45 个循环。

### 1.7 抗体检测

使用各病原对应的 ELISA 商品化检测试剂盒进行病原抗体检测, 按照试剂盒说明书完成操作步骤和结果判定。

### 1.8 全基因组序列扩增

对 PCR 鉴定结果为阳性的病料进行 PCV2 全基因的扩增, PCR 反应体系为 50 μL, 包括: 1 μL 模板 DNA, 10 μmol/L 上下游引物各 2 μL, 25 μL 的 2×Vazyme Lamp Master Mix 和 20 μL 的 ddH<sub>2</sub>O。反应条件: 98 ℃ 5 min; 98 ℃ 30 s, 56 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 35 个循环; 72 ℃ 7 min。利用琼脂糖凝胶回收法纯化阳性 PCR 产物, 并送至通用生物有限公司进行测序。

### 1.9 遗传进化分析

将获得的 PCV2 全基因组核苷酸序列与从 NCBI 的 GenBank 数据库中下载的国内外家猪和野猪的参考序列, 使用 Megalign 软件的 Clustal W 算法进行多序列比较, 再在 MEGA X 软件中采用邻接法 (Neighbor-Joining) 构建系统发育树, 设置布展值 (Bootstrap values) 检验为 1 000 次重复。

## 2 结果

### 2.1 核酸检测情况

对 30 份血清样品进行了 7 种病原的核酸检测, 其中根据国家动物疫病监测与流行病学调查计划要求, FMDV 需在国家参考实验室进行检测, 所以本试验未进行 FMDV 的核酸检测。30 份全血样品、6 份

粪便样品和 10 份组织样品只通过传统 PCR 方法进行了 PCV2 和 PCV3 核酸检测。

检测结果如表 2 所示, 30 头野猪中 12 头为 PCV3 核酸阳性 (11 头全血鉴定阳性, 1 头组织鉴定阳性), 阳性率为 40%。76 份样品中全血样品检出率为 36.7% (11/30), 血清样品检出率为 6.7% (2/30), 粪便样品检出率为 16.7% (1/6), 组织样品检出率为 10% (1/10)。2 头为 PCV2 核酸阳性, 其中 1 头全血鉴定阳性, 1 头组织鉴定阳性, 阳性率为 6.7%, 血清、粪便和组织样品均未检测到 PCV2 阳性。另外, 血清样品 ASFV、CSFV、PRRSV、PRV 和 PEDV 的 qPCR 检测结果均为阴性。

表 2 30 头野猪的潜在携带病原核酸检测结果

编号	CSFV	PRRSV (欧洲型)	PRRSV (美洲型)	PRV	ASFV	PEDV	PCV3	PCV2
1	-	-	-	-	-	-	+	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	+	-
4	-	-	-	-	-	-	-	+
5	-	-	-	-	-	-	+	-
6	-	-	-	-	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	+	-
8	-	-	-	-	-	-	+	-
9	-	-	-	-	-	-	+	-
10	-	-	-	-	-	-	+	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	+	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	+	-
18	-	-	-	-	-	-	+	-
19	-	-	-	-	-	-	+	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-

注: +表示结果为阳性, -表示结果为阴性, 下同。

### 2.2 血清样品抗体检测

对30头野猪的血清样品进行了8种病原的抗体检测,结果显示其中16头野猪为PCV3抗体阳性,阳性率为53.3%;9头野猪为PCV2抗体阳性,阳性率为30%;9头野猪为PRV gB抗体阳性,阳性率为30%;2头野猪为FMDV A型抗体阳性,阳性率为6.7%。此外,各有1头野猪为PRRSV抗体阳性和PEDV抗体阳性,阳性率均为3.3%。所有野猪CSFV和ASFV抗体均为阴性。具体数据详见表3。

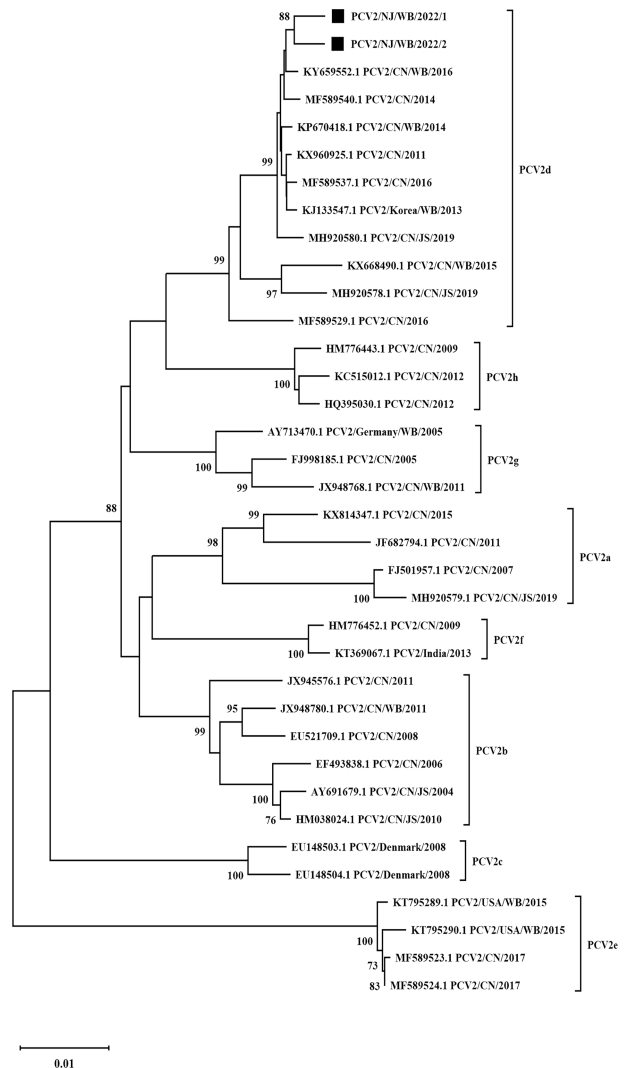
表3 30头野猪的抗体检测结果

编号	CSFV	PRRSV	PRV-gE	PRV-gB	FMDV-0	FMDV-A	ASFV	PEDV	PCV3	PCV2
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
9	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
11	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
12	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
13	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
14	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
17	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
18	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
20	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
21	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
22	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
25	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

在同一头野猪中同时检测到2种病毒核酸。抗体检测结果显示,30头野猪中有20头至少有1种病原抗体检测阳性,其中有6头野猪表现为单一病原抗体阳性;有6头野猪8种病原的核酸和抗体检测均为阴性。

### 2.4 PCV2全基因组遗传进化分析

共获得2条PCV2全基因组序列:PCV2/NJ/WB/2022/1和PCV2/NJ/WB/2022/2,均由1767个核苷酸组成,序列分别来自野猪的全血样本和组织样本;通过多序列比对发现,获得序列的核苷酸相似性为99.3%,与参考序列的核苷酸同源性在91.30%~99.4%之间。构建的遗传进化树如图1所示,已知目前PCV2毒株分为8个基因亚型(PCV2a~PCV2h)<sup>[18]</sup>,本研究获得序列的毒株均属于2d基因亚型。



注:■为本研究获得的序列。

图1 PCV2全基因组序列遗传进化树

### 2.3 混合感染情况

在野猪中仅检测到PCV2和PCV3的核酸,但未

### 3 讨论

本研究采集了南京地区 30 头野猪的样品进行了 8 种重要猪病病毒的核酸和抗体监测, 检测到 PCV2 和 PCV3 的核酸, 其中 PCV3 核酸检出率最高, 为 40%。PCV3 在不同国家野猪中的阳性率存在差异, 在德国、意大利和巴西等欧洲国家野猪中的阳性率在 29%~71% 之间, 而在韩国野猪中的检出率相对较低, 为 5.6%<sup>[19-22]</sup>。PCV3 在国内家猪群体中也存在广泛流行, 刘相聪等<sup>[23]</sup>从华南地区的 177 家规模化猪场采集病料检测 PCV3, 其中样品阳性率为 29.04%, 猪场阳性率为 44.63%; 赵宇等<sup>[24]</sup>在河南 7 个地市的规模化猪场均检测出 PCV3, 阳性率为 30.26%。本研究中的野猪主要捕获于南京市城区, PCV3 核酸检出率为 40%, 与王小泉等<sup>[25]</sup>在江苏省规模化猪场采集组织样品的 PCV3 阳性率 (37.17%) 相近, 但高于 Hu 等<sup>[12]</sup>在江西省狩猎捕获野猪的 PCV3 阳性率 (5.8%)<sup>[12]</sup>。虽然 PCV3 的传播途径尚未完全了解, 但在城市区域活动的野猪可能会接触更多的垃圾 (如厨余垃圾)、环境污染物和家畜农贸市场等, 因此极有可能是这些野猪感染该病毒的原因。此外, 本研究结果表明南京地区野猪中还存在 PCV2 流行, 从野猪 PCV2 阳性样品获得了 2 条 PCV2 全基因组序列。PCV2 毒株分为 2a~2h 共 8 种基因亚型, 自 2013 年后中国主要流行的 PCV2 基因亚型由 2b 转变为 2d<sup>[26]</sup>。本研究在野猪中获得的 PCV2 全基因组序列均属于 2d 亚型, 提示南京市野猪群体流行的 PCV2d 基因亚型与我国家猪中流行的主要基因亚型一致, 进一步证明了 PCV2d 基因型在我国的广泛流行。意大利、葡萄牙、罗马尼亚、乌拉圭、马来西亚、韩国、波兰等多个国家均有报道 PCV2 在野猪中存在, 主要流行亚型为 PCV2a、PCV2d 和 PCV2b。此外, 马来西亚和韩国均发现野猪中存在 PCV2b 到 PCV2d 的基因亚型转变, 与家猪中的变化趋势一致<sup>[27-28]</sup>, 且从野猪中获得的分离毒株序列与家猪具有高度同源性。以上证据均表明野猪与家猪之间可能存在流行病学关联。

由于从活体野猪身上获取血清样本较为困难, 当前有关野猪疾病血清学监测的研究较少。Wang 等<sup>[29]</sup>基于间接 ELISA 方法对国内 60 头野猪进行了 PCV3 抗体检测, 结果显示阳性率为 18.3%; 本研究在 16 头野猪中检测到 PCV3 Cap 蛋白 IgG 抗体, 阳性率为 53.3%, 高于先前的研究, 表明南京地区野猪中的 PCV3 感染暴露较高。此外, 本研究在 9 头野猪中检测到 PCV2 抗体, 其中 1 头野猪的组织样品同时表现为 PCV2 核酸阳性。PCV2 IgG 抗体一般在病原感染

后第 15 天开始检测到<sup>[30]</sup>, 此时机体还处于带毒状态, 因此可以同时检测核酸和抗体。有研究发现, PCV2 感染不会引起野猪相关临床症状和组织病变<sup>[31]</sup>, 但本研究未对野猪的组织样品进行病理检查, 因此还需要进一步的试验评估野猪中 PCV2 感染与致病性的关系。

本次调查还在野猪中检测到 PRV 抗体, 阳性率与 PCV2 相同, 为 30%。PRV 包含 11 种糖蛋白, 其中 gB 蛋白是主要的保护性抗原, 能刺激猪产生中和抗体和病毒特异性细胞免疫应答; gE 蛋白是毒力和病毒传播的重要抗原, gE 基因缺失疫苗在预防 PRV 方面发挥着关键作用。然而自 2011 年底以来, 变异型 PRV 在我国接种疫苗的猪场中广泛流行, 因此可以利用 gE 抗体检测来区分野毒株和疫苗株感染<sup>[32]</sup>。我们在 PRV 血清阳性野猪中检测到的均为 gB 抗体, gE 抗体为阴性, 说明野猪可能曾感染过 PRV gE 基因缺失疫苗株, 提示 PRV 疫苗毒株有从家猪或环境中传播至野猪的风险。野猪感染 PRV 疫苗毒后潜在风险尚不清楚, 如果 PRV 疫苗毒在野猪种群中传播, 可能会对其他野生动物或家畜造成潜在健康风险。因此, 未来 PRV 减毒活疫苗的研发和使用应该考虑该疫苗对野生动物及其生存环境带来的直接或者间接影响。

FMDV 有 A、O、C、Asia1、SAT1、SAT2 和 SAT3 这 7 种血清型, 目前主要在非洲、亚洲国家或地区呈散发或地方性流行, 其中 O、A、C 和 Asia1 型是亚洲地区流行的主要血清型<sup>[33]</sup>。有研究利用从家猪中分离到的毒株对野猪进行试验感染, 结果显示野猪对 FMDV 高度敏感, 排毒量与家猪相似, 可将病毒传播给其他野猪和家猪, 存在疾病传播风险; 此外与家猪相比, 野猪表现出延迟或较弱的临床症状, 并且病变难以识别, 因此早期监测计划对于控制疫情传播尤为重要<sup>[34-35]</sup>。本研究中有 2 头野猪表现为 FMDV 抗体阳性且血清型均为 A 型, 说明该地区野猪中也存在 FMDV 暴露感染。然而, 近年来国内 A 型田间疫情逐年减少, 口蹄疫疫情以 O 型为主<sup>[36]</sup>。根据 2022 年国家动物疫病免疫技术指南可知, 我国连续 3 年未发生 A 型口蹄疫疫情, 但 2021 年在边境地区监测到 A 型的境外分支病毒, 提示境外毒株传入我国的风险依然存在。本次调查在野猪中检测到的均为 A 型抗体, 提示野猪可能感染了 A 型 FMDV 毒株, 野猪可能是我国 A 型 FMDV 的潜在储存宿主, 存在 A 型 FMDV 从野猪到家猪传播风险。

PEDV 引起的猪流行性腹泻是对全球养猪业最具破坏性的疾病之一, 临床症状包括严重的腹泻、脱水和呕吐, 会引起哺乳仔猪高死亡率<sup>[37]</sup>。2016 年, Lee

等<sup>[38]</sup>首次在韩国的野猪粪便样本中检测到 PEDV 核酸,说明 PEDV 可以在野猪中传播。在本研究中,只有 1 头野猪的体内检测出 PEDV 抗体,表明该地区野猪曾感染过 PEDV,但感染率相对较低。猪繁殖与呼吸综合征 (PRRS) 是以妊娠母猪繁殖障碍和呼吸道疾病为特征的重要猪源性疾病。西班牙、德国和日本等国家检测野猪群体的 PRRSV 抗体阳性率和病毒载量较低<sup>[39-41]</sup>;然而,研究表明 PRRSV 阳性野猪倾向于出现在家猪密度较高的地区,尽管这种相关性并没有统计学意义<sup>[40]</sup>;此外,韩国野猪中的 PRRSV 核苷酸序列与家猪序列相似。这些发现表明家猪和野猪之间可能存在 PRRSV 传播<sup>[42]</sup>。本研究仅在 1 头野猪体内检测到 PRRSV 抗体,说明南京地区野猪 PRRSV 感染率较低,但考虑到样本数量和研究区域的限制,未来还需进一步研究来评估中国野猪中 PRRSV 的流行情况。本次调查在 30 头救助野猪中未检测到 ASFV 和 CSFV 的核酸和抗体,暂未发现南京地区野猪中 ASFV 和 CSFV 流行的证据。

本次研究结果提示,野猪可以携带并传播多种病原,野猪与家猪之间也存在潜在的互动风险,因此需要制定相关的生物安全措施以控制疫病传播,保障畜禽健康养殖。一方面,考虑到许多猪场建设在城市郊区或农村,与野猪接触的风险较大,因此可以安装监控和围栏等设备防止野猪与家猪互动;另一方面可以考虑对野猪群体进行重要病原的免疫。目前对野生动物进行疫苗免疫已经在多个物种中得到了成功实践,例如欧洲多个国家已经利用口服疫苗在野生动物(包括狐狸和浣熊犬等)中成功控制住了狂犬病<sup>[43]</sup>。疫苗可以有效控制疾病在野生动物与家畜之间的传播,保障农业生产和公共卫生。然而,野生动物疫苗的应用面临着多方面的挑战。首先,疫苗的研发和生产成本较高,限制了其大规模应用;其次,野生动物种群数量和分布范围广泛,疫苗的投放和管理也面临一定困难;此外,疫苗应用可能会对一些野生动物种群带来潜在的风险和不确定性。因此未来需要在国内各省份定期开展野猪疫病监测计划,了解野猪群体中的病原流行情况,以便及时制定相应的防控策略。

综上,本文通过对南京地区野猪进行重要动物病原的分子生物学和血清学筛查,证明了野猪群体中感染过多种病毒,包括 PCV2、PCV3、PRV、PEDV 和 PRRSV。野猪是多种重大动物传染病潜在的传播媒介,其种群在国内多个省市均有分布。因此,有针对性地制定和实施野猪疾病监测网络,对于家猪疾病预警、保障生猪养殖和维护公共卫生具有重要意义。

## 参考文献:

- [1] 中华人民共和国中央人民政府. 国家保护的有益的或者具有重要经济、科学研究价值的陆生野生动物名录 [EB/OL]. (2000-08-01). [http://www.gov.cn/zhengce/2017-03/15/content\\_5718756.htm](http://www.gov.cn/zhengce/2017-03/15/content_5718756.htm).
- [2] NISAVIC J, RADALJ A, MILIC N, et al. A review of some important viral diseases of wild boars [J]. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2021, 37 (4): 235-254.
- [3] AMOROSO M G, SERRA F, ESPOSITO C, et al. Prevalence of infection with porcine circovirus types 2 and 3 in the wild boar population in the Campania region (Southern Italy) [J]. *Animals*, 2021, 11 (11): 3215.
- [4] KARNIELY S, HAMED F, GELMAN B, et al. First isolation of foot and mouth disease virus from wild boars in the Middle East [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2020, 67 (4): 1725-1729.
- [5] MENG X J, LINDSAY D S, SRIRANGANATHAN N. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2009, 364 (1530): 2697-2707.
- [6] SAUTER-LOUIS C, CONRATHS F J, PROBST C, et al. African swine fever in wild boar in Europe: a review [J]. *Viruses*, 2021, 13 (9): 1717.
- [7] SAUTER-LOUIS C, SCHULZ K, RICHTER M, et al. African swine fever: why the situation in Germany is not comparable to that in the Czech Republic or Belgium [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2022, 69 (4): 2201-2208.
- [8] JO Y-S, GORTÁZAR C. African swine fever in wild boar: assessing interventions in South Korea [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2021, 68 (5): 2878-2889.
- [9] GUBERTI V, KHOMENKO S, MASIULIS M, et al. African swine fever in wild boar: ecology and biosecurity [M]. Rome: Food and Agriculture Organization, 2022.
- [10] 任炜杰, 刘春菊, 张永强, 等. 黑龙江省绥芬河市野猪血清常见疾病抗体监测 [J]. *中国动物检疫*, 2015 (2): 11-13.
- [11] WU H, HOU C, WANG Z, et al. First complete genomic sequence analysis of porcine circovirus type 4 (PCV4) in wild boars [J]. *Veterinary Microbiology*, 2022, 273: 109547.
- [12] HU X, CHEN Z, LI Y, et al. Detection of porcine circovirus 1/2/3 and genetic analysis of porcine circovirus 2 in wild boar from Jiangxi Province of China [J]. *Animals*, 2022, 12 (16): 2021.
- [13] 中华人民共和国农业农村部. 吉林省白山市浑江区发生野猪非洲猪瘟疫情 [EB/OL]. (2018-11-16). [http://www.moa.gov.cn/gk/yjgl\\_1/yqfb/201811/t20181116\\_6163229.htm](http://www.moa.gov.cn/gk/yjgl_1/yqfb/201811/t20181116_6163229.htm).
- [14] 中华人民共和国农业农村部. 湖北省神农架林区发生野猪非洲猪瘟疫情 [EB/OL]. (2020-03-03). [http://www.moa.gov.cn/gk/yjgl\\_1/yqfb/202003/t20200303\\_6338113.htm](http://www.moa.gov.cn/gk/yjgl_1/yqfb/202003/t20200303_6338113.htm).
- [15] 邴睿, 胡小东, 冯小飞, 等. 浅谈当前我国野猪非洲猪瘟概况及防控对策 [J]. *云南畜牧兽医*, 2021 (5): 33-35.
- [16] FRANZO G, LEGNARDI M, CENTELLEGGEC, et al. Development and validation of direct PCR and quantitative PCR assays for the rapid, sensitive, and economical detection of porcine circovirus 3 [J].

- Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2018, 30 (4): 538–544.
- [17] ZHAO S, LIN H, CHEN S, et al. Sensitive detection of porcine circovirus-2 by droplet digital polymerase chain reaction [J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2015, 27 (6): 784–788.
- [18] FRANZO G, SEGALÉS J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology [J]. PLoS One, 2018, 13 (12): e0208585.
- [19] DHANDAPANI G, YOON S W, NOH J Y, et al. Detection of porcine circovirus 3 from captured wild boars in Korea [J]. Veterinary Medicine and Science, 2021, 7 (5): 1807–1814.
- [20] FRANZO G, TUCCARONE C M, DRIGOM, et al. First report of wild boar susceptibility to porcine circovirus type 3: high prevalence in the Colli Euganei Regional Park (Italy) in the absence of clinical signs [J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2018, 65 (4): 957–962.
- [21] PRINZ C, STILLFRIED M, NEUBERT L K, et al. Detection of PCV3 in German wild boars [J]. Virology journal, 2019, 16 (1): 1–7.
- [22] SOUZA T, GAVA D, SCHAEFFER, et al. Porcine circovirus 3a field strains in free-living wild boars in Parana State, Brazil [J]. Animals, 2021, 11 (6): 1634.
- [23] 刘相聪, 申翰钦, 张鹏飞, 等. 华南地区猪圆环病毒 3 型感染的分子流行病学调查与分析 [J]. 畜牧与兽医, 2018, 50 (6): 95–100.
- [24] 赵宇, 韩昊莹, 郑慧华, 等. 河南地区猪圆环病毒 3 型的 PCR 检测 [J]. 畜牧与兽医, 2018, 50 (8): 78–81.
- [25] 王小泉, 刘晓东, 董友富, 等. 2019—2021 年江苏地区 PCV3 感染情况调查及其 Cap 基因的遗传演化分析 [J]. 畜牧与兽医, 2022, 54 (10): 111–115.
- [26] ZHAI S L, CHEN S N, XU Z H, et al. Porcine circovirus type 2 in China: an update on and insights to its prevalence and control [J]. Virology Journal, 2014, 11 (1): 1–13.
- [27] TAN C Y, THANAWONGNUWECH R, ARSHAD S S, et al. Genotype shift of Malaysian porcine circovirus 2 (PCV2) from PCV2b to PCV2d within a decade [J]. Animals, 2022, 12 (14): 1849.
- [28] SONG S, PARK G N, CHOES, et al. Genetic diversity of porcine circovirus isolated from Korean wild boars [J]. Pathogens, 2020, 9 (6): 457.
- [29] WANG Y, WANG G, DUAN W T, et al. Self-assembly into virus-like particles of the recombinant capsid protein of porcine circovirus type 3 and its application on antibodies detection [J]. AMB Express, 2020, 10 (1): 3.
- [30] KEKARAINEN T, MCCULLOUGH K, FORT M, et al. Immune responses and vaccine-induced immunity against porcine circovirus type 2 [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2010, 136 (3): 185–193.
- [31] SEVERO D R T, WERLANG R A, MORI A P, et al. Health profile of free-range wild boar (*Sus scrofa*) subpopulations hunted in Santa Catarina State, Brazil [J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2021, 68 (2): 857–869.
- [32] ZHANG C, CUI H, ZHANG W, et al. Epidemiological investigation of porcine pseudorabies virus in Hebei Province, China, 2017–2018 [J]. Frontiers in Veterinary Science, 2022, 9: 930871.
- [33] DIAZ-SAN SEGUNDO F, MEDINA G N, STENFELDTC, et al. Foot-and-mouth disease vaccines [J]. Veterinary Microbiol, 2017, 206: 102–112.
- [34] FUKAI K, KAWAGUCHI R, NISHI T, et al. Risk of transmission of foot-and-mouth disease by wild animals; infection dynamics in Japanese wild boar following direct inoculation or contact exposure [J]. Veterinary Research, 2022, 53 (1): 86.
- [35] MOHAMED F, SWAFFORD S, PETROWSKI H, et al. Foot-and-mouth disease in feral swine: susceptibility and transmission [J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2011, 58 (4): 358–371.
- [36] 孙映雪, 朱琳, 陈伟, 等. 2018 年全球口蹄疫流行状况分析 [J]. 中国动物检疫, 2019 (6): 49–55.
- [37] SCHULZ L L, TONSOR G T. Assessment of the economic impacts of porcine epidemic diarrhea virus in the United States [J]. Journal of Animal Science, 2015, 93 (11): 5111–5118.
- [38] LEE D U, KWON T, JE S H, et al. Wild boars harboring porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) may play an important role as a PEDV reservoir [J]. Veterinary Microbiol, 2016, 192: 90–94.
- [39] KITAMURA Y, SAITO T, TANAKA E, et al. A serological survey of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in wild boar in Gifu Prefecture, Japan [J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2022, 84 (10): 1406–1409.
- [40] REINER G, FRESEN C, BRONNERT S, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in wild boars [J]. Veterinary Microbiol, 2009, 136 (3/4): 250–258.
- [41] RODRÍGUEZ-PRIETO V, KUKIELKA D, MARTÍNEZ-LÓPEZ B, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in wild boar and Iberian pigs in south-central Spain [J]. European Journal of Wildlife Research, 2013, 59 (6): 859–867.
- [42] CHOI E J, LEE C H, HYUN B H, et al. A survey of porcine reproductive and respiratory syndrome among wild boar populations in Korea [J]. Journal of Veterinary Science, 2012, 13 (4): 377–383.
- [43] MÄHL P, CLIQUET F, GUIOT A L, et al. Twenty year experience of the oral rabies vaccine SAG2 in wildlife: a global review [J]. Veterinary Research, 2014, 45 (1): 77.