

广州市部分区域猫泛白细胞减少症流行现状调查

温肖会, 邱杰, 吕殿红, 翟少伦, 魏文康*

(广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东省兽医公共卫生公共实验室, 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室, 广东广州 510640)

摘要 [目的] 了解猫泛白细胞减少症病毒在广州家猫和流浪猫中的流行情况, 分析 FPV 威胁广州家猫和流浪猫的潜在风险。[方法] 采用猫泛白细胞减少症免疫胶体金快速检测试纸条和 PCR 检测方法对广州 5 家动物医院采集的 3 004 份猫样品进行检测与分析。[结果] 猫泛白细胞减少症免疫胶体金快速检测试纸条检出 10 份疑似猫泛白细胞减少症阳性样品, 采用猫泛白细胞减少症 PCR 检测方法检出 13 份猫泛白细胞减少症阳性样品。13 份阳性样品来源于 96 份具有临床症状且未免疫样品, 49 份家猫样品中有 6 份呈阳性, 47 份流浪猫样品中有 7 份呈阳性, 阳性率分别为 12.2% (6/49) 和 14.9% (7/47), 发病季节以 9~10 月多发, 发病年龄集中在 0~6 月龄。[结论] 与外界接触和未免疫疫苗可能是导致猫感染 FPV 的重要原因。因此, 家猫加强疫苗接种, 减少与未知免疫背景的猫只接触, 减少家猫感染 FPV 的潜在风险。

关键词 猫泛白细胞减少症; 广州市; PCR; 流行现状

中图分类号 S855.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)17-120-03

Epidemiological Survey of Feline Panleukopenia Virus in Partial Region of Guangzhou City

WEN Xiao-hui, QIU Jie, LU Dian-hong, WEI Wen-kang* et al (Guangdong Key Laboratory of Animal Diseases, Guangdong Open Laboratory of Veterinary Public Health, Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640)

Abstract [Objective] To understand the prevalence of feline panleukopenia virus and analyze the potential risk of feline panleukopenia virus in Guangzhou domestic and wild cats. [Method] 3004 cat samples of 5 animal hospitals were detected and analyzed by two methods of FPV immune colloidal gold test strip and PCR. [Result] 10 positive samples were detected by the method of immune colloidal gold test strip from 3004 cat samples, but 13 positive samples were detected by the method of PCR from 3004 cat samples. 13 positive samples were from 96 unimmunized samples with clinical symptoms including 6 positive samples from 49 domestic cats and 7 positive samples from 47 wild cats. The positive rates respectively were 12.2% (6/49) and 14.9% (7/47). The morbidity ages and seasons of these samples were concentrated in 0–6 months old and 9–10 months old. [Conclusion] The important reasons of cats infected with FPV may be contact with the outside world and no vaccination. Therefore, there are two measures to reduce the potential risk of domestic cats infected with FPV including vaccination and reduce contact with unknown immune background cats.

Key words Feline panleukopenia virus; Guangzhou City; PCR; Epidemic situation

猫泛白细胞减少症 (Feline panleukopenia, FP) 又称猫传染性肠炎 (Feline infectious enteritis) 或猫瘟热 (Feline distemper), 是由猫细小病毒引起的一种高度接触性急性传染病, 以突发双相型高热、呕吐、腹泻、脱水、明显的白细胞减少及出血性肠炎为特征, 是猫最重要的传染病^[1]。猫泛白细胞减少症病毒 (Feline panleukopenia virus, FPV) 在自然条件下可以感染猫, 也可以感染狐狸、豹、狮子和浣熊等珍稀野生动物, 给家猫、野猫和野生动物保护造成巨大的威胁^[2]。猫泛白细胞减少症病毒传播性强, 既可通过粪便、呕吐物、鼻涕、唾液、尿液排出病毒污染食具、笼子、垫物和周围环境, 又可以通过跳蚤和吸血昆虫等媒介传播, 妊娠母猫可垂直传播给胎儿。FPV 致病性极强, 会导致妊娠母猫胎儿畸形甚至流产, 死亡率高且无任何前驱症状^[1]。我国部分省、市曾发生疑似猫泛白细胞减少症的疾病, 国内外学者已从患病的猫中分离到多株毒株, 并进行了深入研究^[3-7]。目前, 关于广州家猫和流浪猫猫泛白细胞减少症流行情况的报道较少。笔

者采用猫瘟热免疫胶体金快速检测试纸条和 PCR 检测方法对广州 5 家动物医院采集的样品进行检测, 进一步了解该病毒在广州家猫和流浪猫中的流行情况和潜在危害风险, 旨在为广州家猫和流浪猫猫泛白细胞减少症的综合防控提供理论基础和参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 调查对象。2013 年 5 月至 2014 年 4 月在广州市天河区、越秀区、荔湾区、白云区、海珠区等 5 家连锁动物医院收治的门诊病例中采集 3 004 份猫样品, 包括泄殖腔拭子、粪便、全血、病死猫的肠道等样品。其中, 2 600 份猫样品来源于家猫, 404 份来源于流浪猫, 具有发烧、呕吐、拉稀等临床症状的样品 96 份。同时, 对 3 004 份猫样品的年龄、免疫状况和采样时间等进行了记录, 样品具体信息见表 1~3。

1.1.2 主要试剂和工具酶。FPV 胶体金快速检测试纸条 (批号 G140910301) 购自上海快灵生物科技有限公司; Taq DNA 聚合酶、dNTP、DL 2000 Marker 等均购自大连宝生物工程有限公司; 病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒、2 × Taq PCR MasterMix, 均购自北京天根生化科技有限公司。

1.1.3 主要仪器。S1000 梯度 PCR 仪, 为美国伯乐公司产品; 1600 凝胶成像系统和 EPS-300 电泳仪, 均为上海天能科技有限公司产品; DU730 核酸分析仪, 为美国贝克曼公司产品; AC204 电子天平, 为瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司产品; DK-8D 三孔电热恒温水槽, 为上海齐欣科学仪器有限

基金项目 广东省科学技术厅项目 (2015A040404034); 广东省科学技术厅项目 (2013B050800022); 广东省科学技术厅项目 (2013B040300009); 广东省科学技术厅项目 (2014B040404061); 广东省科学技术厅项目 (2012B090600048); 科技部星火计划项目 (2015GA780049)。

作者简介 温肖会 (1982-), 女, 河南安阳人, 助理研究员, 硕士, 从事动物传染病分子生物学研究。* 通讯作者, 研究员, 博士, 硕士生导师, 从事动物疫病诊断和防控。

收稿日期 2016-04-30

公司产品;移液器,购自德国 Eppendorf 公司;PIC017 离心机, 为德国贺利氏公司产品。

表 1 广州市各区样品采集情况

Table 1 Collection information of cat samples in different districts of Guangzhou City

采样地点 Location	地区 Area	采样数量 Sampling number		临床症状样品数量 Number of clinical symptom samples		疫苗免疫 Vaccine immunity	
		家猫	流浪猫	家猫	流浪猫	免疫样品	未免疫样品
		Domestic cats	Wild cats	Domestic cats	Wild cats	Immune samples	Unimmunized samples
动物医院 1 Animal hospital 1	海珠区	993	172	17	16	603	562
动物医院 2 Animal hospital 2	越秀区	1 298	190	16	19	899	589
动物医院 3 Animal hospital 3	天河区	145	24	7	5	140	29
动物医院 4 Animal hospital 4	白云区	76	8	4	3	70	14
动物医院 5 Animal hospital 5	荔湾区	88	10	5	4	78	20
合计 Total		2 600	404	49	47	1 790	1 214

表 2 不同月份采集的样品数量

Table 2 Number of samples collected in different months

地点 Location	2013 年采集样品数量 Number of samples in 2013								2014 年采集样品数量 Number of samples in 2014				合计 Total
	5 月 May	6 月 Jun.	7 月 Jul.	8 月 Aug.	9 月 Sep.	10 月 Oct.	11 月 Nov.	12 月 Dec.	1 月 Jan.	2 月 Feb.	3 月 Mar.	4 月 Apr.	
动物医院 1 Animal hospital 1	75	88	102	113	128	134	114	110	63	72	95	71	1 165
动物医院 2 Animal hospital 2	113	118	112	121	132	147	152	126	107	100	112	148	1 488
动物医院 3 Animal hospital 3	10	14	11	18	16	17	12	18	11	16	15	11	169
动物医院 4 Animal hospital 4	5	7	6	10	9	7	7	5	7	6	7	8	84
动物医院 5 Animal hospital 5	8	7	7	9	11	7	9	8	7	6	8	11	98
合计 Total	211	234	238	271	296	312	294	267	195	200	237	249	3 004

表 3 不同年龄的样品数量

Table 3 Number of samples collected in different ages

采集地点 Location	0~3 月龄 Age of 0~3 months	3~6 月龄 Age of 3~6 months	6~12 月龄 Age of 6~12 months	1~3 岁 Age of 1~3 years	4 岁以上 Over the age of 4 years	合计 Total
动物医院 1 Animal hospital 1	268	230	310	246	111	1 165
动物医院 2 Animal hospital 2	410	380	310	261	127	1 488
动物医院 3 Animal hospital 3	48	38	35	30	18	169
动物医院 4 Animal hospital 4	26	21	18	11	8	84
动物医院 5 Animal hospital 5	32	28	17	14	7	98
合计 Total	784	697	690	562	271	3 004

1.2 方法

1.2.1 FPV 免疫胶体金快速检测试纸条检测。运用 FPV 胶体金快速检测试纸条对 3 004 份猫样品进行初步筛查。具体筛查方法如下:打开 FPV 试纸板的包装,取出放于平坦的桌面上,用滴管吸取少量混匀的病料反应缓冲液,向试纸板的样品孔中缓慢滴入 3~4 滴,5~10 min 后判断结果。根据检测线和对照线的结果判断结果。阳性:当检测线(T)位置与对照线(C)的位置同时出现红色线时,表示已经感染 FPV。阴性:当对照线(C)的位置出现红色线,而检测线(T)位置未出现红线,表示样品无 FPV。当对照线(C)的位置不出现红色线,无论检测线(T)位置是否出现红线,表示样品无效。

1.2.2 FPV 的 PCR 检测。运用已建立的 FPV 的 PCR 快速检测方法对 3 004 份猫样品进行了检测^[8]。PCR 扩增体系如下:在 PCR 反应管中分别加入灭菌 ddH₂O 7 μL、2×Taq PCR MasterMix 10 μL、上下游引物(20 pmol/μL)各 0.5 μL、模板 2 μL,共 20 μL PCR 扩增体系。PCR 反应条件如下:95℃预变性 5 min;95℃变性 30 s,50℃延伸 30 s,72℃延伸 30 s,

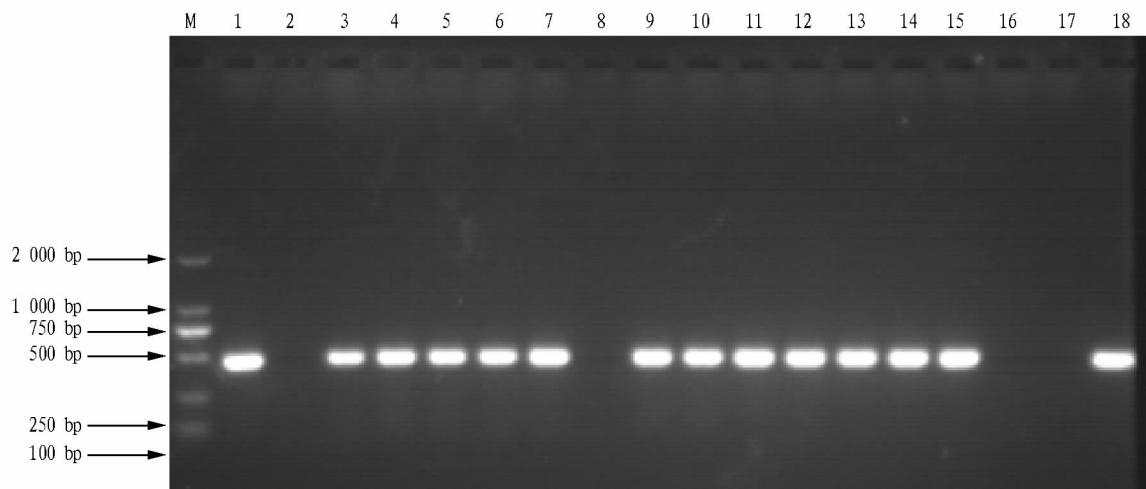
共 30 个循环;最后 72℃延伸 7 min,4℃下保存。

2 结果与分析

2.1 猫样品 FPV 金标检测试纸条和 PCR 检测结果 从 5 家动物医院共检测出 10 份疑似 FPV 阳性样品,使用建立的 FPV PCR 检测方法不仅从 10 份疑似 FPV 阳性样品中检测出 FPV 核酸阳性样品,而且从 2 994 份 FPV 金标检测试纸条检测阴性的样品中检测出 3 份 FPV 核酸阳性样品,经测序分析 13 份 FPV PCR 检测阳性样品均为 FPV(图 1)。结果表明,FPV 的 PCR 检测方法不仅准确,而且更为灵敏。

2.2 样品的来源、采集时间和年龄对 FPV 流行的影响

2.2.1 阳性样品的来源分析。13 份 FPV 阳性样品在地区分布上,以海珠区和越秀区 FPV 阳性数量最多,分别为 5 份;其次,白云区 2 份阳性样品,荔湾区 1 份阳性样品,天河区未检测到 FPV 阳性样品。13 份 FPV 阳性样品均来源于 96 份具有临床症状未免疫样品,49 份家猫样品中有 6 份阳性样品,47 份流浪猫样品中有 7 份阳性样品,阳性率分别为 12.2%(6/49)和 14.9%(7/47)从 1 790 份免疫过猫四联疫



注: M. DNA Marker DL 2000; 1~16 分别为 1~16 号样品; 17. 阴性对照; 18. 阳性对照。

Note: M. DNA Marker DL 2000; 1~16. swimming lanes of 1~16 samples. 17. Negative control; 18. Positive control.

图 1 被检样品的电泳图谱

Fig. 1 The electrophoretogram of test samples

苗的样品中没有检出 FPV, 2 908 份无临床症状样品中没有检出 FPV。结果表明, 无临床症状的猫样品没有携带 FPV; 当前使用的猫瘟热疫苗具有保护猫避免感染 FPV 的作用; 13 份 FPV 阳性样品, 无论是流浪猫还是放养的家猫, 共同点是曾与外界接触。因此, 与外界接触和未免疫猫四联疫苗可能是导致猫感染 FPV 的重要原因。此外, 各区域的发病率有明显差异, 可能是由于每个动物医院提供的样品数量差异较大所致。

2.2.2 阳性样品的采集时间分析。13 份 FPV 阳性样品中以 9 月和 10 月样品数量居多, 分别为 3 份, 占阳性样品数的 46.0% (6/13), 11 月和 1 月各有 2 份阳性样品, 8 月、12 月、2 月各有 1 份样品, 其他月份未检测到 FPV 阳性样品。这表明 FPV 的感染及发病与季节有一定的关系, 秋冬季是广州市 FPV 感染的多发季节。

2.2.3 阳性样品的年龄分析。13 份 FPV 阳性样品中, 以 0~3 月和 3~6 月龄阳性样品数量居多, 分别为 6 份和 4 份, 占阳性样品数的 76.9% (10/13); 6~12 月龄样品中有 2 份 FPV 阳性样品, 1~3 岁样品中有 1 份 FPV 阳性样品, 4 岁以上样品未检测到 FPV。这表明广州市 1 岁以下的猫特别是 6 月龄以下的幼猫最容易感染 FPV。

3 结论与讨论

笔者从 3 004 份样品中检测出 13 份 FPV 阳性样品, 其中 6 月龄以下的猫样品 10 份, 占阳性样品数的 76.9% (10/13), 6~12 月龄样品中有 2 份 FPV 阳性样品, 1~3 岁样品中有 1 份 FPV 阳性样品, 4 岁以上样品未检测到 FPV。这与高得仪^[9]和亢文华等^[10]报道的 1 岁以下的幼猫发病率较高, 发病率随着年龄的增长有所降低的结果相一致。此次调查的发病率很低, 为 0.43% (13/3004), 可能有以下原因: ①最近 10 年, 广州的小动物诊疗行业发展迅速, 仅广州市内的动物医院就超过 300 家, 动物医院医生也注重加强宠物疫病免疫预防为主的宣传, 大部分的宠物在幼龄期就已注射疫苗, 提高了自身的免疫力, 使幼猫得到了很好的免疫保护。

②广州高层建筑居多, 家养猫一般都在自家的室内活动, 流动性不大, 减少了与带毒的病猫或 FPV 污染的环境接触, 切断了 FPV 传播的途径。与外界接触、未免疫 FPV 疫苗是导致猫感染 FPV 的重要原因。因此, 应该加强免疫接种, 提高免疫力, 尽量减少与带毒病猫或 FPV 污染的环境接触, 是 FPV 综合防控的重要措施。

猫泛白细胞减少症通常发生于秋冬季, 尤其母猫繁育季节多发, 呈散发或地方流行。长途运输、饲养条件剧变以及来源不同和不明的猫混合饲养, 也会导致该病的急性暴发^[11-12]。此次调查结果表明 13 份 FPV 阳性样品中以 9 月和 10 月 FPV 阳性数量居多, 占阳性样品数的 46.0%, 11 月、1 月各有 2 份阳性样品, 8 月、12 月、1 月各有 1 份样品, 其他月份均未检测到 FPV 阳性样品。究其原因, 可能是因为天气转凉, 病毒较易繁殖生长, 同时猫尤其是幼猫更易因为天气变凉而发生应激, 从而导致免疫力降低, 使病毒容易侵入易感动物体内, 导致感染 FPV 的猫数量上升。此外, 猫一般是在春秋季节发情, 因为交配发生交叉感染, 或者幼猫绝对数上升, 客观上也是导致秋季出现幼猫病例增多的原因。

参考文献

- [1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M]. 4 版. 北京: 中国农业出版社, 2001: 361-363.
- [2] VAN VUUREN M, STEINEL A, GOOSEN T, et al. Feline panleukopenia virus revisited: Molecular characteristics and pathological lesions associated with threerecent isolates[J]. J S Afr Vet Assoc, 2000, 71(3): 140-143.
- [3] 卢旺银. 甘肃省猫泛白细胞减少症流行现状调查[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(3): 104-105.
- [4] 苏洁, 姜燕, 李慕瑶, 等. 猫泛白细胞减少症病毒 XJ1-05 株的分离及鉴定[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2008(4): 65-67.
- [5] AN D J, JEONG W, JEOUNG H Y, et al. Phylogenetic analysis of feline panleukopenia virus (FPLV) strains in Korean cats[J]. Res Vet Sci, 2011, 90(1): 163-167.
- [6] MENDE K, STUETZER B, SAUTER-LOUIS C, et al. Prevalence of antibodies against feline panleukopenia virus in client-owned cats in Southern Germany[J]. Vet J, 2014, 199(3): 419-423.

(下转第 237 页)

相结合的原则,针对该项目水土流失特点布设了相应的水土保持防治措施体系。

2.1 针对临时堆土产生的水土流失 设置临时堆土场,将堆土集中堆放,并且将表土和回填土分开堆放,同时采取临时拦挡、临时苫盖、临时排水和播撒草籽临时绿化等防治措施,从而减少临时堆土可能产生的水土流失。

2.2 针对建筑垃圾产生的水土流失 ①针对施工道路不统一可能造成的水土流失,采取建立统一的施工临时道路,规划共用车辆出入口,并采取临时硬化和碎石铺垫的防治措施,减少临时道路产生的水土流失。②针对施工扬尘造成的水土流失,采取施工现场定期洒水的防治措施,防止浮尘产生;运输车辆进入施工现场应低速行驶,出场应冲洗轮胎,减少扬尘^[4];工地道路要全部硬化,洒水压尘,遇有4级以上大风天气,应停止土方施工,做好遮盖工作。

2.3 针对地块冲刷产生的水土流失 ①采取在每块地块土地平整时将四周边缘修建为略高的挡土埂,形成局部下凹式地形,防止雨水流出地块,让雨水在每一地块自然下渗。②采取在整个项目外围布设排水草沟,草沟末端设置临时沉沙池。草沟在一定程度上可以起到沉沙作用,不仅可以减缓径流流速,而且可以在水流较缓的情况下自然下渗,减少了末端沉沙池的规格压力,从而减少临时占地^[5]。③对各地块及时做好密目网苫盖和彩钢板拦挡措施,防止大风大雨天气产生施工扬尘和堆土外流,进而减少对周边居民和环境的破坏。

3 结论与建议

该项目针对水土流失产生的原因和特点,制定了相应的水土流失防治措施,有效地减少了水土流失,设计的水土保持措施是合理可行的。但是由于目前对土地一级开发项目水土流失防治对策研究的不足,及水土保持专业技术力量的欠缺,导致水土流失防治措施体系不全面、缺乏针对性和可操作性不强等问题仍然存在,在此提出以下几点建议。

(1)政府相关职能部门需强化执行水土保持法律法规,增强水土保持法律体系的超前性、针对性和可操作性,进一步加强对土地一级开发项目水土保持的规范管理^[6]。水行政执法部门应加大执法力度,严格执法,对违法行为应依法

追究其责任。

(2)社会层面应加强宣传教育活动,提高全民水土保持意识,形成水土保持人人有责,自觉维护,珍惜和合理利用水土资源的氛围^[7],使群众主动参与到水土保持中去,在实际生活中发现水土流失现象能够积极主动的向有关部门反映。

(3)技术上应把握好科研攻关的研究方向,结合水土保持监测结果,研究在建设过程中产生水土流失的规律,从而分析归纳出土地一级开发项目水土流失防治的优化模式,增强水土流失防治措施的可操作性,进一步为该类水土保持方案的编制奠定技术基础。

(4)在项目实施过程中,建设单位为了节省投资,不愿意支出水土保持设施建设费,忽视对水土保持临时措施的实施,如对临时堆土没有及时而全面地采取遮盖、拦挡措施,道路与管线开挖基坑排水措施不到位等。针对这种情况建议采取相应监管措施,确保建设单位在项目建设过程中注重施工期水土保持临时措施的落实,进一步加强水土流失防治工作。

(5)对用地范围内无空闲区域堆放表土的建设项目,建议地方政府引导企业成立第三方表土交易平台,运用市场化运作来解决表土剥离的存放和利用问题,由第三方负责表土的存储与调配,在需要表土的时候向其购买,做到剥离表土有固定地点存放,减少表土流失^[8]。

参考文献

- [1] 李胜男.我国城市土地一级开发研究[D].北京:中国社会科学院研究生院,2011:1-4.
- [2] 蔡陇海.房地产建设项目的水土保持方案编制[J].北京水务,2009(2):28-31.
- [3] 宋晓强,张长印,刘洁.开发建设项目水土流失成因和特点分析[J].水土保持通报,2007,27(5):108-113.
- [4] 李元,樊华,张颂.房地产开发建设项目水土流失成因及防治对策[J].山西水土保持科技,2013(3):41-44.
- [5] 张轶.生态草沟处理技术设计总结[J].城市道桥与排洪,2011(7):140-143.
- [6] 郭索彦,姜德文,赵永军,等.建设项目水土流失现状与综合治理对策[J].中国水土保持科学,2008,6(1):51-56.
- [7] 杨进怀.北京市水土保持生态补偿机制探索[J].北京水务,2009(2):6-9.
- [8] 牛光辉,彭梓淦,谭晓.关于表土剥离有关问题的探讨[J].中国水土保持,2014(4):20-22.
- [9] 方法的建立与应用[J].中国动物传染病学报,2015,23(2):21-25.
- [9] 高得仪.犬猫疾病学[M].2版.北京:中国农业大学出版社,2001.
- [10] 亢文华,赵凤龙,郝霖雨,等.猫泛白细胞减少症病毒的研究进展[J].中国畜牧兽医,2008,35(9):108-111.
- [11] 李明观,姚小兵,许娟华,等.猫泛白细胞减少症的诊治与预防[J].中国畜禽种业,2011(5):115.
- [12] 李慧.猫泛白细胞减少症的诊治[J].浙江畜牧兽医,2013(3):37-38.
- [6] MENDE K,STUETZER B,SAUTER-LOUIS C,et al. Prevalence of antibodies against feline panleukopenia virus in client-owned cats in Southern Germany[J]. Vet J,2014,199(3):419-423.
- [7] PONCELET L,HÉRAUD C,SPRINGINSFELD M,et al. Identification of feline panleukopenia virus proteins expressed in Purkinje cell nuclei of cats with cerebellar hypoplasia[J]. Vet J,2013,196(3):381-387.
- [8] 邱杰,温肖会,翟少伦,等.猫泛白细胞减少症病毒 VP2 基因快速检测

(上接第122页)