

引进加系种猪繁殖与呼吸综合征病原及抗体动态监测与防控研究

龙清孟¹ 李平¹ 王锦凤¹ 侯萍¹ 冯文武¹ 金敏¹ 熊胜利¹ 谢淑萍¹ 冉学琴^{2*}
1.贵州省种畜禽种质测定中心,贵阳 550018;2.贵州大学,贵阳 550025

摘要 猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)属于冠状病毒科动脉炎病毒属。病猪主要以流产、早产、死胎、弱胎,仔猪、断奶仔猪呼吸困难为特征,给养猪业带来了很大的危害。贵州省种畜禽种质测定中心对引进的 22 头加系大约克种猪采血样,分别用 PCR、ELISA 检测方法对 PRRS 病原及免疫抗体进行动态监测与防控技术研究。结果表明,PRRSV 检测结果为阴性;22 头种猪 14 日龄首免高致病性蓝耳病疫苗(TJM-F92 毒株),免疫剂量 0.8 头份/头,免疫期 135 d(仔猪 5 月龄)时,猪蓝耳病免疫抗体 ELISA 检测结果合格率 95.45%(21/22),离散度 34.62%,符合农业部规定免疫抗体合格率≥70%标准,说明所检测猪群高致病性蓝耳病疫苗(TJM-F92 毒株)的免疫效果良好,猪群没有野毒感染。

关键词 引进种猪;繁殖与呼吸综合征;病原;抗体;动态监测;综合防控

猪繁殖与呼吸综合征(PRRS)已造成世界养猪业严重经济损失,并在我国很多省份暴发^[1-2]。传染源为病猪、带毒猪(长期带毒状态)、保毒宿主(野猪)。高感染性是 PRRSV 的一个标志^[3],猪对很多感染途径敏感,如口、鼻、肌肉、腹腔和生殖道。传染常发生于猪只之间的密切接触,也可通过空气迅速传播。易感动物主要是猪,其中孕猪、初生仔猪最易

感。PRRS 的临床症状变化很大,受病毒猪、免疫状态及管理因素影响。严重的临床疾病主要症状为食欲减退、发热、呼吸困难;种(公、母)猪繁殖力降低、死淘率升高,规模化猪场母猪早产、流产率升高,死产、木乃伊胎、产弱仔、产活仔数减少等现象明显^[4-5];仔猪、生长肥育猪生长缓慢或停滞;哺乳仔猪(断奶前)死亡率高,主要症状是发育不良、呼吸困难^[6-8],其他病混

收稿日期:2016-12-20

基金项目:贵州省农业攻关课题黔科合 NY 字[2012]3061 号

* 通讯作者

龙清孟,女,1973 年生,硕士,高级兽医师。

表 5 全州文桥鸭蛋品质测定

项目	平均蛋重/ g	蛋壳强度/ (kg/cm ²)	蛋比重/ 级	蛋黄比例/ %	蛋白比例/ %	蛋壳比例/ %	哈夫单位	蛋壳厚度/ mm	蛋黄色泽/ 比色扇级	血斑点/ %
测定值	66.67±3.82	3.01±0.54	5	32.99±2.41	55.77±3.79	11.29±0.67	76.00±9.11	0.42±0.03	13.13±0.83	3.33
变异系数/%	5.73	18.06	0.5	3.64	6.79	5.94	11.98	5.97	6.29	

评价:①蛋黄颜色达到金黄色,色度好,优级。②蛋比重和蛋壳厚度,良好。③其他指标属正常标准范围。

是全州古代“肴味三绝”之一,在广西最有名地方菜肴网络评选中名列第十一位。2008 年被全州县人民政府列入全州县非物质文化遗产保护名录。目前南宁、桂林、深圳等城市都有炒文桥醋血鸭的饭店。全州文桥鸭销往桂林、南宁、深圳等城市,其价格比一般鸭每千克高 4~6 元,市场前景好。目前,由于对文桥鸭品种资源保护力度尚不够大,全州文桥鸭常

与其他外来品种混养,杂交鸭普遍存在,血缘不清,纯种全州文桥鸭数量逐年减少,近亲系数升高过快,导致了品种的优良性状退化或丢失。为此,建议立即采取保护措施,建立全州文桥鸭品种资源保种场和保护区,加强全州文桥鸭品种资源保护,开展本品种选育,提纯复壮,提高生产性能,促进地方特色产业发

合感染时,死亡率增加,最终导致猪群抵抗力下降、免疫抑制,难以净化。在生产实践中,为了防止疫病传播,提倡猪场自繁自养,但猪场如果长期不引种,难免导致闭锁选育的覆辙,因此,引种非常必要。为了确保引进种猪不携带野毒,了解引进种猪疫苗免疫的效果,现将引进种猪有关繁殖与呼吸综合征病原及抗体动态监测与防控研究进行报道。

1 材 料

1.1 猪血清

采用前腔静脉采血样 22 份(大约克种猪 5 月龄),分离血清样本。

1.2 诊断试剂盒

1)猪蓝耳病 ELISA 诊断试剂盒(用于检测猪血清中抗蓝耳病 N 蛋白的抗体,评估猪场蓝耳病疫苗免疫状况,感染猪的血清学诊断)主要成分见表 1。

表 1 猪蓝耳病 ELISA 诊断试剂盒组成

序号	名称	数量	规格
1	包被抗原检测板	2 块	96 孔/板
2	阴、阳性对照血清	各 1 管	1 mL/管
3	羊抗猪酶标二抗	1 瓶	20 mL/瓶
4	20 倍浓缩洗涤液	1 瓶	30 mL/瓶
5	底物 A 液、B 液	各 1 瓶	10 mL/瓶
6	终止液	1 瓶	10 mL/瓶
7	样品稀释液	1 瓶	50 mL/瓶
8	血清稀释板	2 块	96 孔/板
9	说明书	1 份	

2)猪繁殖与呼吸综合征病毒(Nsp2 1594-1680 变异株)实时荧光 RT-PCR 检测试剂盒,其组成见表 2。

表 2 猪 PRRSV(Nsp2 1594-1680 变异株) RT-PCR 试剂盒组成

名称	50 头份	保存条件
裂解液	30 mL	室温(A 盒)
洗液	60 mL	
洗脱液	10 mL	
吸附柱和收集管	50 套	
阴性对照	1 mL	-20 ℃(B 盒)
阳性对照	600 μL	
无菌无核酸酶水	600 μL	
RT-PCR 反应液	750 μL	
酶混合液	60 μL	
荧光探针	150 μL	

3)试剂盒生产厂家及批号:猪蓝耳病 ELISA 诊断试剂盒生产厂家:武汉科前生物股份有限公司,批号:160201,保质期 10 个月;猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-qPCR 试剂盒生产厂家:北京世纪元亨动物生物制品有限责任公司。

1.3 仪器设备及耗材

1)ELISA 试验所需的仪器及耗材。冷冻离心机、酶标仪(规格:Bio-tek)、培养箱(DHP-9052)、高压灭菌锅(yx-280),多道微量移液器(芬兰进口):5~50 μL 1 把、50~300 μL 1 把;单道微量移液器(芬兰进口):0.5~10 μL 1 把、20~200 μL 1 把、200~1 000 μL 1 把,冰箱、电脑等仪器;试验耗材:离心管、枪头、板架、样品盒、湿盒、采血管、试管架、烧杯、量筒、三角瓶等。

2)PCR 检测所需的仪器设备期耗材。仪器:Bio-Rad 实时荧光定量 PCR 仪,型号 CFX Connect、离心机、-20 ℃冰箱、可调移液器(2、20、200、1 000 μL);耗材:荧光 PCR 专用反应管、1.5 mL 经焦炭酸二乙酯(DEPC)水处理的灭菌离心管、吸头(10、200、1 000 μL)、灭菌双蒸水等。

2 检测方法

2.1 猪蓝耳病免疫抗体 ELISA 检测方法

1)试验前准备。

①样品制备:取猪的全血,待血液凝固后,以 4 000 r/min 离心 10 min,收集血清,要求血清清亮,无溶血。

②洗涤液配制:使用前,浓缩的洗涤液应恢复至室温(25 ℃左右),并摇动使沉淀的盐溶解(最好在 37 ℃水中加热 5~10 min),然后用蒸馏水或去离子水作 20 倍稀释(例如:每板用 20 mL 浓液加上 380 mL 水),稀释好的洗涤液在 4 ℃可存放 7 d。

③在样品数量少的情况下,如何拆分试剂盒,按量所需配制洗液,力争充分利用试剂,不造成浪费是试验的关键所在。

④待检样品及阴阳性对照样品稀释。

a.待检血清 1:40 稀释:将待检血清在血清板中按 1:40 稀释待检血清(195 μL 样品稀释液中加 5 μL 待检血清,混匀即可)。

b. 阳性和阴性对照 1:4 稀释(例如:156 μL 样品稀释液中加 55 μL 对照血清,吹打均匀)。

2)注意事项。

①贮存条件:2~8℃避光保存。

②试剂盒使用前各试剂应平衡至室温,使用后放回 2~8℃。

③不同批号试剂盒的试剂组不得混用,使用试剂时应防止试剂污染。

④不要用口移液。

⑤TMB(底物液 B)不要暴露于强光,避免接触氧化剂。

⑥检测板拆封后避免受潮或沾水(未用完的抗原包被板加干燥剂放于自封袋中,应尽快置于 4℃保存)。

⑦待检血清样品数量较多时,应先使用血清稀释板稀释完所有要检测血清,再将稀释好的血清转移到反应板,使反应时间一致。

⑧浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水稀释,如果发现结晶加热使其溶解后再使用。

⑨在操作过程中移液时,切忌将气泡加入检测板孔中。

⑩严格按照操作说明书可以获得最好的结果,操作过程中移液、定时和洗涤等全过程必须精确。

3)ELISA 抗体检测操作步骤。

①取抗原包被板(根据样品多少可拆开分次使用),每孔加入已稀释好的洗涤液 200 μL,每次静置 3 min 后倒掉,再在干净吸水纸上拍干,重复此方法连续洗涤 2 次。

②取稀释好的待检样品、阴性对照、阳性对照血清各 100 μL 加入到抗原包被板中,待检血清设置 1 孔,阴性对照和阳性对照各设 2 孔;轻轻振荡孔中样品(勿溢出),置 37℃温育 30 min。

③洗涤。甩掉板孔中的溶液,每孔加入稀释好的洗涤液 200 μL,每次静置 3 min 倒掉洗涤液,再在干净吸水纸上拍干,重复洗板 5 次。

④加入二抗。每孔加羊抗猪酶标二抗 100 μL,置 37℃温育 30 min。

⑤重复洗涤 5 次,方法同上。切记每次在干净吸水纸上拍干。

⑥显示。每孔先加底物液 A 1 滴(50 μL)、再加底物液 B 1 滴(50 μL),混匀,室温(18~25℃)避光显色 10 min。

⑦终止反应。每孔加终止液 1 滴(50 μL),10 min 内测定结果(检测前在震荡器上轻轻震动一下)。

⑧结果判定。在酶标仪上测各孔 OD₆₃₀ 值(用

620~650 nm 波长测定结果均有效)。试验成立的条件是:阳性对照孔 OD₆₃₀ 值均应 ≥1.0,且 <3.0,阴性对照孔 OD₆₃₀ 值均应 <0.2。计算样品的 KQ 值。

$$KQ = \frac{\text{样品 OD}_{630 \text{ nm}} \text{ 值}}{\text{阳性对照 OD}_{630 \text{ nm}} \text{ 值平均值}} \times 100$$

若 KQ ≥ 20, 判为猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体阳性;若 KQ < 20, 判为猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体阴性。

2.2 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-qPCR 检测方法

严格按照试剂盒的操作步骤进行操作,方法略。

3 结果与分析

3.1 高致病性蓝耳病的免疫抗体

从检测结果可知,所检猪为 5 月龄仔猪,高致病性蓝耳病首免日龄为 14 日龄,免疫剂量 0.8 头份/头,免疫期 135 d(4 个半月),猪蓝耳病免疫抗体 ELISA 检测结果合格率 95.45%(21/22),大于农业部规定标准免疫抗体合格率 ≥ 70%,说明用高致病性蓝耳病疫苗(TJM-F92 毒株)免疫接种对所检测猪群的免疫效果良好。序号为“3”的猪,其免疫抗体为阴性,应及时给予补打猪高致病性蓝耳病疫苗(TJM-F92 毒株)。

3.2 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-qPCR 检测结果

经实时荧光逆转录定量 RT-qPCR 检测技术,分析图 1 可以看出,阈值线设定刚好是阴性对照组扩增曲线最高点;阳性对照在 Ct 值 ≤ 30,并出现特定扩增曲线,而待测样品均未出现特定的扩增曲线,因此,可判 22 份检测样本的结果均为阴性。设置了阴性的阈值后,实时荧光定量 PCR 仪导出的数据见表 4,两孔阳性对照的 Cq 值(Cq 值即 Ct 值)分别为 23.33、23.53,2 个阴性对照的 Cq 值均为 0,所有样品的 Cq 值与阴性对照一样均显示为 0,同理,可判断这 22 份样品的猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 qPCR 检测结果均为阴性。

3.3 猪繁殖与呼吸综合征病毒 ELISA 与实时荧光 RT-qPCR 检测判定结果对比

从表 5 可看出 ELISA 免疫抗体检测结果。这 22 头猪的检测样品中,除编号为“3”的猪只其猪繁殖与呼吸综合征病的免疫抗体为阴性,即无免疫抗体保护,需要及时补免外,其余的 21 头猪繁殖与呼吸

表 3 猪蓝耳病毒(PRRSV)ELISA 诊断试剂盒血清免疫抗体检测结果

序号	样品 OD 值	判定结果	阳性对照 OD 值均值	阴性对照 OD 值均值	免疫抗体合格率/%	离散度/%
1	2.584	阳性	1.8265	0.045		
2	1.796	阳性				
3	0.211	阴性	阳性对照孔 OD 值均应 ≥ 1.0 , 且 < 3.0 阴性对照孔 OD ₆₃₀ 值均应 < 0.2			
4	1.395	阳性				
5	3.081	阳性	要求同时满足以上 2 个条件试验成立			
6	1.506	阳性				
7	2.327	阳性				
8	1.568	阳性				
9	1.923	阳性				
10	2.237	阳性				
11	2.94	阳性				
12	2.315	阳性			95.45(21/22)	34.62
13	0.786	阳性				
14	2.462	阳性	判定条件: $KQ = \text{样品 OD 值} / \text{阳性对照值 OD 平均值} \times 100$, 若 $KQ \geq 20$, 判为阳性; 若 $KQ < 20$, 判为阴性;			
15	2.149	阳性				
16	2.539	阳性				
17	2.204	阳性				
18	2.801	阳性				
19	1.175	阳性				
20	2.103	阳性				
21	2.287	阳性				
22	2.671	阳性				

注:猪蓝耳病疫苗(TJM-F92 毒株)生产厂家为青岛易邦,批号:2015022/2017/1/11,免疫时间为 2016 年 4 月 26 日,免疫剂量 0.8 头份/头,采血时间为 2016 年 9 月 9 日(免疫 135 d),仔猪 5 月龄。

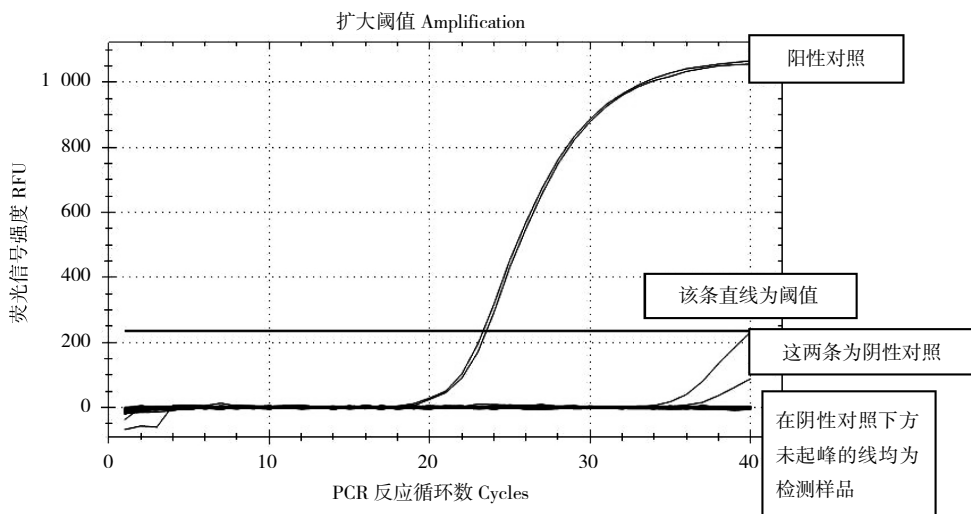


图 1 实时荧光 RT-qPCR 检测猪繁殖与呼吸综合征病毒扩增曲线图

综合征病毒的免疫抗体为阳性,即获得抗体保护,针对该病暂时不用再免疫,再一次免疫时间需要跟踪监测抗体消长情况确定;经实时荧光 PCR 仪检测,这 22 头猪的猪繁殖与呼吸综合征病毒均为阴性,说明这 22 头猪在检测之前,没有受到猪繁殖与呼吸综合征病毒的野毒感染。

4 综合防控措施

1) 严把引种关,杜绝引进阳性带毒猪。杜绝在有疫情发生或隐性带毒的猪场引种,引种前需全面了解对方猪场猪群的健康状况,最好能采血样作病原及免疫抗体检测,了解猪群是否存在猪繁殖与呼

表 4 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-qPCR 检测导出数据表

反应模板编号	公司	目标	样本	Cq(值)	反应模板编号	公司	目标	样本	Cq(值)
A01	FAM	猪繁殖	1	0	D02	FAM	猪繁殖	12	0
A02	FAM	猪繁殖	9	0	D03	FAM	猪繁殖	20	0
A03	FAM	猪繁殖	17	0	D04	FAM	猪繁殖	阴性对照	0
A04	FAM	猪繁殖	阳性对照	23.33	E01	FAM	猪繁殖	5	0
B01	FAM	猪繁殖	2	0	E02	FAM	猪繁殖	13	0
B02	FAM	猪繁殖	10	0	E03	FAM	猪繁殖	21	0
B03	FAM	猪繁殖	18	0	F01	FAM	猪繁殖	6	0
B04	FAM	猪繁殖	阳性对照	23.53	F02	FAM	猪繁殖	14	0
C01	FAM	猪繁殖	3	0	F03	FAM	猪繁殖	22	0
C02	FAM	猪繁殖	11	0	G01	FAM	猪繁殖	7	0
C03	FAM	猪繁殖	19	0	G02	FAM	猪繁殖	15	0
C04	FAM	猪繁殖	阴性对照	0	H01	FAM	猪繁殖	8	0
D01	FAM	猪繁殖	4	0	H02	FAM	猪繁殖	16	0

表 5 猪繁殖与呼吸综合征病毒 PCR 野毒检测与 ELISA 免疫抗体检测结果对比

样品编号	ELISA 抗体检测结果	实时荧光 PCR 仪检测的结果	样品编号	ELISA 抗体检测结果	实时荧光 PCR 仪检测的结果
1	+	-	12	+	-
2	+	-	13	+	-
3	-	-	14	+	-
4	+	-	15	+	-
5	+	-	16	+	-
6	+	-	17	+	-
7	+	-	18	+	-
8	+	-	19	+	-
9	+	-	20	+	-
10	+	-	21	+	-
11	+	-	22	+	-

注：“+”代表阳性，“-”代表阴性。

吸综合征野毒及其他疫病感染。引入后,猪群必须严格隔离饲养观察 1 个月,隔离期满后,一定不要着急合群,首先要采血样进行病原及免疫抗体监测,一方面可及时发现阳性带毒猪,及时采取淘汰处理,另一方面,及时发现免疫空白猪,及时补打相应的疫苗,最终依据检测结果及猪群健康状况再确定合群。

2)制定科学的免疫程序,不可盲目照抄照搬。每个猪场猪群所在的地域、环境气候条件及饲养管理条件的不同,猪群受疫病威胁的种类、免疫获得抗体保护的情况及猪群亚健康的情况也有所不同,决定免疫程序有所不同,因此,科学的免疫程序,必须根据猪场猪群自身的疫病威胁实际情况,定期跟踪采血样或病料病原检测,长期跟踪不同猪群免疫

接种后的免疫抗体动态监测及母源抗体水平消长动态监测等试验结果,科学制定免疫程序或科学修订或调整免疫程序的依据,而不是简单地照抄照搬免疫程序。笔者提供以下关于高致病性蓝耳病的免疫程序,仅供参考。

①后备猪(后备母猪、后备公猪),配种前 1 个月,免疫 1 次猪高致病性蓝耳病疫苗,剂量 1 头份/头,只使用弱毒活苗,以后每季度加强免疫 1 次。

②母猪产后 6 d,配怀后 60 d 分别猪蓝耳病疫苗(使用灭活苗)接种 1 次,剂量 2 头份/头,其余每年春秋两防各接种 1 次。

③仔猪及育成猪。哺乳仔猪:14 日龄接种 1 次猪高致病性蓝耳病疫苗,剂量 1 头份/头;选育留下的育成猪 6 月龄再强化免疫 1 次。

④免疫接种注意事项:疫苗必须保证做到冷链保存;接种过程中,发现有病猪不应免疫,待康复后再补免;临产母猪或刚生产母猪不免,待产后 15 d 再补免;免疫时要求 1 头猪 1 个针头,以免交叉感染;接种时一定要确保每一头猪所免疫的有效剂量,发现出血药物渗出应及时补免。

3)日常做好生物安全措施。定期做好猪舍内外的常规消毒防疫工作,切断病原微生物的传播途径。

4)猪场必须舍得花费人力、物力、财力,坚持长期动态监测猪场猪群的健康状况及疫苗免疫效果。

定期采集每批免疫猪群血样,做病原检测,以便及时掌握猪群是否存在亚健康带野毒情况,及时淘汰阳性带毒猪;做免疫抗体水平动态监测,了解免疫抗体水平消长情况,掌握每批免疫对猪群不同年龄段的免疫效果,及时发现免疫空白猪,及时补

免,补免后抗体水平仍然不产生或抗体水平低的猪只,说明产生免疫抑制,应及时淘汰,对于猪群整体免疫抗体水平合格率低,应及时寻找原因,及时采取措施。

5) 药物治疗措施。

①及时发现、及时挖掘第一手资料,猪繁殖与呼吸综合征的发病初期,需要一线兽医有敏锐的洞察力和判断力,能做到及时发现、及时采取措施。发病初期临床表现为猪只出现便秘,眼角潮红、有眼屎,食欲不振;随着病程推移,病猪精神不振、不采食,体温升高到 40~41.5℃以上,病猪出现明显的腹式深呼吸,鼻孔流出白色黏稠胶冻状的鼻涕、病猪皮肤浅表出现融合性紫斑,主要表现在耳尖、肚皮、腹股沟、上唇等皮肤被毛浅层处;母猪出现流产、死胎、木乃伊胎、产弱仔等症状。必要时及时采样送实验室检测病原,以便确诊。

②防治措施。

A. 群防群治措施。

a. 及时更换饲料:发现猪便秘,饲料换成以青绿饲料为主,混合饲料为辅。

b. 饮水投药:饮水中上午加维生素 C、硫酸钠,下午加葡萄糖补充能量,连用 3~5 d。

c. 饲料拌药物:精饲料中拌土霉素原粉 350 g/t,饲料加板蓝根颗粒 1 000 g/t(即每小袋 100 g 拌料 100 kg),连用 3~5 d。

B. 对症治疗措施。对于不采食的病猪,用干扰素 5 mL 或白细胞介导素 5 mL+ 复方穿心莲注射液 10 mL+10 mL 板蓝根注射液混合一次肌注,2 次/d,第 2 天再用混感奇效 10 mL+ 氟苯尼考注射液 5 mL+ 硫酸卡拉霉素注射液 5 mL 混合一次肌注,2 次/d,

连用 2 d,同时,肌注 1 针止血敏 2~5 mL,能增强毛细血管抵抗力,降低毛细血管通透性,并能增强血小板聚集性和黏附性,促进血小板释放凝血活性物质,缩短凝血时间,达到止血效果,防止病猪肢体末端(如腹股沟、腹部、耳尖等)皮肤浅表毛细血管破裂出血并大面积融合,这一方法对于已经耳尖发紫、腹股沟大面积出血紫斑的病猪,紫斑消散明显。

参 考 文 献

- [1] TIAN K, YU X, ZHAO T, et al. Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of unique hallmark [J]. *PLoS One*, 2007, 2(6): e526.
- [2] TONG G Z, ZHOU Y J, HAO X F, et al. Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome, China [J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(9): 1434-1436.
- [3] 郭振华, 乔松林. 规模化猪场猪繁殖与呼吸综合征防控体会 [J]. *中国猪业*, 2016(5): 43-46.
- [4] 焦文强, 徐引弟, 王克领, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒、猪伪狂犬病病毒与猪流行性腹泻病毒混合感染的诊断 [J]. *养猪*, 2016(4): 121-123.
- [5] NEUMANN E J, KLIEBENSTEIN J B, JOHNSON C D, et al. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States [J]. *J Am Vet Med*, 2005, 227(3): 385-392.
- [6] 王红宝, 郭雪丽, 李红丽, 等. 猪链球菌与猪繁殖与呼吸综合征病毒混合感染的诊断研究 [J]. *养猪*, 2016(1): 113-116.
- [7] 马德慧, 马国文, 丁英, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病理损害与免疫抑制观察 [J]. *中国兽医科技*, 2001(6): 15-16.
- [8] 徐敏, 黎作华, 刘忠行, 等. 我国现阶段猪繁殖与呼吸综合征的免疫策略 [J]. *养猪*, 2013(5): 86-88.