

# 新沂市猪伪狂犬病的流行病学调查

王玉瑾 张大勇 牛莉 马孜琪

江苏省新沂市畜牧兽医站, 江苏新沂 221400

**摘要** 笔者对新沂市三新工程项目的 3 个示范基地场及 17 乡镇 90 个养殖场(户), 采集了 1 835 份猪血清及 98 份扁桃腺, 进行了伪狂犬病毒病原学、gE 抗体和 gB 抗体的监测和分析。试验结果表明, 共检出 gE 抗体阳性血清 114 份, 阳性率为 6.56%。其中 3 个示范场中, 有 2 个示范基地场猪群中检出 gE 抗体阳性, 其中 1 个场仅出现 1 头种公猪阳性, 另 1 个场阳性率为 8.06%; 非示范基地 825 份血样中, 共检出 gE 抗体阳性血清 48 份, 抗体阳性率为 5.81%。用 PCR 检测的 98 份样品, 有 3 份检测出病毒核酸。从检测结果分析, 新沂市辖区范围内生猪有伪狂犬野毒感染或因母本感染野毒导致母源抗体的存在。

**关键词** 猪; 伪狂犬病; gE 抗体; gB 抗体; 母源抗体

新沂市是全国生猪养殖、调运大县, 2015 年生猪饲养量达到 157.5 万头, 出栏 106.3 万头, 年出栏 1 000 头以上的场(户)达到 102 个, 其中年出栏万头猪场 5 个, 年出栏 5 000 头以上的猪场有 15 个。猪伪狂犬病(PR)是由伪狂犬病毒(PRV)引起的家畜和多种野生动物共患的传染病, 该病于 1813 年最先发现在美国, 1912 年将其分开定为一种独立的疾病。目前, 在世界上所有养猪地区都有发生。我国自 1947 年首次报道后, 已有 20 多个省、市、自治区发生。研究发现, 该病是生猪主要疫病之一, 给养猪业造成巨大经济损失。伪狂犬病动物感染谱非常广, PRV 是动物感染种类多和致病性强的病毒之一, 病猪、带毒猪、带毒鼠类为该病的重要传染源, 易感猪主要通过直接接触、间接接触面发生传染, 一旦在大型猪场发生, 很难根除。2 周龄内仔猪大多发病死亡, 特别是 1 周内发病死亡率几乎为 100%; 育肥猪表现为呼吸道症状、增重迟缓; 母猪感染后主要引起繁殖障碍、流产、死胎、木乃伊胎以及仔猪的高病死率。

目前, 多种血清学方法可用于伪狂犬病的诊

断, 如 ELISA、中和试验、补体结合试验等, 其中 ELISA 方法操作简便快速、敏感性高、特异性强, 同时不同种类的试剂盒能检测出免疫抗体和野毒抗体, 而被广泛应用于血清流行病学调查, 为了解新沂市猪伪狂犬病的流行情况, 结合新沂市畜牧兽医站的三新工程项目, 笔者在新沂市的 93 个场(户), 采集了 1 835 头份血清, 利用 gB、gE 抗体检测试剂盒及实时荧光定量 PCR 方法进行了免疫抗体、野毒抗体及病原核酸的检测, 为不同饲养规模和模式的猪场提供一个实用、经济、简单的伪狂犬病免疫、净化方案, 以供生产参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验场所选择

1) A 场为母猪存栏 500 头以上猪场, 其中种公猪 15 头; B 场为母猪存栏 450 头猪场, 其中种公猪 9 头(部分种公猪精液为种猪人工授精站提供); C 场为母猪存栏 0~100 头猪场, 其中种公猪 3 头(种公猪精液为种猪供精站提供)。

2) 市下辖区内共有 17 个镇、街道办, 共选出 90

收稿日期: 2017-10-10

基金项目: 江苏省三新工程项目(SXGC[2016]059)

王玉瑾, 女, 1968 年生, 高级兽医师。

[18] KLUGMAN K P, MILLS A C, MACR L. Time from illness onset to death, 1918 influenza and pneumococcal pneumonia[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2009, 15(2): 346.

[19] TSUCHIYA Y, SATO S. Epidemiological study of *Streptococcus suis* isolated from pigs brought to slaughterhouse [J]. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, 2009, 62(7): 563-567.

户,18 个场存栏母猪 100 头以上,另 37 个场(户)存栏母猪 50~100 头,其他存栏母猪 50 头以下。

### 1.2 试验方法

采用问卷调查。针对村级防疫员及不同规模场,共发放调查表 475 份,其中村级防疫员 274 份,养殖场 201 份,问卷调查表主要包括以下 5 个内容:①基本情况。包括名称、周边环境、猪场结构、防疫消毒设施等;②养殖情况。包括存栏、产出类型、年出栏数、饲养模式等;③免疫情况。包括猪伪狂犬病疫苗厂家、疫苗类型等;④防疫管理。包括人员管理、车辆管理、消毒措施、生物安全防控措施等;⑤猪伪狂犬病发病情况。包括近 3 年的发病情况、发病高峰各年龄段发病和死亡情况、发病猪的症状等。

### 1.3 野毒抗体、免疫抗体的检测

1)材料。血清准备:采集试验场所有后备猪,种公猪以及能繁母猪的血液,分离血清;抗体检测试剂盒:猪伪狂犬病野毒抗原(GE)ELISA 诊断试剂盒及猪伪狂犬病抗体(GB)ELISA 诊断试剂盒均购自美国 IDEXX 生物科技有限公司。

2)仪器设备。BIO-RAD 酶标仪和 IKA 多(单)通道移液器、恒温培养箱等。

3)抗体检测方法。用样品稀释液将被检血清进行 2 倍稀释,分别在 2 个或 3 个孔内加入 2 倍稀释的阴性对照和阳性对照各 100 μL,其余孔加入稀释过的样品,18~26 °C 下孵育 60 min,用大约 300 μL 洗涤液洗板 3~5 次;每孔加入 100 μL 酶标抗体 18~26 °C 下孵育 20 min,洗板,每孔加入 100 μL TMB 底物液,孵育 15 min,每孔加入 100 μL 终止液,测量并且记录样品和对照的 OD<sub>650</sub>。

4)计算。①阴性平均值;②阳性平均值;③试验有效性判定:阴性平均 - 阳性平均 ≥ 0.300;④S/N=样品值 / 阴性平均值。结果判定,阴性:S/N > 0.70,可疑:0.60 < S/N ≤ 0.70,阳性:S/N ≤ 0.60

### 1.4 病原核酸的检测

1)材料。待检材料,活体采集猪的扁桃腺。试剂:实时荧光定量 PCR 检测试剂盒为江苏发士达科技有限公司生产。

2)设备。实时荧光定量 PCR 仪,IKA 多(单)通道移液器等。

3)样品处理。每份样品分别处理,使用手持式组织研磨工具进行研磨破碎,匀浆液待测。

4)结果判定。试验有效判定:阴性对照无 CT 值

并且无扩增曲线;阳性对照 CT 值应小于 28,并出现特定的对数扩增曲线;阴性判定:无 CT 值并且无扩增曲线;阳性判定:CT 值小于等于 30 且出现特定的扩增曲线;可疑判定:CT 值大于 30 小于 40 的样本判为可疑。

## 2 结果与分析

1)流行病学调查问卷结果分析。由调查问卷回收结果可知(表 1),防疫员中涉及发病份数是 204 份,阳性率 74.5%;养殖场中涉及发病份数是 146 份,阳性率 78.9%。

表 1 调查问卷回收结果

发放类型	发放数	回收数	回收率%	涉及发病份数	阳性率/%
防疫员	274	274	100	204	74.5
养殖场	201	185	92	146	78.9

2)猪伪狂犬免疫抗体普查结果。对 3 个示范场及 90 个规模场(户)的血清,用猪伪狂犬 gB 抗体检测试剂盒(IDEXX)进行 gB 抗体检测,其检测结果见表 2。免疫过猪伪狂犬疫苗的场(户)有 78 户,猪伪狂犬 gB 抗体检测阳性率超过 90%(91.1%);未免疫的场(户)有 15 户,猪伪狂犬 gB 抗体检测阳性率较低(5.9%),总体阳性率 83.9%。

表 2 血清抗体检测结果

免疫情况	场(户)数	血清数	阳性数	阳性率/%
免疫	78	1 683	1 533	91.1
未免疫	15	152	9	5.9
合计	93	1 835	1 542	83.9

从规模猪场血清抗体检测结果可知(表 3),通过检测已免疫过的猪场血清抗体水平发现,1 568 份血清中有 1 448 份为阳性,阳性率 92.3%;未免疫的场,100 份血清中仅有 7 份抗体阳性,阳性率低至 7%,总体阳性率 87.2%。

表 3 规模猪场血清抗体检测结果

免疫情况	场数	血清数	阳性数	阳性率/%
免疫	55	1 568	1 448	92.3
未免疫	5	100	7	7.0
合计	60	1 668	1 455	87.2

由表 4 可知,散养猪中免疫的户数有 23 户,检测的 115 份血清中有阳性数 85 份,阳性率 73.9%;未免疫的户数有 10 户,检测的 52 份血清中有阳性数 2 份,阳性率 3.8%,总体阳性率 52.1%。

3)猪伪狂犬野毒抗体检测。对 2 个示范场及 90

个规模场(户)的血清,用猪伪狂犬 gE 抗体检测试剂盒(IDEXX)进行 gE 抗体检测,由于使用的免疫疫苗为基因缺失苗,所以检测出 gE 抗体说明猪群感染过野毒。由表 5 可知,规模场有 60 户,检测了 1 570 份血清,阳性数 89 份,阳性率 5.7%;散养户有 33 户,检测了 167 份血清,阳性数 25 份,阳性率 14.97%,总体阳性率 6.56%。

表 4 散养猪血清抗体检测结果

免疫情况	户数	血清数	阳性数	阳性率 /%
免疫	23	115	85	73.9
未免疫	10	52	2	3.8
合计	33	167	87	52.1

表 5 野毒抗体检测结果

猪场类型	场(户)数	血清数	阳性数	阳性率 /%
规模场	60	1 570	89	5.70
散养户	33	167	25	14.97
合计	93	1 737	114	6.56

由双基因缺失苗示范场 PCR 法检测结果可知(表 6),对 1 户双基因缺失苗示范场进行 PCR 法检测了 98 份扁桃体,阳性数 3 份,阳性率 3.1%。

表 6 双基因缺失苗示范场 PCR 法检测结果

猪场类型	场数	扁桃体数	阳性数	阳性率 /%
规模场	1	98	3	3.1

### 3 讨论

1)从 78 个接种过伪狂犬苗的免疫猪场(户)采集了 1 568 份血清,抗体阳性率比未接种的猪群明显高,可达 92.3%。从养猪场(户)规模分布看出,规

模化养殖场比散养户更注重疫苗接种工作,PR 疫苗免疫规模场占所调查的所有规模化养殖场的 83.8%,而散养户只有 69%使用疫苗。同样对于免疫猪群,规模场的免疫抗体阳性率远高于散养户,说明疫苗接种是防控 PR 的有效手段。

2)本次采集了 15 个未免疫场(户)的共 152 份血清样品中,有 9 份出现免疫抗体阳性,占 5.92%,有可能是母猪的母源抗体经过乳汁传递给新生仔猪造成的,新生仔猪吃含有免疫抗体的初乳后,血清中的抗体水平迅速升高,采集时会造成未免疫但有免疫抗体的存在。

3)从野毒抗体的检测结果分析,规模猪场的野毒抗体阳性率(5.7%)远低于散养户(14.97%),由于散养猪一般都是购入猪苗进行育肥,但有可能每批猪都是从不同的地方引进,没有隔离直接混群饲养,消毒措施不严格,易造成猪群的感染。而规模猪场饲养管理措施到位,坚持自繁自养,实行全进全出,因此规模猪场的感染率较低。

4)任何一种疾病暴发都可以给猪场带来严重危害,都会使猪场的经济受到重创。猪伪狂犬病(PR)广泛分布于世界范围内,特别是在猪群密集的地区易发病。PRV 与蓝耳病毒(PRRSV)、圆环病毒(PCV)、猪瘟病毒(HCV)、口蹄疫病毒(FMDV)等协同作用时,更易引起疫苗免疫失败。因此,不同饲养规模和模式的猪场根据本场的疫病流行特点和造成 PR 暴发的原因,结合生产实施采取综合措施来控制 PRV,才能真正做到清内源和防外源。

### 入冬养牛注意事项

1)粗料切短、水洗、氯化处理。将粗料在喂前进行水洗,切至 8~10 cm。如果粗料喂牛营养不足,可对粗料进行氯化处理,方法是按每 50 kg 切短的粗料拌入尿素溶液 25 L,然后装入氯化池内,逐层踏实,池口用塑料薄膜封严。经氯化发酵 1 至 1 个半月后,将粗料开池放氨,即可用于喂牛。

2)食量巧安排。冷天不但白天要喂好牛,夜间还要加喂一槽,日喂草 13~15 kg。饲草要做到多样化,如麦草、稻草配青干草、花生秧、苜蓿草等。

3)添加微量元素。牛正常生长发育需要的钙为饲料的 0.4,磷为饲料的 0.3。如果出现钙不足,对单纯喂粗料的牛,每天需补钙 10 g、磷 5 g、食盐 30~50 g,并添加适量的复合微量元素添加剂。

4)饮水加温。冷天不能给牛饮冷水,应饮 25 ℃ 的温水,再在温水中加点食盐、豆末。

5)刮刷牛体。牛舍内的粪便应勤打扫、勤垫干碎草和土,防止牛蹄患病。每天把牛牵出去晒太阳,用刮子或刷子刷刮牛体。

来源:中国畜牧网