

实验室检测诊断在重大猪病 防控与净化中的重要作用

周绪斌

北京普方生物科技有限公司

世界养猪业的成本

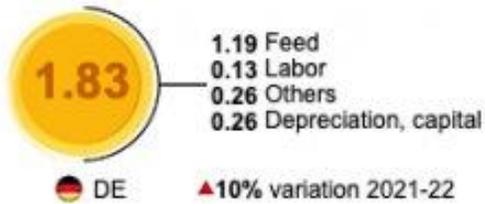
INTERPIG 2022 | PRODUCTION COSTS PER COMPONENT, IN USD PER KG LIVE



*Based on data in the InterPIG 2023 table.

*The InterPIG average also includes estimates for Austria, Belgium, Finland, France, Great Britain, Hungary, Ireland, Italy, and Sweden.

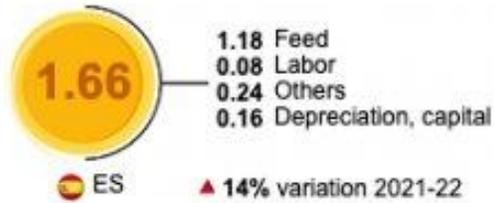
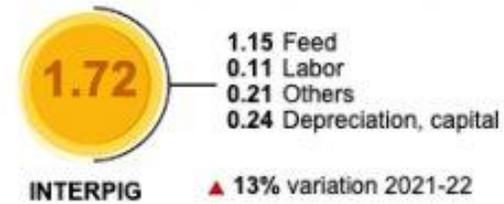
*The difference between the total cost and the sum of the cost items for Germany, the Netherlands, and the InterPIG average is due to the rounding of the values.



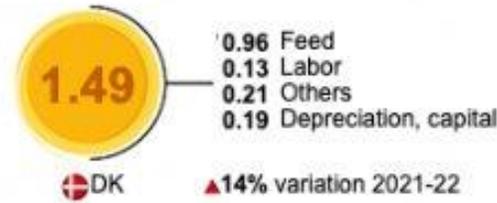
德国



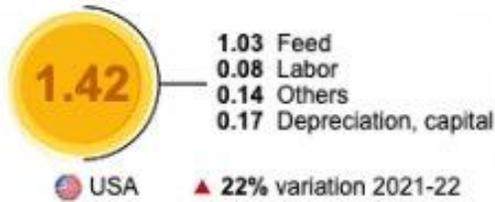
荷兰



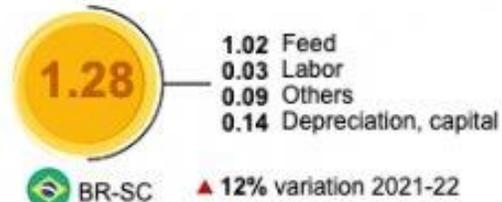
西班牙



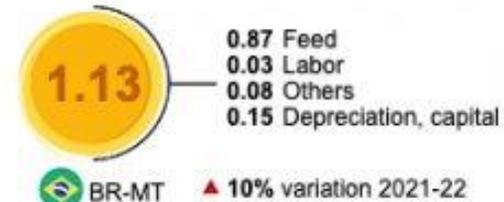
丹麦



美国



巴西-圣卡塔林娜州



巴西-马托格罗索州

主要生产参数

INTERPIG 2022 | MAIN PRODUCTION INDEXES



*Based on data in the InterPIG 2023 table and Agriness 2021 for sow productivity in Brazil

*The InterPIG average also includes estimates for Austria, Belgium, Finland, France, Great Britain, Hungary, Ireland, Italy, and Sweden.

SOW PRODUCTIVITY

Piglets sold/year



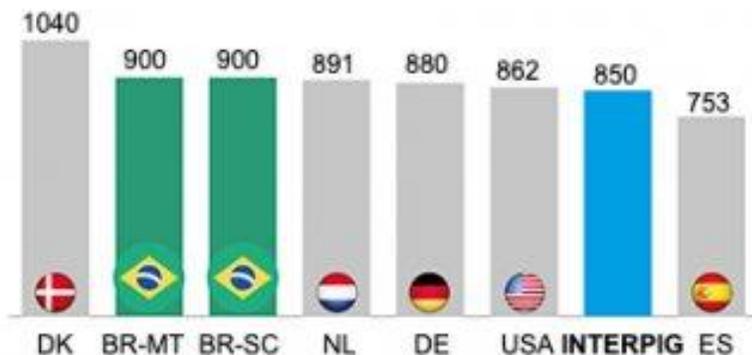
SLAUGHTER WEIGHT

kg live



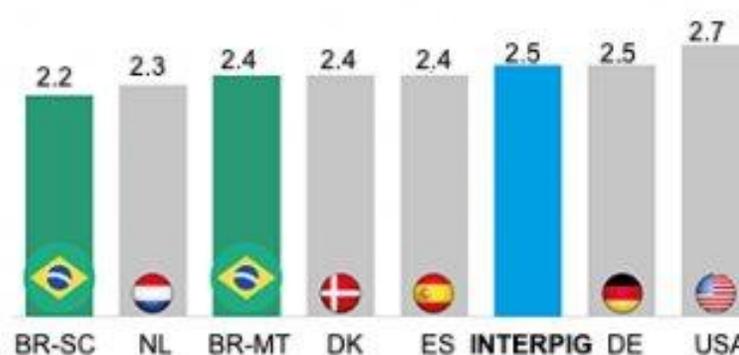
FINISHING WIEGT GAIN

g/day



FEED CONVERSION

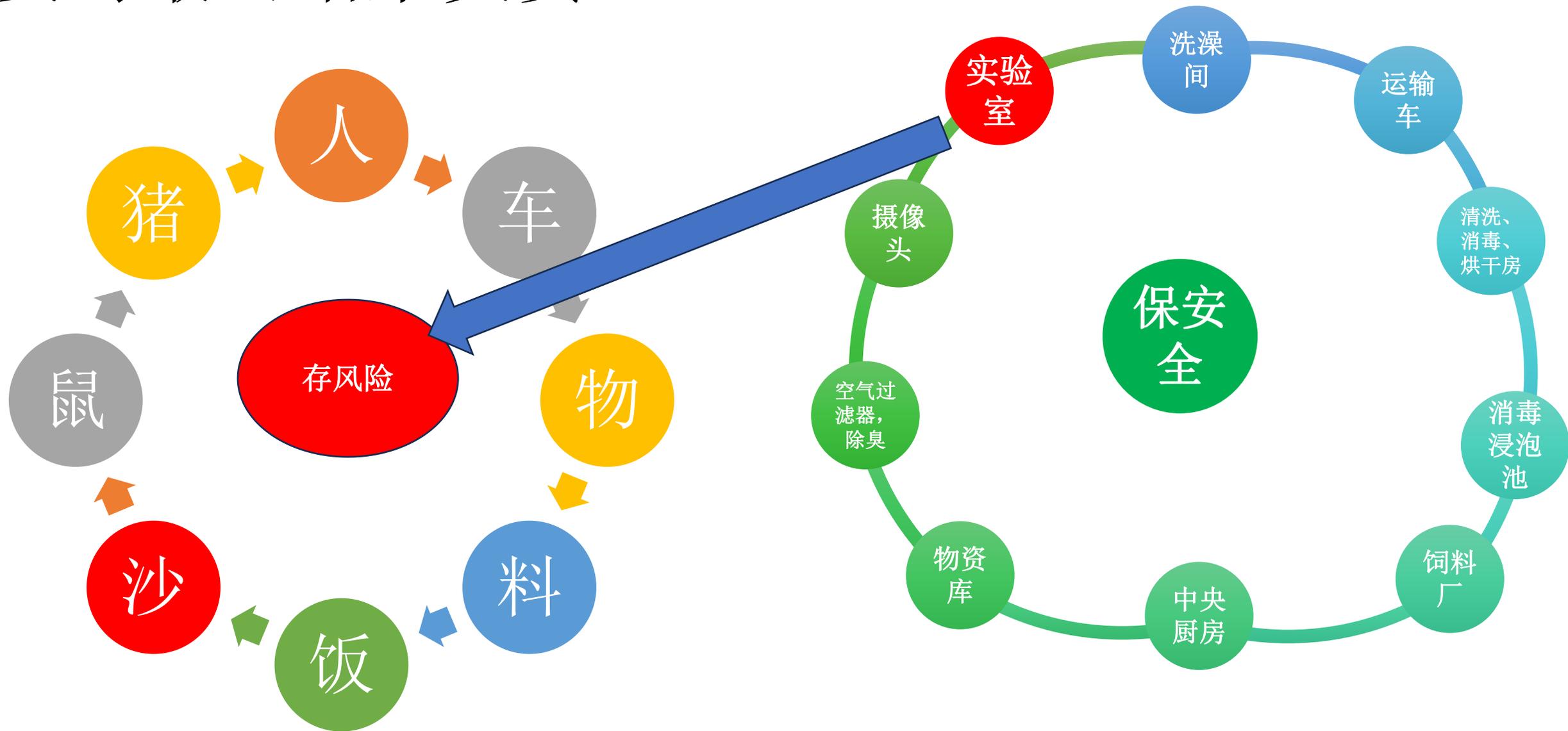
8 kg to 120 kg



最大的损失是健康的损失，要降本首先要健康



生物安全是底线，生物安全是个系统， 要对最终结果负责



猪场实验室自检为非洲猪瘟防控起到了革命性的作用



2019.4.16



农业农村部办公厅关于加强养殖环节非洲猪瘟疫情排查工作的通知

发布时间：2019年04月16日

字体：[大 中 小]

各省、自治区、直辖市农业农村（农牧、畜牧兽医）厅（局、委），新疆生产建设兵团农业农村局：

为贯彻落实中央决策部署，进一步加强非洲猪瘟防控，强化养殖环节疫情排查，提高疫情早期发现能力，结合当前防控实际，鼓励生猪养殖场户自行开展非洲猪瘟检测。现就有关事项通知如下。

一、充分认识养殖环节非洲猪瘟排查的重要意义。当前，非洲猪瘟病毒已在全国形成一定污染面，我国养猪场户防疫意识普遍薄弱，防疫水平整体低下，清洗消毒措施难以完全落实到位，车辆人员机械带毒传播疫情问题不容忽视，使用餐厨剩余物喂猪行为禁而不绝，养殖环节疫情传播风险持续存在。强化养殖环节非洲猪瘟排查，是当前疫情防控的关键措施，是及时发现和消除风险的重要手段，有利于非洲猪瘟疫情“早发现、早报告、早处置”，有利于降低运输、屠宰、生产加工等下游环节疫情传播风险。各级畜牧兽医部门要切实提高思想认识，强化政策宣传，指导养猪场户强化非洲猪瘟疫情排查，共同营造群防群控的良好氛围。

二、鼓励规模猪场和种猪场开展非洲猪瘟自检。各级畜牧兽医部门要将非洲猪瘟疫情排查作为当前防控工作的重要内容，鼓励规模猪场、种猪场配置检测仪器设备，规范使用经我部批准或经中国动物疫病预防控制中心比对符合要求的检测方法，自行开展非洲猪瘟检测，提高排查工作的针对性和有效性；要加大培训力度，指导规模猪场、种猪场兽医专业人员提高检测水平；要积极协调发改、财政等部门，对规模猪场、种猪场自行开展非洲猪瘟检测等给予适当经费支持。当地畜牧兽医部门要对养猪场户开展非洲猪瘟检测提供技术服务，鼓励养猪场户委托兽医社会化服务机构开展检测工作。

三、强化疫情处置和阳性样品管理。经养猪场户自行检测或兽医社会化服务机构受委托检测为疑似非洲猪瘟病毒核酸阳性的，应当依法报告当地畜牧兽医部门，并按要求规范做好样品送检和确诊。在样品确诊前，养猪场户要严格按照生猪隔离和风险物品管理，不得擅自处置。经确诊为非洲猪瘟病毒核酸阳性的，应当依法报告有关信息，按照《非洲猪瘟疫情应急实施方案（2019年版）》要求，规范做好应急处置，并按照规定做好阳性样品处置工作，不得留存阳性样品，不得将阳性样品转送其他单位和个人。未经我部批准，任何单位和个人不得分离非洲猪瘟病毒，不得进行动物感染试验。

四、加强疫情流行病学调查。针对新发非洲猪瘟疫情，各级畜牧兽医部门要进一步强化流行病学调查工作，及时查明疫情可能来源和可疑风险去向，严格处置疫源和风险物品，涉及其他地区的，要及时通报有关地区畜牧兽医部门组织开展排查和流行病学调查；要对具有流行病学关联的风险地点和产品进行采样检测；要核实清楚全部线索、完整收集证据、有效处置风险。

五、严格落实防疫主体责任。各级畜牧兽医部门要督促养猪场户进一步落实防疫主体责任，主动加强动物防疫设施建设，配备非洲猪瘟检测仪器设备，配齐配足消毒药品和其他配套物资，做好圈舍、场地、用具、进出人员车辆等清洗消毒和废弃物无害化处理；要强化生物安全管理，落实封闭饲养、全进全出等饲养管理制度，禁止无关人员和车辆进入场区；严格落实栅栏隔离措施和空栏管理制度，避免交叉污染；要组织开展专项排查整治，督促落实禁止使用餐厨剩余物喂猪措施，防范疫情传播风险。

农业农村部办公厅关于加强养殖环节非洲猪瘟疫情排查工作的通知

发布时间：2019年04月16日

字体：[大 中 小]

各省、自治区、直辖市农业农村（农牧、畜牧兽医）厅（局、委），新疆生产建设兵团农业农村局：

为贯彻落实中央决策部署，进一步加强非洲猪瘟防控，强化养殖环节疫情排查，提高疫情早期发现能力，结合当前防控实际，鼓励生猪养殖场户自行开展非洲猪瘟检测。现就有关事项通知如下。

一、充分认识养殖环节非洲猪瘟排查的重要意义。当前，非洲猪瘟病毒已在全国形成一定污染面，我国养猪场户防疫意识普遍薄弱，防疫水平整体低下，清洗消毒措施难以完全落实到位，车辆人员机械带毒传播疫情问题不容忽视，使用餐厨剩余物喂猪行为禁而不绝，养殖环节疫情传播风险持续存在。强化养殖环节非洲猪瘟排查，是当前疫情防控的关键措施，是及时发现和消除风险的重要手段，有利于非洲猪瘟疫情“早发现、早报告、早处置”，有利于降低运输、屠宰、生产加工等下游环节疫情传播风险。各级畜牧兽医部门要切实提高思想认识，强化政策宣传，指导养猪场户强化非洲猪瘟疫情排查，共同营造群防群控的良好氛围。

二、鼓励规模猪场和种猪场开展非洲猪瘟自检。各级畜牧兽医部门要将非洲猪瘟疫情排查作为当前防控工作的重要内容，鼓励规模猪场、种猪场配置检测仪器设备，规范使用经我部批准或经中国动物疫病预防控制中心比对符合要求的检测方法，自行开展非洲猪

鼓励规模猪场和种猪场开展非洲猪瘟自检

- 二、鼓励规模猪场和种猪场开展非洲猪瘟自检。各级畜牧兽医部门要将非洲猪瘟疫情排查作为当前防控工作的重要内容，鼓励规模猪场、种猪场配置检测仪器设备，规范使用经我部批准或经中国动物疫病预防控制中心比对符合要求的检测方法，自行开展非洲猪瘟检测，提高排查工作的针对性和有效性；要加大培训力度，指导规模猪场、种猪场兽医专业人员提高检测水平；要积极协调发改、财政等部门，对规模猪场、种猪场自行开展非洲猪瘟检测等给予适当经费支持。当地畜牧兽医部门要对养猪场户开展非洲猪瘟检测提供技术服务，鼓励养猪场户委托兽医社会化服务机构开展检测工作。



严格落实防疫主体责任

- 五、严格落实防疫主体责任。各级畜牧兽医部门要督促**养猪场户进一步落实防疫主体责任**，主动加强动物防疫设施建设，**配备非洲猪瘟检测仪器设备**，配齐配足消毒药品和其他配套物资，做好圈舍、场地、用具、进出人员车辆等清洗消毒和废弃物无害化处理；要强化生物安全管理，落实封闭饲养、全进全出等饲养管理制度，禁止无关人员和车辆进入场区；严格落实补栏隔离措施和空栏管理制度，避免交叉污染；要组织开展专项排查整治，督促落实禁止使用餐厨剩余物喂猪措施，防范疫情传播风险。

非洲猪瘟精准剔除的法规依据

《非洲猪瘟疫情应急实施方案》



www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202104/t20210429_6367009.htm

中华人民共和国农业农村部
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China

政府信息公开

请输入关键字 高级检索

索引号: 07B260371202100189 信息所属单位: 畜牧兽医局

信息名称: 农业农村部关于印发《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第五版)》的通知

文号: 农牧发〔2021〕7号 生效日期: 发布日期: 2021年04月29日

内容概述: 为适应非洲猪瘟防控新形势新要求,强化常态化防控,指导各地科学规范处置疫情,我部在总结前期防控实践经验的基础上,结合当前防控实际,组织制定了《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第五版)》,现印发你们,请遵照执行。《非洲猪瘟疫情应急实施方案(2020年第二版)》及之前版本同时废止。

农业农村部关于印发《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第五版)》的通知

发布时间: 2021年04月29日 字体: [大中小]

各省、自治区、直辖市及计划单列市农业农村(农牧)、畜牧兽医局(局、委)、新疆生产建设兵团农业农村局,部属有关事业单位:

为适应非洲猪瘟防控新形势新要求,强化常态化防控,指导各地科学规范处置疫情,我部在总结前期防控实践经验的基础上,结合当前防控实际,组织制定了《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第五版)》,现印发你们,请遵照执行。《非洲猪瘟疫情应急实施方案(2020年第二版)》及之前版本同时废止。

农业农村部
2021年3月17日

农业农村部文件

农牧发〔2021〕7号

农业农村部关于印发《非洲猪瘟疫情 应急实施方案(第五版)》的通知

各省、自治区、直辖市及计划单列市农业农村(农牧)、畜牧兽医局(局、委)、新疆生产建设兵团农业农村局,部属有关事业单位:

为适应非洲猪瘟防控新形势新要求,强化常态化防控,指导各地科学规范处置疫情,我部在总结前期防控实践经验的基础上,结合当前防控实际,组织制定了《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第五版)》,现印发你们,请遵照执行。《非洲猪瘟疫情应急实施方案(2020年第二版)》及之前版本同时废止。

农业农村部
2021年3月17日

— 1 —

(一) 疫点划定与处置

1. 疫点划定。对具备良好生物安全防护水平的规模养殖场,发病猪舍与其他猪舍有效隔离的,可将发病猪舍划为疫点;发病猪舍与其他猪舍未能有效隔离的,以该猪场为疫点,或以发病猪舍及流行病学关联猪舍为疫点。

对其他养殖场(户),以病猪所在的养殖场(户)为疫点;如已出现或具有交叉污染风险,以病猪所在养殖场(户)和流行病学关联场(户)为疫点。

对放养猪,以病猪活动场地为疫点。

— 9 —

在运输过程中发现疫情的,以运载病猪的车辆、船只、飞机等运载工具为疫点。

在牲畜交易和隔离场所发生疫情的,以该场所为疫点。

在屠宰过程中发生疫情的,以该屠宰加工场所(不含未受病毒污染的肉制品生产加工车间、冷库)为疫点。

2. 应采取的措施。县级人民政府应依法及时组织扑杀疫点内的所有生猪,并参照《病死及病害动物无害化处理技术规范》等相关规定,对所有病死猪、被扑杀猪及其产品,以及排泄物、

实验室检测诊断体系



实验室检测在防控非洲猪瘟中的重要作用

查风险
不进场

早发现
快清除

少损失
快补栏

人、车、物、
料、猪、沙

口鼻样：CT>36
不死猪
未扩散

彻底灭毒
可以复养
不再复发

通过伪狂犬疫苗对监控洗澡效果

编号	gH CT值	混样
阴性对照	阴性	
阳性对照	25.24	
A洗澡前	38.77	1
A洗澡后	阴性	1
B洗澡前	37.13	1
B洗澡后	40.22	1
C洗澡前	40.06	1
C洗澡后	阴性	1
D洗澡前	38.48	1
D洗澡后	阴性	1
E洗澡前	37.52	1
E洗澡后	40.42	1

- 洗澡前涂抹伪狂犬疫苗到手、脸、头发上
- 洗澡后一部分人依然能够检测到病毒
- 洗澡一部分靠自觉，还有一部分靠监督检查

From: 河南新航道食品



有效洗澡

车辆污染

检测日期	检测对象	CT值	合样
4.10	车轮, 车身, 驾驶室	41.94	3
4.13	车厢, 驾驶室	42.09	2
4.27	驾驶室, 车厢	43.81	2
4.29	驾驶室	42.91	1



检测日期	检测对象	CT值	合样
11.8	阴性对照		
	阳性对照	27.12	
11.8	A车身	34.41	1
	A司机	阴性	1
	A车轮	33.92	1
	B车身	36.8	1
	B司机	34.67	1
	B车轮	39.91	1
	C车身	阴性	1
	C司机	36.71	1
	C车轮	36.41	1
	D车身	36.18	1
	D司机	33.26	1
	D车轮	36.48	1
	D车身	阴性	1
	D司机	40.27	1
	D车轮	38.91	1

弱阳性-真阳性还是假阳性？

重复检测，合样分拆检测应能重复，是**真污染**

编号	CT值	混样	备注
阴性对照	阴性		
阳性对照	28		
B8: A排, B排, C排 环境, 治疗工具, 过道, 风机	阴性	6	
B7: A排, B排, C排 环境, 风机, 林帅印, 过道, 治疗工具	阴性	7	
1652① 车尾, 轮胎, 车身, 司机	44.07	4	
1053② 轮胎, 车身, 司机, 车尾	44.35	4	
C人员1, C人员1, 过道	阴性	3	
BSC9死-6 口鼻	阴性	1	

编号	CT值	混样	备注
阴性对照	阴性		
阳性对照	27.32		
1652① 车尾	阴性	1	分测
1652① 轮胎	38	1	分测
1652① 车身	阴性	1	分测
1652① 司机	阴性	1	分测
1053② 轮胎	阴性	1	分测
1053② 车身	阴性	1	分测
1053② 司机	43.34	1	分测
1053② 车尾	阴性	1	分测

如果车轮污染是环境问题，如果驾驶室、司机污染是管理问题

物资污染

样本	检测结果	合样
阴性对照	阴性	
阳性对照	27.69	
水果, 兽药, 液化器罐	40.53	4
精液包装	阴性	3



风沙粉尘



H2: 治疗后人员, 工具; H3疫苗后: 工具, 人员; H4过道	阴性	5	
产房围墙	40.44	1	内参: 33.32
配怀围墙	阴性	1	内参: 31.53
后备围墙	阴性	1	内参: 28.35

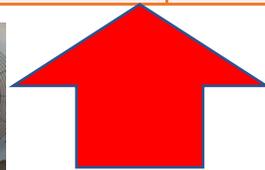
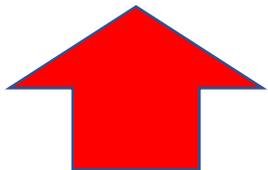
编号	CT值	混样
阴性对照	阴性	
阳性对照	30.27	
Y小号风机1	41.24	1
Y小号风机2	38.2	1

在北方病毒确实会经过空气或粉尘传入场内

A	B	C	D
1	1	1	1
2	2	2	2
3	3	3	3
4	4	4	4
5	5	5	5
6	6	6	6
7	7	7	7
8	8	8	8
9	9	9	9
10	10	10	10
11	11	11	11
D2, 38.74	12	12	12
D1, 39.71	13	13	13
14	D2, 38.47/40.24	D2, 38.38	14
D1, 20.38/23.34	D2, 37.24	15	15

口鼻样

口鼻+血样



饲料污染

首例阳性

F3门把手	阴性	1	
F3过道	36.07	1	
F3(1)人员胶鞋	42.75	1	
F3(2)人员胶鞋	40.09	1	
F3换鞋框	阴性	1	
P1D21喇叭口环境	阴性	1	
P1D21 口鼻	阴性	1	
P1D21下料口	阴性	1	
P1H26 口鼻	阴性	1	
P1H26喇叭口环境	阴性	1	
P1H26下料口	阴性	1	
P1X6 口鼻	29.8	1	
P1X6喇叭口环境	34.22	1	
P1X6下料口	阴性	1	
P1过道	阴性	1	
P1天窗	阴性	1	
P1风机	阴性	1	
P1胶鞋	阴性	1	
P1水帘过道	阴性	1	



饲料的污染-北方可能的大问题，污染是随机的，不确定的，不一定是大面积的

- 原料污染
- 仓库储存污染
- 加工过程污染
- 制粒二次污染
- 灌装污染
- 运输污染
- 装卸污染
- 料塔，管线维修污染



病毒的变化

• 2018-2019: 基因2型野毒

Emerging Microbes & Infections
 2019, VOL. 8
<https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1590128>



OPEN ACCESS 

Replication and virulence in pigs of the first African swine fever virus isolated in China

Dongming Zhao^{a*}, Renqiang Liu^{a*}, Xianfeng Zhang^{b*}, Fang Li^{a*}, Jingfei Wang^a, Jiwen Zhang^a, Xing Liu^a, Lulu Wang^a, Jiaer Zhang^b, Xinzhou Wu^b, Yuntao Guan^b, Weiye Chen^a, Xijun Wang^a, Xijun He^b and Zhigao Bu^{a,b}

^aState Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin, People's Republic of China; ^bNational High Containment Laboratory for Animal Diseases Control and Prevention, Harbin, People's Republic of China

ABSTRACT

African swine fever (ASF) entered China in August 2018 and rapidly spread across the entire country, severely threatening the Chinese domestic pig population, which accounts for more than 50% of the pig population worldwide. In this study, an ASFV isolate, Pig/Heilongjiang/2018 (Pig/HLJ/18), was isolated in primary porcine alveolar macrophages (PAMs) from a pig sample from an ASF outbreak farm. The isolate was characterized by using the haemadsorption (HAD) test, Western blotting and immunofluorescence, and electronic microscopy. Phylogenetic analysis of the viral p72 gene revealed that Pig/HLJ/18 belongs to Genotype II. Infectious titres of virus propagated in primary PAMs and pig marrow macrophages were as high as $10^{7.2}$ HAD₅₀/ml. Specific-pathogen-free pigs intramuscularly inoculated with different virus dosages at $10^{3.5}$ – $10^{6.5}$ HAD₅₀ showed acute disease with fever and haemorrhagic signs. The incubation periods were 3–5 days for virus-inoculated pigs and 9 days for contact pigs. All virus-inoculated pigs died between 6–9 days post-inoculation (p.i.), and the contact pigs died between 13–14 days post-contact (p.c.). Viremia started on day 2 p.i. in inoculated pigs and on day 9 p.c. in contact pigs. Viral genomic DNA started to be detected from oral and rectal swab samples on 2–5 days p.i. in virus-inoculated pigs, and 6–10 days p.c. in contact pigs. These results indicate that Pig/HLJ/18 is highly virulent and transmissible in domestic pigs. Our study demonstrates the threat of ASFV and emphasizes the need to control and eradicate ASF in China.

第 34 卷 第 6 期
 2018 年 11 月

病 毒 学 报
 CHINESE JOURNAL OF VIROLOGY

Vol. 34 No. 6
 November 2018

中国首例非洲猪瘟诊断研究

王颖¹, 缪发明¹, 陈腾¹, 周鑫韬¹, 李楠¹, 吕宗吉²,
 张静远¹, 刘晔¹, 张国军³, 张守峰^{1*}, 扈荣良^{1*}

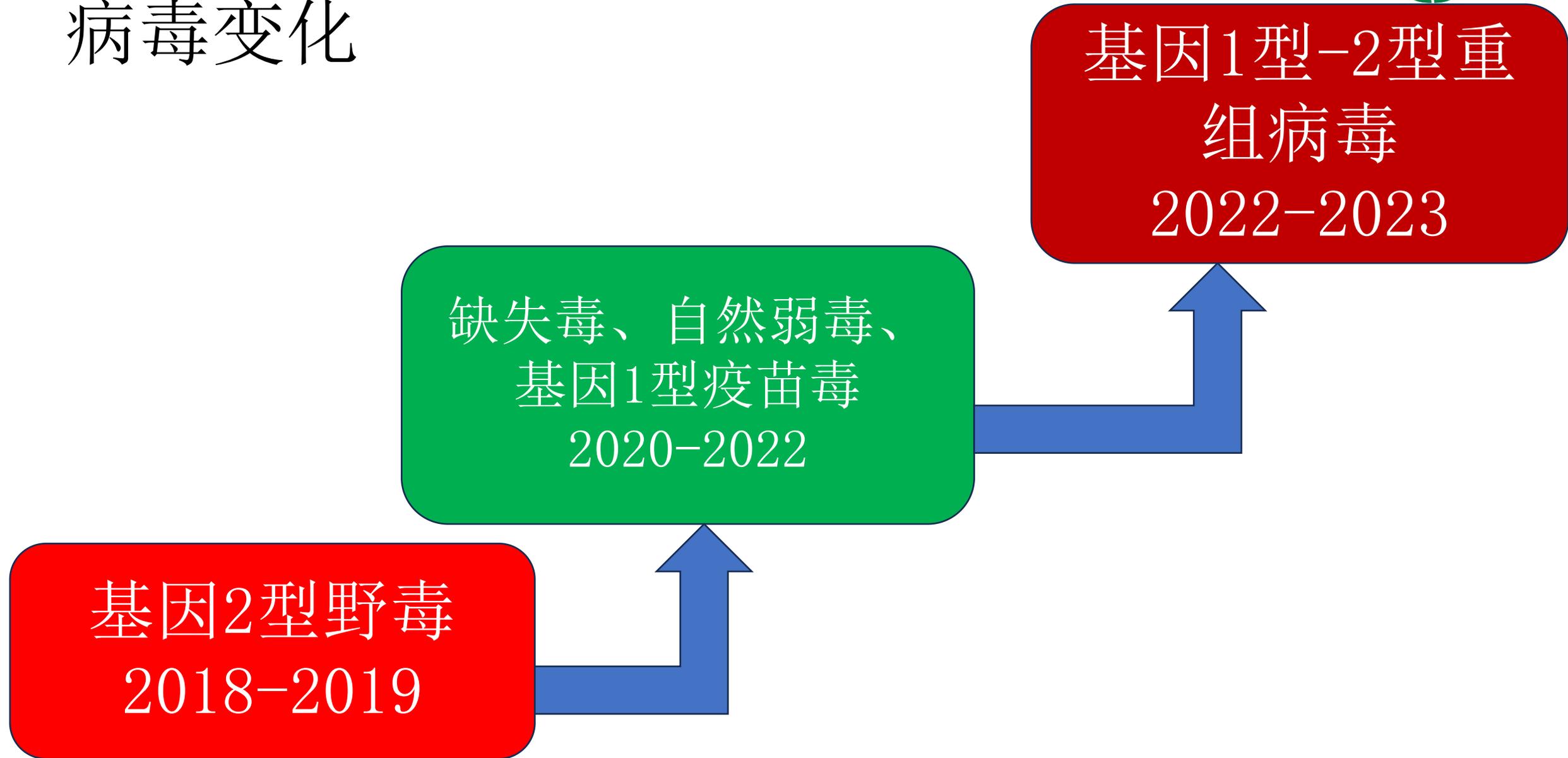
(1. 军事科学院 军事医学研究院 军事兽医研究所, 长春 130122; 2. 佛山科学技术学院生命科学
 与工程学院, 佛山 528231; 3. 吉林和元生物工程股份有限公司, 松原 138000)

摘要: 针对我国首次发生的非洲猪瘟 (African swine fever, ASF), 根据流行特点、临床表现、剖检变化、病原形态和分子生物学特征进行了较为系统的诊断研究。流行特点上, 发病猪主要以育肥泔水猪为主, 和国外报道的家猪非洲猪瘟流行特点相似; 临床表现以高热、呕吐、皮肤发绀为典型, 可有便秘或腹泻, 粪便带有粘液或便血等症状; 剖检以脾脏显著肿大、发黑变脆为典型特征, 并伴心、肾、膀胱、小肠、肠系膜淋巴结、腹股沟淋巴结出血; 电镜观察肝脾组织悬液上清可见大小 180~200nm 具有多层囊膜结构的病毒颗粒; 定性诊断目前以 PCR 和实时 PCR 较为可靠。综上所述, 临床表现对于非洲猪瘟病例排查具有重要意义; 剖检变化尽管不十分特异, 但可以缩小排查范围, 对确立初步诊断具有重要价值; 在完成上述初步诊断基础上, 应尽快应用分子生物学技术完成确诊。

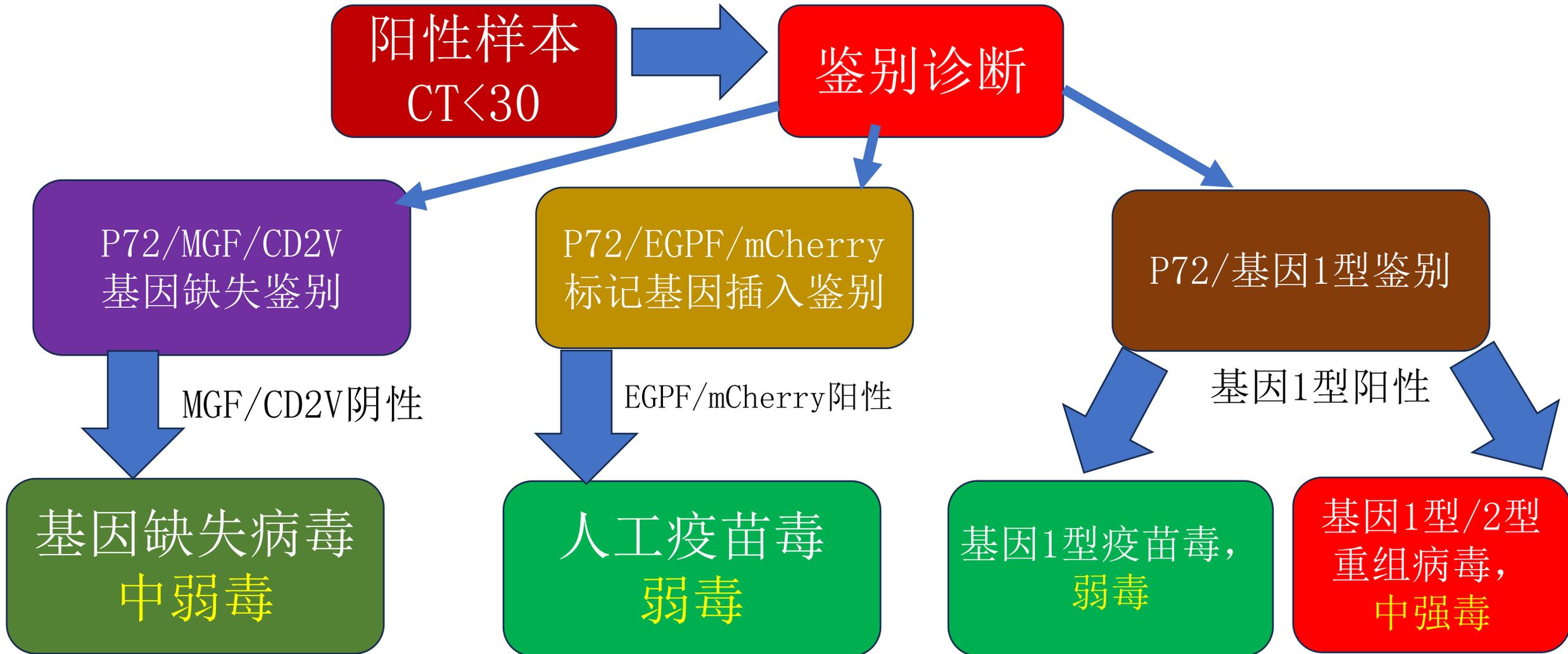
关键词: 非洲猪瘟 (ASF); 疑似诊断; 确定性诊断

中图分类号: R155.5 S852.65 文献标识码: A 文章编号: 1000-8721(2018)06-0817-05

病毒变化



对病毒进行初步鉴定，对疫病控制有初步指导意义，精确鉴定需要测序



感染不同毒力ASFV毒株后，人工接种和同居感染猪核酸检测和病毒分离情况的比较

TABLE 3 Comparative results of the onset of ASFV DNA (PCR) detection and virus isolation (VI) in the inoculated (A) and in the in contact (B) domestic pigs infected with the HAD-Polish (Pol16/DP/OUT21), HAD-Estonia (Est16/WB/Viru8), or the non-HAD Latvian (Lv17/WB/Rie1) ASFVs

ASFV isolate	ASFV genome detection ¹ ASFV核酸检测			ASFV virus isolation ²		
	Blood 血样 肛	OPS 口咽	FCS ASFV病毒分离	Blood 血样 肛	OPS	口咽 FCS
(A) Inoculated pigs 人工接种						
Pol16/DP-OUT21 (Vir.) 强毒株	3 ± 0 (100%)	5 ± 1.6 (100%)	5 ± 1.6 (100%)	3 ± 0 (100%)	7 ± 0 (100%)	7 ± 0 (100%)
Es16/WB-Viru8 (Mod. Vir.) 中等毒株	3 ± 0 (100%)	7 ± 0 (100%)	7 ± 0 (100%)	7 ± 0 (100%)	7 ± 0 (100%)	7 ± 0 (50%)
Lv17/WB/Rie1 (Att.) 弱毒株	5 ± 1.6 (100%)	5 ± 1.6 (100%)	Sporadic (100%)	5 ± 1.6 (100%)	Neg.	Neg.
(B) In contact pigs 同居感染						
Pol16/DP-OUT21 (Vir.) 强毒株	10 ± 2.1 (100%)	7 ± 0 (100%)	8.5 ± 1.3 (100%)	10 ± 2.1 (100%)	13 ± 2.1 (100%)	13 ± 0 (25%)
Es16/WB-Viru8 (Mod. Vir.) 中等毒株	10 ± 2.1 (100%)	8.5 ± 1.2 (100%)	14.5 ± 1.2 (75%)	13 ± 0 (100%)	10 ± 0 (75%)	Sporadic (25%)
Lv17/WB/Rie1 (Att.) 弱毒株	18 ± 2.7 (75%)	14.5 ± 4.7 (100%)	Sporadic (75%)	17.6 ± 4 (50%)	Sporadic (25%)	Neg.

¹ASFV genome detection indicating first positive finding in days ± standard deviation (SD) versus (% positive animals).

²ASFV virus isolation detection indicating first positive isolation in days ± standard deviation (SD) versus (% positive animals).

Number in brackets indicates the percentages of positive animals at the end of the observation period.

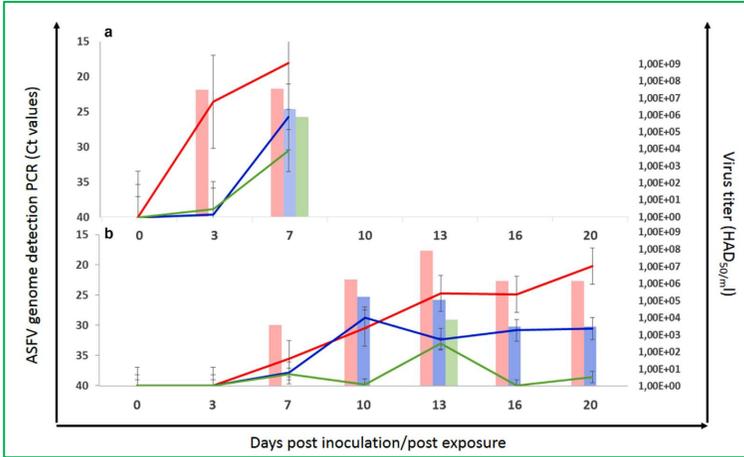
病毒毒力越强，越早从血和口中检测到病毒

不同毒力ASFV毒株排毒动态

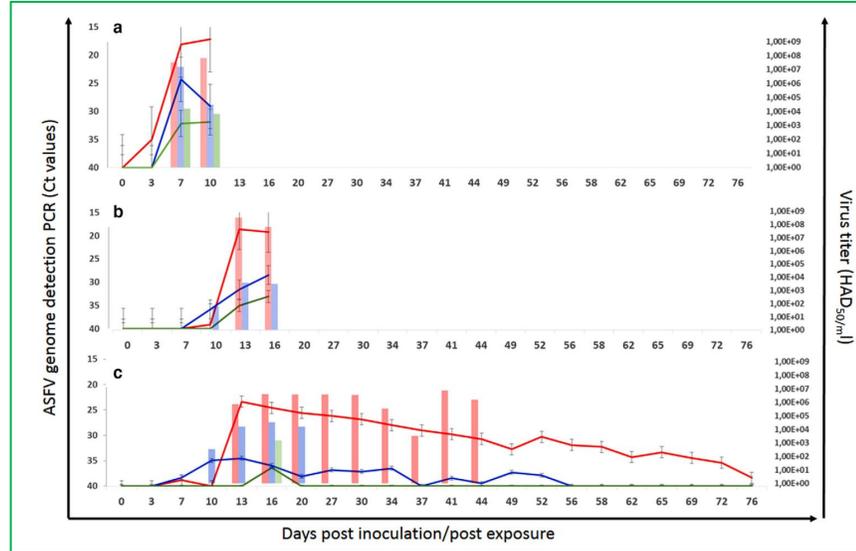
强毒

中等毒

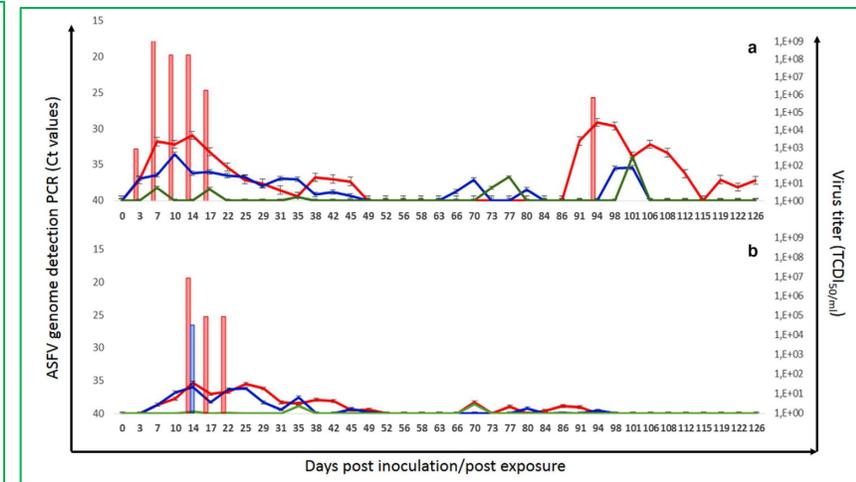
弱毒



口咽



口咽+血



口咽+血

- 上图：接种感染，下图：自然感染
- 红线：血液样本，蓝线：口咽样本，绿线：肛拭子样本

文献报告：II型基因缺失弱毒

- 基因II型缺失弱毒- -哈兽研的报告

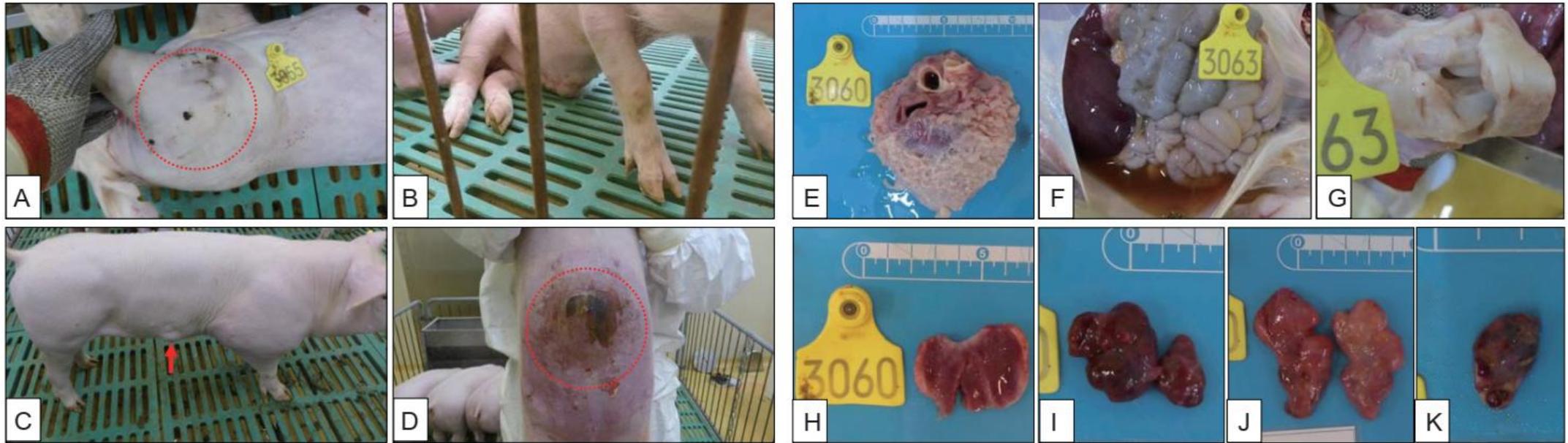
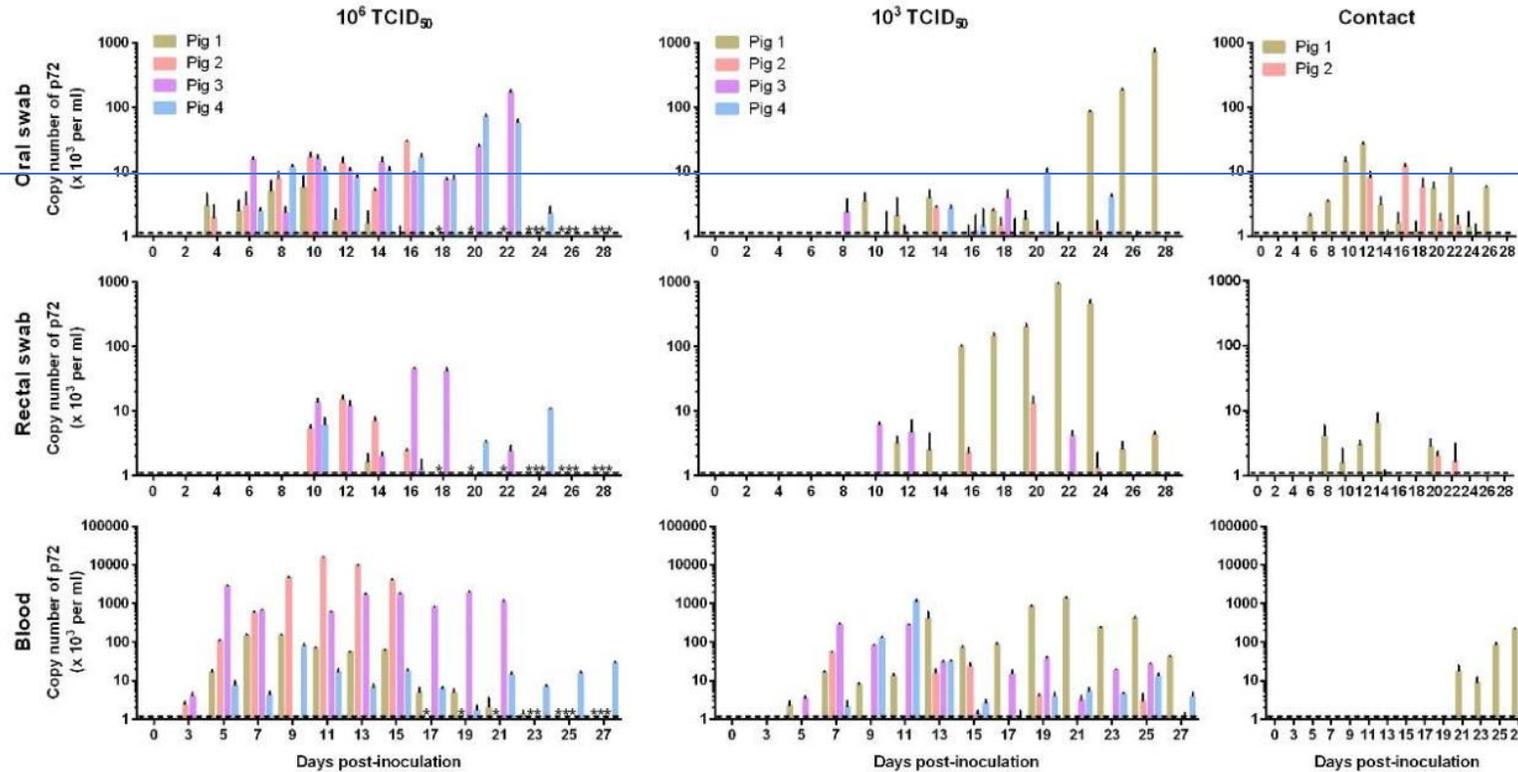


Figure 5 Disease signs and gross lesions in HLJ/HRB1/20-infected pigs. Disease signs include arthroncus (A), paralysis (B), phyma (C), and cutaneous necrosis (D) in surviving pigs. Gross lesions include trichocardia (E), seroperitoneum (F), synarthrophysis (G), tonsil damage (H), and hyperaemia of lymph nodes (submaxillary lymph node (I), inguinal lymph node (J), and mediastinal lymph node (K)) in dead or euthanized HLJ/HRB1/20-infected pigs.

文献报告： II型基因缺失弱毒-排毒更缓慢且不规则



- 基因缺失弱毒排毒量低，更难于监测
- 口腔拭子排毒量高于其他途径，检出时间6-12天
- 口腔最早检测到排毒
- 不同个体排毒的差异较大

图 6. HLJ/HRB1/20 接种猪和同居猪采集样品中的病毒载量。在接种后不同时间点采集接种猪和同居猪的口腔拭子、肛拭子及血液样本，通过 qPCR 检测样品中的病毒 p72 基因拷贝数。黑色虚线表示检测下限，1000 拷贝/毫升。星号表示由于猪死亡，在指定的时间点无样品。

文献报告：基因I型弱毒-哈兽研的报告

哈兽研文章显示：2021年6月，**山东某猪场**一头重约80公斤的育肥猪出现麻痹症状，被安乐死后进行剖检。收集了肺部样本并运送到中国国家非洲猪瘟辅助参考实验室（CNASFPL）进行非瘟检测。在**河南省的另一个猪场**，育肥猪出现了慢性感染症状，包括**体重减轻、间歇性发热、皮肤溃疡和关节炎**；还观察到零星死亡。收集了四头死猪的样本，包括淋巴结和脾脏，并将其运送到CNASFPL进行ASFV检测。所有样本均通过针对病毒p72基因的qPCR确认为非洲猪瘟阳性。对p72基因的进一步序列分析表明，这些样本中的非瘟病毒属于基因型I。

基因1型排毒规律 -哈兽研的报告

1. 口拭子排毒量最大，排毒时间最早
2. 通常5-11天，可以检测到口拭子中的排毒
3. 血液中病毒量低，检出晚

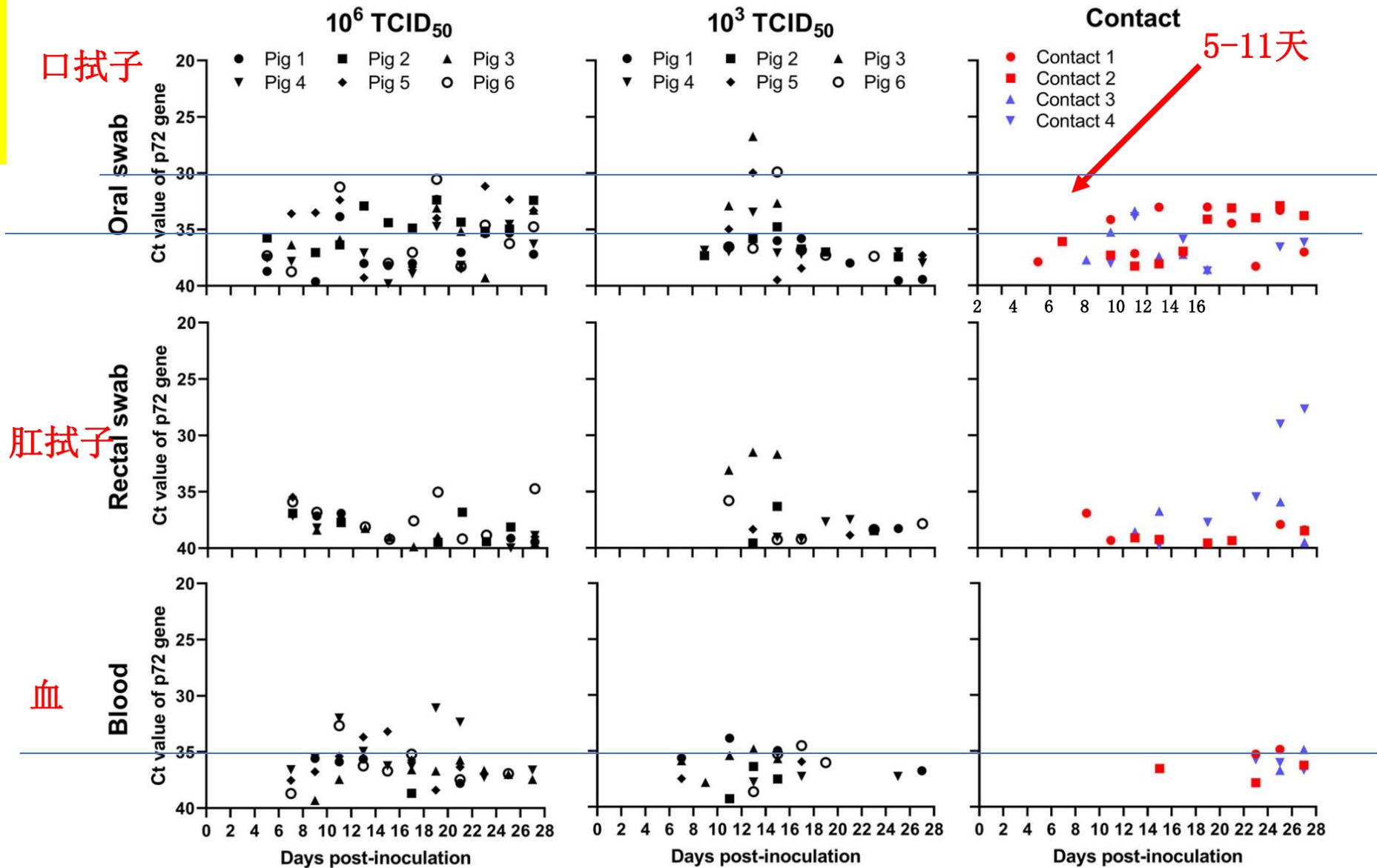


Figure 6. Detection of virus shedding and viremia in infected and contact pigs by use of qPCR. Oral and rectal swab samples, as well as blood, were collected from pigs infected with SD/DY-I/21 and contact pigs at the indicated days post-infection. Viral DNA was extracted and detected by using qPCR. The data on the contact pigs cohoused with the 10^6 TCID₅₀-inoculated pigs and 10^3 TCID₅₀-inoculated pigs are labelled in red and blue, respectively. The different shaped black dots represent individual pigs.

高度致死型基因I-II型重组病毒-2022-2023

nature communications



Article

<https://doi.org/10.1038/s41467-023-38868-w>

Highly lethal genotype I and II recombinant African swine fever viruses detected in pigs

Received: 19 October 2022

Accepted: 11 May 2023

Published online: 29 May 2023

Check for updates

Dongming Zhao^{1,3}, Encheng Sun^{1,3}, Lianyu Huang^{1,3}, Leilei Ding^{1,3}, Yuanmao Zhu^{1,3}, Jiwen Zhang¹, Dongdong Shen¹, Xianfeng Zhang¹, Zhenjiang Zhang¹, Tao Ren¹, Wan Wang¹, Fang Li¹, Xijun He¹ & Zhigao Bu^{1,2}✉

African swine fever virus (ASFV) poses a great threat to the global pig industry and food security. Currently, 24 ASFV genotypes have been reported but it is unclear whether recombination of different genotype viruses occurs in nature. In this study, we detect three recombinants of genotype I and II ASFVs in pigs in China. These recombinants are genetically similar and classified as genotype I according to their *B646L* gene, yet 10 discrete fragments accounting for over 56% of their genomes are derived from genotype II virus. Animal studies with one of the recombinant viruses indicate high lethality and transmissibility in pigs, and deletion of the virulence-related genes MGF_505/360 and EP402R derived from virulent genotype II virus highly attenuates its virulence. The live attenuated vaccine derived from genotype II ASFV is not protective against challenge of the recombinant virus. These naturally occurring recombinants of genotype I and II ASFVs have the potential to pose a challenge to the global pig industry.

强毒力

I型 II型 重组病毒检测

c, i: oral swabs

口腔

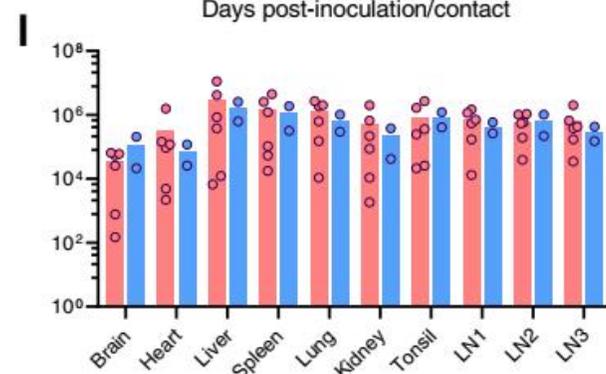
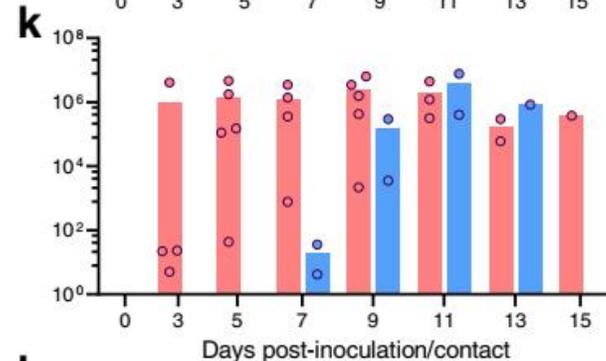
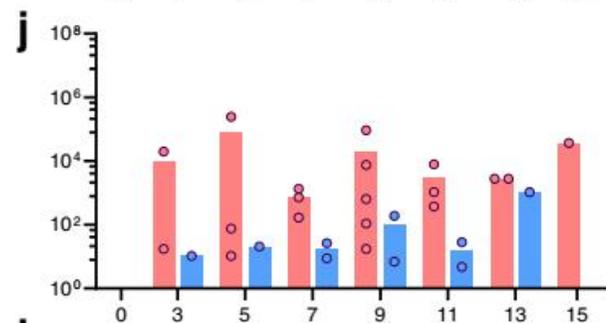
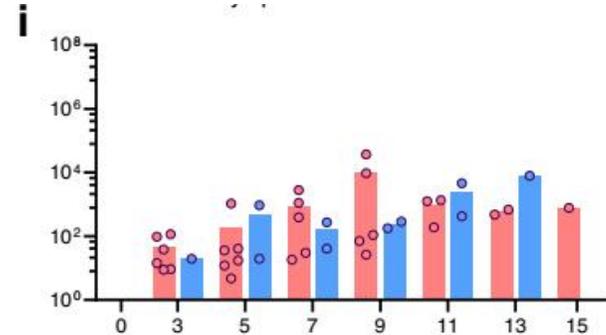
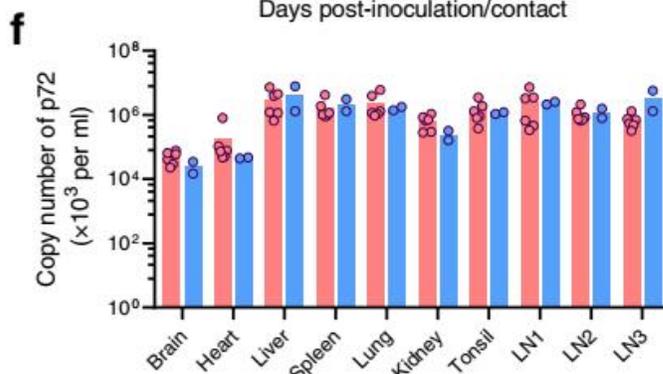
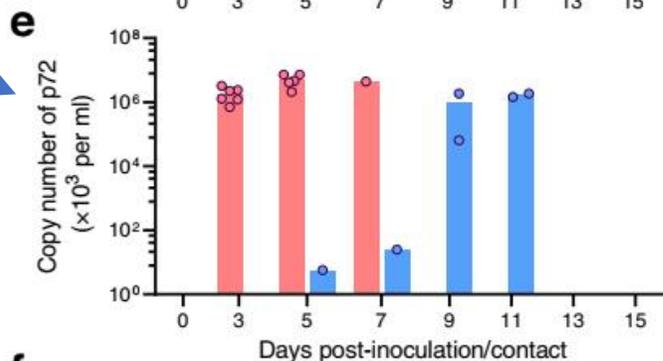
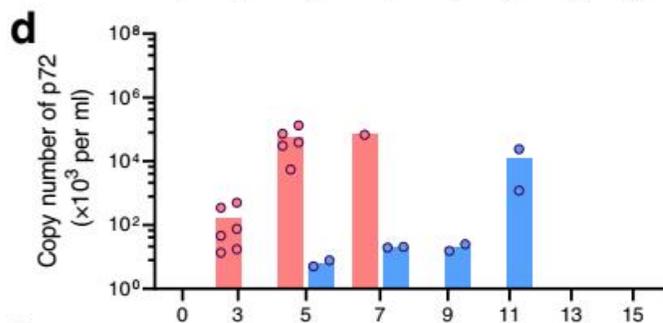
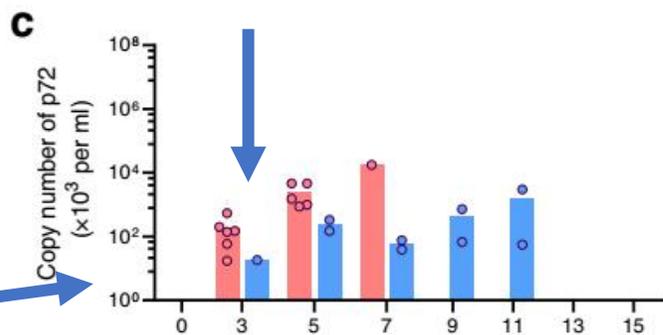
d, j: rectal swabs

肛

e, k: blood

I型 II型 重组病毒, 毒力强, 2023
年秋冬流行 tissue

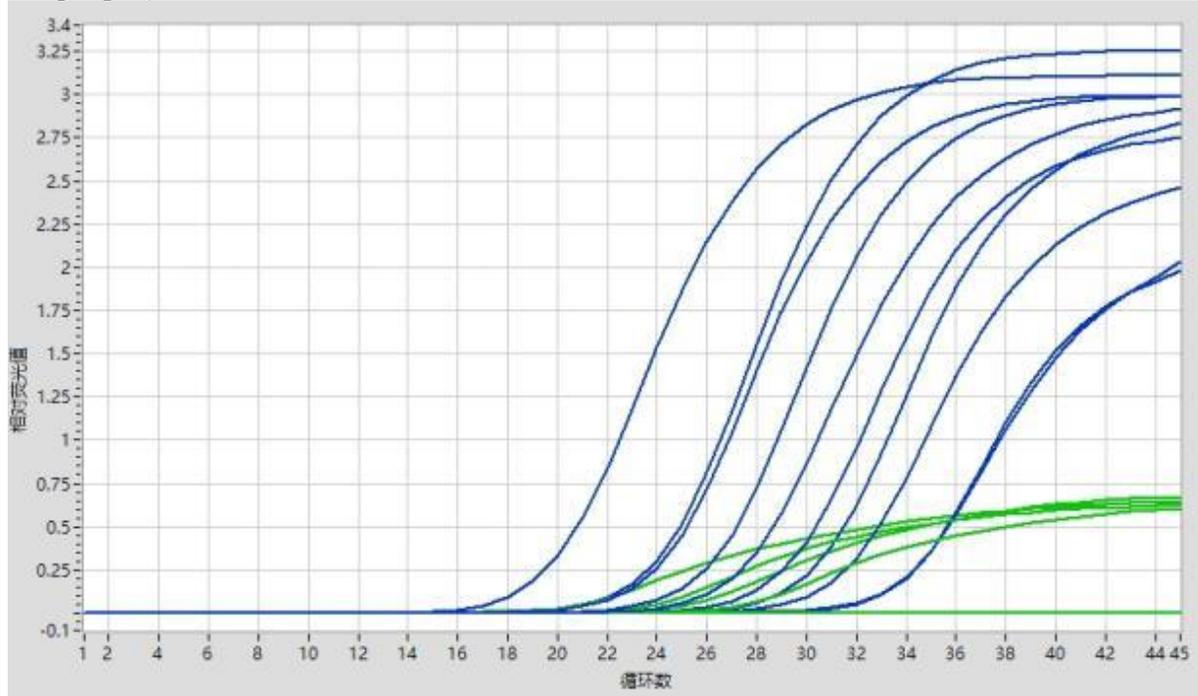
蓝色柱子代表同居感染, 可以看到,
最早3天可以从口腔中检测到, 口腔
还是最早, 一周后血液中病毒
含量高, 血液中最早5-7天可检测到,
但病毒含量低



● Inoculated (n = 6)

● Contact (n = 2)

病毒变异-基因I-II型重组病毒以及混合感染



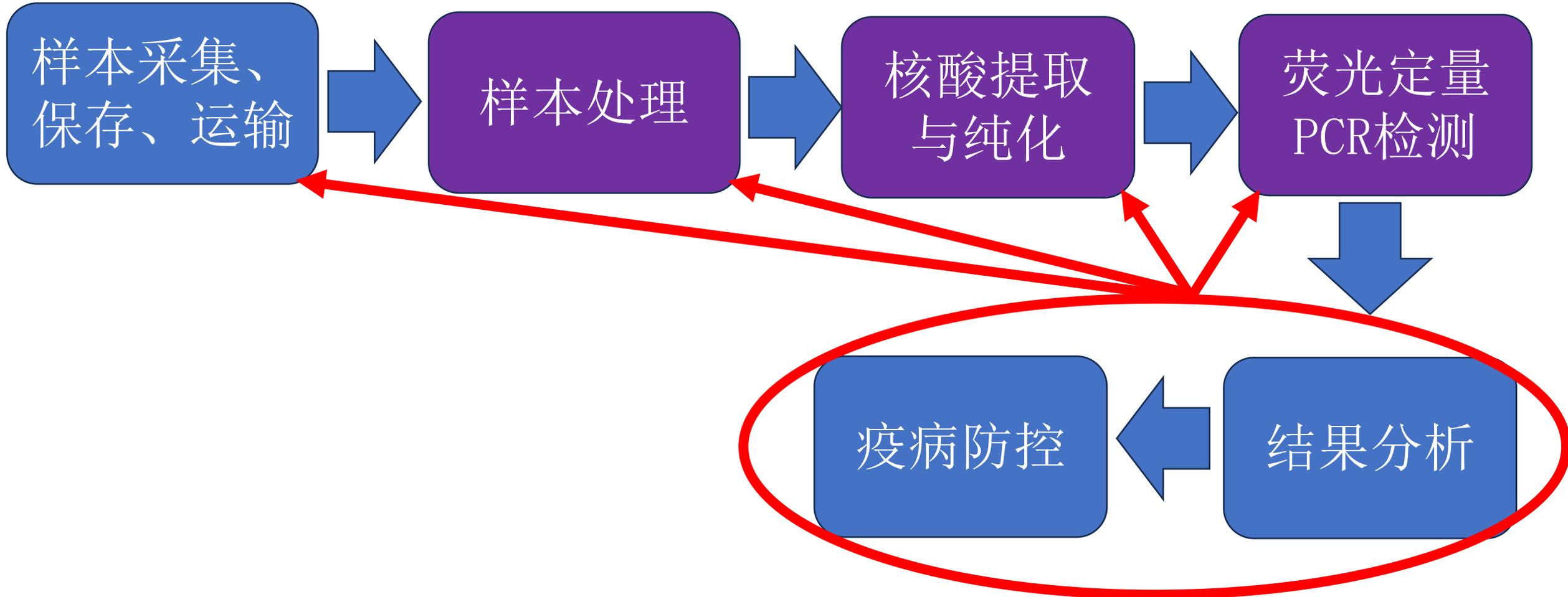
FAM	19.27
Cy5	21.02
FAM	23.42
Cy5	25.25
FAM	25.7
Cy5	27.55

基因1型病毒鉴别诊断

荧光通道	FAM	CY5	鉴别结果
试验结果	+	-	基因2型
试验结果	+	+	病毒含基因I型片段
试验结果	-	-	实验不成立

说明：如果基因I型为阳性，可能为基因I型弱毒或基因I型-II型重组病毒（中强毒）。

检测诊断体系是个完整的体系，需形成闭环



正确的采样是前提：科学采样，早发现，快检测

可疑猪	口鼻拭子	咽拭子	尾根血	静脉血
1	41.09	—	—	—
2	30.98	26.61	21.83	21.47
3	34.17	28.5	19.77	15.68
4	37.83	—	—	—
5	—	39.96	37.76	34.93
6	40.43	25.88	36.21	—
7	39.22	39.04	—	—
8	38.02	39.03	—	—
9	32.52	32.17	23.75	18.92

早期发现是关键，现场敏锐、采样科学

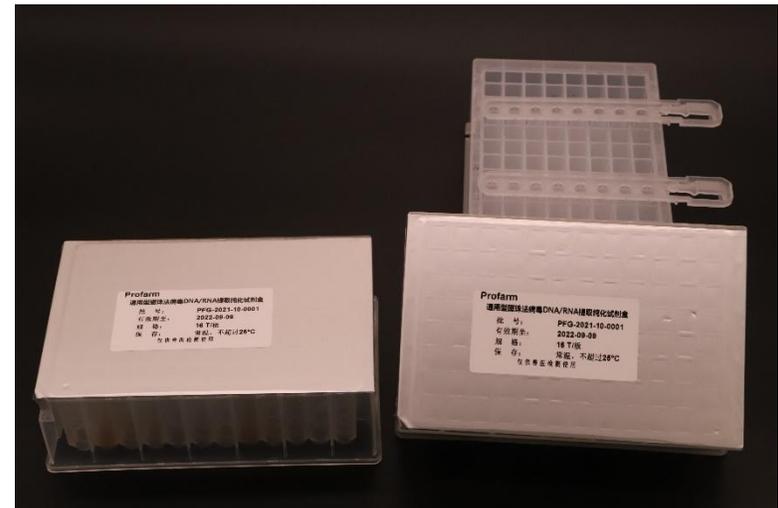
编号	CT值	混样	备注
阴性对照	阴性		
阳性对照	27.37		
P1C1-3, C3 口鼻	阴性	2	
P1C4-6 口鼻	阴性	1	
P1C7-10 口鼻	阴性	1	
P1C11-13 口鼻	阴性	1	
P1C14-16 口鼻	阴性	1	
P1C17-20 口鼻	阴性	1	
P1C21-23 口鼻	阴性	1	
P1C24-26 口鼻	阴性	1	
P1C27-29 口鼻	阴性	1	
P1H1-4 口鼻	39.57	1	
P1H7-10 口鼻	43.19	1	
P1H11-13 口鼻	40.46	1	
P1H14-16 口鼻	39.49	1	
P1H17-19 口鼻	阴性	1	
P1H20-23 口鼻	阴性	1	
P1H24-26 口鼻	阴性	1	
P1H27-29 口鼻	阴性	1	
P1Y3-6 口鼻	39.31	1	
P1Y7-10 口鼻	27.75	1	
P1Y11-13 口鼻	43.35	1	
P1Y14-16 口鼻	阴性	1	
P1Y17-19 口鼻	阴性	1	

• 感染早期

- 异常猪发现晚了
- 采样部位不科学
- 采样操作不准确

核酸提取的效率不容忽视

稀释度	A提取试剂			B提取试剂		
	CT值1	CT值2	CT值3	CT值1	CT值2	CT值3
10^{-1}	27.63	27.88	27.46	30.4	30.09	30.1
10^{-2}	31.09	31.19	31.57	33.22	33.08	34.02
10^{-3}	34.88	34.71	35.09	35.43	37.78	36.29
10^{-4}	37.01	39.08	/	/	/	/
5×10^{-5}	37.95	37.98	37.4	36.74	/	/
2.5×10^{-5}	/	/	/	/	/	/
10^{-5}	/	/	/	/	/	/
阴性稀释液	/			/		
阳性血清	25.19			27.56		
阴性对照N	/					
阳性对照P	26.83					



荧光定量PCR试剂的敏感性最关键

稀释倍数	试剂盒			
	1试剂		2试剂	
100 (16个重复)	39.87	42.19	NoCt	NoCt
	42.29	38.55	NoCt	NoCt
	39.22	39.66	NoCt	NoCt
	41.35	40.81	NoCt	NoCt
	40.97	39.42	NoCt	NoCt
	43.08	41.01	NoCt	NoCt
	39.08	41.11	NoCt	NoCt
	39.94	39.59	NoCt	NoCt
1000 (16个重复)	NoCt	NoCt	NoCt	NoCt
	NoCt	NoCt	NoCt	NoCt
	NoCt	NoCt	NoCt	NoCt
	NoCt	NoCt	39.10	NoCt
	NoCt	NoCt	NoCt	NoCt
	NoCt	NoCt	NoCt	NoCt
	NoCt	42.15	NoCt	NoCt
	NoCt	NoCt	NoCt	NoCt
阴性对照	NoCt		NoCt	
阳性对照	29.17		27.90	

重复 (弱阳性样本重复检测比对)					
样品编号	A试剂	B试剂	C试剂	D试剂	E试剂
1.00	38.12	37.42	阴性	37.71	阴性
1.00	38.24	37.21	37.96	阴性	35.60
1.00	40.37	阴性	阴性	阴性	阴性
1.00	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
1.00	41.36	36.27	阴性	阴性	36.23
1.00	39.48	阴性	37.97	36.70	阴性
1.00	42.05	37.42	40.12	36.26	阴性
1.00	39.74	37.34	38.03	阴性	阴性
1.00	38.47	阴性	36.88	阴性	36.80
1.00	阴性	阴性	38.13	36.90	36.82
1.00	阴性	37.15	38.18	阴性	36.68
1.00	40.33	阴性	阴性	阴性	阴性
1.00	38.46	36.35	37.99	阴性	阴性
1.00	40.61	36.58	阴性	阴性	阴性
1.00	39.50	36.24	37.90	阴性	阴性
1.00	40.28	阴性	38.47	阴性	阴性
1.00	40.49	阴性	40.06	37.89	阴性
1.00	阴性	37.40	阴性	阴性	37.02
1.00	38.79	37.25	37.16	阴性	阴性
1.00	41.50	36.08	阴性	阴性	阴性
1.00	40.75	阴性	38.03	阴性	阴性
1.00	40.83	阴性	阴性	37.89	35.52
1.00	40.56	37.43	38.07	阴性	36.58
1.00	39.91	36.41	阴性	36.21	36.85
检出数	20/24	14/24	14/24	7/24	9/24
检出率	83.33%	58.33%	58.33%	29.17%	37.50%

规范化的实验室跟猪场、饲料厂一样重要

- 合理分区，净污分开，单向运行，各区工具独立，换鞋换衣，换戴手套，严格训练，每日清理消毒，定期检测

区域	仪器配置
样本处理区	面积要大
反应体系配制区	生物安全柜、冰箱、小型离心机、振荡仪、移液器，紫外消毒器
样品制备区	离心机，研磨仪，生物安全柜、水浴锅、核酸提取仪、紫外消毒器
PCR扩增区	荧光定量PCR仪、紫外消毒器



实验室的规范化操作与运营是防疫工作科学运转的前提—一定要防止污染

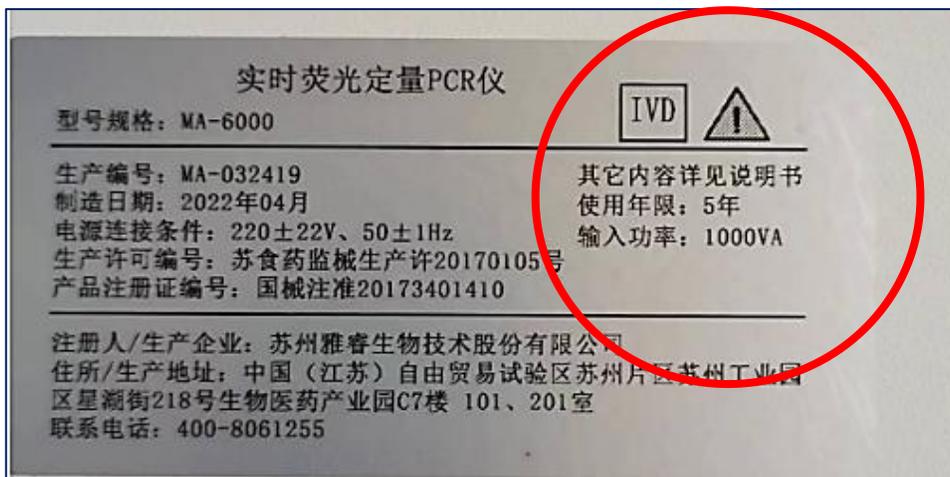
采样点	检测编号	检测项目	PF靶标基因	PF内参基因
扩增区2水池	58	A	Noct	Noct
扩增区2电脑	59	A	Noct	31.83
扩增区2地面、门、椅子	60	A	Noct	33.58
扩增区2表面物品	61	A	Noct	31.88
试剂配制地面、门、传递窗	62	A	Noct	34.33
试剂配制桌面及物品	63	A	Noct	35.90
试剂配制冰箱	64	A	Noct	34.19
血清室冰箱	65	A	40.72	33.20
血清室物资、柜子	66	A	Noct	33.47
生活区其他物资	67	A	41.37	32.31
生活区超净台	68	A	Noct	41.37
生活区桌子	69	A	43.09	29.49
样品处理室离心机	70	A	Noct	34.65
样品处理室桌面及物品	71	A	Noct	33.89
样品处理室冰箱	72	A	Noct	34.43
血清室桌面、冰箱	73	A	37.08	31.34
产物分析区桌子、设备	74	A	38.67	30.73
扩增区桌子、设备、传递窗、地面、门	75	A	Noct	38.88
细菌室桌面、生物安全柜、地面、门、	76	A	Noct	39.11
样品提取室超净台	77	A	Noct	33.46
样品提取室冰箱、柜子	78	A	Noct	Noct
样品提取室桌面	79	A	Noct	Noct
洗消间桌面、洗衣机、柜子	80	A	Noct	Noct
洗消间超净台	81	A	Noct	Noct
走廊鞋架、鞋柜	82	A	Noct	Noct
走廊地面、门、开关	83	A	Noct	Noct
			Noct	Noct
			23.68	Noct



对仪器进行检修校正，防止仪器老化影响检测结果



PCR仪使用寿命通常5-7年



疫病净化就是高健康和低成本

- 伪狂犬：gE基因缺失疫苗+gE-ELISA
- 古典猪瘟
- 蓝耳病
- 圆环病毒

古典猪瘟的净化

- E2基因工程疫苗
- E0鉴别诊断试剂盒

蓝耳的净化-大势所趋

- 蓝耳病抗原抗体双阴性
 - 114家猪场
 - 1000-2000头母猪：51%
 - 2000-5000头母猪：25%
 - 5000-10000头母猪：10%
 - 投产时间：2020-2023

- 抗原：抗原阴性（PCR检测）
 - 后备猪入群
 - 产房仔猪
 - 病弱猪
- 抗体：PRRSV-N-ELISA阴性

新猪派

全国蓝耳双阴猪场分布图



扫码关注“新猪派”



数据截至：2023年8月7日

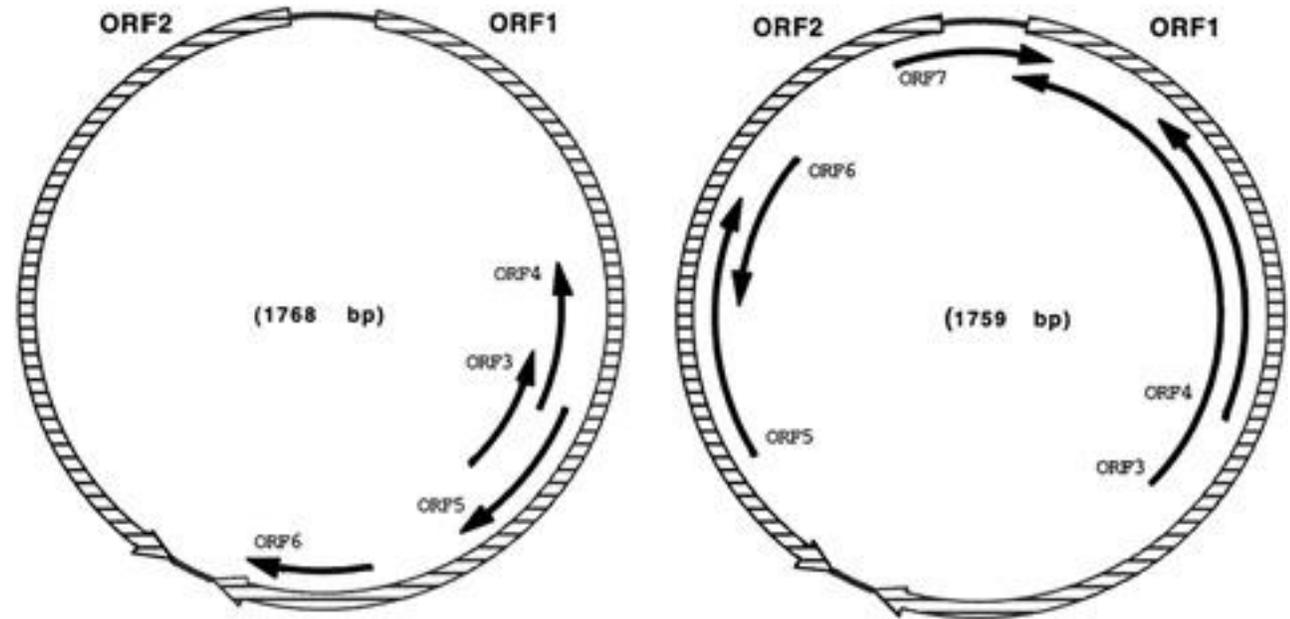
数据来源：新猪派调研

新猪派

用数据读懂养猪业

圆环病毒病的控制与净化

- 基因工程亚单位疫苗
- 鉴别诊断试剂盒
 - Cap-ELISA阳性，阳性，免疫疫苗
 - Rep-ELISA阴性，阳性，野毒感染 或全病毒疫苗



谢谢！！！！