



中科基因
Sino-science Gene

独立公正 专业高效

国内通过CMA认证的独立第三方兽医检测检验实验室连锁机构

非洲猪瘟常态存在的大环境下 猪场检测诊断、预警与疾病防控

朱连德

2020.09.22

重庆

中国大陆非洲猪瘟疫情形势

国内非洲猪瘟疫情形势(2018-2020年4月7日)

存栏	疫情	占比	存栏数	发病数	死亡数	发病率	死亡率	致死率
<100	52	30.06%	2312	845	664	36.55%	28.72%	78.58%
100~500	80	46.24%	19008	5203	4168	27.37%	21.93%	80.11%
500~1000	12	6.94%	8893	1588	1158	17.86%	13.02%	72.92%
1000>	29	16.76%	308132	12144	8341	3.94%	2.71%	68.68%
合计	173	100.00%	338345	19780	14331	5.85%	4.24%	72.45%

2018~2020年4月7日，31个省（直辖市/自治区）、173起疫情：

——2018年：23个省（直辖市/自治区）、81个市（区、盟）、99起疫情；

——2019年：20个省（直辖市/自治区）、58个市（区、盟）、64起疫情；

——2020年4月7日：6个省（直辖市/自治区）、10个市（区、盟）、10起疫情。其中：

野猪1起，家猪9起（违规调运）湖北、四川、河南、内蒙、甘肃和重庆。



生物安全监测评估

- 环境样品检测参数
- 常见猪普通传染病检测参数
- 非洲猪瘟检测参数

预防非洲猪瘟病毒侵袭



非洲猪瘟环境检测ABCD

固定的

A

场区外2-3公里
(售猪中转站)

各处随机5-6个点位

- 道路；
- 入场车辆（消毒前后）；
- 司机衣物；
- 入场人员衣物；
- 物品外包装；
- 售猪中转站

B

场区外1公里
(洗消烘熏中心)

各处随机5-6个点位

- 道路；
- 入场车辆（消毒前后）；
- 司机衣物；
- 入场人员衣物；
- 物品外包装

C

场区外0-50米
(前置的消毒点)

各处随机5-6个点位

- 道路；
- 入场车辆（消毒前后）；
- 司机衣物；
- 入场人员衣物；
- 物品外包装；
- 围墙；
- 售猪区/场内出猪台；
- 门卫室；
- 蜚、蚊蝇

D

场区内

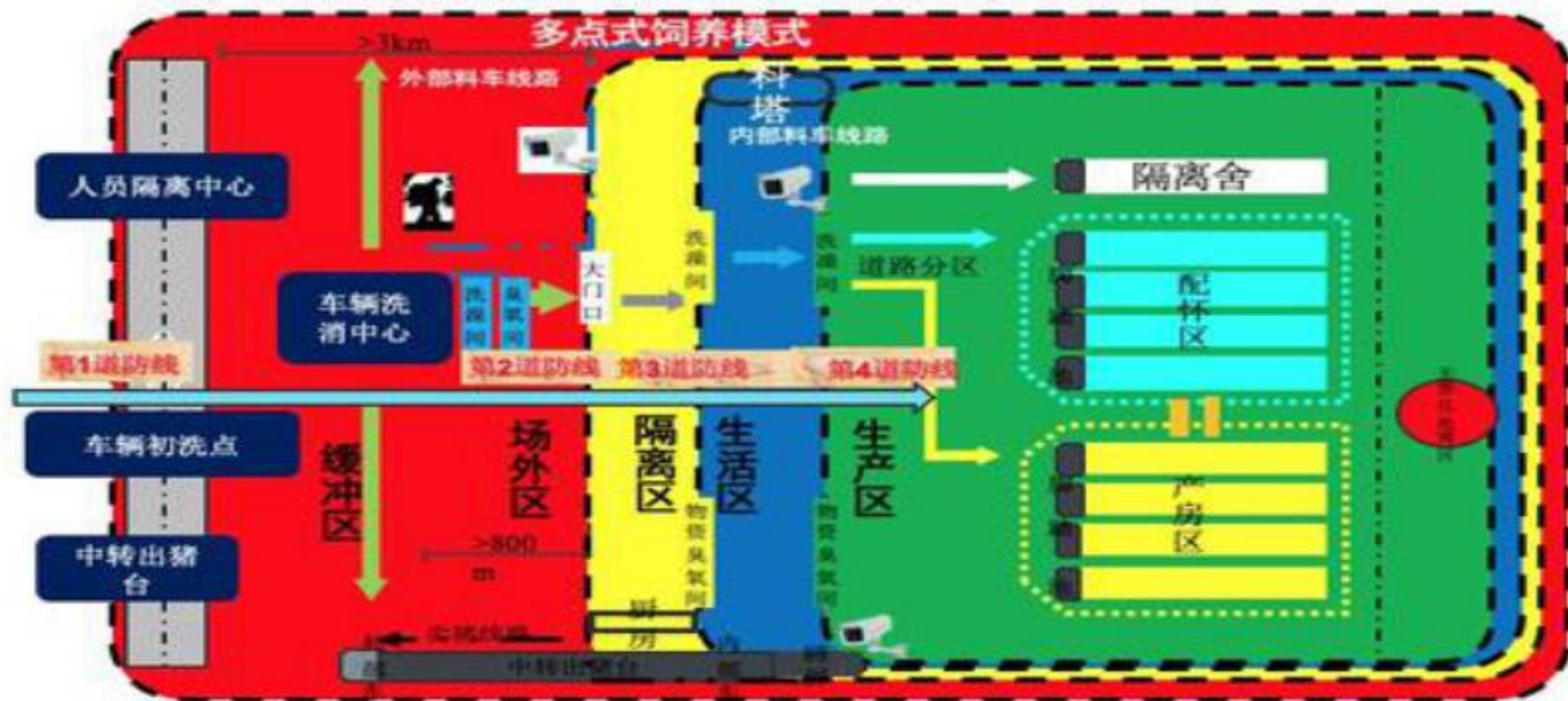
各处随机5-6个点位

- 入场车辆（消毒后）；
- 赶猪通道；
- 员工进入生产区通道；
- 工具（铁锹、挡猪板等）；
- 场区人员衣物；
- 蜚、蚊蝇；
- 兽医室（操控台和地面及门把手等）

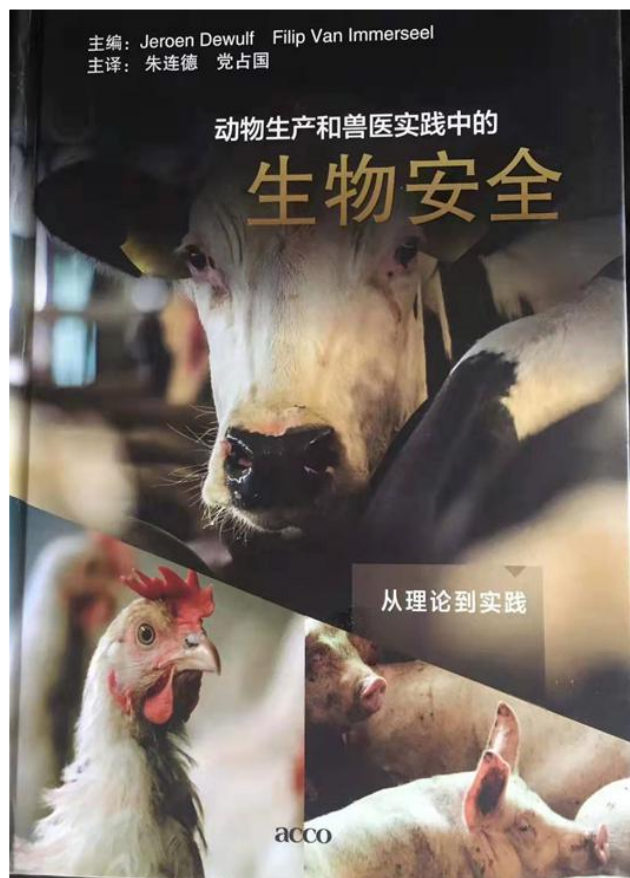


生物安全防线

分四级防线防控：缓冲区，隔离区，生活区，生产区。



一本专门讲‘生物安全’的书



养殖场生物安全的‘圣经’

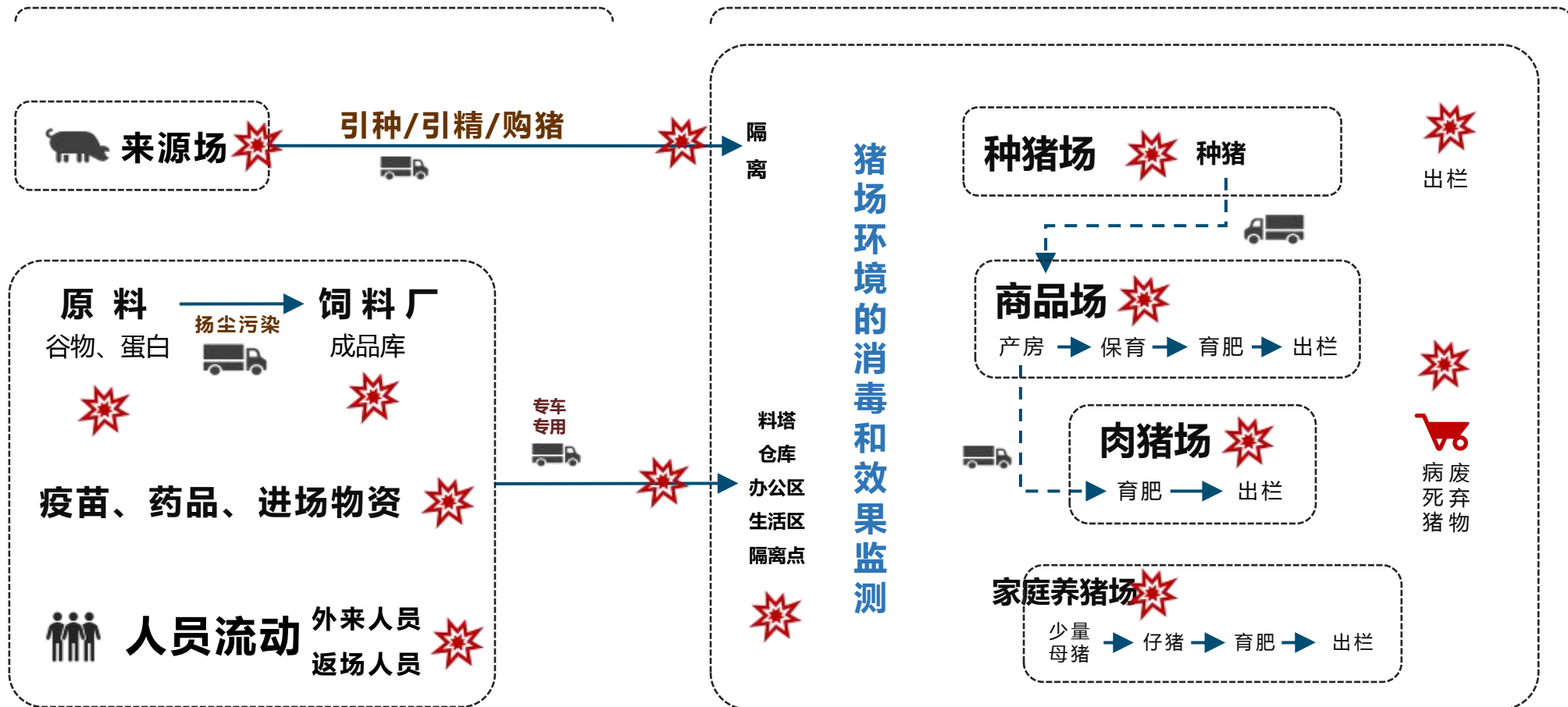
从理论到实践

让理论指导、检查实践

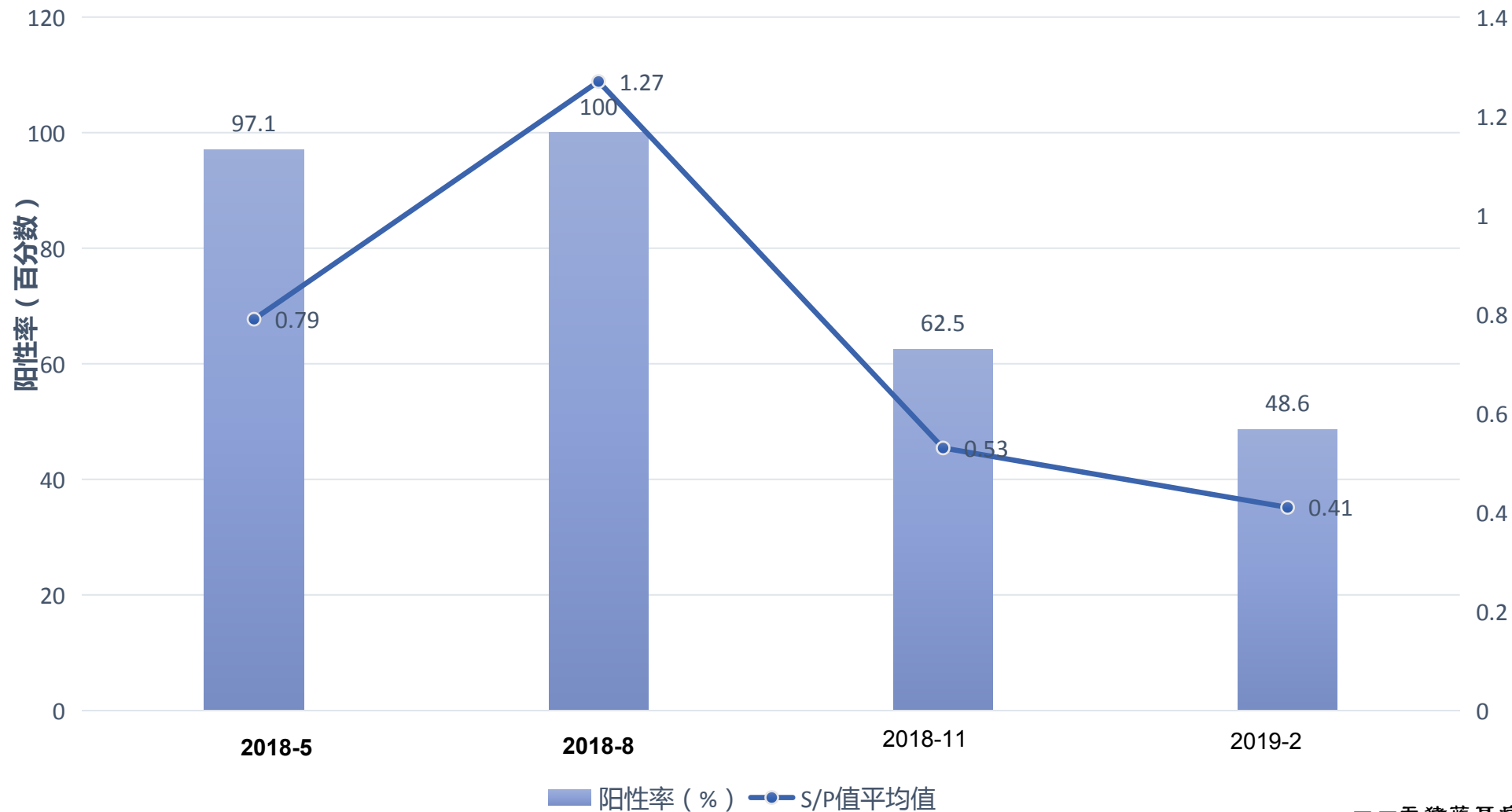
非洲猪瘟检测、监测、预警

流动的

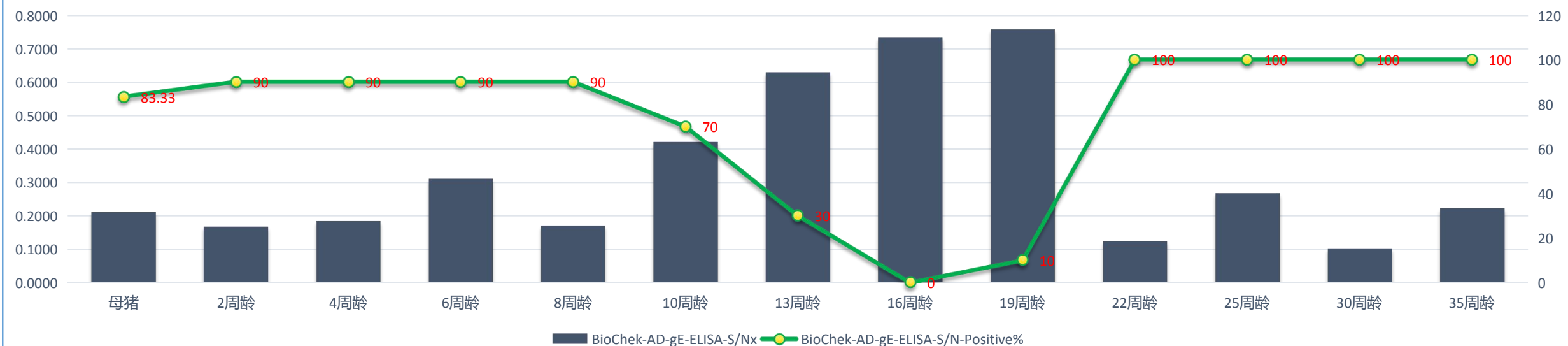
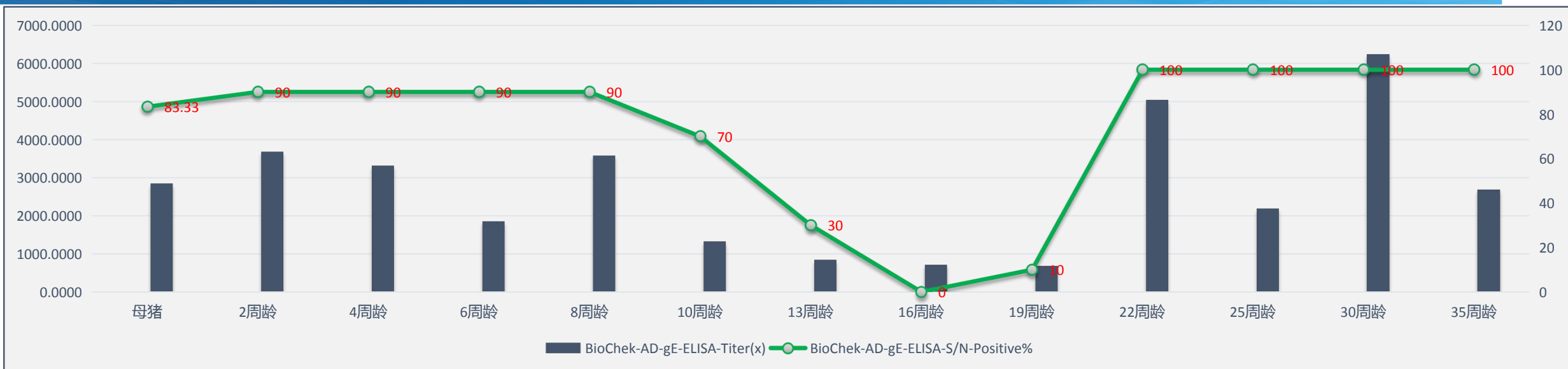
进猪场前 (猪、人、车、物、料)



生物安全与猪蓝耳病病毒抗体变化的关系



常见猪传染病检测参数可以作为衡量生物安全的指标





疫病检测、监控与预警

- 采样对象
- 采样数量
- 采样频率
- 实验室检测时效
- 鉴别诊断

恢复养猪生产



猪群采样检测、评估、预警



母猪：在喂料前半小时内采集唾液；
商品猪：控料8小时后采集唾液

咀嚼20分钟后，收集口腔液导入EP管，1:1加入唾液保护液，编号冷藏送检。采集过程避免交叉污染



限位栏母猪、产房母猪、公猪不用保定；保育和育肥猪保定采样

用15-20cm长的干棉签，深入鼻腔底部或咽喉部，旋转2-3次，采完样后，试管内加入1-2毫升生理盐水



保定，可用开口器，打开口腔

用15-20cm长的干棉签，深入口腔底部或咽喉部，旋转2-3次，采完样后，试管内加入1-2毫升生理盐水



尾根/尖采血：猪站立姿势，用12号针头在尾根末梢轻扎几下，用棉签按压取血，放入装有1ml生理盐水的离心管中，可以有效减少污染，提高准确度。



耳缘静脉采血：捏压近心端的耳缘静脉，用头皮针扎血管。



前腔静脉采血：用保定器保定让猪头微微仰起，图中凹陷处刺入，把针芯向外拉使血液流入采血器。大猪一般选择16*42号针头，小猪选择12*20号针头。

以猪为中心，保障猪群健康

尽早发现，及时清除

时期	钻石期	黄金期	白银期	青铜期	黑铁期
感染时间	0-3d，扁桃体	3-5d，口/鼻腔液	5-7d，血液	7-14d，脏器	>14d，死亡
临床表现	懒散，精神沉郁，厌食	皮肤泛红，延后肿胀，体温升高	出现临床病毒血症，皮肤潮红，发烧，呼吸急促，耳朵发绀，喜卧	喜卧，驱赶不动，后肢腹部发红，耳朵发绀，呕吐，腹泻便血，鼻腔出血	死亡，全场感染
检测值	Ct值35以上，或阴性	Ct值30以上，阳性	阳性	淋巴结，强阳性	强阳性
散毒量	无	低	非常高	交叉感染，非常高	非常高
清除规模	个体清除	周边邻栏清除	整条水槽或整栏	整栋舍、整单元	生产区、生产线

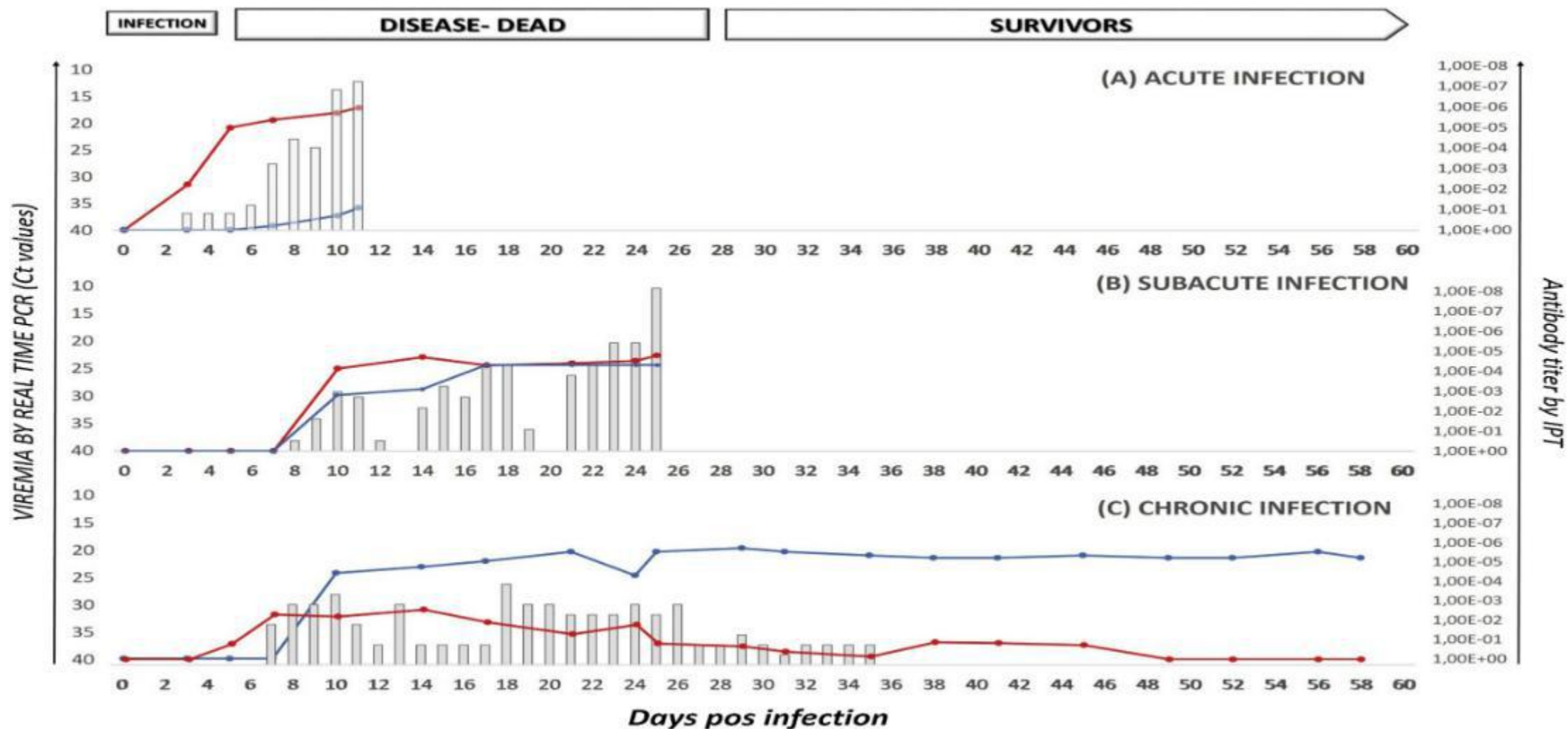
不同感染途径检测到病毒的时间

通过qPCR在血液或者拭子中检测到病毒基因组的最早时间（接种或接触的天数）						
		病毒接种量（HAD ₅₀ ）	血液	口腔拭子	肛门拭子	死亡时间
肌注感染		10 ^{6.5}	2	2	3	7
		10 ^{5.5}	2	4	4	6-7
		10 ^{4.5}	3	4	5	7-9
		10 ^{3.5}	2	4	5	6-8
接触		接触猪1	9	6	10	13
		接触猪2	9	6	10	14

- (1) 口腔排毒时间：肌注2-4天，自然接触6天；
- (2) 病毒血症时间：肌注感染2-3天，自然接触9天；
- (3) 临床症状：基本与病毒血症同步；
- (4) 死亡时间：肌注感染6-9天，自然感染13-14天；
- (5) 自然接触感染前后时间，口鼻拭子(鼻咽、口腔液) > 血液 > 肛门拭子

来源：2019年李曼大会课程数据整理

非洲猪瘟病毒血症与抗体滴度



非洲猪瘟抗原、抗体检测

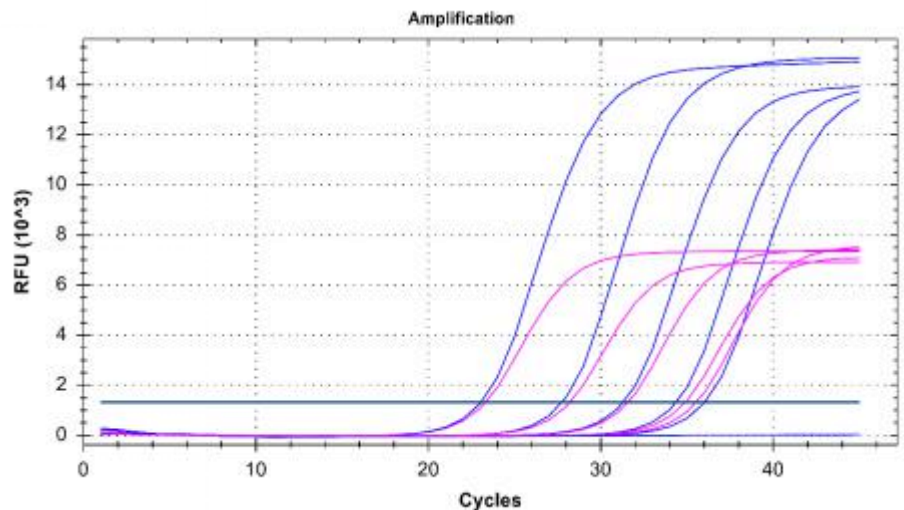
进猪场前（猪/人/车/物/料）



- 引种/引精/购猪：选择准确快速检测试剂检非瘟抗原、抗体；种猪/精液非洲猪瘟抗原、抗体‘双阴’
- 同时检猪蓝耳病、猪伪狂犬病、口蹄疫、猪瘟的抗原抗体，评估应激后继发感染风险

非洲猪瘟的诊断与鉴别诊断

非洲猪瘟病毒qPCR检测方法 – 分型



II型

FAM通道

I型

HEX通道

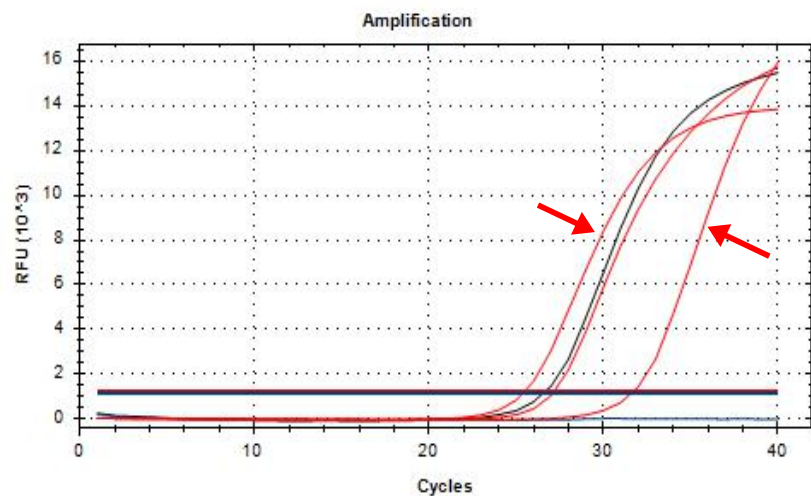
非洲猪瘟病毒qPCR检测方法 – 鉴别

非洲猪瘟病毒鉴别诊断荧光PCR检测试剂盒

- 设计针对ASFV MGF360-505R和CD2v的引物，建立最佳反应体系；
 - 双荧光通道（FAM、ROX）
 - 双反应体系（MGF+通检、CD2v+通检）
- FAM** **ROX** **FAM** **ROX**
- 通检(ROX)阳性，FAM**阴性**，即判定**ASFV基因缺失**。

非洲猪瘟的诊断与鉴别诊断 MGF360

非洲猪瘟病毒qPCR检测方法 – 鉴别



MGF360基因

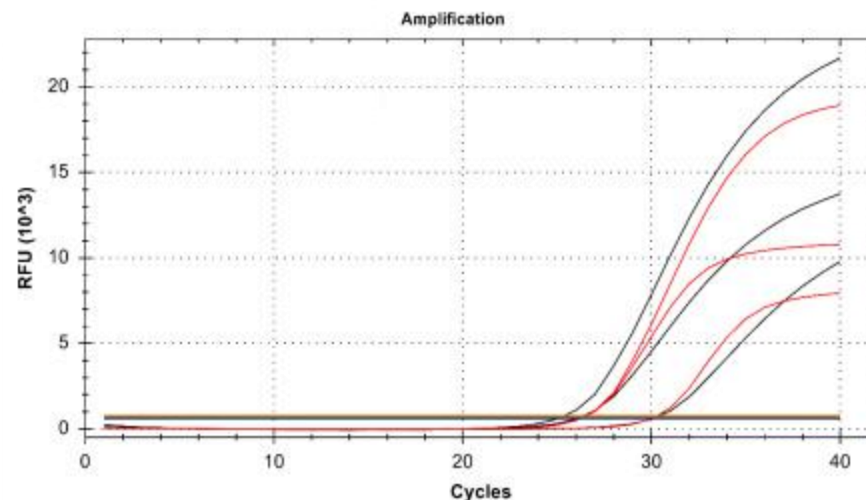
FAM通道

ASFV通检

ROX通道

ASFV **MGF360缺失株**，通检阳性，**MGF360**基因检测**阴性**。

非洲猪瘟病毒qPCR检测方法 – 鉴别



MGF360基因

FAM通道

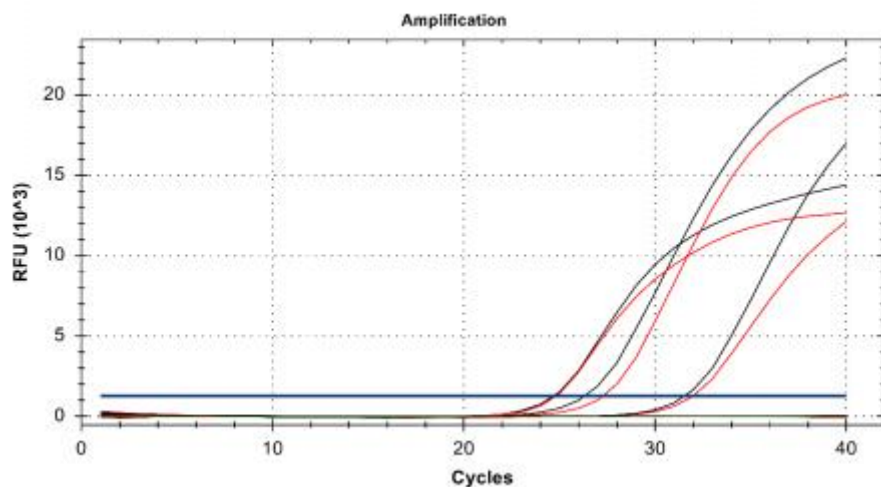
ASFV通检

ROX通道

ASFV野毒，**通检**和**MGF360**基因检测**均为阳性**。

非洲猪瘟的诊断与鉴别诊断 CD2v

非洲猪瘟病毒qPCR检测方法 – 鉴别

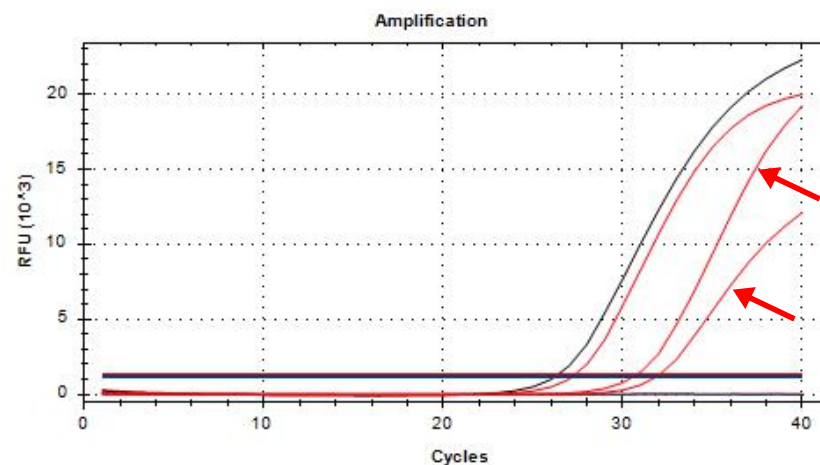


CD2v基因
FAM通道

ASFV通检
ROX通道

ASFV野毒，**通检**和**CD2v**基因检测**均为阳性**。

非洲猪瘟病毒qPCR检测方法 – 鉴别



CD2v基因
FAM通道

ASFV通检
ROX通道

ASFV **CD2v**缺失株，通检阳性，**CD2v**基因检测**阴性**。

非洲猪瘟抗原分型应用案例

抗原检测示例：某养殖场样品检测结果与分析

临床有呼吸道症状，精神不振，食欲下降；取2头猪组织样品 **通检**、**分型**和**鉴别**检测。

ASFV 通检		
样品背景	样品编号	Ct值
阳性对照	PC	22.14
阴性对照	NC	None
1号猪-心脏	Y1-1	38.38
1号猪-肝脏	Y1-2	37.53
1号猪-脾脏	Y1-3	37.32
1号猪-肺脏	Y1-4	29.54
1号猪-肾脏	Y1-5	34.39
1号猪-淋巴结	Y1-6	None
1号猪-扁桃体	Y1-7	37.14
2号猪-心脏	Y2-1	35.45
2号猪-肝脏	Y2-2	35.70
2号猪-脾脏	Y2-3	34.35
2号猪-肺脏	Y2-4	25.11
2号猪-肾脏	Y2-5	39.89
2号猪-淋巴结	Y2-6	37.52
2号猪-扁桃体	Y2-7	36.03
2号猪-胸腔积液	Y2-8	33.12

样品背景	样品编号	分型		鉴别	
		基因型	Ct值	缺失基因	CT值
阳性对照	PC	I型	30.73	CD2v	32.50
		II型	32.08	MGF360	30.31
阴性对照	NC	I型	None	CD2v	None
		II型	None	MGF360	None
1号猪-肺脏	Y1-4	I型	29.43	CD2v	None
		II型	None	MGF360	None
2号猪-肺脏	Y2-4	I型	25.08	CD2v	None
		II型	None	MGF360	None

分型：HEX - I型，FAM - II型； 鉴别：HEX- CD2v，FAM - MGF360

结论：该场可能存在ASFV I型 MGF360和CD2v缺失毒株感染

非洲猪瘟抗体鉴别应用案例

样品 序号	ASFV通检抗体		ASFV CD2v抗体		PCR
	S/P值	判定	S/P值	判定	
1	1.704	+	0.068	-	-
2	1.681	+	0.437	-	-
3	1.239	+	0.208	-	-
4	0.840	+	0.045	-	-
5	1.536	+	0.097	-	-
6	1.340	+	0.088	-	-
7	1.286	+	0.103	-	-
8	1.268	+	0.130	-	-
9	1.158	+	1.740	+	-
10	1.849	+	0.102	-	-
11	1.054	+	0.286	-	-
12	2.250	+	0.576	+	-
13	1.951	+	0.286	-	-
14	0.825	+	0.076	-	-
15	1.022	+	0.101	-	-
16	2.163	+	0.065	-	-
17	1.830	+	0.417	-	-
18	2.003	+	0.157	-	-
19	1.661	+	0.944	+	-
20	2.153	+	0.534	+	-
21	0.989	+	0.145	-	-
22	1.680	+	0.149	-	-
23	1.670	+	1.497	+	-
24	1.812	+	0.111	-	-
25	2.188	+	0.101	-	-
26	2.943	+	0.086	-	-
27	3.024	+	0.146	-	-
28	2.839	+	0.040	-	-
29	4.257	+	0.021	-	-
30	3.979	+	2.545	+	-

抗体鉴别ELISA的应用示例

□ 临床背景：

猪场陆续零星发病，ASFV核酸检测阴性，病死后取组织脏器检测为阳性

□ 送检样品：

血清30份

□ 检测项目：

ASFV CD2V抗体、ASFV通检抗体和ASFV PCR

□ 检测结果：

ASFV PCR均为阴性；

ASFV通检抗体均为阳性；ASFV CD2V抗体阳性率为20%（6/30）

□ 措施及效果：

经过3轮检测，淘汰ASFV CD2V抗体阳性猪，猪群逐渐相对平稳

现场快检 (POCT)



移动检测车



生物安全柜



核酸检测



抗体检测



不同场景下非洲猪瘟的诊断与鉴别诊断

应用场景	检测项目/方法	相关产品目录
有急性发病死亡猪	• 胶体金试纸条应急检测 • qPCR通检确认	❑ 非洲猪瘟病毒荧光PCR检测试剂盒（通检） ❑ 非洲猪瘟病毒分型荧光PCR检测试剂盒
运输环节有发病猪	• 胶体金试纸条或cPCR应急检测 • qPCR通检确认	❑ 非洲猪瘟病毒鉴别荧光PCR检测试剂盒 ❑ 非洲猪瘟病毒荧光热对流PCR（cPCR）快速检测试剂盒（通检）
引种猪	• qPCR通检 • 抗体通检	❑ 非洲猪瘟病毒ELISA抗体检测试剂盒（通检）
养殖环节监测+鉴别	• qPCR通检+分型和鉴别 • 抗体通检+鉴别	❑ 非洲猪瘟病毒CD2V蛋白ELISA抗体检测试剂盒(鉴别) ❑ 非洲猪瘟病毒胶体金检测试纸条（通检）



数字化疫情信息系统建设

- 检测+互联网
- 区域流行病学信息
- 无非洲猪瘟区建立

稳定//扩大/扩张猪场生产



兽医检测实验室网络

官方兽医实验室：

- 动物疫控中心实验室网络
- 动卫中心
- 海关技术中心

高校、科研机构实验室：

- 农业院校实验室
- 农科院体系实验室

第三方检测机构

《关于进一步强化动物检疫工作的通知》，规范开展动物检疫工作，加快推动第三方兽医检测机构发展，支持其参与养殖环节疫情检测监测，为检疫工作提供技术支持。

中科基因五级实验室网络：

- ✦ 参考实验室2
- ✦ 标准实验室30
- ✦ 联合实验室100
- ✦ 联盟实验室1000
- ✦ 移动实验室10000



中科名兽医APP+中科云测LIMS



兽医检测实验室+互联网

【兽医检测实验室 + 猪场 + 共享服务专家】+ 互联网



兽医检测实验室 + 互联网

- 区域猪群健康状况/群体感染状态/免疫保护状态
- 疫苗、药物效果评估，用户遴选疫苗、药物的依据
 - ※ 建立细菌耐药性数字地图
- 区域甚或全国流行病学
 - 病原
 - 病原变异
 - 病原迁移
 - 病原分布
 - ※ 建立病原迁移分布热力地图
- 追溯、跟踪
- 预警、预报

按《畜禽标识和养殖档案管理办法》的规定对畜禽进行标识，对所有生产环节中的畜禽及其产品、饲料、兽药等投入品实施可追溯管理

非洲猪瘟无疫区/无疫小区建设

2019.
09.11

农业农村部
将制定印发
非洲猪瘟无
疫区标准，
非洲猪瘟无
疫小区评估
管理办法和
技术规范

2019.
12.16

农业农村部
《无非洲猪
瘟区标准》
和《无规定
动物疫病小
区管理技术
规范》

2020.
06.28

农业农村部办
公厅关于加快
推进非洲猪瘟
无疫区和无疫
小区建设及评
估工作的通知
(农办牧
[2020]33号)

2020.
07.15

农业农村部
畜牧兽医局
关于印发
《2020年非
洲猪瘟无疫
小区评估工
作方案》的
通知

2020.
09.10

农业农村部就
四川代表团关
于大力推进无
非洲猪瘟疫病
小区建设构建
确保生物安全
条件下的现代
生猪产业体系
的建议的回复

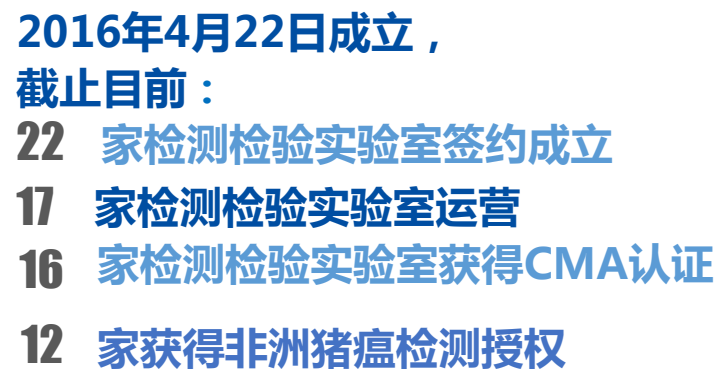


四

第三方检测机构介绍

- 北京中科基因技术有限公司





北京中科基因技术有限公司

1

一个平台/一条主线

中科名兽医APP + 中科云测LIMS / 数字化-大数据-智慧兽医发展主线

2

两个共享服务体系

共享专家 + 共享实验室

3

三级服务体系

国家/国际级专家，省级专家，区县级基层服务专家

4

四大业务板块

服务，产品，研发，教育

5

五级实验室网络

参考实验室2，标准实验室30，联合实验室100，联盟实验室1000，移动实验室10000



中科基因与您一起 打造动物健康管理及安全畜产品生产生态圈



了解更多企业动态
请关注“中科基因资讯”公众号



兽医共享 智慧诊断
请注册下载“中科名兽医”APP

地址：北京市海淀区中关村南大街12号天作国际中心1号楼A座1702室

邮编：100089

电话：400-001-2129

网址：www.sslab.com.cn

邮箱：adminis@sslabor.com.cn