



# 猪伪狂犬病净化策略与应用

何启盖 教授

华中农业大学动物医学院  
国家生猪产业技术体系岗位科学家  
农业农村部兽用诊断制剂创制重点实验室  
Email: [he628@mail.hzau.edu.cn](mailto:he628@mail.hzau.edu.cn)



# 提 纲

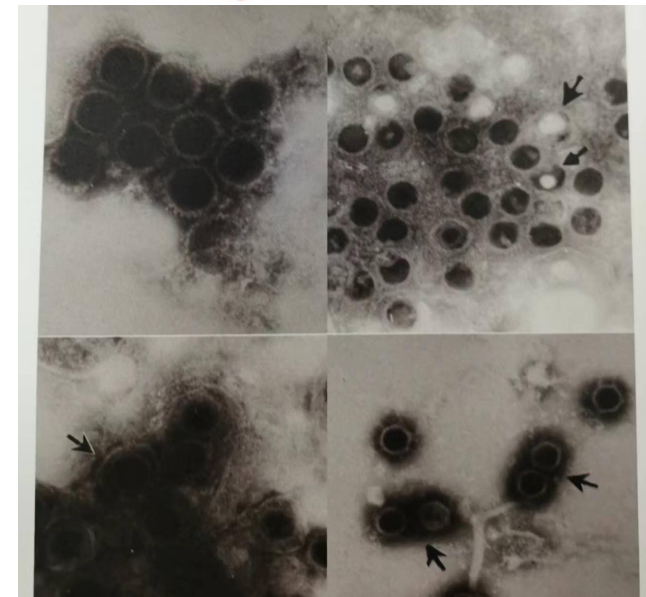
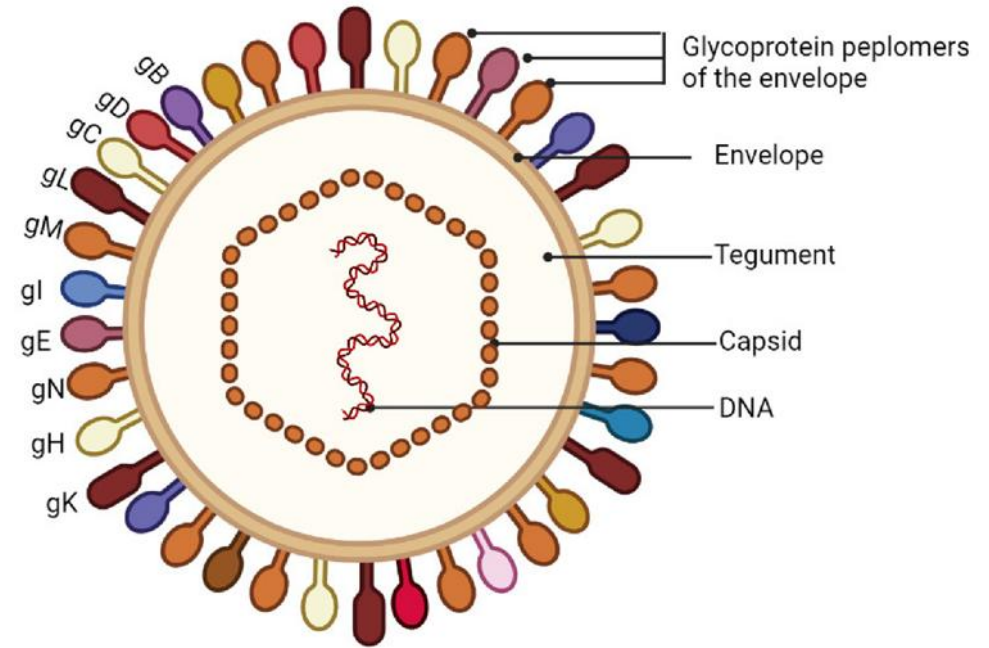
- 一、伪狂犬病简介
- 二、伪狂犬病流行情况
- 三、检测技术进展
- 四、疫苗研究
- 五、防控技术（预防、控制与净化）
- 六、问题：非洲猪瘟生物安全能预防猪伪狂犬病吗？

# 一、伪狂犬病简介

- 伪狂犬病(Pseudorabies, PR; Aujeszky's disease, AD)是由伪狂犬病病毒(Pseudorabies virus, PRV)引起的一种多种动物共患传染病，呈世界性分布。对养猪业的危害最为严重。
- 四大临床特征：
  - (1) 繁殖障碍：妊娠母猪出现流产、产死胎和木乃伊胎；种母猪发生返情和空怀，屡配不孕；
  - (2) 神经症状：15日龄内仔猪出现神经症状，致死率100%；断奶仔猪出现神经症状和呼吸道症状，致死率10%~20%；
  - (3) 生长猪和育肥猪出现呼吸道症状，增重缓慢、饲料报酬低；
  - (4) 公猪出现睾丸炎性肿胀或萎缩，失去种用能力。

# 病原学特征

- 病毒属于疱疹病毒科，DNA病毒；
- 基因组全长约143kb，有生长必需基因和非必需基因；
- 公认的毒力相关基因是：TK基因、gE基因，核苷酸还原酶基因（RR）等；
- 弱毒疫苗可作为基因工程疫苗载体；



## 二、伪狂犬病流行情况

### 1、流行情况（本实验室检测数据）

病原学检测

抗体检测

# 猪伪狂犬病-2020.4-2023.12

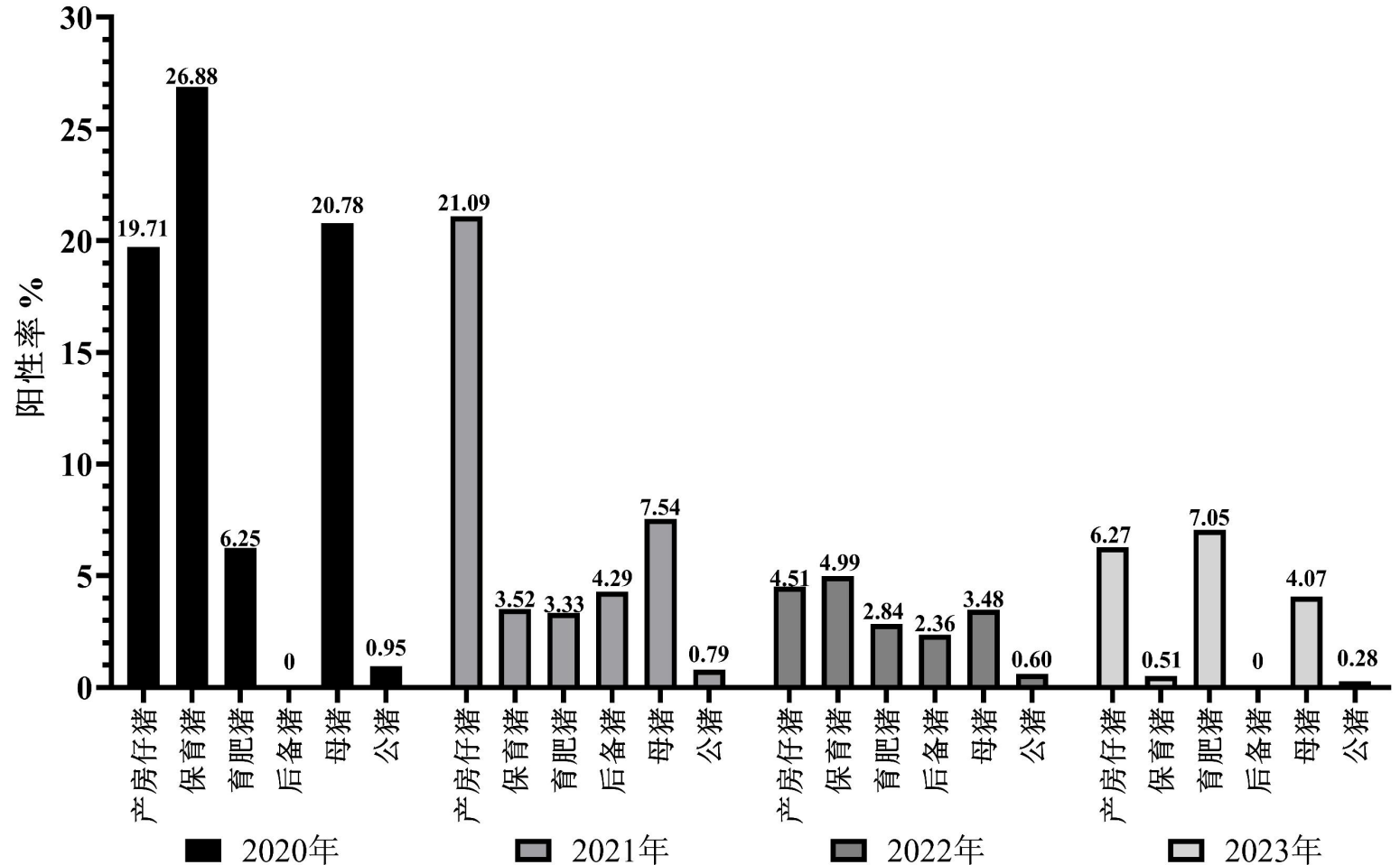
2020年4月至2023年12月采集的626个猪场的20361份血清样品中场阳性率为13.20%（92/697）（95%CI: 10.69%~15.71%），样品阳性率为4.46%（1208/23079）（95%CI: 4.22%~4.71%）；其场阳性率和样品阳性率均呈逐年下降趋势。

	场阳性率	同比去年	样品阳性率	同比去年
2020年	21.55%		11.44%	
2021年	16.67%	-22.65%	6.05%	-47.12%
2022年	11.61%	-30.35%	3.44%	-43.14%
2023年	7.46%	-35.75%	3.26%	-5.23%
累计	13.20%		4.46%	



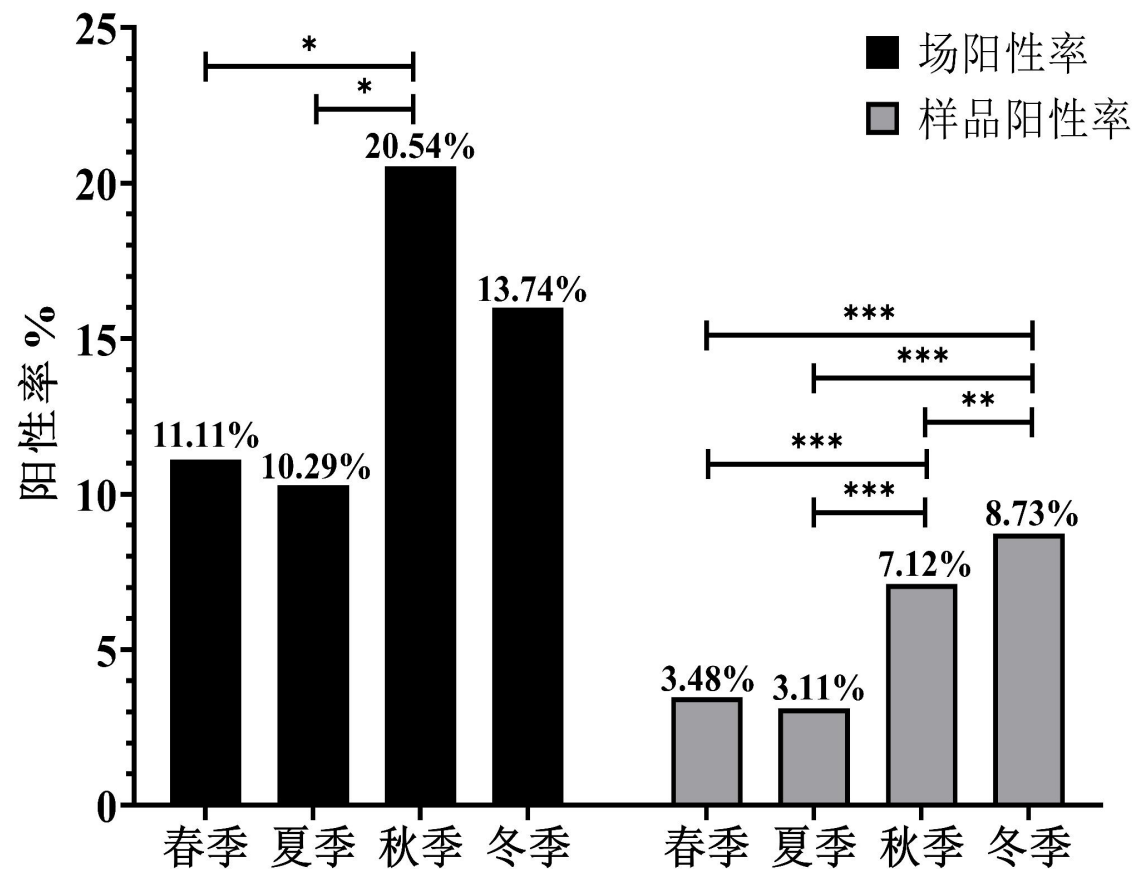
# 猪伪狂犬病-不同阶段gE抗体阳性率

- 2020年度保育猪抗体阳性率最高；
- 2021年种产房仔猪抗体阳性率最高，其中仔猪抗体阳性多为母源抗体。
- 2022年各阶段猪群抗体阳性率持续降低；
- 2023年后备猪群gE抗体全部阴性。



# 猪伪狂犬病-不同季节gE抗体阳性率

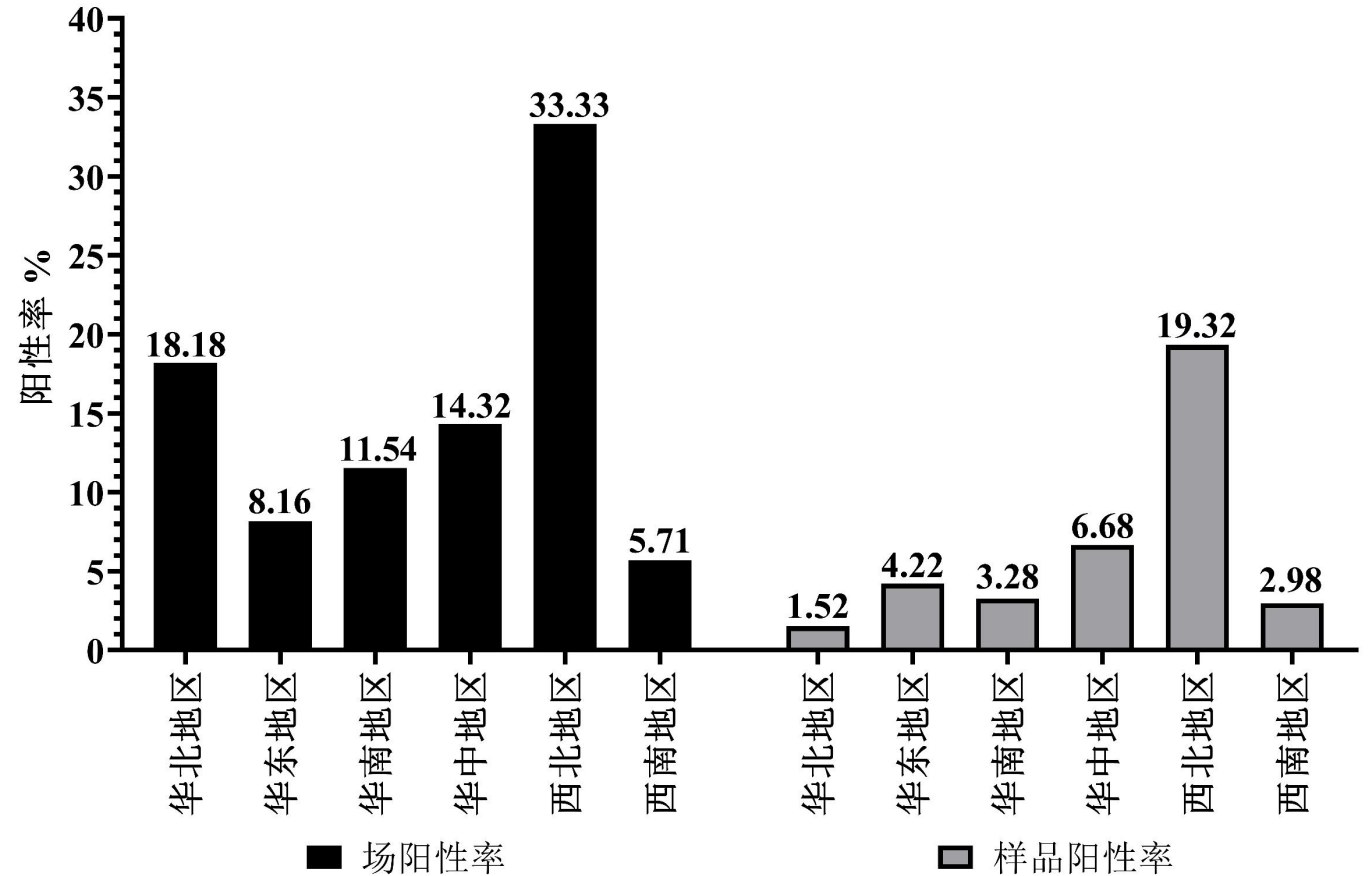
- 其中秋季的场阳性率和样品阳性率均显著高于春、夏季节 ( $P < 0.05$ ) ;
- 冬季的样品阳性率则极显著高于春、夏季节, 显著高于秋季, 场阳性率虽高于春、夏季节, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ ) ;
- 表明秋冬两季天气变化较大且温度较低的季节伪狂犬病感染率相对较高。





# 猪伪狂犬病-不同地理区域gE抗体阳性率

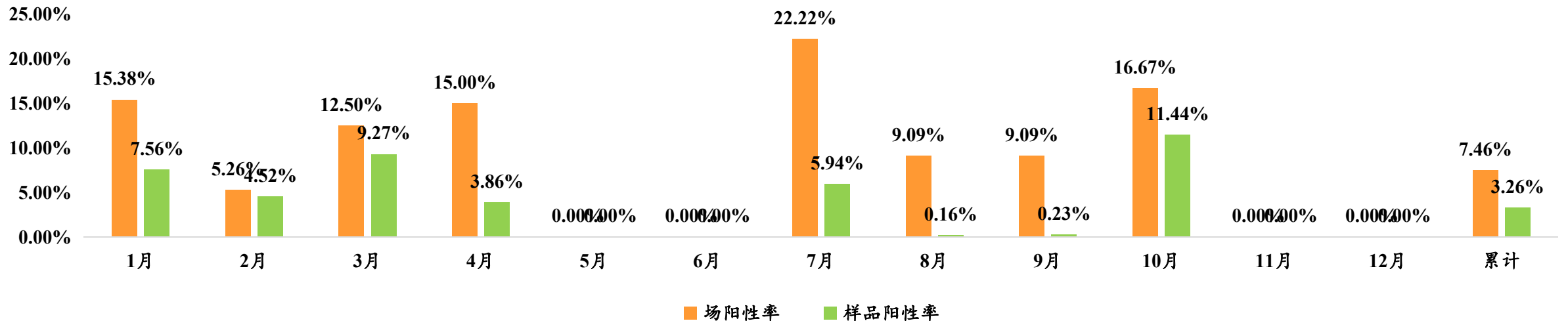
- 不同地区中场阳性率和样品阳性率差异较大。
- 西北地区场阳性率和样品阳性率均为最高，其样品阳性率均极显著高于其他地区 ( $P < 0.01$ )。
- 西南地区场阳性率最低，样品阳性率也相对较低。



# 猪伪狂犬病

- 2023年1月-12月，共对57个场点的257份样品检测PRV核酸，其中仅在3个场地检测到3份阳性；
- 对201个猪场的6928份血清监测gE抗体可见场阳性率和样品阳性率分别为7.46%和3.26%。

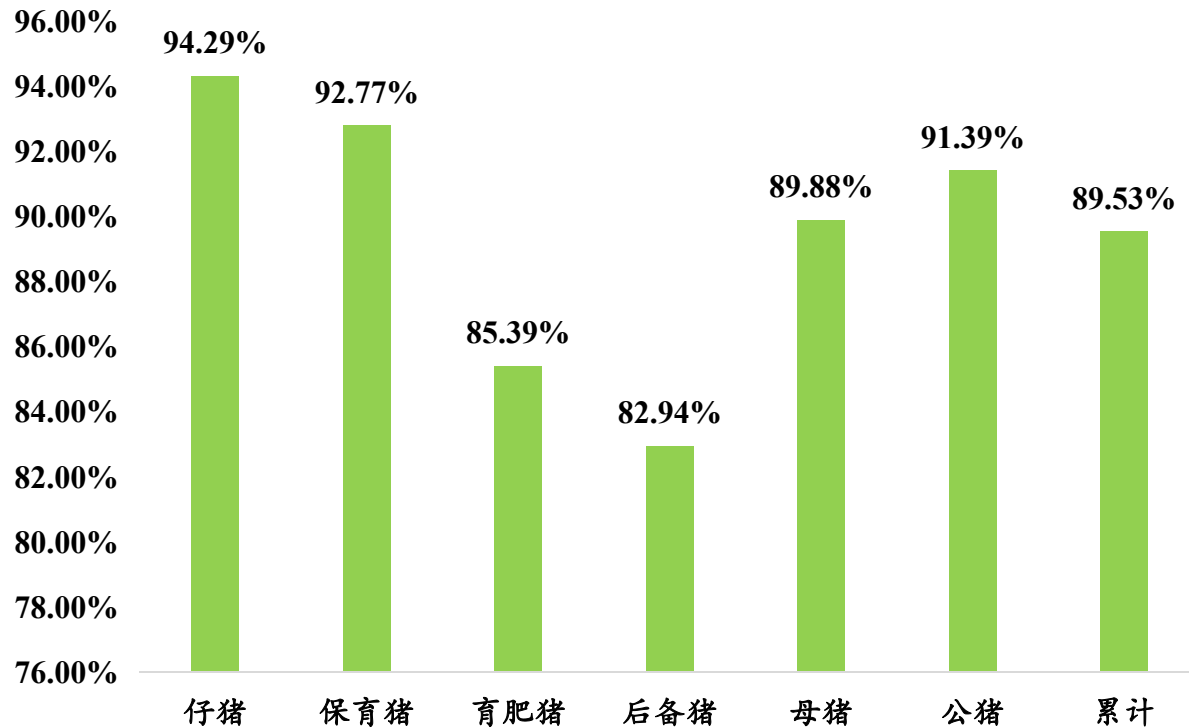
	场阳性率	样品阳性率
PRV野毒核酸	5.26% (3/57)	1.17% (3/257)
PRV-gE抗体	7.46% (15/201)	3.26% (226/6928)
PRV-gB抗体	97.86% (137/140)	89.53% (5043/5633)



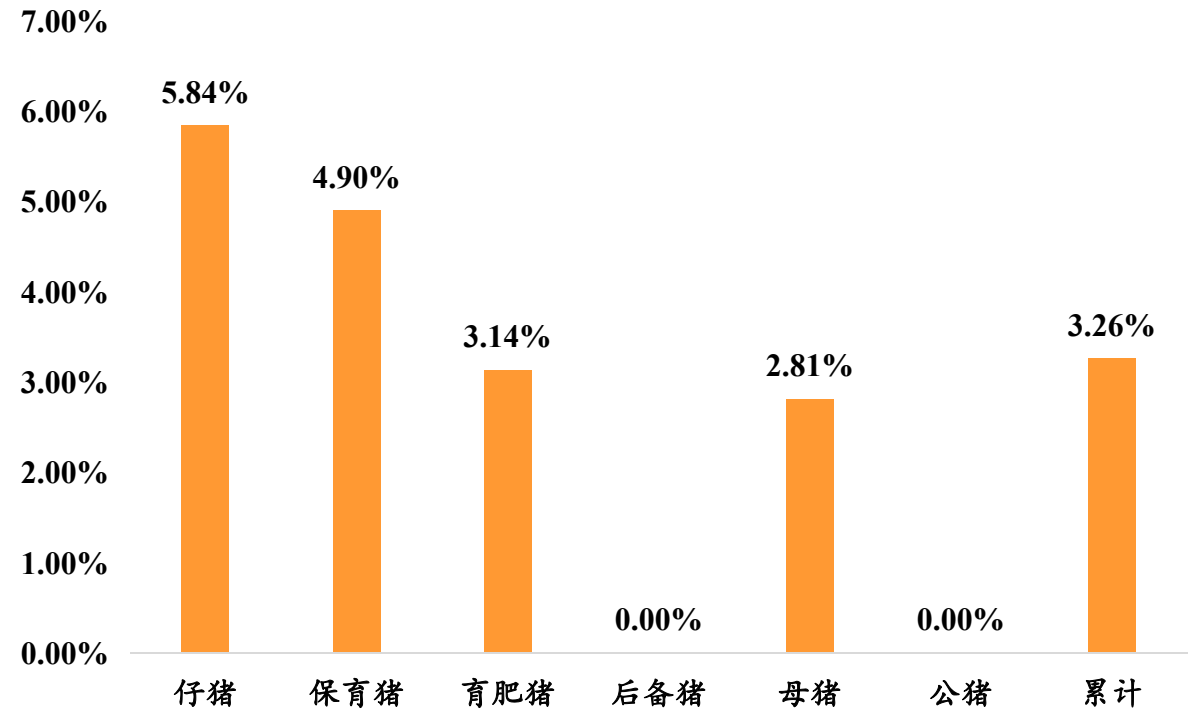
# 猪伪狂犬病

- 仔猪gE阳性率最高为5.84%（102/1747），后备猪、公猪gE抗体均为阴性；
- 后备猪gB抗体阳性率最低，表明需加强免疫。

PRV-gB抗体阳性率

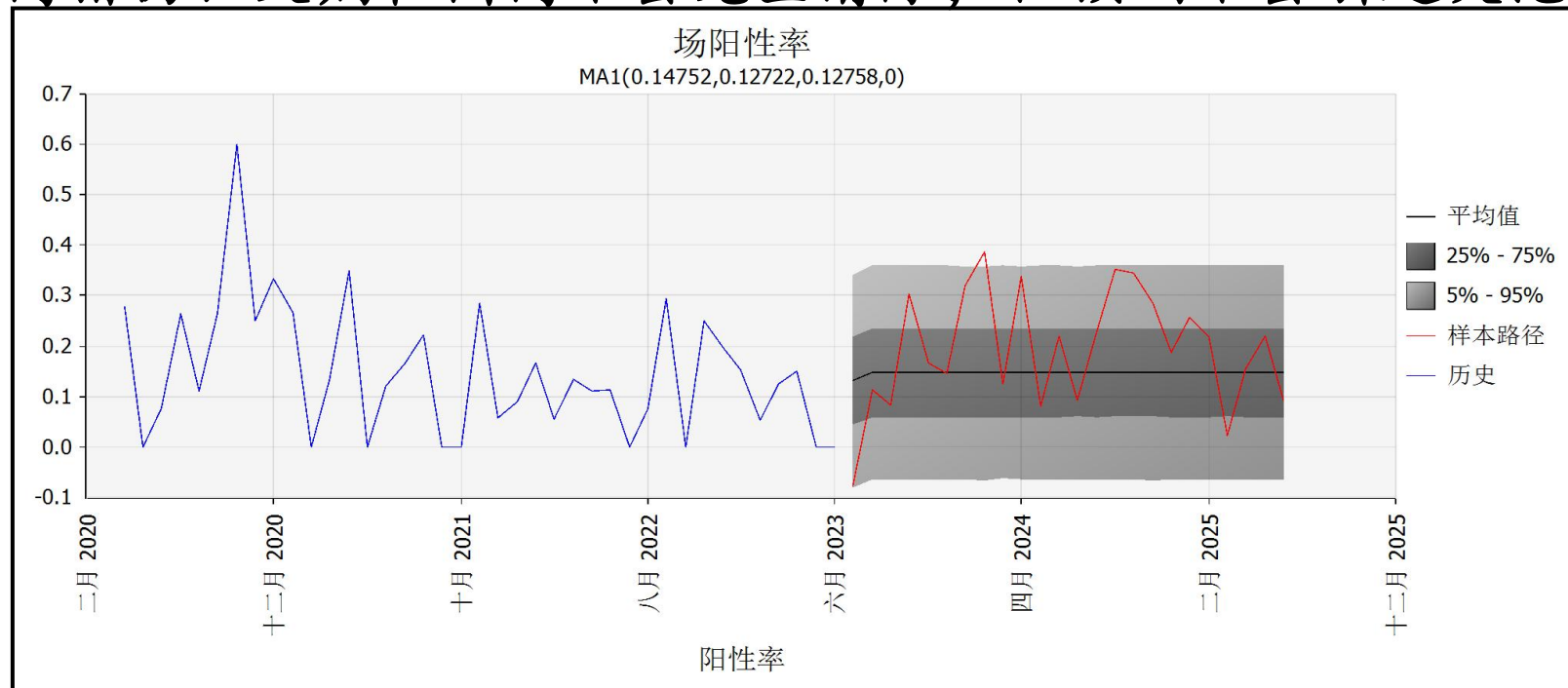


PRV-gE抗体阳性率



# 猪伪狂犬病-gE抗体阳性率（野毒）流行趋势分析

- 用@Risk分析软件中移动平均模型MA1 贝叶斯分析PRV-gE抗体阳性流行趋势。
- 2024年间PRV-gE抗体均持续在相对稳定的较低范围内，2024年间PRV-gE抗体阳性率低于27.7%和38.0%的置信区间分别为75%和95%；
- 表明短时间内猪伪狂犬病在国内不会完全清除，但预测不会引起大范围暴发。



## 2、伪狂犬病基础知识

2.1 病毒可感染哪些动物

2.2 病毒潜伏感染（终身带毒）和被激活原因

2.3 病毒的传播途径

2.4 新病毒特征

## 2.1 伪狂犬病毒可感染多种动物

- 家养动物：猪，牛羊
- 宠物：犬，猫
- 野生动物：野猪，狼，狐狸
- 实验动物：家兔，小鼠



- 感染特点：除猪外，其他动物发病时均为散发，但以死亡为结局。

# 狐狸：因食用猪肝而发病

Arch Virol (2016) 161:445–448  
DOI 10.1007/s00705-015-2659-9



BRIEF REPORT

## **Pseudorabies in farmed foxes fed pig offal in Shandong province, China**

Hong-Liang Jin<sup>1</sup> · Shu-Man Gao<sup>1</sup> · Ye Liu<sup>1</sup> · Shou-Feng Zhang<sup>1</sup> · Rong-Liang Hu<sup>1</sup>

In August 2014, over 1,200 captive foxes of all ages and of both sexes on a fur-bearing-animal farm in Yuncheng county, Shandong, China, died after consuming mainly domestic raw pork liver. The infection spread rapidly, with over 200 foxes out of a total population of 1500 animals dying daily. Clinical symptoms included initial fever, anorexia, vomiting and dyspnea, developing into intense pruritus, frequent snarling and repeated lying down and

# 水貂（mink）：食用猪肉或猪肝发病

Arch Virol (2017) 162:863–866  
DOI 10.1007/s00705-016-3170-7



BRIEF REPORT

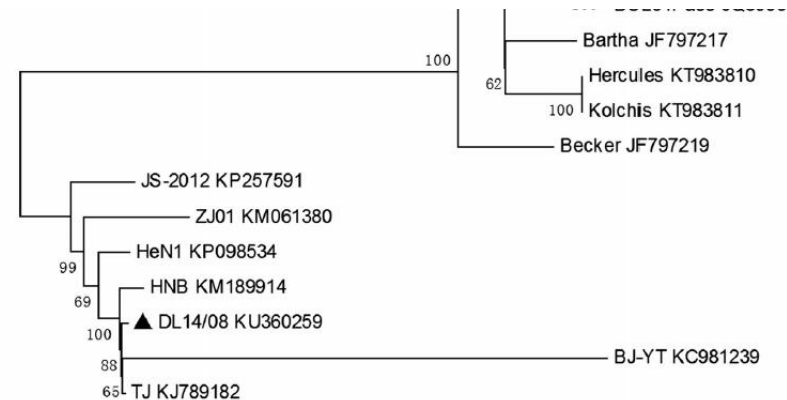
## Outbreak of severe pseudorabies virus infection in pig-offal-fed farmed mink in Liaoning Province, China

Hao Liu<sup>1</sup> · Xin-Tong Li<sup>1</sup> · Bo Hu<sup>1</sup> · Xiao-Yu Deng<sup>1</sup> · Lei Zhang<sup>1</sup> · Shi-Zhen Lian<sup>1</sup> · Hai-Ling Zhang<sup>1</sup> · Shuang Lv<sup>1</sup> · Xiang-Hong Xue<sup>1</sup> · Rong-Guang Lu<sup>1</sup> · Ning Shi<sup>1</sup> · Ming-Hao Yan<sup>2</sup> · Peng-Peng Xiao<sup>3</sup> · Xi-Jun Yan<sup>1</sup>

864

Approximately 8000 mink died within 1 week (mostly within the first 3 days). Clinical signs included diarrhea, anorexia, claw and cage biting, abdominal and facial skin scratching, dyspnea, and emesis. The disease typically lasted 3 to 7 days, with a mortality rate of 80–90%. Bacterial isolation or PCR were used to rule out other differential diagnoses, such as highly pathogenic mink enteritis virus (MEV), canine distemper virus (CDV), and food poisoning. During the subsequent investigation, we isolated PRV from the brain tissue of affected mink.

A total of 379 dead mink were collected from farms in the three counties. Postmortem examinations of the mink





# 绵羊：注射伪狂犬病Bartha株疫苗发病

Vet Res Commun (2013) 37:329–332  
DOI 10.1007/s11259-013-9568-8

SHORT COMMUNICATION

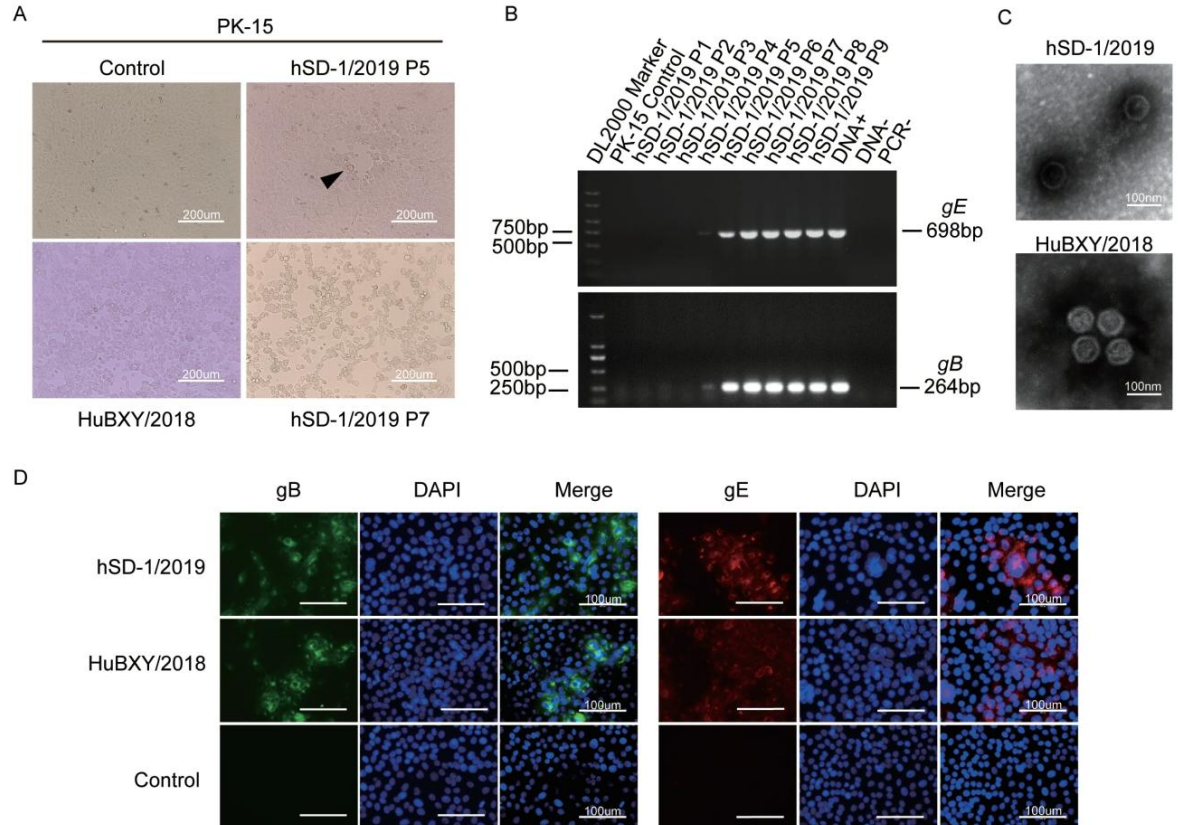
## Attenuated live vaccine (Bartha-K16) caused pseudorabies (Aujeszky's disease) in sheep

Hanjin Kong • Keshan Zhang • Yongjie Liu •  
Youjun Shang • Bin Wu • Xiangtao Liu

... death. The clinical course varied from only a few hours up to 24 h. This outbreak was associated with 35.83 % (860/2,400) morbidity and 100 % of those animals which developed symptoms died. There were no obvious effects after drug therapy. Brain samples from the infected sheep were collected immediately after death. There were no obvious gross necropsy findings.

# 伪狂犬病毒可引起人急性脑炎

- 患者表现呼吸障碍和急性神经症状
- 用高通量方法发现病原核酸
- 病毒分离鉴定



Clinical Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



## A Novel Human Acute Encephalitis Caused by Pseudorabies Virus Variant Strain

Qingyun Liu,<sup>1</sup> Xiaojuan Wang,<sup>2</sup> Caihua Xie,<sup>3,4,5</sup> Shifang Ding,<sup>6</sup> Hongna Yang,<sup>6</sup> Shibang Guo,<sup>1</sup> Jixuan Li,<sup>1</sup> Lingzhi Qin,<sup>2</sup> Fuguo Ban,<sup>3,4,5</sup> Dongfang Wang,<sup>3,4,5</sup> Cui Wang,<sup>3,4,5</sup> Lingxiao Feng,<sup>7</sup> Haichang Ma,<sup>2</sup> Bin Wu,<sup>1</sup> Liping Zhang,<sup>3,4,5</sup> Changxian Dong,<sup>7</sup> Li Xing,<sup>8</sup> Jiewen Zhang,<sup>2</sup> Huanchun Chen,<sup>1</sup> Ruoqian Yan,<sup>3,4,5</sup> Xiangru Wang,<sup>1</sup> and Wei Li<sup>2</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Cooperative Innovation Center for Sustainable Pig Production, College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei, China, <sup>2</sup>Department of Neurology, People's Hospital of Zhengzhou University, Henan People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, <sup>3</sup>Henan Centre for Animal Diseases Control and Prevention, Zhengzhou, Henan, China, <sup>4</sup>College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan, China, <sup>5</sup>College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan, China, <sup>6</sup>Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong, China, <sup>7</sup>People's Hospital of Zhengzhou University, Henan People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, and <sup>8</sup>Binhai Genomics Institute, Tianjin Translational Genomics Center, BGI-Tianjin, BGI-Shenzhen, Tianjin, China

## 2.2 病毒潜伏感染

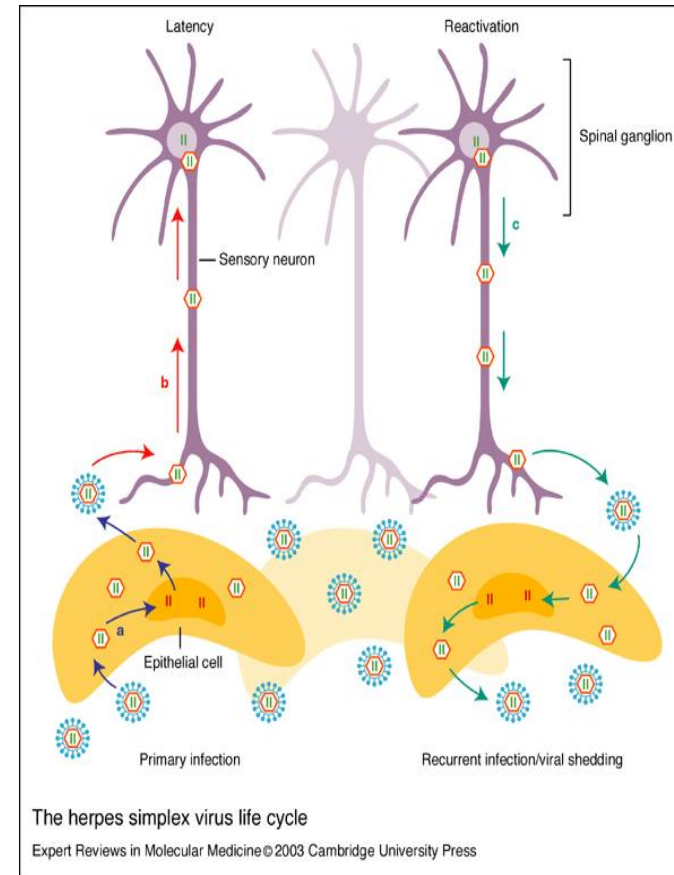
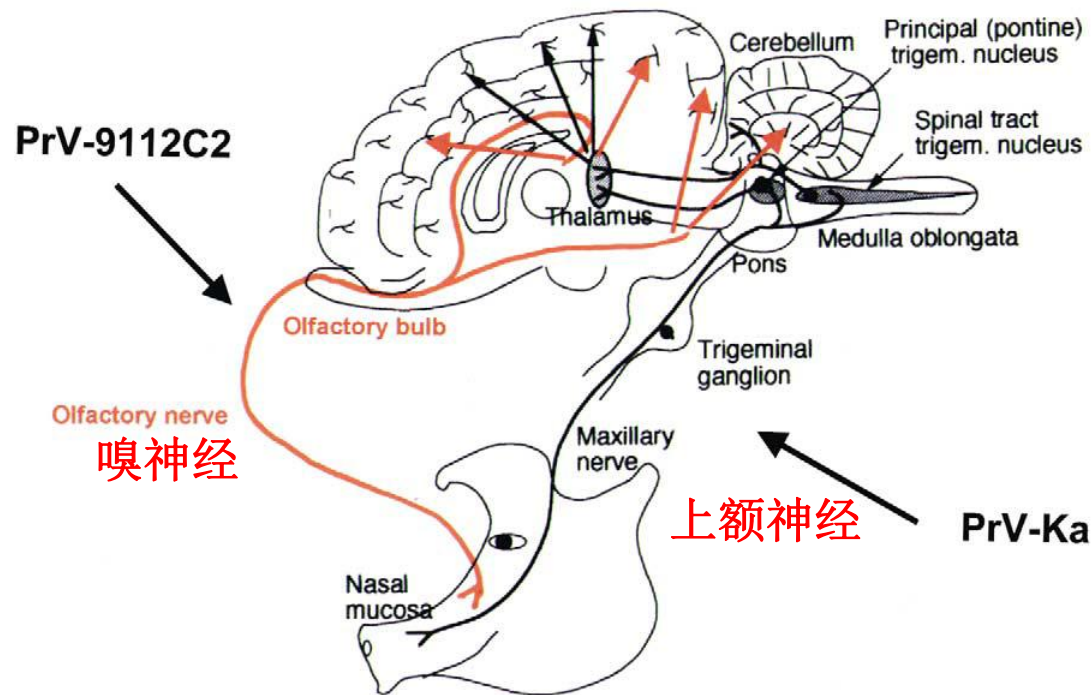
(1) 动物感染伪狂犬病毒后终身带毒，ELISA检测野毒抗体阳性，中和抗体可能阴性。

- 1) 潜伏感染部位：在三叉神经节中，其特点是：
  - 只有病毒基因组，没有活病毒颗粒
  - 可用PCR检测到核酸，不能分离病毒



# 伪狂犬病病毒具有嗜神经性

- PRV具有嗜神经性，能够经黏膜上皮快速转移至外周神经（嗅神经或上额神经），最终进入中枢神经系统，建立潜伏感染。可被激活，间歇向外排毒。



## 2.2 病毒潜伏感染

### (2) 可激活潜伏感染病毒的因素

- 1) 寒冷刺激
- 2) 免疫抑制：饲料黄曲霉毒素污染  
传染病：猪圆环病毒病、蓝耳病
- 3) 药物：降低机体免疫力的药物，如地塞米松，安乃近等。



[Am J Vet Res. 1984 May;45\(5\):981-3.](#)

#### Confirmation of pseudorabies virus infection, using virus recrudescence by dexamethasone treatment and in vitro lymphocyte stimulation.

[Thawley DG, Solorzano RE, Johnson ME.](#)

#### Abstract

A corticosteroid treatment regimen, together with peripheral blood lymphocyte transformation and virus isolation, were used as epizootologic tools to study pigs seropositive to pseudorabies (PR) virus, but of unknown PR viral infection status. After treatment with 160 mg of dexamethasone daily for 5 days, PR virus was isolated from 2 of 3 adult littermate boars that carried antibodies to PR virus. These pigs also transferred infection to a specific-pathogen-free sentinel penmate. After dexamethasone treatment, increased lymphocyte stimulation indices were detected in all PR virus seropositive pigs.



2024-4-17

## 2.3 伪狂犬病毒传播途径

### (1) 水平传播

- 1) 空气传播：经空气传入(2-3km)，是目前大多数猪场发生伪狂犬病的风险点。疫点周围1km, OR值为5000；2-6km内, OR值为500 (Gloser, 1984; Heliez, 1989)

[Vet Rec. 1993 Mar 27;132\(13\):317-21.](#)

#### **Further evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus.**

[Christensen LS<sup>1</sup>](#), [Mortensen S](#), [Bøtner A](#), [Strandbygaard BS](#), [Rønsholt L](#), [Henriksen CA](#), [Andersen JB](#).

#### **⊕ Author information**

#### **Abstract**

In spite of the eradication of Aujeszky's disease in Denmark a single outbreak was recorded in December 1988 and another severe epizootic took place during the winter and spring of 1989/90. The epizootic occurred in nearly the same areas as the preceding epizootic during the winter of 1987/88. Identification of the strains of virus involved eliminated the possibility that the latest epizootic was due to the persistence of virus in the pig population. Furthermore, as during the preceding epizootic, initial recordings of the new strains were found to coincide with periods with southerly winds. It was concluded from circumstantial evidence that the concurrent introductions of virus to several farms played a major role during the epizootic.

# 伪狂犬病传播途径

- 2) 引进潜伏感染猪
- 3) 购入带毒精液
- 4) PED 返饲材料中含有PRV



# 伪狂犬病传播途径

## (2) 垂直传播:

胎盘传播: 不同妊娠阶段均可发生

## (3) 其他动物传播

a: 鼠类 (如果在猪场周围发现鼠和猫死亡数量高于平时, 需要注意伪狂犬病传入的风险 (1985年爱尔兰案例))

(非瘟场清空给周边猪场带来的风险)

b: 野猪: 8498 samples, 2009-2012。18% were antibody positive in 25 of 35 states, USA (Kerri Pedersen, 2013)



## 2.4、新型伪狂犬病毒的特点

# 病原学研究：猪伪狂犬病毒变异株（PRV HNX株）的鉴定与分离

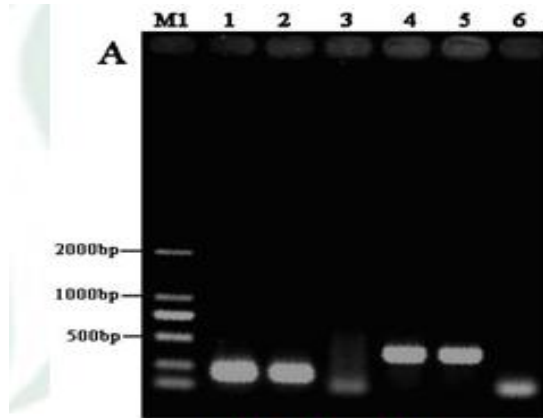
- 2011年10月开始，PR在国内暴发，20多个省均有发病报道
- 母猪流产；仔猪出现划水样、转圈等神经症状；
- 剖检：大脑出血；脾脏和扁桃体出现白色坏死灶
- 24.5%免疫Bartha疫苗的猪场出现PR。



# PRV HNX株分离鉴定

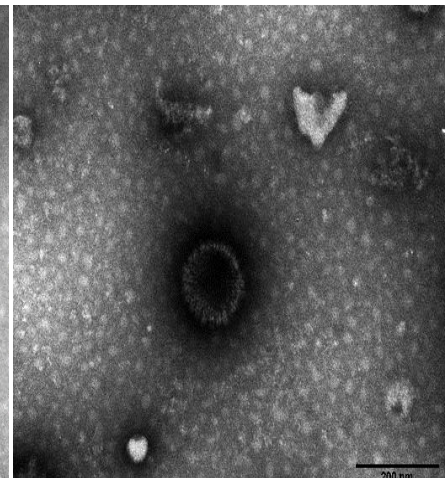
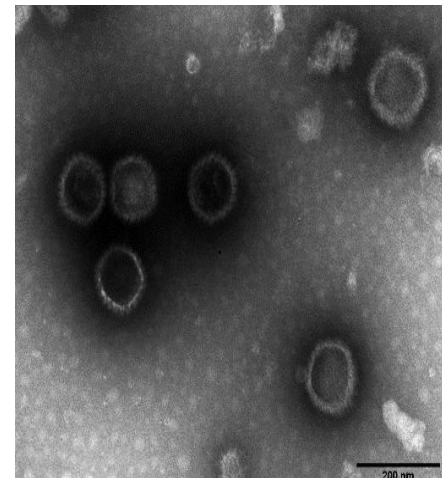
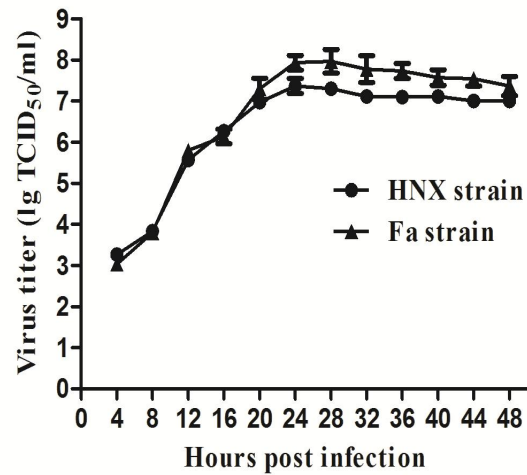
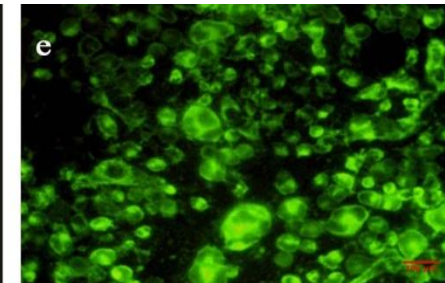
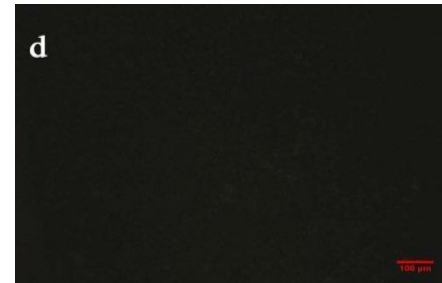
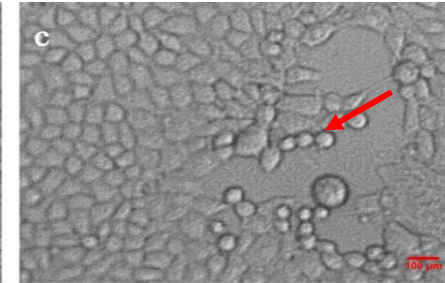
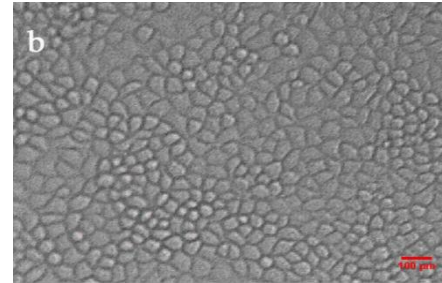
Mock

PRV HNX



PRV PCR检测

1-3: PRV gD基因检测, 1为样品, 2为阳性对照, 3为阴性对照;  
4-6: PRV gE基因检测, 4为样品, 5为阳性对照, 6为阴性对照; M1: 2000bp Marker



## PRV HNX株小鼠感染试验



A: HNX株

B: HNB株

C: Fa株

D: Ea株

相较于Ea/Fa经典毒株，HNX变异株可引起明显搔痒症状

# Bartha疫苗免疫仔猪，用PRV HNX株感染后可死亡

## 临床症状

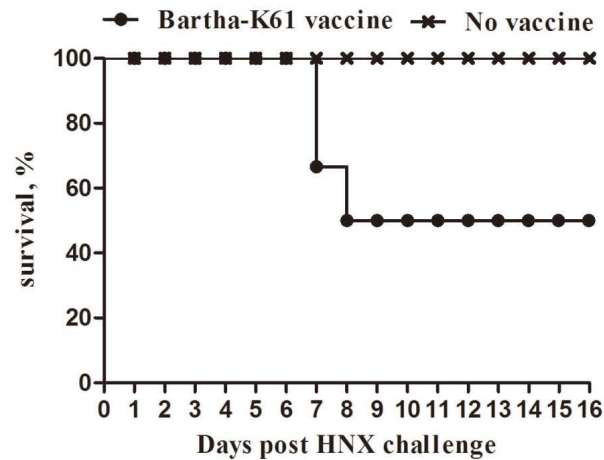
No vaccinated



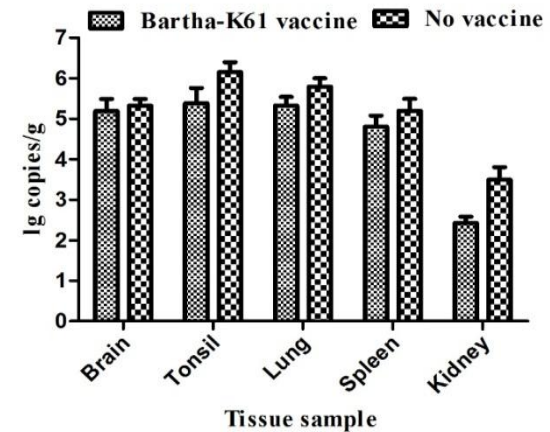
Bartha-K61 vaccine



## 存活率



## 病毒载量

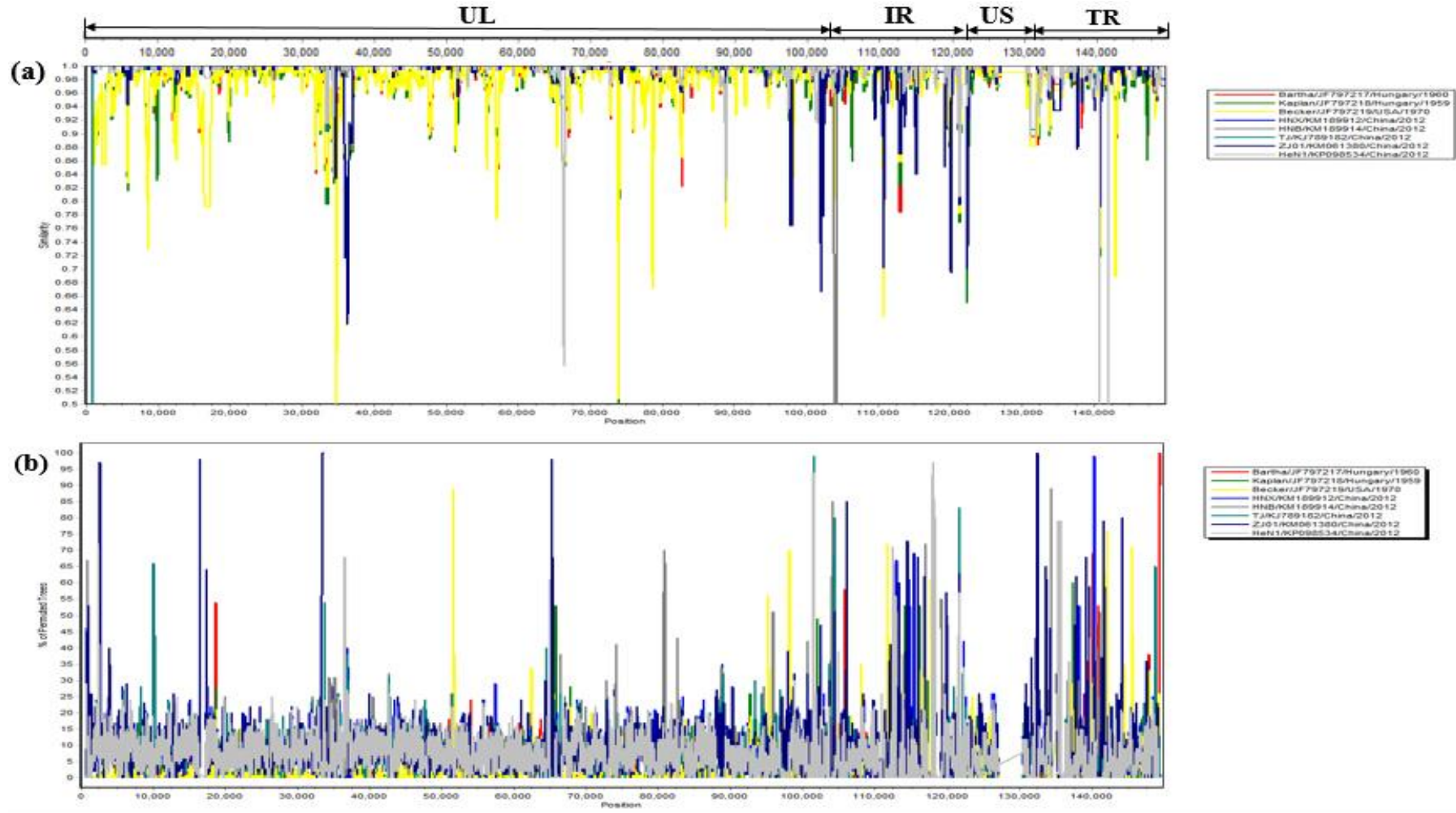


# PRV全基因组序列同源性比对

Strain	Nucleotide identity (%)							
	HNB	Fa	TJ	ZJ01	HeN1	Bartha	Kaplan	Becker
HNX	98.1	96.4	97.2	94.3	96.9	90.1	92.1	91.2
HNB		97.0	97.5	95.3	96.6	90.6	92.9	92.0
Fa			96.2	94.9	95.6	90.7	92.6	91.7
TJ				94.5	95.7	90.0	92.0	91.3
ZJ01					94.3	90.3	92.7	92.3
HeN1						90.2	92.7	91.6
Bartha							95.3	93.7
Kaplan								96.4

- HNX株与HNB株基因组序列同源性为 98.5%;
- HNX、HNB株与Fa株基因组序列同源性分别为 96.8%、97.0%;
- HNX、HNB、Fa株与Bartha株基因组序列同源性分别为 90.5%、90.6%、90.4%。

# PRV基因是否发生重组：更多研究倾向于发生重组



我们早期研究：HNX株全基因组和UL,IR/TR,US区域都未出现重组

# 新毒株毒力实验总结

- 相比经典毒株，新毒株对保育猪的致病力显著增强；
- SMX2012分离株能够导致50日龄仔猪的神经症状和死亡；
- SMX2012分离株导致严重的呼吸道症状；
- SMX2012分离株导致长时间的发热和精神沉郁；

## PRV 变异株的分离及抗原差异性分析

周春陵, 谭鑫, 许拓, 刘洋, 库旭钢, 何启盖\* (华中农业大学 农业微生物学国家重点实验室, 湖北 武汉 430070)



# 三、猪伪狂犬病诊断技术

1、流行病学诊断：繁殖障碍、呼吸道症状、神经症状等类似症状疾病的鉴别诊断。

2、实验室诊断：

- 抗体检测：乳胶凝集试验，PRV-ELISA，gB-ELISA，gE-ELISA，中和试验（研究目的）；化学发光检测方法（新）。
- 抗原：免疫组化试验
- 核酸检测：PCR，qPCR。设计引物时，要考虑不同毒株的gE基因缺失片段。
- 3、动物感染试验：小鼠、家兔，本动物。

# 猪伪狂犬病抗体检测试剂盒新兽药证书



猪伪狂犬病乳胶凝集抗体试剂盒  
(2000年)

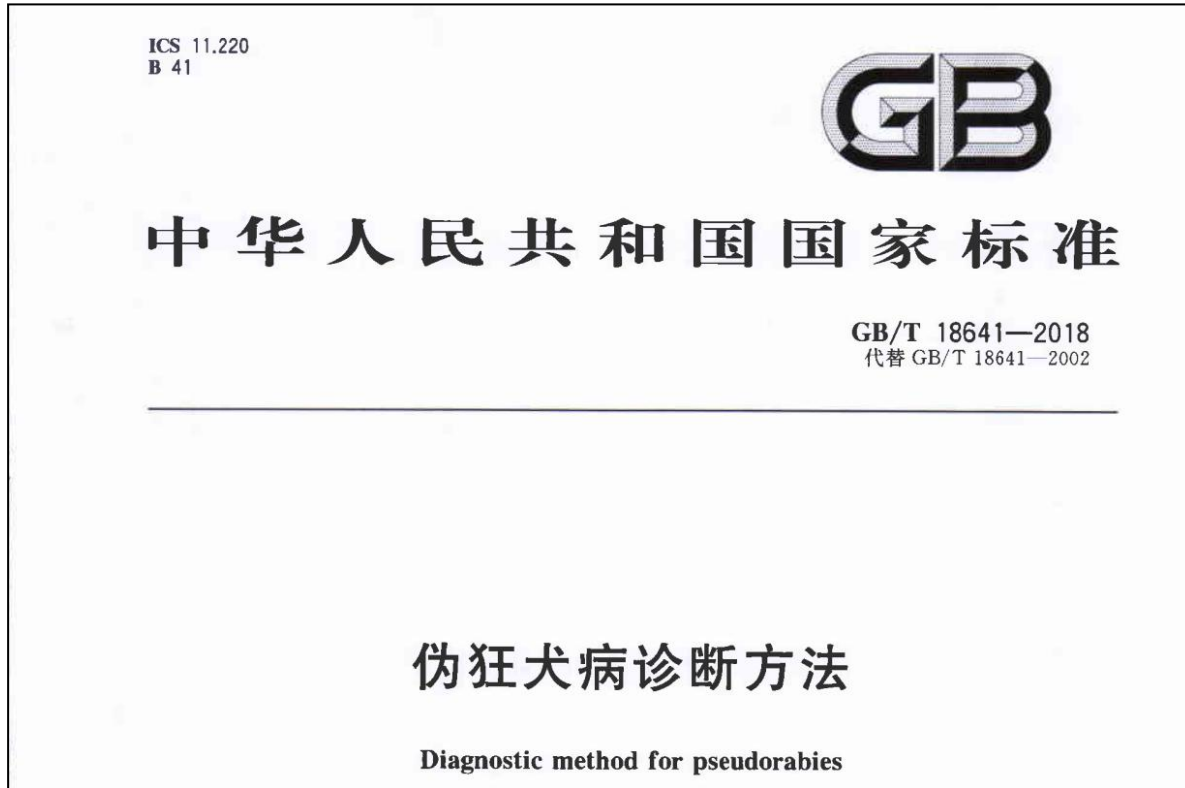


猪伪狂犬病病毒ELISA抗体检测  
试剂盒 (2007年)



猪伪狂犬病病毒gE蛋白ELISA  
抗体检测试剂盒 (2010年)

# 伪狂犬病毒检测技术（国家标准）



**GB/T 18641-2018**



**GB/T 35911-2018**

# 猪伪狂犬荧光PCR检测技术

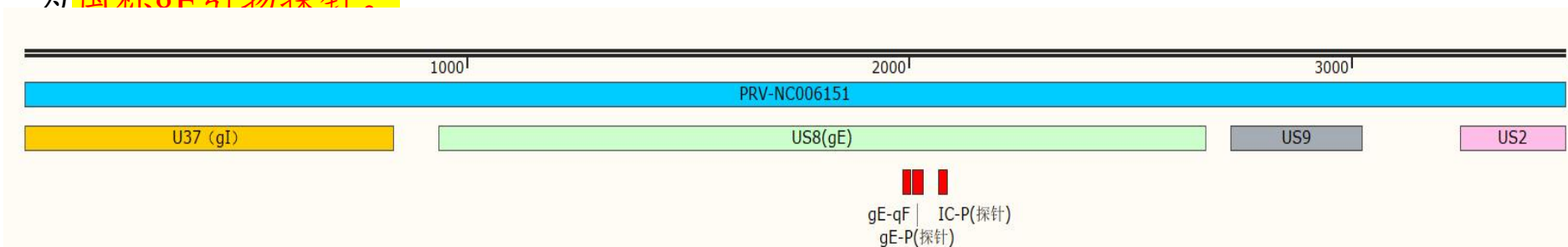
## GB/T35911-2018伪狂犬病毒荧光定量PCR方法引物序列

名称	序列 (5'—3')
gH-qF	ACGCTCGGCTTCCTCTCC
gH-qR	GGTAGTCGTCGCTCTCGTG
gH-P(探针)	FAM-TCGCGCATCGTCTGGTGCAT-BHQ1
gE-qF	GCTGTACGTGCTCGTGAT
gE qR	TCAGCTCCTTGATGACCGTGA
gE-P(探针)	HEX-CACAACGGCCACGTCGCCACCTG-BHQ1
IC-F	AAGTGCTCGGTGCCTTTAGTC
IC-R	GTCCCATAGACTCACCTGAAGT
IC-P(探针)	ROX-CCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAG-BHQ2

# 不同伪狂犬病毒gE序列缺失的特点

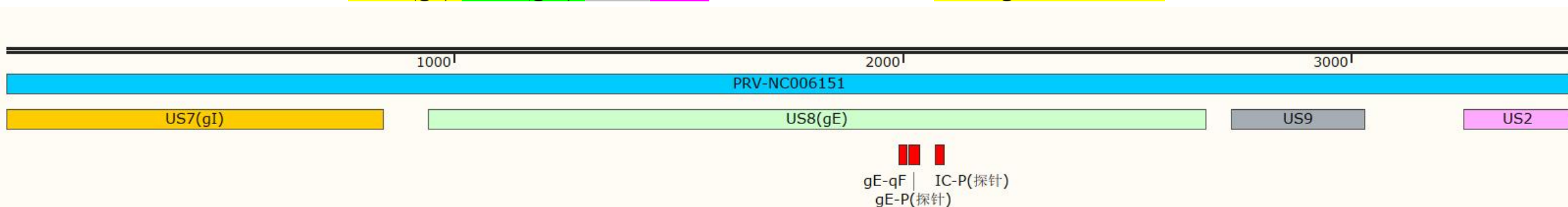
伪狂犬病C株疫苗、Bartha-K61株疫苗、SA-215株疫苗均是缺失US7(gI) US8(gE) US9 US2基因。US8 (gE) 基因均为全部缺失。

(1)伪狂犬病C株疫苗：基因缺失了3692bp，gE位置附近缺失情况如下：相比于PRV全基因组（NC006151）缺失序列（缺失位置包括US7(gI) US8(gE) US9 US2），红色部分为**国标gE引物探针**。



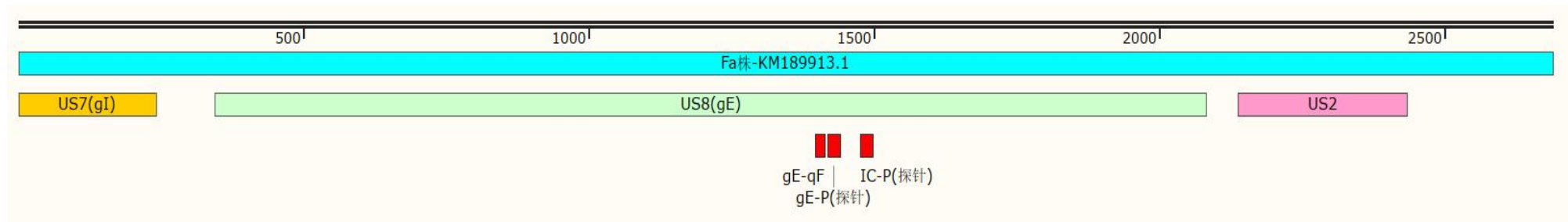
## (2)伪狂犬病Bartha株疫苗

Bartha-K61自然弱毒株，gI/gE缺失约3400bp。相比于PRV全基因组（NC006151）缺失序列（缺失位置包括US7(gI) US8(gE) US9 US2），红色部分为**国标gE引物探针**。

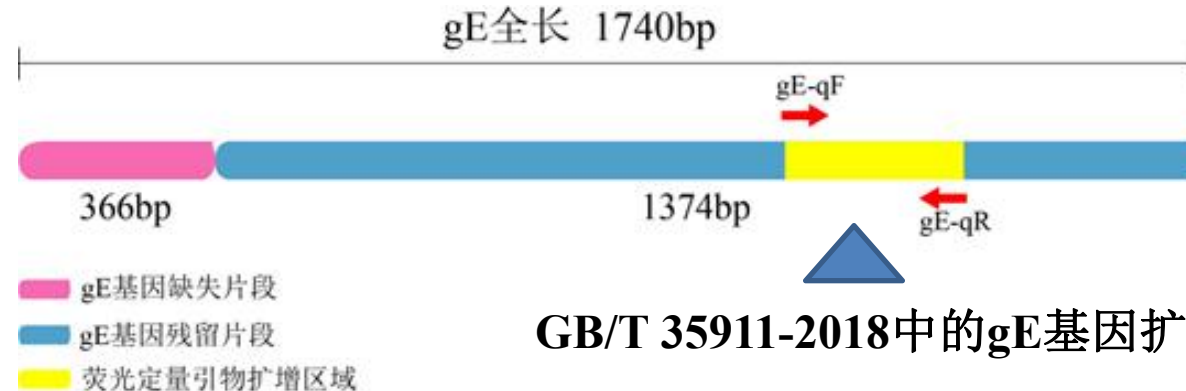
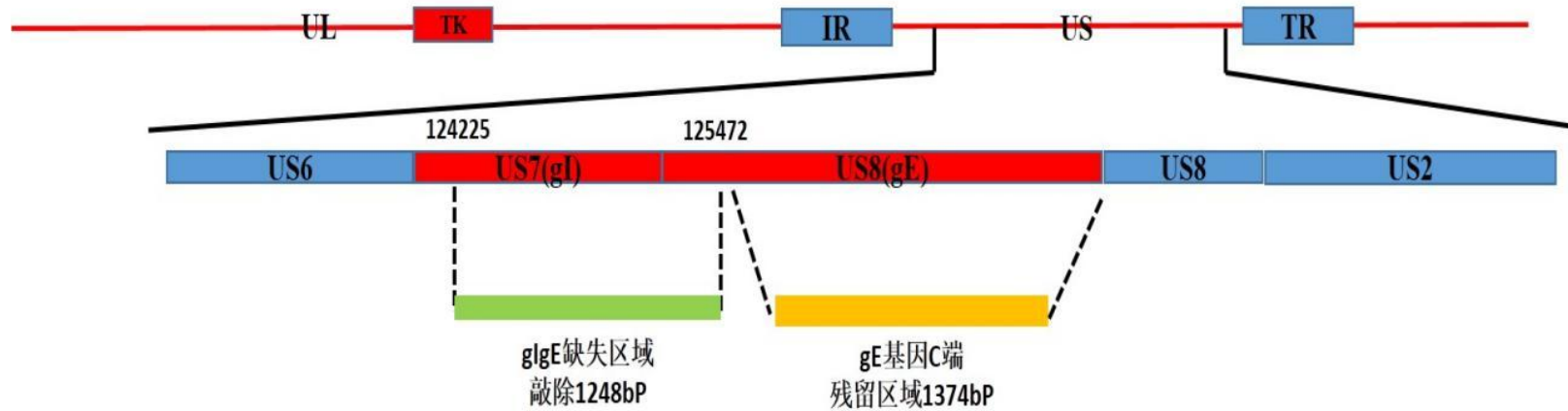


### (3) 伪狂犬病SA-215株疫苗

SA215相比于Fa株 (KM189913.1) 缺失序列2600bp左右。该疫苗缺失部分如下 (缺失位置包括US7(gI) US8(gE) US2)。红色部分为国标gE引物。



(4) HB2000疫苗毒株基因缺失特点：  
使用国标GB/T-35911-2018的方法，有“野毒假阳性”结果



GB/T 35911-2018中的gE基因扩增引物

## 四、伪狂犬病疫苗研究和免疫程序优化

鸣谢：吴斌教授课题组



# 疫苗保护力实验（文献查阅）

疫苗	疫苗滴度	攻毒	实验动物	保护力	参考文献
Bartha-K61	$10^{5.5}$	SC $10^{3.0}$ LD <sub>50</sub>	羊	完全	An et al.2013
Bartha-K61	$10^{5.5}$	HeN1 $10^{3.0}$ LD <sub>50</sub>	羊	不完全	An et al.2013
Bartha-K61	$10^{5.5}$	HeN1 $10^{7.0}$ TCID <sub>50</sub>	猪	不完全	An et al.2013
Bartha-K61	$10^{6.8}$	BB09 $10^{7.1}$ TCID <sub>50</sub>	猪	完全	Zeng et al.2014
Bartha-K61	$10^{5.0}$	TJ $10^{6.0}$ TCID <sub>50</sub>	羊	不完全	Luo et al.2014
Bartha-K61	$10^{5.0}$	SC $10^{6.0}$ TCID <sub>50</sub>	羊	完全	Luo et al.2014
rPRV TJ $\Delta$ gE	$10^{3.0}$	TJ $10^{5.0}$ TCID <sub>50</sub>	猪	完全	Wang et al.2014
rPRV TJ gE-/gI-/TK-	$10^{5.0}$	TJ $10^{7.0}$ TCID <sub>50</sub>	猪	完全	Cong et al.2016
rPRV HN01 gE-/gI-/TK-	$10^{7.0}$	HeN01 $10^{7.0}$ TCID <sub>50</sub>	猪	完全	Zhang et al.2015

- 1) Bartha-K61疫苗可对经典毒株提供完全保护力；对变异毒株不能提供完全保护力。
- 2) 变异毒株的基因缺失弱毒株可以对变异毒株提供完全保护力。

# 新毒株对阴性保育仔猪的致病力研究

## ➤ SMX2012分离株对50日龄保育猪的感染实验

毒株	日龄	攻毒剂量 <sup>§</sup>	1d <sup>*</sup>	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	14d
SMX 2012	50d	$1.0 \times 10^{6.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	50d	$1.0 \times 10^{7.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	3/4	1/4	0/4	0/4	0/4
	50d	$1.0 \times 10^{8.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	2/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Ea	50d	$1.0 \times 10^{6.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	50d	$1.0 \times 10^{7.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
Ea	50d	$1.0 \times 10^{8.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	50d	$1.0 \times 10^{8.0}$	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
PBS	50d	---	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4

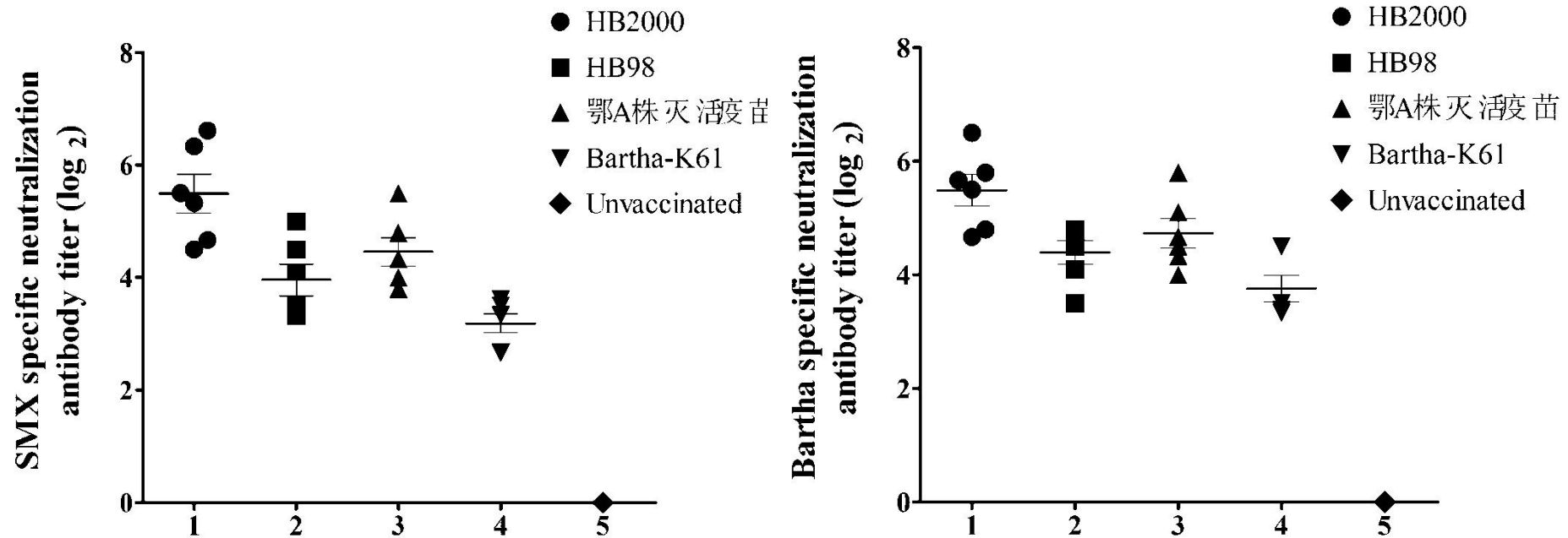
➤ §: 单位TCID<sub>50</sub>; \*: 攻毒后天数

用不同基因缺失疫苗免疫，可产生针对新流行毒株的中和抗体，  
但水平有差距

	数量	免疫日龄	采样日龄	1	2	3	4	5	6
HB-2000弱毒疫苗	6	28d	56d	1:32	1:64	1:32	1:128	1:128	1:64
HB-98 $\Delta$ TK $\Delta$ gG $\Delta$ gE	6	28d	56d	1:32	1:32	1:64	1:32	1:32	1:32
鄂A株 灭活疫苗	6	28d	56d	1:16	1:16	1:32	1:32	1:64	1:32
Barth-k61株疫苗	6	28d	56d	1:16	1:32	1:8	1:32	1:64	1:32
空白对照	6	28d	56d	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2

# 免疫后中和抗体水平测定

- Bartha-K61疫苗产生的抗体不能很好的中和变异毒株SMX2012;
- HB2000产生的抗体对经典毒株还是变异毒株，中和效价显著高于Bartha-k61疫苗；这个差距在中和变异株上尤其显著；
- HB98和鄂A株灭活疫苗均能产生显著高于Bartha-K61疫苗的中和抗体。



## 猪伪狂犬活疫苗HB-98株/HB-2000均能抵抗新PRV的攻击

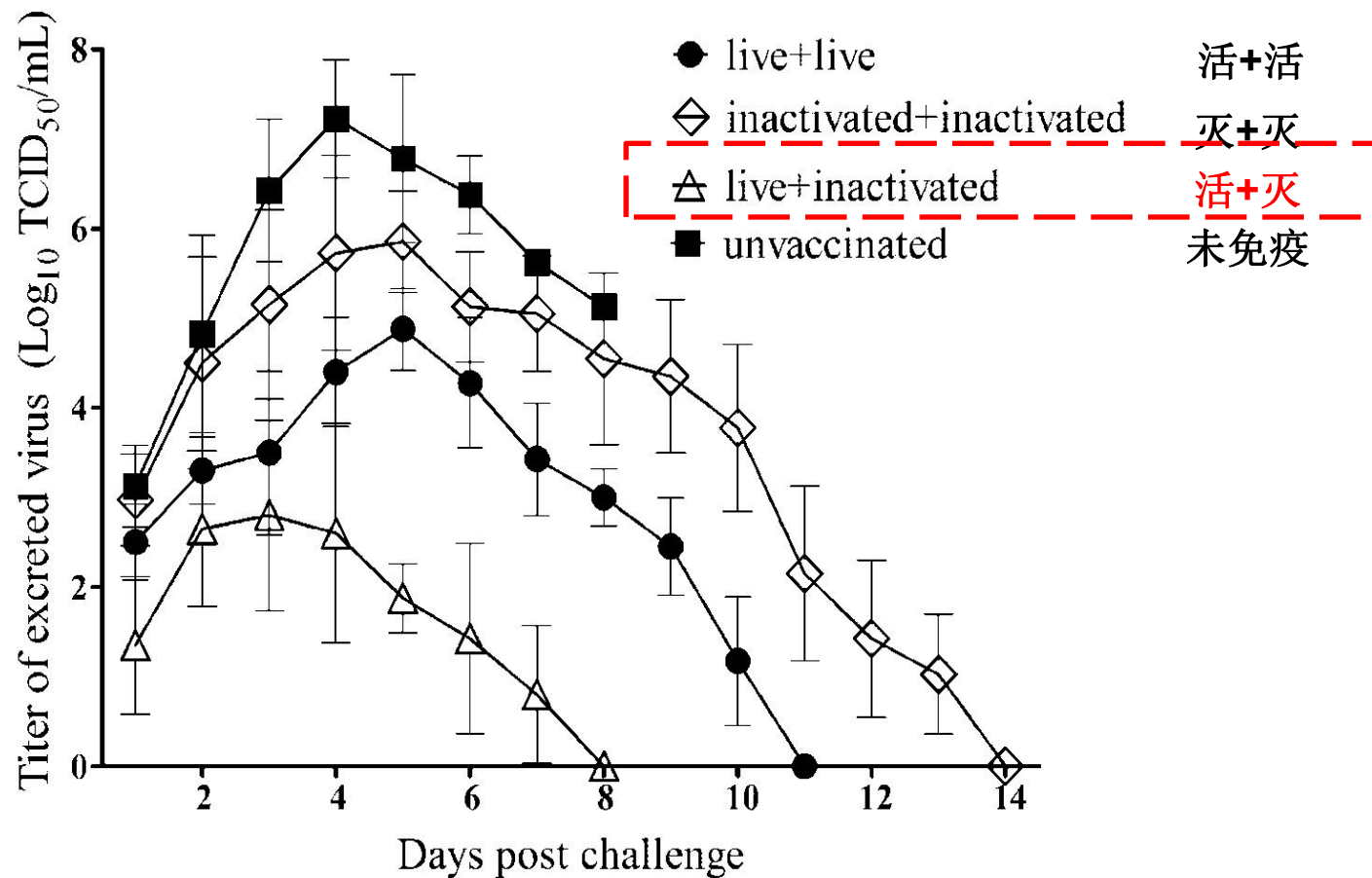
	数量	免疫日龄	免疫剂量*	1d*	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	14d
HB-2000弱毒疫苗	6	28d	$1.0 \times 10^{6.0}$	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
HB-98 $\Delta$ TK $\Delta$ gG $\Delta$ gE	6	28d	$1.0 \times 10^{6.0}$	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
鄂A株灭活疫苗	6	28d	$1.0 \times 10^{8.0}$	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
Barth-k61株 疫苗对照	6	28d	$1.0 \times 10^{6.0}$	6/6	6/6	6/6	5/6	5/6	5/6	5/6	5/6	5/6	5/6
空白对照	6	28d	佐剂对照	6/6	6/6	6/6	4/6	2/6	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6

- 28日龄免疫一次；免疫4周后攻毒；
- 攻毒剂量： $1.0 \times 10^{7.0}$ TCID<sub>50</sub>



# 不同免疫策略攻毒后PRV排毒量比较

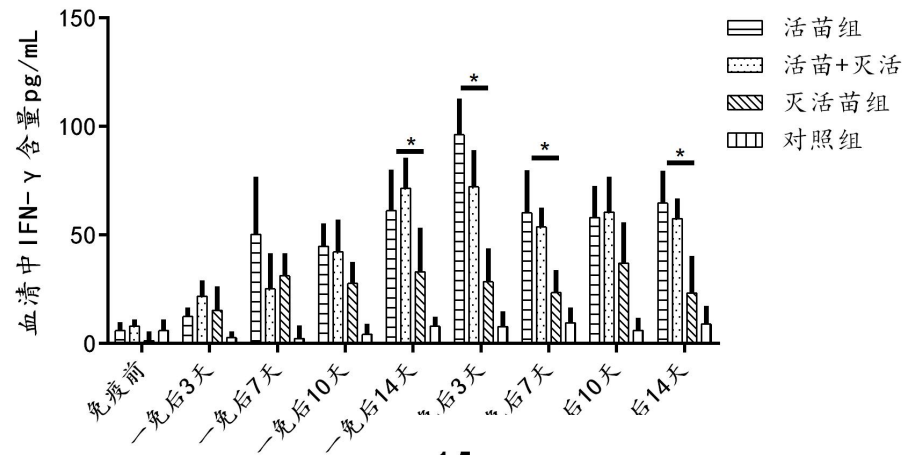
- SMX2012攻毒后，连续14天监测PRV排毒量发现：  
未免疫组>灭活疫苗+灭活疫苗>弱毒疫苗+弱毒疫苗>弱毒疫苗+灭活疫苗
- 确定伪狂犬疫苗免疫的最佳策略为：弱毒疫苗+灭活疫苗；



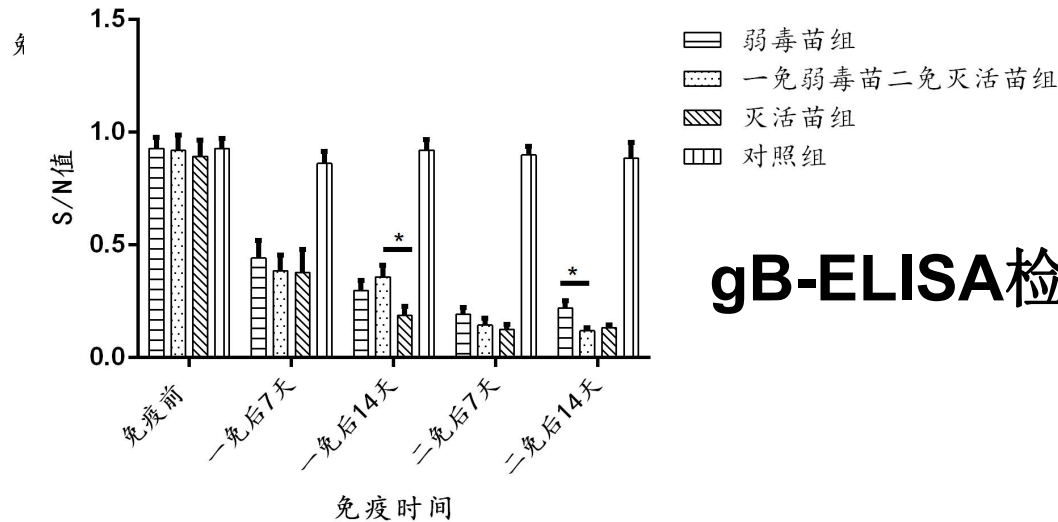
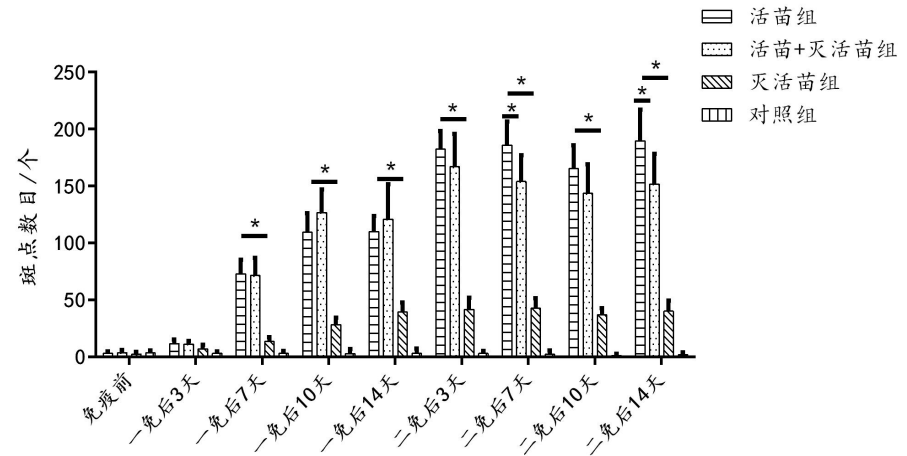
# 疫苗组合的体液和细胞免疫评价

(谭鑫等, 畜牧兽医学报, 2018)

## IFN- $\gamma$ -ELISA检测



## IFN- $\gamma$ -ELISpot检测



## gB-ELISA检测结果



# 五、伪狂犬病的防控措施

- 1、伪狂犬病阴性场如何防止病毒入侵？
- 2、正在发病的猪场如何控制？
- 3、发病但已经控制的猪场如何净化该病？

# 1、伪狂犬病阴性场如何防止病毒入侵？

- (1) 引入伪狂犬病阴性种猪或精液
- (2) 注意生物安全措施：人员（淋浴设施）和车辆消毒（强调正确的消毒程序）
- (3) 母猪一年免疫3-4次活疫苗
- (4) 了解周围2-3km内猪场的健康状况，避免病毒经空气传入。
- (5) 猪场的净道与污道要分开
- (6) 监控100-120日龄的生长猪，尤其是呼吸道症状的猪。

# 免疫次数与疾病防控效果的关系

[Vet Q. 1997 Sep;19\(3\):117-22.](#)

## **Dynamics of pseudorabies virus infections in vaccinated pig populations: a review.**

[Stegeman A<sup>1</sup>](#), [de Jong MC](#), [van Nes A](#), [Bouma A](#).

### Author information

#### **Abstract**

This paper reviews our studies on the dynamics of pseudorabies virus (PRV) infections in populations of vaccinated pigs. By using mathematical models, experiments, and field observations, we have been able to quantify PRV transmission by the reproduction ratio  $R$ , which is defined as the average number of secondary cases caused by one infectious individual. If  $R$  is less than 1, PRV infections will fade out in the pig population and eradication is certain. Under experimental conditions,  $R$  of double-vaccinated pigs was estimated at 0.3. In the field,  $R$  was estimated at 0.7 among multiple-vaccinated breeding pigs, 3.4 among single vaccinated finishing pigs, and 1.5 among double-vaccinated finishing pigs. So far, no risk factors have been identified that explain the difference between the transmission among double-vaccinated pigs in the field and under experimental conditions. The implications of the transmission characteristics of the different types of pigs for the Dutch PRV eradication campaign are discussed. The structure of the PRV research programme described in this paper, in which knowledge of the interaction of the virus with individual pigs is extrapolated to the interaction of the virus with pig populations, can serve as an example for other research programmes that study infectious diseases.

# 不同消毒剂的特点（如何选择消毒剂）

能杀灭的病原	消毒剂种类						
	戊二醛	季铵盐类	含氯类	含碘类	过氧化物类	酚类	醇类
无囊膜病毒	+++	无	+++	++	+++	无	无
有囊膜病毒	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
细菌	+++	++	+++	++	+++	++	++
芽孢	+++	无	+++	无	+++	无	无
真菌	+++	+	+++	+	+++	+	+
存在有机物时效果	+++	++	+	++	+	+	+
存在皂类时效果	有	无	有	有	有	有	有
腐蚀性	无	有	有	有	有	无	无

## 2、正在发病的猪场如何控制？

- 无害化处理死亡猪
- 公猪和母猪紧急接种活疫苗
- 发病猪群紧急接种活疫苗
- 新生仔猪滴鼻接种活疫苗；45日龄灭活疫苗免疫；70日龄（120日龄）灭活疫苗免疫
- 减少病原在场内的交叉传播（生物安全）
- 生产流程：重点在容易转阳的阶段，全部清空1-2批，彻底消毒，空栏时间足够。

### 3、稳定猪场如何净化伪狂犬病？

- 种猪（母猪和公猪）规范免疫（1年4次）。
- 仔猪：活疫苗滴鼻免疫，45日龄灭活疫苗免疫；70日龄（120日龄）灭活疫苗免疫；
- 选择gE抗体阴性后备猪，补充种猪群体。
- 淘汰野毒感染种猪。
- 定期灭鼠。
- 生产流程管理：重点在容易转阳的阶段，全部清空1-2批，彻底消毒，空栏。

## 伪狂犬病免疫的临床意义：

可提高感染阈值，降低排毒量：提高生物安全

与非免疫猪相比（Nico Visser,1997）

- 免疫猪感染所需的病毒量更高，达100-1000倍

感染需要的病毒量：仔猪： $10^{1-3}TCID_{50}$ ，青年猪： $10^4TCID_{50}$ （生长阶段）：成年猪： $10^5TCID_{50}$ 。

潜伏感染激活需要的病毒量： $10^{3.5}TCID_{50}$

- 免疫猪排毒数量低于1000-10,000倍；

血清阴性猪感染后排毒达到 $10^{6-8}PFU$ ；我们早期研究表明，同居哨兵猪用 $10^{7.0}TCID_{50}$ 攻毒后，免疫猪群没有被感染。

# 制定免疫程序的考虑因素

- 疫苗毒株的选择：
  - 同源性问题（HB98, SA215, Bartha等）
  - 新疫苗研制（如 HNX-12株）
- 根据母源抗体消长规律确定
- 免疫次数越多越好吗？答案：不是
- 再次强调：滴鼻免疫在急性爆发中的作用
- 加大剂量的必要性？



# 伪狂犬病疫苗滴鼻免疫的优点 (猪病学第9版, 英文版, p429)

- the most effective method of vaccination is intranasal administration of live, attenuated vaccine.
- local replication of virus and by the development of mucosal immunity. (激发黏膜免疫, 限制病毒局部繁殖)
- Intranasal vaccination is more effective in the presence of passively acquired colostrum immunity than intramuscular vaccination (Van Oirschot 1987) (克服母源抗体的干扰)
- most effective at reducing PRV replication and shedding during acute infection. (急性期感染, 减少病毒的复制与排毒)
- Intranasal vaccination may be recommended for piglets in herds newly infected with PRV. (推荐用于新感染PRV的仔猪群体)

# 猪伪狂犬病根除计划

(国家动物疫病控制中心主导，企业参与，生猪体系支持)

- (1) 材料准备阶段：疫苗和检测试剂
- (2) 抽样调查阶段：确定野毒感染率高低 (<10%; 10%-20%; >20%)，确定根除计划的步骤
- (3) 加强免疫阶段
- (4) 检疫淘汰
- (5) 清群阶段
- (6) 监测与认证 (设立哨兵猪)
- (7) 维持阶段：不免疫，不感染，不发病。

# 评估流程与内容

- 现场评估（按照评选条款逐一查看，评分；必备条件6项；其他69项。其中关键项不能扣分，否则不通过）
- 69项：人员管理（5分）、结构布局（10分）、栏舍设置6分、卫生环保6分、无害化处理9分、消毒管理12分、生产管理8分、防疫管理9分、种源管理12分、监测净化14分、场群健康9分。

- 实验室检测：gE和gB抗体检测
- 综合评估：通过，不通过。
- 农业农村部发文公布

抽样方法描述（示例）：

gE 抗体检测采样数量：生产公猪存栏 50 头以下，100%采样；生产公猪存栏 50 头以上，按照发现疫病公式计算（置信度 95%，预期流行率 3%），将采样数量按照存栏比例分配到不同栋舍后随机抽样；其他猪只按照发现疫病公式计算采样数量（置信度 95%，预期流行率 3%），将采样数量按照生产母猪、后备种猪存栏比例分配到不同群体和栋舍后随机抽样。

gB 抗体检测采样数量：采用分层随机抽样方法，生产母猪、后备种猪分别根据其各自存栏量，按照预期合格率公式计算采样数量（置信度 95%，预期合格率 90%，相对误差 10%），将采样数量按照存栏比例分配到不同栋舍后随机抽样。

抽样群体	存栏数量	计算 gE 抗体 抽样数量	计算 gB 抗体 抽样数量	计划抽样数量	计划抽样比例
种公猪	100	63	/	63	63%
生产母猪	600	36	40	40	6.7%
后备种猪	1000	60	41	60	6%

# 我国累计批准了98家国家级伪狂犬病净化场

- 第一批：27
- 第二批：30
- 第三批：41（1家：河南民望农牧股份有限公司，同时获批了猪伪狂犬病、猪瘟、猪蓝耳病三个病原的非免疫净化场）
- 其他省级净化场.....

## 农业农村部办公厅文件

农办牧〔2023〕29号

农业农村部办公厅关于公布第三批国家级  
动物疫病净化场名单的通知

表1 2012—2015年代表性综合试验站实施净化措施后  
全程成活率 %

代表性综合试验站	2012年	2013年	2014年	2015年
试验站1	85.2	88.6	91.5	89.5
试验站2	80.2	85.7	90.3	90.3
试验站3	93.8	92.1	93.6	94.5
试验站4	90.8	91.2	92.8	92.5
试验站5	80.2	87.7	94.5	94.8
试验站6	86.6	88.5	88.4	89.0

注：全程成活率=不同阶段猪成活率的乘积。

表3 2012—2015年代表性综合试验站实施净化措施后  
窝产活仔数

代表性综合试验站	2012年	2013年	2014年	2015年
试验站a	9.73	10.40	10.16	10.36
试验站b	10.22	10.37	10.66	11.01
试验站c	10.17	10.19	10.5	11.04
试验站d	10.83	11.05	11.2	11.21
试验站e	9.20	10.30	10.50	10.70
试验站f	无	无	10.47	10.62
试验站g	无	无	9.55	9.74

## 净化后的生产成绩对照（何启盖，2015）

表2 2012—2015年代表性综合试验站实施净化措施后  
母猪配种分娩率 %

代表性综合试验站	2012年	2013年	2014年	2015年
试验站A	80.6	81.4	84.7	86.2
试验站B	89.7	90.9	92.0	92.2
试验站C	72.6	82.2	90.0	93.0
试验站D	89.6	90.4	91.7	92.4
试验站E	78.3	84.1	85.7	85.6

表4 2012—2015年代表性综合试验站死胎木乃伊胎弱仔  
下降比率 %

代表性综合试验站	2012年	2013年	2014年	2015年
试验站(1)	5.66	5.04	5.22	4.71
试验站(2)	6.80	6.90	5.40	5.20
试验站(3)*	0.65	0.63	0.58	0.53
试验站(4)**	1.10	1.27	1.00	0.80
试验站(5)***	0.61	0.48	0.44	0.36
试验站(6)	无	无	2.41	3.32
试验站(7)	无	无	8.01	8.51

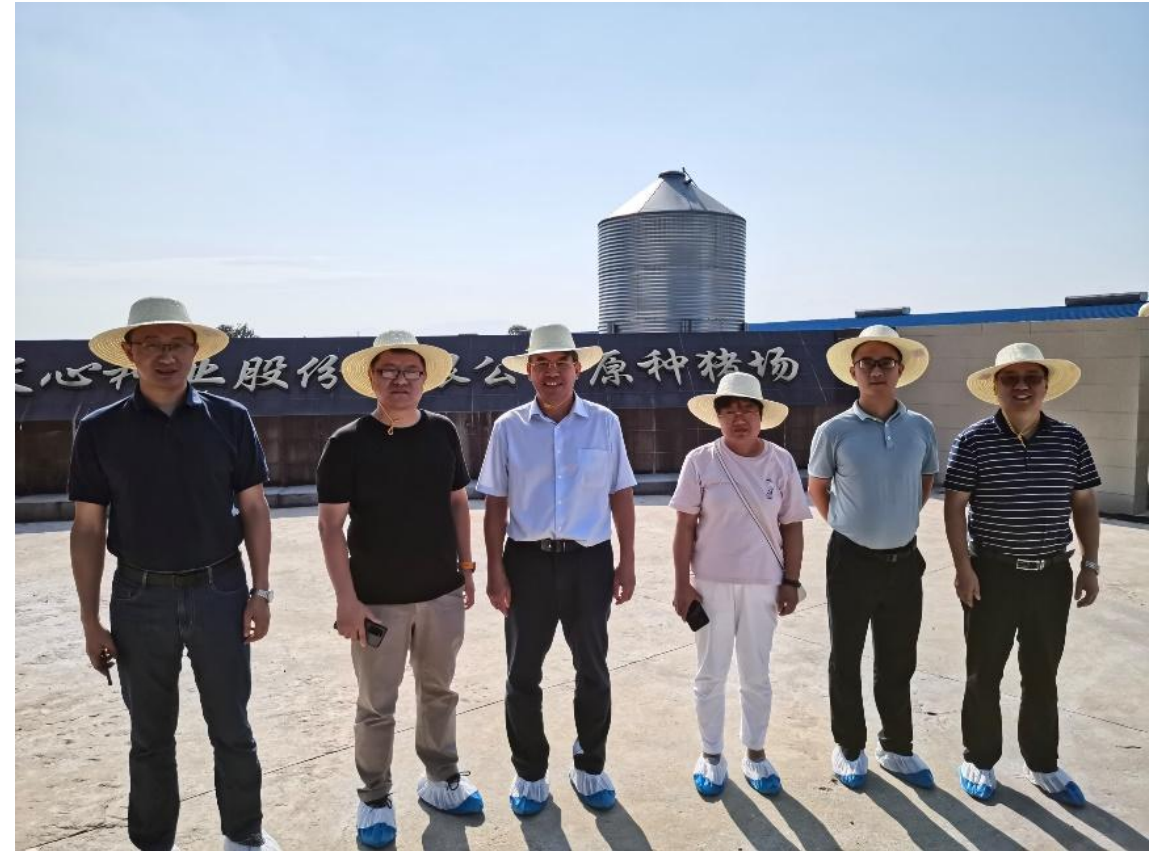
注：\*：试验站(3)只统计死胎数；\*\*：试验站(4)只统计死胎数；  
\*\*\*：试验站(5)仅统计死胎木乃伊胎。

# 参加“伪狂犬病”净化示范场（创建场） 现场评估有感

企业很重视：防非+伪狂犬病净化；组建净化团队（但有些分工不具体）。  
感谢企业的支持和配合。

需要改进之处：

- (1) 系统的监测方案和计划
- (2) 针对伪狂犬病的培训力度不够
- (3) 风险分析不够
- (4) 消毒药物没有针对伪狂犬病毒
- (5) 年度净化评估不全面
- (6) 疑似病例不剖检和诊断
- (7) 仍然依赖疫苗



# 各国净化方案经验

- 国外：在全国分为伪狂犬病不同状态的区域，制定种猪流动的标准。净化后期，使用基因缺失灭活疫苗，逐渐过度到不免疫无疫。
- 我国净化策略：
  - 以种猪场（体系综合试验站、生猪核心育种场）为龙头，带动区域净化。
  - 制定不同净化阶段的区域及防控策略（十三五重点研发计划：广西贵港和武汉江夏示范区）

# 总结：伪狂犬病净化的关键

## 1、基因缺失疫苗+鉴别诊断方法

选用匹配性强的疫苗

敏感性高的诊断方法

## 2、注重生物安全（减少外部风险）

## 3、淘汰野毒感染母猪和公猪

## 4、淘汰生产成绩差的母猪

## 5、净化维持后期，使用基因缺失灭活疫苗：环境中不存在活病毒。

实现不免疫无疫，真正净化。





# 伪狂犬病研究取得的成果

奖励：2002年国家科技进步二等奖（第一单位）

2012年国家科技进步一等奖（参加）

- 疫苗：

伪狂犬病鄂A株灭活疫苗

伪狂犬病基因缺失疫苗（HB-98株）

伪狂犬病基因缺失疫苗（HB2000株）

伪狂犬病gE基因缺失灭活疫苗（HNX-12株）

- 诊断试剂：乳胶凝集试验试剂盒

ELISA全病毒抗体试剂盒

gE-ELISA抗体鉴别诊断试剂盒

- 伪狂犬病国家检疫标准（2018）（拟修订，希望得到大家的支持：反映新问题）



## 六、问题讨论

- 非洲猪瘟生物安全能预防猪伪狂犬病吗？不一定。
- 消毒：能消灭传播环境中载体上的伪狂犬病毒，但不能消灭体内的病原
- 因为：病毒潜伏感染；垂直传播
- 疾病净化场创建与非洲猪瘟无疫小区创建，相辅相成。

# 鸣谢

- 项目经费支持：  
国家生猪产业技术体系（CARS-36， CARS-35）  
公益性行业科技专项
- 实验室：华中农业大学动物疫病诊断中心  
农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室  
省部共建生猪健康养殖协同创新中心
- 产业界朋友长期的支持与厚爱！！

# 谢谢各位！ 恳请指导！

