



《蓝耳病的监测及净化》

华南农业大学 张桂红教授



提 纲

- **蓝耳病的监测更新**
- **蓝耳病的净化探讨**

- 猪场高度生物安全措施：包括空气过滤、清群、部分清群、消毒等。
- 疫苗免疫：经典毒株、变异株、活苗/灭活苗？
- 血清人工驯化：后备猪
- 蓝耳病封群净化：抗原、抗体双阴性
- 饲养管理新模式：多点饲养？（ASFV后一体化）、分胎次饲养
- 公猪精液
- 中药、抗蓝耳病的药物、抗生素等控制病毒增殖复制或继发感染
- 后备猪！
- 猪流的管理！
-

个性化方案：一场一策！



一、猪蓝耳病的监测

(一) 了解最新PRRS的分类等级

过去的分类方法：4类

• PRRSV净化场

• 蓝耳阳性稳定场

• 蓝耳阳性不稳定场

• 蓝耳发病场

自己场属于哪个等级？

发病场

Age	PCR	ELISA
Sow母猪	POS阳	POS阳
Birth出生	POS阳	POS阳
Wean断奶	POS阳	POS阳

阳性稳定场

Age	PCR	ELISA
Sow母猪	Neg阴	POS阳
Birth出生	Neg阴	POS阳
Wean断奶	Neg阴	POS阳

阳性不稳定场

Age	PCR	ELISA
Sow母猪	Neg阴	POS阳
Birth出生	Neg阴	POS阳
Wean断奶	POS阳	POS阳

阴性场

Age	PCR	ELISA
Sow母猪	Neg阴	Neg阴
Birth出生	Neg阴	Neg阴
Wean断奶	Neg阴	Neg阴

[Terminology for classifying the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) status of swine herds]

[Article in German]
D.J. Holtkamp¹, D.J. Robinson, M. Tomasonelli, S. Morrison, D.M. Classen, L. Becton, S. Henry, M.T. Rothbaugh, R.R. Rowland, H. Snelson, B. Stow, P. Yeakle, J. Zimmerman;

American Association of Swine Veterinarians;

United States Department of Agriculture PRRS-Coordinated Agricultural Project

Affiliations & expand

PMID: 22138772

Abstract

Standardized terminology for the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) status of swine herds is necessary to facilitate communication between veterinarians, swine producers, genetic companies, and other industry participants. It is also required for implementation of regional and national efforts towards PRRSV control and elimination. The purpose of this paper is to provide a herd classification system for describing the PRRSV status of herds, based upon a set of definitions reflecting the biology and ecology of PRRSV. The herd classification system was developed by a definitions committee formed jointly by the American Association of Swine Veterinarians (AASV) and the United States Department of Agriculture PRRS-Coordinated Agricultural Project, and was approved by the AASV Board of Directors on March 9, 2010. The committee included veterinarians from private practice and industry, researchers, and representatives from AASV and the National Pork Board. Breeding herds, with or without growing pigs on the same premises, are categorized as Positive Unstable (Category I), Positive Stable (Category II), Provisional Negative (Category III), or Negative (Category IV) on the basis of herd shedding and exposure status. Growing pig herds are categorized as Positive or Negative. Recommended testing procedures and decision rules for herd classification are detailed.

最新的蓝耳病感染状态的划分方法

•现在的分类方法：6类

- 蓝耳阳性不稳定场（高流行率）1A
- 蓝耳阳性不稳定场（低流行率）1B
- 蓝耳阳性稳定场（使用疫苗，2vx）
- 蓝耳阳性稳定场（不使用疫苗，2）
- 趋于阴性（3）
- PRRSV净化场（4）

Regional classification based on prevalence of wild-type PRRSV unstable sites.

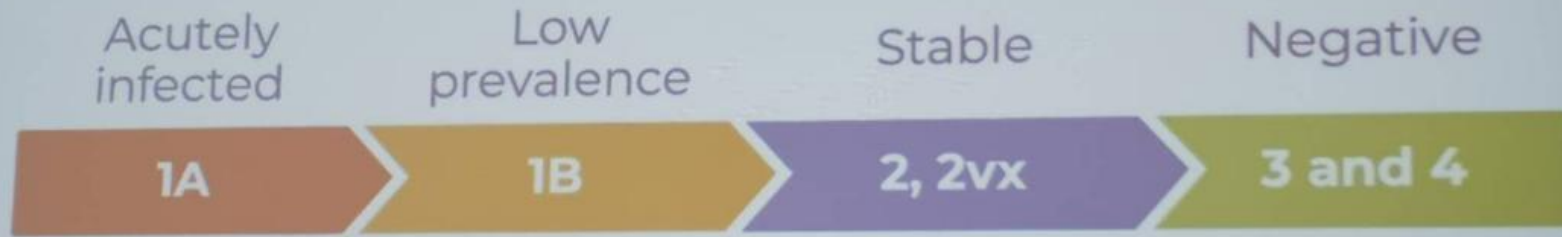
Regional classification	Criterion*
Status I-H (infected, high prevalence)	>50% sites unstable with wild-type PRRSV
Status I-M (infected, moderate prevalence)	20-50% sites unstable with wild-type PRRSV
Status I-L (infected, low prevalence)	≤ 20% sites unstable with wild-type PRRSV
Status P-N (provisional negative)	No wild-type PRRSV detected for <6 months
Status N (negative)	No wild-type PRRSV detected for ≥6 months

分类	描述	准入的要求	维持的要求
1A	阳性不稳定 高流行率	未检测/检测不足的猪群。爆发	和准入的要求一致
1B	阳性不稳定 低流行率	90 天内 75%PRRSv PCR 检测为阴性	90 天内 75%PRRSv PCR 检测为阴性
2vx	阳性稳定/持续使用减毒活疫苗对引进后备猪或者母猪进行接种	90 天内 PRRS 野毒阴性（分子生物学检测）	PCR 检测
2	阳性稳定 不免疫	90 天内 PRRSv PCR 检测为阴性	PCR 检测
3	趋于阴性	进入种猪群 60 天后，哨兵后备猪 ELISA 检测阴性	定期监测（≤6 个月）
4	PRRSv 净化	ELISA 检测阴性	定期监测（≤6 个月）

--Holtkamp, D.J.; Torremorell, M.; Corzo, C.A.; Linhares, D.C.L.; Almeida, M.N.; Yeske, P.; Polson, D.D.; Becton, L.; Snel, H. Proposed Modifications to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Herd Classification. J. Swine Health Prod. 2021,29,10.

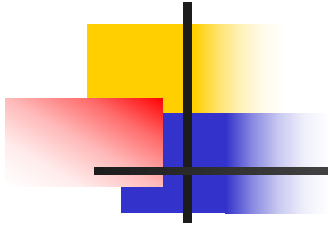
Monitoring acutely infected herds

The goal: Make sure herds recover as expected



自己场属于哪个等级？

- 新的分类系统(Holtkamp等，2021)与以前系统相比进行了重要更新(Holtjamp等，2011)，
- 包括：
 - 将阳性不稳定分为高流行率(1A)和低流行率(1B)。这反映了当流行率降低时，PRRSv对生产力的影响显著降低(Osemeke等，2021)。
 - 除了阳性稳定(2)外，还增加了使用疫苗的阳性稳定(2vx)。通过持续使用减毒活疫苗对种猪群PRRSv进行控制，而不是净化。当种猪群受到PRRS野毒感染时，处于2vx状态的种猪群比阴性种猪群在生产方面受到的影响更小。
 - 此外，新的分类系统还包含了基于猪群的群体采样方法（处理液、家族口腔液等）。与每次采30或60份血清的血清采样相比，新的采样方法由于实用性、成本更低和更高的猪群敏感性，北美的猪群也采用了这些新的采样方法。



Region	Action	Breeding herds	Growing pig sites
I-H	Detection	<ul style="list-style-type: none"> • Herd I-A 10–12 weeks after mass exposure initiate monitor with processing fluids (weekly) and serum (monthly) 	<ul style="list-style-type: none"> • Monthly sampling of groups from placement to marketing
	Management	<ul style="list-style-type: none"> • Herd closure • Whole-herd exposure and/or routine immunization • Incoming gilts negative for wild-type PRRSV • Gilt acclimation 	<ul style="list-style-type: none"> • MLV vaccination within 40 days of weaning in unvaccinated populations originating from I-A breeding herds • Strict all in-all out by barn. Clean, disinfect between groups • Control people, pig, and vehicle flow on to the production site
I-M	Detection	<ul style="list-style-type: none"> • Herds II, II-vx, III, and IV re-instate weekly processing fluid monitoring if I-A breeding herds or positive growing sites are located within a 3-mile radius 	<ul style="list-style-type: none"> • Detection as per I-H.
	Management	<ul style="list-style-type: none"> • Management as per I-H 	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-H. • Do not place wild-type PRRSV-positive pigs in growing pig sites
I-L	Detection	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-M. 	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-H
	Management	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-M 	<ul style="list-style-type: none"> • Segregate people and vehicles from unstable sites • Double-dose MLV vaccination in wild-type positive groups, if detected \leq 40 days of weaning (2nd dose 3–4 weeks after 1st dose). If double-dose protocol is not possible, guarantee at least one dose in wild-type PRRSV-positive nursery pigs • One dose MLV vaccination in wild-type PRRSV-negative groups within 3-miles of a wild-type positive site and \leq 40 days of placement • Alternative to vaccination is depopulation or trade-off of positive groups
P-N/N	Detection and Management	<ul style="list-style-type: none"> • Detection as per I-M; management as per I-H 	<ul style="list-style-type: none"> • As described for status I-L

Table 2

Guidelines for control protocols in wild-type PRRSV-positive herds within regional status.

Region	Action	Breeding herds	Growing pig sites
I-H	Detection	<ul style="list-style-type: none"> • Herd I-A 10–12 weeks after mass exposure initiate monitor with processing fluids (weekly) and serum (monthly) 	<ul style="list-style-type: none"> • Monthly sampling of groups from placement to marketing
	Management	<ul style="list-style-type: none"> • Herd closure • Whole-herd exposure and/or routine immunization • Incoming gilts negative for wild-type PRRSV • Gilt acclimation 	<ul style="list-style-type: none"> • MLV vaccination within 40 days of weaning in unvaccinated populations originating from I-A breeding herds • Strict all in-all out by barn. Clean, disinfect between groups • Control people, pig, and vehicle flow on to the production site
I-M	Detection	<ul style="list-style-type: none"> • Herds II, II-vx, III, and IV re-instate weekly processing fluid monitoring if I-A breeding herds or positive growing sites are located within a 3-mile radius 	<ul style="list-style-type: none"> • Detection as per I-H.
	Management	<ul style="list-style-type: none"> • Management as per I-H 	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-H. • Do not place wild-type PRRSV-positive pigs in growing pig sites
I-L	Detection	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-M. 	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-H
	Management	<ul style="list-style-type: none"> • As per I-M 	<ul style="list-style-type: none"> • Segregate people and vehicles from unstable sites • Double-dose MLV vaccination in wild-type positive groups, if detected \leq 40 days of weaning (2nd dose 3–4 weeks after 1st dose). If double-dose protocol is not possible, guarantee at least one dose in wild-type PRRSV-positive nursery pigs • One dose MLV vaccination in wild-type PRRSV-negative groups within 3-miles of a wild-type positive site and \leq 40 days of placement • Alternative to vaccination is depopulation or trade-off of positive groups
P-N/N	Detection and Management	<ul style="list-style-type: none"> • Detection as per I-M; management as per I-H 	<ul style="list-style-type: none"> • As described for status I-L

PRRSv等级与繁殖性能相关

参数/周	阳性不稳定 高流行率	过渡期*	阳性不稳定 低流行率	免疫阳性稳定
出生总仔数/窝 (SE)	14.6 (0.24) ^a	14.3 (0.22) ^b	14.4 (0.23) ^{ab}	14.4 (0.21) ^{ab}
活仔数/窝 (SE)	12.1 (0.22) ^a	12.7 (0.20) ^b	13.1 (0.20) ^{ab}	13.2 (0.19) ^c
新生仔猪损失数/窝 (SE)	2.46 (0.20) ^a	1.44 (0.11) ^b	1.23 (0.09) ^{ab}	1.19 (0.09) ^c
断奶仔猪数/母猪 (SE)	9.6 (0.21) ^a	10.9 (0.20) ^b	11.3 (0.20) ^{ab}	11.5 (0.19) ^c
断奶前仔猪死亡率% (SE)	19.9 (2.08) ^a	12.9 (1.29) ^b	13.0 (1.32) ^{ab}	12.2 (1.20) ^b

*过渡期：猪群PRRSv爆发后的第11周至猪群提升到1B等级。

*不同的上角标a、b、c代表组间具有统计学差异(a=.05)。

*SE:PRRSv各等级对应生产参数标准误差（等级划分参考美国猪兽医协会2.0版本）

- 统计分析猪场4年的生产数据并与PRRSv等级进行匹配。PRRSv等级不同，生产水平也存在差异。
- 生产水平随着猪场PRRSv等级的提升而提高。



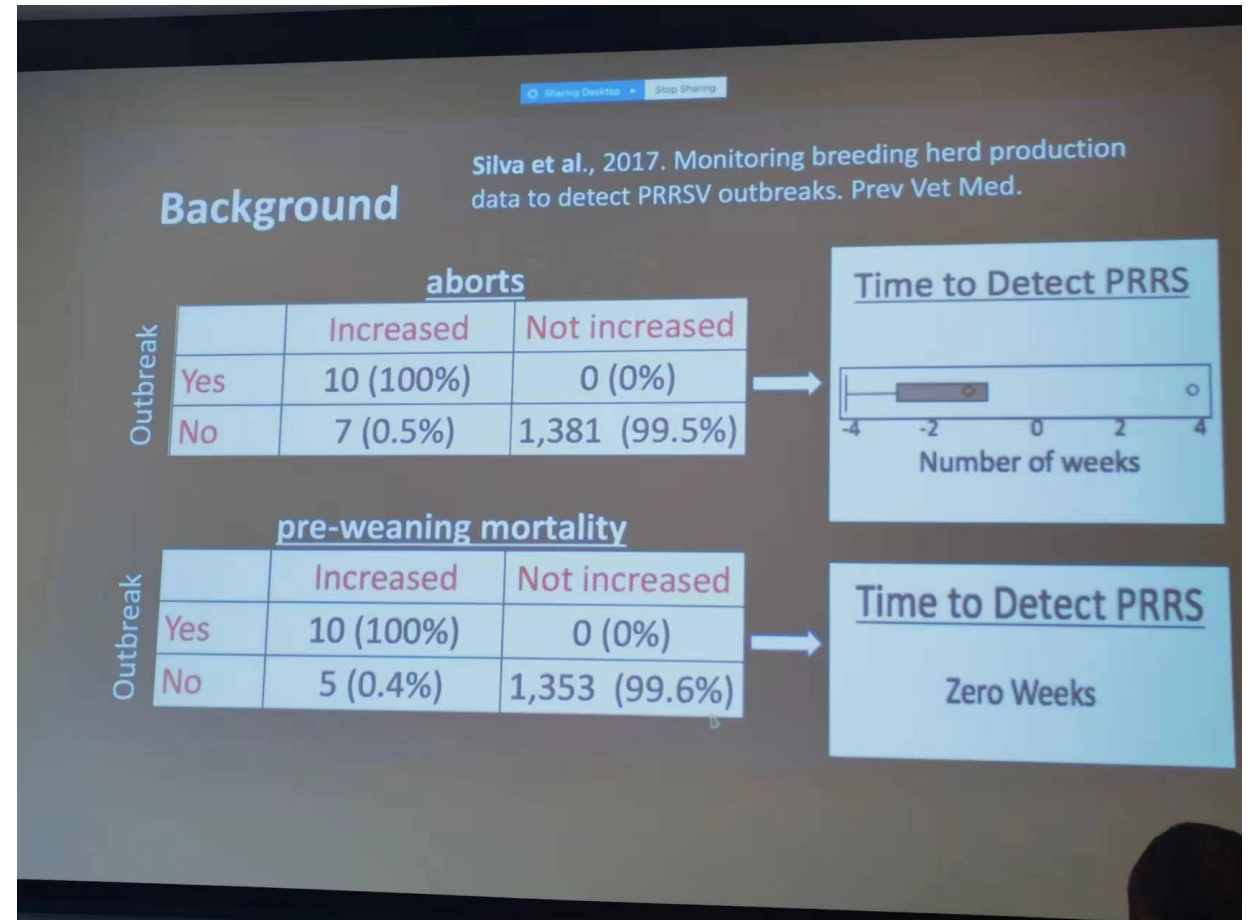
(二) 了解PRRSV的危害及每个关联指标

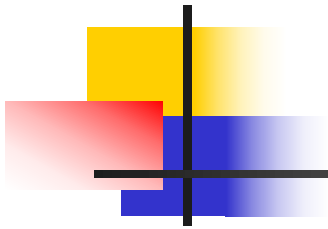
- 临床数据：减食/**母猪配怀不吃料的数据**
- 生产数据：
 - 母猪繁殖障碍：**流产，如配种周流产率2%以上**
 - 新生仔猪损失数
 - 仔猪呼吸道症状：保育猪日死亡率0.1%以上或断奶-出栏成活率
 - 母猪死亡率
 - 继发细菌感染情况：
 - 日增重降低，料肉比提高
 - 药费？
 - 免疫抑制.....

用于预警！

临床和生产预警

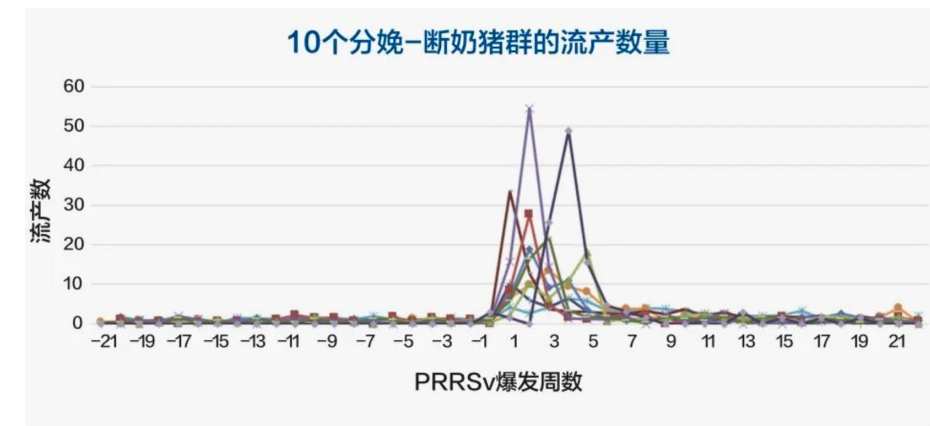
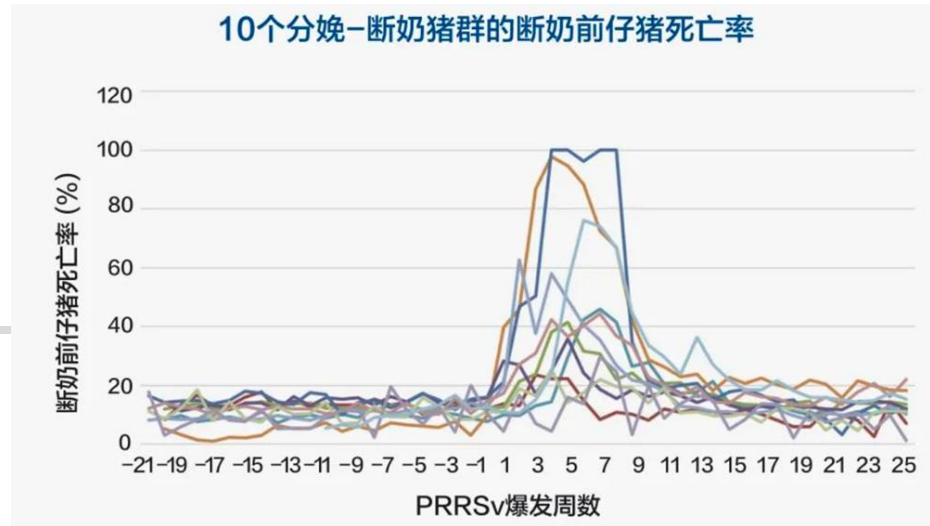
- 一个阴性场，如何早发现？
- 利用生产数据预警
- **流产数量**
- **母猪配怀两周后，不吃料的数据**
- 断奶前的检测数据
- 能检测的数据（与确诊检测数据一致）
- 流产比检测到**PRRRSV**爆发至少早**1-4周**
- 母猪配怀不吃料的数据和流产相同，最好

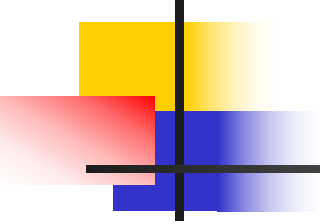




- 大多数猪场PRRSV爆发后，其生产参数随之变化。
- 最敏感的参数指示：配种两周后食欲不振母猪的数量及流产数量。
- 较为敏感的参数指标：（有部分延迟）断奶前仔猪死亡率和新生仔猪损失数（木乃伊胎、死胎）。

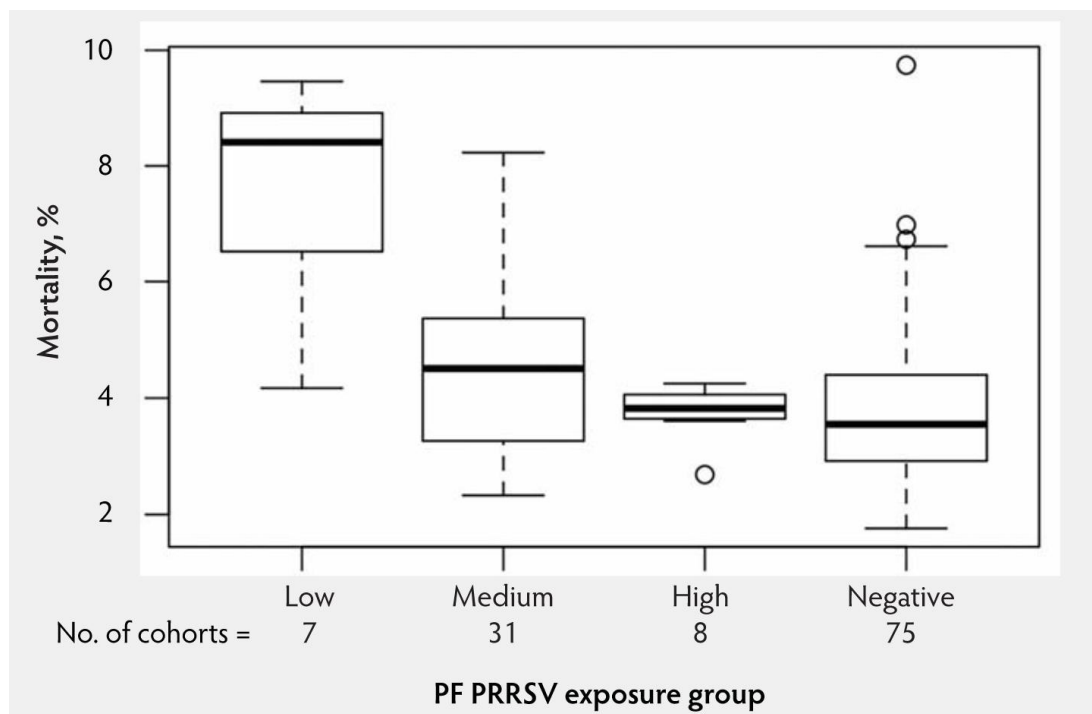
- 鉴于大多数猪群不会每天进行诊断监控，因此生产数据是对诊断监控的良好补充和完善，管理人员监控猪群状态并发现与疾病爆发相关的**警示信号**（如，迅速上升的流产率，或断奶仔猪数量的下降）。
- 注：不同猪群的生产力变化有差异。如，疾病爆发时的群体免疫力及PRRSV毒力等因素均对爆发后生产的变化起重要作用。这也是建议同时持续监测多个指标参数的原因。



- 
- **临床和生产数据：早期发现疫情**
 - **PRRSV的排毒量与多种参数存在较强的关联；**
 - **如母猪采食量、流产数、分娩率、新生仔猪损失数、断奶前死亡率及断奶仔猪数；**
 - **在生长育肥阶段，与采食量、平均日增重、死亡率及抗生素的使用量等几乎所有的生产参数有关。**
 - **对于PRRSV阴性猪群，越早发现疾病爆发，兽医可越早制定相应策略，损失越少！**

PRRSV早期感染影响保育育肥死淘率

表明：睾丸浸出液CT值越低，保育死亡率越高！



分组	CT值
Low 低CT值	<27
Medium 中CT值	≥27, <34
High 高CT值	≥34, <37
Negative 阴性	≥37

分组	保育死亡率差异	P值
低比中	3.28%	<.0001
低比高	3.99%	<.0001
低比阴性	3.97%	<.0001
中比高	0.70%	<.0001
中比阴性	0.69%	<.0001
高比阴性	-0.01%	0.9993

预估保育发病率后，提前介入预防和治疗！

(三) PRRSV常态化监测

- 以前：血清或处理液
 - PCR检测：母猪（流产）、出生仔猪（产房弱仔或断尾的浸出液）、断奶弱仔猪、后备猪
 - ELISA检测：母猪（流产）、出生仔猪（产房弱仔或断尾浸出液）、断奶弱仔猪、后备猪

现在：

1. 临床和生产数据：早期发现疫情
2. 个体检测：血清样本、咽拭子、舌尖渗出液 (TTF)
3. 群体检测：
 - 仔猪处理液(PF)
 - 家族口腔液(FOF)
 - 声音监测：如Sound Talks
 - 空气采集器

采样方法及方案要正确！且省钱！

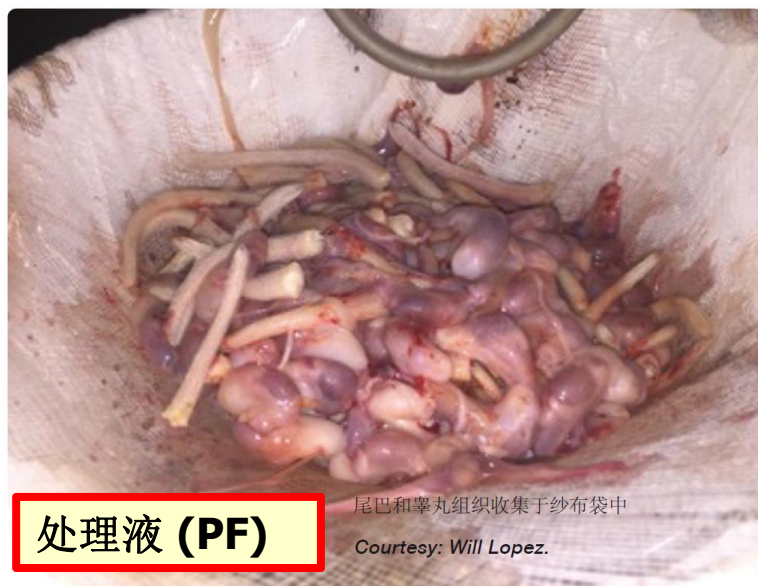
用于蓝耳病病毒检测的舌尖 (TT)



舌尖液TTF



Picture provided by Dr. Isadora Machado.



处理液 (PF)

尾巴和睾丸组织收集于纱布袋中

Courtesy: Will Lopez.



家族口腔液FOF



口腔拭子

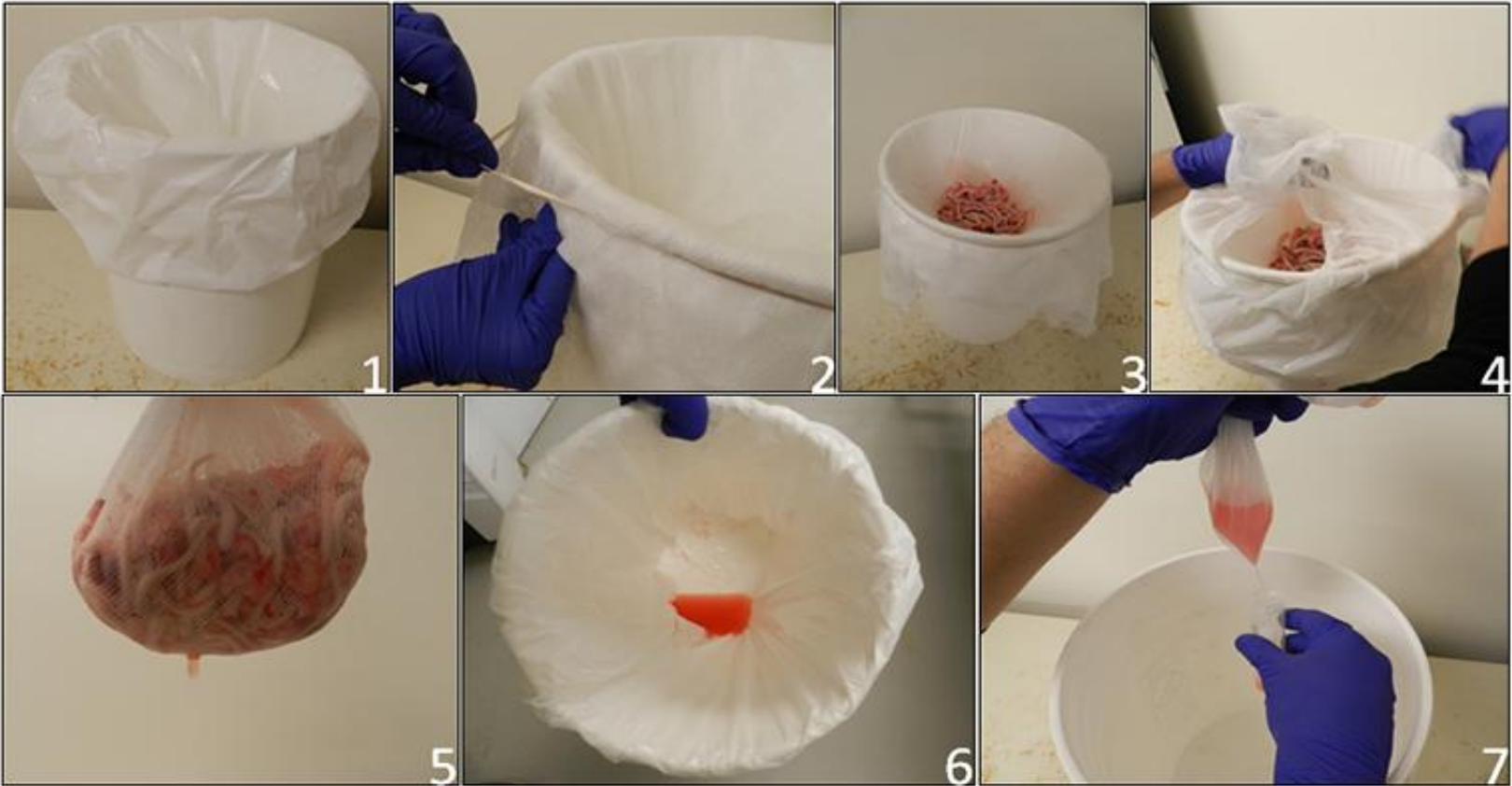
图片提供 Nathan Vankley.

口腔液采集



Pictures courtesy of Dr. Keith Erlandson

睪丸浸出液采集



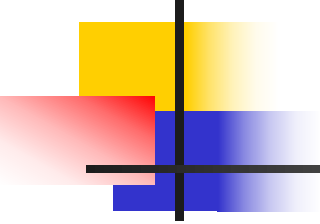


- **后备猪进群检测**分析说明（依然可以用血清）

Age	PCR	ELISA	说明	备注
后备	Neg 阴-	POS 阳+	没有带入新病毒	最佳
后备	Neg 阴-	Neg 阴-	没有任何抵抗力	新进群后备猪可能被感染导致不稳定
后备	POS 阳+	Neg 阴-	新病毒进入	可能导致原来母猪群不稳定
后备	POS 阳+	POS 阳+	新病毒进入	可能导致原来母猪群不稳定

■ 断奶弱仔检测结果释义 (放养还是一体化?)

日龄	PCR检测	ELISA	说明	备注
断奶弱仔	Neg 阴-	POS 阳+	没有带入新病毒进入保育舍	多数场状态, 最佳
断奶弱仔	Neg 阴-	Neg 阴-	没有任何抵抗力	生物安全好的场最佳! 进入保育舍后可能被感染导致保育猪发病
断奶弱仔	POS 阳+		带着病毒进入保育舍	导致保育舍不稳定 母猪问题导致
断奶弱仔	POS 阳+		带着病毒进入保育舍	可能导致原来母猪群不稳定 母猪问题导致

- 
- **血液**：早年，血液是监控猪群PRRSV的唯一样本类型。现在依然是金标准。
 - **睾丸处理液(PF)**：猪群的一种方法。是一种能够高效监控数100头以上5日龄内仔猪的合体样本。
 - **家族口腔液(FOF)**：适用于断奶期仔猪，反映了断奶期窝水平PRRSV的活跃度。
 - **口腔液(OF)**：适用于断奶后任意阶段猪群，包括母猪和公猪。
 - **舌尖液(TTF)**：最近研究。可作为适用于任何阶段死亡猪只的目标样本。
 - 脐带？
 - **咽拭子：公猪？**
 - AI咳嗽监控？空气采集器？
- 鉴于大多数猪群不会每天进行诊断监控，因此生产数据是对诊断监控的良好补充和完善，允许管理人员监控猪群状态并发现与疾病爆发相关的**警示信号**（如，迅速上升的流产率，或断奶仔猪数量的下降）。

PRRSV检测样本的演变

- 右侧图引自猪疾病报告系统，该系统收集并统计了美国5个兽医诊断实验室（爱荷华、明尼苏达、南达科他州、堪萨斯州和俄亥俄州）的诊断数据。
- **2008年**口腔液样本出现前，血清样本（约**50%**）和组织样本（**38%**）占主导。
- **2012年**：逐渐出现可替代样品类型，包括口腔液和血拭子。
- **2017年**：处理液(PF)出现，并且迅速成为主导的样本类型（**63%**）。

- **表明：**
- **血清和口腔液(OF)仍被用于：**
 - 确判断奶阶段仔猪的**PRRSv**状态
 - 进行测序
- 当考虑到所有猪群阶段时，口腔液依然是占主导的样本类型。口腔液经常用于监控生长-育肥和后备猪猪的**PRRSv**状态。

图8. 数据库内种猪群PRRSvPCR检测样本类型汇总

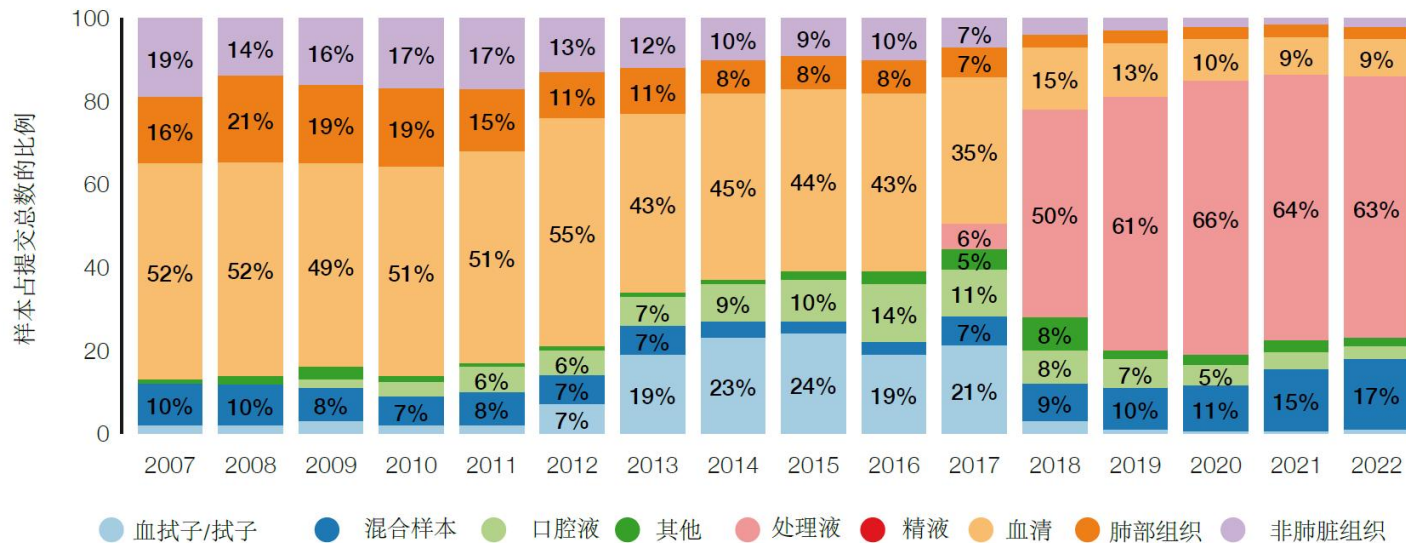
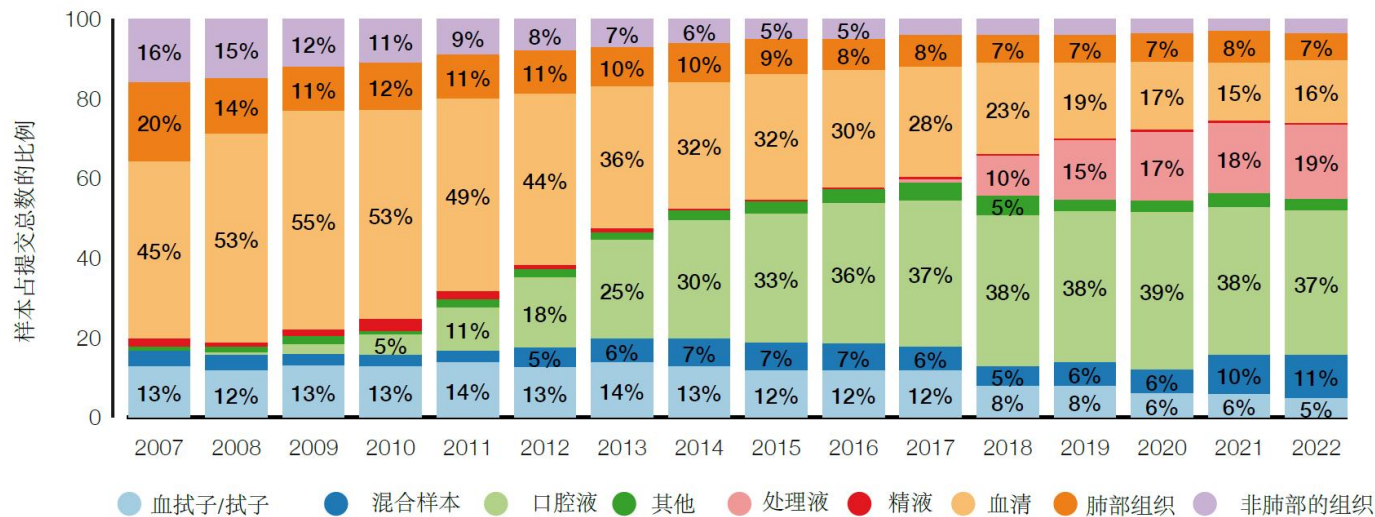


图9. 数据库内PRRSvPCR检测样本类型汇总



Porcine reproductive and respiratory syndrome virus RNA detection in tongue tips from dead animals

Isadora F. Machado¹, Edison S. Magalhães¹,
Ana Paula S. Poeta Silva¹, Daniel C. A. Moraes¹,
Guilherme Cezar¹, Mafalda P. Mil-Homens¹,
Onyekachukwu H. Osemeke¹, Rodrigo Paiva¹,
Cesar A. A. Moura², Phillip Gauger¹, Giovanni Trevisan¹,
Gustavo S. Silva¹ and Daniel C. L. Linhares^{1*}

¹Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA, United States, ²Iowa Select Farms, Iowa Falls, IA, United States



舌尖液(TTF)

- 适合于任何年龄的死猪。
- 优点：
 - 实用、简单、便宜、质量好的样品测序（干净且低CT值），在不进行阉割的农场中的替代方案，无创，福利友好，非常有针对性的样品。
- 缺点：
 - 仍然以“个体”为基础，基于死产和断奶前死亡率，可以获得足够的样本。与匹配的血清PCR相比，更实用，但灵敏度略低。
- 如果PCR阳性，等同于样本年龄组中病毒有传播。
- 如果死胎呈阳性，则表明妊娠母猪病毒循环导致垂直传播。

处理液（PF）：适合于**2-5**日龄仔猪



- **优点：**单元水平检测敏感度高，简单且实用，已成为“新的常态化监测样本类型”，还可以用于血清学检测(ELISA)和PCR检测。
- **需注意：**不适用于如二代测序等，3-5日龄仔猪或无法代表整个猪群或分娩-断奶阶段猪群PRRSv状态。处理液的高敏感度来源于睾丸组织、血液和淋巴液。
- ELISA阳性结果代表感染过PRRSv或存在母源抗体。
- PCR阳性结果代表在出生阶段有病毒传播。
- 处理液很适用于PRRSv监控。当周监测连续获得阴性结果时，建议在断奶年龄段进行一次检测来确认阴性状态。

农场	年龄组别	血清		舌尖		处理液		家族口腔液	
		样本数量和阳性百分比 (最小值-最大值) †	Ct 平均值 (最小值-最大值)	样本数量和阳性百分比 (最小值-最大值) †	Ct 平均值 (最小值-最大值)	样本数量和阳性百分比 (最小值-最大值) †	Ct 平均值 (最小值-最大值)	样本数量和阳性百分比 (最小值-最大值) †	Ct 平均值 (最小值-最大值)
A	新生仔猪	3/9 (33.3%)	34 (32.6 - 36.2)	2/2 (100%)	29.3 (24 - 34.6)	NA	NA	NA	NA
	处理液	9/17 (53%)	24.4 (16.9 - 35.8)	5/5 (100%)	27.8 (24.2 - 31.6)	3/3 (100%)	32.2 (31.3 - 33.8)	NA	NA
	断奶仔猪	4/12 (33.3%)	33.5 (31.2 - 36.9)	2/2 (100%)	36.3 (35.7 - 36.9)	NA	NA	2/17 (11.7%)	34.8 (34.7 - 35)
B	新生仔猪	3/13 (23%)	26.8 (22.6 - 29.6)	10/11 (90.9%)	26.4 (21.4 - 34.7)	NA	NA	NA	NA
	处理液	2/8 (25%)	19.3 (19.1 - 19.5)	4/4 (100%)	27.8 (20.3 - 35.8)	1/2 (50%)	21.9	NA	NA
	断奶仔猪	3/8 (37.5%)	21.6 (19.0 - 25.0)	6/6 (100%)	29.3 (23.5 - 33.0)	NA	NA	8/35 (22.8%)	32.4 (25.1 - 36.8)
C	新生仔猪	0/11 (0%)	-	0/5 (0%)	-	NA	NA	NA	NA
	处理液	0/8 (0%)	-	0/7 (0%)	-	0/4 (0%)	-	NA	NA
	断奶仔猪	6/10 (60%)	34.8 (32.3 - 35.5)	0/6 (0%)	-	NA	NA	10/23 (43.4%)	33.1 (30.7 - 36.3)

三个商业养殖场中按样本类型和年龄组进行的蓝耳RNA检测方法比对的蓝耳RNA检测方法比对

- 所有年龄组，**舌尖液**中普遍检测到PRRSV的RNA，
- 所有年龄组，**血清样本**中也检测到 PRRSV RNA。
- 此外，当来自同一组的血清样本测试 PRRSV RNA阴性时，在舌尖没有检测到PRRSV的RNA。
- 结果表明：**舌尖液具有潜在的诊断价值。**
- 但舌尖液的平均Ct值在数值上低于新生仔猪血清样本的平均Ct值，这可能是因为舌尖来自动物尸体，更有可能携带PRRSV。

家族口腔液（FOF）：适合断奶前

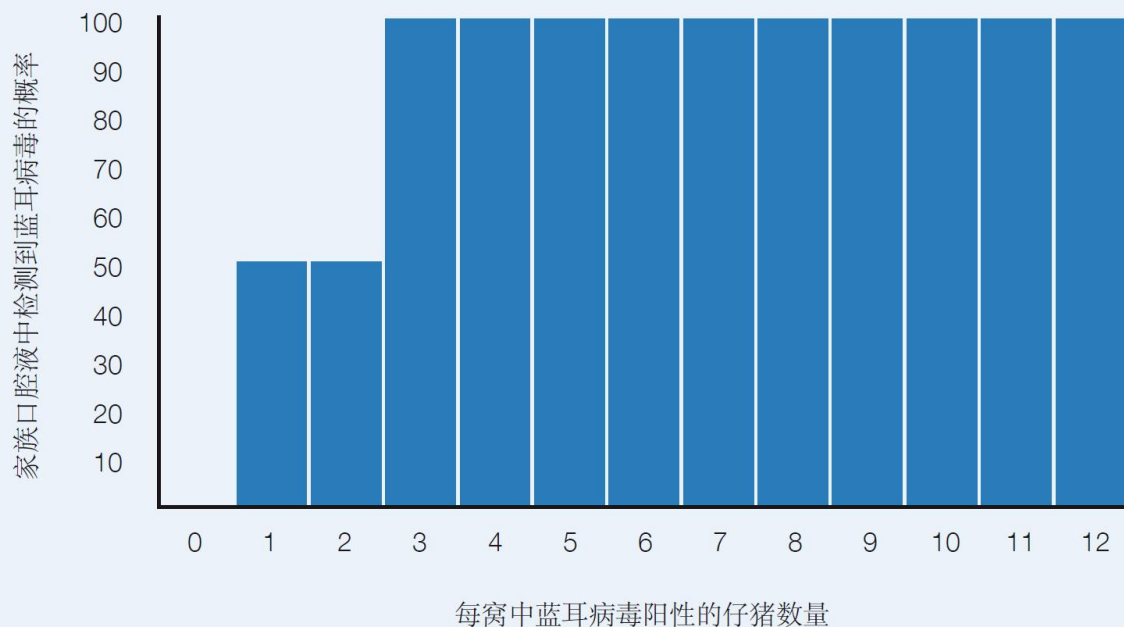


- **优点：**
- 对整个猪舍的敏感度高；简单、实用，可用于血清学检测(**ELISA**)和高级分子检测(**PCR**)。
- 对比血清来说，当达到同样的置信区间时，其需要的样本量要少得多。
- **需注意：**
- 由于家族口腔液是用于确认定奶窝的阴性状态，它通常会达到很高的**CT**值（大于**30**）所以通常是不适用与高级分子学检测（例如二代测序）。结果是以窝为单位（而不是个体动物为单位）。结果并不总是与处理液监控的结果一致。

- 结果可以说明：
- **ELISA**检测结果阳性代表暴露于蓝耳病毒中
- **PCR**检测结果阳性代表着断奶阶段有病毒传播

家族口腔液（FOF）：检测断奶仔猪蓝耳病毒时具有较高的猪群敏感度

家族口腔液：检测断奶仔猪蓝耳病毒时具有高的猪群敏感度



- 数据来源于**72**份相对应的家族口腔液和每窝中所有仔猪的血清。
- 每一份家族口腔液和血清都进行了独立的**rRT-PCR**检测蓝耳病毒**RNA**。每次当家族口腔液结果呈阴性时，该窝中的仔猪也没有病毒血症。
- 这也意味着家族口腔液的特异性是**100%**。即：家族口腔液的检测结果不会出现假阳性。家族口腔液**PCR**结果呈阳性时也就代表着该窝中有带病毒血症的仔猪。
- 当每窝中**1-2**头仔猪带有病毒血症时，检测出蓝耳病毒的概率是**50%**。当
- 每窝中有**3**头以上带病毒血症时，检测出蓝耳病毒的概率是**100%**。



流行率 (%)	血清样本数量	家族口腔液样本数量
~9	30	5
~5	60	7
~3	90	10
~2	120	15
~1	240	30
~0.5	400	40

- 检测蓝耳病毒时，**家族口腔液不如处理液实用、有效。**
- 与血清或血液擦拭子检测个体猪只来说，家族口腔液更简单且有效。
- 如，当在蓝耳病毒流行率为**1%**时，需**240**份血清样本或**30**份家族口腔液样本进行检测。如果将这**30**份家族口腔液按照**1: 10**的比例合样，只需做**3**个**PCR**检测。

- 窝与窝之间、栏位之间和猪舍之间的病毒活跃度具有很大的差异。
- 须随着时间推移和地理位置进行重复采样。即：当用一次采样结果来推断其他猪舍、整个种群或未来几周后的结果时要谨慎一些。
- 蓝耳病毒的流行率是很多变的，并且能在猪群不同的空间中进行改变。

FOF和处理液符合率80%!

		家族口腔液	
		阳性	阴性
处理液	阳性	16 (25.0%)	11 (17.2%)
	阴性	5 (7.8%)	32 (50%)
总体一致性: 75%			

表9. 按猪舍采样的处理液（来自约55,776头仔猪的114个样本）与家族口腔液样本（来自约24,310头仔猪的2210样本）之间，检测出蓝耳病毒RNA的总体一致性。

		家族口腔液	
		阳性	阴性
处理液	阳性	18 (15.7%)	14 (12.2%)
	阴性	9 (7.8%)	74 (64.3%)

- 按周采样的处理液（来自约**135,936**头仔猪的**257**个样本）与家族口腔液样本（来自约**26,400**头仔猪的**2400**个样本）之间，检测出蓝耳病毒RNA的总体一致性。

- 不管是按周采样或是按猪舍采样进行比对，处理液和家族口腔液的**PCR**结果（阳性或阴性）的一致性都很高，但又不总是对应的。
- 原因：
- 当采集处理液(**2-5日龄**)和采集家族口腔液（断奶年龄）时，可能会在猪群间/栏位间/猪舍间造成蓝耳病毒的传播。
- 即：处理液对于监控**2-5日龄**仔猪是一个实用且准确的方法。
- 当**PCR**结果开始转阴时，有必要通过家族口腔液采样来证实断奶仔猪的蓝耳状态。
- 处理液大部分代表着公仔猪（睾丸组织）而家族口腔液可能果完全包含一窝甲所有仔猪的口腔液。
- 处理液代表着猪的身体中存在病毒血症和病毒，而家族口腔液是监测病毒排毒至环境中。

FOF

流行率 (%)	血清样本数量	家族口腔液样本数量
~9	30	5
~5	60	7
~3	90	10
~2	120	15
~1	240	30
~0.5	400	40

- **PRRSv的FOF窝阳性时，针对不同的流行率，所需样本采集量(95%置信区间)**
- **如：当流行率在 $\geq 3\%$ 时，为了至少检测到1份阳性样品(95%置信区间)，至少采集90份血清样本或10份家族口腔液样本。**

农场	年龄组别	血清		舌尖		处理液		家族口腔液	
		样本数量和阳性百分比 †	Ct 平均值 (最小值-最大值)	样本数量和阳性百分比 †	Ct 平均值 (最小值-最大值)	样本数量和阳性百分比 †	Ct 平均值 (最小值-最大值)	样本数量和阳性百分比 †	Ct 平均值 (最小值-最大值)
A	新生仔猪	3/9 (33.3%)	34 (32.6 - 36.2)	2/2 (100%)	29.3 (24 - 34.6)	NA	NA	NA	NA
	处理液	9/17 (53%)	24.4 (16.9 - 35.8)	5/5 (100%)	27.8 (24.2 - 31.6)	3/3 (100%)	32.2 (31.3 - 33.8)	NA	NA
	断奶仔猪	4/12 (33.3%)	33.5 (31.2 - 36.9)	2/2 (100%)	36.3 (35.7 - 36.9)	NA	NA	2/17 (11.7%)	34.8 (34.7 - 35)
B	新生仔猪	3/13 (23%)	26.8 (22.6 - 29.6)	10/11 (90.9%)	26.4 (21.4 - 34.7)	NA	NA	NA	NA
	处理液	2/8 (25%)	19.3 (19.1 - 19.5)	4/4 (100%)	27.8 (20.3 - 35.8)	1/2 (50%)	21.9	NA	NA
	断奶仔猪	3/8 (37.5%)	21.6 (19.0 - 25.0)	6/6 (100%)	29.3 (23.5 - 33.0)	NA	NA	8/35 (22.8%)	32.4 (25.1 - 36.8)
C	新生仔猪	0/11 (0%)	-	0/5 (0%)	-	NA	NA	NA	NA
	处理液	0/8 (0%)	-	0/7 (0%)	-	0/4 (0%)	-	NA	NA
	断奶仔猪	6/10 (60%)	34.8 (32.3 - 35.5)	0/6 (0%)	-	NA	NA	10/23 (43.4%)	33.1 (30.7 - 36.3)

三个商业养殖场中按样本类型和年龄组进行的蓝耳RNA检测方法对比

- 血清
- 舌尖液
- 处理液
- 家族口腔液
- 各有优缺点！依据不同情况采取不同方法！实用、省钱！高效！

血清	舌尖渗出液 (TTF)	处理液 (PF)	家族口腔液 (FOF)
经典方法 使用广泛	对不同阶段的猪群开展基于风险的监控，20-100个舌尖/样本	一种简单且有效、用于群体监控的样本	工作量大于采集处理液，但低于采集血清
能很好地评估流行率	判断是否存在垂直传播：死胎舌尖液样本评估各产房去势-断奶期间PRRSv的活跃度	群体敏感度高： 1、每周检测一份处理液 2、流行率接近零时：30窝仔猪合成一份处理液样本	低流行率时，10份家族口腔液能在95%的置信区间检测到PRRSv。 当采集整个单元样本时，可进行1:5或1:10合样。
更适用于高级诊断 (如二代测序)	用于分子和ELISA检测	或为最节约成本的、用于监控病毒传播的样本	可用于检测或流行率评估
适用于各阶段猪群	适用于新生仔猪 (处理液和家族口腔液不能覆盖此年龄段)	2-5日龄仔猪，通常是公猪	≥ 18日龄的仔猪 (确认分娩到断奶期间 (DTW) 仔猪的PRRSv状态)

血清、舌尖渗出液、处理液和家族口腔液样本在种猪群PRRSV监测中的主要特点对比

- 血清检测固然是好的检测方法
- 但需要样本量较大 (如120+)
- 时间与检测成本高

XX公司采样方案：为什么没有血清了？

某集团PRRSV监测方案（60个产床）

猪只阶段	采样节点	监测样本		数量	合样要求
分娩阶段	产房	死胎舌尖液 TTF		8份/单元	4合1
		仔猪去势处理液 PF		8份/单元	4合1
		家族口腔液 FOF		8份/单元	单检
妊娠阶段	流产母猪	咽拭子		全检	5合1
	发烧不吃/少食	咽拭子		全检	5合1

Communication

PRRS Monitoring by Processing Fluids on Italian Swine Breeding Farms

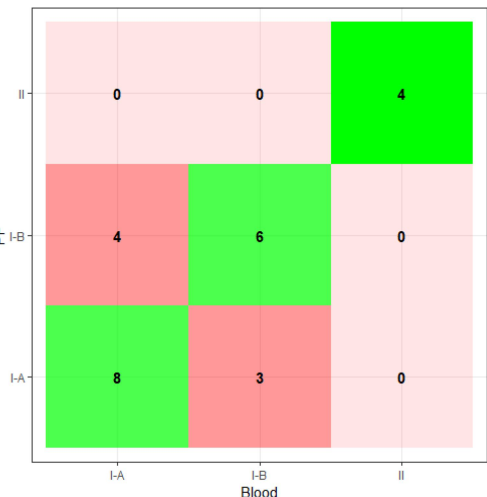
Matteo Tonni ^{1,*}, Claudia Romeo ^{1,*}, Nicoletta Formenti ¹, Maria Beatrice Boniotti ¹, Flavia Guarneri ¹, Livio Colosio ¹, Simone Andreoni ², Federico Scali ¹ and Giovanni Loris Alborali ¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna—IZSLER, Via Bianchi 9, 25124 Brescia, Italy
² Swine Technical Services, Boehringer Ingelheim Animal Health Italia S.p.A., Via Veza D'Oglio 3, 20139 Milano, Italy
 * Correspondence: claudiarosa.romeo@izsler.it

Simple Summary: Processing fluids (PFs) are novel diagnostic specimens consisting of serosanguineous exudate obtained from tissues after piglets' castration. PFs can be used for some diagnostic tests that would otherwise require a blood sample. This has the advantage of not subjecting piglets to an additional stressful procedure and, at the same time, reducing sampling costs. In the present study, the efficacy and reliability of a monitoring plan for porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), one of the main pig diseases, based on PF sampling has been assessed in the Italian swine production system. Twenty-five breeding herds were monitored for 4–5 months by RT-PCR performed on both PFs and blood serum (the standard specimen used for monitoring). Based on the results obtained from each method, the herds were classified following the standard PRRS status categories. The two methods fully agreed in discriminating between herds with stable and unstable PRRSV circulation. However, we observed a slight discrepancy in classifying high- and low-prevalence herds within unstable herds. We conclude that PFs are a reliable material for the PRRSV surveillance and classification of breeding herds, but in case of unstable circulation, a strategy combining blood and PF sampling is recommended.



Citation: Tonni, M.; Romeo, C.; Formenti, N.; Boniotti, M.B.;



- 处理液在流行病学稳定时期非常有用，因为与血液采样相比，处理液具有更高的群体敏感性。
- 在蓝耳阳性不稳定场，建议联合使用处理液和血清。

25个猪群中有18个猪场的蓝耳分类状态一致

- 每3周收集一次仔猪处理液（3-4日龄）并随机选择30头断奶前仔猪的血液样本（约28日龄）。处理液样本每10-15窝合并1份检测，而血清样本由5头仔猪合并1份检测。

Table 1. PRRSV categories (as defined in [9]) assigned to each of the 25 breeding pig herds based on processing fluids and blood testing protocols.

Herd ID	PRSSV Category		Agreement ¹
	Processing Fluids	Blood Serum	
1	I-B	I-A	N
2	I-B	I-A	N
3	I-A	I-A	Y
4	I-A	I-B	N
5	I-B	I-B	Y
6	I-B	I-B	Y
7	I-A	I-A	Y
8	I-A	I-B	N
9	II	II	Y

- 两种监测方案在区分不稳定（I-A或I-B）和稳定（II）猪群方面始终一致，
- 在区分不稳定I-A或I-B时，有差异，处理液相对于血清的敏感性为67%（组内特异性分别为77%和75%）。

	样品类型 分类	脐带血			睾丸液 (PF)			家族口腔液 (FOF)			断奶前弱猪血			妊娠流产母猪		
		总样品数据	阳性数	阳性率	总样品数据	阳性数	阳性率	总样品数据	阳性数	阳性率	总样品数据	阳性数	阳性率	总样品数据	阳性数	阳性率
一分场	1胎	18	3	17%	26	3	12%	8	3	38%	/	/	/	10	4	40%
	2胎	18	0	0%	25	3	12%	7	2	29%	/	/	/	2	2	100%
	3胎及以上	18	2	11%	24	6	25%	9	0	0%	/	/	/	8	8	100%
	合计	54	5	9%	75	12	16%	24	5	21%	20	20	100%	20	14	70%
二分场	1胎	10	1	10%	11	1	9%	29	6	21%	/	/	/	1	0	0%
	2胎	10		0%	11	2	18%	25	4	16%	/	/	/			#DIV/0!
	3胎及以上	10	2	20%	12	1	8%	35	5	14%	/	/	/	1		0%
	合计	30	3	10%	34	4	12%	89	15	17%	50	3	6%	2	0	0%
三分场	1胎	10	0	0%	8	2	25%	8	4	50%	/	/	/	7	1	14%
	2胎	10	0	0%	12	8	67%	7	3	43%	/	/	/	2		0%
	3胎及以上	10	0	0%	10	4	40%	6	3	50%	/	/	/	6	2	33%
	合计	30	0	0%	30	14	47%	21	10	48%	50	47	94%	15	3	20%
四分场	1胎	6	0	0%	7	0	0%	12	0	0%	/	/	/	2	0	0%
	2胎	6	1	17%	8	1	13%	12	2	17%	/	/	/	2	0	0%
	3胎及以上	6	0	0%	12	0	0%	10	1	10%	/	/	/			#DIV/0!
	合计	18	1	6%	27	1	4%	34	3	9%	50	0	0%	4	0	0%
四分场																
五分场	1胎	6	0	0%	10	1	10%	5	0	0%	/	/	/	10	2	20%
	2胎	6	0	0%	10	0	0%	5	0	0%	/	/	/	1		0%
	3胎及以上	6	0	0%	10	1	10%	5	0	0%	/	/	/			#DIV/0!
	合计	18	0	0%	30	2	7%	15	0	0%	106	2	2%	11	2	18%

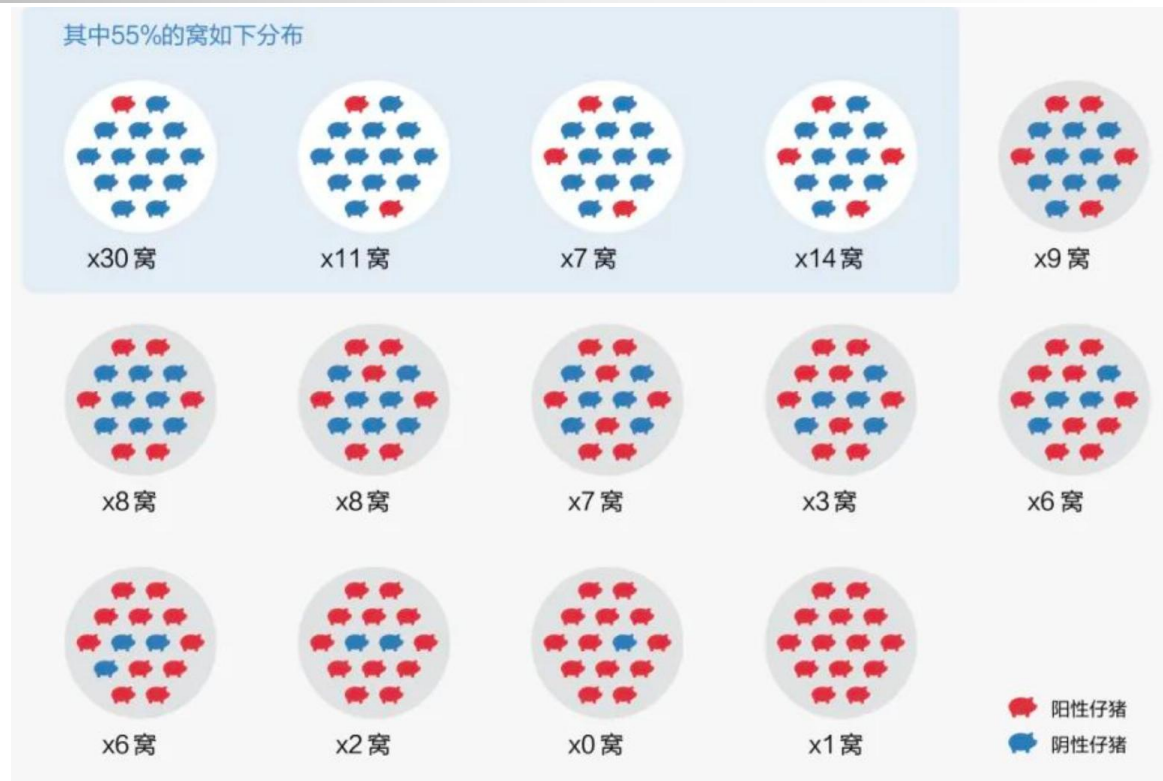
血清样本检测

- PRRSV阳性窝中部分仔猪呈阳性。然而，最常见的情况是窝内仅存在少数病毒血症猪只，尤其当流行率低时。大部分仔猪血清PRRSV核酸呈阴性。
- 从操作角度来看，当流行率低时意味着需要更大的血清样本量。因此不够高效。
- 家族口腔液(FOF)可以更加高效地检测病毒，且能减少PCR反应次数。

家族口腔液FOF



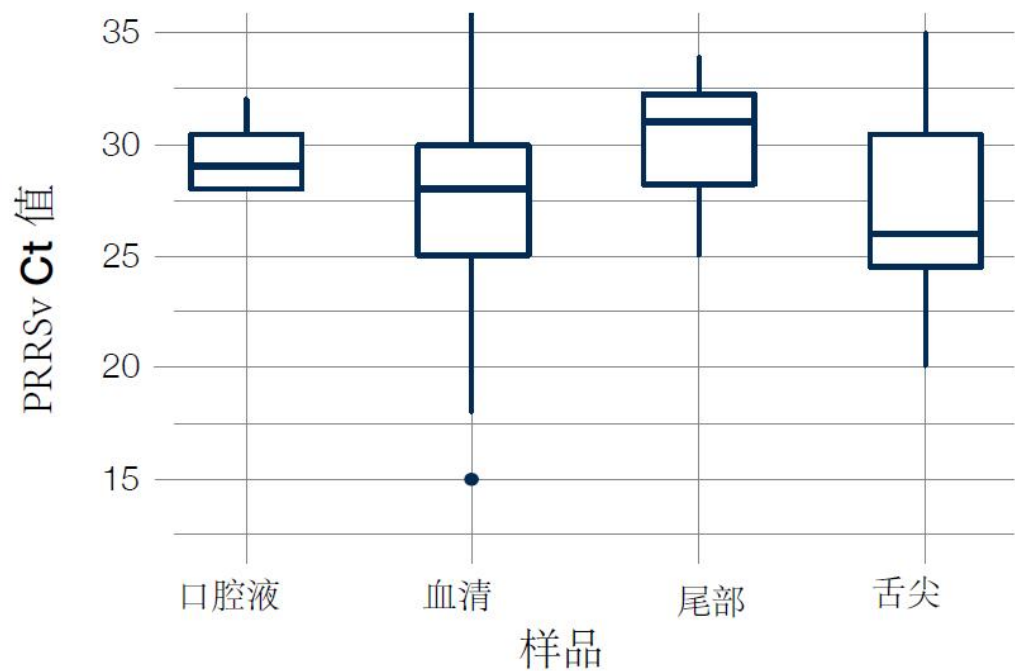
种猪群中PRRSV病毒血症的仔猪数量



- 在12个分娩-断奶场进行横断面研究，从23个分娩舍中挑选422窝并采集所有仔猪的血清样本(n=4510)，进行PCR检测。一共检测出112窝阳性。
- 血清样本检测为金标准：结果最准确，是多种基础和高级检测诊断的高质量样本。
- 但在低流行率的群体中，需要较大的样本量(120+)，时间与检测成本较高。

关于测序样品

图12. 比较不同样品的病毒载量。



- 当**Ct**值低于**32**时，可以获得可靠的测序结果**(ORF5)**。
- 对于全基因组测序，**Ct**值应低于**28**。

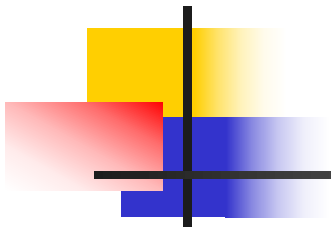


图13. A. 质量图表，口腔液。

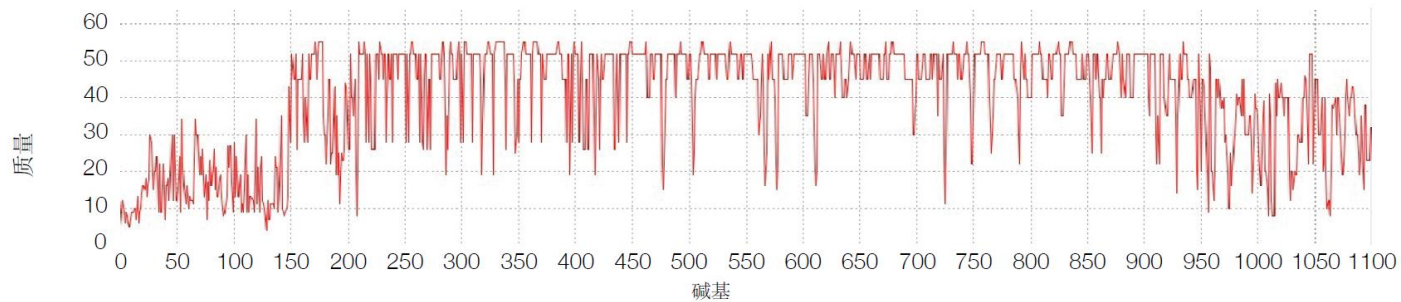
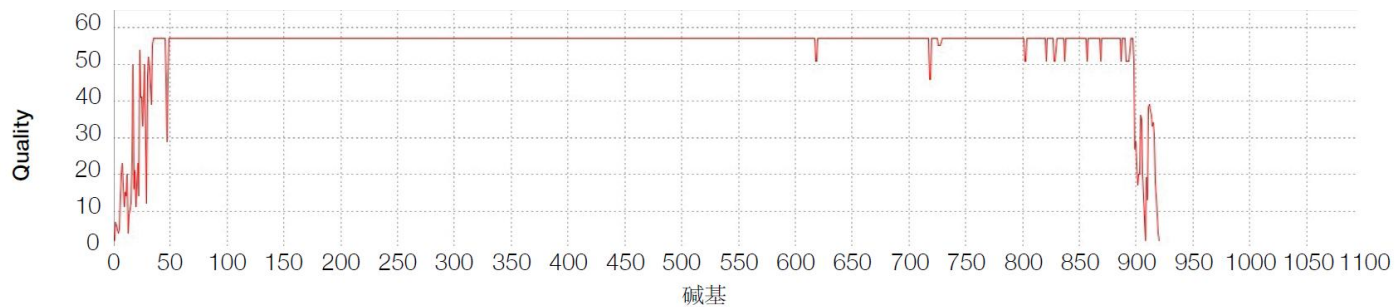


图: 13. B. 质量图表，舌尖样本



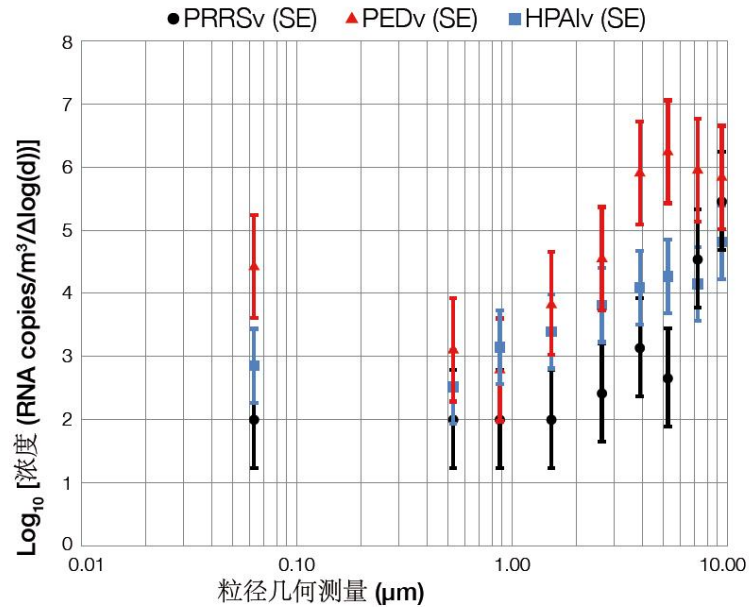
- 除了高病毒载量（低ct值）外，还需要良好的样品质量才能获得可重现的测序结果。
- 比较了口腔液和舌尖，显示舌尖的质量始终高于口腔液。

口腔拭子监测



- 优点：
 - 实用，便宜；作为检测**PRRSv**的良好方法；从家族口腔液阳性窝中识别阳性猪的替代方法。
- 注意：
 - 仍然是基于“个体”的监控。与匹配的血清**PCR**相比更实用，但灵敏度较低。不用于血清学。

空气收集器

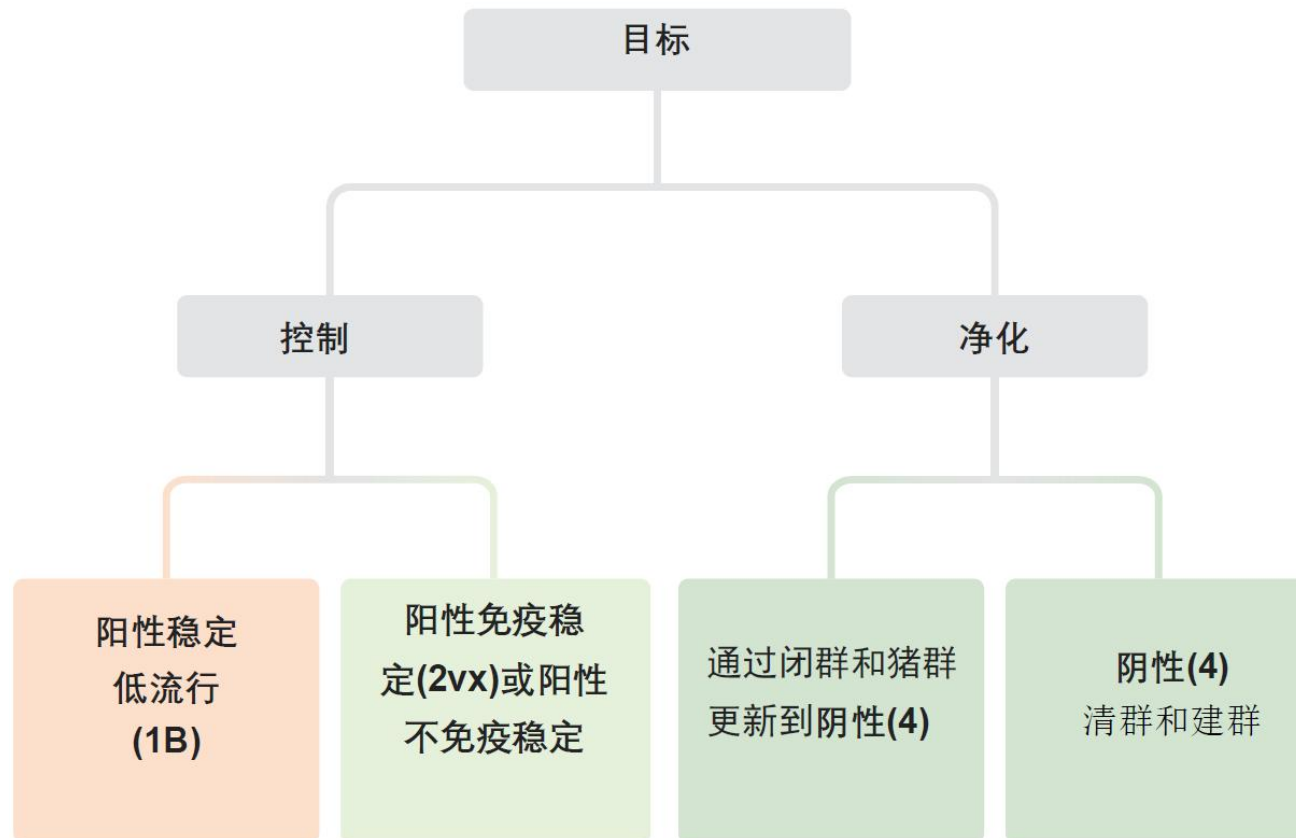


- 空气样本中存在病毒的示例。**Andersen**级联撞击器从受感染场所内受感染动物产生的气溶胶中检测到的按粒径分布的空气中病毒**RNA**浓度分布。

- 年龄组：所有年龄段。
- 优点：空气中存在环境病毒的良好证据。与OF(更大的合并样本)有良好的相关性。总病毒载量(即qPCR)以及培养物的病毒定量分析通常用于确定和量化病毒的存在和传染性。
- 缺点：空气样本中病毒的检测取决于产生的气溶胶类型(即依赖于病原体)、采样和使用的分析方法。某些采样方法(即冲击、干燥、过滤)以及气流、采样时间和天气条件(即紫外线、温度和RH%)可能会影响空气中病原体的病毒检测和传染性。价格高！

- 获得成功的空气采样结果的关键是了解特定病原体产生的气溶胶类型并将其与最合适的空气采样方法相匹配。
- 通过对呼吸道临床体征的声音监测指示的区域进行目标空气采样，增加了病原体检测和病原体监测的机会。

(四) 确定蓝耳病的防控目标





二、蓝耳病净化探讨

国家对疾病净化的政策支持

- **一部法律**；
- **六个指导意见**：绿色发展、现代种业、农业转型升级、畜牧业高质量发展、生猪产业持续健康发展、疫病净化工作
- **若干计划方案、技术指南、技术规范**



病原的生物学特性

- **基因变异：血清型（PRRSV-1，PRRSV-2），亚型多**
- **感染宿主谱窄（猪），体内外细胞偏嗜强，猪肺泡巨噬细胞(PAM)；**
- **感染PAMs，损伤免疫系统，导致炎性因子风暴；**
- **免疫抑制，猪体天然免疫和获得性免疫弱；**
- **病毒抗体依赖增强作用(ADE)，非中和抗体和低水平中和抗体促进病毒逃逸；**
- **病毒持续感染，引起长时间病毒血症(>4w)；**
- **亚临床感染猪扁桃体和淋巴结持续带毒排毒数月。**

PRRSV可以自清除！



猪场蓝耳病管理的核心点

- **选址：**
- **尽量减少后备猪进群次数（自循环）：6个月或更长时间闭群管理检测隔离，免疫驯化**
- **控制猪场内部猪群流动管理：**
- **分点生产？，全进全出，分胎次、批次化生产：**
- **免疫管理：疫苗选择及免疫程序（不稳定时连续2次免疫+免疫后8周内所生仔猪需转出）**
- **后备猪血清或疫苗驯化：**
- **生物安全：清群+部分清群，控制寄养，病弱猪处理，针头管理等**
- **空气过滤？**
- **实验室监测：系统的采样方案和跟进检测计划**
- **抗生素或中药等.....**



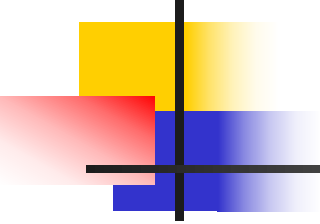
- 但能维持多久？净化后维持1.6年以上具有效益

- 周边环境

- 空气过滤？

- 现场管理？.....

- 蓝耳病的控制及净化方法是成熟的。 **难！** 如何预防 **蓝耳病病毒的再次感染是困难的！**

- 
- 群体生产条件下，不仅仅是治病、不死猪。
 - 多数情况下是基于经济影响分析从而做出控制决策。
 - 兽医要学会与生产沟通！
 - 兽医要懂一些财务知识
 - 兽医要懂生产管理！

生产兽医和兽医总监的责任就是要最大程度地降低疾病经济影响！



1、严格管控后备猪进群

➤ 后备猪管理最关键!!!

- 后备猪隔离驯化舍（疫苗、血清均可）
- 引种及进群进行检测！保证不带病毒！
- 疫苗驯化：活病毒/活疫苗2次免疫或活疫苗+灭活疫苗免疫
- 抗生素、中药等减少复制



病原的生物学特性

- **基因变异：血清型（PRRSV-1，PRRSV-2），亚型多**
- **感染宿主谱窄（猪），体内外细胞偏嗜强，猪肺泡巨噬细胞(PAM)；**
- **感染PAMs，损伤免疫系统，导致炎性因子风暴；**
- **免疫抑制，猪体天然免疫和获得性免疫弱；**
- **病毒抗体依赖增强作用(ADE)，非中和抗体和低水平中和抗体促进病毒逃逸；**
- **病毒持续感染，引起长时间病毒血症(>4w)；**
- **亚临床感染猪扁桃体和淋巴结持续带毒排毒数月。**

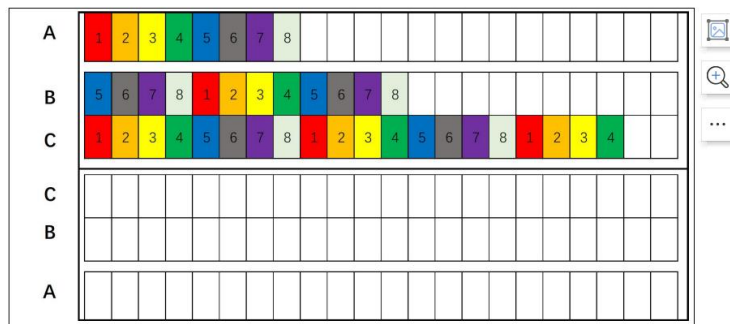
2、做好猪流管理

徐闻京基智农猪流管控办法 2.0

鉴于徐闻当前的疾病流行规律，为了提高育肥猪健康，加强各个关联阶段的猪流管控，特做本制度，各部门严格贯彻落实；

商品猪自出生到上市，有3次转栏合群机会，分别是断奶、保育分群和销售尾猪并栏；商品猪除了这3种情形，发生的任何转栏合群行为，必须上报生产技术部，获得许可。

1、猪流规划



如上图所示：根据产床布局，每5栏对应一个育肥栏位，空余的栏位用于拓展使用；C列最容易定位，B列次之，A列难度最大，因此优先摆放在C列，B、A次之。

产房仔猪寄养管理办法

一、符合寄养的条件

- 1、母猪产仔数高于有效乳头数；
- 2、仔猪体重大于0.8kg；
- 3、出生后24小时内；
- 4、按照产床位置布局，同一列栏位之间。

二、寄养操作办法

- 1、参考上一胎断奶记录，优先选择断奶成绩优异的母猪；
- 2、母猪带仔数不能超过有效乳头数；
- 3、寄养之后1个小时内，加强巡栏，查看寄养后的猪只状态；
- 4、无需喷洒气味剂或在仔猪身上涂抹粪尿等操作；
- 5、充分观察，减少交叉寄养的窝数，尽可能“点对点”，避免3栏以上的交叉寄养。

三、寄养注意事项

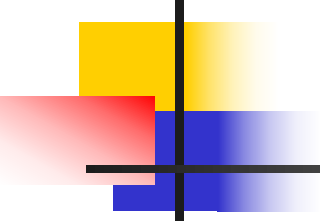
- 1、出生24小时后，严格禁止寄养操作（实际上24小时之后的操作，就是调栏）；
- 2、针对PRRSV、PED等活跃的猪场，加强弱猪的淘汰，禁止通过寄养来保留饲养弱猪；

➤ 做好猪流管理：不随意混群！全进全出！

某集团保育育肥一体化猪场



- 保育育肥一体化场
- 后备猪：**PRRSV**阳性—活疫苗**2**次
- 保育育肥舍：**空置**
 - 分期、分批、进集团内部不同批次的断奶猪只
- 蓝耳波动、细菌混合感染



3、疫苗免疫

- **疫苗免疫：活疫苗(不同毒株)、活疫苗+灭活疫苗**
- **强调“做好”免疫：免疫与做好免疫**

4、后备猪血清驯化

A direct real-time polymerase chain reaction assay for rapid high-throughput detection of highly pathogenic North American porcine reproductive and respiratory syndrome virus in China without RNA purification

Kang Kang^{1,2†}, Keli Yang^{3†}, Jiasheng Zhong², Yongxiang Tian³, Limin Zhang², Jianxin Zhai⁴, Li Zhang⁴, Changxu Song⁵, Christine Yuan Gou⁶, Jun Luo^{1*} and Deming Gou^{2*}



Available online at www.sciencedirect.com



Journal of Virological Methods 149 (2008) 49–55



www.elsevier.com/locate/jviromet

Rapid detection of a highly virulent Chinese-type isolate of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus by real-time reverse transcriptase PCR

Xing-Long Xiao, Hui Wu, Yi-Gang Yu*, Bang-Zhao Cheng, Xiao-Quan Yang, Gu Chen, Dong-Mei Liu, Xiao-Feng Li

Institution of Food Safety, Department of Food, College of Light Industry & Food, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China

Received 4 September 2007; received in revised form 21 December 2007; accepted 9 January 2008
 Available online 3 March 2008

- 自家血清：200-500个病毒粒子（活病毒）
- 自制标准曲线：ct值与TCID50的关系

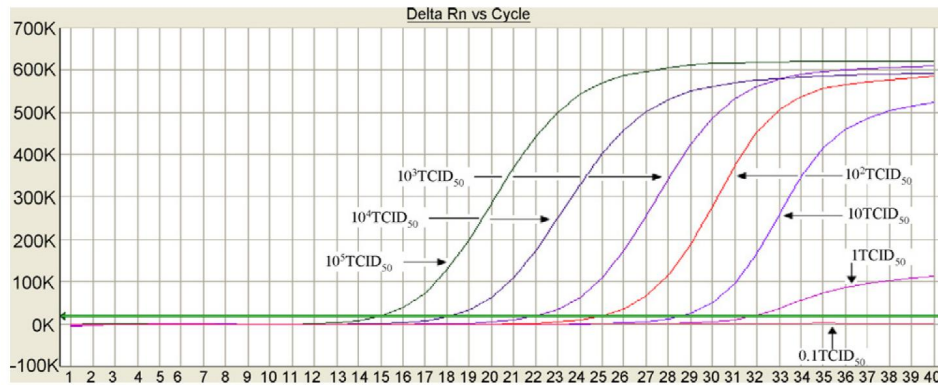


Fig. 3. Sensitivity detection of real-time RT-PCR assay for highly virulent Chinese-type PRRSV.

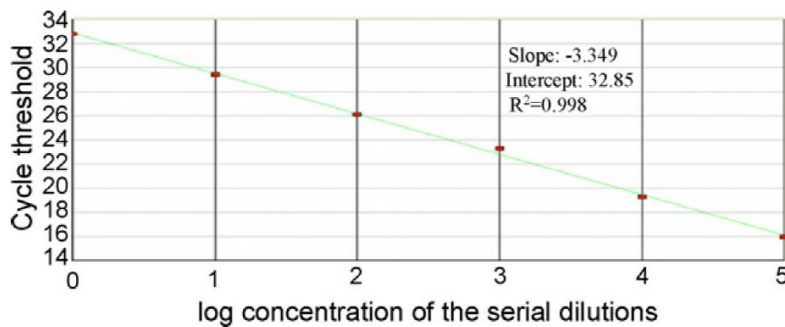


Fig. 4. Standard curve was generated with the log₁₀ TCID₅₀/ml samples against the corresponding Ct value, the linear relationship was observed with 10⁵-1 TCID₅₀/ml H-PRRSV sample.

Table 1. Sensitivity comparison of PRRSV virus isolation, real-time quantitative RT-PCR (qRT-PCR), and nested RT-PCR.

North American PRRSV					European PRRSV			
TCID ₅₀ /0.1 ml	Virus isolation*	qRT-PCR (C _T)	Calculated copy no.	Nested RT-PCR	TCID ₅₀ /0.1 ml	Virus isolation†	qRT-PCR (C _T)	Calculated copy no.
1,000	pos‡	17.7	4,412,428	pos	1,000	pos	25.4	24,712
100	pos	20.9	484,348	pos	100	pos	29.1	1,995
10	pos	24.7	35,134	pos	10	pos	32.6	184
1	pos	28.8	2,072	pos	1	neg	35.9	20
0.1	neg	31.3	369	pos	0.1	neg	38.9	3
0.01	neg	35.2	25	pos	0.01	neg	neg	NA
0.001	neg	neg	NA	neg	0.001	neg	neg	NA

* Virus isolation performed on MARC-145 cells.

† Virus isolation performed on PAM cells.

‡ pos = positive; neg = negative.



Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)

Preventive Veterinary Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/prevetmed



Comparison of time to PRRSv-stability and production losses between two exposure programs to control PRRSv in sow herds

D.C.L. Linhares^{a,*}, J.P. Cano^b, M. Torremorell^c, R.B. Morrison^c

^a Agroceres PIC, Rua 1 JN, 1411, Rio Claro, SP 13502-741, Brazil

^b Boehringer Ingelheim Vetmedica Inc., 3902 Gene Field Road, St. Joseph, MO 64506, USA

^c University of Minnesota, College of Veterinary Medicine, 385B Animal Science Veterinary Medicine Building, 1988 Fitch Avenue, St. Paul, MN 55108, USA

Breeding herds acutely infected with PRRSv
母猪群急性感染蓝耳病

Herd closure + LVI
(n=41) 封群 + 活毒接种

Herd closure + MLV
(n=20) 封群 + 弱毒苗接种

Time to negative pig (TNP) 产阴性仔猪时间

2种稳定母猪群的蓝耳活毒暴露方法的恢复稳定时间及疾病损失比较

蓝耳病净化的监测及标准

	目标	监测指标	标准
TTBP	回到基准生产水平	-断奶前仔猪死亡率； -母猪繁殖性能指标；	产房成活率及母猪繁殖性能恢复到爆发前水平；
TTNP (TTS)	生产阴性仔猪	-仔猪睾丸液的抗原检测； -断奶仔猪血清的抗原检测；	-断奶日龄的仔猪间隔4周检测1次， 连续4次（连续90天）保持阴性；

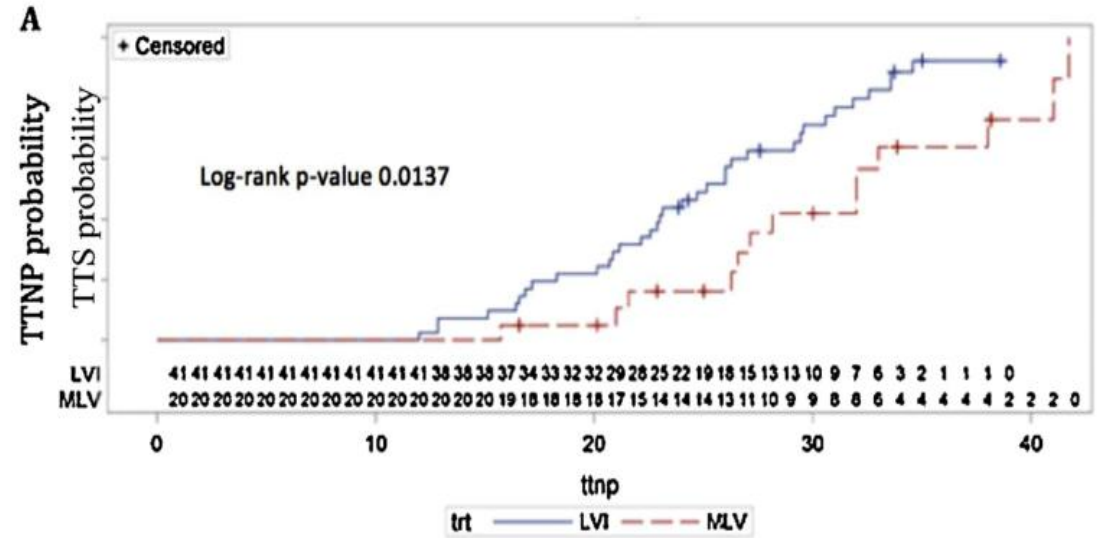
用野毒暴露和疫苗免疫的区别

Table 4. Partial budget model to compare economic benefit of MLV over FVI on a load-close-expose program to eliminate PRRSv from an infected 1,000 sows breeding herd.

Treatment	Cost to expose	Opportunity Cost for pigs not weaned			Opportunity Cost for w-f performance			Total OC		
		Exposure	TTBP	Total loss	OC*	TTS	OC			
MLV	\$3,000	+	12	1,222	\$81,532	+	32	\$199,799	=	\$284,330
FVI	\$100	+	20	2,665	\$177,809	+	25	\$132,969	=	\$310,878
Difference (MLV-FVI)					\$ 96,277			\$-66,829		\$26,548

* OC = Opportunity cost

doi:10.1371/journal.pone.0144265.t004

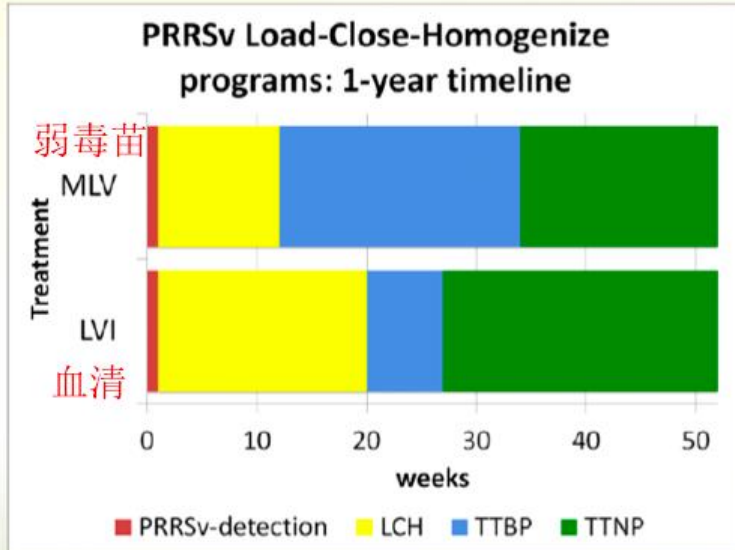


(DCL linhares et al. 2018)

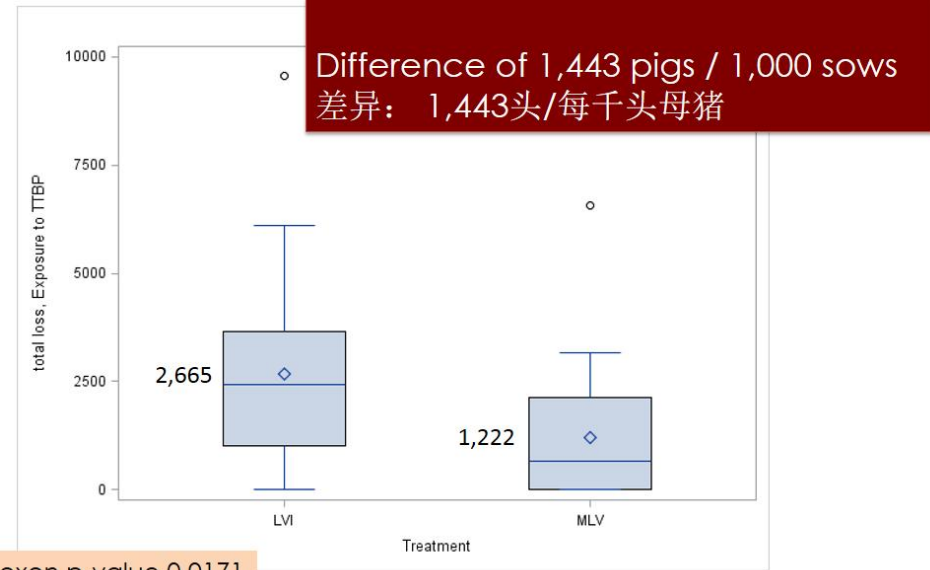
- 母猪群发生PRRS后，用弱毒苗控制比用全群野毒接种控制，总体经济损失更小。
- 使用疫苗，TTBP更短一些：可以更快的恢复到基准生产水平；
- 使用血清，TTNP更短一些：可以更快的生产阴性仔猪；

用野毒暴露和疫苗免疫的区别

Daniel Linhares, PhD thesis
Time to Stability and Time to Baseline production



MLV herds had lower total loss of pigs
使用弱毒苗猪群总损失较低



Wilcoxon p-value 0.0171

- 如果用弱毒苗免疫，能快速恢复到正常生产水平（合格周断奶仔猪数），但是要生产出阴性断奶仔猪需要的时间长
- 如果使用血清感染，恢复到正常生产水平需要的时间长，但是能快速生产阴性断奶仔猪

The MLV program was economically advantageous compared to the LVI program 弱毒苗比活毒接种更划算

Treatment 处理	Cost to expose 感染成本		Opportunity Cost for pigs not weaned 断奶前仔猪机会成本			Opportunity cost for W-F performance 断奶育肥生产性能机会成本				
			TTBP	Total loss	OC*	TTNP	OC*		总Total OC*	
MLV 弱毒苗	\$3,000	+	12	1,222	\$81,532	+	33	\$199,799	=	\$284,330
LVI 活毒接种	\$100	+	20	2,665	\$177,809	+	26	\$132,969	=	\$310,878
Difference (MLV-LVI) 差别			\$96,277			(\$66,829)		\$26,548		

* OC = Opportunity cost
OC=机会成本

TTNP产阴性仔猪时间

TTBP 恢复基础生产水平时间



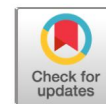
5000头母猪场一次PRRS损失

	正常生产	PRRSV净化
生产力		
基础母猪存栏	4964	4825
LSY	2.46	2.09
窝均活产	12.8	11.45
年活产仔猪	156306	115549
断奶前死亡率	12.00%	17.86%
窝均断奶	11.26	9.41
窝均年断奶仔猪	137549	94892
年断奶仔猪	27.71	19.67
收入		
每头断奶仔猪价值 (¥/头猪)	¥1,500.00	¥1,800.00
收入 (¥/年)	¥206,323,500.00	¥170,805,600.00
成本		
每头断奶仔猪成本 (¥/头猪)	¥478.70	¥619.75
畜禽成本	¥119.26	¥141.97
饲料成本	¥180.02	¥247.32
动保成本	¥52.31	¥73.43
直接人工	¥41.67	¥49.61
电燃修杂费	¥27.52	¥32.76
资产折旧	¥46.59	¥55.46
死亡损失	¥11.32	¥19.20
总成本	¥65,844,278.63	¥58,809,317.00

净利润 (¥/年)	¥140,479,221.37	¥83,528,683.00
净利润 (¥/基础母猪)	¥28,299.60	¥17,311.64
净利润 (¥/断奶仔猪)	¥1,021.30	¥880.25
封群成本		
封群时间		8个月
年更新率		45%
后备母猪缺口		1489
后备母猪缺口断奶仔猪		16766
矫正损失断奶仔猪		8479
矫正损失断奶仔猪利润 (¥/年)		¥8,659,629.06

损失核算

动保成本	
全场母猪	¥148,920.00
断奶仔猪	¥2,063,235.00
药物增加成本	¥246,000.00
机会损失	
种猪价值	¥52,268,000.00
PRRSV阴性猪场年增值	¥54,726,155.00
转阳种猪损失	¥36,058,960.00
疫情损失利润 (矫正)	¥90,946,263.37



NADC30毒株更难控制

The Genetic Variation of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Replicase Protein nsp2 Modulates Viral Virulence and Persistence

Can Kong,^a Dan Li,^a Yanxin Hu,^a Peng Gao,^a Yongning Zhang,^a Lei Zhou,^a Xinna Ge,^a Xin Guo,^a Jun Han,^a Hanchun Yang^a

^aKey Laboratory of Animal Epidemiology of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, People's Republic of China

IMPORTANCE Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) has been a major threat to the world swine industry. In the field, rapid genetic variations (e.g., deletion, mutation, recombination, etc.) within the nsp2 region present an intriguing conundrum to PRRSV biology and pathogenesis. By making chimeric mutants, here, we show that the Chinese highly pathogenic PRRSV (HP-PRRSV) nsp2 is a virulence factor and a much stronger inducer of host immune responses (e.g., inflammation) than its counterpart, currently epidemic, NADC30-like strains. Differences in the ability to modulate host immunity provide insight into the mechanisms of why NADC30-like strains and their derivatives are rising to be the dominant viruses, whereas the Chinese HP-PRRSV strains gradually give away center stage in the field. Our results have important implications in understanding PRRSV evolution, interlineage recombination, and persistence.

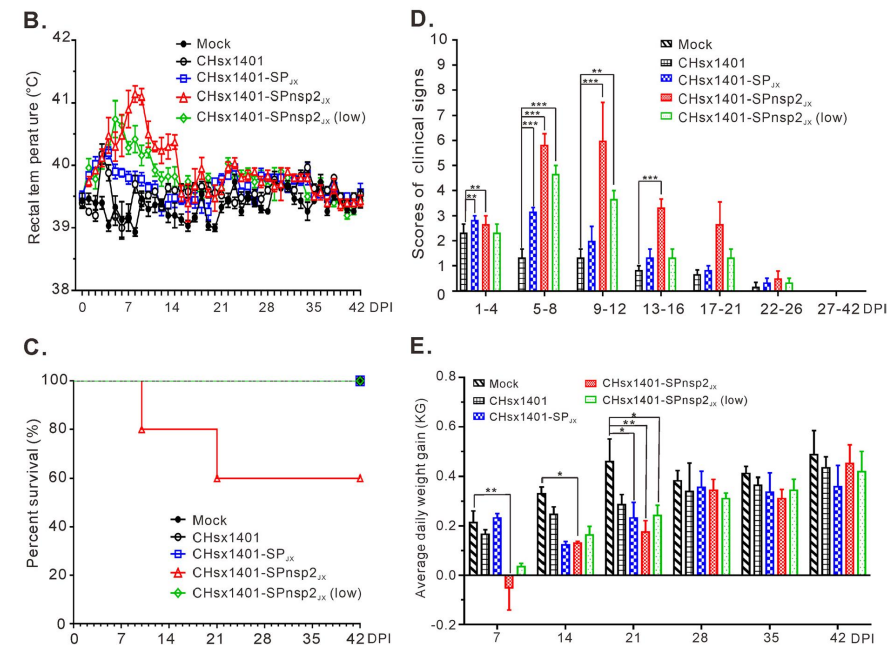


FIG 2 Pathogenicity analysis of PRRSV chimeras in piglets. (A) Scheme of the animal experiment protocol. (B) Rectal temperature fluctuations. (C) Animal survival curve. (D) Clinical mental state scores of piglets of different groups. The clinical scoring included the gross clinical score (GCS), respiratory clinical score (RCS), and nervous signs score (NSS). Total scores for each piglet represent the sum of the GCS, RCS, and NSS. (E) Average daily weight gain of piglets. Statistical analysis was performed using a two-tailed Student's *t* test, and error bars indicate means \pm standard deviation (SD). Asterisks (*) indicate the statistical significance: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

- **结果发现类NADC30毒株CHsx1401置换HP-PRRSV毒株JXwn06的Nsp2后会刺激更强的免疫反应（炎症反应），病毒血症会更快地被清除、组织中的病毒载量也相对最低，**
- **反之类NADC30毒株的nsp2诱导免疫反应（炎症反应）的能力相比HP-PRRSV更弱，可以不被机体的免疫反应识别，更为“狡猾”地隐藏起来（sneaky nature）**



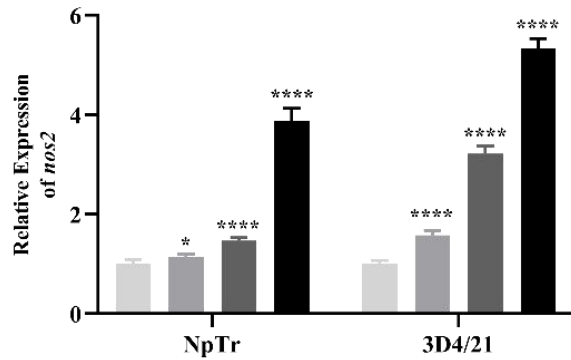
5、高度重视猪舍的环控管理

- 中猪阶段猪的生长速度最快，单位时间内需要大量的氧气和营养物质。
- 在通风不良，氧分压低的环境下，会引起机体的一系列代偿活动和功能障碍（呼吸系统，循环系统，血液，神经系统，组织细胞），给机体加重负担，在此环境下机体免疫力下降，极易发生疾病。
- 保证良好的通风换气也就是在保健。
- 对当前的楼房及密闭猪舍，通风最重要！

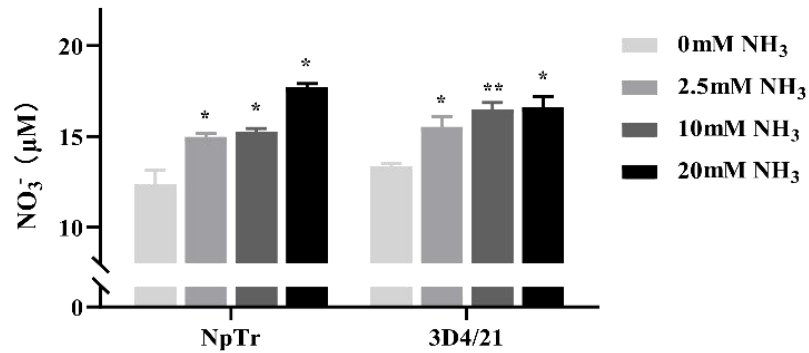
能做到吗？

引自华中农业大学周锐、黎璐教授-高浓度氨气可以激活潜伏感染状态的APP

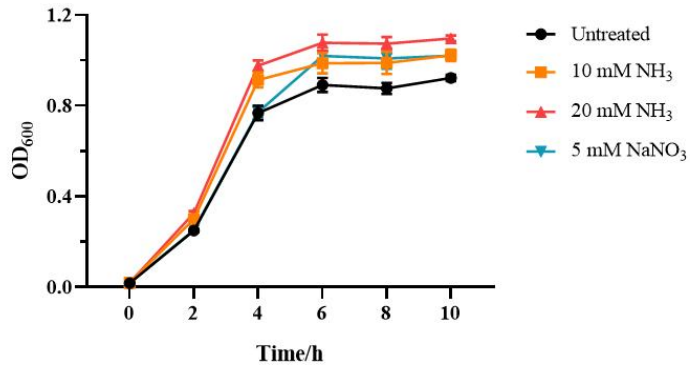
Expression of *nos2*



Nitrate production

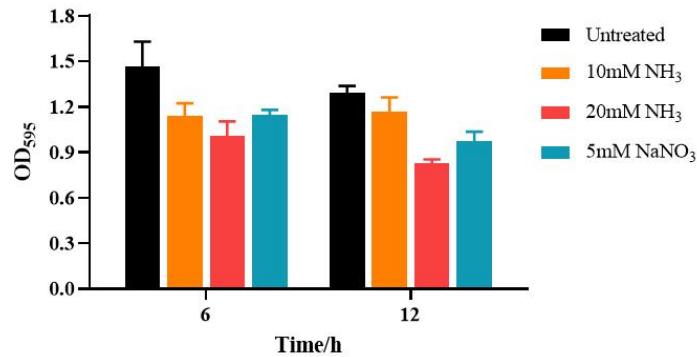


Growth curve



APP growth

CV Staining



APP biofilm formation

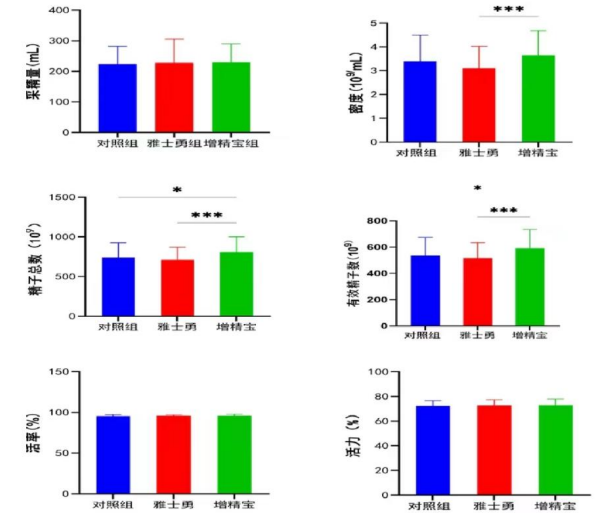
The Metabolic Adaptation in Response to Nitrate Is Critical for *Actinobacillus pleuropneumoniae* Growth and Pathogenicity under the Regulation of NarQ/P

QiuHong Zhang,^{a,b} Hao Tang,^{a,b} Chaoyue Yan,^{a,b} Weiyao Han,^{a,b} Lu Peng,^{a,b} Jiajia Xu,^{a,b} Xiabing Chen,^c Paul R. Langford,^d Weicheng Bei,^{a,b} Qi Huang,^{a,b,e} Rui Zhou,^{a,b,e} Lu Li^{a,b,e}

- 一水合氨(NH₃·H₂O)诱导猪气管上皮细胞和肺泡巨噬细胞硝酸盐合成酶NOS2的表达及硝酸盐的产生；
- 一水合氨和硝酸盐都能抑制APP生物被膜形成，并促进APP生长。

• 6、抗生素及中药

- 可以适度降低病毒血症;
- 控制继发感染;
-





猪场蓝耳病管理的核心点

- **选址：**
- **尽量减少后备猪进群次数（自循环）：6个月或更长时间闭群管理检测隔离，免疫驯化**
- **控制猪场内部猪群流动管理：**
- **分点生产？，全进全出，分胎次、批次化生产：**
- **免疫管理：疫苗选择及免疫程序（不稳定时连续2次免疫+免疫后8周内所生仔猪需转出）**
- **后备猪血清或疫苗驯化：**
- **生物安全：清群+部分清群，控制寄养，病弱猪处理，针头管理等**
- **空气过滤？**
- **实验室监测：系统的采样方案和跟进检测计划**
- **抗生素或中药等.....**

蓝耳病净化前后效益分析

—引自某集团2022年分享数据

指标	蓝耳感染期	蓝耳净化后	生产提高	经济效益（元）
返情数（头/周）	7.4	4.3	3.1头/周	1434.71
流产数（头/周）	3.9	3.7	0.2头/周	123.42
空怀数（头/周）	7.3	2.8	4.5头/周	3471.07
死亡数（头/周）	5.9	5.9		
落地损失（每窝）	12.2%	8.7%		215.25
断奶前死亡数（每批次）	10.1%	10.4%		

蓝耳病净化前后效益分析

—引自某集团2022年分享数据

状态	批次	头数	死亡率	畜禽成本	饲料成本	动保成本	直接工资	电燃修杂费	资产折旧	死亡损失	每公斤成本	平均
蓝耳感染期	01	2829	17.78%	4.21	10.39	0.93	0.34	0.32	0.92	0.91	18.02	18.39
	02	2870	17%	4.03	10.57	0.92	0.34	0.32	0.92	0.82	17.92	
	03	2718	14.42	3.94	10.99	0.71	0.56	0.32	1.1	0.66	18.29	
	04	2844	14.31	3.85	10.44	0.8	0.65	0.37	1.37	0.64	18.12	
	05	2708	15.58	3.96	10.93	0.81	0.62	0.36	1.32	0.73	18.73	
	06	2130	19.06	3.8	11.51	0.79	0.62	0.36	1.3	0.9	19.27	
蓝耳净化后	01	2,633	5.32	3.82	9.71	0.46	0.37	0.42	0.94	0.24	15.96	15.87
	02	2,650	5.83	3.85	9.28	0.51	0.49	0.29	1.11	0.33	15.86	
	03	2,656	6.51	4.12	9.43	0.52	0.44	0.32	0.96	0.35	16.14	
	04	2,592	5.86	3.89	9.35	0.49	0.45	0.38	0.93	0.31	15.35	
	05	2643	4.83	3.93	9.45	0.48	0.39	0.41	1.02	0.23	15.91	
	06	2652	5.12	3.96	9.51	0.55	0.38	0.36	0.98	0.28	16.02	

- 蓝耳感染期，下游育肥成本为**18.39元/公斤**，蓝耳病净化后，下游育肥成本为**15.87元/公斤**，一头标猪（120公斤），出栏成本降低**302元/头猪**。

--引自牧原三十年开放日

蓝耳净化增益测算——降本138元/头+增益9元/头

维度	指标	目标	对标起点	现状	蓝耳共创空间
利润	利润（元/头）				9.2
	合计（元/头）				138.5
成本	饲料成本	884	1159	1110	89.5 ↓
	兽药疫苗成本	28	88	94	18.0 ↓
	全人工	42	198	186	10.5 ↓
	资产折旧	87	166	157	13.3 ↓
	种猪折旧及死亡	15	38	32	6.5 ↓
	检测费（内部）	2.00	5.14	4.64	0.6 ↓
效率指标	1. 全程料比	2.4	3.14	2.79	0.2 ↓
	2. 活仔数	15	12.27	12.70	2.7 ↑
	3. 全程成活率	97%	77.5%	87.4%	5.9% ↑
	3.1 乳猪成活率	99%	94.7%	96.0%	2.0% ↑
	3.2 仔猪成活率	99%	92.1%	95.2%	2.0% ↑
	3.3 肥猪成活率	99%	88.8%	95.6%	2.8% ↑
	4. 120kg上市日龄	156	207	190	22 ↓
	5.1 仔猪日增重	550	379	392	100 ↑
	5.2 肥猪日增重	1000	705	830	120 ↑

- “Our doubts are traitors and make us lose the good we oft might win by fearing to attempt”.

- **疑惑**是一种背叛，使我们遇事畏缩，输掉本可赢得的好与善。

--(*William Shakespeare*) 莎士比亚

重学习！ 懂改变！ 强执行！





敬请批评指正！