

# 2017 年华东六省猪伪狂犬病感染抗体检测

张盼盼, 张日腾, 范 慧, 李仕海, 姜 平, 白 娟

(南京农业大学, 农业农村部动物细菌学重点实验室, 江苏南京 210095)

**摘 要:** 为了解华东六省猪伪狂犬病病毒 (PRV) 感染情况, 对 2017 年华东地区 6 个省份 310 家猪场送检的 10 179 份猪血清样品, 应用 PRV gE-ELISA 抗体检测试剂盒进行感染抗体检测。结果显示: 248 家猪场被检出 PRV gE 阳性抗体, 场群阳性率为 80.00% (248/310); 4 546 份血清样本被检出 PRV gE 抗体阳性, 样本阳性率为 44.66% (4 546/10 179)。对不同季节和不同饲养阶段样品的 PRV gE 抗体阳性率进行统计发现: 春季样品阳性率最高, 冬季偏低; 种母猪样本阳性率最高, 为 60.59%, 其次是经产母猪, 种公猪最低。结果表明, 华东六省猪群 PRV 野毒感染较为严重, 尤其是母猪群。因此, 这些省份应加大猪伪狂犬病的综合防控力度, 重点关注种母猪群。

**关键词:** 猪伪狂犬病; gE 抗体; 流行病学调查; 华东六省

中图分类号: S851.3 文献标识码: A 文章编号: 1005-944X (2018) 09-0009-04

DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2018.09.003

## Antibody Detection of Pseudorabies Virus in Six Provinces of East China in 2017

Zhang Panpan, Zhang Riteng, Fan Hui, Li Shihai, Jiang Ping, Bai Juan

(Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Animal Bacteriology of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** In order to recognize the infection status of pseudorabies virus (PRV) in pig farms located in six provinces of East China. In 2017, 10 179 serum samples were collected from 310 farms and tested by PRV gE-ELISA kits. The results showed that, 248 farms were detected positive for gE antibody, the positive rate at the farm level was 80.00% (248/310), while at individual level it was 44.66% (4 546/10 179). According to statistical analysis of infection rates in different seasons and stages, it was found that the positive rate was highest in spring and lowest in winter. Besides, the breeding sows had the highest positive rate, accounting for 60.59%, followed by multiparous sows, the breeding boars had the lowest rate. As a result, the infection status of wild PRV was serious in pigs in the six provinces of East China, especially in sows. For this reason, comprehensive prevention and control measures should be strengthened, and more attention should also be paid to sow herds.

**Key words:** porcine pseudorabies; gE antibody; epidemiological investigation; six provinces in East China

猪伪狂犬病 (PR) 是由伪狂犬病病毒 (Pseudorabies, PRV) 感染引起的一种危害较大的猪急性传染病, 在世界大部分地区呈地方性流行<sup>[1]</sup>。该病毒有潜伏感染特性, 可以伴随宿主一生。猪的三叉神经节、骶神经节和扁桃体是病毒的主要潜伏位点。应激 (如运输、保定) 和荷尔蒙失调 (如妊娠、产仔) 均可使病毒活化并排出<sup>[2-3]</sup>。猪群感染 PRV

基金项目: 国家自然科学基金 (31502082); 中央高校基本科研业务费专项 (KJQN201616)

通信作者: 白娟

后的临床症状各异: 仔猪常表现高热、呼吸困难、运动失调并伴有神经症状; 母猪出现流产, 产死胎、木乃伊胎等繁殖障碍; 公猪则常见睾丸肿胀、萎缩, 种用性能降低或丧失等<sup>[4-5]</sup>。猪感染 PRV 后将终生带毒和排毒。该病毒常与猪繁殖与呼吸综合征病毒、猪圆环病病毒、链球菌等混合感染, 因而加剧了该病的防控难度, 给养猪业造成了巨大经济损失<sup>[6-8]</sup>。

疫苗免疫是防控 PR 的重要手段。目前国内正在通过免疫 PRV gE 基因缺失疫苗并结合 gE 抗

体检测, 开展 PR 控制与净化工作<sup>[9-10]</sup>。但疫苗免疫并不能完全抵抗 PRV 野毒感染。新型变异毒株的出现以及弱毒疫苗的安全性隐患等, 严重威胁着养猪业的健康发展<sup>[11]</sup>。自 2011 年以来, PRV 出现了一系列新型变异毒株, 其碱基序列和致病力均与传统毒株 Ea 株有较大差异, 导致我国许多免疫猪场相继出现 PR 疫情<sup>[12]</sup>。因此, 必须加强 PR 的流行病学监测, 掌握该病在我国养猪业中的流行状况。本研究对 2017 年华东地区 6 个省份 310 个场送检的 10 179 份猪血清, 进行 PRV gE 抗体检测, 旨在全面了解华东地区 PR 流行特点, 为日后 PR 防控提供依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 血清样品

2017 年共收到来自华东地区 6 个省份 310 个不同规模猪场送检的 10 179 份血清样品 (表 1)。各猪场抽样策略为系统抽样。各猪场均未使用含 gE 基因的 PRV 疫苗。

表 1 样品来源及分布情况

省份	猪场数 / 个	血清样本数 / 份
安徽	18	390
福建	25	454
江苏	64	3 110
江西	52	1 377
山东	96	2 775
浙江	55	2 073
总计	310	10 179

### 1.2 检测试剂

猪伪狂犬病病毒 gE 抗体阻断法鉴别诊断试剂盒: 购自美国 IDEXX 公司。

### 1.3 检测方法

取抗原包被板, 在反应孔中加入 2 倍稀释的待检血清样本 100  $\mu$ L, 并加入等量的阴性和阳性对照, 于 18~26  $^{\circ}$ C 放置 1 h 后, 弃去孔内液体, 用洗涤液洗涤 4 次后拍干; 每孔加入 100  $\mu$ L 酶标记抗体, 18~26  $^{\circ}$ C 孵育 20 min 后, 弃去孔内液体, 用洗涤液洗涤 4 次后拍干; 每孔加入 100  $\mu$ L TMB 底物液, 18~26  $^{\circ}$ C 避光反应 15 min 后, 加入终止液 50  $\mu$ L, 终止反应, 5 min 内用酶标仪测定并记录其波长 650 nm 下的光密度值。在阴性对照值 (N)

减去阳性对照值 (S)  $\geq 0.30$  成立的前提下, 当被检血清样品的  $S/N \leq 0.60$ , 样品判定为 PRV gE 抗体阳性; 当被检血清样品的  $S/N > 0.70$ , 样品判定为 PRV gE 抗体阴性; 如果  $0.60 < S/N \leq 0.70$ , 则判定为可疑, 需再次检测。在进行猪场结果判定时, 如果猪场有 1 个样品为阳性, 则该场判定为 PRV 野毒阳性场。

## 2 结果与分析

### 2.1 总体情况

在 10 179 份血清样本中, 检出 PRV gE 抗体阳性血清样本 4 546 份, 平均样本阳性率为 44.66%; 检出阳性猪场 248 个, 平均场群阳性率为 80.00%。

### 2.2 空间分布

华东地区 6 个省份样本中均有 PRV gE 抗体阳性被检出, 其中山东样本阳性率最高 (62.16%), 其次是浙江 (48.29%)、福建 (47.36%) 和江西 (34.42%), 而江苏 (32.83%) 和安徽 (28.21%) 较低; 浙江猪场 PRV gE 抗体阳性率最高 (89.09%), 其次是山东 (84.38%)、江苏 (79.69%) 和江西 (73.08%), 而福建 (68.00) 和安徽 (66.67%) 较低 (表 2)。

表 2 不同省份猪群 PRV gE 抗体检测情况

省份	猪场数 / 个	阳性猪场数 / 个	猪场阳性率 / %	样本数 / 份	阳性样本数 / 份	样本阳性率 / %
山东	96	81	84.38	2 775	1 725	62.16
浙江	55	49	89.09	2 073	1 001	48.29
福建	25	17	68.00	454	215	47.36
江西	52	38	73.08	1 377	474	34.42
江苏	64	51	79.69	3 110	1 021	32.83
安徽	18	12	66.67	390	110	28.21
总计	310	248	80.00	10 179	4 546	44.66

运用 SPSS 20 统计学软件, 对不同省份猪场及血清样本的 PRV gE 抗体阳性率分别进行卡方检验。结果显示: 山东、福建、江西、江苏和安徽 5 个省份猪场间的 PRV gE 抗体阳性率差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 而浙江与江西、安徽猪场阳性率差异显著 ( $P < 0.05$ ); 浙江和福建, 江西、江苏和安徽之间的血清样本 PRV gE 抗体阳性率差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 其余省份间血清样本 PRV gE 抗体阳性率差异极显著 ( $P < 0.001$ )。

### 2.3 时间分布

对样品检测结果按季节进行统计分析发现：春季的 PRV gE 抗体阳性率最高，平均场阳性率为 85.06%，样本阳性率为 55.21%；冬季 PRV gE 抗体阳性率最低，平均场阳性率为 74.19%，样本阳性率为 29.38%（表 3）。

季节	猪场	阳性猪场	猪场阳性率	样本数	阳性样本	样本阳性率
	数/个	数/个	%	/份	数/份	%
春季	87	74	85.06	2 862	1 580	55.21
秋季	88	71	80.68	3 693	1 830	49.55
夏季	73	57	78.08	1 919	635	33.09
冬季	62	46	74.19	1 705	501	29.38
总计	310	248	80.00	10 179	4 546	44.66

运用 SPSS 20 统计学软件，对不同季节的猪场及血清样本 PRV 抗体阳性率进行卡方检验发现：不同季节的猪场 gE 抗体阳性率差异不显著 ( $P>0.05$ )；夏季和冬季血清样本 gE 抗体阳性率差异不显著 ( $P>0.05$ )，而其它季节血清样本 gE 抗体阳性率差异极显著 ( $P<0.001$ )。

### 2.4 畜间分布

对样品检测结果按饲养阶段进行统计分析发现：种母猪、经产母猪及妊娠母猪血清样本 PRV gE 抗体阳性率高于其它猪群，其中种公猪阳性率最低，为 27.11%；种母猪及经产母猪群 gE 抗体阳性率均大于 81.2%，高于其他阶段猪群，而后备母猪群阳性率最低（表 4）。

运用 SPSS 20 统计学软件，对不同饲养阶段猪群及血清样本 PRV gE 抗体阳性率进行卡方检验，结果显示：种母猪、经产母猪和妊娠母猪之间，育肥猪和种公猪之间，gE 抗体阳性率差异不显著 ( $P>0.05$ )，而种母猪、经产母猪与其它阶段猪群的抗体阳性率差异显著 ( $P<0.05$ )；经产母猪和妊

不同阶段	猪场	阳性猪	猪场阳性率	样本数	阳性样	样本阳性率
	数/个	数/个	%	/份	本数/份	%
种母猪	31	26	83.87	472	286	60.59
经产母猪	51	42	82.35	490	268	54.69
妊娠母猪	41	31	75.61	440	226	51.36
后备母猪	58	28	48.28	440	162	36.82
育肥猪	66	43	65.15	851	278	32.67
种公猪	34	22	64.71	225	61	27.11
总计	421	308	73.16	4 351	2 077	47.74

娠母猪之间，以及后备母猪、育肥猪和种公猪之间，血清样本 gE 抗体阳性率差异不显著 ( $P>0.05$ )，而种母猪、经产母猪和妊娠母猪同后备母猪、育肥猪和种公猪之间，血清样本 gE 抗体阳性率差异极显著 ( $P<0.001$ )。

### 3 讨论

随着基因缺失疫苗及相应鉴别诊断方法的使用，世界上一些 PR 流行国家相继启动了根除计划并已取得显著成效<sup>[13]</sup>。过去几年，PR 在我国大部分地区存在流行，使得我国对该病的防控仍然面临较大压力。目前，国内猪场普遍采用 PRV gE 基因缺失疫苗进行免疫预防，并配套使用 gE-ELISA 抗体检测试剂盒来区分免疫与野毒感染<sup>[14]</sup>，通过定期监测猪群 PRV gE 抗体，淘汰阳性猪，实现逐步净化该病的目的。

本研究检测发现，2017 年华东六省血清样本 gE 抗体阳性率达 44.66%，场群 gE 抗体阳性率为 80.00%，说明华东六省猪群普遍存在 PRV 野毒感染。不同省份的 PRV 野毒感染水平差异较大。这种差异可能是不同地区生产管理水平和气候条件不同造成的，也可能是不同地区送检样品的差异导致的。另外，本次检测发现，该病在春季和秋季的感染率高于夏季和冬季，这符合 PR 的流行特点<sup>[15]</sup>。不同饲养阶段猪群野毒感染率差异较为显著，种母猪阳性率最高，为 60.59%，其次是经产母猪，公猪阳性率最低，这与全炎铭等<sup>[16]</sup>研究结果一致。同时，从检测结果可以看出，母猪阳性率显著高于育肥猪，这与母猪在猪场饲养时间长有直接关系。另外，本研究结果显示，种公猪阳性率最低。这说明公猪站从源头上严格把关，淘汰可疑及阳性猪，保证种公猪精液质量，起到了明显的防控效果。猪场母猪饲养周期较长，妊娠母猪感染该病时，可通过垂直传播方式感染仔猪，所以母猪群是 PR 防控的重点。猪场应采用科学的免疫程序，逐头检测种母猪和种公猪，坚决淘汰阳性猪，建立阴性后备种猪群，最终实现 PR 净化。

### 4 结论

本研究对华东地区 6 个省份的 10 179 份猪血

清样品,应用 PRV gE-ELISA 抗体检测试剂盒进行感染抗体检测,发现 80.00% 的猪场存在 PRV 野毒感染,个体阳性率为 44.66%,说明这些地区的 PRV 野毒感染较为普遍,感染程度较为严重。PR 流行呈现一定的季节性,春秋季节较为严重,因此需要结合每年春防和秋防工作,加强 PR 防控;母猪 PRV 阳性率较高,是今后 PRV 净化的重点猪群,要坚持“检测-淘汰”的原则,逐步建立阴性种猪群,完成 PR 净化的目标。

#### 参考文献:

- [1] BRITTLE E E, REYNOLDS A E, ENQUIST L W. Two modes of pseudorabies virus neuroinvasion and lethality in mice[J]. *Journal of virology*, 2004, 78 (23): 12951-12963.
- [2] LISA E P, ASHLEY E R, CHRISTOPH J H. Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine[J]. *Microbiology and molecular biology reviews*, 2005, 69 (3): 462-500.
- [3] 娄高明, 杜伟贤. 伪狂犬病流行概况及猪场防控策略[J]. *中国动物检疫*, 1999, 16 (5): 43-45.
- [4] WITTMANN G, RZIHA H J. Herpesvirus diseases of cattle, horses, and pigs: Aujeszky's disease (pseudorabies) in pigs [M]. Boston: Springer, 1989: 230-325.
- [5] 殷震, 刘景华. 动物病毒学 [M]. 2 版. 北京: 科学技术出版社, 1997: 998-1000.
- [6] WU R, BAI C, SUN J, et al. Emergence of virulent pseudorabies virus infection in Northern China[J]. *Journal of veterinary science*, 2013, 14 (3): 363-365.
- [7] TAMBA M, CALABRESE R, FINELLI E, et al. Risk factors for Aujeszky's-disease seropositivity of swine herds of a region of northern Italy [J]. *Preventive veterinary medicine*, 2002, 54 (3): 203-212.
- [8] MÜLLER T, HAHN E C, TOTTEWITZ F, et al. Pseudorabies virus in wild swine: a global perspective[J]. *Archives of virology*, 2011, 156 (10): 1691-1705.
- [9] FREULING C M, MÜLLER T F, METTENLEITER T C. Vaccines against pseudorabies virus (PrV) [J]. *Veterinary microbiology*, 2017, 206: 3-9.
- [10] 张锦余, 汤海林, 孙杰龙, 等. 猪伪狂犬病净化技术的研究 [J]. *养猪*, 2012 (3): 93-94.
- [11] YANG Q Y, SUN Z, TAN F F, et al. Pathogenicity of a currently circulating Chinese variant pseudorabies virus in pigs [J]. *World journal of virology*, 2016, 5 (1): 23.
- [12] AN T Q, PENG J M, TIAN Z J, et al. Pseudorabies virus variant in Bartha-K61 vaccinated pigs, China, 2012 [J]. *Emerging infectious diseases*, 2013, 19 (11): 1749-1755.
- [13] STRAW B E, JEFFERY Z D, ALLAIRE S, et al. *Diseases of swine*[M]. 9th edition. USA: Iowa State University Press, 2006: 421.
- [14] YIN Y, XU Z, LIU X, et al. A live gI/gE-deleted pseudorabies virus (PRV) protects weaned piglets against lethal variant PRV challenge [J]. *Virus genes*, 2017, 53 (4): 565-572.
- [15] 陈焕春, 何启盖. 伪狂犬病 [M]. 1 版. 北京: 中国农业出版社, 2015: 95-96.
- [16] 全炎铭, 贾泽颖, 张丹, 等. 北京地区规模化猪场伪狂犬病血清学调查 [J]. *甘肃畜牧兽医*, 2017, 47 (2): 65-68.

(责任编辑: 朱迪国)