

DOI:10.13350/j.cjpb.220414

• 调查研究 •

2019-2020年重庆市大型养猪场伪狂犬病毒 野生毒株感染的流行病学调查*

罗晓玲, 刘周江, 文兴建, 邢雅婧, 陈强, 胡娟, 黎敏, 刘晏齐**

(重庆市中药研究院实验动物研究所, 重庆 400065)

【摘要】 目的 调查2019-2020年重庆市部分地区大型养猪场猪伪狂犬病病毒(PRV)野生毒株感染流行情况,为防控措施的确提供参考。方法 2019-2020年在重庆市32家大型养猪场采集3640份猪血清,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测PRV-gE和PRV-gB,分析PRV野生毒株感染情况。结果 32家大型养猪场共采集猪血清3640份,ELISA检测PRV-gE抗体阳性率为37.40%(1362/3640),PRV-gB抗体阳性率为93.20%(848/3640)。公猪和母猪、哺乳/保育仔猪、育肥猪及后备猪PRV-gE抗体阳性率分别为35.80%、44.20%、33.50%、29.20%、48.90%和32.70%,不同公猪和母猪、哺乳和保育仔猪、育肥猪及后备猪之间PRV-gE抗体阳性率比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。各地区的养猪场PRV感染率不同,忠县PRV感染率最高,为52.20%,与其他县区感染率相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。第四季度猪PRV-gE抗体阳性率为43.00%,与其它季度相比差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 重庆地区部分规模化养猪场猪PRV野生毒株感染率高,相关部门应采取针对性措施加强PRV野生毒株感染的控制与净化。

【关键词】 伪狂犬病毒;酶联免疫吸附试验;血清流行病学;PRV-gE抗体;PRV-gB抗体

【中图分类号】 R373.9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)04-0443-03

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 Apr;17(4):443-445,450.]

Epidemiological investigation of pseudorabies virus wild virus infection in some large pig farms in Chongqing from 2019 to 2020

LUO Xiao-ling, LIU Zhou-jiang, WEN Xing-jian, XING-Ya-jing, CHEN Qiang, HU Juan, LI Min, LIU Yan-qi (*Experimental Animal Research Institute of Chongqing Academy of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065, China*)***

【Abstract】 **Objective** Large pig farms in some areas of Chongqing from 2019 to 2020 were selected as the research object to investigate the infection of porcine pseudorabies virus (PRV) wild virus to determine relevant virus prevention and control measures in combination with the research results. **Methods** 3640 sera collected from 32 large pig farms in Chongqing were investigated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results were statistically analyzed. **Results** 3640 pig sera were collected from 32 large pig farms. The positive rate of PRV Ge antibody by ELISA was 37.40% (1362/3640), and the positive rate of PRV GB antibody was 93.20% (848/3640). The positive rates of PRV Ge antibody in boars and sows, lactating/nursing piglets, fattening pigs and reserve pigs were 35.80%, 44.20%, 33.50%, 29.20%, 48.90% and 32.70% respectively. There was significant difference in the positive rates of PRV Ge antibody between boars and sows, lactating and nursing piglets, fattening pigs and reserve pigs ($P < 0.05$). The positive rate of serum PRV Ge antibody of pigs in Zhongxian County and Wuxi County was more than 50.00%, which was significantly different from that of pigs in farms in Yunyang County, Fengjie County, Chengkou County, Fengdu County, Youyang Tujia and Miao Autonomous County and Wushan County (all $P < 0.05$). The positive rate of serum PRV GB antibody of pigs in farms in Youyang Tujia and Miao Autonomous County was lower, which was statistically significant compared with that in farms in other areas ($P < 0.05$). The positive rate of PRV Ge antibody in pig serum in the fourth quarter of each year was 43.00%, which was statistically significant compared with other quarters ($P < 0.05$); There was no significant difference in the positive rate of PRV GB antibody between the four quarters ($P > 0.05$). **Conclusion** In Chongqing, some large-scale pig farms face tremendous pressure of pseudorabies virus infection, and relevant departments need to strengthen control and purification.

【Key words】 Pseudorabies virus; enzyme linked immunosorbent assay; seroepidemiology; PRV-gB; PRV-gE

* **【基金项目】** 重庆市科技计划项目(No. cstc2020jxjl-jbky0001)。

** **【通讯作者】** 刘晏齐, E-mail: 2044128@qq.com

【作者简介】 罗晓玲(1990-), 女, 四川广安人, 本科, 助理研究员, 研究方向: 实验动物与动物医学。E-mail: nuanyang30@sina.com

猪伪狂犬病是由伪狂犬病病毒(pseudorabies virus, PRV)感染引起的传染病,又称猪疱疹病毒 I 型,属于急性的疱疹病毒感染^[1]。在全球范围内,该疾病的得病率相对较高,目前已有超过 50 个国家有该类疾病发生^[2]。有数据显示,从 2011 年以来,猪伪狂犬病在国内的发病率逐年升高,危害极大^[3]。一般的普通疫苗对于该类疾病不能提供全面保护,药物治疗效果不佳,使养殖户蒙受经济损失^[4]。为进一步了解近年来重庆市活猪 PRV 野生病毒感染情况,本次通过检测重庆市部分农村地区规模化养猪场猪血清 PRV-gE、PRV-gB 抗体^[5],了解养殖场猪 PRV 野生毒感染情况,为该病毒病的预防和净化措施的制定提供参考。

材料与方 法

1 材 料

DNA marker 购于上海莱枫生物科技有限公司; LA Taq DNA polymerase, DNTP, TaKaRa 2 × GC Buffer, Genomic DNA Mini Preparation Kit with Spin Column 购于宝生物工程(中国)有限公司; PRV-gE 和 PRV-gB 抗体检测试剂盒购于北京爱德士生物科技有限公司。

2 方 法

2.1 调查点及调查动物选择 选择重庆市部分地区的 32 家大型养猪场进行调查,养猪场主要集中在重庆市的忠县、云阳县、奉节县、城口县、丰都县、酉阳土家族苗族自治县、巫山县、巫溪县等农村地区,所有养猪场均具备规模化养猪能力,有哺乳仔猪(0~30 日龄)、保育仔猪(30~70 日龄)、生长育肥猪(70~180 日龄)、后备猪(180 日龄)。所有母猪均是能繁母猪,公猪均成年。两年采集的样本总计 3 640 份。

2.2 标本采集与处理 每头猪采耳静脉全血 1 ml,分离血清备检。

2.3 抗体检测 猪血清 PRV-gE、gB 抗体检测采用 ELISA 方法,按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1 猪血清 PRV-gE、gB 抗体阳性率

2019-2020 年在重庆市 32 家大型养猪场共采集猪血清 3 640 份,ELISA 检测 PRV-gE 抗体阳性率为 37.40% (1362/3 640), PRV-gB 抗体阳性率为 93.20% (848/3 640)。

2 不同年份养殖场猪 PRV-gE 抗体阳性率比较

ELISA 检测 2019 年采集的猪血清 PRV-gE 抗体

阳性率为 40.22%,2020 年为 34.60%,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。为了保证结果的可靠性,连续两年在相同的大型养猪场采集相同数量的标本,基线资料差异无统计学意义(均 $P > 0.05$) (表 1)。

表 1 2019-2020 年重庆市 32 个大型养猪场猪血清 PRV-gE 抗体检测情况

Table 1 Analysis of the overall positive rate of samples collected from 2019 to 2020

年份 Years	猪场数 Numbers of piggery	阳性猪 场数 Positive piggery	猪场 阳性率 Piggery positive rate	血清 样品数 Samples	阳性 血清数(份) Positive samples numbers	血清 阳性率(%) Positive rates
2019	32	16	50.00	1820	732	40.22
2020	32	16	50.00	1820	630	34.60
χ^2	1.000	1.000	1.000	1.000	12.21	2.30
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

3 不同地区养殖场猪 PRV-gE、gB 抗体阳性率比较

表 2 显示,忠县、巫溪县猪血清 PRV-gE 抗体阳性率均在 50.00% 以上,与云阳县、奉节县、城口县、丰都县、酉阳土家族苗族自治县、巫山县养殖场猪血清 PRV-gE 抗体阳性率相比差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。酉阳土家族苗族自治县养殖场猪血清 PRV-gB 阳性率较低,与其它地区养殖场猪 PRV-gB 抗体阳性率相比差异具有统计学意义($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 不同地区养殖场猪 PRV 抗体阳性率比较

Table 2 Analysis of positive rate in pig farms in different regions

地区 Region	PRV-gE 抗体 Positive rate of Ge-antibody		PRV-gB 抗体 Positive rate of Gb-antibody	
	阳性数/检测数 Number of Positive/ Detected	阳性率 (%) Positive Rate	阳性数/检测数 Number of positive/ Detected	阳性率 (%) Positive Rate
云阳县	308/728	42.30	178/728	97.80
忠县	190/364	52.20	344/364	94.50
奉节县	76/364	21.00	336/364	92.30
城口县	128/364	35.20	356/364	97.80
丰都县	72/364	19.70	348/364	95.60
酉阳土家族 苗族自治县	48 /364	13.20	272/364	74.70
巫山县	172/364	47.30	340/364	93.40
巫溪县	368/728	50.50	684/728	94.00
合计 Total	1361/3 640	37.40	848/3 640	93.20

4 不同猪群 PRV-gE、gB 抗体阳性率比较

表 3 显示,母猪 PRV-gE 抗体阳性率与公猪比较差异具有统计学意义($P < 0.05$);哺乳仔猪 PRV-gE 抗体阳性率与保育仔猪比较差异具有统计学意义($P < 0.05$);育肥猪 PRV-gE 抗体阳性率与后备猪比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。PRV-gB 抗体阳性率公猪与母猪比较差异无统计学意义($P > 0.05$),哺

乳仔猪与保育仔猪比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),后备猪与育肥猪比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

表3 不同类型猪群 PRV 抗体阳性率比较
Table 3 Analysis of the positive rate of different types of pigs

猪群 Swinery	PRV-gE 抗体 Positive rate of Ge-antibody		PRV-gB 抗体 Positive rate of Gb-antibody	
	阳性数/检测数 Number of Positive/ Detected	阳性率 (%) Positive Rate	阳性数/检测数 Number of positive/ Detected	阳性率 (%) Positive Rate
公猪	236/660	35.80	648/660	98.20
母猪	368/832	44.20	413/432	95.70
χ^2		1.31		0.53
P		<0.05		>0.05
哺乳仔猪	208/620	33.50	604/620	97.40
保育仔猪	161/548	29.20	480/548	87.60
χ^2		1.74		1.69
P		<0.05		<0.05
育肥猪	264/540	48.90	446/540	82.50
后备猪	144/440	32.70	412/440	93.60
χ^2		2.13		2.27
P		<0.05		<0.05

5 不同季度猪 PRV-gE、gB 抗体阳性率比较

表4显示,每年的第四季度猪血清 PRV-gE 抗体阳性率为 43.00%,与其它季度相比差异具有统计学意义($P < 0.05$);PRV-gB 抗体阳性率 4 个季度相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表4 不同季度养殖场猪 PRV 抗体阳性率比较
Table 4 Analysis of positive rate in pig farms in different seasons

季度 Season	PRV-gE 抗体 Positive rate of Ge-antibody		PRV-gB 抗体 Positive rate of Gb-antibody	
	阳性数/检测数 Number of Positive/ Detected	阳性率 (%) Positive Rate	阳性数/检测数 Number of positive/ Detected	阳性率 (%) Positive Rate
第一季度	90/240	37.30	223/240	92.90
第二季度	76/198	38.50	185/198	93.20
第三季度	70/230	30.50	212/230	92.10
第四季度	104/241	43.00	228/241	94.40
χ^2		2.17		0.890
P		<0.05		>0.05

讨论

猪伪狂犬病容易导致母猪生产障碍,猪仔不良体征,以及新生猪仔高死亡率,在养猪业危害极大。猪伪狂犬病主要通过呼吸道以及消化道传播,在狭小的笼舍内更容易传染。目前,疫苗免疫是预防猪伪狂犬病的最有效的方法,常用的疫苗有基因缺失疫苗等。PRV 是一种疱疹病毒科 α -疱疹病毒亚科猪疱疹病毒 I 型(Suid Herpesvirus I, SHV-I),此类病毒囊膜蛋白多

为糖蛋白,针对 α -疱疹病毒而言,现已鉴定的糖蛋白有 gB、gC、gD、gE 等近 12 种,通过对 PRV 糖蛋白功能、结构进行研究,发现 gB 是其主要糖蛋白,是 PRV 免疫抗体评价中的首先蛋白,但在本研究中,调查的大型养猪场多数未使用 PRV-gE 疫苗,因此,本研究以检测 PRV-gE 抗体为主,对比 PRV-gB 抗体检测结果,能更清晰、客观的判断生猪是否含有 PRV 野生毒株抗体,抗体阳性表示生猪存在 PRV 野生病毒感染或曾经有外源性注射疫苗。

本次调查 2019-2020 年重庆 32 家大型养猪场,共采集猪血清 3 640 份,ELISA 检测 PRV-gE 阳性率 2019 年为 40.22%,2020 年为 34.60%,两年合计阳性率为 37.40%。PRV-gE 抗体检测显示,重庆地区猪野生病毒感染较常见。PRV-gE 抗体总阳性率接近 40.00%,高于全国其它省份的野生病毒感染水平^[6-7]。由此可以看出,重庆地区该疾病的感染情况十分严重。同时,不同地区检出率差异与疫苗类型、免疫规划、育种密度和生物安全有关。忠县、巫溪县位于重庆市的交通要道,物流频繁、人员密集,可能给猪伪狂犬病毒的传播提供了便利,本次检测上述两县猪 PRV-gE 抗体阳性率在 50.00%以上,显著高于重庆市的其它地区($P < 0.05$)。需要特别关注的是巫山县,虽然 PRV-gE 抗体阳性率不到 50.00%,但也值得关注。PRV-gB 抗体阳性率各地区普遍偏高,地区间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。酉阳土家族苗族自治县位于偏僻的山区,交通不便,与外界的接触较少,本次检测 PRV-gB 抗体阳性率较低,由此推测物流和人员往来频繁是伪狂犬病病毒传播的主要方式。

本次调查母猪的 PRV-gE 抗体阳性率高于母猪,与段群棚等^[8]在广州的调查结果相符。哺乳仔猪 PRV-gE 抗体总体阳性率高于保育仔猪,说明母猪哺乳也可能导致 PRV 的传播。在生猪养殖过程中,随着猪日龄的不断增长,育肥猪的病毒感染率呈逐渐增高趋势,这可能是由于育肥猪所处生长环境的生物安全措施不到位所致。由此表明疫苗免疫是预防和净化中的一个重要环节和措施。公猪、母猪和后备猪的感染率也相对较高,均超过 30.00%,这些都会导致 PRV 野生毒株的流行性传播。另外,2019-2020 年连续两年 PRV-gE 抗体阳性率始终高于 30.00%,而每年的第四季度甚至超 40.00%,表明虽然在全年中猪伪狂犬病都有可能发生,但是具有明显的季节差异($P < 0.05$),与文献^[9]报道的结果相一致。张树金等^[10]的研究显示,气候对于猪伪狂犬病的感染和发病也有一定的影响,这其中主要是因为低温(如冬季^[10])能够有助于病毒存活,养猪场在通风和卫生等方面处理不够好,

(下转 450 页)

碳青霉烯类均携带了 *plcH*、*aprA*、*algD* 编码基因,这与朱健铭等^[6] 研究结果相近。而 *exoU*、*exoS*、*exoT*、*exoY* 检出率与朱健铭,方雪瑶和鞠晓红等研究有一定差异^[6-7,16],这可能不同地域有关。

【参考文献】

[1] Luciana CC,Stephanie GC,Natacha M, et al. Mechanisms of carbapenem resistance in endemic *Pseudomonas aeruginosa* isolates after an SPM-1 metallo-β-lactamase producing strain subsided in an intensive care unit of a teaching hospital in Brazil[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016, 111(9): 551-558.

[2] 李小菊. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染危险因素、耐药分析及分子流行病学研究[D]. 南昌大学, 2019.

[3] Rangel SM, Logan LK, Hauser AR. The ADP-ribosyltransferase domain of the effector protein *exoS* inhibits phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* during pneumonia[J]. MBio, 2014, 5(3): 1014-1080.

[4] 张若文. 烧伤病房耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌耐药机制及分子流行病学研究[D]. 吉林大学, 2012.

[5] 杨春. 耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌科细菌耐药机制研究[D]. 吉林大学, 2016.

[6] 朱健铭, 翁幸璧, 姜如金, 等. 铜绿假单胞菌临床分离株毒力基因分子流行病学研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(19): 2315-2320.

[7] 方雪瑶, 胡龙华, 杭亚平, 等. 铜绿假单胞菌Ⅲ型分泌系统相关毒力基因在抗菌药物中表达差异的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(12): 1390-1393.

[8] Thi MTT, Wibowo D, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8671.

[9] Firoz A, Haris M, Hussain K, et al. Can targeting iron help in combating chronic pseudomonas infection? a systematic review [J]. Cureus, 2021, 13(3): e13716.

[10] Yusuf E, Van Herendael B, Verbrugge W, et al. Emergence of antimicrobial resistance to *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit: association with the duration of antibiotic exposure and mode of administration [J]. Ann Intensive Care, 2017, 7(1): 72.

[11] Mensa J, Barberan J, Soriano A, et al. Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy [J]. Rev Esp Quimioter, 2018, 31(1): 78-100.

[12] Abdallah M, Badawi M, Amirah MF, et al. Impact of carbapenem restriction on the antimicrobial susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in the ICU [J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(11): 3187-3190.

[13] Liu Q, Li X, Li W, et al. Influence of carbapenem resistance on mortality of patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection: a meta-analysis [J]. Sci Rep, 2015(5): 11715.

[14] Rossi Goncalves I, Dantas RCC, Ferreira ML, et al. Carbapenem-resistant, *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation [J]. Braz J Microbiol, 2017, 48(2): 211-217.

[15] Hong DJ, Bae IK, Jang IH, et al. Epidemiology and characteristics of metallo β-lactamase-producing, *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Infect Chemother, 2015, 47(2): 81-97.

[16] 鞠晓红, 李瑶, 王月华, 等. 铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS*、*exoU* 临床分布及耐药性研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 48-51.

【收稿日期】 2022-01-19 【修回日期】 2022-03-16

(上接 445 页)

使得空气中有害病毒大量集聚与传播^[11]。检测猪 PRV-gB 抗体阳性率为 82.50%,但是这并不代表猪对于此类病毒的抵抗率高。

2012 年我国颁布的动物疾病预防相关规划中指出,截止到 2022 年,全部养猪场都需要完成伪狂犬病的净化,净化率要达到国家标准^[12-13]。重庆市猪伪狂犬病流行严重,如何进行猪伪狂犬病的预防和净化成为一项重点工作^[14]。一般情况下,免疫是进行疾病预防和净化的有效手段和措施^[15],因此需要积极确立科学合理的免疫方案和政策,及时进行免疫检测和验证,积极选择合理的生物安全措施进行疾病防控,做好日常清洁和消毒,注重养猪场的日常管理,严格把关,争取到 2022 年实现国家的净化要求。

【参考文献】

[1] 陈驰,曹明珠,吕林,等. 2018-2019 年苏豫赣三省猪伪狂犬病病毒野毒抗体流行病学调查[J]. 畜牧与兽医, 2020, 52(1): 122-124.

[2] 孙颖,陈焕春,吴斌,等. 2018 年伪狂犬病病毒的流行特征及其遗传变异分析[J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(3): 584-593.

[3] 朱小甫,吴旭锦. 2013 年-2017 年陕西省猪伪狂犬病病毒分子流行病学调查与 gE 基因序列变异分析[J]. 动物医学进展, 2019, 40(2): 22-27.

[4] 宁慧波,李聪,张婷婷,等. 2016-2018 年我国规模化猪场伪狂犬病病毒感染的血清学及传播风险因素调查[J]. 畜牧与兽医, 2020, 416

(3): 103-112.

[5] 高建鹏,蒲敬伟,武磊,等. 北疆某规模化猪场伪狂犬病野毒感染的净化[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(12): 47-49.

[6] 杨源,王军,张云丹,等. 2017-2018 年贵州省 9 个规模化养猪场主要疾病免疫效果评估[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, 26(8): 94-97.

[7] 高许雷,郑辉,邹敏,等. 2012~2017 年我国部分地区规模化猪场 PRV 野毒流行病学调查[J]. 中国动物传染病学报, 2020, 133(1): 91-94.

[8] 段群棚,陈忠伟,何颖,等. 2014-2018 年广西 6 种猪主要病毒性繁殖障碍疫病流行病学调查[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(2): 526-535.

[9] 蔡桂全,陶建平. 武汉地区猪场中 5 种病毒性疾病的病原检测与分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020, 1(7): 107-110.

[10] 张树金,曾昊,于江,等. 2015-2017 年山东地区 CSFV, PRRSV 和 PRV 的流行病学调查与分析[J]. 中国兽医学报, 2019, 31(7): 1064-1069.

[11] 李海琴,康昭风,谭美芳,等. 江西省猪伪狂犬病原流行病学调查及其 gB、gE 及 TK 基因遗传变异分析[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(2): 132-139.

[12] 胡玲玲,汤德元,曾智勇,等. 贵州省猪伪狂犬病的分子流行病学调查及变异分析[J]. 中国兽医学报, 2019, 39(8): 1448-1452.

[13] 翁珊珊,张文宏. 人感染伪狂犬病病毒(猪疱疹病毒 1 型)研究进展[J]. 传染病信息, 2019, 32(1): 26-29.

[14] 肖丽,丛锋,刘向楠,等. 猪伪狂犬病病毒和猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体同步检测的液相芯片技术[J]. 动物医学进展, 2018, 39(4): 36-39.

[15] 华利忠,刘剑锋,冯志新,等. 猪伪狂犬病病毒新流行变异毒株的研究进展[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 476-480.

【收稿日期】 2021-11-17 【修回日期】 2022-02-16