|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 11.220 |
| CCS | B 41 |

|  |
| --- |
| 43 |

湖南省地方标准

DB43/TXXXX—XXXX

规模猪场猪流行性腹泻免疫防控技术规程

Technical regulations for immunization prevention and control of porcine epidemic diarrhea in pig farms

2024-XX-XX发布

2024-XX-XX实施

湖南省市场监督管理局  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由湖南省农业农村厅提出。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：湖南省动物疫病预防控制中心、湖南农业大学、湖南中净生物技术有限公司。

本文件主要起草人：胡巧云、范仲鑫、郭永祥、唐小明、葛猛、李润成、彭志、谢怡灵、张坤、王卫国、鲁杏华、林源、喻正军。

规模猪场猪流行性腹泻免疫防控技术规程

* 1. 范围

本文件规定了规模猪场猪流行性腹泻的诊断、疫苗免疫和综合防控措施。

本文件适用于规模猪场猪流行性腹泻的免疫、防控。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 13078 饲料卫生标准

GB/T 17824.2 规模猪场生产技术规程

GB/T 17824.3 规模猪场环境参数及环境管理

NY/T 544 猪流行性腹泻诊断技术

[农业部农医发〔2017〕25号 病死及病害动物无害化处理技术规范](http://www.foodmate.net/law/qita/191712.html)

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

猪流行性腹泻 *porcine epidermic diarrhea*（PED）

由猪流行性腹泻病毒(porcine epidermic diarrhea virus，PEDV)引起猪的一种以腹泻、呕吐、脱水、食欲下降为特征的急性、高度接触性肠道传染病。

猪流行性腹泻病毒 *porcine epidemic diarrhea virus*（PEDV）

PEDV属冠状病毒科冠状病毒属，是一种具有囊膜的单股正链RNA病毒。

* 1. 诊断
     1. 临床诊断
        1. 临床症状

仔猪水样腹泻，或伴随于采食或吃奶后的呕吐，症状的轻重随年龄的大小而有差异，年龄越小，症状越重。1 周龄内新生仔猪发生腹泻后3d～4d，呈现严重脱水而死亡，死亡率可达 50％～100％；母猪常呈精神萎顿、厌食，持续性腹泻约1周，逐渐恢复正常。育肥猪感染可出现腹泻，一周后康复，死亡率为1%～3%。 成年猪症状较轻，个别表现出呕吐症状，严重的水样腹泻3d～4d后可自愈。

* + - 1. 病理变化

解剖后，肉眼可见小肠膨胀，肠内充满大量白色或黄绿色液体，肠壁菲薄且缺乏弹性，以致肠管扩展呈半透明状，肠系膜血管扩张，淋巴结肿胀。

组织学损伤包括急性肠炎、弥漫性肠炎、萎缩性肠炎，浅表皮上皮细胞空化和结肠、盲肠皮下水肿。空肠绒毛上皮细胞出现空泡、脱落并坏死，随着感染程度而肠绒毛萎缩、变短逐渐严重。

* + 1. 实验室诊断
       1. 血清学检查

选择直接免疫荧光法、双抗体夹心酶联免疫吸附试验、血清中和试验、间接酶联免疫吸附试验等方法，按照NY/T 554执行。

* + - 1. 分子生物学诊断
         1. 病毒核酸的RT-PCR诊断

按照 NY/T 554 执行。

* + - * 1. 病毒核酸的实时荧光定量RT-PCR诊断

样本的制备、核酸提取等按照 NY/T 554 执行，扩增采用引物探针法：

1. PCR引物上游引物序列：F：5’-GCTTGCTTCGGACCCAGAGG -3’；
2. PCR引物下游引物序列：R: 5’-ACGAACAGCCACATTACCACCAA -3’；
3. 探针序列：5’-ACGAACAGCCACATTACCACCAA -3’ 分别标记FAM和BHQ1基团。

体系组分配置：2×One Step RT-PCR buffer 12.5 uL，PEDV 上游引物 0.4 uL，PEDV 下游引物 0.4 uL，PEDV探针 0.3 uL，提取的核酸 2.5uL，无DNAase和 RNAase 的水 8.9 uL（这里的引物探针建议要标注出使用浓度），总反应体积25 uL。

反应条件，循环参数设置如下：

1. 50 ℃条件下反转录 15 min；
2. 95 ℃条件下预变性 2 min；
3. 95 ℃条件下变性 15 s；
4. 60 ℃条件下扩增 30 s，40个循环；
5. 60 ℃时设置荧光信号的采集。

结果判断如下：

1. 若被检样品 FAM通道 Ct值≤36.0，且出现典型的“S”型扩增曲线，判定为 PEDV核酸阳性；
2. 若被检样品FAM通道无 Ct值，且无典型的扩增曲线，判为 PEDV核酸阴性；
3. 若被检样品 FAM通道 Ct值＞36.0，且出现典型“S”型扩增曲线，建议对该样品进行重复试验，重复试验结果 Ct值≤40.0且出现典型扩增曲线者判为 PEDV核酸阳性，否则判为 PEDV核酸阴性。
   1. 疫苗免疫

5.1 疫苗选择

选择与本地区或本场流行毒株同源性高的疫苗毒株，主要包括灭活疫苗和活疫苗。

5.2 免疫程序

5.2.1 常规免疫

**免疫程序推荐如下：**

1. 后备母猪：配种前免疫2次，第一针选用活疫苗，间隔（3～4）周，再接种一次灭活苗，然后产前（5~6）周接种一次活疫苗，（3~4）周接种一次灭活疫苗；
2. 经产母猪：每年在9、10月份各普免1次活疫苗。另外，产前（5～6）周和（3～4）周各免疫一次，第一针选用活疫苗，第二针选择灭活苗；
3. 种公猪：普免活疫苗，每半年免疫1次。

5.2.2 紧急免疫

猪场内发生PED病例时，对种猪群使用活疫苗进行全群免疫，15d后用灭活疫苗加强免疫1次。

5.3 免疫评估

哺乳母猪：检测初乳汁中的IgA抗体，根据检测结果，群体合格率≥70%为免疫合格群，群体合格率＜70%为免疫不合格群。

普免群体：免疫后21 d～28 d，检测血清中的IgG抗体，根据检测结果，群体合格率≥70%为免疫合格群，群体合格率＜70%为免疫不合格群。

* 1. 综合防控措施

6.1饲养管理

6.1.1 猪场环境质量控制参照GB/T 17824.3的规定执行。

6.1.2 加强哺乳仔猪和妊娠母猪的饲养管理，具体按照GB/T 17824.2要求执行。

6.1.3 饲料卫生应符合 GB 13078 的要求。

6.1.4 加强栏舍卫生管理，确保料槽清洁干燥、无霉变饲料。

6.1.5 做好猪群管理，及时淘汰无价值病弱猪，降低猪群的易感性。

6.1.6 做好猪群周转的严格全进全出工作，减少交叉，及时清除病原。

6.1.7 确保栏舍温度，干燥、通风。

6.2 引种管理

6.2.1 引种前应做好调查与监测，不到疫区引种。

6.2.2 引种后应做好隔离，隔离期间加强巡栏观察，及时淘汰眼观健康度差的后备猪。

6.2.2 加强隔离期后备猪的免疫工作，入群前，逐头采集血液和肛门拭子，检测血清PEDV IgG抗体和肛门拭子中的PEDV，抗体水平不合格或肛门拭子PEDV阳性者不能入群。

6.3监测

6.3.1 临床监测

平时加强巡栏观察，发现疑似症状病例，立即采集口腔和肛门拭子送实验室进行病原检测。

6.3.2 血清学监测

对母猪群进行季度性采血/初乳和冬季来临前采血/初乳检测PEDV抗体情况，当血清IgG抗体或初乳IgA抗体值偏低，群体合格率＜70%时，应对相应群体及时加强免疫。

未免疫的抗原抗体阴性猪群，如出现抗体阳性，表示猪群曾经或正在感染病原，应立即根据情况将阳性个体进行隔离观察或及时淘汰。

6.3.3 病原学监测

根据PEDV的流行病学特点，在高发的冬春季节，对进入猪场的人、车和物进行PEDV的实时荧光RT-PCR检测，阳性人、车、物不得进入。

平时加强临床观察，发现疑似症状病例，及时采集病猪粪便进行检测，如监测为阳性，应立即隔离辅助治疗或淘汰，病死猪按照农业部农医发〔2017〕25号文的要求或委托第三方专业公司进行无害化处理。

疫情经扑灭后，应对相应猪舍彻底洗消，再全面采集栏舍、粪沟、工具以及人员休息区等所有环境样本进行PEDV的实时荧光RT-PCR检测。检测均为阴性后，在该区域饲养PEDV抗原抗体阴性猪5头，于第7 d、14 d和30 d采集肛门拭子按照 4.2.2.4进行监测，结果均为PEDV阴性，方可在该猪舍恢复饲养。

6.4卫生消毒

6.4.1 卫生

每天应进行卫生打扫工作，保持猪舍内外环境的清洁，减少病原滋生，提升消毒效果。

6.4.2预防性消毒

夏秋季，每7 d用戊二醛或氯制剂对猪舍外环境进行一次大消毒（场内道路可用1%的烧碱或生石灰消毒），对猪舍内环境，用碘制剂或过硫酸氢钾进行一次带猪消毒。冬春季，选择天气晴朗的时刻，每（7-10） d进行一次猪舍内外消毒，消毒方法同夏秋季。

妊娠母猪进入产房前，做好体表清洗，然后用0.1％ 高锰酸钾溶液或1:200的过硫酸氢钾溶液消毒，重点为腹部、臀部、尾部，尤其是乳房、乳头。

空栏舍进群前，于彻底清洗后，用戊二醛全面消毒1次，间隔(1-2)h以上再消毒一次。

6.4.3 临时消毒

发生PEDV疫情或PEDV污染时，随时对污染的场地、工具或物资等进行消毒。场地用戊二醛进行喷洒消毒，道路及猪舍外围环境可用1%的烧碱或生石灰消毒，工具和物资可用戊二醛、氯制剂或过硫酸氢钾浸泡消毒，不能浸泡的，可在60℃~70℃环境烘干60分钟以上，注射用工具可煮沸30分钟消毒。

6.4.4 终末消毒

若出现疫情，在疫情扑灭后，进行终末消毒。

发病猪舍空栏后先用2% 烧碱浸泡，再彻底清水冲洗，然后再用戊二醛全面消毒两次，两次之间间隔（1-2）h以上。最后用氯制剂进行熏蒸消毒2 h，待熏蒸烟雾完全散去后，采环境样检测PEDV阴性后视为合格。

对污染的场地、工具或物资等进行消毒。场地用戊二醛或过硫酸氢钾进行喷洒消毒。对道路及猪舍外围环境，粪沟等，清洁后可用1%的烧碱或生石灰消毒。工具、衣服和物资等可用戊二醛、氯制剂或过硫酸氢钾浸泡消毒（衣服仅用过硫酸氢钾浸泡），不能浸泡的，可在60℃~70℃环境烘干60分钟以上；注射用工具可煮沸30分钟消毒。

6.5 运输车辆、人员、物资入场管理

凡进入猪场的车辆、人员、物资应做好清洗消毒工作；有条件的猪场，应做到专场专车，分开使用；与屠宰场和收猪点接触的车辆，从事种猪运输车或内部转群的车辆应严格分类分开管理。

所有物资入场前，可用1：200过硫酸氢钾或氯制剂浸泡消毒，不能浸泡的物资用60℃烘干消毒60分钟以上。人员入场，应进行彻底清洗，场外的鞋和衣物未经严格消毒不得带入场内。

6.6 粪污处理

污染饲料和粪便等宜采用堆积发酵或厌氧方式进行无害化处理，污水宜采用分级沉淀池和厌方式进行无害化处理，严格按照NY/T 1168的规定进行。粪污处理设备应专场专用，避免场间交叉感染的风险。

病死猪尸体应按照农业部农医发〔2017〕25号文的要求或委托第三方专业公司进行无害化处理。与病死猪接触的人员和设备均需要消毒。

6.7 针对动物机体的辅助治疗

6.7.1 隔离消毒

发生疫情时应对病猪立即隔离, 加强饲养管理,清除污染物和粪尿, 防止病源传播。

6.7.2 哺乳仔猪的辅助治疗

注重补水、补盐和抗感染。对于有治疗价值的哺乳仔猪，可灌服电解多维和抗生素,控制继发感染, 同时防止因持续腹泻造成电解质紊乱和脱水，14日龄以上的哺乳仔猪可提前断奶，改喂教槽料。

6.7.3 保育、育肥及母猪的辅助治疗

可在饮水添加或饲料中拌入电解多维和抗生素，控制继发感染的同时防止因持续腹泻造成电解质

紊乱和脱水；为减轻症状,减少死亡, 缩短病程，可减少喂料量（2-3）d或停食1d；供给清洁充足的饮水和易消化的饲料，加强护理促进猪群恢复健康。

