



非洲猪瘟 知识手册

中国兽医协会
勃林格殷格翰（中国）动物保健

编委：

柴 伟 东	勃林格殷格翰
苏 良 科	勃林格殷格翰
杨 秀 进	勃林格殷格翰
汪 运 舟	勃林格殷格翰
唐 闫 利	勃林格殷格翰
陈 锴	勃林格殷格翰
王 红 岩	勃林格殷格翰
刘 羽 茜	勃林格殷格翰

审稿：

(审稿按照姓氏笔顺排名)

邓 丽 霞	中国兽医药学会秘书处
刘 秀 丽	中国兽医药学会秘书处
杨 龙 波	中国兽医药学会秘书处
黄 律	勃 林 格 殷 格 翰

主审：

辛 盛 鹏	中国兽医药学会秘书处
-------	------------

中国兽医药学会 BI 猪业专业服务团队出品
2018 年 9 月 第一版



前言

非洲猪瘟是由病毒引起的急性、热性、高度接触性传染病，发病率高，死亡率可达 100%。世界动物卫生组织（OIE）将其列为必须报告的动物疫病，我国将其列为一类动物疫病。非洲猪瘟自 1921 年首次发现于非洲的肯尼亚地区以来，最初的几十年里，一直被限制在非洲，直到 1957 年第一次在非洲大陆之外的葡萄牙发现。经过一段沉默期后，它于 1960 年在欧洲的一些国家出现并逐渐传播，2007 年，格鲁吉亚发生疫情，2007 年底进入了俄罗斯，近年来东欧一些国家不断发生疫情，对我国直接构成威胁。

2018 年 8 月 3 日，农业农村部公布了我国辽宁省沈阳市一养猪户发生非洲猪瘟疫情。随后，在河南、江苏、安徽、浙江、黑龙江、内蒙古、吉林等省区也陆续出现疫情，疫情形势十分严峻。当前，非洲猪瘟传入我国并在多地发生，当务之急是采取切实可行的措施做好应急处置，科学有序地开展流行病学调查，力争拔点根除，不让疫情在我国定殖。但要防控好非洲猪瘟，实现根除的目标，最基础的也是最重要的工作是在各级政府的坚强领导下，充分依靠广大兽医工作者和养殖者，使他们全面认识非洲猪瘟，了解非洲猪瘟的病原特征、流行病学特点、发病规律、临床症状和病理变化，特别是要掌握防控措施和如何建立生物安全屏障，这样才能有效地防控疫病，才能尽快地根除疫病，才能打赢非洲猪瘟歼灭战。

中国兽医协会作为全国兽医行业的社会组织，按照主管部门的统一部署，主动作为，积极采取行动投身于防控非洲猪瘟的这场战役之中，为了方便广大兽医工作者、养殖者和协会会员能够尽早学习、及时查阅非洲猪瘟知识，我会迅速与常务理事单位勃林格殷格翰动物保健公司达成一致，与 BI 猪业专业服务团队共同编写了《非洲猪瘟知识手册》。该手册主要包括非洲猪瘟病原学、流行病学、致病机理、免疫机制、诊断检测等相关内容，并重点介绍了生物安全及防控措施，介绍了欧盟、西班牙和巴西在非洲猪瘟防控和根除方面的做法和成功经验。附录中还列出了我国非洲猪瘟的应急预案、防治技术规范以及病死动物及其产品无害化处理技术规范等，供广大兽医技术人员、养殖者和协会会员参阅使用。

由于时间仓促和水平有限，加之以前我们对非洲猪瘟的研究甚少，缺点和错误在所难免，敬请读者批评指正。

中国兽医协会

2018 年 9 月



前言

Dear Swine Industry Partners,

Since you have picked up this handbook you understand that its availability is quite timely as we have recently experienced for the first time ever African Swine Fever (ASF) outbreaks in China. As there is no vaccine available to prevent ASF an effective biosecurity protocol is the only way to reduce the transmission and spread of ASF. With that in mind, the Boehringer Ingelheim China Swine Professional Veterinary Services team has compiled a comprehensive handbook on how best to minimize the introduction of ASF to the farm. These are proven practices that will serve the industry well in regards to preventing the introduction of and the risk of spread of ASF.

Our Boehringer Ingelheim Animal Health swine team believes in and lives daily our brand of “Prevention Works”. We bring value to our Customers through our people, their expertise, our products and the tools we

have to support them. As our ambition is to be an industry partner to improve pig health and thus production we believe that applying a systematic approach of preventing disease, in this case implementing bio-security measures, is the best approach to prevent ASF.

Now is the time to understand and assess your risks and then build and execute a biosecurity plan that works for your farm. I encourage you to implement these strategies into your bio security program as soon as possible. Please be assured that the Boehringer Ingeheim Animal Health Swine team will be there to help along the way and this handbook is a continuation of our dedication to the well-being of pigs and to the swine industry in China.

Sincerely,
Christopher Beard
Head of China Swine Segment



亲爱的合作伙伴

当您拿起这本手册的时候，想必能够感受到我们工作的高效性，因为中国刚刚才发生第一次非洲猪瘟疫情。目前全世界还没有有效的非洲猪瘟疫苗，因此，有效的生物安全措施是唯一能够减少非洲猪瘟传播和扩散的工具。正因为深知此理，勃林格殷格翰中国猪业务专业兽医服务团队，查阅就近发表的大部分非洲猪瘟著作和文献，整理编写出这一本知识手册，旨在帮助猪场了解非洲猪瘟，有效的避免非洲猪瘟进入猪场。这些内容都是被实践证明或者试验验证的，会帮助我们的行业预防非洲猪瘟和减少非洲猪瘟的扩散。

我们勃林格殷格翰动物保健猪业务团队相信并时刻坚守“防控有道”的理念。有赖于我们的员工和他们的专业经验，产品及工具，我们一直为客户创造价值。我们雄心壮志是要成为你们的行业伙伴，提高猪群健康和生产成绩，我们相信这需要一整套系统性的疾病防控措施。在预防非洲猪瘟方面，实施有效的生物安全措施至关重要。

此刻，您需要了解您的生物安全风险，建立并实施一整套猪场生物安全计划。我希望你们能够尽快实施有效的生物安全举措。请相信，勃林格殷格翰猪业务团队将与您一路相伴，这次手册的编写正是我们关切猪群健康，关切中国养猪业的真实写照。

致敬
柯倍德
中国猪业务负责人

目录

目录	07
I . 概述	13
一、非洲猪瘟定义	14
二、非洲猪瘟的流行史	14
三、非洲猪瘟的危害	17
II . 病原学	19
一、命名和分类	20
- 病毒命名	20
- 流行毒株	20
二、形态结构	22
- 病毒的形态与大小	22
- 病毒的结构	22
三、理化特性和生物学特性	24
四、基因组结构与功能	27
III . 流行病学	29
一、宿主	30
- 野猪	30
- 家猪	33
- 软蜱	34
二、传播循环	36



- 丛林传播循环	37
- 蜚 - 猪循环	37
- 家猪循环	38
- 野猪 - 栖息地循环	43
三、易感动物	45
四、病毒的感染动态	45

IV . 致病机理

一、病毒感染规律和细胞嗜性	48
二、病毒造成的病理损伤	50
- 出血性病变	50
- 脾脏充血性肿大	51
- 肺脏水肿	52
- 白细胞减少症	52
三、病毒控制细胞凋亡	53

V . 免疫机制

一、先天性免疫	56
二、体液免疫	57
三、细胞免疫	59
四、交叉免疫	63

VI . 诊断检测

一、临床诊断	66
--------------	----

二、病原学诊断	70
- 病毒分离	70
- 荧光抗体检测 (FAT)	71
- 抗原 ELISA	71
三、血清学诊断	73
四、病理学诊断	73

VII . 疫苗

一、灭活疫苗	78
二、弱毒疫苗	78
三、基因缺失疫苗	79
四、亚单位疫苗	79
五、DNA 疫苗	80

VIII . 生物安全措施

一、提高场内所有人员防控非洲猪瘟 (ASF) 的生物安全意识	82
二、禁止从疫区引入新的后备种猪、精液、卵 细胞或胚胎等	84
三、所有进出猪场的车辆要严格遵守车辆的清 洗、消毒和干燥程序	85
四、禁止疫区物品入场，特别是生肉和肉制品	88
五、猪场实施封场措施，严格限制人员进出猪场	90

六、禁止使用与泔水相关的任何饲料和 / 或其原料，以及污染的水源来饲喂猪 92

七、禁止猪场之间猪只、人员和物品的共用... 94

八、如果猪场周边有野猪的存在，禁止靠近、猎杀和食用野猪.....95

九、制定场内消灭包括钝缘软蜱在内的有害生物的相关措施..... 96

十、按照国家规定进行无害化处理死亡猪只和粪污.....97

IX . 非洲猪瘟的防控99

一、欧盟非洲猪瘟防控策略100

二、西班牙非洲猪瘟根除策略.....101

三、巴西非洲猪瘟根除策略.....102

参考文献.....105

附录 1：非洲猪瘟疫情应急预案 145

附录 2：非洲猪瘟防治技术规范（试行） 157

附录 3：病死及病害动物无害化处理技术规范 172

I . 概述

II . 病原学

III . 流行病学

IV . 致病机理

V . 免疫机制

VI . 诊断检测

VII . 疫苗

VIII . 生物安全措施

IX . 非洲猪瘟的防控

参考文献

附录

第一章

概述



一、非洲猪瘟定义

非洲猪瘟 (ASF) 是由非洲猪瘟病毒 (ASFV) 引起的一种急性、烈性、高度接触性的传染病, 其发病率高, 死亡率可高达 100%, 世界动物卫生组织 (OIE) 将其列为必须报告动物疫病, 我国将其列为一类动物疫病。

二、非洲猪瘟的流行史

ASF 于 1921 年首次发现于非洲的肯尼亚地区。在最初的几十年里, ASF 一直被限制在非洲, 直到 1957 年第一次在非洲大陆之外的葡萄牙被发现, 导致超急性疾病和 100% 的死亡率。经过一段沉默期后, 它于 1960 年 (1960-1993; 1999 年) 在葡萄牙重新出现, 并在西班牙 (1960-1995), 法国 (1964 年), 意大利 (1967 年, 1969 年, 1993 年), 马耳他 (1978 年), 比利时 (1985 年) 和荷兰 (1986 年) 连续发现 (Arias M, 2002 #2938)。除意大利撒丁岛外, 上述欧洲国家均设法根除了 ASF。

2007 年, 格鲁吉亚: 2007 年, ASF 进入格鲁吉亚, 病原属于起源于非洲东南部的基因 II 型, 且很有可能是通过废弃食物作为泔水, 或当做垃圾处理被猪采食。该疫病在高加索地区迅速蔓延 (2007 年亚美尼亚和 2008 年阿塞拜疆)。通过与紧邻格鲁吉亚边境感染野猪的接触, ASF 在 2007 年 11 月份进入了俄罗斯联邦。

2007-2008 年, 俄罗斯南部扩散: 在疾病暴发的最初

几个月里, ASF 通过高加索山脉附近的野猪群扩散到俄罗斯联邦的南部地区。2008 年, 俄罗斯国内的家猪群被感染。

2009-2010, 俄罗斯第一个疾病流行区: 在 2009 到 2010 期间, ASF 停留在俄罗斯的南部地区, 并建立了第一个疾病流行区。在同一个时间, 在俄罗斯联邦的中部和北部地区的家猪中检测到 ASFV, 但是疾病在这些地区也得到控制。

2011, 俄罗斯第二个疾病流行区: 2011 年期间, ASFV 进一步扩散到了北部地区形成第二个疾病流行区, 给俄罗斯联邦的野猪和家猪群带来了很大影响。

2012-2013, ASF 在乌克兰和白俄罗斯出现: ASF 持续在俄罗斯联邦扩散, 越来越接近其它的邻国。2012 年 7 月, 乌克兰官方公布了第一起 ASF 感染家猪的案例, 紧接着白俄罗斯在 2013 年 6 月也公布了 ASF 的暴发。

2014 年, ASF 进入欧盟国家: 在 2014 年初, ASF 从俄罗斯联邦扩散到了欧盟国家, 特别是立陶宛和波兰。这两个国家的 ASF 都是发生在野猪, 而且都靠近白俄罗斯的边境。随后 ASFV 感染了拉脱维亚的野猪和家猪群, 第一个案例也是发生在白俄罗斯边境附近, 然后 ASF 扩散到了这个国家的北部和中部。同时, 立陶宛和波兰也报道了家猪群 ASF 的暴发。2014 年 9 月, 爱沙尼亚在靠近拉脱维亚的边界也发现了第一例 ASF, 数天后, 靠近俄罗斯联邦边界的爱沙尼亚北部地区发生了更多的 ASF 感染野猪的案例。

2016 年, ASF 开始不断突破新的边界。2016 年俄罗斯和乌克兰的 ASF 暴发持续增加。在乌克兰, ASF 不断向西南方向移动, 到达了摩尔多瓦、匈牙利和罗马尼亚。2016 年 9 月, 摩尔多瓦报道了第一例家猪感染 ASFV。疾病持续向欧洲的西部国家扩散, 主要与野猪传播相关。

2017 年, ASF 进入捷克共和国和罗马尼亚。在 2017 年 6 月下旬, 捷克东部的野猪群确认了首起 ASF 疫情后, 在接下来的 3 个月内已确认了 100 多例新的疫情。罗马尼亚在夏季也确认了家猪群感染 ASFV。

对欧盟国家而言, 自从俄罗斯发生 ASF 疫情后就一直密切关注 ASF 的最新发展与变化, 制定并采取了各项严格措施。然而实际情况是, ASF 如今已经进入了 6 个欧盟国家, 大量野猪的存在是欧盟发生 ASF 疫情的最大风险因素之一。此外, 由于庭院式养猪以及泔水饲喂仍然在部分欧盟国家存在, 这也加大了 ASF 传播的风险。ASF 将是尚未出现疫情的欧盟国家养猪业必须面对的一个巨大挑战。

2018 年 8 月 3 日公布我国辽宁省沈阳市一养猪户发生非洲猪瘟疫情, 在此之前的几天, 其饲养的猪陆续发生不明原因死亡, 病死猪剖检发现脾脏异常肿大, 疑似非洲猪瘟病毒感染。经国家外来动物疫病研究中心检测, 确诊为非洲猪瘟病毒核酸阳性, B646L/p72 基因序列 417 个碱基与俄罗斯毒株 100% 匹配, 与俄罗斯和东欧目前流行的格鲁吉亚毒株 (Georgia 2007) 属于同一进化分支, 这是

我国发现的首例非洲猪瘟 (Zhou et al., 2018)。随后, 在河南, 江苏, 安徽, 浙江、黑龙江、内蒙古、吉林等地区也陆续出现疫情 (非洲猪瘟在世界分布见图 1)。

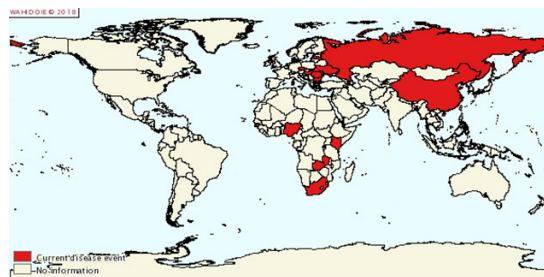


图 1: ASF 分布图。来源: OIE, 2018。

三、非洲猪瘟的危害

中国是生猪养殖和产品消费大国, 生猪的养殖量和存栏量均占全球总量一半以上, 同时猪肉是居民主要肉品蛋白质来源, 猪肉消费占到总肉类消费的 60% 以上, 加之生猪养殖规模化程度低, 生猪调运频次高、数量多, 一旦出现 ASF 流行, 将对我国生猪产业和相关贸易产生非常大的影响, 如何对 ASF 进行科学防控, 降低其对我国养猪业的影响, 也成为目前行业关注的重点。

第二章

病原学



一、命名和分类

1、病毒命名

ASFV 是一种单分子线状双链 DNA 病毒，属于双链 DNA 病毒目，非洲猪瘟病毒科，非洲猪瘟病毒属，该科仅有 ASFV 一个属，也是目前唯一已知核酸为 DNA 的虫媒病毒。

ASFV 与猪瘟病毒是两种完全不同的病毒，亲缘关系差异很大。猪瘟病毒是 ssRNA 病毒，属于黄病毒科、瘟病毒属，其 RNA 为单股正链，同属成员还包括牛病毒性腹泻病毒 (BVDV)、羊边界病病毒 (BDV)。

2、流行毒株

通常认为 ASF 只有一种病毒血清型，但最近的研究报道，基于红细胞吸附抑制试验 (HAI) 可以将 32 个 ASFV 病毒毒株分成 8 个血清组 (Malogolovkin et al., 2015)。然而，ASFV 基因组变异频繁，表现出明显的遗传多样性。根据对 ASFV 高度保守的 B646L 基因 (编码一个主要的结构蛋白 P72) 的序列，将已知所有的 ASFV 的毒株分为 23 个基因型，即基因 I - X X III 型 (Gallardo et al., 2015c)，其在全球的分布见图 2。

不同基因型的 ASFV 毒株分布有一定的区域性特点。有些基因型仅在某个国家发生，如 V、VI、IX、XI、XIII、X IV、XV 和 XVI，而有些基因型毒株不受国界限制，如 I、II、V、VIII、x 和 XII。

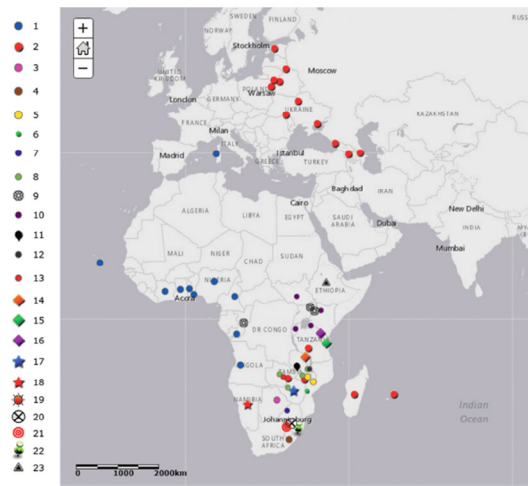


图 2: ASFV 的全球基因型多样性。

来源: INIA-CISA, 2016。

非洲大陆主要有两大流行区域：一是非洲的西部和中部地区，从纳米比亚到民主刚果共和国、塞内加尔，该区域只有基因 I 型在流行。二是非洲的东部和南部地区，从乌干达和肯尼亚到南非，这些地区的不同 ASFV 分离株变异较大，东部非洲有 13 个 ASFV 基因型在流行，南部非洲有 14 个。其中，赞比亚流行基因型最多，已经鉴定了 7 个基因型；其次为南非 6 个，莫桑比克 4 个。这些地区流行毒株的高度多样性与这些国家中多数存在丛林传播循环

模式密切相关，这个循环模式在 ASFV 的流行中具有重要作用 (Boshoff et al., 2007; Lubisi et al., 2005)。

基因 II 型曾在莫桑比克、赞比亚和马达加斯加的家猪群流行 (Bastos et al., 2003; Bastos et al., 2004; Penrith et al., 2007)，2007 年传入高加索地区的格鲁吉亚和俄罗斯。当前中国流行的 ASFV 也属于基因 II 型。

二、形态结构

1、病毒的形态与大小

ASFV 是一种在胞浆内复制的二十面体对称的 DNA 病毒，病毒直径为 175-215 nm，细胞外病毒粒子有一层囊膜，内有核衣壳，六边形外观。

2、病毒的结构

ASFV 的 DNA 核心位于病毒中间，直径为 70-100 nm，二十面体衣壳的直径为 172-191 nm，与含类脂的囊膜一起包裹着病毒外周；衣壳由 1892-2172 个壳粒构成，中心有孔，呈六棱镜状，壳粒间的间距为 7.4-8.1 nm (图 3)。

成熟的病毒粒子由多层结构组成，含有 50 多种病毒编码的蛋白质，其中包括结构蛋白、基因转录和 RNA 加工所需的酶，是构成病毒粒子结构的主要成分，对病毒粒子的再次感染有重要作用。病毒粒子的结构蛋白有 p72、p49、p54、p220、p62 和 CD2v 等，其中 p72 蛋白表达于 ASFV 感染晚期，位于病毒衣壳的表面，具有良好的反应原性和抗原性，是病毒二十面体衣壳的重要组成成分。

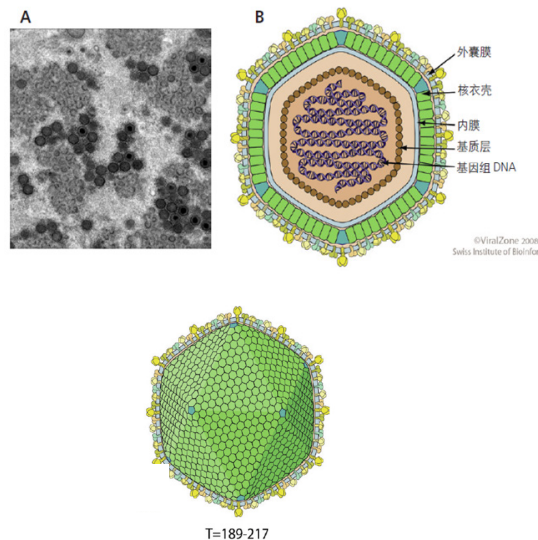


图 3: ASFV 的电镜图和粒子图

A. Vero 细胞感染 ASFV 的透射电子显微镜照片。成熟的病毒粒子，不成熟的病毒粒子和膜中间体是可见的。成熟病毒粒子直径约 200nm (来源：英国 Pirbright 研究所)。

B.ASFV 的病毒粒子图 (来源：瑞士生物信息学研究所)。

三、理化特性和生物学特性

ASFV 是一种抗性非常强的病毒，能够耐受高温和较大范围的 pH 值波动，加热到 56°C 持续 70 分钟或 60°C 持续 20 分钟才可使其灭活。表 1 提供了物理和化学因素对 ASFV 的灭活效果（表 1），0.05% 的 β - 丙内酯和乙酰乙烯亚胺 (AEI) 可在 37°C 60 分钟内使其灭活。0.8% 的氢氧化钠（30 分钟）、含 2.3% 有效氯的次氯酸盐溶液（30 分钟）、0.3% 福尔马林（30 分钟）、3% 苯酚（30 分钟）和碘化合物可灭活 ASFV。ASFV 对乙醚及氯仿等脂溶剂敏感。带囊膜的 ASFV 病毒粒子能够明显抵抗蛋白酶的作用，但易被胰脂酶灭活。胃蛋白酶可作用于无囊膜病毒粒子的六角形衣壳，而胰蛋白酶则不能。在制定 ASFV 的防控策略（如消毒）时必须考虑这些因素。

ASFV 在排泄物、尸体、新鲜肉类和某些肉类产品中可存活的时间不等（表 2）。在死亡野猪尸体中可以存活长达 1 年，在猪粪便中感染能力可持续 11 天，冷藏肉类可能持续感染 110 天（在冻结肉中的时间更长），未经烧煮或高温烟熏的火腿和香肠中能存活数月。

表 1：ASFV 对理化作用的抗性

成分	抵抗力
温度	对低温有很强的抵抗力。在 56° C 需要 70 分钟，60° C 需要 20 分钟才能将病毒灭活
pH	在无血清的培养基中，pH < 3.9 或 > 11.5 才能灭活病毒。血清可以增加病毒的抵抗力，如在 pH 13.4 条件下，没有血清时病毒可以存活到 21 小时，有血清时病毒可以存活到 7 天
化学成分 / 消毒剂	对乙醚和氯仿敏感，8/1000 氢氧化钠 30 分钟、次氯酸盐 -2.3% 氯 30 分钟、3/1000 福尔马林 30 分钟、3% 邻苯基苯酚 30 分钟和碘化合物都可以灭活病毒
存活力	能在血液、粪便和组织种存活很久，特别时生肉或没有全熟的肉制品；能在载体里繁殖（如钝缘软蜱）

来源：OIE 非洲猪瘟技术卡，2009

表 2：ASFV 在各种环境条件下的抵抗力

材料 / 产品	ASFV 存活时间 (天)
有骨头和没有骨头的肉以及碎肉	105
咸肉	182
熟肉 (70°C至少 30 分钟)	0
干肉	300
熏制和剔骨肉	30
冻结肉	1000
冷冻肉	110
内脏	105
皮肤 / 脂肪 (即使干燥)	300
在 4°C储存的血液	540
室温下的粪便	11
腐烂的血液	105
被污染的猪圈	30

来源：选自《非洲猪瘟的科学观点》，
欧洲食品安全署杂志 2010；8(3)：1556 所给出的时间反映已知或
估计的最大持续时间，并取决于实际环境温度和湿度

四、基因组结构与功能

ASFV 基因组是末端共价闭合的单分子线状双链 DNA，基因组全长 170-190kb(由于毒株的不同而有差异)，有 151 个 ORF，可编码 150-200 种蛋白。

ASFV 基因组的中部为中央保守区 (C 区)，长度约 125 kb，该区域的一些基因 (如 p72 基因) 常作为 ASFV 基因分型的依据。其中 p72 是主要的结构蛋白之一，占病毒总蛋白量的 1/3，而且该蛋白序列保守，抗原性佳，病毒感染后能够产生高滴度的抗 p72 抗体，因此常被用作非洲猪瘟的血清学诊断。C 区还含有一个 4 kb 的中央可变区 (CVR)，位于 p72 伴侣蛋白基因 B602L(9RL)，在不同基因型或同一基因型的不同毒株之间都存在差异。

C 区两侧各有一个可变区，分别称为 VL(或 V1,38-48 kb) 和 VR(或 V2,13-22 kb)，含有 5 个多基因家族 (MGF)，包括假定膜蛋白、分泌性蛋白、核酸代谢酶、核苷酸代谢酶以及蛋白修饰酶。每个多基因家族都可发生缺失、增加、分化等变异，这在不同毒株之间差异很大，与病毒抗原变异、逃避宿主防御系统的机制有关。

基因组的两端为共价闭合环状结构，均含有长度为 2.1-2.5 kb 的颠倒重复序列 (TIR)。

末端碱基交互连接，组成发夹环，且有末端倒置重组序列，能合成 6-14 个 sRNA 的转录物（图 4）。

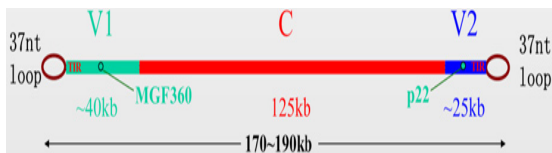


图 4：ASFV 的基因结构模式图。来源：Xiaodong Wu

基因组长度的多样性是 ASFV 的显著特点之一，这种长度多样性不仅表现在不同来源的病毒分离株之间，而且表现在同一来源不同培养代次的病毒株之间。其主要原因是由于该病毒基因组可随意丢失或获得重复序列。

第三章

流行病学

动物传染病的传播必须具备 3 个环节：传染源、传播途径和易感动物，这 3 个环节是构成传染病在动物群中发生和流行的生物学基础。对于 ASF 的流行病学，从各个国家的疾病防控经验中已经有所了解。ASFV 主要通过与感染动物或污染物接触、摄入污染的猪肉或猪肉制品、以及软蜱的叮咬来感染并扩散。ASFV 的传播和持续存在各个地区也不是完全相同的，如在撒哈拉以南非洲，ASF 具有地方性，而且通过一个涉及家猪、非洲丛林猪、荒漠疣猪和钝缘软蜱的感染链条在循环；在高加索区域、东欧和波罗的海国家，ASF 在家猪和欧洲野猪之间循环，并引起相似的临床症状和死亡 (Gogin et al., 2013)。另外对一些流行病学具体细节的把握，如病毒通过环境和污染饲料感染时的最低感染剂量，感染野猪与家猪接触时病毒传染的有效性如何，感染后的康复猪作为一个病毒携带者或储藏器来传播病毒的潜力，病毒在野猪群中持续存在的潜力，以及人类作为传播病毒媒介扩散病毒的影响等等，也是我们优化现有干预措施和出台新的工具和防控策略来减少 ASFV 传播的重要依据 (Guinat et al., 2016a)。

一、宿主

1、野猪

非洲疣猪属于猪科疣猪属，广泛分布于非洲撒哈拉以南地区。疣猪被认为是 ASFV 的原始宿主，它与钝缘软蜱一起构成了丛林传播循环 (图 5)。在非洲，疣猪的广泛分布，



图 5：非洲猪瘟宿主

A. 家养猪 / *Sus scrofa domestica* (©FAO / Daniel Beltrán-Alcruado)

B. 欧洲野猪 / *Sus scrofa ferus* (©瑞典农业科学大学 (SVA) / Torsten Mörner)

C. 非洲灌丛野猪 / *Potamochoerus porcus* (©瑞典农业科学大学 (SLU) 和 SVA / Karl Stahl)

D. 疣猪 / *Potamochoerus porcus* (©SLU 和 SVA / Karl Stahl)

E. 巨型森林猪 / *Hylochoerus meinertzhageni* (©John Carthy)

F. 钝缘软蜱 (雄性和雌性) (©萨拉曼卡自然资源与农业生物学研究所 (IRNASA)、科学调查委员会 (CSIC/Ricardo Pérez-Sánchez)

以及它易与家猪和钝缘软蜱接触的生态学特征，使它成为最重要的 ASFV 宿主 (Jori and Bastos, 2009)。在洞穴中，哺乳疣猪通过钝缘软蜱的叮咬而被感染，之后在病毒血症期间通过被叮咬可以感染其它 ASFV 阴性的蜱虫。病毒血症通常为 2-3 周，随后病毒持续存在于淋巴结中。幼年疣猪感染后恢复正常，无任何临床症状 (PJ, 1989)。

非洲丛林猪和非洲红河猪属于猪科非洲野猪属，分布于非洲西部和中部。丛林猪和红河野猪在 ASF 流行过程中所扮演的角色还没有完全被证实 (Anderson et al., 1998; Jori and Bastos, 2009)。ASFV 可以在丛林猪体内复制，在一些案例中也可以传播给家猪和软蜱 (Anderson et al., 1998)，但传播的机制还没有确认。丛林猪在非洲的东部，中部，南部和马达加斯加岛生活，但它并不是 ASFV 的重要宿主，可能与它们夜间活动的习惯、猪群密度低和不使用地穴居住有关。

非洲巨林猪属于猪科巨林猪属 (Hylochoerus)，仅分布于非洲中部海拔 3750 米的高山林地。也有报道称巨林猪可以偶尔感染 ASFV，但它们在 ASF 流行病学中的作用是微乎其微的 (Jori and Bastos, 2009)。

在欧洲，野猪和家猪对 ASFV 有相似的易感性 (Jori and Bastos, 2009)。在伊比利亚半岛、撒丁岛、古巴、毛里求斯和俄罗斯都有野猪感染的案例 (Caiado et al., 1988; Laddomada et al., 1994; Lubisi et al., 2009)。ASF 在野猪

群中暴发并消失后，通过直接接触感染的家猪、污染物或摄入被感染的尸体而再次感染，这是维持 ASFV 在野猪群中不断循环的前提 (Mur et al., 2012a)。

2、家猪

家猪对 ASF 高度易感。根据感染毒株的毒力不同，病程从特急性到亚临床感染不等。亚临床感染，慢性感染或者临床康复的猪群在 ASF 的流行过程中扮演了一个非常重要的角色 (Leitao et al., 2001; Sanchez-Vizcaino et al., 2012)。虽然目前没有证据表明感染猪只能终生带毒，但它能够把 ASFV 通过直接接触或间接的软蜱叮咬或摄入污染的肉 / 肉制品传播给易感猪只。

当 ASF 到达一个新的区域或猪群时，通常伴随着猪只的高死亡率和快速扩散暴发。然而在已经发病的区域，低死亡率和亚临床 / 慢性感染变得越来越普遍 (Allaway et al., 1995; Fasina et al., 2010; Owolodun et al., 2010)。在非洲和伊比利亚半岛，ASF 的亚临床感染比较常见，这是由于当地低毒力 ASFV 的流行和减毒活疫苗的使用所导致的 (Penrith et al., 2004; Sanchez-Vizcaino et al., 2012)，也有研究声称是当地培育出对 ASFV 不易感的猪只，然而抗病病毒的生物学特性不能够在猪只上遗传 (Penrith et al., 2004)。

3、软蜱

蜱属于节肢动物门，分为 3 个科，即硬蜱科、软蜱科和纳蜱科，前两者较为常见且危害较大，在 ASFV 传播中发挥重要作用的蜱属于软蜱科中的钝缘蜱属。蜱虫体卵圆形或长卵圆形，背面稍隆起，未吸血时腹背扁平，成虫体长 2-10 mm；饱血后胀大如赤豆或蓖麻子状，大者可长达 30 mm。未吸血前为黄灰色，吸饱血后为灰黑色，表皮革质，成虫在躯体背面没有壳质化盾板（区别于硬蜱）（图 6）。软蜱寿命长，一般为 6-7 年，甚至可达 15-25 年，软蜱各活跃期均能长期耐饿，从 5-7 年不等，有的甚至可以长达 15 年。



图 6: 非洲钝缘软蜱（*Ornithodoros moubata*）。
一种已知可以感染和传播 ASFV 的软蜱。来源：James Occi.

表 3: 钝缘蜱属蜱虫地理分布和在 ASF 传播中的作用

钝缘蜱种类	地理分布	经卵传播	发育期传播	向猪传播	说明
<i>O. erraticus</i> (<i>O. maroccanus</i>)	伊比利亚半岛和北部非洲	否	是	是	存在于猪圈中，并在家猪中维持循环
<i>O. moubata</i> complex	南部和东部非洲、马达加斯加，塞拉利昂	是	是	是	取决于亚种，可住在疣猪的洞穴里，在疣猪身上维持丛林传播循环，也可以住在猪圈里（在家猪身上维持循环）
<i>O. puertoricensis</i>	加勒比	是	是	是	是有效载体，但是在 ASF 暴发后，海地和多米尼加共和国收集的大量蜱虫中没有发现病毒
<i>O. coriaceus</i>	美国	否	是	是	实验证明是有效的载体
<i>O. turicata</i>	美国			是	实验证明能够将病毒传播给猪
<i>O. savignyi</i>	非洲			是	是与猪或疣猪不相关的沙漠蜱
<i>O. sonrai</i>	北部非洲 萨赫勒（向南延伸到南塞内加尔）				在 2004 和 2005 年暴发的养殖场的 36 个蜱虫中有 4 个阳性（通过 PCR 检测到 ASFV 核酸）

来源：南非比勒陀利亚大学

钝缘软蜱 (*Ornithodoros moubata*) 是在西班牙首次被证实为 ASFV 的生物学载体和储藏者。在非洲, 钝缘软蜱是家猪和野猪感染 ASFV 的一个重要源头。它在吸血的时候, 能够将体内的病毒传染给易感宿主。另外, 病毒在蜱类种群中可通过交配、卵源等多种途径传播, 即使在没有宿主的情况下, 感染的蜱依然可以长期携带病毒并保持感染性长达数年之久 (Rennie et al., 2001)。钝缘软蜱广泛分布于南非, 也出现在马达加斯加, 但并不存在于非洲中部, 它们被认为是 ASF 持续存在的一个重要原因。还有几种蜱虫在 ASF 传播过程中的作用如表 3 所示。

二、传播循环

ASFV 的传播主要有丛林传播循环、蜱 - 猪循环、家猪循环和野猪 - 栖息地循环 4 种方式 (图 7)。

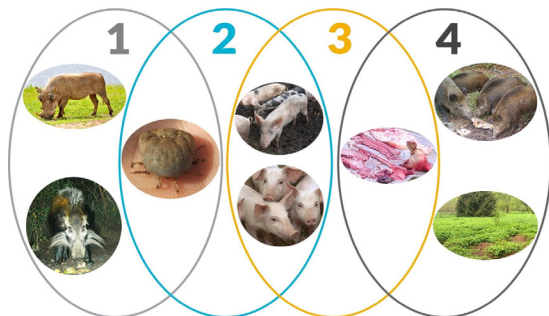


图 7: ASF 传播的 4 个循环。来源: Erika Chenaïs

1、丛林传播循环

丛林传播循环在非洲的南部和东部都有很好的记载, 它涉及到 ASFV 的天然宿主疣猪和蜱虫。哺乳疣猪在洞穴中被软蜱感染, 在短暂的病毒血症期间, 蜱虫通过吸血而感染 ASFV。疣猪在之后的生活中处于 ASFV 的潜伏感染, 并不表现任何的临床症状, 疣猪之间的水平传播和垂直传播能力较弱, 主要依靠软蜱来实现病毒的循环 (Jori and Bastos, 2009; Penrith ML, 2004)。蜱虫一次吸血进食感染 ASFV 后, 病毒可在其体内保持感染性长达 15 个月 (Hess et al., 1989), 这就为感染下一批分娩的幼年疣猪提供了条件。

在有疣猪和软蜱的区域, 野猪的感染率非常高, 但两者的存在并不意味着丛林传播循环就一定存在。例如在非洲西部, 野猪和软蜱同时存在, 但很少发现两者是携带 ASFV 的 (Jori and Bastos, 2009)。

2、蜱 - 猪循环

蜱虫通过吸吮有病毒血症的动物后所携带的感染性病毒可达数月或数年之久。在非洲和伊比利亚半岛, 经常发现当地的一种蜱虫 *Ornithodoros erraticus* 在猪舍内存在, 这种蜱虫通过吸吮猪血来传播并维持 ASF 的长期存在。在西班牙的某些区域, ASF 的暴发与蜱虫 *O. erraticus* 的存在有很强的相关性 (Perez-Sanchez et al., 1994)。在葡萄牙, 一个先前被感染的猪群在 1999 年再次暴发 ASF, 其原因就是携带病毒的蜱虫存在于该场, 并持续感染猪

群 (Boinas et al., 2011)。在马达加斯加一个空栏时间长达 4 年的猪场中, ASFV 仍然可以在场内的蜱虫中分离出来 (Ravaomanana et al., 2010)。这就说明, 只有蜱虫真正地在场内被消灭后才能降低猪群感染 ASFV 的风险。

在有蜱虫的区域也并不意味着蜱-猪循环就一定存在。在高加索地区的国家和俄罗斯也报告了钝缘蜱属蜱虫的存在, 但没有证据表明蜱在当地 ASF 的流行过程中起主要作用 (de Carvalho Ferreira et al., 2014)。

螫蝇在实验室条件下也被证明可以有效的将 ASFV 传染给家猪 (Baldacchino et al., 2013)。然而, 当在 ASF 感染的猪场收集这些螫蝇后检测发现病毒阴性。

3、家猪循环

生猪贸易和 / 或转运, 生物安全措施的缺失, 是 ASF 在地方扩散的主要原因 (Sanchez-Vizcaino et al., 2012)。一些临床研究证实了 ASF 在猪场暴发的风险因素, 包括: 自由放养 (Mannelli et al., 1997)、猪场之前发生过 ASF、有感染的猪只或屠宰场在猪场附近、生猪转运和人员拜访 (Fasina et al., 2012)。在俄罗斯, 空间回归分析发现, 路面交通、水源和家猪的密度与 ASF 的暴发具有相关性 (Gulenkin et al., 2011), 而空间扩展模型发现感染动物的转运是 ASF 扩散的最主要风险因素 (Olugasa and Ijagbone, 2007) (图 8)。在怀疑 ASF 暴发, 而尚未清楚猪群临床症状时, 紧急售卖猪只的行为会加剧疾病的扩散。

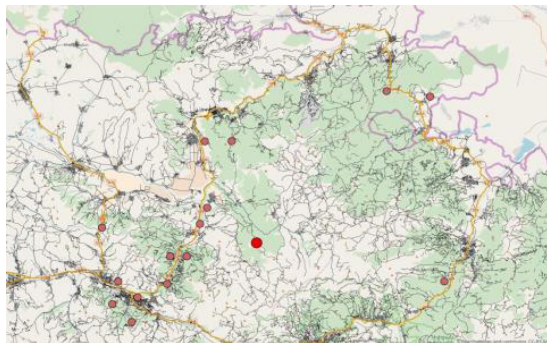


图 8: ASF 沿公路传播。来源: Klaus Depner

一旦 ASFV 进入家猪群, 它可以在地方、区域甚至国家的水平上通过直接接触或与污染物接触来传播。ASFV 对外界抵抗力非常强: 能够在 pH 4-10 的范围内保持稳定, 60°C 20 分钟才能灭活 (表 1)。烟熏香肠和自然晾干的火腿要求在 32-49 度烟熏 12 小时, 随后 25-30 天的干燥才能消灭病毒。ASFV 也能在环境中持续存在数天, 所以污染的衣物、靴子、设备、车辆都可能成为传播病毒的载体 (Mur et al., 2012b)。感染猪只的分泌物和排泄物都有可能含有病毒, 而且 ASFV 可以在血液和组织中长期保持活力。所以 ASFV 在猪肉制品中, 如在熏制的火腿, 数月内仍然保持感染性, 猪只接触处理不当的尸体、冷冻、没有充分煮熟的猪肉或熏蒸的猪肉产品都可能是 ASFV 感染的风险 (表 2)。

有实验室研究提供了 ASFV 在猪的血液、分泌物和排泄物中的病毒滴度。用高毒力或中等毒力的 ASFV 流行毒株感染猪只后，血液中最高病毒滴度可达 10⁹ HAD₅₀/ml，口腔液、尿液和粪便中最高病毒滴度可达 10⁵ HAD₅₀/ml (de Carvalho Ferreira et al., 2012; Gallardo et al., 2015b; Gallardo et al., 2015c; Guinat et al., 2014; Wilkinson et al., 1981) (表 4)。30-50% 的猪只在感染中等毒力的 ASFV 后在临床症状上可以恢复。一些实验室的研究也证实了与感染家猪的直接接触是 ASFV 传播的一个有效方式。当将易感猪只与感染了 ASFV 的猪只放在一起后，通过直接接触 1-9 天内被感染 (Gallardo et al., 2015b; Guinat et al., 2016b)；但当将易感猪只和感染猪只之间用固体的隔离物分离开来阻挡它们之间的直接接触后，易感猪只的感染时间推迟到 6-15 天 (Guinat et al., 2014)。

不同 ASFV 毒株在田间和实验室条件下的传播动态是不同的。在不同的传播条件下 (表 5)，马尔他 ASFV 毒株的基本繁殖率 (如 R₀，新来猪只被一头阳性动物所感染后的平均数) 是 18 (95% 置信区间 (CI) : 6.9-46.9) (de Carvalho Ferreira et al., 2013a)，格鲁吉亚和俄罗斯的 ASFV 毒株是 1.4 (95% CI: 0.6-2.4)，9.8 (95% CI: 3.9-15.6) (Guinat et al., 2016b; Gulenkin et al., 2011) (表 5)。

表 4：在 ASFV 流行毒株感染猪只后血液、分泌物和排泄物中的病毒载量

样品类型	ASFV 毒株	感染方式	检测到的最高病毒滴度	参考文献
血液	分离自野猪的立陶宛 LT14/1490	肌肉注射 HAD ₅₀ /ml 接触感染	10 ⁶ dpi: 10 ^{6.4} to 10 ^{8.7} HAD ₅₀ /ml 14 dpi: 10 ^{6.4} to 10 ^{8.7} HAD ₅₀ /ml	(Gallardo et al., 2015b)
	分离自家猪的格鲁吉亚 2007/1	肌肉注射 HAD ₅₀ /ml 接触感染	10 ² 5 dpi: 10 ⁶ to 10 ⁸ HAD ₅₀ /ml 10 dpi: 10 ⁶ to 10 ⁸ HAD ₅₀ /ml	(Guinat et al., 2014)
	分离自野猪的俄罗斯 Kashino 04/13	鼻腔感染 5 × 10 ³ HAD ₅₀ /ml 鼻腔感染 HAD ₅₀ /ml 接触感染	7 dpi: 10 ^{7.5} HAD ₅₀ /ml 7 dpi: 10 ^{6.5} to 10 ^{7.5} HAD ₅₀ /ml 15 dpi: 10 ^{6.5} to 10 ^{7.5} HAD ₅₀ /ml	
	分离自家猪的俄罗斯 Boguchary 06/13	鼻腔感染 5 × 10 ³ HAD ₅₀ /ml 鼻腔感染 HAD ₅₀ /ml 接触感染	9 dpi: 10 ^{6.5} to 10 ^{7.5} HAD ₅₀ /ml 5 dpi: 10 ^{6.5} to 10 ⁷ HAD ₅₀ /ml 13 dpi: 10 ⁷ HAD ₅₀ /ml	(VLASOVA, 2015)
	分离自野猪的俄罗斯 K 08/13	肌肉注射 5 × 10 ³ HAD ₅₀ /ml 肌肉注射 HAD ₅₀ /ml	7 dpi: 10 ^{6.5} to 10 ⁷ HAD ₅₀ /ml 9 dpi: 10 ^{6.5} to 10 ⁷ HAD ₅₀ /ml	
	分离自家猪的格鲁吉亚 2007/1	肌肉注射 HAD ₅₀ /ml 接触感染	10 ² 6 dpi: 10 ² to 10 ⁴ HAD ₅₀ /ml 7 dpi: 10 to 10 ² HAD ₅₀ /ml	(Guinat et al., 2014)
鼻拭子	分离自家猪的格鲁吉亚 2007/1	肌肉注射 HAD ₅₀ /ml 接触感染	10 ² 5 dpi: 10 to 10 ² HAD ₅₀ /ml 12 dpi: 10 to 10 ² HAD ₅₀ /ml	
肛拭子	分离自家猪的格鲁吉亚 2007/1	肌肉注射 HAD ₅₀ /ml 接触感染	10 ² 5 dpi: 10 to 10 ² HAD ₅₀ /ml 12 dpi: 10 to 10 ² HAD ₅₀ /ml	

表 5：在田间和实验室条件下，ASFV 在家猪和野猪传播的病毒载量

传播情况	ASFV 毒株	潜伏期 (天)	感染期 (天)	基本繁殖率 (95% CI)	参考文献
实验研究					
家猪 - 家猪	直接	格鲁吉亚 2007	3-6	2.8 (1.3-4.8)	(Guinat et al., 2016b)
	间接		3-14	5.3 (1.7-10.3)	
	直接		3-6	1.4 (0.6-2.4)	
	间接		3-14	2.5 (0.8-5.2)	
野猪 - 野猪	直接	亚美尼亚 2008	2-9	6.1 (0.6-14.5)	(Pietschmann et al., 2015)
野猪 - 家猪	直接			5.0 (1.4-10.7)	
	间接			0.5 (0.1-1.3)	
家猪 - 家猪	直接	马尔他 1978	3-6	4-10	(de Carvalho Ferreira et al., 2013b)
田间研究					
野猪 - 野猪	组与组之间	俄罗斯	-	-	1.58 (1.1-3.8) (Iglesias et al., 2016)
家猪 - 家猪	猪场内部	俄罗斯	15	5	9.8 (3.9-15.6) (Gulenkin et al., 2011)

4、野猪 - 栖息地循环

野猪 - 栖息地循环包括野猪与感染野猪之间的直接传播，以及污染的栖息地与野猪之间的间接传播。栖息地的污染包括感染野猪或家猪尸体、以尸体为食动物之间的相互扩散、猪场人员 / 猎人不合理的丢弃感染动物尸体等多种方式（图 9），这个污染根据地形、时间、季节和尸体腐化程度不同而使得高病毒载量和低病毒载量的 ASFV 感染同时存在 (Chenais et al., 2018)。在疾病的暴发期间，地理位置，生态环境，气象状态和野猪的数量都影响着流行情况，而且每一个因素都与野猪 - 栖息地循环的存在相关。比如一些 ASF 案例中野猪的死亡发生在受 ASF 影响的猪场旁边 (Gogin et al., 2013)。邻国的边界上有很多野猪的尸体，比如在俄罗斯和格鲁吉亚的边界，波兰和立陶宛与白俄罗斯的边界，乌克兰与俄罗斯的边界 (Gallardo et al., 2014)，可能是由于一个区域的过度狩猎导致野猪通过逃亡把自己的活动区域扩大，从而有利于 ASFV 向更远的地方扩散 (Beltran-Alcrudo, 2018)。



野猪尸体在 ASFV 传播循环中的作用。感染传播的方式为：野猪尸体 易感野猪 死亡野猪（尸体）易感野猪。

来源：Grzegorz Wo niakowski

虽然有些报道称野猪群密度与 ASF 感染是成正相关的 (Beltran-Alcrudo, 2018)，但 ASFV 在环境中优越的生存能力并不适合密度依赖性的传播模式，也就是说 ASF 能够在不管野猪群大小的情况下持续存在 (Probst et al., 2017)。然而，ASFV 在野猪群体里持续存在性也是不太确定的，如在俄罗斯的西南地区野猪群体中的 ASF 案例没有空间和时间的关联性，这说明野猪群体中并没有 ASFV 的持续存在 (Lange et al., 2014)。

除了上述的 4 个主要流行病学循环外，还有一些潜在的风险也越来越受到重视。如污染物和 / 或饲料 - 家猪的循环。在俄罗斯和立陶宛大量的 ASF 暴发的原因被归咎于违反生物安全规则，如不合理的衣服和靴子消毒程序，或者是污染的食物带进了猪场里；打猎的猪场人员也增加了 ASFV 进入猪场的风险，特别是通过在处理被病毒感染的野猪尸体过程中的污染。在拉脱维亚和立陶宛的流行病学调查也证实了被 ASFV 阳性野猪分泌物污染的草和草籽是家庭农场猪群被感染的潜在源头 (EC, 2014)。ASFV 可以在俄罗斯和拉脱维亚的猪肉产品中检测到 (42 个猪肉产品样本中，6 个是 ASFV 基因组阳性 (EC, 2014)，因此，泔水饲喂这种生产方式起到一个 ASFV 到家猪的重要传播途径，这也可能解释了为什么在俄罗斯 ASF 暴发时首先发生在家庭农场或自由放养的猪场，最后才在大的商品场暴发 (Gogin et al., 2013)。

三、易感动物

猪科的所有成员均对 ASFV 感染易感，包括家猪、欧洲野猪、疣猪、丛林猪和巨林猪 (图 5)。其中，疣猪和丛林猪感染后无临床症状，通常被认为是病毒的一个储藏器。

四、病毒的感染动态

ASF 潜伏期根据传播方式的不同而不同，通常在 4-19 天之间。病毒感染 48 小时后才会出现临床症状，但在这前 48 小时内，血液、分泌物和排泄物中已有大量病毒，所以说 ASF 在潜伏期是最具有传染性的 (Guinat et al., 2014)。抗体转阳一般发生在感染后的 7-9 天，感染的猪只终生都可以检测到抗体 (图 10)。

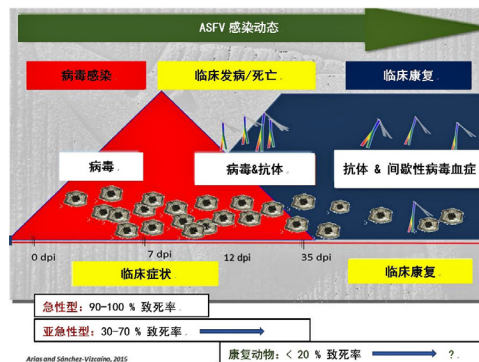


图 10: ASFV 感染后的动态变化。上图展示了 ASFV 感染后的病毒血症和抗体变化，急性、亚急性和康复动物的死亡率变化，以及感染动物终身抗体阳性。来源: (Gallardo et al., 2015c)。

一些猪场临床上 ASF 的暴发是特别可怕的，成千上万的猪只不得不无害化处理。所以，这就有必要分析一下 ASFV 在猪场的感染动态。这里以立陶宛的一次 ASF 暴发为例，这次疾病发生在一个封闭式并且实施了严格生物安全措施的猪场，结果是约 20000 头猪只被无害化处理的灾难性结果。当回顾整个案例的过程时可以发现，在疾病刚刚进入猪场的时候，ASFV 的移动和扩散并没有引起明显的临床症状。第一个症状的出现是在同一栋猪舍内的几头猪只突然死亡，这个死亡也可能是与其它的病因相关的，比如说中毒，所以并未引起重视。在最初感染之后的 12-14 天，病毒扩散导致第二波的感染发病，有更多的猪只死亡。第二波甚至第三波的感染主要还是影响同一栋舍内的猪只。再过几天后这一栋内的所有猪只都发生死亡。

这个案例提供给我们一个重要的信息是 ASF 的传染性并不高，在猪群刚接触到病毒的时候，整体死亡率很低，导致猪场管理人员很难察觉。所以临床上疾病的识别是早期疾病监测的重要一环，严格的临床管控是必须要建立起来的。在疾病传播的高风险区域，几头猪只的突然死亡不能够简单的归为一般原因引起的，而是应该拉响警报，严阵以待。在预防 ASF 时要时刻注意任何一点临床症状，如发烧，即便只有个别猪只有轻微的体温上升。周期性的临床检查和严格的生物安全措施的实施是防控 ASF 的必要手段 (Gallardo et al., 2015a)。

第四章

致病机理



ASFV感染猪只后,能够造成严重的病理损伤,包括高热、多脏器的出血、充血性脾肿大、肺脏水肿、白细胞减少症、血小板减少症等。其致病机制是病毒和宿主细胞相互作用,进而产生一系列的病理反应导致的。

一、病毒感染规律和细胞嗜性

ASFV 能够通过呼吸道、消化道以及肌肉等多种途径感染猪只,并首先在扁桃体、下颌淋巴结或其他局部淋巴结中复制 (8-24 hpi) (Heuschele, 1967),之后病毒随血液或淋巴液扩散,形成病毒血症,并前往其他二级器官复制 (2-3 dpi),在肝脏、肺脏、骨髓、肾脏、肠道中都能检出病毒的存在 (Plowright et al., 1969)。ASFV 感染初期的主要靶细胞是存在于组织中的单核细胞 / 巨噬细胞,病毒在其中复制并随之扩散到其他组织器官;随后病毒开始大量感染其他类型的细胞 (5-8 dpi),已确定的细胞种类包括:肝细胞、肝肾毛细血管内皮细胞、扁桃体上皮细胞、纤维母细胞、网状细胞、平滑肌细胞、血管外周细胞、肾小球系膜细胞、巨核细胞、淋巴细胞、嗜中性粒细胞等 (Ballester et al., 2010; Carrasco et al., 1996c; Gomez-Villamandos et al., 1998; Sierra et al., 1987)。

虽然 ASFV 能够感染多种类型细胞,但是其感染复制的关键场所是单核 / 巨噬细胞系统。ASFV 通过巨胞饮 (Macropinocytosis) 或网格蛋白介导的内吞作用

(Clathrin-dependent process) 入侵巨噬细胞,开始病毒的复制增殖 (Galindo et al., 2015; Hernaez and Alonso, 2010; Sanchez et al., 2012);同时病毒对于单核 / 巨噬细胞的调节功能最强,表现为:1) 巨噬细胞增殖,数量增多;2) 吞噬功能激活,内溶酶体和细胞碎片增多;3) 巨噬细胞分泌细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β) 的能力增加 (图 11, 图 12)。巨噬细胞的激活导致随后一系列的病理损伤。感染的中后期,ASFV 开始感染内皮细胞、基质细胞等其它种类细胞,进一步加重组织损伤 (Gomez-Villamandos et al., 2013)

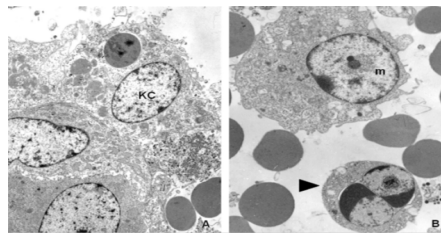


图 11: 病毒感染后激活的单核 / 巨噬细胞
A. KC 为激活后的枯否氏细胞; B. m 为单核细胞, 箭头所指为凋亡中的淋巴细胞
来源: (Gomez-Villamandos et al., 2013)

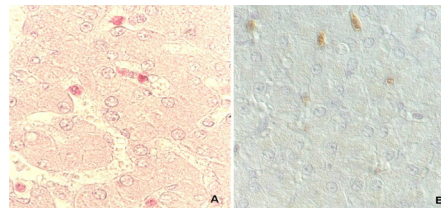


图 12: IHC 检测巨噬细胞激活后分泌 TNF- α 和 IL-1 β 。
来源: (Gomez-Villamandos et al., 2013)

二、病毒造成的病理损伤

ASF 造成的病变以多脏器的出血为典型特征，曾经认为 ASFV 对血管内皮细胞的感染和破坏是造成病变的主要因素 (Colgrove et al., 1969)，但是随后的研究表明，典型的出血症状出现在内皮细胞感染前，因此 ASFV 造成的急性病理损伤主要是由单核 / 巨噬细胞导致的 (Carrasco et al., 1997; Carrasco et al., 1996b; Gomez-Villamandos et al., 1995a)。

1、出血性病变

病毒感染单核 / 巨噬细胞后，会激活上调细胞功能，使得巨噬细胞数量增加，吞噬能力增强，分泌细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6) 水平上升 (Gomez-Villamandos et al., 2013)。数量和功能增多的巨噬细胞首先出现在淋巴结，进而到脾脏，随后在全身各个组织器官出现 (1-2 dpi)。单核 / 巨噬细胞功能的增强，会导致不同器官 / 组织血管内皮细胞吞噬功能的激活（表现为内皮细胞溶酶体增加，积累大量的细胞碎片）（图 13），导致内皮细胞肥大，某些血管腔闭塞，血管内压力增大，进而破坏血管壁完整性；血液中的红细胞会进入毛细血管外间质，导致出血；同时当血小板和毛细血管基底膜接触后，会激活凝血系统，使机体产生弥散性血管内凝血的现象 DIC (Villeda et al., 1993a; Villeda et al., 1993b)。低毒力的 ASFV 毒株对毛细血管内皮细胞的损伤较轻，主要造成毛细血管的扩张

和渗透率增加，使得血细胞大量渗出至毛细血管外间质，造成出血水肿 (Gomez-Villamandos et al., 1995a)。

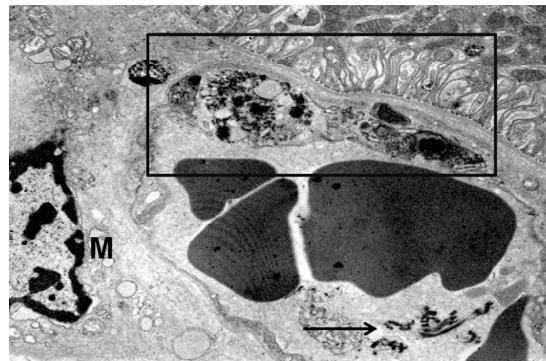


图 13: 激活的巨噬细胞以及吞噬功能激活的间质肾脏毛细血管内皮细胞（方框）。来源：(Gomez-Villamandos et al., 2013)

2、脾脏充血性肿大

ASFV 在淋巴结复制扩散后，首先进入脾脏。脾脏红髓的边缘区和富含毛细血管的区域是病毒复制的主要区域。脾脏红髓中存在大量的平滑肌细胞和纤维，外层围绕脾索巨噬细胞。当 ASF 在该巨噬细胞中复制后，造成该类细胞脱离、消失，而平滑肌细胞直接与血液中凝血因子接触，使血小板激活聚集，激发凝血系统，使纤维蛋白沉积 (Gomez-Villamandos et al., 1996)；红细胞随后在脾脏中的大量蓄积，影响了血液供氧功能，进而导致大量的淋巴

细胞死亡，表现为淋巴细胞耗竭。脾脏由于大量充血呈现严重的肿大，可达正常大小的6倍以上。低毒力毒株感染病变较轻，仅表现为脾脏质地坚实。

3、肺脏水肿

ASFV 的感染同样导致严重的肺脏水肿。肺脏血管巨噬细胞 PIM 是 ASF 的主要感染对象。病毒的感染复制会使 PIM 激活，分泌功能增强，分泌大量的趋化因子和促炎性细胞因子，导致血管压力增大，内皮细胞的通透性增强，肺泡上皮细胞和毛细血管分离，形成肺泡水肿 (Carrasco et al., 1996a; Carrasco et al., 2002)。大体病变体现为肺脏的水肿，并在呼吸道内可见大量的泡沫。

4、白细胞减少症

ASFV 感染后会导致严重的白细胞减少症。目前研究认为，病毒感染单核 / 巨噬细胞后，能够产生大量的单核因子，从而诱导淋巴细胞的凋亡是白细胞减少症的最主要因素；感染的后期，由于血管损伤和 DIC 导致的缺氧加重了淋巴细胞减少症 (Salguero et al., 2005)。

三、病毒控制细胞凋亡

ASFV 能够选择性的对宿主细胞通路进行调节——促进或抑制细胞的凋亡 / 死亡，满足自身复制生存的需求，同时抑制宿主自身的抗病毒防御基质 (Reis et al., 2017)。

当宿主细胞受到病毒感染后，会保护性地启动凋亡基质，使细胞死亡从而防止病毒的复制，但 ASFV 的感染会抑制这种程序性死亡的发生。目前已知至少有三种蛋白——A179L、A224、EP153R 能够抑制宿主细胞的凋亡。以上三种蛋白能够广泛的作用于细胞中抑制凋亡的信号通路 (Banjara et al., 2017; Hurtado et al., 2004; Nogal et al., 2001; Revilla et al., 1997)；此外，宿主细胞感知异常信号存在时，会使真核翻译起始因子 eIF2 磷酸化，关闭蛋白合成系统，而 ASFV 表达的 DP71L 则能招募宿主蛋白磷酸酶 PP1 对其进行去磷酸化，使得细胞不能关闭蛋白合成，促进病毒在细胞内的大量复制 (Zhang et al., 2010)。

当病毒完成复制后，ASFV 则可以通过 E183L 等蛋白，激活细胞的凋亡信号通路，促进细胞裂解，同时能够招募其靶细胞——单核 / 巨噬细胞，便于进一步的感染复制 (Hernaiz et al., 2004)。

第五章

免疫机制



动物机体抵抗病毒的免疫反应主要包括两个部分：非特异免疫和特异性免疫。前者包括机体的物理屏障、非特异的免疫细胞（巨噬细胞、自然杀伤细胞等）、抗病毒蛋白、以及先天性免疫应答（通过模式识别受体 PRR 识别病原的相关分子模式 PAMPs，引发一系列非特异免疫反应），是病毒感染的第一道防线；后者也称为适应性免疫应答，包括体液免疫和细胞免疫应答，是机体面对病毒再次感染时的强大免疫防线。

一、先天性免疫

先天性免疫是机体早期抵抗病毒感染的重要环节，能够通过相关免疫细胞的模式识别受体 PRRs 识别病原表面的相关分子模式，激活一系列抗感染免疫应答。由于 ASFV 急性感染的特性，其需要在早期抑制宿主先天性免疫，实现其在感染早期复制扩散的目的。

在病毒感染早期，包括 Toll 样受体（TLR）在内的多种信号通路能够激活抗病毒反应，抑制病毒的感染复制，其中 I 型干扰素（IFN- α/β ）即是细胞分泌一种重要细胞因子，能够诱导多种相关基因（ISGs）的表达，实现抗病毒免疫。ASFV 感染宿主细胞后，能够通过不同的基因表达抑制宿主抗病毒免疫信号路。ASFV 的 I329L 基因是宿主 TLR-3 受体的拮抗性配体，能够有抑制此条信号通路诱导的 IFN 产生，同时也抑制 TLR-4 信号通路产生 IFN(de

Oliveira et al., 2011)；病毒 A276 和 A528R 基因的表达能够抑制宿主细胞产生 IFN，干扰先天性抗病毒免疫 (Afonso et al., 2004)。利用基因操作的方法敲除干扰宿主先天性免疫应答的基因后，病毒的繁殖能力和毒力显著降低，表明良好先天性免疫在早期抗病毒感染中的重要性 (Burrage et al., 2004; O' Donnell et al., 2015b; Reis et al., 2016)。

二、体液免疫

体液免疫应答即抗体免疫应答，病原刺激免疫系统产生特异性抗体，能够与特定的抗原位点结合，阻断病原感染，实现清除功能。ASFV 强毒株感染会导致猪只急性发病死亡，免疫系统缺乏足够的时间产生抗体。因此体液免疫应答的规律多基于中低毒力毒株进行研究。

家猪在感染 ASFV 后，能够在 7-10 天后产生特异性抗体，并且维持相当长的时间 (Gallardo et al., 2018)。长期以来有些研究认为，ASFV 所激发的抗体不具备中和活性 (Hess, 1981; Vinuela, 1985)，相反更多的研究结果则认为 ASFV 能够激发宿主产生中和抗体 (Borca et al., 1994; Gomez-Puertas et al., 1996)。在体外进行的病毒中和试验表明，ASFV (E75CV1-4 毒株) 激发的抗体能够中和多个不同 ASFV 分离株，中和能力根据不同的毒株所有差异 (Zsak et al., 1993)。之所以出现上述差异性结果，可能的解释是：长期细胞适应传代会使 ASFV 囊膜的形成途径和

磷脂组成发生改变，导致抗体对其中和能力出现变化，抗体对高度细胞适应的 ASFV 毒株的中和能力显著降低 (Gomez-Puertas et al., 1997)。因此对 ASFV 抗体中和能力的评估，可能因为毒株的差异而出现了偏差。

由此，ASFV 所激发的抗体具备中和能力，目前已知的抗体的中和机制有以下两类：1) 抗体能够阻断病毒对于宿主细胞的黏附 (Alcami et al., 1989; Gomez-Puertas et al., 1996); 2) 对于已经黏附的病毒，中和抗体能够阻止其进一步内化进入靶细胞 (Gomez-Puertas et al., 1996)。两种机制具有相同的阻断效力 (Escribano et al., 2013)。

目前 ASFV 所激发的抗体已经被证明是保护性免疫的重要组成部分。将 ASFV 感染存活动物的血清，被动转移给未感染个体，能够提供部分的免疫保护，动物的临床发病和病毒血症出现时间推后，平均和最大病毒载量明显下降 (Onisk et al., 1994)，表明特异性抗体在病毒感染的早期能够发挥有效的保护左右；有研究表明，当 ASFV 抗体通过母源抗体被仔猪获得后，能够为仔猪提供部分的保护力 (Schlafer et al., 1984)。但是，另外的研究也表明，在细胞免疫缺失的情况下（阻断 CD8+T 细胞的功能），抗体的不能提供完全的免疫保护 (Oura et al., 2005)，因此针对 ASFV 的免疫保护同时依赖于细胞免疫和体液免疫。

目前已知 ASFV 表达的 P72、P30、P54 三种蛋白是诱导中和抗体产生的免疫优势蛋白，能够激发宿主产生中

和抗体，抑制病毒的细胞黏附或内化 (Gomez-Puertas et al., 1998; Gomez-Puertas et al., 1996)。但是不同的研究小组利用以上蛋白进行的免疫保护试验没有体现出良好的重复性，很可能由毒株或免疫程序的差异所导致 (Barderas et al., 2001; Gomez-Puertas et al., 1998; Neilan et al., 2004)。此外，ASFV 的 p54 蛋白激发的抗体也被认为具优良的好病毒中和能力 (Escribano et al., 2013)。

三、细胞免疫

细胞免疫应答在宿主低抗病毒感染过程中发挥非常重要的作用，目前已经证明 ASFV 感染动物体后，能够激发良好的细胞免疫应答。由于强毒株感染会在短时间内造成家猪的死亡，对于细胞免疫的研究多基于中低毒力毒株或致弱的毒株 (Fishbourne et al., 2013)。ASFV 感染宿主后能够在血清和组织中检测到大量 TNF α ，IFN α/β ，IL-1 β (Karalyan et al., 2012; Salguero et al., 2002)；使用 ASFV 抗原对病毒感染猪外周血淋巴细胞 (PBMC) 进行刺激，也能够呈现特异性 T 淋巴细胞增殖，且能分泌大量 IL-2、IFN- γ 等 CMI 相关细胞因子，证明了 ASFV 感染宿主后能够激发针对病毒的特异性细胞免疫应答 (Sanchez-Vizcaino et al., 1981)；且实验表明病毒感染 4 周后，PBMC 中 T 淋巴细胞增殖反应达到顶峰，并被归类于记忆性辅助 T 细胞 (Alonso et al., 1997; Casal et al., 1987; Revilla et al., 1992)。

宿主针对 ASFV 产生细胞免疫应答的过程中，细胞毒性 T 细胞 (Cytotoxic T Lymphocytes) 和自然杀伤细胞 (Natural Killer Cell) 发挥重要的作用。两种细胞能识别并杀伤 ASFV 感染细胞，起到清除感染的作用，同时还能够分泌大量的细胞因子，促进细胞免疫应答。已有的研究证明了 ASFV 感染宿主后，能够激发良好的 CTL 和 NK 细胞应答，但是应答特征因宿主（品种、日龄、个体差异）和毒株差异（基因型、毒力）而有较大差异 (Norley and Wardley, 1983; Denyer et al., 2006; Takamatsu et al., 2013)。

细胞毒活性的 T 细胞在 ASFV (Uganda 株) 感染动物 7-8 天后能在 PBMC 中检测到 (Martins et al., 1993; Norley and Wardley, 1983); 随后的动物实验证明，ASFV 感染存活猪只再次感染病毒后，能够激发大量的 CD8+T 细胞，通过流式细胞术 FCM 检测证实该类细胞属于 CTLs，且与免疫保护呈明显正相关性 (Netherton et al., 2006); 当阻断上述动物 CD8+ T 细胞功能时，动物针对 ASFV 的感染保护明显降低，表明该类 CTLs 细胞所发挥的重要作用 (Martins et al., 1993; Oura et al., 2005)。目前已有三个针对 ASFV 的 CTLs 表型已经被报道 (Netherton et al., 2006)。

NK 细胞在 ASFV 感染后的应答特征因毒株不同表现了较大差异。ASFV (NH/P68 株) 感染后 7 天能在动物体内检测到 NK 细胞的杀伤活性，而且这种杀伤活性与临床保护呈现正相关 (Leitao et al., 2001); 而同属基因 I

型的另一毒株感染则会造成 NK 细胞在 3-6 dpi 的活性下降 (Martins and Leitao, 1994)。可能的原因是低毒力的毒株能够激发良好的 NK 细胞，而高毒力毒株则会形成抑制 (Fishbourne et al., 2013)。此外免疫系统中 NKT 细胞也被认为在细胞免疫应答中发挥作用。由于 ASFV 含有一层磷脂双分子层，NKT 细胞可能识别其脂质抗原，并被激活 (Hawes et al., 2008)。当 NKT 细胞和 ASFV 感染细胞共孵育时，其能够明显增殖并参与相应的细胞因子分泌 (Fishbourne et al., 2013)。

细胞因子的分泌对 CMI 有十分重要的调节作用。IFN- γ 的产生对于免疫细胞抗病毒功能的上调有非常重要的作用。鉴于 ASFV 的主要靶细胞是巨噬细胞，IFN- γ 的分泌就显得尤为重要。研究表明同源毒株的再次感染能够激发良好的 IFN- γ 的产生 (Revilla et al., 1992)，而异源毒株之间则存在较大差异，与基因型和分离株特性均有关系 (King et al., 2011)。值得注意的是，异源毒株之间激发 IFN- γ 产生的能力，与彼此交叉保护力呈现正相关性 (Fishbourne et al., 2013; King et al., 2011)。

对于 ASFV 诱导的免疫应答特征目前尚不完全清晰，根据已有文献中的描述，我们将不同免疫应答产生的时间进行了汇总，见表 6。

表 6：ASFV 感染后免疫应答产生时间

内容	产生时间 (天)	参考文献
抗体	7-10	(Gallardo et al., 2018)
中和抗体	9	(Gomez-Puertas et al., 1996)
中和抗体达到最高点	>14	
特异性 T 细胞	10	(Fishbourne et al., 2013)
细胞毒性 T 细胞	7-8	(Norley and Wardley, 1984)
NK 细胞	7	(Leitao et al., 2001)
同源毒株免疫 - 保护时间 *	36	(Oura et al., 2005)
不同 ASFV 毒株激发免疫应答不同，表中数据是相应研究特定毒株所得数据		
* 使用 ASFV 接种存活的猪只，在 36 天后再次感染同源强毒，获得完全的保护		

四、交叉免疫

ASFV 感染存活个体能够对同源或亲缘关系较近的毒株产生免疫保护，但是对于亲缘关系较远的毒株缺乏有效的交叉保护。根据 B646L 基因序列，ASFV 被分为 23 个基因型，但是这个基于该基因的亲缘关系的进化关系并不能够预测交叉保护的产生 (Fishbourne et al., 2013)。例如使用 I 型毒株 (OURT88) 免疫的猪只，能够对两个 I 型和 X 型毒株产生免疫保护，而对另外两个分属 I 型和 VIII 型的毒株无法产生保护。因此对于不同毒株之间的交叉保护有待于更加科学的基因分型或交叉保护实验。

第六章

诊断检测



ASF 的准确、快速诊断对于防止 ASF 蔓延、快速扑灭和根除尤其重要。ASFV 自然感染的潜伏期大约为 4—19 天 (Wardley et al., 1983), 感染后 7-10 天可检测到抗体。一个地区或猪场首次暴发 ASF 时呈最急性、急性感染临床症状, 感染猪只表现为急性出血、死亡, 由于首次暴发时发病猪只在抗体出现前就已经死亡, 此时首选抗原检测方法。随着病毒循环和扩散, 其毒力会下降, 感染猪只表现为亚急性和慢性感染临床症状 (Bech-Nielsen et al., 1995; Penrith et al., 2004; Wardley et al., 1983), 此时抗体检测更适用于疫情的监测和 ASF 根除计划。

一、临床诊断

ASF 的临床症状和许多其他猪的疾病很相似, 特别是猪瘟、猪丹毒和猪高致病性蓝耳病等。鉴别诊断依靠病原学或血清学诊断。

ASFV 感染后, 发病率一般在 40-85% 之间, 死亡率由 ASFV 毒株的毒力决定。高致病性毒株死亡率可达 90-100%; 中致病性毒株在成年动物能引起 20-40% 的死亡率, 在幼年动物中引起 70-80% 的死亡率; 低致病性毒株能够造成 10-30% 的死亡率。

特急性型 ASF 表现为突然死亡, 临床症状不明显。急性症状表现为食欲减退、发热 (40-42℃)、肺水肿、淋巴组织广泛坏死和出血、皮下出血和高死亡率 (Gomez-

Villamandos et al., 1995b; Mebus, 1988)。亚急性或慢性感染有时可能会出现鼻出血、便秘、呕吐, 出血性腹泻。在四肢、耳、胸部、腹部和会阴部位出现不规则的出血斑, 这些症状在感染中等致病毒株的猪中较为明显 (图 14, 图 15)。怀孕母猪常发生流产。

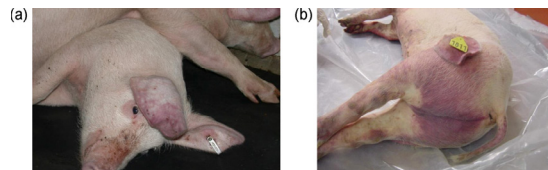


图 14: 典型非洲猪瘟的临床症状

a. 最初耳部尖端发红;
b. 随后全身皮肤发红、出血。
来源: (Oura et al., 2013)



图 15: 急性和亚急性非洲猪瘟临床症状

a. 急性非洲猪瘟, 皮下出血、坏死斑;
b. 亚急性非洲猪瘟, 腿部皮肤出血点;
c. 亚急性非洲猪瘟, 肛门周围附着出血性粪便。
来源: (Gallardo et al., 2015c)

全身脏器出血、坏死是 ASF 的主要临床表现，具体表现为皮下出血，淋巴结广泛出血和坏死，严重时呈黑色。肺水肿。脾脏肿大、质脆变脆，肾脏、肠系膜和浆膜出血（图 16，图 17）。

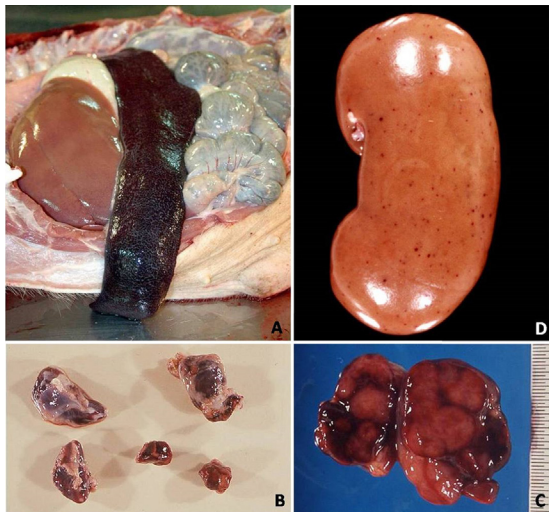


图 16：急性非洲猪瘟解剖病变。

- A. 脾脏肿大，紫黑色；
 - B. 淋巴结严重出血；
 - C. 淋巴结切面，出血、湿润；
 - D. 肾脏肿大、表面出血大量出血点。
- 来源：(Sanchez-Vizcaino et al., 2015)



图 17：亚急性非洲猪瘟解剖病变。

- A. 胆囊壁严重水肿；
 - B. 肾脏周围水肿；
 - C. 脾脏部分充血、肿大；
 - D. 肝、胃淋巴结出血；
 - E. 肾门淋巴结出血；
 - F. 肾脏皮质、髓质、肾盂严重出血。
- 来源：(Sanchez-Vizcaino et al., 2015)

二、病原学诊断

病原学诊断依赖于活病毒、抗原、基因组的检测，包括病毒分离、抗原 ELISA、荧光抗体检测（FAT）、PCR 和等温扩增分析等方法。目前实时荧光定量 qPCR(Quantitative real-time PCR, qPCR) 使用最为广泛，对 ASFV 诊断具有很高的灵敏性和特异性。

ASFV 主要在网状内皮系统的细胞内复制。可采集的临床样品包括抗凝血（EDTA）、脾脏、肝脏、淋巴结和扁桃体（PJ, 1989）。若需病毒分离，样品运送过程中需保持低温冷藏，不能冷冻。

1、病毒分离

ASFV 可以从血液、脾脏、肝脏、淋巴结和扁桃体等组织中分离。红细胞吸附（HAD）实验可用于 ASFV 检测（图 18）。但是后来发现部分 ASFV 毒株呈现 HAD 阴性。

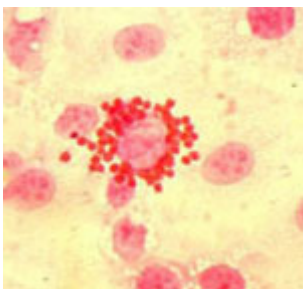


图 18：ASFV 感染的巨噬细胞周围吸附大量红细胞。

来源：<http://asf-referencelab.info/asf/en/procedures-diagnosis/diagnostic-procedures>

2、荧光抗体检测（FAT）

用疑似感染 ASF 的猪组织制作涂片或冰冻切片，内源性的抗原可与特异性的 AFSV 荧光抗体结合，显微镜直接观察结果。优点是快速、特异高，对于急性病例的诊断灵敏度较高，但对亚急性或慢性 AFS，由于自身抗体会阻断荧光抗体与抗原的结合，容易出现假阴性结果。

3、抗原 ELISA

病毒抗原也可用 ELISA 检测，但只推荐在急性病例时使用，灵敏度没有 PCR 检测方法高（Steiger et al., 1992）。第一个直接 ELISA 检测 ASFV 的方法能检测的抗原浓度是 50-500 HAD50/ml（Wardley et al., 1979）。后来基于 VP72 单抗的双抗夹心法 ELISA 具有较高的灵敏性（Vidal et al., 1997）。分子诊断技术

目前 qPCR 被认为是 ASFV 基因检测的金标准，被用在 OIE 所有的区域性参考实验室。血液、血清和组织样本都可用于 qPCR 检测。优点是快速、敏感性和特异性都很高。能够检测出所有 ASFV 毒株（23 个基因型），甚至因保存不当而降解的样本也可用于检测（Boshoff et al., 2007）。但容易因交叉污染出现假阳性的结果，此外，因 PCR 抑制物及核酸降解出现的假阴性也应该注意。

King 首次报道 TaqMan 探针荧光定量 PCR 检测方法（King et al., 2003），该方法在 OIE 推荐方法，引物针对 VP72 保守区域，有很高的特异性和灵敏度，针对 25 种 ASFV 毒株和 16 种非洲及欧洲的软蜱 ASFV 毒株，灵敏度达到 10-100 个核酸分子。

现在在使用的几种分子诊断技术见下表 7：

表 7: Real-time PCR, Linear-After-The-Exponential-PCR (LATE-PCR) 和等温扩增技术

检测方法	靶位基因	内参	灵敏度 (拷贝数)	特异性 (不同毒株数)	可靠性 (田间样本数)	参考文献
Real-time PCR(TaqMan)	VP72	Artificial template	10–100	41	None	(King et al., 2003)
Real-time PCR (TaqMan)	VP72	None	1.4 to 8.4	48	6 份实验感染猪样本	(Zsak et al., 2005)
MGB probe PCR	9GL gene	None	20	15	6 头实验感染猪样本	(McKillen et al., 2010)
Real-time PCR (TaqMan)	VP72	β-Actin	5.7–57	44	170 份田间样本、111 份实验样本	(Tignon et al., 2011)
UPL probe PCR	VP72	β-Actin	18	46	260 份田间样本	(Pinero Fernandez et al., 2012)
LATE-PCR assay	VP72	None	1–10	19	实验感染猪的组织样本	(Ronish et al., 2011)
Invader R isothermal assay	VP72	No control	2500	1	None	(Hjertner et al., 2005) Viral/*analysis/*keyword=<keyword-Molecular Sequence Data/> keyword=<keyword-Polymerase Chain Reaction/*methods/> keyword=<keyword-Sensitivity and Specificity/> keyword=</keyword> <dates>year=2005/</year> <pub-dates><date>Mar/</date> </pub-dates> </dates> <isbn>0166-0934(Print
LAMP isothermal assay	Topoisomerase II gene	No control	330	38	7 份实验感染猪样本	(James et al., 2010)

MGB, minor groove binder; UPL, Universal Probe Library; LATE, Linear-After-The-Exponential; LAMP, loop-mediated isothermal amplification

来源：(Oura et al., 2013)

三、血清学诊断

猪感染 ASFV 后 7-10 天可出现抗体，抗体可以持续很长时间，由于目前没有 ASF 疫苗可用，因此抗体检测可作为感染 ASFV 的诊断依据，尤其是针对于亚急性和慢性 ASF，适合大规模抗体筛查。在 ASF 根除计划中有很重要的作用。

ASFV 编码多种蛋白，具有诊断意义的蛋白主要有 p72，p54，p30(p32) 和 p62 蛋白。常用抗体检测方法主要有 ELISA，间接免疫荧光实验 (IIF)、对流免疫电泳 (IEOP) 和免疫印迹 (IB) 等。

最早用于 ASF 抗体检测的是对流免疫电泳 (IEOP) (Pan et al., 1972)，后来被敏感性更高的 ELISA 取代，国际间贸易多用 ELISA 检测。鉴于 ELISA 检测容易出现假阳性结果，阳性样本需要再次进行 IIF 或 IB 检测确认。IB 可对结果作出一个简单客观的解释 (Alcaraz et al., 1990; Pastor et al., 1989)。

四、病理学诊断

全身多个脏器淤血、出血、坏死是 ASF 的主要临床表现，大体病变见 (临床诊断部分)。

组织病理学表现为出血、淤血，脾脏 (图 19)、肝脏 (图 20)、胸腺 (图 21)、肠道 (图 22)、肺和脑 (图 23) 等组织中的单核、淋巴细胞出现核固缩、核碎裂。鉴于 ASF 的特殊性，需要依靠病原学和血清学进行确诊和鉴别诊断。

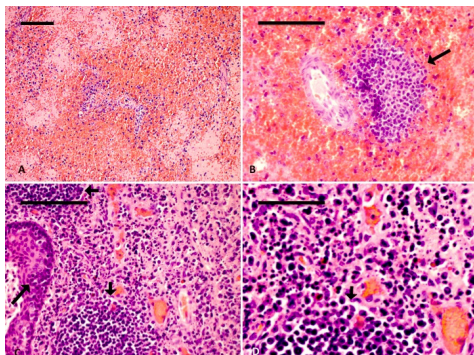


图 19: ASFV 感染猪的脾脏 (A、B) 和扁桃体 (C、D)。
A. 脾脏红髓和白髓大面积出血、坏死，淋巴细胞减少；
B. 残存的淋巴组织 (箭头所指)；
C-D. 淋巴细胞坏死、核碎裂。(长箭头指部分隐窝，短箭头指部分滤泡)。

来源: (Ganowiak, 2012)

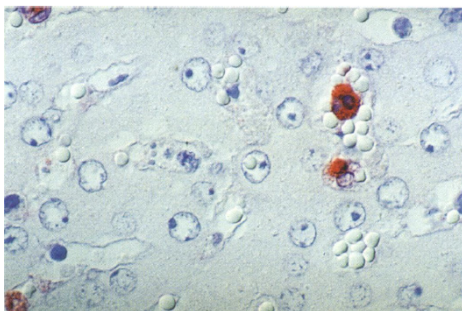


图 20: 感染 ASFV 12 天后，肝脏免疫组化结果。可见枯否氏细胞 (棕色) 周围吸附多个红细胞 (红细胞吸附现象，HAD)。

来源: (Rodriguez et al., 1996)

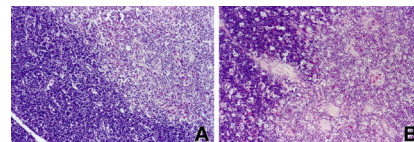


图 21. 感染 ASFV 6 天后胸腺。
A. 正常胸腺对照；B. 淋巴细胞严重耗竭，呈现星空样。
来源: (Salguero et al., 2004)

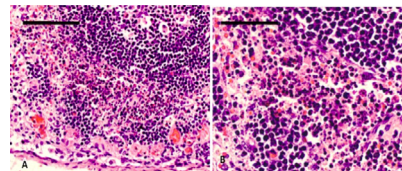


图 22: 急性 ASF 肠系膜淋巴结。淋巴细胞坏死、核碎裂。
来源: (Ganowiak, 2012)

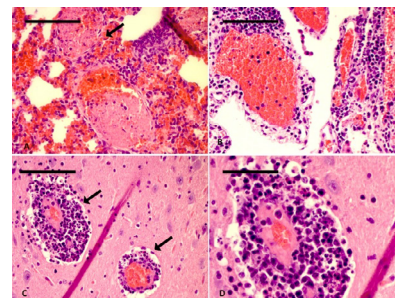


图 23: 感染 ASFV 后肺与脑组织病理变化。
A. 肺脏严重充血，血管因血栓堵塞而显著扩大 (箭头所指)；
B. 脑脉丛血管严重充血，部分血管周围出现单核细胞浸润；
C-D. 脑实质血管周围出现大量单核细胞浸润，呈“血管套”现象，浸润的单核细胞出现核碎裂。

来源: (Ganowiak, 2012)

第七章

疫 苗



虽然科研人员一直致力于制备有效的疫苗以预防 ASF, 但截至目前仍未取得成功。

一、灭活疫苗

无论是细胞培养的 ASFV, 还是利用感染 ASFV 的猪组织制备的灭活疫苗, 接种猪后虽然能够产生高效价的抗体, 但不具有有效的保护。免疫猪血清中的抗体只能降低病毒滴度, 并不能完全中和病毒。即使是耐过猪的血清也不能中和 ASFV。

二、弱毒疫苗

研究证实 ASFV 经过多次传代后可以致弱, 致弱毒株免疫猪仅对同源强毒株产生一定免疫保护 (Hamdy and Dardiri, 1984; Lacasta et al., 2015; Leitao et al., 2001; Mebus and Dardiri, 1980)。但是随着传代次数增加, 在致病力下降的同时, 免疫原性也随之下降。人们对 ASFV 感染与免疫、ASFV 毒株变异程度及 ASFV 蛋白 (保护性抗原) 诱导免疫保护的作用等方面认识的局限, 极大阻碍了疫苗的研究进展。即使保护性抗原的确定、当前流行毒株种类得到确认, 交叉保护得到突破研制出有效的疫苗, 如何区别免疫猪和感染猪也是一个很重要的问题。安全性和有效性往往是一个对立的问题, ASFV 弱毒疫苗接种会后能够导致慢性的 ASF 感染。这一现象首次在葡萄牙观察到,

接种 ASFV 骨髓传代疫苗后, 25-47% 的免疫猪出现慢性 ASF (Portugal et al., 2015)。

三、基因缺失疫苗

理论上相对于传统致弱疫苗, 基因缺失疫苗在提高安全性和有效性方面有较大优势, ASFV 毒力基因和宿主范围相关基因得到鉴定 (Chapman et al., 2008; Dixon et al., 2004; Tulman et al., 2009; Tulman and Rock, 2001)。缺失胸苷激酶基因 (TK), 9GL (B119L), NL (DP71L) 和多基因家族多个成员 (MGF 360/505) 的致弱毒株能够抵抗同源强毒攻击 (Lewis et al., 2000; O' Donnell et al., 2015a; O' Donnell et al., 2015b; Zsak et al., 1996)。然而, 基因缺失致弱毒株的免疫效果也可能具有毒株依赖性, 例如, 欧洲强毒 E70 毒株缺失 NL (DP71L) 后对两种非洲 ASFV 毒株没有免疫效果 (Afonso et al., 1998; Neilan et al., 2002)。

四、亚单位疫苗

研究发现 ASFV 中和抗体针对 p30、p54 和 p72 三个病毒蛋白 (Borca et al., 1994; Gomez-Puertas et al., 1996; Ruiz Gonzalvo et al., 1986; Zsak et al., 1993)。同时接种 p30、p54 只能提供约 50% 的保护 (Barderas et al., 2001; Gomez-Puertas et al., 1998)。Neilan 等证实 p30、p54 和 p72 同时免疫后不能提供免疫保护 (Neilan et al., 2004)。

ASFV 的 CD2v 蛋白也有一定免疫保护，CD2v 是已知唯一与细胞 CD2 同源的病毒蛋白。杆状病毒表达的 GO0W 蛋白只能提供部分保护 (Burmakina et al., 2016)。

五、DNA 疫苗

Argilaguët 等将 p54 和 p30 基因连入构建的质粒 pCMV-PQ 中，使之能够表达溶解性的 p30 和 p54 蛋白，这种方法构建的 DNA 疫苗免疫猪后并未获得满意的免疫保护 (Argilaguët et al., 2012)。

第八章

生物安全措施



如前所述，目前还没有安全有效的 ASF 疫苗来防控疾病。因此，通过严格的生物安全措施来避免猪只与 ASFV 的接触是当前防控 ASF 的有效手段 (Penrith et al., 2004; Smietanka et al., 2016)。不同猪场的生物安全标准和生产水平有很大差异 (Wieland et al., 2011)，所以预防 ASF 感染的生物安全措施应该考虑疾病的流行病学特征（特别是病毒对环境的抵抗力），传播途径和当地猪场的特征等多方面的因素 (Arias et al., 2017; Sanchez-Vizcaino et al., 2012)。

一、提高场内所有人员防控非洲猪瘟（ASF）的生物安全意识

1、所有员工必须接受生物安全培训学习

一个生物安全方案的具体执行需要猪场的工作人员首先必须了解猪场的生产体系并清楚疾病以及疾病的传播途径等知识，在理解所制定的生物安全方案后才能正确、严格的实施。所以在实施任何生物安全方案前，猪场应设置生物安全专职经理，制定猪场内部详细的预防 ASF 生物安全培训学习计划，系统的培训所有员工。

2、通过政府发布的防控政策来进一步完善生物安全措施

除了猪场的生物安全培训学习外，要时刻关注国家的法律法规和预防 ASF 政策，由生物安全专职经理负责引进与 ASF 相关的法律法规培训内容，制定相关的培训计划并有序实施。

3、定期对员工的生物安全培训效果和实施效果进行评估

生物安全措施只有正确、严格地实施后才能降低疾病传播的风险。在猪场员工清楚所制定的措施后，能不能正确去落实才是最关键的一步。猪场生物安全经理负责建立有效的培训学习评估体系，包括集中培训的效果评估和现场评估（图 24），通过严格的内部审核和评估确保所有员工可以正确实施防控 ASF 的生物安全措施



图 24：确保生物安全措施严格执行到位。

二、禁止从疫区引入新的后备种猪、精液、卵细胞或胚胎等

1、识别疫区，明确后备种源供应场的健康状况

1) 在没有特殊情况下，猪场尽量封群，减少引种频率；
2) 供应场的数量要尽可能的单一，而且在引种前猪群的健康状态应该仔细的评估，确保猪群健康并且供应场不在疫区 (Jurado et al., 2018; Sanchez-Vizcaino et al., 2015)；

3) 在引种过程中为了减少病原扩散的风险，应该集中精力来管理猪只的运输和猪场的出猪台区域的生物安全措施；

2、引种后在场外隔离舍进行隔离措施

1) 猪群物理隔离的目的是减少易感动物直接与感染猪只接触的机会。

2) 根据猪场的生产体系，尽量设定一个远离猪场的场外隔离舍（大于 1 公里），同时这个隔离舍也应适当的远离其它猪场、屠宰场、猪肉加工场、生猪交易市场和繁忙的公路 (Bellini et al., 2016)。

3) 引种的猪群应该至少隔离 30 天，在隔离期间也应该密切关注猪群的健康状态。临床评估是早期发现 ASF 有效的工具 (EFSA, 2015)，但也要结合血清学和病毒学的监测来排除其它病原的干扰 (OIE, 2016)。

3、禁止隔离后临床上不健康的猪只进群

1) 在隔离驯化期间出现临床上不健康猪只，或出现死亡时，整个隔离猪群应该在确定具体原因后再决定进不进场。

三、所有进出猪场的车辆要严格遵守车辆的清洗、消毒和干燥程序

1、车辆运输是传播疾病的主要风险

1) 车辆可以运输猪只到猪场、交易市场 / 屠宰场，也有运输饲料和死猪的，这都是传播疾病的一个主要风险。

2) 与猪场发生联系的所有车辆都应该纳入到传播疾病的范围内。如猪场内部车辆（包括内部人员转运车辆，饲料、猪只转运车辆等），外部车辆（包括外部饲料车，猪只转运车辆和员工自有车辆等）。

3) 禁止出入畜禽养殖场、屠宰场、集贸市场等的未经消毒干燥车辆或人员靠近猪场 (Bellini et al., 2016)。

2、建立严格的车辆清洗消毒体系

1) 运输猪只的车辆应该在每次运输完成后立即清洁消毒。根据猪场内分离的原则，建立至少两个独立的清洗消毒中心：内部洗消中心专门用于本猪场体系内部猪场之间饲料、猪只转运车辆和本体系员工车辆使用，外部洗消中心专供外部饲料、猪只转运车辆以及外部人员车辆使用。

2) 车辆有效洗消程序包括五步：除去杂物、泡沫浸泡、冲洗、消毒和干燥程序：

a) 去除杂物：去除卡车上所有的垫料、粪便和其它杂物；

b) 泡沫浸泡：生物膜是由微生物分泌的粘液形成的结构，为细菌和病毒提供了保护。由于消毒剂不能有效

的穿透生物膜，在消毒步骤前应该用碱性洗涤剂（去除脂肪和油性生物膜）或酸性洗涤剂（去除矿物质生物膜）均匀喷洒到卡车表面，浸泡 30 分钟；

c) 冲洗：所有表面进行高压热水冲洗，水温不超过 60° C 即可；

d) 消毒：消毒之前确保卡车处于一个没有残留水分的状态，否则残余的水分会对之后使用浓度的消毒剂有稀释的作用，起不到有效的消毒。室温条件下消毒剂的作用时间通常为 30 分钟，随着温度的降低，消毒时间应适当延长。最好将消毒剂泡沫化，使其更好的附着在物体表面起到有效消毒的作用；

e) 干燥：干燥是去除病原微生物过程中非常关键的一个步骤，可以在最大程度上保证微生物被杀死，通常的自然晾干并不是有效的干燥，应配合辅助加热器的使用。

3) 在洗消结束后采集车辆有关部位的检测样本，进行相关细菌 / 病毒的病原监测，评估车辆清洗，消毒和干燥的效果；

4) 需要采集的部位包括：驾驶室脚踏板、方向盘、车厢第一层底部左上角、车厢第一层底部右下角、车厢第二层底部右上角、车厢第二层底部左下角、车厢挡板。

3、车辆运输原则

1) 规划好车辆的运输路线，避免车辆经过疾病威胁区和养殖高密度区域，减少在路上的停留时间，不与其他动物运输车辆交叉；

2) 按照运输猪只的健康状况排列运输次序，从高健康状况到低健康状况，从低密度区到高密度区，从产房到保育育肥；

3) 训练有素的司机和生产人员，卡车司机在装卸猪只过程中不离开驾驶舱。如果司机要离开驾驶舱，那就要严格遵循猪场的生物安全措施。卸猪人员也应该十分小心来自卡车的污染，可以通过建立一个出猪台区域的净区和脏区体系来划分卡车 / 卡车司机与本场猪只和人员之间的界限 (Bellini et al., 2016)；

4) 建立猪场固定 / 临时公共转猪中心，猪只出入的运输管理，包括卡车、出猪台、卡车司机等实施流程管理，禁止外部运输猪只车辆 (特别是进出屠宰场车辆) 靠近猪场，目的在于最大限度的降低外部运猪车辆对猪群健康的生物安全风险。

四、禁止疫区物品入场，特别是生肉和肉制品

1、评估和识别来自敏感区域的物品，包括饲料、垫料、生产工具等

如第三章所述，ASFV 对外界抵抗力非常强：能够在 pH 4-10 的范围内保持稳定，60°C 20 分钟才能灭活。烟熏香肠和自然晾干的火腿要求在 32-49°C 烟熏 12 小时，随后 25-30 天的干燥才能消灭 ASFV（图 25），所以进入猪场的物品要格外谨慎，确保不是来自其他畜禽养殖场、ASF 疫区、屠宰场、集贸市场和病原微生物实验室等的敏感区域。



图 25：日常消费的熏肉等加工肉并不能有效的灭活病毒

2、物品进入猪场程序（所有生肉和肉制品严禁进场）

1) 所有的生肉或肉制品禁止带入猪场，非本场人员携带的物品禁止带入猪场；

2) 所有物品须去除包装，仅保留最小包装彻底消毒后方能入场；

3) 食品和易耗品需经过臭氧熏蒸消毒至少 30 分钟后进入生活区；

4) 饲料入库后密闭熏蒸消毒至少 2 小时后进入生产区；直接传送到料塔的饲料在饲料厂用酸化剂做好消毒工作；

5) 生物制品禁止加热消毒，入场前采用多层包装，经过一道入口，去除一道包装，保留最小包装后，采用 75% 酒精擦拭彻底消毒后进场。

3、禁止使用来自敏感区域的物料包括新鲜饲料原料及其制品，垫料原料，兽药，生物制品，生产工具等

1) 猪场使用的垫料或沙子等物资的处理和储存时间至少是 30 天（远离野猪），否则禁止使用；

2) 原则上禁止使用垫料，除非已经做过灭活 ASFV 的处理并且至少已经储存 90 天以上；

3) 禁止猪场与猪场之间交换垫料和饲料以及其他物品和生产工具。

五、猪场实施封场措施，严格限制人员进出猪场

1、最大限度减少外部人员拜访次数，没有特殊许可，禁止非本场人员入场

1) 外来人员禁止入场，如果必须入场时，须在场外指定区域隔离一定时间后，由猪场兽医主管 / 场长书面授权许可后，方准入场；

2) 建立入场人员登记制度，确定外来人员是否来自敏感区域；

3) 外来人员携带物品包括衣物鞋帽禁止进入场区，使用一次性包装袋包装后在场区入口处隔离消毒室消毒处理。

2、本场人员入场必须严格遵循隔离和丹麦式入场配合淋浴程序

1) 建立本场人员入场登记，开包检查制度和丹麦式入场配合淋浴程序；

2) 本场人员入场前在指定区域须达到最低隔离时间后方准入场，出入敏感区域的本场人员在指定区域达到最长隔离时间后方准入场；

3) 建立猪场入口，生产区入口两次丹麦式入场（图26）配合淋浴程序，所有进入猪场 / 生产区的人员必须通过丹麦式入场和彻底淋浴后换上猪场内部清洗消毒的衣物鞋帽方准进入猪场。

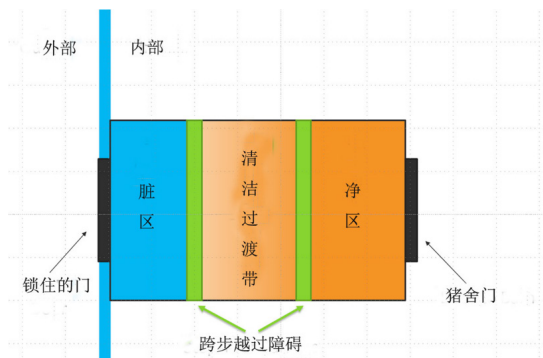


图 26：丹麦式入场程序。在猪场入口处脏区脱下自己的衣物鞋帽，装入到猪场提供的一次性包装袋送入到猪场入口处隔离消毒室消毒处理，进入缓冲区穿上一次性连体防护服、鞋套、口罩和防护眼镜，进入猪场入口处净区完成入场程序。

3、猪场人员禁止接触来自畜禽养殖场、屠宰场、集贸市场等的人员和物品

1) 人员在入场前，包括本场工作人员，都不应该在近期接触过其它猪只、屠宰场、集贸市场等人员和物品，如果有接触的话，不应该入场；

2) 在小的猪场或养户，农场主不应该拜访其它的猪舍，也不接受其他人员来自己的猪场参观 (Bellini et al., 2016)。

六、禁止使用与泔水相关的任何饲料和 / 或其原料，以及污染的水源来饲喂猪

1、ASF 可以通过猪只摄入被污染的生猪肉 / 猪肉产品和水源进行传播

1) 用泔水饲喂猪是疾病（包括 ASF）进入猪群的一个高风险饲喂方式。多个 ASF 阴性区域疾病的发生就是用泔水饲喂导致的易感猪群感染 ASF (Gallardo et al., 2015b; Geering WA, 2001)。

2) 水源也可以通过死亡的猪只而携带 ASFV (图 27)。最近在罗马尼亚暴发的 ASF 导致 140000 头猪只被无害化处理，其感染源头可能是使用了 ASFV 污染的水源 (<https://www.reuters.com/article/us-romania-swineflu-pigs/african-swine-fever-hits-romania-biggest-pig-farm-idUSKCN1LA0LR>)。

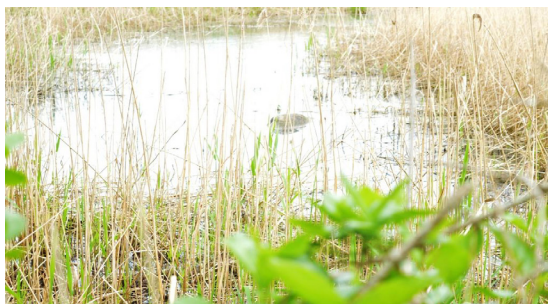


图 27：猪只尸体漂浮在水里。
来源：P. Nawrocki, WIW Biaystok

2、禁止使用泔水或泔水配制的饲料和污染的水源喂养猪只

1) 禁止泔水饲喂猪只，与猪场工作人员沟通确保他们理解泔水饲喂的危害 (Bellini et al., 2016)；

2) 猪场内部产生的餐厨垃圾和泔水严格限制在脏区特定区域，禁止进入养猪生产区并饲喂猪群，使用密封性容器装运餐厨垃圾和泔水运送到场外销毁 / 无害化处理；

3) 与泔水接触的厨房人员应该禁止进入有猪区域，也不允许任何人员将食物带入到养猪生产区食用。

3、定期评估饲料来源和水源的生物安全风险

1) 定期对饲料提供商进行饲料风险评估，内容包括饲料原料来源和贮存以及饲料生产贮存运输过程中的生物安全风险控制，禁止含有泔水的原料或者饲料，添加血浆蛋白的饲料进入猪场饲喂猪只；

2) 猪场水源应定期添加有效消毒剂进行消毒，一般使用漂白粉，添加量 1PPM 有效氯，并周期性的从取水口，出水口采集水样进行猪场水源的理化指标，生化指标检测以评估水源的生物安全风险。

七、禁止猪场之间猪只、人员和物品的共用

1、禁止猪场之间猪只、人员和物品的共用

ASFV 可以通过污染的卡车、衣服、靴子、设备等进行传播，所以猪场应该禁止猪场之间各种物品和人员的共用，包括猪场之间的猪群、人员、生产工具、兽药、疫苗、粪污和尸体处理设备等。所有接触猪只的设备、工具等应该在一个猪场专用，而且保持干净。

2、禁止猪场内部高风险区和低风险区之间人员和物品的共用

猪场内部的高风险区包括隔离舍、粪污处理区、尸体处理区、出猪台、保育舍等，这些地方被病原感染或携带病原的几率要比产房、配怀舍等低风险区的高，所以高风险区的人员和物品禁止到低风险区活动和使用。

3、在猪场之间必须共用时

1) 如果有些物品必须转到另外一个场或从高风险区转到低风险区使用，它们必须经过严格的清洁和消毒流程；

2) 有效的清洁消毒流程包括除去杂物、泡沫浸泡、冲洗、消毒和干燥程序，具体内容参照卡车清洁消毒部分；

3) 人员有相似的情况时，应按照猪场外部人员入场的生物安全措施实行。

八、如果猪场周边有野猪的存在，禁止靠近、猎杀和食用野猪

1、评估猪场周围是否有野猪存在

1) 一些 ASF 的案首先出现在野猪群体，之后才到家猪，而且 ASF 所导致的野猪死亡发生在受 ASF 影响的猪场旁边 (Gogin et al., 2013), 这说明 ASFV 可以通过野猪传染给家猪；

2) 定期 / 不定期地评估猪场外部生物安全风险，确定猪场周围是否存在野猪；

3) 通过拜访猪场周围相关人员，查询官方资料等，确定猪场周围是否存在野猪。

2、使用围墙和栅栏，建立猪场的野猪隔离带，避免圈养猪和野猪的直接接触

1) 对猪场周边的围墙和栅栏，应能保护场内的猪只不与外围的野猪、散养猪或其它场的猪只接触；

2) 散养猪场推荐使用间隔 1m 的双重围栏，2 米高，插入地表的部分有 0.5 米来确保围栏的稳固性。

3、禁止猪场人员靠近、猎杀和食用野猪，对于专业的狩猎人员应遵循生物安全原则

1) 猎人在狩猎前应该接受基本的生物安全培训；

2) 猎杀的野猪应该在检测阴性后才能够带走；

3) 私人车辆应停放在狩猎区域外，专用的运输车辆来运输野猪到加工场地；

4) 解剖野猪时要配戴手套，尸体残骸要做无害化处理；

5) 衣服, 水鞋和猎枪设备应该在捕猎结束后清洁和消毒(衣服在 60°C 洗涤 60 分钟, 或 70°C 洗涤 30 分钟);

6) 在狩猎结束后应该有 48h 以上的隔离时间, 才能通过猪场的入场程序与家猪接触 (Bellini et al., 2016)。

九、制定场内消灭包括钝缘软蜱在内的有害生物的相关措施

1、有害生物指除了猪场饲养的猪只之外其他的生物, 包括鸟类, 蚊蝇, 寄生虫(包括钝缘蜱)以及啮齿类动物

1) 钝缘软蜱感染 ASFV 后能保持病毒的感染性达数月或数年之久, 这为 ASFV 的持续感染提供了可能, 它在吸取感染动物的血液之后, ASFV 可以在其体内存活数月甚至数年, 这使得非洲猪瘟在一定的区域之内持续存在并且长期传播;

2) 蜱蝇在实验室条件下也被证明可以有有效的将 ASFV 传染给家猪 (Baldacchino et al., 2013)。

2、评估猪场区域是否存在钝缘软蜱, 并制定相应的防控措施

1) 使用化学药品控制和消灭钝缘软蜱, 如敌百虫、伊维菌素(害获灭)等;

2) 注意猪舍内部的蜱虫, 有些蜱会生活在猪舍的墙壁、地面、饲槽裂缝内, 为了消灭这些地方的蜱, 应堵塞猪舍内所有的缝隙和小孔, 堵塞前先向裂缝内撒杀蜱药物, 然后以水泥、石灰、黄泥堵塞;

3) 定期清除猪场内杂草, 消除虫蜱滋生环境, 并且避免使用传统的猪舍结构(通常用木头和石头组成, 钝缘蜱可以藏匿其中)。

3、控制场内的鸟类, 蚊蝇和啮齿动物

在条件许可猪场, 可以设立防鸟网, 防蝇网和防蚊网, 并制定并实施场内灭鼠措施/程序。

十、按照国家规定进行无害化处理死亡猪只和粪污

1、场内划分脏区和净区, 避免死亡猪只污染净区

1) ASFV 感染死亡猪只及其粪便中含有大量的病毒, 所以在处理死亡猪只、粪污前应通知猪场相关兽医人员监管;

2) 死猪和粪污处理必须遵循单向流动原则, 禁止脏区道路与净区道路交叉, 禁止猪场之间共用;

3) 禁止出售, 食用(包括其他动物食用)任何不明死亡原因的死猪。

2、彻底合法合理的处理死亡猪只、解剖残留物和饲料残留物以及粪污

1) 运输死亡猪只的卡车是传播疾病的一个最主要风险, 它不应该进入猪场, 而是在猪场外收集场内死亡猪只的尸体;

2) 司机也不应该进入猪场, 而且要严格遵守猪场规定的生物安全措施;

3) 在受 ASF 影响的区域如果发现有家猪和野猪的死亡时，应立即通知政府部门做调查和检测来确定是否是 ASFV 感染所致 (Bellini et al., 2016);

4) 处理死亡猪只，猪粪污时，禁止污水洒落地面，污染环境；

5) 按照国家相关规定进行无害化处理，死猪和粪污处理的方法必须与所在国的法律法规保持一致。

第九章

非洲猪瘟 的防控



目前非洲猪瘟没有有效疫苗，周期性的临床检查和严格的生物安全措施的实施是防控 ASF 的有效手段 (Gallardo et al., 2015a)。但当生物安全没有有效的落实，猪场发现有疑似 ASF 的情况下，应该严格按照当地政府部门的上报流程执行。中国动物疫病预防控制中心编写的《非洲猪瘟现场排查手册》详述了针对 ASF 各个部门的组织管理、疫情监测与报告、疫情相应、应急处置和保障措施等内容，要认真阅读，严格执行。

欧洲是 ASF 影响较大的区域，ASF 疫情处置中，欧盟国家积累了较多的疾病防控和净化根除经验。南美洲巴西的净化经验也值得借鉴。

一、欧盟非洲猪瘟防控策略

欧盟国家主要通过遵循欧盟法规 (92/119/EEC 和 2002/60/EC) 中的措施对 ASF 进行监测、诊断、通报和处置。各成员国国内立法所执行的该指令主要条款为：

- 1) 一旦怀疑非洲猪瘟，应立即向成员国的主管部门通报；
- 2) 对可疑病猪强制限制运输；
- 3) 在征得兽医的许可后方可进入可疑或感染猪场；
- 4) 在确诊疾病暴发的地方，应在感染地周围强制划定保护区（疫区，半径不小于 3 km）和监测区（最小半径 10 km）；

5) 通过淘汰阳性猪群或在严格控制下接种疫苗以根除非洲猪瘟；

6) 对猪舍及其周围环境、运输车辆和其它所有可能受到污染的物品进行清洁和消毒；

7) 在特殊的情况下，欧盟委员会可能同意进行紧急免疫接种计划；

8) 对所有野猪进行监测。

二、西班牙非洲猪瘟根除策略

欧盟政府控制猪瘟的主要目标是根除 ASF，并尽快成为无非洲猪瘟疫病国家。西班牙 ASF 根除案例可作为欧洲根除 ASF 的典型案例。

1985 年之前，西班牙控制 ASF 的方法主要是采取生物安全措施和淘汰阳性猪群。随后西班牙政府逐渐意识到防控方法的缺陷，于 1985 年颁布西班牙 ASF 根除计划，关键措施如下：

1. 流动兽医临床团队网络体系建设；
 2. 对所有猪场进行血清学监测；
 3. 提高饲养场及饲养设施的卫生水平；
 4. 剔除所有 ASF 暴发疫点，对所有的 ASFV 阳性猪群进行安乐死，消灭所有感染群；
 5. 严格控制猪群的移动。
- 在养猪业和大量社会力量的积极参与和配合下，西

班牙境内在 2 年内 96% 的地区已经无 ASF 临床报道。在 1989 年，西班牙颁布法律将西班牙分为 2 个区域，包括 ASF 无疫血清监测区（2 年内无 ASF 暴发）和 ASF 感染区，感染区的活动物和新鲜猪肉不得进入无疫区，无疫区的活猪、鲜肉和特定猪肉制品可以进入欧盟其他国家进行贸易。到 1994 年时，西班牙境内已经无 ASF 暴发报道。1995 年 10 月西班牙正式对外宣布，ASF 根除计划胜利完成。

三、巴西非洲猪瘟根除策略

1978 年 ASF 疫情暴发后，巴西政府立刻启动了紧急预案并颁布了 ASF 根除计划。7 年后，巴西宣布 ASF 根除计划完成。所采取措施的主要内容如下：

1. 立刻将 ASF 疫情信息通报周边国家，与巴西有双边动物卫生协议的国家，OIE 和其他国际组织，特别是 FAO、泛美卫生组织、泛美口蹄疫中心和美洲农业合作协会；
2. 禁止感染区和风险区内猪只的自由移动；
3. 对感染区内的所有猪只进行扑杀和焚化；
4. 对污染的交通工具、建筑和物品进行彻底清洗和消毒；
5. 停止展览、牲畜市场或一切动物会发生相互接触的活动；
6. 禁止使用泔水饲喂；
7. 进行动物卫生教育和培训以提高公众对紧急动物卫生生活的认识；

8. 提高 CSF 疫苗生产技术，采用新的检测标准，进行古典猪瘟疫苗接种，加快非洲猪瘟和古典猪瘟的鉴别诊断；

9. 对猪场的动物卫生援助给予奖励，对观察到的所有猪病进行通告。

巴西根除计划的成功归功于政府的快速果断处理和措施的有效执行，以及养猪业和大量社会力量的大力参与。

参考文献



参考文献

- Afonso, C.L., Piccone, M.E., Zaffuto, K.M., Neilan, J., Kutish, G.F., Lu, Z., Balinsky, C.A., Gibb, T.R., Bean, T.J., Zsak, L., Rock, D.L., 2004. African swine fever virus multigene family 360 and 530 genes affect host interferon response. *Journal of virology* 78(4), 1858-1864.
- Afonso, C.L., Zsak, L., Carrillo, C., Borca, M.V., Rock, D.L., 1998. African swine fever virus NL gene is not required for virus virulence. *The Journal of general virology* 79 (Pt 10), 2543-2547.
- Alcami, A., Carrascosa, A.L., Vinuela, E., 1989. Saturable binding sites mediate the entry of African swine fever virus into Vero cells. *Virology* 168(2), 393-398.
- Alcaraz, C., De Diego, M., Pastor, M.J., Escribano, J.M., 1990. Comparison of a radioimmunoprecipitation assay to immunoblotting and ELISA for detection of antibody to African swine fever virus. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 2(3), 191-196.
- Allaway, E.C., Chinombo, D.O., Edelsten, R.M., Hutchings, G.H., Sumption, K.J., 1995. Serological study of pigs for antibody against African swine fever virus in two areas of southern Malawi. *Revue scientifique et technique* 14(3), 667-676.
- Alonso, F., Dominguez, J., Vinuela, E., Revilla, Y., 1997. African swine fever virus-specific cytotoxic T lymphocytes recognize the 32 kDa immediate early protein (vp32). *Virus research* 49(2), 123-130.
- Anderson, E.C., Hutchings, G.H., Mukarati, N., Wilkinson, P.J., 1998. African swine fever virus infection of the bushpig (*Potamochoerus porcus*) and its significance in the epidemiology of the disease. *Veterinary microbiology* 62(1), 1-15.
- Argilaguet, J.M., Perez-Martin, E., Nofrarias, M., Gallardo, C., Accensi, F., Lacasta, A., Mora, M., Ballester, M., Galindo-Cardiel, I., Lopez-Soria, S., Escribano, J.M., Reche, P.A., Rodriguez, F., 2012. DNA vaccination partially protects against African swine fever virus lethal challenge in the absence of antibodies. *PloS one* 7(9), e40942.
- Arias, M., de la Torre, A., Dixon, L., Gallardo, C., Jori, F., Laddomada, A., Martins, C., Parkhouse, R.M.,

- Revilla, Y., Rodriguez, F.A.J., Sanchez, V., 2017. Approaches and Perspectives for Development of African Swine Fever Virus Vaccines. *Vaccines* 5(4).
- Baldacchino, F., Muenworn, V., Desquesnes, M., Desoli, F., Charoenviriyaphap, T., Duvallet, G., 2013. Transmission of pathogens by Stomoxys flies (Diptera, Muscidae): a review. *Parasite* 20, 26.
- Ballester, M., Galindo-Cardiel, I., Gallardo, C., Argilaquet, J.M., Segales, J., Rodriguez, J.M., Rodriguez, F., 2010. Intranuclear detection of African swine fever virus DNA in several cell types from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues using a new in situ hybridisation protocol. *Journal of virological methods* 168(1-2), 38-43.
- Banjara, S., Caria, S., Dixon, L.K., Hinds, M.G., Kvansakul, M., 2017. Structural Insight into African Swine Fever Virus A179L-Mediated Inhibition of Apoptosis. *Journal of virology* 91(6).
- Barderas, M.G., Rodriguez, F., Gomez-Puertas, P., Aviles, M., Beitia, F., Alonso, C., Escribano, J.M., 2001. Antigenic and immunogenic properties of a chimera of two immunodominant African swine fever virus proteins. *Archives of virology* 146(9), 1681-1691.
- Bastos, A.D., Penrith, M.L., Cruciere, C., Edrich, J.L., Hutchings, G., Roger, F., Couacy-Hymann, E., G, R.T., 2003. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. *Archives of virology* 148(4), 693-706.
- Bastos, A.D., Penrith, M.L., Macome, F., Pinto, F., Thomson, G.R., 2004. Co-circulation of two genetically distinct viruses in an outbreak of African swine fever in Mozambique: no evidence for individual co-infection. *Veterinary microbiology* 103(3-4), 169-182.
- Bech-Nielsen, S., Fernandez, J., Martinez-Pereda, F., Espinosa, J., Perez Bonilla, Q., Sanchez-Vizcaino, J.M., 1995. A case study of an outbreak of African swine fever in Spain. *The British veterinary journal* 151(2), 203-214.
- Bellini, S., Rutili, D., Guberti, V., 2016. Preventive measures aimed at minimizing the risk of African swine fever virus spread in pig farming systems. *Acta veterinaria Scandinavica* 58(1), 82.

Beltran-Alcrudo, D., Arias, M., Gallardo, C., Kramer, S. & Penrith, M.L., 2018. 非洲猪瘟：发现与诊断 - 兽医指导手册。联合国粮食及农业组织（FAO）《动物生产及动物卫生手册》第 19 册，罗马，联合国粮食及农业组织（FAO），共 86 页。

Boinas, F.S., Wilson, A.J., Hutchings, G.H., Martins, C., Dixon, L.J., 2011. The persistence of African swine fever virus in field-infected *Ornithodoros erraticus* during the ASF endemic period in Portugal. *PloS one* 6(5), e20383.

Borca, M.V., Irusta, P., Carrillo, C., Afonso, C.L., Burrage, T., Rock, D.L., 1994. African swine fever virus structural protein p72 contains a conformational neutralizing epitope. *Virology* 201(2), 413-418.

Boshoff, C.I., Bastos, A.D., Gerber, L.J., Vosloo, W., 2007. Genetic characterisation of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973-1999). *Veterinary microbiology* 121(1-2), 45-55.

Burmakina, G., Malogolovkin, A., Tulman, E.R., Zsak, L., Delhon, G., Diel, D.G., Shobogorov, N.M., Morgunov, Y.P., Morgunov, S.Y., Kutish, G.F., Kolbasov, D., Rock, D.L., 2016. African swine fever virus serotype-specific proteins are

significant protective antigens for African swine fever. *The Journal of general virology* 97(7), 1670-1675.

Burrage, T.G., Lu, Z., Neilan, J.G., Rock, D.L., Zsak, L., 2004. African swine fever virus multigene family 360 genes affect virus replication and generalization of infection in *Ornithodoros porcinus* ticks. *Journal of virology* 78(5), 2445-2453.

Caiado, J.M., Boinas, F.S., Louza, A.C., 1988. Epidemiological research of African swine fever (ASF) in Portugal: the role of vectors and virus reservoirs. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum* 84, 136-138.

Carrasco, L., Chacon, M.d.L.F., Martin de Las Mulas, J., Gomez-Villamandos, J.C., Sierra, M.A., Villeda, C.J., Wilkinson, P.J., 1997. Ultrastructural changes related to the lymph node haemorrhages in acute African swine fever. *Research in veterinary science* 62(3), 199-204.

Carrasco, L., de Lara, F.C., Gomez-Villamandos, J.C., Bautista, M.J., Villeda, C.J., Wilkinson, P.J., Sierra, M.A., 1996a. The pathogenic role of pulmonary intravascular macrophages in acute

African swine fever. Research in veterinary science 61(3), 193-198.

Carrasco, L., de Lara, F.C., Martin de las Mulas, J., Gomez-Villamandos, J.C., Hervas, J., Wilkinson, P.J., Sierra, M.A., 1996b. Virus association with lymphocytes in acute African swine fever. Veterinary research 27(3), 305-312.

Carrasco, L., Gomez-Villamandos, J.C., Bautista, M.J., Martin de las Mulas, J., Villeda, C.J., Wilkinson, P.J., Sierra, M.A., 1996c. In vivo replication of African swine fever virus (Malawi '83) in neutrophils. Veterinary research 27(1), 55-62.

Carrasco, L., Nunez, A., Salguero, F.J., Diaz San Segundo, F., Sanchez-Cordon, P., Gomez-Villamandos, J.C., Sierra, M.A., 2002. African swine fever: Expression of interleukin-1 alpha and tumour necrosis factor-alpha by pulmonary intravascular macrophages. Journal of comparative pathology 126(2-3), 194-201.

Casal, I., Vinuela, E., Enjuanes, L., 1987. Synthesis of African swine fever (ASF) virus-specific antibodies in vitro in a porcine leucocyte system. Immunology 62(2), 207-213.

Chapman, D.A., Tcherepanov, V., Upton, C., Dixon, L.K., 2008. Comparison of the genome sequences of non-pathogenic and pathogenic African swine fever virus isolates. The Journal of general virology 89(Pt 2), 397-408.

Chenais, E., Stahl, K., Guberti, V., Depner, K., 2018. Identification of Wild Boar-Habitat Epidemiologic Cycle in African Swine Fever Epizootic. Emerging infectious diseases 24(4), 810-812.

Colgrove, G.S., Haelterman, E.O., Coggins, L., 1969. Pathogenesis of African swine fever in young pigs. American journal of veterinary research 30(8), 1343-1359.

de Carvalho Ferreira, H.C., Backer, J.A., Weesendorp, E., Klinkenberg, D., Stegeman, J.A., Loeffen, W.L., 2013a. Transmission rate of African swine fever virus under experimental conditions. Veterinary microbiology 165(3-4), 296-304.

de Carvalho Ferreira, H.C., Tudela Zuquete, S., Wijnveld, M., Weesendorp, E., Jongejan, F., Stegeman, A., Loeffen, W.L., 2014. No evidence of African swine fever virus replication in hard ticks. Ticks and tick-borne diseases 5(5), 582-589.

de Carvalho Ferreira, H.C., Weesendorp, E., Elbers, A.R., Bouma, A., Quak, S., Stegeman, J.A., Loeffen, W.L., 2012. African swine fever virus excretion patterns in persistently infected animals: a quantitative approach. *Veterinary microbiology* 160(3-4), 327-340.

de Carvalho Ferreira, H.C., Weesendorp, E., Quak, S., Stegeman, J.A., Loeffen, W.L., 2013b. Quantification of airborne African swine fever virus after experimental infection. *Veterinary microbiology* 165(3-4), 243-251.

de Oliveira, V.L., Almeida, S.C., Soares, H.R., Crespo, A., Marshall-Clarke, S., Parkhouse, R.M., 2011. A novel TLR3 inhibitor encoded by African swine fever virus (ASFV). *Archives of virology* 156(4), 597-609.

Dixon, L.K., Abrams, C.C., Bowick, G., Goatley, L.C., Kay-Jackson, P.C., Chapman, D., Liverani, E., Nix, R., Silk, R., Zhang, F., 2004. African swine fever virus proteins involved in evading host defence systems. *Veterinary immunology and immunopathology* 100(3-4), 117-134.

EC (2014) European Commission, Mission of the community veterinary emergency team to Lithuania. http://ec.europa.eu/food/animals/docs/reg-com_ahw_20140821_pres_asf_lithuania_cvet.pdf. Accessed March 8, 2016

Escribano, J.M., Galindo, I., Alonso, C., 2013. Antibody-mediated neutralization of African swine fever virus: myths and facts. *Virus research* 173(1), 101-109.

EFSA. Scientific opinion on African swine fever. 2015. http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/4163.pdf Accessed 19 Apr 2015.

Fasina, F.O., Agbaje, M., Ajani, F.L., Talabi, O.A., Lazarus, D.D., Gallardo, C., Thompson, P.N., Bastos, A.D., 2012. Risk factors for farm-level African swine fever infection in major pig-producing areas in Nigeria, 1997-2011. *Preventive veterinary medicine* 107(1-2), 65-75.

Fasina, F.O., Shamaki, D., Makinde, A.A., Lombin, L.H., Lazarus, D.D., Rufai, S.A., Adamu, S.S., Agom, D., Pelayo, V., Soler, A., Simon, A., Adedeji, A.J., Yakubu, M.B., Mantip, S., Benschak, A.J.,

Okeke, I., Anagor, P., Mandeng, D.C., Akanbi, B.O., Ajibade, A.A., Faramade, I., Kazeem, M.M., Enurah, L.U., Bishop, R., Anchuelo, R., Martin, J.H., Gallardo, C., 2010. Surveillance for African swine fever in Nigeria, 2006-2009. *Transboundary and emerging diseases* 57(4), 244-253.

Fishbourne, E., Abrams, C.C., Takamatsu, H.H., Dixon, L.K., 2013. Modulation of chemokine and chemokine receptor expression following infection of porcine macrophages with African swine fever virus. *Veterinary microbiology* 162(2-4), 937-943.

Galindo, I., Cuesta-Geijo, M.A., Hlavova, K., Munoz-Moreno, R., Barrado-Gil, L., Dominguez, J., Alonso, C., 2015. African swine fever virus infects macrophages, the natural host cells, via clathrin- and cholesterol-dependent endocytosis. *Virus research* 200, 45-55.

Gallardo, C., Fernandez-Pinero, J., Pelayo, V., Gazaev, I., Markowska-Daniel, I., Pridotkas, G., Nieto, R., Fernandez-Pacheco, P., Bokhan, S., Nevolko, O., Drozhzhe, Z., Perez, C., Soler, A.,

Kolvasov, D., Arias, M., 2014. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, eastern and central Europe. *Emerging infectious diseases* 20(9), 1544-1547.

Gallardo, C., Nieto, R., Soler, A., Pelayo, V., Fernandez-Pinero, J., Markowska-Daniel, I., Pridotkas, G., Nurmoja, I., Granta, R., Simon, A., Perez, C., Martin, E., Fernandez-Pacheco, P., Arias, M., 2015a. Assessment of African Swine Fever Diagnostic Techniques as a Response to the Epidemic Outbreaks in Eastern European Union Countries: How To Improve Surveillance and Control Programs. *Journal of clinical microbiology* 53(8), 2555-2565.

Gallardo, C., Sanchez, E.G., Perez-Nunez, D., Nogal, M., de Leon, P., Carrascosa, A.L., Nieto, R., Soler, A., Arias, M.L., Revilla, Y., 2018. African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses. *Vaccine* 36(19), 2694-2704.

Gallardo, C., Soler, A., Nieto, R., Sanchez, M.A., Martins, C., Pelayo, V., Carrascosa, A., Revilla, Y., Simon, A., Briones, V., Sanchez-Vizcaino, J.M.,

Arias, M., 2015b. Experimental Transmission of African Swine Fever (ASF) Low Virulent Isolate NH/P68 by Surviving Pigs. *Transboundary and emerging diseases* 62(6), 612-622.

Gallardo, M.C., Reoyo, A.T., Fernandez-Pinero, J., Iglesias, I., Munoz, M.J., Arias, M.L., 2015c. African swine fever: a global view of the current challenge. *Porcine health management* 1, 21.

Ganowiak, J., 2012. Patho-anatomical studies on African Swine Fever in Uganda, <http://epsilon.slu.se>

Geering WA, P.M., Nyakahuma D. , 2001. Manual on procedures for disease eradication by stamping out. *FAO Health Manual* 12. Rome, 2001. <http://www.fao.org/docrep/004/y0660e/Y0660E00.htm#TOC>.

Gogin, A., Gerasimov, V., Malogolovkin, A., Kolbasov, D., 2013. African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007-2012. *Virus research* 173(1), 198-203.

Gomez-Puertas, P., Oviedo, J.M., Rodriguez, F., Coll, J., Escribano, J.M., 1997. Neutralization susceptibility of African swine fever virus is dependent on the phospholipid composition of viral particles. *Virology* 228(2), 180-189.

Gomez-Puertas, P., Rodriguez, F., Oviedo, J.M., Brun, A., Alonso, C., Escribano, J.M., 1998. The African swine fever virus proteins p54 and p30 are involved in two distinct steps of virus attachment and both contribute to the antibody-mediated protective immune response. *Virology* 243(2), 461-471.

Gomez-Puertas, P., Rodriguez, F., Oviedo, J.M., Ramiro-Ibanez, F., Ruiz-Gonzalvo, F., Alonso, C., Escribano, J.M., 1996. Neutralizing antibodies to different proteins of African swine fever virus inhibit both virus attachment and internalization. *Journal of virology* 70(8), 5689-5694.

Gomez-Villamandos, J.C., Bautista, M.J., Carrasco, L., Chacon-Manrique de Lara, F., Hervás, J., Wilkinson, P.J., Sierra, M.A., 1998. Thrombocytopenia associated with apoptotic megakaryocytes in a viral haemorrhagic syndrome induced by a moderately virulent strain of African swine fever virus. *Journal of comparative pathology* 118(1), 1-13.

Gomez-Villamandos, J.C., Bautista, M.J., Hervás, J., Carrasco, L., de Lara, F.C., Perez, J., Wilkinson, P.J., Sierra, M.A., 1996. Subcellular changes in

platelets in acute and subacute African swine fever. *Journal of comparative pathology* 115(4), 327-341.

Gomez-Villamandos, J.C., Bautista, M.J., Sanchez-Cordon, P.J., Carrasco, L., 2013. Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage. *Virus research* 173(1), 140-149.

Gomez-Villamandos, J.C., Hervas, J., Mendez, A., Carrasco, L., Martin de las Mulas, J., Villeda, C.J., Wilkinson, P.J., Sierra, M.A., 1995a. Experimental African swine fever: apoptosis of lymphocytes and virus replication in other cells. *The Journal of general virology* 76 (Pt 9), 2399-2405.

Gomez-Villamandos, J.C., Hervas, J., Mendez, A., Carrasco, L., Villeda, C.J., Sierra, M.A., Wilkinson, P.J., 1995b. A pathological study of the perisinusoidal unit of the liver in acute African swine fever. *Research in veterinary science* 59(2), 146-151.

Guinat, C., Gogin, A., Blome, S., Keil, G., Pollin, R., Pfeiffer, D.U., Dixon, L., 2016a. Transmission routes of African swine fever virus to domestic pigs: current

knowledge and future research directions. *The Veterinary record* 178(11), 262-267.

Guinat, C., Gubbins, S., Vergne, T., Gonzales, J.L., Dixon, L., Pfeiffer, D.U., 2016b. Experimental pig-to-pig transmission dynamics for African swine fever virus, Georgia 2007/1 strain. *Epidemiology and infection* 144(1), 25-34.

Guinat, C., Reis, A.L., Netherton, C.L., Goatley, L., Pfeiffer, D.U., Dixon, L., 2014. Dynamics of African swine fever virus shedding and excretion in domestic pigs infected by intramuscular inoculation and contact transmission. *Veterinary research* 45, 93.

Gulenkin, V.M., Korennoy, F.I., Karaulov, A.K., Dudnikov, S.A., 2011. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Preventive veterinary medicine* 102(3), 167-174.

Hamdy, F.M., Dardiri, A.H., 1984. Clinical and immunologic responses of pigs to African swine fever virus isolated from the Western Hemisphere. *American journal of veterinary research* 45(4), 711-714.

- Hawes, P.C., Netherton, C.L., Wileman, T.E., Monaghan, P., 2008. The envelope of intracellular African swine fever virus is composed of a single lipid bilayer. *Journal of virology* 82(16), 7905-7912.
- Hernaiz, B., Alonso, C., 2010. Dynamin- and clathrin-dependent endocytosis in African swine fever virus entry. *Journal of virology* 84(4), 2100-2109.
- Hernaiz, B., Escribano, J.M., Alonso, C., 2004. Switching on and off the cell death cascade: African swine fever virus apoptosis regulation. *Progress in molecular and subcellular biology* 36, 57-69.
- Hess, W.R., 1981. African swine fever: a reassessment. *Advances in veterinary science and comparative medicine* 25, 39-69.
- Hess, W.R., Endris, R.G., Lousa, A., Caiado, J.M., 1989. Clearance of African swine fever virus from infected tick (Acari) colonies. *Journal of medical entomology* 26(4), 314-317.
- Heuschele, W.P., 1967. Studies on the pathogenesis of African swine fever. I. Quantitative studies on the sequential development of virus in pig tissues. *Archiv fur die gesamte Virusforschung* 21(3), 349-356.
- Hjertner, B., Meehan, B., McKillen, J., McNeilly, F., Belak, S., 2005. Adaptation of an Invader assay for the detection of African swine fever virus DNA. *Journal of virological methods* 124(1-2), 1-10.
- Hurtado, C., Granja, A.G., Bustos, M.J., Nogal, M.L., Gonzalez de Buitrago, G., de Yebenes, V.G., Salas, M.L., Revilla, Y., Carrascosa, A.L., 2004. The C-type lectin homologue gene (EP153R) of African swine fever virus inhibits apoptosis both in virus infection and in heterologous expression. *Virology* 326(1), 160-170.
- Iglesias, I., Munoz, M.J., Montes, F., Perez, A., Gogin, A., Kolbasov, D., de la Torre, A., 2016. Reproductive Ratio for the Local Spread of African Swine Fever in Wild Boars in the Russian Federation. *Transboundary and emerging diseases* 63(6), e237-e245.
- James, H.E., Ebert, K., McGonigle, R., Reid, S.M., Boonham, N., Tomlinson, J.A., Hutchings, G.H., Denyer, M., Oura, C.A., Dukes, J.P., King, D.P., 2010. Detection of African swine fever virus by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of virological methods* 164(1-2), 68-74.

- JL, S.-V., 2016. Early detection and contingency plan for African swine fever. OIE conference 139–147; 2010. <http://www.oie.int/doc/ged/D11831.PDF>.
- Jori, F., Bastos, A.D., 2009. Role of wild suids in the epidemiology of African swine fever. *EcoHealth* 6(2), 296-310.
- Jurado, C., Martinez-Aviles, M., De La Torre, A., Stukelj, M., de Carvalho Ferreira, H.C., Cerioli, M., Sanchez-Vizcaino, J.M., Bellini, S., 2018. Relevant Measures to Prevent the Spread of African Swine Fever in the European Union Domestic Pig Sector. *Frontiers in veterinary science* 5, 77.
- Karalyan, Z., Zakaryan, H., Sargsyan, K., Voskanyan, H., Arzumanyan, H., Avagyan, H., Karalova, E., 2012. Interferon status and white blood cells during infection with African swine fever virus in vivo. *Veterinary immunology and immunopathology* 145(1-2), 551-555.
- King, D.P., Reid, S.M., Hutchings, G.H., Grierson, S.S., Wilkinson, P.J., Dixon, L.K., Bastos, A.D., Drew, T.W., 2003. Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *Journal of virological methods* 107(1), 53-61.
- King, K., Chapman, D., Argilaguet, J.M., Fishbourne, E., Hutet, E., Cariolet, R., Hutchings, G., Oura, C.A., Netherton, C.L., Moffat, K., Taylor, G., Le Potier, M.F., Dixon, L.K., Takamatsu, H.H., 2011. Protection of European domestic pigs from virulent African isolates of African swine fever virus by experimental immunisation. *Vaccine* 29(28), 4593-4600.
- Lacasta, A., Monteagudo, P.L., Jimenez-Marin, A., Accensi, F., Ballester, M., Argilaguet, J., Galindo-Cardiel, I., Segales, J., Salas, M.L., Dominguez, J., Moreno, A., Garrido, J.J., Rodriguez, F., 2015. Live attenuated African swine fever viruses as ideal tools to dissect the mechanisms involved in viral pathogenesis and immune protection. *Veterinary research* 46, 135.
- Laddomada, A., Patta, C., Oggiano, A., Caccia, A., Ruiui, A., Cossu, P., Firinu, A., 1994. Epidemiology of classical swine fever in Sardinia: a serological survey of wild boar and comparison with African swine fever. *The Veterinary record* 134(8), 183-187.

Lange, M., Siemen, H., Blome, S., Thulke, H.H., 2014. Analysis of spatio-temporal patterns of African swine fever cases in Russian wild boar does not reveal an endemic situation. *Preventive veterinary medicine* 117(2), 317-325.

Leitao, A., Cartaxeiro, C., Coelho, R., Cruz, B., Parkhouse, R.M., Portugal, F., Vigario, J.D., Martins, C.L., 2001. The non-haemadsorbing African swine fever virus isolate ASFV/NH/P68 provides a model for defining the protective anti-virus immune response. *The Journal of general virology* 82(Pt 3), 513-523.

Lewis, T., Zsak, L., Burrage, T.G., Lu, Z., Kutish, G.F., Neilan, J.G., Rock, D.L., 2000. An African swine fever virus ERV1-ALR homologue, 9GL, affects virion maturation and viral growth in macrophages and viral virulence in swine. *Journal of virology* 74(3), 1275-1285.

Lubisi, B.A., Bastos, A.D., Dwarka, R.M., Vosloo, W., 2005. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa. *Archives of virology* 150(12), 2439-2452.

Lubisi, B.A., Dwarka, R.M., Meenowa, D., Jaumally, R., 2009. An investigation into the first outbreak of African swine fever in the Republic of Mauritius. *Transboundary and emerging diseases* 56(5), 178-188.

Malogolovkin, A., Burmakina, G., Titov, I., Sereda, A., Gogin, A., Baryshnikova, E., Kolbasov, D., 2015. Comparative analysis of African swine fever virus genotypes and serogroups. *Emerging infectious diseases* 21(2), 312-315.

Mannelli, A., Sotgia, S., Patta, C., Sarria, A., Madrau, P., Sanna, L., Firinu, A., Laddomada, A., 1997. Effect of husbandry methods on seropositivity to African swine fever virus in Sardinian swine herds. *Preventive veterinary medicine* 32(3-4), 235-241.

Martins, C.L., Lawman, M.J., Scholl, T., Mebus, C.A., Lunney, J.K., 1993. African swine fever virus specific porcine cytotoxic T cell activity. *Archives of virology* 129(1-4), 211-225.

Martins, C.L., Leitao, A.C., 1994. Porcine immune responses to African swine fever virus (ASFV) infection. *Veterinary immunology and immunopathology* 43(1-3), 99-106.

- McKillen, J., McMenamy, M., Hjertner, B., McNeilly, F., Uttenthal, A., Gallardo, C., Adair, B., Allan, G., 2010. Sensitive detection of African swine fever virus using real-time PCR with a 5' conjugated minor groove binder probe. *Journal of virological methods* 168(1-2), 141-146.
- Mebus, C.A., 1988. African swine fever. *Advances in virus research* 35, 251-269.
- Mebus, C.A., Dardiri, A.H., 1980. Western hemisphere isolates of African swine fever virus: asymptomatic carriers and resistance to challenge inoculation. *American journal of veterinary research* 41(11), 1867-1869.
- Mur, L., Boadella, M., Martinez-Lopez, B., Gallardo, C., Gortazar, C., Sanchez-Vizcaino, J.M., 2012a. Monitoring of African swine fever in the wild boar population of the most recent endemic area of Spain. *Transboundary and emerging diseases* 59(6), 526-531.
- Mur, L., Martinez-Lopez, B., Sanchez-Vizcaino, J.M., 2012b. Risk of African swine fever introduction into the European Union through transport-associated routes: returning trucks and waste from international ships and planes. *BMC veterinary research* 8, 149.
- Neilan, J.G., Zsak, L., Lu, Z., Burrage, T.G., Kutish, G.F., Rock, D.L., 2004. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology* 319(2), 337-342.
- Neilan, J.G., Zsak, L., Lu, Z., Kutish, G.F., Afonso, C.L., Rock, D.L., 2002. Novel swine virulence determinant in the left variable region of the African swine fever virus genome. *Journal of virology* 76(7), 3095-3104.
- Netherton, C.L., McCrossan, M.C., Denyer, M., Ponnambalam, S., Armstrong, J., Takamatsu, H.H., Wileman, T.E., 2006. African swine fever virus causes microtubule-dependent dispersal of the trans-golgi network and slows delivery of membrane protein to the plasma membrane. *Journal of virology* 80(22), 11385-11392.
- Nogal, M.L., Gonzalez de Buitrigo, G., Rodriguez, C., Cubelos, B., Carrascosa, A.L., Salas, M.L., Revilla, Y., 2001. African swine fever virus IAP homologue inhibits caspase activation and

promotes cell survival in mammalian cells.
Journal of virology 75(6), 2535-2543.

Norley, S.G., Wardley, R.C., 1983. Effector mechanisms in the pig. Antibody-dependent cellular cytolysis of African swine fever virus infected cells. *Research in veterinary science* 35(1), 75-79.

Norley, S.G., Wardley, R.C., 1984. Cytotoxic lymphocytes induced by African swine fever infection. *Research in veterinary science* 37(2), 255-257.

O'Donnell, V., Holinka, L.G., Gladue, D.P., Sanford, B., Krug, P.W., Lu, X., Arzt, J., Reese, B., Carrillo, C., Risatti, G.R., Borca, M.V., 2015a. African Swine Fever Virus Georgia Isolate Harboring Deletions of MGF360 and MGF505 Genes Is Attenuated in Swine and Confers Protection against Challenge with Virulent Parental Virus. *Journal of virology* 89(11), 6048-6056.

O'Donnell, V., Holinka, L.G., Krug, P.W., Gladue, D.P., Carlson, J., Sanford, B., Alfano, M., Kramer, E., Lu, Z., Arzt, J., Reese, B., Carrillo, C., Risatti, G.R., Borca, M.V., 2015b. African Swine Fever Virus Georgia 2007 with a Deletion of Virulence-Associated Gene 9GL (B119L), when

Administered at Low Doses, Leads to Virus Attenuation in Swine and Induces an Effective Protection against Homologous Challenge. *Journal of virology* 89(16), 8556-8566.

OIE. African swine fever. In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: Office International des Epizooties; 2016. [http:// www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.01_ASF.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.01_ASF.pdf). Accessed 3 May 2016.

Olugasa, B.O., Ijagbone, I.F., 2007. Pattern of spread of African swine fever in south-western Nigeria, 1997-2005. *Veterinaria italiana* 43(3), 621-628.

Onisk, D.V., Borca, M.V., Kutish, G., Kramer, E., Irusta, P., Rock, D.L., 1994. Passively transferred African swine fever virus antibodies protect swine against lethal infection. *Virology* 198(1), 350-354.

Oura, C.A., Denyer, M.S., Takamatsu, H., Parkhouse, R.M., 2005. In vivo depletion of CD8+ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus. *The Journal of general virology* 86(Pt 9), 2445-2450.

Oura, C.A., Edwards, L., Batten, C.A., 2013. Virological diagnosis of African swine fever--comparative study of available tests. *Virus research* 173(1), 150-158.

Owolodun, O.A., Yakubu, B., Antiabong, J.F., Ogedengbe, M.E., Luka, P.D., John Audu, B., Ekong, P.S., Shamaki, D., 2010. Spatio-temporal dynamics of African swine fever outbreaks in Nigeria, 2002-2007. *Transboundary and emerging diseases* 57(5), 330-339.

Pan, I.C., De Boer, C.J., Hess, W.R., 1972. African swine fever: application of immunoelectroosmophoresis for the detection of antibody. *Canadian journal of comparative medicine : Revue canadienne de medecine comparee* 36(3), 309-316.

Pastor, M.J., Laviada, M.D., Sanchez-Vizcaino, J.M., Escribano, J.M., 1989. Detection of African swine fever virus antibodies by immunoblotting assay. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* 53(1), 105-107.

Penrith, M.L., Lopes Pereira, C., Lopes da Silva, M.M., Quembo, C., Nhamusso, A., Banze, J., 2007.

African swine fever in Mozambique: review, risk factors and considerations for control. *The Onderstepoort journal of veterinary research* 74(2), 149-160.

Penrith ML, T.G., Bastos ADS, 2004. African swine fever. In: Coetzer JAW, Tustin RC, editors. *Infectious diseases in livestock*, vol. 2. 2nd ed. Cape Town: Oxford University Press.

Penrith, M.L., Thomson, G.R., Bastos, A.D., Phiri, O.C., Lubisi, B.A., Du Plessis, E.C., Macome, F., Pinto, F., Botha, B., Esterhuysen, J., 2004. An investigation into natural resistance to African swine fever in domestic pigs from an endemic area in southern Africa. *Revue scientifique et technique* 23(3), 965-977.

Perez-Sanchez, R., Astigarraga, A., Oleaga-Perez, A., Encinas-Grandes, A., 1994. Relationship between the persistence of African swine fever and the distribution of *Ornithodoros erraticus* in the province of Salamanca, Spain. *The Veterinary record* 135(9), 207-209.

Pietschmann, J., Guinat, C., Beer, M., Pronin, V., Tauscher, K., Petrov, A., Keil, G., Blome, S.,

2015. Course and transmission characteristics of oral low-dose infection of domestic pigs and European wild boar with a Caucasian African swine fever virus isolate. *Archives of virology* 160(7), 1657-1667.

Pinero Fernandez, J.A., Alfayate Miguelez, S., Menasalvas Ruiz, A., Salvador Garcia, C., Moreno Docon, A., Sanchez-Solis de Querol, M., 2012. [Epidemiology, clinical features and medical interventions in children hospitalized for bronchiolitis]. *Anales de pediatria* 77(6), 391-396.

PJ, W., 1989. African swine fever virus. In: Pensaert MB, editor. *Virus infections of porcines*. New York: Elsevier Science.

Plowright, W., Parker, J., Peirce, M.A., 1969. African swine fever virus in ticks (*Ornithodoros moubata*, murray) collected from animal burrows in Tanzania. *Nature* 221(5185), 1071-1073.

Portugal, R., Coelho, J., Hoper, D., Little, N.S., Smithson, C., Upton, C., Martins, C., Leitao, A., Keil, G.M., 2015. Related strains of African swine fever virus with different virulence: genome comparison and analysis. *The Journal of general virology* 96(Pt 2), 408-419.

Probst, C., Globig, A., Knoll, B., Conraths, F.J., Depner, K., 2017. Behaviour of free ranging wild boar towards their dead fellows: potential implications for the transmission of African swine fever. *Royal Society open science* 4(5), 170054.

Ravaomanana, J., Michaud, V., Jori, F., Andriatsimahavandy, A., Roger, F., Albina, E., Vial, L., 2010. First detection of African Swine Fever Virus in *Ornithodoros porcinus* in Madagascar and new insights into tick distribution and taxonomy. *Parasites & vectors* 3, 115.

Reis, A.L., Abrams, C.C., Goatley, L.C., Netherton, C., Chapman, D.G., Sanchez-Cordon, P., Dixon, L.K., 2016. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response. *Vaccine* 34(39), 4698-4705.

Reis, A.L., Netherton, C., Dixon, L.K., 2017. Unraveling the Armor of a Killer: Evasion of Host Defenses by African Swine Fever Virus. *Journal of virology* 91(6).

Rennie, L., Wilkinson, P.J., Mellor, P.S., 2001. Transovarial transmission of African swine fever virus in the

argasid tick *Ornithodoros moubata*. Medical and veterinary entomology 15(2), 140-146.

Revilla, Y., Cebrian, A., Baixeras, E., Martinez, C., Vinuela, E., Salas, M.L., 1997. Inhibition of apoptosis by the African swine fever virus Bcl-2 homologue: role of the BH1 domain. Virology 228(2), 400-404.

Revilla, Y., Pena, L., Vinuela, E., 1992. Interferon-gamma production by African swine fever virus-specific lymphocytes. Scandinavian journal of immunology 35(2), 225-230.

Rodriguez, F., Fernandez, A., Martin de las Mulas, J.P., Sierra, M.A., Jover, A., 1996. African swine fever: morphopathology of a viral haemorrhagic disease. The Veterinary record 139(11), 249-254.

Ronish, B., Hakhverdyan, M., Stahl, K., Gallardo, C., Fernandez-Pinero, J., Belak, S., Leblanc, N., Wangh, L., 2011. Design and verification of a highly reliable Linear-After-The-Exponential PCR (LATE-PCR) assay for the detection of African swine fever virus. Journal of virological methods 172(1-2), 8-15.

Ruiz Gonzalvo, F., Caballero, C., Martinez, J., Carnero, M.E., 1986. Neutralization of African swine fever virus by sera from African swine fever-resistant pigs. American journal of veterinary research 47(8), 1858-1862.

Salguero, F.J., Ruiz-Villamor, E., Bautista, M.J., Sanchez-Cordon, P.J., Carrasco, L., Gomez-Villamandos, J.C., 2002. Changes in macrophages in spleen and lymph nodes during acute African swine fever: expression of cytokines. Veterinary immunology and immunopathology 90(1-2), 11-22.

Salguero, F.J., Sanchez-Cordon, P.J., Nunez, A., Fernandez de Marco, M., Gomez-Villamandos, J.C., 2005. Proinflammatory cytokines induce lymphocyte apoptosis in acute African swine fever infection. Journal of comparative pathology 132(4), 289-302.

Salguero, F.J., Sanchez-Cordon, P.J., Sierra, M.A., Jover, A., Nunez, A., Gomez-Villamandos, J.C., 2004. Apoptosis of thymocytes in experimental African Swine Fever virus infection. Histology and histopathology 19(1), 77-84.

Sanchez-Vizcaino, J.M., Mur, L., Gomez-Villamandos, J.C., Carrasco, L., 2015. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *Journal of comparative pathology* 152(1), 9-21.

Sanchez-Vizcaino, J.M., Mur, L., Martinez-Lopez, B., 2012. African swine fever: an epidemiological update. *Transboundary and emerging diseases* 59 Suppl 1, 27-35.

Sanchez-Vizcaino, J.M., Slauson, D.O., Ruiz-Gonzalvo, F., Valero, F., 1981. Lymphocyte function and cell-mediated immunity in pigs with experimentally induced African swine fever. *American journal of veterinary research* 42(8), 1335-1341.

Sanchez, E.G., Quintas, A., Perez-Nunez, D., Nogal, M., Barroso, S., Carrascosa, A.L., Revilla, Y., 2012. African swine fever virus uses macropinocytosis to enter host cells. *PLoS pathogens* 8(6), e1002754.

Schlafer, D.H., Mebus, C.A., McVicar, J.W., 1984. African swine fever in neonatal pigs: passively acquired protection from colostrum or serum of recovered pigs. *American journal of veterinary research* 45(7), 1367-1372.

Sierra, M.A., Bernabe, A., Mozos, E., Mendez, A., Jover, A., 1987. Ultrastructure of the liver in pigs with experimental African swine fever. *Veterinary pathology* 24(5), 460-462.

Smietanka, K., Wozniakowski, G., Kozak, E., Niemczuk, K., Fraczyk, M., Bocian, L., Kowalczyk, A., Pejsak, Z., 2016. African Swine Fever Epidemic, Poland, 2014-2015. *Emerging infectious diseases* 22(7), 1201-1207.

Steiger, Y., Ackermann, M., Mettraux, C., Kihm, U., 1992. Rapid and biologically safe diagnosis of African swine fever virus infection by using polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology* 30(1), 1-8.

Tignon, M., Gallardo, C., Iscaro, C., Hutet, E., Van der Stede, Y., Kolbasov, D., De Mia, G.M., Le Potier, M.F., Bishop, R.P., Arias, M., Koenen, F., 2011. Development and inter-laboratory validation study of an improved new real-time PCR assay with internal control for detection and laboratory diagnosis of African swine fever virus. *Journal of virological methods* 178(1-2), 161-170.

- Tulman, E.R., Delhon, G.A., Ku, B.K., Rock, D.L., 2009. African swine fever virus. *Current topics in microbiology and immunology* 328, 43-87.
- Tulman, E.R., Rock, D.L., 2001. Novel virulence and host range genes of African swine fever virus. *Current opinion in microbiology* 4(4), 456-461.
- Vidal, M.I., Stiene, M., Henkel, J., Bilitewski, U., Costa, J.V., Oliva, A.G., 1997. A solid-phase enzyme linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies, for the detection of African swine fever virus antigens and antibodies. *Journal of virological methods* 66(2), 211-218.
- Villeda, C.J., Williams, S.M., Wilkinson, P.J., Vinuela, E., 1993a. Consumption coagulopathy associated with shock in acute African swine fever. *Archives of virology* 133(3-4), 467-475.
- Villeda, C.J., Williams, S.M., Wilkinson, P.J., Vinuela, E., 1993b. Haemostatic abnormalities in African swine fever a comparison of two virus strains of different virulence (Dominican Republic '78 and Malta '78). *Archives of virology* 130(1-2), 71-83.
- Vinuela, E., 1985. African swine fever virus. *Current topics in microbiology and immunology* 116, 151-170.
- VLASOVA, N.N., VARENTSOVA, A. A., SHEVCHENKO, I. V., YU ZHUKOV, I., REMYGA, S. G, GAVRILOVA, V. L. & OTHERS 2015. Comparative analysis of clinical and biological characteristics of African swine fever virus isolates from 2013 year Russian Federation. *British Microbiology Research Journal* 5, 203-215
- Wardley, R.C., Abu Elzein, E.M., Crowther, J.R., Wilkinson, P.J., 1979. A solid-phase enzyme linked immunosorbent assay for the detection of African swine fever virus antigen and antibody. *The Journal of hygiene* 83(2), 363-369.
- Wardley, R.C., de, M.A.C., Black, D.N., de Castro Portugal, F.L., Enjuanes, L., Hess, W.R., Mebus, C., Ordas, A., Rutili, D., Sanchez Vizcaino, J., Vigario, J.D., Wilkinson, P.J., Moura Nunes, J.F., Thomson, G., 1983. African Swine Fever virus. Brief review. *Archives of virology* 76(2), 73-90.
- Wieland, B., Dhollander, S., Salman, M., Koenen, F., 2011. Qualitative risk assessment in a data-scarce environment: a model to assess the impact of control measures on spread of African Swine Fever. *Preventive veterinary medicine* 99(1), 4-14.

- Wilkinson, P.J., Wardley, R.C., Williams, S.M., 1981. African swine fever virus (Malta/78) in pigs. *Journal of comparative pathology* 91(2), 277-284.
- Zhang, F., Moon, A., Childs, K., Goodbourn, S., Dixon, L.K., 2010. The African swine fever virus DP71L protein recruits the protein phosphatase 1 catalytic subunit to dephosphorylate eIF2 α and inhibits CHOP induction but is dispensable for these activities during virus infection. *Journal of virology* 84(20), 10681-10689.
- Zhou, X., Li, N., Luo, Y., Liu, Y., Miao, F., Chen, T., Zhang, S., Cao, P., Li, X., Tian, K., Qiu, H., Hu, R., 2018. Emergence of African Swine Fever in China, 2018. *Transboundary and emerging diseases*.
- Zsak, L., Borca, M.V., Risatti, G.R., Zsak, A., French, R.A., Lu, Z., Kutish, G.F., Neilan, J.G., Callahan, J.D., Nelson, W.M., Rock, D.L., 2005. Preclinical diagnosis of African swine fever in contact-exposed swine by a real-time PCR assay. *Journal of clinical microbiology* 43(1), 112-119.
- Zsak, L., Lu, Z., Kutish, G.F., Neilan, J.G., Rock, D.L., 1996. An African swine fever virus virulence-associated gene NL-S with similarity to the herpes simplex virus ICP34.5 gene. *Journal of virology* 70(12), 8865-8871.
- Zsak, L., Onisk, D.V., Afonso, C.L., Rock, D.L., 1993. Virulent African swine fever virus isolates are neutralized by swine immune serum and by monoclonal antibodies recognizing a 72-kDa viral protein. *Virology* 196(2), 596-602.

附录



附录 1： 非洲猪瘟疫情应急预案

1. 总则

非洲猪瘟是由非洲猪瘟病毒引起的猪的一种急性、热性、高度接触性动物传染病。世界动物卫生组织（OIE）将其列为法定报告动物疫病，我国将其列为一类动物疫病，是我国重点防范的外来动物疫病之一。

1.1 编制目的

及时扑灭突发非洲猪瘟疫情，保障生猪养殖业健康发展。

1.2 编制依据

依据《中华人民共和国动物防疫法》《中华人民共和国进出境动植物检疫法》《重大动物疫情应急条例》《国家突发重大动物疫情应急预案》和《国家中长期动物疫病防治规划（2012—2020 年）》，制定本预案。

1.3 工作原则

按照属地管理的原则，实行政府统一领导、部门分工负责，切实落实防控工作责任制，联防联控，形成防控合力。

坚持预防为主，贯彻“加强领导、密切配合、依靠科学、依法防治、群防群控、果断处置”的防控方针。按照“早、快、严、小”的要求，及早发现，快速反应，严格处理，减少损失。

1.4 适用范围

本预案适用于我国突发非洲猪瘟疫情的应急处置工作。

2. 组织管理

2.1 应急指挥机构

农业部在国务院统一领导下，负责组织、协调全国非洲猪瘟疫情应急管理工作，并根据突发疫情应急处置工作的需要，向国务院提出启动国务院重大动物疫情应急指挥部应急响应建议。

地方各级人民政府兽医主管部门在本级人民政府统一领导下，负责组织、协调本行政区域内非洲猪瘟疫情应急管理工作，并根据突发疫情应急处置需要，向本级人民政府提出启动地方重大动物疫情应急指挥部应急响应建议。

各级人民政府应急指挥部应明确组成部门，各有关部门要加强协调配合，建立健全多部门共同参与的联防联控协作机制。

2.2 职责分工

农业部负责组织实施突发非洲猪瘟疫情应急管理工作，并进行检查、督导；及时发布突发非洲猪瘟疫情信息，并向有关国际组织、国家和地区通报疫情；紧急组织调拨消毒药品等应急防疫物资；提出启动、停止疫情应急控制措施建议；组织对扑杀及补偿等费用和疫情损失的评估。各地兽医部门要积极配合出入境检验检疫等有关部门，共同做好境外非洲猪瘟疫情传入风险的防范工作，及时开展突发疫情应急处置，切实落实疫情监测、流行病学调查、排查、消毒、检疫监管、扑杀等各项综合防控措施。边境

地区兽医部门要着力加强边境地区防控，坚持内防外堵，配合有关部门切实落实边境巡查、消毒等防控措施。

兽医部门要积极协调出入境检验检疫、海关、林业等有关部门，按照各部门职责分工，做好非洲猪瘟疫情应急处置工作。军队、武警部队依法参与突发非洲猪瘟疫情应急处置工作。

3. 疫情监测与报告

3.1 国际疫情监视

中国动物卫生与流行病学中心要密切监视国际非洲猪瘟疫情动态，科学评估非洲猪瘟传入我国的风险，及时提出相关措施建议。

边境地区特别是与疫情国家接壤的地区，以及公路口岸、铁路口岸、国际空港、海港所在地兽医部门，要积极协调出入境检验检疫、林业等有关部门，密切监视家猪和野猪的健康状况。

3.2 疫情监测

中国动物疫病预防控制中心、中国动物卫生与流行病学中心、地方各级动物疫病预防控制机构等有关单位要密切配合，做好非洲猪瘟的监测工作。

3.3 疫情报告与确认

任何单位和个人，如发现不明原因生猪死亡、野猪异常死亡等情况，应及时向当地兽医部门报告。各级兽医部

门接到可疑疫情报告后，按照国家动物疫情报告要求，逐级上报至农业部兽医局和中国动物疫病预防控制中心。当地县级以上动物疫病预防控制机构按防治技术规范要求采集样品，送省级动物疫病预防控制机构检测，经检测为非洲猪瘟疑似疫情的，立即送中国动物卫生与流行病学中心确诊。农业部根据确诊结果，认定并发布非洲猪瘟疫情。

4. 疫情响应

4.1 疫情分级

根据非洲猪瘟疫情的性质、危害程度和涉及范围，将非洲猪瘟疫情划分为三级：特别重大（Ⅰ级）疫情、重大（Ⅱ级）疫情和较大（Ⅲ级）疫情。

4.1.1 特别重大（Ⅰ级）疫情

在15日内，2个以上（含）省级行政区发生疫情并流行。

4.1.2 重大（Ⅱ级）疫情

在15日内，在1个省级行政区内，1个以上（含）县级行政区发生疫情。

4.1.3 较大（Ⅲ级）疫情

在公路口岸、铁路口岸和港口（空港、海港）进口的生猪中检出非洲猪瘟病毒。

4.1.4 发生非洲猪瘟疫情首次传入我国等其他突发疫情情形时，由农业部根据实际情况认定。

4.2 分级响应

发生非洲猪瘟疫情时，按照属地管理、分级响应的原则做出应急响应。各有关部门按程序启动《国家突发重大动物疫情应急预案》和本预案，并根据疫情形势和风险分析结果，及时调整响应级别。

4.2.1 特别重大（I级）疫情响应

农业部向社会发布I级疫情预警。全国立即启动非洲猪瘟防控工作日报制度。发生疫情省份暂停其生猪及相关产品跨省调出，暂停发生疫情县区的生猪及相关产品跨县调出。在全国范围内开展紧急流行病学调查和排查工作。

各有关部门按照职责分工共同做好非洲猪瘟疫情防控工作。

4.2.2 重大（II级）疫情响应

农业部向社会发布II级疫情预警。发生疫情省份省级兽医部门立即启动非洲猪瘟防控工作日报制度，暂停发生疫情县区的生猪及相关产品调出。相关省份开展紧急流行病学调查和排查工作。

各有关部门按照职责分工共同做好非洲猪瘟疫情防控工作。

4.2.3 较大（III级）疫情响应

农业部向社会发布III级疫情预警。相关口岸、港口所在地兽医部门协调出入境检验检疫部门立即启动非洲猪瘟防控工作日报制度，开展紧急流行病学调查、排查等工作，暂停相关口岸、港口所在县生猪及相关产品调出。

各有关部门按照职责分工共同做好非洲猪瘟疫情防控工作。

4.3 应急响应的终止

非洲猪瘟疫情得到有效控制后，由相应兽医主管部门对疫情控制情况进行评估，提出终止应急响应的建议，按程序报批宣布。

5. 应急处置

5.1 疑似疫情的应急处置

对发病场（户）的动物实施严格的隔离、监视，对发病场（户）及有流行病学关联的养殖场（户）进行采样检测。

禁止易感动物及其产品、饲料及垫料、废弃物等有关物品移动，并对其内外环境进行严格消毒。必要时，采取封锁、扑杀等措施。

5.2 确诊疫情的应急处置

疫情确诊后，县级以上兽医主管部门应当立即划定疫点、疫区和受威胁区，调查疫源，向本级人民政府提出启动应急响应的建议，由当地人民政府依法作出决定。

5.2.1 划定疫点、疫区和受威胁区

疫点：发病猪所在的地点。相对独立的规模化养殖场（户），以病猪所在的场（户）为疫点；散养猪以病猪所在的自然村为疫点；放养猪以病猪所在的活动场地为疫点；在运输过程中发生疫情的，以运载病猪的车、船、飞机等

运载工具为疫点；在市场发生疫情的，以病猪所在市场为疫点；在屠宰加工过程中发生疫情的，以屠宰加工厂（场）为疫点。

疫区：由疫点边缘向外延伸 3 公里的区域。

受威胁区：由疫区边缘向外延伸 10 公里的区域。对有野猪活动地区，受威胁区应为疫区边缘向外延伸 50 公里的区域。

划定疫点、疫区和受威胁区时，应根据当地天然屏障（如河流、山脉等）、人工屏障（道路、围栏等）、野猪分布情况，以及疫情追溯调查和风险分析结果，综合评估后划定。

5.2.2 封锁

疫情发生所在地县级以上兽医主管部门报请本级人民政府对疫区实行封锁，由当地人民政府依法发布封锁令。

跨行政区域发生疫情时，由有关行政区域共同的上一级人民政府对疫区实行封锁，或者由各有关行政区域的上一级人民政府共同对疫区实行封锁。必要时，上级人民政府可以责成下级人民政府对疫区实行封锁。

5.2.3 疫点内应采取的措施

疫情发生所在地的县级人民政府依法及时组织扑杀和销毁疫点内的所有猪只，并对所有病死猪、被扑杀猪及其产品进行无害化处理。对排泄物、餐余垃圾、被污染或可能被污染的饲料和垫料、污水等进行无害化处理。对被污

染或可能被污染的物品、交通工具、用具、猪舍、场地进行严格彻底消毒。出入人员、车辆和相关设施要按规定进行消毒。禁止易感动物出入和相关产品调出。

5.2.4 疫区内应采取的措施

疫情发生所在地的县级以上人民政府兽医主管部门应按照国家程序和要求，在疫区周围设立警示标志，在出入疫区的交通路口设置临时消毒站，执行监督检查任务，对出入的人员和车辆进行消毒。禁止易感动物出入和相关产品调出。关闭生猪交易市场和屠宰场。对生猪养殖场（户）等场所进行严格消毒，并做好采样检测和流行病学调查工作，根据检测和调查结果确定扑杀范围。

5.2.5 受威胁区应采取的措施

禁止易感动物出入和相关产品调出。关闭生猪交易市场。疫情发生所在地的县级人民政府及时组织对生猪养殖场（户）、屠宰场全面开展临床监视，及时掌握疫情动态，强化防控措施。

5.3 野生动物和虫媒控制

各地兽医部门协调林业部门对疫区、受威胁区及周边地区野猪分布状况进行调查和监测。养殖场户要采取措施避免家猪与野猪接触。在钝缘软蜱分布地区，疫点、疫区、受威胁区的养猪场（户）应采取杀灭钝缘软蜱等虫媒控制措施，兽医部门要加强检测和风险评估工作。当地兽医部门与林业部门应定期相互通报有关信息。

5.4 疫情跟踪与溯源

对疫情发生前 30 天内以及疫情发生后采取隔离措施前,从疫点输出的易感动物、相关产品、运输车辆及密切接触人员的去向进行跟踪调查,对有流行病学关联的养殖场所进行采样检测,分析评估疫情扩散风险。

对疫情发生前 30 天内,引入疫点的所有易感动物、相关产品及运输工具进行溯源性调查,对有流行病学关联的养殖场所进行采样检测,分析疫情来源。

5.5 解除封锁

疫点和疫区应扑杀范围内所有猪死亡或扑杀完毕,并按规定进行消毒和无害化处理 6 周后,经疫情发生所在地的一级兽医主管部门组织验收合格后,由所在地县级以上兽医主管部门向原发布封锁令的人民政府申请解除封锁,由该人民政府发布解除封锁令,并通报毗邻地区和有关部门。解除封锁后,疫点和疫区应扑杀范围内应至少空栏 6 个月。

5.6 扑杀补助

对在非洲猪瘟控制、扑灭过程中强制扑杀的动物、销毁的动物产品,按照重大动物疫病扑杀补助有关规定给予补偿。

6. 保障措施

6.1 组织领导

根据国务院有关规定,地方各级人民政府对辖区内非洲猪瘟防控工作负总责。各地兽医主管部门要及时报

请县级以上地方人民政府,结合实际制定本地区非洲猪瘟疫情应急预案实施方案。各地兽医部门在当地人民政府统一领导下,加强与各有关部门协作配合,及时通报疫情形势和工作进展,及时调整完善防控策略和措施,共同做好非洲猪瘟疫情应急处置工作。

6.2 法律保障

要严格按《中华人民共和国动物防疫法》《中华人民共和国进出境动植物检疫法》等有关法律法规和本预案开展防控工作,落实防控责任制。对履行职责不力,影响疫情防控的,要依法追究有关当事人责任。

6.3 条件保障

各级兽医主管部门要报请当地人民政府做好应急物资储备的经费保障和物资供应等工作。要积极协调财政部门将疫情监测、疫病诊断、流行病学调查、扑杀、无害化处理、消毒、杀虫灭源和人员防护等防控经费纳入各级财政预算。扑杀补助所需资金由中央和地方财政按规定的比例分担。

6.4 技术保障

中国动物卫生与流行病学中心或农业部指定的其他非洲猪瘟实验室应加强防控技术和相关诊断试剂的研究,做好技术储备工作;对边境省份等高风险地区加强实验室监测技术指导。开展非洲猪瘟病原学研究的实验室必须达到三级生物安全水平,并按规定取得开展相关实验活动的许

可。中国动物卫生与流行病学中心要加强对省市县级兽医实验室的技术培训和支持。

6.5 进口贸易与入境检疫

农业部联合国家质检总局及时发布公告，暂停疫情国家和地区猪、野猪及相关产品的进口贸易。加强部门协调，配合有关部门做好公路口岸、铁路口岸和港口（空港、海港）的检疫工作，以及国际航班、轮船污水等废弃物的无害化处理。

6.6 宣传教育

各地应加强队伍建设，定期组织防控技术培训，重点加强病例发现、识别、报告、监测、消毒和无害化处理等有关培训工作。加强防疫宣传，通过多种媒体普及非洲猪瘟防控和应急处置知识，动员社会力量落实各项防控措施，维护正常的生产生活秩序。

6.7 国际交流合作

加强对外技术交流与合作，争取国际社会支持，减少疫情对我国经济贸易和旅游业的影响。

7. 附则

7.1 本预案由农业部负责解释。

7.2 本预案自发布之日起生效。

附录 2： 非洲猪瘟防治技术规范（试行）

非洲猪瘟（African Swine Fever, ASF）是由非洲猪瘟病毒引起的猪的一种急性、热性、高度接触性动物传染病，以高热、网状内皮系统出血和高死亡率为特征。世界动物卫生组织（OIE）将其列为法定报告动物疫病，我国将其列为一类动物疫病。

为防范、控制和扑灭非洲猪瘟疫情，依据《中华人民共和国动物防疫法》《重大动物疫情应急条例》《国家突发重大动物疫情应急预案》等法律法规，制定本规范。

1. 适用范围

本规范规定了非洲猪瘟的诊断、疫情报告和确认、疫情处置、防范等防控措施。

本规范适用于中华人民共和国境内与非洲猪瘟防治活动有关的单位和个人。

2. 诊断

2.1 流行病学

2.1.1 传染源

感染非洲猪瘟病毒的家猪、野猪（包括病猪、康复猪和隐性感染猪）和钝缘软蜱为主要传染源。

2.1.2 传播途径

主要通过接触非洲猪瘟病毒感染猪或非洲猪瘟病毒污染物（泔水、饲料、垫草、车辆等）传播，消化道和呼吸道是最主要的感染途径；也可经钝缘软蜱等媒介昆虫叮咬传播。

2.1.3 易感动物

家猪和欧亚野猪高度易感，无明显的品种、日龄和性别差异。疣猪和薮猪虽可感染，但不表现明显临床症状。

2.1.4 潜伏期

因毒株、宿主和感染途径的不同而有所差异。OIE《陆生动物卫生法典》规定，家猪感染非洲猪瘟病毒的潜伏期为15天。

2.1.5 发病率和病死率

不同毒株致病性有所差异，强毒力毒株可导致猪在4~10天内100%死亡，中等毒力毒株造成的病死率一般为30%~50%，低毒力毒株仅引起少量猪死亡。

2.1.6 季节性

该病季节性不明显。

2.2 临床表现

2.2.1 最急性：无明显临床症状突然死亡。

2.2.2 急性：体温可高达42℃，沉郁，厌食，耳、四肢、腹部皮肤有出血点，可视黏膜潮红、发绀。眼、鼻有黏液脓性分泌物；呕吐；便秘，粪便表面有血液和黏液覆盖；或腹泻，粪便带血。共济失调或步态僵直，呼吸困难，病

程延长则出现其他神经症状。妊娠母猪流产。病死率高达100%。病程4~10天。

2.2.3 亚急性：症状与急性相同，但病情较轻，病死率较低。体温波动无规律，一般高于40.5℃。仔猪病死率较高。病程5~30天。

2.2.4 慢性：波状热，呼吸困难，湿咳。消瘦或发育迟缓，体弱，毛色暗淡。关节肿胀，皮肤溃疡。死亡率低。病程2~15个月。

2.3 病理变化

浆膜表面充血、出血，肾脏、肺脏表面有出血点，心内膜和心外膜有大量出血点，胃、肠道粘膜弥漫性出血。胆囊、膀胱出血。肺脏肿大，切面流出泡沫性液体，气管内有血性泡沫样粘液。脾脏肿大，易碎，呈暗红色至黑色，表面有出血点，边缘钝圆，有时出现边缘梗死。颌下淋巴结、腹腔淋巴结肿大，严重出血。

2.4 鉴别诊断

非洲猪瘟临床症状与古典猪瘟、高致病性猪蓝耳病等疫病相似，必须开展实验室检测进行鉴别诊断。

2.5 实验室检测

2.5.1 样品的采集、运输和保存（见附件1）

2.5.2 血清学检测

抗体检测可采用间接酶联免疫吸附试验、阻断酶联免疫吸附试验和间接荧光抗体试验等方法。

血清学检测应在符合相关生物安全要求的省级动物疫病预防控制机构实验室、中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心）或农业部指定实验室进行。

2.5.3 病原学检测

2.5.3.1 病原学快速检测：可采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验、聚合酶链式反应和实时荧光聚合酶链式反应等方法。

开展病原学快速检测的样品必须灭活，检测工作应在符合相关生物安全要求的省级动物疫病预防控制机构实验室、中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心）或农业部指定实验室进行。

2.5.3.2 病毒分离鉴定：可采用细胞培养、动物回归试验等方法。

病毒分离鉴定工作应在中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心）或农业部指定实验室进行，实验室生物安全水平必须达到 BSL-3 或 ABSL-3。

2.6 结果判定

2.6.1 临床可疑疫情

符合非洲猪瘟的流行病学特点、临床表现和病理变化，判定为临床可疑疫情。

2.6.2 疑似疫情

对临床可疑疫情，经上述任一血清学方法或病原学快速检测方法检测，结果为阳性的，判定为疑似疫情。

2.6.3 确诊疫情

对疑似疫情，经中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心）或农业部指定实验室复核，结果为阳性的，判定为确诊疫情。

3. 疫情报告和确认

3.1 疫情报告

任何单位和个人发现家猪、野猪异常死亡，如出现古典猪瘟免疫失败，或不明原因大范围生猪死亡的情形，应当立即向当地兽医主管部门、动物卫生监督机构或者动物疫病预防控制机构报告。

当地县级动物疫病预防控制机构判定为非洲猪瘟临床可疑疫情的，应在 2 小时内报告本地兽医主管部门，并逐级上报至省级动物疫病预防控制机构。

省级动物疫病预防控制机构判定为非洲猪瘟疑似疫情时，应立即报告省级兽医主管部门、中国动物疫病预防控制中心和中国动物卫生与流行病学中心；省级兽医主管部门应在 1 小时内报告省级人民政府和农业部兽医局。

中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心）或农业部指定实验室判定为非洲猪瘟疫情时，应立即报告农业部兽医局并抄送中国动物疫病预防控制中心，同时通知疫情发生地省级动物疫病预防控制机构。省级动物疫病预防控制机构应立即报告省级兽医主管部门，省级

兽医主管部门应立即报告省级人民政府。

3.2 疫情确认

农业部兽医局根据中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心）或农业部指定实验室确诊结果，确认非洲猪瘟疫情。

4. 疫情处置

4.1 临床可疑和疑似疫情处置

4.1.1 接到报告后，县级兽医主管部门应组织 2 名以上兽医人员立即到现场进行调查核实，初步判定为非洲猪瘟临床可疑疫情的，应及时采集样品送省级动物疫病预防控制机构；省级动物疫病预防控制机构诊断为非洲猪瘟疑似疫情的，应立即将疑似样品送中国动物卫生与流行病学中心（国家外来动物疫病研究中心），或农业部指定实验室进行复核和确诊。

4.1.2 对发病场（户）的动物实施严格的隔离、监视，禁止易感动物及其产品、饲料及有关物品移动，并对其内外环境进行严格消毒（见附件 2）。

必要时采取封锁、扑杀等措施。

4.2 确诊疫情处置

疫情确诊后，立即启动相应级别的应急预案。

4.2.1 划定疫点、疫区和受威胁区

4.2.1.1 疫点：发病家猪或野猪所在的地点。相对独立

的规模化养殖场（户），以病猪所在的场（户）为疫点；散养猪以病猪所在的自然村为疫点；放养猪以病猪所在的活动场地为疫点；在运输过程中发生疫情的，以运载病猪的车、船、飞机等运载工具为疫点；在市场发生疫情的，以病猪所在市场为疫点；在屠宰加工过程中发生疫情的，以屠宰加工厂（场）为疫点。

4.2.1.2 疫区：由疫点边缘向外延伸 3 公里的区域。

4.2.1.3 受威胁区：由疫区边缘向外延伸 10 公里的区域。对有野猪活动地区，受威胁区应为疫区边缘向外延伸 50 公里的区域。

划定疫区、受威胁区时，应根据当地天然屏障（如河流、山脉等）、人工屏障（道路、围栏等）、野生动物分布情况，以及疫情追溯调查和风险分析结果，综合评估后划定。

4.2.2 封锁

疫情发生所在地县级以上兽医主管部门报请同级人民政府对疫区实行封锁，人民政府在接到报告后，应在 24 小时内发布封锁令。

跨行政区域发生疫情时，由有关行政区域共同的上一级人民政府对疫区实行封锁，或者由各有关行政区域的上一级人民政府共同对疫区实行封锁。必要时，上级人民政府可以责成下级人民政府对疫区实行封锁。

4.2.3 对疫点应采取的措施

4.2.3.1 扑杀并销毁疫点内的所有猪只，并对所有病死猪、被扑杀猪及其产品进行无害化处理。

4.2.3.2 对排泄物、被污染或可能被污染的饲料和垫料、污水等进行无害化处理。

4.2.3.3 对被污染或可能被污染的物品、交通工具、用具、猪舍、场地进行严格彻底消毒。出入人员、车辆和相关设施要按规定进行消毒（见附件 2）。

4.2.3.4 禁止易感动物出入和相关产品调出。

4.2.4 对疫区应采取的措施

4.2.4.1 在疫区周围设立警示标志，在出入疫区的交通路口设置临时消毒站，执行监督检查任务，对出入的人员和车辆进行消毒（见附件 2）。

4.2.4.2 扑杀并销毁疫区内的所有猪只，并对所有被扑杀猪及其产品进行无害化处理。

4.2.4.3 对猪舍、用具及场地进行严格消毒。

4.2.4.4 禁止易感动物出入和相关产品调出。

4.2.4.5 关闭生猪交易市场和屠宰场。

4.2.5 对受威胁区应采取的措施

4.2.5.1 禁止易感动物出入和相关产品调出，相关产品调入必须进行严格检疫。

4.2.5.2 关闭生猪交易市场。

4.2.5.3 对生猪养殖场、屠宰场进行全面监测和感染风险评估，及时掌握疫情动态。

4.2.6 野生动物控制

应对疫区、受威胁区及周边地区野猪分布状况进行调

查和监测，并采取措施，避免野猪与人工饲养的猪接触。当地兽医部门与林业部门应定期相互通报有关信息。

4.2.7 虫媒控制

在钝缘软蜱分布地区，疫点、疫区、受威胁区的养猪场（户）应采取杀灭钝缘软蜱等虫媒控制措施。

4.2.8 疫情跟踪

对疫情发生前 30 天内以及采取隔离措施前，从疫点输出的易感动物、相关产品、运输车辆及密切接触人员的去向进行跟踪调查，分析评估疫情扩散风险。必要时，对接触的猪进行隔离观察，对相关产品进行消毒处理。

4.2.9 疫情溯源

对疫情发生前 30 天内，引入疫点的所有易感动物、相关产品及运输工具进行溯源性调查，分析疫情来源。必要时，对输出地猪群和接触猪群进行隔离观察，对相关产品进行消毒处理。

4.2.10 解除封锁

疫点和疫区内最后一头猪死亡或扑杀，并按规定进行消毒和无害化处理 6 周后，经疫情发生所在地的上一级兽医主管部门组织验收合格后，由所在地县级以上兽医主管部门向原发布封锁令的人民政府申请解除封锁，由该人民政府发布解除封锁令，并通报毗邻地区和有关部门，报上一级人民政府备案。

4.2.11 处理记录

对疫情处理的全过程必须做好完整详实的记录，并归档。

5. 防范措施

5.1 边境防控

各边境省份畜牧兽医部门要加强边境地区防控，坚持内防外堵，切实落实边境巡查、消毒等各项防控措施。与发生过非洲猪瘟疫情的国家和地区接壤省份的相关县市，边境线 50 公里范围内，以及国际空、海港所在城市的机场和港口周边 10 公里范围内禁止生猪放养。严禁进口非洲猪瘟疫情国家和地区的猪、野猪及相关产品。

5.2 饲养管理

5.2.1 生猪饲养、生产、经营等场所必须符合《动物防疫条件审查办法》规定的动物防疫条件，建立并实施严格的卫生消毒制度。

5.2.2 养猪场（户）应提高场所生物安全水平，采取措施避免家养猪群与野猪、钝缘软蜱的接触。

5.2.3 严禁使用未经高温处理的餐馆、食堂的泔水或餐余垃圾饲喂生猪。

5.3 日常监测

充分发挥国家动物疫情测报体系的作用，按照国家动物疫病监测与流行病学调查计划，加强对重点地区重点环节的监测。加强与林业等有关部门合作，做好野猪和媒介昆虫的调查监测，摸清底数，为非洲猪瘟风险评估提供依据。

5.4 出入境检疫监管

各地兽医部门要加强与出入境检验检疫、海关、边防等有关部门协作，加强联防联控，形成防控合力。配合有关部门，严禁进口来自非洲猪瘟疫情国家和地区的易感动物及其产品，并加强对国际航行运输工具、国际邮件、出入境旅客携带物的检疫，对非法入境的猪、野猪及其产品及时销毁处理。

5.5 宣传培训

广泛宣传非洲猪瘟防范知识和防控政策，增强出境旅客和相关从业人员的防范意识，营造群防群控的良好氛围。加强基层技术人员培训，提高非洲猪瘟的诊断能力和水平，尤其是提高非洲猪瘟和古典猪瘟等疫病的鉴别诊断水平，及时发现、报告和处置疑似疫情，消除疫情隐患。

附件：1. 非洲猪瘟样品的采集、运输与保存

2. 非洲猪瘟消毒技术

附件 1

非洲猪瘟样品的采集、运输与保存

可采集发病动物或同群动物的血清学样品和病原学样品，病原学样品主要包括抗凝血、脾脏、扁桃体、淋巴结、肾脏和骨髓等。如环境中存在钝缘软蜱，也应一并采集。

样品的包装和运输应符合农业部《高致病性动物病原微生物菌（毒）种或者样本运输包装规范》规定。规范填写采样登记表，采集的样品应在冷藏和密封状态下运输到相关实验室。

一、血清学样品

无菌采集 5ml 血液样品，室温放置 12 ~ 24h，收集血清，冷藏运输。到达检测实验室后，冷冻保存。

二、病原学样品

1. 抗凝血样品

无菌采集 5ml 抗凝血，冷藏运输。到达检测实验室后，-70℃冷冻保存。

2. 组织样品

2.1 首选脾脏，其次为扁桃体、淋巴结、肾脏、骨髓等，冷藏运输。

2.2 样品到达检测实验室后，-70℃保存。

3. 钝缘软蜱

3.1 将收集的钝缘软蜱放入有螺旋盖的样品瓶 / 管中，放入少量土壤，盖内衬以纱布，常温保存运输。

3.2 到达检测实验室后，-70℃冷冻保存或置于液氮中；如仅对样品进行形态学观察时，可以放入 100% 酒精中保存。

附件 2

非洲猪瘟消毒技术

1. 药品种类

最有效的消毒药是 10% 的苯及苯酚、去污剂、次氯酸、碱类及戊二醛。碱类（氢氧化钠、氢氧化钾等）、氯化物和酚化合物适用于建筑物、木质结构、水泥表面、车辆和相关设施设备消毒。酒精和碘化物适用于人员消毒。

2. 场地及设施设备消毒

2.1 消毒前准备

2.1.1 消毒前必须清除有机物、污物、粪便、饲料、垫料等。

2.1.2 选择合适的消毒药品。

2.1.3 备有喷雾器、火焰喷射枪、消毒车辆、消毒防护用品（如口罩、手套、防护靴等）、消毒容器等。

2.2 消毒方法

2.2.1 对金属设施设备的消毒，可采取火焰、熏蒸和冲洗等方式消毒。

2.2.2 对圈舍、车辆、屠宰加工、贮藏等场所，可采用消毒液清洗、喷洒等方式消毒。

2.2.3 对养殖场（户）的饲料、垫料，可采取堆积发酵或焚烧等方式处理，对粪便等污物作化学处理后采用深埋、堆积发酵或焚烧等方式处理。

2.2.4 对疫区范围内办公、饲养人员的宿舍、公共食堂等场所，可采用喷洒方式消毒。

2.2.5 对消毒产生的污水应进行无害化处理。

3. 人员及物品消毒

3.1 饲养管理人员可采取淋浴消毒。

3.2 对衣、帽、鞋等可能被污染的物品，可采取消毒液浸泡、高压灭菌等方式消毒。

4. 消毒频率

疫点每天消毒 3~5 次，连续 7 天，之后每天消毒 1 次，持续消毒 15 天；疫区临时消毒站做好出入车辆人员消毒工作，直至解除封锁。

附录 3： 病死及病害动物无害化处理技术规范

为贯彻落实《中华人民共和国动物防疫法》《生猪屠宰管理条例》《畜禽规模养殖污染防治条例》等有关法律法规，防止动物疫病传播扩散，保障动物产品质量安全，规范病死及病害动物和相关动物产品无害化处理操作技术，制定本规范。

1. 适用范围

本规范适用于国家规定的染疫动物及其产品、病死或者死因不明的动物尸体，屠宰前确认的病害动物、屠宰过程中经检疫或肉品品质检验确认为不可食用的动物产品，以及其他应当进行无害化处理的动物及动物产品。

本规范规定了病死及病害动物和相关动物产品无害化处理的技术工艺和操作注意事项，处理过程中病死及病害动物和相关动物产品的包装、暂存、转运、人员防护和记录等要求。

2. 引用规范和标准

GB19217 医疗废物转运车技术要求（试行）
GB18484 危险废物焚烧污染控制标准
GB18597 危险废物贮存污染控制标准
GB16297 大气污染物综合排放标准
GB14554 恶臭污染物排放标准
GB8978 污水综合排放标准
GB5085.3 危险废物鉴别标准
GB/T16569 畜禽产品消毒规范
GB19218 医疗废物焚烧炉技术要求（试行）
GB/T19923 城市污水再生利用 工业用水水质
当上述标准和文件被修订时，应使用其最新版本。

3. 术语和定义

3.1 无害化处理

本规范所称无害化处理，是指用物理、化学等方法处理病死及病害动物和相关动物产品，消灭其所携带的病原体，消除危害的过程。

3.2 焚烧法

焚烧法是指在焚烧容器内，使病死及病害动物和相关动物产品在富氧或无氧条件下进行氧化反应或热解反应的方法。

3.3 化制法

化制法是指在密闭的高压容器内，通过向容器夹层或容器内通入高温饱和蒸汽，在干热、压力或蒸汽、压力的作用下，处理病死及病害动物和相关动物产品的方法。

3.4 高温法

高温法是指常压状态下，在封闭系统内利用高温处理病死及病害动物和相关动物产品的方法。

3.5 深埋法

深埋法是指按照相关规定，将病死及病害动物和相关动物产品投入深埋坑中并覆盖、消毒，处理病死及病害动物和相关动物产品的方法。

3.6 硫酸分解法

硫酸分解法是指在密闭的容器内，将病死及病害动物和相关动物产品用硫酸在一定条件下进行分解的方法。

4. 病死及病害动物和相关动物产品的处理

4.1 焚烧法

4.1.1 适用对象

国家规定的染疫动物及其产品、病死或者死因不明的动物尸体，屠宰前确认的病害动物、屠宰过程中经检疫或肉品质检验确认为不可食用的动物产品，以及其他应当进行无害化处理的动物及动物产品。

4.1.2 直接焚烧法

4.1.2.1 技术工艺

4.1.2.1.1 可视情况对病死及病害动物和相关动物产品进行破碎等预处理。

4.1.2.1.2 将病死及病害动物和相关动物产品或破碎产物，投至焚烧炉本体燃烧室，经充分氧化、热解，产生的高温烟气进入二次燃烧室继续燃烧，产生的炉渣经出渣机排出。

4.1.2.1.3 燃烧室温度应 $\geq 850^{\circ}\text{C}$ 。燃烧所产生的烟气从最后的助燃空气喷射口或燃烧器出口到换热面或烟道冷风引射口之间的停留时间应 $\geq 2\text{s}$ 。焚烧炉出口烟气中氧含量应为6%~10%（干气）。

4.1.2.1.4 二次燃烧室出口烟气经余热利用系统、烟气净化系统处理，达到GB16297要求后排放。

4.1.2.1.5 焚烧炉渣与除尘设备收集的焚烧飞灰应分别收集、贮存和运输。焚烧炉渣按一般固体废物处理或作资源化利用；焚烧飞灰和其他尾气净化装置收集的固体废物需按GB5085.3要求作危险废物鉴定，如属于危险废物，则按GB18484和GB18597要求处理。

4.1.2.2 操作注意事项

4.1.2.2.1 严格控制焚烧进料频率和重量，使病死及病害动物和相关动物产品能够充分与空气接触，保证完全燃烧。

4.1.2.2.2 燃烧室内应保持负压状态，避免焚烧过程中发生烟气泄露。

4.1.2.2.3 二次燃烧室顶部设紧急排放烟窗，应急时开启。

4.1.2.2.4 烟气净化系统，包括急冷塔、引风机等设施。

4.1.3 炭化焚烧法

4.1.3.1 技术工艺

4.1.3.1.1 病死及病害动物和相关动物产品投至热解炭化室，在无氧情况下经充分热解，产生的热解烟气进入二次燃烧室继续燃烧，产生的固体炭化物残渣经热解炭化室排出。

4.1.3.1.2 热解温度应 $\geq 600^{\circ}\text{C}$ ，二次燃烧室温度 $\geq 850^{\circ}\text{C}$ ，焚烧后烟气在 850°C 以上停留时间 $\geq 2\text{s}$ 。

4.1.3.1.3 烟气经过热解炭化室热能回收后，降至 600°C 左右，经烟气净化系统处理，达到 GB16297 要求后排放。

4.1.3.2 操作注意事项

4.1.3.2.1 应检查热解炭化系统的炉门密封性，以保证热解炭化室的隔氧状态。

4.1.3.2.2 应定期检查和清理热解气输出管道，以免发生阻塞。

4.1.3.2.3 热解炭化室顶部需设置与大气相连的防爆口，热解炭化室内压力过大时可自动开启泄压。

4.1.3.2.4 应根据处理物种类、体积等严格控制热解的温度、升温速度及物料在热解炭化室里的停留时间。

4.2 化制法

4.2.1 适用对象

不得用于患有炭疽等芽孢杆菌类疫病，以及牛海绵状

脑病、痒病的染疫动物及产品、组织的处理。其他适用对象同 4.1.1。

4.2.2 干化法

4.2.2.1 技术工艺

4.2.2.1.1 可视情况对病死及病害动物和相关动物产品进行破碎等预处理。

4.2.2.1.2 病死及病害动物和相关动物产品或破碎产物输送入高温高压灭菌容器。

4.2.2.1.3 处理物中心温度 $\geq 140^{\circ}\text{C}$ ，压力 $\geq 0.5\text{MPa}$ （绝对压力），时间 $\geq 4\text{h}$ （具体处理时间随处理物种类和体积大小而设定）。

4.2.2.1.4 加热烘干产生的热蒸汽经废气处理系统后排出。

4.2.2.1.5 加热烘干产生的动物尸体残渣传输至压榨系统处理。

4.2.2.2 操作注意事项

4.2.2.2.1 搅拌系统的工作时间应以烘干剩余物基本不含水分为宜，根据处理物量的多少，适当延长或缩短搅拌时间。

4.2.2.2.2 应使用合理的污水处理系统，有效去除有机物、氨氮，达到 GB8978 要求。

4.2.2.2.3 应使用合理的废气处理系统，有效吸收处理过程中动物尸体腐败产生的恶臭气体，达到 GB16297 要求后排放。

4.2.2.2.4 高温高压灭菌容器操作人员应符合相关专业要求，持证上岗。

4.2.2.2.5 处理结束后，需对墙面、地面及其相关工具进行彻底清洗消毒。

4.2.3 湿化法

4.2.3.1 技术工艺

4.2.3.1.1 可视情况对病死及病害动物和相关动物产品进行破碎预处理。

4.2.3.1.2 将病死及病害动物和相关动物产品或破碎产物送入高温高压容器，总质量不得超过容器总承受力的五分之四。

4.2.3.1.3 处理物中心温度 $\geq 135^{\circ}\text{C}$ ，压力 $\geq 0.3\text{MPa}$ （绝对压力），处理时间 $\geq 30\text{min}$ （具体处理时间随处理物种类和体积大小而设定）。

4.2.3.1.4 高温高压结束后，对处理产物进行初次固液分离。

4.2.3.1.5 固体物经破碎处理后，送入烘干系统；液体部分送入油水分离系统处理。

4.2.3.2 操作注意事项

4.2.3.2.1 高温高压容器操作人员应符合相关专业要求，持证上岗。

4.2.3.2.2 处理结束后，需对墙面、地面及其相关工具进行彻底清洗消毒。

4.2.3.2.3 冷凝排放水应冷却后排放，产生的废水应经污水处理系统处理，达到 GB8978 要求。

4.2.3.2.4 处理车间废气应通过安装自动喷淋消毒系统、排风系统和高效微粒空气过滤器（HEPA 过滤器）等进行处理，达到 GB16297 要求后排放。

4.3 高温法

4.3.1 适用对象

同 4.2.1。

4.3.2 技术工艺

4.3.2.1 可视情况对病死及病害动物和相关动物产品进行破碎等预处理。处理物或破碎产物体积（长 \times 宽 \times 高） $\leq 125\text{cm}^3$ （ $5\text{cm}\times 5\text{cm}\times 5\text{cm}$ ）。

4.3.2.2 向容器内输入油脂，容器夹层经导热油或其他介质加热。

4.3.2.3 将病死及病害动物和相关动物产品或破碎产物输送入容器内，与油脂混合。常压状态下，维持容器内部温度 $\geq 180^{\circ}\text{C}$ ，持续时间 $\geq 2.5\text{h}$ （具体处理时间随处理物种类和体积大小而设定）。

4.3.2.4 加热产生的热蒸汽经废气处理系统后排出。

4.3.2.5 加热产生的动物尸体残渣传输至压榨系统处理。

4.3.3 操作注意事项

同 4.2.2.2。

4.4 深埋法

4.4.1 适用对象

发生动物疫情或自然灾害等突发事件时病死及病害动物的应急处理，以及边远和交通不便地区零星病死畜禽的处理。不得用于患有炭疽等芽孢杆菌类疫病，以及牛海绵状脑病、痒病的染疫动物及产品、组织的处理。

4.4.2 选址要求

4.4.2.1 应选择地势高燥，处于下风向的地点。

4.4.2.2 应远离学校、公共场所、居民住宅区、村庄、动物饲养和屠宰场所、饮用水源地、河流等地区。

4.4.3 技术工艺

4.4.3.1 深埋坑体容积以实际处理动物尸体及相关动物产品数量确定。

4.4.3.2 深埋坑底应高出地下水位 1.5m 以上，要防渗、防漏。

4.4.3.3 坑底洒一层厚度为 2~5cm 的生石灰或漂白粉等消毒药。

4.4.3.4 将动物尸体及相关动物产品投入坑内，最上层距离地表 1.5m 以上。

4.4.3.5 生石灰或漂白粉等消毒药消毒。

4.4.3.6 覆盖距地表 20~30cm，厚度不少于 1~1.2m 的覆土。

4.4.4 操作注意事项

4.4.4.1 深埋覆土不要太实，以免腐败产气造成气泡冒出和液体渗漏。

4.4.4.2 深埋后，在深埋处设置警示标识。

4.4.4.3 深埋后，第一周内应每日巡查 1 次，第二周起应每周巡查 1 次，连续巡查 3 个月，深埋坑塌陷处应及时加盖覆土。

4.4.4.4 深埋后，立即用氯制剂、漂白粉或生石灰等消毒药对深埋场所进行 1 次彻底消毒。第一周内应每日消毒 1 次，第二周起应每周消毒 1 次，连续消毒三周以上。

4.5 化学处理法

4.5.1 硫酸分解法

4.5.1.1 适用对象

同 4.2.1。

4.5.1.2 技术工艺

4.5.1.2.1 可视情况对病死及病害动物和相关动物产品进行破碎等预处理。

4.5.1.2.2 将病死及病害动物和相关动物产品或破碎产物，投至耐酸的水解罐中，按每吨处理物加入水 150~300kg，后加入 98% 的浓硫酸 300~400 kg（具体加入水和浓硫酸量随处理物的含水量而设定）。

4.5.1.2.3 密闭水解罐，加热使水解罐内升至 100~108℃，维持压力 $\geq 0.15\text{MPa}$ ，反应时间 $\geq 4\text{h}$ ，至罐体内的病死及病害动物和相关动物产品完全分解为液态。

4.5.1.3 操作注意事项

4.5.1.3.1 处理中使用的强酸应按国家危险化学品安全管理、易制毒化学品管理有关规定执行，操作人员应做好个人防护。

4.5.1.3.2 水解过程中要先将水加入到耐酸的水解罐中，然后加入浓硫酸。

4.5.1.3.3 控制处理物总体积不得超过容器容量的 70%。

4.5.1.3.4 酸解反应的容器及储存酸解液的容器均要求耐强酸。

4.5.2 化学消毒法

4.5.2.1 适用对象

适用于被病原微生物污染或可疑被污染的动物皮毛消毒。

4.5.2.2 盐酸食盐溶液消毒法

4.5.2.2.1 用 2.5% 盐酸溶液和 15% 食盐水溶液等量混合，将皮张浸泡在此溶液中，并使溶液温度保持在 30℃ 左右，浸泡 40h，1m² 的皮张用 10L 消毒液（或按 100mL 25% 食盐水溶液中加入盐酸 1mL 配制消毒液，在室温 15℃ 条件下浸泡 48h，皮张与消毒液之比为 1:4）。

4.5.2.2.2 浸泡后捞出沥干，放入 2%（或 1%）氢氧化钠溶液中，以中和皮张上的酸，再用水冲洗后晾干。

4.5.2.3 过氧乙酸消毒法

4.5.2.3.1 将皮毛放入新鲜配制的 2% 过氧乙酸溶液中浸泡 30min。

4.5.2.3.2 将皮毛捞出，用水冲洗后晾干。

4.5.2.4 碱盐液浸泡消毒法

4.5.2.4.1 将皮毛浸入 5% 碱盐液（饱和盐水中加 5% 氢氧化钠）中，室温（18~25℃）浸泡 24 h，并随时加以搅拌。

4.5.2.4.2 取出皮毛挂起，待碱盐液流净，放入 5% 盐酸液内浸泡，使皮上的酸碱中和。

4.5.2.4.3 将皮毛捞出，用水冲洗后晾干。

5. 收集转运要求

5.1 包装

5.1.1 包装材料应符合密闭、防水、防渗、防破损、耐腐蚀等要求。

5.1.2 包装材料的容积、尺寸和数量应与需处理病死及病害动物和相关动物产品的体积、数量相匹配。

5.1.3 包装后应进行密封。

5.1.4 使用后，一次性包装材料应作销毁处理，可循环使用的包装材料应进行清洗消毒。

5.2 暂存

5.2.1 采用冷冻或冷藏方式进行暂存，防止无害化处理前病死及病害动物和相关动物产品腐败。

5.2.2 暂存场所应能防水、防渗、防鼠、防盗，易于清洗和消毒。

5.2.3 暂存场所应设置明显警示标识。

5.2.4 应定期对暂存场所及周边环境进行清洗消毒。

5.3 转运

5.3.1 可选择符合 GB19217 条件的车辆或专用封闭厢式运载车辆。车厢四壁及底部应使用耐腐蚀材料，并采取防渗措施。

5.3.2 专用转运车辆应施加明显标识，并加装车载定位系统，记录转运时间和路径等信息。

5.3.3 车辆驶离暂存、养殖等场所前，应对车轮及车厢外部进行消毒。

5.3.4 转运车辆应尽量避免进入人口密集区。

5.3.5 若转运途中发生渗漏，应重新包装、消毒后运输。

5.3.6 卸载后，应对转运车辆及相关工具等进行彻底清洗、消毒。

6. 其他要求

6.1 人员防护

6.1.1 病死及病害动物和相关动物产品的收集、暂存、转运、无害化处理操作的工作人员应经过专门培训，掌握相应的动物防疫知识。

6.1.2 工作人员在操作过程中应穿戴防护服、口罩、护目镜、胶鞋及手套等防护用具。

6.1.3 工作人员应使用专用的收集工具、包装用品、转运工具、清洗工具、消毒器材等。

6.1.4 工作完毕后，应对一次性防护用品作销毁处理，对循环使用的防护用品消毒处理。

6.2 记录要求

6.2.1 病死及病害动物和相关动物产品的收集、暂存、转运、无害化处理等环节应建有台账和记录。有条件的地方应保存转运车辆行车信息和相关环节视频记录。

6.2.2 台账和记录

6.2.2.1 暂存环节

6.2.2.1.1 接收台账和记录应包括病死及病害动物和相关动物产品来源场（户）、种类、数量、动物标识号、死亡原因、消毒方法、收集时间、经办人员等。

6.2.2.1.2 运出台账和记录应包括运输人员、联系方式、转运时间、车牌号、病死及病害动物和相关动物产品种类、数量、动物标识号、消毒方法、转运目的地以及经办人员等。

6.2.2.2 处理环节

6.2.2.2.1 接收台账和记录应包括病死及病害动物和相关动物产品来源、种类、数量、动物标识号、转运人员、联系方式、车牌号、接收时间及经手人员等。

6.2.2.2.2 处理台账和记录应包括处理时间、处理方式、处理数量及操作人员等。

6.2.3 涉及病死及病害动物和相关动物产品无害化处理的台账和记录至少要保存两年。

