

第 23 章 细小病毒病

William L. Mengeling 著

猪细小病毒 (Porcine parvovirus, PPV) 可以引起猪的繁殖障碍性疾病, 主要表现为胎儿和胚胎的感染死亡, 而母体通常并不表现任何临床症状。血清反应阴性的母猪主要在妊娠的前半期经口鼻感染病毒, 结果免疫机能不全的胎儿经胎盘受到感染, 从而导致发病。猪细小病毒在世界各地普遍存在, 在已报道的猪群中呈地方流行性。诊断调查研究表明, 猪细小病毒是导致胚胎感染和死亡的主要感染源 (Cartwright 和 Huck 1967; Mengeling 1978b; Mengeling 等, 1991; Thacker 和 Leman 1978; Vannier 和 Tillon 1979)。该病毒除了能直接导致猪生殖缺陷外, 还可在猪圆环病毒 II 型 (Porcine circovirus type 2, PCV2) 引起的断奶仔猪多系统衰弱综合征 (PMWS) 的临床感染中起作用 (Krakowka 等 2000; Opriessnig 等, 2004)。

病原学

猪细小病毒为细小病毒科, 细小病毒属。所有的病毒株通过比较都具有相似的抗原性 (Cartwright 等, 1969; Johnson 和 Coilings 1969; Johnson 等, 1976; Morimoto 等, 1972a; Ruckerbauer 等, 1978)。猪细小病毒与其它属的成员都有抗原的相关性 (Cotmore 等, 1983; Mengeling 等, 1986, 1988)。然而, 病毒的同源性要通过严格的血清试验进行鉴定, 比如中和试验 (virus neutralization, VN) 和血凝抑制试验 (hemagglutination inhibition, HI)。

猪细小病毒的理化特征早已被广泛研究 (Berns, 1984; Molitor 等, 1983; Siegl, 1976), 总结如下: 成熟的病毒粒子是立体对称的, 有 2 或 3 种衣壳蛋白, 直径大约是 20 nm, 32 个壳粒, 无囊膜和基本脂类, 重量为 5.3×10^6 D, 病毒的基因组是单股 DNA, 分子量为 1.4×10^6 D (即占整个病毒粒子分子量的 26.5%)。完整而有感染力的病毒粒子、不完整的“空壳”病毒和提取的病毒 DNA, 在氯化铯中的浮密度 (g/ml) 分别是 1.38-1.395, 1.30-1.315 和 1.724。病毒的感染性、血凝活性和抗原性都具有显著的耐热性, 广泛的 pH 和酶抵抗力。

PPV 在体外复制细胞具有细胞毒作用, 主要表现为细胞隆起、固缩和溶解细胞的特性 (见图 23.1A)。大多数的细胞碎片通常黏附在一起, 最后使感染的细胞

呈现凸凹不平的外形，出现核内包涵体 (Cartwright 等, 1969)，但大多是散在分布(Rondhuis 和 Straver, 1972)。感染的细胞培养物有轻微的红细胞吸附现象 (Cartwright 等, 1969) (图 23.1B)。当在细胞上培养的病毒适应环境后进一步繁殖时，能使细胞产生广泛的病变。然而在病毒分离初期，或者说，在没有发现细胞病变之前，感染病毒的细胞培养物连传几代是很重要的(Cartwright 等, 1969)。免疫荧光(IF)显微镜的使用大大地提高了检出细胞培养物中微量 PPV 的可能性 (Lucas 和 Napthine, 1971; Mengeling, 1975)。

有几种细胞的繁殖和滴定 PPV 是敏感的，但最常用的还是胎儿或新生猪的原代或次代肾细胞(Pirtle, 1974)。对正处在分裂期的细胞培养物进行感染将有助于病毒复制，(Bachmann, 1972; Cartwright 等 1969; Hallauer 等, 1972; Mayr 等, 1968)。当培养基中的大多数细胞都在细胞周期中的 S 期（即 DNA 合成期）时，病毒复制开始所需的细胞原性 DNA 聚合酶就可以获得(Siegl 和 Gautschi, 1973a, b; Tennant, 1971)。

用来繁殖猪细小病毒的培养基中，如果加入胎牛或者成年牛的血清，应预先检测其中是否含有病毒抑制因子(Coackley 和 Smith, 1972; Johnson, 1973; Pini, 1975)。其它种属动物的血清也应检测(Joo, 等 1976d)。由于复制猪细小病毒受细胞系有丝分裂的影响，因此血清对细胞系的作用也尤其重要。另外，对所用的细胞培养物应先检查有无 PPV 的污染(Lucas 和 Nap-thine, 1971; Mengeling, 1975)，因为有时细胞培养物的制备材料不为我们所知，可能是来源于感染的胎儿和新生仔猪 (Bachmann, 1969; Cartwright 等, 1969; Hafez 和 Liess, 1979; Huygelen 和 Peetermans, 1967)。此外, PPV 也可以通过多种途径感染细部(Hallauer 等, 1971)，包括使用受 PPV 污染的胰蛋白酶(Croghan 和 Matchett 1973; Croghan 等, 1973)。如果在所有的细胞被感染前能够检测出污染，可通过含有 PPV 抗血清的培养液反复培养细胞来清除病毒(Mengeling, 1978a)。

一些研究者已经使用免疫荧光显微镜跟踪 PPV 在细胞培养物中的复制情况 (Bachmann 和 Danner, 1976; Cartwright 等, 1969; Lucas 和 Napthine, 1971; Mengeling, 1972; Siegl 等, 1972)。一般情况下，该病毒的复制情况如下：如果接种物中包含有高滴度病毒和病毒抗原，当感染发生后，在细胞的胞浆中很快就可以检测到病毒抗原。绝大多数早期细胞中的荧光是接种物中抗原被吞噬时反映

出的结果(Mengeling, 1972; Mengeling 和 Cutlip, 1975)。通过一系列的检测, 该抗原首先可以在细胞膜的外表面出现, 而后是在胞浆中, 大多是相对集中在细胞核附近。最初明确证实病毒复制的证据是在细胞核里出现新产生的病毒抗原(见图 23.2A)。至少在一些感染的细胞中的无论是细胞浆还是细胞核都呈现明亮的荧光, 这是由于初期的抗原大量地出现在细胞浆中的原因。这些感染的细胞通常可以在含有 PPV 高滴度抗体胎儿的肺脏中发现, 这也许代表了这一阶段病毒的复制(见图 23.8C)。被感染的细胞随后隆起、固缩、裂解并释放出病毒和病毒抗原(见图 23.2B)。在培养物中的其他细胞没有支持病毒复制的适宜阶段, 而不能在细胞浆中持续地吞噬和聚集病毒抗原(见图 23.2C)。如果细胞被刺激进入细胞周期的 S 期, 比如加入新鲜的培养液, 病毒的复制就可以被诱导进入又一个高峰。

血凝反应

PPV 能凝集人、猴、豚鼠、猫、鸡、大鼠和小鼠的红细胞, 已报道过其它动物的红细胞相对或完全不敏感, 或实验所得结果模棱两可(Cartwright 等, 1969; Darbyshire 和 Roberts, 1968; Hallaver 等, 1972; Mayr 等, 1968; Mengeling 1972; Morimoto 等, 1972a)。血凝试验的几个参数, 包括反应的温度(Mayr 等, 1968; Mengeling, 1972)、使用的红细胞种类以及在使用鸡红细胞的情况下。供血鸡的遗传特征 (Cartwright 等, 1969; Pini, 1975; Ruckerbauer 等, 1978) 和年龄 (Morimoto 等, 1972a)等, 都可能影响试验结果。HA 试验通常在室温下, pH 接近中性, 使用豚鼠红细胞进行。有报道, 较高的 HA 滴度通常是在试验时用巴比妥钠缓冲液代替磷酸盐稀释血清而获得的 (Ruckerbauer 等, 1978)。多余的病毒粒子 (红细胞只能凝集部分病毒粒子) 可以在 pH9 的碱性缓冲液中洗脱下来 (Hallauer 等, 1972)。

图 23.2

用免疫荧光显微镜检测的感染了 PPV 的猪胚肾细胞传代培养物。×500.

(A) 感染后 14 小时, 将培养物固定, 然后与荧光标记抗体 (FA) 反应。

(B) 感染后 24 小时, 培养物与 FA 反应, 然后固定, 仅见细胞外抗原以及破裂了的细胞内的抗原核膜。

(C) 感染后 48 小时, 将培养物固定, 后与 FA 反应。

感染性滴定

感染性滴定采用标准方法，只是在终点稀释度产生的细胞病理变化经常不明确，所以感染性的终点测定经常采用染色后检查细胞培养的核内包涵体，或检查培养液中病毒的血凝素(Cartwright 等，1969)。用免疫荧光显微镜察看空斑实验可以清晰地显示感染细胞，这种检测方法已有报道(Mengeling，1972)。

流行病学

PPV 在世界各地的猪群中广泛存在。猪在出生前后最常见的感染途径分别是通过胎盘和口鼻。在猪主要生产地区，多数猪场的感染呈地方流行，几乎没有母猪免于感染。

除此之外，大多数母猪在怀孕前已受到自然感染，而产生了主动免疫力，甚至可能终生免疫。总而言之，血清流行病学资料表明，PPV 感染是普遍的。这些资料还强调了在怀孕前没有产生免疫力的后备母猪，被感染和形成繁殖障碍的危险性高。

由免疫母猪所哺乳的仔猪可以从初乳中获得高滴度的 PPV 抗体，这些抗体随着时间的推移而逐渐减少，也随着猪的生长和生物学的降解而降低。如果用 HI 试验检查血清，在 3—6 月龄时，这种抗体通常下降到检不出的水平(Ethoh 等，1979；Paul 等，1982)。有时被动的获得性抗体能持续较长的时间。此外，低水平的抗体 HI 法检不出来时，用 VN 法可以检查到(Johnson 等，1976)。

被动获得性抗体的重要性在于，它干扰主动免疫力的产生。当这种抗体的水平高时能够防止感染，而低水平的抗体能使病毒的传播减到最低限度(Suzuki 和 Fujisaki 1976；Paul 等，1980)。所以，一些后备母猪群在怀孕前或妊娠的早期对感染不易感，也不能散播病毒。

污染的圈舍大概是 PPV 主要的传染源，该病毒对热稳定，且对许多常用的消毒剂都有抵抗力(Brown，1981)，来自急性感染期猪的分泌物和排泄物其病毒的感染力可保持几个月。经实验表明，虽然受感染后的猪传播 PPV 的时间仅 2 周左右，但病猪最初使用的圈舍至少在 4 个月内仍具有传染性(Mengeling 和 Paul1，1986)。

PPV 的普遍存在也增加了某些猪持续感染的可能性，至少会周期性排毒。然而，在急性传染期之外是否有排毒现象目前还没有证实(Johnson 等，1976)。据

记载，早期宫内感染有可能造成 PPV 免疫耐受带毒猪的出现(Johnson ， 1973)，在妊娠第 55 天前感染 PPV 的母猪，分娩出的仔猪已经感染，但是没有抗体。从出生后到 8 月龄之间的不同时间，及实验终止时对这些猪进行扑杀，均可从其肾脏、睾丸和精液中分离到病毒(Johnson 和 Collings， 1971)。另一个研究也是用妊娠早期感染 PPV 的母猪进行的，它产下的仔猪已受到感染，但是没有 PPV 抗体，其结果也暗示获得性免疫耐受的存在(Cartwright 等， 1971)。据报道有一例有性活动的具有免疫耐受能力的公猪受到了感染(Johnson 等， 1976)。

在关键时候公猪可能在 PPV 的传播中起重要作用。在急性传染期，病毒能以各种途径排出，其中包括精液，已有报道从自然感染的公猪精液中分离出了 PPV (Cartwright 和 Huck ， 1967; Cartwright 等， 1969; Mcadaragh 和 Anderson， 1975)。精液也可能在体外受到污染。将病毒通过包皮注射给公猪，5 天后在一头受试公猪的睾丸内分离到了病毒(Lucas 等， 1974)；经口鼻感染后在第 5 和第 8 天，也能从睾丸分离到病毒(Mengeling， 1976)；经口鼻感染后在第 5、8、15、21 和 35 天扑杀，能从其阴囊淋巴结中分离到此病毒；第 8 天后，把感染的淋巴结碎片与猪胚肾细胞混合培养检查，证明感染有该病毒 (Mengeling， 1976)。不管猪的免疫状态如何，公猪在敏感的母猪群中都是 PPV 的机械传播者。

临床症状

出生后猪的急性感染，包括最后导致繁殖障碍的怀孕母猪的急性感染，通常呈亚临床症状(Cutlip 和 Mengeling， 1975a; Fujisaki 等， 1975; Johnson 和 Collings， 1969; Johnson， 等 1976; Joo 等 1976a; Mengeling 和 Cutlip， 1976)。然而，在架子猪和育成的种猪体内，病毒大量复制，在许多分裂旺盛的器官和组织中都能发现该病毒，病毒抗原主要集中在淋巴样组织(Cutlip 和 Mengeling， 1975a; Fujisaki 等， 1975)。(见图 23.3A、B)

图 23. 3 感染了 PPV 的 8 周龄猪组织冰冻切片，免疫荧光显微镜检查。×312.5

(A) 扁桃体生发中心的病毒抗原。

(B) 骨膜成骨层中的病毒抗原。肋骨 a: 结缔组织 b:骨皮质 c:骨髓腔

不管年龄和性别如何很多猪都在最初接触 PPV 的 10 天内，出现短暂的、轻

微的症状，并且有时出现白细胞减少(Johnson 和 Collings, 1969, 1971; Joo 等, 1976a; Mengeling 和 Cutlip, 1976)。从腹泻猪的粪便中已经分离到 PPV 和其它结构相似的病毒 (Dea 等, 1985; Yasuhara 等, 1989)。值得注意的是, PPV 不像那些引起其它种动物肠道疾患的细小病毒那样能在小肠腺窝内大量复制 (Brown 等, 1980; Cutlip 和 Mengeling, 1975a)。PPV 也可从患有运动过度性心脏综合征的猪心脏破损的小囊泡分离出, 在这些损伤部位 PPV 的作用还没得到确定。PPV 感染的主要特征和仅有的临床反应是母猪的繁殖障碍, 其结局主要取决于在妊娠期的哪一阶段感染该病毒。母猪有可能再度发情, 或既不发情, 也不产仔, 或每窝只产很少的几个仔, 或者产出一部分为木乃伊胎儿。所有这些都反映出是死胎或死胚; 或两者都有。唯一表现出的症状可能是由于在怀孕中期或后期胎儿死亡, 胎水被重吸收, 母猪的腹围减少。母猪繁殖障碍的其它表现, 即: 不孕、流产、死产、新生仔猪死亡和产弱仔, 也认为是由 PPV 感染而引起 (Cartwright 和 Huck, 1967; Forman 等, 1977; Johnson, 1969; Morimoto 等, 1972b; Narita 等, 1975), 这些症状通常是该病的一小部分。一窝中如有木乃伊胎儿, 妊娠期(Narita 等, 1975)和产仔间隔(Mengeling 等, 1975)可能延长。不管这些胎儿是否受到感染, 都可能导致同窝健康胎儿的死亡。

目前, 还没有证据表明, 公猪的生育能力和性欲是否受 PPV 感染的影响 (Biront 和 Bonte 1983; Thacker 等, 1987)。

发病机理

母猪在妊娠期的前半期对能够诱发繁殖障碍的 PPV 是易感的。母猪的这一易感阶段已被几个实验研究结果 (Joo 等, 1976a; Mengeling 1979; Mengeling 和 Cutlip 1976; Mengeling 等, 1980a)和深入的流行病学调查 (Donaldson Wood 等, 1977; Gillick, 1977) 以及通过对收集到的流行病学资料中的胎儿死亡预测时间(Mengeling, 1978b; Mengeling 等, 1991)所证实。这个阶段母猪感染 PPV 后, 会引起胚胎或胎儿死亡, 分别表现为胎儿被重吸收和木乃伊化; 在妊娠中后期感染 PPV, 病毒可通过胎盘, 但胎儿在子宫内生存完好, 通常没有明显的临床影响。其可能的原因是, 通过胎盘感染通常需要 10—14 天(Mengeling 等, 1978, 1980a)或更长的时间(Joo 等, 1976a); 而在妊娠 70 天时, 大多数胎儿已能够对病毒产生保护性免疫应答。一般情况下, 在妊娠 70 天之前宫内接种 PPV 可以造成

胎儿死亡，但是在 70 天以后感染 PPV，胎儿不死并能产生抗体(Bachmann 等，1975；Cutlip 和 Mengeling，1975b； Mengeling 和 Cutlip，1975； Redman 等，1974)。据报道，还有一种毒力稍强的 PPV 毒株(Choi 等，1987)。妊娠不同时间感染 PPV 的结果见表 23.1。

表 23.1 妊娠不同时间感染 PPV 的结果

妊娠期（天） ^a		胚胎状态	感染结果
母猪感染	胎儿感染 ^b		
≤56	10-30	胚胎	胚胎死亡和重吸收
	30-70	胎儿	胚胎死亡和木乃伊化
>56	70-产前	胎儿	有免疫反应，通常在宫内幸存

a：妊娠期内近似值。b：母猪暴露在 PPV 中 10-14 天以胎盘感染。

常见同窝胎儿中仅有部分胎儿经胎盘感染，然后该病毒在子宫内传播，常使同胎的一个或多个胎儿感染。如果初期是通过污染 PPV 的精液感染，上述情况也会出现。因此，表 23.1 中所列出的结果可以在同胎中以不同形式组合或全部出现。由于早期死亡的胚胎被迅速吸收，有效地清除了子宫内病毒的贮留，所以在子宫内发生 PPV 扩散的可能是很小(Mengeling 等，1980a)。在这种情况下，母猪每窝只产很少的几个仔猪的原因很难确定。

这种 PPV 病毒在排卵前对卵细胞有无影响目前尚不清楚。病毒牢牢地附着在受精卵的透明带外面(Wrathall and Mengeling，1979a,b)，显然它不能穿透透明带，然而推测它能对以后形成的胚胎构成威胁(Wrathall 和 Mengeling，1979a)。

尽管有一些很有说服力的例子(Cartwright 等，1971)，但污染了 PPV 的精液是否是造成繁殖障碍的直接因素，目前还不能明确肯定(Lucas 等，1974)。当正在产生局部免疫时，透明带能起到保护早期胚胎的作用，相反病毒所引起的子宫变化则不利于妊娠(Wrathall 和 Mengeling，1979c)。在任何情况下，由精液感染的母猪都将成为其它猪的传染源。

除了前面提到的可能的子宫变化之外，由 PPV 造成的繁殖障碍的主要原因是病毒直接影响胎儿，由于缺乏免疫反应，病毒在胎儿组织内广泛繁殖。当胎儿死亡后，利用免疫荧光显微镜检查，可见其大多数细胞的胞浆内含有大量病毒抗原。与该病的早期阶段相比，胎儿死亡时细胞核内荧光反应相对减少。以上结果表明，当胎儿受到严重影响时，病毒复制需要的细胞有丝分裂及其有关条件受到

了抑制，而不是细胞吞噬活性受到抑制。

胎儿的死亡可能是由于病毒使很多组织和器官包括胎盘都受到了损伤而引起的，包括胎盘(Cutlip 和 Mengeling, 1975b)。然而，在缺乏免疫应答的情况下，几乎任何重要器官的病变足以导致死亡。病毒分布的显著特点之一是广泛存在于内皮细胞，这将阻止胎儿脉管网络的进一步发育。细胞有丝分裂的准备期（即 S 期），可引起病毒复制并导致细胞死亡。对胎儿循环系统的损伤主要表现为：水肿、出血和体腔中大量的浆液性渗出液的聚集以及镜下所见的内皮细胞坏死((Lenghaus 等, 1978)。

有人在母猪经口鼻感染 PPV 以后，在不同时间内，用免疫荧光显微镜法(IF)鉴定母体和胎儿组织中的感染细胞，以期揭示通过胎盘感染的机制(Mengeling 等, 1978)。通过检查母体和胎儿结合处的邻近组织，发现越到妊娠后期，绒毛膜的间质细胞和内皮细胞内的病毒抗原越多，而在子宫内皮细胞及滋养外胚层都没有检测到病毒抗原。因此，上述情况不能证明病毒是通过这些组织进行母体-胎儿传播的，但这种途径也不能完全排除，因为仅检测了母体和胎儿接触区的很少一部分。还有人认为病毒是通过巨噬细胞传播的(Paul 等, 1979)。不管是哪些途径，母体的病毒血症似乎是经过胎盘感染的先决条件(Joo 等, 1976a; Mengeling 和 Cutlip, 1976)。

病理变化

在非妊娠母猪没有发现大体病变和显微镜下病变(Cutlip 和 Mengeling, 1975a; Brown 等, 1980)。但到胎儿出生前后发生 PPV 的感染可以引起胎儿的细胞浸润。

没有人报道过怀孕母猪的大体病理变化，然而在妊娠后通过子宫内接种感染的母猪具有组织病理变化。对 PPV 血清学阴性的母猪在妊娠 70 天时使胎儿感染 PPV，在此后 12 天和 21 天屠宰发现，固有膜深层和子宫内膜邻近区域出现单核细胞的聚集。除此之外，在大脑、脊髓和眼脉络膜有浆细胞和淋巴细胞形态的血管套(Hogg 等, 1977)。在早期妊娠阶段(35、50 和 60 天)和胎儿感染 PPV 后的第 7 和 11 天剖杀母猪，出现相似的病变，但子宫的病变更明显，在子宫肌层和内层广泛出现由单核细胞形成的血管套(Lenghaus 等, 1978)。而当胎儿感染时，PPV 血清学阳性的母猪仅见子宫内局灶性淋巴细胞的聚集(Cutlip 和 Mengeling,

1975b)。

胚胎的肉眼变化是死亡，随后液体被吸收（见图 23.4），继而组织软化（见图 23.5）。病毒和病毒抗原广泛地分布于感染的胚胎组织及胚盘(Mengeling 等，1980a)，显微镜下可见死亡的胎儿或正在发育的胚胎出现坏死和血管损伤。

在胎儿没有免疫能力前感染了 PPV，可出现很多肉眼病变(见图 23.6)，这些包括在其它外表病变没有出现时，先看到不同程度的发育不良，有时胎重减轻；偶尔可见因充血和血液渗入组织内造成胎儿表面血管突起；伴随着体腔内浆液性渗出物聚集，表现充血、水肿和出血；胎儿死亡后出血点逐渐变成黑色；脱水使胎儿成为木乃伊；母体胎盘也有以上的病变。组织病理学变化主要是大多数组织和器官广泛的细胞坏死(Joo 等，1977；Lenghaus 等，1978)，(见图 23.7A)，也有炎症变化(Joo 等，1977) 和核内包涵体（Lenghaus 等，1978）。

图 23.4 后备母猪配种后立即经口鼻人工感染 PPV，22 天捕杀后所见胚胎，短线=1cm，（上部）未感染临床正常胚胎（箭头）互相连的胚外膜；（下部）同窝感染 PPV 而死亡的胚胎（箭头）互相连的胚外膜，死亡不久软组织没有被明显吸收(Mengeling 等，1980a.)

相反，胎儿对 PPV 具有免疫反应能力后再受到感染则不出现大的病变，在显微镜下主要病变是内皮细胞肥大(Hogg 等，1977)以及免疫应答相一致的单核细胞浸润(Hogg 等，1977；Joo 等，1977)。感染 PPV 而导致的死产胎儿在大脑的灰、白质和脑脊膜上可见到脑膜脑炎的病变，以外膜细胞、组织细胞和少量浆细胞增生形成血管周围套为特征。这些病变被认为是特异性的(Narita 等，1975)。在怀孕后期感染 PPV 的活胎儿也有类似的病变(Hogg 等，1977；Joo 等，1977)（见图 23.7B）。

受感染的胎儿可能产生上述两种基本的镜下病变（即坏死和单核细胞浸润），感染妊娠中期的胎儿，造成胎儿的免疫应答系统不健全（Lenghaus 等，1978）。

图 23.5

打开子宫显示的受感染胚胎(箭头所示)和部分重吸收的坏死性残留物及相连的胚外膜。母猪在配种后立即经口鼻人工感染 PPV，在 22 天后扑杀；残留物上布满了病毒和病毒抗原。短线=1cm (Mengeling 等，1980a)

图 23.6 PPV 感染的胎儿。短线=5cm

A. 母猪怀孕 47 天时经口鼻人工感染, 34 天后扑杀取出胎儿。L 列胎儿来自左侧子宫角, R 列胎儿取自右侧子宫角, 数字 1—4 代表胎儿从子宫颈到卵巢的胎位。L1 和 L4 号胎儿发育受阻, 但剖检时还活着; L3 号胎儿刚刚死亡, 其他处在发育后期。

B. 一窝来自自然感染母猪的胎儿, 约取自妊娠 114 天时, 高度脱水(木乃伊化)(Meneling 等, 1975)

图 23.7 经口鼻人工感染母猪, 受 PPV 感染的胎儿组织

(A). 在妊娠的第 40 天感染 PPV 的母猪于感染后 42 天扑杀, 取出的活胎儿其肝脏的坏死灶。该胎儿有大量整体病变。(H.E.×400)

(B). 与 A 图胎儿同窝的活胎儿, 图示大脑中单核细胞形成的血管套。该胎儿无眼观病变 (H.E.×320)。(小插图): 妊娠第 46 天感染的一头母猪, 感染后 25 天扑杀, 在其胎儿的脑血管内皮细胞中用荧光显微镜观察到的病毒抗原。(荧光显微镜×312.5 所有胎儿的感染可能都是由于受到胎盘感染的同窝胎儿, 在窝内相互传播造成的。(A 和 B 两张照片由国家动物疾病中心 T.T.Brown, Jr.惠赠)。

诊 断

只要出现胚胎或胎儿的死亡或两者并存, 在鉴别诊断猪的繁殖障碍综合征时, 就应考虑到 PPV。如果只青年母猪出问题而不是老母猪时, 在妊娠期间不表现临床症状, 也不出现流产或胎儿发育异常, 然而有迹象表明这是一种传染病, 可暂时认为是由 PPV 诱发的繁殖障碍。相对来看母体不表现病症、没有流产和胎儿产育异常, 这些可以把 PPV 和其它引起繁殖障碍的疾病区别开, 然而最终确诊有赖于实验室的工作。

如果确实出现了木乃伊胎, 应将几个这种胎儿(长度小于 16cm)或其肺脏送交实验室进行诊断。建议不要把大的(即妊娠 70 多天的)木乃伊胎、死胎和新生猪送到实验室检查, 除非别无它取(Marrable 和 Ashdown, 1967), 因为即便这些胎儿感染了 PPV, 它们的组织内也含有抗体这将干扰实验室对病毒或病毒抗原的检测。

母猪如果既不发情也不分娩, 应将其送到屠宰场, 取出子宫, 检查受感染的胎儿。有时在妊娠中前期三分之一胎儿发生死亡, 子宫内仅残存一些胎儿组织,

如果用免疫荧光显微镜检查病毒抗原，这些残存组织仍然是很好的样品(Mengeling 和 Cutlip, 1975; Mengeling, 1978b)。即使没有发现受感染的胎儿或胎儿残存组织，也不能排除 PPV 引起繁殖障碍的可能性。**在妊娠的最早几周内如发生全胎死亡，并且胎儿被全部吸收，母猪可以仍保持妊娠期的内分泌状态，直到预产期前 (Rodeffer 等, 1975)。**

用免疫荧光显微镜检查病毒抗原是可靠而敏感的诊断方法，用冰冻切片机制备胎儿组织的冰冻切片，然后与标准的诊断试剂反应(Mengeling 等, 1975; Mengeling, 1978b)，在几个小时内即能做出诊断。若胎儿没有抗体反应，所有胎儿组织都可检测到抗原(见图 23.8A, B)。即使有抗体，一般在胎儿肺脏中也能检测到受感染的细胞(见图 23.8c)。

图 23.8 免疫荧光显微镜检查感染 PPV 的胎儿肺冰冻切片 (A) 木乃伊胎儿肺与荧光标记抗体和非免疫血清反应; (B) A 的同一块组织与荧光标记抗体和 PPV 免疫血清反应即对照照片; (C) HI 抗体滴度为 640 的胎儿肺与荧光标记抗体和非免疫血清反应，可见两个感染细胞 (箭头所示)。(小插图): 在 C 同张切片上两个类似的感染细胞 (Mengeling, 1978b)。

用免疫荧光显微镜检测猪细小病毒 (PPV) 抗原是一种可靠而敏感的诊断方法，将冰冻切片机制作的胎儿肺组织冰冻切片与标准诊断试剂反应，在几个小时内即可做出诊断。在胎儿没有发生抗体反应的情况下，整个胎儿都可检测到抗原。即使存在抗体，在胎儿肺中也可检测到受感染的细胞 (见图 23.8C)。

检测病毒血凝素是较理想的一种诊断方法 (Joo 等, 1976b; Joo 和 Johnson 1977a)。该实验所需设备少，在没有抗体的情况下很有效。首先把待检组织在稀释液中研磨碎，离心取上清，用豚鼠红细胞做血凝素检查。

与上述两种方法相比，病毒分离不适合作为常规的诊断方法。胎儿死后，PPV 感染性缓慢地逐渐丧失 (Mengeling 和 Cutlip, 1975)，因此从受感染而死亡的木乃伊胎儿体内很难分离到病毒 (Mengeling, 1978b)。此外，分离病毒的过程很耗时，由于 PPV 在实验室中稳定存在 (Cartwright 等, 1969)，而导致培养的细胞可能来自于污染的组织 (Bachman, 1969; Cartwright 等, 1969; Hafez 和 Liess, 1979; Huyqelen 和 Peetermans, 1967; Mengeling 等, 1975)。常用免疫荧光显微镜来确定细胞培养物中是否分离到了 PPV (Cartwright, 1970; Johnson, 1973; Mengeling, 1978b)。

此外,诊断还依赖于 PPV 抗原灌搞体、PCR 试验的发展 (Molitor 等, 1991; Prikhod'ko 等, 2003; Soares 等, 1999)。组织中的 PPV 基因组还可以通过原位杂交的方法进行检测 (Waldvoget 等, 1995)

血清学试验

血凝抑制实验经常用于检测或定量分析 PPV 体液的抗体。最早在猪感染 PPV 后的第 5 天就可以检查到抗体,而且可以持续数年 (Johnson 等, 1976)。在 HI 试验中,被检血清样品通常要经过加热灭活 (56°C, 30 分钟),然后用红细胞 (以去除血凝素)和高岭土 (以去除或减少 HA 的非抗体抑制因子)吸附 (Mengeling, 1972; Morimoto 等, 1972a)。也可用胰蛋白酶去掉 HA 的非抗体抑制物 (Cartwright 等, 1969)。HI 试验的各个参数已被详细研究过 (Kim, 1974; Joo 等, 1976c)。

病毒中和试验 (VN 也可用于 PPV 体液抗体的检查和定量分析。通常通过检查细胞核内包涵体、荧光细胞和细胞培养液中病毒血凝素是否消失或减少,来确定感染性是否被中和 (Mengeling, 1972; Johnson, 1973; Joo 等, 1975)。有些报道认为 VN 试验比 HI 试验敏感 (Johnson 和 Collings, 1971; Joo 等, 1975)。Joo 等 (1975) 介绍了一种用于 VN 试验的微量方法。

免疫扩散 (Joo 等, 1978) 改良的直接补体结合试验 (Ruckerbauer 等, 1978) 和酶联免疫吸附试验 (Hohdatsu 等, 1988; Westenbrink 等, 1989) 已成功用于检测 PPV 抗体。

总的来说,当不适宜用上述方法检测木乃伊胎儿组织时,可用血清学方法诊断。对母体血清进行检测,如果没有抗体,则可以排除 PPV 感染。如果在一段时间间隔以后,血清 PPV 抗体血清学发生变化,并伴随有繁殖障碍出现,血清学检测就有意义了 (Mengeling 等, 1975; Morimoto, 1972b; Rodeffer 等, 1975)。由于 PPV 无处不在,所以即使单份样品有抗体反应也无实际意义。但检查抗体中 IgM 和 IgG 的相对量,则能说明是否是最近感染的 (Joo 等, 1978; Kim, 1974)。通过检查胎儿死胎和未经哺乳的新生仔猪血清中是否有抗体来确定是否是宫内感染,因为母源抗体不能穿过胎盘屏障 (Cartwright 等, 1971; Chaniago 等, 1978; Johnson 和 Collings, 1969 和 1971; Mengeling, 1972)。当采集不到血清时,可收集胎儿或胎儿内脏,4 摄氏度过夜,收集体液也可以检测抗体 (Cropper 等, 1976;

Joo 等, 1976b)。

治疗和预防

对由 PPV 的感染引起的繁殖障碍尚无法治疗。后备母猪在配种前应接种疫苗或自然感染 PPV。为了使后备母猪自然感染,常用的方法为将 PPV 血清学阴性的后备母猪与血清学阳性的母猪混在一起,其中有一只或几只母猪正在排毒。也可以把后备母猪放养在 PPV 阳性猪经常或最近停留过的污染区。一旦出现 PPV 感染,病毒便迅速在整个易感猪群内传播。这些措施对于提高自然感染的效果尚属未知。无论何种原因,感染确实很普遍。在 PPV 流行地区,大约有一半以上的后备母猪在第一次配种前都已受到了感染(Mengeling, 1972)。

注射疫苗可确保后备母猪在怀孕前获得主动免疫。目前灭活苗(Fujisaki, 1978; Fujisaki 等, 1978b; Lde 等, 1977; Joo 和 Johnson, 1977b; Mengeling, 1977; Mengeling 等, 1979, 1980b; Suzuki 和 Fujisaki, 1976)和致弱的活苗(MLV)(Fujisaki 和 Murikami, 1982; Paul 和 Mengeling, 1980)都已研制成功。有一种灭活苗已经作了田间试验(Fujisaki, 1978; Fujisaki 等, 1978a)。在实验室条件下,两种苗都很有效(Mengeling 等, 1979, 1980b; Paul 和 Mengeling, 1980)。

在母猪怀孕前的几周内进行疫苗接种,可以使母猪在怀孕的整个敏感期产生免疫,但接种必须在母源抗体消失以后进行,因为母源抗体会干扰主动免疫的形成(Paul 和 Mengeling, 1986)。这些限制因素使得对 7 月龄前配种的后备母猪的免疫接种时间范围很小,虽然灭活苗安全性最好,但实验证明,PPV 可被充分致弱,即使在怀孕期间不慎接种,也不可能引起繁殖障碍(Mengeling, 1980)。可能是由于致弱活毒苗在宿主组织中的复制能力减弱,病毒血症需经胎盘传播,MLV 疫苗才表现出良好的安全性(Pau 和 Mengeling, 1984)。此外,实验表明经子宫内接种强毒株和弱毒株病毒,需接种非常大剂量的病毒才能造成胎儿感染(Mengeling 等, 1984)。

接种疫苗后的免疫期限尚属未知,但有研究表明,接种一种灭活苗后,抗体滴度可维持 4 个月以上(Joo 和 Johnson, 1977b)。一旦免疫系统首次接触了 PPV,即使检测不出有疫苗免疫产生的抗体,在怀孕期间再接触强毒也不可能导致经胎盘感染(Mengeling 等, 1979)。因此,估计抗体水平不高也有保护作用。

建议应对血清学阴性的母猪和公猪进行免疫接种。只有在无 PPV 的猪群中

才能找到血清学阴性的母猪，此时，最好使用灭活苗。经验表明，即使采取了严格的控制措施，也几乎不可能保证猪群无 PPV。若将 PPV 引入到一个易感猪群，那将是一场灾难(Donaldson-Wood 等，1977)。对公猪进行免疫可减少病毒传播的机会。

商品疫苗在美国和其他几个国家已被普遍使用，在这些国家 PPV 已成为造成繁殖障碍的重要病因。在美国市场上所有联邦政府注册的疫苗均为灭活苗。

(孙斌 译 王金秀 校)