

## 第25章 伪狂犬

Z. K. Pejsak 和 Marian J. Truszczyński

伪狂犬病最早发生于 1813 年某牛群，病牛临床症状为极度瘙痒，因此本病也称为“疯痒病”（Baskerville 等，1973）。瑞士于 1849 年首次采用“伪狂犬病”这个名词，因为病牛的临床症状与狂犬病相似。1902 年，匈牙利人 Aujeszky 通过过滤实验认为该病病原不是细菌，并在狗和猫体内进行了一系列实验。Weiss 于 1909 年、Schmiedhofer 于 1910 年分别证实了 Aujeszky 的发现，并认定病原为病毒（Wittmann 和 Rziha, 1989）。1934 年，Sabin 和 Wright 确定该病毒为疱疹病毒，后来命名为猪疱疹病毒 1 (SHV-1) 或伪狂犬病病毒 (Pseudorabies virus, PRV)。

PRV 的主要宿主是猪。猪是感染后可以存活的唯一物种，因此，也是 PRV 的储存种（Kretzschmar, 1970）。20 世纪 60 年代以前，伪狂犬病仅对东欧的一些国家发生（Witmann and Jakubik, 1979）。20 世纪 70 年代后，PR 受到全球的关注（Kluge 等，1999）。PR 之所以由牛到猪，并在美国和世界上大多数养猪地区上升为一种重要疾病，一方面是因为在近 50 年内，大型养殖场的分布密集加大，另外，国际贸易使动物的运输量增加，特别是猪及其副产品（Muller 等，2003；Pensaert 和 Kluge, 1989；Wittmann, 1985）。现在，PR 对养猪业造成的负面影响，一方面是病本身的影响，另一方面是为防止 PRV 的扩散而限定的交易的原因（Andersson 等，1997；Bech-Nielsen 等，1995；Muller 等，2003；Vannier, 1998；Waston, 1986）。

随着分子生物学和基因工程技术在 PRV 研究上的深入，特别是 Van Oirschot 等(1990)和 Mettenleiter (1994a, 2000) 在 PRV 诊断方法和疫苗研制方面取得了成果，在近 15 年来有效的阻止和控制了 PR 的发生。

### 病原学

PRV 属于疱疹病毒科甲疱疹病毒亚科（Mettenleiter, 2000）。蛋白质序列分析表明 PRV 与牛疱疹病毒（BHV-1）、马疱疹病毒（EHV-1）和水痘病毒同源性很高（McGeoch 和 Cook, 1994），因而 PRV 归属疱疹病毒科甲疱疹病毒亚科。

甲疱疹病毒亚科的主要特征是宿主范围广、有高度的细胞致病性、复制周期

短、且常在神经节内形成潜伏感染。PRV的这些特征表现都很显著，PRV不同毒株的主要区别是感染性和毒力，及在感染过程中病毒的脱壳过程（Maes 等，1983）。一般认为，基因型的差异决定毒力的差异（Gielkens等，1985；Lomniczi等，1984；Lomniczi和Kaplan，1987）。

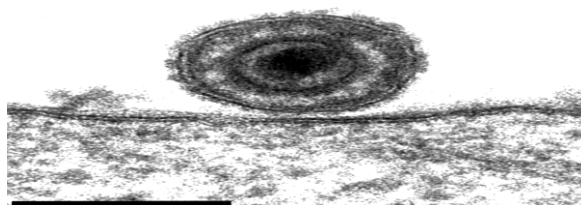
PRV具有疱疹病毒的典型的结构。PRV呈圆形或椭圆形，全病毒的直径介于150~180 nm 之间(Nauwynck，1997)。Mettenleiter (2000)描述PRV的结构如下：核衣壳呈20面体，其中包括162个壳粒，核衣壳外包有囊膜附有病毒编码产生的糖蛋白。存在于牛肾细胞的PRV的电镜结构见图25.1 (Granzow 等，1997)。

尽管，对衣壳结构的研究主要集中于单纯疱疹病毒（Herpes simplex virus，HSV-1），但疱疹病毒衣壳外形和组成成分是相同的，有共同的特性。

有关外被（tegument）的成分和可能的结构知之甚少。在电子显微镜下它为电子密度不均匀的结构，位于衣壳和囊膜之间。现在已证实HSV-1外被存在的几个蛋白，在PRV也发现相同的物质。

PRV囊膜由跨高尔基体的囊泡内膜产生(Granzow 等，1997)。它包括11种糖蛋白（见表 25.1）。除了gG，其它所有的糖蛋白均为病毒囊膜的组成成分，gG在PRV感染细胞时大量产生且释放到介质中。其公认的非糖基化膜蛋白分别是基因UL3、UL11、UL 20、UL34和UL43的产物（Mettenleiter，2000）。

## 基因组和基因表达



25.1 附于体外培养猪肾细胞（MDBK）的PRV  
电镜图.标尺：150nm（自Mettnleiter，2000）

**表 25.1 PRV糖蛋白的组成成分**

名称 (a)	基因 (b)	重要性	病毒组成	附加装置	穿透力	胞间蔓延	神经扩展性
gB(gII)	UL27	+	+	-	+(c)	+	+
gC(gIII)	UL44	-	+	[+](d)	-	-	-
gD(gp50)	US6	+	+	[+]	+	-	-
gE(gI)	US8	-	+	-	-	[+]	[+]
gH	US4	-	-	-	-	-	-
gG(gX)	UL22	+	+	-	+	+	+
gI(gp63)	US7	-	+	-	-	[+]	[+]
gK	UL53	+	+	-	-	+	?(e)
gL	UL1	+	+	-	+	+	?
gM	UL10	-	+	-	-	[+]	-
gN	UL49.5	-	+	-	[+]	-	-

(a) PRV糖蛋白命名, 旧命名法加在圆括号内

(b) 基因以HSV-1同族体为准

(c) +示意有重要的功能

(d) [+]示意非必需的功能或调节功能

(e) ? 示意没有相关的研究内容

PRV基因为双链线性DNA分子, 长约150Kb (图 25.2)。约90%序列已确定, 根据已知疱疹病毒全序列和PRV的部分序列, 可推知唯一的主要序列“缺口”为HSV-1的同族体从UL31到UL37。

基因组包括独特长区段 (UL) 和独特短区段 (US), 后者通过反向重复凸起。到目前为止, 已在疱疹病毒上验证PRV有3个复制起始位点, 其中二个分别位于重复区 (2X) 和UL的中间部分(Klupp和 Metten-leiter, 1991), 另一个位于具有独特特征的基因组左端(Kupersmidt 等, 1991)。

毒力决定性蛋白可以分为病毒膜糖蛋白、病毒编码酶和非必需衣壳蛋白 (Mettenleiter, 2000)。病毒编码酶参与核酸代谢是病毒毒力的主要决定因素, 它们活性减弱会导致病毒衰减。去除非必需衣壳蛋白gE也导致一些PRV毒株毒力的显著下降。糖蛋白gE在PRV对神经系统 (包括三叉神经和嗅觉通路) 的侵入中起关键性作用。去除gE, 则PRV不能入侵神经系统 (Cheung 1995; Rauh和 Mettenleiter 1991; Schang 等1994; Van Oirschot 等, 1990)。

## 复制

PRV的复制循环图见25.3.首先成熟的病毒粒子吸附到宿主细胞, 接着病毒的囊膜和宿主细胞膜融合。在病毒粒子的粘附和合融合过程中, 病毒囊膜糖蛋白和作为其受体的细胞膜组分起至关重要的作用。

糖蛋白gC和细胞表面的硫酸类肝素蛋白的相互作用是在PRV和靶细胞之间的最初联系。另外，gD和2个细胞受体组（硫酸类肝素蛋白和脊髓灰质炎受体相关蛋白）也参与了PRV的对宿主细胞的粘附作用。侵入需要宿主细胞膜和病毒囊膜的融合，融合过程至少需要4种关键性糖蛋白gB、gH、gL和gD。通过基因工程方式，突变缺陷其中任何一种蛋白，病毒的融合能力将下降。转运核衣壳入细胞后，核衣壳沿微管系统靠近核膜并定位于核孔附近，形成核孔复合体（参见图25.3）。一般认为DNA通过此核孔复合体离开病毒粒子进入细胞核。随后核内发生的变化和病毒粒子的外出见Mettenleiter (2000)。

### 实验室培养

很多细胞系和原代细胞都适合于PRV的培养，但是猪细胞系PK-15 或 SK-6 一般应用于PRV的培养（Toma 等，2004）。PRV诱导的细胞病变（CPE）一般出现在攻毒后24-72小时。但是，细胞培养至可以接种后5-6天（图25.4）。单层细胞发生聚集成双折射细胞，随之细胞从培养层脱离，合胞体（Syncytic）也存在，且变化是可见的。即便没有明显的CPE，建议也要盲传二代（Granzow 等，1997）。

### 流行病学

PRV遍布世界各国，特别是养猪密度比较大的国家，包括南美洲、欧洲和亚洲。在欧洲的挪威、芬兰或马耳这三个国家从未分离到过PRV。在德国、奥地利、瑞典、丹麦和英国，了PRV已经净化掉。2004年后，加拿大、新西兰岛和美国未见PRV存在，也不允许免疫伪狂犬疫苗。然而，在美国、德国、波兰、法国和意大利等国家，PRV依旧在野猪群众传播（Lipowski 和Pejsak，2002）。

PRV的自然宿主是猪，但是大量的其它物种也能被自然感染或实验感染。PRV可以感染牛、羊、狗、猫、养殖狐狸、老鼠和野鼠。不包括猪在内，PRV导致其它物种神经性疾病和死亡。在牛、绵羊和山羊PRV导致机体以瘙痒和脑炎为特征的致死性感染。实验感染的绵羊可以传播PRV到易感的猪和其它绵羊。活PRV疫苗对绵羊是致死性的(Beran，1991)。PRV几乎不可能感染马和鸟，人工感染需要大剂量的病毒而且必须注射，或脑内、或皮下、或肌肉。高等灵长类，包括人，对PRV不敏感(Wittmann，1985)。对于非猪类的其它物种，感染是致死性的，无恢复可能性 (Wittmann，1985)。

猪是PRV感染后唯一可以存活的物种，因此，是PRV的储存种(Babic等，1994； Cheung 1995； Granzow等，1997； Enquist等 1998)。这就意味着从猪群净化该病毒将导致疾病的根除(Mettenleiter, 2000； Wittman, 1986)。野生猪和驯养猪一样易受PRV的攻击（Lipowski, 2003）。PRV在野生猪群中的循环传播不依赖于驯养猪（Lipowski和PejsaK, 2002）。因此，可以认为野生猪是PRV潜在的储存者和驯养猪的传染源，特别是在PR根除计划已经执行的国家（Lipowski 和 PejsaK, 2002）。在美国东南部地区已有发现自然发生PRV的野猪群（Corn 等，1987）。

在猪，PRV的发病率和死亡率取决于猪的年龄。仔猪和青年猪的危险性最高。易感性与下列因素有直接或间接的相关性：猪群的饲养密度、饲养数量、育肥猪的比例、母猪的更换率。

PRV主要通过鼻与鼻的直接或间接接触而传播。与阴道粘膜或精液感染的动物共同饲养，或与患病动物的尸体接触都可造成PRV的传播。PRV经胎盘可垂直传播（Beran, 1991）。在合适的环境下，病毒可以气雾的形式传播（Vannie, 1988； Christensen等，1990）。

感染的可能性取决于以下因素，包括毒株的毒力、剂量、感染的途径、猪的年龄（仔猪比成年猪易感）、压力及动物的生存条件。与经鼻腔感染相比，经口感染需要较大病毒剂量（Baskerville, 1972a； Jakubik, 1977）。

PRV的传染性不是太强。因为一旦感染，并不是畜舍内的所有猪只都感染。动物的感染率在10%到90%之间。同一群体的感染率决定于动物之间直接接触的几率，在同一围栏内的感染性很高但围栏之间的感染性比较低。

从感染PRV 8-17d的猪，每个鼻拭子中可以分离的最大病毒量为 $10^{5.8}$ ~ $10^{8.3}$ TCID<sub>50</sub>；从感染PRV 18-25d 的猪，每个口咽腔拭子可以分离的最大病毒量为 $10^{6.8}$ TCID<sub>50</sub>。在病毒排泄的高峰期每只猪12 h内向空气中排泄 $10^{5.3}$ TCID<sub>50</sub>。感染12d后，可以从阴道和精液中检测到病毒，而感染2-3d 后即可从奶中可检测到。病毒有时可以从尿中检测到，但从未从动物的粪便中检测到，尽管从感染10天猪的直肠分泌物中检测到病毒的存在。值得注意，一般病毒分泌早于临床症状的出现（Wittmann, 1985）。

环境中的存在

PRV在不同pH和温度条件下相对比较稳定，但是必须意识到环境是复杂，包括适于与不适于病毒生存的各种条件。因此，PRV对环境的抵抗力强只是相对的。

在夏季PRV可以在干草上存活30d，在冬季可以存活46d。在pH 4-12的范围内，PRV比较稳定。储存在50%的甘油中，PRV可以在冷藏条件下存活154d，且病毒的浓度几乎不降低。在低温下，PRV在组织中可以存活若干年，且仍具有存活能力。冻干的病毒可以持续存活2年。紫外线和在玻璃瓶内干燥可以使PRV失活（Davies和Beran 1981;Wittmann, 1985）。

在4℃，猪肉熟化过程中，PRV是有活性的(Weyhe和Benndorf,1970)。尿中PRV，在冬季持续8-15周、在夏季持续3周仍具有感染力(Atanasowa, 1972)。泥浆中PRV，被认为在冬季可存活2个月，在夏季可以存活1个月；在用生物热处理的泥浆中，PRV在夏季5天失活、冬季12天失活。在空气流通的泥浆中（pH9.6，温度高达44℃）病毒在50小时内失活（Bohm 等，1980）。在肥料中，PRV在8-15d失活。在土壤，PRV可以5-6周内仍具有感染力。在麻袋或木头上的PRV在冬季可以存活15d，在夏季可以存活10d（Kretzscmar, 1970）。有关PRV在废弃垃圾中的存活情况未见报道，但在乳酸菌发酵的条件下，20-30℃之间可存活24h，但在10℃可存活48h，在5℃至少可以存活96h（Wooley等，1981）。

PRV对热具有一定的抵抗力。在60℃条件下可存活30-60min，在70℃条件下可存活10-15min，在80℃条件下可存活3min，在100℃条件下可存活1min（Kunev, 1981）。PRV在正常温度和冷条件下很稳定。在25℃条件下可存活约6周，在15℃条件下可存活9w，在4℃条件下可存活20周，在-40℃条件下可存活数年。然而，PRV在-18℃~-25℃ 条件下，12周即失活（Davies 和 Beran, 1981）。

在pH4.0-12，PRV稳定，甚至在pH2.0-13.5条件下，病毒尚可存活2-4小时。在高或低的pH，同时伴有高温环境下，病毒的存活时间明显缩短（Davies和Beran, 1981）。

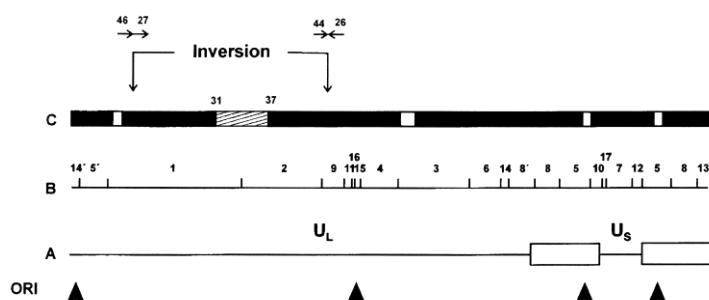




图25.2 PRV基因. A 示意通过插入的重复区（开放阅读框）基因组分为独特长区段（UL）和独特短区段（US）。B示意PRV的Ka株的Bam H I 内切酶的酶切位点。C示意测定的阴影部分的序列已完全清楚。阴影线部分，为唯一的碱基组成未知缺口，其中包括开放性阅读框，从HSV的UL31到UL37。（自 Mettenleiter, 2000）

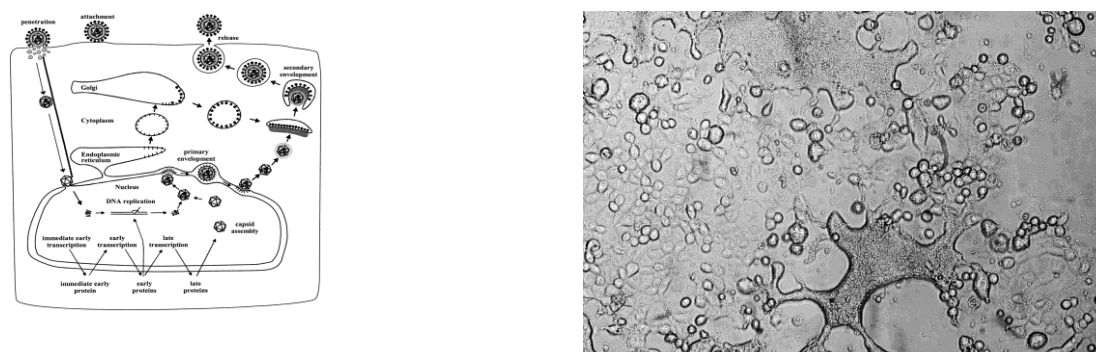


图25.3 PRV复制循环图（from Mettenleiter 2000）.

图25.4 感染PRV毒株NIA-3的猪肾细胞系 SK-6.接种24h的细胞病理学效应(Andrzej Lipowski 赠图，波兰国家兽医研究所) 对消毒剂的易感性

对PRV有效的消毒剂包括石碳酸组分、5%的苯酚、2%氢氧化钠、磷酸三钠碘消毒剂和双氯苯双胍己烷（Beran, 1991）。季铵盐组分、次氯酸盐其它各种消毒剂在有机物质存在的条件下效果明显降低（Brown, 1981）。当进行大规模消毒时，可以采用比较便宜的消毒剂如：氯化钙乳液（即氯化钙溶解于水）、粗的氯化铵、1%甲醛。对于泥土消毒，建议使用 $20\text{KgCaOH}_2/\text{m}^3$ （Koch和Euler, 1983）。

## 发病机制

通过口鼻感染后，最初PRV在上呼吸道的上皮细胞内发生复制。接着，感染扁桃体和肺造成病毒以自由扩散或通过感染白细胞的途径在体内扩散。另外，病毒也侵入三叉神经和嗅神经通路（Babic等, 1993; Krias等, 1994; Pensaert和Kluge, 1989）。PRV在中枢神经系统的复制以化脓性脑膜炎为特征，最终导致严重的中枢神经系统紊乱（Enquist, 1994; Pensaert和Kluge, 1989）。

感染毒株的毒力，至少部分地取决于PRV的糖蛋白。根据细胞培养中PRV的复制情况，将这些蛋白分为非必需蛋白（gB、gE、gG、gL、gN）和必需蛋白（gB、

gD、gH、gK、gL）。调节PRV黏附于靶细胞的糖蛋白具有特殊的意义，因为它们直接决定PRV趋向性。最初的黏附是由PRV非必需蛋白gC和靶细胞硫酸类肝素蛋白介导的（Karger和Mettenleiter，1993；Mettenleiter和Rauh，1990）。但是，这一作用不足以启动PRV囊膜和细胞膜之间的融合。PRV的必需蛋白gD和gD受体是调解后继黏附的必须环节，从而启动穿入。另外，gD、gB和gH-gL复合体对于病毒粒子突破宿主细胞是需要的（Mettenleiter，2000）。但是，相对于HSV-1和BHV-1而言，PRV-gD在体外细胞与细胞之间的传播是非必需的（Rauh和Mettenleiter，1991）。因而，gD表型缺陷者（PRV-gD—可以感染细胞，并直接或间接在细胞和细胞之间传播开来。

近来，研究者对与PRV侵染神经系统相关的蛋白进行了详尽的研究，通过对老鼠、猪的研究表明介导PRV侵入神经系统的关键蛋白质为糖蛋白E。去除糖蛋白E，不影响PRV在鼻上皮细胞的复制和传播，也不影响其在原始神经细胞上的复制（Babic等，1994，1996；Enquist，1995）。但是，PRV跨突触传给第二神经细胞受到抑制。糖蛋白E和处于次要位置的糖蛋白I是抑制PRV感染神经系统的最重要非必需糖蛋白（Enquist等，1998）。

## 潜伏期

潜伏期是指机体存在病毒DNA，但是子代病毒并未产生的状态。在潜伏期，病毒基因组仅转录其中特定的一部分病毒基因组，这一时期称为潜伏相关转录期（Latency associated transcripts，LATs）（Priola和Stevens，1991）。

因潜伏期PRV具有反应和蜕变（shedding）的潜能，因此也是成功控制和根除PR的最佳时期。大量的研究表明，绝大多数处于潜伏期的猪是潜在的传染源。所以，任何曾感染任一PRV毒株的猪（特别是血清学检测阳性者）都可被认为是传染源。尽管做了大量的工作（Mettenleiter，2000），但有关甲疱疹病毒

（*alphaherpesvirus*）潜伏期的分子基础尚未揭开。在PRV，处于潜伏期的猪具有持久的危险性，因其体内存在病毒激活、扩散并传染易感动物的危险性。

PRV潜伏的部位为三叉神经节、嗅球和扁桃体。这些组织，在子代病毒未产生时，可以检测到PRV的存在。可以通过高度灵敏的方法检测到LAT转录，如：RT-PCR（Cheung，1995）。在体外最常用的检测PRV的潜伏期的方法是用PCR方法检测病毒的某段基因（Mengeling等，1992）。唯一相对可靠检测潜伏期的



方法是给予大量的皮质类固醇，诱导病毒蜕变后的再在激活（Mengeling等，1992）。

一般认为，口咽感染后，PRV首先在上皮组织复制或者直接进入感觉神经元的神经末段。经过第一次复制后，子代病毒大量产生，导致大量神经元被感染。PRV在三叉神经的再移植和潜伏感染之间有一定的联系，潜伏感染的神经元不可能接受再感染。这一干涉是由病毒还是由细胞所决定还不清楚。这些结果表明，致弱的活痘疫苗可以建立潜伏期去抑制野生毒株的潜伏（Schang等，1994）。

### 临床症状

PRV的潜伏期为1-11d，一般为2-6d。仔猪的潜伏期短于大龄猪（Wittmann，1986）。临床症状的取决于猪只的年龄、感染途径、感染毒株的毒力（部分取决于病毒的糖蛋白，Schmidt，2001）和动物的免疫情况（Nauwynck，1997）。仔猪高度易感，两周龄内的发病率可达100%，第三、四周内的发病率为50%。在这些仔猪中表现为严重的神经紊乱。具母源抗体的仔猪神经系统的侵染能力是判断PRV毒株毒力特性的一个方面（Kritas等，1999）。

不同猪群感染PR病毒后的反应可能明显不同。本病可能迅速传播，感染同一农场内各年龄段的猪群，猪群临床症状或明显，或不明显，只有进行血清学检测时才可发现。无新生仔猪，即处于分娩间隔期的猪群感染了PRV时，经常表现不明显。有新生猪的猪群第一次感染PRV，症状很明显，这是因为新生仔猪高度易感，在这种情况下，发病率和死亡率可以达到100%。

种猪和圈舍隔离的育成猪感染不明显，只表现为轻微的呼吸道症状，这种症状易被忽视或误诊为其它病，如猪链球菌、猪胸膜肺炎、支原体病、猪流感或猪繁殖和呼吸障碍综合征等等（Zimmerman和Yoon，2003）。

根据Kluge 等 (1999)的描述初生仔猪感染PRV表现为精神倦怠、厌食，24 h内出现共济失调和抽搐。出现上述症状中的任何一种，实验室务必立即诊断，因为暴发前早期免疫可以大大减少损失。

哺乳猪感染后表现为发热(41℃)。有些仔猪，会表现中枢神经系统(CNS)症状，开始为震颤，唾液分泌增多，运动障碍共济失调和眼球震颤，发展至角弓反张，有时会突然发作癫痫。有的病猪因呼吸呈犬坐式，有的转圈或侧卧做划水运动，有的呕吐和腹泻，但这些症状并非一成不变。有CNS症状的猪一般在症状出

现24~36 h死亡。哺乳仔猪的死亡率很高，可高达100%。

母猪免疫状态不同，则哺乳猪的临床表现也不同，如整窝仔猪有临床症状，或同窝某些仔猪有临床症状，而邻窝或同窝内其它仔猪正常。如果易感母猪或后备母猪临近分娩时感染，所产仔猪虚弱，很快出现临床症状，出生后1~2天死亡。

断奶猪(3~6周龄)、幼龄断奶猪的临床症状与哺乳仔猪相似，但症状较轻微，少数猪出现严重的中枢神经症状，该症状必然导致休克和死亡。死亡率可达50%，但一般低于此。断奶仔猪的临床症状为包括精神倦怠，厌食和发热(41~42℃)。一般有呼吸症状，特征为打喷嚏，鼻有分泌物，呼吸困难，发展至严重咳嗽。症状持续5~10天，大多数猪退热，恢复食欲后迅速痊愈。出现CNS症状的猪一般结局是死亡。PRV造成呼吸道感染的猪，容易继发或同时感染细菌，如多杀性巴氏杆菌、放线菌性胸膜肺炎等其他的病原菌（Kluge等，1999）。

5~9周龄的猪感染后若能精心护理，及时治疗防继发感染，死亡率通常不会超过10%，实践中死亡率可能更低。存活的重病猪育肥期可延长1~8个周。

育肥、育成猪PR的特征症状为呼吸症状，发病率一般高达100%，但无并发症时，死亡率低，为1%~2%。如果PR病毒感染后，继发性放线杆菌性胸膜肺炎，损失会明显加重。患病猪有CNS症状，但只是散发，症状从轻微的肌肉震颤至剧烈抽搐不一。一般感染3~6天后出现临床症状，特征为动物热性反应（(41~42℃)），精神沉郁，厌食轻度至重度呼吸症状，发展至鼻炎后，动物打喷嚏，鼻有分泌物，进而发展至肺炎。这些猪体形消瘦，严重掉膘。症状一般持续6~10天，动物退热恢复食欲后可迅速康复。尽管育肥、育成猪康复后的增重可以弥补患病期间的减重，但它们的生长周期至少缺少一周。

成年母猪和公猪感染后的症状本质上主要是呼吸症状。PRV可以通过胎盘屏障，感染和导致死胎、导致流产。妊娠母猪流产，是感染PRV的早期症状。怀孕母猪在妊娠前3个月内感染PRV，胚胎会被吸收，母猪重新进入发情期。在分娩至育成过程中，可能出现首次临床症状。妊娠第二或第三个3个月，会因患PR而流产或死胎；临近足月时，母猪感染则为弱胎。感染PRV的后备母猪、母猪和公猪死亡率很少超过2%。

影响PR临床症状的关键因素为畜舍怀孕母猪、断奶猪和育肥猪的免疫水平。同样，继发感染、动物的年龄和环境因素也影响发病后的临床症状。

## 病理变化

### 眼观病变

眼观一般看不到明显病变或病变很轻微，肉眼观察不到。可看变化为角结膜炎、浆液性纤维坏死性鼻炎、喉炎、气管炎或坏死性扁桃体炎。免疫可以减弱临床和显微镜下的病理变化(Alva-Valdes等，1983)。下呼吸道的眼观病变为肺水肿，至肺散在性小叶性坏死、出血和肺炎等病变(Becker, 1964)。肝脏和脾以及浆膜面下一般散在有黄白色疱疹样坏死灶(2~3 mm)(图25.5)，这类病变最常见于缺乏被动免疫的幼龄猪。新流产的母猪有轻微的子宫内膜炎，子宫壁增厚及水肿(Kluge和Mare, 1978)。胎盘检查，可见坏疽性胎盘炎，胎儿流产。同窝内仔猪，可能会出现部分仔猪正常，另一部分虚弱或出生时死亡。感染胎儿或新生猪的肝脏和脾脏一般有坏死灶，肺和扁桃体有出血性坏死灶(Kluge和Mare, 1976)

### 镜观病变

镜观病变常见于CNS，病变特征为非化脓性脑膜脑炎和神经节炎，白质和灰质都有病变(Baskerville, 1972b)。感染区的特征为出现以单核细胞为主的血管套和神经胶质结节(图26.5)。少数粒细胞可能与单核细胞混合存在，后者发生的明显的细胞固缩和核破裂。被感染的血管内皮表现正常。神经元灶性坏死，周围聚集有单核细胞，或病变神经元散在分布。脊髓，尤其是颈部和脑部脊髓有类似病变。病变处的脑膜和背膜因单核细胞的浸润而增厚。

神经元、星形细胞和少突神经胶质内可见核内包涵体，但据Kluge 等 (1999)的报道，核内包涵体更常见于神经系统以外的病变区核内。常见于坏死灶邻近的真皮细胞的隐窝内(Baskerville, 1971, 1973)。肺部病变有：坏死性支气管炎，细支气管炎，肺泡炎，支气管周粘液腺上皮坏死。病变波及结缔组织和内皮，因而常见有出血和纤维蛋白渗出。主要气流通道的病变一般呈斑样，急性病变邻近区纤维化后愈合。核内包涵体常见于呼吸道的上皮细胞和结缔组织细胞，以及脱落至肺泡内的细胞。

可见到两种类型的核内包涵体(Corner, 1965)：同源性嗜碱包涵体，这种包涵体充盈于整个细胞核；嗜酸性包涵体，这种包涵体与染色体边缘之间有明显的晕轮。无论何种类型都必须通过电镜观察或免疫组化方法证实病毒粒子，即抗原，进而确定包涵体的待定类型。

所有被波及的组织均呈灶性坏死，病变最常见于脾脏、肝脏、淋巴结和肾上腺。子宫感染的特征病变为多灶性至弥漫性的淋巴组织细胞子宫内膜炎、阴道炎、坏死性胎盘炎，伴有绒毛膜凝固性坏死(Bolin等，1985；Kluge等，1999)。公猪生殖道的病变为输精管退化，睾丸白膜有坏死灶(Hall等，1984)。患有睾丸鞘膜炎的公猪生殖器官的被膜有坏死和炎性病变。精子异常的类型有尾异常，远端胞浆残留，顶体囊状突起，双头、裂头。小肠发生粘膜上皮灶性坏死病变，可能波及至粘膜肌层和外膜(Narita等，1984b)。核内包涵体见于受损的内皮细胞。病变会蔓延至喉，甚至波及气管。常见扁桃体坏死，伴有口腔内和上呼吸道淋巴结肿胀、出血(Narita等，1984a)。上皮细胞核发生明显的细胞固缩和核破裂。感染的血管被嗜中性粒细胞浸润，核内包涵体见于感染的内皮细胞（Kluge等，1999）。

### 免疫性

PRV感染可以刺激机体产生细胞免疫和体液免疫。然而免疫并不能完全防止病毒的入侵，但可以在一定程度内限制病毒的复制（Wittmann，1985）。

Eloit 等（1988）认为PRV糖蛋白gp50是抑制抗体产生的主要蛋白。然而，因为只对少数的几个PRV抗原进行研究，所以单独一个蛋白抗原在对宿主免疫反应中的相对重要性很难定论。为了提高机体的特异性免疫，对机体进行PRV免疫反应的研究是必要的。

PRV的一系列糖蛋白、非糖蛋白和结构蛋白的抗体在感染的动物中已经检测到。单克隆抗体已证明可以抑制病毒在体内或体外复制。PRV蛋白在免疫中的作用见表25.2。

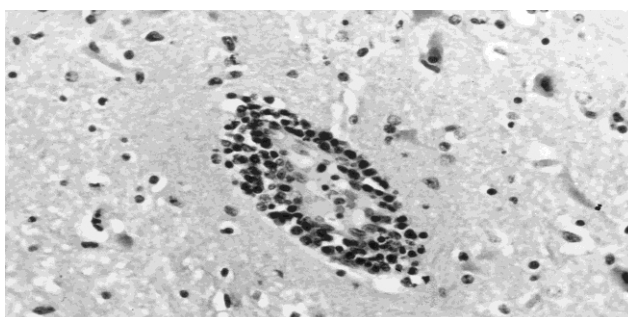


图25.5 脾脏和肝脏上聚集多样的坏死灶（自：Kluge 等1999）

图25.6 脑部的血管套（自：kluge 等1999）

**表25.2 PRV蛋白的免疫功能（修订，自Mettenleiter,1996）**

蛋白	保护作用					CTL(e)	
	老鼠	猪	NT-C(b)	NT+C(c)	Prolif.(d)	(MHC-I retr.)	CTL(f)(LAK)
gB	+	+	+	+	+	?	+
gC	+	+	+	+	+	+	+
gD	+	+	+	+	+	?	-
gE	+	?	-	+	-	-	?
gG	-	-	-	-	-	-	?

(a) 应用纯化蛋白或基因工程蛋白或单抗的测定结果

(b) 没有补体参与的抗体中和作用

(c) 体参与的抗体中和作用

(e) MHC-I 限定的细胞毒性作用

(f) 非MHC-I 限定的细胞毒性作用

针对于gC和gD的补体依赖性病毒中和抗体实验是最有说服力的（Mettenleiter, 1996）。gC抗体具有抑制病毒在靶细胞上的黏附的作用，gD抗体具有抑制病毒穿入的作用，从而阻断感染的第一个阶段。由gC或gD构成的亚单位疫苗、及抗gD抗体具有免疫保护能力，从而进一步证实了体液免疫中这些蛋白的重要性（Tsudathese等, 1992）。在恢复期，抑制病毒复制的主要抗体是针对gC的抗体（Ben-Porat, 1986）。其他糖蛋白的功能还不甚了解。然而，亚单位gB疫苗也促进猪的免疫保护作用（Nakamura等, 1993; Mettenleiter, 1996）。糖蛋白主要在调节猪的细胞免疫中起作用（表25.3）。

**表25.3 抑制PRV的细胞免疫**

细胞类型	抗原识别阳性	抗原识别阴性
CD4+ CD8- (T-helper)	gB, gC	gE, gC, gI
CD4- CD8+ (CTL)	gC	gE, gG, gI
CD4- CD8-/CD4-CD8 <sup>low</sup> (LAK)	gB, gC	gD, IE
CD4+ CD8+(T-helper)	gB, gC	?

免疫母猪可以通过哺乳使仔猪获得PRV特异性抗体。母源抗体可以保护仔猪免受PVR的攻击，抑制PRV在中枢神经系统的复制（Wittmann和Jakubik 1979）。Kritas等（1997）证明高SN浓度（272-354）可以保护新生仔猪，抑制神经入侵和病毒繁殖；低SN浓度（2-3）不能保护猪只PRV的神经入侵和繁殖，特别是通过嗅神经的侵入，从解剖学上讲此通路更易于受病毒的攻击。但是，母源抗体和母体免疫对病原的抵抗力取决于感染的毒株。

若母源抗体未降低到一定水平，则干扰仔猪自身抗体的产生。特定的疫苗如重组痘疫苗可以突破母源抗体的干扰和刺激机体产生免疫应答（Brockmeier等，1997）。

## 诊断

通过单个的猪只临床诊断PR很困难，且几乎是不可能的。诊断需要建立在畜舍整体情况的基础上。PR的临床表现包括3周内仔猪大量死亡；流涕、咳嗽、迟钝、嗜睡和神经紊乱见于仔猪或稍大龄的猪；怀孕母猪表现为高流产率和死胎率。PR的特征为随年龄的增加发病率和死亡率逐渐下降。PR的信号还见于同一农场的狗和猫。这些动物PR的死亡是猪场患PR的一个信号。

当新生仔猪发生痢疾时，PR与传染性肠胃炎或大肠杆菌感染极为相似。相似的呼吸症状可见于细菌感染，如：巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)，肺炎球菌(*Actinobacillus pneumoniae*)，猪链球菌(*Streptococcus suis*)或猪流感，在后者所有年龄的猪均表现严重的临床症状，但无没有死亡。神经症状也见于猪瘟(CSF)，在无肉眼可见的病理变化的条件下，很难区分CSF和PR。猪小核糖核酸病毒感染导致的神经症状，但不伴有呼吸道症状。食盐中毒表现为极度兴奋，对氨基甲肿酸和汞中毒常导致动物呆滞，但中毒均无发烧症状。流产和死胎可以由猪细小病毒、螺旋体(*Leptospira*, *Brucella*)或兰耳病感染而引起(Pejsak 和 Markowska-Daniel, 1996; Wittmann, 1986; Zimmerman和Yoon 2003)。

根据典型的临床症状可初步预诊，如果能观察到新生仔猪眼观病变(肝、脾灶性坏死，扁桃体坏死)，预诊则更可靠。如果只有育肥育成猪或成年猪发病，PR的诊断则较困难。这些年龄段的猪群暴发PR，如果只出现呼吸道症状，极易被误诊为猪流感。但如果少数猪只出现CNS症状，PR预诊则较容易。

在大多数情况下，实验室诊断来确诊假定的PR是必要的(Toma等，2004)。可通过从活体动物的口咽腔、鼻液或扁桃体组织中分离PRV；对于死后的动物，脑和扁桃体是诊断的首选器官；对于潜伏期感染的猪，三叉神经是分离的最适器官，尽管潜伏期的病毒难于培养。多种类型的细胞系和原代细胞都适于病毒的培养，但是通常使用猪肾细胞系(PK-15 或 PK-6)，PRV诱导的细胞病变(CPE，图25.4)一般出现在24-72小时。但是，细胞培养可以条件下，病毒可以孵育5-6天。一般分离到PRV可确定PRV的存在，分离不到PRV也不能保证猪



群未免受感染。

如果没有明显CPE，在判定标本阴性以前，多数实验室会盲传2代。进一步的证明可用H-E染色，PRV感染细胞一般出现核内包涵体。可用特异性抗血清通过免疫荧光试验和中和试验来进行确诊。

聚合酶链式反应（PCR）可用以验证分泌液和组织中是否存在PRV特定基因组。PCR在病毒诊断中的优势在于其速度快。初步级诊断可以在一天内完成，在第二天可以确定PCR产物。若用现代最先进的仪器工具，整个过程可以在一天内完成。因为PCR的特异性，很多环节需要谨慎操作，以免样品污染了外源的DNA。这一点限制了PCR诊断的准确性及实际应用价值，因而这一方法不能用于实验室的常规诊断。

免疫荧光（IF）可用于检测PRV或其抗原在组织的分布（Wittmann, 1986）或其污染物的分布（Wittmann, 1986）。通常免疫荧光只出现在细胞质内和细胞核外。

病毒中和试验（VN）被认为是血清学诊断的参考方法，但就一般诊断而言，它已经被通常的ELISA的方法所取代，因为此方法可用于大规模的高通量检测。ELISA的方法可用血清，也可用肉汁作为实验材料。

ELISA的灵敏度优于VN。一些弱阳性血清更倾向于用VN24小时的中和试验检测，但是其它的诊断更倾向于ELISA方法检测。商业应用的ELISA试剂盒原理为间接竞争性技术检测抗体。它们在抗原制备、耦联或底物、孵育时间及结果判定上是不同的，其优点在于可在短时间内对大量的实验数据进行分析处理，一些试剂盒可以用于区分野毒感染和疫苗接种。当应用这些检测系统时更适合于整群动物的大量、快速检测，而不单只动物的检测。

结果分析有一定的难度特别是对于幼龄猪。母源抗体可以持续到4个月龄。在猪，母源抗体的半衰期约18天，如抗体滴度由1: 16下降到1: 8需要18天的时间。如果免疫母猪产下的仔猪抗体检测过早，它们可能被认为是感染，而实为母源抗体。

因PRV可隐性感染，所以传统的检测方法是很棘手的（Gustafson, 1986），有报道血清反应是阴性但实为潜伏感染的病例（Thawley和Morrison, 1988）。

## 预防和控制

有效预防和控制PR的关键在于了解疫情。一旦制度健全后，当地和区域的管理者将着手畜舍的PRV监测工作。首要考虑PRV是否在当地存在，是否根除及是否免疫是一控制策略。根据当地的形势，当地的动物保健部门应制定相应的策略。如果允许，感染和邻近畜群需要进行免疫（Kluge等1999；Wittmann，1985）。

根据当地动物健康制度，对感染PRV的畜群需进行下列的处理：降低畜群养殖密度；限定猪的运动并进行屠宰；净化和处理死亡动物、组织和废弃物；净化畜舍、垫料、公猪和运输区域；对工具、运输车辆和建筑物进行大面积的消毒；控制老鼠的活动。污染畜群禁止自配种，要人工授精。未经许可的人员、猫和狗不得进入畜舍。与感染猪和设施有紧密接触的人员应执行安全程序，以避免将其衣物上的PRV携带出去。在猪PR爆发时或农场其它动物感染PRV时，管理感染猪场的相关策略也适用于猪市场、猪展览场和猪运输场所。

控制和根除PR爆发的重要手段是基因重组疫苗（Quint 等，1987）和与之相关的不同ELISA检测方法（Muller等，1987）。标记型疫苗的应用，如不表达gE的缺失苗可以有效地检验免疫猪是否感染PRV。若血清中含有gE抗体说明猪已经感染了野毒。标记性疫苗的应用增加了感染所需病毒的剂量，但是不能有效阻止PRV的脱衣壳和潜伏。除了缺失突变疫苗，还有一些传统的gE自然缺失的疫苗（如：Bartha strain）。

通常免疫可以减轻临床症状和降低经济损失，但不能阻止PRV的扩散。因为细胞免疫在抗PRV感染中具有重要的作用，因此免疫时建议使用活的、弱毒疫苗。在PRV流行地区，强烈建议所有引进畜舍的动物必须免疫；繁殖群体必须定期免疫；为减少PRV在畜舍的循环或易感猪只的出现，建议所有的仔猪定期免疫。具有母源抗体的猪建议在10-12周和14-16周进行免疫，无母源抗体的猪建议在6和10周进行免疫，两种免疫策略都产生比较好的免疫保护作用。农场的非免疫猪应定期检测血清以监视病毒的扩散情况。在任何情况下，长期潜伏感染的猪群都可以成为传染源（Kluge等，1999；Wittmann，1985）。如果当地预防性接种是许可的，则在感染区育肥猪和繁殖猪群都应该进行免疫。

Mengeling 等 (1992)报道最有效的接种方式为鼻内接种活疫苗和弱毒疫苗。优点在于粘膜免疫可以阻止毒株的复制和扩散。鼻内接种获得被动免疫的

方法优于肌肉内注射（Van Oirschot, 1987），且在严重感染期可以有效地抑制PRV的复制和脱衣壳过程。但实践证明鼻内免疫比肌肉注射需要更多的人力，因而限制了它的应用范围。鼻内免疫可以建议应用于首次感染PRV的仔猪。

## 根除

PR控制的最终目标是根除，标记性疫苗的应用是免疫-根除方案的一部分。这一方案包括4个环节：系统周密的免疫；猪群血清gE抗体的监测；淘汰感染猪；最终禁止免疫制度。

通过屠杀血清阳性动物和控制猪的转运可以成功的完成根除计划。但这样的根除计划比较耗财力和时间，如下为比较实用的根除计划。

- 1 检测-剔除
- 2 检测-剔出-免疫计划
- 3 扑杀PRV阳性的动物

检测-剔出-不免疫计划

适用于PRV阳性小于10%，且血清学检测育成猪和育肥猪阴性的猪舍。繁殖猪舍必须每30天检测一次，淘汰血清学反应阳性的动物。后续的监测中，所有猪群呈一次或二次阴性，即为PRV阴性猪群。

### 检测-剔出-免疫计划

适用于畜群PRV阳性率比较高，或育成猪和育肥猪有感染现象的猪群。畜群应免疫不同的疫苗。活或弱毒苗应用于育肥猪，活苗应用于断奶仔猪。育肥猪每4个月免疫1次。断奶和育肥猪应当免疫两次，Stegeman (1995)的研究表明屠宰时检测结果显示免疫两次的猪受野毒的攻击率明显下降。第一次免疫应在10-12周龄时进行，加强免疫应在4周后，通过肌肉注射、皮内或鼻内进行免疫。如果因某种原因，如经济的问题，只免疫1次，免疫应在14周龄进行。Bouma 等(1997)报道母源抗体在10周时仍可干扰免疫抗体的产生。另一方面14周龄时免疫有可能造成猪在免疫前空白区内感染PRV。

免疫计划应执行至少3年。在这一阶段，猪场的所有母猪将被转移。而后，对畜群进行整体血清学诊断，以确定感染水平，如果比较低则检测-剔出计划可以执行。

### 扑杀PRV阳性的动物

适用于在PRV阳性猪比较少的地区进行。捕杀是根除PRV的必要的最后步骤，因为整个猪群只有为数不多的PRV阳性猪。

根除的同时要控制动物转运，且证明畜群PRV阴性，所有用于生产的孕猪和空怀母猪都必须是PRV阴性。同样，所有的后备母猪也应为gE抗体阴性。当所买猪在供应者的畜舍时，买方就需要进行检测。因为转运是一种应激，有可能造成潜伏的病毒再激活和扩散。所以，极力推荐新买入的猪隔离饲养2-4周；且在进入大群之前需要重新检测抗体gE的水平。要认识到引进猪PRV的阴阳性在净化中起了关键性的作用（Arias和Sanchez-Vizcaina，2002）。对猪群进行血清学常规监测最少每年1次。

对预期阴性的畜舍进行血清学检测时，经常产生单一PRV阳性反应个体。在PR已根除的国家（如瑞典、丹麦）和PRV感染国家经常见到整群动物中只有单只动物为血清学反应阳性。单一阳性反应可能代表下列的任一情况：一、畜群曾感染了PRV，单一阳性反应是群体中最后一只感染者；二、PRV最近侵入群体，单一阳性反应是群体中第一只感染者；三、单一阳性为假阳性，群体从未感染PRV；四、不管什么原因，单一阳性反应是猪群的唯一感染者；五、强毒PRV在猪群低水平传播。

目前，对于单一阳性反应没有统一的管理策略。在美国，这样的畜群被隔离，单一阳性动物被隔离并与标准阳性反应再次同时检测。如再检测的结果仍为阳性，畜主可以选择在隔离的条件下继续保持畜群，或提交单一阳性反应用于荧光检测。如果结果为阳性，猪将被屠杀；如果阴性，将解除隔离。

在欧洲和美国分别执行几个不同的预防、控制和根除策略，与前述有或大或小的差异（Andersson等，1997；BechNielsen等，1995；Muller等，2003；Vannier等，1997）。所执行的策略取决于PRV的形势和国家兽医管理部门的态度。需要强调的是PR根除计划需要大量的财力（Bech-Nielsen等，1995），所以尽量采用比较经济的根除方法。在美国，联邦政府在最初的10年内共耗去7千2百万美元。花费主要来自各级政府和私人农场主（Taft，2000）。在很多区域，PRV在野猪体内的存在对于饲养猪场PRV的净化是一种挑战。

（李玉荣 译 乔俊文 校）