

第 24 章 猪繁殖和呼吸综合征病毒(猪动脉炎病毒属)

J.Zimmerman、D.A. Benfield、M.P.Murtaugh、F.Osorio、G.W.Stevenson 和
M.Torremorell

上个世纪八十年代，美国首先报道了一种在猪群中发生的新的灾难性疾病（Keffaber 1989; Loula 1991）。其临床表现为母猪严重的繁殖障碍，断奶猪普遍发生肺炎、生长迟缓以及死亡率增加的症状（Hill, 1990）。当时该病的病因不明，人们通常称其为“神秘病”（MSD）（Hill, 1990; Reotutar, 1989）。

在欧洲，1990 年 11 月德国暴发了一种与 MSD 临床症状相似的疾病（OIE, 1992）。但是该病在德国的暴发与在美国的暴发之间并没有相关性（Anon, 1991）。该病传播迅速，仅在 1991 年 5 月德国就暴发 3000 余次，并在此后的 4 年间传遍整个欧洲（Baron 等, 1992; Bøtner 等, 1994; Edwards 等, 1992; OIE 1992; Pejsek 和 Markowska-Daniel, 1996; Plana Duran 等, 1992a; Valićek 等 1997）。在亚洲，该病于 1988 年首先在日本暴发（Hirose 等, 1995），台湾于 1991 年也暴发该病（Chang 等, 1993）。

1991 年，中心兽医研究所（荷兰雷利镇）证实了 Koch 的推断，确定该病的病原是一种新的 RNA 病毒（Terpatra 等, 1991a; Wensvoort 等, 1991）。很快，在美国（Collins, 1991; Collins 等, 1992）和加拿大（Dea 等, 1992a,b）也分离到了该病毒。在荷兰和美国首次分离到的病毒分别被命名为 Lelystad 病毒和猪的繁殖障碍和呼吸综合征（SIRS）病毒（BIAH-001）。1991 年欧洲科研人员首次在文献中引入“猪繁殖与呼吸综合征”（PRRS）这一术语（Terpstra 等, 1991b）。此外，其他文献中也有用“猪动脉炎病毒属”这一术语的（Albina 等, 1998; Legeay 等, 1997），后者与国际病毒分类委员会所倡导的病毒分类原则更为一致。

病原学

PRRS 病毒（PRRSV）是一种小正链 RNA 病毒。与马动脉炎病毒、小鼠促乳酸脱氢酶病毒和猴出血热病毒同属于动脉炎病毒科，而动脉炎病毒科和冠状病毒科都是套病毒目的成员（Cavanagh, 1997）。PRRSV 是一种有囊膜的病毒，直径 50-65nm，表面相对平滑，立方形核衣壳，核心直径 25-35nm（Benfield 等, 1992）（图 24.1）。

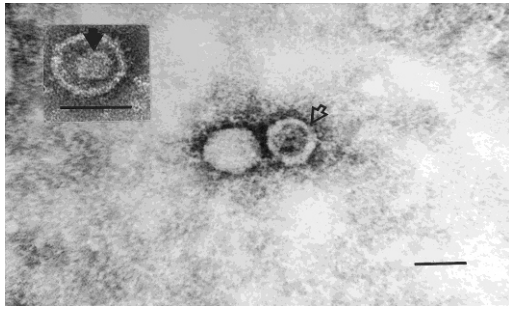


图 24.1 完整 PRRSV 粒子（由空心箭头所示）和不完整（无核心）PRRSV 粒子。插入照片为完整 PRRSV 粒子，有 35nm 的核衣壳核心（黑箭头），外围有囊膜。标线长度=50nm(由 D.Robison 提供，南达科他州立大学)

PRRSV 具有高度的宿主依赖性，主要在猪的肺泡巨噬细胞以及其他组织的巨噬细胞中生长（Pol 等，1991）。PRRSV 也能在被感染公猪的睾丸生殖细胞（精细胞、精母细胞、多核巨细胞）中生长繁殖（Sur 等，1997）。在体外，PRRSV 主要在猪的肺泡巨噬细胞、MA-104 非洲绿猴肾细胞及其培养物中生长（Benfield 等 1992，Kim 等 1993）。棉鼠肺细胞培养后的细胞系对 PRRSV 也高度敏感（鼠细胞系，ATCC PTA-3930）。

PRRSV 主要通过内噬作用进入宿主细胞。可以通过电子显微镜在细胞表面或者网格蛋白小泡内看到 PRRSV 粒子（Kreutz 和 Ackermann，1996）。Meulenberg（2000）准确的描述了 PRRSV 形成的整个过程：PRRSV 从滑面内质网、高尔基体或者同时从滑面内质网和高尔基体通过出芽方式获得核衣壳，成熟的病毒粒子在囊泡中聚积，之后转移到质膜中与质膜融合后释出。在一步生长条件下，PRRSV 经培养 10-20h 的最大滴度可达 $10^{6.5}$ - $10^{7.5}$ TCID₅₀/ml(Meulenberg 2000)。

基因组结构

PRRSV 与其他动脉炎病毒的基因组结构相似。基因组长约 15kb，含有 8 个开放性阅读框架（ORFs）。目前已经发表了 Lelystad 病毒和几个北美分离株的完整基因组序列（Allende 等，1999；Meulenberg 等，2000）。对每株病毒的氨基酸序列进行比较后发现，与马动脉炎病毒相比，PRRSV 与促乳酸脱氢酶病毒的相似程度更高一些。

ORFs 1a 和 1b 占整个基因组的 80%，并且编码病毒复制所必需的 RNA 复制酶。ORFs 1a 和 1b 的翻译产物均为单个的多聚蛋白，经过加工后成为更小的非结构蛋白（nsp）。Nsp1-α、nsp-β、nsp2 和 nsp4 这 4 种蛋白酶都能将整个 ORF1 多蛋白分解为 12 个 nsps（Snijder 和 Meulenberg，2001）。ORF1b 的 nsp10 区编码一个功能解旋酶（Bautista 等，2002）。

Nsp5 除了在 PRRSV 的复制中发挥作用外，在该病的诊断和宿主的免疫反应方面也具有一定的作用。Nsp2 含有大量的抗原决定簇，可以被感染宿主的免疫系统所识别。

基因组 3'末端的六个 ORFs（2、3、4、5、6 和 7）编码病毒的结构蛋白。其中，GP2、GP3、GP4 和 GP5 均为 N 端糖基化，而核衣壳蛋白 N（ORF7 的产物）和内膜（或基质）M 蛋白（ORF6 的产物）则为非 N 端糖基化的（Dea 等，2000）。近来有证据表明，ORF2 中的小 ORF 即 ORF2b 可编码另外的非糖基化小蛋白（73 个氨基酸，10-kDa）。

结构蛋白

PRRSV 共含有 6 个或 7 个结构蛋白。其中三个主要的结构蛋白分别为 GP5、M 和 N。N 蛋白较小（15kDa），含有较多的碱性氨基酸，与病毒的 RNA 共同装配成具有感染性的病毒粒子。在感染细胞中 N 蛋白的表达水平较高，约占病毒粒子总蛋白量的 20-40%。N 蛋白穿过核膜定位于核仁并可能通过影响 rRNA 前体的形成过程以及核糖体的生物发生（Yoo 等，2003）从而影响核的复制（Rowland 和 Yoo，2003）。从免疫遗传和免疫保护的角度考虑，N 蛋白并没有多大的作用，但是由于其表达水平较高、抗原性较好，因此可以作为诊断分析的理想靶位。

在 PRRSV 所有的结构蛋白中，非糖基化的膜蛋白 M（跨膜蛋白）在遗传方面最为保守。作为一种基质蛋白，M 蛋白在病毒的组装和出芽过程中发挥着重要的作用。M 蛋白在内质网中聚积，与 25kDa 的 GP5 形成二硫化的异二聚体（Mardassi 等，1996）。这些异二聚体相互结合成为病毒粒子，此结构对于病毒与细胞受体的相互作用是必需的，而且在病毒的感染过程中起着非常重要的作用。对于这一点，可由 M 蛋白可诱导产生 PRRSV 中和抗体来解释（Bastos 等，2002）。M 蛋白和 M-GP5 复合物有助于 PRRSV 吸附于猪肺泡巨噬细胞的肝磷脂样受体上（Delputte 等，2002）。

加工后的膜蛋白 GP5 含有长约 30 个氨基酸的外侧结构域，每个氨基酸带有 2 个或 3 个 N-聚糖。GP5 是一种主要的结构蛋白，对于受体识别具有一定的作用（Vanderheijden 等，2003）。由于 N 端的外侧结构域含有一个主要的中和抗原决定簇，这就证实了 GP5 蛋白具有受体识别作用，从而也表明 GP5 结构在病毒的侵染过程中起着一定的作用（Ostrowski 等，2002；Plagemann，2004；Plagemann

等，2002；Wissink 等，2003）。

29-30kDa 的 GP2 和 31-35kDa 的 GP4 膜蛋白在病毒膜蛋白中的含量较少，均属于典型的I类膜蛋白（Meulenberg，2000）。对欧洲分离株的研究结果表明，目前还不能确定 45-50kDa 的 GP3 是否存在于病毒粒子的结构中（van Nieuwstadt 等，1996），而且对北美分离株的研究结果也表明，目前还不能确定它是如何进入感染细胞内的（Gonin 等，1998）。

基因多样性

PRRSV 毒株或者分离株的基因易于改变，主要受以下几方面的影响：

- 1.疾病临床症状的改变
- 2.肺毒力和/或复制毒力的不同
- 3.通过检测多克隆和单克隆抗体而确定的抗原差异
- 4.RNA 序列的差异

由于诊断技术的不断进步，人们也越来越了解 PRRSV 毒株的基因/抗原多样性（Meng 等，2000）。在许多实验室，基因测序已经成为 PRRSV 感染的常规诊断工具。

随着基因测序技术的广泛应用，人们逐渐意识到同一个农场内可能存在着不同基因序列的 PRRSV 毒株（Dee 等，2001；Goldberg 等，2003）。同样，通过测序人们也认识到了欧洲基因型（1 型）毒株的存在，以前人们往往把欧洲基因型的毒株认为是美国基因型（2 型）毒株（Ropp 等，2004），反之亦然。这样，在北美、欧洲以及其他地方，可能会发现仅具有部分交叉保护作用的两种不同基因型的 PRRSV 毒株。这一点对于疫苗毒株的选择以及疫病的诊断分析都具有重要作用。由于基因重组可能是 PRRSV 进化的重要遗传机制（Yuan 等，1999），因此，很有可能会在同一地区共存的北美型和欧洲型之间发生基因重组。但是，体外（细胞培养）测试结果表明，与欧洲毒株（1 型）和北美毒株（2 型）之间发生基因重组的可能性相比较，在两个 1 型或者两个 2 型之间发生基因重组的可能性更大一些（van Vught 等，2001）。

测序技术的系统应用也有助于对弱毒疫苗的稳定性及其毒力返强的研究。研究结果表明，弱毒疫苗的毒力可能会返强（Key 等，2003；Mengeling 等 1999a；Nielsen 等 2001；Opriessnig 等，2002）。另一方面，对弱毒 PRRSV 毒株基因结构研究的一个重要成果是人们更好的理解了 PRRSV 毒力减弱与毒力返强的分子

基础。对弱毒株及其亲本野毒株几个基因组的研究也发现了一些可能的毒力基因（Allende 等，2000a；Grebennikova 等，2004；Yuan 等，2001）。这些研究是基于反向遗传技术，如感染性的 cDNA 克隆进行 PRRSV 基因功能研究和毒力分子基础研究的重要基础（Groot Bramel-Verheije 等，2000；Meulenberg 等 1998；Nielsen 等 2003；Truong 等 2004；Verheije 等 2002a；Verheije 等 2002b；Verheije 等 2003）。

流行病学

地理分布

20 世纪 90 年代，随着诊断分析的应用，人们发现几乎所有地方的家养猪只都感染了 PRRSV。回顾以前的血清学研究结果发现，加拿大在 1979 年（Carman 等，1995）、美国在 1985 年（Zimmerman 等，1997）、前德意志民主共和国在 1987 年（Ohlinger 等，2000）就已经发现了 PRRSV。在亚洲，韩国于 1985 年（Shin 等，1993）在进口猪的血清中、台湾于 1987 年（Chiou 2003）在收集的血清样品中、日本于 1988 年（Hirose 等，1995）在收集的样品中均检测到了 PRRSV 的抗体。上述结果均是在 PRRS 临床症状出现之前，在猪的血清中检测到的。

目前，有些地区尚未发现 PRRSV，这些地区包括欧洲的瑞典（Elvander 等，1997）、挪威（OIE 1997）、芬兰（Bøtner 2003）、瑞士以及大洋洲的新西兰（OIE 1996）、匈牙利（Motha 等 1997）和澳大利亚（Garner 等 1996，1997）。南美洲的阿根廷（Perfumo 和 Sanguinetti 2003）、巴西（Ciacchi-Zanella 2004）、古巴（Alfonso 和 Frias-Lepoureau 2003）以及加勒比海的某些地区可能都是无 PRRSV 地区。

准确评价某个国家或地区野毒株流行性的资料相对缺乏，但是在受感染地区，60~80%的猪场均为表现典型临床症状的感染（Geue，1995；Hirose 等 1995；Lu 等 1999；Maes 1997；Mateusen 等，2002；USDA，1997）。减毒活病毒（MLV）疫苗的应用使得人们难以评价其流行性。很难区分所检测到的抗体是疫苗免疫后产生的还是野毒感染后产生的。此外，疫苗毒株免疫后病毒排出畜体外并在环境中传播，使得与野毒的区分更加困难（Astrup 和 Riising 2002；Bøtner 等，1997；Christopher-Hennings 等 1996，1997；Mengeling 等 1998；Sipos 等 2002）。

易感动物

家养猪的 PRRSV 是由何种野生动物传播的迄今不明。小鼠、大鼠（Hooper 等，1994）和豚鼠（J.Zimmerman,尚未出版的资料）等许多动物对 PRRSV 都不敏感。Wills 等的研究表明，PRRSV 在猫、狗、小鼠、负鼠、浣熊、家鼠、

臭鼬、家雀或八哥体内不能复制。Zimmerman 等（1997）报道野鸭对 PRRSV 敏感，但是此后的研究未能证实这一点（Trincado 等，2004b）。

野猪容易感染 PRRSV，但是血清学调查结果表明，自由生活的野猪很少感染 PRRSV（Albina 等，2000；Lutz 和 Wurm，1996；Oslage 等，1994；Saliki 等，1998）。

事实虽然如此，但在家养猪与野猪共存的地方，由于 PRRSV 的存在，野猪感染 PRRSV 的比例也非常高。除毫猪外，猪超科动物（野猪、西貘、疣猪和鹿猪）对于 PRRSV 的敏感性不明。

排毒途径

感染动物通过唾液（Wills 等，1997a）、鼻液（Benfield 等，1994；Christianson 等，1993；Rossow 等，1994a）、尿（Wills 等，1997a）、精液（Swenson 和 Zimmerman，1993；Swenson 等，1994a）和粪便（Christianson 等，1993）排出病毒。怀孕后期感染的母猪可通过乳汁排出病毒（Wagstrom 等，2001）。

由于人工授精技术的广泛应用，因此人们目前较为关注病毒通过精液的传播。不同公猪其精液的排毒时间差别很大（Christopher-Hennings 等，1996）。Swenson 等（1994a）发现在公猪精液排出后的第 43 天仍能检测到其中具有感染性的病毒。Christopher-Hennings 等（1995a）用 PCR 方法检测染毒约 92 天（DPI）的公猪精液中的病毒 RNA，结果从一头经安乐死处死的 101 DPI 公猪的尿道球腺中分离到了 PRRSV。某研究结果证实 MLV 疫苗接种后大约 39 天就从精液中检测到了病毒，但是在接种疫苗之前遇有应激等情况时精液中检测不到病毒或者排毒量减少（Christopher-Hennings 等，1997）。

传播途径

猪对 PRRSV 易感，主要经鼻腔、肌肉、口腔（Magar 等，1995；Magar 和 Larochelle，2004；van der Linden 等，2003b）、子宫（Christianson 等，1993）和阴道（Benfield 等，2000a；Gradil 等，1996；Yaeger 等，1993）等途径传播。猪对 PRRSV 的感染力与感染途径有关，也就是说，同样的感染剂量不同的感染途径对猪的感染力不同。Hermann 等（2005）的研究结果表明，分别经口和肌肉染毒时的半数感染剂量（ID₅₀）——即半数动物感染的剂量——分别为 10^{5.3} TCID₅₀ 和 10^{4.0} TCID₅₀。根据 Benfield 等（2000a）的研究结果，人工染毒的 ID₅₀ 约为 10^{4.5} TCID₅₀。Yoon 等报道肌内接种少于或等于 20 个 PRRSV 粒子即可使猪只感染发

病。

总之，感染性试验结果表明，猪容易经胃肠道外途径感染（皮肤破损的情况下），对胃肠道途径的感染则抵抗力较强。临床方面潜在的胃肠道外感染途径包括剪耳、断尾、修牙、打烙印、注射药物和生物制品等标准操作程序。同样，由于感染猪唾液中的 PRRSV 可持续存在几周，因此，猪只之间互相攻击时发生的撕咬、伤口、刮擦和/或擦伤均可导致胃肠道外感染的发生。Bierk 等（2001）证实了带毒母猪和易感猪只互相攻击时能够传播 PRRSV。其他能够导致血液和唾液传播的行为如咬尾和咬耳等也可导致该病的传播。经口和子宫内传播的 ID₅₀ 明显更高，表明该病不容易经口和子宫感染，而且即使能经口和子宫感染也容易预防。

间接传播包括无生命物体（设备、器具、垫料等）或物质（水、饲料等）、活载体（带毒者）或者悬浮微粒的传播。Otake 等（2002b）证实试验过程中能够通过注射器传播 PRRSV。Otake 等（2002a）的研究结果还表明，操作人员在与急性感染的病猪接触后 60min，其工作服、靴子和手上仍然存在 PRRSV。但是基本的卫生程序如更换工作服、更换靴子和洗手就可以阻止感染的发生（Dee 等，2004a）。在试验条件下，Dee 等表明冬季 0℃ 以下的环境温度能够消灭污染物上的大部分病毒，而温暖的气候条件如 10-16℃ 对病毒的杀灭能力就弱的多，这也进一步表明了温度对病毒存活的重要性。

初步的研究结果表明节肢动物可能对 PRRSV 的传播具有一定的作用。已经在野生苍蝇和蚊子的体内或体表检测到了 PRRSV（Otake 等，2002c；Pringproa 等，2004；Schurrer 等，2004）。Otake 等（2002c）经过试验表明蚊子和畜舍内的苍蝇（家蝇）能够机械的传播 PRRSV。总之，目前的研究结果表明苍蝇和蚊子可能是 PRRSV 机械传播的载体。但是，现有的研究结果并不能说明 PRRSV 是一种媒介节肢动物传播的病毒。一句话，在节肢动物感染过程中，宿主、感染源、节肢动物和环境之间的生态关系比较复杂。需要进行进一步研究以将目前的研究结果联系起来，进而理解节肢动物在 PRRSV 感染中所起的作用。

以前人们一直认为 PRRS 病毒主要通过空气传播。空气传播加上节肢动物传播能够解释在没有其他感染源（猪、无生命的物体、人）存在的情况下 PRRSV 的远距离传播（传播面广）。但是，PRRSV 经空气传播的途径难以证实。已进行的试验结果表明，在 1.0-2.5 米的范围内，感染猪能够成功感染大约 50% 的易感

猪（Lager 和 Mengeling, 2000; Otake 等, 2002d; Torremorell 等, 1997; Wills 等, 1997b）。但是, Kristensen 等（2004）的实验结果却表明了空气传播途径的局限性。在空气交换比例分别为 1%、10%或 70%的三个试验组中, 大约 50 头急性感染猪能够通过 1 米的距离经空气感染 50 头易感猪。但是在距离为 15 米（Trincado 等, 2004a）和 30 米（Otake 等, 2002d）时所进行试验的结果却表明 PRRSV 不能经空气传播。必须进行更多的研究, 特别是在病猪排出的病毒量、病毒的来源、气溶胶病毒的灭活情况以及通过气溶胶感染的剂量等方面进行研究才能更好的理解空气传播在 PRRSV 感染中的作用。

垂直传播

PRRSV能够经过患病母猪的胎盘屏障传染给胎儿, 导致死胎、带毒仔猪的出现, 这些带毒仔猪可能为弱胎或者外观正常的仔猪（Bøtner等, 1994; Christianson等, 1992; Terpstra等, 1991a）。有些猪可能不会受到垫草中PRRSV的感染。PRRSV仅能在母猪怀孕后的前14天在胎儿体内复制, 但是由于大多数的PRRSV仅在怀孕的后期能够通过胎盘屏障进入胎儿体内, 因此在母猪怀孕的前两阶段(共有三个阶段), 胎儿一般不会受到病毒的感染(Christianson等, 1993; Lager 和Mengeling, 1995; Mengeling等, 1994; Prieto等, 1996a,b)。目前怀孕不同阶段病毒通过母体胎盘能力的差别以及病毒穿过胎盘屏障的机理均不明。PRRSV对胎盘屏障的穿透能力与病毒的毒力无关。Park等（1996）的实验结果表明, 在母猪怀孕90天时染毒, 低毒力和高毒力的PRRSV穿过胎盘屏障的能力相同。

持续感染

猪感染PRRSV后表现为慢性的持续感染。动物感染PRRSV后, PRRSV能在敏感细胞内复制几个月而并不表现出临床症状。这是PRRSV感染最为重要的流行病学特征。通过感染试验以及动物体内的病毒检测已经证实了PRRSV的持续感染特性。Zimmerman等（1992）报道了99天前感染PRRSV的母猪能够感染易感哨兵猪。随后Benfield等（2000b）对怀孕90天的母猪进行子宫内感染, 结果从产仔后约132天的母猪扁桃体和淋巴结中分离到了PRRSV。Wills等（1997c）对4头母猪进行染毒, 结果在染毒后的第157天从其中的一头猪体内分离到了病毒。Horter等（2002）在染毒后的63-105天通过病毒分离或者猪的生物测定法检测感染性的PRRSV, 试验过程中共有59头死猪, 其中11头为染毒105天时实施安乐死

处死的。结果共从51头猪（84%）体内分离到了PRRSV，其中包括实施安乐死的10头猪（91%）。Allende等（2000b）在染毒后的第150天用生物测定法对5头猪进行检测，结果从其中的两头猪体内检测到了感染性的病毒。

持续感染与猪被感染时的年龄无关。不管猪被感染时是子宫内的胎儿（Benfield 等，1997，2000b；Rowland等，1999）、仔猪还是成年猪（Bierk等，2001； Christopher-Hennings等，1995a；Fairbanks等，2002； Zimmerman等，1992），均会发生持续感染。病毒对抗动物体主动免疫反应的机制尚不清楚。但是可能并不是由于在动物体内不断发生变异而逃避宿主免疫反应的。Chang等（2002）研究发现持续感染的动物，体内PRRSV发生变异的比例相对较低。

在环境中的稳定性

感染动物通过唾液、尿和粪便排出病毒从而污染环境，同时产生了潜在的污染物传播。PRRSV对热和干燥敏感，在热和干燥的条件下能够迅速失活。在25-27℃时，除感染当天外，其他时间在塑料、不锈钢、橡胶、苜蓿、木屑、干草、玉米、仔猪饲料或棉衣上均检测不到感染性的病毒（Pirtle和Beran，1996）。

PRRSV在特定的温度、湿度和pH条件下可保持长时间的感染力。PRRSV在温度为-70℃和-20℃时能存活几个月至几年。在4℃时，约90%的病毒在一周之内失去感染力，但是在第30天时仍能检测到低滴度的感染性病毒。在溶液中，PRRSV在20-21℃能保持感染能力1-6天，在37℃时为3-24h，在56℃时为6-20min。PRRSV在血清和组织中的热稳定性与在媒介中的稳定性基本相同。将猪血清样品于25℃分别存放24、48和72h，可分别从47%、14%和7%的血清中分离到PRRSV。当将血清置于4℃或者-20℃存放72h后，可从85%的血清样品中分离到PRRSV（Van Alstine等，1993）。PRRSV在pH为6.5-7.5的条件下稳定，但是在pH值低于6、高于7.5时可迅速丧失感染力（Benfield等，1992；Bloemraad等，1994）。

消毒

氯仿、乙醚等脂溶剂可使PRRSV失活（Benfield等,1992）。PRRSV在含有低浓度去污剂的溶液中极不稳定，这是由于去污剂破坏了病毒囊膜，使病毒释放出不具有感染性的核心颗粒，从而使病毒失去了感染性（Snijder 和Meulenberg,2001）。

消毒的第一步是去除所有的有机物质。然后，根据媒介和消毒剂接触的温度和时间要求对具有感染性的媒介进行灭活。PRRSV在环境中的稳定性相对较差，

对干燥特别敏感（Pirtle 和 Beran,1996）。在室温条件下，Shirai 等（2000）报道用氯（0.03%）10min、碘（0.0075%）1min、季铵化合物（0.0063%）1min 即可杀灭 PRRSV。温度和 pH 值对消毒的效果不明。Dee 等（2004b,c）报道对运输工具有效的消毒方法是清洁、冲洗、消毒和干燥。

猪场内的传播

一旦感染，PRRSV 往往在一个猪场内无休止的循环传播。由于持续存在的 PRRSV 由带毒动物传染给不断出现的易感动物，这些易感动物既可由出生、购入产生，又可由动物免疫保护性的丧失产生，因此形成了 PRRSV 的地域性传播。由于病毒可从带毒母猪通过子宫或者是在产后传染给仔猪，或者在生产后期通过易感猪与感染猪的混群，而使病毒持续循环传播。在断奶等情况下将易感动物与带毒动物混群饲养可使大量的易感动物迅速被感染。Dee 和 Joo（1994a）报道在 3 个猪场中有 80-100%的猪在 8-9 周龄时已被感染，Maes（1997）经过检测发现 50 个猪场中有 96%的育肥猪血清学检测结果为阳性。但是在地域性感染的猪场中，不同的组别、不同畜栏或畜舍的动物之间感染率差别很大。Houben 等（1995）甚至发现同窝仔猪之间的感染性也有差别。同窝出生的某些仔猪血清学转化早的在 6-8 周龄，但是有的仔猪在 12 周龄（即血清学监测末期）时仍为阴性。同样，Melnichouk 等（2005）发现在不同农场中的感染性也不同，在其中的 5 个农场中，在 5-7.5 周龄已有大约 50%的猪被感染，至 8.5 周龄时被感染的猪只已增至至少 90%，而在另外的两个农场，在 10-12 周龄时仅有 20-40%的猪只被感染。

猪场间的传播

研究结果已经证实了感染猪和含有病毒的精液在猪场之间传播时所起的作用（Dee 等,1992;Mousing 等,1997;Weigel 等,2000）。在法国某个地区控制 PRRSV 的过程中，Le Potier 等（1997）估计感染原因分别为：56%（118 个猪场的 66 个）通过感染猪传播；20%（118 个猪场中的 23 个）通过感染精液的使用传播；21%（118 个猪场中的 25 个）通过污染物/粪尿传播，另外的 3%（118 个猪场的 4 个）感染源不明。Mortensen 等（2002）研究发现 PRRSV 是通过带毒动物和精液的引入以及相邻农场带毒气溶胶的扩散而进入阴性猪群的。Dee 等（2002,2003）发现 PRRSV 可附着在精液的绝缘冷冻装置、金属工具箱、塑料饲料桶以及纸箱等农场常用的装置及物体上从而被带入别的农场，特别是在潮湿阴冷的情况下。Torremorell 等（2004）估计 80%以上的感染是由于相邻农场的扩散、PRRSV 阳

性猪的运输、未严格执行生物安全措施或者可能还有昆虫的传播而引起的。

与感染猪群相邻是明显的致病因素。与 PRRSV 阳性猪群相距越近, 感染的可能性越大, 随着距离的增加, 感染的可能性随之变小 (Zhuang 等, 2002)。Le Potier 等 (1997) 发现怀疑经区域性传播而感染的猪场中有 45% 距离设定的感染源在 500m 以内, 只有 2% 的农场与感染源有 1km 远。

区域传播是控制和/或消灭 PRRSV 所面临的主要难题之一。如果能够阻止区域传播的发生, 就能够证实 PRRSV 的传播机制。区域传播通常是由气溶胶或者昆虫传播的。Goldberg 等 (2000) 从伊利诺斯州 (美国) 和爱荷华州东部 (美国) 的 55 个猪场中分离到了病毒, 并测定了病毒的 ORF5 基因序列, 结果却发现分离株的遗传特点与地理位置无关。据此, 他们认为 PRRSV 主要是通过动物或者精液而感染猪群的, 与相邻猪场的区域扩散关系不大。

发病机制

给无菌猪、剖腹产/不喂初乳猪或者普通猪接毒后的几个重要感染性研究已经表明了 PRRS 病毒的感染进程 (Duan 等, 1997b; Halbur 等, 1995b, 1996a; Rossow 等, 1994a, 1995, 1996a)。染毒后, 病毒首先在局部的易感巨噬细胞中复制, 然后迅速向淋巴器官、肺扩散, 有时也向其他组织扩散。毒力较强的 PRRSV 能够使某些猪只在感染后的 12h 即出现病毒血症, 至 24h 时病毒会侵染所有猪只的淋巴组织和肺脏。病毒滴度迅速增加, 血清、淋巴结和肺脏中病毒滴度的最大峰值出现在第 7-14 天, 其值为 10^2 - 10^5 TCID₅₀/ml 血清或/g 组织。通常肺中的病毒滴度最高。

PRRSV 主要在单核细胞分化较好的子细胞中复制, 这些分化较好的子细胞具有 220kDa 的糖蛋白受体, PRRSV 与该受体结合然后经过受体介导的内吞作用进入细胞内 (Duan 等, 1998; Kreutz 和 Ackermann, 1996; Nauwynck 等, 1999; Wissink, 2003a)。分化细胞促进肺泡巨噬细胞 (PAM)、肺血管内巨噬细胞 (PIM) (Thanawongnuwech 等, 1997a; Wensvoort 等, 1991) 和淋巴组织巨噬细胞 (Duan 等, 1997b) 等的细胞复制。因此, PRRS 急性感染时这些组织中 PRRSV 的滴度最高并且组织损伤最为严重。

PRRSV 的复制需要 PAM 或者其他巨噬细胞的成熟和/或活化 (Duan 等, 1997a; Molitor 等, 1996, 1997; Thacker 等, 1998)。PRRSV 在分化的 PAM 子细胞中复制, 而分化的 PAM 子细胞杀灭吞噬细胞中细菌以及产生超氧阴离子杀

灭溶酶体中细菌的能力最强 (Molitor 等, 1996)。与在日龄较大的猪体内复制相比, PRRSV 在小猪 PAM 和 PIM 中复制后的滴度要高一些 (Mengeling 等, 1995; Thanawongnuwech 等, 1998b)。

PRRSV 也可在小胶质细胞中复制 (Molitor 等, 1997), 但是并不能在所有的单核细胞中复制, 如在外周血单细胞、腹腔巨噬细胞或骨髓母细胞中就不能复制 (Duan 等, 1997a,b)。

在肺脏和淋巴结中可观察到大量的 PRRS 病毒抗原和/或核酸, 在心脏、脑、肾脏以及其他组织中的血管周和血管内巨噬细胞中也经常可以观察到, 但是在肺泡细胞、鼻腔上皮细胞、内皮细胞、纤维原细胞、精细胞核和精母细胞却很少看到 (Halbur 等, 1995a,b, 1996a; Magar 等, 1993; Pol 等, 1991; Rossow 等, 1996a; Sirinarumitr 等, 1998; Sur 等, 1997; Thana-wongnuwech 等, 1997a)。

一般说来, 临床疾病的发生以及病理损伤程度与病毒最高滴度出现的时间和出现的组织有关, 如在染毒后的 7-14 天肺脏和淋巴结中的病毒滴度最高。比较来说, 在死胎和先天感染的活仔体内, 其淋巴器官中的病毒抗原和核酸最多, 而不是肺脏 (Cheon 和 Chae, 2001)。

达最高峰值后, 血清中的病毒滴度迅速降低。虽然用 rtPCR 方法在第 251 天时仍能检测到血清中的病毒 RNA, 但是在染毒后的第 28 天大部分的猪只不会再出现病毒血症 (Duan 等, 1997b; Wills 等, 2003)。先天性感染仔猪病毒血症的持续时间更长一些, 大约在出生后的 48 天仍可分离到病毒, 并且极少数仔猪第 228 天时通过 rtPCR 方法仍能检测到病毒 (Rowland 等, 2003)。

出现病毒血症后, 先天和后天感染的猪只均可在此后的长时间里通过扁桃体 (Wills 等, 1997c) 和/或淋巴结, 特别是腹股沟和胸骨淋巴结 (Bierk 等, 2001; Xiao 等, 2004) 处存在的病毒而反复感染。通过病毒分离方法在 132-157DPI 时仍可检测到病毒 (Rowland 等, 2003; Wills 等, 1997c)。病毒可在淋巴组织中复制从而不断产生低滴度的病毒 (Allende 等, 2000b)。

细胞损伤的机制

PRRS 病毒在肺脏和淋巴组织以及其他组织 (虽然较少) 巨噬细胞中的复制通过各种机制致使细胞损伤和临床病症的出现。这些机制包括感染细胞的凋亡、邻近非感染细胞的程序性死亡 (间接的或者旁观者凋亡)、诱发炎性细胞因子的产生、诱导多克隆 B 细胞的活化以及巨噬细胞噬菌和杀菌作用的减弱, 从而进

一步导致对败血症的敏感性增加（也可能是由于 PRRSV 的其它免疫修饰作用）。

直接和间接（旁观者）凋亡是 PRRS 感染过程中细胞死亡的主要原因。在病毒滴度较高的急性感染期，病灶周围只有一小部分的巨噬细胞被 PRRSV 感染（Duan 等，1997b；Mengeling 等，1995），但是却使得大部分的单核细胞凋亡（Sirinarumitr 等，1998；Sur 等，1998）。凋亡的细胞中几乎不含有 PRRSV，并且大多数单核细胞在感染 PRRSV 后 10-14 天发生凋亡。这表明 PRRSV 可诱导与感染细胞相邻的非感染细胞的凋亡。从形态学上分析大多数的凋亡细胞为典型的巨噬细胞，少数为典型的淋巴细胞。

PRRSV 的 ORF5（GP5）基因产物可诱导猿体外 COS-1 细胞系的凋亡，并且也可能是 PRRSV 感染的巨噬细胞在体内凋亡的原因（Suárez 等，1996）。PRRSV 诱导细胞间接凋亡的原因不明，但可能是由于感染巨噬细胞如 p25 释放或分泌出致细胞凋亡因子、活性氧或者一氧化氮而导致的（Choi 和 Chae，2002；Labarque 等，2003；Suárez，2000）。

PRRSV 感染的巨噬细胞能够分泌促炎性细胞因子，该因子可能具有正面的（使白细胞增加、诱发免疫反应以及减少病毒的复制）和负面的（血管渗透性增加导致肺水肿和支气管收缩）双重效应。对 PRRSV 感染的猪和未感染的对照猪进行支气管肺泡灌洗，研究结果表明感染猪细胞因子（包括 r-IFN、 α -TNF、IL-1、IL-6、IL-10 和 IL-12）的含量均升高（Choi 等，2001；Suradhat 和 Thanawongnuwech，2003；Thanawongnuwech 等，2003；van Gucht 等，2003）。原位杂交的研究结果表明这些细胞因子主要是由位于炎性中心的肺泡壁巨噬细胞产生的，带毒的淋巴细胞也能产生 r-IFN（Choi 等，2001；Chung 和 Chae，2003；Thanawongnuwech 等，2003）。在这些细胞因子中， α -TNF、IL-1 和 IL-6 为促炎性细胞因子，能够促进白细胞的聚集和活化、增加毛细血管的渗透性（肺水肿）并诱导发热、厌食和精神沉郁等系统反应。 α -TNF 和 IL-1 也能引起支气管的高反应性和收缩等哮喘样的症状。

PRRSV 在淋巴器官中的复制也与多克隆 B 细胞的活化有关。总的说来，表现为淋巴结的增生肥大和纤维病变如淋巴滤泡的增生（Lamontagne 等，2001）。给新生无菌仔猪染毒后出现淋巴增生、所有免疫球蛋白含量均大幅增加（其中仅 1% 对 PRRSV 具有特异性）、循环免疫复合物的产生、免疫复合物沉积在已经发生炎性反应的肾小球基底膜上，并且产生针对高尔基体和 dsDNA 的自身抗体

(Lemke 等, 2004)。

临床症状

在北美洲 (Bilodeau等, 1991; Keffaber, 1989; Loula, 1991; Moore, 1990; Sanford, 1992)、南美洲(Dewey, 2000)、欧洲 (Anon, 1992; Busse等, 1992; de Jong等, 1991; Gordon, 1992; Hopper等, 1992; Leyk, 1991; Wensvoort等, 1991; White, 1992a,b)和亚洲(Chiou, 2003; Thanawong-nuwech等, 2003; Tong和Qiu, 2003; Yang等, 2003), 同一猪群内部PRRS的临床症状基本相同。

猪群之间PRRS的临床表现差别较大, 有的根本无异常症状, 有的则表现为大多数猪只的死亡。PRRS的临床症状变化也较大, 并且并发感染可掩盖或者加剧其临床症状。PRRS感染没有共同的临床特征。近来所描述的几乎所有临床症状均有不同之处。PRRSV的临床症状受病毒毒株、宿主的免疫状态、宿主的敏感程度、脂多糖的外露程度、并发感染以及其它管理因素的影响 (Blaha, 1992; White, 1992a)。

猪群发生PRRS的临床表现主要是个体出现急性病毒血症(Collins等, 1992; Pol等, 1991; Terpstra等, 1991a) 和经胎盘传染给胎儿从而导致繁殖障碍(Terpstra等, 1991a)。PRRSV分离株的毒力差别很大, 低毒力的分离株仅能引起猪群亚临床症状的流行或者地方性流行 (Morrison等, 1992), 而高毒力的分离株则能引起严重临床感染, 猪群的免疫状况不同, 感染后的临床表现也不同。

如果PRRSV感染未免疫的猪群或者未免疫地区的猪群, 那么所有年龄的猪只都会受到感染, 从而引起该病的流行。地区性的流行主要发生在已经免疫过并且免疫毒株与感染毒株同源的猪群中。对于地区性流行的PRRS来说, 表现出临床症状的猪只常为猪群中比较敏感的猪, 并且多为母源抗体消失后的保育期-生长期猪只、和/或以前未受感染的小母猪或者经产母猪以及它们先天感染的后代仔猪。

如果PRRSV毒株的抗原发生足够大的变异, 那么该毒株作为一种新的、与免疫相对无关的毒株就会使PRRSV感染的地区性流行变为流行性的暴发。

流行性传播

PRRS流行的第一阶段持续2周或者2周以上, 此时所有年龄的猪只均可发病, 发病率为5-75%, 是由急性病毒血症引起的, 主要特征为厌食和精神沉郁。上述症状起始于猪群生产的一个或多个阶段, 并在3-7天或者更长的时间传播至整个

生产阶段。发病猪食欲不振，持续1-5天，在分隔的猪群中其传播常常需要7-10天或者更长时间，因而用“滚动性食欲不振”这个术语来描述。发病猪只也常表现出如下临床症状：淋巴细胞减少、发热、直肠温度39-41°C（102-106°F）、呼吸急促、呼吸困难以及四肢皮肤出现短暂的“斑点”样充血或发绀。

急性病例的第一阶段结束后，疾病进入第二阶段，持续1-4个月，主要特征为繁殖障碍，主要发生在怀孕后的第三期感染病毒血症的母猪，其所产活仔猪在断奶前的死亡率升高。当繁殖障碍和断奶前的死亡率恢复至疾病暴发前的水平后，大部分猪群仍会继续发生地区性的传染。

母猪 在疾病的急性期，约1-3%的母猪流产，流产一般发生在妊娠后的第21-109天。母猪表现为明显的流产、流产后的不规则发情或不孕（Hopper等，1992；Keffaber，1989；Loula，1991；White，1992a）。个别急性病例母猪可出现无乳（Hopper等，1992）、共济失调（de Jong等，1991）的症状和/或疥癣、萎缩性鼻炎或膀胱炎/肾盂肾炎等局部病变的急剧恶化（White，1992a）。

急性发病母猪的死亡率通常为1-4%，这些猪有时还伴有肺水肿和/或膀胱炎/肾盂肾炎等症状（Hopper等，1992；Loula，1991）。几个有关母猪严重急性PRRS病例的研究报道流产率可达10-50%，母猪死亡率约10%，并且伴有共济失调、转圈和轻瘫等神经症状（Epperson和Holler，1997；Halbur和Bush，1997）。

大约一周后出现后期繁殖障碍并持续约4个月。在急性感染病例中也有部分感染母猪不表现出临床症状。通常，5-80%的母猪会在怀孕后的第100-118天产仔，所产仔猪中有不同数量的正常猪、弱小猪、新鲜死胎（分娩过程中死亡）、自溶死胎（褐色）和部分木乃伊胎儿或完全木乃伊胎儿。一般来说，死胎占一窝仔猪的0-100%，占整个产仔群中所产仔猪总数的7-35%。随着时间的发展，仔猪从主要为死胎和大的部分木乃伊化的胎儿变为小的较完全木乃伊化的胎儿、再到弱小胎儿、到正常大小和有活力的猪（Keffaber，1989；Loula，1991；White，1992a）。在一些猪场，大多数的异常仔猪为活产、早产、体弱和体小的猪，但少数为死胎（Gordon，1992）。母猪围产期的死亡率可达1-2%（Jong等，1991；Keffaber，1989）。耐过母猪在此后的发情延迟并且不孕率升高。

公猪 急性病例除厌食、精神沉郁和呼吸道症状外，还表现出性欲缺乏和不同程度的精液质量降低（de Jong等，1991；Feitsma等，1992；Prieto等，1994）。精液变化出现于病毒感染后的2-10周，表现为精子的运动能力降低和顶体缺乏，但是

尚不清楚是否会影响受孕率 (Lager等, 1996; Prieto等, 1996a,b; Swenson等, 1994b; Yaeger等, 1993)。但是公猪精液中的PRRSV会通过性交传染给母猪, 这一点是非常重要的(Swenson等, 1994b; Yaeger等, 1993)。

哺乳猪 在繁殖障碍末期的1-4个月, 早产弱胎的死亡率非常高 (约60%), 并且伴发沉郁、消瘦/饥饿、外翻腿姿势、呼吸急促、呼吸困难 (“喘鸣”) 和球结膜水肿。有时个别病例会出现振颤或划桨运动 (Keffaber, 1989; Loula, 1991)、前额轻微突起 (Gordon, 1992)、贫血、血小板减少并伴有脐部等部位的出血以及细菌性多发性关节炎和脑膜炎增加。(Hopper等, 1992; White, 1992a)。英国病例经常出现水样腹泻(Gordon, 1992; Hopper等, 1992; White, 1992a), 但在其他地方很少出现这种症状 (Keffaber, 1989; Leyk, 1991)。

断奶和生长猪 保育期或生长-肥育期的猪只发生急性PRRS后经常表现为厌食、精神沉郁、皮肤充血、呼吸加快和/或呼吸困难、不咳嗽、毛发凌乱、日增重不同程度的减少以至出现大小不等的猪只 (Moore, 1990; White, 1992b)。一些地方流行病比平时多发, 导致死亡率高达12-20%(Blaha, 1992; Keffaber等, 1992; Loula, 1991; Moore, 1990; Stevenson等, 1993; White, 1992a)。最经常报道的地方流行病包括链球菌性脑膜炎、败血性沙门氏菌病、革拉泽氏病、渗出性皮炎、疥癣和细菌性支气管肺炎。

猪群的地方性传播

猪群一旦发生PRRSV感染, 几乎全部会转变为地方性感染。在地方性感染的猪群中, PRRS经常表现为易感的保育猪或生长-肥育猪定期的或者偶然的典型急性PRRS暴发 (Keffaber等, 1992; Stevenson等, 1993)。易感的小母猪或者猪群中新引入的公猪在感染PRRSV时也会表现出临床症状 (Dee等, 1996; Dee和Joo, 1994b; Grosse-Beilage和Grosse-Beilage, 1992), 易感的母猪有时也会表现出临床症状。小母猪或公猪急性感染的临床症状与流行性暴发时相同。流行性PRRS的繁殖表现取决于被感染小母猪/母猪的数量和被感染时所处的繁育阶段, 两者对其繁殖表现影响都很大 (Torrison等, 1994)。如果感染的小母猪数量很少, 那么仅表现为散发性的流产、不规律性再发情、未受孕小母猪和后期繁殖障碍并伴有异常胎儿产出等典型的PRRS症状。只有在对每一产次进行评估后才能确认是否是散在性的 (White, 1992b)。另外一种情况是, 如果处于各孕期的敏感小母猪数量较少, 那么小母猪有可能不会感染PRRSV。在这种情况下, 猪群中地方

性PRRS流行的表现为小母猪（有时包括母猪的）定期暴发PRRS，其临床症状与大群暴发时相同，但规模较小（Dee和Joo，1994b）。

影响疾病严重程度的因素

PRRS的临床症状受许多因素的影响，目前还无法完全了解。这些影响因素包括毒株、免疫状态（在其他地方讨论）、宿主的敏感性、脂多糖（LPS）的暴露程度和并发感染。管理方面（猪的流动、畜舍的设计、温度调控等）可能也有影响，但是关于这方面的研究资料很少。

不同的PRRSV毒株在遗传性（Murtaugh等，1995）、抗原性（Nelson等，1993；Wensvoort等，1992）、导致呼吸道疾病和损伤的严重程度（Halbur等，1995b,1996a,b；van der Linden等，2003a）以及导致繁殖障碍的严重程度（Mengeling等，1996a,1998；Park等，1996）等方面均不同。毒株之间的特异毒力特征不明。与低毒力毒株相比，高毒力毒株能在肺脏和淋巴组织中产生更多的病毒抗原（Halbur等，1996a）、更高滴度的病毒血症并且病毒血症持续时间更长（Grebennikova等，2004；van der Linden等，2003a），同时肺部细胞能释放出更多的r-IFN（Thanawongnuwech等，2003）。

对纯种动物所进行的一些研究结果表明，不同品种的动物感染后疾病的严重程度也不相同。Halbur等（1998）报道不同品种猪只在肺损伤、肺部含有PRRSV抗原阳性细胞的数量、心肌炎和脑膜炎的发病率方面存在明显差异。Christopher-Hennings以及其他研究人员（2001）报道不同品种的感染公猪精液中PRRSV的存活时间也存在差异。

细菌脂多糖，又称内毒素，是细菌细胞壁的主要成分，在通风条件较差的畜舍中，尘土中脂多糖的含量较高（Zejda等，1994）。经气管给予已感染PRRSV的猪只LPS，同时设立仅感染PRRSV和仅给予LPS的对照，结果发现，试验猪只的临床呼吸道症状更为严重，这是由于给予LPS后IL-1、IL-6和 α -TNF的含量比对照猪只增高10-100倍所致，但是肺部损伤的外观和显微病变以及气管-肺泡冲洗液中的炎性细胞数量均与对照猪只相同（Labarque等，2002；van Gucht等，2003）。

猪只感染PRRSV后，对一些细菌和病毒性疾病的易感程度增加，并且可与某些细菌或者病毒病产生附加或协作效应从而导致出现更为严重的疾病，这种疾病比感染其中任何单一疾病都要严重。先天和后天感染PRRSV都可使猪只对猪链球菌性败血症的易感性增加（Feng等，2001；Galina等，1994）。研究结果表

明，作用机制可能是由病毒的自身复制、杀灭肺血管巨噬细胞（PIMS）和肺泡巨噬细胞（PAMS）以及病毒感染的PIMS和PAMS的吞噬作用和杀菌能力减弱（Thanawongnuwech等，1997b；1998a,b；2000a,b）引起的。这种机制使得急性感染PRRSV的猪只对其他细菌引起的败血症更易感，但是缺乏相关的试验证明。断奶仔猪感染PRRSV后对支气管炎博德特菌所引发的支气管肺炎的易感性增加（Brockmeier等，2000）。这可能是由于PRRSV感染PAMS进而导致其杀菌能力减弱引起的（Thanawongnuwech等，1997b）。感染霍乱沙门氏菌后PRRSV急性感染的病例增多，临床症状严重的病例增加（Wills等，2000）。猪只感染PRRSV后可使猪圆环病毒2型（PCV2）的复制明显加快，导致更为严重的PRRS病毒性肺炎和PCV2相关的多系统衰竭综合征并发（Allan等，2000；Harms等，2001）。虽然临床观察到PRRSV感染的猪只对胸膜肺炎放线杆菌、多杀性巴士杆菌和副猪嗜血杆菌所引起的疾病的敏感性增加，但是并未得到试验证实（Cooper等，1995；Pol等，1997；Segalés等，1999）。其他研究也表明PRRSV与某些细菌或者病毒之间存在着附加或增强作用。也就是说，两者并发会引起比任何单一疾病都更为严重的疾病。这些细菌或病毒包括肺炎支原体、猪呼吸道冠状病毒、猪流感病毒和Aujeszky's病毒（Shibata等，2003；Thacker等，1999；van Reeth等，1996,2001）。PRRSV和典型猪瘟病毒之间未发现有协同作用（Depner等，1999）。

病理变化

新生仔猪病变

新生仔猪感染毒力较强的PRRSV后，均会出现明显的间质性肺炎和淋巴结肿大的症状。这些病变提示可能感染了PRRSV，但是由于其他的病毒和细菌性疾病也能引起相似的病变，因此并不具有诊断意义。有时需要根据典型的显微病变进行大胆的假设性诊断。但是，必须检测到PRRSV才能确诊是感染了PRRS。

PRRSV感染后所有日龄的猪只都表现出相似的病理变化。由于毒株的毒力不同，因此其引起病变的严重程度和病变范围也就不同（Done和Paton，1995；Halbur等，1996b）。大部分研究病变的染毒试验均是用1-70日龄的哺乳猪或者断奶猪进行的（Collins等，1992；Dea等，1992c；Halbur等，1995b,1996a,b；Pol等，1991；Rossow等，1994a,1995）。从4DPI直到28DPI或者28DPI之后是大部分病毒的复制期，经常可以看到肺脏和淋巴结的外部或显微病变。此后，偶尔可在7-14DPI时在肾脏、脑、心脏以及其他病毒较少存在的地方观察到显微病变；但

经常在血管周围和血管内的巨噬细胞和内皮细胞中发现显微病变。也可在繁殖障碍母猪的子宫屏障和公猪的睾丸处发现显微病变。给小于13日龄或者13日龄的猪只染毒后，经常会出现该病所特有的病变，如在第6-23天时的眼周浮肿、11-14天时的阴囊肿大、2-7天时的皮下水肿等（Rossow等，1994a，1995）。

从3DPI直到28DPI或者28DPI之后，肺脏会出现间质性肺炎，在10-14DPI时最为严重。轻微病变为肺脏质地坚硬或者弥散性的质地坚实。被感染的软组织有弹性、质地稍坚硬、不塌陷、灰黑色带有斑点并湿润。严重病变为弥漫性分布，软组织上有斑点或者呈现红黑色、不塌陷、质地坚实、橡胶状并且非常湿润。在显微镜下，由于充斥着巨噬细胞、淋巴细胞和浆细胞，可能还有增生的II型肺成纤维细胞，从而使得肺泡壁扩张。肺泡中可能有坏死的巨噬细胞、细胞碎片和浆液。淋巴细胞和浆细胞在呼吸道和血管的周围形成花边样结构。在为数不多的有关细胞增生和颤毛突起缺失的支气管上皮细胞研究资料中提到了PRRSV抗原

（Done和Paton，1995；Pol等，1991）。在PRRS的实际感染病例，特别是哺育猪和生长/育成猪病例中，PRRS的肺部病变通常比较复杂，或者是与并发的细菌和/或病毒性疾病的病变混在一起而难以分辨。

感染后4-28DPI或者更长时间淋巴结会出现病理变化（Dea等，1992c；Halbur等，1995b；Rossow等，1994a,b,1995）。大部分感染病猪体内的许多淋巴结通常会增大2-10倍。染毒早期，增大的淋巴结常为半透明、棕褐色、硬度中等。此后，淋巴结变硬、颜色变为白色或者稍带棕褐色。偶尔可发现多个充满液体、直径为2-5mm的皮质囊肿。显微病变主要在生发中心。感染早期，生发中心坏死并消失。此后，生发中心变得非常大并呈爆炸形，由淋巴细胞组成。皮质部分可能含有小囊，其间含有数量不等的内皮细胞以及蛋白液、淋巴细胞和多核原核细胞（Rossow等，1994b,1995）。显微检查发现，在胸腺、脾脏的小动脉外周淋巴鞘以及扁桃体和Peyer's淋巴集结的淋巴滤泡中有轻度的淋巴坏死、消失和/或增生（Halbur等，1995b；Pol等，1991）。

在9DPI或者大于9DPI时在心脏中可能会出现轻度至中度的多灶性淋巴组织脉管炎和血管周心肌炎（Halbur等，1995a,1995b；Rossow等，1994a,1995）。偶尔可见轻度的心肌纤维坏死和purkinje纤维的淋巴细胞卷边（Rossow等，1995）。

在7DPI或者大于7DPI时在小脑、大脑和/或脑干中可能会出现轻度的淋巴组织白质脑炎或脑炎（Collins等，1992；Halbur等，1996b；Rossow等，1995；

Thanawongnuwech等, 1997a)。可出现淋巴细胞和巨嗜细胞形成的部分血管卷边以及多灶性神经胶质过多症。在一个出现神经症状的PRRS临床病例中也出现了坏死性的脉管炎 (Thanawongnuwech等, 1997a)。

在14-42DPI时, 肾脏偶尔会出现轻度的肾小球周围和肾小管周围淋巴组织细胞聚积 (Cooper等, 1997; Rossow等, 1995)。Cooper和其他人也报道了一些严重程度不等的局部脉管炎, 其中以骨盆脉管炎和骨髓脉管炎最为严重。受感染血管内皮肿胀、内皮下蛋白液聚积、纤维蛋白中间坏死、内部和外周淋巴细胞和巨噬细胞聚积。

染毒后12h, 鼻粘膜上皮纤毛丛生或缺乏、上皮细胞肿胀、缺少或鳞状化 (Collis等, 1992; Halbur等, 1996b; Pol等, 1991; Rossow等, 1995)。至7DPI, 上皮和粘膜下固有层出现淋巴细胞和巨嗜细胞。

显微病变经常出现于自然或者试验感染PRRS的怀孕母猪子宫内 (christianson等, 1992; Lager和Halbur, 1996; Stockhofe-Zurwieden等, 1993)。子宫肌层和子宫内膜为半透明, 淋巴组织外周血管卷曲。偶尔在子宫内膜上皮和胚胎滋养层之间的小血管和微孔间隙中会出现局灶性的淋巴组织脉管炎, 其中含有嗜曙红细胞的蛋白液和细胞碎片。

5-6月龄的公猪感染后的7-25天PI, 其输精管出现萎缩 (Sur等, 1997)。输精管的生发细胞中含有PRRSV抗原和核酸, 出现含有2-15个核的巨细胞以及精子的凋亡, 有时甚至根本没有精子产生。

胎儿病变

如果怀孕母猪在怀孕后的100天或100天之后、正常产仔期之前产下一窝如下症状的仔猪: 外观正常的仔猪、体型较小的仔猪或者体型正常但较弱的仔猪、已经死亡的各种自溶仔猪和木乃伊仔猪的话, 就应该怀疑为猪的PRRS繁殖障碍。对胎儿和已经死亡胎儿进行病理剖检, 很难见到病变。但是没有病变并不能排除PRRS。

PRRSV感染的一窝仔猪可能包括不同数量正常仔猪、体型较小的弱仔猪、出生时刚刚死亡的仔猪 (分娩时死亡的)、已经死亡的自溶仔猪 (分娩前在子宫内已经死亡的)、部分或者完全木乃伊化的胎儿。通常, 死亡胎儿外部包有一层厚厚的胎粪和羊水的褐色混合物; 经常出现的这一症状表明胎儿受到了压迫并且发生了缺氧症或者仅发生了缺氧症 (Lager和Halbur, 1996; Stockhofe-Zurwieden等,

1993)。胎儿的大部分病变为非特异性的，这是由于子宫内的自溶胎儿均为无菌性的。

PRRSV特异的整体或者显微病变很少见而且表现也不尽相同。在胎儿或者子宫内自溶的胎儿身体中最容易观察到整体或显微病变(Bøtner等, 1994; Collins等, 1992; Done和Paton, 1995)。出生时活胎或者出生几天后死亡的胎儿体内更容易观察到病理变化。胎儿的整体病变包括肾周肿胀、脾脏韧带变粗、肠系膜水肿、胸腔积水和腹水(Dea等, 1992c; Lager和Halbur, 1996; Plana Duran等, 1992b)。显微病变较轻且为非化脓性的，如肺脏、心脏和肾脏的局部动脉炎和动脉周炎(Lager和Halbur, 1996; Rossow等, 1996b)、多部位的间质性肺炎有时伴有II型肺成纤维细胞增生(Plana Duran等, 1992b; Sur等, 1996)、轻度的门静脉周肝炎(Lager和Halbur, 1996)、伴有心肌纤维缺失的心肌炎(Lager和Halbur, 1996; Rossow等, 1996b)以及多位点的白质脑炎(Rossow等, 1996b)。

一个特殊并且具有诊断意义的区别性病变是脐带部位的出血面积为正常由坏死性化脓和淋巴组织细胞脉管炎引起的出血面积的三倍(Lager和Halbur, 1996)。

免疫性

由于我们对PRRS的免疫特性不完全了解，因此难以用活疫苗或者灭活疫苗来稳定可靠的控制PRRS。而且我们也严重缺乏PRRS感染方面的免疫知识，包括对抗体和细胞毒性T淋巴细胞介导的关键免疫靶位、调节诱导和成熟免疫反应的分子和细胞机制、PRRSV对免疫保护的遗传多样性后果以及猪群对PRRSV免疫耐受的宿主遗传差异等方面的知识。

接种弱毒疫苗后，猪只对PRRSV的免疫反应起始于感染巨噬细胞细胞浆的抗病毒反应。干扰素(IFN)和炎性细胞因子的反应较弱(Albina等, 1998; Buddaert等, 1998; van Reeth等, 1999)。IFN- α 能够抑制PRRSV的复制，反过来IFN- α 的含量降低说明PRRSV的复制增强。虽然TGEV能够诱导IFN- α 的产生，但是当PRRSV与TGEV并发感染时，PRRSV也能抑制IFN- α 的产生。这种较弱的先天性反应可能与抗原特异免疫反应的启动与发展有关。此外，PRRSV对先天性抗病毒免疫的抑制可能会增加二次感染的发生机率。

体液免疫反应

感染后5-7天血清中出现PRRSV特异的IgM抗体，2-3周后抗体水平降至检测线度以下。感染后7-10天出现PRRSV特异的IgG抗体，最高值出现在感染后的第4

周，此后稳定几个月，然后抗体水平降低，在300天时降至较低水平。

支气管肺泡液中PRRSV抗体动力学的同形像统计图与血清中的相似，这表明这些抗体能够从脉管系统中溢出。BAL抗体可能有助于肺部PRRSV的清出，但是并不能完全的清除病毒。

感染后3周左右，血清中出现病毒中和抗体（VN）并以较低的水平持续存在很长时间。不同猪只VN抗体的反应差别很大，这些差别表现在有的猪只不会产生中和抗体、中和抗体的动力学方面存在差异以及抗体的滴度不同等方面

（Loemba等，1996；Nelson等，1994；Yoon等，1995B）。中和抗体主要是针对糖蛋白GP4和GP5以及基质（M）蛋白产生的。GP5外侧的线性抗原决定簇是抗体的靶位点，但是其中和抗体特异的氨基酸序列尚未确定（Ostrowski等，2002；Pirzadeh和Dea，1997；Plagemann等，2002；Wissink等，2003b）。

复制酶复合物的非结构蛋白(nsp)，特别是nsp2多肽也能刺激机体产生抗体（Oleksiewicz等，2001）。这些抗体可能具有疾病诊断意义，而且非结构蛋白也是T细胞反应的重要靶位。

由于中和抗体能够从体循环中清出病毒，因此一般认为体液免疫在抵抗再次感染以及预防或减少病毒在动物之间的传播方面起着重要作用。但是，对中和抗体和血液中PRRSV的实时检测结果表明中和抗体在阻止感染方面的作用机制可能比较复杂（Loemba等，1996；Molitor等，1997）。既然在存在VN抗体的情况下仍然会发生病毒血症，因此通常针对PRRSV的中和抗体量较少不足以控制病毒的复制，有时可能起不到保护作用（Yoon等，1996）。

肺脏和血清中中和抗体的动力学与其中的病毒含量有关，但是其相关性却不明显。感染后7-9天肺脏中的病毒含量最高，而血清中的病毒含量峰值则出现在感染后的第4天（Labarque等，2000；Greiner等，2000；Samaom等，2000），此后两周才出现VN抗体。因此，中和抗体在PRRSV的适应性免疫反应中起着次要作用。

细胞免疫反应

肺脏中PRRSV的滴度在7-9DPI时最高，第20天时降至几乎检测不到，但是此后的一段时间仍然能够从肺液中分离到PRRSV。在PRRSV含量较高以及此后的下降期间，肺部CD8⁺T淋巴细胞的数量要么保持较低的水平并保持稳定，要么急剧增加（Labarque等，2000；Samsom等，2000）。感染后2-8周PRRSV特异的T细

胞数量出现暂时性的增加（Bautista和Molitor, 1997; Lopez Fuerts等, 1999; Xiao等, 2004）。研究人员已经对所有病毒蛋白（包括ORF2、4、5、6和7的产物）的T细胞反应进行了检测（Bautista等, 1999）。循环中的T细胞包括PRRSV特异的CD4+CD8+记忆细胞或CD8+ $\gamma\delta$ +以及CD4+自然杀伤细胞（Lopez Fuertes等, 1999）。

T细胞对PRRSV的反应具有高度的可变性，并且持续时间较短，在病毒峰值后或无病毒血症期间的反应程度不一，有时为无反应，有时则为高度反应（Xiao等, 2004）。Xiao等（2004）发现在猪急性和持续感染期间病毒特异的T细胞数量具有高度的可变性，而且与病毒的数量没有相关性。除了猪急性和持续感染期间扁桃体中抗原特异的T细胞数量非常少以外，其他次级淋巴组织中抗原特异性T细胞的数量并没有明显差异。组织中含有PRRSV的巨噬细胞数量不同且与相应组织中的病毒含量并不成比例。T细胞反应变弱可能有助于PRRSV的长期感染而且PRRSV会抑制T细胞对感染性巨噬细胞的识别。Meier等（2003）也发现T细胞对PRRSV的初次反应弱而短暂，但是感染后1-2年其反应就逐步增强。

保护性免疫反应

PRRSV能在淋巴组织中持续存在数周或数月（Chang等, 2002; Horter等, 2002; Will等, 1997c）。尽管肺脏和淋巴结中存在中和抗体和细胞介导的免疫反应，但是PRRSV仍旧持续存在说明其他因素（如巨噬细胞对PRRSV感染的默许和先天性的免疫）可能在控制PRRSV的感染方面起着重要作用。PRRSV普遍存在的遗传和抗原变异以及在农场或产品链系统循环中的多种病毒基因型对体液和细胞免疫反应的影响不明。

但是，感染后或接种PRRSV活苗的猪只再次暴露于同一病毒时却不会出现繁殖障碍（Lager等, 1997b）。猪只暴露于PRRSV后建立了某种形式的免疫记忆从而抑制或限制了二次感染的发生。保护力可能不一致；Foss等(2002) 经过两次独立检测发现猪只疫苗免疫后根本检测不到PRRSV，而且也未发现特异抗体的变化。免疫猪只再次感染异源PRRSV毒株后也可能会获得免疫力不等的保护（Lager等, 2003; Mengeling等, 1999b, 2003a,b）。

中和抗体或者细胞毒性T细胞对于免疫保护是否必要甚至在自然再感染条件下是否起着关键性的作用，这一点尚不明了。很有可能对PRRSV的保护主要是由获得性免疫之外的一些因素在起作用，这些因素包括巨噬细胞对于感染默许的

改变等。导致乳酸脱氢酶升高的病毒以及小鼠的动脉炎病毒都会刺激动物体产生无效的中和抗体和细胞毒性T细胞，但是主要由感染巨噬细胞数量的减少来控制（Plagemann和Moennig，1992）。对于猪来说，在获得有效的适应性免疫反应以及98%以上的巨噬细胞未被感染以前，其肺脏中的感染就已经开始减轻了（Duan等，1997b）。对PRRSV的主要防控措施是消除感染的巨噬细胞，这就说明中和抗体和T细胞反应是次要的，并且更有可能在病毒的最终消除方面起一定的作用。

交叉保护

由于PRRSV在不断的变异，因此疫苗株总是与当前的田间分离株不同。这样，对不同分离株的交叉保护作用在疫苗接种等疾病预防方面就起着关键性的作用。

试验结果表明母猪接种疫苗后，总是对于相同毒株的再次感染所引起的繁殖障碍具有高水平的保护（lager 等，1997a,1999；Mengeling 等，1999b）。减毒活疫苗对于减轻疾病、减少病毒血症时间、减少排毒时间和同源PRRSV病毒的再次感染方面也有一定的作用（Dhristopher-Hennings等，1997；Dee和Molitor，1998；Leager等，1999,2003；Mavromatis等，1999；Mengeling等，1999b,2003a,b；Nielsen和Bøtner，1997；van Woensel等，1998）。但是，对慢性、地方性PRRS以及免疫失败的短暂临床观察结果表明疫苗对不同PRRSV分离株的免疫保护作用不同。

母体免疫

目前尚没有母体免疫对仔猪PRRSV感染敏感性作用的专门研究报道，但是间接的推论表明免疫后的母猪能够使仔猪获得免疫保护作用。初乳中抗PRRSV抗体的水平与血液中相同（Albina 等，1994；Chung等，1997；Houben等，1995；Melnichouk等，2005）。母体免疫持续时间较短。在对加拿大7个商业化养猪场的研究中，Melnichouk等（2005）发现有12-44%的3周龄仔猪体内有母源抗体，而仅有2-16%的5周龄仔猪体内含有母源抗体。对于母猪来说，早期免疫并不能阻止病毒经胎盘的感染（Lager等，2003）以及中和抗体的产生，特别是在免疫水平较低的情况下，有可能会产生抗体依赖性增强（ADE）的PRRSV感染（Yoon等，1996）。目前，母体免疫对于仔猪PRRS的保护作用尚不明了。

诊断

要根据主观（历史、临床症状、眼观和显微病变）和客观（猪群的繁殖记录、病毒的检测结果以及血清学结果）两方面的资料来诊断猪只是否感染了PRRSV

（Benfield等，1999）。表24.1概述了各种诊断分析方法及其用途。

如果猪群中母猪出现繁殖障碍同时其他猪只发生呼吸道症状即可怀疑为PRRS感染。通常能够在临床PRRS猪群的繁殖记录上发现如下症状：流产、早产、死胎、断奶前死亡率增加以及非生产时间延长等。鉴别诊断包括细小病毒、伪狂犬病病毒、血凝性脑脊髓炎病毒、猪圆环病毒2型、肠道病毒、猪流感病毒、典型猪瘟病毒、细胞巨化病毒感染以及细螺旋体病（Halbur, 2003）。细菌以及其他病毒的并发感染也使得疾病的鉴别诊断变得更加困难（Halbur, 2003; Zeman, 1996）。因此，确诊需要对感染猪体内的PRRSV或者相应的抗体进行检测。

病理评价

PRRSV没有特征性的总体或者显微病变，流产胎儿或者死胎基本无助于疾病的诊断。所有日龄的感染猪只均可观察到间质性肺炎和淋巴结肿大的整体病变（Lager 和Halbur, 1996; Stevenson等, 1993）。间质性肺炎是主要的显微病变。病毒在肺泡巨噬细胞、淋巴组织生发中心的巨噬细胞和树枝状细胞、血管内皮细胞以及心脏、脑、肾脏和其他组织的血管内和血管周巨噬细胞中复制（Halbur等, 1995; Rossow等, 1996; Thanawongnuwech等, 1997b）。可用10%的中性缓冲甲醛固定肺脏、淋巴结、心脏、胸腺、脾脏和肾脏，然后转送至诊断试验室进行显微评价和免疫组织化学（IHC）分析。IHC和组织病理学技术相结合可直接观察到细胞质中显微病变内部或者临近部位的PRRSV病原（Halbur等, 1994; Magar等, 1993）。需要对固定48h内的组织进行处理以避免PRRSV抗原的降解以及IHC阳性细胞的损失

表 24.1. PRRSV 诊断分析的应用概述

分析	敏感性	特异性	感染不同时期（感染的天数（DPI））的分析样本				
			子宫内感染	1-28 DPI	30-90 DPI	90-300 DPI	检测的最长时限（DPI）
VI	中	高	采集活猪的样品。死胎或者木乃伊猪的样品诊断价值有限。参考急性感染（1-28DPI）所需要的组织样品。脐带和脐带血也可以作为样品。	血清、肺脏、扁桃体、淋巴结、肺脏冲洗液、心脏、肾脏、脾脏、胸腺	扁桃体、口腔拭子、血清、肺脏冲洗液	扁桃体、口腔拭子。分离成功的可能性很小至极低。	28-35DPI 时血清和大部分组织样品的检测结果为阳性。少数猪的淋巴组织样品直至 157DPI 时仍为阳性。
FA	中	与测试所用的 PRRSV 毒株有关	活猪的肺脏组织	肺脏或者肺脏冲洗液中的巨噬细胞	肺脏冲洗液或者肺脏冲洗液中巨噬细胞的直接培养物	无推荐的组织样品	4-14DPI
IHC	中	高	活猪的大部分组织	同 VI	30-70 DPI 时淋巴组织的诊断价值不大	无推荐的组织样品	4-14DPI
PCR	高	高	死胎的胸腔积液及组织	同 VI	扁桃体、、口腔拭子、肺脏冲洗液样	扁桃体、口腔拭子和淋巴结。	报道称可检测至 257DPI。

			活猪的大部分组织作为样品。		品的诊断价值较高	成功率较低。	
ELISA	高	高	可检测脐带血中的抗体。	血清	血清	血清	变化范围较大，从 9-13 DPI 至感染后的至少 10 个月。
IFA	高	与测试所用的 PRRSV 毒株有关	可检测脐带血中的抗体。	血清	血清	血清	变化范围从 9-14 DPI 至感染后的至少 5 个月
VN	低	与测试所用的 PRRSV 毒株有关	无法检测死胎或活猪样品	血清	血清	血清	变化范围从 9-28 DPI，通常为 28-46DPI 直至感染后的 12 个月左右。

VI=病毒分离; FA=冷冻样品的荧光抗体; IHC=福尔马林固定组织的免疫组化分析; PCR=反转录聚合酶链式反应; ELISA= HerdChek 2XR PRRS ELISA, IDEXX 实验室, Westbrook, Maine; IFA=间接荧光抗体; VN=血清-病毒中和分析。表中的内容参考原文中的“诊断”部分。

（Van Alstine等，2002）。急性感染期（4-14DPI）最容易观察到病理变化和病毒抗原，此时组织中的病毒滴度较高并且足以对感染细胞质中的病毒抗原进行定量分析。

实验室确诊

正确选择样品并进行处理是PRRSV或者抗体检测的第一步。进行病毒分离和病毒RNA检测的样品必须在采集后立即冷藏（4℃）保存（冷冻保存可能会使病毒RNA降解）并在2日内运送至诊断实验室（Yoon等，2003）。热可使病毒RNA降解，病毒稳定存活的pH范围也较窄。因此，必须避免由细菌污染所引起的pH改变，即样品要保持无菌状态并运送新鲜的组织样品至实验室（Benfield等，1992,1999；Bloemraad等，1994；Van Alstine等，1993）。一般来说，日龄较小的猪体内RRSV含量高而且持续时间长。扁桃体和淋巴结中病毒的存活时间要比血清、肺脏和其他组织中长。在疾病的急性感染期病毒在大部分组织中复制，在4-7DPI时达到峰值，随后下降，至28-35 DPI即检测不出。哺乳、断奶和生长猪的病毒血症存在于28-42DPI（Mengeling等，1996c），而母猪和公猪的病毒血症则出现于7-14DPI（Christopher-Hennings等，1995；Mengeling等，1996c）。病毒血症消失后的几周内仍能从肺脏冲洗液、扁桃体和淋巴结中检测到感染性的病毒和病毒RNA（Benfield等，1999；Horter等，2002；Mengeling等，1995；Rowland等，2003；Wills等，2003）。

病毒分离（VI）

可以用猪肺泡巨噬细胞（PAMs）或者非洲猴肾细胞MA-104的细胞亚系（CL-2621，MARC-145）进行病毒分离（Benfield等，1992；Kim等，1993）。感染病毒检测的金标准是对从这些细胞系中分离的病毒进行荧光抗体（FA）或者IHC染色以检测病毒抗原。根据临床样本中病毒的数量不同，接种培养后病毒数量多的1天内即可观察到结果，但是病毒数量少的需要几周才能得到结果。据报道，对于VI来说，PAMs比MARC-145更容易分离到病毒，可能是在抗体存在的情况下PAMs细胞上的Fc受体增强了PRRSV病毒分离的成功机率（Yoon等，2003）。由于减毒活疫苗中的病毒已经适应了MARC-145细胞系，因此在使用该细胞系分离病毒时也可能由于疫苗中病毒的存在而出现与实际不符的结果（Benfield等，1999；Yoon等，2003）。并非所有的PRRSV均能在所有的细胞上生长（Bautista等，1993），因此在可能的情况下至少要用两种细胞进行VI（Yoondeng，2003）。使用PAMs可以成功的分

离大多数的欧洲株PRRSV（Christopher-Hennings等，2002；Wensvoort等，1991）。

从感染活猪或者尸体采集的肺部冲洗液直接用PAMs培养后即可进行VI、FA和PCR以检测病毒（Mengeling等，1995）。

对PRRSV检测的最敏感方法是猪的生物测定法。在该分析中，将怀疑含有PRRSV的样品进行均质，然后将均质物注射给一头小猪。通过检测该小猪（生物测定猪）的血清转化或者病毒的复制进而确证样品中PRRSV的存在（Horter等，2002；Swenson等，1994a,b）。在4-28DPI时采集血清、肺脏、淋巴结和扁桃体进行病毒分离是最容易分离成功的。对于晚期流产和早期产仔的猪来说，采集活仔猪的相应组织进行病毒分离最好，因为木乃伊仔猪或者死胎由于组织的自溶几乎不会出现VI阳性结果。对于持续感染的猪只来说，扁桃体、口腔拭子和淋巴结比血清和肺脏更适宜作为样品。在实验条件下，在130和157DPI时可分别从扁桃体和口腔拭子中分离到病毒（Rowlang等，2003；Wills等，2003）。

病毒抗原的检测

用福尔马林固定组织后进行免疫组化分析（IHC）（Halbur等，1994；Magar等，1993；VanAlstine等，2002）或者检测冷冻组织中的荧光抗体（FA）（Benfield等，1992）均可以作为检测病毒抗原的方法。肺脏、心脏、肾脏、淋巴结、脾脏、胸腺和扁桃体都可用做IHC分析的样品，而FA检测则主要用肺脏（Halbur等，1996a；Rossow等，1999）。两种分析方法都要用到SDOW17或者SR30单克隆抗体中的一种或者两种（Nelson等，1993；Yoon等，1995a）来检测感染细胞细胞质中的病毒核酸抗原。两种方法比较来看，IHC方法比FA方法敏感并且可以用福尔马林固定的组织进行检测。而FA方法更快速经济，但是需要新鲜的组织样品。两种方法的检测结果都受操作技术的影响，因此诊断实验室通常用VI或者PCR方法来进一步确证IHC和FA检测结果为阳性的样品。最好在病毒复制高峰期（4-7DPI）进行病毒抗原的检测。

病毒核酸的检测

用PCR方法可以检测出组织均质物、血清、精液、口腔拭子和肺部冲洗液中的病毒核酸。PCR分析方法具有高度的敏感性和特异性（Benson等，2002；Horter等，2002）。VI方法能够扩增感染性的病毒粒子，PCR分析方法是用逆转录酶将病毒的RNA逆转录为DNA，然后再对DNA进行指数倍扩增至可检测的水平。与VI、IHC和

FA方法相比，PCR分析方法具有以下优点：（1）更高的敏感性和特异性；（2）不管是急性感染还是持续感染均能检测出病毒的RNA；（3）可以检测自溶胎儿以及对细胞培养物具有毒性的样品如精液和粪便中的病毒RNA；（4）检测周期短，与其他检测方法几天至几周的时间相比，PCR方法仅在1-3天内即可得出结果；（5）PCR产物可用于测序，从而扩展了该方法的诊断应用价值。PCR方法主要的缺点是不能区分感染性和非感染性的病毒。但是，经过对精液和口腔拭子进行PCR分析和感染性病毒的生物测定，结果表明PCR结果为阳性而生物测定结果也为阳性的比例分别为94%和81%（Christopher-Hennings等，1995b；Horter等，2002）。

在一个实验室内PCR方法的检测结果是一致的，有时在不同实验室之间的结果也是一致的。由于不同诊断实验室之间的PCR分析方法不同，即用于扩增和检测病毒基因组的方法不同而导致不同实验室之间的检测结果不尽一致

（Christopher-Hennings等，2002；Kleiboeker等，2002）。套式PCR方法与传统的VI方法同样敏感，但是要求较严格的实验条件以避免出现假阳性结果。PCR分析方法正处于不断的变化和改进过程中。近来已经发展出几种自动的PCR方法，其假阳性率进一步降低，更加适于多个样品的筛选并且比套式PCR经济。PCR测试的靶位均为ORF6和ORF7，即不同PRRSV毒株间最为稳定的核酸序列。如果要监控猪群的病毒进化方向，那么就要选择ORF5作为靶基因序列。近来，已经发展出一种实时PCR分析方法，是用PRRSV基因组3'UTR序列来设计引物从而检测精液和血清中PRRSV核酸的商业化方法。一旦获准用于诊断，那么就会出现一种标准的PCR分析方法（Wasilk等，2004）。

在急性感染中，推荐用VI的血清和组织样品也进行PCR的诊断分析。在持续感染病例中，用口腔拭子进行PCR分析是最为敏感的PRRSV检测方法（Horter等，2002）。应用PCR方法能够检测出PRRSV核酸的持续时间随样品的不同而不同，86DPI的淋巴结中（Bierk等，2001）、92DPI的精液中（Christopher-Hennings等，1995）、105DPI的口腔拭子中（Horer等，2002）、251DPI的血清和扁桃体均质物中仍能检测出病毒核酸。

测序

为了避免细胞培养过程中的选择、变异或者核酸的改变所引起的可能偏差，通

常直接用诊断样品的PCR产物对ORF5和ORF6进行测序。ORF5基因序列具有高度的可变性并且有扩展的数据库序列可用于比较。ORF6具有高度的保守性，可以作为测序的对照。测序最好用于表明猪群内部随时间不同其毒株的相关性。计算机程序可比较所有可能序列组合并绘制出系统发生树。系统发生树可以象家族谱一样表明基因序列之间的相似性。这种分析适用于：

- 1.决定一个农场中再次发生的PRRS是以前已经存在毒株的再次感染还是一种新毒株的首次感染。
- 2.决定农场中PRRS的暴发是由病毒的单克隆还是多克隆引起的。
- 3.追踪病毒是如何进入猪群的。
- 4.监控猪群内或者猪群间PRRSV的传播。
- 5.区别疫苗株和临床感染株病毒（Christopher-Hennings等，2002；Roberts，2001,2003a）。

限制性片段长度多态性

测序之前，先进行ORF5的限制性片段长度多态性（RFLP）分析以区别PRRSV减毒活疫苗株和其他北美田间分离株。用三种限制性内切酶对ORF5的PCR产物进行消化。这三种酶能够切断含有特定核酸序列的核酸链；因此具有同种限制性酶切位点和相似核酸序列的病毒具有同样的RFLP方式。每次消化后都能在特定的三位密码子处进行酶切（Umthun和Mengeling，1999；Wesley等，1998）。现在可以用计算机产生的ORF5序列的消化模式进行RFLP分析。实验表明RFLP分析并不能反映不同分离株之间的相似性或差异性。事实上，许多遗传方面并不相似的PRRSV分离株却表现出同样的RFLP模式。以前常用RFLP结果来判定猪群是否感染了新的PRRSV毒株、监控分离株的传播以及用于与田间分离株进行区别（Christopher-Hennings等，2002）。现在RFLP的大多数应用已经被测序和系统发生分析方法所取代（Roberts，2003a）。

血清学

由于血清容易大量采集，便于多次分析且易于贮存可作为将来诊断的参照，因此许多实验人员仍旧热衷于采用血清学诊断方法。用急性感染期和恢复期的血清样品进行血清转化（阴性转化为阳性）实验是诊断PRRSV感染的最为可靠的血清学方法。感染猪群中FA检测结果如果出现PRRSV特异的抗体滴度增高或者ELISA S/P比

例升高都表明感染了PRRSV。

由于血清学分析不能区分所检测出来的抗体是由于初次感染、再次感染还是疫苗免疫所产生的，因此血清学诊断方法不能有效的确定感染源。由于PRRSV的高流行性，因此单个血清样品用处有限。单个的血清学阳性结果不能说明PRRSV感染的因果关系。哺育仔猪和断奶仔猪体内检测到的抗体可能是由于母源抗体所引起的，通常仔猪在3-5周龄时体内仍然存在母源抗体（Melnichouk等，2005）。

共有五种检测PRRSV抗体的血清学方法：间接荧光抗体（IFA）、ELISA、阻断ELISA、血清-病毒中和（VN）反应和免疫过氧化物酶单层分析（IPMA）。有关这些分析方法的正确应用、理解及其局限性在其他文献中已有所描述（Christopher-Hennings等，2002；Yoon等，2003）。

用IFA方法可分别在5DPI和9-14DPI时检测到IgM和IgG抗体（Joo等，1997；Zhou等，2002）。IgM抗体可持续存在至21-28DPI，而IgG抗体的峰值出现于30-50DPI并且感染后的3-5个月内仍可检测出来。IFA方法的敏感性受检测人员的技术水平以及该方法所用的PRRSV毒株与实际导致猪场抗体产生的毒株之间的不同所影响。IFA检测结果表明PRRSV的北美分离株和欧洲株之间没有或者几乎不存在交叉反应（Christopher-Hennings等，2002）。IFA分析方法通常用于对可疑的阳性ELISA检测结果进行确证。

商业化ELISA试剂盒（HerdChek®2XRPRSEELISA，IDEXX实验室，Westbrook，Maine）是PRRSV抗体检测的“金标准”。该方法敏感、特异、标准并且快速。测试的靶抗体是公认的由PRRSV的北美分离株或欧洲株的核衣壳抗原所产生的。在9DPI时即可检测到抗体，峰值出现于30-50DPI，感染后4-12个月抗体检测结果变为阴性。根据ELISA检测结果的不同分别定义为阳性（S/P \geq 0.4）和阴性（S/P $<$ 0.4）。许多实验人员试图根据ELISA S/P比例来判定动物处于敏感期、感染期还是免疫耐受期。但是，由于每头猪的ELISA检测结果都不一致，因此有可能得出不甚合理的解释（Roberts，2003a）。

对某个地方即时采集的样品进行ELISA检测，其所检测出的阴性和阳性结果却很难以准确解释。ELISA检测结果为阴性的样品可能有以下几种解释：

1. 猪只未受感染。

- 2.猪只近来受到了感染但还没出现血清转化。
- 3.猪只受到了持续感染，并且已经变为了血清阴性。
- 4.猪只已经清除了感染并转为血清阴性。
- 5.由于测试方法的敏感性较低因此未检测出猪只已经受到了感染(Roberts, 2003a; Yoon等, 2003)。

猪只ELISA检测的阴性结果可能是由于猪只受到了持续的感染，确证可检测病毒或者检测扁桃体或口腔拭子中的病毒或病毒RNA(Dee等, 2004a; Horter等, 2002; Kleiboeker等, 2002)。

ELISA检测的假阳性(ELISA检测结果为阳性，实际为阴性)率为0.5-2.0%(Ferrin等, 2004; Keay等, 2002; O'Connor等, 2002; Torremorell等, 2002a)。如果怀疑ELISA结果为假阳性，可用IFA和阻断ELISA进一步确认。阻断ELISA方法与商业化的ELISA和IFA方法具有同样的敏感性和特异性(Ferrin等, 2004)。

血清-病毒中和(VN)分析可以检测能够中和细胞培养物中恒量PRRSV的抗体。该分析方法具有高度的特异性，但是抗体在感染后1-2月才会产生；因此这种分析方法不如IFA和ELISA方法敏感(Benfield等, 1992)。所测试的抗体经常在60-90DPI达到峰值并且持续存在1年左右。当用同一种病毒进行IFA分析时，其VN反应是最剧烈的。由于目前还未开发出标准化的实验室VN测试方法，因此VN方法只能用于研究还不能做为诊断测试方法。

诊断分析技术在猪群监控中的应用

通常的猪群监控措施是：先用ELISA和PCR方法进行筛选，然后用阻断ELISA对可疑的假阳性结果进行确认(Dufresne等, 2003)。有关猪群监控的问题比较复杂，其他文献也有很多这方面的讨论(Dee, 2004; Dufresne等, 2003; Roberts, 2003a,b)。

预防和控制

预防

预防PRRSV的目的是阻止PRRSV进入未感染过的猪群或者阻止新的PRRSV毒株进入已感染其他毒株的猪群(Dee等, 2001)。人们一直认为患病动物和精液是PRRSV的主要感染来源，但是现在也已经发现了其他的重要感染途径(Desrosiers, 2004)。Torremorell等(2004)发现在美国商业养猪场中多于80%的新感染都不是由

病猪或者精液传播的，而是由临近的感染猪群、用运输过感染猪群的交通工具来运输未感染猪群、未执行生物安全程序而传播的或者有可能是由昆虫传播的。

理想条件下，生物安全首先应从在隔离区建立产品单元开始，尽管猪群所处的地理位置不同，在生物安全方面都应当特别强调猪群的引进和输出等程序问题，例如猪、物料和原材料、饲料、饮水、人员、粪便的清除和回收等。由于PRRSV在潮湿、寒冷的环境中容易存活（Dee等，2002），因此农场中使用的所有设备和材料以及运输工具都要洗净晾干（Deedeng，2004b,c）。所有的圈舍都要有防止啮齿动物、鸟和昆虫进入的措施。

引种进入PRRSV阴性猪群之前要用常规的测试程序来确定拟引进的种猪为PRRSV阴性猪。此外，所有拟引入的种猪都要在隔离/检疫圈舍中隔离30天以上并经测试为PRRSV阴性之后方可引入正常种猪群。

人工授精的精液应当来自PRRSV阴性种公猪。种公猪要定期监控是否感染了PRRSV。为了做到早发现感染，推荐在使用之前用种公猪的血清或精液进行PCR分析。虽然PCR能够检测到早期感染（Christopher-Hennings等，1995b；Wasilk等，2004），但是如果种猪发生了PRRSV感染，PCR并不能完全阻止PRRSV通过精液的传播。

控制

PRRS尚无特异疗法。因此，控制PRRS的目的是限制病毒在生产各环节的传播。即便如此，恒定不变的PRRS控制措施也是不可行的。

PRRSV在感染猪群中的地域性循环是由于动物在任何时间都处于感染和免疫的不同阶段所造成的（Dee等，1996）。病毒在种猪群中的循环导致生产出PRRSV感染的小猪（Albina等，1994）。因此，破坏种猪群中病毒循环的第一步是用已经感染PRRSV并在引入之前已经产生免疫力的种猪取代现有的种猪（Dee，2003）。引入对PRRSV适应的种猪，对产生稳定的临床症状、生产参数的改进以及断奶时PRRSV阴性小猪具有重要意义。

母猪的引入是控制PRRSV的关键措施（FitzSimmons和Daniels，2003）。主要是通过管理措施引入母猪群等来实现。让血清学阴性的猪只在适应或隔离圈舍中感染PRRSV，然后自行康复。将这些康复后获得免疫力的猪只引入种猪群，便不会出现病毒血症也不会感染其他母猪。相关文献中对母猪适应性的不同方法都有所描述

(Deedeng, 1994; FitzSimmons和Daniels, 2003)。通常认为早期感染(2-4月龄)会使得被感染猪只产生保护力,应在被感染猪只停止排毒时引入种猪群中。本部分所描述的感染方法是从PRRSV阴性猪只开始的。尽管感染方法有所不同,但目的是一致的,即都是如何获得一致的PRRSV感染。

不断的引入母猪,这些母猪包括以前PRRSV感染的阳性猪只和新引入的PRRSV阴性猪只,并不总能产生令人满意的结果。在某些农场,也可以用断奶猪只和剔除的母猪作为感染源。但是,经过一段时间母猪产生免疫力后,就要中止病毒在母猪群中的传播,这样断奶后PRRSV阴性仔猪的数量也会增加。因此,当引入母猪与断奶仔猪混养时就不会感染PRRSV。

其他替代母猪的感染方法包括用疾病暴发时所产弱胎和死胎仔猪的组织作为感染源、使用减毒疫苗和灭活疫苗、用同一农场中出现病毒血症的猪只的血清接种阴性替代母猪(Batista等, 2002; Dee, 2003; FitzSimmons和Daniels, 2003; Thacker等, 2003)。

减毒活疫苗(MLV)常用于产生保护性免疫反应并能产生稳定的免疫。PRRSV疫苗的主要缺点是PRRSV毒株之间的交叉保护性较差。用MLV接种时,同一空间内的所有猪只都要同时进行接种。母猪适应性程序中可以将灭活疫苗用作MLV疫苗的补充疫苗或者感染临床毒株后的补充疫苗。

近来,由于PRRSV毒株间日益增加的遗传多样性以及市场上销售的疫苗不能对临床新鉴定的PRRSV毒株产生足够的交叉保护,因此越来越多的农场在有计划的感染各种临床毒株。这种方法具有一定的风险,需要深思熟虑后进行并且需要高质量的对照标准。

种猪群的控制 坚持利用适应性方案引入替代种猪可以稳定种猪的质量并能生产出PRRSV阴性的仔猪;因此,不需要另外针对繁育/哺育猪的免疫程序。但是,为了减少繁育种猪中敏感猪只的出现、促进PRRSV阴性猪只的出现(Gillespie, 2003; Rajic等, 2001)、在暴发PRRS时限制临床种毒的复制,也可以使用MLV疫苗来进行免疫(Dee, 1996; Gillespie, 2003)(虽然这种措施的成功可能性仍旧在探讨中)。目前,已经批准了一些用于未怀孕母猪的产品,其他的还未得到批准。用户和兽医在使用前应当先阅读产品标签并理解其应用范围、方法等。在怀孕的第三阶段给未

感染的怀孕母猪接种疫苗会使得胎儿受到感染（Mengeling等，1996a）。

在疾病急性暴发时也可以使用急性发病猪只的血清有计划地进行接种。这种接种程序为实验性的，兽医应当密切观察其应用情况。虽然具有一定的风险并且几乎没有文献信息可供利用，但是这种程序仍旧不失为一种缩短临床暴发时间和加速PRRSV阴性断奶仔猪产生一种好方法。通常认为有计划的应用这种程序的总体损失情况与自然暴发时的相似。

在急性感染时如何减少PRRSV感染的损失或者加速PRRSV阴性断奶猪只的产生方面，另外一种方法是暂时中止替代动物的引入(暂时的种群关闭)（Dee等，1994；Torremorell等，2003）。中止日龄较小、近来受到感染的猪只以及替代动物的引入，可以获得一个较稳定的猪群。2-4个月就足以减少病毒的作用了，但并不能完全消除病毒。

断奶猪只的管理 断奶猪群中慢性PRRS的控制是兽医所面临的最为棘手的问题之一。病毒在哺育或断奶猪只之间的传播循环是通过病毒从日龄较大的感染猪只传播到新近断奶的猪只来实现的。为了阻止PRRSV在慢性感染猪群中的继续传播可以采用剔除部分病猪的方法进行控制。剔除部分病猪的方法已经表明具有明显改进日增重、减少死亡并能从总体上减少护理病猪经济损失的优点（Dee等，1993；Dee等，1997）。这种方法的缺点是需要剔除日龄较大的猪只而且可能需要定期重复剔除以维持生产性状的改进。

另外一种从感染猪群中清除病毒的方法是给生长猪只普遍接种MLV疫苗并保持猪只的单向流动（Dee和Phillips，1998）。在某个地方的PRRSV难以清除时常采用这种措施，即用MLV中的疫苗株来取代猪场现有的PRRSV毒株。

断奶猪只的控制措施也包括PRRSV感染时副猪嗜血杆菌和猪链球菌等并发感染的控制。针对个体感染者可能需要进行适当的疫苗免疫和治疗。

如果哺乳仔猪发生急性感染，需要采取一系列的管理措施（Henry，1994；McCaw，2000,2003）。这些管理措施包括限制出生一天之内的不同窝仔猪之间的流动、人为的破坏断奶前慢性感染仔猪的出现以及保持严格的全进全出模式等。

根除 曾有文献描述过猪群中PRRSV的自然消除（Freese和Joo，1994），但是这在目前的生产系统中是极少发生的。过去几年主要的进步是确定了从感染猪场中成

功消除PRRSV的方案（Dee, 2004; Torremorel等, 2003）。这包括整体的剔除/更新猪群、部分的剔除、早期隔离断奶猪只、检测剔除以及猪群的关闭等。

繁育猪群中PRRSV的成功消除依赖于阴性未感染猪只的引入, 此时病毒的循环被阻断。既然成功的控制策略最后要达到的目标是获得经过免疫的无病毒猪群, 这在前面曾经提到过, 那么就需要准备替换现有猪群的根除猪群。为了防止猪群再次感染, 成功的消除计划也应该包括制定严格的生物安全措施（Torremorell等, 2004）。

整体的猪群剔除和更新是非常成功的方法, 但是花费巨大而且只要存在并发性的疾病就不能中止更新。这种方法可能仅适用于繁育猪群, 因为在繁育猪群中病毒不断复制, 其他措施根本无法消除病毒, 因此必须用整体剔除/更新的方法才能消除病毒的传播。

部分剔除的方法也一直用于PRRSV的消除（Dee等, 1993; Dee等, 1997）。这种措施可以消除生长猪群中的病毒, 因为此时哺乳猪群的流动已经完全停止了。但是当用于大的猪群（>500头母猪）时, 还需要采取另外的措施, 如猪群关闭或检测剔除等以在猪群流动之前先清除繁育猪群中的病毒。

早期隔离断奶也适用于从感染猪群中生产PRRSV阴性的猪只。由于母猪群中PRRSV的活性不同, PRRSV阴性猪群的产生可能不同（Donadeu等, 1999; Gramer等, 1999）。为了使这种方法获得最大可能的成功, 必须执行断奶猪只全进全出的隔离生产方式。此外, 当用几种方法生产出阴性仔猪后, 用阳性感染猪群来建立阴性未感染猪群的愿望很快就能实现了（Torremorell等, 2002b）。

由于PRRSV不能在免疫过的猪群中长期存在, 因此用猪群关闭的方法来消除PRRSV是可行的（Torremorell等, 2003）。这种方法模仿了TGE根除的方法, 即在所有的动物都有可能感染病毒的情况下, 让所有的动物都感染病毒并且不引入新的替代动物（Harris等, 1987）。在根除PRRSV感染时, 需要更长的时间来关闭猪群同时不能引入新的猪只。由于PRRSV具有较强的长期感染力, 暴露于病毒的猪只最后虽然能够从组织中清除病毒, 但需要较长的时间。通常推荐关闭期为6个月, 但是由于农场和猪只的流动情况不同, 不同农场的关闭期可能略有差别。在剔除或者有计划的减少以前的感染动物之后, 就要引进阴性替换猪只。应用这种方法一段时间后, 就能产生阴性的繁育猪群。这种方法在隔离猪群的成功率大于90%。异地繁育以及

其他生产管理方面的措施能够最小化畜群关闭的损失。

通过检测剔除来根除PRRSV感染也具有较好的效果（Dee, 2004）。检测剔除的检测程序包括整个繁育猪群的血液检测、用抗体和病毒检测PRRSV反复感染的动物和剔除猪群中的阳性猪只。用于检测剔除的猪群必须具备以下条件：隔离猪群、距离上次PRRSV感染的时间多于12个月并且PRRSV在猪群中的感染率低于25%。由于持续感染动物的存在是病毒根除失败的潜在危险因素，因此推荐在无病毒再次感染的繁育猪群中也要进行检测剔除。

疫苗 多项研究已经表明接种PRRSV疫苗能够产生保护性免疫反应（Gorcyca等, 1995; Hesse等, 1996; Mengeling, 1996b; Plana Duran等, 1995）。可以根据当地情况选用各种MLV和灭活疫苗。虽然使用某些MLV疫苗可能会使猪只感染PRRSV，但是MLV疫苗确实能够产生更加有效的免疫反应。也可以使用灭活疫苗，但是灭活疫苗在用于以前未免疫过的猪只时效果较差。但是如果与减毒活疫苗联合使用或者用于以前感染过PRRSV的猪只时，会诱导产生比单独应用时更多的中和抗体。

当给临床猪群接种疫苗后，可能会出现不同的效果。出现这种差异的原因可能是市场上销售的疫苗不同以及疫苗的接种途径不同所造成的。同样，免疫结果也反映了不同地区流行毒株的差异以及/或者疫苗株与临床流行毒株之间交叉保护方面的关系。此外，接种减毒活疫苗也会出现毒力返强的情况（Nielsen等, 2001）。疫苗毒株与临床PRRSV毒株在传播方式、存留时间、经胎盘传播和先天性感染、精液外排以及诱导保护性免疫反应的时间等方面都具有相似的特点。为了使从业者和生产者能够可靠地控制PRRSV的破坏性作用，必须进行深入研究以提供更加安全有效的疫苗产品。

（张纯萍 译 张中秋 校）