

猪繁殖与呼吸障碍综合症：胎儿感染的特别之处

PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME: CHARACTERISTIC FEATURES

OF THE INFECTED FETUS

著者: R.R.R Rowland, J Niefeld, and S. S. Dritz

译自: Swine Research 2005 pp4-7

译者: 刘建杰

概述

后备母猪在妊娠 90 并和她一起做实地剖检取材习，综合症病毒 (PRRSV) SD-23983 株，在妊娠 109 – 112 天时取出胎儿，分析胎儿 PRRSV 的感染情况。结果表明，并不是所有的胎儿都感染了 PRRSV，受感染的胎儿多在子宫角内紧挨在一起，表明病毒的传播是从胎儿传染给胎儿。尽管受感染的胎儿呈现不同的大体病变，但解剖病变并不能表明胎儿的感染情况。单个组织的病毒复制分析表明胸腺是病毒感染后最初复制繁殖的靶器官。试验结果表明蓝耳病感染发育中胎儿的过程独特，蓝耳病病毒在胎儿体内引起的病变可能是蓝耳病病毒感染母体组织后所导致的。在诊断 PRRSV 感染所导致流产和死胎时必须考虑这些因素。

前言

目前，猪繁殖与呼吸障碍综合症 (PRRS) 每年给生产者带来将近 6 亿美元的损失。后备 / 经产母猪妊娠 90 天时感染会引起繁殖型的 PRRS，表现不一：有时流产、死胎；有时产弱仔，产后死亡率不等，有时可达 100%。蓝耳病感染后的影晌可一直持续到保育舍和肥育舍，容易引发呼吸道疾病和死亡。预防繁殖障碍型 PRRS 是减少 PRRS 损失的关键。本试验的目的是找到病毒复制的靶器官和胎儿感染后病变产生的原因。

步骤

所有的动物试验步骤都由堪萨斯州立大学动物保护和使用委员会检查和批准。来自 PRRSV 阴性场的 4 头妊娠后备猪，在妊娠 90 天时感染 SDSU-23983 株（典型的北美田间分离株）的第六代传代病毒。3ml 病毒，浓度为 10⁴ TCID₅₀/ml，分成两头份剂量，分别用 3ml 注射器鼻孔喷雾接种和肌肉注射接种感染试验猪。两头模拟感染母猪做为试验对照组以获得正常的胎儿。在妊娠的 108 至 111 天，杀掉母猪，取出子宫角，并逐个取出胎儿。记录胎儿在子宫角内的位置并检查子宫内膜，如有大体病变，立即解剖位于该处的胎儿。解剖前首先采集胎儿羊水和血液。取肺、心、胎盘、脐带和淋巴组织如扁桃体、胸腺、下颌淋巴结、腹股沟淋巴结做病毒分离 (VI) 和组织病理学检查。病毒分离采用常规的试验技术，以 1 毫升血清或 1 克组织中最后一个阳性孔稀释倍数的倒数的 log₁₀ 来表示病毒的含量。PRRSV 的特异性抗体用 IDEXX 的 PRRS ELISA 试剂盒检测。组织样品收集后立即放入 10% 的福尔马林缓冲液中，石蜡包被后切片，用苏木素伊红染色 (HE 染色法)，诊断实验室进行免疫组织化学染色以检查 PRRSV 抗原核酸。

结果和讨论

后备母猪感染后临床症状轻微。4头感染的后备母猪共获得44个胎儿。感染后1-2周内，所有的感染母猪都变成病毒血症，证实病毒处于活化状态，感染活跃。4头感染母猪中有3头血清阳转，ELISA试剂盒检测S/P值远大于0.39。所有的感染窝中都有胎儿出现大体病变（见图1），包括发育不良或死胎、羊水和胎盘异常。对照组两头母猪获得24个胎儿，除了两头木乃伊胎儿（其中一头体长小于5厘米），其它胎儿看起来都很正常。血清和组织中的病毒滴度及感染胎儿和母猪的血清学情况见图1及表1。42个存活胎儿中有10个（占24%）血清中分离到PRRSV。感染用病毒分离和取样组织的免疫组化方法进一步得到证实。同窝中的感染胎儿数目不等，从没有胎儿感染（174号母猪）到5个胎儿感染（85号母猪）。血清中病毒阴性的胎儿，从胎盘、肺脏、淋巴结和胸腺组织中的病毒分离进一步证实为病毒阴性。10个感染胎儿中的7个出现了大体病变，但认为是病毒感染导致了这些胎儿出现病变是可疑的，因为感染母猪中同窝的有些未感染胎儿也表现出了一些形式的病变（图1）。例如，174号母猪的胎儿，没有感染PRRSV，也包含有死胎或表现出一些大体病变。这些结果表明病毒感染母猪后引起的改变也是胎儿出现病变的原因。

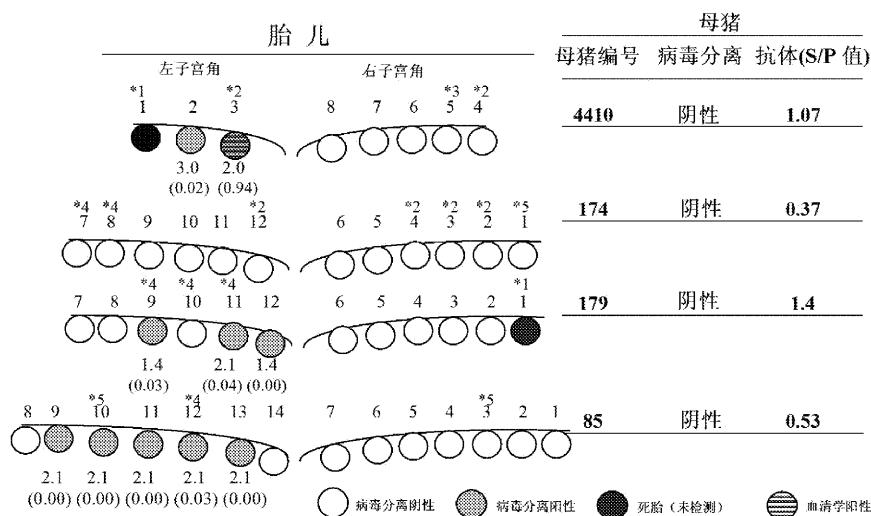


图1. 子宫角内感染胎儿的定位。每头母猪的编号、病毒分离情况和血清学检测情况在右侧。每个圆圈表示胎儿在左右子宫角内的相对位置。胎儿上方的数字表示胎儿从子宫内取出的顺序，在本文和表1中用该数字代表胎儿。空心圆代表未感染胎儿。病毒滴度（有底纹的胎儿下方的数字）和血清学结果（带括弧的数字）是用血清检测获得的结果。死胎（黑圆圈）自溶了没有检测。

大体病变点

*1 部分木乃伊化

*4 羊水中带有胎粪和或血

*2 不能存活的胎儿或羊水数量非常少

*5 小胎儿

*3 胎盘坏死

表1 胎儿组织的PRRS病毒分离和免疫组化(IHC)¹

母猪编号	4410			179			85			
	2	3	9	11	12	9	10	11	12	13
胎 盘	3.6	n.m. ²	1.0	1.6	1.9	2.4	n.m.	n.m.	2.7	1.3
脐 带	n.d. ³	1.4	1.3	2.2	1.6	2.2	2.0	1.2	1.1	1.9
心 脏	1.7	1.8	2.5	2.6	1.4	2.8	n.m.	1.3	1.0	2.0
肺 脏	2.1	n.m.	1.0	n.m.	n.m.	0.8	n.m.	0.7	0.5	1.9
(IHC)	(-) ⁴	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
淋巴结 ⁵	3.6	n.m.	2.2	2.2	n.m.	3.0	n.m.	n.m.	1.3	n.m.
(IHC)	(-)	(-)	(n.d.)	(-)	(n.d.)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
脾 脏	2.3	n.m.	2.1	3.1	2.1	2.7	1.9	1.0	n.m.	1.6
(IHC)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
扁桃体	1.3	1.4	1.2	1.2	2.2	3.2	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
(IHC)	(-)	(-)	(n.d.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
胸 腺	4.1	n.m.	1.6	2.3	3.6	1.6	3.5	3.5	2.2	4.2
(IHC)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

¹ 病毒分离结果用每克中的病毒滴度表示。

² n.m.: 不确定, 1:5稀释时病毒分离为阴性。

³ n.d.: 没检测。

⁴ 对于肺脏、扁桃体和胸腺, 括弧内的符号(+)表示PRRSV抗原阳性, 符号(-)表示PRRSV抗原阴性。

PRRSV抗原用图2所示的免疫组化法检测, 结果表示的是单个切片的结果。

⁵ 病毒分离用的是下颌淋巴结, 括弧内是免疫组化数据, 包括下颌淋巴结和腹股沟淋巴结, 一个(+)表示至少存在一个PRRSV感染细胞。

为证实病毒在胎儿中复制的靶器官, 不同的组织被用来检查病毒的存在和受病毒感染的细胞。结果见图1, 10个肺中的6个、10个淋巴结中的5个、10个扁桃体中的6个、10个胸腺中的9个分离到了病毒。在这些含毒组织中, 胸腺中所含的病毒量最大。例如, 6个胸腺中的病毒滴度均远大于10³/克。切片中抗原含量最高的组织也是胸腺(表1)。综合考虑, 胸腺是胎儿感染后病毒复制的最初靶器官。

这个研究的结果显示胎儿的蓝耳病感染有几个特别之处, 有助于诊断作为流产发生原因之一的PRRSV感染。首先, 并不是所有的胎儿都受感染。因此, 当用病毒分离或PCR检测病毒时, 要采集几个受感染的胎儿和或几个胎儿样品混合后送样。胎儿必须随机送检并且必须包含貌似正常的胎儿。用作病毒分离或PCR检测的组织必须包含胸腺。胸腔液, 一般可以作为血清或体液的来源, 也是病毒分离或抗体检测的好材料。