1. 绪论

1.1.病毒的定义及其特点

病毒（virus）为形体微小、结构简单、基因组仅含有一种核酸（DNA或RNA），具有严格细胞内寄生性，以自我复制的方式增殖，在电子显微镜下才能观察到的非细胞型微生物。

“病毒”一般泛指其所有形式，包括完整和缺损的、成熟和不成熟的、细胞内和细胞外的、呈感染状态或非感染状态等。病毒体（virion）是指完整成熟的、有感染性的单个病毒颗粒（viral particle），或称为毒粒。

病毒的本质是一类含有DNA或RNA的分子水平寄生生命体，以其结构简单、特殊增殖方式以及严格细胞内寄生等特性，显著区别于其他生物。病毒的独特性状包括：①非细胞型、纳米级的超微结构，可通过除菌滤器（sterilization filter）；②严格细胞内寄生，具有增殖等生命特征；③在细胞外如同化学大分子，无产能酶系统及合成生物大分子的细胞器，呈非生命状态，但对活细胞具有感染性；④基因组（genome）只含有一种类型的核酸（DNA或RNA)，在胞内以复制的方式进行自我增殖；⑤在增殖过程中对干扰素敏感，对常用抗生素不敏感。

1.2.病毒在自然界的分布

病毒在自然界分布非常广泛，可在细菌、古菌、真菌、植物、动物和人体中寄居并引起感染。依据感染的宿主可将病毒分为：①感染真核细胞的病毒，包括人类病毒、动物病毒（animal virus）、植物病毒（plant virus）以及真核细胞微生物病毒（如感染原生动物原虫的病毒）；②感染原核细胞的病毒，包括感染细菌的病毒，即噬菌体（bacteriophage，或phage）和感染古菌的病毒，即古菌病毒（archaeal virus）或古菌噬菌体。此外，把将各种微生物作为宿主的病毒称为**微生物病毒**（microbial virus），包括细菌病毒、古菌病毒，以及真核微生物病毒（eukaryotic microbial virus），后者包括**真菌病毒**（fungal virus）或**真菌噬菌体**（mycophage）和原虫及蠕虫病毒等。最近还发现可以感染巨型病毒（如拟菌病毒，mimivirus）的病毒，即噬病毒体（virophage**）**，后者为拟菌病毒的卫星病毒（satellite virus）。

1.3.病毒与人类的关系

在长期进化过程中，病毒与人类形成了密切的关系；需要强调的是，仅有少数感染人或动物的病毒与人类疾病相关；但是人类传染病中，由病毒引起的约占75%，病毒与人类传染病的关系极为密切，特别在新发传染病中病毒是最常见和最重要的病原。此外，某些病毒感染也可以导致人类肿瘤。

《病毒学》（virology）是研究病毒的起源、结构、生命活动、传播方式等的学科，它为我们揭示了病毒的奥秘，推动了病毒相关技术的发展和应用。

**《医学病毒学》**（medical virology）是研究病毒与人类疾病关系的一门学科，主要研究其生物学特性、致病性及与宿主的相互关系、感染后诊断及防治等，目的在于预防和控制病毒性疾病，保障人类健康。

1.4.病毒学的发展历史

20世纪之前，人们只知道传染病皆由细菌引起，对烟草花叶病的研究，开启了人类发现病毒的历程。

（1）首个病毒的发现： 1882年，德国学者麦尔（Adolf Eduard Mayer，1843—1942）指出烟草花叶病（tobacco mosaic disease，TMD）是一种植物传染病。1892年，俄国学者伊凡诺夫斯基（Dmitri Ivanovski，1864—1920）发现，患TMD的烟叶汁通过细菌滤器后，其滤液仍保留传染性。限于当时“细菌致病理论”的影响，他认为通过滤器的致病因子仍然是细菌或细菌毒素；1898年，荷兰学者贝杰林克（Martinus Beijerinck，1851—1931）重复了上述实验，发现：①滤液中的致病因子不能在人工培养基中生长；②通过连续稀释的滤液仍具有传染性。由此贝杰林克推测，滤液中比细菌小的致病物质不是细菌或其毒素，故用拉丁语“contagium vivum fluidum ”（传染性活流质）对其命名，后称之为“virus”（病毒）。目前认为，伊凡诺夫斯基提供了滤过性病原体可导致烟草花叶病的证据，贝杰林克则是提出“病毒”概念的第一人。二人先后的工作共同支撑发现了第一种病毒，即烟草花叶病毒（tobacco mosaic virus，TMV），这一发现标志着微生物学从细菌学拓展到病毒学新领域。

（2）动物病毒的发现：1898年，德国学者吕夫勒（Friedrich Loeffler，1852—1915）和菲洛施（Paul Frosch，1860—1928）发现了第一种动物病毒——口蹄疫病毒（foot and mouth disease virus），即引起动物口蹄疫的病原体。

（3）人类病毒的发现：1900年，里德（Walter Reed，1851—1902）和卡罗尔（James Carrol）通过实验证明黄热病是由蚊虫传播的，并由此发现了第一种人类病毒——黄热病病毒（yellow fever virus）（1901年）。此后，1915年特沃特（Frederik W. Twort）和1917年埃雷尔（Félix d’Hérelle）先后独立发现了细菌病毒，即噬菌体（bacteriophage，phage）。

（4）不断发现的新病毒：自1973年以来，新发现的病原微生物已有近40余种。其中病毒主要有轮状病毒、人类免疫缺陷病毒、人疱疹病毒6、7和8型、丙、丁、戊型肝炎病毒、汉坦病毒、大别班达病毒(Dabie bandavirus，DBV)（原名称为发热伴血小板综合征病毒）、西尼罗病毒、尼帕病毒、SARS冠状病毒、MERS冠状病毒、SARS冠状病毒2（SARS-CoV-2）等。人类面临新现（emerge）和再现（re-emerge）传染病的威胁，其中病毒感染引起的传染病了可导致较大规模的流行，甚至世界性大流行，严重危害人类健康，凸显了医学病毒学的重要性。

（5）病毒学与其他学科的关系：至20世纪中期，陆续有许多动物病毒、植物病毒、噬菌体及人类病毒不断被分离鉴定，病毒学从病原学研究阶段、进入到化学和结构、细胞水平研究阶段，病毒学研究有了飞跃发展，逐渐成为一门独立学科。

**2. 医学病毒学基础**

**2.1. 病毒的基本性状**

2.1.1. 病毒的形态与结构

2.1.1.1.病毒的大小与形态

对**病毒大小、形态及结构**的描述，一般是指病毒颗粒或毒粒，即**病毒体**而言。病毒大小的测量单位为**纳米**（nanometer，nm；1nm=1/l 000μm）。

**（1）病毒的大小**

病毒体大小差别悬殊，最大的长度可达1μm以上，最小的病毒仅十几纳米。病毒大小一般介于20~300nm之间，大多数病毒小于150nm。球形病毒的大小用其直径表示，其他形状病毒则以长度×宽度等表示。

一般而言，病毒必须应用电子显微镜将其放大数千至数万倍才能看见，故称其为超微结构。但大病毒如痘病毒、巨型病毒如拟菌病毒经适当染色后可用光学显微镜观察。

**（2）病毒的形态**

病毒体一般具有较为固定的形态，大致可分为5类。

**1）球形**（spheroid）或近似球形（near-spherical） 大多数感染人和动物的病毒，以及球状噬菌体为此形态。如脊髓灰质炎病毒（poliovirus）、冠状病毒（coronavirus）、人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus，HIV）、流感病毒（influenza virus）。

**2）丝状**（filament） 呈丝状或杆状。大多为植物病毒，核衣壳外一般无包膜，如烟草花叶病毒（tobacco mosaic virus，TMV）；丝状病毒中仅有少数为感染人类和动物的病毒，但其核衣壳外均有包膜，例如丝状病毒科（*Filoviridae*）中的马尔堡病毒（Marburg virus）和埃博拉病毒（Ebola virus），初次分离的流感病毒和麻疹病毒（measles virus）也可呈丝状。

**3） 弹状**（bullet shape） 如弹状病毒科（*Rhabdoviridae*）中的狂犬病病毒（rabies virus）和水疱性口炎病毒（vesicular stomatitis virus，VSV）等。

**4）砖状**（brick shape or ellipsoid）如天花病毒和痘苗病毒。

**5）蝌蚪状**（tadpole shape） 大多数噬菌体外形呈蝌蚪状，如大肠埃希菌T4噬菌体（T4 phage）。

此外，有些病毒可具有多形性，如流感病毒可呈球形、丝状和杆状等多形态。

2.1.1.2.病毒的结构

**（1）核衣壳**

**病毒体的基本结构是由核心（**core）**和衣壳**（capsid）**构成的核衣壳**(nucleocapsid)。有些病毒的核衣壳外有包膜(envelope)和包膜的构成成分刺突（spike）。有包膜的病毒称为包膜病毒（enveloped virus），无包膜的病毒体称裸露病毒（naked virus），核衣壳是裸露病毒完整的病毒体。

**1）核心（core）** 位于病毒体的最内部，主要化学成分为核酸，由一种类型的核酸（DNA或RNA）组成，构成病毒基因组。此外，有些病毒体的核心含有少量蛋白质，多为携带的酶类*。*

核心是病毒执行生命活性的物质基础。病毒基因组是其遗传信息载体和复制模板，而核心中的蛋白在保障某些病毒的复制或基因表达中具有不可或缺的作用。

**2）衣壳**（capsid）由病毒基因组编码的包围在病毒核心外面的蛋白质外壳。衣壳系由一定数量的壳粒（capsomeres）组成，每个壳粒被称为形态亚单位（morphologic subunit），由一个或多个多肽分子组成。壳粒的排列方式呈对称性，不同的病毒体，衣壳所含的壳粒数目和对称方式不同，可作为病毒鉴别和分类的依据之一。

病毒衣壳结构遵循对称性规律，**根据所含壳粒数目和排列方式不同，病毒衣壳可分为三种不同对称型，**并由此决定了病毒的形状。

**①螺旋对称型**（helical symmetry）：此衣壳结构简单，壳粒由一种化学亚单位组成，壳粒就是原聚体。壳粒沿着螺旋形的病毒核酸链对称排列，结构相对松散，基因组容量较小。

大多数植物杆状病毒衣壳呈螺旋对称型，无包膜，如烟草花叶病毒。感染人和动物的螺旋对称型病毒，其核衣壳外多有包膜，一般为负链RNA病毒，如埃博拉病毒和马堡病毒、流感病毒、副流感病毒、麻疹病毒、狂犬病病毒等。冠状病毒等**部分正链RNA病毒衣壳也是螺旋对称**。

**②二十面体立体对称型**（icosahedral symmetry）：衣壳的壳粒排列成二十面体立体对称，结构较复杂，但更坚固、内部容量较大；其壳粒（形态亚单位）与原聚体（结构单位）不相同。大部分动物病毒，包括球形DNA病毒和多数正链RNA病毒，其衣壳属于此对称型。

**③复合对称**（complex symmetry）：结构复杂的病毒体为此对称结构。如大肠埃希菌T偶数有尾噬菌体，如T4噬菌体，其壳粒排列包括螺旋对称和立体对称；呼肠病毒（reovirus）拥有2个或3个同轴心的正二十面体复合衣壳，也属于复杂的立体对称形式；痘病毒呈砖状，其衣壳为更复杂的复合对称结构。

**衣壳的主要作用**主要为保护病毒核酸、参与感染过程、具有免疫原性，是病毒鉴别和分类的重要依据。

**（2）包膜**（envelope）

部分病毒在核衣壳外围绕一层镶嵌有多糖蛋白的脂质双层膜结构，称为病毒的包膜，或囊膜。

包膜是病毒在增殖成熟过程中，核衣壳穿过宿主细胞膜，或胞质内高尔基体膜、内质网膜和核膜等，以出芽方式向细胞外释放时获得的。脂质双层成分主要来源于宿主细胞，包括磷脂、胆固醇以及少量的甘油三酯等脂类物质。逆转录病毒科和披膜病毒科（*Togaviridae*）的病毒包膜来源于细胞膜；正黏病毒科、副黏病毒科、冠状病毒科、黄病毒科（*Flaviviridae*）、弹状病毒及嗜肝DNA病毒科（*Hepadnaviridae*）的病毒包膜来源于内质网和/或高尔基体；而疱疹病毒的包膜则来源于细胞核膜。

**包膜多糖分子**来自于宿主细胞，包膜蛋白是**病毒基因编码的，**二者共同构成包膜糖蛋白（glycoprotein，gp）。

**病毒包膜主要作用**为保护核衣壳、与病毒对易感细胞的亲嗜性（tropism）和增殖有关、构成病毒的表面抗原，参与机体免疫应答过程，具有病毒种、型特异性，是病毒鉴定和分型的依据之一，此外对干燥、热、酸和脂溶剂敏感，乙醚能破坏包膜脂质而灭活病毒，常用来鉴定病毒有无包膜。

**（3）其他结构**

**1）基质蛋白**（matrix protein）：某些包膜病毒，在病毒包膜内层与衣壳外层之间有一层非糖基化蛋白结构，被称为包膜相关蛋白（membrane associated protein），而裸露病毒无此蛋白。其作用主要是介导病毒包装、释放，连接包膜与核衣壳，介导病毒核酸的复制等。不同的病毒该结构有不同的名称，如正黏和副黏病毒称为基质蛋白（matrix protein），人免疫缺陷病毒（HIV）称为内膜蛋白p17，疱疹病毒称为被膜蛋白或被膜（tegument）等。

**2）须触**（antennae）：例如腺病毒（adenovirus）表面呈特殊的“大头针状”结构。即在核衣壳12个顶角壳粒上各有1根细长的纤突和顶端的顶球。

此外，存在于病毒体内，但又不构成病毒体亚结构的一类蛋白。具体参见本节病毒非结构蛋白有关内容。

2.1.1.3.病毒的化学组成及功能

**（1）病毒核酸**

位于病毒体核心，只含有一种核酸（DNA或RNA），构成病毒体基因组，携带病毒所有遗传信息，是病毒感染、增殖、遗传和变异的物质基础。

**1）基因组大小：**一般而言，同一科属的病毒基因组碱基（b）或碱基对（bp）构成相近，不同科属的病毒基因组差异较大。嗜肝DNA病毒基因组为3.2kb，冠状病毒基因组约26.0~32.0kb。病毒基因组核酸一般在103~105千道尔顿（kDa）之间。病毒核酸分子量大小反映了基因组结构和功能的差异。

**2）基因组多样性：**病毒基因组呈现形式的多样性是病毒分类的重要分子基础，病毒基因组核酸类型如表1所示。

**表1 病毒基因组核酸类型**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 基因组 | | DNA病毒 | | 举例 | RNA病毒 | | 举例 |
| 形状 | 线状 | 单链  双链 | +ssDNA  dsDNA | 细小病毒B19  腺病毒 | | +ssRNA  dsRNA | 小RNA病毒  呼肠病毒 |
| 环状 | 单链 | +scDNA  -scDNA | M13噬菌体  TT病毒 | | /  -scRNA  / | /  丁型肝炎病毒  / |
| 双链 | dcDNA | 乳头瘤病毒 | |
| 完整性 | | 不分段 | 有 | 多数DNA病毒 | | 有 | 多数RNA病毒 |
| 节段 | 有 | 双生病毒 | | 有 | 沙粒、布尼亚、正黏及呼肠病毒 |
| 构成 | | 单倍体 | 都是 | 腺病毒等 | | 有 | RNA病毒（除外逆转录病毒） |
| 双倍体 | 无 | 无 | | 有 | 逆转录病毒 |
| 极性 | | 正链（+） | +scDNA | M13噬菌体 | | +ssRNA | 肠道病毒、黄病毒等 |
| 负链（-） | -scDNA | TT病毒 | | -ssRNA | 正黏病毒 |
| 双义（±） | 有 | 腺病毒相关病毒 | | 少数 | 布尼亚病毒和沙粒病毒 |

**3）基因组功能区** 病毒基因组可分为编码区（coding region）和非翻译区（untranslated region，UTR）或称为非编码区（noncoding region，NCR）两部分，大部分是编码区序列，也称为开放读码框（open reading frame，ORF）。病毒基因组相对较小，为了使基因效率最大化，通过ORF中重叠基因（overlapping gene）和不连续基因，病毒可编码更多蛋白质。病毒通过遵循遗传经济（genetic economy）原则，以较小基因组满足病毒增殖和执行不同功能的需要。

**4）病毒核酸决定病毒的主要特性：病**毒核酸携带病毒的全部遗传信息，决定子代病毒的形态结构、致病性、抗原性、增殖、遗传和变异等生物学特性。某些正单链RNA（+ssRNA）病毒，如小RNA病毒、冠状病毒、黄病毒以及披膜病毒，其基因组在易感细胞内能够直接作为mRNA翻译蛋白质，故具有感染性，称为感染性核酸（infectious RNA）。缺乏衣壳和包膜保护的感染性核酸易被降解，但进入细胞不受相应受体限制。与病毒体相比，其感染宿主范围更广，但感染效率较低。

**（2）病毒蛋白**

病毒蛋白约占病毒体总重量70%，由病毒基因组编码。可分为结构蛋白（structural protein）和非结构蛋白（non-structural protein）两大类。

**1）结构蛋白：**即病毒体有形成分的蛋白质，主要有衣壳蛋白、包膜糖蛋白和基质蛋白。主要功能包括：①保护病毒核酸避免受外界因素破坏；②决定病毒对称结构，维持其特定形状；③决定病毒对易感细胞亲嗜性和易感宿主范围，如包膜蛋白、衣壳蛋白中与宿主细胞特异性受体结合的**病毒吸附蛋白**（viral attachment protein，VAP）；④具有良好抗原性，可用于病毒感染特异性诊断，可激发机体免疫反应；⑤血凝作用（haemagglutination），如包膜病毒的血凝素、裸露病毒腺病毒具有凝集红细胞能力的须触，在病毒致病性及诊断中具有重要意义。

**2）非结构蛋白：**在病毒体中不作为重要有形成分。包括某些病毒体携带的酶分子、病毒核酸结合蛋白、或来自宿主细胞的蛋白，如EB病毒基质中含有细胞肌动蛋白、微管蛋白和热休克蛋白等。

此外，病毒基因组复制过程中也可表达一些功能性蛋白，但其不参与病毒体的组成，为病毒编码的非病毒体蛋白，仅存在于病毒感染的细胞或机体内。如脊髓灰质炎病毒进入细胞后表达的病毒2A（水解酶）和3D（RNA聚合酶）蛋白；嵌合在受染细胞膜上形成离子通道的病毒小跨膜蛋白，如脊髓灰质炎病毒的2B蛋白、HIV-1 Vpu（p16）蛋白；此外，HBV基因组编码的乙型肝炎e抗原（HBeAg），其不是病毒体的成分，但在感染者血液中可检测到。

**（3）脂类和糖类**

二者主要来源于宿主细胞。脂类以磷脂和胆固醇为主，约占结构成分的20%~35%；糖类主要存在于包膜糖蛋白或衣壳（裸露病毒）表面；蛋白糖基化修饰在病毒发病机制、疫苗和药物，以及检测试剂研发中有重要意义。

**2.1.2. 病毒的增殖**

病毒结构简单，缺少独立完成增殖所需的酶系统、能量和原料，故必须在易感的活细胞内才能增殖。能支持某种病毒完成正常增殖的宿主细胞，称为病毒的容纳细胞（permissive cell）；不能为病毒提供必要条件而导致病毒无法正常增殖的宿主细胞，称为病毒的非容纳细胞（non-permissive cell）。宿主细胞对病毒易感性决定了其感染途径和致病性。如流感病毒可入侵呼吸道上皮细胞，在其中增殖并导致感染；而轮状病毒则在消化道上皮细胞中增殖，并引起消化道症状。

2.1.2.1．病毒的复制周期

病毒的增殖（viral multiplication/reproduction）是从病毒进入细胞至释放出子代病毒这一连续的过程，包括吸附、穿入、脱壳、生物合成、组装、成熟及释放六个阶段，称为一个病毒的复制周期（replication cycle）或生命周期（life cycle）。病毒是以基因组核酸分子为模板按照自我复制（self-replication）方式进行增殖。

病毒的复制周期可人为分成以下步骤：

**（1）吸附**

吸附（absorption/attachment）是指病毒体与细胞接触及识别的过程，一般持续数分钟到数十分钟不等。首先，通过布朗运动病毒颗粒到达细胞表面；然后，由于静电作用病毒进一步结合到细胞膜表面。病毒的这两步结合是非特异和可逆的；最后，病毒通过其包膜或衣壳表面的病毒吸附蛋白（VAP），与细胞的病毒受体特异性结合，这一过程是不可逆的。细胞的病毒受体是指能特异性地与病毒结合、介导病毒侵入并促进病毒感染的宿主细胞膜或膜结构组分，其化学本质是糖蛋白、或糖脂。一般分布于细胞表面，但有的病毒还同时具有细胞内受体。

病毒的细胞受体按其功能可分为两类。①黏附受体（adhesion receptor）以可逆的方式将病毒附着到靶细胞或器官上，介导的黏附作用单独不会触发病毒的进入，但有益于病毒集聚在进入受体附近，可显著增强病毒的感染性。②侵入受体（entry receptor）通过某些方式触发病毒不可逆的进入宿主细胞，该受体又称为“共受体”（co-receptor）。病毒可具有一个或多个特异性受体。目前病毒受体的名称尚未统一，存在不同的称呼。

**（2）穿入**

**穿入**（penetration）是指病毒体吸附于易感细胞后穿过细胞膜进入细胞的过程。穿入与吸附不同，是耗能过程。只有生长良好、代谢旺盛的细胞才能使病毒完成穿入过程。病毒体可通过一种或多种方式穿入细胞，包括：

1）胞饮（viropexis，pinocytosis）或内吞作用（endocytosis）：裸露病毒和包膜病毒常见的穿入方式，此过程可由病毒受体介导或非受体介导完成，前者穿入方式更效率高。

2）膜融合（fusion）：包膜病毒的主要穿入方式，在病毒包膜特异性融合蛋白参与下包膜与细胞膜或胞质囊泡融合、核衣壳进入胞质。如SARS-CoV-2 S2亚单位、流感病毒血凝素HA2亚单位和HIV gp41包膜融合蛋介导的膜融合。

3）直接穿入：部分无包膜病毒体的基因组可直接进入宿主细胞。如小RNA病毒衣壳相关孔形成肽（pore-forming peptide）可导致宿主细胞膜形成孔隙，病毒基因组直接穿过细胞膜进入细胞质。此外，有尾噬菌体通过尾丝插入及衣壳收缩，将其基因组注入细胞质，该机制也涉及宿主细胞膜中的孔隙形成。

**（3）脱壳**

病毒进入易感细胞后，必须**脱去蛋白衣壳，释放出病毒核心，**使**基因组**能进一步**复制和表达，**这一过程称为脱（衣）壳（uncoating）。多数病毒穿入时已在细胞溶酶体酶作用下脱去衣壳并释出病毒核酸。少数病毒（如痘病毒）脱壳过程复杂，溶酶体酶可脱去部分衣壳，尚需病毒特有脱壳酶参与使病毒核酸完全释放。

**（4）生物合成**

病毒基因组一旦释放到细胞中，即开始病毒的生物合成（biosynthesis）。人和动物DNA病毒基因组绝大多数为双链DNA（dsDNA），其基因组复制和mRNA转录在细胞核内进行。痘病毒本身具有相对独立复制酶系统，其生物大分子合成是在细胞质中进行。此外，HBV转录在细胞核中，基因组复制是在细胞质中进行的。另一方面，人和动物RNA病毒基因组多为单链RNA，绝大多数RNA病毒都在细胞质中进行生物合成。但也有例外，如正黏病毒和个别副黏病毒的基因组复制和mRNA转录是在细胞核内完成的。

**病毒生物合成包含基因组复制和表达两部分**。病毒基因组复制是指子代病毒遗传物质的合成；病毒基因表达包括转录和翻译过程，最终合成病毒的蛋白质。病毒基因组复制、转录和翻译过程密不可分，相互间可有交叉。病毒基因组类型的多样性决定了其基因组复制的复杂性，也决定了mRNA转录和蛋白质合成的不同方式。巴尔的摩（David Baltimore）**按病毒核酸类型及其mRNA转录方式**差异，**将病毒分为七大类型**。

病毒复制方式、生物合成过程及场所因病毒而异。以dsDNA病毒和+ssRNA病毒为例，介绍两种不同类型病毒的生物合成方式及相关过程。

1）双链DNA病毒：除外痘病毒，双链DNA病毒的生物合成分三个阶段。其中一些双链DNA病毒，例如单纯疱疹病毒可导致急性感染和潜伏感染等，故病毒在胞内有溶细胞复制（lytic replication）和潜伏复制（latent replication）两个阶段。

DNA病毒自身编码的酶和调控蛋白在其生物合成过程中起着关键的作用，因此这类重要基因及其产物已成为抗病毒药物的重要靶标。

2）正单链RNA病毒：包括小RNA病毒、黄病毒、冠状病毒和披膜病毒等。病毒基因组+ssRNA不但是复制子代病毒的模板，其本身具有mRNA功能，基因组RNA具有感染性。

**（5）组装**

**组装**（assembly）**指将合成的病毒蛋白和核酸以及其他构件，组装成核衣壳过程。**病毒种类不同，复制部位和释放的机制有异。DNA病毒的核衣壳一般在核内组装，而绝大多数RNA病毒在细胞质内组装。病毒的组装过程非常复杂，当合成的病毒蛋白和核酸浓度很高时，即可启动病毒的组装。

**（6）成熟及释放**

**病毒核衣壳装配好后，发育成为具有感染性的病毒体，即病毒的成熟阶段**（maturation）**。**病毒成熟涉及衣壳蛋白及其内部基因组的结构变化，多需要蛋白酶对一些病毒前体蛋白切割加工。病毒成熟的标准是：①形态结构完整；②具有成熟颗粒的免疫原性和免疫反应性；③具有感染性。

成熟病毒体以不同方式离开宿主细胞的过程称为释放（and release）。病毒的组装成熟和释放是连续的过程。裸露病毒多通过溶解细胞的方式释放，病毒在组装及释放出大量的子代病毒的过程中可严重影响和破坏细胞，故这类病毒可称为杀细胞病毒，其复制周期即为**溶细胞周期**（lytic cycle of replication），如腺病毒和脊髓灰质炎病毒。包膜病毒核衣壳多通过出芽方式，从细胞膜系统中获得包膜而释放。包膜病毒出芽释放一般不直接引起细胞死亡，细胞膜在出芽后可以部分修复。在大多数情况，包膜病毒核衣壳可通过感染细胞膜上病毒糖蛋白介导，从一个感染细胞直接转移到相邻未感染细胞中，以此逃避宿主的抗病毒防御机制。

2.1.2.2. 病毒的异常增殖和干扰现象

病毒进入细胞并在胞内复制的实质是病毒和细胞相互作用的过程，并非所有进入胞内的病毒均能产生完整子代病毒，病毒因不能完成复制从而导致异常增殖。此外，若两种或两种以上病毒感染同一细胞时，病毒间发生相互影响而产生异常增殖和干扰现象。

（1）病毒的异常增殖

**1）顿挫感染** 病毒进入非容纳细胞的感染过程，因细胞不能提供病毒复制的必要条件，故不能产生完整病毒体，称之为顿挫感染，亦称**流产感染**（abortive infection）。如人腺病毒可在人胚肾细胞（容纳细胞）中正常增殖，但在猴肾细胞（非容纳细胞）中不能正常增殖，发生顿挫感染。

**2）缺陷性干扰颗粒**（defective interfering particle，DIP） 指病毒复制时基因组核酸片段缺失，导致形成有缺陷的病毒基因组，但具有**正常病毒形态的病毒颗粒**。DIP因基因组较短，在复制时更具竞争优势，可干扰具有完整基因组的感染性病毒颗粒的增殖，但DIP本身因基因组缺失而不能完成正常的复制周期。实验室保存病毒时，应以高倍稀释度的病毒株传代，避免高浓度DIP出现。

**3）假病毒颗粒**（pseudovirion）病毒衣壳包裹一段宿主细胞的DNA形成的病毒颗粒。

（2）病毒的干扰现象

当**两种病毒感染同一细胞**时**，一种病毒的增殖可抑制另一种病毒的增殖，**此现象称为**干扰现象**（interference）。干扰现象多发生于人和动物病毒之间，同种病毒不同型、不同株之间也可发生干扰现象。其机制有多个方面，主要是病毒作用于宿主细胞后，诱导后者产生抑制病毒复制的蛋白质，例如干扰素（interferon，IFN），并导致后续抗病毒复制的效应。此外，先感染的病毒破坏了宿主细胞表面受体或改变了宿主细胞代谢途径，可影响另一种病毒复制过程。干扰现象可发生在两种成熟病毒体间，成熟病毒和缺陷病毒之间。在使用疫苗预防病毒性疾病时，注意合理使用，避免病毒疫苗株之间发生干扰现象，影响疫苗效果。

2.1.3. 病毒的遗传与变异

病毒的遗传变异，既有一般生物的共同规律，又有其特点。**病毒遗传**是指病毒在复制增殖程中，其子代保持与亲代性状相对稳定的特性。病毒变异是在增殖过程中子代病毒出现某些性状的改变。病毒遗传是相对的，变异才是绝对的。

**（1）病毒的变异现象**

**1）毒力变异**（virulence variation） 病毒毒力对于易感动物而言可用半数致死量（50% lethal dose，LD50）表示，针对易感细胞用半数组织培养感染量（50% tissue culture infective dose，TCID50）表示。自然界中同一种病毒可有不同毒力的毒株。病毒毒力变异也可用人工方法获得。巴斯德将狂犬病病毒野毒株（wild strain）或街毒株（street strain）在兔脑内连续传代后，筛选到对狗及人致病性明显下降的减毒株（**固定毒**，fixed strain），作为预防人及动物狂犬病的疫苗。毒力变异常伴随其他性状变异，如温度敏感性突变株（temperature-sensitive mutants，ts株）、DIP同时可表现为毒力变异。

**2）抗原变异**（antigenic variation） 自然界中，有些病毒抗原性稳定，如天花（痘苗）病毒、麻疹病毒等。但也有一些病毒抗原性处在不断演变的过程中，如甲型流感病毒、HIV等，而多数病毒介于两者之间。病毒抗原变异直接影响病毒感染的转归与防治，对病毒疫苗筛选具有重要影响。一般而言，抗原变异越频繁的病毒，其疫苗研制难度越大。

**3）条件致死性突变**（conditional lethal mutation） 病毒突变后在特定条件下能增殖，但在原来条件下不能增殖，这种变异称为条件致死性突变。典型代表如**ts株**，28~35℃条件下能增殖，37~40℃则不能增殖，但野生株在两种温度下均能增殖。机制是病毒基因组中单点或多点突变而导致病毒蛋白（酶）结构及功能的变化。这种蛋白在允许温度内能功能正常，而当温度升高时其功能受限而使突变株不能增殖。大多数ts株常有毒力减低而保持其免疫原性。

**4）宿主适应突变株**（host-adapted mutant） 某些病毒初次接种时不能形成明显生长现象或病理变化，但经过连续传代后可逐渐适应在宿主中增殖并引起宿主病理变化，称为宿主适应突变株。例如，新分离的病毒开始时不能在某些细胞培养中生长，通过传代后逐渐适应。某种病毒野毒株开始时不易在动物体内建立稳定的病毒感染，但将病毒在体内连续传代后，有可能筛选到宿主适应突变株。

**5）耐药突变** 常因病毒酶基因突变而导致药物对靶酶的亲和力降低或失去作用，详见本教程有关内容。

**（2）病毒变异的机制**

**1）突变**（mutation） **病毒基因突变是由于核酸复制过程中发生差错而导致其序列的改变。**从分子水平上看，突变是由于病毒基因组中碱基组成和顺序的变化导致的遗传型变异。相对于其亲代或“野生型”病毒株，突变产物叫突变株（mutant），或变异株（variant）。由于病毒变异，同一宿主体内某种病毒在基因组序列上存在着微小的差异（heterogeneity，异质性），故称这种基因组异质性的病毒群体（population）为准种（quasispecies）。因为核酸序列具有相当程度的可塑性，如果病毒的突变仅限于遗传物质的改变，并未使编码的氨基酸改变，而不出现表型的变化，则称为沉默突变（silent mutation）。

病毒突变根据形成的原因可分为自发突变（spontaneous mutation）和诱发突变（induced mutation）两种：①**自发突变**，在自然条件下每种生物的突变都以一定的频率产生，每复制一次所发生突变的频率称为突变率。RNA病毒突变率比DNA病毒高得多。因为细胞中的RNA不是作为基因存在的，细胞不具备对RNA复制错误的“校对”系统（proof reading system），而RNA病毒本身也缺乏这一功能。因此复制时产生的差错易保存下来而导致变异。**②诱发突变**，是指应用各种物理和化学方法处理病毒或感染性核酸而发生的突变。如亚硝酸盐、羟胺等化学药物，温度及射线等物理因素都有诱发病毒突变的作用。

**2）病毒遗传物质（基因）间的相互作用** 当两个不同的病毒感染同一细胞时，在各自新合成的核酸分子之间可发生遗传物质（基因）的相互作用。

**基因重组**（gene recombination）两种不同病毒感染同一细胞时发生的核酸片段的互换，从而导致病毒的变异。基因重组通常发生在亲缘关系较密切的病毒之间，分为分子内重组和分子间重排两类。

不同病毒的基因组节段（分子间）互换重配简称为基因**重排**（gene reassortment），多见于基因组分节段的RNA病毒之间。当两种相关病毒在同一受染细胞中复制时，同源性基因组片段可随机分配而发生互换产生子代**重排株**（reassortant），该现象称为基因重排。如流感病毒、呼肠病毒等常以这种方式产生变异株。分子间重排可自然发生，其频率远高于分子内重组，这是基因组分节段的RNA病毒易产生遗传性变异的重要原因之一。目前认为甲型流感病毒新亚型的出现，可能是人与动物（禽、马、猪）间的流感病毒通过基因重排而产生的。

基因重组可导致两种类型的**基因复活**（genetic reactivation）：①交叉复活（cross reactivation）是由于一种活病毒和另一种与其基因组有联系而又有区别的灭活病毒之间发生的基因重组；②多重复活（multiplicity reactivation），是两个或多个灭活病毒间由于基因重组而产生具有各自亲代病毒不同特性的活病毒颗粒。此外，病毒还可以经人为方法进行人工基因重组。病毒基因重组方式有病毒基因间、灭活病毒基因间，以及活病毒与灭活病毒基因间相互作用。

**3）病毒基因产物间的相互作用** 当两种或以上的病毒混合感染时，病毒的相互作用还包括表型混合（phenotypic mixing）、基因型混合（genotypic mixing）、互补作用（complement）等基因产物（蛋白质）的相互作用，这也可导致子代病毒的表型变异，但这种变异不涉及基因重组，不能遗传。

**①表型混合**：当两种病毒混合感染时，产生的子代病毒有时含有双方或另一方亲代病毒的外壳或包膜蛋白，但其基因组仍未改变，只表现出抗原性及对宿主亲嗜性的改变，这种变异不稳定，传代后产生的子代病毒表型与其基因型一致，这称为表型混合。例如肠道病毒中脊髓灰质炎病毒与柯萨奇病毒之间子代的衣壳形成的表型混合。

**②基因型混合：**两种病毒的核酸或核衣壳偶尔合装在同一病毒的衣壳或包膜内，但两者的核酸都未重组，传代后产生与各自亲代病毒完全相同的子代病毒，这种现象称为基因型混合。在有包膜的病毒如副黏病毒中常可发现有多个核衣壳的病毒颗粒。

**③互补作用：**两种病毒混合感染时由于病毒基因产物间的相互作用而使一种不能增殖的病毒增殖，或两病毒的增殖均有所增加的现象。这种作用可发生在辅助病毒（helper virus）与缺陷病毒（defective virus）之间。如丁型肝炎病毒（缺陷病毒）必须与乙型肝炎病毒（辅助病毒）混合感染时才可增殖，乙型肝炎病毒可提供包膜蛋白，辅助丁型肝炎病毒完成其增殖周期而产生子代病毒，并且子代丁型肝炎病毒仍为缺陷型。

2.1.4. 病毒的抵抗力

细胞外的病毒体受到外界环境物理、化学因素影响失去感染性，称为灭活（inactivation）。灭活病毒仍可保留免疫原性、抗原性、红细胞吸附、血凝及细胞融合等特性。不同病毒对理化因素敏感性存在差异，灭活病毒的机制是：①破坏包膜病毒的包膜（冻融或脂溶剂）；②使病毒蛋白变性（酸、碱、温度等）；③损伤病毒核酸（变性剂、射线等）。了解理化因素对病毒活性的影响，在分离病毒、制备疫苗和预防病毒感染等方面具有重要意义。

（1）病毒对物理因素的抵抗力

1）温度 多数病毒耐冷不耐热，病毒标本应尽快低温冷冻保存。在干冰（-78.5℃）、超低温冰箱（-86℃）和液氮（-196℃）温度环境下，病毒感染性可保持数月至数年。多数病毒在50~60℃30分钟，100℃数秒钟可被灭活。但少数病毒例外，如乙型肝炎病毒需加热100℃ 10分钟才能被灭活。包膜病毒比裸露病毒更不耐热，37℃以上可迅速灭活。反复冻融也能使病毒灭活。有些病毒（正黏病毒、疱疹病毒、小RNA病毒）在有Mg2+、Ca2+等盐类存在时，能提高病毒对热的抵抗力。如用1mol/L MgSO4保存这类病毒可在50℃存活1小时。

2）射线  X射线、γ射线和紫外线都能灭活病毒。射线可以使病毒核酸链发生断裂；而紫外线则使病毒基因组中核苷（酸）结构形式变化或形成胸苷-胸苷二聚体，影响核酸复制。日光中紫外波长在287~400nm之间，人工紫外灯的紫外线波长250~280nm，这些波长的紫外线均可使病毒灭活；但有些病毒如脊髓灰质炎病毒经紫外线灭活后，再遇到可见光照射可激活修复酶，经光修复作用使灭活的病毒复活。因此，不能用紫外线来制备灭活疫苗。

（2）病毒对化学因素的抵抗力

**1）pH** 多数病毒在pH5.0~9.0范围内稳定，强碱或强酸条件下可被灭活。但有些病毒如肠道病毒在pH2.0时感染性可保持24小时，包膜病毒在pH8.0时也可保持稳定。可利用对pH稳定性来鉴别病毒，也可利用酸性、碱性消毒剂消杀污染器具及环境中的病毒。

**2）脂溶剂** 乙醚、氯仿、去氧胆酸盐、阴离子去污剂等脂溶剂能使病毒包膜溶解破坏，使包膜病毒失去吸附能力而灭活。脂溶剂对无包膜病毒（如肠道病毒）几乎无作用，故常用乙醚灭活试验鉴别病毒有无包膜。

**3）化学消毒剂**  除强酸、强碱消毒剂外，酚类、氧化剂、卤类、醇类等对病毒均有灭活作用。常用1%~5%苯酚、75%乙醇、碘及碘化物、漂白粉等灭活病毒。

**2.1.5. 病毒的分类与命名**

病毒分类学是从整体上对病毒起源、进化、共性及特性等系统地归纳研究，旨在更好地①了解病毒进化关系，揭示生命的多样性及其起源；②规范病毒分类和命名原则，揭示病毒遗传性状及致病特点；③为开发利用病毒资源，对病毒性疾病诊断、治疗、预防提供依据。

**（1）**病毒分类机构及其病毒分类系统

国际病毒分类委员会（International Committee on Taxonomy of Viruses，ICTV）负责制定病毒分类标准，制定病毒分类**层级**（rank）或阶元（taxa），并不断修订和维护病毒分类体系，发布病毒分类报告和决议（ICTV Report）。目前，ICTV采用了**2019年颁布的15个层级的新版病毒分类系统**，包括8个主要层级（principal rank）和7个次生层级（derivative rank）；同时废除了1971年～2017年一直沿用的5个分类阶元（目、科、亚科、属、种）的分类系统。截止到2023年8月底，ICTV在线资源共有11 273个病毒种（species），归属于6域（realm），10界（kingdom），17门（phylum），40纲（class），72目(order)， 264科（family），2818属（genus）。15个不同分类等级（阶元）的病毒命名或名称，以病毒名后特定的词尾区别。此外，目前尚有大量病毒未纳入上述系统分类。

（2）病毒的分类和命名原则

ICTV早期制定的病毒分类原则主要考虑病毒的生物学性状，包括：①宿主种类；②基因组核酸类型及序列相似性；③病毒形态与大小；④核衣壳的对称型；⑤有无病毒包膜及对乙醚等脂溶剂的敏感性；⑥抗原性；⑦病毒在宿主细胞中的增殖部位、复制策略以及生长特性；⑧人类病毒还应考虑传播方式、传播媒介的种类、流行病学及病理学特征等因素。从上世纪90年代开始，病毒基因组序列和系统发育关系逐步成为病毒分类的主要依据。目前，病毒宏基因组数据也可以用于病毒分类。

病毒从其“境”或“圈”（*Realm*）名到“种”（*Species*）名由ICTV确定，适用于所有病毒。名称一律为斜体，第一个字母大写；种名的首字母大写，其他词（除专有名词和序号词外）一律小写。ICTV不统一规定病毒种以下的分类和命名，种以下的血清型、基因型和病毒分离株名称由研究者或研究团队确定，名称不用斜体，首词第一个字母不用大写。由病毒等病原微生物引起的人类疾病则由世界卫生组织统一命名。

近年来，随着大量新病毒的不断发现，ICTV对病毒的分类系统和命名进行了不断更新。在实际工作中或者发表文章时，除了标注正式的病毒分类名称外，仍在沿用传统的病毒名称（俗名）和英文书写方法。病毒名称的英文书写方式在不表示科、属、种等分类学地位时，均使用小写和正体表示的国际通用的病毒俗名。如单纯疱疹病毒写为herpesvirus和冠状病毒写为coronavirus。

（3）亚病毒因子

ICTV将一类比常规病毒更小，在结构、化学组成及复制过程不同于常规典型的真病毒（euvirus）的传染因子，统称为亚病毒因子（subviral agents），包括类病毒、卫星病毒和朊粒。亚病毒因子不是严格意义上的病毒分类学名称。

1）类病毒（viroid） 具有感染性的小RNA分子。其特点是：①仅由200~400个核苷酸组成，具有棒状二级结构的单链环状RNA分子；②病毒RNA在细胞核内复制，主要依赖宿主细胞RNA聚合酶Ⅱ合成RNA，不需要辅助病毒参与；③类病毒不含蛋白质，也不编码蛋白质。类病毒均在植物中发现，仅有部分类病毒可引起植物疾病。

2）卫星病毒（satellite virus） 是一类在没有特异性辅助病毒（helper virus）协助下，在细胞内不能独立完成增殖的病毒。卫星病毒特点是：①具有完整的病毒体结构，包括DNA和RNA病毒；②某些卫星病毒的基因组可编码自身的蛋白衣壳（如丁型肝炎病毒），但也有一些卫星病毒基因组依赖辅助病毒提供蛋白衣壳；③复制必须依靠辅助病毒，但对辅助病毒的复制不是必需的，复制地点与辅助病毒完全相同；④与辅助病毒之间无或很少有同源序列；⑤常干扰辅助病毒的增殖。卫星病毒多数属于植物病毒，少数为动物病毒的卫星病毒和噬病毒体。如**腺病毒相关卫星病毒**（adenovirus-associated satellite virus）和拟菌病毒相关卫星病毒（mimivirus-associated satellite virus）。ICTV已将卫星病毒从亚病毒因子中移出，纳入到**新的病毒分类**系统中进行分类。

3）朊粒（prion）又称朊病毒 是一种只由细胞基因编码的具有传染性的异构型蛋白颗粒。哺乳动物和人类中枢神经系统慢性进行性传染病（朊粒病）与朊粒感染有关。**朊粒不属于病毒分类学名称**。

2.2. 病毒感染的免疫防御机制

2.2.1. 机体固有免疫

**机体固有免疫** 是指机体与生俱来的、与抗原刺激无关的免疫，也称为天然免疫或者非特异性免疫。主要由免疫屏障、固有免疫细胞和固有免疫分子所组成。

2.2.1.1.机体免疫屏障

（1）物理屏障 主要由上皮细胞及其之间的紧密连接所组成，具有防御病毒入侵和保持机体内环境中水分及营养物质不散失的作用，包括体表屏障和体内屏障。

1）体表屏障 覆盖在机体体表的物理屏障，包括皮肤和黏膜。

2）体内屏障 在机体内对特殊器官或者组织进行保护的结构，可以提升对病原体的防御能力，还能使这些器官与全身免疫系统相隔离。主要包括血脑屏障和胎盘屏障等。

（2）化学屏障 指在物理屏障表面具有的能够抵御及清除入侵病原体或者异物的化学物质。这些物质包括酸性物质、防御素、溶菌酶、补体、分泌型IgA（SIgA）等。

（3）生物屏障 指在免疫屏障中的正常微生物群体，也称为正常菌群，可以通过占位、营养剥夺和分泌抗生素等方式帮助机体抵抗病原体的感染。

（4）黏膜免疫系统 指广泛分布于呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道黏膜下的弥漫性淋巴组织，主要在黏膜局部发挥抗感染的作用。

2.2.1.2.机体固有免疫细胞

（1）抗病毒感染免疫的模式识别

1）病原相关分子模式（PAMP）。病原相关分子模式是指病原体中存在一些进化上非常保守的、与哺乳动物细胞不同的标志性分子组分，其可被宿主免疫系统所识别，是病原体入侵和感染的“危险信号”，能够诱发机体免疫系统进行免疫应答。

2）模式识别受体。模式识别受体（PRR）是指在哺乳动物细胞上存在的一类可以识别PAMP并介导固有免疫应答的受体。根据细胞定位和相关功能，PRR主要可分为血清分泌型PRR、膜结合内吞型PRR、膜结合信号转导型PRR及胞质的信号转导型PRR等4种。

①血清分泌型PRR。在血清中存在的PRR，主要包括甘露聚糖结合凝集素（MBL）和C-反应蛋白（C-reactive protein，CRP）。

②膜结合内吞型PRR。巨噬细胞表面表达的跨膜受体，可识别并结合相应PAMP，介导吞噬细胞对病原体的摄取和运输，主要包括清道夫受体（SR）和甘露糖受体（MR）等。

③膜结合信号转导型PRR。主要是TLRs，根据其的亚细胞定位不同，可将TLR分为两大类：细胞表面的TLR（TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6 等）和细胞内细胞器，如溶酶体、内体（endosome）及内质网的TLR（TLR3、TLR7、TLR8、TLR9）。

④胞质的信号转导型PRR。功能类似于TLR，可在抗病毒感染中发挥作用。主要包括RIG样受体（RLR）和NOD样受体（NLR）等。

（2）单核/巨噬细胞

1）单核细胞 是血液白细胞的成分之一，来自骨髓造血干细胞分化而成，可在组织中分化为巨噬细胞，可吞噬和杀灭入侵的病原体和清除进入机体的异物。

2）巨噬细胞 能够吞噬和杀灭入侵的病原体和清除进入机体的异物，可由血液中的单核细胞分化而来，在组织中也存在着起源于胚胎的组织驻留性巨噬细胞。单核/巨噬细胞因细胞体积相对较大，因此也被称为大吞噬细胞。

（3）中性粒细胞 是外周血中数量最多的白细胞，自骨髓造血干细胞分化而成，可进入组织发挥吞噬和杀灭入侵病原体及清除进入机体异物的作用，因其体积比单核/巨噬细胞小，所以也被称为小吞噬细胞。

（4）NK细胞 来源于骨髓造血干细胞，属于淋巴细胞的一个亚群，可非特异性地杀伤病毒感染的宿主细胞及发生基因突变而有恶性倾向的潜在肿瘤细胞。

（5）树突状细胞 来源于骨髓造血干细胞，在外周血中含量极少，但其具有强大的抗原提呈功能，是初次免疫应答时，唯一一种可以启动免疫应答的抗原提呈细胞（APC）。

（6）其它固有免疫细胞 在抗病毒感染中的作用。在病毒感染过程中，γδT细胞、自然杀伤T细胞（NKT 细胞）、B1细胞、肥大细胞、嗜碱性细胞及嗜酸性细胞等固有免疫细胞，也都可以通过分泌细胞因子或者杀伤病毒感染细胞等方式，发挥着比较重要的抗病毒免疫防御或者免疫调节功能。

2.2.1.3. 固有免疫分子

（1）干扰素

1）干扰素。干扰素（IFN）是1957 年人们在研究流感病毒时发现的。IFN由细胞产生，是病毒感染早期最重要的一类具有抗病毒增殖活性的细胞因子，为一类小分子量糖蛋白，具有抗病毒、抑制肿瘤以及免疫调节等多种生物活性。

2）干扰素的诱生。病毒等在细胞内繁殖的病原体、细菌内毒素、原虫及人工合成的双链RNA 等均可诱导细胞产生干扰素，其中以病毒和人工合成的双链RNA 诱生干扰素的能力最强。受干扰素诱生剂作用的巨噬细胞、淋巴细胞及组织细胞均可产生干扰素。

3）干扰素的生物学活性。干扰素具有广谱的抗病毒活性，其作用特点是间接性、种属特异性和广谱性。

4）干扰素的分类。人类细胞诱生的干扰素根据基因定位、抗原性以及受体的不同，可将人类细胞产生的干扰素分为三类（家族）：Ⅰ型、Ⅱ型以及Ⅲ型。Ⅰ型IFN包括IFN-α亚型和IFN-β、IFN-κ、IFN-ε、IFN-σ和IFN-δ等13种。 Ⅱ型IFN只有一个成员，即IFN-γ。Ⅲ型IFN（又称为IFN-λ）包括IL-28A、IL-28B及IL-29三个成员。

5）干扰素的抗病毒作用的机制。干扰素本身并不能直接灭活病毒，而是通过与细胞表面的干扰素受体结合，激活受体介导的信号转导通路，引发一系列细胞生物学/生化反应，使细胞合成多种抗病毒蛋白（AVP），由这些抗病毒蛋白阻止病毒的生物合成与复制，从而发挥抗病毒感染的作用

（2）补体

1）补体。补体是存在于动物血清中的一组具有酶原作用的固有免疫分子，并激活后，可发生级联酶促反应，形成攻膜复合物，溶解和杀伤被病毒感染的靶细胞，发挥抗病毒感染免疫的功能。

2）补体的激活。补体可以通过经典激活途径、MBL途径以及旁路途径被激活，发挥抗病毒感染免疫的作用。

（3）防御素

1）防御素。防御素（defensin） 是机体最主要的抗感染多肽之一，广泛存在于动物、植物及昆虫体内，是一类富含精氨酸的阳离子多肽，对细菌、真菌及某些包膜病毒具有直接杀灭作用。

2）防御素的分类。防御素可分为α-防御素、β-防御素和ɵ防御素等，人体中以α-防御素为主。

3）防御素的抗病毒作用机制。防御素的抗病毒作用机制主要包括结合及破坏病毒包膜脂质，使其裂解死亡；诱导病原体产生自溶酶；增强吞噬细胞对病毒的吞噬及清除作用。

（4）急性期反应蛋白

1）急性期反应蛋白。急性期蛋白（APP）是能够反映病原体感染早期机体一系列高度复杂免疫/炎症反应的一组血清蛋白，其在感染及炎症的恢复中发挥着重要作用。

2）急性期反应蛋白的组成。急性期反应蛋白的组成成分有很多种，其中比较典型的组分有脂多糖结合蛋白（LBP）、甘露糖结合凝集素（MBL）、C-反应蛋白（CRP）等。

（5）其它固有免疫分子

其它固有免疫分子抗病毒感染作用。除干扰素之外，IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、MIP-1等细胞因子或者固有免疫分子，也可以发挥抗病毒感染和免疫调节作用。

2.2.2. 机体适应性免疫

适应性免疫应答 是指宿主免疫系统在受到某种特定抗原刺激之后，活化并产生针对该抗原特异性的免疫应答，具有特异性、反应性和记忆性的特点，反映了宿主针对其生活环境中抗原的适应性，也称为获得性免疫应答或者特异性免疫应答。主要包括：

2.2.2.1. 体液免疫

体液免疫是指以抗体等体液中可溶性免疫分子主要介导的适应性免疫应答。

（1）抗病毒体液免疫应答体液免疫在抗病毒感染中的作主要是针对细胞外游离的病毒，中和其感染宿主细胞，同时对于表面表达病毒蛋白抗原的被感染细胞，抗体也可以介导ADCC或者活化补体等作用，将其进行杀伤。

（ 2）中和抗体 机体内的部分抗病毒特异性抗体能够与病毒感染蛋白结合，从而阻断病毒感染宿主细胞。能够介导抗病毒吸附和穿入的特异性抗体，称为病毒中和抗体。

2.2.2.2.细胞免疫

细胞免疫是指以CTL、NK细胞和单核/巨噬细胞等免疫细胞作为主要免疫应答效应产物而介导的免疫应答。

在抗病毒细胞免疫应答中，细胞免疫可以清除被病毒感染宿主细胞中的病毒，主要由Th1细胞、CTL介导。抗病毒细胞免疫不仅可以吞噬、杀伤病毒感染细胞，还能分泌的多种具有抗病毒活性的细胞因子而发挥抗病毒免疫的作用。

2.2.2.3.病毒的免疫逃逸

虽然机体具有强大的抗病毒免疫功能，但病毒可以通过抗原变异、抑制干扰素等免疫成分的作用等方式，逃逸机体免疫系统的抗感染防御反应，感染宿主。

**2.3. 病毒感染与致病**

**2.3.1.病毒感染传播方式与感染途径**

**2.3.1.1.病毒感染传播方式**

（1）病毒传播

1）水平传播，病毒在人群不同个体之间的传播，包括人-人和动物-人之间（包括通过媒介）的传播。

2）垂直传播，病毒由亲代宿主传给子代的传播方式，包括：①宫内传播；②产道传播；③新生儿哺乳传播

（2）病毒播散

1）直接接触播散，细胞-细胞接触。

2）经血液播散，进入血液后，或者感染吞噬细胞或淋巴细胞后，通过血液向全身播散。病毒进入血液称为病毒血症（viremia），有些病毒可引起二次病毒血症。

**2.3.1.2.病毒感染途径**

（1）呼吸道感染；（2）消化道感染；（3）血液感染；（4）眼或泌尿生殖道感染；（5）破损皮肤感染；（6）宫内感染；（7）产道感染；（8）新生儿哺乳感染。

**2.3.2.病毒感染与致病机制**

**2.3.2.1.病毒对宿主细胞的致病作用**

（1）杀细胞效应

病毒在宿主细胞内复制完毕，可在很短时间内一次释放大量子代病毒，细胞被裂解而死亡。主要见于无包膜、杀伤性强的病毒。体外实验中，通过细胞培养和接种杀细胞病毒，经一定时间后，可用显微镜观察到细胞变圆、坏死，从瓶壁脱落等现象，称为致细胞病变作用。

病毒杀细胞效应的主要机制：

1）病毒编码早期蛋白（酶类等），通过各种途径抑制、阻断（或降解）细胞核酸或蛋白质合成。

2）病毒感染、复制过程中对细胞核、内质网、线粒体等细胞器造成损伤。

3）病毒感染可导致细胞溶酶体结构和通透性的改变，溶酶体中的酶类释放出来引起细胞自溶。

4）病毒抗原成分也可插入细胞膜表面，引起抗原改变，造成细胞融合，或引起免疫性细胞杀伤。

5）病毒产生的毒性蛋白具有直接杀伤宿主细胞的作用。

（2）稳定状态感染

病毒进入细胞后能够复制，却不引起细胞立即裂解、死亡，病毒以出芽方式释放子代，其过程缓慢，短时间内一般不引起细胞裂解或死亡。

1）稳定状态感染可引起宿主细胞融合，利于病毒的扩散，病毒借助于细胞融合，扩散到未受感染的细胞。

2）稳定状态感染的细胞膜上常出现新抗原。

（3）包涵体形成

1）包涵体定义：某些病毒感染的细胞内，用普通光学显微镜可观察到与正常细胞结构差异和着色不同的圆形或椭圆形斑块，称为包涵体。

2）包涵体在细胞中的位置：有嗜酸性的或嗜碱性的，有的位于胞质内（痘病毒），有的位于胞核中（疱疹病毒），或两者都有（麻疹病毒）。可作为病毒感染的诊断依据。

3）包涵体产生原因：①病毒颗粒的聚集体；②病毒增殖留下的痕迹；③病毒感染引起的细胞反应物。

（4）细胞凋亡、焦亡和自噬

1）细胞凋亡：病毒感染可导致宿主细胞发生凋亡，这一过程可能促进细胞中病毒释放，限制细胞生产的病毒体的数量。但有些病毒感染则可抑制宿主细胞的早期凋亡，提高细胞产生子代病毒体的数量。

2）细胞焦亡：一种类似于细胞凋亡的程序性细胞死亡方式，是机体对抗病原体感染的重要免疫防御反应。细胞焦亡过度激活时，反而会加剧疾病的进程。

3）细胞自噬：细胞自噬在病毒感染中具有双重性质。一方面，它可以通过直接降解病毒，抵抗病毒感染和寄生，发挥重要作用；另一方面，病毒也可能利用自噬机制加速其复制。

（5）基因整合

某些DNA病毒和RNA逆转录病毒在感染过程中可将基因整合于宿主细胞基因组中。

1）RNA逆转录病毒先以RNA为模板逆转录合成cDNA，再以cDNA为模板合成双链DNA，此双链DNA全部整合于细胞染色体DNA中。

2）DNA病毒在复制中，可将部分DNA片段随机整合于细胞染色体DNA中。

（6）细胞增生与转化

有些病毒感染后会导致细胞转化，增殖变快，失去细胞间接触抑制，细胞转化也可由病毒蛋白诱导发生。

基因整合或其他机制引起的细胞转化与肿瘤形成密切相关

**2.3.2.2.病毒对机体的致病作用**

（1）病毒对组织细胞的损伤

病毒感染具有宿主种属特异性和组织嗜性。细胞病毒受体的特异性决定了病毒的宿主范围、对特定组织器官的损伤，也是形成不同临床表现的原因

（2）病毒感染介导的免疫病理损伤

1）病毒感染介导的体液免疫病理作用

①Ⅱ型超敏反应：许多病毒（特别是有包膜病毒）能诱发受染细胞表面出现新抗原，诱导的特异性抗体与这些抗原结合后，在补体参与下引起Ⅱ型超敏反应，导致细胞溶解及组织损伤。

②Ⅲ型超敏反应：有些病毒抗原与相应抗体结合形成免疫复合物可长期游离于血液中，当复合物沉积在某些器官组织的膜结构表面时，招募并激活补体引起Ⅲ型超敏反应，造成组织器官损伤。

③I型超敏反应：呼吸道病毒感染常出现抗体IgE介导的I型超敏反应。

2）病毒感染介导的细胞免疫病理作用

Ⅳ型超敏反应：在清除胞内感染的病毒时，特异性细胞毒性T淋巴细胞（CTL）也会对病毒感染细胞（包括出现了新抗原时）造成损伤。病毒感染后，激发Thl细胞和CTL抗感染免疫，导致以单核细胞浸润为主的炎症和组织细胞损伤，属于Ⅳ型超敏反应。

3）自身免疫病理损伤

①约4%病毒的蛋白与宿主蛋白存在共同抗原表位。因此，可导致机体特异性细胞免疫机制针对自身组织的这类“共同抗原”引发自身免疫应答。

②有些病毒感染导致宿主细胞损伤后，还会使自身“隐蔽抗原”暴露，产生自身免疫应答。

③病毒感染免疫系统后可致免疫应答功能紊乱，也会引起机体免疫系统失去对自身与非自身抗原的识别功能，引发自身免疫病。

4）细胞因子风暴

①定义：短期内机体大量分泌多种细胞因子，造成严重的病理损伤。

②机制：机体促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间的平衡失调，体液中迅速、大量产生多种促炎细胞因子包括TNF-α、IL-1、IL-6等，引发全身炎症反应综合征，严重者可导致多器官功能障碍综合征（MODS），甚至死亡。

（3）病毒感染对免疫系统的致病作用

病毒可通过逃避免疫监视、防止激活免疫细胞或者阻止免疫应答发生诸多方式实现病毒的逃逸免疫应答作用。其机制主要为：

1）病毒感染引起免疫抑制

病毒感染一般都可引起机体免疫应答降低或暂时性免疫抑制，使病毒难以清除，且这种免疫抑制状态常导致细菌等继发感染

2）病毒对免疫细胞的直接杀伤作用

人类免疫缺陷病毒（HIV）可侵犯巨噬细胞和T辅助细胞（CD4+T细胞），并杀伤CD4+T细胞，使其数量大量减少，造成细胞免疫功能缺陷。

**2.3.2.3.病毒的免疫逃逸**

（1）细胞内寄生。

（2）抑制机体抗病毒物质。

（3）损伤免疫细胞。

（4）病毒基因组变异及病毒抗原多态性。

（5）降低MHC抗原的表达。

（6）抗体依赖性增强作用。

**2.3.2.4.病毒与肿瘤**

（1）肿瘤病毒的类型

1）RNA肿瘤病毒：主要包括逆转录病毒科部分病毒和黄病毒科的丙型肝炎病毒。

①高度致癌：携带病毒癌基因。

②弱致癌：一般不含癌基因，其通过间接机制在长时间的潜伏后诱发肿瘤。

2）DNA肿瘤病毒：主要包括乳头瘤病毒、多瘤病毒、疱疹病毒和嗜肝病毒。

（2）肿瘤病毒致瘤的机制

1）病毒癌基因。

2）抑制细胞凋亡。

3）调控细胞微环境。

4）逃避宿主免疫监视作用。

5）宿主细胞重编程。

**2.3.2.5.其它因素对病毒致病性的影响**

（1）自然因素对病毒致病性的影响：气候、季节、温度、地理位置以及自然灾害等。

（2）社会因素对病毒致病性的影响：社会制度、经济发展水平、文化教育、医疗卫生条件、生活方式和水平，以及战争等。

2.4. 病毒感染的病原学检测

2.4.1. 病毒感染的病原学检测概述

病毒感染的病原学检测，亦称**病毒学诊断**（virological diagnosis），是指对来自病毒感染性疾病患者的标本，依靠病毒形态学检查、分子诊断技术、免疫学技术和病毒分离培养与鉴定等，检测标本中病毒体、病毒蛋白和病毒核酸，或病毒侵入后机体的免疫应答产物，最终鉴定出病毒的种属甚至型别，从而达到病原学诊断的目的。病毒学诊断是确诊病毒感染性疾病的客观依据，决定了对患者的管理决策和治疗方案。应依据采集标本的类型、待检病毒的种属分类及其所致疾病的临床特点，选择适宜的病毒学诊断技术。标本采集、运送和检测过程中均要在符合生物安全要求的条件下进行，做好个人防护、样品防护和实验室防护，防止病毒感染与传播。

2.4.2. 标本采集与送检的原则

2.4.2.1.标本采集时间

分离或检测病毒应尽可能在病程的早期阶段、急性发作期或症状典型时，或使用抗病毒药物之前采集标本。在不同病程的情况下，病毒感染标志物的检测结果存在差异。例如，在发病时和急性期大多可以检测出病毒，在前驱期可能检测出，而在潜伏期、恢复期和痊愈期基本无法检测出。选取恢复期、痊愈期和急性期标本检测病毒抗体，少数发病早期的标本可能检测出，而潜伏期和前驱期不能检测出抗体。

2.4.2.2.标本种类与部位

应依据感染部位、疾病类型和病程来确定应采集的标本，核心是保证标本中存在活的病毒或可检测到的病毒成分。例如，流感病毒感染者的咽漱液或鼻咽拭子；腮腺炎病毒感染者的唾液或脑脊液；轮状病毒感染者的粪便；单纯疱疹病毒感染者的水疱液或阴道拭子；人类免疫缺陷病毒感染者的血液；狂犬病死者或动物的脑组织；病毒血症期取血液等。

2.4.2.3.标本处理、保存和送检

取材时应无菌操作，将采集到的标本盛放于无菌容器中，避免标本被环境中的微生物所污染。有细菌或真菌污染的标本进行病毒分离培养时，需要使用抗细菌或抗真菌药物处理，并离心除去污染的细菌或真菌。无菌的血液、脑脊液可直接接种于细胞。病毒耐冷怕热，离体后在室温易失活，标本应低温保存并尽快送检。不能立即送检的标本置-80℃以下保存，病变组织可置于50%甘油缓冲盐水中保存。用于检测抗体的全血必须在冻存前分离出血清。用于细胞培养的组织应在4℃保存。应避免反复冻融，若一份样本进行多种检测，宜分装保存。盛放标本的容器表面贴好标签，准确填写标本送检单，注明患者姓名、年龄、性别和疑似诊断等信息以及标本来源和检验目的，便于实验室选择适宜的培养和鉴定方法。

2.4.2.4.血清学诊断标本

检测病毒IgG抗体的血清标本应采集双份血清，动态观察抗体效价变化。如在急性期和恢复期各采集一份血清，观察两份血清中抗体效价的动态变化。通常恢复期血清抗体效价比急性期效价升高4倍或以上时具有诊断价值。

2.4.3. 病毒形态学检查

2.4.3.1.电子显微镜检查

扫描电镜（scanning electron microscope，SEM）主要用于观察病毒的大小、形态和表面结构，透射电镜（transmission electron microscopy，TEM）还用于观察病毒内部的超微结构。含有高浓度病毒颗粒（≥107颗粒/mL）的标本或病变组织，可直接应用磷钨酸负染后电镜观察，依据病毒的形态和大小，可初步鉴定到病毒科或属。对含低浓度病毒的样本（如粪便中的轮状病毒），可超速离心后取标本沉淀物进行电镜观察，以提高检出率；亦可用病毒特异性抗体与样本作用，形成病毒-抗体复合物，电镜观察则明显提高检测敏感性并具有特异性，称为免疫电镜技术（immuno-electron microscopy）。电镜技术因成本高和不甚敏感，较少用于临床的常规病原学诊断，但对胃肠道病毒及新发病毒性感染的诊断，仍具有重要价值。有些病毒如埃博拉病毒、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、轮状病毒和诺如病毒等均是利用电镜首次发现的。此外，近年来采用冷冻电子显微镜（cryo-electron microscopy）及电子断层成像技术可观察病毒完整的三维形态结构。

2.4.3.2.光学显微镜检查

针对病理标本、含有脱落细胞及针吸细胞或培养细胞的标本，在光学显微镜（light microscopy）下观察细胞内出现的嗜碱性或嗜酸性包涵体、或多核巨细胞，可作为病毒感染的辅助诊断。包涵体多呈圆形或卵圆形，位于胞质（如狂犬病毒）、胞核（如疱疹病毒）、或胞质和胞核内均有（如麻疹病毒）。如取可疑病犬的大脑海马回制成组织切片并染色，在光学显微镜下见到胞质内嗜酸性**内基小体**（Negri bodies），可诊断为狂犬病；对疑似麻疹患者早期的眼、鼻咽分泌物涂片，瑞氏染色镜检，观察到多核巨细胞，诊断阳性率高达90%。此外，标本还可根据病理特征，再配合针对病毒抗原的免疫组化技术或免疫荧光技术、或针对病毒核酸的原位杂交技术等，予以辅助诊断病毒性感染。

2.4.4. 病毒的分离培养与鉴定

病毒的分离培养与鉴定是病毒感染的病原学诊断的金标准。但因为病毒的分离培养方法繁杂，要求条件高且培养需时较长，故没有作为常规的临床诊断技术。病毒的分离培养仅在以下情况应用：①怀疑为新发或再发病毒性感染的病原体鉴定；②同症多因的病毒性感染的鉴别诊断；③病程长且常规技术诊断较为困难的病毒性感染的诊断；④监测病毒减毒活疫苗的效果（如及时发现恢复毒力的变异株）；⑤流行病学调查；⑥开展病毒特性相关的科学研究。

2.4.4.1.病毒的分离培养

（1） 动物接种（animal inoculation）是最早采用的病毒培养方法，根据病毒的嗜性选取敏感的动物和合适的途径进行病毒接种，然后观察动物发病情况，并采集病变标本进行病毒鉴定。目前该方法已很少应用于病毒感染的诊断，主要用于病毒学研究。

（2）鸡胚接种（embryonated egg inoculation）有些病毒如正黏病毒、痘病毒和疱疹病毒等可用受精鸡蛋形成的鸡胚进行分离。依据病毒种类选用不同胚龄的鸡胚，接种于不同部位，包括绒毛尿囊膜、尿囊腔、羊膜腔和卵黄囊等。目前，鸡胚培养主要用于分离流感病毒，初次分离时接种羊膜腔，传代适应后可移种尿囊腔。

（3） 细胞培养（cell culture） **是目前最常用的病毒分离培养方法**。根据病毒的细胞嗜性，选择适当的细胞。根据细胞生长的方式，可分为单层细胞培养（monolayer cell culture）和悬浮细胞培养（suspended cell culture）；从细胞来源、染色体特性、传代次数和用途等，可将细胞分为：①**原代培养细胞** （primary cultural cell），指来源于动物、鸡胚或引产人胚组织的细胞，如猴肾或人胚肾细胞等；对多种病毒的敏感性高，适用于从临床标本中分离病毒，但细胞来源困难；②**二倍体细胞株**（diploid cell strain），指细胞在体外分裂50~100代后仍保持2倍体染色体数目的单层细胞，但经多次传代后也会出现细胞老化、以致停止分裂，如来自人胚肺组织建立的WI-26和WI-38株；常用于病毒分离以及疫苗生产；③**传代细胞系**（continuous cell line），指能在体外连续传代的细胞，由肿瘤细胞或二倍体细胞突变而来，如HeLa细胞、HEP-2细胞等；对多种病毒的感染性稳定，但不能用肿瘤来源的传代细胞系生产人用疫苗。

2.4.4.2.病毒的鉴定

（1） 病毒在培养细胞中增殖的鉴定指标

1）**细胞病变效应**（cytopathic effect, CPE）：部分病毒在敏感细胞内增殖引起的细胞镜检形态学变化，细胞呈现胞内颗粒增多、皱缩、变圆、形成包涵体或多核巨细胞，甚至出现细胞溶解、死亡和脱落等。溶细胞型病毒感染细胞可出现CPE；不同病毒的CPE特征不同。如腺病毒可引起细胞圆缩、死亡细胞呈葡萄样聚集并脱落；而副黏病毒、呼吸道合胞病毒等可引起细胞融合，形成多核巨细胞（又称为合胞体）。因此，观察CPE特点和所用细胞类型，可初步判定标本中感染的病毒种类。

2）**红细胞吸附**（hemadsorption）：有些病毒的血凝素能与人或一些动物（鸡、豚鼠等）的红细胞凝集。这种带有血凝素的病毒感染易感细胞后，血凝素可表达在细胞表面，向该细胞中加入红细胞，可观察到感染细胞表面有红细胞聚集现象，称为红细胞吸附。

3）**细胞代谢的改变**： 病毒感染细胞后可引起细胞的代谢发生改变，导致培养基的pH变化。这种培养环境的生化改变也可作为病毒增殖的指征。

（2）血凝试验（hemagglutination test，HA）及血凝抑制试验（hemagglutination inhibition test, HI） 将含有血凝素的病毒加入到人或一些动物（鸡、豚鼠等）的红细胞悬液中，可导致红细胞发生凝集，称为红细胞凝集试验，简称血凝试验。血凝试验阳性可作为病毒增殖的指标。若将病毒悬液作不同稀释，以引起一定程度血凝反应的病毒的最高稀释度作为血凝效价，可对病毒含量进行半定量检测。该红细胞凝集现象可被相应病毒的血凝素抗体或抗病毒血清抑制，即血凝抑制试验。其原理是当血凝素抗体与病毒表面的血凝素结合后，阻止了血凝素与红细胞表面受体结合，从而抑制红细胞凝集现象的产生。用已知病毒的抗血清，可鉴定病毒种类、型及亚型，如鉴定流感病毒和乙型脑炎病毒等；用已知病毒，可测定患者血清中有无相应抗体，并能检测血清中抗体的效价，如检测流感病毒的血凝抑制抗体可协助流感的诊断。

（3）中和试验（neutralization test） 用已知的中和抗体或抗病毒血清先与待测病毒悬液混合，在适温下作用一定时间后接种敏感细胞，经培养后观察CPE或红细胞吸附现象是否消失，即病毒能否被特异性抗体中和而失去对敏感细胞的感染性。既可作为病毒增殖的指标、鉴定病毒种类，还可以测定中和抗体水平。

（4）其他病毒鉴定方法 包括病毒形态学检查，如病毒悬液经高度浓缩和纯化后，用电子显微镜直接观察病毒的形态和大小；对不能导致明显细胞病变的病毒，利用其特异性抗体进行免疫荧光或免疫酶染色，检测细胞内的病毒抗原，或采用分子诊断技术检测病毒核酸。

2.4.4.3.病毒数量与感染性测定

对于已增殖或纯化的病毒悬液，应进行病毒的感染性和数量的测定。**在单位体积内测定感染性病毒的数量称为滴定**。病毒滴定常用的方法有：

（1）蚀斑形成试验（plaque forming test，PFT） 将一定体积的适当稀释度的待检病毒液接种于敏感细胞单层，经一定时间培养后，覆盖一层琼脂在细胞上，待其凝固后继续培养，由于病毒的增殖使局部被感染的单层细胞病变，形成肉眼可见的**蚀斑**（plaque）。一个蚀斑通常是由一个病毒感染并增殖所形成的，又称为一个**蚀斑形成单位**（plaque forming unit，PFU）。计数单位体积内的培养皿中的蚀斑数，可推算出待检病毒液中活病毒的数量，通常以PFU/mL表示。PFT既是测量病毒液滴度的经典方法，也是制备病毒纯种的方法。

（2）50%组织细胞感染量（50% tissue culture infectious dose，TCID50）测定 将待测病毒液作10倍系列稀释，分别接种并感染敏感细胞单层，经培养后观察CPE，以能感染50%细胞的病毒液最高稀释度为判定终点，经统计学处理计算TCID50。TCID50是综合判断病毒的感染性、毒力和数量的经典方法。

（3）病毒滴定的其他方法 除上述方法外，传统上还可用红细胞吸附抑制试验、血凝抑制试验和中和试验等进行病毒滴定。这些传统的技术方法操作较为繁琐、结果观察有一定的主观因素。**目前常用的病毒滴度技术是采用免疫学和分子技术直接检测病毒抗原和核酸**，较传统技术操作更加简便、快速且结果更客观。

2.4.5.病毒成分检测

2.4.5.1.病毒核酸检测

利用分子技术进行病毒的核酸检测，是近年来病毒性感染的临床诊断中较为常用的方法，其优点包括：①可用于检测常规培养系统不能培养的病毒；②可用于少量标本或含少量病毒的标本的检测；③可用于抗体产生前或不能产生抗体的免疫缺陷患者检测；④可对病毒进行定量检测，有助于了解病毒感染的进程和监测抗病毒治疗的效果；⑤可对病毒进行基因分型，预测疾病的传播和鉴定新病毒；⑥灵敏度高、特异性好、快速、简捷。主要检测技术包括核酸电泳、核酸杂交、核酸扩增、基因芯片、基因测序等。

（1）**核酸电泳**(nucleic acid electrophoresis)

基因组分节段的病毒，如流感病毒、呼肠病毒、轮状病毒等，可从标本中直接提取核酸，经聚丙稀酰胺凝胶电泳后，在凝胶上可见特征性条带。如从粪便标本中提取轮状病毒的核酸，直接经聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染色后，在凝胶上可见11个条带，结合临床情况可进行轮状病毒感染的诊断。

（2）**核酸杂交**(nucleic acid hybridization)

该技术检测病毒具有很高的敏感性和特异性。将标记探针与待测标本在一定条件下进行杂交，根据杂交信号检测结果，判断标本中是否存在互补的病毒核酸。常用的杂交方法有斑点杂交（dot blot hybridization）：从标本中提取待测的DNA或RNA直接点样在杂交滤膜上，变性后与标记的探针核酸序列杂交，根据标记物的不同采用放射自显影或酶反应技术等检测放射性核素或非放射性标记物；原位杂交（in situ hybridization）：是核酸杂交结合细胞学技术的一种特殊检测方法，在病理切片上，用细胞原位释放的DNA或RNA与标记的特异核酸探针进行杂交，通过显色技术可直接观察待测核酸在细胞内的分布状态和与细胞染色体的关系等；DNA印迹（Southern blot）和RNA印迹（Northern blot）：提取标本中的DNA或RNA，用限制性内切酶切割后经琼脂糖电泳形成不同大小的核酸条带，然后再将琼脂糖凝胶中的核酸条带电转移至硝酸纤维膜上，与来源已知病毒的标记过的探针序列进行杂交，可以检测病毒DNA或RNA中的特异序列。

（3）**核酸扩增** (polymerase chain reaction, PCR)

选择特异引物通过PCR扩增标本中的病毒核酸的特异性序列，按照扩增产物片段的大小加以鉴定，明确样本中是否存在该病毒而诊断病毒性感染。PCR是敏感、快速的诊断方法，可直接扩增病毒DNA，用于检测DNA病毒。逆转录PCR（reverse transcription PCR, RT-PCR）是将RNA逆转录为互补DNA，再进行PCR扩增，用于检测RNA病毒。多重PCR (multiple PCR) 可在1份标本中检测多种病毒。**目前临床上病毒感染的诊断最常用的是****第二代核酸扩增技术，即**实时荧光定量PCR (real-time quantitative PCR，qPCR) 或逆转录实时荧光定量PCR（RT-qPCR）**。该**技术不仅敏感性和特异性更高，而且可对起始模板进行定量分析。如在SARS-CoV-2流行期间，基于RT⁃qPCR 法的核酸检测技术成为了确诊SARS-CoV-2感染的主要病原学诊断手段。第三代核酸扩增技术如**数字PCR**（digital PCR, dPCR）是一种对核酸分子绝对定量及扩增的新技术。dPCR 具有比qPCR 更好的灵敏性、特异性、稳定性和精确性。 此外，分子即时检测（POCT）是一种快速发展的核酸检测方法，主要基于微流控技术和等温扩增术（isothermal amplification technology, ITA）等，具有检测时间短、设备小、操作简单等优点。

（4）**基因芯片**（gene chip）

基因芯片是指固定有寡核苷酸、基因组DNA或互补DNA等的生物芯片（biochip）。利用这类芯片与标记的生物样品进行杂交，可对样品的基因表达谱生物信息进行快速定性和定量分析。基因芯片具有高通量、高灵敏性和准确性、快速简便等优势，不仅可高通量检测病毒，而且可确定病毒的耐药基因或基因型别。液态基因芯片整合了多重PCR技术和荧光编码微球检测系统，对一个样本进行至多可达100个分析指标的检测，已成功用于呼吸道病毒感染的诊断和人乳头瘤病毒的分型等。

（5）**基因测序**（gene sequencing）

病毒基因测序包括对病毒特征性基因片段的测序、全基因组测序和宏基因组测序。将所检测病毒的基因序列或基因组序列与基因库的病毒标准序列进行生物信息学比对与分析,可达到诊断病毒感染的目的。基因组测序以其在新发病原体检测方面的优势，在SARS-CoV-2感染疫情早期病原学诊断及病毒基因组序列的鉴定上做出了重要贡献。目前对已发现的病原性病毒的全基因测序已基本完成并将建立基因库。病毒宏基因组（viral metagenome）测序是应用**高通量测序技术**（high-throughput sequencing）检测样品中全部病毒的核酸。高通量测序技术是一种能一次并行对几十万条到几百万条DNA分子进行序列测定的技术，具有无偏倚性、高覆盖和高效性等特点。与其他检测技术相比，其在某些病毒感染样本的诊断中有更高的检出率，且能发现被遗漏的病毒和新病毒，并可检测整个基因组存在的点突变、微小缺失和插入等变异。随着高通量测序技术的迅速发展，**病毒宏基因组学**（viral metagenomics）的理论和技术已被证明在临床病毒学诊断中发挥着重要的作用。如有许多病毒表现出具有感染神经系统的潜力，临床多表现为脑炎，通过宏基因组测序技术成功地鉴定出了这些病毒，如埃博拉病毒、寨卡病毒、基孔肯雅病毒、西尼罗病毒等。近年来又发展了病毒宏转录组（viral meta-transcriptome）测序，即提取样品中的全部RNA，然后逆转录成cDNA，构建cDNA文库并测序。该方法的优点是能够同时检测到RNA病毒，而且可以同时分析病毒感染后的表达调控状态。

2.4.5.2.病毒抗原检测

在病毒感染的细胞内，病毒合成各种蛋白，构成病毒的抗原。采用免疫学技术直接检测标本或培养物中的病毒抗原，是目前早期诊断病毒性感染病较为常用的方法。免疫荧光技术、酶联免疫技术、放射免疫技术和免疫层析技术等方法均可用于检测病毒抗原，这些技术操作简便、特异性强、敏感性高。使用单克隆抗体标记技术可测到ng（10-9g）至pg（10-12g）水平的抗原或半抗原。其中放射免疫技术可引起放射性污染，其使用逐渐减少，并被非放射性标记物（如地高辛等）所代替。蛋白印迹技术也可检测病毒抗原，但不常用。免疫层析法是最早应用于病毒感染诊断的即时检测(point-of-care test, POCT)技术，其中胶体金免疫层析技术发展最为成熟，临床使用广泛，可用于检测甲型流感病毒、冠状病毒和轮状病毒等。此外，应用新型的蛋白（抗体）芯片技术，可以在一张芯片上同时对多个标本或多种病毒进行抗原检测，具有快速、敏感和高通量等特点。如用蛋白质芯片可同时检测 HBsAg、HBeAg等HBV抗原。

2.4.6.病毒相关抗体检测

病毒感染机体后可在宿主细胞内合成病毒蛋白成分，并刺激机体产生特异性抗体。血清、血浆和脑脊液等临床标本可用于检测病毒抗体。在病毒感染急性期，检测特异性抗体特别适用于分离培养困难的病毒、培养时间较久的病毒或检测时病毒分泌已经停止，如甲型肝炎病毒、风疹病毒和细小病毒B19等。抗体的检测对于诊断和筛查人类免疫缺陷病毒和丙型肝炎病毒等持续性感染也很必要，病毒复制与抗体出现并存。病毒感染机体后，特异性IgM抗体较早产生，因此**IgM抗体的测定可辅助早期诊断**。如孕妇羊水中查到IgM型特异抗体，可诊断某些病毒引起的新生儿先天性感染；抗HBc IgM出现较早，常作为急性HBV感染的指标。在感染早期，血清中特异性IgG抗体未产生或水平较低，恢复期或病程晚期（1~2周后），IgG抗体滴度显著升高。因此，常采集病程的急性期和恢复期双份血清，若恢复期IgG抗体由阴性转为阳性或抗体效价比早期升高4倍或4倍以上，则有诊断价值。中和试验、血凝抑制试验、化学发光法、酶联免疫吸附试验（ELISA）、蛋白印迹和蛋白芯片技术等均被应用于病毒抗体的检测。某些病毒感染的诊断需要特别谨慎，如AIDS和成人白血病等，在抗体检测初筛试验阳性后，尚需用蛋白印迹试验等方法进行确认。

2.5. 病毒感染的预防原则

2.5.1. 人工主动免疫

2.5.1.1. 人工主动免疫的概念

（1）人工免疫。根据适应性免疫应答的原理，给宿主接种某种病原体的疫苗（包括类毒素）或者针对病原体的特异性免疫应答效应产物（例如抗体），使机体产生针对病原体的保护性免疫力，这个过程称为人工免疫。

（2）人工主动免疫。根据适应性免疫应答的原理，给宿主接种某种病原体的疫苗（包括类毒素），使机体产生针对该病原体的特异性免疫应答效应产生，以达到预防感染性疾病的目的，这种方法称为人工主动免疫。

2.5.1.2. 疫苗

疫苗的概念：疫苗是指以病原微生物或者其成分制备的能够预防传染病的生物制品。

（1）传统疫苗

传统疫苗是指采用病原微生物及其天然代谢产物，经过灭活、人工减毒、脱毒等方法制成的疫苗。传统疫苗可分为灭活疫苗和减毒活疫苗两大类。

1）灭活疫苗。灭活疫苗（inactivated vaccine）是选用免疫原性强、遗传稳定性良好的病原微生物，经人工大量培养后，再用物理、化学方法灭活，使其失去感染性和毒性，但仍保持其免疫原性，而制成的生物制剂，主要包括灭活疫苗、裂解疫苗、成分疫苗和类毒素等。

2）减毒活疫苗。减毒活疫苗（attenuated vaccine）是通过诱导毒力变异或人工选择培养（如温度敏感株）等方法，将有致病性的野毒株诱导突变成为为减毒株或无毒株，或从自然界直接筛选培养的弱毒或无毒株制备而成的疫苗。

（2）新型疫苗

新型疫苗指应用基因工程技术、生物化学合成技术等生产的疫苗。

1）新型疫苗主要包括基因工程亚单位疫苗、重组载体疫苗、核酸疫苗以及合成肽疫苗等。

2）重组蛋白疫苗是利用重组DNA技术，将带有编码病原体抗原表位的基因插入载体中，利用原核（如大肠埃希菌）或真核（如酵母菌）表达系统表达出病原体抗原蛋白并制备而成的疫苗。

3）病毒载体疫苗（viral vector vaccine）是利用病毒做载体，将病原体抗原基因重组到病毒载体成为重组病毒而制成的疫苗，包括复制型载体疫苗和非复制型（即复制缺陷型）载体疫苗。

4）核酸疫苗（nucleic acid vaccine）是将编码某种抗原蛋白的外源基因（DNA或RNA）直接导入机体细胞内，诱导产生特异性免疫应答，进而达到预防和治疗疾病的目的。核酸疫苗分为DNA疫苗和RNA疫苗两类，其中RNA疫苗主要指mRNA疫苗。

① DNA疫苗可直接或经包装后经肌内注射等方法接种到宿主体内，再被组织细胞、抗原递呈细胞或其他炎性细胞摄取，可在细胞内表达病原体蛋白抗原，刺激机体产生特异性体液免疫和细胞免疫应答，特别是诱导产生CTL，可有效的预防病毒感染。

②mRNA疫苗是在体外合成的含有编码特定抗原的mRNA序列，并利用递送系统将mRNA疫苗递送至细胞内，才能表达抗原多肽，发挥免疫效果。

5）其它新型疫苗，例如生物化学合成或者免疫网络调节原理制备的合成肽疫苗或者内映象疫苗，也是新型疫苗研究的方向和内容之一。

（3） 联合疫苗

联合疫苗是指将多种病原体或同种不同血清型病原体的抗原成分放在一起制备成的可预防多种传染病或者不同血清型病原体引起的同一种传染病的疫苗，后者也被称为多价疫苗。

2.5.2. 人工被动免疫

人工被动免疫是将含有保护性抗体的免疫血清或纯化的免疫球蛋白、细胞因子等制剂注入机体，使机体立即获得特异性免疫保护力的方法，可用于紧急预防或治疗破伤风等急性传染病。

（1）抗毒素：指免疫动物血清中对病原体来源毒素或者其它毒素具有中和作用的特异性抗体。

（2）免疫球蛋白制剂

免疫球蛋白制剂。免疫球蛋白制剂主要包括人血清丙种球蛋白和胎盘丙种球蛋白两种。前者是从健康成人血清中提取制备的，后者是从健康产妇的胎盘中提取制备而成的。

（3）细胞免疫制剂

细胞免疫制剂。细胞免疫制剂是由免疫细胞或者其分泌的细胞因子制成的具有抗病毒感染作用的生物制剂。

（4）抗病毒血清

抗病毒血清。抗病毒血清（antiviral serum）是指来自近期被某种病毒感染后康复者或疫苗接种者的血清，其中可含有具有抗病毒感染保护作用的抗体。

（5）规划免疫

国家免疫规划项目。国家免疫规划项目是指由国家政府主导，并提供财政经费、技术支持和物资保障等资源，而实施的针对特定人群的免疫接种计划项目。

**2.6. 病毒感染的治疗**

公共卫生措施和疫苗是控制许多病毒感染的最有效方法。然而，对于许多病毒性疾病，此类预防措施仅取得了部分成功；还有一些病毒性疾病尚缺乏疫苗。因此，仍然需要开发抗病毒药物治疗大量的病毒性疾病患者。

抗病毒药物可分为两大类，一类为小分子，包括小肽和寡核苷酸，另一类为大分子，如抗体和干扰素。这些药物通过基于病毒感染或复制的细胞或基于特定病毒基因产物进行筛选大量化合物或大分子而获得。此外，基于病毒蛋白结构可设计抑制其活性的药物。上述方法产生的所谓“活性分子”只是病毒蛋白功能或细胞培养中病毒复制的抑制剂。接下来的步骤涉及使用药物化学将其转化为具有高效能和所需药理学特性(如生物利用度、长消除半衰期、低毒性)的化合物或大分子。当获得了具有所需性质的候选药物后，需要进行临床试验。如果临床试验产生了预期的结果，那么候选药物就可能会变成被批准的药物。即便如此，其疗效和安全性仍将在真实世界的人群中接受检验。

**2.6.1. 抗病毒药物的选择性和药物靶点**

抗病毒药物选择性是指发挥其抗病毒作用的药物剂量与显示其毒性作用的剂量之间的差异。通常在细胞中将这些剂量量化为可降低病毒活性的有效浓度和可导致细胞毒性的浓度，如50%浓度（EC50和CC50）、90%浓度（EC90）等。

研究抗病毒药物的选择性和机制最有效的方法是通过耐药性的研究。对抗病毒药物耐药意味着该药物具有选择性。也就是说，该药物的作用至少部分是通过干扰病毒特异性过程，赋予抗病毒药物抗性的病毒基因突变意味着该基因或其产物是药物至少部分选择性作用所必需的。

一般来说，抑制蛋白质的功能(用拮抗剂)比促进其功能(用激动剂)容易，因此最常见的抗病毒药物靶标是可被药物抑制的病毒编码的蛋白。理想情况下，该靶点是病毒复制所必需的。非必需的病毒编码的蛋白在有些情况下，也可以作为靶标。如单纯疱疹病毒（HSV）的胸苷激酶(TK)可以活化抗病毒药物，使其对病毒具有抑制作用。如果宿主蛋白具有对病毒复制比对宿主健康更重要的活性，那么它们也可以作为抗病毒药物的靶点。如靶向细胞表面分子CCR5的抗HIV药物马拉韦罗（maraviroc）。

**2.6.2. 抗病毒化学药物**

病毒的复制周期可分为多个阶段，包括进入、脱壳、基因表达、基因组复制和组装/释放(以抗HIV药物为例)。原则上，任何阶段都可以作为抑制的靶点。靶向非常早的步骤(例如在进入阶段期间的附着)或非常晚的步骤(例如在组装/释放阶段期间的释放)的潜在优点在于，在这些步骤起作用的药物可能不必进入细胞以发挥活性。基因表达、基因组复制和组装/释放等阶段通常需要特定的病毒酶，这些酶是主要的药物靶点。

**2.6.2.1. 病毒进入的抑制剂**

抑制进入可防止病毒感染的所有后续步骤。病毒进入宿主细胞的第一步是附着，其中病毒颗粒表面上的一种或多种特异性蛋白(如HIV糖蛋白gp120)与细胞表面上的一种或多种特异性受体分子(如CD4和共受体CCR5或CXCR4)结合。这些受体通常是蛋白质，但有可能是糖链(如流感病毒的唾液酸)。进入阶段的后续步骤包括核衣壳穿过宿主膜进入细胞质，有时直接穿过质膜，有时跟随与受体结合的病毒颗粒内化。抑制进入的药物可以靶向病毒蛋白或宿主蛋白。目前此类药物包括三种批准的抗HIV药物，福替米韦（fostemsavir）、马拉韦罗（maraviroc）和恩夫韦肽（enfuvirtide），以及一种抗乙型和丁型肝炎病毒(HBV和HDV)的活性药物布来韦肽（bulevirtide）。马拉韦罗和布来韦肽靶向宿主蛋白。以下以马拉韦罗（maraviroc）和恩夫韦肽（enfuvirtide）为例说明其抑制作用机制。

（1）马拉韦罗。R5型HIV-1是HIV-1感染早期阶段占优势和易于传播的病毒。CCR5是其使用的共受体。马拉韦罗抑制HIV与CCR5共受体的结合。马拉韦罗和其他几种CCR5阻断剂与CCR5结合，抑制其变构和与HIV gp120的结合，从而阻断HIV进入。马拉韦罗可与其他抗HIV药物联合用于R5型HIV感染患者。

（2）恩夫韦肽。HIV病毒颗粒中的gp41蛋白通常处于亚稳定构象。HIV与CD4结合，然后与共受体结合，从而引发构象变化，暴露出插入宿主细胞膜的gp41片段(融合肽)、螺旋卷曲的七肽重复区(HR-1和HR-2)。然后，三聚体gp41重排，使得HR-1和HR-2螺旋相互结合，形成六螺旋束。如果融合肽已插入宿主细胞膜，这种重折叠会使病毒颗粒包膜和细胞膜靠近，从而允许膜融合发生。恩夫韦地模拟HR-2。它与HR-1结合并阻止重折叠过程，从而阻止HIV包膜与宿主细胞膜融合。恩夫韦肽抗性的HIV突变会改变HR-1残基，削弱恩夫韦肽与HR-1的结合。

**2.6.2.2. 病毒脱壳的抑制剂**

金刚烷、金刚烷胺和金刚乙胺是第一批抗流感药物。金刚烷仅具有抗甲型流感病毒的活性，可抑制病毒脱壳。由于现有毒株对其出现广泛耐药性和更有效的抗流感病毒替代药物的出现，它们已不被建议使用。

甲型流感病毒附着于细胞表面糖蛋白上的唾液酸，进而被内吞，内体被酸化。pH值的降低引起病毒血凝素蛋白的构象变化以及病毒包膜和内体膜的融合。病毒包膜中的M2离子通道的功能是使酸化内体中的H+离子进入病毒颗粒，低pH值可促进基质蛋白M1从病毒核糖核蛋白（RNP）上解离。金刚烷胺或金刚乙胺会阻断H+进入病毒颗粒，阻止基质蛋白M1从RNP解离，使得RNP留在细胞质中而不进入细胞核，从而阻断脱壳。

**2.6.2.3. 病毒基因表达的抑制剂**

病毒基因表达不仅需要将病毒基因组转录成mRNA，将mRNA翻译成蛋白质，以及保持RNA和蛋白质的稳定性，还包括各种加工事件，如病毒mRNA的加帽、剪接和聚腺苷酸化，以及将病毒多蛋白（polyprotein）水解切割成其各蛋白单元。针对这些过程中的关键病毒蛋白开发的抑制剂可以阻断的基因表达。

（1）流感病毒mRNA转录抑制剂。流感病毒负链基因组(vRNA)的每个片段均与病毒编码的异源三聚体(PB1、PB2和PA亚单位)RNA依赖型RNA聚合酶(RdRp)结合，并进入细胞核。RdRp负责病毒基因组的复制和转录以产生病毒蛋白翻译所需的mRNA。流感mRNA的产生采用“抢帽”机制。宿主mRNA首先被PB2亚单位识别并结合，随后mRNA被PA亚基的帽依赖性内切酶(CEN)从5’帽切割10-13个核苷酸，然后，该片段充当引物，被PB1亚基以模板依赖性方式延伸，产生病毒mRNA。巴洛沙韦酸(BXA)是甲型流感病毒和乙型流感病毒PA的CEN功能的抑制剂，因此可阻止流感病毒mRNA转录。PA异亮氨酸38位（I38）的取代赋予了对BXA的抗性，特别是I38T。

（2）多蛋白蛋白酶抑制剂

将病毒多蛋白水解切割成单个病毒蛋白是HCV、SARS-CoV-2等病毒基因表达的重要步骤。

1）HCV RNA基因组进入细胞后被翻译成单个大多肽 (~3000个残基)。多肽的蛋白水解加工释放功能蛋白是通过宿主细胞蛋白酶和两种病毒编码蛋白酶——非结构蛋白2 (NS2)和NS3的组合完成的。抗HCV药物集中于NS3。HCV的NS4A是NS3的辅因子。第一代抑制剂Boceprevir和telaprevir是首批获批用于治疗HCV的2种直接作用抗病毒药物，显著增加了持续病毒学应答(治愈)率并缩短了治疗持续时间。但其仍与IFN-α和利巴韦林联用，需要一天三次给药。第二代抑制剂为一种大环化合物。大环结构的引入提高了化合物的效力、细胞渗透性和生物利用度。其中simeprevir和paritaprevir的效力显著更强，每日一次给药。然而，对第一代抑制剂耐药的三种突变，特别是影响NS3残基155和168的突变，对新药也有耐药性。第三代抑制剂（如Glecaprevir和voxilaprevir）针对基因型3和对前2代NS3/4A抑制剂有抗性的突变体的效力显著改善，以被批准用于治疗所有HCV基因型的两种口服多药方案的组成部分。

2）冠状病毒进入细胞后，其~30kbp的病毒RNA基因组被表达为2个大的多蛋白，pp1a和pp1ab分别编码11和16种病毒蛋白。多蛋白由两种病毒编码的半胱氨酸蛋白酶加工，这两种蛋白酶是木瓜蛋白酶样蛋白酶(PLpro)和糜蛋白酶样或主要蛋白酶(3CLpro或Mpro)。奈玛特韦（Nirmatrelvir）是新型冠状病毒Mpro的共价可逆四肽模拟肽抑制剂。奈玛特韦对Mpro具有高度选择性，没有发现与哺乳动物蛋白酶、受体和酶的显著结合。奈玛特韦在包括人类在内的多种物种中的生物利用度较低，因此需要与HIV蛋白酶抑制剂利托那韦联合用药，利托那韦会抑制代谢奈玛特韦的肝酶Cyp 3A4。

**2.6.2.4. 病毒基因组复制的抑制剂**

抑制病毒基因组复制的抗病毒药物是最大一类抗病毒药物。常见的是通过抑制病毒聚合酶。包括疱疹病毒HSV、HCMV和水痘带状疱疹病毒(VZV)、痘病毒天花病毒(VV)、慢病毒HIV、肝炎病毒HBV、HCV和冠状病毒新型冠状病毒。大多数被批准的药物为核苷（酸）类似物。其中一些核苷类似物模拟核苷单磷酸酯，因此可将其视为核苷酸类似物。某些核苷类似物不抑制聚合酶，而是抑制蛋白激酶。基因组复制的其他抑制剂有聚合酶的非核苷类抑制剂、HCV的NS5A复制蛋白的抑制剂等。常见的抑制病毒基因组复制的核苷类抗病毒药物，非核苷类抗病毒药物。

靶向病毒聚合酶的核苷类似物药物须通过磷酸化来活化。宿主酶通常负责核苷类似物的磷酸化。但对疱疹病毒有活性的一些核苷类似物，病毒激酶负责第一次磷酸化，宿主酶负责第二和第三次磷酸化。

（1）阿昔洛韦(ACV)。阿昔洛韦及其口服缬氨酸酯衍生物伐昔洛韦用于治疗由HSV和VZV引起的疾病。ACV由连接到无环糖样分子的鸟嘌呤碱基组成，该分子缺少脱氧核苷的2’和3’部分。ACV的作用机制。

ACV被单纯疱疹病毒(HSV)或水痘带状疱疹病毒(VZV)胸苷激酶TK选择性磷酸化，生成ACV单磷酸。宿主细胞酶依次将ACV单磷酸磷酸化为二磷酸和三磷酸(pppACV)形式。ACV-TP抑制HSV和VZV DNA聚合酶。抑制过程包括：ACV-TP与dGTP竞争性掺入生长的核酸链，聚合酶转移到模板上的下一个位置，但不能添加下一个dNTP，因为ACV不含3′-羟基。ACV的这种作用模式被称为专性链终止。

ACV耐药突变体相当多，主要为TK突变，这些突变敲除(TK-阴性)或降低(TK-部分)TK活性，或改变TK，使其不能磷酸化ACV，但能继续磷酸化dT(TK-改变)。ACV耐药突变也可以发生在病毒聚合酶催化亚单位(Pol)，使其对药物不敏感。

（2）更昔洛韦(GCV)。更昔洛韦是第一种被批准用于对抗HCMV的药物。更昔洛韦也有更易口服的缬氨酸酯衍生物缬更昔洛韦。与ACV不同，GCV有类似3′-羟基的基团。HCMV的蛋白激酶UL97在感染细胞中磷酸化GCV，细胞激酶进而将GCV单磷酸转化为GCV三磷酸。

GCV三磷酸是病毒DNA聚合酶的选择性竞争抑制剂和底物。然而，由于其具有3′-羟基，GCV三磷酸不是专性链终止子。但在掺入GCV及下一个核苷酸之后，HCMV DNA聚合酶终止合成。这种终止称为延迟终止。病毒DNA聚合酶的3′-5′核酸外切酶(Exo)活性在其中起了关键作用。Exo在进一步链延伸之前将掺入的正常核苷酸去除，这一过程不断反复（空转），这种链终止被称为非专性链终止。大多数HCMV GCV耐药突变体含有UL97突变，这些突变改变了底物特异性。此外，DNA聚合酶的Exo活性丧失也消除了空转，从而允许链延伸。

（3）抗HIV和HBV核苷类似物

HIV逆转录酶(RT)和HBV DNA聚合酶对于病毒复制是必不可少的，并且与细胞聚合酶有很大不同，这使得它们成为抗病毒药物的极好靶点。抗逆转录病毒核苷类似物的成功为开发具有抗HIV活性的核苷类似物以及随后的抗HBV药物提供了理论基础。

1）抗HIV核苷类似物。许多核苷类似物已被批准用于治疗HIV，所有这些都是链终止子。以下举例抗HIV核苷类似物AZT，以说明这类抗病毒药物的原理。

齐多夫定(3′-叠氮胸苷，AZT)，最早于1985年被报道具有抗HIV活性，是一种胸腺嘧啶衍生物，其中正常的3’羟基已被叠氮基取代。AZT是细胞TK的优良底物，它将ZDV磷酸化为其单磷酸盐(AZT-MP)。然后，通过细胞胸苷酸激酶转化为二磷酸形式，并通过细胞核苷二磷酸激酶转化为三磷酸形式(AZT-TP)。AZT-TP是HIV RT病的强效抑制剂和底物。在HIV RT合成HIV DNA的过程中，AZT-TP被结合到生长的引物链(引物-p-AZT)中，生成焦磷酸(PPi)。该反应是可逆的，因此逆转录酶可以从引物末端切除AZT-MP，并将其与PPi结合，从而再生AZT-TP和引物/模板。这一反向的切除修复机制也是大多数抗HIV核苷类似物发生耐药的机制。

AZT耐药性突变在编码RT的HIV pol基因中积累。需要四种或更多种突变才能赋予高水平的耐药性，但其中一些突变本身几乎没有或根本没有耐药性，这些突变可能通过增强抗性或补偿某些突变造成的病毒适应性降低。

AZT在特定细胞中的毒性是一个严重的临床问题。特别是AZT引起骨髓抑制，最常见的表现为中性粒细胞减少和贫血。

2）五种核苷类似物——拉米夫定(3TC)、替诺福韦、替比夫定、阿德福韦和恩替卡韦——已被批准用于治疗HBV感染。抗HBV核苷类似物的作用机制与抗HIV核苷类似物相似：它们被细胞酶转化为三磷酸形式，被HBV DNA聚合酶(也为逆转录酶)参入到延伸的DNA链中，并导致链终止。恩替卡韦和替诺福韦的强抗HBV效果和较低耐药率使得这些药物成为治疗HBV病的首选药物。与AZT耐药性的情况一样，需要多重突变才能赋予对恩替卡韦的高度耐药性。

（4）抗RNA病毒核苷类似物。

1）利巴韦林（病毒唑）。利巴韦林被批准作为严重呼吸道合胞病毒(RSV)感染的单一疗法，并与干扰素联合用于慢性HCV感染。其抗HCV的用途已被更新、更有效的药物所取代。此外，即使在细胞培养物中，其抗RSV和HCV的抗病毒作用机制仍未被很好地理解。

2）索非布韦（Sofosbuvir）。与人DNA和RNA聚合酶相比，三磷酸sofosbuvir是HCV RNA依赖的RNA聚合酶（NS5B）的选择性底物/抑制剂。在掺入生长的RNA链后，sofosbuvir起非专性链终止子的作用，终止延伸，但它如何诱导终止尚不清楚。在细胞系统中，sofosbuvir对不同HCV基因型表现出相似的活性。治疗引发的对sofosbuvir的临床耐药性极为罕见。

（5）聚合酶的非核苷类抑制剂

膦甲酸钠。膦甲酸钠(膦甲酸，PFA)需要静脉给药，并且具有肾毒性，但它已被批准用于治疗对一线药物耐药的严重HSV、VZV和HCMV感染。

膦甲酸钠是核酸聚合的产物--焦磷酸的类似物。它不需要被细胞酶或病毒酶激活，而是直接和选择性地抑制疱疹病毒DNA聚合酶。膦甲酸钠似乎起着产物类似物的作用，阻止了正常的焦磷酸释放，使得聚合酶不能完成催化循环。

（6）抗HIV非核苷类逆转录酶抑制剂

目前有六种经FDA批准的非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTI)—依法韦仑、奈韦拉平，依曲韦林、利匹韦林、达沙韦和多拉韦林。

NNRTI具有高度特异性，可在低浓度下抑制HIV-1 RT，但不会抑制人DNA聚合酶。NNRTI结合会导致逆转录酶发生构象变化，抑制或减缓RT将dNTP参入到DNA中的速度。

（7）丙型肝炎病毒NS5A蛋白抑制剂（暂略）

（8）HIV整合的抑制剂

1）HIV和其他逆转录病毒基因组复制的一个关键阶段是逆转录的线性双链DNA产物整合到宿主基因组中。执行这一步骤的酶整合酶，是一种病毒必需酶。整合酶抑制剂（又称为链转移抑制剂）雷替拉韦（raltegravir）在低纳摩尔浓度下，可抑制HIV复制。对雷替拉韦具有抗性的HIV突变体在编码整合酶的序列中含有突变，单个突变似乎足以产生具有临床意义的耐药性，但大多数突变会降低HIV的适应性。

其他整合酶抑制剂还包括：埃替拉韦(与细胞色素P450抑制剂cobicistat一起给药，以提高血清药物水平)、多鲁替拉韦、比替拉韦和卡波替拉韦。整合酶抑制剂现在是几种抗HIV联合治疗和预防的关键成分。

2）来那卡帕韦Lenacapavir于2022年末获得FDA批准，可每6个月注射一次，与其他抗逆转录病毒药物联用，用于治疗其他无法治疗的HIV感染。Lenacapavir可加速衣壳蛋白p24单体的衣壳自组装，稳定HIV颗粒内的衣壳并抑制HIV感染的多个步骤，对早期步骤抑制的效力高得多。该药物不会阻断脱壳，但会阻断整合。部分是由于削弱了将含有DNA、p24和整合酶的复合物导入细胞核的能力。

**2.6.2.5. 病毒聚集、释放的抑制剂**

病毒组装成感染性病毒颗粒和从细胞中释放的过程密切交织在一起，是抗病毒药物发现重要靶标。此阶段不同步骤的药物有：将DNA包装到HCMV衣壳中的来替莫韦、在病毒颗粒组装完成前靶向HCMV出核的maribavir、靶向对病毒释放至关重要的痘病毒糖蛋白组装的替科韦里马特、靶向成熟为感染性病毒颗粒（可在病毒释放后发生）的各种HIV蛋白酶抑制剂，以及靶向从细胞表面释放病毒颗粒的各种流感神经氨酸酶抑制剂。

后续添加内容。

**2.6.3. 抗病毒免疫治疗**

**2.6.3.1. 激活抗病毒固有免疫的药物**

批准用于治疗病毒感染的两类药物：咪喹莫特和干扰素，不直接抑制病毒复制。相反，它们增强了宿主对病毒感染的先天性免疫反应。咪喹莫特被批准用于治疗由人乳头瘤病毒引起的某些疾病，与Toll样受体TLR7和TLR8相互作用，以增强先天性免疫，包括分泌干扰素。干扰素α被批准用于治疗HCV、HBV病、由某些人乳头瘤病毒引起的尖锐湿疣和由卡波西肉瘤相关疱疹病毒(人疱疹病毒8)引起的卡波西肉瘤。

**2.6.3.2. 抗病毒抗体药物**

（1）单克隆抗体

（2）免疫血清

**2.6.4. 病毒耐药性**

如果药物选择性地作用于病毒，病毒通常会对其产生耐药性。然而，一个群体中耐药突变的频率以及它们出现的速度取决于几个因素:

（1）病毒的突变率。突变率越高，抗性发展得越快。病毒突变率为主要由复制病毒基因组的聚合酶的保真度控制。使用低保真度RNA聚合酶复制的RNA病毒通常具有最高的突变率，每个复制周期每个基因组平均一个突变，而DNA病毒(其DNA聚合酶包括有助于保真度的校对3′-5′外切核酸酶)具有较低的突变率。然而，病毒和宿主DNA修复蛋白以及其他可以被病毒和细胞因子调节的因子，包括核苷酸库，也会影响突变率。

（2）突变的目标大小。突变赋予耐药性的位点越多，耐药性产生的速度就越快。对于一些药物，如ACV，许多突变可以赋予耐药性，因为任何显著降低病毒TK活性的突变都会导致耐药性。此外，基因中的某些位点或多或少比其他位点更容易突变，这些位点常备称为热点。

（3）病毒复制的程度。病毒基因组拷贝数越多，产生耐药性的机会就越多。

（4）病毒群预先存在的规模。存在的病毒越多，即使在没有药物选择的情况下，耐药突变体越有可能存在于遗传变异体的阵列中。

（5）适应性(即一个遗传变异体相对于其他遗传变异体(可能包括“野生型”)的繁殖能力)。耐药突变株越健康，就越有可能在治疗过程中出现。一些耐药突变体，如对金刚烷耐药的流感病毒，可高度适应细胞培养、动物模型和人类；而抗sofosbuvir的HCV突变体在细胞培养物中复制非常差，从而成为该药物临床使用的主要优点。另一方面，当治疗停止时，如果耐药突变株不太适合这种环境，野生型病毒可以恢复优势。

**2.6.5.** **抗病毒治疗的原则**

在免疫功能正常的患者中对大多数急性病毒感染进行抗病毒治疗只会使症状持续时间缩短一天左右；换言之，如果治疗，必须尽快开始治疗以获得临床益处。事实上，在这些情境下，抗病毒预防可能比治疗更有效。急性感染的另一个问题是症状在多大程度上是由病毒复制引起的，而不是由对病毒的免疫反应引起的。例如，许多重症COVID-19的晚期表现是宿主对新型冠状病毒的免疫应答的结果，针对机体的免疫调节剂治疗和对症治疗比抗病毒药物的治疗更有效。

新冠病毒的治疗、流感病毒的治疗

现有的很多抗病毒药物针对的病毒多导致持续性感染。抗病毒治疗持续性病毒感染的主要目标是持续抑制病毒复制。HIV的治疗、HBV的治疗、HCV的治疗、HCMV再激活的治疗。药物治疗的有效性和长期治疗的安全性的平衡。

抗病毒药物耐药性的日益流行对公众健康和个体的有效治疗提出了挑战。解决这个问题的一个策略是在选择抗病毒治疗方案之前测试病毒的耐药性。因此，须进行耐药病毒的积极监测，以评估流行的病毒中药物耐药性的流行情况。对个体而言，耐药性检测有助于确定哪些药物不起作用，哪些药物可能有效。这些检测可以基于现有对耐药变异的了解，通过基因型检测，方便快速地进行。对个体患者进行耐药性检测通常更适用于慢性病毒感染。

第二个潜在策略是药物联合治疗。首先，病毒对多种不同药物产生耐药性 的概率远低于对单种药物产生耐药性的概率。药物联合治疗使得患者体内已存在的病毒对所有药物产生抗性的可能性小得多。第二，联合用药可能比单独使用任何单一药物更有效地抑制复制，从而减少产生耐药性的机会。第三，药物组合的成员可能协同作用，从而提供更大的效力。因此需要研究联合用药中的药物之间的相互作用。

3.致病性病毒

**3.1.呼吸道病毒**

**3.1.1.呼吸道病毒概述**

**呼吸道病毒**（respiratory viruses）是指一大类以呼吸道为侵入门户，在呼吸道黏膜上皮细胞中增殖，引起呼吸道局部感染和/或其他组织器官病变的病毒。90%以上的急性呼吸道感染由病毒引起，尤其是上呼吸道感染。呼吸道病毒种类较多，属于不同的病毒科，**常见的呼吸道病毒及其所致的主要疾病**如表1所示。

**表1 常见的呼吸道病毒及其所致的主要疾病**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **病毒分类** | **代表性病毒** | **引起的主要疾病** |
| 冠状病毒科（Coronaviridae） | 冠状病毒OC43、229E、NL-63、HKU1 | 普通感冒及上呼吸道感染 |
| SARS冠状病毒 | 上呼吸道感染、肺炎及呼吸功能衰竭 |
| SARS冠状病毒2 |
| MERS冠状病毒 |
| 正黏病毒科（Orthomyxoviridae） | 流感病毒 | 流行性感冒 |
| 副黏病毒科（Paramyxoviridae） | 麻疹病毒 | 麻疹 |
| 腮腺炎病毒 | 流行性腮腺炎 |
| 副流感病毒 | 普通感冒、细支气管肺炎 |
| 亨德拉病毒和尼帕病毒 | 高致死性、急性传染性脑炎 |
| 肺病毒科（Pneumoviridae） | 人呼吸道合胞病毒 | 婴儿支气管炎、细支气管肺炎 |
|
| 人偏肺病毒 | 婴幼儿呼吸道感染 |
| 小RNA病毒科（Picornaviridae） | 鼻病毒、EV-D68 | 普通感冒及上呼吸道感染 |
| 腺病毒科（Adenoviridae） | 人腺病毒 | 咽炎、急性呼吸道感染、肺炎 |

**3.1.2.正黏病毒**

**3.1.2.1.正黏病毒概述**

**病毒名：**正黏病毒（othomyxovirus），代表性病毒：流行性感冒病毒（influenza virus，IV），简称流感病毒。

**正黏病毒定义**：指正黏病毒科（*Orthomyxoviridae*）中一类对禽类、某些动物及人类的细胞表面黏蛋白有高度亲和性、基因组为分节段负链RNA的一类包膜病毒，共有9个病毒属（截止到2023年12月）。

**流行性感冒病毒定义**：是正黏病毒科中甲~丁型流感病毒属（*Alphainfluenzavirus、Betainfluenzavirus、Gammainfluenzavirus、Deltainfluenzavirus*）中对应的甲~丁型流感病毒，是引起流行性感冒（influenza，简称流感）的病原体，故称为流行性感冒病毒，简称流感病毒。甲、乙、丙型流感病毒可以感染人，丁型流感病毒主要感染牛和猪，对人类感染能力有限。

甲型流感病毒容易发生变异，曾多次引起流感全球大流行（global pandemic），如1918-1919年的流感大流行造成约5000万人死亡。自1997年起，世界各地不断有甲型禽流感病毒某些亚型跨种间传播，引起人类感染的报道，病死率高，但感染人数有限。

**分类：**参见https://ictv.global/report

**3.1.2.2.流感病毒形态与结构**

流感病毒的形态：多数呈球形，直径为80～120nm。新分离的流感病毒呈多形态性，以丝状多见。

**流感病毒的结构由核衣壳和包膜组成**。

（1）核衣壳（nucleocapsid）

流感病毒的**核衣壳由分节段的单负链RNA（-ssRNA）、与其结合的核蛋白（nucleoprotein，NP）和RNA依赖的RNA聚合酶**（RdRp，包括PA、PB1和PB2三个亚基）组成**，**共同形成**核糖核蛋白**（ribonucleoprotein，RNP）**。**甲型和乙型流感病毒的RNA分为8个节段，丙型流感病毒分为7个RNA节段。基因组的多数节段只编码一种蛋白质，每个节段的两端12～13个核苷酸为高度保守序列，与病毒复制关系密切。

（2）包膜

流感病毒的包膜分为两层。外层为主要来自宿主细胞的脂质双层膜，表面分布呈放射状排列的糖蛋白**刺突，**即**血凝素**（hemagglutinin, HA）**和神经氨酸酶**（neuraminidase, NA）。外层包膜内侧为基质蛋白1（M1），是含量最多的结构蛋白。包膜上还分布有基质蛋白2（M2），具有离子通道的作用，可使膜内pH值下降，有助于病毒进入细胞。

**1）HA：**由三条糖蛋白链连接成的三聚体。HA的原始肽链HA0在蛋白酶作用下裂解肽链中的精氨酸，形成二硫键连接的HA1和HA2后才具有感染性。裂解HA0的蛋白酶在人类多存在于呼吸道，而在禽类主要存在于消化道，**该蛋白酶的分布决定了流感病毒感染的组织特异性**。HA1是流感病毒与呼吸道黏膜细胞膜表面的唾液酸（sialic acid，SA）受体结合的亚单位。HA2具有膜融合活性，是流感病毒穿入宿主细胞所必需的成分。

HA的主要功能：①参与病毒吸附：HA与易感细胞表面的唾液酸受体特异性结合，介导病毒包膜与细胞膜的融合，释放病毒核衣壳进入细胞质，与流感病毒的组织亲嗜性有关。②凝集红细胞：HA能与鸡和豚鼠等动物以及人的红细胞表面的唾液酸受体结合而出现血凝现象，可通过血凝试验（hemagglutination test）辅助检测流感病毒。③具有抗原性：**HA刺激机体产生的特异性抗体可中和相同亚型的流感病毒，为保护性抗体。**该抗体还可抑制流感病毒与红细胞的凝集，可通过血凝抑制试验（hemagglutination inhibition test，HI）检测抗流感病毒抗体，并鉴定甲型流感病毒亚型

**2）NA：**由四条糖蛋白链组成的四聚体。NA的头部呈扁球状或蘑菇状，每个单体的头部都有一个神经氨酸酶的活性中心；NA的氮末端镶嵌于包膜的脂质双层中。

NA的主要功能：①参与病毒释放：NA具有神经氨酸酶活性，能水解病毒感染细胞表面糖蛋白末端的N-乙酰神经氨酸，促使成熟病毒体的出芽释放。②促进病毒扩散：NA可液化呼吸道黏膜表面的黏液，降低其粘度，有利病毒从细胞上解离而促进病毒扩散。③具有抗原性：**NA能诱导机体产生特异性抗体，该抗体能抑制病毒的释放与扩散，但非中和抗体。**抗NA抗体还可用于流感病毒亚型的鉴定。

**3）M蛋白：**有2种。**M1位于**包膜内层与核衣壳之间，是含量最多的结构蛋白**，**参与病毒的包装和出芽，具有保护病毒核心和维持病毒形态的作用；此外，其抗原性稳定，诱生的抗体为非中和抗体。**M2**贯穿病毒包膜，**具有离子通道作用，**可使包膜内pH值下降，有助于病毒进入细胞。

**3.1.2.3.流感病毒复制周期**

主要步骤包括：①流感病毒HA吸附到易感细胞表面糖蛋白末端的唾液酸上，通过 “受体介导的吞饮”方式病毒进入细胞并形成内体（endosome）；②内体通过M2蛋白介导的酸化作用引起HA构型改变，病毒包膜与内体膜融合而释放出核衣壳（RNP），RNP从胞质移行至胞核内。③病毒复制早期，以病毒基因组RNA为模板，通过RdRp的PA亚基切割宿主细胞mRNA 5’ 端的10～15个核苷酸帽状结构，以此作为引物在PB1亚基催化下转录出病毒mRNA， 3’ 端加poly（A）尾后，病毒mRNA进入胞质翻译病毒蛋白。④子代病毒RNA、RdRp以及核蛋白装配成RNP；HA和NA合成后在内质网和高尔基复合体中被糖基化，分别形成三聚体和四聚体并被运送到感染细胞膜表面。⑤M1蛋白将RNP结合到嵌有HA、NA和M2蛋白的细胞膜内侧，以出芽的方式释放子代病毒颗粒。

**3.1.2.4.流感病毒血清型、亚型、变异及宿主分布**

（1）血清型（serotype）：

根据流感病毒**NP和M1蛋白抗原性**不同，将流感病毒分为**甲（A）、乙（B）、丙（C）、**丁（D）型**， 其中前3个血清型可感染人，**丁型主要感染牛。

（2） 亚型（subtype）：

**甲型流感病毒**的HA和NA均容易发生变异，**根据HA和NA的抗原性可**将甲型流感病毒分为若干亚型，目前HA包括18种亚型（H1-H18），NA包括9种亚型（N1-N9）。

乙型流感病毒存在一定变异，但尚无亚型；丙型流感病毒抗原性较稳定，尚无亚型。

（3）变异（variation）

流感病毒特别是甲型流感病毒容易发生抗原变异。甲型流感病毒变异除病毒RdRp缺乏校对（proof-reading）机制，导致基因组复制中易形成突变并被保留下来外，还因为分节段RNA基因组容易发生基因重排（gene reassortment）。

甲型流感病毒抗原变异分为两种形式：①抗原漂移（antigenic drift）：抗原变异幅度小，主要是HA 氨基酸的变异，其次是NA氨基酸的变异，属于量变。这种变异是由病毒基因点突变导致氨基酸变异，并可不断累积，由于人群预存免疫力的保护作用，不会引起流感大流行，仅引起中、小规模流行，多出现在寒冷的季节，称为季节性流感。②抗原转换（antigenic shift）：指抗原变异幅度大，HA或NA氨基酸的变异率达到30%～50%，属于质变，常形成新的亚型（如H1N1→H2N2）。这种变异多由基因重排形成的新亚型。如人群对流感病毒新亚型易感，并普遍缺乏针对该新亚型的免疫力，可导致流感大流行。

（4）宿主分布（host range）

甲型流感病毒的宿主分布广泛，包括天然宿主和哺乳动物宿主。

1) 天然宿主：禽类，主要为水禽，包括野禽和家禽。感染禽类的甲型流感病毒又可称为禽流感病毒（avian influenza virus, AIV）。禽类可以长期携带AIV而不发病，由此维持病毒在自然界中的循环和传播。

高致病性禽流感病毒（highly pathogenic avian influenza virus，HPAIV），属于甲型流感病毒，如甲型H5N1、H7N7、H7N9流感病毒能引起禽类急性、高度传染性的全身性疾病，引起禽类大量死亡，病死率极高。这种禽类传染病称为**高致病性禽流感**（highly pathogenic avian influenza，HPAI）。

HPAIV可以对养禽业造成巨大经济损失。同时，由于其能够跨物种传播，也对人类健康构成了潜在威胁。因此，高致病性禽流感病毒一直是全球公共卫生的重要问题之一。

2)哺乳类动物宿主：IVA可以从禽类跨种系传播感染哺乳类动物，包括猪、马、牛、海豹、雪貂、蝙蝠等和人类，可以引起动物和人类的流感，例如猪流感、人流感等。

**3.1.2.5.****流感病毒培养特性**

**鸡胚培养**是分离培养流感病毒最常用的方法。初次分离以羊膜腔接种为宜，传代培养则采用尿囊腔接种。流感病毒在鸡胚增殖后不引起明显的病理改变，常需用血凝试验检测流感病毒并判定其效价。

**细胞培养**常用狗肾传代细胞和猴肾细胞，但流感病毒增殖后引起的CPE不明显，需用红细胞吸附试验（hemadsorption test）或免疫荧光方法来判定流感病毒的感染和增殖情况。

**3.1.2.6.流感病毒抵抗力**

流感病毒的抵抗力较弱，对干燥、日光、紫外线、乙醚、甲醛和乳酸等理化因素敏感。不耐热，56℃ 30分钟即被灭活。室温下病毒传染性很快丧失，0～4℃能存活数周。

**3.1.2.7. 流感病毒致病性**

（1）流感病毒的传播与病毒受体

流感病毒的传染源主要是急性期病人，其次是隐性感染者，此外猪和禽等部分动物也可能成为传染源。**流感病毒的传染性很强，主要经飞沫和气溶胶传播。**

人流感病毒的受体是唾液酸-α-2,6半乳糖（SA-α-2,6-Gal），主要分布在人咽喉和鼻腔黏膜细胞表面；禽类的流感病毒受体是唾液酸-α-2,3-半乳糖（SA-α-2,3-Gal），该受体在人主要分布于下呼吸道的支气管黏膜和肺泡细胞表面。由于猪呼吸道上皮细胞表面具有上述两类唾液酸受体，所以猪既可以被人流感病毒感染，也可被禽流感病毒感染。当甲型人流感病毒和甲型禽流感病毒同时感染猪时，就可能引起甲型流感病毒分节段RNA的基因重配，出现甲型流感病毒新亚型，导致流感的大流行。

（2）流感病毒致病机制

流感病毒在呼吸道上皮细胞增殖后，引起细胞的空泡变性和纤毛丧失，并向邻近细胞扩散，导致上皮细胞坏死脱落，使呼吸道黏膜的屏障功能丧失。NA可水解呼吸道黏膜表面保护性黏液层中黏蛋白的唾液酸残基，降低黏液层的粘度，使细胞表面受体暴露，有利于流感病毒的吸附。流感病毒侵入后可刺激机体产生干扰素，刺激免疫活性细胞释放淋巴因子，引起呼吸道黏膜组织的炎症反应。此外，流感病毒感染后还可降低机体免疫应答、抵抗干扰素的抗病毒作用以及导致免疫病理损伤等。

（3）流感病毒所致疾病

人群对流感病毒普遍易感，大约50%感染者没有明显症状。流感的潜伏期一般为1～4天，起病急，表现为畏寒、发热、头痛、全身肌肉酸痛等全身症状，伴有鼻塞、流涕和咳嗽等呼吸道症状。流感病毒感染可导致局部组织坏死，释放炎症介质进入血液是引起全身症状的一个可能机制。

**流感的发病率高，病死率低，年老体弱、免疫力低下和婴幼儿等流感患者易出现并发症**，常见的并发症主要是细菌感染性肺炎和原因不明的急性脑病，即Reye综合征**。**并发症严重者可危及生命，90%以上的死亡病例为65岁以上的流感患者。

（4）流感病毒流行病学特征

在历史上流感病毒已多次引起世界性大流行。流感病毒的流行与其变异密切相关，人群对发生抗原性转换后的新亚型流感病毒缺少免疫力，往往会引起流感的全球大流行。自1997年香港发生了首次禽流感病毒（H5N1）直接感染人的病例后，类似的报道逐渐增多，涉及的流感病毒亚型包括H5N1、H7N7、H9N2和H7N9，这打破了禽流感病毒不直接传染人的传统概念。高致病性H5N1和H7N9禽流感病毒等可跨种间传播感染人类，引起**人感染高致病性禽流感**，是我国法定报告的**乙类传染病**，表现为严重的呼吸系统疾病，人群发病率低，但病死率较高。

**3.1.2.8.流感病毒免疫性**

人体感染流感病毒或接种流感疫苗后可形成特异性免疫应答。体液免疫以抗HA抗体为主，具有中和病毒的作用。血清中抗HA抗体对亚型内变异株感染的免疫保护作用可持续数月至数年，但亚型间无交叉保护作用。抗NA抗体虽对流感病毒无中和作用，但可减少流感病毒的释放和扩散，并降低流感病情的严重性，故也有一定保护作用。

抗流感病毒的细胞免疫以CD4+ T和CD8+ T淋巴细胞为主，针对流感病毒的特异性CD4+ T淋巴细胞，能辅助B淋巴细胞产生抗流感病毒抗体。CD8+ T淋巴细胞能溶解流感病毒感染的细胞，阻止病毒在细胞内增殖，有利于病毒的清除和疾病的恢复。此外，CD8+ T细胞还具有流感病毒亚型间的交叉保护作用，有助于抵抗不同亚型流感病毒的感染。

**3.1.2.9.流感病毒微生物学检查**

在流感流行期间，根据典型的临床症状可以进行初步诊断；流感的确诊或流行监测则有赖于实验室检查。流感病毒感染的微生物学检查主要包括以下三个方面。

（1）病毒的分离与鉴定

取急性期患者鼻咽拭子或咽漱液， 抗生素处理后接种至9～11日龄鸡胚羊膜腔或尿囊腔中，经35℃培养3～4天，取羊水或尿囊液进行血凝试验检测流感病毒。如果血凝试验结果阳性，用血凝抑制试验及神经氨酸酶抑制试验鉴定流感病毒亚型。若血凝结果阴性，则需用鸡胚盲传三代或以上，如血凝试验结果仍为阴性则可判为病毒分离阴性。

可用培养的组织细胞分离流感病毒，但CPE不明显，还需用血细胞吸附试验或免疫荧光技术确定是否存在流感病毒。

（2）血清学诊断

采集流感患者急性期（发病5日内）和恢复期（病程2～4周）双份血清，在相同条件下做HI试验测定抗体效价。若恢复期效价比急性期升高4倍及以上时有诊断意义。补体结合试验（complement fixation，CF）也可用于血清中抗流感病毒抗体的检测，由于补体结合抗体出现早，消失快，故补体结合试验阳性可作为新近感染的指标。

（3）快速诊断

检测流感病毒的抗原和核酸，可在感染24～72小时内辅助诊断。流感病毒抗原检测主要利用荧光素标记特异性抗体检查患者鼻黏膜印片或呼吸道脱落上皮细胞涂片中的病毒抗原；或用ELISA检测患者呼吸道分泌物、咽漱液或呼吸道脱落上皮细胞中的流感病毒抗原。也可用RT-PCR和核酸杂交等方法检测流感病毒核酸，用核酸序列分析方法对流感病毒进行分型和亚型鉴定。

**3.1.2.10. 流感病毒预防原则**

（1）控制传染源和阻断传播途径

流感流行期间，应及早发现和隔离流感患者，尽量减少人群聚集或避免到人群聚集的公共场所，必要时可佩戴口罩。

（2）流感疫苗接种是预防流感最有效的方法，目前使用的流感疫苗有灭活疫苗、裂解疫苗和亚单位疫苗三种，以灭活疫苗为主。

用于制备流感疫苗的病毒株必须选用流行的病毒株，如目前常规使用的流感疫苗包括当前在人群中流行的H3N2和H1N1甲型流感病毒株，以及一种乙型流感病毒株，即三价灭活疫苗。疫苗接种应在流感流行高峰前1～2个月进行，才能有效发挥保护作用。

**3.1.2.11. 抗流感病毒药物**

目前临床主要有三类抗流感病毒药物：

**（1）神经氨酸酶抑制剂**（neuraminidase inhibitors，NAI）：如奥司他韦（oseltamivir）、扎那米韦（zanamivir）、帕拉米韦（Peramivir），可抑制甲型和乙型流感病毒神经氨酸酶活性，从而抑制病毒在细胞表面的释放过程。

**（2）RdRp催化亚基（PB1亚基）抑制剂**，如法匹拉韦（favipiravir），其经过细胞内代谢形成法匹拉韦核苷酸三磷酸，后者被流感病毒PB1作为底物错误地带入到新合成的病毒RNA中，从而抑制甲型和乙型流感病毒的复制。该药物还可用于治疗具有RNA 聚合酶的其他病毒感染，如SARS-CoV-2、埃博拉病毒等，其作用机制因病毒而异。

**（3）RdRp帽依赖性核酸内切酶（PA亚基）抑制剂**，如玛巴洛沙韦（baloxavir marboxil），口服后在体内转化成巴洛沙韦酸（baloxavir acid），后者可抑制流感病毒帽依赖性核酸内切酶活性，从而抑制病毒增殖。

此外，某些中草药及其制剂对流感治疗也有一定疗效。

M2蛋白抑制剂如金刚烷胺和金刚乙胺，曾用于甲型流感的预防及早期治疗。因流感病毒对这类药物已形成较广泛的耐药性。

**3.1.3. 冠状病毒**

**冠状病毒**（coronavirus）：指**一类广泛分布于脊椎动物的有包膜的单股正链RNA病毒**，因病毒包膜上的刺突向四周伸出，在**电镜下形如日冕**（solar corona）或花冠状，故得名。

2023年ICTV将冠状病毒归属于冠状病毒科（*Coronaviridae*）、冠状病毒亚科（*Orthocoronavirinae*）下的α-、β-、γ-、δ-冠状病毒属。其中α-和β-冠状病毒主要感染哺乳类动物，如蝙蝠、猪、牛、猫、犬、貂、骆驼、虎、狼、老鼠、刺猬，穿山甲等。γ-和δ-冠状病毒主要感染禽类。**目前发现7种可以感染人并致病的重要冠状病毒，**分别属于α-和β-冠状病毒属。

表1 感染人类的重要冠状病毒

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 病毒属 | 代表病毒 | 病毒受体 | | 致病性 | | 所致疾病 | |
| α-冠状病毒属 | HCoV-229E | APN | 弱 | | 主要为普通感冒 | |
| HCoV-NL63 | ACE2 | 弱 | | 主要为普通感冒 | |
| HCoV-OC43 | 唾液酸 | 弱 | | 主要为普通感冒 | |
| HCoV-HKU1 | 唾液酸 | 弱 | | 主要为普通感冒 | |
| β-冠状病毒属 | SARS-CoV | ACE2 | 强 | | SARS/严重急性呼吸综合征 | |
| SARS-CoV-2 | ACE2 | 较强或较轻 | | COVID-19/新冠感染 | |
| MERS-CoV | DDP4 | 强 | | 中东呼吸综合征/ MERS | |

APN：aminopeptidase N，氨肽酶N；ACE2：angiotensin-converting enzyme 2，血管紧张素转换酶2；DDP4：dipeptidyl peptidase-4，二肽基肽酶-4

**3.1.3.1.**冠状病毒的共同特性

冠状病毒是一类单股正链RNA病毒，其生物学性状、致病性和免疫性等方面具有共同特性。

**（1）冠状病毒的生物学性状**

1）病毒形态与结构：冠状病毒颗粒呈球形或多形态性（pleomorphic），直径为80～140nm；病毒表面的包膜有一圈呈放射状排列的**花瓣状**刺突**，**电镜下负染的病毒颗粒**形如花冠**或日冕状。内层的衣壳呈**螺旋对称，**与包绕的核心共同组成核衣壳。

2）病毒基因组及编码的蛋白：冠状病毒基因组**为+ssRNA，具有感染性**；**全长27～32kb，**不分节段，**是已知的基因组最大的RNA病毒。**冠状病毒的基因组**结构高度保守**，依次为5'UTR-ORF1-(HE)-S-E-M-N-3'UTR-poly（A）。

冠状病毒基因组ORF1约占基因组全长的2/3，包括ORF1a和ORF1b，可以作为mRNA直接翻译多聚蛋白（polyproteins，pp）。pp被切割水解成多种功能蛋白（酶），参与病毒基因组复制和转录过程。此外，S、E、M、N等基因通过不连续转录形成相应的亚基因组RNA，编码如下4个主要结构蛋白，其中前三者为包膜蛋白：

①刺突糖蛋白（spike glycoprotein，S）为包膜的跨膜糖蛋白，可与宿主细胞的病毒受体结合，并介导病毒感染易感细胞；

②包膜蛋白（envelope protein，E），是病毒包膜上具有离子通道作用的跨膜蛋白；

③膜蛋白（membrane protein，M），是病毒包膜相关糖蛋白，参与包膜形成及出芽释放过程；

④核蛋白（nucleocapsid protein，N），即病毒衣壳，参与病毒基因组的合成及蛋白翻译过程，并具有拮抗Ⅰ型IFN的作用。此外，β-冠状病毒属某些病毒（如HCoV-OC43和HCoV-HKU1 ）还有HE基因，可编码血凝素-酯酶蛋白（hemagglutinin-esterase protein，HE），具有凝集红细胞和乙酰化酯酶活性。

3）体外细胞培养：冠状病毒可在人胚肾或肺原代细胞质中增殖，以出芽的方式释放。SARS-CoV和SARS-CoV-2会出现明显CPE。普通冠状病毒培养初期时CPE不明显，经连续传代后CPE明显增强。

4）抵抗力：不同的冠状病毒对理化因素的耐受力有一定差异，一般37℃数小时可失去感染性，对乙醚、三氯甲烷等脂溶剂和紫外线较敏感。

**（2）致病性与免疫性**

人冠状病毒主要经飞沫传播，常在寒冷的季节发病，**但SARS-CoV-2无明显季节性；**各年龄组人群均易感，但婴幼儿、老年人和免疫低下人群更易感。

根据总体致病的严重程度，人冠状病毒可分为：

1）引起普通感冒（common cold）等上呼吸道感染的冠状病毒，包括HCoV-229E、HCoV-NL63、HCoV-OC43和HCoV-HKU1，在普通感冒中占比为15%~30%**。**

2）引起人类严重疾病的冠状病毒，均属于β-冠状病毒属，包括SARS-CoV、MERS-CoV和SARS-CoV-2，易导致肺炎等严重疾病并造成一定程度的流行（epidemics），甚至全球大流行（global pandemics）。 人冠状病毒感染多为自限性疾病，病后患者血清中虽有抗冠状病毒的抗体存在，但免疫保护作用不强，可反复感染。

此外，冠状病毒是动物传染病的重要病原。例如，可引起经济动物猪、牛、禽类以消化道症状为主的严重传染病，由此造成养殖业重大损失；此外，冠状病毒也常导致宠物，如猫、犬等发生致死性传染病。

**3.1.3.2.** SARS冠状病毒

**严重急性呼吸综合征冠状病毒**(severe acute respiratory syndrome coronavirus，SARS-CoV)是严重急性呼吸综合征的病原体。

**SARS-CoV生物学性状：** SARS-CoV呈圆形或多形态性，直径80～140nm，包膜上有排列如花冠状的刺突。核酸为单正链RNA，全长约29.7kb，编码20多种蛋白，主要的结构蛋白是N、S、E和M蛋白。N蛋白的分子量为50～60kDa，包绕于病毒RNA外共同形成核衣壳，具有保护病毒核酸以及参与病毒复制等重要作用。**S蛋白**的分子量为180～220kDa，构成**包膜表面的刺突，**介导病毒与宿主细胞膜上的**病毒受体**ACE2结合。M蛋白的分子量为20～35kDa，参与稳定病毒结构、包膜形成和病毒的出芽释放等。SARS-CoV不耐酸，可采用0.2%～0.5%过氧乙酸消毒，常用消毒剂在5分钟内可杀死SARS-CoV；其对热的耐受力强于引起普通感冒的冠状病毒，56℃ 30分钟可被灭活。

**传染源和传播途径**：SARS的**传染源主要为SARS患者**，传播途径以近距离飞沫传播为主，也可以通过接触病人呼吸道分泌物经口、鼻、眼传播，但尚不清楚是否能够经粪-口途径传播。

**临床表现：**人群普遍易感，首发症状为发热，体温一般都高于38℃。发病初期的表现主要是头痛、乏力和关节痛等，随后出现干咳、胸闷、气短等症状。肺部X线检查出现明显病理变化，双侧或单侧出现阴影。严重患者的肺部病变进展很快，出现急性呼吸窘迫和进行性呼吸衰竭、DIC、休克等，出现呼吸窘迫症状的患者具有极强的传染性，而且致死率较高。患有基础疾病的老年患者病死率可达40%～50%。机体感染SARS-CoV后可产生特异性抗体，也可出现特异性细胞免疫应答，具有保护作用；但也可能导致免疫病理损伤，引起细胞凋亡和严重的炎症反应。

S**ARS-CoV感染的微生物学检查**：病毒的毒力和传染性很强，因此SARS-CoV分离培养必须在BSL-3中进行。SARS-CoV感染的快速诊断主要基于检测标本中的病毒核酸。主要预防原则是早期发现、隔离SARS患者与疑似病例，从而有效地隔离传染源和切断传播途径。目前尚无商品化SARS疫苗。

3.1.3.3. SARS冠状病毒2

SARS冠状病毒2（SARS-CoV-2）是引起2019 冠状病毒病（coronavirus disease 2019，COVID-19）的病原体，2020年2月ICTV将该病毒与SARS-CoV共同归属于β-冠状病毒属、SARS相关冠状病毒种（*SARS related Coronavirus，SARSr-CoV*）。SARS-CoV-2引起的 COVID-19 大流行是一场前所未有的全球健康危机。

**SARS-CoV-2形态结构**：与SARS-CoV相似，但其复制周期、变异株、致病性以及病原学检测和防治具有其自身特点。

（1） 病毒复制周期

1）早期阶段：SARS-CoV-2 通过S蛋白受体结构域（receptor binding domain，RBD）与细胞的病毒受体ACE2结合，以内吞方式进入宿主细胞；此外，有报道SARS-CoV-2还可以通过非受体依赖的囊泡介导模式侵入宿主细胞。病毒在胞质中脱衣壳、释放出病毒 RNA。

2）复制和转录：首先，基因组重叠的ORF1a或ORF1ab直接翻译生成多聚蛋白pp1a和pp1ab，并被其中的木瓜蛋白酶样蛋白酶（papain-like protease，PLpro）和3C样蛋白酶（3C-like protease，3CLpro）自切割成16 种非结构蛋白 （nonstructure protein，nsp），其中RdRp（nsp12）、nsp7 和nsp8自行组装成复制-转录复合物（replication-transcription complex，RTC），参与催化病毒RNA复制和转录。病毒基因组3'端剩余基因通过形成对应的亚基因组RNA（subgenomic RNA），作为蛋白翻译的mRNA模板形成4种病毒结构蛋白（S、E、M、N 蛋白）和多种辅助蛋白。

3）组装和释放：病毒结构蛋白和辅助蛋白ORF3a、ORF7a在内质网和高尔基体组装成子代病毒，以胞吐方式释放，完成整个病毒生命周期。

（2） 病毒变异株

随着SARS-CoV-2在世界范围内广泛传播，2020年秋季以后出现了SARS-CoV-2原始株（prototype）的多种变异株（variant）。截至2022年底，在全球流行的主要SARS-CoV-2变异株有5种：Alpha、Beta、Gamma、Delta、Omicron。Delta变异株于2020年底在印度首次发现，在上述变异株中致病性最强，但COVID-19疫苗对Delta变异株仍然有效。Omicron变异株（Omicron variant）于2021 年 11 月底由南非科学家报道，其突变位点多数发生于S蛋白的重要区域，由此提高了病毒的传播能力和免疫逃逸能力。与原始株相比，Omicron变异株传**染性明显增强，但致病性减弱，也增加了人群再次感染的风险，**故由Omicron变异株导致的感染再次席卷全球**。**因此，持续关注SARS-CoV-2的变异株对制定大流行的应对策略、病毒检测、治疗以及疫苗的研发都具有重要意义。

（3）致病性

SARS-CoV-2 为动物源性病毒（zoonotic virus），可感染多种动物和人类，目前认为蝙蝠是该病毒的天然宿主，但中间宿主仍然未知。SARS-CoV-2主要通过飞沫在人际间传播，潜伏期2～14天不等，临床表现因人而异。多数患者会出现轻度或中度的症状，特别是上呼吸道感染症状，如发烧、鼻塞、咽痛、咳嗽以及肌肉疼痛等；此外，也常见嗅觉缺失及消化道症状。根据WHO统计数据，大约5%~20%需要住院治疗的重症病例可出现呼吸困难及肺炎，严重者表现为呼吸衰竭、多器官受损、全身炎症反应综合征，其中老人及合并多种基础病的患者重症率及死亡率较高。与原始株相比，Omicron变异株的致病性减弱，患者主要表现为发热、咽痛、咳嗽等上呼吸道感染症状。

SARS-CoV-2感染14天后，出现明显的中和抗体和刺突蛋白特异性IgG抗体，至28天抗体水平持续增加。

（4）病原学检测和防治

SARS-CoV-2是人类历史上传播广、感染人数多的传染病病原体之一。基于科学技术的进步，在出现疫情后很快确定了病原体，建立了核酸及抗原快速特异性检测技术。其中，基于ORF1、S、E、N基因的PCR核酸检测技术、基于S蛋白和N蛋白的抗原检测技术，**是人类历史上第一次用主动监测的手段快速准确地诊断并追踪病毒感染者**，在帮助及早发现、隔离和治疗感染者，阻断病毒传播和流行方面发挥了重要作用。

COVID-19灭活疫苗、mRNA疫苗、病毒载体疫苗、蛋白疫苗以及抗病毒治疗药物也很快研制成功并广泛使用。例如冠状病毒3CLpro 的小分子抑制剂奈玛特韦（nirmatrelvir）与利托那韦(ritonavir)的组合发挥协同作用，可降低发展成重症感染者的几率。同时，个人防护、保持社交距离、政府积极的社会防控措施等对控制COVID-19的流行也发挥了重要作用。

**3.1.4. 副黏病毒**

副黏病毒科（*Paramyxoviridae*）是与正黏病毒生物学性状相似的一组病毒，但基因结构、致病性和免疫性不同。副黏病毒的主要特征有：①**基因组不分节段**，变异频率相对较低。②包膜表面**刺突主要为血凝素/神经氨酸酶（HN）和融合蛋白（F）**，在不同病毒间有所差别。③**种类相对较多**，可引起人类感染的副黏病毒主要有麻疹病毒（measles virus）、腮腺炎病毒（mumps virus）、副流感病毒（parainfluenza virus）、以及近年新发现的亨德拉病毒（Hendra virus）和尼帕病毒（Nipah virus）；④**致病力相对较弱**，感染的对象以婴幼儿和儿童为主，但其中也有部分病毒的传染性和致病性较强。

3.1.4.1.麻疹病毒

麻疹病毒（measles virus）属于副黏病毒科、正副黏病毒亚科（*Orthoparamyxovirinae*）、麻疹病毒属（*Morbillivirus*），是麻疹（measles）的病原体。麻疹是儿童常见的急性传染病，其传染性很强，是发展中国家儿童死亡的重要原因。自20世纪60年代初开始使用麻疹减毒活疫苗以来，麻疹发病率显著下降。**WHO已将消灭麻疹列为消灭脊髓灰质炎后的下一个目标**。

**（1）生物学性状**

**1）形态结构** 麻疹病毒为球形或丝形，直径约120～250nm，有包膜。核衣壳呈螺旋对称，核心为不分节段的单负链RNA（-ssRNA），基因组全长近16kb，从3’端开始依次为N、P、M、F、HA和L六个基因，分别编码核蛋白（nucleoprotein，NP）、磷蛋白（phosphoprotein，P）、基质蛋白（M）、融合蛋白（fusion protein，F）、血凝素（hemagglutinin，HA）和RNA依赖的RNA聚合酶（large polymerase，L）等8种结构蛋白和功能蛋白。

麻疹病毒包膜表面有两种刺突，即HA和溶血素（hemolysin，HL）。HA和HL均为糖蛋白，有抗原性，刺激机体产生中和抗体。HA参与病毒吸附，能与宿主细胞表面的麻疹病毒受体结合；可凝集猴红细胞。HL具有溶血作用，并可使感染细胞融合形成多核巨细胞。

**2）培养特性** 麻疹病毒能在人胚肾、人羊膜等原代或传代细胞中增殖并导致细胞融合，形成多核巨细胞，可在受染细胞质和细胞核内出现嗜酸性包涵体。

**3） 抗原性**  **麻疹病毒的抗原性稳定，目前只有一个血清型**，存在麻疹病毒抗原和遗传物质小幅度变异。根据麻疹病毒核蛋白基因C末端高变区或HA全基因序列，将麻疹病毒分为A～H 8个基因群（genetic group），包含23个基因型（genotype）。

**4）抵抗力** 麻疹病毒对理化因素的抵抗力较弱，加热56℃ 30分钟即被灭活，对脂溶剂和一般消毒剂敏感，日光和紫外线也能使其灭活。

**（2）致病性与免疫性**

**1）致病性** **人是麻疹病毒唯一的自然宿主**，传染源是急性期患者，主要经飞沫传播，也可经玩具、用具或密切接触传播。**易感者为6个月到5岁的儿童，接触病毒后几乎全部发病。**麻疹病毒的受体为CD46分子和信号淋巴细胞活化分子（signaling lymphocyte activation molecule，SLAM），广泛分布于除人红细胞以外的大多数组织细胞。麻疹的发病过程中有两次病毒血症：麻疹病毒经HA与呼吸道黏膜上皮细胞表面的CD46分子结合，病毒穿入上皮细胞并进行复制，扩散至淋巴结中增殖后进入血液形成第一次病毒血症。病毒随血液到达全身淋巴组织和单核吞噬细胞系统，大量增殖后再次释放入血，形成第二次病毒血症。此时患者的表现有发热、畏光、鼻炎、眼结膜炎和咳嗽等上呼吸道卡他症状。麻疹病毒还可在真皮层内增殖，并在口腔两颊内侧黏膜出现针尖大小、中心灰白、周围红色的特征性**Koplik斑（Koplik’s spots）**，是临床**早期诊断麻疹的重要依据**。此阶段也是麻疹传染性最强的时期，病理改变为多核巨细胞和包涵体的形成。在随后的1～2天，患者全身皮肤相继出现红色斑丘疹，出疹的顺序依次为颈部、躯干和四肢，此阶段是麻疹病情最严重的时期。麻疹患儿在皮疹出齐后进入恢复期，一般在24小时后体温就开始下降，一周左右呼吸道症状消退，皮疹变暗，有色素沉着。典型麻疹的潜伏期9～11天，前驱期2～4天，出疹期5～6天。

麻疹一般可以自愈或治愈，但如果患儿抵抗力低下或处理不当，可出现严重的并发症，最常见的并发症是细菌感染，如细菌性肺炎、支气管炎和中耳炎等；最严重的并发症是脑炎。免疫缺陷儿童感染麻疹病毒后，常不出现皮疹，但可发生严重的致死性麻疹巨细胞肺炎。

麻疹病毒感染后，大约有0.1%的患者在病愈一周后发生迟发型超敏反应性疾病，引起脑脊髓炎，患者常伴有永久性后遗症，病死率达15%。约有百万分之一的患者在病愈后5～15年发生急性病毒感染的迟发并发症**——亚急性硬化性全脑炎**（subacute sclerosing panencephalitis，SSPE），即渐进性大脑衰退，病程一般在1～2年，最终导致昏迷死亡。SSPE的发病机制目前尚不完全清楚，在患者血液和脑脊液中可检测到高效价的抗麻疹病毒抗体（IgG或IgM），神经元与神经胶质细胞质及细胞核内均可查见包涵体，但不易分离出麻疹病毒。因此认为患者脑组织中的麻疹病毒为缺陷病毒，主要因M基因的变异而导致M蛋白不能合成或表达低下，麻疹病毒不能进行正常的装配和释放。如果将SSPE尸检的脑组织与麻疹病毒易感的HeLa或Vero等细胞共培养，可以分离出完整的麻疹病毒。

**2）免疫性** 麻疹病后可获得持久而**牢固的免疫力，**包括体液免疫和细胞免疫。感染后机体产生的抗HA和抗HL抗体均具有中和病毒的作用，HL抗体还能阻止麻疹病毒在细胞间的扩散。细胞免疫有很强的保护作用，在麻疹恢复中起主导作用。细胞免疫正常但免疫球蛋白缺陷的麻疹患者也能痊愈并抵抗再感染，但细胞免疫缺陷的感染者会出现进行性麻疹脑炎，容易导致患者死亡。

**3）微生物学检查与防治原则**

**① 微生物学检查** 根据典型的麻疹患者的临床症状即可做出诊断，仅轻症患者和不典型的感染者需要进行微生物学检查。由于病毒分离和鉴定比较复杂、费时，因而常用的是血清学诊断。

**a 病毒分离与鉴定：**取患者发病早期咽漱液、咽拭子或血液标本，接种人羊膜等细胞，培养7～10天后可出现多核巨细胞、胞内和核内出现嗜酸性包涵体等典型病变；鉴定常用免疫荧光技术检测病变细胞中麻疹病毒抗原。

**b血清学诊断：**取患者急性期和恢复期双份血清标本，检测血清中抗麻疹病毒抗体，如恢复期抗体效价增高4倍及以上即具诊断意义。也可用ELISA方法检测IgM抗体辅助早期诊断。

**c快速诊断：**取患者前驱期或卡他期咽漱液标本，检测感染细胞中的病毒核酸；也可用免疫荧光方法检测感染细胞中的麻疹病毒抗原。

**② 防治原则** 预防麻疹的主要措施是隔离患者，减少传染源；对儿童接种麻疹减毒活疫苗或MMR三联疫苗，可显著降低麻疹的发病率。对接触麻疹患儿的易感者，紧急应用人丙种球蛋白进行被动免疫有一定预防效果。

3.1.4.2. 腮腺炎病毒

(1) 腮腺炎病毒分类：腮腺炎病毒（mumps virus）归属于副黏病毒科、腮腺炎病毒亚科（*Rubulavirinae*）、正腮腺炎病毒属（*Orthorubulavirus*），是流行性腮腺炎（epidemic parotitis）的病原体。

腮腺炎病毒只有一个血清型，目前根据SH基因序列的差异可分为A～H 11个基因型。

(2)病毒形态与结构：病毒呈球形，直径100～200nm，核衣壳呈螺旋对称，核酸为非分节段的单负链RNA，编码7种结构蛋白，包括核蛋白（NP）、磷蛋白（P）、基质蛋白（M）、融合蛋白（F）、血凝素/神经氨酸酶（HN）、小疏水蛋白（small hydrophobic protein，SH）和RdRp（L）。

(3)体外细胞培养：腮腺炎病毒可用鸡胚羊膜腔或猴肾细胞进行培养，病毒增殖后可引起细胞融合和形成多核巨细胞等病变。

(4)感染及临床表现：人是腮腺炎病毒的唯一宿主，主要通过飞沫传播。5～14岁儿童为易感者，潜伏期为7～25天，发病前一周和后一周为病毒排放高峰期，传染性强。病毒侵入人体后先在鼻或呼吸道黏膜上皮细胞、面部局部淋巴结内增殖，随后入血引起病毒血症，并扩散至腮腺和其他器官，如睾丸、卵巢、肾脏、胰腺和中枢神经系统等。主要临床表现为**一侧或双侧腮腺肿大**，疼痛和触痛明显，颌下腺及舌下腺亦可累及；伴有发热、肌痛和乏力等症状。青春期的腮腺炎病毒感染者易出现睾丸炎、卵巢炎等并发症。流行性腮腺炎病后可获得牢固免疫力，婴儿可从母体获得被动免疫，故6个月以内的婴儿很少患腮腺炎。

(5)检测与防治：根据腮腺炎病例典型的临床表现，无需做微生物学检查即可对患者做出诊断。对症状不典型的可疑患者应取唾液或脑脊液做病毒分离培养或血清学诊断。也可用RT-PCR检测腮腺炎病毒核酸。对腮腺炎患者应及时隔离，疫苗接种是最有效的预防措施。目前腮腺炎疫苗主要是减毒活疫苗或MMR，均有较好的免疫保护效果。尚无治疗腮腺炎的特效药物，中草药有一定治疗效果。

3.1.4.3. 副流感病毒

副流感病毒（parainfluenza virus，PIV）是副黏病毒科（*Paramyxoviridae*）呼吸道病毒属（*Respirovirus*）的病毒，是引起婴幼儿严重呼吸道感染的主要病原体之一。病毒呈球形，直径为125～250nm，核衣壳呈螺旋对称，核酸为不分节段的单负链RNA，主要编码融合蛋白（F）、血凝素/神经氨酸酶（HN）、基质蛋白（M）、核蛋白（N）、聚合酶复合物（P+C）、RNA依赖的RNA聚合酶（L）。包膜上有HN和F两种刺突， HN蛋白兼有HA和NA的作用，F蛋白具有使细胞融合和溶解红细胞的作用。根据抗原性的不同，副流感病毒分为5个血清型（PIV 1~5），感染人类的主要型别是PIV 2、4、5型。

副流感病毒主要通过气溶胶或飞沫传播，也可通过人-人之间接触传播。病毒侵入人体后仅局限在呼吸道上皮细胞增殖，一般不引起病毒血症。发生在鼻咽部位的感染引起普通感冒的症状，发生在咽喉部和上呼吸道的感染引起小儿哮喘和细支气管炎；病毒也可向呼吸道深部扩散并导致肺炎和细支气管炎。

微生物学检查可取鼻咽部分泌物或脱落细胞标本进行核酸检测，ELISA或免疫荧光方法快速检测病毒抗原。目前尚无有效的预防疫苗和治疗药物。

3.1.4.4. 亨德拉病毒和尼帕病毒

亨德拉病毒（Hendra virus，HeV）和尼帕病毒（Nipah virus，NiV)属于副黏病毒科、正副黏病毒亚科（*Orthoparamyxovirinae*）、亨尼帕病毒属（*Henipavirus*），均为人兽共患病的病原体。

亨德拉病毒最初于1994年首次从澳大利亚亨德拉镇（Hendra）暴发的一种严重的、致人和马死亡的呼吸道感染疾病中分离发现。病毒体大小不均，直径为38～600nm，表面有长度为15nm和18nm的双绒毛纤突。亨德拉病毒的自然宿主是蝙蝠，果蝠是主要的中间宿主。亨德拉病毒主要通过接触传播，并有一定的地域性。感染后导致严重的呼吸困难，病死率较高。目前尚无有效的预防疫苗和治疗药物。

尼帕病毒是1999年首次从马来西亚尼帕镇（Nipah）脑炎患者的脑脊液中分离发现。该病毒的形态具有多样性，大小为120～500nm。基因组为负单链RNA，含6种主要的结构蛋白（N、P、M、F、G和L）。尼帕病毒主要的中间宿主是果蝠，主要传染源是猪。被感染的猪可通过体液或气溶胶传播给人，主要导致尼帕病毒脑炎。该病的潜伏期为4～18天，初期临床症状轻微，类似流感症状，病死率高。至少80%的患者为成人男性。至今尚无有效的防治方法。

**3.1.5. 肺病毒**

3.1.5.1. 人呼吸道合胞病毒

**呼吸道合胞病毒**（respiratory syncytial virus，RSV）曾归属副黏病毒科，2016年被重新分类为肺病毒科（*Pneumoviridae*）、正肺病毒属（*Orthopneumovirus*），**人呼吸道合胞病毒（**hRSV）**是引起婴幼儿和儿童下呼吸道感染的主要病原体。**

RSV呈球形，直径为120～200nm，有包膜。核酸为不分节段的单负链RNA。病毒基因组可编码10种蛋白质，包括3种包膜蛋白（F、G、SH）、2种基质蛋白（M1、M2）、3种核衣壳蛋白（N、P、L）和2种非结构蛋白（NS1、NS2）。目前分为2个血清型。病毒包膜上有G蛋白和F蛋白形成的刺突，但无HA、NA和HL，不能凝集红细胞。RSV可在HeLa、Hep-2等细胞中缓慢生长，约10天才出现CPE，其特点是形成多核巨细胞和胞质内嗜酸性包涵体。

人呼吸道合胞病毒主要经飞沫传播，也可经接触污染的手或物品传播，传染性较强，是**医院内感染的主要病原体之一**。婴幼儿和儿童普遍易感，能引起婴幼儿（特别是2～6个月婴幼儿）严重的呼吸道疾病，如细支气管炎和肺炎。

hRSV所致疾病与其他病毒和细菌感染所致的呼吸道疾病难区别，需进行微生物学检查才能确诊。目前常用的方法是采用免疫荧光试验检查鼻咽部脱落细胞中的hRSV抗原，以及用RT-PCR方法检查病毒核酸进行快速辅助诊断。至今尚无特异的治疗药物和疫苗。

3.1.5.2. 人偏肺病毒

人偏肺病毒（human metapneumovirus，hMPV）归属肺病毒科偏肺病毒属（*Metapneumovirus*），是偏肺病毒属中的第一个人类病毒，具有与副黏病毒相似的电镜形态和生物学特性。

hMPV主要经呼吸道传播，**儿童普遍易感**。低龄儿童、老年人、免疫功能不全的人群中发病率较高，并可引起致死性感染。hMPV感染后的临床表现与呼吸道合胞病毒感染相似，但病情较缓和，病程略短。目前尚无有效的抗hMPV治疗药物和疫苗。

**3.1.6. 其他呼吸道病毒**

3.1.6.1. 腺病毒

腺病毒归属于腺病毒科（*Adenoviridae*）。人腺病毒（human adenovirus，HAdV）为腺病毒科、哺乳动物腺病毒属（*Mastadenovirus*）成员， 目前有七个种（*Species A-G*），种内有多个不同的血清型，已知有51个人类腺病毒血清型。

腺病毒呈球形，直径60～90nm，无包膜。核心为双链DNA，核衣壳为典型的二十面体立体对称。衣壳由252个壳粒组成，其中240个壳粒位于面上，为六邻体（hexon），含有组特异性的α抗原；12个壳粒位于二十面体顶端，为五邻体（penton）。五邻体包括基底部分和一根纤突（fiber），基底部分有组特异性的β抗原和毒素样活性，与病毒所致的细胞病变有关。纤突长度为9～33nm，其末端膨大呈小球状。纤突蛋白含有型特异性的γ抗原，与腺病毒的吸附和凝集动物红细胞有关。各型腺病毒均可在原代人胚肾细胞及传代细胞中增殖，引起典型的细胞病变。腺病毒对理化因素的抵抗力比较强，对酸和温度耐受范围较大，紫外线照射30分钟、56℃ 30分钟可被灭活。

腺病毒感染的传染源为病人或无症状的病毒携带者。**主要通过呼吸道传播，也可经粪-口途径传播，以及密切接触传播，**通过手、污染的毛巾、眼科器械等也可传播腺病毒，消毒不彻底的游泳池水可引起腺病毒的暴发流行。腺病毒所致的疾病分为以下四大类：**①呼吸道疾病**：包括急性发热性咽炎、咽结膜热、急性呼吸道感染和肺炎等。其中咽结膜热常有暴发流行倾向，腺病毒所致肺炎占病毒性肺炎的20%～30%，多数发生在6个月到2岁的婴幼儿。**②胃肠道疾病**：主要指小儿胃肠炎与腹泻，约占小儿病毒性胃肠炎的5%～15%。此外还可引起婴幼儿肠套叠。**③眼部疾病**：主要包括流行性角膜结膜炎（epidemic keratoconjunctivitis，EKC）和滤泡性结膜炎，前者传染性强，后者多为自限性疾病。**④其他疾病**：包括儿童急性出血性膀胱炎、女性宫颈炎和男性尿道炎等。

腺病毒感染的微生物学检查可采用病毒分离和鉴定的方法，但耗时较长，达不到早期诊断的目的。可用PCR等方法检测腺病毒核酸，ELISA和免疫荧光等方法检测腺病毒感染者血清中的特异性抗体。目前尚无特异疫苗预防。

3.1.6.2. **风疹病毒**

风疹病毒（rubella virus，RV）属于风疹病毒科（*Matonaviridae*）风疹病毒属（*Rubivirus*）。风疹病毒是风疹（rubella曾称为德国麻疹German measles）的病原体，除引起儿童和成人风疹外，还可引起胎儿的流产、死胎和先天性风疹综合征（congenital rubella syndrome，CRS），对胎儿的危害极大。

风疹病毒直径60～70nm，核酸为单正链RNA，核衣壳为二十面体立体对称，有包膜且包膜表面有微小刺突。基因组全长9.7kb，含两个开放读框（ORF）。5’端的ORF1编码非结构蛋白（NSP），3’端的ORF2编码一条分子量为230kDa的多聚蛋白前体，经酶切加工后形成3种结构蛋白，即衣壳蛋白（C）、包膜糖蛋白E1和E2。E1蛋白具有血凝素活性，可通过血凝抑制试验检测抗风疹病毒的特异性抗体。风疹病毒只有一个血清型，能在细胞中增殖，不耐热，56℃ 30分钟可被失活，对脂溶剂和紫外线敏感。

**人是风疹病毒唯一的自然宿主**，儿童是主要的易感者。风疹病毒通过呼吸道传播，在呼吸道局部淋巴结增殖后经病毒血症播散至全身引起风疹，主要表现为发热、斑点状皮疹、伴耳后和枕骨下淋巴结的肿大等症状。成人感染风疹病毒后症状较重，除出现皮疹外，还有关节炎和关节疼痛、血小板减少、出疹后脑炎等，病后大多预后良好。**风疹病毒感染最严重的危害是通过垂直传播引起胎儿先天性感染**，特别是孕20周内的孕妇发生的感染，对胎儿的危害最大。风疹病毒感染胎儿后，可影响胎儿细胞的生长、有丝分裂和染色体结构，导致流产或死胎以及先天性风疹综合征（congenital rubella syndrome，CRS），即胎儿在出生后表现为先天性心脏病、先天性耳聋、白内障等畸形，以及黄疸性肝炎、肺炎、脑膜脑炎等疾患。人体感染风疹病毒后可获得持久免疫力。95%以上正常人血清中含有抗风疹病毒的保护性抗体，孕妇血清中的抗体具有保护胎儿免受风疹病毒感染的作用。

风疹病毒感染的早期诊断很重要，尤其是对感染风疹病毒的孕妇，早期诊断可以减少胎儿畸形的发生。常用的检查方法有：①用ELISA等血清学的方法检测孕妇血清中抗风疹病毒的特异性IgM抗体，阳性则可认为是近期感染。②取胎儿羊水或绒毛膜检测风疹病毒抗原或核酸，可对风疹病毒感染做出早期诊断。③取胎儿羊水或绒毛膜进行风疹病毒分离培养和鉴定，但比较繁琐，不常使用。风疹减毒活疫苗接种是预防风疹的有效措施，目前使用的三联疫苗MMR可使95%的接种者获得高水平的保护性抗体，免疫力可维持7～10年以上甚至终生。

3.1.6.3. 鼻病毒和肠道病毒D68

**鼻病毒**（rhinovirus）和肠道病毒D68（enterovirus D68，EV-D68）均属于小RNA病毒科（*Picornaviridae*）、肠道病毒属（*Enterovirus*）。鼻病毒为肠道病毒属下的甲型鼻病毒种（*Rhinovirus A*）、乙型鼻病毒种（*Rhinovirus B*）和丙型鼻病毒种（*Rhinovirus C*）成员，现已发现169个型（type）。EV-D68曾属于人鼻病毒 87型，现属于肠道病毒属丁型肠道病毒种（*Enterovirus D*）成员。

鼻病毒呈球形，直径28～30nm，无包膜。核酸为单正链RNA，衣壳由VP1~VP4蛋白组成，呈二十面立体对称排列。鼻病毒的受体是细胞表面的细胞间黏附分子-1（intercellular cell adhesion molecule-1，ICAM-1），即CD54，可在人胚肾细胞中增殖，最适温度为33℃。鼻病毒对酸敏感，pH3.0时迅速失活，据此特征能与其他肠道病毒区别。**鼻病毒是婴幼儿普通感冒常见的病原体，也可引起婴幼儿和慢性呼吸道疾病患者的支气管炎和支气管肺炎。**主要通过手接触传播，其次是飞沫传播。引起的疾病多为自限性疾病。由于鼻病毒型别多，感染后免疫保护作用短暂，因此再感染极为常见。目前尚无特异预防和治疗方法。

EV-D68的形态结构及培养特性、以及传播方式与鼻病毒相似。该病毒自1962年在美国加州发现，主要导致感冒样轻度上呼吸道感染。2014年美国报道了1 000多例感染者，其中部分重症患儿出现肺炎和急性弛缓性脊髓炎等呼吸系统和神经系统症状。我国自2006 年起不断有 EV-D68 散发病例报告。有研究表明，EV-D68是继肠道病毒A71(enterovirus A71，EV-A71) 之后，导致严重呼吸系统和神经系统疾病的重要肠道病毒。目前尚无特异预防和治疗方法。

**3.2. 肠道病毒**

3.2.1. 小RNA病毒科

小RNA病毒科（*Picornaviridae*）是一群形态微小的单正链RNA（+ssRNA）病毒，共有68属，其中7属引起人类疾病：肠道病毒属（*Enterovirus*）、副埃可病毒属（*Parechovirus*）、心病毒属（*Cardiovirus*）、肝病毒属（*Hepatovirus*）、嵴病毒属（*Kobuvirus*）以及新发现的*Cosavirus*、*Salivirus*病毒属。

3.2.2. 肠道病毒属

肠道病毒（enterovirus，EV）颗粒呈球形，直径约27～32 nm，无包膜。肠道病毒包括脊髓灰质炎病毒（poliovirus，PV）、A组和B组柯萨奇病毒（coxsackievirus A，CVA；coxsackievirus B，CVB）、埃可病毒（echovirus，E）以及1968年以后陆续发现的新型肠道病毒。鼻病毒（rhinovirus，RV）原为小RNA病毒科中独立的鼻病毒属，2008年，ICTV根据鼻病毒衣壳蛋白VP1核酸序列和部分生物学特性与肠道病毒属的相似性，将其纳入肠道病毒属。目前，基于中和实验，肠道病毒属共有175个血清型（serotype），包括100种鼻病毒血清型。肠道病毒72型是甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV），现归属于小RNA病毒科肝病毒属。

3.2.3. 肠道病毒的分类

ICTV在2017年将肠道病毒属分为15个种（species），包括12个肠道病毒种（EV-A～EV-L）、3个鼻病毒种（RV-A～RV-C）。其中感染人类的主要有7个种，即A～D种肠道病毒和A～C型鼻病毒。

3.2.4. 肠道病毒的命名规则

1968年以前，肠道病毒按致病性命名，分为脊髓灰质炎病毒（poliovirus，PV）、A组和B组柯萨奇病毒（coxsackievirus A，CVA；coxsackievirus B，CVB）、埃可病毒（echovirus，E）。从1968年起，新发现的肠道病毒不再按致病性命名，而是按发现顺序编号命名，如肠道病毒68、69、70型。

2017年后要求标注病毒种，即在“EV”与后缀的数字序号之间加上“病毒种”（A、B、C、D），如肠道病毒68型属D种，称为肠道病毒D68型（enterovirus D68，EV-D68），肠道病毒69型属B种，称为肠道病毒B69型（enterovirus B69，EV-B69），肠道病毒71型属A种，称为肠道病毒A71型（enterovirus A71，EV-A71）以此类推，但肠道病毒68之前的病毒血清型名称（均称为virus type）保持不变（表1）。

表1 感染人类的肠道病毒\*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **病毒种（species）** | **病毒** | **病毒型别** |
| A种肠道病毒 | A组柯萨奇病毒 | CVA2-8、10、12、14、16 |
| 肠道病毒 | EV-A71、76、89-92、114、119-121 |
| B种肠道病毒 | A组柯萨奇病毒 | CVA9 |
| B组柯萨奇病毒 | CVB1-6 |
| 埃可病毒 | E1-7、9、11-21、24-27、29-33 |
| 肠道病毒 | EV-B69、73-75、77-88、93、97-98、100-101、106-107、110-113 |
| C种肠道病毒 | 脊髓灰质炎病毒 | PV1-3 |
| A组柯萨奇病毒 | CVA1、11、13、17、19-22、24 |
| 肠道病毒 | EV-C95-96、99、102、104-105、109、113、116-118 |
| D种肠道病毒 | 肠道病毒 | EV-D68、70、94、111、120 |

\*部分型别是灵长类动物病毒。鼻病毒未列出。

3.2.5. 肠道病毒属共同特性

3.2.5.1. 肠道病毒的基因组

肠道病毒基因组约为7.4 kb，其结构及编码高度保守。病毒基因组由5′UTR、开放读码框、3′UTR三部分组成。5′UTR占全基因组长度10%，可与核糖体40S亚基结合，介导病毒的IRES依赖的翻译起始功能，称为内部核糖体进入位点（internal ribosome entry site，IRES）。开放读码框（ORF）编码一个大前体蛋白（polyprotein）；3′UTR较短，末端具有poly(A)序列。以柯萨奇病毒为例，其基因组为7.4 kb的+ssRNA，ORF编码一个长约2 200个氨基酸的前体蛋白，由自身蛋白酶反式切割，生成病毒的结构蛋白和非结构蛋白。肠道病毒基因组类似mRNA，进入细胞后可直接进行蛋白质翻译，故具有感染性。

3.2.5.2. 肠道病毒的蛋白

肠道病毒有4个结构蛋白（VP1～VP4）和7个非结构蛋白（2A、2B、2C、3A、3B、3C、3D）。在病毒蛋白成熟过程中，还会产生2BC、3AB、3CD等中间产物，也有生物学活性。

结构蛋白VP1～VP4组成肠道病毒的衣壳，其中VP1~VP3位于衣壳外侧，VP4在衣壳内侧。VP1与病毒吸附宿主细胞有关，是病毒的主要中和抗原。

非结构蛋白3D是肠道病毒的RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp），负责子代病毒RNA基因组的转录。3B可共价键结合于病毒基因组RNA的5′端，又称为VPg，在病毒RNA转录复制时充当引物。2A和3C都是半胱氨酸蛋白酶，二者将病毒基因编码的前体蛋白切割为结构蛋白和功能蛋白，形成成熟的病毒结构蛋白和功能蛋白。2A、3C不仅切割病毒蛋白，也切割细胞蛋白，是病毒复制及致病的重要机制之一。2A、3C、和3D是研发抗肠道病毒药物的重要靶点，抑制剂可有效抑制病毒的复制与感染。

3.2.5.3. 肠道病毒的复制

多数肠道病毒可以感染传代细胞系，出现明显细胞病变。肠道病毒的复制周期是在细胞质内完成。首先病毒体与细胞膜表面特异性受体结合，触发病毒体构型改变，释放病毒RNA进入细胞质。病毒RNA在胞质中首先合成子代病毒蛋白，并合成子代病毒RNA，装配和释放子代病毒，整个复制周期需5～10小时。

3.2.5.4. 肠道病毒的杀细胞机制

肠道病毒复制过程中可选择性关闭宿主蛋白合成，其机制是病毒2A、3C可切割细胞蛋白翻译起始因子eIF4G，肠道病毒的蛋白翻译无需完整eIF4G参与，因此不影响病毒蛋白合成。肠道病毒蛋白酶也可破坏细胞RNA转录调控分子，从而抑制宿主细胞RNA合成。

3.2.5.5. 肠道病毒逃避免疫的机制

细胞通过Toll样受体（TLR）识别病原相关分子模式（PAMP），例如病毒RNA，诱导干扰素表达，阻止病毒入侵。但是，肠道病毒3C、2A可破坏干扰素信号通路的多个关键分子，导致细胞不能有效启动天然免疫机制，有利于病毒的感染。

3.2.5.6. 肠道病毒的抵抗力

肠道病毒对环境理化因素的抵抗力较强，对乙醚和去污剂不敏感，在胃肠道能耐受胃酸、蛋白酶、胆汁的作用，但鼻病毒不耐酸。

3.2.5.7. 肠道病毒的传播与致病

肠道病毒属主要经粪-口途径传播，90%以上的肠道病毒感染为隐性感染，少数出现临床症状，健康病毒携带者不多见。肠道病毒虽然通过肠道感染进入机体，其主要危害是损伤肠道外的重要器官，包括中枢神经系统（脑和脊髓）、心肌、胰腺、骨骼肌等，引起脊髓灰质炎、无菌性脑膜炎、脑膜脑炎、心肌炎、心周炎和手足口病等。

3.2.5.8. 肠道病毒所致疾病

肠道病毒型别众多，利用细胞表面的受体不同，致病性也不同；一个型别可致多种疾病或病征，而一种疾病又可由不同型别引起（表1）。

表1 肠道病毒相关的疾病

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 组织与器官 | 疾病与症状 | 脊髓灰质炎病毒 | A组柯萨奇病毒 | B组柯萨奇病毒 | 埃可病毒 | 肠道病毒D68-A121型 | |
| 神经系统疾病 | 无菌性脑膜炎 | 1-3 | 多型 | 1-6 | 多型 | 68,71 | |
| 弛缓性麻痹 | 1-3 | 7,9 | 2-5 | 2,4,6,9,11,30 | 68,70,71 |
| 无菌性脑炎 |  | 2,5-7,9 | 1-5 | 2,6,9,19 | 68,70,71 |
| 皮肤与黏膜 | 疱疹性咽峡炎 |  | 2-6,8,10 |  |  | 71 | |
| 手足口病 |  | 5,10,16 | 1 |  | 71 |
| 皮疹 |  | 多型 | 5 | 2,4,6,9,11,16,18 |  |
| 心脏与肌肉 | 流行性胸痛 |  |  | 1-5 | 1,6,9 |  | |
| 心肌炎与心包炎 |  |  | 1-5 | 1,6,9,19 |  |
| 眼部 | 急性出血性结膜炎 |  | 24 |  |  | 70 | |
| 呼吸道 | 感冒 |  | 21,24 | 1,3-5 | 4,9,11,20,25 | 68 | |
| 肺炎 |  | 9,16 | 4,5 |  | 68 |
| 肺水肿 |  |  |  |  | 71 |
| 消化道 | 腹泻 |  | 18,20-22,24 |  | 多型 |  | |
| 肝炎 |  | 4,9 | 5 | 4,9 |  |
| 其他 | 病毒感染后疲劳综合征 | 1-3 |  | 1-6 |  |  | |
| 新生儿全身感染 |  |  | 1-5 | 11 |  |
| 糖尿病 |  |  | 3,4 |  |  |

3.2.6. 脊髓灰质炎病毒

脊髓灰质炎病毒（poliovirus，PV）是典型的肠道病毒属病毒，归类为C种肠道病毒（EV-C）。其感染常累及中枢神经系统，损害脊髓前角运动神经细胞，引起脊髓灰质炎（poliomyelitis），导致肢体松弛性麻痹，多见于儿童，又称为小儿麻痹症（infantile paralysis）。脊髓灰质炎通过接种疫苗可有效预防，有望在全球范围彻底控制。

3.2.6.1. 脊髓灰质炎病毒的生物学性状

PV病毒颗粒是28 nm的球形颗粒，无包膜。根据中和试验PV可分为3个血清型，3个型别间无免疫交叉反应。

PV对环境因素有较强抵抗力。在污水和粪便中可存活数月。在胃肠道能耐受胃酸、蛋白酶和胆汁的作用，对热和去污剂均有一定抵抗力，MgCl2或其他二价阳离子可显著提高病毒对热抵抗力，但50℃可迅速灭活病毒。

3.2.6.2. 脊髓灰质炎病毒的传播

PV主要经粪-口途径传播，患者和无症状携带者是传染源。

3.2.6.3. 脊髓灰质炎病毒的受体

PV的细胞受体是细胞黏附分子CD155。CD155只分布于脊髓前角细胞、背根神经节细胞、运动神经元、骨骼肌细胞和淋巴细胞等，是PV的靶细胞。

3.2.6.4. 脊髓灰质炎病毒的致病机制

病毒感染后首先在口咽、消化道局部黏膜和扁桃体、咽壁淋巴组织以及肠道集合淋巴结中增殖，经过病毒血症传播至全身，绝大多数是隐性感染，有1% ~ 2%感染者，病毒突破血脑屏障侵犯到中枢神经系统，引起类脊髓灰质炎、无菌性脑膜炎，其中约0.1%感染者发展为脊髓灰质炎，表现为肢体弛缓性麻痹（flaccid paralysis），以下肢多见。极少数患者可因延髓麻痹而导致死亡。病毒感染到发病的潜伏期约1~2周。

3.2.6.5. 脊髓灰质炎病毒的免疫性

PV感染可刺激机体产生保护性抗体，包括咽喉和肠道黏膜表面的SIgA抗体和血清中和抗体，对同型病毒有持久的免疫力，可阻止病毒自肠道感染和经血液播散。IgG类抗体可通过胎盘，对6个月以内婴儿具有保护作用。

3.2.6.6. 脊髓灰质炎病毒感染的微生物学检查

可从三个方面进行PV感染的微生物学检查。

（1）核酸检测：提取粪便或脑脊液样本中的总RNA，RT-PCR可快速特异检测PV基因组。必要时应将扩增片段进行核酸测序，以鉴别是野毒株还是疫苗株。

（2）病毒培养：粪便标本加抗生素处理后，接种原代猴肾或人胚肾细胞，置37℃培养7~10天，若出现细胞病变，用中和试验进一步鉴定病毒型别。

（3）抗体检测：用发病早期和恢复期双份血清进行中和试验，若血清中和抗体滴度有4倍或以上增高，则有诊断意义。可检测其IgM抗体进行快速诊断。

3.2.6.7. 脊髓灰质炎病毒的防治原则

脊髓灰质炎可通过疫苗接种有效预防。脊髓灰质炎疫苗包括灭活疫苗（inactivated polio vaccine，IPV）和口服减毒活疫苗（live oral polio vaccine，OPV），已经通过计划免疫在人群中广泛接种。在脊髓灰质炎流行期间，对与患者有过密切接触的易感者可进行人工被动免疫，即给予丙种球蛋白注射紧急预防。

3.2.6.8. 疫苗相关脊髓灰质炎

口服OPV类似自然感染，可刺激机体产生SIgA，免疫效果好，但有毒力变异的危险，形成疫苗相关脊髓灰质炎病毒（vaccine-associated poliovirus，VAPV）和疫苗衍生脊髓灰质炎病毒（vaccine-derived poliovirus，VDPV），导致疫苗相关脊髓灰质炎（vaccine-associated polio，VAP）。VAP在世界各地时有发生，为此部分发达国家已经停用减毒活疫苗，只用灭活疫苗。我国自2020 年1月起实施新的脊髓灰质炎疫苗免疫策略，即常规免疫程序为2剂IPV加2剂二价减毒活疫苗（bOPV）。

3.2.7. 柯萨奇病毒与埃可病毒

柯萨奇病毒（Coxsackievirus，CV）包括A、B两组。A组柯萨奇病毒（CVA）有21个血清型，其中A2-8、A10、A12、A14、A16现归类为A种肠道病毒，A9归类为B种肠道病毒，A组中其他血清型则归类为C种肠道病毒；B组柯萨奇病毒（CVB）有6个血清型，均为B种肠道病毒。

埃可病毒（enteric cytopathogenic human orphan virus，echovirus）亦称人肠道致细胞病变孤儿病毒，因发现时不清楚其致病性而得名，有28个血清型，均归类为B种肠道病毒。

3.2.7.1. 柯萨奇病毒与埃可病毒的生物学性状

柯萨奇病毒、埃可病毒有典型的肠道病毒形态、结构和基因组及理化性状。CVA感染乳鼠引起广泛性骨骼肌炎，导致迟缓性麻痹；CVB感染乳鼠引起局灶性肌炎，导致痉挛性麻痹（spastic paralysis），并常伴有心肌炎、脑炎和棕色脂肪坏死等。不同类型肠道病毒在致细胞病变以及对乳鼠或猴的致病性等方面各具特点（表1）。

表1 肠道病毒致细胞病变和对动物致病性的特点

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 致病性 | 脊髓灰质炎病毒 | A组柯萨奇病毒\* | B组柯萨奇病毒 | 埃可病毒 | 肠道病毒68~116型\*\* |
| 致细胞病变 | + | +/- | + | + | + |
| 对乳鼠致病性 | - | + | + | - | +/- |
| 对猴致病性 | + | +/- | - | - | - |

\*A组柯萨奇病毒7、9、16、24型有致细胞病变作用，而7和14型对猴有致病性。\*\*EV-A71对乳鼠有致病性

3.2.7.2. 柯萨奇病毒与埃可病毒的致病性

柯萨奇病毒和埃可病毒型别多，分布广泛，感染机会多。病人与无症状携带者是传染源，主要通过粪-口途径传播，也可通过呼吸道或眼部黏膜感染。柯萨奇病毒和埃可病毒可引起中枢神经系统、心、肺、胰、皮肤、黏膜等多种组织的感染。

（1）病毒性心肌炎（viral myocarditis）与扩张型心肌病（dilated cardiomyopathy）：分子流行病学研究显示，在心肌炎和扩张型心肌病患者心肌组织中经常能检测到CVB基因组RNA。CVB攻击实验小鼠常引起心肌炎。肌养蛋白（dystrophin）是细胞骨架成分，肌养蛋白缺陷是家族性先天性扩张型心肌病的病因。CVB的2A蛋白酶可破坏肌养蛋白，表达2A的转基因鼠会发展为扩张型心肌病。因此，CVB是病毒性心肌炎、扩张型心肌病的主要病因之一，其引起儿童和成人的原发性心肌病，约占心脏病的5%。研究显示CVA、埃可病毒也可引起心肌感染。

（2）手足口病（hand-foot-mouth disease，HFMD）：是一种急性传染病，多见于6个月至5岁以下的婴幼儿，突然发病，主要表现为发热，1~2天后手、足、臀部皮肤出现皮疹，伴有口腔黏膜溃疡。少数患者可并发无菌性脑膜炎、脑干脑炎、急性弛缓性麻痹和心肌炎等，病后可出现一过性或终生后遗症。重症患儿病情进展快，可因心肺功能衰竭及急性呼吸道水肿而死亡。HFMD可由20多种肠道病毒所致，其中EV-A71和CVA16最为常见的。流行病学资料显示，重症HFMD及死亡病例多由EV-A71引起。CVA16引起的HFMD通常症状较轻。流行病学调查显示全国大部分省市都有规模不等的HFMD流行。我国于2008年将HFMD列为丙类传染病。

（3）无菌性脑膜炎：CVA、CVB和埃可病毒都能引起无菌性脑膜炎，临床早期症状为发热、头痛、呕吐、腹痛和轻度麻痹，1~2天后出现颈强直、脑膜刺激症状等。

（4）疱疹性咽峡炎（herpangina）：由CVA2~6、8、10型引起。典型症状是在软腭、悬雍垂周围出现水疱性溃疡损伤。

（5）婴儿全身感染性疾病：是严重的多器官感染性疾病，包括心脏、肝脏和脑。由CVB和埃可病毒某些型别引起，病毒经胎盘或接触传播引起，感染的婴儿表现为嗜睡、吮乳困难和呕吐等症状，进一步发展为心肌炎或心包炎，甚至死亡。

柯萨奇病毒、埃可病毒还可引起呼吸道感染、胃肠道疾病、胸肌痛等疾病。CVB感染可能与1型糖尿病有关。

3.2.7.3. 柯萨奇病毒与埃可病毒的免疫性

柯萨奇病毒和埃可病毒感染可以刺激机体产生特异性抗体，并形成针对同型病毒的持久免疫力。

3.2.7.4. 柯萨奇病毒与埃可病毒感染的微生物学检查与防治原则

对于可疑感染者，可采集咽拭子、粪便和脑脊液等标本，接种猴肾细胞或乳鼠进行病毒分离，再用病毒特异性组合或单价血清做中和试验，进行病毒型别鉴定，或者根据乳鼠病理学损伤和免疫学分析进行病毒型别鉴定。ELISA检测病毒抗体或RT-PCR法检测病毒核酸可辅助诊断。

目前尚无特异性治疗药物和预防疫苗。

3.2.8. 肠道病毒A71

肠道病毒A71（enterovirus A71，EV-A71）于1969年首次在美国加利福尼亚的病毒性脑炎患儿中发现，此后在世界范围内出现多次EV-A71引起的手足口病流行，尤其在东南亚呈周期性流行。近年我国也出现手足口病疫情，流行病学调查显示主要由CVA16和EV-A71引起，其中重症致死病例主要是EV-A71感染造成。

3.2.8.1. EV-A71病毒生物学性状

EV-A71具有典型的肠道病毒形态和基因组结构。EV-A71只感染一周龄左右的乳鼠，成年鼠对EV-A71不敏感。实验室常用横纹肌肉瘤细胞RD和非洲绿猴肾细胞Vero传代EV-A71。EV-A71已知的细胞入侵受体有：P-选择素糖蛋白配体-1（P-selectin glycoprotein ligand-1，PSGL-1）、B类清道夫受体Ⅱ（scavenger receptor class B member 2，SCARB2）；黏附受体有膜联蛋白Annexin II、硫酸乙酰肝素（heparan sulfate）、波形蛋白（vimentin）和唾液酸。小鼠不表达hSCARB2和hPSGL-1，可能是成年小鼠对EV-A71不敏感的原因之一，通过基因敲入（gene knock-in）方法建立的表达hSCARB2或hPSGL-1的小鼠，EV-A71可感染其成年鼠并引起典型症状。SCARB2和PSGL-1也是CVA16的受体，EV-A71和CVA16均引起人类手足口病。

EV-A71根据病毒衣壳蛋白VP1编码序列的差异，可分为A、B、C三个基因型，各型之间至少存在15%核苷酸序列的差异。A型仅有BrCr株，是EV-A71的模式株（prototype），流行于美国；B型和C型又可进一步分为B1~B5以及C1~C5亚型，在世界范围内广泛传播，我国流行的主要是C4亚型。

EV-A71抵抗力较强，能够耐受胃酸、胆汁，在室温下可存活数天。能抵抗有机溶剂（例如乙醚和氯仿），还能抵抗70%乙醇和5%甲酚皂溶液等常见的消毒剂，但是对56℃以上高温、氯化消毒、甲醛和紫外线的抵抗能力较差。

3.2.8.2. EV-A71病毒致病性

病人和无症状病毒携带者是EV-A71感染的传染源，经粪-口途径、呼吸道飞沫或直接接触传播，隐性感染常见。病毒侵入后在淋巴组织中增殖入血形成第一次病毒血症，可在靶器官和组织繁殖，再次入血导致第二次病毒血症，引起严重病变。EV-A71主要引起疱疹性咽峡炎、手足口病、无菌性脑炎、脑膜炎以及类脊髓灰质炎等多种疾病，严重感染可引起死亡。

EV-A71对脊髓前角神经元有组织嗜性，是最常见的引起急性迟缓性麻痹的非脊髓灰质炎病毒。

3.2.8.3. EV-A71病毒免疫原性

病毒感染后可形成抗VP1的中和抗体，小于6个月的婴儿因携带有从母亲体内获得的IgG抗体，对EV-A71的感染具有一定的免疫力。

3.2.8.4. EV-A71病毒检测与防治原则

EV-A71的病原学诊断方法包括：①病毒分离和鉴定：采集病人粪便或者疱疹液标本，用易感细胞分离鉴定病毒；②病毒核酸检测：RT-PCR检测病毒基因能快速诊断；③血清学诊断：对已知病毒血清型可用发病早期和恢复期双份血清进行中和试验，若血清抗体有4倍或以上增长，有诊断意义。检测IgM抗体可发现新近感染。

EV-A71灭活疫苗是由我国自主研发、全球唯一上市的预防手足口病的疫苗,主要针对EV-A7I所致的婴幼儿重症感染。目前尚无特异抗EV-A71药物。

3.3. 急性胃肠炎病毒

急性胃肠炎病毒引起以腹泻、呕吐为主要症状的胃肠炎，包括轮状病毒、杯状病毒、星状病毒和肠道腺病毒等（表1）。

**表1 急性胃肠炎病毒的种类与疾病**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **科** | **主要种类** | **分组或分型** | **基因组** | **致病特点** |
| 平滑呼肠病毒科 | 轮状病毒 | A组 | 分节段、双链RNA | 婴幼儿腹泻 |
| B组 | 成人腹泻 |
| C组 | 散发性儿童腹泻 |
| 杯状病毒科 | 诺如病毒 |  | 单股正链RNA | 群体腹泻 |
| 星状病毒科 | 星形病毒 |  | 单股正链RNA | 散发性婴幼儿和儿童腹泻 |
| 腺病毒科 | 腺病毒 | 40、41型 | 双链DNA | 流行性婴幼儿严重腹泻 |

3.3.1. 轮状病毒

轮状病毒（rotavirus，RV）是人类腹泻的主要病原之一。1973年从急性腹泻患儿十二指肠黏膜组织超薄切片中发现形似车轮的病毒颗粒，故名。

流行病学调查显示，全球每年约有1.14亿婴幼儿轮状病毒感染病例，主要发生于发展中国家，每年死于轮状病毒感染的儿童达50万。1983年我国学者发现感染成人并导致腹泻的轮状病毒，称为成人腹泻轮状病毒（adult diarrhea rotavirus，ADRV）。

3.3.1.1. 轮状病毒的结构与复制

轮状病毒为70nm球形颗粒，无包膜，电镜下呈车轮状，基因组由11个节段的双股RNA组成，在聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）中病毒基因组RNA片段的迁移率不同，形成的特征性的电泳图形可对轮状病毒初步分组。

病毒基因组编码11种病毒蛋白质，包括6个结构蛋白（VP1~VP4、VP6、 VP7）和5个非结构蛋白（NSP1~NSP5）。其中，结构蛋白构成病毒颗粒的二十面体对称排列的三层衣壳结构：①核心层（core layer）：由VP1、VP2、VP3和病毒基因组组成。VP1为RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）。VP3为鸟苷酸转移酶，介导病毒基因组的复制与转录。VP2是核心层结构的主要蛋白，VP1和VP3均附着于VP2上。②中间层（intermediate layer）或内衣壳（inner capsid）：由VP6三聚体构成，是病毒分组的特异性抗原。③外层或外衣壳（outer capsid）：由VP7三聚体和VP4二聚体构成。VP4位于病毒表面呈刺突状，决定病毒的血清型与感染性。VP7为病毒外衣壳蛋白，与宿主细胞结合并介导病毒进入细胞。VP4和VP7作为中和抗原，可诱导中和抗体和辅助鉴定病毒血清型。

VP4经蛋白酶切割成VP5和VP8后病毒的感染性显著增强。轮状病毒的易感细胞是非洲绿猴肾细胞MA-104，感染时需要用胰蛋白酶预处理，使VP4裂解成VP5和VP8，提高病毒的感染率。轮状病毒借助细胞内吞（endocytosis）进入细胞，被溶酶体酶处理脱衣壳。生物合成过程中发生于细胞质中，常在核周形成由大量病毒蛋白组成的病毒质（viroplasm），可能是病毒复制与装配的场所，轮状病毒以裂解细胞方式释放。

病毒基因组的5、7、8、10、11片段分别编码非结构蛋白NSP1 ~ NSP6，其中NSP1、NSP2是RNA结合蛋白质，NSP3参与阻断细胞蛋白质合成，NSP4是病毒性肠毒素（enterotoxin），可引起腹泻症状，NSP5、NSP6调控病毒的复制与装配。

3.3.1.2. 轮状病毒的分型

轮状病毒归类为平滑呼肠病毒科（*Sedoreoviridae*）轮状病毒属（*Rotavirus*），根据VP6抗原性、保守基因片段序列（如片段1和6）和宿主种属，下分9个种（A~D、F~J）。引起人类感染的有A、B和C种。根据外衣壳VP4、VP7的抗原性，病毒再分血清型，A种5个血清型（G1~G4、G9）是主要致病型别。

轮状病毒通常不发生种间的基因片段交换，但在种内可能发生不同毒株的基因重配（reassortment），出现新型或亚型毒株，是轮状病毒变异的原因之一。

3.3.1.3. 轮状病毒的传播

轮状病毒的传染源是病人和无症状携带者，主要通过粪-口途径传播。轮状病毒腹泻以秋冬寒冷季节多见，故又称为“秋季腹泻”，但在热带地区的季节性不明显。

3.3.1.4. A种轮状病毒的致病性

A种轮状病毒引起婴幼儿腹泻，是婴幼儿死亡的重要原因之一。病毒感染后经过1~2天潜伏期，出现包括水样便、呕吐、脱水、发热等急性胃肠炎症状，持续3~8天左右，免疫健全患者通常为自限性感染，50%感染者无症状。

3.3.1.5. B种和C种轮状病毒的致病性

B种轮状病毒在我国和东南亚曾引起成人腹泻，以15 ~ 45岁青壮年为主，多为自限性感染，病死率低。

C种感染少见，多散发，偶见暴发流行。

3.3.1.6. 轮状病毒的致病机制

轮状病毒的致病机制是：①轮状病毒感染小肠绒毛顶端的细胞，破坏细胞的转运机制与绒毛结构，造成小肠吸收障碍。②病毒NSP4蛋白发挥病毒肠毒素的作用，直接激活细胞内信号通路诱导小肠细胞过度分泌。致死病例的发生主要是由于严重脱水与电解质紊乱所致。

3.3.1.7. 轮状病毒的免疫性

轮状病毒感染后可获持久免疫力，主要由型特异抗体和肠道局部SIgA发挥保护性作用，但不同型别无交叉保护，仍可再次感染。

3.3.1.8. 轮状病毒感染的微生物学检查

1．核酸检测：RT-PCR可从粪便样品中快速、敏感检出轮状病毒核酸。PAGE电泳常用于检测轮状病毒分节段dsRNA基因组，根据dsRNA片段的迁移模式可区分轮状病毒的组别。

2．病毒颗粒与抗原检测：用轮状病毒免疫血清作用于粪便样本，通过抗原-抗体的凝集作用可提高免疫电镜的检出率。ELISA和乳胶凝集试验可简便、快速、特异性检测粪便标本中的病毒抗原，常用于临床诊断。

3．病毒分离：轮状病毒需用旋转细胞管的方式来分离培养，常用细胞系是MA-104，须经胰酶消化处理样本以提高阳性率。由于病毒培养易感性低、无明显细胞病变等，故很少用于临床诊断。

3.3.1.9. 轮状病毒感染的防治原则

目前尚无特异性治疗手段，以对症治疗为主，给予口服脱水补充液或输液治疗，防止脱水和酸中毒。国外有单价、五价减毒活疫苗用于预防轮状病毒感染。

3.3.2. 诺如病毒

诺如病毒（norovirus，NoV）是1968年在美国俄亥俄州诺瓦克镇（Norwalk）一所小学发生急性胃肠炎流行时被发现，曾称为诺瓦克病毒（Norwalk virus）。电镜下病毒表面有杯状凹槽，故归类为杯状病毒科（*Caliciviridae*）。

3.3.2.1. 杯状病毒科

杯状病毒科（*Caliciviridae*）由一群27~ 40 nm球形、无包膜的单股正链RNA的杯状病毒（calicivirus）组成。根据基因组特征分为11个属，由于有严格的种属特异性，其中仅诺如病毒属（*Norovirus*）和札如病毒属（*Sapovirus*）的病毒可感染人和黑猩猩，是除轮状病毒外最常引起人类腹泻的病毒，其余的杯状病毒只感染动物。

3.3.2.2. 诺如病毒的生物学性状

诺如病毒衣壳呈二十面体立体对称，27 ~ 40 nm，无包膜，电镜下可见病毒表面有32个特征性的杯状凹陷。诺如病毒基因组长约7.5 kb，为单股正链RNA，5′端和3′端各有一个小的非编码区，中间是3个开放读码框。ORF1编码一个前体蛋白，经病毒自身蛋白酶的切割，形成病毒的非结构蛋白，包括RNA聚合酶。ORF2编码结构蛋白VP1，构成病毒衣壳。ORF3最小，编码的蛋白功能未知。

3.3.2.3. 诺如病毒的细胞受体

诺如病毒感染细胞的受体是组织相容性血型抗原（histocompatibility blood group antigen），表达于消化道的黏膜上皮细胞，但是，诺如病毒尚未在传代细胞系中培养成功。

3.3.2.4. 诺如病毒的分类

诺如病毒属下仅有一个种。根据VP1编码序列的差异，诺如病毒分为10个基因群（genogroup）：GI～GX。基因群下再分基因型（genotype），GI有9个基因型，GII有27个基因型。同一基因群的毒株序列差异小于45%，同一基因型的毒株序列差异小于15%，序列的差异主要来源于病毒的基因重组。

GI、GII两群可感染人类，其中GII群4型（GII.4）是人类感染最常见型别。

3.3.2.5. 诺如病毒的传播途径

诺如病毒主要经粪-口途径传播，也可经飞沫传播。诺如病毒具有极强传染性，一般在家庭、社区、医院和学校范围内暴发流行，往往与饮用水或游泳池水污染、食用未烹制或未煮熟的食品（海鲜、冷饮、凉菜等）有关。诺如病毒常污染贝类和牡蛎等海产品，是旅行者腹泻的常见病因之一。

3.3.2.6. 诺如病毒的致病性

诺如病毒进入体内后引起空肠黏膜绒毛上皮细胞肿胀和萎缩，导致脂肪和碳水化合物的吸收障碍。临床症状主要是呕吐和水样腹泻，有时伴有恶心、腹痛、寒战、发热等。潜伏期为1~2天，感染表现为自限性，症状通常持续1~3天，但在婴幼儿和老年患者症状可持续4~6天，严重者可能因为脱水或吸入呕吐物等并发症而死亡。

3.3.2.7. 诺如病毒的流行特点

诺如病毒感染在发达和发展中国家都是流行性胃肠炎的主要病因。全年均可发生，冬季发病率更高。诺如病毒可感染各年龄段，50%~98%的成年人抗诺如病毒抗体阳性，说明诺如病毒在人群中普遍感染。6个月以内的婴儿从母体获得抗体，较少感染诺如病毒。2岁以内儿童的胃肠炎最常见病因是轮状病毒感染，其次是诺如病毒，而大于5岁人群的胃肠炎主要是诺如病毒感染。

3.3.2.8. 诺如病毒感染的微生物学检查

RT-PCR可快速、敏感和特异地检测病毒核酸，是检测诺如病毒感染的主要方法，常用于粪便、食品和环境样品的检测。放射免疫法、ELISA也常用于检测粪便、血清等样品中的病毒抗原和抗体。

3.3.2.9. 诺如病毒感染的防治原则

诺如病毒对氯化物消毒剂有强抵抗力，乙醇和季铵盐不能有效灭活诺如病毒核酸。经常用肥皂洗手、彻底清洗水果蔬菜和煮制食品可有效减少诺如病毒的传播。如果有患者呕吐或腹泻，应立即用医用消毒剂或5.25%的家用漂白粉消毒污染物体表面，污染衣物可用去污剂清洗。

目前尚无疫苗。由于症状轻且呈自限性，一般无需要住院治疗，患者可通过口服补液或静脉输液防止脱水和酸中毒。

3.3.3. 肠道腺病毒

肠道腺病毒（enteric adenovirus）是指主要引起急性胃肠炎的腺病毒40和41型。病毒呈典型的腺病毒形态与结构，90～100 nm球形，无包膜，基因组为双链DNA。

肠道腺病毒对理化因素有抵抗力，在体外可以长期存活。主要经粪-口途径传播，引起散发或流行性急性胃肠炎，以儿童感染多见，表现为腹泻、呕吐等临床表现。

通过检查病毒抗原、核酸以及病毒分离和血清学检查可以辅助诊断肠道腺病毒感染。目前尚无有效的预防疫苗和治疗药物，主要采取对症治疗。

3.3.4. 星状病毒

1975年在婴儿腹泻粪便中通过电镜首次发现星状病毒（astrovirus，AstV），病毒呈特征性的星状结构，具有光滑和略微内凹的外壳和5、6个星状结构突起，故得名。1981年利用原代细胞成功分离该病毒。

星状病毒科（*Astroviridae*）有两个属：哺乳动物星状病毒属（*Mamastrovirus*）和禽星状病毒属（*Avastrovirus*），主要引起哺乳动物和鸟类腹泻。人类星状病毒（human astrovirus，HAstV）属于哺乳动物星状病毒属，现有8个血清型。

3.3.4.1. 星状病毒的生物学性状

星状病毒直径28 ~ 30 nm，二十面体球形颗粒，无包膜。在电镜下基因组为+ssRNA，长约6.2~ 7.7kb，两端为非编码区，中间有3个略有重叠的开放读码框（ORF1a、ORF1b、ORF2），编码3个结构蛋白（VP25、VP27和VP35）和4个非结构蛋白（p20、p20、p26和p57）。

3.3.4.2. 星状病毒的致病性与免疫性

HAstV是引起儿童病毒性腹泻三种最常见的病毒之一，其感染呈世界性分布，全年散发。借助食物和饮水，通过人与人之间的密切接触传播，主要引起儿童和老年人腹泻，潜伏期为24 ~ 36小时，病程1 ~ 4天。临床表现为非特异性、持续性的呕吐、腹泻、发热和腹痛，表现为自限性，无需住院治疗。

HAstV感染的免疫性特点尚不清楚。由于HAstV主要感染儿童和老人，推测成人对其有抵抗力。

3.3.4.3. 星状病毒感染的微生物学检查与防治原则

用电镜结合酶免疫实验直接检查粪便标本中病毒，可以辅助诊断HAstV引起的急性胃肠炎。尚无有效的治疗药物与预防疫苗。

**3.4. 肝炎病毒**

**肝炎病毒是指主要侵犯肝脏并引起肝炎的病毒**。常见的人类肝炎病毒有5种，即**甲型肝炎病毒**（hepatitis A virus，HAV）**、乙型肝炎病毒**（hepatitis B virus，HBV）**、丙型肝炎病毒**（hepatitis C virus，HCV）**、丁型肝炎病毒**（hepatitis D virus，HDV）**和戊型肝炎病毒**（hepatitis E virus，HEV）。这些病毒在病毒分类学上分属于不同病毒科，生物学性状、传播途径和致病特点也不尽相同。HAV与HEV经消化道途径（粪-口途径）传播，通常引起急性肝炎，但HEV在免疫功能低下的感染者中可能诱发慢性肝炎；HBV与HCV主要经血液传播和性传播，HBV也可通过母婴传播。HBV和HCV的急性感染可转为慢性感染，诱发慢性肝炎，与肝硬化和原发性肝细胞癌的发生密切相关；HDV是HBV的卫星病毒，须与HBV共同感染时才能产生具有感染性的HDV颗粒，其传播途径和致病特点与HBV相似。

除上述5种肝炎病毒外，巨细胞病毒、EB病毒、单纯疱疹病毒、黄热病毒、风疹病毒和肠道病毒等也可引起肝脏炎症，但不列入肝炎病毒范畴；此外，临床上尚有10%～20%左右的肝炎病因不明，提示可能存在尚未发现的肝炎病毒。

3.4.1. 甲型肝炎病毒

甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV）是甲型肝炎的病原体。1973年，Feinstone采用免疫电镜技术，首次在急性肝炎患者的粪便中发现HAV颗粒。1979年，Provost和Hilleman实现HAV的细胞培养，为HAV疫苗的研制奠定了基础。1983年国际病毒分类委员会（ICTV）将HAV归类于小RNA病毒科肠道病毒属72型，但HAV的大小和形态虽然与肠道病毒相似，但其基因组序列及生物学性状与肠道病毒明显不同。因此，1993年ICTV将其重新归类为小RNA病毒科（*Picornaviridae*）嗜肝病毒属（*Hepatovirus*）。**甲型肝炎一般为急性自限性疾病，预后良好，不发展成慢性肝炎和慢性病毒携带者。**

3.4.1.1. HAV的生物学性状

（1）形态与结构

HAV颗粒呈球形，直径约27-32nm。核衣壳为二十面体对称，无包膜。电镜下HAV呈实心颗粒和空心颗粒两种类型，前者为成熟的完整病毒颗粒，具有感染性，后者为不含病毒核酸的空心衣壳，无感染性但具有抗原性。HAV基因组为单股正链RNA（+ssRNA），长约7.5kb，由5'末端非编码区（5'-noncoding region，5' NCR）、编码区和3'末端非编码区（3' NCR）组成。编码区只有一个开放阅读框（open reading frame，ORF），分为P1、P2、P3三个功能区。P1区依序编码VP4、VP2、VP3和VP1四种多肽，其中VP1、VP2、VP3为病毒衣壳的主要成分，含相对保守的中和抗原表位，可诱导机体产生中和抗体。VP4存在于成熟病毒颗粒。P2和P3区编码RNA依赖的RNA酶、蛋白酶等非结构蛋白，在病毒RNA复制和蛋白加工过程中发挥作用。

HAV分为7个基因型（Ⅰ～Ⅶ型），**但仅有一个血清型**。其中Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ型又可分为两个亚型，即ⅠA和ⅠB、ⅡA和ⅡB、ⅢA和ⅢB。感染人类的主要为Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ型，其中IA亚型和Ⅲ型在全球广泛流行，我国流行的主要为ⅠA亚型。

（2）抵抗力

**HAV对理化因素的抵抗力较强**，耐热、耐酸、耐碱、耐乙醚，60℃ 12小时不能完全灭活，在pH2～10的环境中稳定，在淡水、海水、泥沙和毛蚶等水生贝类中可存活数天至数月。但100℃ 5分钟、70%乙醇60分钟处理可使之灭活，对紫外线、甲醛和氯敏感。

（3）动物模型与细胞培养

我国学者毛江森等最早建立了短尾猴HAV感染动物模型。**黑猩猩、狨猴、猕猴及短尾猴等对HAV易感**，经口或静脉注射途径感染HAV后均可发生肝脏炎症、粪便中排出病毒颗粒、血清中出现HAV特异性抗体。动物模型主要用于HAV的病原学研究、疫苗免疫效果评价及药物筛选等。

**HAV可在多种原代及传代细胞系中增殖**，原代狨猴肝细胞、传代恒河猴胚肾细胞（FRhk4、FRhk6）、非洲绿猴肾细胞（Vero）、人胚肺二倍体细胞（MRC5或KMB17）及人肝癌细胞（PLC/PRF/S）等均可用于HAV的分离培养，但在培养细胞中HAV的增殖速度非常缓慢，且不引起细胞病变。

3.4.1.2. HAV的致病性与免疫性

（1）传染源与传播途径

**HAV的传染源为急性期患者和隐性感染者，主要由粪－口途径传播**。HAV通过污染水源、食物、海产品、食具等传播，引起散发流行或暴发流行。1988年春季，上海市曾暴发因食用被HAV污染的未煮熟的毛蚶所致的甲型肝炎疫情，患者多达30余万例，死亡47人。甲型肝炎的潜伏期为15～50天，平均30天，在潜伏期末粪便中存在大量病毒，传染性强。发病2周以后，随着肠道中抗-HAV IgA及血清中抗-HAV IgM和IgG抗体的产生，粪便中不再排出病毒。HAV感染后儿童大多表现为隐性感染，不出现明显的症状，但粪便中有病毒排出，是重要的传染源。成人感染常为显性感染。感染者可出现1~2周的病毒血症，在此期间存在经血液传播的可能性，但临床上经血传播的甲型肝炎罕见。近年来，随着甲型肝炎疫苗的广泛接种，儿童的感染率和发病率大幅度下降，成人的发病构成比相对升高。

（2）致病与免疫机制

HAV可能在肠黏膜中增殖并侵入血流形成病毒血症，**最终侵犯肝脏**，在肝细胞中增殖后**随胆汁排入肠道并通过粪便排出**。甲型肝炎患者有明显的肝脏炎症，出现肝细胞肿胀、核增大、气球样变性及炎症细胞浸润等病理改变，**临床上表现为无黄疸型肝炎和黄疸型肝炎两种类型，**前者以中等程度发热、乏力、厌食、恶心、呕吐、腹痛、肝脾肿大、血清中丙氨酸转移酶（ALT）升高等肝脏炎症的典型临床特征，后者除有上述的临床表现外还可出现皮肤及巩膜黄染、尿色深黄和黏土样粪便等。一般情况下，**病程持续约3～4周，预后良好**。静脉吸毒者、男同性恋者、HIV感染者以及慢性肝病患者等特殊人群感染HAV后可出现重型肝炎。

HAV引起肝细胞损伤的机制尚不十分清楚。**HAV在肝细胞内增殖缓慢，一般不直接造成肝细胞的损害，其致病机制主要与免疫病理反应有关**。在感染早期，主要通过自然杀伤细胞（NK细胞）杀伤受感染的肝细胞。随后机体特异性细胞免疫被激活，细胞毒性T淋巴细胞（CTL）杀伤肝细胞。干扰素在HAV感染和免疫损伤机制中也起重要作用，在感染过程中，机体可产生高水平的IFN-γ，促进肝细胞表达MHC-I分子，增强MHC-I介导的CTL对肝细胞的杀伤作用。

**HAV的显性感染或隐性感染均可诱导机体产生持久的免疫力**。抗-HAV IgM在感染早期出现，发病后一周达高峰，维持两个月左右逐渐下降。抗-HAV IgG在急性期末或恢复期早期出现，并可维持多年，对HAV的再感染有免疫保护作用，是获得抗HAV特异性免疫的标志。我国成人血清HAV抗体阳性率达70%～90%。

3.4.1.3. HAV感染的检测

HAV的微生物学诊断包括血清学检查和病原学检查。**血清学检查使用ELISA检测患者血清中的抗-HAV IgM和IgG**。抗-HAV IgM出现早，消失快，是甲型肝炎早期诊断可靠的血清学指标。抗-HAV IgG检测主要用于了解既往感染史或流行病学调查。病原学检查一般不做HAV的分离培养，主要针对粪便标本，采用定性或定量反转录PCR（RT-PCR或RT-qPCR）方法检测病毒RNA、ELISA法检测HAV抗原和免疫电镜法检测病毒颗粒等。

3.4.1.4. HAV感染的防治

甲型肝炎的一般性预防措施是**做好卫生宣传，加强食物、水源和粪便管理**，严格消毒处理患者的排泄物、食具、物品和床单衣物等。疫苗接种是预防甲型肝炎的有效手段。我国于1992年和2002年分别研制成功**甲型肝炎减毒活疫苗**和**灭活疫苗**。**甲型肝炎减毒活疫苗**是将从患者粪便中分离到的HAV经人胚肺二倍体细胞株连续传代充分减毒而成，目前主要在我国使用；**甲型肝炎灭活疫苗**是将HAV灭活后纯化制得，在国内外广泛使用。上述两种疫苗均具有良好的免疫原性，接种后免疫力持久稳定。2009年儿童接种甲型肝炎疫苗被纳入国家免疫规划。WHO建议将HIV感染者、慢性肝病患者、静脉吸毒者等高危人群也纳入甲型肝炎疫苗接种计划。

目前尚无有效的抗病毒药物用于甲型肝炎的治疗，临床上以对症治疗及支持疗法为主。

3.4.2. 乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）属于嗜肝DNA病毒科（*Hepadnaviridae*）正嗜肝DNA病毒属（*Orthohepadnavirus*），是乙型肝炎的病原体。1965年Blumberg等首次报道在澳大利亚土著人血清中发现一种与血源传播的肝炎相关的抗原，称为澳大利亚抗原（Australian antigen，Au）。随后的两项研究确定了Au与乙型肝炎之间的因果关系。首先，1969年Blumberg等发现荧光素标记的Au抗体能特异地结合乙型肝炎患者肝活检肝细胞中的病毒样颗粒。其次，Moore等曾将来自慢性肝炎患者的血清系列稀释后接种志愿者，大多数受试者产生了肝炎。1970年Barker等对这些志愿者的血清进行检测，发现即使只接种了浓度很低的血清，仍然能检测到Au，表明表达Au的病毒具有复制能力。Barker等进一步在黑猩猩模型上证实了HBV是乙型肝炎的病原体，随后证实Au为HBV的表面抗原。1970年Dane在电镜下发现患者血清中存在HBV颗粒。

HBV感染是全球性的公共卫生问题，估计全球HBV慢性携带者高达2.5亿人。**HBV感染后临床表现呈多样性，可表现为急性肝炎、重型肝炎、慢性肝炎或无症状携带者，其中部分慢性肝炎可发展成肝硬化或肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）**。

3.4.2.1. HBV的生物学性状

（1）形态与结构

在电镜下可见HBV感染者的血清中存在三种不同形态的病毒颗粒，即大球形颗粒、小球形颗粒和管形颗粒。

1. 大球形颗粒 又称**Dane颗粒，是具有感染性的完整HBV颗粒**，电镜下呈球形，直径约42nm。外层是病毒的包膜，由脂质双层和病毒编码的包膜蛋白组成。包膜蛋白有3种，分别为小蛋白（small protein，S蛋白）、中蛋白（middle protein，M蛋白）和大蛋白（large protein**，L蛋白**）。**S蛋白为HBV表面抗原（hepatitis B surface antigen，HBsAg）**。**M蛋白含前S2蛋白（PreS2）和HBsAg，L蛋白含前S1蛋白（PreS1）、PreS2和HBsAg**。内层为病毒的核衣壳，呈二十面体对称，直径约27nm，**衣壳蛋白也称为HBV核心抗原（hepatitis B core antigen，HBcAg）**。病毒核心内部含病毒的双链DNA和聚合酶等。

2）小球形颗粒 为一种中空颗粒，直径为22nm，大量存在于感染者的血液中，**主要成分为S蛋白**，不含病毒DNA，无感染性。

1. 管形颗粒 直径与小球形颗粒相同，长度约100~500nm，**主要成分为S蛋白和M蛋白，**无感染性。

（2）基因组与编码蛋白

HBV基因组的结构特殊，为**部分双链环状DNA，又称为松弛环状双链DNA（relaxed circular DNA，rcDNA）**，两条DNA链的长度不一致，长链为负链，含完整的HBV基因组，长约3.2kb。短链为正链，长度通常约为负链的1/2～2/3不等。两条DNA链的5'端各有约250个碱基可相互配对，因此，正负链5'端可构成黏性末端，使DNA分子形成环状结构。在黏性末端两侧各有由11个核苷酸（5'-TTCACCTCTGC-3'）组成的直接重复序列（direct repeat，DR），称为DR1和DR2。DR区是病毒DNA成环和病毒复制的关键序列。负链DNA的5'末端与病毒聚合酶N端的末端蛋白（terminal protein，TP）共价连接。正链的5'末端有一段短的RNA序列，是引导正链DNA合成的引物。

HBV基因组**含有4个开放阅读框**（ORF），分别称为S（表面蛋白）、C（衣壳蛋白）、P（聚合酶）和 X（X蛋白）。

1）**S ORF** **由连续的preS1区、preS2区和S基因组成**，由各自的起始密码子开始翻译，可分别产生**L（PreS1+PreS2+HBsAg）、M（PreS2+HBsAg）和S蛋白（HBsAg）**。HBsAg为糖基化蛋白，大量存在于感染者的血液中，是HBV感染的主要标志。HBsAg可刺激机体产生保护性细胞免疫和体液免疫应答，因此HBsAg是制备疫苗的主要成分。PreS1多肽及PreS2多肽也具有免疫原性，可刺激机体产生特异性抗体。此外，PreS1可与肝细胞表面受体钠离子-牛磺胆酸共转运多肽（sodium taurocholate cotransporting polypeptide，NTCP）结合，在HBV感染肝细胞的过程中发挥关键作用。

2）C ORF **由连续的前C（preC）区和C基因组成。pre**C位于C基因上游，长87bp，与C基因共同编码PreC蛋白。PreC蛋白是**非结构蛋白**HBeAg的前体蛋白，在细胞内经切割加工后形成HBeAg（e抗原），并分泌到血液循环中。**HBeAg**可刺激机体产生抗-HBe。

C基因编码的病毒衣壳蛋白（HBcAg）组装后形成病毒的衣壳，一般不在血液中游离存在，不易在血清中检出。HBcAg抗原性强，能刺激机体产生抗体及细胞免疫应答。

3） P ORF 编码HBV聚合酶，该酶含有4个区域，分别为末端蛋白（TP )、间隔（spacer）、逆转录酶（reverse transcriptase，RT）和RNA酶H（RNase H）。

4） X ORF 编码的X蛋白是一种多功能蛋白质，**能促进HBV的复制，并**具有广泛的反式激活作用，可激活细胞内的多条信号通路，**与HBV相关肝癌的发生发展密切相关**。

（3）HBV的复制

HBV复制的分子机制尚未完全清楚，其复制过程大致如下：

1）HBV通过包膜L蛋白的PreS1区与肝细胞表面受体NTCP结合，继而被內吞进入肝细胞，在胞浆中脱去衣壳。

2）病毒DNA进入细胞核，可能利用宿主细胞的DNA修复机制，将rcDNA转化形成共价闭合环状DNA（covalently closed circular DNA，cccDNA）。cccDNA作为病毒转录的模板，由细胞RNA聚合酶II转录出3.5kb、2.4kb、2.1kb和0.7kb mRNA，其中一种3.5kb RNA在病毒复制过程中具有双重作用，既具有翻译产生衣壳蛋白和聚合酶的功能，又可作为病毒前基因组RNA（pregenomic RNA, pgRNA）用以复制子代病毒DNA。

在胞质中，pgRNA翻译产生衣壳蛋白和聚合酶；HBeAg前体蛋白由同样长为3.5 kb的preC mRNA翻译产生；2.4 kb RNA编码包膜L蛋白；2.1kb RNA编码包膜M蛋白和S蛋白；0.7kb RNA编码X蛋白。

3）pgRNA、聚合酶和衣壳蛋白在胞质中组装成核衣壳。

4）在核衣壳内，以pgRNA为模板，在聚合酶的逆转录酶活性的催化下逆转录合成HBV全长负链DNA，同时pgRNA被RNase H降解。新合成的负链DNA作为模板合成子代正链DNA，通常不等正链合成完毕，基因组即完成环化，因此子代病毒基因组为部分双链DNA。

5）核衣壳进入内质网和高尔基体内进行蛋白加工并获得包膜和包膜蛋白成为完整的病毒颗粒，最后借助细胞分泌通路释放到细胞外。此外，核衣壳亦可将rcDNA转运并释放到细胞核内补充cccDNA池。

一般认为HBV为专一的嗜肝病毒，也有报道在单核细胞、脾、肾、胰、骨髓、淋巴结、睾丸、卵巢等器官或组织中检出HBV DNA，提示HBV亦可能在肝外存在。

（4）血清型和基因型

1）血清型 根据HBsAg分子中的a决定簇上特定氨基酸的多态性，以及二组互相排斥的抗原表位（d/y和w/r），按不同组合形式，构成**HBsAg的四种主要血清型，即adr、adw、ayr和ayw**。因有共同的a决定簇，故血清型之间有广泛的交叉免疫保护作用。

2）基因型 根据HBV基因组全序列的差异≥8%，可将HBV分为A～J 10个基因型，各基因型又可分为多个不同的亚型。不同地区流行的基因型不同：A型主要见于美国和西欧；D型见于中东、北非和南欧；E型见于非洲；我国及亚洲其他地区流行的主要是B型和C型，偶有A型和D型的报道。

（5）动物模型与细胞培养

**HBV具有严格的种属特异性，宿主范围狭窄，自然状态下只能感染人和少数灵长类动物**。黑猩猩可用于HBV的致病机制研究和疫苗效果评价。嗜肝DNA病毒科的其他成员如鸭乙型肝炎病毒、土拨鼠肝炎病毒及地松鼠肝炎病毒等可在其相应的天然宿主中造成类似人类HBV的感染，因此可作为实验动物模型。例如鸭乙型肝炎病毒及其动物宿主曾被国内外广泛用于嗜肝DNA病毒复制机制和抗病毒药物筛选的研究。此外，树鼩及HBV转基因小鼠等也可作为HBV的动物模型。HBV的体外培养易感细胞主要包括人原代肝细胞和表达HBV受体（NTCP）的肝癌细胞等。此外，转染完整HBV基因组的人肝癌细胞可稳定表达HBV抗原和产生感染性病毒颗粒。

（6）抵抗力

**HBV对外界环境的抵抗力较强**，耐低温、干燥和紫外线。不被70%乙醇灭活。高压蒸汽灭菌法、100℃加热10分钟可灭活HBV，0.5%过氧乙酸、5%次氯酸钠和环氧乙烷等均可用于HBV的消毒。上述消毒手段仅能使HBV失去感染性，但仍可保留HBsAg的抗原性。

3.4.2.2. HBV的致病性与免疫性

（1）传染源

**HBV的主要传染源为乙型肝炎患者或无症状HBV携带者**。在感染者的血液、尿液、唾液、乳汁、阴道分泌物、精液等多种体液中均可检测到HBV。因此潜伏期、急性期或慢性活动期患者的血液和体液都有传染性。HBV携带者无症状，不易被发现，是HBV的重要传染源。

（2）传播途径

**1）血液、血制品及医源性传播**感染者血液中的HBV含量可高达1010/ml，微量的污染血进入人体即可导致感染。输血或血制品、器官移植、外科手术、牙科手术、血液透析、采血、注射及内镜等诊疗过程均可导致传播。此外，针刺（文身）、静脉吸毒者及皮肤黏膜的微小损伤等亦可导致感染。

**2）母婴传播** HBsAg和HBeAg双阳性母亲的HBV垂直传播率可高达95%，传播方式包括宫内感染、围产期传播、哺乳或密切接触传播，其中围产期传播是母婴传播的主要传播途径，常发生在分娩时新生儿破损的皮肤黏膜与母体的血液接触而受感染。HBV的宫内感染虽不常见，但若孕妇体内病毒载量高则可能发生胎儿宫内感染。在我国等HBV高流行区，母婴传播是HBV的主要传播方式。

**3）性传播及密切接触传播**由于HBV感染者的唾液、精液及阴道分泌物等体液中含有病毒，因此性滥交者、同性恋者及不安全性行为者是HBV感染的高危人群，HBV感染者的配偶也比其他家庭成员更易受到感染。在HBV低流行区，HBV感染主要发生在性乱者和静脉吸毒者中，所以西方国家将乙型肝炎列为性传播疾病。此外，HBV感染有一定的家庭聚集性，日常生活密切接触、共用剃刀或牙刷等亦可造成传播。

（3）致病与免疫机制

乙型肝炎的潜伏期为30～160天。**临床表现呈多样性，可表现为无症状HBV携带者、急性肝炎、重型肝炎和慢性肝炎。成人感染HBV大多呈急性感染，仅约5%～10%转为慢性感染，而婴幼儿感染HBV后90%以上转为慢性感染。**

**HBV感染通常不对肝细胞造成直接损伤，免疫病理反应以及病毒与宿主细胞的相互作用是HBV的主要致病机制**。在HBV感染早期，活化的NK细胞、单核-巨噬细胞和浆细胞样树突状细胞等可发挥早期抗病毒作用。随后，存在于血液或肝细胞表面的病毒或病毒抗原成分可诱导机体产生适应性免疫应答。免疫反应的强弱与疾病的临床过程及转归密切相关。

**机体对HBV的免疫效应具有双重性：既可清除病毒，也可造成肝细胞的损伤**。当机体免疫功能正常时，感染后可获得特异性的免疫保护，很快控制病毒感染，可通过彻底清除病毒而痊愈，临床上表现为无症状或急性肝炎。相反，若被感染的肝细胞较多，机体出现强烈的免疫反应导致大量肝细胞坏死，表现为重型肝炎。当机体免疫功能低、免疫耐受或由于病毒变异而发生免疫逃逸时，机体免疫系统不能有效清除病毒，病毒持续存在并不断复制，表现为慢性携带或慢性肝炎。慢性肝炎造成的肝细胞慢性病变可促进成纤维细胞增生，引起肝硬化。

1）**细胞免疫及其介导的免疫病理反应** 活化的CD8+和CD4+ T细胞在清除HBV过程中起关键作用。CD8+ T细胞（CTL）识别肝细胞膜上的MHC-Ⅰ类分子呈递的HBV抗原成分，继而分泌穿孔素（perforin）和颗粒酶等效应分子直接杀伤靶细胞；活化的CD4+ Th1细胞能分泌IFN-γ、IL-2和TNF-α等细胞因子，通过激活巨噬细胞、NK细胞、促进CTL的增殖分化及诱导炎症反应等发挥抗病毒效应；HBV感染可诱导肝细胞凋亡，感染的肝细胞表面可表达高水平的Fas，CTL通过Fas配体（Fas ligand，FasL）与肝细胞结合，诱导肝细胞凋亡。然而，过度的细胞免疫反应可引起大量的肝细胞破坏，导致重型肝炎。若特异性细胞免疫功能低下则不能有效清除病毒，病毒在体内持续存在而形成慢性感染。

2）**体液免疫及其介导的免疫病理反应** HBV感染可诱导机体产生抗-HBs和抗-PreS1等抗体，这些抗体通过直接清除血循环中游离的病毒或阻断病毒对肝细胞的吸附而发挥免疫保护作用。然而，血中的HBsAg、HBcAg和HBeAg及其相应抗体可形成免疫复合物，并随血液循环沉积于肾小球基底膜、关节滑囊等处，激活补体，导致Ⅲ型超敏反应，故乙型肝炎患者可伴有肾小球肾炎、关节炎等肝外损害。如果免疫复合物大量沉积于肝内，可使肝毛细管栓塞，导致急性肝坏死，临床上表现为重型肝炎。

3）**自身免疫反应引起的病理损害** HBV感染肝细胞后，细胞膜上除出现病毒特异性抗原外，还会引起肝细胞表面自身抗原发生改变，从而诱导机体产生自身抗体，通过ADCC作用、CTL的杀伤作用或释放细胞因子等直接或间接损伤肝细胞。

4）**免疫耐受与慢性肝炎** 机体对HBV的免疫耐受是导致HBV持续性感染的重要原因。当HBV感染者细胞免疫和体液免疫处于较低水平或完全缺乏时，机体既不能有效地清除病毒，也不能产生有效的免疫应答杀伤病毒感染的细胞，病毒与宿主之间形成免疫耐受，临床上常表现为“无症状”HBV携带状态。对HBV的免疫耐受可发生在母婴垂直感染和成人感染过程中。当发生HBV宫内感染时，胎儿胸腺淋巴细胞与HBV抗原相遇，导致特异性淋巴细胞克隆被排除而发生免疫耐受；幼龄感染HBV后，因免疫系统尚未发育成熟，也可对病毒形成免疫耐受；成人HBV感染后，如果病毒的复制导致特异性T细胞被耗竭或由于大量细胞凋亡而使特异性T细胞消耗过多时，机体也可形成免疫耐受。此外，HBV感染后，机体免疫应答能力低下，干扰素产生不足，可导致靶细胞的MHC-Ⅰ类抗原表达低下，可使CTL的杀伤作用减弱，不能有效地清除病毒。

5）**病毒变异与免疫逃逸**HBV常见的变异形式有以下几种：①S基因编码的a决定簇可发生点突变或插入突变，导致HBsAg抗原性改变，使现有的诊断方法不能检出，出现所谓的**“诊断逃逸”**。②preC基因的变异常发生在1896位核苷酸，使preC区的第28位密码子由TGG变为终止密码子TAG，从而不能翻译出完整的HBeAg，表现为HBeAg阴性并导致**“免疫逃逸”**，使病毒能逃避机体的免疫清除作用。③C基因基本核心启动子的A1762T和G1764A双突变可影响C基因的转录，从而可能影响CTL对HBcAg的识别，影响CTL对靶细胞的杀伤。④在长期接受HBV聚合酶抑制剂治疗的过程中，HBV的P基因可发生耐药性变异。

6）**HBV与原发性肝癌** HBV感染与原发性肝细胞癌有密切关系。我国约80%的HCC患者曾慢性感染HBV，HBsAg携带者较正常人发生原发性肝癌的危险性高200倍以上；HBV相关肝癌细胞染色体中有HBV DNA的整合，整合可能导致整合点附近的宿主基因表达异常或染色质不稳定；另一方面，X蛋白可通过广泛的反式激活作用和其他多种生物学作用影响细胞周期，促进细胞转化，导致肝癌的发生。

3.4.2.3. HBV感染的检测

HBV感染的实验室诊断方法主要是血清标志物检测，包括抗原抗体检测和病毒核酸检测等。

（1）**HBV抗原、抗体检测**

用ELISA检测患者血清中HBV抗原和抗体是目前临床上诊断乙型肝炎最常用的检测方法。主要**检测HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe及抗-HBc（俗称“两对半”）**。

1）**HBsAg和抗-HBs** HBsAg大量存在于感染者的血液中，**是HBV感染的重要标志，也是筛选献血员的必检指标**。急性感染恢复后，一般在1～4个月内HBsAg消失，若持续6个月以上则认为已向慢性感染转化。无症状HBV携带者的肝功能正常，但可长期HBsAg阳性。HBsAg阴性并不能完全排除HBV感染，需注意因S基因突变或低水平表达导致的诊断逃逸。抗-HBs是HBV的特异性中和抗体，见于乙型肝炎恢复期、既往HBV感染者或接种HBV疫苗后。抗-HBs的出现表示机体对乙肝病毒感染有免疫力。

2）**HBeAg和抗-HBe** HBeAg的消长与血液中病毒颗粒的消长基本一致，因此HBeAg阳性提示HBV在体内复制活跃，有较强的传染性。抗-HBe阳性表示机体已获得一定的免疫力，HBV复制减弱。但在preC基因发生变异时，由于变异株的免疫逃逸作用，即使抗-HBe阳性，病毒仍大量增殖，因此对抗-HBe阳性的患者也应注意检测其血中的HBV DNA，以全面了解病毒的复制情况。

**3）抗-HBc** HBcAg一般不在血液中以游离形式存在，故不纳入常规检测。抗-HBc IgM阳性提示HBV急性感染或慢性感染急性发作。抗-HBc IgG在血中持续时间较长，是已感染HBV或既往感染过HBV的标志。

（2）HBV DNA检测

采用**PCR或qPCR法检测HBV DNA**。在慢性感染者中HBV DNA可持续阳性，检出HBV DNA是病毒复制和传染性的最可靠的指标，已被广泛应用于临床诊断和药物效果评价。

除了上述的检测方法外，近年来一些新型的检测方法也被用于HBV感染的诊断、药物效果评价和预后评估，如cccDNA检测、HBsAg及HBeAg的定量分析、血清病毒RNA检测等。

HBV抗原、抗体、DNA检测结果及临床意义，应**结合肝功能指标综合判断**。

3.4.2.4. HBV感染的防治

HBV感染的一般性预防包括加强对献血员的筛选，以降低输血后乙型肝炎的发生率；患者的血液、分泌物和排泄物，用过的食具、药杯、衣物、注射器和针头等均须严格消毒；注意个人卫生，避免共用牙刷、剃刀、指甲钳和其他可能污染血液的个人用品等。

（1）**主动免疫**

**接种疫苗是预防HBV感染的最有效方法。**第一代乙型肝炎疫苗为血源疫苗，曾在我国广泛使用。由于这种疫苗是从HBsAg携带者血液中提纯HBsAg，经甲醛灭活而成，其来源及安全性均存在问题，现已停用。第二代乙型肝炎疫苗为基因工程疫苗，也是世界上首个基因工程疫苗，是由酵母菌或哺乳动物细胞表达的重组HBsAg，经纯化而成，其优点是易大量制备，且具有良好的安全性。全程免疫共接种3次，按0、1、6个月方案接种，可获良好的免疫保护作用。我国已将乙型肝炎疫苗接种纳入免疫规划，从而大大降低了我国HBV的携带率，整体人群HBsAg阳性率下降为6.1％（2016年），5岁以下儿童HBsAg阳性率仅为0.21%（2014年）。

**（2）被动免疫**

含高效价抗-HBs的人乙肝免疫球蛋白（hepatitis B immunoglobulin，HBIG**）可用于紧急预防**。意外暴露者在7日内注射HBIG，一个月后重复注射一次，可获得免疫保护。HBsAg阳性母亲的新生儿，应在出生后24小时内注射HBIG，然后再全程接种HBV疫苗，可有效预防新生儿感染。

常用的抗病毒药物有干扰素和核苷（酸）类似物两大类，干扰素类药物包括IFN-α及聚乙二醇干扰素（pegylated interferon，Peg-IFN）。常用的核苷（酸）类似物一线药物有恩替卡韦（entecavir）和替诺福韦（tenofovir）。其他还包括拉米夫啶（lamivudine）、阿德福韦酯（adefovir dipivoxil）和替比夫定（telbivudine）等，这类药物通过竞争性抑制HBV聚合酶的逆转录酶活性而抑制病毒复制。上述两类药物虽能有效抑制病毒复制，但难以彻底清除病毒。

3.4.3. 丙型肝炎病毒

丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）引起的丙型肝炎曾被称为肠道外传播的非甲非乙型肝炎（parenterally transmitted non A，non B hepatitis，PT-NANB）。1989年，Choo等首次从实验感染PT-NANB的黑猩猩血浆中获得了病毒的cDNA克隆，测定了约70%的HCV基因序列，并用这些基因表达产物作为抗原，检测到PT-NANB患者血清中存在该抗原的特异性抗体。随后又从PT-NANB患者的血清中获得了病毒全基因组序列，从而确认了PT-NANB的病原体，并将其命名为HCV。1991年ICTV将其归类为黄病毒科（*Flaviviridae*）丙型肝炎病毒属（*Hepacivirus*）。

HCV感染呈全球性分布，主要经血或血制品传播。**HCV感染的重要特征是易于慢性化**，急性期后易于发展成慢性肝炎，部分患者可进一步发展为肝硬化或肝癌。

3.4.3.1. HCV的生物学特性

（1）形态与结构

HCV颗粒呈球形，有包膜，直径约50nm。基因组为单股正链RNA，长度约9.5kb。基因组由5'端非编码区（5'UTR）、编码区和3'端非编码区（3'UTR）组成。5'端非编码区含内部核糖体进入位点（internal ribosome entry site，IRES），对HCV基因的表达起调控作用。编码区编码一个多蛋白前体，在病毒蛋白酶和宿主信号肽酶的作用下切割产生病毒的3种结构蛋白和7种非结构蛋白。结构蛋白包括衣壳蛋白（C蛋白）和包膜蛋白E1和E2。C蛋白是一种RNA结合蛋白，与病毒基因组一起组成病毒的核衣壳。C蛋白含有多个CTL表位，可诱导细胞免疫反应。包膜蛋白**E1和E2是两种高度糖基化的蛋白**，E基因具有高度变异性，含有一个约40个核苷酸的高度变异区（highly variable region，HVR-1），导致包膜蛋白的抗原性发生快速变异。非结构蛋白包括NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B和p7蛋白：NS3蛋白具有解旋酶和丝氨酸蛋白酶活性，其丝氨酸蛋白酶活性需要NS4A作为辅助因子，所以也称为NS3/NS4A蛋白酶；NS5B是RNA依赖的RNA聚合酶，NS5A是病毒复制中必需的调节因子。这三种非结构蛋白已成为**抗HCV药物的主要靶点**。3'端非编码区可能与病毒复制有关。由于HCV编码的RNA依赖的RNA聚合酶缺乏纠错能力，使HCV在感染者体内易形成由各种变异体病毒组成的病毒群体，称为**准种**。**这种高度变异引起的免疫逃逸作用是HCV在体内持续存在、感染易于慢性化的主要原因，也是HCV疫苗研制的一大障碍**。

（2）基因型

根据HCV基因组全序列同源性的差异，可将HCV分为7个基因型和至少100个基因亚型。我国以1型、2型、3型和6型流行为主。不同的基因型除了在地域分布上不同外，在传播途径、疾病严重程度、对治疗的应答及疾病的预后等方面也存在差异。

（3）动物模型与细胞培养

HCV体外培养困难，缺乏稳定高效的从临床样本中分离培养病毒的细胞体系。近年来发展了用HCV cDNA或RNA转染肝癌细胞系的培养系统（HCV cell culture，HCVcc），其中最常用的是JEH-1/HCVcc系统，该系统是将HCV 2a亚型JEH-1毒株的全长cDNA转染肝癌细胞系Huh-7构建而成，可稳定支持HCV复制并产生具有感染性的JEH-1病毒颗粒。黑猩猩对HCV敏感，病毒可在其体内连续传代，是目前可用的动物模型。

（4）抵抗力

**HCV对理化因素抵抗力不强**，对乙醚、氯仿等有机溶剂敏感，100℃ 5分钟、紫外线照射、甲醛（1：6000）、20%次氯酸、2%戊二醛等均可使之灭活。血液或血制品经60℃处理30小时可使HCV的传染性消失。

3.4.3.2. HCV的致病性与免疫性

人类是HCV的自然宿主。传染源主要为急、慢性丙型肝炎患者和慢性HCV携带者。**传播途径主要为输血或血制品传播**。此外，亦可通过非输血途径的性接触和家庭密切接触传播，母婴传播罕见。人群对HCV普遍易感，同性恋者、静脉吸毒者及接受血液透析的患者为高危人群。

HCV感染的临床过程可表现为急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者。**HCV感染易慢性化**，40%～50%的急性HCV感染者可转成慢性感染。大多数急性HCV感染者临床表现不明显，发现时已呈慢性过程。约20%慢性丙型肝炎可发展成肝硬化，继而发展为肝细胞癌。我国肝癌患者的血中抗-HCV阳性率约为10%。

**HCV的致病机制尚未完全明了。目前认为，HCV的致病机制与病毒的直接致病作用、细胞免疫介导的免疫病理反应及NK细胞的杀伤作用有关**。HCV通过包膜蛋白E2与肝细胞表面的多种受体如CD81分子结合，介导病毒进入肝细胞。病毒在肝细胞内复制，导致肝细胞结构和功能发生改变或通过干扰蛋白质合成，导致肝细胞变性与坏死；HCV诱导产生的特异性CD8+ CTL对靶细胞的直接杀伤作用、活化的CD4+ Th1细胞释放多种炎症细胞因子和自身免疫反应、Fas/FasL介导的细胞凋亡均可造成肝细胞损伤；此外，NK细胞的杀伤作用除了能清除病毒感染的细胞外，在肝细胞损害的致病机制中也发挥重要作用。

HCV感染易于慢性化的可能机制除了与HCV基因组变异率高导致免疫逃逸有关外，还可能与HCV在体内呈低水平复制，病毒血症水平较低，不易诱导高水平的免疫应答或存在于外周血单核细胞等肝外组织中的HCV不易被清除等因素有关。

HCV感染后诱导产生的适应性免疫应答没有明显的免疫保护作用。机体感染HCV后，虽然可产生特异性IgM和IgG型抗体，但由于病毒易于变异，不断出现免疫逃逸突变株，因此，抗体的免疫保护作用不强。HCV感染后诱生的细胞免疫反应也不足以提供有效的免疫保护。

3.4.3.3. HCV感染的检测

**（1）检测病毒核酸** HCV RNA的检测是判断HCV感染及传染性的可靠指标。常用方法有RT-PCR和RT-qPCR法，敏感性高，可检出患者血清中极微量的HCV RNA，一般用于早期诊断及疗效评估。

（2）**检测抗体** HCV感染后机体可产生结构蛋白和非结构蛋白的抗体，采用C22、NS3、NS4、NS5等基因重组蛋白为抗原，用 ELISA和Western blot检测血清中HCV抗体，可用于丙型肝炎的诊断、筛选献血员和流行病学调查。

3.4.3.4. HCV感染的防治

**目前尚无有效疫苗用于丙型肝炎的预防**，严格筛选献血员、加强血制品管理是控制HCV感染最主要的预防手段。近年来，HCV的抗病毒治疗取得了重大进展，一批高效的**直接抗病毒药物（direct-acting antivirals，DAAs）**已用于临床，包括NS3/4A蛋白酶抑制剂、NS5B聚合酶抑制剂和NS5A抑制剂等，可使90-100%的患者获得持续病毒学应答（sustained virological response, SVR），使慢性丙型肝炎从难治性疾病变为可治愈疾病。

3.4.4. 丁型肝炎病毒

1977年，意大利学者Rizzetto在用免疫荧光法检测乙型肝炎患者的肝组织切片时，发现肝细胞内除HBsAg外，还有一种新的抗原，当时称其为δ因子或δ病毒。通过黑猩猩实验证实这是一种不能独立复制的缺陷病毒（defective virus），其复制必须在HBV或其他嗜肝DNA病毒辅助下才能进行。1983年正式命名为丁型肝炎病毒（hepatitis D virus，HDV），属于三角病毒科（*Kolmioviridae*）德尔塔病毒属（*deltavirus*）。

3.4.4.1. HDV的生物学特性

HDV为球形，直径35～37nm，有包膜，但**包膜蛋白为HBV的HBsAg**。病毒核心由HDV RNA和与之结合的HDV抗原（HDAg）组成。HDV RNA为单股负链环状RNA，长度约1.7kb，是目前已知的动物病毒中基因组最小的病毒。HDAg是HDV基因组编码的唯一的蛋白质，有P24（SHDAg）和P27（LHDAg）两种多肽形式，在病毒复制过程中起重要作用。若HDAg单独被HBsAg包装，可形成不含HDV RNA的“空壳颗粒”。HDAg主要存在于肝细胞内，在血清中维持时间短，故不易检出。但HDAg可刺激机体产生抗体，可从感染者血清中检出抗-HD。

黑猩猩、土拨鼠和北京鸭对HDV敏感，可作为HDV研究的动物模型。

3.4.4.2. HDV的致病性与免疫性

HDV的传染源为急、慢性丁型肝炎患者和HDV携带者，**传播途径**主要是血液传播。感染后可表现为急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者。**HDV感染有联合感染（co-infection）和重叠感染（superinfection）两种类型。**联合感染是指未感染过HBV的人同时发生HBV和HDV的感染；重叠感染是指HBV慢性感染者又继发HDV感染。重叠感染常可导致肝炎加重与恶化，易发展成重型肝炎，以及促进肝硬化和肝癌的发生。目前认为HDV的致病机制可能与病毒对肝细胞的直接损伤作用和机体的免疫病理反应有关。HDAg可刺激机体产生特异性IgM和IgG型抗体，但这些抗体不是中和抗体，不能清除病毒。

HDV感染呈世界性分布，意大利、地中海沿岸国家、非洲和中东地区等为HDV感染的高发区。我国各地HBsAg阳性者中HDV感染率约0～32%，北方偏低，南方较高。

3.4.4.3. HDV感染的检测

**（1）抗原抗体检测** 丁型肝炎病程早期，患者血清中存在HDAg，因此**检测HDAg可作为HDV感染的早期诊断**。但HDAg在血清中存在时间短，平均仅21天左右，因此标本采集时间是决定检出率的主要因素。部分患者可有较长时间的抗原血症，但HDAg滴度较低，故不易检出。用放射免疫法（RIA）或ELISA检测血清中HDV抗体是目前诊断HDV感染的常规方法，抗-HD IgM在感染后2周出现，4～5周达高峰，随之迅速下降，因此，检出抗-HD IgM有早期诊断价值。抗-HD IgG产生较晚。如HDV抗体持续高效价，可作为慢性HDV感染的指标。肝细胞内HDAg的检出是HDV感染的可靠证据，并且是HDV感染活动的指标，但活检标本不易获得，故不常用。

**（2）HDV RNA检测** 斑点杂交或RT-PCR等技术检测患者血清中或肝组织内的HDV RNA也是诊断HDV感染的可靠方法。

3.4.4.4. HDV感染的防治

HDV的传播途径与HBV相似，此外，HDV是HBV的卫星病毒，其复制必须在HBV的辅助下才能完成，因此**丁型肝炎的预防原则与乙型肝炎相同**，如加强血液和血液制品管理、严格筛选献血员、防止医源性感染及广泛接种乙肝疫苗等。目前尚无直接抗HDV的抗病毒药物问世，IFN-α及聚乙二醇干扰素等对丁型肝炎有一定疗效。

3.4.5. 戊型肝炎病毒

戊型肝炎病毒（hepatitis E virus，HEV）引起的戊型肝炎曾称为经消化道传播的非甲非乙型肝炎。二十世纪70年代末，Khuroo在印度克什米尔地区进行流行性肝炎研究时发现一种不同于甲型肝炎的肠道传播病毒性肝炎。Balayan等随后证实了HEV的存在。HEV属于戊型肝炎病毒科（*Hepeviridae*）帕斯拉戊型肝炎病毒属（*Paslahepevirus*）。

印度次大陆是戊型肝炎的高流行区，我国为地方性流行区，全国各地均有戊型肝炎发生。1986-1988年，我国新疆南部发生戊型肝炎大流行，约12万人发病，700余人死亡，是迄今世界上最大的一次戊型肝炎流行。

3.4.5.1. HEV的生物学特性

HEV颗粒呈球状，无包膜，平均直径为32～34nm，表面有锯齿状刻缺和突起。HEV对高盐、氯化铯、三氯甲烷等敏感，在-70～8℃条件下易裂解，但在液氮中保存稳定。HEV体外培养困难，迄今仍不能在培养细胞中大量培养。HEV可感染食蟹猴、非洲绿猴、猕猴、黑猩猩及乳猪等多种动物。

HEV基因组为单股正链RNA，全长约7.2kb，共有3个ORF。ORF1编码病毒复制所需的RNA依赖的RNA聚合酶等非结构蛋白，ORF2编码病毒的衣壳蛋白，ORF3与ORF1和ORF2有部分重叠，其编码的多肽可能具有型特异性抗原表位。

感染人类的HEV至少存在4个基因型。在我国流行的HEV为基因型Ⅰ和基因型Ⅳ。

3.4.5.2. HEV的致病性与免疫性

**HEV的传染源为戊型肝炎患者和无症状感染者，猪、牛、羊、啮齿类动物等也可携带HEV，成为散发性戊型肝炎的传染源**。**HEV主要经粪-口途径传播**，病毒经肠道进入血流，在肝细胞内复制，然后释放到血液和胆汁中，经粪便排出体外。随粪便排出的病毒污染水源、食物和周围环境而造成传播，其中水源污染引起的流行较为多见。HEV也可经血液或血制品传播，HEV家庭内密切接触传播发生率较低。

戊型肝炎的潜伏期为10～60天，平均为40天。人感染HEV后可表现为临床型和亚临床型，成人以临床型多见。潜伏末期和急性期初期患者的粪便排毒量最大，传染性最强，是本病的主要传染源。HEV通过对肝细胞的直接损伤和免疫病理作用引起肝细胞的炎症或坏死。临床表现与甲型肝炎相似，多为急性感染，表现为急性黄疸型肝炎和急性无黄疸型肝炎，部分急性戊型肝炎可发展成胆汁淤积型肝炎或重型肝炎。部分特殊人群如孕妇、慢性肝病患者和老年人等感染HEV后，肝损伤严重，可能进展为急性或亚急性肝衰竭。孕妇感染HEV尤以怀孕6～9个月最为严重，常发生流产或死胎，病死率达10%～20%。**戊型肝炎为自限性疾病，多数患者于发病后6周左右好转并痊愈，不发展为慢性肝炎或病毒携带者。但免疫功能低下者（如器官移植受者、人类免疫缺陷病毒感染者等）感染HEV可能转为慢性 HEV 感染，即HEV RNA 持续阳性 3 个月以上。**大多数慢性HEV感染者为无症状或轻微临床表现，但存在肝功能持续异常。部分慢性戊型肝炎可进展为肝硬化。

3.4.5.3. HEV感染的检测

目前临床上常用的检测方法是用ELISA检查血清中的抗HEV IgM或IgG。抗HEV IgM出现早，消失快，通常约3～4个月转阴，抗-HEV IgM 阳性是急性HEV感染的重要标志，但单凭抗-HEV IgM阳性不能确认是HEV感染，需结合抗-HEV IgG和 HEV RNA检查。抗-HEV IgG在感染后短时间内迅速上升，但在1～2个月内快速下降至较低水平，因此抗HEV IgG阴性不能排除既往感染。抗-HEV IgG也可能持续阳性达数年或数十年。可用RT-PCR法检测粪便或血清中的HEV RNA，在出现戊型肝炎临床症状后1～2周内，70%～80%患者的粪便和血清中可检测到 HEV RNA，随后阳性率显著下降。

3.4.5.4. HEV感染的防治

HEV的**一般性预防原则与甲型肝炎相同**，主要是保护水源，做好粪便管理，加强食品卫生管理，注意个人和环境卫生等。接种疫苗是预防HEV感染的有效手段，**世界首支戊型肝炎疫苗于2012年在我国研制成功**，为HEV的防控提供了新的手段。

急性戊型肝炎患者主要以对症支持疗法为主。慢性戊型肝炎患者可使用聚乙二醇干扰素α和利巴韦林治疗。

3.5. 虫媒病毒

3.5.1. 登革病毒（Dengue virus，DENV）

3.5.1.1. 登革病毒概述

登革病毒包括4种血清型，感染后通常引起自限性的发热疾病，典型症状包括肌肉和关节疼痛、皮疹、疲乏和淋巴结肿大，称为登革热（dengue fever），少数病例可发生休克或出血热，称为登革出血热或登革休克综合征（dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome，DHF/DSS）。

3.5.1.2. 登革病毒历史

登革病毒起源于非洲，后传到美洲和亚洲。登革热在美洲历史上曾被称为登迪热（Dandy fever）或者公子热，该词在西班牙语中意为“装腔作势”，用以形容患病者由于关节疼痛而展现的特殊行走姿势。

20世纪之前，登革热主要在美洲和亚洲部分地区流行。1944～1945年，美国学者和日本学者等陆续发现不同血清型的登革病毒。第二次世界大战之后，登革热在全球迅速蔓延。上世纪5、60年代，菲律宾和泰国等地开始出现DHF/DSS病例。登革热现已成为全球受威胁人口最多的传染病之一。

3.5.1.3. 登革病毒分类

登革病毒属于黄病毒科（*flaviviridae*）、黄病毒属（*Flaviviruses*）。按照抗原性不同，登革病毒分为4种血清型（DENV1～DENV4）。一般认为不同血清型之间没有交叉保护，因此感染过一种血清型后对其他血清型仍然易感，感染第二种血清型还可能增加罹患DHF/DSS的风险。

3.5.1.4. 登革病毒形态和结构

在冷冻电镜下，成熟的登革病毒颗粒呈正二十面体对称结构，直径48～50 nm，不同血清型略有差异。登革病毒有包膜。每个病毒颗粒表面有180个包膜蛋白（envelop protein，E）和膜蛋白（membrane protein，M）分子，分别通过各自的跨膜区固定于包膜的脂双层内。

E蛋白胞外区可分为I、II和III三个结构域，其中67位和153位的两个天冬酰胺残基是糖基化位点，也是DC-SING受体分子的识别位点。在中性pH环境下，E蛋白组成90个平行排列的二聚体，覆盖在病毒表面，负责结合细胞表面的受体，此时病毒颗粒表面光滑，直径50nm。在酸性pH环境下，病毒颗粒表面的E蛋白发生构象变化，形成60个突起的三聚体，同时伸出位于结构域II顶端的融合环（fusion loop），促进病毒包膜与细胞膜之间发生膜融合。

包膜内为病毒的核衣壳，直径约24nm左右，由衣壳蛋白（capsid protein，C）包裹病毒基因组RNA所形成。

3.5.1.5. 登革病毒基因组及其功能

登革病毒的基因组为单正链RNA，长度约10.7kb。5´-和3´-端各有一段非编码区（untranslated regions，UTR），参与病毒复制和翻译的调节。5´UTR长约100个核苷酸，3´UTR长400～600个核苷酸。编码区基因排列顺序为：5´-C-PreM-E-NS1-NS2a-NS2b-NS3-NS4a-NS4b-NS5-3´。

登革病毒的结构蛋白包括C蛋白、E蛋白和前膜蛋白（pre-membrane，prM）。C蛋白富含正电荷氨基酸，能结合病毒RNA基因组，在核衣壳组装过程中起重要作用。PrM蛋白的功能类似分子伴侣，在内质网帮助E蛋白正确折叠，之后在高尔基体被宿主弗林蛋白酶切割为可溶性的pr片段和M蛋白。切割可增强登革病毒的感染性，是病毒成熟的重要环节。E蛋白是决定病毒致病性及免疫原性的主要因子，并具有血凝素活性。

登革病毒的非结构蛋白包括NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b和NS5，与病毒的复制及装密切相关。NS1是糖基化蛋白，常以二聚体形式存在于感染细胞的细胞膜上，也可分泌至细胞外，具有诊断价值。NS2和NS4是由多个跨膜区组成的膜蛋白，可能参与病毒复制过程中靶细胞膜结构的改变。NS3的N端具有蛋白酶活性，需要NS2b的协同作用，C端则具有RNA解旋酶活性。NS5的N端具有甲基转移酶活性，C端具有RNA依赖的RNA聚合酶活性。NS5是病毒基因组RNA复制的关键酶，同时也可以促进人I型干扰素受体下游的STAT2降解，抑制宿主的抗病毒反应。

3.5.1.6. 登革病毒复制周期

登革病毒经蚊子叮咬进入人体后，首先感染皮肤树突状细胞或朗格汉斯细胞，然后扩散到血液，在毛细血管内皮细胞和单核吞噬细胞中增殖，再经血流播散至淋巴结、肝、脾等单核-巨噬细胞系统，引起全身性的病理反应。

登革病毒可感染人体多种细胞，包括树突状细胞、单核吞噬细胞、血管内皮细胞、肝细胞和神经细胞等，其中单核吞噬细胞是登革病毒的主要靶细胞。登革病毒经受体介导的内吞作用进入靶细胞。病毒受体尚未阐明，细胞表面的硫酸肝素、DC-SIGN等分子可促进病毒的粘附和进入。登革病毒进入内体后，病毒表面的E蛋白在酸性环境下发生构象变化，伸出融合环插入靶细胞的细胞膜，引发靶细胞与病毒之间发生膜融合，使得病毒的基因组能够进入靶细胞内进行复制。

登革病毒的基因组RNA可以作为模板复制子代病毒基因组，也可以直接指导蛋白质翻译。初始翻译产物为一条完整的多聚蛋白前体，长度近3400氨基酸，之后被宿主信号肽酶和病毒的NS3蛋白酶等共同切割为3个结构蛋白和7个非结构蛋白。

靶细胞的内质网和脂滴是登革病毒复制和组装的主要场所。子代病毒基因组和非结构蛋白在此形成复制复合物，并在结构蛋白协同下组装成新生的未成熟登革病毒颗粒。这些颗粒直径约60nm，表面为prM与E蛋白构成的三聚体，pr片段位于最顶端。未成熟病毒颗粒先进入内质网腔，然后转运至高尔基体。Pr片段被高尔基体的弗林蛋白酶切割并释放，病毒表面结构随之重排，形成具有感染性的成熟病毒颗粒。登革病毒复制时还可以产生大量不含核衣壳的亚病毒颗粒（subviral particle），它们表面含有E蛋白和prM/M蛋白，与登革病毒具有相似的抗原性，但是不具有感染性。

蚊子叮咬感染者后，登革病毒随血餐进入蚊子中肠，经8～10天潜伏期后扩散至唾液腺及神经系统等部位，并在下次叮咬时感染新的宿主。

3.5.1.7. 登革病毒抵抗力

登革病毒对热敏感，56℃ 30分钟可被灭活，但在4℃条件下其感染性可保持数周之久。病毒在 pH 7～9 时最为稳定，在-70℃或冷冻干燥状态下可长期存活。

氯仿、丙酮等脂溶剂、脂酶或去氧胆酸钠等可以破坏病毒包膜而灭活登革病毒。超声波、紫外线、0.05%甲醛溶液、乳酸、高锰酸钾、龙胆紫等均可灭活病毒。

3.5.1.8. 登革病毒传播、变异和流行病学

登革热属于人兽共患病。自然界的灵长类动物对登革病毒易感，是丛林型登革热的主要传染源。蚊子通过叮咬带毒动物而形成自然界中的原始循环，人类若进入疫源地，可被带毒蚊子叮咬而感染。在城市和乡村，患者和隐性感染者是主要传染源，他们体内的病毒可通过蚊子叮咬而传播，形成人-蚊-人循环。

埃及伊蚊和白纹伊蚊是登革病毒的主要传播媒介。埃及伊蚊属家栖蚊种，主要滋生于室内或房屋周围的小型积水中，可以频繁叮咬人类，是登革病毒最有效的传播媒介，在非洲、东南亚、南太平洋、美洲等热带地区广泛分布。我国海南、广西北部湾沿海、台湾南部及广东雷州半岛等地区也有分布。白纹伊蚊为半家栖蚊种，主要滋生于室外小型积水中，但也可滋生于室内的积水容器内，主要分布于亚洲热带、亚热带和部分温带地区，近年来已扩散到北美、南美、欧洲和非洲大陆，是太平洋岛屿及我国南方地区登革热的主要传播媒介。蚊子感染登革病毒后可终身带毒，蚊卵亦可带毒越冬，因此伊蚊不仅是登革病毒的传播媒介，也是储存宿主。

20世纪之前，登革热主要在非洲、美洲、东南亚和南亚带地区流行。各地流行的血清型有所差异，美洲以DENV2为主，东南亚则主要是DENV1和DENV4。第二次世界大战之后，由于控蚊运动削弱、城市人口扩张、航空旅行增加、公众卫生基础设施不健全及全球变暖等原因，登革热在全球范围开始蔓延，多数地区也由单一血清型流行，变成了多种血清型混合流行。上世纪50年代，菲律宾首先出现DHF/DSS病例；60年代，泰国也出现大量DHF/DSS病例，患者多为感染过两种血清型的儿童，或者虽为初次感染，但已通过哺乳获得登革抗体的婴儿。

目前，登革病毒广泛分布于热带和亚热带100多个国家和地区。全世界每年有4～5亿人感染，包括200万重症病例和2万死亡病例。东南亚是世界最重要的登革病毒流行地区。

20世纪20～40年代我国曾有登革热流行。1978年登革热在我国重新出现，此后在广东、云南、海南、福建、台湾、广西及浙江等地多次流行。2014年广东省暴发了史上最严峻的登革热疫情，报告发病人数超过4.5万例。

登革热的流行有明显季节性，多见于5～11月，但因地域不同而略有差别。

3.5.1.9. 登革病毒致病性和免疫性

人群对登革病毒普遍易感，感染后可表现为隐性感染、登革热和DHF/DSS等不同临床类型。隐性感染约占感染者的80%。

登革热的潜伏期一般为3～15天，多数5～8天。典型的登革热病程约7～10天，以发热、疼痛和皮疹为主要临床特征。起病急，常为突起发热，体温高达39～40℃，可伴有头痛、肌肉痛、骨、关节痛等，因此曾被称为“断骨热”。皮疹多在4～6天出现，表现为充血性皮疹或出血性皮疹（出血点），常维持3～5天。25%～50%病例可有不同程度鼻腔、牙龈、消化道、皮肤或子宫出血。患者还常有白细胞减少及血小板减少等表现。多数登革热患者可自愈，但少数婴幼儿、老人或有基础疾病的患者会发展为重症登革热，可出现中毒性肝炎、心肌炎、输液过量、电解质及酸碱失衡、二重感染、急性血管内溶血等并发症。

DHF/DSS早期临床表现与典型登革热类似，但在发病3～5天时病情会突然加重并发生严重的出血现象，患者可在1～2天内因出血性休克或中枢性呼吸衰竭而死亡。主要病理改变为全身血管通透性增高、血浆渗漏而导致广泛的出血和休克。DSS/DHF的发病机制至今尚未完全清楚，目前存在抗体依赖的增强作用（antibody-dependent enhancement，ADE）假说、免疫病理反应假说及病毒毒力变异假说等，其中ADE假说获得较多流行病学和实验室研究结果支持。该假说认为，当感染过某种血清型登革病毒的患者再次感染异种血清型登革病毒时，体内已有的非中和或亚中和浓度的IgG抗体可与病毒结合，形成病毒-抗体复合物，并通过单核吞噬细胞表面的Fc受体，促进病毒感染这些细胞。ADE作用的结果不仅促进了病毒的感染和增殖，也增加了体内生物活性物质的释放，从而加重血管内皮细胞损伤、血管通透性增加、出血和休克等病理过程。

人感染登革病毒后可获得对同种血清型的免疫力，但对其余血清型仍旧易感。

3.5.1.10. 登革病毒实验室诊断

登革热的诊断需要结合临床表现和详细病史，包括发病季节、是否接触节肢动物媒介、旅行史和地理位置等信息。病毒分离培养、核酸检测及血清型检测等实验室检查是确诊的关键。

登革病毒血症出现在发病第1～5天，采集此期间患者血清，应用反转录聚合酶链反应（RT-PCR）技术检测病毒核酸，可帮助登革病毒的快速诊断及分型；用C6/36细胞培养法、乳鼠脑内接种法、伊蚊胸腔接种法可分离、培养登革病毒。

登革病毒NS1抗原可分泌至外周血，在发病1～9天内可在血清中检出，因此用ELISA检测患者血清中NS1抗原可对登革热进行早期快速诊断。

特异性IgM抗体在感染后3～5天出现。IgG抗体在感染后9～10天出现。用ELISA或免疫层析法检测血清中特异性IgM抗体是最常用的登革热早期快速诊断技术。用ELISA或免疫层析法检测血清中特异性IgG抗体也广泛用于登革热诊断。登革病毒抗体与其他黄病毒的交叉反应会干扰血清型特异性诊断，此时可用更具特异性的血凝抑制中和试验。

登革热患者还常有白细胞减少及血小板减少。

3.5.1.11. 登革病毒预防

防蚊、灭蚊是预防登革热的主要手段。四价减毒活疫苗Dengvaxia是目前唯一获批的登革热疫苗，可用于9岁以上人群四种血清型登革病毒感染的预防。

3.5.1.12. 登革病毒治疗

登革病毒目前尚无特效的抗病毒治疗药物，主要采取支持及对症治疗措施。治疗原则是早发现、早诊断、早治疗、早防蚊隔离。

3.5.2. 乙型脑炎病毒（Japanese encephalitis virus，JEV）

3.5.2.1. 乙型脑炎病毒概述

乙型脑炎病毒简称乙脑病毒，是引起流行性乙型脑炎（乙脑）的病原体。乙脑主要侵犯中枢神经系统，患者临床表现轻重不一，严重者死亡率高，幸存者常留下神经系统后遗症。

3.5.2.2. 乙型脑炎病毒历史

19世纪70年代，日本首先报道了乙脑的流行。1935年，日本学者从脑炎死者体内分离得到乙脑病毒，故国际上又称之为日本脑炎病毒。乙脑病毒在东亚、东南亚和南亚国家长期流行。我国多数省份均有病例报道，上世纪全国每年报告病例高达17.5万例。1989年，我国学者俞永新研制成功乙脑减毒活疫苗SA-14-14-2,有效遏制了乙脑在我国的流行。

3.5.2.3. 乙型脑炎病毒分类

乙脑病毒属于（*flaviviridae*）、黄病毒属（*Flaviviruses*）。分为5个基因型，各基因型的分布有一定的区域性。我国流行的基因型主要为Ⅰ型和Ⅲ型。

3.5.2.4. 乙型脑炎病毒形态和结构

冷冻电镜分析显示，成熟的乙脑病毒颗粒呈正二十面体对称结构，直径51 nm，略大于登革病毒和寨卡病毒。乙脑病毒有包膜，每个病毒颗粒表面有180个包膜蛋白（envelop protein，E）和膜蛋白（membrane protein，M）分子，分别通过各自的跨膜区固定于包膜的脂双层内。

E蛋白胞外区可分为I、II和III三个结构域，其中154位天冬酰胺是糖基化位点，也是DC-SING分子的可能识别位点；279-297位点间富含碱性氨基酸，是糖胺聚糖（GAGs）的可能结合位点。在中性pH环境下，E蛋白组成二聚体，覆盖在病毒表面，负责结合细胞表面的受体，并能刺激机体产生中和抗体。在酸性pH环境下，病毒颗粒表面的E蛋白发生构象变化，形成三聚体，同时伸出融合环（fusion loop），促进靶细胞与病毒间发生膜融合。

包膜内为病毒的核衣壳，由衣壳蛋白（capsid protein，C）包裹病毒基因组RNA所构成。

3.5.2.5. 乙型脑炎病毒基因组及其功能

乙脑病毒的基因组为单正链RNA，长约11 000 bp，5´末端含一个I型甲基化帽子结构，但3´末端没有poly(A) 尾。5´和3´末端各有一段非编码区（non-coding region，NCR），中间是一个大的开放读码框（open reading frame，ORF）。在病毒复制过程中，ORF先翻译成一个由3432个氨基酸组成的多聚蛋白前体，然后经细胞或病毒蛋白酶切割，形成3种结构蛋白和7种非结构蛋白。

3种结构蛋白分别是C蛋白、E蛋白和前膜蛋白（pre-membrane protein，prM）。C蛋白与RNA基因组共同组成核衣壳。prM蛋白在病毒成熟过程中，经酶裂解切形成M 蛋白后，固定于病毒包膜内层，参与包膜组成。E蛋白是锚定在病毒包膜上的糖蛋白，含中和抗原表位和型特异性抗原表位，且具有血凝活性，能凝集雏鸡、鸽和鹅红细胞，并能刺激机体产生中和抗体和血凝抑制抗体。E蛋白与其他黄病毒成员如圣路易脑炎病毒和西尼罗病毒有交叉抗原性。

3.5.2.6. 乙型脑炎病毒复制周期

乙脑病毒经带毒蚊子叮咬进入人体后，先在皮肤毛细血管内皮细胞和局部淋巴结等处增殖，随后经毛细血管和淋巴管进入血流，引起第一次病毒血症。病毒随血流播散到肝、脾等处的单核-巨噬细胞中，继续大量增殖，再次入血，引起第二次病毒血症，感染者出现发热、寒战、全身不适等前驱症状。绝大多数感染者病情不再继续发展，成为顿挫感染（abortive infection）。在少数感染者体内，病毒可突破血脑屏障侵犯中枢神经系统，在神经细胞内增殖，引起脑炎。

乙脑病毒可在C6/36细胞、Vero细胞及BHK21细胞等多种细胞中增殖并引起细胞病变，其中C6/36细胞因易感性较高而广泛用于乙脑病毒的分离培养。小鼠和金黄地鼠对乙脑病毒易感，鼠龄越小易感性越高，腹腔接种病毒3～5天后发病，表现出兴奋性增高、肢体痉挛、尾强直等症状，甚至死亡。乙脑病毒在培养细胞和鼠脑内连续传代可使毒力下降，我国自主研制的SA14-14-2减毒活疫苗株即由此而来。

3.5.2.7. 乙型脑炎病毒抵抗力

乙脑病毒对酸、乙醚和氯仿等脂溶剂敏感，不耐热，56℃ 30分钟、100℃ 2分钟均可使之灭活。对化学消毒剂也较敏感，多种消毒剂可使之灭活。

3.5.2.8. 乙型脑炎病毒传播、变异和流行病学

鸟类是乙脑病毒的主要动物宿主，病毒通过蚊虫叮咬在鸟类间传播。猪也可以感染乙脑病毒，感染后病毒血症持续时间较长，因此是乙脑的主要传染源。人感染乙脑病毒后病毒血症时间短、滴度低，所以感染者不是主要传染源。

蚊子是乙脑病毒的主要传播媒介。我国有20多种蚊子可传播乙脑病毒，其中三带喙库蚊是最主要传播媒介。除蚊子外，在蠛蠓、尖蠓及库蠓中也曾分离到乙脑病毒，这些昆虫也可能是乙脑病毒的传播媒介。病毒通过蚊子在蚊-动物-蚊中不断循环，其间带毒蚊子若叮咬人类，则可引起人类感染。

乙脑的流行区域遍及亚洲，包括日本、中国、朝鲜半岛、越南、菲律宾、缅甸、马来西亚、孟加拉国、印度、斯里兰卡、泰国和印度尼西亚等国家和地区。俄罗斯远东海滨地区、太平洋的一些岛屿和澳大利亚也有乙脑流行。世界卫生组织估计全球每年的乙脑病例约5万人，死亡1万人，有神经系统后遗症者1.5万人。我国曾是乙脑流行最严重的国家之一，随着疫苗接种的普及，目前发病率显著降低，但全国每年仍有数百名散发病例，偶尔还有小规模暴发。

乙脑的流行有明显季节性，以夏、秋季为主，一般在4～5月份开始，9～10月份结束，80%～90%的病例出现在7、8、9三个月。在乙脑流行的地区，患者多为儿童，尤以2～9岁年龄组发病率最高。近年来由于儿童普遍接种疫苗，成年人和老年人的发病率相对增高。

3.5.2.9. 乙型脑炎病毒致病性和免疫性

人群对乙脑病毒普遍易感，但感染后多表现为隐性感染及顿挫感染。儿童中隐形感染与显性感染的比例高于500:1，并随年龄增长而下降。

乙脑的临床表现包括突然发热、头痛和胃肠道症状。脑膜刺激在24小时内出现，并在随后两天出现易怒、意识障碍、癫痫发作（尤其是儿童）、肌肉僵硬、帕金森病、共济失调、粗震颤、不自主运动、颅神经损伤、轻瘫、深部肌腱反射过度活跃，以及病理性反射等症状和体征。严重者有体重减轻和脱水。在轻症病例，发热在第一周后消退，神经症状在发病后第二周末消失。在重症病例，病情可进一步发展为昏迷、中枢性呼吸衰竭或脑疝，病死率10%～30%。约25%的病人会经历较长的康复过程，并留下永久性后遗症，表现为痴呆、失语、瘫痪等。后遗症与疾病急性期的严重程度有关，幼儿最易受影响。病人在急性期常有心肺并发症。预后不良与持续高热、频繁或长时间癫痫发作、脑脊液蛋白含量高、巴宾斯基征和早期呼吸抑制有关。孕妇在妊娠早期感染乙脑病毒可出现死胎和流产。

乙脑病毒感染后免疫力稳定而持久，隐性感染也可获得牢固的免疫力。

3.5.2.10. 乙型脑炎病毒实验室诊断

乙型脑炎的诊断需要结合临床表现和详细病史，包括是否接触节肢动物媒介、年龄、季节、旅行和地理位置等信息。实验室检查是确诊的关键。

分离培养病毒可采集发病初期患者的脑脊液或尸检脑组织悬液，用细胞培养法或乳鼠脑内接种法可分离培养乙脑病毒。C6/36细胞、BHK-21细胞或Vero细胞均可支持病毒传代。

检测病毒核酸可采集患者的脑脊液或血清，用RT-PCR技术可检测乙脑病毒特异性核酸片段。由于乙脑患者病毒血症持续时间短，病毒分离及核酸检测结果常为阴性，诊断时需注意。

用酶联免疫吸附试验检测患者血清或脑脊液中特异性IgM抗体阳性率可达90%以上，是乙脑早期快速诊断的重要方法。用ELISA或中和试验检测乙脑病毒特异性IgG抗体通常需检测急性期和恢复期双份血清，当恢复期血清抗体效价比急性期升高4倍或4倍以上时具有诊断价值。中和试验特异性及敏感性均较高，但操作复杂，故不用于临床诊断，一般仅用于流行病学调查或新分离病毒的鉴定。

3.5.2.11. 乙型脑炎病毒预防

预防乙型脑炎的关键措施包括疫苗接种、防蚊灭蚊和动物宿主管理。

乙脑疫苗有灭活疫苗和减毒活疫苗两类。我国使用的乙脑疫苗是自主研制的减毒活疫苗SA14-14-2。该疫苗具有很好的安全性和免疫保护效果，完成全程免疫后可获得持久的免疫力，已纳入儿童计划免疫内容。

猪是乙脑病毒的主要传染源和中间宿主。在我国农村地区，人和猪接触较多，因此必须做好猪的管理工作，有条件时可给幼猪接种疫苗，减少幼猪感染乙脑病毒，从而降低人群乙脑的发病率。

3.5.2.12. 乙型脑炎病毒治疗

目前对乙型脑炎尚无特效的治疗方法，临床以支持治疗为主。

3.5.3. 森林脑炎病毒（Tick-borne encephalitis virus，TBEV）

3.5.3.1. 森林脑炎病毒概述

森林脑炎又称作蜱传脑炎、俄罗斯春夏脑炎、远东脑炎、伐木工脑炎和壁虱脑炎等，是由森林脑炎病毒感染中枢神经系统而引起的急性传染病。森林脑炎病毒，又称蜱传脑炎病毒（Tick-borne encephalitis virus），是一种单股正链RNA病毒，主要通过蜱虫叮咬传播，是一种毒力极强的嗜神经病毒，主要侵犯人的中枢神经系统，有较高的病死率和致残率。

3.5.3.2. 森林脑炎病毒历史

森林脑炎于20世纪30年代初首次报道，是苏联远东地区森林地带从春季到初秋发生一种人的脑炎，故称俄罗斯春夏脑炎，中国定名为蜱传脑炎。1937年西尔伯（l.a.silber）和舒布拉奇（a.kshubladze）分离到该病病原体-森林脑炎病毒。

3.5.3.3. 森林脑炎病毒分类

森林脑炎病毒属于黄病毒科（flaviviridae）、黄病毒属（Flaviviruses）。病毒亚型以地理起源命名，包括欧洲亚型（TBEV-Eu）、西伯利亚亚亚型（TBEV-Sib）和远东亚型（TBEV-FE）。TBEV-Eu与多达10%的患者的神经后遗症相关，死亡率为0.5-2%，TBEV-Sib患者易发生长期感染，死亡率为2-3%，而TBEV-FE与神经后遗症的高发生率相关，高达40%的病例死亡。中国流行的亚型主要为远东型。

3.5.3.4. 森林脑炎病毒形态和结构

与其他黄病毒一样，成熟的森林脑炎病毒颗粒光滑，衣壳二十面体对称外有包膜，直径为50 nm。病毒颗粒由核衣壳组成，核衣壳周围有一层脂质双层组成膜，病毒包膜蛋白（E）和膜（M）蛋白质嵌入其中。E和M蛋白的跨膜结构域扭曲了脂质包膜，使其略微呈棱角状。这是常见的黄病毒特征。

3.5.3.5. 森林脑炎病毒基因组及其功能

森林脑炎病毒的基因组为正链RNA，长约11kb，包含一个编码3 414个氨基酸的多蛋白的开放阅读框架(ORF)，通过细胞和病毒蛋白酶将其转录后加工成三种结构蛋白和七种非结构蛋白（NS）。

衣壳蛋白 (capsid, C) 、膜蛋白 (premembrane, prM)和包膜蛋白 (envelope, E)为结构蛋白。衣壳蛋白C，又称核心蛋白，主要由带电氨基酸组成，与病毒的装配和复制有关。E糖蛋白（496个残基）是成熟TBEV颗粒的主要成分，可介导病毒进入细胞表面受体的结合以及与宿主细胞膜的融合。E由四个结构域组成。N-末端结构域I形成一个β-桶状结构，该结构是蛋白质的中心。结构域II被拉长，由两个由环和两个短螺旋连接的β链区域组成。此外，它还包含成熟病毒（Asn154）的唯一糖基化位点。E蛋白的结构域III具有免疫球蛋白样折叠。该结构域被认为在与宿主受体的结合中起作用，但尚未发现与进入直接相关的残基。结构域IV包括由三个外围膜螺旋（h1–h3）组成的干区和由两个螺旋（h4和h5）组成的跨膜区。M蛋白由75个残基组成，因此比E蛋白小得多。相应地，与成熟粒子中的E相比，它的作用较小。M蛋白具有一个外周膜螺旋（h1）、两个跨膜螺旋（h2和h3）和一个N端环区域。M蛋白与病毒粒子的成熟和释放有关。

NS蛋白的功能特点与其它同属病毒相似。

3.5.3.6. 森林脑炎病毒复制周期

森林脑炎病毒能够在鸡胚中繁殖，卵黄囊接种或绒毛尿囊膜接种病毒能繁殖，也能在人胚肾细胞、鼠胚细胞、猪肾细胞、羊胚细胞、Hela细胞及BHK-21细胞中繁殖。其在细胞内的复制过程与登革病毒等相似。

一般通过皮下或皮内途径感染小鼠建立模型来模拟人类自然感染的过程中被感染蜱虫叮咬。实验感染森林脑炎病毒后的致病过程与其他脑炎黄病毒的致病过程基本相似。

森林脑炎病毒首先与敏感细胞表面受体结合, 吸附到细胞表面。广泛存在于细胞表面的GAG三肽、人细胞膜上的层粘连蛋白受体蛋白都能与森林脑炎病毒的E蛋白结合。这一过程影响着病毒的组织细胞嗜性, 在病毒致病过程中起重要作用。

3.5.3.7. 森林脑炎病毒抵抗力

森林脑炎病毒在-20℃时能存活数月，在50%的甘油中0℃时存活1年；对高温及消毒剂敏感，加热至60℃，10min灭活，煮沸(100℃)时立即死亡。3%甲酚皂溶液20min。0.5%甲醛溶液48h，可可杀死病毒。此外对乙醚、氯仿、丙酮及胆盐能破坏病毒颗粒而灭活病毒。但在50%甘油中，2～4℃至少可保存5～12个月，在真空干燥下能保存数年。

3.5.3.8. 森林脑炎病毒传播、变异和流行病学

森林脑炎通常由蜱虫叮咬引起，欧洲亚型（TBEV-Eu）主要经蓖籽硬蜱传播，西伯利亚亚亚型（TBEV-Sib）和远东亚型（TBEV-FE）主要经全沟硬蜱传播。食用未经消毒的牛奶或受感染奶牛、山羊的乳制品也可引起感染。

森林脑炎病毒的流行有严格的季节性，每年5月上旬开始出现病人，6月达到高峰，7~8月逐渐下降，呈散发状态；约80%的病例发生于5~6月间，因好发于春夏之季，又被称做"春夏脑炎" 。蜱传脑炎的流行覆盖欧亚大陆非热带森林带的南部，由法国东北部延伸至日本北海道。我国主要多见于东北和西北的原始森林地区。特别是黑龙江省，森林面积广袤，宿主动物种类繁多，适于森林脑炎病毒和传播媒介蜱的孳生繁殖，为全国发病最早、最多的省份。

目前中国可划分为三大疫区六个自然疫源地:(1) 东北疫区。包含了长白山疫源地、小兴安岭疫源地、大兴安岭疫源地三个自然疫源地。(2) 西北疫区。包含了天山疫源地和阿尔泰山疫源地两个自然疫源地。(3) 西南可疑疫源地。于川滇藏三省区横断山地林区。

3.5.3.9. 森林脑炎病毒致病性和免疫性

森林脑炎病毒最初的复制发生在树突状细胞（DC）中，如感染部位的朗格汉斯细胞，并且感染的DC迁移到引流淋巴结。在病毒血症和外周器官复制后，病毒侵入中枢神经系统，这些宿主发展为中枢神经系统疾病，尽管血脑屏障的穿越机制尚不完全清楚。神经元的直接病毒感染被认为是神经系统疾病的主要原因，因为病毒感染会导致体内外神经元的凋亡或变性。

临床观察提示，疾病的严重程度和转归与病毒亚型有关。TBEV-FE引起脑膜和局灶性疾病的发生率分别不超过26%和64%。25%的病例完全康复。病死率高达30%，并且TBEV-FE可引起各种慢性疾病。在TBEV-Sib病例中，局灶性脑炎仅占5%，而脑膜型占47%。75%以上的感染患者可完全康复，死亡率低于2%。TBEV-Eu潜伏期为7至28天，可引起持续约4天的非典型流感样疾病。常见症状包括发热、关节痛、头痛、白细胞减少、血小板减少和转氨酶升高。随后是持续一周的无症状期，70%的患者不会出现进一步的症状。然而，30%的患者会发生脑膜炎、脑膜脑炎、脑膜脑脊髓炎或脑膜脑神经根炎。在脑脊液中发现特异性抗体。成人死亡率低于2%；然而，仅有小部分患者完全康复，一般没有慢性神经后遗症。

3.5.3.10. 森林脑炎病毒实验室诊断

血清学试验：补体结合试验(Complement binding test)及血凝抑制试验(haemagglutination inhibition)，双份血清效价增加4倍以上有诊断意义，或CFT单份血清效价>1∶16;HIT单份血清效价>1∶320可诊断。中和试验由于操作较困难，一般只作流行病调查用，目前尚有用ELISA检测森林脑炎病毒IgG抗体方法，较CFI和HIT分别敏感50～200倍及10～80倍，特异性与重复性均好，未发现与乙脑免疫血清存在交叉反应。还有应用间接免疫荧光法检测血清和脑脊液中特异性IgM抗体，可作早期诊断。  
 PCR检查：应用RT-PCR技术检测早期患者血清或CSF中的病毒RNA，敏感性和特异性均高。

3.5.3.11. 森林脑炎病毒预防

搞好工作场所周围的环境卫生，加强防鼠、灭鼠、灭蜱工作。进入林区工作时，应做好个人防护，穿用“五紧”防护服，将袖口、领口、裤脚等处扎紧，防止蜱的叮咬。不食用未经消毒的奶制品。这些都是预防森林脑炎的基本方法。

森林脑炎可通过疫苗接种进行预防。首个森林脑炎疫苗于1937年在前苏联研发成功。第一代疫苗源于鼠脑，有效但不良事件频发。现代疫苗采用福尔马林灭活的细胞培养病毒株。目前有4中质量可靠、广泛使用的疫苗，FSME-immun和Encepur分别在奥地利和德国生产，基于欧洲亚型病毒株；TBE-MOSCOW和EnceVir在俄罗斯生产，基于远东亚型病毒株。

辉瑞公司的森林脑炎疫苗在欧洲以商品名TicoVac和FSME-immun上市,是一种灭活全病毒疫苗,该病毒与自然界中发现的TBE病毒相似。因此,它能够诱导针对天然森林脑炎病毒的中和抗体。FSME-immun的一种替代品是德国疫苗Encepur（1994年批准），其目的主要是预防欧盟流行的森林脑炎病毒。目前不含任何稳定剂。其第一年的疗效几乎为100%，改善了长期保护，在接种5年后达到98%。奥地利是所有欧洲国家中森林脑炎死亡率最高的国家。迄今为止，该国疫苗已经进行了多次调整，包括使用人类白蛋白（来源）来进行稳定。目前，疫苗对成年人和15岁以下儿童的疗效在第一年接近100%。成人和儿童体内的抗体在三年后仍保持活性，可提供高达94%-98%的保护。

3.5.3.12. 森林脑炎病毒治疗

对症治疗：高热、昏迷、抽搐、呼吸衰竭等处理，其中高热的处理可采用空调室内降温的方法，或输入低温液体的方法降温。对于周围性呼吸麻痹，如能及时施行气管切开和使用呼吸器，部分患者治疗后呼吸功能可能恢复。

病原治疗：国外试用核酸酶制剂，包括核糖核酸酶和去氧核糖酸酶，据称能对病毒的核酸合成起选择性破坏作用，干扰病毒的复制而不损害机体细胞。近年来国内报告早期应用利巴韦林，疗效较好。中药板蓝根等组成方剂用于临床，在退热、缩短病程、恢复病情上均有一定的疗效。

3.5.4. 寨卡病毒（Zika virus，ZIKV）

3.5.4.1. 寨卡病毒概述

寨卡病毒是寨卡病毒病的病原体，1947年首次发现，2007年后开始在全球大范围流行，并因能够通过性传播及引起新生儿小头畸形和成人吉兰巴雷综合征（Guillain-Barre syndrome，GBS）而受到越来越多的关注。

3.5.4.2. 寨卡病毒历史

1947年，在非洲乌干达寨卡森林中寻找未知虫媒病毒的研究人员，从发热的哨兵猴体内分离到一种新的虫媒病毒，并按发现地将其命名为寨卡病毒。此后60年间，全球报道的寨卡病毒感染者只有十余人。2007年，寨卡病毒在西太平洋雅浦岛（Yap Island）引发疫情，然后扩散到南太平洋岛国，并于2016年在南美和拉丁美洲多国暴发流行。在这次流行中，寨卡病毒显示出性传播及引起新生儿小头畸形的能力，因此被世界卫生组织宣布为“国际关注突发公共卫生事件”。

3.5.4.3. 寨卡病毒分类

寨卡病毒属于（*flaviviridae*）、黄病毒属（*Flaviviruses*），有亚洲型和非洲型两个基因型，亚洲型按出现顺序及流行地区又分为东南亚进化枝、太平洋进化枝和美洲进化枝。2007年以后的数次流行均由亚洲系引起。

3.5.4.4. 寨卡病毒形态和结构

在冷冻电镜下，成熟的寨卡病毒颗粒呈正二十面体对称结构，直径50 nm，有包膜。每个病毒颗粒表面有180个包膜蛋白（envelop protein，E）和膜蛋白（membrane protein，M）分子，分别通过各自的跨膜区固定于包膜的脂双层内。

E蛋白胞外区可分为I、II和III三个结构域，其中154位天冬酰胺发生糖基化修饰，是DC-SING分子的可能识别位点。在中性pH环境下，E蛋白组成90个平行排列的二聚体，覆盖在病毒表面，负责结合细胞表面的受体，并能刺激机体产生中和抗体。在酸性pH环境下，病毒颗粒表面的E蛋白发生构象变化，形成60个突起的三聚体，同时伸出位于结构域II顶端的融合环（fusion loop），促进靶细胞与病毒间发生膜融合。

包膜内为病毒的核衣壳，由病毒基因组RNA和衣壳蛋白（capsid protein，C）构成。

3.5.4.5. 寨卡病毒基因组及其功能

寨卡病毒基因组为单股正链RNA，长约10.8kb，与C蛋白结合，构成病毒的核衣壳。病毒基因组的5´和3´末端各有一段非编码区，中间是一个连续的开放读码框，其初始翻译产物是一条由3420个氨基酸组成的多聚蛋白前体，然后经细胞和病毒蛋白酶切割，形成3种结构蛋白和7种非结构蛋白（nonstructural protein，NS），由N端到C端依次为C蛋白、前膜蛋白（pre-membrane protein，prM）、E蛋白、非结构蛋白NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b和NS5。prM蛋白在病毒成熟过程中会被高尔基体内的弗林蛋白酶进一步切割为可溶性pr片段和M蛋白。

寨卡病毒的非结构蛋白包括NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b和NS5，与病毒的复制及装密切相关。NS1是糖基化蛋白，常以二聚体形式存在于感染细胞的细胞膜上，也可分泌至细胞外，具有诊断价值。NS2和NS4是由多个跨膜区组成的膜蛋白，可能参与病毒复制过程中靶细胞膜结构的改变。NS3的N端具有蛋白酶活性，需要NS2b的协同作用，C端则具有RNA解旋酶活性。NS5的N端具有甲基转移酶活性，C端具有RNA依赖的RNA聚合酶活性。NS5是病毒基因组RNA复制的关键酶，同时也可以促进人I型干扰素受体下游的STAT2降解，抑制宿主的抗病毒反应。

3.5.4.6. 寨卡病毒复制周期

寨卡病毒主要通过被感染的蚊虫叮咬而传播。当被感染的蚊虫叮咬人体后，寨卡病毒随蚊子唾液进入皮肤组织，首先感染表皮角质细胞，皮肤成纤维细胞和皮肤内的树突细胞。感染后的树突状细胞可以携带病毒进入局部淋巴结，病毒在此复制后释放入血，引起病毒血症并感染多个外周器官。

神经组织是寨卡病毒重要的靶器官之一。在孕妇，病毒可以感染胎盘内的巨噬细胞（Hofbauer cell），借此通过胎盘屏障进入胎儿血液循环，然后感染胎儿神经前体细胞并诱导凋亡，导致神经组织发育障碍，引起新生儿小头畸形。在成人，病毒可以感染外周神经细胞，导致神经细胞脱髓鞘病变，引起吉兰巴雷综合症。

雄性生殖系统是寨卡病毒另一个重要靶器官。小鼠实验证明寨卡病毒可以感染睾丸间质内的巨噬细胞、睾丸支持细胞（Sertoli cell）和曲精小管内的生殖细胞等多种靶细胞，引起血睾屏障通透性增高，并最终引起睾丸萎缩。病毒在睾丸内的复制使得病毒可以在精液中长期存在并通过性途径传播。此外，病毒还可以感染肾脏，尿液中可以检出病毒RNA。个别病人可以有肝损伤。

灵长类动物可以感染寨卡病毒，表现出与人类似症状。啮齿类感染后症状不明显。动物实验常用I型干扰素受体敲除小鼠、I型、II型干扰素受体双敲除小鼠，或者人STAT2基因敲入（hSTAT2 knock-in）小鼠模拟病毒感染。乳鼠腹腔和颅内注射也可以引起神经系统症状。昆虫细胞系C6/36和哺乳细胞系Vero可以支持病毒复制，并表现细胞病变效应。病毒的受体尚不明确，Axl和DC-SIGN等分子或能够促进寨卡病毒感染。

3.5.4.7. 寨卡病毒抵抗力

寨卡病毒抵抗力较弱，不耐酸、不耐热，60℃ 30分钟可灭活，70％乙醇、1％次氯酸钠、脂溶剂、过氧乙酸等消毒剂及紫外照射均可灭活。

3.5.4.8. 寨卡病毒传播、变异和流行病学

寨卡病毒的自然宿主尚不完全明确，灵长类和多种哺乳动物均可为自然宿主。寨卡病毒主要通过被感染的蚊虫叮咬而传播，埃及伊蚊和白纹伊蚊是主要传播媒介。在流行地区，急性期患者是主要传染源。与其它蚊媒黄病毒不同的是，寨卡病毒还可以通过垂直传播从孕妇传给胎儿，引起胎儿发生小头畸形。此外，寨卡病毒可以通过雄性生殖系统进入精液，并通过性途径在人与人之间传播。

自1947年首次发现后的60年间，寨卡病毒只在非洲和亚洲散发流行，临床表现以温和发热为主。2007年，寨卡病毒在西太平洋的雅铺岛暴发流行，岛上人群18%表现出临床症状，73%血清抗体阳性。2013年，法属波利尼西亚出现疫情，3万多人感染，并首次出现吉兰巴雷综合症病例，发病率约千分之一。2016年，南美洲及拉丁美洲的巴西、哥伦比亚、波多黎各、墨西哥等许多国家暴发疫情。巴西在这次疫情中出现了上千例由寨卡病毒感染引起的新生儿小头畸形。2016年的疫情共造成全球87个国家数百万人感染。

寨卡病毒在东南亚的流行模式与南太平洋岛国和南美洲不同。早在1966年，马来西亚已从当地的埃及伊蚊体内分离到寨卡病毒。2002～2016年，泰国、柬埔寨、老挝等国又多次检出寨卡病毒。在2016年的全球流行中，新加坡、越南及泰国等国也出现小范围本地流行。不过，在东南亚人群中，寨卡病毒血清抗体阳性率较低，病毒也以亚洲系的东南亚进化枝为主。

寨卡病毒的大流行可能与prM及NS1等蛋白的变异有关，这些变异出现在东南亚进化枝向美洲进化枝的演化过程中。其中NS1蛋白的A188V变异能促进病毒在蚊虫体内的扩散，而prM蛋白的S139N变异则能提高病毒对神经组织的破坏性。

我国只有数例输入病例，尚无本地流行，但是已在自然界蚊子体内分离到寨卡病毒，提示有流行的潜在风险。

3.5.4.9. 寨卡病毒致病性和免疫性

寨卡病毒感染者多无明显症状，属于隐性感染。约20%感染者在经过3～11的潜伏期后，可以表现出皮肤斑丘疹、发热、关节痛或关节炎、肌肉痛和头痛、非化脓性结膜炎等症状。部分患者有眼眶痛、浮肿及呕吐。个别感染者可以出现睾丸炎、肝炎等症状。急性期症状通常在1～2周内缓解。

吉兰巴雷综合征的发生率约为0.02%，临床表现为进行性对称性麻痹、四肢软瘫和不同程度的感觉障碍，病死率约为3%～10%。20%患者活动障碍会持续半年以上。其它神经系统症状还包括脑膜脑炎和脊髓炎。

孕妇感染后的临床表现与普通人群相似。孕早期感染寨卡病毒很可能会影响胎儿发育，引起先天性寨卡综合征。在有临床症状的感染孕妇中，新生儿小头畸形发生率为1%，29%胎儿可出现发育异常，包括颅内钙化、脑室扩张、眼损伤、脑干发育不全、宫内生长受限和死胎。在由感染孕妇所生的新生儿中，1/10～1/7在出生后会逐渐表现出不同程度的认知、视听及运动等神经发育异常。

寨卡病毒感染后，机体可以产生保护性抗体。长期保护效果尚不清楚。寨卡病毒和其它黄病毒之间存在一定的交叉反应。登革病毒的抗体可能会促进寨卡病毒的感染。

3.5.4.10. 寨卡病毒实验室诊断

寨卡病毒病诊断需要结合临床表现和详细病史，包括是否接触节肢动物媒介、年龄、季节、旅行和地理位置等信息。病毒分离培养、核酸检测及血清型检测等实验室检查是确诊的关键。

寨卡病毒血症出现在发病后数天，抗体出现后，血清中病毒载量将开始下降。病毒在尿液中存在的时间可以更长，从发病后7天到14天均可检出，而且滴度更高。急性期患者的血液或尿液均可用于病毒分离，寨卡病毒可在C6/36细胞及Vero细胞中增殖并产生病变。利用RT-PCR法检测血液、尿液或唾液中的病毒核酸是确诊的重要依据。用全血代替血清可提高核酸检测的阳性率。

寨卡病毒IgM抗体在发病后4～7天开始出现，持续约12周。IgG抗体在IgM抗体之后出现，持续时间可达数年。寨卡病毒NS1的抗体具有较高的特异性，IgM抗体可用于早期诊断。病毒特异性中和抗体可用病毒空斑减少中和试验检测，恢复期血清中和抗体阳转或者滴度较急性期升高4倍以上。

寨卡病毒与其它黄病毒如登革病毒、西尼罗病毒和黄热病毒存在交叉免疫反应。最近或者过去感染过其它黄病毒，甚至接种某种黄病毒疫苗，都可能引起假阳性结果。

3.5.4.11. 寨卡病毒预防

多种寨卡病毒疫苗已进入临床试验。灭蚊、避免蚊虫叮咬、保护孕妇和胎儿是主要的防控手段。

3.5.4.12. 寨卡病毒治疗

目前尚无针对寨卡病毒的特效药物，治疗以支持和对症治疗为主。在排除登革病毒感染之前，避免滥用非甾体抗炎药，否则会增加登革出血综合症的风险。

3.5.5. 西尼罗病毒（West Nile virus, WNV）

3.5.5.1. 西尼罗病毒概述

西尼罗病毒是一种有包膜的正链RNA病毒，主要感染鸟类、人类和马、牛等哺乳动物。鸟类是该病毒的主要储存宿主，人主要通过被带毒蚊虫叮咬而感染。人体感染西尼罗病毒后多数没有症状，约20%可表现为西尼罗热，极少数人会进展为西尼罗病毒性脑炎等神经系统症状。

3.5.5.2. 西尼罗病毒历史

西尼罗病毒于1937年分离于乌干达西尼罗河流域的发热患者，故而得名。自被发现以来，西尼罗病毒的传播已经席卷全球大多数地区，并成为全球性虫媒传播病毒性脑炎最重要的病原体。目前，西尼罗病毒广泛流行于非洲、欧洲、中东、南亚、澳大利亚以及北美等地区。2011年，在中国新疆采集的蚊虫标本中也首次分离到西尼罗病毒。

3.5.5.3. 西尼罗病毒分类

西尼罗病毒属于黄病毒科（flaviviridae）、黄病毒属（Flaviviruses）。依据病毒分离株的基因组序列和地理分布特性，可分为五种遗传谱系（L1a、L1b、L2、L3、L4和L5），基因组彼此差异超过20-25%，其中1、2和5谱系与人群中暴发的重大疫情有关。L1广泛分布于世界各地，由L1a和L1b两个进化枝组成，前者包括来自非洲、欧洲、中东、亚洲和美洲的分离株，后者以澳大利亚昆津病毒 (KUNV) 为代表。L2在撒哈拉以南非洲和马达加斯加流行，并在南非引起散发人畜共患病疫情。L3系的代表是1997年和1999年在奥地利拉本斯堡附近的捷克共和国边境地区收集的分离株，实验表明该系仅感染蚊子和蚊子细胞。L4包括自1988年以来在俄罗斯流行的病毒。L5包括从1955年至今的印度分离株。此外，近些年来，更多的谱系逐渐被分离发现。

3.5.5.4. 西尼罗病毒形态和结构

西尼罗病毒呈球形，直径约50 nm，核衣壳呈二十面体对称，外有脂质双层包裹。核衣壳由C蛋白组成，它与RNA基因组结合并介导病毒组装。prM和E蛋白的异二聚体在组装过程中嵌入病毒的脂质双层中，并暴露在病毒粒子表面。在感染过程中，会产生成熟、未成熟和部分成熟的病毒颗粒，其表面含有不同数量的未成熟prM蛋白分子。

3.5.5.5. 西尼罗病毒基因组及其功能

西尼罗病毒基因组为长约11 Kb的单正链RNA。病毒基因组由位于5′端长96 碱基和位于3′端长97～649 碱基的2个非编码区（untranslated regions，UTR）及一个长约10300碱基的单一开放阅读框（open reading frame,ORF）构成。ORF编码由病毒和细胞内蛋白酶共翻译和翻译后加工成的10种成熟蛋白。其中，3种结构蛋白位于5'端，包括衣壳蛋白 (capsid, C) 、膜蛋白 (premembrane, prM)和包膜蛋白 (envelope, E) ;7种非结构蛋白 (nonstructural protein, NS) 位于3'端，包括NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B和NS5。

结构蛋白主要参与病毒颗粒的形成，非结构蛋白参与病毒RNA复制。衣壳蛋白C，又称核心蛋白，主要由带电氨基酸组成，与病毒的装配和复制有关。膜蛋白prM/M是一种短的跨膜糖基化蛋白，与病毒的脂质双层相关，其功能是保护膜蛋白免受高尔基复合体酸性囊泡内宿主膜的早期融合，与病毒粒子的成熟和释放有关。E 蛋白介导病毒进入细胞表面受体的结合以及与宿主细胞膜的融合。七种非结构蛋白功能多样，在病毒合成和组装中起重要作用。其中，NS1与NS4A之间的相互作用是病毒复制所必需的;NS2A参与病毒的组装和传染性颗粒的释放;NS3具有丝氨酸蛋白酶、RNA解旋酶和RNA三磷酸酯酶活性,由于其丝氨酸蛋白酶活性由NS2B激活,NS2B/NS3复合体已经成为研制抗西尼罗病毒药物的靶点;NS5具有RNA依赖的RNA聚合酶活性,是黄病毒属最保守的蛋白。NS2A、NS2B、NS4A和NS4B是小的疏水蛋白，研究认为它们是病毒复制复合物组装和定位的辅助因子。此外，西尼罗病毒的NS蛋白还可以调节细胞信号传导和免疫反应。

3.5.5.6. 西尼罗病毒复制周期

西尼罗病毒可在多种类型的原代细胞和禽类、哺乳类、两栖类以及昆虫类来源的细胞内增殖。其细胞内的复制过程与登革病毒基本一致。

小鼠和仓鼠是研究西尼罗病毒相关发病机制和宿主免疫反应的主要小动物模型。但西尼罗病毒感染这些近交系小型啮齿动物模型存在着一定的缺陷，包括快速进展的神经系统症状和高死亡率，这些症状在人类感染并不是十分常见。

兔是研究西尼罗病毒诱导宿主疾病和免疫反应的另一种小动物模型，其病毒血症低、神经系统感染极少、神经病理学改变轻、死亡率低。与相对更易感的小鼠模型相比，兔子更适合研究病毒致病机制。

非人类灵长类动物具有与人类更相似的免疫系统，在开发和评估用于人类的疫苗和研究发病机制方面优势极大，但成本和后勤工作具有很大限制。

3.5.5.7. 西尼罗病毒抵抗力

西尼罗病毒对干燥的抵抗力较强,在室温条件下不稳定,由于含有宿主来源的脂蛋白包膜,病毒对有机溶剂和去污剂敏感。病毒对热、紫外线、化学试剂敏感，加热至56℃ 30分钟即可灭活。

3.5.5.8. 西尼罗病毒传播、变异和流行病学

鸟类是西尼罗病毒的储存宿主。马、狗、猫等哺乳动物只是偶然感染成为西尼罗病毒的储存宿主。该病毒感染发病后，宿主病毒血症时间较短且外周循环中病毒滴度低，难以通过蚊虫叮咬将病毒传播给其他动物和人类。但近年来发现西尼罗病毒可经器官移植和母婴垂直传播导致器官接受者和婴儿感染。

人类对该病毒普遍易感。野外作业者是本病的高危人群，如农民、森林工人、园林工作者、建筑工人或旅行者等。人类主要通过被携带病毒的蚊虫叮咬而建立感染。吸血节肢动物，如蚊虫、沙蝇、蠓、壁虱等，均可传播西尼罗病毒，库蚊、伊蚊、按蚊等蚊虫是该病毒的主要传播媒介。

西尼罗病毒于1962年传入欧洲。1996年罗马尼亚发生的[西尼罗热](https://baike.baidu.com/item/%E8%A5%BF%E5%B0%BC%E7%BD%97%E7%83%AD)疫情是欧洲首次大流行，发病率12.4/10万，17人死亡，[病死率](https://baike.baidu.com/item/%E7%97%85%E6%AD%BB%E7%8E%87/6454658)4.3%。1999年8－10月，美国纽约首次暴发西尼罗病毒脑炎流行，为该病毒首次登陆西半球。近几十年来，西尼罗病毒病在世界范围内的流行区域不断扩大，1999年以前广泛分布在东半球，包括非洲、亚洲、中东以及欧洲的大部分地区。1999年以后，西半球开始出现西尼罗病毒的流行。近几年来该病有扩大流行之势，并在北美开始出现分布广泛的本地流行。

西尼罗热发生有明显的季节性，病例主要出现于每年7-12月，多集中在8-9月。热带地区全年均有发生，温带地区主要是夏秋季节。

3.5.5.9. 西尼罗病毒致病性和免疫性

蚊虫叮咬人时，西尼罗病毒进入人体内，人体的特异性和非特异性免疫功能可将病毒限制在局部并清除,临床上表现为隐性感染。当侵入的病毒量较大且人体免疫功能不足以清除病毒时，病毒入血，引起病毒血症，并可进入中枢神经系统。在动物模型以及患者的脑部及脊髓、脊索多个位置可同时检测到西尼罗病毒。现已证明神经细胞是病毒在中枢神经系统的主要靶细胞。病毒进入中枢神经系统，可引起脑实质和脑膜出现炎症，严重者危及病人生命。

西尼罗病毒感染的潜伏期一般为3-12天。临床可分为隐性感染、西尼罗热、西尼罗病毒脑炎或脑膜脑炎3种类型：感染西尼罗病毒后绝大多数人（80%）表现为隐性感染，不出现任何症状，但血清中可查到抗体。少数人表现为西尼罗热，病人出现发烧、头痛、肌肉疼痛、恶心、呕吐、皮疹、淋巴结肿大等类似感冒的症状，持续3-6天后自行缓解。极少数人感染后表现为西尼罗病毒脑炎或脑膜脑炎等神经系统重症，多发生在老年人及儿童。表现为起病急骤、持续高热，可伴有头晕、剧烈头痛、恶心、喷射样呕吐、昏迷，以及抽搐等，查体可有脑膜刺激征阳性、巴氏征及布氏征阳性，最终可因脑疝导致呼吸衰竭而死亡。极个别病人表现为急性弛缓性麻痹，病人出现急性无痛、不对称性肌无力、脑脊液淋巴细胞增多。偶尔也可表现为西尼罗病毒性心肌炎、胰腺炎或肝炎等。近年暴发流行的西尼罗病毒感染呈现重症病例明显增加的趋势。

3.5.5.10. 西尼罗病毒实验室诊断

由于绝大多数人感染西尼罗病毒后不出现症状或仅出现发热等非特异性表现，所以诊断上非常困难，一定要注意结合流行病学史来综合判断，诊断要点包括：流行病学资料（是否来自于西尼罗病毒的主要流行地区，如非洲、北美洲和欧洲，发病前2周内有无蚊虫叮咬史）；临床特征（有无发热，尤其是否同时伴有中枢神经系统受累的表现，如头痛、喷射样呕吐以及昏迷、抽搐、惊厥、脑膜刺激征阳性等）；实验室检查（血清中西尼罗病毒抗体IgM阳性，恢复期血清较急性期IgG抗体滴度升高4倍以上或检测到西尼罗病毒核酸，有确诊意义）。

西尼罗热需与其他感染性疾病进行鉴别诊断，尤其是要排除流行性乙型脑炎、其他病毒性脑膜脑炎、中毒型菌痢、化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎和脑型疟疾。

3.5.5.11. 西尼罗病毒预防

由于尚无人用的西尼罗热疫苗，因此全面、综合的媒介蚊虫控制仍是预防控制西尼罗病毒病最为有效的措施。

开展旅游卫生知识宣传教育，包括向前往国外流行地区的旅游者普及西尼罗病毒的基本防治知识，使其提高防范意识，防止在境外感染并输入西尼罗病毒等。一旦出现可疑症状，应主动就诊并将旅游史告知医生。

此外，加强国境检疫，预防疫情输入。对来自西尼罗病毒病流行国家的人员、动物（鸟类、禽类、马、犬等哺乳动物）和货物做好检疫工作，尤其加强对可疑病例的检疫。

3.5.5.12. 西尼罗病毒治疗

目前无针对西尼罗病毒的特效治疗药物。现有治疗主要是以对症支持治疗为主。轻症患者多呈自限性，但脑炎需及时治疗。

3.5.6. 黄热病毒（Yellow fever virus，YFV）

3.5.6.1. 黄热病毒概述

黄热病毒是黄热病的病原体，是第一个被发现的人类病毒，也是黄病毒家族的原型病毒。黄热病毒感染人后可以引起以发热、黄疸、出血和多器官衰竭为特征的黄热病，在近代历史上曾严重危害人类健康，根据世界卫生组织1969年颁布的《国际卫生条例》，黄热病与鼠疫、霍乱及天花一起被列为国际检疫传染病。

3.5.6.2. 黄热病毒历史

黄热病起源于非洲，随着奴隶贸易被带到美洲，自17世纪起在拉丁美洲和北美洲开始流行，19世纪曾是世界上最严重的传染病之一。20世纪初，古巴学者卡洛斯·芬莱 (Cárlos Finlay)、美国学者詹姆斯·卡罗尔（James Carroll）及杰西·拉泽尔（Jesse William Lazear）等人证实伊蚊是黄热病的传播媒介。1927年，黄热病毒（Asibi株）首次分离成功。在此基础上，南非科学家马克斯·泰勒（Max Theiler）于1937研制成功黄热病减毒活疫苗17D，有效控制了该病的大规模流行，并因此获得1950年的诺贝尔生理学和医学奖。

3.5.6.3. 黄热病毒分类

黄热病毒属于黄病毒科（*flaviviridae*）、黄病毒属（*Flaviviruses*），是该家族最早被发现的成员。黄热病毒只有1种血清型，但按基因差异可以分为7种基因型，包括2种西非基因型、1种中/南非基因型、2种东非基因型以及2种南美基因型。

3.5.6.4. 黄热病毒形态和结构

黄热病毒属于包膜病毒，成熟的病毒颗粒表面有包膜蛋白（envelop protein，E）和膜蛋白（membrane protein，M）。在成熟的病毒颗粒表面，E蛋白形成二聚体，负责结合细胞表面的受体，介导病毒入侵。E蛋白也是决定病毒免疫原性的主要成分。

3.5.6.5. 黄热病毒基因组及其功能

黄热病毒基因组为单股正链RNA，长度为10.9kb。基因组RNA与衣壳蛋白（capsid protein，C）结合在一起，构成病毒的核衣壳。

黄热病毒RNA基因组编码一条由3413个氨基酸组成的完整的多聚蛋白前体，然后被宿主蛋白酶和病毒蛋白酶切割为3种结构蛋白和7种非结构蛋白。3 种结构蛋白分别是C蛋白、前膜蛋白（pre-membrane protein，prM）和E蛋白。C蛋白与基因组RNA结合，参与病毒组装，prM蛋白在病毒组装过程中帮助E蛋白正确折叠，随着病毒的成熟，prM蛋白会被宿主蛋白酶切割形成M蛋白。E蛋白能够与受体结合，介导病毒入侵，并能够刺激机体产生中和抗体。7种非结构蛋白（nonstructural protein，NS）分别为NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b和NS5。

3.5.6.6. 黄热病毒复制周期

黄热病是人畜共患传染病。在自然界的野生灵长动物之间通过树洞内繁殖的蚊虫叮咬而传播，传播媒介包括美洲的嗜血蚊属（Haemagogus spp）和非洲的伊蚊属（Aedes spp）等。人类进入自然界时可经由带毒蚊虫叮咬而感染黄热病毒（丛林黄热病）。在潮湿的非洲大草原地区，当树洞繁殖的伊蚊密度非常高时，它们可以将黄热病毒由野生灵长类动物传染给人类，并介导病毒在人与人之间的传播。在人类居住地周围繁殖的埃及伊蚊（Aedes aegypti）则可介导病毒在人群间的传播（城市黄热病）。黄热病毒可通过在蚊虫内的垂直传播而度过旱季。含有病毒的蚊卵可等到外界环境适宜时再孵化出带毒的蚊虫。

3.5.6.7. 黄热病毒抵抗力

常温下灭活黄热病毒可使用2% 戊二醛、β-丙内酯、2%～3%过氧化氢、70%乙醇、3%～8%甲醛、或0.5%苯酚等溶液。此外，50℃加热30分钟或者伽马射线照射均可以灭活黄热病毒。

3.5.6.8. 黄热病毒传播、变异和流行病学

黄热病起源于非洲，在奴隶贸易时代被带到西半球，1648年在尤卡坦半岛报告了第一次流行。在随后的200年中，疫情在拉丁美洲、北美洲和欧洲广泛发生。20世纪初黄热病的传播途径被发现后，消灭蚊虫成为控制黄热病流行的重要手段。1937年，黄热病减毒活疫苗17D研制成功并在全球推广，此后该病的大规模流行得到有效控制。

黄热病毒目前在非洲和南美洲44个国家仍有流行，威胁9亿人口。非洲的黄热病占全球90%，据估计非洲每年有8.4万至17万例重症病例，导致2.9万至6万人死亡。本世纪以来有疫情报告的国家包括巴西、巴拉圭、阿根廷、乌干达、苏丹和埃塞俄比亚等国。人群免疫力缺乏、环境变化以及病毒变异都是可能的原因。目前已知的7种黄热病毒基因型，5种流行于非洲，2种流行于美洲。2017年，为应对非洲和美洲黄热病疫情风险的增加，世界卫生组织启动了消除黄热病流行的战略。

亚洲虽无该病毒流行，但由于亚洲人口密度高且有埃及伊蚊分布，因此亚洲存在黄热病毒流行的风险。随着国际交流增多，我国近年也出现多起输入病例。

3.5.6.9. 黄热病毒致病性和免疫性

黄热病毒随蚊虫叮咬进入人体皮肤，首先经淋巴管进入局部淋巴结并扩增，然后进入肝脏、肾脏等重要脏器并造成损伤。黄热病毒造成损伤的主要原因是病毒的直接破坏。病毒在肝细胞内复制，引起肝细胞凋亡、变性、坏死，导致肝损伤。大量血红素释放入血，引起黄疸等症状。病毒还可以在肾小管上皮细胞内复制，引起与肝脏相似的细胞病变，导致肾功能损伤甚至衰竭。肝损伤造成的凝血因子合成减少、播散性血管内凝血以及血小板数量减少三者共同作用，使得出血成为了黄热病的重要特征。

人感染黄热病毒后出现不同程度的临床症状，部分为隐性感染或仅有轻度发热，部分则表现为严重的内脏损伤。本病潜伏期3～6天，起病急，临床表现为发热、寒战、头痛、肌肉痛。急性期患者有病毒血症，是重要的传染源。多数患者发热3天后逐渐进入恢复期，约15%的患者则发生恶化，发热等症状加重并伴有呕吐、上腹痛和黄疸。随着病程进展，患者可发展为以严重肝炎、肾衰竭、出血、休克和多器官衰竭为特征的出血热疾病。严重患者病死率约20%～50%。感染后可获得长期免疫力。

除典型的黄热病之外，极少数黄热病疫苗株接种者会表现出罕见的黄热病疫苗相关嗜内脏性疾病(yellow-fever vaccine-associated viscerotropic disease, YEL-AVD) 和黄热病疫苗相关嗜神经性疾病(yellow-fever vaccine-associated neurotropic disease, YEL-AND)。YEL-AVD的临床表现与黄热病类似。最初症状不特异，表现为接种疫苗2～8天后出现发热、头痛、肌痛、关节痛、恶心、呕吐和腹泻等症状，可伴有黄疸、血小板减少、肝转氨酶、总胆红素和肌酐升高等。严重的YEL-AVD以低血压、出血、急性肾功能衰竭和呼吸衰竭为特征，可导致多器官系统衰竭。YEL-AND表现为疫苗接种后发生的脑炎，患者可有高热、头痛和嗜睡等症状。

3.5.6.10. 黄热病毒诊断

黄热病的诊断需要结合临床表现和详细病史，包括是否接触节肢动物媒介、年龄、季节、旅行和地理位置等信息。核酸检测及血清型检测等实验室检查是确诊的关键。

黄热病毒感染的潜伏期为2～9天。从发病前5天起，感染者的血液中已可检出病毒。黄热病毒的病毒血症持续时间较长，在发病20天后仍然可以检测到。在重症患者的血液甚至可以存在更长时间，在因黄热病死亡的尸体也可以检测到病毒RNA。黄热病毒也存在于感染者的尿液、唾液或精液等其他体液中。

黄热病毒特异性IgM抗体通常在发病后几天内产生，在血清中存在时间可长达3个月。特异性IgG抗体在IgM反应后的几天内产生，然后在体内存在长达数年时间。

黄热病毒分离培养须在3级生物安全实验室进行操作。在发热初期采集的血液和死后获得的肝组织样本可用于黄热病毒分离。黄热病病毒血症持续时间较长，可通过RT-PCR在血清、尿液等多种样品中检测病毒核酸。在诊断黄热病毒自然感染病例时，应避免选择专门针对黄热病毒疫苗株而设计的检测方法。

血清学诊断标准是黄热病毒IgM抗体阳性，或者恢复期样品中黄热病毒 IgG抗体效价增加超过4倍，黄热病血清学诊断必需考虑黄热病毒与其它黄病毒(如登革病毒、西尼罗病毒或寨卡病毒)的交叉反应性。

3.5.6.11. 黄热病毒预防

预防黄热病须加强宣传和监管，所有赴疫区旅游或者工作的人群均须接种疫苗。目前使用黄热病疫苗为减毒活疫苗17D，95%接种者在一周内产生保护性免疫，保护效果长达10年甚至终身免疫。

3.5.6.12. 黄热病毒治疗

黄热病以支持治疗为主，尚无特异性治疗方法。

**3.6.出血热病毒**

**3.6.1.出血热病毒概述**

**出血热病毒（hemorrhagic fever viruse）**是指由节肢动物或啮齿类动物传播，引起病毒性出血热的一大类病毒。病毒性出血热（viral hemorrhagic fever）以“3H”症状，即hyperpyrexia（高热）、hemorrhage（出血）、hypotension（低血压）和较高的死亡率为主要临床特征。节肢动物或啮齿类动物为出血热病毒的自然宿主（natural reservoir）。病毒通过带毒动物在自然界传播，人类在接触带毒动物时被感染，因此，病毒性出血热是一种自然疫源性疾病。出血热病毒成员众多，分别属于7个病毒科的不同病毒，**常见的出血热病毒及其所致的主要疾病**如表1所示。

**表1 人类出血热病毒及其所致疾病**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **病毒分类** | **代表性病毒** | **主要媒介** | **所致疾病** | **主要分布** |
| 汉坦病毒科（*Hantaviridae*） | 汉坦病毒 | 啮齿类动物 | 肾综合征出血热  汉坦病毒肺综合征 | 亚洲、欧洲、非洲、美洲  美洲、欧洲 |
| 内罗病毒科（*Neroviridae*） | 克里米亚-刚果出血热病毒 | 蜱 | 克里米亚-刚果出血热 | 非洲、中亚、中国新疆 |
| 白细病毒科（*Leucoviridae*） | 裂谷热病毒 | 蚊 | Rift山谷热 | 非洲 |
| 大别班达病毒（发热伴血小板减少综合征病毒） | 蜱 | 发热伴血小板减少综合征 | 东亚 |
| 黄病毒科（*Flavivirida*） | 登革病毒 | 蚊 | 登革热 | 亚洲、南美 |
| 黄热病毒 | 蚊 | 黄热病 | 非洲、南美 |
| 基萨那森林热病毒 | 蜱 | 基萨那森林热 | 印度 |
| 鄂目斯克出血热病毒 | 蜱 | 鄂目斯克出血热 | 俄罗斯 |
| 披膜病毒科（*Togaviridae*） | 基孔肯雅病毒 | 蚊 | 基孔肯雅热 | 亚洲、非洲 |
| 沙粒病毒科（*Arenaviridae*） | 鸠宁病毒 | 啮齿动物 | 阿根廷出血热 | 南美 |
| 马丘波病毒 | 啮齿动物 | 玻利维亚出血热 | 南美 |
| 拉沙病毒 | 啮齿动物 | 拉沙热 | 非洲 |
| 萨比亚病毒 | 啮齿动物 | 巴西出血热 | 南美 |
| 瓜纳里托病毒 | 啮齿动物 | 委内瑞拉出血热 | 南美 |
| 丝状病毒科（*Filoviridae*） | 埃博拉病毒 | 未确定 | 埃博拉出血热 | 非洲、美洲 |
| 马堡病毒 | 未确定 | 马堡出血热 | 非洲、欧洲 |

**3.6.2.汉坦病毒**

**3.6.2.1.汉坦病毒概述**

**病毒名：**汉坦病毒（Hantavirus）

汉坦病毒在临床上主要引起两种类型的急性传染病，一种是以发热、出血、急性肾功能损害和免疫功能紊乱为特征的肾综合征出血热（hemorrhagic fever with renal syndrome，HFRS），另一种是以肺浸润及肺间质水肿，迅速发展为呼吸窘迫、衰竭为特征的汉坦病毒肺综合征（hantavirus pulmonary syndrome，HPS）。

中国是目前世界上HFRS疫情最严重的国家之一，流行范围广（除新疆外，其余各省、自治区、直辖市均有病例报告），发病人数多，病死率较高。迄今为止，我国尚无HPS的病例报道，在动物体内亦未分离或检出引起HPS的汉坦病毒。

**汉坦病毒的分类：**参见ICTV官网（<https://ictv.global/report>）

**汉坦病毒的发现历史**： 1976年，韩国学者李镐汪等人在朝鲜出血热（Korean Hemorrhagic Fever, KHF）疫区捕获的黑线姬鼠的肺组织中首次分离得到病原体“朝鲜出血热，76-118株”病毒（KHF strain 76‑118），随后以汉滩江（Hantan River）重新命名为“汉滩病毒76-118株”（Hantaan virus, strain 76-118）。

3.6.2.2.汉坦病毒的形态与结构

汉坦病毒颗粒具有多形性，多数呈圆形或卵圆形，直径在75~210nm之间，平均直径120nm。汉坦病毒的这种多形性在新分离的病毒中表现得尤为明显，而连续体外传代培养后形态及大小趋于一致。

汉坦病毒颗粒由核心（核衣壳）和包膜组成，病毒的包膜为典型的脂质双层膜结构，其表面有由糖蛋白组成的突起。包膜内有疏松的带有粗颗粒的丝状内含物，是由病毒核衣壳蛋白、RNA聚合酶和病毒核酸组成的核衣壳。

3.6.2.3.汉坦病毒的基因组与结构蛋白

汉坦病毒的基因组为分节段的单股负链RNA，分为大（L）、中（M）、小（S）三个片段，分别编码病毒的RNA聚合酶、包膜糖蛋白（Gn和Gc）和核衣壳蛋白（nucleocapsid protein, NP）。汉坦病毒的全基因组大小从HTNV的11845个核苷酸到SNV的12317个核苷酸不等。不同型别汉坦病毒的S、M、L三个节段的末端14个核苷酸序列高度保守，3’端为AUCAUCAUCUGAGG，5’末端为UAGUAGUAG（G/A）CUCC，这些互补序列可使病毒基因组RNA通过非共价的碱基配对形成环状或柄状结构，从而保持RNA的稳定性，并可能与病毒的复制和装配有关。

（1）L基因片段及RNA聚合酶 汉坦病毒L基因片段长约6.3~6.5kb，含有一个开放读码框，编码2 150~2 156个氨基酸形成的蛋白，分子量约为250kDa。L片段只编码一种蛋白质即RNA聚合酶，RNA聚合酶可以介导病毒基因组的转录和复制。

（2）M基因片段及Gn、Gc糖蛋白 汉坦病毒的M基因片段全长在3.6~3.7kb之间，只有一个开放读码框，可编码一个长度为1 132~1 184个氨基酸的前体大蛋白。汉坦病毒M基因的mRNA的蛋白质编码顺序为5’-Gn-Gc-3’，在其中部有一个由5个氨基酸残基（WAASA）组成的共翻译切割位点。前体大蛋白在内质网经过初级糖基化后，被切割成Gn和Gc两个蛋白，进而在高尔基体复合体内完成糖基化。

汉坦病毒的M基因片段的变异最为显著，其原因可能是它编码的包膜糖蛋白承受的来自汉坦病毒感染动物的免疫压力最大。汉坦病毒的Gn和Gc糖蛋白中富含半胱氨酸，半胱氨酸分子之间形成的二硫键对Gn和Gc的空间构象起很大作用。汉坦病毒的Gn、Gc上的糖基均以N-连接的方式与蛋白质结合，并存在一些保守的糖基化位点，N-糖基化对病毒糖蛋白的正确折叠、穿膜及抗原表位结构、抗原性和免疫原性等都有很大的影响，因此与病毒的感染性、致病性和免疫性等密切相关。

汉坦病毒糖蛋白Gn和Gc上均存在中和抗原表位和血凝抗原表位，可诱导机体产生特异性中和抗体，对机体有较强的免疫保护作用。此外，还含有CD8+ T淋巴细胞（CTL）表位，可直接诱导细胞毒作用，促进细胞内病毒的清除，因此在细胞介导的保护性免疫中也起着重要作用。

（3）S基因片段及核衣壳蛋白NP 汉坦病毒S基因片段全长在1.6~2.0kb之间，其3’端近1/3长的序列是非编码区，不同型别汉坦病毒S片段的差异主要在此非编码区，其功能尚不清楚。所有汉坦病毒S片段的编码区长度基本接近，约1.3kb左右，含有一个长的开放读码框，编码分子量接近50kDa的NP。汉坦病毒S基因片段的变异程度介于M基因片段与L基因片段之间，不同型别的汉坦病毒S片段序列的同源性在50%~80%之间。

NP为非糖基化蛋白，羧基端具有高度保守序列，可识别RNA的非编码区并与之结合形成复合体，再与RNA聚合酶一起组成病毒的核衣壳，因此NP的主要功能是包裹RNA片段，在病毒的装配过程中起着重要作用。NP具有极强的免疫原性，其刺激产生的特异性抗体出现早，滴度高，维持时间长。在汉坦病毒NP上存在多个CTL表位，因此其在刺激细胞免疫应答中也起着重要作用。

3.6.2.4.汉坦病毒的分类与宿主分布

目前已分类的正汉坦病毒有38种 ，在我国流行的引发肾综合征出血热的主要包括汉城病毒（Seoul Orthohantavirus），主要宿主为褐家鼠，呈世界性分布；汉滩病毒（Hantaan Orthohantavirus），主要宿主为黑线姬鼠，主要分布在欧亚大陆；以及近年来在宿主动物中发现的普马拉病毒（Puumala Orthohantavirus），主要分布于北欧地区，主要宿主为棕背䶄；欧洲地区流行的重要汉坦病毒还有多布拉伐-贝尔格来德病毒（Dobrava-Belgrade Orthohantavirus），主要宿主为黄喉姬鼠，分布在塞尔维亚和黑山等地区。在美洲地区，有引发肺综合症出血热的汉坦病毒分布流行，以及汉城病毒和希望山病毒等引发肾综合征出血热的汉坦病毒。近年来，全球多个地区报告了多种尚未发现明显致病力的汉坦病毒。

汉坦病毒主要型别、所致疾病、主要的宿主动物及分布地区见表1。

**表1 汉坦病毒的主要型别及所致疾病**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **病毒（英文简称）** | **主要宿主** | **所致疾病** | **主要分布地区** |
| 汉滩病毒（HTNV） | 黑线姬鼠 | HFRS | 中国、俄罗斯、韩国、朝鲜、日本 |
| 汉城病毒（SEOV） | 褐家鼠 | HFRS | 世界分布 |
| 阿穆尔病毒（AMUV） | 大林姬鼠 | HFRS | 中国东北、俄罗斯、韩国、朝鲜 |
| 大别山病毒（DBSV） | 社鼠 | HFRS | 中国 |
| 多布拉伐-贝尔格莱德病毒（DOBV） | 黄喉姬鼠 | HFRS | 巴尔干 |
| 普马拉病毒（PUUV） | 棕背䶄 | HFRS | 欧洲、俄罗斯、斯堪的纳维亚 |
| 泰国病毒（THAIV） | 板齿鼠 | HFRS | 泰国 |
| 辛诺柏病毒（SNV） | 鹿鼠 | HPS | 美国、加拿大 |
| 纽约病毒（NYV） | 白足鼠 | HPS | 美国 |
| 黑港渠病毒（BCCV） | 棉鼠 | HPS | 美国 |
| 长沼病毒（BAYV） | 米鼠 | HPS | 美国 |
| 安第斯病毒（ANDV） | 长尾米鼠 | HPS | 阿根廷 |
| 希望山病毒（PHV） | 草原田鼠 | 不详 | 美国、加拿大 |
| 哈巴罗夫斯克病毒（KHB） | 东方田鼠 | 不详 | 俄罗斯 |
| 索塔帕拉雅病毒（TPMV） | 臭鼩 | 不详 | 印度 |
| 图拉病毒（TULV） | 普通田鼠 | 不详 | 欧洲 |
| El Moro Canyon（ELMCV） | 西方巢鼠 | 不详 | 美国、墨西哥 |
| Topgrafov（TOPV） | 西伯利亚旅鼠 | 不详 | 西伯利亚 |
| 岛景病毒（ISLAV） | 加州田鼠 | 不详 | 美国 |
| Bloodland Lake（BLLV） | 橙腹田鼠 | 不详 | 美国 |
| Muleshoe（MULV） | 棉鼠 | 不详 | 美国 |
| Rio Segundo（RIOSV） | 墨西哥巢鼠 | 不详 | 哥斯达黎加 |
| Rio Mamore（RIOM） | 小耳米鼠 | 不详 | 玻利维亚 |

3.6.2.5.汉坦病毒的培养特性

汉坦病毒可感染多种传代、原代及二倍体细胞。实验室常用非洲绿猴肾细胞（Vero-E6）、人肺癌传代细胞系（A549）等分离和培养该病毒。汉坦病毒在培养的细胞内增殖较为缓慢，病毒滴度一般在接种病毒后的7~14天才达高峰。病毒感染细胞后无明显的致细胞病变效应（CPE），因此通常需采用免疫学方法来检测证实病毒在细胞内的增殖。

汉坦病毒的易感动物有多种，如黑线姬鼠、长爪沙鼠、小白鼠及大白鼠等，但除了小白鼠乳鼠感染后可发病致死外，其余均呈自限性隐性感染而无明显症状。缺乏合适的动物模型是目前制约汉坦病毒及其所致疾病相关研究的最重要瓶颈之一。

（5）抵抗力

汉坦病毒对一般有机溶剂和消毒剂敏感，氯仿、丙酮、β-丙内酯、乙醚、酸（pH＜3.0）、苯酚、甲醛等均可将其灭活；对温度、放射线、紫外线等敏感， 60℃ 30分钟、钴-60（60Co）照射（＞105拉德）以及紫外线照射（50cm、30分钟）也可将其灭活。

3.6.2.6.汉坦病毒的致病性与免疫性

（1）致病性

1）传播 汉坦病毒的主要宿主动物和传染源均为啮齿动物，在啮齿动物中又主要是鼠科中的姬鼠属（*Apodemus*）、家鼠属（*Rattus*）和仓鼠科中的林䶄属（*Clethrionomys*）、白足鼠属（*Peromyscus*）等。汉坦病毒有着较严格的宿主特异性，因此，不同型别汉坦病毒的分布主要是有其宿主动物的分布不同所决定的。

汉坦病毒具有多途径传播的特征，目前认为其可能的传播途径有3类5种，即动物源性传播（包括经呼吸道、消化道和伤口途径）、虫媒（螨媒）传播和垂直（胎盘）传播。其中动物源性传播是主要途径。虽然能从HFRS患者的血液和/或尿液中分离到汉坦病毒，但尚未见在人-人之间水平传播的报道，而在HPS中已经证明存在有人-人之间的水平传播。

2）所致疾病 人类对汉坦病毒普遍易感，但多呈隐性感染，仅少数人发病；感染后发病与否与感染病毒的型别及机体的免疫状况等有关。汉坦病毒在临床上主要引起两种类型的急性传染病，一种是以发热、出血、急性肾功能损害和免疫功能紊乱为突出表现的肾综合征出血热（hemorrhagic fever with renal syndrome，HFRS），HFRS典型的临床表现为发热、出血和急性肾功能损害。在发病初期患者眼结膜、咽部、软腭等处充血，软腭、腋下、前胸等处有出血点，常伴有“三痛”（头痛、眼眶痛、腰痛）和“三红”（面、颈、上胸部潮红）；几天后病情加重，可表现为多脏器出血及肾衰竭。HFRS多见于青壮年，男性病人多于女性病人。另一种是以肺浸润及肺间质水肿，迅速发展为呼吸窘迫、衰竭为特征的汉坦病毒肺综合征（hantavirus pulmonary syndrome，HPS），HPS一般没有严重的出血现象，表现为急骤发病，发病初期有畏寒、发热、肌肉疼痛、头痛等非特异性症状，2~3天后迅速出现咳嗽、气促和呼吸窘迫，继而发生呼吸衰竭，病死率高达30%以上。

3）致病机制 汉坦病毒的致病机制尚未完全明了，目前认为可能与病毒的直接损伤作用和免疫病理反应有关。

① 病毒的直接损伤作用 汉坦病毒具有泛嗜性，可感染体内多种组织细胞，如血管内皮细胞，淋巴细胞、单核-巨噬细胞、肾小球系膜细胞和脑胶质细胞等，但主要的靶细胞是血管内皮细胞，病毒在血管内皮细胞内增殖，引起细胞肿胀、细胞间隙形成和通透性增加；体外培养的人胚肾小球系膜细胞和人血管内皮细胞被汉坦病毒感染后其胞质可出现空泡样变；感染的单核细胞可携带病毒向其他组织扩散。在HFRS患者的肾脏和HPS患者的肺组织中，可发现病毒的抗原和病毒颗粒。

非致病性汉坦病毒通过细胞膜上β1整合素感染细胞，而致病性汉坦病毒则是通过其包膜糖蛋白Gn与细胞膜上β3整合素αⅤβ3结合而感染细胞。除整合素之外，汉坦病毒可能还存在其他受体或辅受体。例如识别N-乙酰半乳糖胺（GalNAc）的特异植物凝集素、糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白（DAF/CD55）等。

汉坦病毒可增强内皮细胞对血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）的反应性。VEGF可与内皮细胞上的VEGF受体（VEGFR2）相结合引起下游激酶Src的激活，磷酸化内皮细胞黏附连接中钙黏蛋白（cadherin），破坏黏附连接的完整性，影响内皮细胞的通透性。

血小板数量减少和功能损害是HFRS和HPS最常见的病理表现之一。αⅡbβ3是血小板上分布最丰富的β3整合素受体。汉坦病毒对β3整合素功能的调节不仅影响血管内皮细胞的功能，还可以影响血小板的功能，导致血小板的减少。

② 免疫病理损伤 汉坦病毒诱导的机体免疫应答具有双重作用，既参与机体对病毒的清除，又可介导对机体的免疫损伤，参与病毒的致病过程。①Ⅲ型超敏反应：在HFRS的发病早期，患者血清中即出现高滴度的特异性抗体，迅速形成循环免疫复合物，沉积到小血管、毛细血管、肾小球、肾小管基底膜等处，激活补体、释放血管活性物质、炎性因子等导致血管扩张，通透性增加，引起低血压、休克和肾功能损伤，提示Ⅲ型超敏反应可能参与HFRS的致病过程；②Ⅰ型超敏反应：HFRS早期患者血清中IgE和组胺水平升高，毛细血管周围有肥大细胞浸润和脱颗粒，这可引起毛细血管扩张、通透性增加，致使皮肤、黏膜充血、水肿，提示Ⅰ型超敏反应参与了HFRS的发病；③细胞免疫应答：HFRS和HPS患者急性期外周血特异性CD8+ T淋巴细胞、NK细胞活性增强，抑制性T细胞功能低下，CTL细胞功能相对增高，提示细胞免疫可能在汉坦病毒的致病过程中起重要作用。

4）流行病学特征 汉坦病毒的自然疫源地遍布五大洲的近80多个国家和地区，其中HFRS的疫源地至少在62个国家中存在（主要分布于亚洲和欧洲大陆），55个国家有HFRS病例报告；HPS的疫源地和疫区主要分布于美洲大陆。

HFRS的发生和流行具有明显的地区性和季节性，这种地区性和季节性与宿主动物（主要是鼠类）的分布与活动密切相关。在我国，汉坦病毒的主要宿主动物和HFRS的感染源是黑线姬鼠（*Apodemus agrarius*）和褐家鼠（*Rattus norvegicus*），主要存在着姬鼠型疫区、家鼠型疫区和混合型疫区。姬鼠型疫区的HFRS流行高峰主要在11~12月间（6~7月间还有一小高峰），家鼠型疫区的流行高峰在3~5月间，而混合型疫区在冬、春季均可出现流行高峰。

（2）免疫性

汉坦病毒感染可诱发机体强烈的免疫应答。HFRS患者病后可获得对同型病毒稳定而持久的免疫力，二次发病者极为罕见；但隐性感染产生的免疫力却多不能持久。

机体抗汉坦病毒感染的适应性体液免疫应答出现很早，且应答强烈。HFRS患者在发病1~2天即可检测出IgM抗体，第7~10天达高峰，第2~3天可检测出IgG抗体，第14~20天达高峰。HFRS病后可获得对同型病毒的持久免疫力，IgG抗体在体内可持续存在30余年。机体抗汉坦病毒感染的适应性细胞免疫应答主要包括CD8+ 细胞毒性T细胞（cytotoxic T lymphocyte，CTL）和CD4+T细胞免疫应答。CD4+T细胞可分泌细胞因子调节CD8+ T细胞介导的抗病毒免疫应答和机体的免疫功能，CTL可通过穿孔素途径和死亡受体途径直接杀伤病毒感染细胞。

3.6.2.7.汉坦病毒的微生物学检查

（1）病毒特异性抗体检测

1）检测特异性IgM抗体 特异性IgM抗体在发病后1~2天即可检出，早期阳性率可达95%以上，具有早期诊断价值。检测方法有间接免疫荧光法和ELISA法，后者又可分为IgM捕捉法和间接法，其中以IgM捕捉法的敏感性和特异性为最好。

2）检测特异性IgG抗体 发病后特异性IgG抗体维持时间很长，需检测双份血清（间隔至少一周），第二份血清抗体滴度升高4倍或以上方可确诊。常用检测方法为间接免疫荧光法和间接ELISA法。

3）检测血凝抑制抗体 采用血凝抑制试验检测患者血清中的特异性血凝抑制抗体，在辅助诊断和流行病学调查中也较常用。

（2）病毒核酸检测

用RT-PCR可检测标本中的汉坦病毒核酸片段，并可对病毒进行型别鉴定；原位杂交技术可检测组织细胞内的汉坦病毒核酸成分，这些方法目前已广泛用于汉坦病毒的研究和检测。

（3）病毒的分离与鉴定

取患者急性期血液（或死者脏器组织）或感染动物肺、肾等组织接种于Vero E6细胞，培养7~14天，由于病毒在细胞内生长并不引起明显的病变，因此可用免疫荧光染色法或夹心ELISA法检查细胞内是否有病毒抗原。也可取检材通过脑内接种小白鼠乳鼠，逐日观察动物有无发病或死亡，并定期取动物脑、肺等组织，用上述方法检查是否有病毒抗原。细胞或动物分离培养阴性者应继续盲传，连续三代阴性者方能肯定为阴性。

3.6.2.8.汉坦病毒的防治原则

（1）预防

1）灭鼠防鼠，控制宿主动物密度 HFRS是一种以啮齿类动物传播为主的自然疫源性疾病，灭鼠防鼠是防治HFRS的成功经验与主要措施。

2）疫苗接种

① HFRS疫苗：疫苗是预防传染病的有效措施之一。我国己研制出6类灭活HFRS疫苗，单价灭活疫苗有3类，分别是乳鼠脑纯化Ⅰ型疫苗、沙鼠肾和地鼠肾Ⅱ型灭活疫苗；双价灭活疫苗也有3类，Vero细胞、沙鼠肾和地鼠肾细胞培养两型等量混合的双价灭活疫苗。这些灭活疫苗接种后经过流行病学调查及实验室检测发现机体能产生特异的具有预防作用的中和抗体对预防HFRS有较好效果。

② HPS疫苗：HPS主要流行于美国、加拿大、巴西、阿根廷等美洲国家，目前尚没有美国FDA批准的HPS疫苗。

（2）治疗

对于HFRS的早期患者，一般均采用卧床休息，以及以“液体疗法”（输液调节水与电解质平衡）为主的综合对症治疗措施，利巴韦林治疗具有一定疗效。

**3.6.3.克里米亚-刚果出血热病毒**

3.6.3.1. 克里米亚-刚果出血热病毒概述

**病毒名：克里米亚-刚果出血热病毒**（Crimean-Congo hemorrhagic fever virus，CCHFV）

CCHFV引起以发热、出血、高病死率为主要特征的克里米亚-刚果出血热（Crimean-Congo hemorrhagic fever，CCHF），该病是一种人兽共患病。

**克里米亚-刚果出血热病毒的分类：**参见ICTV官网（<https://ictv.global/report>）

**克里米亚-刚果出血热病毒的发现历史：** 1944年首先发现于前苏联的克里米亚半岛，1967年从患者及疫区捕获的硬蜱中分离到病毒，并证实该病毒与1956年从刚果的一名发热儿童血液中分离到的病毒相同，遂命名为CCHFV。1977年，Donets等进一步证实这两种病毒在理化性质、形态学和形态发生学上一致，属于布尼亚病毒科中的内罗病毒属。1965年，我国新疆部分地区发生了一种以急性发热伴严重出血为特征的急性传染病，该病与国内其他地区流行的出血热不同，当时称为新疆出血热（Xinjiang hemorrhagic fever, XHF），其病原体称为新疆出血热病毒（XHFV）。后来经形态学和血清学等研究证实，该病毒与已知的CCHFV相同。因此，新疆出血热实际上是CCHF在新疆地区的流行。后来又在新疆北部及新疆以外的地区，如青海、云南、四川、内蒙、海南、安徽等地的人群和动物中查出该病毒的抗体。

3.6.3.2. 克里米亚-刚果出血热病毒的生物学性状

（1）形态与结构

CCHFV属于布尼亚病毒目（*Bunyavirales*）、内罗病毒科（*Nairoviridae*）、正内罗病毒属（*Orthonairovirus*），该病毒的形态、结构、培养特性和抵抗力等与汉坦病毒相似，但抗原性、传播方式、致病性以及部分储存宿主却不相同。病毒颗粒呈球形，直径90~120nm，有包膜，表面有刺突。基因组为单负链RNA，含L、M、S三个节段，分别编码病毒的RNA多聚酶、包膜糖蛋白和核衣壳蛋白。

（2）分离培养

分离培养病毒常用Vero-E6或LLC-MK2细胞，病毒在细胞内增殖并形成空斑。乳鼠对该病毒敏感，1~2日龄乳鼠脑内接种病毒后，5~6天开始发病死亡。新生地鼠和大鼠也能作为实验动物，感染病毒后可发病死亡。

（3）抵抗力

CCHFV对乙醚、氯仿、去氧胆酸等脂溶剂和去污剂敏感，能被低浓度的甲醛灭活，紫外线照射3分钟、56℃ 30分钟能使其感染性完全丧失，75%的乙醇亦可使之灭活。

**3.6.3.3. 克里米亚-刚果出血热病毒的致病性与免疫性**

（1）致病性

1）传播 CCHFV的主要储存宿主是啮齿类动物，牛、羊、马、骆驼等家畜及野兔、刺猬和狐狸等。硬蜱特别是亚洲璃眼蜱（*Hyalomma asiaticum*）既是该病毒的传播媒介，也因病毒在蜱体内可经卵传代而成为储存宿主。

CCHF的传播途径包括虫媒传播、动物源性传播和人-人传播。虫媒传播是主要的传播途径，通过带毒硬蜱叮咬而感染；动物源性传播主要指与带毒动物直接接触或与带毒动物的血液、排泄物接触传播；人-人传播主要是通过接触患者的血液、呼吸道分泌物、排泄物和气溶胶而引起感染，并可造成医院内暴发流行。

2）致病性 CCHF的潜伏期为5~7天。急骤起病，以高热、出血为主要临床特征。初期表现为高热、剧烈头痛和肌痛等全身中毒症状，病程3~5天后开始发生大面积出血现象，皮肤、黏膜、胃肠道和泌尿生殖道广泛出血，严重者因大出血、休克、广泛弥散性血管内凝血（DIC）而死亡，死亡率20%~70%。

CCHFV的致病机制尚不清楚，目前认为可能与病毒的直接损害作用有关。血管内皮细胞、单核-巨噬细胞和肝细胞是病毒感染的主要靶细胞，病毒在细胞内增殖，引起靶细胞的损伤。此外，免疫病理损伤可能也参与病毒的致病过程。

3）流行病学特征 CCHF是一种自然疫源性疾病，流行范围广，主要分布在俄罗斯南部、欧洲东部及南部、非洲大部及亚洲部分地区的生态学完全不同的30多个国家和地区。我国新疆、青海、云南、四川、内蒙古和海南等省区的人群和动物亦有特异性抗体阳性的报道。人群对该病毒普遍易感，但以青壮年发病率较高。发病有明显的季节性，4~5月为发病的高峰期，6月份以后病例较少，这与蜱在自然界的消长情况及牧区活动的繁忙季节相一致。

（2）免疫性

发病后一周左右血清中出现中和抗体，两周左右达高峰，并可持续多年。病后免疫力持久。

**3.6.3.4. 克里米亚-刚果出血热病毒的微生物学检查**

（1）病毒特异性抗体检测

常用间接免疫荧光试验、酶联免疫吸附试验（ELISA）、反向被动血凝抑制试验等检测特异性IgG和IgM，IgM检测可用于早期快速诊断。

（2）病毒核酸检测

采用核酸杂交技术、RT-PCR技术检测标本中病毒的核酸片段，是快速、敏感、特异的诊断方法，目前已得到较广泛的应用。

（3）病毒的分离培养和鉴定

采取急性期患者的血清、血液、尸检样本或动物、蜱的样本经脑内接种小白鼠乳鼠分离病毒，4~10天后小鼠发病死亡，脑组织存在高滴度病毒。亦可采用敏感细胞分离培养病毒。

**3.6.3.5. 克里米亚-刚果出血热病毒的防治原则**

目前对克里米亚-刚果出血热没有可供使用的疫苗，也没有特效的治疗方法，加强个人防护、避免与传染源和传播媒介接触、控制和消灭传播媒介及啮齿类动物是主要的预防手段。对患者应进行严格隔离；医护人员必须进行严密的防护以防止人-人传播。

**3.6.4. 大别班达病毒**

3.6.4.1. 大别班达病毒概述

**病毒中文名：**大别班达病毒

**病毒英文名：***Bandavirus dabieense*

**病毒分类：**布尼亚病毒目（*Bunyavirales*）、白蛉纤细病毒科（*Phenuiviridae*）、班达病毒属（*Bandavirus*）。

大别班达病毒（*Dabie bandavirus*）是引起**发热伴血小板减少综合征**的病原体，2009年在我国首次发现，也称为发热伴血小板减少综合征布尼亚病毒（severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus，SFTSV），流行地区主要在我国华北、华东等省份。

3.6.4.2.大别班达病毒生物学性状

病毒颗粒呈**球形**，直径80~100 nm，**有包膜**，包膜刺突蛋白为Gn和Gc。基因组为**单股负链RNA**，包含小（S）、中（M）、大（L）**3条片段**，与核蛋白C相结合。三条RNA片段长度各为1 744，3 378和6 369个核苷酸，分别编码核蛋白C和非结构蛋白，膜蛋白的前体蛋白，以及RdRp。病毒抵抗力较弱，不耐酸，易被热、乙醚、去氧胆酸钠和常用消毒剂及紫外线照射等迅速灭活。

3.6.4.3.大别班达病毒流行病学特征、致病性

本病主要经蜱叮咬传播，家畜和啮齿类可能为本病自然宿主。接触急性期患者的血液或者其他分泌物也可被感染。本病多见于山区和丘陵地带的农村，散发为主，不过有明显的地区聚集性和季节性，春夏多见。我国华北、华东等20余省均有报道。日本、韩国和美国也出现病例及疑似病例。

人群对本病普遍易感，从事野外作业和户外活动的人群感染风险较高。本病潜伏期5~14天。起病急，以发热为主要临床表现，体温多在38ºC以上，伴乏力、纳差、恶心、呕吐，部分病例有头痛、肌肉酸痛、腹泻等。发热持续5~11天后可逐渐自愈。绝大多数患者预后良好。但少数病例病情危重，出现意识障碍、皮肤瘀斑、消化道出血、肺出血等症状，可因休克、呼吸衰竭、弥漫性血管内凝血等多脏器功能衰竭死亡。病死率约为10％，个别地区可达30％。

3.6.4.4.大别班达病毒微生物学检查及防治原则

大别班达病毒的分离及核酸检测需在起病1~6天内取样，此时血液病毒滴度较高。病原分离需要生物安全三级实验室，Vero等细胞可用于病毒分离及培养。血清IgM在发病1周出现，4个月内消失，IgG可存在5年以上。用ELISA可检查血清中新布尼亚病毒IgM或IgG抗体。

本病尚无疫苗。预防须加强对疫区户外人员的宣传防护工作；做好对病人的血液、分泌物、排泄物及被其污染的环境和物品的消毒处理。必要时采取灭杀蜱等措施，降低生产、生活环境中蜱等传播媒介的密度。

治疗以对症和支持疗法为主，多数患者预后良好。

**3.6.5. 埃博拉病毒**

3.6.5.1. 埃博拉病毒概述

中文名：埃博拉病毒

英文名：*Ebola virus*（EBOV）

分类：单负链RNA病毒目（*Mononegavirales*），丝状病毒科（*Filovirudae*），埃博拉病毒属*（Ebolavirus）*

埃博拉病毒（Ebola virus）定义：是指丝状病毒科（*Filovirudae*）中一种能引起人类和其他灵长类动物烈性传染病，即埃博拉出血热的病毒。

埃博拉病毒以首先发现患者的地点（扎伊尔北部的埃博拉河流域）而得名，可引起高致死性的出血热，以高热、全身疼痛及广泛性出血、多器官功能障碍和休克为主要特征。该病主要在非洲流行1976年以来已在非洲流行十余次，致死率约为50%~90%，是人类迄今为止所发现的致死率最高的一种病毒。

自2013年12月开始，几内亚、利比里亚、塞拉利昂和尼日利亚等西非国家相继发生埃博拉出血热的再次暴发流行，是有史以来规模最大的一起埃博拉出血热疫情。

鉴于埃博拉病毒具有高度的传染性和致死率，涉及该病毒的操作必须在生物安全四级实验室（BSL-4）中进行。目前对于埃博拉病毒的认识，很多是基于反向遗传学和体外重组表达系统而获得的。

3.6.5.2.埃博拉病毒形态与结构

埃博拉病毒颗粒为多形性的细长丝状，长短不一，最长可达14μm，直径约80nm。病毒颗粒有类脂包膜，其中镶嵌了由病毒糖蛋白组成的三聚体刺突，长约7nm。病毒体中央是螺旋对称的核衣壳，由病毒基因组及其外面包裹的衣壳蛋白（NP）组成。

3.6.5.3.埃博拉病毒基因组及分型

埃博拉病毒基因组为不分节段的单股负链RNA，长约19kb，由7个开放读码框组成，依次为5′-L-VP24-VP30-GP-VP40-VP35-N-3′，基因之间有重叠。每一种病毒蛋白由一种单独的mRNA所编码，3’端和5’端都有较长的非编码区域。

根据埃博拉病毒抗原的不同，可将其分为六个型别：

①扎伊尔型（Zaire ebolavirus，EBOV）：对人致病性最强，曾多次引起暴发流行；

②苏丹型（Sudan ebolavirus，SUDV）：对人致病性次于扎伊尔型，也曾多次引起暴发流行；

③本迪布焦型（Bundibugyo ebolavirus，BDBV）：对人致病性更次，曾引起过两次暴发流行；

④塔伊森林型（Tai Forest ebolavirus，TAFV）：也称科特迪瓦型，对黑猩猩致病性强，对人致病性较弱；

⑤莱斯顿型（Reston ebolavirus，RESTV）：至今尚无引起人类疾病的相关报道；

⑥邦巴利型（Bombali ebolavirus，BOMV）：在蝙蝠中分离到，致病性不详。

3.6.5.4. 埃博拉病毒培养特性

最常用的培养细胞为Vero细胞、MA-104、SW-13及人脐静脉内皮细胞等。病毒在胞质内增殖，以出芽方式释放。埃博拉病毒可在多种培养细胞中生长，病毒接种后7天可出现典型的细胞病变，并出现嗜酸性包涵体。

埃博拉病毒可感染猴、乳鼠、田鼠和豚鼠，引起动物死亡。在恒河猴和非洲绿猴的实验性感染中，潜伏期4~16天，病毒在肝、脾、淋巴结和肺中高度增殖，引起器官严重坏死性损伤，以肝脏最为严重，并伴有间质性出血，以胃肠道出血最为明显。

3.6.5.5. 埃博拉病毒抵抗力

埃博拉病毒在常温和液体中较为稳定，能够耐受反复的冻融，对化学药品敏感，乙醚、次氯酸钠、福尔马林、苯酚、β-丙内脂、去氧胆酸钠等均可完全灭活病毒；钴60和γ射线照射、60℃加热60分钟和100℃ 5分钟也均可使病毒灭活。

3.6.5.6. 埃博拉病毒流行病学特征

（1）传染源和储存宿主

目前对埃博拉病毒的自然储存宿主还不十分清楚，狐蝠科的果蝠被认为是最有可能的自然宿主，但其在自然界的循环方式尚不清楚。目前认为人类和大猩猩、黑猩猩、猕猴等非人灵长类是埃博拉病毒的终末宿主和最重要的传染源。

（2）传播途径

埃博拉病毒可经感染的人和非人灵长类传播，也可经携带病毒的果蝠叮咬传播。传播途径主要有：①密切接触：接触患者的血液、体液、排泄物或死亡患者的尸体是产生感染病例的最重要原因。②注射传播：使用受到污染、未经消毒的注射器和针头可造成埃博拉出血热的传播；③空气传播：猕猴中埃博拉出血热的传播可因气溶胶引起，但该途径在人类埃博拉出血热传播中的作用尚有待证实。④性传播和母乳传播。有证据表明在埃博拉病毒感染的男性患者的精液及女性患者的阴道拭子和母乳中检出了埃博拉病毒RNA，提示存在埃博拉病毒经性传播和母乳传播的风险。

3.6.5.7. 埃博拉病毒致病性和免疫性

（1）致病性 埃博拉出血热是一种具有高度传染性的疾病，人群普遍易感。埃博拉病毒感染机体的特点是免疫抑制和全身炎症反应引起的血管、免疫系统损伤和凝血功能障碍，导致多器官功能衰竭和休克。病毒通过皮肤黏膜侵入宿主，主要在肝内增殖，亦可在血管内皮细胞、单核-巨噬细胞及肾上腺皮质细胞等处增殖，导致血管内皮细胞损伤、组织细胞溶解、器官坏死和严重的病毒血症。

埃博拉出血热的潜伏期为2~21天，一般为5~12天。临床特征是突发起病，开始表现为发热、头疼、肌痛、乏力等非特异症状，随后病情迅速进展，呈进行性加重并出现呕吐、腹痛、腹泻等。发病4~5天后，可发生出血现象，表现为呕血、黑便、瘀斑、黏膜出血及静脉穿刺处流血不止，病死率约为50%~90%。

（2）免疫性 患者发病3~10天后出现特异性IgM、IgG抗体，IgM抗体可维持3个月，IgG抗体可维持更长时间；难以检出具有中和活性的抗体。

3.6.5.8. 埃博拉病毒微生物学检查

埃博拉病毒传染性极强，因此，及时准确地检出该病毒，对控制埃博拉出血热的流行和临床治疗具有重要意义。标本的采集和处理必须在严格安全防护的实验室内进行。

（1）标本采集及处理 埃博拉病毒的传染性极强，临床标本的采集必须在生物安全四级实验室（BSL-4/ ABSL-4）内进行，且应由经过生物安全防护培训的人员采集。

（2） 病毒的分离培养 采取适宜的标本进行细胞培养或动物接种以分离病毒。患者急性期标本（特别是血清标本）的病毒分离阳性率很高，恢复期标本也有较高的阳性率。

（3） 病毒抗原与核酸检测

①病毒抗原检测 由于埃博拉出血热在病程中有持续的高滴度病毒血症，可采用ELISA等方法检测血清中的病毒抗原。

②病毒核酸检测 可采用RT-PCR等方法进行检测，一般在发病后一周内的病人血清中均可检测到病毒核酸。

（4）血清学检查

①特异性IgM 抗体检测 多采用ELISA（IgM捕捉法）进行检测。病人血清中特异性IgM抗体最早可于发病后3天左右出现，持续约3个月，是近期感染的标志。

②特异性IgG 抗体检测 可采用ELISA、免疫荧光等方法进行检测。病人血清中特异性IgG抗体最早可于发病后7天左右出现，在体内存留很长时间。

3.6.5.9. 埃博拉病毒防治原则

主要采取综合性措施预防，包括发现可疑患者应立即隔离，严格消毒患者接触过的物品及其分泌物、排泄物和血液等，尸体应立即深埋或火化。目前已有上市的基因工程疫苗对埃博拉出血热进行特异性预防，主要为VSV载体疫苗和腺病毒载体疫苗，例如美国的rVSV-ZEBOV、Zabdeno，俄国的GamEvac-Combi和中国的Ad5-EBOV等等。建立屏障治疗和常规护理，使用高效层流装置防止气溶胶感染及避免肠道外感染等。加强医护人员的防护，加强院内感染的控制。此外，应加强对进口灵长类动物的检疫。目前尚无对埃博拉出血热有效的治疗药物，主要采用强化支持疗法。

**3.7.** **逆转录病毒**

**3.7.1. 逆转录病毒概述**

**3.7.1.1.逆转录病毒形态与结构**

（1）逆转录病毒形态

病毒体呈球形，有包膜，直径约80~120nm，包膜表面有糖蛋白突起；核衣壳为二十面体立体对称，核心为螺旋对称的核糖核蛋白。

（2）逆转录病毒基因组结构及功能

所有逆转录病毒的基因顺序都是 5'- gag-pro-pol-env-3'。α、β、γ 逆转录病毒属基因组简单，仅有结构基因；而δ和ε逆转录病毒、慢病毒和泡沫病毒属了除结构基因外，还有数量不等的辅助基因，编码一些非结构蛋白，调控病毒的基因转录和表达。

1）逆转录病毒的结构基因：gag、pro、pol 和 env 基因。

2）逆转录病毒的辅助基因：反式激活调节基因 tax 或 tat。

3）有些逆转录病毒还携带癌基因，能使细胞发生转化。

**3.7.1.2.逆转录病毒复制与整合**

（1）逆转录病毒的复制

逆转录病毒的复制要经过一个独特的逆转录过程，病毒基因组RNA先逆转录成双链DNA，然后整合到细胞染色体DNA中。

（2）逆转录病毒的整合

新合成的病毒DNA整合到宿主细胞染色体，称为前病毒。完整的LTR只出现在前病毒DNA中。前病毒的结构保持稳定。子代病毒基因组由前病毒转录而来。前病毒基因能否被激活，主要取决于整合位置以及有无合适的细胞转录因子存在。

**3.7.1.3.逆转录病毒宿主范围和传播**

（1）逆转录病毒的宿主范围

多数病毒的自然感染通常局限于单一动物种，仅少数发生跨物种感染。

1）亲嗜性病毒：只能感染自然宿主动物来源的细胞并在其中复制。

2）兼嗜性病毒：识别的受体分布广，因而有广泛宿主范围。

3）异嗜性病毒：只能在一些非自然感染宿主动物来源的细胞中复制。许多内源性逆转录病毒（ERV）为异嗜性病毒，以前病毒方式存在。

（2）逆转录病毒宿主范围和传播

逆转录病毒既能水平传播也能通过生殖细胞垂直传播。

**3.7.1.4.逆转录病毒感染与致癌**

在逆转录病毒中，只有慢病毒属裂解细胞，其余均为非杀细胞性病毒。非杀细胞性的致病逆转录病毒主要引起肿瘤。感染人的逆转录病毒如HIV和HTLV不含癌基因，但有些逆转录病毒基因组中含有癌基因，携带癌基因的逆转录病毒在合适的宿主动物体内具有很强的致癌性。

**3.7.2. 人类免疫缺陷病毒（HIV）**

3.7.2.1.人类免疫缺陷病毒生物学性状

（1）HIV形态结构

1）HIV分类：慢病毒属成员。

2）HIV形态：直径 80～100nm的球形颗粒，有包膜

3）HIV结构

①病毒核衣壳由两条相同单股RNA构成的双体结构、逆转录酶等病毒复制酶及包裹其外的衣壳蛋白（p24）组成。

②包膜表面有由包膜糖蛋白gp120和gp41构成的糖蛋白刺突。

③包膜内有由内膜基质蛋白p17组成的内膜。

（2）HIV基因组及编码蛋白

1）HIV基因组

HIV基因组全长约9.2 kb，为两条相同的单正链RNA，以二聚体的形式存在。含有3个结构基因和6个调节基因。前病毒DNA外侧两端附加长末端重复序列（LTR）序列（包含启动子、增强子以及其他转录调控因子结合序列），长9.8kb。

2）HIV基因及其编码蛋白

①*gag*基因：编码前体蛋白 p55。p55 经蛋白酶裂解形成 3 种蛋白（p24、p17、p15），p24是衣壳蛋白，p17是内膜蛋白，p15 经蛋白酶水解成p7和p9，其中p7是核衣壳蛋白。

②*pol*基因：编码逆转录酶（RT，p51/p66）和整合酶（INT，p32）以及蛋白酶（PT，p10）。逆转录酶具有聚合酶和核酸内切酶（RNase H）的功能，参与病毒复制。

③*env*基因：编码病毒包膜糖蛋白，包括外膜糖蛋白gp120和跨膜糖蛋白gp41，与病毒侵入靶细胞相关。

④*tat*基因：复制早期产生的反式激活转录因子，与LTR结合后能促进病毒其他基因转录，并增强病毒mRNA翻译。

⑤*rev*基因：编码的蛋白有助于未剪接的病毒转录物从细胞核释放，增加结构蛋白的翻译，是病毒结构基因表达所必需的。

⑥*nef*基因：编码的蛋白增加病毒感染性，促进静息T细胞活化，下调CD4和MHC I类分子表达，使感染细胞逃逸CTL杀伤。

⑦*vif*基因：其产物能增强病毒感染性。

⑧*vpr*基因：编码的蛋白增加病毒前整合复合体转运进入细胞核，并阻滞细胞于G2期。

⑨*vpu*基因：其产物能使CD4分子降解。

（3）HIV复制

1）受体

①主要受体：CD4。

②辅助受体：CCR5和CXCR4等。分别表达于巨噬细胞和T淋巴细胞表面，毒株分别称为嗜巨噬细胞性HIV和嗜胸腺细胞性HIV。也有双嗜性病毒，辅助受体既可是CCR5也可以是CXCR4。胸腺细胞、结肠和宫颈细胞及神经元细胞也存在相应的辅助受体。

2）HIV的感染过程

①HIV吸附及穿入

②HIV基因组整合

③HIV基因组转录及翻译

④HIV装配、成熟及出芽

（4）HIV基因型及准种

1）型别：HIV-1和HIV-2。

2）HIV基因组变异

高频复制、逆转录酶较高的错配率且缺乏校正功能等特点导致了HIV基因组易发生变异，最易发生变异的是*env*和*nef*基因。

3）HIV准种

同一感染者存在大量基因变异的HIV毒株，即准种。

4）HIV基因型

全球流行的 HIV-1分为M、O、N和P四组，M组包括A~D、F~H、J和K共9个亚型，O、N和P组各有1个亚型。HIV-2 分 A~F 八个亚型，其中A和B两个亚型是导致大流行的主要类型。我国以HIV-1为主要流行株，已发现的有A、B（欧美B）、B’（泰国B）、C、D、E、F和G 8个亚型，还有不同流行重组型，目前流行的HIV-1主要亚型是AE重组型。

（5）HIV细胞培养和动物模型

1）HIV细胞模型

实验室常用健康人患者的外周血T细胞经植物血凝素（PHA）刺激后培养2~4周分离病毒。

2）HIV动物模型

目前尚无合适的HIV感染的动物模型。某些SIV毒株感染亚洲猕猴产生持续性高水平病毒复制，并诱发类艾滋病样症状，该模型被用于HIV感染等相关研究。

（6）HIV对外界环境的抵抗力

1）常用化学消毒剂对HIV有较强的灭活效果。包括

①0.5%次氯酸钠；②10%漂白粉；③5%来苏儿；④0.3%的H2O2；⑤35%异丙醇；⑥75%乙醇溶液；⑦0.5%的多聚甲醛等。

2）热灭活效果好。

①体液或10%血清中的病毒经56℃加热10分钟即可灭活。

②冻干血制品需要68℃处理72小时以确保可能污染的HIV被灭活。

③高压蒸汽20分钟或煮沸100℃ 20分钟均可达到灭活目的。

3）HIV对紫外线和γ射线不敏感，有较强抵抗力。

**3.7.2.2.** 人类免疫缺陷病毒**致病性与免疫性**

（1）HIV传播途径

1）HIV传染源

HIV无症状感染者及艾滋病患者。从这些感染者的血液、精液、阴道分泌物、唾液、乳汁、脑脊液、脊髓及中枢神经组织等标本中均可分离到病毒，血液和精液中病毒含量最高。

2）HIV传播途径

①性传播（包括同性、异性和双性性接触）。

②血液及血制品传播（包括共用针具静脉吸毒、介入性医疗操作、纹身等）。

③垂直传播（包括经胎盘、产道和哺乳传播）。

至今尚未发现蚊子叮咬及一般日常生活接触（握手拥抱、礼节性亲吻、同吃同饮等）传播HIV的证据。

（2）HIV致病机制

HIV主要侵犯人体的免疫系统，包括CD4+ T淋巴细胞、巨噬细胞和DC等，主要表现为CD4+ T淋巴细胞数量不断减少，最终导致人体细胞免疫功能缺陷，引起各种机会性感染和肿瘤的发生。

（3）HIV感染临床表现与分期

根据感染后临床表现及症状严重程度，将HIV感染的全过程分为急性期、无症状期和艾滋病期。

1）急性期：在初次感染HIV后2~4周。部分感染者出现HIV病毒血症和免疫系统急性损伤所产生的临床症状。大多数患者临床症状轻微，持续1~3周后缓解。

2）无症状期：可从急性期进入此期，或无明显的急性期症状而直接进入此期。此期持续时间一般为6~8年。在该期，CD4+ T淋巴细胞计数逐渐下降，有传染性。

3）艾滋病期：为感染HIV后的最终阶段。患者CD4+ T淋巴细胞计数＜200/μL，此期主要临床表现为HIV相关症状、各种机会性感染及肿瘤。未经治疗的患者通常在临床症状出现后2年内死亡。

（4）HIV感染的免疫应答

人体通过固有免疫和适应性免疫反应对抗HIV的感染。HIV进入人体后， DC细胞和巨噬细胞等固有免疫细胞识别、内吞并杀伤后，递呈给适应性免疫系统，之后2~12周，人体即产生针对HIV蛋白的各种特异性抗体。特异性细胞免疫主要有特异性CD4+ T淋巴细胞免疫反应和特异性CTL反应。

**3.7.2.3.** 人类免疫缺陷病毒**微生物学检查方法**

（1）HIV抗体检测

1）HIV抗体筛查：ELISA、化学发光或免疫荧光试验、快速检测（斑点ELISA和斑点免疫胶体金或胶体硒快速试验、明胶颗粒凝集试验、免疫层析试验）等。

2）HIV确认实验：免疫印迹法（Western免疫印迹法）。

（2）HIV核酸检测

定量RT-PCR等方法进行病毒载量测定，主要用于预测疾病进程、评估治疗效果、指导治疗方案调整等。也可作为HIV感染诊断的参考指标。

（3）HIV耐药检测

HIV耐药检测的方法有基因型和表型检测，基因型检测便捷、快速，临床更常用。通常在抗病毒治疗病毒载量下降不理想，或抗病毒治疗失败需要改变治疗方案时进行基因型耐药检测。

（4）HIV病毒分离

常采用共培养方法，即正常人外周血单个核细胞加PHA刺激后，与患者外周血单个核细胞作混合培养，检测HIV增殖的指标（如逆转录酶活性等）。病毒分离耗时长（初次分离HIV需4~6周），且实验室条件要求高，一般不用于临床常规诊断。

**3.7.2.4.** 人类免疫缺陷病毒**防治原则**

（1）HIV的治疗

1）治疗HIV的药物

①逆转录酶抑制剂，包括核苷类逆转录酶抑制剂（NRTI）和非核苷类逆转录酶抑制剂（NNRTI）。

②蛋白酶抑制剂，使病毒的大分子多肽不能被切割成为成熟蛋白。

③整合酶抑制剂，抑制病毒基因组整合至细胞染色体。

④病毒包膜融合抑制剂，抑制病毒进入靶细胞。

2）高效抗逆转录病毒治疗（HAART）

俗称鸡尾酒疗法，联合应用多种药物进行治疗，通常是联合使用2种逆转录酶抑制剂和1种蛋白酶抑制剂的三联治疗。有效的HAART治疗可以使HIV感染者寿命延长30年以上，甚至保持终身健康。

3）多种功能性治愈（functional cure）策略，包括：

①“激活与杀灭”（“shock and kill”）。

②“阻断与锁定”（“block and lock”）。

③基因治疗，对造血干细胞或免疫细胞的遗传改造，使之获得HIV抗性。

④干细胞或骨髓移植。

现在报道功能性治愈的病人有2例：德国柏林病人和英国伦敦病人。

（2）HIV的普通预防措施

尚无有效预防性疫苗。对策就是洁身自好，保持良好的生活习惯，将HIV感染的危险因素降低到最低限度。主要措施包括：

1）广泛的AIDS预防教育宣传。

2）安全性行为，安全套的普及和正确使用。国际上提出ABC原则，即节欲（Abstinence）、忠诚于伴侣（Be faithful）与使用避孕套（Codom）。

3）取缔暗娼、打击吸毒行为。

4）志愿献血制度。所有供血者、捐精者、器官捐献者都应检测HIV，确保输血和血液制品的安全。

5）育龄女性阳性者一旦怀孕应积极进行抗病毒治疗，实现母婴阻断；HIV 阳性的母亲应尽量避免母乳喂养以防止将病毒传染给婴儿。

6）建立全球和地区性HIV感染的监测网络，及时掌握疫情蔓延趋势。

（3）HIV的暴露前预防

当人面临HIV感染高风险时，通过服用药物以降低被感染概率的生物学预防方法。

（4）HIV的暴露后预防

尚未感染HIV 的人群在暴露于高感染风险后（如与HIV 感染者或感染状态不明者发生明确的体液交换行为），尽早（不超过72 h）服用特定抗HIV药物。

**3.7.3. 人类嗜T细胞病毒（HTLV）**

**3.7.3.1 人类嗜T细胞病毒生物学性状**

（1）HTLV形态

球形，直径约100nm。

（2）HTLV结构

由病毒的RNA基因组和逆转录酶组成，衣壳含有 p24、p19 和 p15 三种蛋白，核衣壳呈二十面体立体对称，病毒包膜表面嵌有gp60与gp21糖蛋白。

（3）HTLV的基因组

病毒基因组为两条单链 RNA，长约 9.0 kb。

（4）HTLV的基因及其编码蛋白

两端均为长末端重复序列，中间从 5’端至 3’端依次为 *gag*、*pol* 和 *env* 三个结构基因以及 *tax* 和*rex* 两个调节基因。

1）*gag* 基因：编码多聚蛋白前体，前体蛋白被酶解为 p19、p24 和 p15 蛋白，组成病毒的核衣壳。

2）*pol* 基因：编码逆转录酶、RNase H 和整合酶。

3）*env* 基因：编码糖基化多聚蛋白，经酶解为 gp60 和 gp21。

4）*tax* 基因：编码的 p40 为反式激活蛋白，可活化 LTR，反式激活 HTLV 前病毒 DNA 转录。

5）*rex* 基因：编码 p27，促进病毒mRNA从胞核转运到胞质。

（5）HTLV的复制

通过结合葡萄糖转运蛋白1（GLUT-1）受体吸附至细胞，入胞后基因组整合至宿主细胞形成前病毒，再转录子代病毒基因组和翻译子代病毒蛋白，装配后经出芽释放。

3.7.3.2. **人类嗜T细胞病毒的**致病性和免疫性

（1）HTLV的传播

1）传染源：患者和HTLV感染者。

2）传播方式：性接触、输血、注射等方式。

（2）HTLV的流行病学

HTLV-1的流行表现为明显的地区性，日本九州、非洲的某些地区和加勒比海一些岛屿可以检出很高的阳性率，而世界其他地区血清阳性率极低，表现为散发感染。

（3）HTLV的致病性

HTLV-1 感染潜伏期长，感染者多无临床症状，约有 5% 感染者发生急性或慢性成人 T 细胞白血病（ALT）。HTLV-1除能引起 ATL 外，也可引起 HTLV-1相关脊髓病（HAM）及热带痉挛性下肢轻瘫（TSP）。

HTLV-2 能引起毛细胞白血病和慢性 CD4+ T细胞淋巴瘤

（4）HTLV的致病机制

HTLV 诱发白血病的机制尚未完全清楚。可能与TAX和REX等蛋白有关：

1）TAX激活IL-2IL-2基因及其受体基因，导致CD4+ T细胞大量增殖。

2）TAX激活细胞原癌基因，进一步促进细胞转化和增殖。

3）HTLV前病毒整合到细胞染色体上，导致细胞基因突变。

（5）HTLV的免疫性

机体被 HTLV-1 感染后，血清中可出现抗 HTLV-1 抗体，如抗 p24、p21 和 gp46 抗体等，但抗体出现后，病毒抗原表达量减少，影响细胞免疫清除感染的靶细胞。

**3.7.3.3. 人类嗜T细胞病毒的微生物学检查**

（1）HTLV病毒分离

PHA处理的患者淋巴细胞，加入含IL-2的营养液培养3~6周，电镜观察病毒颗粒，并检测上清液逆转录酶活性，最后用免疫血清或单克隆抗体鉴定。

（2）HTLV特异性抗体检测

ELISA法、间接IFA、蛋白印迹法和胶乳凝集法。

（3）细胞中HTLV前病毒DNA检测

PCR 法可检测外周血单个核细胞或培养细胞中前病毒 DNA。

**3.7.3.4. 人类嗜T细胞病毒的防治原则**

目前对 HTLV 感染尚无特效的防治措施，可采用 IFN-α 和逆转录酶抑制剂等药物进行治疗。

**3.7.4. 人内源性逆转录病毒（HERVs）**

**3.7.4.1. 人内源性逆转录病毒简述**

（1）HERVs的发现

20世纪60年代后期，首先在健康鸡的基因组中发现禽白血病病毒，随后在健康小鼠的基因组中也发现了鼠白血病病毒和鼠乳腺肿瘤病毒，这些病毒被命名为内源性逆转录病毒（ERVs）。1981年首次发现人基因组中也存在ERVs，称为人内源性逆转录病毒（HERVs）。

（2）HERVs的命名与分类

1）HERVs的命名，以引物结合位点（PBS）与tRNA的3’末端匹配的氨基酸字母缩写命名。例如，引物结合位点与转运色氨酸匹配就命名为HERV-W。

2）HERVs分类，按照与已知外源性逆转录病毒及其聚合酶（pol）基因序列的相似性，将HERVs分成了3类

①I类（Class I）：γ逆转录病毒相似元件，代表成员有HERV-T、HERV-I、HERV-H、HERV-W、ERV9、HERV-R等

②II类（Class II）：β逆转录病毒相似元件，又称为HERV-K超家族，代表成员包括HERV-K（HML-1、2、3、4、5、6、8、10等）

③III类（Class III）：泡沫病毒相似元件，成员主要是HERV-L、HERV-S等。

④还有一些未完全分类的Alpha等。

（3）HERVs的形态和结构

正常情况下，人体细胞内不存在HERVs病毒颗粒，极少数情况下，可激活后产生类病毒颗粒，形态和结构与其它逆转录病毒相似。

（4）HERVs基因组

HERVs约占人类基因组的8%，超过500,000个独立元件，已成为宿主基因组的一部分。大多数以独立的LTR形式存在，仍有约98000个HERVs前病毒（provirus），其基因组结构与外源性逆转录病毒类似，主要有4个编码域：gag（编码基质和核衣壳蛋白）、pro（编码病毒蛋白酶）、pol（编码逆转录酶和整合酶）和env（编码包膜蛋白），其两端是包含有启动子和增强子元件的长末端重复序列（LTR）。

HERV-K被认为是整合最晚的一类HERVs，HERV-K113和HERV-K115存在部分人群的基因组中，是全长、完整的前病毒，其出现可能距今不到20万年，甚至晚于人类与黑猩猩从同一个祖先进化道路。

（5）外界因素对HERVs的影响

一般情况下，由于表观遗传学，如DNA甲基化等原因，HERVs通常保持沉默，但环境（包括紫外线、吸烟、药物等）、机体内部炎症、病原体感染（HSV-1、VZV、HHV-6、HHV-8、CMV、HTLV-1、HIV-1、SARS-CoV-2、IAV、DENV-2、EBV、HBV以及弓形虫等）及表观遗传学等因素会导致HERVs的异常激活。

（6）HERVs的传播、变异和流行病学

在其它动物体内不致病的ERVs进入人体后，可能导致疾病的发生。异种器官移植给人类移植器官严重短缺问题带来巨大希望，猪器官，因其新陈代谢方式与人体相似，器官大小也基本一致，被认为是人体异种器官移植中最合适的供体。但猪基因组中存在的猪内源性逆转录病毒（PERVs）成为人体异种移植利用猪器官面临的一个重大医疗风险问题。PERVs对于猪而言是正常基因组片段，一般不会引起猪疾病，但当猪器官移植到人体后，PERVs可能会感染人体，导致人类新的传染性疾病的发生。

**3.7.4.2. 人内源性逆转录病毒的正常生理功能**

HERVs曾被认为是人体内的垃圾DNA，但最新研究发现HERVs在胚胎发育、神经元发育、机体固有免疫等方面发挥着重要的生物学功能。HERVs的LTR还被细胞利用调控自身基因的表达，丰富了宿主细胞的调控网络。

**3.7.4.3. 人内源性逆转录病毒与疾病**

HERVs 的病毒基因转录物或翻译产物在包括自身免疫疾病、肿瘤、神经精神疾病等在内的多种疾病中异常表达，可能与这些疾病的发生、发展相关。目前认为ERVs可通过以下几种途径导致疾病的发生

（1）在比如辅助病毒存在的条件下，形成感染性逆转录病毒样颗粒，引起疾病。

（2）插入到宿主癌基因附近，其LTRs调控附近宿主基因的表达，导致基因组的不稳定性，引发肿瘤等疾病。

（3）HERVs转录物和病毒蛋白的产生，引起疾病。

HERVs已经被认为是一类新的致病因子。

**3.7.4.4. 人内源性逆转录病毒的治疗**

GNbAC1，作为HERV-W家族（也被称为多发性硬化相关逆转录病毒， MSRV）包膜蛋白（env）的单抗，已被分别用于治疗多发性硬化症（MS）和1型糖尿病的2期临床试验。

美国国立卫生研究院（NIH）开展的靶向HERV-E的T细胞抗原受体（T cell receptor，TCR）疗法，用于治疗血管生成抑制剂和检查点抑制剂治疗失效的转移性透明细胞肾细胞癌（ccRCC），也开始进入1期临床试验（NCT03354390）。

HERVs也正在成为治疗癌症等疾病的潜在靶点。HERVs激活后产生的双链RNA可进一步激活产生I型或III型干扰素，因此，有学者将HERVs作为提高肿瘤免疫疗法敏感度的一个新靶点，针对HERVs的新型表观遗传疗法已逐渐成为一种新的治疗肿瘤等疾病的治疗手段。

**3.8.疱疹病毒**

**3.8.1.疱疹病毒概述**

**疱疹病毒**（herpes virus）是指一类中等大小、生物学特性相似、具有包膜的双链DNA病毒，属于疱疹病毒科（*Herpesviridae*）。迄今已发现100多种不同的疱疹病毒，根据基因组、复制周期、宿主范围、受染细胞病变效应和潜伏感染等特征分为α、β、γ三个亚科，可以感染人类和多种动物，其中与人感染相关的疱疹病毒称为人疱疹病毒（human herpes virus，HHV），目前已发现9种，分别是属α疱疹病毒亚科的单纯疱疹病毒1型（herpes simplex virus type 1，HSV-1）、单纯疱疹病毒2型（herpes simplex virus type 2，HSV-2）和水痘-带状疱疹病毒（varicella-zoster virus，VZV）；属β疱疹病毒亚科的人巨细胞病毒（human cytomegalovirus，HCMV）、人疱疹病毒6A型（human herpesvirus 6A，HHV-6A）、人疱疹病毒6B型（human herpesvirus 6B，HHV-6B）和人疱疹病毒7型（human herpesvirus 7，HHV-7）；以及属γ疱疹病毒亚科的EB病毒（Epstein-Barr virus，EBV）和人疱疹病毒8型（human herpesvirus 8，HHV-8）。除此之外，猴疱疹病毒B（simian herpes B virus）偶可感染人，并引发神经系统症状或致死性脑脊髓炎，病死率高达80%。**人疱疹病毒的主要生物学特性及所致疾病**如表1所示。

**表1 人疱疹病毒的主要生物学特征及所致疾病**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **正式命名** | **常用名** | **亚科** | **易感细胞** | **病毒复制与细胞病变** | **潜伏部位** | **传播途径** | **所致疾病** |
| 人疱疹病毒1型（HHV-1） | 单纯疱疹病毒1型（HSV-1） | α | 上皮细胞、成纤维细胞 | 迅速，溶细胞性感染 | 三叉神经节、颈上神经节 | 接触传播 | 唇疱疹、角膜炎、脑炎等 |
| 人疱疹病毒2型（HHV-2） | 单纯疱疹病毒2型（HSV-2） | 骶神经节 | 性传播、垂直传播 | 生殖器疱疹、新生儿疱疹 |
| 人疱疹病毒3型（HHV-3） | 水痘-带状疱疹病毒（VZV） | 脊髓后根神经节、颅神经感觉神经节 | 飞沫传播、接触传播 | 水痘、带状疱疹 |
| 人疱疹病毒5型（HHV-5） | 人巨细胞病毒（HCMV） | β | 白细胞、上皮细胞、成纤维细胞 | 缓慢，巨大细胞病变 | 髓系前体细胞、分泌性腺体、肾脏、白细胞等 | 接触传播、性传播、医源性传播、垂直传播 | 巨细胞包涵体病、巨细胞病毒单核细胞增多症、间质性肺炎、巨细胞病毒性肝炎、脑炎 |
| 人疱疹病毒6A型（HHV-6A） | 人疱疹病毒6A型（HHV-6A） | 淋巴细胞 | 周期长，气球样病变 | 淋巴组织、唾液腺 | 唾液传播、血液传播、医源性传播 | 未明确 |
| 人疱疹病毒6B型（HHV-6） | 人疱疹病毒6B型（HHV-6B） | 淋巴细胞 | 淋巴组织、唾液腺 | 唾液传播、血液传播、医源性传播 | 婴幼儿急疹 |
| 人疱疹病毒7型（HHV-7） | 人疱疹病毒7型（HHV-7） | CD4+ T细胞 | 唾液腺 | 唾液传播 | 未明确 |
| 人疱疹病毒4型（HHV-4） | EB病毒（EBV） | γ | B细胞 | 周期长，少见细胞病变，具有细胞转化能力 | B细胞、淋巴组织 | 唾液传播、性传播 | 传染性单核细胞增多症、Burkitt淋巴瘤、鼻咽癌 |
| 人疱疹病毒8型（HHV-8） | 卡波氏肉瘤相关疱疹病毒（KSHV） | B细胞、内皮细胞 | B细胞、内皮细胞等 | 性传播、唾液传播、血液传播、医源性传播 | 卡波氏肉瘤、原发性渗出性淋巴瘤、多中心Castleman病 |

**疱疹病毒科成员具有如下共同特征：**

（1）生物学特性 ①球型病毒，直径约150～200 nm。具有二十面立体对称的核衣壳和含有病毒糖蛋白的包膜。核衣壳外围一层均质被膜（tegument）。②线性dsDNA病毒，基因组长约120～240 kb，多数由长独特序列（unique long，UL）和短独特序列（unique short，US）共价连接组成，基因组中间与两端分别有重复序列，可重组形成异构体。③病毒基因组编码的功能蛋白如DNA多聚酶、蛋白激酶、胸苷激酶、转录因子、解旋酶等，具有调控病毒复制、核酸代谢、DNA合成和基因表达等作用，也可作为抗病毒药物作用靶点。④机体抗疱疹病毒感染主要依赖细胞免疫反应。

（2）病毒复制 病毒与细胞受体结合后，其包膜与细胞膜发生融合，核衣壳与核膜相连，病毒基因组被释放至核内，从而启动病毒基因转录和蛋白质合成过程，按即刻早期蛋白（α蛋白）、早期蛋白（β蛋白）和晚期蛋白（γ蛋白）级联表达。①即刻早期蛋白（immediate early protein），DNA结合蛋白，可促进早期蛋白和晚期蛋白的合成，同时抑制细胞DNA修复酶，维持病毒基因组线性化；②早期蛋白（early protein），主要为转录因子和聚合酶等，能够调控病毒DNA复制、转录和蛋白质合成；③晚期蛋白（late protein），主要为结构蛋白，病毒基因组复制后产生，并对即刻早期蛋白和早期蛋白起反馈抑制作用。在潜伏感染期，病毒基因组受到细胞DNA修复酶的作用，呈环状结构并潜伏于细胞内，此时仅产生潜伏相关转录体（latency-associated transcripts，LAT），并不进行蛋白质翻译。在增殖性感染期，即刻早期蛋白使病毒基因组线性化，进而进行DNA复制和转录，最终产生具有感染性的病毒颗粒。DNA复制和病毒颗粒装配过程均发生在细胞核内，核衣壳以出芽方式获取包膜，最后通过胞吐或细胞溶解方式释放病毒。此外，子代病毒也可通过细胞间桥或细胞融合方式直接在细胞之间扩散，感染细胞与邻近未感染细胞融合，形成多核巨细胞。

（3）感染类型 病毒感染细胞后可表现为多种形式，包括溶细胞性感染、潜伏感染、整合感染或先天性感染。潜伏感染是疱疹病毒最重要的感染特征，当机体免疫力低下或受到内外因素的刺激时，潜伏病毒会再激活（reactivation）并大量增殖。除此之外，部分疱疹病毒的基因组可整合到宿主细胞染色体中，诱导细胞转化与肿瘤形成，如EBV与鼻咽癌。部分疱疹病毒（如HCMV、HSV）可通过胎盘感染胎儿引起畸形，或者通过产道传播或母乳引起围生期感染。

**3.8.2.单纯疱疹病毒**

**3.8.2.1.单纯疱疹病毒概述**

**病毒名：**单纯疱疹病毒（herpes simplex virus，HSV），属α疱疹病毒亚科，分为HSV-1（即HHV-1）和HSV-2（即HHV-2）两种血清型。HSV具有广泛的宿主范围，可感染人和多种动物，包括家兔、豚鼠和小鼠等。在人群中HSV感染普遍，可引发多种疾病，如龈口炎、角膜结膜炎、脑炎、生殖道感染和新生儿感染等。HSV可在神经元细胞建立潜伏感染，常复发。

**3.8.2.2.单纯疱疹病毒生物学性状**

（1）基因组结构 基因组长约152 kb，由长独特片段（UL）和短独特片段（US）以不同方向相连，构成4种异构体。HSV基因组编码至少90种转录本以及70多种蛋白，其中病毒编码的酶类可作为潜在的抗病毒药物靶标。

（2）糖蛋白 HSV编码至少11种以单体或复合体形式存在的包膜糖蛋白，包括gB、gC、gD、gE、gG、gH、gI、gJ、gL、gK和gM，参与病毒复制和致病过程。gB具有黏附和融合功能；gD是免疫原性最强的中和抗原；gC、gE和gI为结构糖蛋白，具有免疫逃逸功能，其中gC是补体C3b的受体，gE/gI复合物是IgG Fc的受体，可以阻止抗体的抗病毒作用。gG是型特异性糖蛋白，分为gG-1和gG-2，是区分HSV-1和HSV-2血清型的依据。

（3）分型 HSV-1和HSV-2核酸序列同源性约为50%，具有型特异性抗原，可通过gG型特异性单抗结合试验和病毒DNA限制性内切酶谱分析等区分。

（4）培养特性 分离培养常用人胚肺成纤维细胞、人胚肾细胞等。HSV具有较短的增殖周期，感染后表现为溶细胞性感染，多数在感染48小时内可观察到细胞肿胀、变圆、核内嗜酸性包涵体等CPE特征。小鼠、豚鼠和家兔等常被用作HSV动物模型。

**3.8.2.3.单纯疱疹病毒致病性与免疫性**

（1）致病性

HSV在人群中广泛感染，主要表现为隐性感染（约80%~90%），少数表现为显性感染。病毒通过破损皮肤或黏膜进入人体，并引起以**水疱**为典型特征的皮肤损伤。水疱基底部可观察到典型的多核巨细胞，浆液中充满感染性病毒颗粒和细胞碎片。HSV具有在多种细胞中迅速增殖的能力，例如人胚肺成纤维细胞、人胚肾细胞和地鼠肾细胞等。病毒常在感染48小时内导致致细胞病变效应、嗜酸性核内包涵体和细胞融合。

**HSV-1和HSV-2在传播途径和所致疾病方面存在差异**。HSV-1主要经密切接触传播，导致腰部以上皮肤和黏膜（如口腔、眼结膜、唇）以及神经系统感染；HSV-2通过性接触传播，引发腰部以下（如生殖器）感染。HSV-1和HSV-2的感染途径及其分布可交叉重叠，两者均可经胎盘或产道垂直传播。

（2）感染类型

1）原发感染（primary infection） 以局部皮肤黏膜的疱疹为主要表现，潜伏期为2至12天（平均3至5天），病程一般为2至3周。HSV-1的原发感染仅10%至15%表现为显性感染，少有全身感染。感染部位以腰部以上为主，如疱疹性龈口炎。因无法限制病毒复制，免疫缺陷患者（如移植、血液病或艾滋病病人等）易出现严重疱疹病毒感染，以呼吸道、食管、肠道黏膜等部位最为常见，易累及神经系统导致病毒性脑炎。HSV-2原发感染多发生于性生活后，主要表现为腰部以下及生殖器感染，以生殖器疱疹（genital herpes）最为常见。

2）潜伏感染（latent infection） HSV原发感染后，机体特异性免疫会清除大部分HSV继而使症状消失。少量残存的病毒会经感觉轴突神经上行至感觉神经节，潜伏于神经细胞并持续终生。潜伏感染时HSV处于非复制状态，故对抗病毒药物不敏感。**HSV-1和HSV-2的潜伏部位不同。**三叉神经节和颈上神经节是HSV-1的主要潜伏部位，骶神经节是HSV-2的主要潜伏部位。

3）复发性感染 当机体受到非特异性因素（如发热、寒冷、日晒、月经期、情绪紧张或其他病原体感染等）刺激或细胞免疫被短暂抑制时，潜伏状态的HSV被激活，随后由感觉神经纤维轴索下行，到达末梢支配的上皮细胞继续复制，导致同一部位复发性局部疱疹。在机体的免疫应答作用下，复发性感染表现为病程短、病损轻和感染局限的特点。复发性感染期仍有病毒排出，具有传染性。“潜伏-复发-潜伏”过程可反复经历，频率因人而异。

4）先天性感染 包括宫内、产道以及产后接触感染，其中75%为产道感染。孕妇原发感染或潜伏病毒激活时，HSV-1和HSV-2均可经胎盘或经宫颈逆行感染胎儿，诱发流产、早产、死胎或先天性畸形等。

（3）所致疾病

1）HSV-1感染所致的主要疾病

①疱疹性龈口炎：多数由儿童时期的原发性感染引发，主要症状包括发热和口腔内水疱性损伤。

②唇疱疹：多由复发性感染引起，表现为口唇及鼻腔黏膜皮肤交界处的成群水疱。

③疱疹性角膜结膜炎：主要以角膜溃疡为特征，通常伴随结膜上皮细胞损伤，严重复发可能导致角膜瘢痕和失明。

④疱疹性脑炎：由原发感染或复发性感染引发，易出现神经系统后遗症，病死率高。

2）HSV-2感染引发的主要疾病

①生殖器疱疹：症状为男女生殖道（如阴茎、宫颈、外阴、阴道和会阴部等）水疱性溃疡性病变，伴有剧痛、发热和腹股沟淋巴结肿大。原发感染病程约持续3周，复发性感染症状较轻。

②新生儿疱疹：可经宫内、产道和产后接触感染，其中经产道感染为主。患有急性期生殖器疱疹的孕妇自然分娩时，新生儿通过产道接触感染，导致皮肤、眼和口等暴露部位发生局部疱疹，重症患儿表现为疱疹性脑炎或全身播散性感染。重症患儿预后不良，病死率高达80%，幸存者往往伴有永久性神经损伤。

（4）免疫性

在抗HSV原发感染和复发性感染中由干扰素、NK细胞、迟发型超敏反应和CTL发挥主要作用。抗HSV中和抗体可阻断游离病毒感染，但不能阻止潜伏病毒的激活，因此与病毒复发频率无关。此外，病毒糖蛋白gC和gE/gI复合物可分别与补体C3和抗体Fc段结合，抑制体液免疫。

**3.8.2.4.单纯疱疹病毒微生物学检查**

（1）病毒的分离与鉴定

取水疱液、唾液、角膜拭子、阴道拭子或脑脊液等标本，经常规处理后接种于易感细胞（如人胚肾细胞）进行培养。感染2至3天后根据是否出现细胞病变，如细胞肿胀、变圆、折光性增强和多核巨细胞等进行初步判定。进一步鉴定可采用中和试验或DNA酶切电泳等方法。

（2）细胞学诊断

刮取疱疹病损组织的基底部材料（如宫颈黏膜、皮肤、口腔、角膜等），涂片后通过免疫荧光或免疫酶技术检查HSV特异性抗原，也可经Wright-Giemsa染色后镜检观察是否有细胞核内包涵体及多核巨细胞。

（3）核酸检测

HSV核酸检测可通过PCR或原位杂交技术。脑脊液标本的HSV核酸检测是诊断疱疹性脑炎的标准方法。

（4）血清学检查

HSV抗体检测通常采用ELISA和间接免疫荧光法。特异性IgM抗体阳性是近期感染的指标，特异性IgG抗体检测常用于流行病学调查。

**3.8.2.5.单纯疱疹病毒防治原则**

目前HSV糖蛋白亚单位疫苗仍处于研制阶段。应避免与活动期HSV感染者接触，尤其是新生儿和湿疹病人。在外阴及肛门皮肤黏膜受损时，应避免接触被污染的浴巾或共用马桶圈等设施，提倡安全性生活。抗病毒药阿昔洛韦（acyclovir，ACV）和更昔洛韦（ganciclovir，GCV）等仅对治疗生殖器疱疹、疱疹性脑炎及复发性疱疹病毒感染和疱疹性角膜炎等具有良好效果，无法清除潜伏状态的病毒或预防复发性感染。

**3.8.3.水痘-带状疱疹病毒**

**3.8.3.1.水痘-带状疱疹病毒概述**

**病毒名：**水痘-带状疱疹病毒（varicella-zoster virus，VZV），也称为人疱疹病毒3型（human herpes virus 3，HHV-3）。儿童时期发生原发感染引起水痘（varicella），病愈后病毒仍潜伏在体内，再激活后导致带状疱疹（zoster）。

**3.8.3.2.水痘-带状疱疹病毒生物学性状**

VZV仅有一个血清型，主要具有以下生物学特性：①长约120~130 kb的基因组编码约70种蛋白；②可在人或猴成纤维细胞或人上皮细胞中复制增殖，形成嗜酸性包涵体和多核巨细胞；③编码的胸苷激酶对抗病毒药物敏感；④脊髓后根神经节或颅神经的感觉神经节是其主要潜伏部位；⑤原发感染主要通过呼吸道传播，经病毒血症播散至皮肤，引发以水疱为特征的皮肤损伤。

**3.8.3.3.水痘-带状疱疹病毒致病性与免疫性**

VZV的唯一宿主是人类，无动物储存宿主，主要靶组织为皮肤。VZV传染性强，经飞沫或直接接触传播。高滴度病毒颗粒存在于水痘患者急性期水疱内容物、上呼吸道分泌物或带状疱疹患者水疱内容物。带状疱疹患者也可成为儿童水痘的传染源。儿童普遍易感，发病率高达90%。

（1）感染类型

1）原发感染 主要表现为水痘。经飞沫传播或接触传播感染，病毒进入机体后在局部淋巴结增殖，进入血流和淋巴系统，到达肝和脾后大量复制。11～13天后病毒再次进入血流，引发第二次病毒血症且播散至全身皮肤。潜伏2～3周后，皮肤出现广泛斑丘疹、水疱疹、脓疱疹。皮疹以躯干较多，呈向心性分布。数天后结痂，无继发感染者脱痂不留瘢痕。

儿童水痘一般症状较轻，具有自限性。成人水痘症状较重，其中20%～30%可并发病毒性肺炎，病死率高。妊娠期感染且水痘症状严重的孕妇存在胎盘传播的可能，以及导致胎儿畸形、流产或死胎的风险；新生儿水痘往往呈播散性，病死率高。儿童在细胞免疫缺陷或长期使用免疫抑制剂时期感染，可表现为重症水痘，常并发肺炎、脑炎等疾病，有致命风险。

2）复发性感染 常表现为带状疱疹。原发感染后，脊髓后根神经节或颅神经的感觉神经节中仍潜伏少量病毒。水痘患者成年后，约10～20%在免疫力低下或某些非特异性因素刺激下，体内潜伏的病毒被激活，由感觉神经轴突播散至所支配的皮肤细胞内增殖引发疱疹。疱疹沿感觉神经支配的皮肤分布，常呈带状，多见于身体单侧胸部、腹部或头颈部，剧烈疼痛。对于罹患肿瘤、器官移植、接受激素治疗及HIV感染人群，合并带状疱疹可出现严重并发症。

（2）免疫性

在限制疾病发展和感染恢复中主要依靠细胞免疫。特异性抗体可阻止病毒经血流播散，但无法清除潜伏于神经节中的病毒，无法预防带状疱疹发生。VZV编码产物可通过下调MHC I、II类分子毒等实现免疫逃逸。

**3.8.3.4.水痘-带状疱疹病毒微生物学检查**

水痘和带状疱疹的临床表现通常足以诊断，无需进行病毒的分离培养。在必要情况下可采集疱疹基底部、皮肤刮取物、水疱液、活检组织等标本，进行如下检测：①运用HE染色技术检测观察核内嗜酸性包涵体和多核巨细胞等；②采用直接免疫荧光法检测病毒抗原；③使用ELISA、间接免疫荧光和微量中和试验等检测特异性IgM抗体；④用原位杂交或PCR检测组织或体液中的病毒核酸。

**3.8.3.5.水痘-带状疱疹病毒防治原则**

对于1岁以上健康易感儿童，可通过接种VZV减毒活疫苗进行特异性预防。若接触到传染源，在72～96小时内接种水痘-带状疱疹免疫球蛋白（varicella-zoster virus immunoglobulin，VZV Ig）有一定预防感染或减轻临床症状效果，对免疫抑制患者尤为重要，但不能治疗和预防带状疱疹。

免疫抑制患儿的水痘、成人水痘和带状疱疹可用阿糖腺苷、阿昔洛韦和干扰素等抗病毒药物治疗，正常儿童水痘患者一般无需抗病毒治疗。

**3.8.4.人巨细胞病毒病毒**

**3.8.4.1.人巨细胞病毒概述**

**病毒名：**人巨细胞病毒（human cytomegalovirus，HCMV），也被称为人疱疹病毒5型（human herpes virus 5，HHV-5）。HCMV感染细胞可引起细胞变大、肿胀、折光性增强，呈现“巨大细胞”状态，并因此而得名。人群中HCMV感染率高，其中免疫力低下的个体易发生严重感染，导致严重的终末器官疾病，包括HCMV肺炎和溃疡性结肠炎等。此外，HCMV是导致先天性畸形的最常见病原体之一。

**3.8.4.2.人巨细胞病毒生物学性状**

（1）形态与结构 病毒直径约180～250 nm，基因组长约240 kb，可编码至少200种蛋白。病毒包膜糖蛋白发挥Fc受体的功能。目前，HCMV仅有一个血清型，可根据不同病毒株的抗原性差异，进一步分为3～4个血清亚型。

（2）培养特性 HCMV具有严格的种属特异性，人是其唯一宿主。HCMV在体内可感染多种细胞，包括成纤维细胞、内皮细胞、上皮细胞及神经细胞等。HCMV在体外仅能在人成纤维细胞中增殖，其增殖速度缓慢，通常需要2～6周才能引发细胞肿胀、变圆、核增大和形成巨大细胞等细胞病变。此外，还可在已感染细胞的核周区域形成形似一轮“晕”的大型嗜酸性包涵体。HCMV扩散主要通过细胞间桥或细胞融合方式，因此仅有少量病毒以游离形式存在于培养物中。HCMV对脂溶剂敏感，可通过56℃加热30分钟、酸处理和紫外线照射等方式灭活。目前尚无HCMV感染动物模型。

**3.8.4.3.人巨细胞病毒致病性与免疫性**

HCMV普遍感染，我国成人HCMV抗体阳性率高达60%～90%。原发感染常见于2岁以下，大多表现为隐性感染，只有少数人会出现临床症状。当机体免疫功能低下，病毒感染可累及多个器官和系统导致严重疾病。唾液腺、乳腺、肾脏、外周血单核细胞和淋巴细胞是HCMV潜伏的主要部位。

患者和隐性感染者均是HCMV的传染源，多数人感染者后长期带毒。感染者的唾液、乳汁、尿液、泪液、精液、宫颈及阴道分泌物中，会持续或间歇的排出病毒。HCMV传播方式包括：①接触传播：通过口-口或手-口等途径接触带有病毒的分泌物或物品；②性传播；③医源性传播：如输血和器官移植等；④母婴传播：经胎盘传给胎儿引起先天性感染，或通过产道或哺乳传给新生儿造成围生期感染。

（1）感染类型

1）先天性感染（congenital infection） 原发感染或潜伏病毒再激活发生在孕期3个月内时，HCMV可经胎盘或通过宫颈上行，造成胎儿原发感染，引起死胎、流产或先天性疾病。先天性感染的发生率为0.5%～2.5%，其中5%～10%的新生儿会出现肝脾肿大、黄疸、血小板减少性紫癜、溶血性贫血及神经系统损伤等临床症状，即巨细胞包涵体病（cytomegalic inclusion disease，CID）。少数患儿会出现先天性畸形，表现为小头畸形和智力低下等。约10%亚临床感染患儿在出生后数月至数年出现智力低下和先天性耳聋等症状。

2）围生期感染（perinatal infection） HCMV可经产道或母乳感染新生儿。由于母源抗体存在，通常不会出现明显临床症状。少数患儿出现短暂的间质性肺炎、肝脾轻度肿大、黄疸等症状，大多预后良好。

3）原发感染 成人和儿童均可感染，以隐性感染为主，仅少数出现巨细胞病毒单核细胞增多症，伴有疲劳、肌痛、发热、肝功能异常和单核细胞增多等轻微症状，偶发并发症。HCMV原发感染后通常可终生潜伏。病毒在某些因素诱导下再激活可引起复发性感染。

4）免疫功能低下者感染 对于免疫功能低下人群，如器官移植、艾滋病、白血病、淋巴瘤或长期使用免疫抑制剂者等，原发感染或复发性感染均可引发如HCMV肺炎、肝炎、脑膜炎等严重疾病。HCMV是艾滋病患者机会感染最常见的病原体之一，往往引发视网膜炎。

（2）免疫性

机体感染HCMV会产生特异性的IgG、IgM和IgA抗体，但无法阻止潜伏病毒再激活。母源抗体虽对胎盘传播和围生期感染无完全阻断作用，但可减轻新生儿感染症状。在限制病毒播散和潜伏病毒再激活中，NK细胞和细胞免疫发挥关键作用，因此细胞免疫缺陷人群具有高HCMV感染风险。

**3.8.4.4.人巨细胞病毒微生物学检查**

（1）病毒的分离与鉴定

采集标本如中段晨尿、血液、咽部和宫颈分泌物等，将其接种于人胚肺成纤维细胞进行培养。4～6周后可观察细胞是否出现病变。

（2）细胞学诊断

收集标本如咽喉洗液和尿液等，离心取沉淀制备涂片。通过吉姆萨染色镜下观察是否存在特征性巨大细胞及嗜酸性包涵体。该方法简便，可作为辅助诊断，但阳性率不高。

（3）抗原检测

病毒早期抗原（如pp65蛋白）可于短期培养2～4天后通过免疫荧光或酶联免疫技术方式检测。

（4）核酸检测

通过RT-PCR法检测病毒mRNA，或运用荧光定量PCR检测病毒DNA拷贝数。

（5）血清学检查

HCMV近期感染的辅助诊断，通常采用ELISA检测HCMV IgM抗体。HCMV IgM抗体不能通过胎盘传给胎儿，因此若在新生儿血清中检测到HCMV IgM抗体，表明存在HCMV宫内感染。HCMV IgG抗体检测常用于流行病学调查统计人群感染率。

**3.8.4.5. 人巨细胞病毒防治原则**

目前尚无安全有效的HCMV疫苗。HCMV严重感染可用高效价抗HCMV免疫球蛋白及更昔洛韦等抗病毒药物联合治疗。

**3.8.5. EB病毒病毒**

**3.8.5.1. EB病毒概述**

**病毒名：**EB病毒（Epstein-Barr virus，EBV），又名人疱疹病毒4型（human herpes virus 4，HHV-4），于1964年由Epstein和Barr等从非洲儿童恶性淋巴瘤（又称Burkitt淋巴瘤/伯基特淋巴瘤）细胞培养物中首次分离。EBV是引起传染性单核细胞增多症以及Burkitt淋巴瘤、鼻咽癌等恶性肿瘤的病原体，故是一种重要的致瘤病毒。

**3.8.5.2. EB病毒生物学性状**

（1）**形态结构** ①球形，有包膜病毒，直径约180 nm。②基因组为线性dsDNA，长约172 kb，编码100多种病毒蛋白。③EBV基因组在潜伏时以环状附加体（episome）状态游离于细胞核内，在增殖性感染时则转换成线性状态。

（2）**病毒复制** B淋巴细胞是EBV的主要靶细胞。首先，病毒通过包膜糖蛋白gp350/gp220结合B淋巴细胞表面C3d补体受体分子（CD21或CR2），进而在gH、gL和gB作用下病毒包膜与细胞融合。病毒进入细胞后以潜伏状态存在，仅少量病毒蛋白表达。在某些特定条件下，潜伏的病毒再激活转为增殖性感染状态，进入复制周期。

（3）**培养特性**  EBV体内感染口咽部、腮腺和宫颈上皮细胞。目前尚无法在体外培养EBV的方法。通过EBV体外感染可建立永生化的B淋巴细胞系，其中仅少量细胞产生病毒颗粒。

（4）**病毒抗原** 在不同感染状态下EBV表达不同的抗原，相应抗体具有临床诊断价值。

1）增殖性感染期表达抗原 ①早期抗原（early antigen，EA）：非结构蛋白，也具有DNA聚合酶活性，可作为EBV进入增殖周期的标志。EA包括EA-R（restricted）和EA-D（diffuse）两种。EA-R仅表达在细胞质，EA-D在细胞质和细胞核中均有表达。感染早期即有EA抗体产生，Burkitt淋巴瘤患者可检测到抗EA-R抗体，鼻咽癌患者则会产生抗EA-D抗体。②晚期抗原：结构蛋白，包括膜抗原（membrane antigen，MA）和衣壳抗原（viral capsid antigen，VCA），病毒进入增殖周期时大量表达。gp350/gp220为MA，位于病毒包膜及感染细胞表面，可诱导中和抗体。VCA表达在细胞质和细胞核内。VCA IgM具有出现早和消失快的特点，VCA IgG则出现晚、维持时间长。

2）潜伏感染期表达抗原 ①EBV核抗原（EB nuclear antigen，EBNA）：表达在细胞核内，具有DNA结合功能。目前EBNA共有6种，其中仅EBNA-1可在任何感染状态下表达，具有稳定病毒环状附加体防止病毒基因组在感染过程中丢失的作用；此外，EBNA-1还可削弱细胞处理与提呈抗原的功能，进而躲避CTL的杀伤。EBNA-2参与细胞永生化过程。②潜伏膜蛋白（latent membrane protein，LMP）：表达在感染细胞膜，包括LMP-1、LMP-2和LMP-3。LMP-1为致癌蛋白，可抑制细胞凋亡和促进B淋巴细胞转化，对鼻咽癌等上皮细胞源性肿瘤形成至关重要。LMP-2具有抑制潜伏病毒再激活的作用。

**3.8.5.3. EB病毒致病性与免疫性**

人群中EBV普遍感染，我国3岁左右儿童90%以上呈EBV抗体阳性。原发感染时一般没有明显症状，仅少数人会表现咽炎和上呼吸道感染症状，传染性单核细胞增多症的发生率约为50%。患者和无症状感染者均是EBV的传染源，唾液传播是主要的传播途径，也可通过性接触传播。病毒会在体内潜伏并伴随终生。

（1）致病机制

感染机体后，EBV首先进入口咽部或腮腺上皮细胞增殖，随后释放感染局部淋巴组织的B淋巴细胞，进而进入血流造成全身性感染。免疫功能正常时，大部分病毒可被清除，少量病毒在B淋巴细胞（约1/106 B淋巴细胞）中持续潜伏。EBV能够刺激多克隆B淋巴细胞产生异嗜性抗体，为B淋巴细胞有丝分裂原。病毒感染的B淋巴细胞还可激活T细胞增殖，形成以细胞毒性T淋巴细胞和NK细胞为主的非典型淋巴细胞，可杀伤被病毒感染的细胞。

EBV基因编码的BCRF-1是IL-10类似物，具有削弱Th1细胞、抑制IFN-γ释放和T细胞抗病毒免疫应答的功能，并刺激B淋巴细胞生长。BCRF-1与其他协同因子共同引起B淋巴细胞的连续增殖，最终诱导淋巴瘤发生。

（2）所致疾病

1）传染性单核细胞增多症（infectious mononucleosis） 青春期初次感染大量EBV时常发，是一种急性全身淋巴细胞增生性疾病。发热、咽炎、颈淋巴结炎、肝脾肿大、外周血单核细胞和异形淋巴细胞增多是其典型的临床症状。此病具有自限性，通常持续数周，预后较好。在急性期患者口腔黏膜的上皮细胞中存在大量病毒，可通过唾液排出，并持续约6个月。严重免疫缺陷的儿童、艾滋病患者及器官移植者感染后病死率较高。

2）Burkitt淋巴瘤 一种低分化的单克隆B淋巴细胞瘤，常见于中非、新几内亚、南美洲等温热带地区5~8岁儿童，常发在颜面、腭部。在Burkitt淋巴瘤发生前EBV抗体即呈阳性，大多具有高于正常人的抗体效价。90%以上肿瘤组织中可检测出EBV基因组。

3）鼻咽癌（nasopharyngeal carcinoma，NPC） 主要在东南亚、北非和北美洲北部地区流行。我国广东、广西、福建、湖南、江西等东南沿海地区是鼻咽癌高发区，40岁以上人群常见。EBV感染与鼻咽癌发生密切相关，主要依据如下：①EBV的核酸和抗原可在所有鼻咽癌组织中检出；②鼻咽癌患者血清中有高于正常人的EBV抗体效价，且有时EBV抗体会在鼻咽癌发生之前出现；③治疗好转后EBV抗体效价下降。然而，EBV不是导致鼻咽癌发生的唯一因素。

4）淋巴组织增生性疾病 EBV感染免疫缺陷患者或移植病人往往常导致如恶性单克隆B淋巴细胞瘤等淋巴组织增生性疾病。艾滋病患者感染易并发EBV相关淋巴瘤、舌毛状白斑症。霍奇金淋巴瘤病人EBV DNA的检出率约为50%。

（3）免疫性

EBV原发感染诱导机体产生特异性中和抗体和细胞免疫应答。VCA抗体、MA抗体和EA抗体首先出现，继而EBNA抗体产生。中和抗体能够有效预防EBV外源性再感染，但对细胞内潜伏的病毒无效。在限制原发感染和疾病进展中细胞免疫起到关键作用。

**3.8.5.4. EB病毒微生物学检查**

（1）病毒的分离与鉴定

采集标本，包括唾液、咽漱液、外周血和肿瘤组织等，将其接种于新鲜的B淋巴细胞或脐血淋巴细胞中进行培养。6~8周后，EBV抗原可采用免疫荧光法检测。EBV分离培养过程相对困难，通常使用血清学方法进行辅助诊断。

（2）血清学检查

1）异嗜性抗体（heterophile antibody）检测：一种用于传染性单核细胞增多症辅助诊断的主要方法。该抗体由EBV非特异性活化B淋巴细胞产生，可非特异凝集绵羊红细胞，在发病3～4周内效价达高峰，并在恢复期逐渐下降直至消失。当抗体效价超过1：224时具有诊断意义。

2）EBV抗体检测：有助于诊断EBV感染，通过免疫荧光法或免疫酶法检测。VCA IgM提示EBV原发感染；VCA IgG或EBNA IgG存在表示既往感染；EA IgA和VCA IgA效价持续升高，可辅助诊断鼻咽癌。

（3）核酸及抗原检测

EBV抗原可通过免疫荧光法检测，EBV DNA可运用原位核酸杂交法或PCR法检测。

**3.8.5.5. EB病毒防治原则**

95%传染性单核细胞增多症患者可恢复，并发脾破裂少见，应避免在急性期剧烈运动。鼻咽癌早期诊断可通过EBV EA IgA和VCA IgA抗体检测。目前EBV疫苗仍在研究阶段，EBV包膜糖蛋白gp350/220是亚单位疫苗设计的候选抗原之一。

**3.8.6. 其它疱疹病毒**

**3.8.6.1. 人疱疹病毒6型**

人疱疹病毒6型（human herpes virus 6，HHV-6），首次于1986年从淋巴细胞增生性疾病和艾滋病患者外周血淋巴细胞中分离。HHV-6与HCMV结构相似，基因组长约160～170 kb。HHV-6可根据抗原性分为两个病毒种，即HHV-6A和HHV-6B。CD46分子是HHV-6A的受体，CD134分子是HHV-6B的受体。除了主要靶细胞CD4+ T淋巴细胞，HHV-6A和HHV-6B也可感染B淋巴细胞、神经胶质细胞、成纤维细胞和单核-巨噬细胞等。

人群中HHV-6感染普遍，1岁以上人群的血清抗体阳性率高达60%~90%。HHV-6可在唾液腺等组织器官长期潜伏，持续终生。唾液传播是HHV-6主要传播方式，输血、器官移植也可传播。潜伏于免疫功能低下人群的HHV-6再激活会导致急性感染。

HHV-6A原发感染通常不引起临床症状，在中枢神经系统感染、AIDS及淋巴增生性疾病患者中的检出率较高。HHV-6B原发感染常见于6个月至2岁，以隐性感染为主，偶发婴幼儿急疹（exanthem subitum）。病毒潜伏约4～7天后，患儿出现高热和上呼吸道症状，热退后颈部和躯干出现淡红色斑丘疹。通常预后良好，脑炎、肺炎、肝炎、热性惊厥等并发症少见。

病毒分离周期为10～30天，可采集患儿唾液或外周血单核细胞进行。快速诊断包括采用间接免疫荧光法检测IgM，或运用PCR法检测唾液、血液或脑脊液中的HHV-6 DNA。

目前缺乏有效的HHV-6疫苗。

**3.8.6.2. 人疱疹病毒7型**

人疱疹病毒7型（human herpes virus 7，HHV-7）于1990年首次分离。HHV-7与HHV-6结构相似，且基因组有50%～60%的同源性。CD4+ T淋巴细胞是HHV-7的亲嗜细胞。流行病学数据显示，HHV-7在人群中感染普遍，成人的抗体阳性率超过90%，其中2～4岁儿童约为50%。外周血单核细胞和唾液腺是HHV-7主要潜伏部位，通过唾液途径传播。

尚待证实HHV-7原发感染与疾病的关系，与婴幼儿急疹、神经损伤和器官移植并发症可能有关。HHV-7与HHV-6具有相似的分离培养方式，可通过PCR等分子生物学方法快速诊断。目前缺乏有效的预防和治疗方法。

**3.8.6.3. 人疱疹病毒8型**

人疱疹病毒8型（human herpes virus 8，HHV-8），又名为卡波氏肉瘤相关疱疹病毒（Kaposi’s sarcoma-associated herpesvirus，KSHV），于1994年由Yuan Chang等从艾滋病患者的卡波氏肉瘤（Kaposi’s sarcoma，KS）活检组织中首次分离。基因组长约165 kb，在感染细胞中以附加体形式存在。HHV-8基因组不仅编码病毒结构蛋白和代谢相关蛋白，也编码与细胞因子及其受体同源的病毒产物，如病毒cyclin D、IL-6、Bcl-2、G偶联蛋白受体、干扰素调节因子等，在HHV-8相关肿瘤发生过程中起到重要调控作用。

HHV-8的传播途径尚未完全明了，可能经性接触传播，唾液、器官移植或输血传播也可能是其传播途径。健康成人HHV-8抗体阳性率约为1%～4%，持续感染且不断向外排毒，但大多没有明显症状。B淋巴细胞是HHV-8的主要潜伏部位。当宿主呈免疫抑制状态时，病毒将进入皮肤真皮层血管或淋巴管内皮细胞。对于免疫缺陷患者，HHV-8感染常表现为显性感染，尤其是HIV感染者，体内的HIV病毒可诱导细胞因子产生使潜伏HHV-8再激活。

HHV-8引发的KS是一种艾滋病晚期患者最常并发的恶性血管肿瘤，此外原发性渗出性淋巴瘤和多中心Castleman病也与HHV-8感染密切相关。皮肤是KS主要侵犯部位，可播散累及全身组织器官，如内脏器官、口腔和生殖系统等。如治疗不及时，患者的存活期往往不足两年。KS分为经典型、地方型、医源型以及艾滋病相关型，病理学特征和发病人群具有差异。不同类型KS均有很高的HHV-8 DNA检出率。

采用定量PCR法检测病毒核酸可快速诊断HHV-8，血清学方法检测可采用免疫荧光、ELISA、免疫印迹等方法。更昔洛韦和西多福韦（cidofovir）等抗疱疹病毒药物在预防KS发生方面具有效果，但对已发生的肿瘤无法发挥作用。目前未有特异性预防和治疗措施。

**3.9. 狂犬病病毒**

**3.9.1. 狂犬病病毒概述**

**狂犬病病毒**（Rabies virus，RABV）为单股负链RNA病毒，归属于弹状病毒科（Rhabdoviridae）、狂犬病毒属（Lyssavirus）。根据国际病毒分类委员会最新的分类结果，狂犬病毒属由狂犬病病毒等17种病毒组成。狂犬病病毒引起的狂犬病属于人兽共患病，是一种急性致死性中枢神经系统传染性疾病。狂犬病患者多见于亚洲和非洲，主要由患狂犬病的动物抓伤或咬伤引起；北美地区的狂犬病多发生于野生动物，如蝙蝠、浣熊、臭鼬和狐狸等，偶见人感染的病例。目前尚无针对狂犬病的有效治疗方法，因此控制狂犬病最有效的手段是预防。

**3.9.2. 狂犬病病毒生物学性状**

**3.9.2.1. 狂犬病病毒形态与结构**

狂犬病病毒的形态：狂犬病病毒颗粒外形呈子弹形状，大小约75nm×180nm；有包膜，表面分布长约10nm的糖蛋白刺突；内部病毒核蛋白（N）包裹病毒负链RNA基因组构成核糖核蛋白（ribonucleoprotein，RNP）复合物

**狂犬病病毒的负链RNA基因组有5个基因**，编码核蛋白（nucleoprotein，N）、磷蛋白（phosphoprotein，P）、基质蛋白（matrix protein，M）、糖蛋白（glycoprotein，G）以及大转录酶蛋白（large transcriptase protein，L）。

（1）核蛋白（N）：N蛋白与病毒基因组RNA紧密相连并使其衣壳化，是形成病毒核糖核蛋白（RNP）复合物的主要成分之一。N基因是最为保守和高效表达的狂犬病病毒基因，因此被广泛应用于狂犬病的诊断与检测。N蛋白免疫原性强，是诱导机体体液免疫的主要成分，但不能刺激机体产生中和抗体。

（2）磷蛋白（P）：P蛋白与L蛋白结合后形成完整的病毒RNA聚合酶复合物，调控病毒的转录与复制。

（3）大转录酶蛋白（L）：最大的狂犬病病毒蛋白，在病毒基因的转录与复制过程中发挥关键的催化作用。

（4）基质蛋白（M）：最小的狂犬病病毒结构蛋白，连接病毒核衣壳和包膜，并与病毒的出芽与mRNA转录密切相关。

（5）糖蛋白（G）：构成病毒包膜表面刺突的糖基化蛋白，作为主要的表面抗原可刺激机体产生中和抗体和细胞免疫应答；介导狂犬病病毒与细胞受体结合；是病毒的主要保护性抗原，与病毒的致病性及免疫性密切相关。

**3.9.2.2. 狂犬病病毒的复制**

狂犬病病毒的复制周期可分为三个阶段，首先病毒与细胞受体结合，经内吞进入受染细胞，随后与内体膜发生融合，并将病毒基因组释放到细胞质，该过程也称为脱壳。其次，狂犬病病毒颗粒通过受染末梢神经元轴索逆行至中枢神经系统，一旦与神经元细胞接触，标志着第二感染阶段开始，即通过转录、复制及蛋白合成获得病毒的组成成分。最后，狂犬病病毒复制周期最后阶段主要是完整病毒颗粒的组装，并运输到芽生位置，并向胞外释放成熟的病毒颗粒，同时启动新一轮感染。

**3.9.2.3. 狂犬病病毒的培养特性**

狂犬病病毒可在多种细胞包括原代细胞、传代细胞和二倍体细胞株（如鸡胚、地鼠肾细胞、人二倍体成纤维细胞）中增殖，在非洲绿猴肾细胞（Vero细胞）中生长良好。病毒的复制周期短且量大，目前已应用于灭活疫苗生产。狂犬病病毒在易感动物或人的中枢神经细胞，主要是大脑海马回的锥体细胞中增殖时，可在胞质内形成一个或多个圆形或椭圆形、直径20~30nm的嗜酸性包涵体，称为**内基小体（Negri body）**。在动物或人脑组织标本中检测内基小体的存在，可作为狂犬病的辅助诊断。

**3.9.2.4. 狂犬病病毒的遗传与变异**

从自然感染动物体内分离到的狂犬病病毒称为野毒株（wild strain）或街毒株（street strain），特点是潜伏期长，毒力强，脑外途径接种后易侵入脑组织和唾液腺。野毒株在家兔脑内连续传代后，对家兔致病的潜伏期随传代次数增加而缩短，这种毒力变异的病毒株称为固定毒株（fixed strain），对人或犬的致病性明显减弱，由脑外途径接种犬时不能侵入脑神经组织引起狂犬病。

**3.9.2.5. 狂犬病病毒的抵抗力**

狂犬病病毒对热、紫外线、日光和干燥环境比较敏感。对热敏感性强，加热60°C 30秒钟或100°C 2秒钟即可杀灭病毒。对室温（25°C）以下温度有一定抵抗力，室温可存活1~2周，4°C静置5~6周丧失感染性。易被强酸、强碱、甲醛、碘酒、10%氯仿、20%乙醚、肥皂水、氧化剂及离子型和非离子型去污剂灭活。病毒在4°C冷冻干燥条件下可保持活性数月；在-20°C 50%甘油磷酸盐缓冲液中可保存至少5年。

**3.9.3. 狂犬病病毒致病性与免疫性**

**3.9.3.1.狂犬病病毒的致病性**

狂犬病潜伏期长短不一，短则一周，少数超过半年，平均2~3个月。狂犬病的临床表现主要有两种类型：80%为狂躁型，20%为麻痹型。狂躁型的主要特点是**恐水症**（hydrophobia），表现为在饮水或听到流水声时，恐惧、激动并伴有呼吸肌及咽喉痉挛等，幻觉与兴奋为常见的临床症状。麻痹型的主要特点是身体虚弱及松弛性瘫痪，常因临床症状不明显而误诊。症状发生后，狂犬病患者的生存时间一般不超过七天。

人被患狂犬病的动物如犬咬伤后，狂犬病病毒通过皮下伤口进入人体。肌细胞是狂犬病病毒的靶细胞，病毒首先在横纹肌细胞及结缔组织内复制。选择性在神经-肌肉接头处与nAChR结合，通过神经肌肉接头进入外周神经组织的运动神经元末梢。一旦进入神经细胞，狂犬病病毒就不易被免疫系统干预，可通过神经膜细胞内膜沿神经元轴索逆向扩散到中枢神经系统，在神经细胞内增殖并引起中枢神经系统损伤，随后又沿传出神经扩散到唾液腺及其他组织。迷走神经核、舌咽神经核和舌下神经核受损时，可发生呼吸肌、吞咽肌痉挛；迷走神经节、交感神经节和心脏神经节受损时，可发生心血管系统功能紊乱或猝死。

**3.9.3.2. 狂犬病病毒的免疫性**

狂犬病病毒的包膜糖蛋白及核蛋白均含有保护性抗原和T细胞免疫表位，可以诱导机体产生中和抗体（仅糖蛋白有此作用）、CD4+辅助性T细胞和CD8+ T细胞。中和抗体具有治疗性作用，可中和游离状态的病毒，阻断病毒进入神经细胞，但对已进入神经细胞内的病毒难以发挥作用，同时也可能引发免疫病理反应而加重病情。细胞免疫在机体抗狂犬病病毒保护性免疫中具有重要作用。

**3.9.4. 狂犬病病毒微生物学检查**

狂犬病的临床诊断过程主要包括：询问流行病学史，患者有无被犬、猫及蝙蝠等动物咬伤、抓伤的病史；观察患者是否有典型的临床症状。必要时结合临床样本的实验室检查结果进行诊断。

（1）**病毒的分离与鉴定：**小鼠脑组织对狂犬病病毒的敏感性强，因此常用小鼠进行病毒的分离与培养。将待检的临床标本，如脑组织、脑脊液、唾液和眼角膜组织等通过颅内注射接种小鼠，感染数天后分离脑组织进行进一步鉴定

（2）**血清学诊断：**常采用中和试验检测抗狂犬病病毒的中和抗体滴度，如快速荧光灶抑制试验及荧光抗体病毒中和试验。对于没有接种狂犬病疫苗的个体，如果在血清或脑脊液中检测出高滴度的中和抗体，可间接说明已被狂犬病病毒感染。也可采用ELISA（竞争法和间接法）试验等方法检测抗体。

（3）**快速诊断：**可采用直接免疫荧光法检测或者巢式RT-PCR方法进行检测。

**3.9.5. 狂犬病病毒防治原则**

我国养犬数量增加而免疫接种率低是狂犬病发生的主要原因，因此加强动物的免疫预防是预防狂犬病的主要措施。人被可疑动物咬伤后，进行规范的狂犬病暴露后预防（post exposure prophylaxis，PEP）处置可几乎100%预防发病，包括尽早进行伤口局部处理、尽早进行狂犬病疫苗接种、必要时尽早使用狂犬病被动免疫制剂。

目前常见的预防方法包括：隔离动物、伤口处理、被动免疫、主动免疫等。其中被患病动物咬伤后应尽快注射狂犬病疫苗。我国目前应用的主要是细胞生产的灭活疫苗。自2010年美国推荐使用新的CDC疗法，即使用四剂肌内注射取代原五剂注射疗法：在暴露后第0、3、7和14天分别行肌肉内注射，取消第28天注射，注射部位为成人三角肌或儿童大腿内外侧，避免臀部肌内注射。对于有接触狂犬病病毒危险的人员，如兽医、动物管理员和野外工作者等，也应接种疫苗进行暴露前预防。

3.10.人乳头瘤病毒

3.10.1. 人乳头瘤病毒概述

3.10.1.1. 人乳头瘤病毒基本情况

人乳头瘤病毒（human papillomavirus，HPV）属于乳头瘤病毒科（Papillomaviridae），主要侵犯人的皮肤和黏膜上皮组织，诱发各种良性和恶性病变，引发皮肤疣、尖锐湿疣、宫颈癌等。

3.10.1.2. 人乳头瘤病毒重要事件

1977年，德国科学家哈拉尔德•楚尔豪森（Harald zur Hausen）及其团队从生殖道增生病变中克隆出多株HPV亚型，确认高危型HPV可诱发包括宫颈癌在内的多种恶性肿瘤，提出HPV感染与宫颈癌的发生密切相关，因此获得了2008年诺贝尔生理学或医学奖，促进了宫颈癌筛查快速检测方法的建立以及HPV预防性疫苗的问世。

3.10.2. 人乳头瘤病毒生物学性状

3.10.2.1. 人乳头瘤病毒形态与结构

HPV为球形无包膜的双链DNA病毒，直径为52～60nm。病毒衣壳是由72个衣壳蛋白亚单位构成的二十面体结构，包含2种蛋白：主要衣壳蛋白（L1）和次要衣壳蛋白（L2）。5个L1蛋白聚合形成五聚体（壳粒），72个壳粒组装成病毒外壳，外壳中含有五邻体和六邻体的排列结构。L2蛋白含量较少，参与病毒基因组的包装。基因组为单拷贝闭环双链DNA。

3.10.2.2. 人乳头瘤病毒基因组结构及功能

HPV基因组长度为7.8～8.0kb，分为编码区和非编码区。编码区包括早期区和晚期区，分别表达早期蛋白（E）和晚期蛋白（L）。E1和E2蛋白参与病毒基因组复制及其转录调节。E5、E6和E7是转化基因，编码的蛋白质可与p53、pRB蛋白结合，具有干扰细胞周期调控、抑制细胞凋亡及诱导细胞恶性转化等作用。E4基因参与病毒的释放。晚期区基因编码主要衣壳蛋白L1及次要衣壳蛋白L2。非编码区又称上游调控区（upstream regulation region, URR），含有HPV的复制起点、转录因子结合序列和转录调节元件。

3.10.2.3. 人乳头瘤病毒分型

HPV根据L1基因的同源性目前已鉴定出200多型，同型HPV L1基因的序列同源性≥90%。根据HPV致癌危险性的高低，可将HPV分为低危型和高危型两大类。

（1）低危型：包括HPV 6、11、40、42、43、44、54、70、72、81型等，主要引起肛门、皮肤及外生殖器的外生性疣和低度宫颈上皮内瘤变（CIN）。其中HPV6和11最为常见，可诱发90%的尖锐湿疣。

（2）高危型：包括HPV 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73、82等。可引起外生殖器疣、外生殖器癌、宫颈癌和高度宫颈上皮内瘤变（CIN）。其中HPV阳性宫颈癌中，50%与HPV16型感染相关。

3.10.2.4. 人乳头瘤病毒复制周期

HPV对皮肤和黏膜上皮细胞有高度亲嗜性，可以通过微小的创口感染鳞状上皮的基底层细胞或宫颈移行区细胞。

（1）吸附及穿入：HPV通过硫酸乙酰肝素蛋白多糖（HSPG）吸附于基底膜后，病毒衣壳构象发生改变，暴露病毒的细胞受体结合位点而与上皮细胞受体结合，病毒被内吞入胞。

（2）脱壳 病毒在内体（endosome）完成脱壳，在L2蛋白协助下，基因组从内体中释放。

（3）生物合成 ①早期区蛋白表达及基因组复制：病毒基因组入核后，首先表达早期蛋白E1及E2，二者形成的复合物可启动病毒基因组的复制。随后，表达病毒E5、E6及E7转化蛋白，其中E5蛋白可促进生长因子受体再循环，促使基细胞的上层细胞增殖；E6和E7为多功能蛋白，可分别降解p53和Rb蛋白、破坏细胞周期调控等，同时作为病毒的转化蛋白协同促进感染细胞的增殖。②晚期蛋白表达：大量表达衣壳蛋白L1及L2。

（4）组装与释放 L1及L2包装病毒基因组形成子代病毒；E4蛋白可诱导骨架蛋白降解，促进病毒的释放。

3.10.2.5. 人乳头瘤病毒体外培养

HPV在迄今难以在体外常规的组织细胞中培养，也缺乏动物模型。

3.10.2.6. 人乳头瘤病毒抵抗力

不耐热，高于50℃30分钟即可灭活HPV。HPV对脂溶剂、酸和X射线有一定抵抗力。

3.10.3. 人乳头瘤病毒致病性和免疫性

3.10.3.1. 人乳头瘤病毒流行环节

（1）传染源：HPV感染的病人和潜伏感染者。

（2）传播途径：HPV的自体或异体传播常伴有上皮组织的微小创伤。

1）直接接触：包括自体和异体的直接接触传播。前者是因为自身接种而传播至自体的其他部位；后者是异体见的直接接触传播，如性传播。

2）间接接触：通过接触带有病毒的污染物（如浴盆、便器等）传播。

3）垂直传播：母亲感染的HPV分娩时经过产道或通过产后的密切接触导致婴儿感染。

4）医源性传播：通过诊疗造成HPV的自体或异体传播。

（3）易感人群：人群对HPV普遍易感。

3.10.3.2. 人乳头瘤病毒所致疾病

（1）低危型HPV感染：主要引起皮肤疣、外生殖器的尖锐湿疣、口腔黏膜表面的疣状损害及复发性呼吸道乳头状瘤等。皮肤疣包括寻常疣、扁平疣、跖疣、和丝状疣等。寻常疣主要为手、足局部角化层细胞感染，多见于青少年，主要由HPV1、2、3和4型引起。扁平疣多见于儿童面、手背与前臂等处，主要由HPV3型和10型引起。跖疣多发生于足底和足趾等处，主要由HPV1、和4型引起。尖锐湿疣主要由HPV6和11型感染引起的生殖器疣，主要经性接触传播，女性感染部位主要是阴道、阴唇和子宫颈，男性多见于外生殖器和肛周。

（2）高危型HPV感染：可引起皮肤肿瘤和黏膜肿瘤。皮肤肿瘤包括基底细胞癌、鳞状细胞癌等上皮肿瘤。黏膜肿瘤包括宫颈癌、阴茎癌、阴唇/阴道癌、肛门肛管癌、扁桃体癌、口腔癌、喉癌、鼻腔内癌和食管癌等。宫颈癌为妇科高发的恶性浸润肿瘤，致癌型HPV的检出率约达100%，其中HPV-16及-18是全球范围内的优势高危型，在宫颈癌组织中的检出率分别达50%～60%及18.6%，其次是31、33、35、39、45、51、52、56、58型。其中HPV-52及-58型在我国宫颈癌中的检出率明显高于全球其他地区。HPV-16也是口咽部、泌尿生殖道，以及肛周感染相关肿瘤的优势高危型。

3.10.3.3. 人乳头瘤病毒致病机制

HPV E6、E7 基因表达增加；分别与抑癌基因p53和pRB产物结合，促使P53和PRB蛋白降解，阻断对细胞周期的负调控作用，使细胞向恶性转化。

3.10.3.4. 人乳头瘤病毒免疫性

目前HPV感染的免疫机制尚不清楚。皮肤疣可自行消退；乳头状瘤退化后，组织周围有大量的单核细胞和淋巴细胞浸润；HPV蛋白存在特异性T、B淋巴细胞表位，可激发机体的免疫应答。表明HPV感染后可刺激机体产生体液免疫和细胞免疫应答。HPV病变自发消退患者常见T淋巴细胞浸润；因此细胞免疫在清除HPV感染相关病变中可能起主要作用。

3.10.4. 人乳头瘤病毒病毒学检查

3.10.4.1. 人乳头瘤病毒基因检查

PCR是目前检出HPV感染最敏感的方法。还可用定量PCR及二代杂交捕获法（hybrid capture II，HC II）等。基因检测法既可对HPV感染进行确诊，又能对其进行分型。

3.10.4.2. 人乳头瘤病毒细胞学检查

细胞学或组织病理学检查，可见空泡化细胞，是诊断HPV 感染的重要依据

3.10.4.3 人乳头瘤病毒的免疫学检查

采用重组表达的HPV抗原或VLP，检测血清中的HPV抗体。主要用于流行病学调查。

3.10.5. 人乳头瘤病毒防治原则

3.10.5.1. 人乳头瘤病毒预防策略

（1）健康教育，减少或避免高危性接触（如使用安全套、避免不洁性行为）。

（2）开展宫颈癌筛查。

（3）接种HPV疫苗。目前上市的HPV疫苗均为L1 VLP多价疫苗，包括HPV-16/18二价疫苗、HPV-16/18/6/11四价疫苗及HPV-16/18/6/11/31/33/45/52/58九价疫苗。尽早接种任意一种HPV疫苗均会显著获益，特别是低龄（9~14岁）接种获益更佳。

3.10.5.2. 人乳头瘤病毒治疗原则

（1）皮肤疣及尖锐湿疣的治疗：可以采用局部用药和物理治疗（激光、冷冻、电灼、或手术切除等）。

（2）宫颈癌等恶性肿瘤：遵循相应恶性肿瘤的治疗措施。

**3.11.痘病毒**

**3.11.1.痘病毒概述**

在DNA病毒中，痘病毒科（*Poxviridae*）成员的体积最大、结构复杂程度最高。其中正痘病毒属（Orthopoxvirus）包括天花病毒（variola virus，又称smallpox virus）、牛痘病毒（cowpox virus）、痘苗病毒（vaccinia virus）和猴痘病毒（monkeypox virus，MPXV）。天花病毒只感染人，曾引起数次大流行，是对人类健康威胁最严重的痘病毒。早在公元10世纪就有中国使用人痘接种术预防天花的记录。牛痘病毒及痘苗病毒疫苗在19世纪出现，因具有更高安全性被推广用于天花预防。1980年，世界卫生组织宣布天花已在全世界范围内彻底根除。牛痘病毒和猴痘病毒可自然感染人和其他动物。属于Molluscipoxvirus属的传染性软疣病毒（molluscum contagiosum virus）是目前仅以人为唯一宿主的痘病毒。

天花被根除后，天花疫苗接种也随之停止。目前，最可能威胁人类健康的正痘病毒是猴痘病毒。猴痘病毒与天花病毒同属，首次于1958年从丹麦实验室的食蟹猴皮肤疱疹中被分离，并因此得名。首例人感染猴痘病例出现在1970年，随后主要流行于西非或中非地区。2022年5月开始，人感染猴痘病例不断在猴痘病毒非流行地区（如欧洲、北美等）以及猴痘病毒流行地区出现。WHO于同年7月23日宣布猴痘疫情构成“国际关注的突发公共卫生事件”。2022年11月，WHO建议将“猴痘”的英文名由“monkeypox”修改为“mpox”。

**3.11.2.痘病毒生物学性状**

（1）**形态结构** ①大小约（300~400）nm×230 nm，在光学显微镜下勉强可见，呈卵圆形或砖形。②基因组为线性dsDNA，呈哑铃状，被一层内膜包绕。③两个功能未知的侧体（lateral bodies，LB）存在于内膜与病毒包膜之间。④痘病毒复制在宿主细胞的细胞质中进行，这是与其他DNA病毒的不同之处。

（2）**抗原分型** 脊椎动物痘病毒的核蛋白抗原是相同的，血清学交叉反应存在于同属病毒之间，不同属病毒之间反应有限。因此，免疫接种痘苗病毒无法预防其他属病毒的感染。基因组DNA限制性内切酶酶切分析和序列比对是鉴别痘病毒最准确的方法。

（3）**培养特性** 人羊膜传代细胞、HeLa、Vero等细胞是痘病毒的亲嗜细胞。痘病毒在细胞中感染增殖，可引起明显的细胞病变。接种鸡胚绒毛尿囊膜形成痘斑是痘病毒与巨细胞病毒区别的主要特征，可用于鉴别。

（4）**抵抗力** 痘病毒对干燥和低温不敏感，在土壤、痂皮和衣被可存活数月到1年半，在低温下甚至可存活数年。痘病毒不耐受热、消毒剂和紫外线。

**3.11.3.痘病毒致病性与免疫性**

**直接接触或呼吸道传播是痘病毒的主要传播方式。痘病毒感染以皮肤痘疱样皮疹为特征性临床表现**，全身感染少见。

（1）天花病毒 传播方式为接触和飞沫传播，感染导致的烈性传染病天花曾危害人类数千年，临床表现为高热和离心性皮疹，逐步发展为斑丘疹或脓疱疹，最终形成脓疱结痂并脱落，留下明显的凹陷性瘢痕。对于未接种免疫的人群，天花病毒感染会引起重型天花，30%患者在15~20天内死亡。

（2）传染性软疣病毒 主要经直接接触传播，也可经性接触传播。感染仅限于人表皮组织，除掌跖外可发生在任何接触部位，感染局部表皮细胞增生形成软疣结节是其典型特征，儿童和青年多发。目前尚无有效的预防与治疗方法。

（3）牛痘病毒 牛感染会导致一种良性疾病牛痘，仅侵犯母牛乳房。挤乳工人接触带毒动物可能发生感染，多表现为轻度皮肤痘疱，通常不引起严重的全身感染。牛痘病毒与天花病毒有交叉免疫反应，被用作预防天花的疫苗。

（4）猴痘病毒 可感染多种哺乳动物，非洲啮齿类动物是其主要宿主。猴痘病毒感染人主要通过如下途径：①密切接触感染动物：与感染动物或其血液、体液、皮损和黏膜直接或间接接触；②人际间传播：通过呼吸道飞沫和污染的物品接触传播；性接触传播。

感染猴痘病毒导致的猴痘，具有与天花相似的临床表现，但症状较轻，为自限性疾病。感染后病毒潜伏约5~21天，前驱症状表现为发热、寒战、头痛、肌痛、疲劳等，大部分患者会有明显的浅表淋巴结肿大。1~3天后出现皮疹，由面部扩散至四肢，大部分持续2~4周，通常预后良好。对于儿童与免疫功能低下人群如HIV感染者，则易引起严重症状。目前，猴痘病毒感染尚无特异性治疗方法，对症支持治疗是主要策略。由于天花疫苗与猴痘病毒有交叉免疫反应，故天花疫苗接种可一定程度上免疫保护猴痘，减轻病症。

3.12．细小病毒

**3.12.1．细小病毒概述**

细小病毒科（*Parvoviridae*）病毒是目前已知的最小的DNA病毒，直径约18~26nm。无包膜，核心为单链DNA（ssDNA），基因组全长约5.5~5.6 kb。由于基因组的编码能力有限，病毒的复制依赖于宿主或辅助病毒。该科包含3个亚科：细小病毒亚科（*Parvovirinae*）、浓核病毒亚科（*Densovirinae*）和哈马细小病毒亚科（*Hamaparvovirinae*），其中细小病毒亚科分为8个属：红病毒属（*Erythroparvovirus*）、依赖病毒属（*Dependoparvovirus*）、原细小病毒属（*Protoparvovirus*）、博卡病毒属（*Bocaparvovirus*）、*Amdoparvovirus、Aveparvovirus、Copiparvovirus和Tetraparvovirus*。腺相关病毒（adenoassociated virus，AAV)是人类发现的第一个细小病毒，属于依赖病毒属，对人无致病性。目前已知能够感染并引起人类疾病的细小病毒主要是两种，即红病毒属的细小病毒B19和博卡病毒属的人博卡病毒。

3.12.2. 细小病毒B19

3.12.2.1.细小病毒B19概述

细小病毒B19（parvovirus B19，PVB 19）由澳大利亚学者Cossart等人于1974年在乙肝病毒表面抗原的筛查研究中首次发现，1985年国际病毒分类委员会将其归为细小病毒科，并命名为细小病毒B19。 PVB 19主要感染人，与人类的传染性红斑、镰状细胞贫血病、一过性再生障碍危象、以及先天感染造成的自发性流产等有关。该病毒感染孕妇后，可以通过胎盘感染胎儿，杀伤红细胞前体细胞，并引起胎儿严重贫血、流产或死亡。在免疫缺陷患者、器官移植受者、接受化疗的肿瘤病人中可呈慢性、持续性病毒感染。

3.12.2.2. 细小病毒B19的形态与结构

PVB 19病毒颗粒呈园形，直径约为25nm。衣壳为二十面体立体对称结构，无包膜，核心为线状ssDNA。具有感染性的PVB19病毒粒子的分子质量约为5.6×103kDa，完整病毒粒子在氯化铯密度梯度中的浮力密度约为1.419 g/cm3。

3.12.2.3. 细小病毒B19的基因组及编码蛋白

PVB19病毒基因组为单链DNA，全长约5.6kb，两端具有完全相同的末端重复序列（inverted terminal repeats，ITRs）。ITR全长401bp，其不完整回文序列折叠形成发夹结构（hairpin like structure）。基因组中间为编码区，存在3个几乎覆盖全长基因组的开放阅读框（ORF），其中第1个ORF编码7.5 kDa的非结构蛋白、次要结构蛋白VP1和主要结构蛋白VP2；第2个ORF主要编码11 kDa的非结构蛋白；第3个ORF主要编码非结构蛋白NS1。

NS1、VP1、VP2和11 kDa蛋白是病毒复制所必需的，7.5 kDa蛋白为非必需蛋白。NS1是一种多功能蛋白，通过与P6启动子和细胞转录因子直接结合发挥转录激活作用，并且具有解旋酶和内切酶的活性，从而参与病毒复制、基因转录调控、诱导细胞凋亡等，是PVB19病毒复制所必需的非结构蛋白。11 kDa非结构蛋白参与细胞信号转导、诱导细胞凋亡等。VP1 和 VP2 属于重叠基因，其羧基端完全一样。VP1氨基端具有227个氨基酸组成的保守 基序，称为VP1独特区（VP1 unique，VPlu）。VP1和VP2衣壳蛋白共同组成病毒的衣壳，其中VP2是主要结构蛋白，占衣壳蛋白组成的96%。

3.12.2.4.细小病毒B19的分型与变异

基于病毒基因组 NS1-VP1u 区域约 858 bp的序列进化树分析，PVB19 被分为 基因1型、2型和3型。其中基因 1 型包含绝大部分发现的病毒株，如 Au、J35；基因 2 型主要代表病毒株为 LaLi、A6 等；基因 3 型主要代表病毒株为 D91.1 和 V9。进一步将基因1型分为 1a 和 1b 型，3 型分为 3a和 3b。不同基因型病毒蛋白同源性在 96%–97%之间。

3.12.2.5. 细小病毒B19的复制周期

细小病毒B19对人红细胞具有高度亲嗜性，主要侵犯骨髓和胎儿肝脏中红细胞系前体细胞（erythroid progenitor cells，EPCs）。病毒主要受体为红细胞糖苷脂（[globoside](javascript:;)），又称 P抗原（P antigen）。P抗原表达于红细胞系前体细胞、成熟红细胞、内皮细胞、胎盘以及胎儿肝脏等。PVB19感染还需要辅助受体，目前认为整合素α5β1是潜在的辅助受体。病毒主要在骨髓、血细胞和胎儿肝脏等部位增殖。其增殖过程如下：首先病毒通过衣壳蛋白与宿主细胞受体P抗原结合而吸附，VP1发生构象改变，暴露VP1u。VP1u与辅助受体结合，使病毒被内吞并以某种方式逃离溶酶体途径进入细胞核。在细胞核内，病毒颗粒脱去衣壳，释放基因组ssDNA，在细胞DNA聚合酶作用下，基因组以滚环形式进行复制，产生复制形式的dsDNA。这种复制形式的dsDNA转录出一个前体mRNA，然后前体mRNA经过剪切加工产生各种病毒mRNA并输出到细胞质，翻译出病毒蛋白，结构蛋白VP1和VP2组装成三聚体形成衣壳。衣壳被运输回细胞核，通过链位移（strand displacement）将ssDNA包装进衣壳内，组装成成熟的病毒颗粒，通过细胞裂解释放出来。

3.12.2.6.细小病毒B19的培养与细胞模型

PVB19或其感染性克隆可在CD36+ EPCs中复制增殖。低氧条件（1%O2）显著增加PVB19对CD36+ EPCs的感染性。巨核母细胞系细胞MB-02、UT7/Epo和UT7/Epo-S1、红系白血病细胞系JK-1和KU812Ep6均是PVB19允许细胞。

3.12.2.7.细小病毒B19对外界因素的抵抗力

PVB19对外界理化因素的抵抗力较强，在pH3-9之间可稳定存活。耐热，于56℃加热60分钟仍可存活。对福尔马林、β-丙内酯和氧化剂敏感。

3.12.2.8. 细小病毒B19的流行病学

初次感染多发生于儿童时期，主要通过呼吸道和密切接触传播，也可通过血制品、输血或造血干细胞移植传播。2～7岁儿童携带者是PVB19的主要传染源。人群对PVB19普遍易感，感染率达60～70%以上，以冬春季常见。

3.12.2.9. 细小病毒B19的致病性和免疫性

孕妇感染后可通过胎盘传给胎儿，母婴垂直传播率为25～33%，导致严重贫血及流产、死胎。免疫系统功能正常人群，感染PVB19后常无明显症状，部分急性感染者可出现流涕、咽炎、肌痛等流感样症状。儿童感染PVB19后，可出现传染性红斑（erythema infectiosum），最常见于4~12岁儿童，典型特征为面颊部的水肿性蝶形红斑，四肢皮肤也可出现边界清楚的对称性花边状或网状斑丘疹。成人感染后可引发多发性关节炎或关节痛，也可出现心肌炎、肾小球肾炎等；若发生于慢性溶血性贫血患者，可因红系前体细胞大量破坏和网状细胞减少而促发严重的再生障碍性贫血危象。在免疫系统功能低下患者，特别是细胞免疫功能紊乱患者或HIV感染者、白血病患者或者移植受者，PVB19可呈持续性感染，患者可出现持续性贫血或纯红细胞再生障碍（pure red cell aplasia）。病毒感染的致病机制不完全清楚，可能与病毒直接损害红细胞系前体细胞有关。PVB19感染诱导DNA损伤反应（DNA damage response，DDR)和细胞周期阻滞在s期晚期，这是促进病毒复制的两个关键因素。病毒感染也可使细胞周期阻滞在G2期，引起广泛的红细胞系前体细胞死亡，从而导致贫血。

PVB19感染可引起强烈的体液免疫应答。IgM抗体在感染后8~12天产生，并持续存在3~6个月，是清除病毒血症的主要抗体。 IgG抗体在IgM后几天产生，并可持续数年甚至终生。IgA抗体也被检测到，起黏膜免疫作用。PVB19感染诱导的特异性细胞免疫应答，包括 CD4+T 细胞反应和CD8+ T细胞反应，在控制急性B19V感染中发挥重要作用。在急性感染患者中亦可检测到Th1型细胞因子IL-2、IL-12和IL-15等，与持续的CD8+ T细胞应答相关。

3.12.2.10. 细小病毒B19的病原学检查

常用的方法包括血清学和分子生物学检测。血清学检测以ELISA法检测 IgG和IgM抗体运用最广泛。 PCR技术是检测PVB19 病毒核酸的敏感方法，包括普通 PCR 法、巢式PCR法和荧光定量 PCR法，其中后两者是目前最常用的 PVB19 病毒核酸检测方法，常应用于病毒分型检测以及血液中PVB19的大规模筛查。原位杂交的敏感性与特异性较高，可精确定位病毒在细胞中的感染部位，但是由于实验步骤较难，限制了其临床应用。

3.12.2.11. 细小病毒B19的预防原则

PVB19疫苗仍处于研制阶段。重组的衣壳蛋白能在杆状病毒系统表达，用重组的衣壳蛋白接种实验动物，能产生中和抗体，因此重组病毒疫苗研制具有良好前景。

3.12.2.12. 细小病毒B19的治疗原则

对PVB19持续感染患者，应采用抗病毒药物治疗。静脉注射含有PVB19特异性抗体的免疫球蛋白(intravenous immunoglobulin，IVIG)被认为是目前唯一有效的治疗途径，但对于免疫系统受损的患者来说效果十分有限。

3.12.3.人博卡病毒

3.12.3.1.人博卡病毒概述

人博卡病毒(Human bocavirus，HBoV)是继细小病毒 B19之后新发现的又一个对人类致病的细小病毒科成员，由瑞典学者Allander于2005年首次从儿童呼吸道感染标本中分离出来，之后相继在类便、血清等标本中被检出, 并在世界范围内广泛流行。HBoV可引起婴幼儿急性呼吸道感染，同时与儿童急性腹泻存在一定相关性。

3.12.3.2.人博卡病毒的形态与结构

HBoV病毒颗粒呈园形，直径约20~25nm, 衣壳二十面体立体对称。无包膜，核心为线状ssDNA。

3.12.3.3.人博卡病毒的基因组及编码蛋白

HBoV的基因组为线状ssDNA，全长约5.5kb。基因组两端含有末端重复序列（ITRs），其中的回纹序列形成复杂的发夹结构。5＇端发夹结构称为LEH（left-end hairpin）, 3＇端发夹结构称为 REH（right-end hairpin）；基因组5＇端有启动子P5。HBoV基因组包含３个ORF：5＇端ORF编码非结构蛋白NS1、NS2、NS3、NS4。3＇端ORF编码结构蛋白VP1、VP2和VP3，组成病毒的衣壳。VP1、VP2和VP3衣壳蛋白基因是一个典型的重叠基因，共用3＇端序列，所编码蛋白具有共同的羧基端；VP1基因5＇端的独有区序列称为VP1独特区（VP1u）。HBoV基因组中间还有一个较小的ORF，编码一种独特的蛋白NP1。NP1是一种高度保守的非结构蛋白，定位于细胞核，在病毒DNA复制和mRNA加工中起关键作用。

3.12.3.4.人博卡病毒的分型与变异

HBoV已确定有四种基因型： HBoV1、HBoV2、HBoV3 和 HBoV4。其中HBoV2 进一步分为2a和2b两个亚型。HBoV1主要在急性呼吸道感染儿童中检测到，而HBoV2、HBoV3 和 HBoV4主要在腹泻患儿粪便标本中检出。

3.12.3.5.人博卡病毒的复制周期

HboV的复制机制尚不完全明确。HBoV通过基因组5＇端启动子P5进行转录，经过 RNA剪接及加工形成不同的成熟mRNA，继而进行病毒蛋白的表达。NS1最早被转录、翻译，经证实其在病毒复制过程中起到超激活的作用。VP1有磷脂酶A2样活性，对病毒感染人体起着重要作用，能帮助病毒从细胞质进入细胞核内进行基因复制与转录。

3.12.3.6.人博卡病毒的体外培养与细胞模型

HBoV1只感染分化良好或极化的原代人气道上皮细胞。成功极化的永生化人气道上皮细胞CuFi-8细胞系培养物，支持HBoV1感染。

3.12.3.7.人博卡病毒对外界因素的抵抗力

HBoV对外界理化因素的抵抗力与其他细小病毒类似，比较强。

3.12.3.8.人博卡病毒的流行病学

HBoV的传播和感染在世界各地均有发现，所有年龄段均有报导，但主要分布在6个月~2岁婴幼儿中，在患有呼吸道疾病的住院儿童中检出率最高，以HBoV1 基因型为主。HBoV感染没有明显的季节性分布。

3.12.3.9.人博卡病毒的致病性和免疫性

HBoV可单独感染或与其他呼吸道病毒如呼吸道合胞病毒、鼻病毒等混合感染，导致鼻炎、咽喉炎、毛细支气管炎、肺炎和哮喘恶化等呼吸道疾病。临床表现与其他呼吸道病毒感染症状类似，以发热、咳嗽、流涕、喘息为首发症状，重症感染时出现呼吸困难。其致病机制尚不明确，可能是病毒本身的致病作用所致, 也可能是免疫病理作用引起。HBoV1可以在培养的人类气道上皮细胞中复制, 引起气道上皮损伤，致使纤毛丧失，紧密连接屏障破裂。HBoV1感染引起的气道损伤亦可能与其诱导的细胞因子表达有关，HBoV1感染者支气管肺泡灌洗液中，表皮生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、CCL-17、TNF-α、TNF-β和TIMP-1表达上调。HBoV还会导致病毒血症, 在活跃的复制过程中，可在感染者的血清中检测到该病毒。

3.12.3.10.人博卡病毒的病原学检查

从呼吸道感染患儿的分泌物、支气管肺泡灌洗液、粪便、血清和尿液标本中采用PCR 技术检测病毒基因组片段。NP1和NS1比VP1、VP2 更保守，常作为基于PCR扩增反应的病毒检测的靶标。免疫荧光、ELISA和蛋白质印迹等免疫学方法可用于检测血清样本中的 HBoV抗体。使用重组VP2 或 VLP 衣壳蛋白采用ELISA法检测 IgG和IgM抗体，具有很高的诊断特异性, 是可靠的定性和定量检测方法。

3.12.3.11.人博卡病毒的防治原则

目前, 尚无针对HBoV感染的疫苗。

3.12.3.12.人博卡病毒的治疗原则

治疗主要以抗病毒、对症治疗及预防并发症为主。

**4.朊粒**

朊粒（prion）是一种不含核酸的蛋白质感染因子，由细胞中的正常朊蛋白经过构象改变转化而成，具有传染性和复制能力，是传染性海绵状脑病（transmissible spongiform encephalopathy，TSE）即朊粒病（prion disease）的病原体。美国学者D.C. Gajdusek首次发现库鲁病是由一种“非常规病毒”引起，并因此获得1976年诺贝尔生理学或医学奖。美国学者S.B. Prusiner首次提出朊粒的概念，证明朊粒是羊瘙痒病的病因，并因此获得1997年诺贝尔生理学或医学奖。

**4.1. 朊粒生物学性状**

**4.1.1．朊粒组成和结构**

朊粒的本质是构象异常的朊蛋白（prion protein，PrP）。编码PrP的基因*PRNP*广泛存在于人类和多种哺乳动物的染色体中，人类*PRNP*基因位于第20号染色体的短臂上，含2个外显子和1个内含子，开放读码框位于第2号外显子。人类PrP是一种含有253个氨基酸的糖基化膜蛋白，包含N-末端信号肽序列、五个八肽重复序列区、疏水中间区和C-末端糖基化磷脂酰肌醇锚定区。朊蛋白在核糖体合成后被转运到粗面内质网和高尔基体进行翻译后加工，所产生的成熟蛋白质被转运至细胞膜并通过糖基化磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上。正常的朊蛋白称为细胞朊蛋白（cellular prion protein，PrPC），无致病性和传染性，在多种器官和组织中表达，在中枢和外周神经系统中高表达，其生理功能尚不完全清楚，可能与神经发育、突触可塑性和髓鞘维持等过程有关。PrPC的分子构象以α-螺旋为主，可被蛋白酶K彻底水解，也可溶于去污剂。

在特定条件下，PrP发生错误折叠，导致构象改变，形成致病性同源异构体（即朊粒），如引起羊瘙痒病的PrP异构体称为羊瘙痒病朊蛋白（scrapie prion protein，PrPSc），后来PrPSc也被用来普遍表示异常折叠的朊蛋白。朊蛋白错误折叠的诱因包括外源性朊粒的侵入，*PRNP*基因的突变，以及PrP的自发性异常折叠。虽然来源于PrPC，但PrPSc的性质与前者相差较大（表1）。PrPSc分子构象以β-折叠为主。蛋白酶K处理后，PrPSc不能被彻底水解，而是产生抗性多肽片段。PrPSc一般以不溶性聚集物的形式存在，在电子显微镜下呈纤维（fibril）状（直径10~20nm，长度可达数微米），在某些人和动物的病脑组织中形成淀粉状物质，故朊粒聚集物被称为淀粉样纤维（amyloid fibril）。冷冻电镜图片显示，朊粒淀粉样纤维由PrPSc单体层层堆积而成，每个PrPSc分子组成纤维的一层（即横断面），层与层之间有小角度错位，导致形成的淀粉样纤维一般呈螺旋形扭曲。

**表1 PrPC与PrPSc的主要区别**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 性状 | PrPC | PrPSc |
| 主要存在形式 | 单体 | 多聚体 |
| 分子构象 | α-螺旋为主 | β-折叠为主 |
| 对蛋白酶K的作用 | 敏感 | 抗性 |
| 在去污剂中的溶解性 | 可溶 | 不可溶 |
| 致病性与传染性 | 无 | 有 |

**4.1.2. 朊粒复制机制**

PrPSc复制的具体机制尚不清楚，主要有两种理论假说：①模板模型：认为正常状态下PrPC很难转变成PrPSc，但PrPSc一旦形成，可与PrPC形成异源二聚体，并以自身为模板诱导PrPC转化成PrPSc，形成PrPSc同源二聚体。该二聚体又可解离，所产生的PrPSc单体可作为模板再与PrPC结合，产生更多的PrPSc分子。②核聚集模型：认为单体形式的PrPSc很难转化PrPC，但适宜的条件可促使PrPSc单体聚集形成寡聚物充当“种子”，外源PrPSc也可充当种子，种子一旦形成便非常稳定，很难转变回PrPC，又可招募更多的PrPC分子使之转变成PrPSc，逐渐形成更大的聚合物。这些聚合物碎裂后又变成新的“种子”重复上述聚集过程。

**4.1.3. 朊粒抵抗力**

朊粒对理化因素具有较强的抵抗力，对尿素、甲醛、乙醇、加热、紫外线、电离辐射等均有抗性，但对氢氧化钠、次氯酸钠和一些强酸性去污剂有一定的敏感性。压力蒸汽灭菌处理1小时有灭活效果。

**4.1.4. 朊粒培养特性**

朊粒可在某些来源于神经组织的细胞系中复制，这些细胞系被用来作为研究朊粒感染的细胞模型，最常用的是小鼠神经母细胞瘤Neuro-2a细胞系。朊粒也可在小鼠、大鼠和仓鼠等动物体内复制并引起病变，这些动物可作为朊粒感染的实验动物模型。

**4.2. 朊粒致病性**

**4.2.1．朊粒病的共同特征**

朊粒感染中枢神经系统后，在神经元内或细胞间形成不溶性聚集物，破坏神经组织的正常结构，并进行性加剧脑组织功能损伤。所引起的疾病统称为传染性海绵状脑病，即朊粒病，是慢发性、进行性、致死性的神经退化性疾病，其共同特征包括：①潜伏期长，可达数年甚至数十年；②一旦发病，病情呈亚急性、进行性发展，直至死亡；③临床表现以痴呆、共济失调、震颤等中枢神经系统症状为主；④病理学特征包括脑组织中的海绵状空泡样病变、神经元缺失、淀粉样斑块和星形胶质细胞增生等。

因为朊粒由机体自身蛋白质转化而成，其免疫原性弱，不能诱导机体产生特异性免疫应答。

**4.2.2. 主要的人类朊粒病**

根据临床表现，人类朊粒病主要分为五种（表1）。根据发病原因，人类朊粒病又可分为散发性（sporadic）、家族性（familial，也称遗传性，inherited）和获得性（acquired）朊粒病。其中最常见的是散发性朊粒病，其诱因不明，可能与朊蛋白自发性异常折叠有关，主要表现为散发性克-雅病。家族性朊粒病患者体内*PRNP*基因有突变，导致朊蛋白结构失稳从而变构，包括家族性克-雅病、格斯特曼综合征和致死性家族性失眠症。获得性朊粒病由外源性朊粒感染所致，如医源性克-雅病、变异型克-雅病和库鲁病。我国朊粒病以散发性克-雅病为主，也有少数家族性朊粒病，极少见获得性朊粒病。

**表1主要的人类朊粒病**

|  |  |
| --- | --- |
| 疾病名称 | 所属类型 |
| 克-雅病（Creutzfeld-Jakob disease，CJD） | 散发性、家族性和获得性 |
| 变异型克-雅病 （variant CJD，vCJD） | 获得性 |
| 库鲁病（Kuru disease） | 获得性 |
| 格斯特曼综合征（Grestmann-Straussler syndrome，GSS） | 家族性 |
| 致死性家族性失眠症（fatal familial insomnia，FFI） | 家族性 |

**（1）克-雅病（CJD）**：是最常见的人类朊粒病，呈全球性分布，发病率每年1~2/100万，平均发病年龄为68岁。典型的临床表现为迅速进展的痴呆、肌阵挛、共济失调、非自主运动、失明和昏迷等，症状出现后平均生存时间为4~5个月。CJD又分为散发性、家族性和医源性三种：①散发性CJD约占CJD总病例数的85%，病因不明；②家族性CJD约占CJD病例数的5%~15%，与*PRNP*基因突变有关，常见的是第178位密码子天冬氨酸向天冬酰胺的突变（D178N）、第188位苏氨酸向赖氨酸的突变（T88K）和第200位谷氨酸向赖氨酸的突变（E200K）等；③医源性CJD由朊粒污染临床诊疗过程所致，可通过神经外科手术、脑膜移植、角膜移植、输血、使用人尸体脑垂体提取的生长激素和促性腺激素等方式传播。

**（2）变异型克-雅病（vCJD）**：1996年由英国CJD监测中心首次报道，病人主要集中在英国等牛海绵状脑病高发区，我国尚未发现此病。vCJD主要由人类进食感染了牛海绵状脑病的病牛肉引起。人对该病的易感性也与遗传因素有关，*PRNP*基因第129位密码子的甲硫氨酸（M）纯合子是该病的危险因素，而该位点为M-V杂合子的人群不易感染该病。vCJD平均发病年龄为26岁，病程早期的临床表现有精神症状、行为改变和痛感等，晚期主要表现为运动失调、痴呆和不自主运动，症状出现后平均生存时间为13个月。

**（3）格斯特曼综合征（GSS）**：是一种罕见的家族性朊粒病，发病年龄在24~66岁之间，病因主要是*PRNP*基因第102位密码子脯氨酸向亮氨酸（P102L）的突变，也包括第117位密码子丙氨酸向缬氨酸（A117V）的突变和198位密码子苯丙氨酸向丝氨酸（F198S）的突变。临床表现为构音障碍、脊髓小脑性共济失调和痴呆等。病程相对缓慢，症状出现后平均生存时间为5年。

**（4）致死性家族性失眠症（FFI）**：是另一种罕见的家族性朊粒病。病人家族在*PRNP*基因第178位密码子有D178N突变，且该突变总是伴随着第129位密码子的M纯合子。临床表现主要是进行性加重的失眠，以及多种其他神经性症状，晚期出现痴呆。症状出现后平均生存时间为18个月。

**（5）库鲁病：**曾见于大洋洲巴布亚新几内亚的Fore部落土著人。二十世纪五十年代Gajdusek等学者发现库鲁病的传播与该部落一种原始的食尸宗教仪式有关。随着该习俗的禁止，库鲁病病例逐渐减少，当前已无库鲁病流行。库鲁病平均潜伏期为14年，临床表现包括震颤（Fore部落语言中kuru是震颤的意思）、共济失调、吞咽困难等。症状出现后平均生存时间为12个月。

**4.2.3. 主要的动物朊粒病**

常见的动物朊粒病包括羊瘙痒病（scrapie）、牛海绵状脑病（bovine spongiform encephalopathy，BSE）和鹿慢性消耗病（chronic wasting disease，CWD）。

**（1）羊瘙痒病**：是最先发现的动物朊粒病，发生于绵羊和山羊，病羊因瘙痒常在围栏上摩擦身体以致脱毛，因而得名。其他临床特征包括消瘦、厌食、麻痹、步态不稳、痉挛等，潜伏期1~3年。主要通过接触土壤中病羊排泄的朊粒传播，也可由母羊通过胎盘传给羔羊，但尚未有该病能直接传染给人类的报道。

**（2）牛海绵状脑病（BSE）**：俗称疯牛病（mad cow disease）。1986年在英国首次发现，此后迅速蔓延，在欧洲一度广为流行，美国、加拿大、日本等国也有报道，我国尚未发现此病。潜伏期4~5年，临床表现为运动失调、震颤、感觉过敏、恐惧、狂躁等，症状出现后几周至几个月内死亡。研究表明，病牛可能因食用了被羊瘙痒病致病因子污染的动物肉骨饲料而获得此病。如上所述，BSE也可跨物种传播给人类，引起vCJD。1988年英国政府立法禁止用反刍动物来源的饲料喂牛，并屠杀病牛，因而显著降低了BSE和vCJD的发病率。

**4.3. 朊粒微生物学检查法**

朊粒病可根据临床表现、脑组织神经病理学检查和分子生物学检查的结果**综合诊断**。病理学检查的主要方法是脑核磁共振成像和脑电图。分子生物学检查方法包括生物标志物和PrPSc的检测及遗传学分析。

**（1）生物标志物的检测** 朊粒病伴随着神经损伤标志物水平的升高，在朊粒病诊断中常用的标志物是14-3-3蛋白。用ELISA或Western blot方法检测脑脊液样品中的14-3-3蛋白，是诊断朊粒病的重要辅助手段。但一些其他神经系统疾病也会导致14-3-3水平升高，因此14-3-3阳性不能作为确诊朊粒病的唯一标准。

**（2）PrPSc蛋白的检测** 样本中检测到PrPSc是确诊朊粒病的最可靠标准，传统的免疫组化和免疫印迹法灵敏度较低，蛋白质聚集技术的发展大大提高了灵敏度，已广泛应用于微量PrPSc的检测。

**1）实时振荡诱变试验（real-time quaking-induced conversion assay，RT-QuIC）**：将待测脑脊液样本与重组PrPC和硫磺素T混合，经过多轮振荡与静置，脑脊液中的PrPSc促使重组PrPC转变成PrPSc并获得扩增和聚集，硫磺素T与纤维聚集物特异性结合并发出荧光，该荧光可被实时定量。该方法因其较高的灵敏度和特异性已成为诊断朊粒病的主要方法。

**2）蛋白质错误折叠循环扩增（protein misfolding cyclic amplification，PMCA）**：与RT-QuIC原理相似，但步骤有所不同。将待测脑组织或脑脊液样本与正常人脑组织匀浆液混合，并进行多轮超声与静置。若样本中存在微量的PrPSc，它将促使混合液中的PrPC转变成PrPSc并得到扩增，产物可用下述免疫印迹法检测出来。

**3）免疫组化（IHC）**：将脑组织病理切片用福尔马林固定及石蜡包埋后，先用高温和甲酸处理破坏PrPC，然后用PrP抗体染色和显微镜观察。

**4）免疫印迹（Western blot）**：将脑组织匀浆后先用蛋白酶K处理水解掉PrPC，再用PrP抗体和免疫印迹法检测，如果样品中存在PrPSc，会出现具有蛋白酶抗性的蛋白条带。

**（3）遗传学分析**从疑似病人组织中提取DNA，对*PRNP*基因进行PCR扩增和测序，以确定*PRNP*基因是否有突变，是确诊家族性朊粒病的重要依据。

**4.4．朊粒病的防治原则**

目前尚无疫苗用于朊粒病的免疫预防，也无有效的治疗方法，主要是针对可能的传播途径采取预防措施。

**（1）医源性朊粒病的预防** 对可能被朊粒污染的手术器械等进行彻底消毒。根据世界卫生组织的建议，对于耐热物品，将物品浸泡在1mol/L氢氧化钠或2%次氯酸钠中1小时，用水清洗后121℃（下排气压力蒸汽灭菌器）或134℃（预排气压力蒸汽灭菌器）加热1小时；对表面和热敏感物品，用2mol/L NaOH或未稀释的次氯酸钠冲洗，静置1小时，擦干并用水冲洗。严禁将朊粒病患者的组织和器官用于器官移植。操作朊粒相关生物材料的医护人员和实验室人员应严格遵守生物安全操作规程。

**（2）牛海绵状脑病及变异型克-雅病的预防** 禁止用动物的骨肉粉作为饲料喂养牛、羊等反刍动物，以防止致病因子进入食物链。对从有BSE流行的国家进口活牛或牛制品进行严格的检疫，防止输入性感染。