

## 第26章 轮状病毒和呼肠孤病毒

Lijuan Yuan、Gregory W.Stevenson和 Linda J.Saif

### 猪轮状病毒

轮状病毒（RV）是包括新生仔猪在内的多种新生动物的重要肠道病原，也是引起一般哺乳期仔猪和断奶仔猪肠胃疾病的主要病因。轮状病毒最先发现于小牛(Mebus等，1969)，之后在人和其它动物也得以证实(Estes等，1973)。后来，其它的研究人员在其它动物中也检测出猪轮状病毒(Rodger等，1975)，(Estes 等，1983年)。目前，在大多数养猪国家均有猪轮状病毒存在，并由此引起的腹泻疾病给养猪业带来了巨大的损失（Paul 和 Stevenson，1999）。

迄今为止猪轮状病毒被分为4种不同血清群(A-C-E)。其中A群，包括10G型（VP7型属于糖蛋白）和7P型（VP4型蛋白酶敏感型蛋白）。虽然本书中已包括了几乎所有的轮状病毒的类型，但由于RV的A型与人和猪的胃肠道疾病相关，因此，本文所列出的大部分资料信息与猪A群轮状病毒有关。

### 病原学

#### 病毒形态

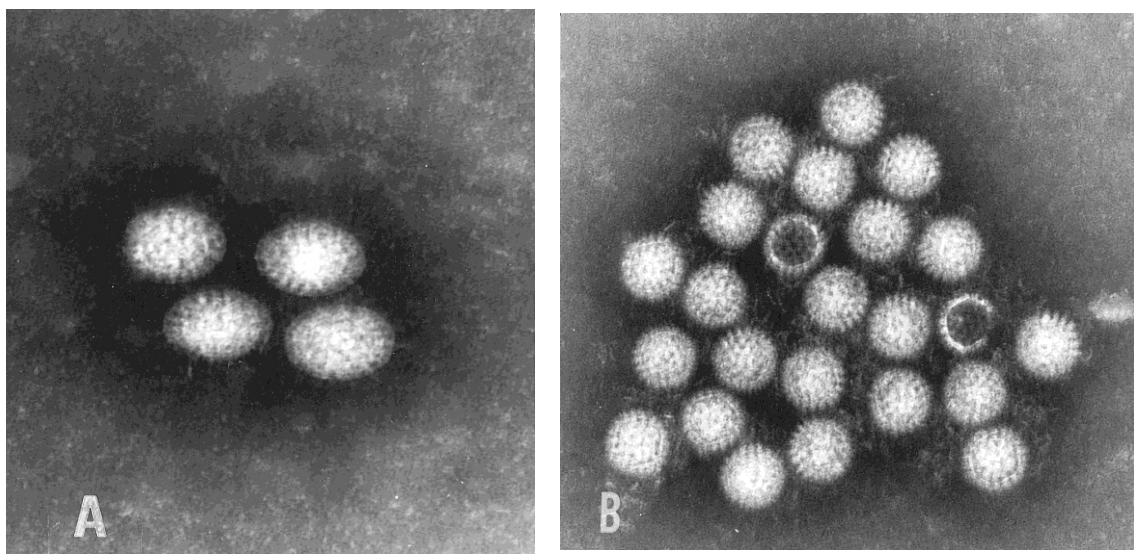
轮状病毒是65-75nm，无包膜，呈二十面体的粒子。电子显微镜下观察，轮状病毒的完整形态是一个带有短刺和光滑轮径的近似轮状的粒子（直径约75 nm）。这种粒子是由三种滤过性蛋白衣壳组成：外层衣壳（VP7和VP4），中间衣壳（VP6），和内层衣壳（VP2）。这种滤过性基因组由11段双RNA组成，被VP2包裹，并伴随着RNA依赖的RNA聚合酶（VP1）。通常情况下，包裹三层衣壳的粒子具有传染性(Estes, 2001)。没有外衣壳的双层粒子是比较小的，约65nm，有粗糙的短刺状轮廓（见图26.1）。

#### 分类

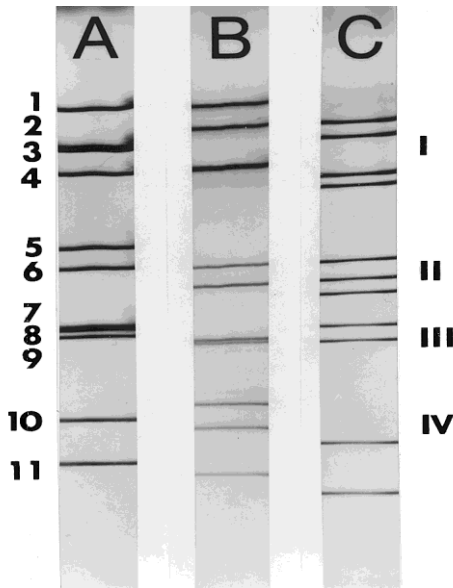
轮状病毒归类于呼肠孤病毒科轮状病毒属。根据VP6抗原划分，轮状病毒被分为7个独立的血清群（A到G）（Estes，2001；Saif 和 Jiang，1994）。在这个群中，用VP6进行血清学检测，发现轮状病毒可表现交叉反应原性。(A-C)型可感染人和其他动物，E型仅在英国的猪群中检测到（Chasey’ 等）。D、F和G型

已经在鸟类体内检测到。对轮状病毒的染色基因组进行聚丙烯酰胺凝胶电泳时，产生一个特征性的电泳移行图，通常称之为电泳型。至今已证实轮状病毒的血清群均有独特的电泳型（Pedley 等，1986；Saif 和 Jiang，1994）。RNA片段群集在四个区域，I—IV（图26.2）。A型轮状病毒在I、II、III、IV区的片段数分别为4：2：3：2。B型轮状病毒为4：2：2：3，C型轮状病毒为4：3：2：2，D型轮状病毒为5：2：2：2。在E群轮状病毒，电泳图谱同B群轮状病毒的相似，除了片段7~11外，其它片数移行距离彼此相同。使用PAGE进行基因型的分析，对于证实轮状病毒是一种很简单的技术，可以区别不同的轮状病毒，并鉴定出不同轮状病毒不同的血清型（10个dsRNA片段）。然而，血清型和核酸为基础的实验需要先鉴定轮状病毒的群和血清型。

轮状病毒的A血清群又可分为不同的血清亚型。早期研究表明：根据存在或缺乏两种VP6抗原决定簇可与每种抗原的特异性抗体进行反应，主要分为5个亚型（SG）I，II，I+II，和非I及非II型，（Greenberg 等，1983）。猪轮状病毒的OSU属于SGI型，Gottfried型属于SG II型。VP6基亚群的分子特征表明有两个群：群I（由SGI组成）和群II（包括SG II，I+II以及非I，非II群），VP6上的一些抗原表位很保守，且在不同群的轮状病毒中均存在。猪轮状病毒的OSU序列属于SGI，Gottfried序列属于SG II。以VP6为标志的分子亚群根据其特点可分为两种基因亚群：基因群I（由SG I组成）和基因群II（包括SG II，I+II和非I，非II）（Iturriza-Gomara 等.2002）。



26.1 染色后电子显微镜观察轮状病毒（ $\times 130,000$ ）。（A）有完整外壳的三层病毒粒子的特点是表面光滑。（B）没有外衣壳的双层病毒粒子表面有凸起。



26.2 轮状病毒的A、B、C群的A/OSU、B/IA1146、C/Cowden型经聚丙烯酰胺凝胶电泳银染后的电泳图。每个轮状病毒的群都有一定的图谱。双链RNA主要集中在四个区域，I-IV。A、B、C群轮状病毒在这四个区域的条带比分别是4: 2: 3: 2, 4: 2: 2: 3, 4: 3: 2: 2。

除了血清群A，轮状病毒被划分成更多的G和P血清型或基因型（见表1）。通过中和试验可鉴定病毒的血清型（Estes 和 Cohen 1989, Hoshino 等, 1984）。通过序列对比分析和 / 或核酸杂交数据可确定的基因型。氨基酸序列同源性大于89%的为同一血清型（Estes, 2001; Gorziglia 等, 1990）。血清型用许多字母如G或P来命名，基因型则加一些方括号来辨别。举例如下：猪轮状病毒Gottfried被命名为P2B[6]G4，OSU被命名为P9[7]G5。VP7基因型和血清型是高度相似的，然而，一般由于产生VP4特异性的抗体难度很大，因此P基因型和血清型之间的关系不太明显。目前，15种轮状病毒的G血清型和基因型已经过鉴定，然而，尽管已有至少22种P基因型报道，其中仅有13种得到鉴定（Hoshino 和 Kapikian 1996, Hoshino 等, 2002; Liprandi 等, 2003; Martella 等, 2003; Okada et al. 2000）。猪A群轮状病毒中现已至少检测出10种G型(1-6, 8-10和11), 以及7个P型(P[5]-[8], [13], [19]和[23])，它们都与腹泻有关（Martella 等 2001）。血清C群的猪轮状病毒至少有两个G血清型已经证明可以产生交叉中和反应（Tsunemitsu 等, 1992b）。用于检测不同血清型或不同基因型的方法还包括使用特异性血清抗体的ELISA方法，酶切PCR扩增VP4和VP7产物的方法，以及RT-PCR等。（Bareiros 等, 2003）。

表26.1 猪轮状病毒的血清群、血清型及基因型的分类

血清群	VP7 血清型/ 基因型	分 类	VP4 (P) 血清型 (G) [基因型]	分 类
A	1	C60, C86, C95, S8	1A[8]	S8
	2	C134*b	2B[6]	Gottfried, BEN-144
	3	CRW-8, C176, BEN-307 ISU-65, 4F, MRD-13*	7[5]	P343 84/52F, 84/106F, 84/158F
	4	LCA843, Clone 8 Gottfried, SB-1A	9[7]	OSU, EE, TFR-41, C134 CRW-8, BEN-307, SB-1A
	5	OSU, C134*, EE, TFR-41, A34		C60, C95, YM, A253
	6	MDR-13*, A46, S8 84/52F, 84/106F, 84/158F	Not tested [13]	LCA843 MDR-13, A46, Clone 8
	8	field sample	12[19]	4F
	9	ISU-64	14[23]	A34
	10	P343		
	11	YM, A253		
B		Ohio NIAD-1 IA1146 Cowden, HF IA850		
E		DC-9		

### 理化性质和生物学特性

轮状病毒由11个dsRNA组成，大小在0.6-3.3之间。11个片段编码6个病毒区域蛋白和6个非结构蛋白（NSP），结构很稳定，第十二个片段编码非结构蛋白5和6（Estes，2001）。这六个结构蛋白是：核心区蛋白VP1到VP3，非糖基化衣壳蛋白VP4（由基因4编码），病毒粒子VP6的主要结构组成（由基因6编码），以及外部衣壳糖基化蛋白VP7（由基因9编码）。VP4、VP5、VP8对于病毒感染是非常重要的。与VP6和VP7类似的蛋白在轮状病毒的C群中已经描述（Jiang 等，1990）。

通过梯度蔗糖或氯化铯离心法可以分离三壳或双壳轮状病毒粒子。用氯化铯的方法分离出的三壳粒子的密度是1.36g/ml，用蔗糖分离出的粒子沉降系数是520S到530S。然而，双壳粒子的密度是1.38g/cm<sup>3</sup>，沉降系数为380S到400S（Tam等，1976年）。单壳中心粒子用氯化铯处理后密度是1.44g/ml，沉降系数是280S

(Bican 等, 1982)。经EDTA钙螯合剂处理的轮状病毒, 外壳被溶解, 结果导致感染性丧失, 表明钙离子可以使外衣壳VP7稳定, 对轮状病毒粒子的稳定性起着关键作用。(Ahmadian 和 Shahrabadi, 1999; Bridger和Woode, 1976; Estes等, 1979)。不同类型的病毒, 稳定外壳所用钙的浓度不一样。(Ruiz等, 1996)。

轮状病毒是一种没有包膜的病毒。因而, 它的感染性和粒子的完整性对碳氟化合物的提取物、氯仿、去污剂等具有抵抗力(Estes, 2001)。氯仿可以降低轮状病毒的感染性, 可以破坏轮状病毒凝集红血球的特性。轮状病毒的感染力在pH3.0-9.0时最稳定。使红血球凝集的VP4在高pH的条件下可能会被去除。反复冻融可使轮状病毒的感染力和凝集红细胞的特性丧失。

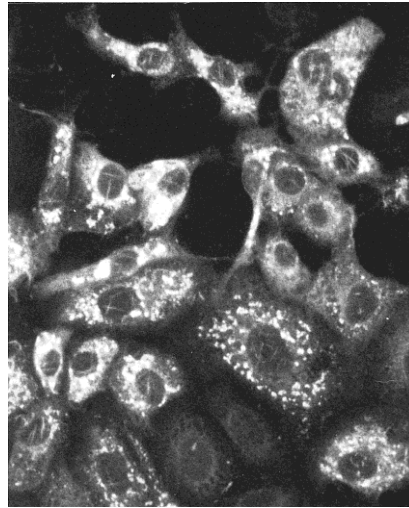
轮状病毒有很多型, 包括猪轮状病毒、凝集人O型、几内亚猪及大鼠红血球的轮状病毒。(Eiguchi 等, 1987)。凝集红细胞的特性是由VP4与红细胞表面的唾液酸相互作用来调节的。(Fuentes-Panana 等, 1995)。启动感染时所需的细胞表面分子与不同毒株有关, 目前这个机制还不清楚。轮状病毒与细胞最初的接触由神经氨(糖)酸苷酶的敏感性或神经氨(糖)酸苷酶抗性细胞分子来调控(Ciarlet 等, 2002)。大多数的猪轮状病毒是唾液酸依赖型的(OSU, A46和4F), 然而, 大多数的人型或动物型轮状病毒是唾液酸非依赖型的。有些细胞表面蛋白是轮状病毒的粘附和粘附后产生的受体, 包括神经节苷脂、整联蛋白和热休克蛋白70(Graham 等, 2003;Guerrero 等, 2002;Hewish 等, 2000; Is等, 2004;Rolsma 等, 1998)。神经节苷脂在猪OSU型轮状病毒识别宿主细胞中起着重要作用(Rolsma 等, 1998)。

## 实验室培养

猪轮状病毒最初是在经过胰蛋白酶或胰酶预处理的猪原代肾细胞上培养(Theil等, 1977)。后来, 人们用非洲猴肾细胞系MA-104成功地对病毒进行了繁殖(Bohl等, 1984), 可振荡培养, 或加胰酶。振荡培养和蛋白酶的水解对于分离轮状病毒是很关键的。病毒粒子用胰蛋白酶(10 $\mu$ g/ml)或胰酶(2.5 $\mu$ g/ml)进行预处理。病毒吸附后, 可把胰蛋白酶或胰酶(0.5-1.0 $\mu$ g/ml)加入到无血清的培养基中。适应细胞培养的轮状病毒株会产生细胞病变, 特征为细胞固缩, 随后从细胞表面脱落。应用免疫荧光法(图26.3)或免疫化学方法可在病毒感染的细胞胞浆中检测到病毒抗原。在含中性红的琼脂中, 轮状病毒可形成空斑(Ramia 和 Sattar

1980)。

用振摇培养的方法和高浓度的胰酶消化,可使C型和B型轮状病毒在原代猪肾细胞上繁殖(Sanekata 等.1996;Terrett 等.1987)。MA-104细胞系(Saif 等.1988)和猪小肠细胞系(Proescholdt)可培养猪轮状病毒C型。E型、大部分的B型和一些A型轮状病毒还不能在细胞上复制。



26.3 猪轮状病毒A群感染MA-104细胞后免疫荧光染色表明,轮状病毒抗原在细胞质中聚集(×400)

## 流行病学

目前,轮状病毒普遍存在于猪群中。在常规饲养条件下,要使猪不带有轮状病毒,是非常困难的(Bridger 和 Brown 1985)。大多数轮状病毒(包括A、B、C、E型)和A、C血清群的大多数血清型已经在猪体内检测到(Atii 等.1990;Barreiros 等.2003;Bohl 等.1984;Geyer 等.1996;Janke 等.1990;Kim 等.1999;Markowska-Daniel 等.1996;Pongsuwanna 等.1996. Kim等, 1999; Markowska-Daniel等, 1996; Pongsuwanna 等, 1996; Saif, 1999; Saif 和 Jiang, 1994; Theil等, 1985; Wieler等, 2001; Will等, 1994; Winiarczyk 等, 2002)。可引起猪腹泻的轮状病毒的血清型见列表26.2。

轮状病毒A群常感染60天以下的小猪,最小的一周龄, 3-5周龄的小猪群中流行普遍(Bohl 1979)。哺乳期间由于母源抗体滴度的下降轮状病毒的感染机率增大。当母源抗体的滴度达不到保护水平时,小猪就容易感染轮状病毒造成腹泻。猪轮状病毒经粪排出可持续 1~14天,平均7.4天(Fu 和 Hampson 1987)。

B群轮状病毒感染后,经粪排出的数量较少,持续时间也较短(Bridger 1980;Theil 等.1985)。C群轮状病毒常引起8-9周龄60%-80%的断奶仔猪腹泻,但密歇根州的猪死亡率很低(Kim 等.1999)。据报道,E群轮状病毒仅在英国发生(Chasey 和 Davies 1984),但实验感染无菌猪群仍可引起轻度腹泻。血清学调查表明,在英国,10周龄以上的猪群普遍存在轮状病毒的抗体(Chasey 等.1986)。

不同的地理环境和年龄差异,导致不同轮状病毒的每种血清群所对应的抗体不相同(Bridger 和 Brown, 1985; Brown 等, 1987; Chasey 等, 1986; Hung 等, 1987; Nagesha 等, 1988; Terrett 等, 1987; Theil 和 Saif, 1985; Tsunemitsu 等, 1992a)。

**Table 26.2.** Rotavirus prevalence and serogroup distribution

国 家	发生时间	发病年龄	有腹泻症 状的病猪 头数	轮状病 毒的阳 性头数	% 轮状病 毒的阳性 率	阳性样品中每种血清 群占的百分比				混合 型	检测 方法
						A	B	C			
Nigeria	Atii et al. (1990)	All ages	96	43	44.8	100					ELISA
		4-6 weeks	41	14	34.2	100					
		1-3 weeks	52	29	55.8	100					
		>6 weeks	3	0	0						
USA	Janke et al. (1990)	All ages	NR <sup>a</sup>	90	NR	68	10	11	11		PAGE
		Suckling pigs	NR	68	NR	76.4	7.4	7.4	8.8		
		Weaned pigs	NR	22	NR	40.9	18.2	22.7	18.2		
USA	Will et al. (1994)	All ages	1048	96	9	89	6	5	1		ELISA, PAGE
Thailand	Pongsuwanna et al. (1996)	Piglets	557	26	4.7	89	4	8	0		PAGE
South Africa	Geyer et al. (1996)	Piglets (<6 weeks)	NR	NR	37.8	84.6					PAGE
Poland	Markowska-Daniel et al. (1996)	Piglets	531	169	32	100	4.6	10.8	ND <sup>b</sup>		ELISA
Germany	Wieler et al. (2001)	1-7 days (suckling)	33	0	0	NR	NR	NR	NR		EM
		8-14 days (suckling)	50	1	2	NR	NR	NR	NR		
		15-21 days (suckling)	19	1	5.3	NR	NR	NR	NR		
		22-28 days (weaned)	16	4	25	NR	NR	NR	NR		
		36-42 days	31	0	0						
Brazil	Barreiros et al. (2003)	All ages	99	53	53.5	100					PAGE
		7 days (suckling)	19	10	53	100					
		8-21 days (suckling)	20	12	60	100					

<sup>a</sup>NR=not reported.

<sup>b</sup>ND=not determined.

利用分子生物学方法,如northern-blot和dot-blot杂交实验,及RT-PCR方法,可以对轮状病毒A群的G型和P型进行更好的分类定义。目前,G型分为G3,G4,G5和G11;虽然人型G1,G2,G9和牛型G6,G8,G10,已经在猪群中检测到。猪轮状病毒的P型一般分为P2B[6]和P9[7],他们分别与戈特弗里德型和OSU型类

似。其他猪轮状病毒P型和牛轮状病毒P型已有报道。(表26.1) (Barreiros 等, 2003; Gouvea等, 1994a,b; Martella等, 2001; Pongsuwanna 等, 1996; Rosen 等, 1994; Santos 等, 1999; Winiarczyk 和 Gradzki, 1999; Winiarczyk 等, 2002; Zaberezhny 等, 1994).

**Table 26.3. 猪血清中A、B、C型轮状病毒流行的抗体**

国 家	报 道	采集时间	年 龄	检测总 数	不同呼肠孤病毒血清群的阳性率		
					A	B	C
USA	Theil 和 Saif(1985)	1984-1987	Adult	37	100	24	ND <sup>c</sup>
USA	Theil 和 Saif(1985)	1984-1987	Young pigs(3-8w ks)	7	100	17	ND
USA	Terrett 等.(1987)	1984-1987	Adult	68	100	ND	100
			Young pigs(0-8w ks)	69	100	ND	70
USA	Tsunemitsu 等.(1992)	1988-1992	Adult	68	NR <sup>d</sup>	NR	97
Japan	Tsunemitsu 等.(1992)	1988-1992	Adult	80	NR	NR	93
UK	Bridger 和 Brown(1985)	1981	Adult	39	97	92	79
UK	Bridger 和 Brown(1985)	1981	Young pigs(3-8w ks)	43	100	70	58
Australia	Nagesha 等.(1988)	1988	Adult	12	100	58	100
UK	Brown 等.(1987)	1983	Adult	67	ND	97	ND
China	Hung 等.(1987)	NR	Adult	202	ND	36	ND

<sup>A</sup>此表格根据 Saif 和 Jiang 1994修改。。

B病毒抗原可用于免疫荧光试验, 免疫电镜和ELISA或免疫电泳等实验。

A/OSU, B/NIRD-1 or B/ADRV, 和 C/Cowden.

<sup>c</sup>ND = 不确定

<sup>d</sup>NR = 未报道.

轮状病毒随粪便排出, 主要经口传播。然而, 最新研究表明, 人型A群轮状病毒经口或经鼻接种无菌猪可产生相似的滴度, 并随粪便持续排毒3-4天 (Saif 等.2003)。猪轮状病毒是否可经呼吸系统传播还有待于进一步研究。

仔猪生活的场所, 灰尘和干的粪便中常可检测到猪轮状病毒 (Fu 等.1989)。



在室温下可保持感染力7-9个月（一般为18-20℃）（Wood 1978），在粪便中10℃时可保持感染力32个小时（Ramos 等.2000）。轮状病毒在环境中持续存在为轮状病毒持续感染猪群提供了条件。

轮状病毒对许多化学消毒剂和防腐剂不敏感，但苯酚、福尔马林、氯仿和 $\beta$ -丙内酯能够使其灭活。95%的乙醇是最好的消毒剂，它可通过去除病毒的外壳来起作用（Estes 2001）。消毒剂喷雾含有乙醇（0.1%苯基苯酚和79%的乙醇），漂白粉（6%的次氯酸钠加到浓度为800ppm），石炭酸（14.7%石炭酸用三蒸水1:256溶解），95%-99%处理10分钟可有效地减少轮状病毒的滴度（Sattar 等.1994）。

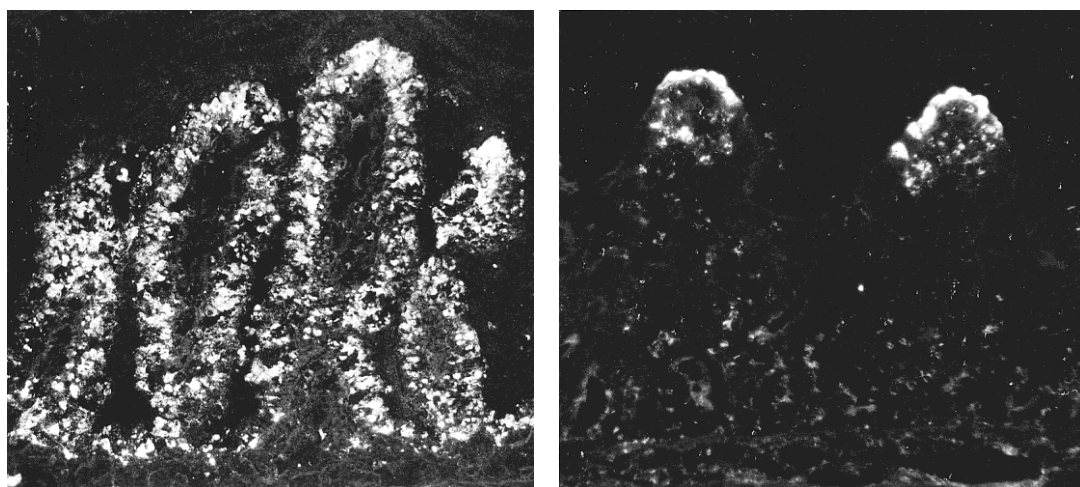
许多研究已给轮状病毒的种间传播和轮状病毒的基因重排提供了依据（猪和牛，猪和马，猪和人）。Martella 等(2001)报道，从意大利患有腹泻的猪群体内排出的轮状病毒表现出典型的牛轮状病毒G和P型的特异性，证明了牛轮状病毒感染小猪的原因。牛轮状病毒PP-1感染无菌猪的实验表明，在合适的环境下致病性基因重组轮状病毒可在一种动物间传播并对其他种类动物造成威胁，（El-Attar 等，2001）。马轮状病毒H-1型的抗原和分子分析揭示了这种病毒与猪的轮状病毒相关，但它不属于马轮状病毒，这个现象即为马到猪的种间传播（Ciarlet 等，2001）。印第安爆发的腹泻型轮状病毒是由RMC321人型轮状病毒引起的，其分子特点表明，它与猪轮状病毒如VP4，VP6，NSP1-5等氨基酸同源性高达95-99%（Varghese 等，2004）。本研究为猪轮状病毒能够突破种间屏障并引起人的几种肠胃炎提供了强有力的证据。许多研究已经表明，猪和人型轮状病毒存在基因重排（Alfieri等，1996；Das等，1993；Dunn等，1993；Laird 等，2003；Nakagomi 和 Nakagomi，2002）而且有些基因重排的轮状病毒可引起人腹泻（Esona等，2004；Gerna 等，1992；Santos 等，1999；Timenetsky Mdo 等，1997）。猪轮状病毒潜在的人畜共患危险有待于进一步调查和深入研究。

## 发病机理

轮状病毒的发病机理非常复杂，且腹泻的原因涉及到多种机制（Estes 等，2001）。Malabsorption认为是由肠道吸收脱落的细胞，导致绒毛萎缩而引起人和猪腹泻，这是一种人们广泛接受的机理（Kapikian 等，2001）。最近研究的主要是肠道炎症反应（Zijlstra 等），肠道神经系统的活性（Lundgren 和 Svenson，2001），以及轮状病毒NSP4的肠毒素功能（Ball 等，1996；Estes等，2001）产生

的分泌型腹泻。轮状病毒主要是在许多不同的肠绒毛上皮细胞（Buller 和 Moxley，1988）以及盲肠和结肠的上皮样细胞（Collins 等，1989;Theil 等，1987;Ward 等，1996b）的胞质中复制。病毒的复制在空肠和回肠中是纵向扩张的。接种轮状病毒后，其抗原可在空肠、回肠和12指肠的绒毛上皮样细胞中存在12-48小时（图26.4）（Collins 等，1989; Saif, 1999; Shaw 等，1989; Stevenson, 1990; Theil 等，1978; Ward 等，1996b）。

26.4 毛上皮细胞的胞质中有轮状病毒抗原（×90）。（A）猪轮状病毒接种1日龄无菌猪16小时后的回肠。几乎所有的肠绒毛上皮样细胞都有病毒。



轮状病毒在小肠上皮样细胞中复制导致细胞脱落，肠绒毛萎缩。不同的小肠其肠绒毛萎缩的程度和作用不同这与轮状病毒的不同型（Collins 等.1989）、血清群（Saif 1999）及猪的年龄有关（Shaw 等.1989）。总的来说，患病小猪的肠绒毛萎缩更严重，且程度也是最重的。轮状病毒的A、C型比B、E型更容易引起肠绒毛的萎缩和猪群的腹泻（Saif 1999）。轮状病毒B型可产生小肠绒毛萎缩并引起腹泻（Saif 和 Jiang 1994）。

人或猪型轮状病毒感染小猪后可引起腹泻，实验已经证明，感染后小猪的小肠绒毛上皮样细胞的功能发生了改变，如葡萄糖酸钠的转运受到了破坏

（Davidson 等.1997,Rhoads 等.1991），双糖酶的活性降低（Graham 和 Estes 1991;Zijlstra 等.1997），胸腺嘧啶脱氧核苷酸酶活性增加（Davidson 等.1977）。这些都是吸附性肠炎病理变化的特点（Saif 1999）。猪群的饲养管理和营养不良，加重了由轮状病毒延迟酶活性和吸收能力的恢复，以及阻止受损肠绒毛的再生，从而加重了腹泻的严重程度和持续时间。（Zijlstra 等，1997）。

实验感染猪时，腹泻症状要比小肠的病理损伤出现的早，表明了其他机制，除了肠绒毛萎缩，轮状病毒还可能产生其他症状（McAdaragh 等. 1980; Theil 等. 1978; Ward 等.1996b）。肠道炎症可激活肠道神经系统的神经反射。后者是调解正常内脏体液分泌的关键组成部分，也是几种重要的兽医病原微生物的病理生理学的关键因素，如Salmonella sp.,Cryptosporidium parvum和轮状病毒（Jones 和 Blikslager 2002,Lundgren 等 2000）。至少2/3的小鼠体液和电解质分泌紊乱是由轮状病毒引起，这归根于肠道神经系统的激活（Lundgren 和 Svensson 2001）。免疫能够破坏粘膜的完整性，造成粘膜破损，使更多的细菌和毒素穿过肠上皮样细胞的屏障，导致全身感染（likslager和Roberts, 1997）。轮状病毒感染小猪后，分子穿透力在短时间内增强（Moon 1997），体外研究表明，轮状病毒的感染可使更多毒素进入到细胞（Liprandi 等.1997）。这些发现表明，轮状病毒的感染倾向于事先有其他毒素和细菌感染的小猪，且可使得败血症的机率增加。轮状病毒与产肠毒素的E.col的混合感染后比分别接种小猪产生的腹泻症状更严重（Benfield 等.1988）。

轮状病毒NSP4、连同VP3、VP4和VP7，在轮状病毒致病机理和重组轮状病毒的最初研究中都起到了一定的作用（Hoshino 等.1995）。随后，NSP4作为一种病原型肠毒素被识别，它与小鼠轮状病毒腹泻有关（Ball 等.1996;Estes 等.2001）。从猿轮状病毒SA11型重组表达的NSP4可使新生小鼠模型产生剂量和年龄依赖性的腹泻（Ball 等.1996）。假设NSP4可间接的参与由萎缩的上皮样细胞释放的胺或多肽所引起的神经系统的刺激，且可影响细胞钙信号转导，它可使肠道神经系统发生的病变在一定程度上与霍乱毒素有相似性（Lundgren 和 Svensson 2001）。NSP4在猪和其他家畜的腹泻性轮状病毒中的作用还不清楚。轮状病毒感染后，上皮样细胞或免疫细胞可产生许多其他生物活性分子，它们可以参与激活分泌腺使肠道神经系统复杂化，并在轮状病毒诱导的腹泻和致病机理中发挥重要作用（Rollo 等.1999）。

轮状病毒接种小猪后死亡的几种原因，可通过采取一些有效措施得到控制。低环境温度（Steel 和 Torres-Medina 1984），营养不良（Zijlstrs 等.1997,1999），环境中病毒增多（Shaw 等.1989），这些都是轮状病毒感染猪群后引起腹泻及更高死亡率的的重要因素。腹泻可引起脱水和电解液的紊乱，而且可能导致细胞外体液的潴留，需要通过口服电解质的方法进行治疗。消化不良结果导致营养不良，

伴随着细胞外体液和能量的减少，年龄大一点的猪症状要轻一些。

轮状病毒主要是经肠道感染。有时，肠外轮状病毒感染也可发生于人或动物。轮状病毒感染猪群3周后，13头中有一头的肺部检测到恶劣轮状病毒。（Shaw 等.1989）。最近有研究表明，轮状病毒的全身性感染常出现在动物（牛、小鼠，大鼠和月亮）和人类（Blutt 等.2003）。轮状病毒在病理及免疫的作用机制目前还不清楚。

## 临床症状

轮状病毒感染1-5日龄无菌猪或断奶仔猪可产生几种腹泻疾病。（McAdaragh 等.1980;Pearson 和 McNulty 1977;Tzipori 和 Williams 1978;Ward 等, 1996b; Woode 等, 1976）。猪群精神不振，食欲减退，接种12-24小时后偶尔呕吐，1-4小时后排出水样、黄白色、絮状稀粪。腹泻会持续3-7天，有的多则7-14天。死亡率可达到50-100%。7-21天的猪群注射后，腹泻和脱水症状比较轻，死亡率也较低（Crouch 和 Woode 1978;Shaw 等.1989;Theil 等.1978）。一般28日龄接种轮状病毒的腹泻持续1-1.5天（Lecce 等.1982;Tzipori 等.1980c）。

饲料也可影响疾病的发展。21-28日龄接种轮状病毒的猪只，若饲喂3天以上干饲料后，不会有明显的临床症状（Tzipori 等.1980c;Paul 和 Stevenson 1999）相反，轮状病毒接种7-8周龄的猪只后，若饲喂液态食物则会促进腹泻的发生（Yuan 等, 1996）。

由于母源抗体的影响，自然感染轮状病毒引起的腹泻通常比实验感染的要轻。轮状病毒病几乎是所有猪场的地方病。总之，已经免疫的后备母猪和经产母猪，可经初乳或泌乳感染仔猪（Askaa 等.1983;Ward 等.1996a）。哺乳期的最初几天，初乳和母乳中轮状病毒的母源抗体水平会快速下降。当母源抗体的水平低于保护水平时，腹泻就会发生（Saif, 1985）。主要粒子可影响免疫控制的比例（圈舍和卫生情况），轮状病毒感染猪的程度是由猪群的年龄及腹泻的程度来决定的。

自然感染的与轮状病毒有关的腹泻类疾病常见于1-41日龄到哺乳期仔猪（Askaa 等.1983;Bohl 等.1978;Debouck 和 Pensaert, 1983;Roberts 等, 1980;Svensmark 等, 1989;Yaeger 等, 2002）或7天内断奶的仔猪。（Bohl 等, 1978; Lecce 和 King, 1978; Tzipori 等, 1980b; Woode等, 1976).且常在人工饲喂的猪群中发生。哺乳期仔猪一般的轮状病毒腹泻通常是2-3天。粪

便呈黄色或白色，水样到乳脂状。发病率通常低于20%，由于脱水，严重时死亡率大概占腹泻猪的15%。死亡率多发于幼龄仔猪。哺乳期仔猪腹泻若被孢子球虫（Roberts 等，1980）或产肠毒素大肠杆菌（ETEC）（Bohl 等，1978）感染，病情会更复杂，可能会导致更多严重的疾病，更高的发病率和死亡率（Lecce 等，1982;Tzipori 等，1980a）。

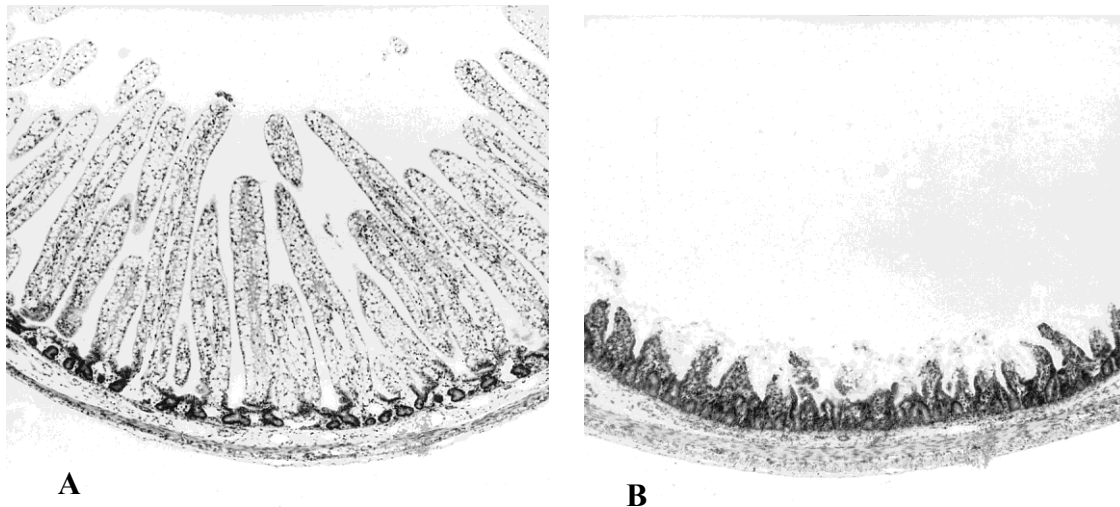
断奶仔猪感染轮状病毒腹泻的机制还不清楚。断奶仔猪的严重腹泻与轮状病毒有关，但通常还与传染性胃肠炎病毒（Bohl 等.1978）或 $\beta$ 型产肠毒素大肠杆菌混合感染（Lecce 等，1982;Tzipori 等.1980a）有关。断奶仔猪单独接种轮状病毒或 $\beta$ 型产肠毒素大肠杆菌可能会导致短暂的腹泻或几乎不产生腹泻，然而，先接种 $\beta$ 型产肠毒素大肠杆菌，然后再接种轮状病毒，就会使 $\beta$ 型产肠毒素大肠杆菌增殖，加重腹泻程度，并使腹泻时间延长。

## 病理变化

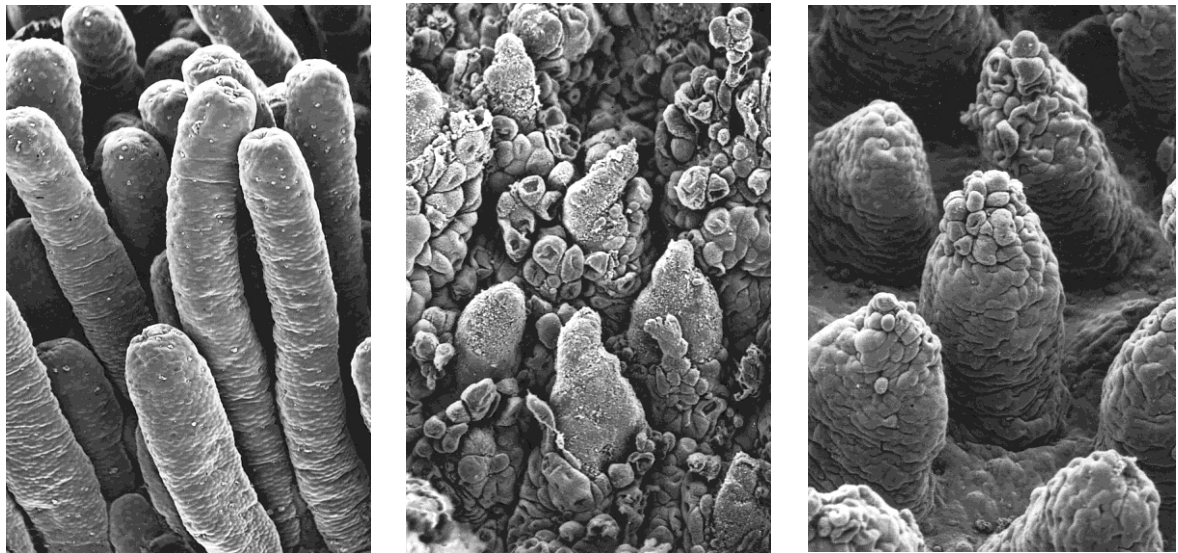
轮状病毒引起的病理变化一般在小肠，主要是由于轮状病毒在肠道内部增殖，破坏绒毛上皮样细胞，以及随后的适应性和再生性反应引起。之前出现的全身性损伤比较轻微，表现腹泻或程度加重一般是在1-14日龄小猪（Collins 等.1989;Janke 等.1988;Pearson 和 McNulty 1977;Stevenson 1990;Theil 等.1978）。胃通常还含有食物，小肠末梢的1/2到2/3壁薄、松弛、膨胀，伴有水样、絮状、黄色或灰白色液体。乳状物中没有乳糜，肠系膜淋巴结是空的和棕褐色的。盲肠和结肠膨胀后，内容物相似。21日龄或更大年龄的猪，全身性损伤不严重或不造成损伤（Shaw 等. 1989; Stevenson 1990）。

光学显微镜病理变化（Paul 和 Stevenson 1999）和电子显微镜病理变化（Collins 等 . 1989; McAdaragh 等 .1980;Stevenson 1990;Torres Medina 和 Underdahl 1980），常用轮状病毒接种哺乳仔猪进行研究。接种后16-18小时后，肠绒毛顶部的上皮样细胞开始退化，可以看到肿胀稀薄的细胞质，细胞核肿胀，无规则的边界，相邻的细胞或薄膜层粘膜脱落。16-24小时后，脱落的细胞导致明显的肠绒毛萎缩，24-72小时后，症状是最严重的（如图26.5）。萎缩的肠绒毛被腐蚀或由接近鳞片样的上皮细胞覆盖肿胀或损伤的部位（如图26.6）。在薄壁上有细胞碎片。感染后24-168个小时，肠绒毛的侧面融合。48-72小时后，滤泡上皮样细胞的增生可导致滤泡数量明显增多。正常肠绒毛的再生所需的时间取决于患病猪的年龄。

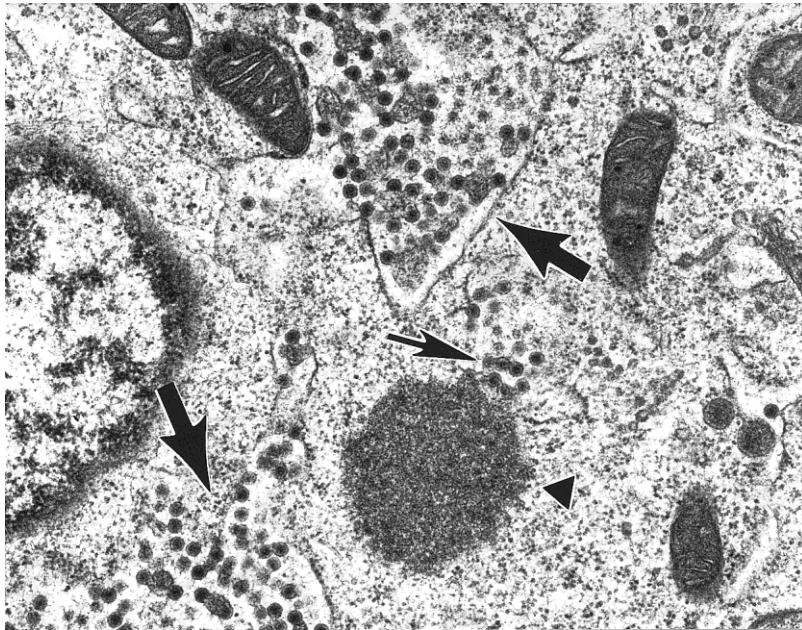
轮状病毒感染猪的超微病理学变化是其他哺乳动物和鸟类轮状病毒感染中最典型的(Narita 等.1982;Pearson 和 McNulty1979;Saif 等.1978)。感染后绒毛上皮样细胞的细胞质内含有电子密度颗粒的病毒发生基质,它们主要集中于亚病毒核心或双层外围的双层粒子。双层病毒粒子在发育期可通过内质网膜产生外壳(如图26.7)。到成熟期时,75-78nm的三层病毒粒子在内质网中积聚,然后随着细胞溶解而释放。病毒感染细胞后的其他退行性变化包括细胞膨胀,线粒体膨胀,细胞核膨胀,细胞活性扩张,微绒毛断裂。固有层中的巨噬细胞含有细胞膜,病毒粒子,病毒发生基质,和其他吞噬体的细胞碎片。



26.5 3日龄无菌猪的回肠。(A) 阴性对照的正常级毛 (B) 感染18小时后萎缩的肠级毛



26.6 3日龄无菌猪肠绒毛的电子显微镜扫描图。(A) 阴性对照即正常肠绒毛( $\times 70$ )。(B) 感染后18小时,严重脱落的肠粘膜上皮细胞和固有层表面严重萎缩的肠粘膜( $\times 165$ )。(C) 感染后24小时,萎缩的肠绒毛被多层肿胀和退化的上皮样细胞覆盖。



**26.7 轮状病毒感染后肿胀和退化的肠上皮样细胞的超微结构，主要呈现粒状病毒基质密集。病毒粒子的形式及通过粗糙内质网状组织所形成的外衣壳。许多双层病毒粒子的内质网中含有囊泡。**

## 免疫

猪群感染轮状病毒后可产生肠道免疫和全身性免疫反应。人们用新生无菌仔猪研究轮状病毒感染猪和人后产生的免疫反应与免疫防御有关，主要为了提高免疫球蛋白和疫苗的保护率（Saif 等.1996,1997;Yuan 和 Saif 2002）。强毒型轮状病毒感染猪群后，机体就会产生保护力而不会被同型轮状病毒再次感染（一般是 P 或 G型）（Bohl 等.1982;Hoshino 等.1988;Saif 等.1997）。

无菌猪群口服感染轮状病毒3天后，可产生特有的IgM抗体分泌型细胞（ASC），感染7天后，这种细胞可在脾脏和肠系膜淋巴结组织中达到高峰，感染后7-14天肠粘膜固有层中达到高峰。轮状病毒特异性IgA、ASC反应是肠道中最主要的。B、T细胞对人的强毒和弱毒Wa型轮状病毒的免疫反应，可通过接种新生无菌仔猪后，对肠粘膜固有层和全身性淋巴结组织进行比较。（Ward 等.1996c;Yuan 等. 1996, 2001a）。与接种人的弱毒型轮状病毒三倍口服剂量的小猪相比较，一份口服剂量的强毒型轮状病毒接种猪，可明显产生大量病毒特异性的抗体分泌型IgA和IgG及记忆性B细胞、肠粘膜固有层产生淋巴细胞增殖反应。大量的肠道分泌型IgA淋巴细胞增殖反应，都说明出现感染是与保护力降低有关。（Ward 等.1996c;Yuan 和 Saif 2002）。

轮状病毒感染或口服疫苗后,蛋白特异性抗体反应是以轮状病毒的内壳蛋白VP6为主,一种非中和性抗原,由 VP4, NSP2, NSP4和VP7感染之后产生(Change等.2001;Yuan 等.2004)。虽然VP6是最主要的免疫原性蛋白,但是由VP2/6类似的病毒粒子调控的VP6抗原不能使新生仔猪(Azevedo 等.2004;Gonzalez等.2004;Josef 等.2002;Nguyen 等.2003;Yuan 等.2000,2001b)或口服接种疫苗后的新生2-6天的小鼠(Coste 等.2000)产生保护力。这些结果表明,VP6产生的抗体不足以保护动物不受轮状病毒感染(Yuan 和 Saif 2003)。轮状病毒VP4和VP7的外壳蛋白能够诱导产生病毒的中和抗体,与猪群的保护力无关(Hoshino等.1988)。

## 免疫防御

猪和人轮状病毒的免疫防御与肠道和血清产生的中和抗体IgA相关(Azevedo等.2004;Coulsen 等.1992;Coulsen 等.1998)。轮状病毒感染后,T细胞和B细胞在免疫防御中的作用早有研究,但是仅局限于成年鼠的研究(Franco和Greenberg的观点.2000)。轮状病毒感染后,主要通过淋巴细胞增殖的方法对仔猪(Ward等.1996c)、羔羊(Bruce 等.1995)、小牛(Oldham 等.1993)和人(Offit 等.1993)的CD4+Th细胞反应等进行研究。除小鼠以外,仅在小牛注射MAbs后,使CD4和CD8细胞全部消除,然后才可检测到CD8+在T细胞免疫防御中的作用(Oldham等.1993)。这些研究者表明,虽然CD8+T细胞可以保护机体不受轮状病毒感染,在感染初期可限制并清除轮状病毒,且CD4+T细胞在粘膜抗体反应中也起着重要作用(Oldham 等.1993)。

虽然VP4和VP7产生的血清特异性病毒中和抗体相互之间是独立的(同型免疫),但是它们可以缩短持续期,降低血清交叉反应病毒中和抗体的水平(异型免疫)(Hoshino和Kapikian的观点,2000)。若要区分轮状病毒的血清群和血清型,初级感染或疫苗接种后的交叉保护性最小或不出现,但是重复感染或疫苗攻毒(甚至是同型轮状病毒),异型轮状病毒仍可使其感染(Chiba 等.1993;Gorrell和 Gishop 1999)。轮状病毒不同血清型和基因型的抗原差异对生产能够产生异型保护的疫苗提出了挑战。不同血清型来源的重组轮状病毒包含有VP4和VP7基因,可以用于制作针对每种血清型的多价疫苗(Hoshino 和 Kapikian 2000;Hoshion 等.1988)。



## 免疫接种

一周龄和断奶仔猪对A型轮状病毒最易感（Bohl 1979）。腹泻在两周龄以内出现的不多，可能是因为仔猪通过初乳获得了母源抗体。仔猪通过泌乳，可产生免疫球蛋白并获得循环性母源抗体。仔猪可以在出生后24-36小时后，一定范围内维持抗体水平（Wagstrom 等.2000）。之后，母源抗体不能再被肠道吸收，它仅可一定程度上保护肠道。后备母猪产的小猪要比经产母猪产下的仔猪对轮状病毒的易感性高，因为通常它们的母源抗体水平较低（Askaa 等. 1983; Gelberg 等.1991）。

轮状病毒感染后初乳（以IgG为主）和哺乳（分泌型IgA为主）中的特异性抗体给新生仔猪提供了较好的保护（Saif 1999）。分泌型IgA抗体能更有效的保护猪群的肠道，因为它们对消化酶裂解的抵抗力更强（Saif 和 Fernandez 1996）。血清中高水平的轮状病毒IgG抗体进入肠道后，保护力持续时间较短（Hodgins 等.1999;Parreno 等.1999.Parreno 等.2004;Ward 等 .1996a）。总的来说，哺乳期动物感染轮状病毒后一般表现亚临床症状，接种适当的抗体可防止机体并发腹泻。

## 疫苗免疫程序

目前商业上常用的轮状病毒疫苗主要用于免疫经产母猪及育肥猪。轮状病毒弱毒疫苗一般经口服接种，口服和肌肉注射（IM）。轮状病毒灭活疫苗经产母猪一般采用肌肉注射的方法，育肥猪采用腹腔注射的方法。这些疫苗的功效通常不稳定或比较差。

为预防断奶后仔猪腹泻，在哺乳期对仔猪进行免疫，因为母源抗体的存在，这种方法还存在许多问题。因此，需要改善疫苗质量及疫苗免疫程序。虽然口服免疫是一种最简单，最有效激活肠道SIgA反应的免疫方法，母源抗体会干扰新生仔猪免疫反应的产生（Hodgins 等.1999;Parreno 等.1999）。灭活疫苗经肠外注射后，由于母源抗体的干扰，效果可能较差。然而，灭活苗肌肉注射轮状病毒血清为阴性的仔猪，在肠道内不会产生SIgA反应或交叉保护（Yuan et al. 1998）。

除了传统的免疫方法，已经用没有感染轮状病毒的仔猪做过试验，佐剂的选择与免疫原和不同轮状病毒疫苗的保护率（重组杆状病毒表达的VLP和DNA疫苗）、给药途径等相关（Yuan 和 Saif 2002）。人轮状病毒弱毒株作为一种口服

剂，VLPs2/6后滴鼻或口服（Iosef 等.2002;Yuan 和 Saif 2002）或肌肉注射VP6DNA质粒（Yuan 等.2003）可有效地诱导肠道IgA抗体反应，并起到预防作用。但两倍剂量的上述物质接种是没有效果的。

这些结果表明，新型接种疫苗的方法能够防止猪感染肠道病毒。多价疫苗、疫苗的接种方法、黏附佐剂及转运载体可使疫苗达到最佳的保护力，或者去除母源抗体或改善轮状病毒疫苗的质量。

## 诊断

轮状病毒感染猪的临床症状不是单一的。诊断需要检测病毒、病毒抗原或病毒核酸（RNA）。轮状病毒是新生1-8周龄仔猪腹泻的原因之一。采集粪便排泄物、肠道内容物或部分病变组织用于诊断。轮状病毒在腹泻最初的24小时内，病毒含量最高。这段时间采集的病料是最关键的，可用于诊断轮状病毒，因为B群轮状病毒感染后，从开始到结束，所经历的时间很短（Bridger 1980; Theil 等.1985）。

检测轮状病毒有许多方法，包括电子显微镜（EM）、免疫电镜（IEM）、免疫组化（IHC）、免疫荧光试验（IF）等，对于冻结的病料或肠道内容物抹片，可用ELISA、病毒分离（VI）、凝集试验，斑点杂交、RT-PCR方法等（Kapikian 等.2001）。

电子显微镜技术已经广泛用于检测轮状病毒，而且解决了其他技术的一些难点。这种方法特异性较强，因为轮状病毒的形态是很特殊的。当检测样品较少时，电子显微镜技术是诊断轮状病毒最快速的方法，因为粪便可用磷钨酸保存，而且在收集后几分钟就可直接检测（Br和t 等.1981）。免疫电镜技术可区分不同群的轮状病毒（Saif 和 Jiang 1994）。

ELISA是检测粪便和肠道内容物中轮状病毒的常用方法。市售的诊断试剂盒可用于检测猪轮状病毒A群，捕获MAb的ELISA方法主要用于检测B、C群轮状病毒。（Yolken 等.1988;Ojeh 等.1992）。

病毒RNA电泳分型常用于检测和鉴别轮状病毒群。不同血清群的轮状病毒电泳型各不相同(如图26.2)，但电泳型只能提供对一种血清群的初步诊断，确诊还需进行血清学方法或核酸法复核。进行电泳分型，可不加处理地直接从粪便中分离病毒，用聚丙烯氨凝胶电泳分析(Paul等，1988b)或用CF-11纤维素层析法进行纯化(Theil等，1981)。凝胶中的RNA带可用溴化乙锭或银染法染色。

血清学试验对于轮状病毒感染的检测意义不是很大，因为大多数猪群体内都有抗体。然而，抗体滴度和同型性是动物处于免疫状态的标志。目前有许多技术可用于轮状病毒感染后血清学反应的监测。包括免疫荧光试验（IEM）、补体结合试验（CF）、血凝试验、ELISA、VN、血凝抑制试验和免疫细胞化学染色试验等等（Kapikian 等.2001）。

用于同型特异性MAbs诊断的ELISA方法可用于检测轮状病毒感染后的IgM，IgA和IgG抗体反应（Azevedo 等.2004;Parreno 等.1999;Paul 等.1989; Coulsen 等.1998）。轮状病毒血清群C可用ELISA阻断试剂盒检测（Tsunemitsu 等.1992a）。Plaque reduction 和 fluorescent focus reduction 中和试验都可用于中和抗体的检测（Hoshino 等.1984;Coulsen 等.1998）。中和试验是证明轮状病毒感染和血清特异性抗体反应最有意义的方法。用于检测重组表达的轮状病毒蛋白的免疫细胞化学试验，现已经可用于检测单一轮状病毒蛋白的抗体反应（Ishida 等.1997;Yuan 等.2004）。而且对于VP4和VP7依赖和非依赖性抗原的抗体检测非常灵敏。

核酸探针杂交试验是一种特异性强，敏感度高的检测轮状病毒RNA和鉴别基因群的方法（Johnson 等.1990;Koromyslov 等.1990;Ojeh 等.1993; Rosen 等.1990,1994;Zaberezhny 等.1994）。斑点杂交试验可用于检测纯化后的轮状病毒RNA，最小检测阈值为8pg。此方法比ELISA的敏感性高10-100倍（Flores 等.1983）。

目前检测轮状病毒A-C，E血清群及血清型常用RT-PCR方法（Barreiros 等.2003; Elschner 等.2002; Gouvea 等. 1994a,b; Martella 等. 2001; Pongsu-wanna 等. 1996; Winiarczyk 和 Gradzki 1999; Wini- arczyk等. 2002）。复式RT-PCR是检测A群轮状病毒G、P血清型灵敏度最高且最适用的方法。RT-PCR方法比标准electropherotyping方法灵敏度高100,000倍，比杂交试验高5000倍（Wilde 等 .1991;Xu 等.1990）。RT-PCR已用于检测轮状病毒B和C（Eiden 等.1991;Gouvea 等.1991）。

新建立的寡聚核苷酸微阵列杂交技术也可用于鉴别轮状病毒血清型（Chizhikov 等.2002）。这种方法用高灵敏度的RT-PCR方法与DNA杂交技术相结合，能够用于鉴定所有轮状病毒的G血清型。

## 防控措施

动物腹泻的治疗包括用抗生素，抗内分泌药物、吸附剂、液体电解质等治疗（Bywater 1983）。目前还无可用的专门治疗猪轮状病毒感染的特效药。推荐采用一般的支持疗法，通过改善管理措施和抗生素来降低由轮状病毒和继发细菌感染引起的死亡率（Paul 和 Stevenson 1999）。饲喂含葡萄糖甘氨酸的电解质流液，以最大限度地减少由轮状病毒感染引起的脱水和体重减轻（Bywater和Woode，1980）。口服L-谷氨酰胺可促进空肠对钠离子和氯离子的吸收（Rhoads 等.1991）。口服生长因子 $\alpha$ 可促进空肠粘膜的恢复，升高轮状病毒感染仔猪小肠的电阻值（Rhoads 等.1995）。鸡蛋富含轮状病毒抗原特有的Ig，可用作经产母猪的母乳添加剂用于预防2-3日龄仔猪腹泻病的发生。当然经产母猪的母乳效果更好（Hennig-Pauka 等.2003）。

合适的室温，如35℃可明显减少仔猪由轮状病毒腹泻引起的死亡（Steel 和 Torres –Medina 1984）。尽量不要使温度太低或波动范围太大。一直以来，断奶仔猪因腹泻而大批死亡是多数猪场普遍存在的问题，哺乳量和其程序应作一定的调整（Paul 和 Stevenson 1999）。高能量的饲喂对于降低轮状病毒的发病率和死亡率是非常关键的（Tzipori 等.1980b）。

绝大多数猪场轮状病毒感染可持续流行。轮状病毒在灰尘和有机物质中也可存活，在成年猪群中可持续性地呈亚临床感染（Benfield等，1982），所以，净化轮状病毒很困难。研究表明，环境中轮状病毒含量的不断增高，会使小猪的疾病更严重（Lecce等，1978），因而，管理措施应直接针对减少易感猪病毒负载，加强被动免疫（Barreiros 等.2003;Paul 和 Stevenson 1999;Saif 1985）。通过加强卫生管理可减少猪群的感染。通过清洁卫生和限制青年易感染猪与更可能排出病毒的老龄猪间的接触，可降低病毒的负载。产房和哺育室地板的建筑应尽可能地减少使用期内粪便堆积，且要易于清洁。研究表明，流动式饲喂的仔猪受轮状病毒的感染率比全进全出的猪群明显要低，表明饲喂的猪群存在于有轮状病毒的环境下，由于部分母源抗体的保护可激活免疫应答（Dewey 等.2003）。为增强被动免疫，应让后备母猪接触老母猪的粪便。要进行成功的免疫必须保证有足够的乳汁供应和有效哺乳，主要的是针对泌乳期饮食、食物吸收量、母猪舒适状况以及产房(箱)设计给予足够的重视（Paul 和 Stevenson 1999）。

## 猪呼肠孤病毒

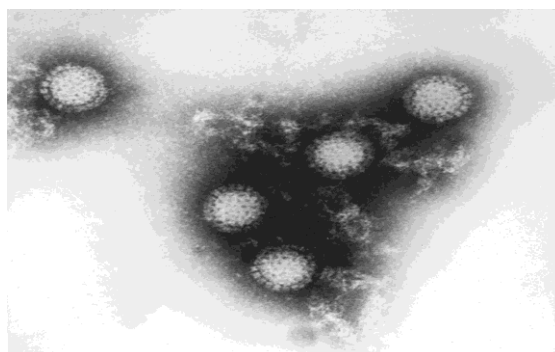
1951年发现了呼肠孤病毒（Tyler 2001），但其作用机制还不清楚（Kasza 1970;Kirkbride 和 McAdaragh 1978;McFerran 和 Connor 1970）。自然感染的猪呼肠孤病毒或其抗体几乎可在所有动物体内检测到（Tyler 2001;Yang 等.1976）。呼肠孤病毒感染主要引起呼吸道系统、胃肠系统和神经系统疾病（Hirahara 等.1988;Fukutomi 等.1996;Tyler 1998）。在呼吸道、肠道、生殖道及健康猪群体内均可检测到呼肠孤病毒。

## 病原学

呼肠孤病毒是第一类被命名为呼肠孤病毒属的病毒。另外两类是轮状病毒属和环状病毒属。Reo是呼吸和肠道综合症的缩写。主要是因为这种病毒与已知病毒都无关（Tyler 2001）。呼肠孤病毒是一种无囊膜，20面体的无规则粒子。直径75nm，内衣壳45-50nm（如图26.8）。

呼肠孤病毒有一段dsRNA基因（10个片段）。整个病毒粒子在氯化铯中密度为1.36g/ml。猪呼肠孤病毒在酸性条件下较稳定，对乙醚、氯仿和胰蛋白酶具有抵抗力，但是50℃加热1小时容易灭活。对0.1%的脱氧胆酸钠敏感（Hirahara 等.1988）。猪呼肠孤病毒可以产生红血球凝集素，在4℃、22℃、37℃能够凝集人O型及猪红血球。哺乳动物的呼肠孤病毒属于同一群抗原，可用补体结合试验，免疫荧光试验，免疫扩散试验等方法检测（Sabin 1959）。所有哺乳动物的轮状病毒都可被分为三种血清型：1，2，3。血清中和试验和血凝抑制试验可鉴别不同型的呼肠孤病毒。

许多种细胞都可以培养呼肠孤病毒（Hirahara 等.1988;Kasza 1970）。常用鼠L929纤维原细胞系作病毒的生长、纯化和空斑试验（Tyler 2001）。呼肠孤病毒复制比较缓慢，80%新生病毒在细胞内存活。呼肠孤病毒的细胞病变取决于所用的细胞系。通常圆形细胞会变成粒状，与单层细胞分离。培养过程中，姬姆萨染色可观察到嗜曙红细胞、胞质、包涵体等（Paul 和 Stevenson 1999）。



## 26.8 电子显微镜观察染色的轮状病毒粒子 (×115, 000)

### 流行病学

呼肠孤病毒在猪群中流行普遍。三种型几乎所有的猪都可检测到 (Fukumi 等.1969;Harkness 等.1971;Yang 等.1976)。它是由粪便经口感染或经呼吸道感染。其抗体在新生仔猪体内可存活11周左右,任何年龄的猪对呼肠孤病毒均有易感性 (Watt 1978)。

### 临床症状

患有呼吸道疾病或胃肠道疾病及临床症状健康的猪群体内、流产胎儿等都可分离到呼肠孤病毒 (Elazhary 等.1978;Kasza 1970;McFerran 等.1971;Robl 等.1971)。接种感染有时不会发病。I 型猪或人呼肠孤病毒经鼻内、腹腔或脑内接种1-6周龄清洁级仔猪,不产生临床症状,仅表现暂时的发烧 (Baskerville 等. 1971; Kasza 1970; McFerran 和 Connor 1970;McFerran 等. 1971; Watt 1978)。

呼肠孤病毒在接种24小时后由鼻腔分泌物和粪便排出,一般持续6-14天。通常断奶仔猪、经鼻内接种或由气溶胶传播的1型呼肠孤病毒所感染的猪表现呼吸道症状,主要是发热、打喷嚏、食欲不振、精神沉郁等 (Hirahara 等.1988)。呼肠孤病毒III型经静脉或肌肉注射血清呈阴性的,怀孕40-85天的经产母猪,可导致产木乃伊胎、死胎、弱胎等。而且可从经产母猪的流产排泄物和胎盘中分离出来 (Paul 和 Stevenson 1999)。

### 发病机理

呼肠孤病毒主要是在自然感染猪的呼吸道和肠道中复制。呼肠孤病毒的发病机理和病理变化目前主要是用小鼠来研究,所取得的进展对于病毒及病毒与宿主间的作用很有意义 (Tyler 2001)。小鼠经口服接种呼肠孤病毒后,能够经胃肠道传播到肠外组织,甚至感染中枢神经系统。

### 病理变化

呼肠孤病毒接种的研究表明,感染后很少有全身性病理变化,一般只显示局部显微病理变化。给1周龄断奶仔猪口服接种肠源的轮状病毒可导致空肠和回肠

绒毛萎缩(Elazhary 等.1978)。I 型呼肠孤病毒以气溶胶的形式感染4周龄的SPF仔猪,不会产生全身性病理变化,但会导致肺泡内外持续产生淋巴细胞和巨噬细胞的集聚,及支气管淋巴细胞肥大性增生(Baskerville 等.1971)。70Kg的SPF猪经鼻内接种呼吸道分离的III型呼肠孤病毒,可导致肺气肿、支气管瘤状淋巴细胞肥大性增生,主要是在肺的小叶之间,且程度不同(Paul 和 Stevenson 1999)。猪呼肠孤病毒引起的临床症状和病理变化也正在进一步研究中。

## 诊断

呼肠孤病毒的诊断方法与轮状病毒相似。常用病毒分离的方法进行诊断。利用三种呼肠孤病毒的抗血清,通过病毒中和试验和血凝抑制试验可以鉴定不同的血清型(Paul 和 Stevenson 1999)。

## 防制措施

目前呼肠孤病毒感染后还没有特异性的治疗方法。可能还无人报道呼肠孤病毒感染的临床意义。

(杨利峰 译 乔俊文 校)