

第 12 章 猪腺病毒

Steven B.Kleiboeker

四十年前，Haig 等（1964）第一次在一只腹泻仔猪的直肠拭子中分离到腺病毒。随后，Kasza 等（1966）在一只患有脑炎的猪脑内第二次分离到了腺病毒。此后，在大量样品中分离到了该病毒，包括患有肺炎、腹泻、肾损伤和脑炎的病料中。但是，在健康猪的粪便中亦可分离到腺病毒，并且大部分猪在感染后并无任何临床症状。近些年来，与人腺病毒相似，猪腺病毒广泛应用于表达载体和疫苗载体（Reddy 等）。

病原学

猪腺病毒的三个（A、B、C）毒株均属于腺病毒科哺乳动物腺病毒属。通过病毒中和实验，目前已经发现有六个血清型（Clarke 等，1967；Haig 等，1964；Hirahara 等，1990；Kadoi 等，1995；Kasza 等，1966）。血清型 1，2，3 型属于猪腺病毒 A 株，血清型 4 型属于猪腺病毒 B 株，而血清型 5 型则属于猪腺病毒 C 株（Buchen-Osmond 2003）。

猪腺病毒的结构、化学和物理特性与腺病毒科的其他成员相同。腺病毒颗粒直径 80~90nm，没有囊膜，20 面体立体对称。衣壳由 252 个壳微粒组成，其中 240 个壳微粒是六邻体，形成由等边三角形形成的 20 面体。位于 20 面体顶端的 12 个壳微粒是五邻体。每个五邻体由基底和伸出表面的一根长为 20-50nm 末端有顶球的纤维组成。通过负染电子显微镜可以观察到腺病毒颗粒呈标准的六边形（图 12.1），偶尔也能观察到纤维和顶球。

作为腺病毒科的共同特性之一，猪腺病毒基因为线型双链 DNA 分子。通过对多个血清型的猪腺病毒的基因序列分析和限制性片段图谱分析，发现猪腺病毒的基因大小约为 32-34 Kb（Kleiboeker 等，1993；Reddy 等，1998；Nagy 等，2001）。在复杂的 RNA 连接后又基因编码和翻译了大约 40 种蛋白质。大约三分之一的基因编码结构蛋白。与其他腺病毒一样，基因结构含有早期和晚期的阅读框。基因末端组成反向终止重复序列。

采用标准的病毒学技术，可以在原代猪肾细胞中分离到腺病毒。另外，还可

以在传代猪肾细胞，如 PK-15 细胞和原代猪细胞，Dea 和 Elazhary（1984）在甲状腺细胞和 Hirahara 等（1990）在睾丸细胞上都曾经进行过腺病毒分离物的增殖。病毒的体外增殖可产生细胞病变，如细胞肿大、聚集和变圆，随后可发生脱落。通常在攻毒后的 2-4 天可观察到细胞病变，进一步可破坏细胞单层。在染色后的单层细胞内可观察到包涵体。采用电子显微镜观察时，在胞核可以发现由透明病毒排列形成的包涵体。

流行病学

通过血清学调查表明猪腺病毒在全球范围均有流行。而在世界以及北美和欧洲范围内流行最广的是 B 毒株。

对腺病毒宿主没有进行过大范围研究，但是目前知道猪是唯一易感动物。猪对人腺病毒也易感。总体来说，腺病毒的宿主范围很窄，并且目前为止并无猪腺病毒感染人的报道。

虽然存在通过吸入感染性病毒粒子造成空气传播的可能性，腺病毒最初是通过粪便到口腔途径传播方式。病毒在断奶后的仔猪粪便中最常见（Derbyshire 等，1966）。从病毒感染到排毒的潜伏期还不清楚，病理学研究表明在感染 45 天后在肠道内发现病毒抗原，由此推测病毒的排毒潜伏期可能较长。成年猪很少排毒，并且体内的血清抗体滴度很高，究其原因可能是较高的血清滴度阻止了体内的病毒增殖。

腺病毒能够抵抗较高的温度，在室温下可存活 10 天，但采用普通的消毒剂即可将其杀灭，如漂白粉、福尔马林、酒精和苯酚（Derbyshire 和 Arkell 1971）。

致病机理

第一次是从患有神经性疾病的猪脑中分离到了猪腺病毒，但猪腺病毒病通常与肠道疾病相关，有时也伴发呼吸道疾病。一般是在吸入或食入病毒后感染，病毒最初在扁桃体和十二指肠末端增殖（Ducatelle 等，1982；Shadduck 等，1967；Sharpe 和 Jessett，1967）。怀孕母猪感染腺病毒后可导致流产，并且病毒可在胎儿的许多器官内复制（Dee，1995）。在某些病例中，猪腺病毒可能会导致继发感染或并发感染。例如，腺病毒血清型 4 型与肺炎支原体联合注射时可产生更加严重的肺炎（Kasza 等，1969）。

临床症状

在对仔猪进行实验注射感染后，发现的唯一持续性临床症状是腹泻（Coussement 等，1981；Derbyshire 等，1969；Derbyshire 等，1975；Sanford 和 Hoover，1983）。在未哺育初乳的情况下，通过滴鼻方式对仔猪进行攻毒，实验发现在 3-4 天后仔猪出现腹泻症状。因此，就目前来说，最常见的临床症状就是从水状腹泻到糊状腹泻的肠道性疾病。对猪进行实验性腺病毒感染并不会导致死亡，并且在自然感染情况下一般也不会发生死亡。根据病理学研究和临床报道，与呼吸系统疾病相比，腺病毒病更易伴发肠道性疾病。Dea 和 El Azhary（1984）报道 15%患呼吸系统疾病的成年猪为血清型 4 型阳性，但这并不意味着两者之间存在联系。虽然还没有足够的证据证明猪腺病毒能导致繁殖障碍，但已经从流产胎儿中分离到了该病毒（Dee 1995）。

病理变化

在感染猪腺病毒后一般不会造成全身性损伤。在实验性感染后，可发生一定程度的淋巴结肿大。胞核内观察到嗜碱性的包涵体是具有特征性的组织学损伤，说明有猪腺病毒感染。在空肠和回肠末端的肠细胞中包涵体最常见，因为这些部位是腺病毒的最初增殖部位（Ducatelle 等，1982）。通过实验性感染发现，病毒可引起上皮细胞的破坏以及空肠和回肠末端绒毛的缩短。自然感染和实验性感染腺病毒都可以引起的损伤包括伴有血管周围水肿和小神经胶质细胞团的脑膜脑炎以及伴有肾小管营养不良、毛细血管扩张和严重的肾小管周围水肿的肾损伤。腺病毒引发的肺炎为以由肺泡间隔细胞增生和炎性细胞浸润为特征的间质性肺炎。

诊断

腺病毒的鉴别诊断包括与肠道疾病和呼吸系统疾病的鉴别诊断。用于腺病毒的诊断技术有负染电子显微镜技术（EM，electron microscopy）和病毒分离技术。电子显微镜技术一般用于诊断来源于肠道的粪便中的病原。在浓度较大的情况下，根据病毒相对较大和特征性的形态学等特点，较容易识别病毒粒子。在细胞培养中，腺病毒特征性的细胞病变包括细胞变圆和细胞分离时形成的葡萄藤样的

团块。但是病毒分离对于进一步的确诊是很有必要的，比如在细胞培养基础上采用特异性抗血清或结合有荧光抗体（FA，fluorescent antibody）的抗血清的电子显微技术。在荧光抗体染色方面，美国国家兽医实验室（美国农业部，动物与植物健康管理中心，美国爱阿华州）已经研制出了抗猪腺病毒荧光抗体，但这种抗体还不能识别所有毒株的猪腺病毒。虽然抗血清不容易找到，但可以尝试用病毒中和实验对新分离到的病毒进行血清型的分型。

在血清学诊断检测腺病毒感染方面，也可以采用病毒中和技术，斑块减少中和试验或体外细胞感染病毒后的免疫荧光抗体试验。如果发现在浓度升高的同时伴有相应的临床症状，则说明机体感染了腺病毒。目前还没有商品化的猪腺病毒特异性血清学诊断方法，在科学研究文献方面目前也没有这种方法的报道。

在病死剖检病例中，在感染早期阶段可发现两嗜性到嗜碱性的腺病毒包涵体充满整个细胞核。在实验感染中，在攻毒 24 小时后可在细胞内发现病毒。在感染的晚期，可发现包涵体变小，并被一个光圈所环绕。包涵体主要集中在细胞边缘和绒毛部，可导致绒毛变短和脱落。病毒从感染开始可一直在体内持续存在至 45 天以后，采用免疫过氧化物酶可检测到病原（Ducatelle 等，1982）。与荧光抗体一样，特异性的猪腺病毒抗血清也可以从美国国家兽医实验室获得。如果在胞核内发现包涵体可以怀疑为腺病毒，进一步的确诊需要通过免疫荧光抗体或免疫组织化学方法发现病毒抗原。

迄今为止，只有 Maluquer de Motes（2004）等在一篇文献中报道了采用聚合酶链式反应（PCR，polymerase chain reaction）来诊断猪腺病毒。采用猪腺病毒血清型 3 的型一条单链可检测到粪便样品中的病毒。PCR 方法在其他血清型和其他样品中的检测目前还不清楚。

预防和治疗

没有特异性的抗病毒治疗措施。虽然腺病毒疫苗已经成功应用于其他动物，但根据目前猪腺病毒的流行程度，还没有必要开发疫苗和其他的防治措施。

（徐雪芳 译 杨秀进 校）