

第 19 章 猪肠道杯状病毒与星状病毒

猪肠道杯状病毒

猪肠道杯状病毒最早被美国和英国发现,从断奶猪和哺乳仔猪的腹泻粪便中通过电子显微镜检测到该种病毒 (Bridger,1980; Saif 等,1980)。对猪肠道杯状病毒还未开展广泛性研究,目前还不清楚它们在自然发生的猪病中所起的作用,但此病毒与所知的人类胃肠炎中的杯状病毒相对应 (Green 等,2001)。同样,有关牛肠道疾病中诺沃克病毒属的杯状病毒的研究也正在进行中 (Deng 等,2003; Oliver 等,2003; Smiley 等,2003; Wise 等,2004)。因此,鉴于它们在其它动物中作为疾病因子的作用,我们可以假设杯状病毒在猪肠道疾病中发挥着重要作用。鉴于有限的可利用数据,没有证据表明猪肠道杯状病毒威胁人类健康。

病原学

人类肠道杯状病毒分别属于诺沃克病毒属 (Norovirus) 和札幌病毒属 (Sapovirus) (Mayo,2002)。它们是人类胃肠炎的共同病原。猪杯状病毒也被确认属于诺沃克和札幌两种病毒属。

有关猪札幌病毒研究的最多,但目前只有一株 (PEC/Cowden) 研究的比较彻底 (Flynn 和 Saif,1988; Guo 等, 1999; Guo 等,2001; Parwani 等,1990; Saif 等,1980)。PEC/Cowden 有一个杯形轮廓呈典型杯状病毒的形态学特征 (图 19.1)。这种病毒直径大约 35nm, RNA 基因组为 7.320kb, 构成两个开放阅读框架。它与人类的札幌病毒和兔病毒属相似。按照最大氨基酸系统发生树进化史分类, PEC/Cowden 应与札幌病毒系同一组。但是 PEC/Cowden 被划分到基因组 III, 它是不同于人类札幌病毒的一个新的基因组 (Schuffenecker 等,2001; 图 19.2)。

与其它杯状病毒一样, PEC/Cowden 有一个重要的结构蛋白, 分子量为 58KD。肠道杯状病毒与非肠道杯状病毒间抗原的关联性还没有详细的研究。但是, 在美国 PEC/Cowden 与同属的猪札幌病毒在抗原性上与猪疱疹病毒、猫科动物杯状病毒无关联性 (Bridger,1980; Saif 等,1980)。在猪的札幌病毒中基因和抗原的突变还不清楚, 因为只有单独的一株被详细地研究。

PEC/Cowden 札幌病毒只在包含肠内容物的原代和传代猪肾细胞培养基上

才能生长 (LLC-PK)。到目前为止,它是唯一的可被培养的肠道杯状病毒(Flynn 和 Saif,1988; Parwani 等,1991)。作为最活跃因素的胆汁酸通过影响蛋白激酶 A 细胞的信号途径而使该种病毒生长 (Chang 等,2002; Chang 等,2004)。

关于猪的诺沃克病毒目前了解的不多。英国已报道它是一种形态学上不明确的病毒 (Bridger,1980),六个基因片段的序列彼此很相似。同时在荷兰和日本也已证明猪的这六个基因片段的序列与人类的诺沃克病毒基因序列很相似 (Sugieda 等,1998; Sugieda 和 Nakajima,2002; van Der Poel 等,2000; 图 19.2)。通过系统发生树比较,把猪该种病毒的基因序列划分为人类诺沃克病毒基因组 II,但是他们形成一个单独的基因簇而不同于人类的诺沃克病毒。另外,还需要数据证明是否人类与猪的诺沃克病毒在基因上有区别,是否人类与猪患有同一诺沃克病毒病。猪的诺沃克病毒还没有培养出来,目前还不知道它的理化、生化特性和其他生物学特性。

流行病学

猪肠道杯状病毒先后在美国 (Guo 等,1999; Saif 等,1980)、英国 (Bridger,1980)、荷兰 (van Der Poel 等,2000)、匈牙利 (Nagy 等,1996)、日本 (Shirai 等,1985; Sugieda 等,1998; Sugieda 和 Nakajima,2002)被确认。这种病毒在美国作为札幌病毒的典型。在荷兰和日本作为诺沃克病毒。在英国和匈牙利还没有从基因上标明类型。

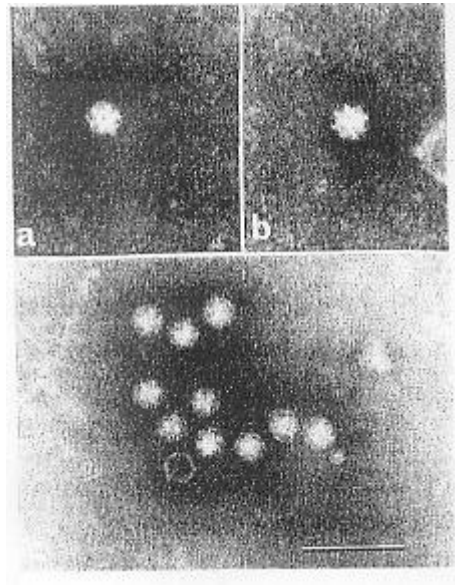
一项考察猪的札幌病毒与 PEC/Cowden 相关联的流行病学调查表明,从俄亥俄州与 PEC 有关的腹泻猪群内分离的 30 份母猪血清中至少 83 % 有抗 PEC/Cowden 的抗体 (Guo 等,2001b)。

现在已有两篇关于诺沃克病毒的报道。1997 年在日本从 26 个农场中收集到 1117 份健康猪的盲肠内容物样品,其中 4 份可通过 RT-PCR 检测到诺沃克病毒 (Sugieda 和 Nakajima,2002)。在荷兰(1998-1999),从 100 个农场中收集到的 3—9 月龄猪的粪便样品中,2 份可通过 RT-PCR 检测到诺沃克病毒(van Der Poel 等,2000)。但是这些研究可能过低的估计了猪诺沃克病毒感染的普遍性。因为 PCR 引物是根据人的诺沃克病毒设计的。另外,调查者们没有针对未断奶仔猪和断奶腹泻的小猪进行选择。

至此,对于猪肠道杯状病毒和自然疾病知之甚少。匈牙利的一项研究表明腹

泻与非腹泻的断奶猪和未断奶仔猪通过电子显微镜来检验猪肠道杯状病毒感染时，这种感染与腹泻并无联系(Nagy 等,1996)。

可以假定，自然界肠道杯状病毒是通过口腔和粪便传播的。肠道杯状病毒是否具有种属的特异性，还没有确定。我们可以假定猪的诺沃克病毒与人类诺沃克病毒基因上的相似性使其有可能成为人畜共患病(Sugieda 和 Nakajima,2002； van Der Poel 等,2000)。



19.1 电镜负染色.

图 a 和图 b：札幌病毒典型杯状病毒的形态学特征是有一个杯形轮廓，这种病毒直径大约 35nm。

图 c：星状病毒粒子，直径 30nm，外形上是独特的 5—6 个突出的星状（摘自《兽医记录》1980,107： 532-533）。

发病机理

用猪札幌病毒的 PEC/Cowden 进行试验性感染可导致该病的发生和肠道的损伤（Flynn 等,1988； Guo 等,2001a）。通过静脉注射 PEC/Cowden 和口服途径感染也可导致空肠、十二指肠的损伤及该病的发生，这对于滤过性的肠道病毒是不常见的。这种滤过性病毒在肠上皮细胞的复制可以用抗 PEC/Cowden 的抗血清进行免疫荧光检测到。现已证明杯状病毒粒子存在于肠道内容物和血液中，最早的病毒血症已被证明与肠道杯状病毒有关。病毒通过血液到达小肠和肠绒毛上皮细胞的机制还没有确定。当通过口腔途径感染时，从粪便中分离到 PEC/Cowden 至少需要 9 天，当通过静脉注射感染时，至少需要 8 天才能观察到从粪便中分离到

札幌病毒的 PEC/Cowden。

用猪诺沃克病毒进行试验性感染目前还没有报道。

临床症状

现已研究的猪札幌病毒的 PEC/Cowden 株通过口腔感染，潜伏期一般为 2—4 天，腹泻症状持续 3—7 天（Flynn 等,1988；Guo 等,2001a）。所有接种的猪都发生了感染，并出现中度到重度的腹泻症状。尽管在检查时已观察到肠道损伤的病变，对照猪和感染适应组织生长的 PEC 病毒的猪没有出现临床症状。

目前未见猪诺沃克病毒试验性感染的研究报道

病理变化

猪感染了 PEC/Cowden 所导致的肠道损伤与其他的肠道病毒性病原体如轮状病毒（Flynn 等,1988；Guo 等,2001a）所致的肠道损伤难以区别。损伤包括十二指肠和空肠绒毛的缩短、变钝、融合或者是消失。通过扫描电子显微镜观察，肠上皮细胞被不规则的微绒毛所覆盖。腺窝细胞增生，绒毛与腺窝比例减小，上皮细胞胞浆空泡变性。固有层多核细胞和单核细胞浸润。

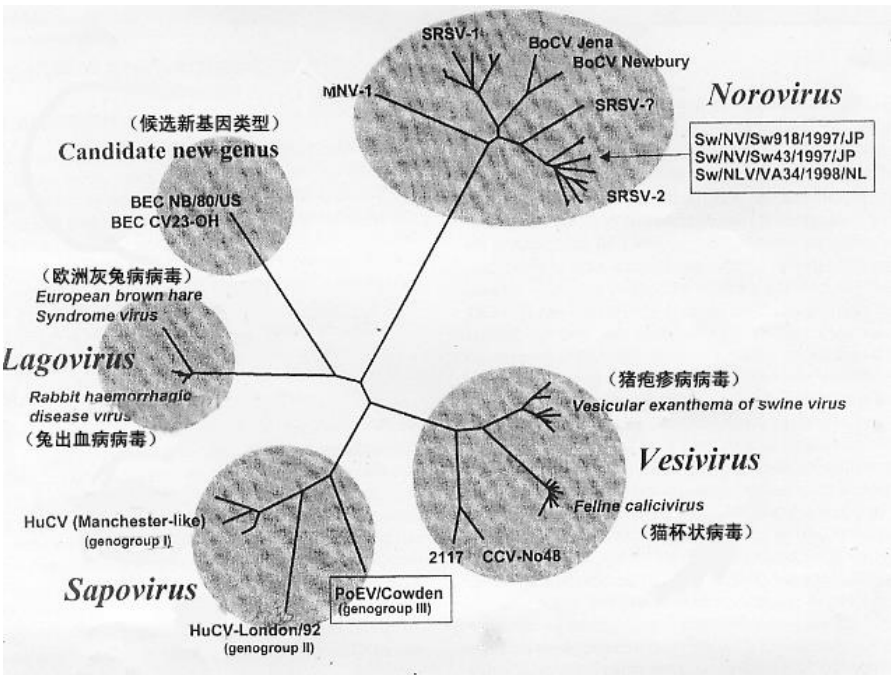


图 19.2 猪杯状病毒及其其它家族成员的壳蛋白根状进化树之间的关系。

所框出的为猪杯状病毒。其他四种病毒（水泡病毒、兔类病毒、诺沃克病毒、札幌病毒）及一个候选的新种类位于阴影部位。

免疫

针对猪的札幌病毒和诺沃克病毒的免疫应答、保护性免疫及（或）母源抗体的作用还未确定。尽管对猪札幌病毒肠外阶段致病认识提醒人们还有其他免疫机制参与该病的控制，目前仍认为它的保护性免疫机制可能与其他肠道病毒相似。猪的札幌病毒和诺沃克病毒感染可能对于人类相似病毒的保护性免疫提供有用的依据。

诊断

目前还没有建立实验室研究之外的诊断方法用于诊断猪札幌病毒和诺沃克病毒。2001 年 ELISA 建立并被应用于研究 PEC/Cowden (Guo 等,2001b)，通过 RT-PCR 可以检测到诺沃克病毒 (Sugieda 等,1998; Sugieda 和 Nakajima,2002; van Der Poel 等,2000)。

预防与疾病控制

猪的札幌病毒和诺沃克病毒与猪轮状病毒在流行病学与免疫学方面比较相似，当这些病毒持续存在于环境中，母猪很可能通过初乳中的母源抗体来抑制新生猪的肠道感染，避免发病。同样如果这些病毒与轮状病毒相似，它们也不可能从猪群中消除或阻止小猪的自然感染。在被感染的几个病例中发现口腔唾液传播的可能性最大。

猪星状病毒

猪的星状病毒最早是通过电子显微镜从猪腹泻的粪便中检测出来的 (Bridger,1980; Geyer 等,1994; Shimizu 等,1990)。它们在猪肠道疾病中的最终作用还未被确定。在一些动物中，例如人和羊的星状病毒已经与肠道疾病联系在一起 (Matsui 和 Greenberg, 2001)。但将该病毒注入小牛体内时，它不能引起牛的临床症状(Woode 和 Bridger,1978; Woode 等,1984)。

病原学

猪星状病毒是星状病毒家族的成员，星状病毒家族分为两大类：哺乳动物星状病毒和鸟类星状病毒。该病毒直径大约 30nm，无外壳包裹。通过负染电镜观察，星状病毒粒子在外形上清晰可辨，一些粒子外周有 5—6 个星形的表面（图

19.1; Bridger,1980; Shimizu 等,1990)。但不是所有的病毒粒子都有这种清晰的外观，特别是在抗体存在的条件下需要仔细辨认以防与诺沃克病毒相混淆。

基因组由长度 6.8-7.9Kb 的单股 RNA 组成的三个开放阅读框（Matsui 和 Greenberg, 2001）。2 株来自日本的猪星状病毒已被部分测序（Jonassen 等,2001; Lukashov 和 Goudsmit,2002; Wang 等,2001）。经系统发生树比较结果认定人类的星状病毒与猪的星状病毒归属于同一种类，但是它与羊类和鸟类的星状病毒没有多大关联（图 19.3）。有证据表明来自不同物种的星状病毒抗原性上是有区别的（Matsui 和 Greenberg, 2001）。例如抗猪星状病毒的抗体对牛的星状病毒无反应。

星状病毒目前还没有被广泛的研究。在日本来自腹泻猪的星状病毒可成功的在经过胰蛋白酶处理的猪肾细胞培养物上生长（Shimizu 等,1990）。通过免疫荧光可检测到细胞中的病毒粒子。浮力密度为 1.35g/ml 的病毒已被成功的克隆，并且血清中和实验也已应用于检测该种病毒。分离株在脂类溶剂中稳定存在，56℃30min 被灭活。在 pH3.0 时对酸不稳定。5 个结构蛋白的分子量为 13 KD-39KD。目前，星状病毒结构蛋白的数量还不确定，因物种的不同而不同（Matsui 和 Greenberg, 2001）。

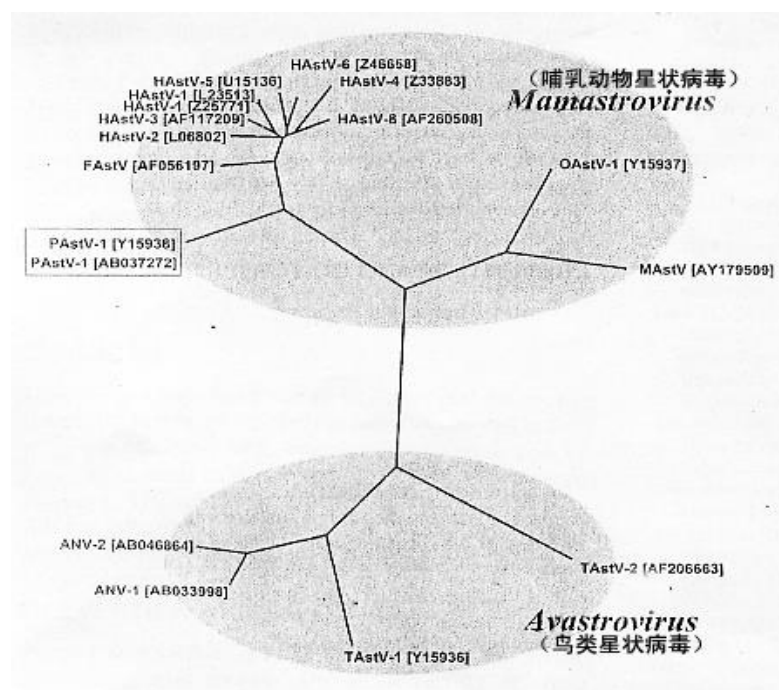


图 19.3 猪星状病毒和及其其它家族成员壳蛋白根状进化树之间的关系。

所框出的为猪星状病毒。其他两个病毒（哺乳动物星状病毒、鸟类星状病毒）位于阴影部位

流行病学

猪星状病毒先后在英国(Bridger,1980)、日本(Shimizu 等,1990)、南非(Geyer 等,1994)从猪的粪便中分离出来。在日本对 8 个猪群的 128 头猪进行血清学调查发现 39%的猪有该种星状病毒的血清中和抗体(Shimizu 等,1990)。除了一个猪群外,其余猪群都有该病毒抗体,阳性率为 7%—83%。据推测猪星状病毒是通过口腔—粪便传播的。

对进化的基因组间关系的研究表明,人类与动物的星状病毒属于不同的基因组(Jonassen 等,2001; Lukashov 和 Goudsmit,2002; 图 19.3)。但是基因数据表明以往的两个交叉物种(包括猪、猫、人)之间的传播可能通过中间宿主进行。交叉物种之间星状病毒的传染还没有被证明,星状病毒被认为具有物种的特异性。

发病机理 临床症状 病理变化 免疫

只有在其它已知的肠道病原存在的情况下,猪的星状病毒才与自然感染的重度腹泻有关联(Bridger,1980; Shimizu 等,1990)。用细胞培养物上的猪星状病毒对 4 日龄猪进行口腔感染,出现重度腹泻(Shimizu 等,1990)。接种后 1 天出现腹泻,并持续 5-6 天。引起细胞病变的星状病毒可以从粪便和猪血清中回收到。针对该病毒的肠道病理学还未进行研究。但是我们有理由认为星状病毒与通常断奶前后发生的腹泻的病变和症状有关。目前还不清楚星状病毒之间的抗原性或免疫原性的差异。

诊断

目前还没有常规诊断方法。而细胞培养分离法、免疫荧光和 RT-PCR 可用于诊断自然感染的猪星状病毒。血清中和反应和免疫荧光抗体检测也可用于该病毒的抗体检测(Shimizu 等,1990)。

预防控制

猪星状病毒是引起仔猪断奶前后腹泻的病毒之一。从感染的农场中消除该病毒比较困难,因为它们在自然环境中有抵抗力。另外,从临床诊断的基础上证明该种病毒的存在也是困难的。

假定星状病毒的病变局限于肠道内,口腔唾液是感染该病的有效途径。目前还没有商业化的疫苗可用。

(杨春晓 朱瑞良 译 刘思当 校)