

## 细小病毒科 (Parvoviridae)

### 一、概述

### 二、细小病毒属

- (一) 猪细小病毒
- (二) 猫泛白细胞减少症病毒
- (三) 水貂肠炎病毒
- (四) 犬细小病毒
- (五) 阿留申病病毒
- (六) 鹅细小病毒
- (七) 鸡细小病毒
- (八) 牛细小病毒
- (九) 马细小病毒
- (十) 兔细小病毒
- (十一) 仓鼠骨质溶解病毒
- (十二) 来自人传代细胞系的细小病毒

## 犬细小病毒

同义名: 犬细小 DNA 病毒。

犬细小病毒 (Canine parvovirus, CPV) 于 1978 年同时从澳大利亚 (Kely)、加拿大 (Thomson 等) 患肠炎的病犬中分离获得, 是继 1967 年 Binn 等从犬分离的第二种细小病毒, 它与 Binn 早期从健康犬分离的犬极小病毒 (Minute virus of

canine, MVC) 在致病性上显著不同, 抗原性上也有明显差异。CPV 可引起犬出血性腹泻和心肌炎, 并使白细胞大量减少, 在幼犬中的发病率和死亡率都很高, 症状与猫泛白细胞减少症相似。而 MVC 的致病性迄今尚未明确, 虽然某些犬群的抗体阳性率很高(达 70%)。

本病虽发现时间不长, 但在欧、美等一些商业性饲犬场, 相继有流行和造成幼犬群损失的报道。除上述最早报道的两个国家外, 已相继在美国、英国、德国和法国发现, 当前已成为犬的一种重要传染病, 我国亦有本病的暴发流行, 并已分离获得多株病毒, 研究报道日趋增多, 并发现它在抗原性上与猫泛白细胞减少症病毒有密切关系。

Rhode (1985)、Reed (1988) 分别克隆了犬细小病毒的衣壳蛋白基因和全基因组, 并测定了核苷酸序列, 基因组全长 5233nt

## 1. 形态和理化特性

CPV 具有本属病毒的典型形态和结构, 粪便中负染的病毒颗粒外观呈圆形或六边形, 直径约 20nm, 核酸由单股 DNA 组成, 其对外界因素的抵抗力与本属其他病毒相似。

## 2. 血凝性

本病毒血凝特性较强, 不仅能凝集猪猪的红细胞, 而且能凝集恒河猴的红细胞(都要求在 4℃ 温度下), 这一特性可作为病毒鉴定的参考指标。

## 3. 培养

CPV 能在多种不同类型的细胞内增殖, 此点与猫泛白细胞减少症和犬极小病毒不同。能在原代、次代猫胎肾细胞, 犬胎的肾、脾、胸腺和肠管细胞, 水貂肺细胞系 (CCL-64), 浣熊的唾液腺细胞以及牛胎脾细胞内增殖和传代。近年常用 MDCK 和 F81 等传代细胞分离培养病毒, CPV 增殖后可引起 F81 细胞脱落、崩解和破碎等明显的细胞病变, 病毒虽能在 MDCK 细胞内良好增殖, 但无明显细胞病变, 有时出现细胞圆缩, 并常形成核内包涵体。为查明是否有病毒增殖, 最好是取接种后 3~5 天的细胞单层作免疫荧光抗体染色, 当有病毒增殖时, 细胞核发出明显的荧光; 也可取培养液与猪或恒河猴红细胞作凝集试验凝集阳性表明有病毒增殖, 但不能肯定是 CPV, 和本属其他病毒对培养细胞的要求相同, 必须在种人细胞后不

久或同时接种病毒,才能达到增殖的目的,在感染的细胞核内能检出包涵体。

#### 4. 致病性

就目前所知,CPV 只感染犬,具有高度的接触传染性,各种年龄的犬都能感染,成年犬一般只出现感染后的免疫反应,常无可见临床症状,有时可能出现一过性的白细胞减少,但近来也常发现成年犬发生严重肠炎并死亡的严重病例。吮乳幼犬由于可能从母体获得抗体,所以也较少发病,断奶后的幼龄犬最为易感(尤其12周龄以下的),严重流行时,可在幼犬群中迅速传播。临床表现体温升高,精神沉郁,脱水,呕吐,排出粘液状或带血的稀便(出血性肠炎)。1岁以内的幼犬,还常发生心肌炎,8周周龄以内幼犬的死亡率高达70%,1岁犬也达30%。犬感染CPV时,经常首先看到心肌炎综合症,3~10周龄的幼犬突然死亡,死前常无临床症状,多数病例在应激兴奋期后死亡。耐过幼犬可能发生心肌损伤和心力衰竭,以不耐运动为特征,组织学病变为弥漫性非化脓性心肌炎,病畜白细胞数可减少90%(由正常犬的每毫升1.2万个减至每毫升千余个),这时可出现很高的死亡率,尤其发生在9~12周周龄的幼犬,于发病后5天不死亡的病犬,常可逐渐康复。本病发病率和死亡率的变动范围都很大,前者从50%~100%,后者从0%~50%。病理变化以空肠和回肠的肠炎变化最明显,粘膜发生坏死,肠内空虚或有少量淡黄带血的粘液,肠系膜淋巴结肿大,切面点状出血。作组织学检查时,可于肠腺上皮细胞内发现核内包涵体。

因在疾病过程中发生病毒血症,CPV 随粪便、尿、唾液和呕吐物大量排出于外界。健康易感犬直接接触病犬、摄入污染的食物和饮水或接触污染的食具、垫草等而遭受感染。

#### 5. 免疫

病犬康复后能获得坚强的免疫力。由母体初乳传给幼犬的被动免疫可持续4~5周幼犬断奶后即应进行疫苗接种。

在预防上最早使用的是福尔马林灭活的猫泛白细胞减少症疫苗,也曾少量试用过猫泛白细胞减少症弱毒疫苗,随后又相继研究出了CPV 灭活疫苗和弱毒疫苗。据1980年Lenghaus等的研究资料,虽然CPV和FPV之间具有共同抗原组分,能发生交叉血清学反应,但两者又各有其特性。两种病毒抗血清的交叉中和试验结果(血清稀释法)是:抗CPV血清对CPV的中和效价为1:4000而对FPV则为1:1000;

抗 FPV 血清对 FPV 的中和效价为 1:32000, 而对 CPV 则为 1:2000。另据 1979 年 Ape1 等的动物免疫和攻毒试验结果, 也看到了两种病毒抗原间的明显差别: 用 CPV 疫苗免疫的犬, 攻毒前血凝抑制抗体价为 1:3200~6400, 用 CPV 强毒攻击后, 抗体效价基本未动; 而用猫泛白细胞减少症疫苗免疫的犬, 攻毒前血凝抑制抗体效价为 1:160~320, 用 CPV 强毒攻击后, 抗体效价激增到 1:3200~6400。上述两项试验都表明这两种病毒抗原虽有共同组但又有自己的特异成分, 因此无论疫苗制造和特异性诊断方法都以应用 CPV 为宜,

Lope 等(1992)在昆虫杆状病毒表达系统中表达了 CPV 的 VP2 蛋白, 表达的 VP2 蛋白可自我装配成空衣壳。10g 表达蛋白与免疫佐剂一起可使犬产生良好的免疫反应。Langeveld 等(1994)合成的位于 VP2 氨基端 21 个氨基酸内有部分重叠的两段多肽, 分别免疫犬, 不但都能产生免疫保护反应, 还可用针对第二个多肽 3~10 个氨基酸的单克隆抗体可以区别疫苗接种和自然感染的犬。

## 6. 诊断

在熟悉本病流行特点和主要临床症状后, 尤其发生在幼犬的腹泻和出血性肠炎, 并伴发白细胞显著减少的传染性疾病, 即应联想到本病。在有电镜的条件下, 快速的诊断方法是采取患病犬粪便, 直接或加等量 PBS 后, 混匀, 以 3000r/min 离心 15 分钟, 取上清液加等量氯仿, 振荡 10 分钟, 再经同样上述离心处理, 吸取上清液, 以 2%磷钨酸(pH6.2)进行负染后镜检。可见大量直径约 20nm 圆形或六边形病毒粒子, 如能进行免疫电镜检查则更佳。

也可取发病早期的病犬粪便直接进行血凝试验。血凝效价常可高达 2000~4000 倍以上。发病后期粪便, 由于肠粘膜分抗体, 血凝性下降或消失, 但却经常出现血凝抑制作用, 此时进行电镜负染标本检查, 常可发现大块凝集的病毒粒子, 犹如免疫电镜所见。

分离病毒时, 为了去除粪便中的细菌, 除加入高浓度的抗生素外, 有条件时可对上述普通离心处理的滤液, 再以 10000r/min 离心 30 分钟。犬胎肾和猫胎肾原代细胞、F81 细胞系均可用于 CPV 的分离。最简便的病毒鉴定方法是接种后 3~5 天应用免疫荧光抗体检测细胞中的病毒或测定培养液的血凝性。

应用阳性血清, 进行血凝抑制试验, 也是鉴定病毒的有效方法。血凝抑制试验也可作为回顾性血清学诊断法或抗体调查手段。血清先经 56C30 分钟灭活, 并以

1/10 容量的 50%猪红细胞作预吸附处理,离心后,将上清液用含 0.1%牛血清白蛋白的 PBS 作连续倍倍稀释,随后向各稀释度四孔加入等量血凝抗原(含 4 个单位血凝素),混匀,室温下经 1 小时,加入等量的 1%猪红细胞悬液,混匀,在 4C 下放置 2~4 小时或过夜后判定。病程前、后期血清的血凝抑制效价,相差超过 4 倍以上的为阳性

#### (附)犬极小病毒(Minute virus of canine, MVC)

犬极小病毒是 1967 年 Binn 等从健康犬粪便中分出来的第一种犬细小 DNA 病毒,其致病性目前尚不清楚。它具有本属病毒所共有的形态和理化学特征,直径约 20~21nm 仅能在 5C 下凝集恒河猴和非洲绿猴的红细胞。交叉血凝抑制试验表明,它与细小病毒属的某些成员(H-1、MMV、RV、FPV、PPV、RTV、TVX 和 LuIII等)无共同抗原组分。病毒的细胞感染范围很窄,仅能在犬的一种上皮细胞系内增殖,并形成大型核内包涵体

至于 MVC 与 CPV 的关系,有人认为两者是同一种病毒的不同病原性的毒株,但也有人根据两者不同的培养特性和不一致的血清学关系,认为两者是不同种的病毒。