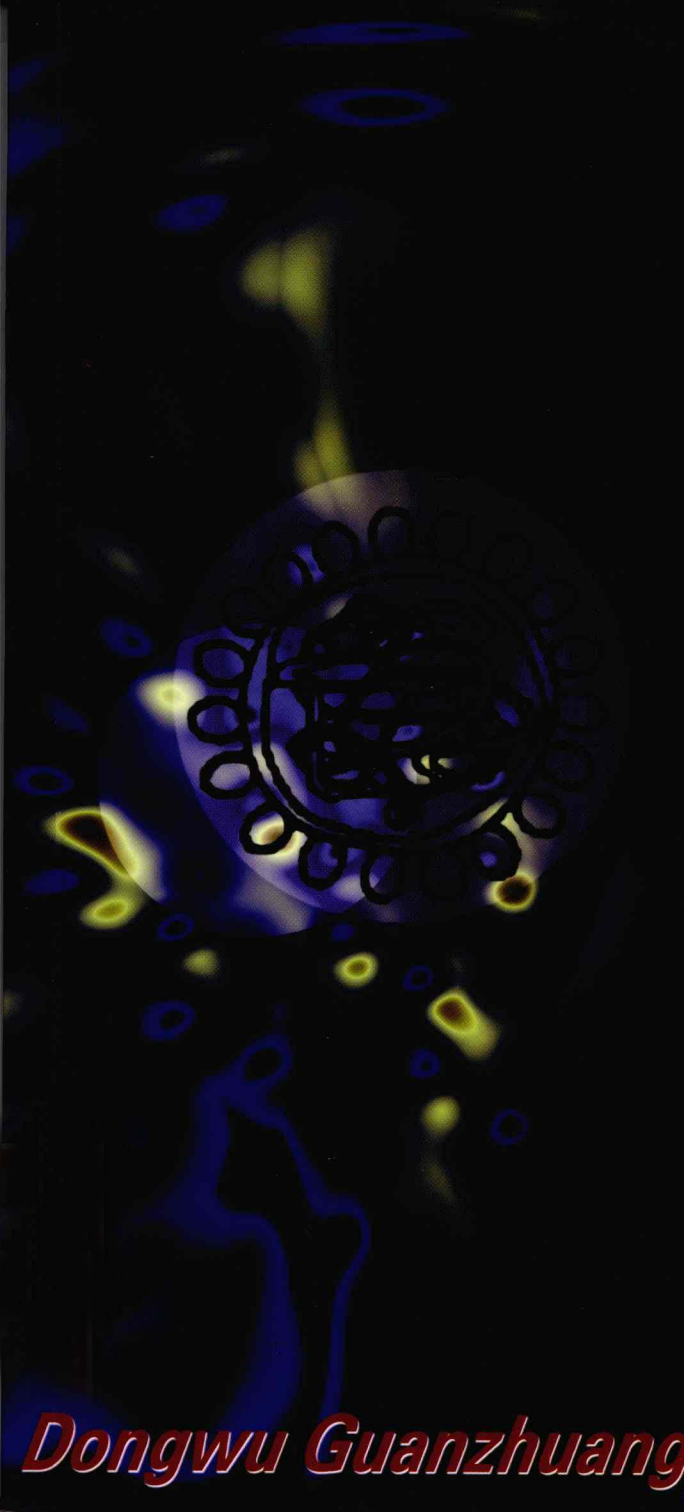


# 动物冠状病毒病

云南省兽医防疫总站  
昆明市动物疫病预防控制中心  
● 编

云南科技出版社

*Dongwu Guanzhuangbingdubing*



# 动物冠状病毒病

云南省兽医防疫总站 编  
昆明市动物疫病预防控制中心

云南科技出版社

昆明

图书在版编目(CIP)数据

动物冠状病毒病/李春棣等编. —昆明:云南科技出版社,2003.9

ISBN 7-5416-1861-6

I.动... II李... III.日冕形病毒—动物疾病:病毒病—诊疗 IV.S855.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 079455 号

云南科技出版社出版发行

(昆明市环城西路 609 号云南新闻出版大楼 邮政编码:650034)

云南国浩印刷有限公司印刷 全国新华书店经销

开本:850mm×1168mm 1/32 印张:7.375 字数:212 千字

2003 年 9 月第 1 版 2003 年 9 月第 1 次印刷

印数:1~3 050 册 定价:16.80 元

顾 问:杨志民 谢 晖 熊廷章 黄加富

主 编:李春棣 金卫华

编 委:(按姓氏笔画排列)

孔德会	王永贤	王昆华	杜 建
何晓辉	李金福	李春棣	李晓丹
李慧琳	吴海兴	张文东	张 刚
张应国	金卫华	周建国	唐丽华
董国栋			

---

---


## 序

有关动物疫病的书有很多,但专门介绍动物冠状病毒病的书很少。2002年冬到2003年春在一些国家和地区暴发流行传染性非典型性肺炎(非典),又叫严重急性呼吸道综合征(SARS),严重威胁着人类的健康和生命安全,造成了重大的经济损失。在证明冠状病毒是引发SARS的病原后,各国政府、科技工作者、动物疫病和人疫病预防控制部门高度重视冠状病毒和由冠状病毒引起的疫病。为了配合SARS防治工作,有效地预防和控制动物冠状病毒病,保障畜牧业安全生产、保护人类健康和生命安全,从事兽医科研和防疫工作的科技人员和基层兽医有必要学习掌握冠状病毒病基本知识。为此,云南省兽医防疫总站和昆明市动物疫病预防控制中心联合精心编写了《动物冠状病毒病》一书。

该书全面、系统地介绍了冠状病毒和相关凸隆病毒的基本特性、流行病学知识和常规实验室诊断方法。对17种动物冠状病毒病和两种凸隆病毒病从病原学、流行病学、病理学、诊断检测、预防控制和研究进展等方面做了详细描述。这不仅是一本供兽医防疫人员直接操作的专业书籍,而且对从事

兽医科研、教学和管理的技术人员也有重要参考价值。

该书由云南省兽医防疫总站、昆明市动物疫病预防控制中心组织有关专家和科技人员在 SARS 流行期间夜以继日,辛勤劳动编写而成,对正确认识冠状病毒病和传染性非典型性肺炎,贯彻依靠科学,战胜“非典”,做好动物疫病防制工作有重要意义。



2003年9月6日

---

---

## 前 言

冠状病毒所致的严重急性呼吸道综合征(SARS)在 2002 年冬到 2003 年春突如其来地侵袭了人类社会,造成巨大的经济损失。于是,冠状病毒病引起了人们的浓厚兴趣与高度重视。为了让各级兽医工作者以及广大读者能够全面系统地了解动物冠状病毒病,我们收集整理了有关动物冠状病毒病的资料,及时编写了《动物冠状病毒病》一书。参加编写本书的人员有云南省兽医防疫总站和昆明市动物疫病预防控制中心多年从事动物疫病预防与控制工作的科技人员。

本书共分 4 章,前三章系统地介绍了冠状病毒的基础知识,动物病毒流行病学知识,以及病毒病的一般实验室诊断方法。第四章介绍冠状病毒科两个属(冠状病毒属和凸隆病毒属)的动物病共 19 种,从历史分布、病原特点、流行病学、临床症状、发病机理、病理变化、检验与诊断、预防与治疗、研究进展等方面对每个病进行了全面详实的介绍。同时,我们把人类冠状病毒病的相关知识和有关传染病的条例法规也收录在册,以方便读者查阅。

本书在编写过程中,经过反复修改,但由于编者水平有

限,编写时间仓促,一些新资料的遗漏以及编写中的错误在所难免,敬请有关专家、同行及广大读者给予批评指正。

编 者

2003年9月6日



---

---

# 目 录

<b>第一章 冠状病毒病基础知识</b> .....	1
<b>第一节 冠状病毒在病毒分类中的地位</b> .....	1
<b>第二节 冠状病毒属</b> .....	2
一、形态特征 .....	2
二、理化学特性 .....	3
三、生物学特性 .....	4
四、病原性 .....	5
<b>第三节 凸隆病毒属</b> .....	6
一、形态结构 .....	6
二、理化学特性 .....	6
三、生物学特征 .....	7
四、病原性 .....	7
<b>第二章 动物病毒流行病学概述</b> .....	8
<b>第一节 病毒病分布常用指标</b> .....	9
一、常用定性描述术语 .....	9
二、常用定量描述术语.....	10
<b>第二节 病毒病的分布模式</b> .....	11
一、地区分布.....	11
二、时间分布.....	12
三、相关性研究.....	13
<b>第三节 病原学诊断</b> .....	15
一、电子显微镜技术.....	16
二、病毒的分离.....	22

三、病毒的鉴定	23
<b>第三章 动物冠状病毒病的一般实验室诊断</b>	<b>24</b>
第一节 冠状病毒的分离培养	24
第二节 冠状病毒病的免疫血清学试验	25
一、中和实验	25
二、血凝和血凝抑制试验	30
三、补体结合试验	31
四、凝集试验	33
五、琼脂扩散试验	35
六、免疫电泳试验	36
七、荧光抗体标记技术	36
八、酶标记抗体技术	40
第三节 聚合酶链反应	44
一、PCR 的基本原理和过程	44
二、PCR 技术的用途	45
<b>第四章 动物冠状病毒病</b>	<b>47</b>
第一节 冠状病毒属动物病	47
一、鸡传染性支气管炎	47
二、鸭冠状病毒性肠炎	69
三、火鸡蓝冠病	72
四、雉鸡冠状病毒性肾炎	80
五、猪传染性胃肠炎	81
六、猪流行性腹泻	97
七、猪血凝性脑脊髓炎	104
八、牛冠状病毒感染	110
九、犬冠状病毒病	119
十、猫肠道冠状病毒病	124
十一、猫传染性腹膜炎	127
十二、小鼠肝炎	131

十三、大鼠涎泪腺炎 .....	137
十四、大鼠冠状病毒感染 .....	142
十五、兔胸水渗出病 .....	146
十六、小熊猫冠状病毒性腹泻 .....	149
十七、水貂流行性腹泻 .....	150
第二节 凸隆病毒属动物病 .....	152
一、马伯尔尼病毒病 .....	152
二、牛布里达病毒病 .....	154
附录 1 人类的冠状病毒病 .....	156
附录 2 WHO 相关实验室公布的 SARS 冠状病毒的存活力数据 汇编 .....	169
附录 3 冠状病毒分离用细胞和实验动物 .....	171
附录 4 主要专业词汇英汉对照 .....	173
附录 5 中华人民共和国动物防疫法 .....	175
附录 6 一、二、三类动物疫病病种名录 .....	184
附录 7 动物疫情报告管理办法 .....	186
附录 8 突发公共卫生事件应急条例 .....	189
附录 9 中华人民共和国传染病防治法 .....	199
附录 10 中华人民共和国传染病防治法实施办法 .....	207
参考文献 .....	223

---

---

# 第一章 冠状病毒基础知识

冠状病毒又名日冕病毒。目前所知,冠状病毒科的病毒只感染脊椎动物,与多种动物和人的疾病有关。本科病毒具有胃肠道、呼吸道和神经系统嗜性,分别引起相应的症候群。

冠状病毒科原先只包含 1 个属,即冠状病毒属(*Coronavirus*)。1991 年,在国际病毒分类委员会(ICTV)第五次报告中,又增加了 1 个新属——凸隆病毒属。冠状病毒属主要包括鸡传染性支气管炎病毒、猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒、猪血凝性脑脊髓炎病毒、小鼠肝炎病毒、火鸡蓝冠病病毒、新生犊牛腹泻冠状病毒、幼驹胃肠炎冠状病毒、犬冠状病毒、猫传染性腹膜炎冠状病毒、大鼠冠状病毒、大鼠涎腺炎冠状病毒、人呼吸道冠状病毒、人肠道冠状病毒等 10 余种重要病原性病毒。凸隆病毒属中目前已发现的仅有伯尔尼病毒、布里达病毒和人类凸隆病毒等,其病原学意义迄今尚未充分阐明。

## 第一节 冠状病毒在病毒分类中的地位

根据国际病毒分类委员会(International committee on taxonomy of viruses, ICTV)的分类报告,目前可把所有已知病毒分为 233 个属。其中,204 个属归于 64 个科,脊椎动物病毒为主的有 27 科,无脊椎动物为主的有 5 科,其余分别为植物病毒、细菌病毒(噬菌体)、真菌病毒、藻类和霉形体病毒。科下设属,有的科还分亚科,科和属是病毒分类的最主要单位。

ICTV 从第 6 次分类报告开始,把病毒分为 3 大类:DNA 病毒类、

DNA 反转录与 RNA 反转录病毒类、RNA 病毒类。

但是,根据病毒进化系统发生学的关系,第 7 次分类报告,在部分科之上建立了 3 个目,其中,1 个尾病毒目(Caudovirales)涉及噬菌体,2 个涉及动物病毒,分别是单负股病毒目(Mononegavirales)及套式病毒目(Nidovirales)。而套式病毒目下设冠状病毒科和动脉病毒科 2 个科,冠状病毒科下设冠状病毒属及凸隆病毒属 2 个属,其分类如图 1-1 所示。

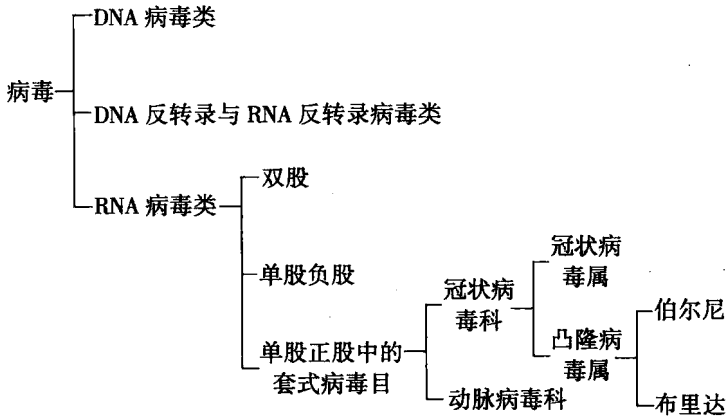


图 1-1 病毒的分类

## 第二节 冠状病毒属

### 一、形态特征

根据鸡、火鸡、小鼠、大鼠、猪、犊牛和人冠状病毒的负染标本,证明本属病毒为多形态,略呈球形,直径 80~160nm,有囊膜,囊膜表面覆有

长 12 ~ 24nm 的突起,突起末端呈球状,故整个突起呈花瓣状或梨状。突起之间有较宽的间隙。囊膜突起(即纤突)规则地排列成皇冠状,冠状病毒的名称即由此而来。

有关病毒粒子内核衣壳的结构,迄今尚未完全了解清楚。Bingham 和 Almeida(1977)两氏发现了鸡传染性支气管炎病毒的内部形态。核衣壳由形成螺旋的 9nm 宽的核糖核蛋白构成,呈长颈瓶样或圈状。Robb 氏等(1979)应用透射电镜观察,在小鼠肝炎病毒感染的 17CL-16 细胞和 BALB/C 小鼠脑内,也看到病毒工厂(毒浆)内和出芽早期的核衣壳呈明显的马蹄状或长颈瓶样结构。其他冠状病毒是否也有类似的内部结构,有待阐明。

## 二、理化特性

冠状病毒含有 RNA、蛋白质、碳水化合物和脂质。基因组由不段的单股 RNA 组成,分子量为  $6 \sim 8 \times 10^6$  道尔顿,有感染性,属正股,含有共价结合的聚腺苷酸,大多在其 3' 末端,尚未在病毒粒子内测出有依赖 RNA 的 RNA 聚合酶和 DNA 聚合酶。

猪传染性胃肠炎病毒和猪血凝性脑脊髓炎病毒基因组的沉淀系数为 60 ~ 70S,加热后可分离出 35S 和 4S 的组分。小鼠肝炎病毒基因组的沉淀系数为 60S,在小鼠肝炎病毒感染的小白鼠肝内,可以检出 16S RNA 组分。人冠状病毒的沉淀系数为 70S,鸡传染性支气管炎病毒的蔗糖浮密度为 1.14 ~ 1.12g/ml,牛、猪和人冠状病毒的蔗糖浮密度在 1.16 ~ 1.20g/ml 之间,鸡、牛和猪冠状病毒的氯化铯浮密度为 1.20 ~ 1.23g/ml。

冠状病毒有 4 ~ 6 种结构蛋白质,其中 2 种以上是糖基化蛋白质。一种主要的非糖基化蛋白质,分子量约 45000 ~ 65000 道尔顿,可能是核衣壳蛋白质(IBV、TGEV、MHV)。HEV 的病毒粒子中含有脂糖蛋白。

构成冠状病毒纤突的主要是糖蛋白。对 6 种不同冠状病毒用菠萝蛋白酶处理,表明冠状病毒的纤突仅有 1 种或 2 种蛋白质。纤突的存

在使新生犊牛腹泻病毒和血凝性脑脊髓炎病毒具有血凝作用。囊膜内含有 2~3 种蛋白质,其中至少有一种是糖基化蛋白质。应用去垢剂 NP40 处理或用菠萝蛋白酶进行消化,可见 IBV 的囊膜内含有蛋白质 VP97、VP81 和 VP33。TGEV 的囊膜不含有 GP30 和 GP28。

脂蛋白囊膜内含宿主抗原,在用抗宿主细胞的免疫血清(内含补体)处理,可使病毒囊膜出现空洞,与用免疫溶血素处理红细胞膜的结果相似。用原代猪肾细胞或继代猪甲状腺细胞培养的 TGEV 的脂质成分与整个细胞的脂质成分进行比较,TGEV 的脂质成分与宿主细胞的脂质成分完全一致,说明病毒粒子的脂质来源于宿主细胞。

各学者有关冠状病毒蛋白质、脂质和碳水化合物等的化学组成的报道存在着巨大差别。这不仅是因为各位学者研究的病毒种类或毒株不同,而且也由于采用了不同的测定方法,当然也反映了冠状病毒粒子本身的结构复杂性。

冠状病毒对乙醚、氯仿和其他脂溶剂敏感,不耐热。对酸的敏感性,各种冠状病毒不尽相同,一般对 pH3 以下敏感。

### 三、生物学特性

冠状病毒能在多种细胞上增殖,各种冠状病毒的适应细胞如下:鸡传染性支气管炎病毒适应鸡胚、幼鸡气管环器官培养、原代雏鸡肾细胞。犬冠状病毒适应原代狗肾细胞。猫冠状病毒适应原代幼猫腹膜细胞。猪传染性胃肠炎病毒和猪血凝性脑脊髓炎病毒适应原代猪肾细胞、脾细胞、甲状腺细胞和睾丸细胞。新生犊牛腹泻冠状病毒适应恒河猴肾细胞、胎牛肾细胞。小鼠肝炎病毒适应鼠巨噬细胞、鼠 DBT 细胞、鼠 17CL-1 细胞。人冠状病毒适应继代人胚肾细胞、WI-38 细胞、HeLa 细胞、人胚气管环器官培养、L132 细胞、人胚肺细胞。一般说来,冠状病毒的分离培养比较困难。大多数冠状病毒感染具有 2~4 小时的隐蔽期,于感染后 12~16 小时产生大量的子代病毒。病毒吸附过程与细胞表面的特异性受体和病毒的纤突有关。病毒侵入细胞的方式有

二:一为细胞对病毒的吞饮,二为病毒囊膜与细胞融合。IBV 以病毒吞饮为主要方式,其他病毒则同时存在两种方式。NCDCV 就是通过囊膜与细胞膜融合的方式侵入犊牛的小肠细胞。敏感细胞在感染冠状病毒后,可能出现以下 4 种病毒特异性 RNA:①基因 RNA;②双股复制中间体;③许多分散存在的 mRNA;④不完全的 RNA。

脱壳过程发生于胞浆内。正股基因 RNA 呈现 mRNA 的作用,在病毒脱壳后活化,指导病毒特异性 RNA 聚合酶(复制酶)的合成,由此复制出相补的负股 RNA,并由转录酶由负股 RNA 转录出许多散在的 mRNA。

病毒蛋白质的合成,发生于聚核蛋白体上。

核衣壳的装配发生在胞浆的病毒工厂(毒浆)内,并在内质网和高尔基氏体的囊状膜上出芽成熟。某些病毒就在此时附加囊膜突起——纤突。但是,并非所有的出芽成熟病毒都有纤突。冠状病毒看来并不在细胞膜上出芽,虽然有时可在胞膜内发现病毒特异性抗原。

聚集于感染细胞胞浆空泡内的病毒粒子借助空泡与细胞膜的融合或在细胞溶崩时释出细胞外。

#### 四、病原性

冠状病毒的自然宿主范围很广,从禽至人。冠状病毒的发病机理尚不很清楚,动物年龄、遗传因素、感染途径和病毒株等可能都呈现影响。病毒经口、鼻感染后,对淋巴细胞、网状内皮细胞、上皮细胞和实质细胞呈现杀细胞作用,从而损害多种器官。慢性感染时可能发生第三型过敏反应性疾病。冠状病毒急性感染之后,还可能发生持续性感染,病毒在细胞与细胞之间慢性传播,引起细胞死亡和器官病理变化。这种现象已在小鼠肝炎病毒得到证实。其他冠状病毒,如鸡传染性支气管炎病毒、人冠状病毒也可能发生持续性感染。



### 第三节 凸隆病毒属

凸隆病毒属(*Torovirus*)是冠状病毒科中新增加的1个属,其成员主要包括马伯尔尼(*Berne*)病毒、牛布赖达(*Breda*)病毒及人凸隆病毒等,其中马伯尔尼病毒为本属病毒的代表种。

自1972年在瑞士首都伯尔尼首次发现马伯尔尼病毒以来,有关凸隆病毒感染的报道已见于瑞士、美国、英国、法国和德国,但免疫学试验表明,在奥地利、荷兰等欧洲国家以及北美洲的某些动物都存在这类病毒的安装。

#### 一、形态结构

本属病毒形态多样,主要呈球形、卵圆形和肾形,最大直径120~140nm,有时呈棒状,大小35nm×170nm,有囊膜,囊膜表面带有纤突,约20nm,纤突末端呈球状,核衣壳呈长管状,螺旋对称,并在囊膜内卷曲成环状。

#### 二、理化学特性

$S_{20w} = 380 \sim 400$ ,蔗糖浮密度为1.16~1.17g/cm<sup>3</sup>,在pH2.5至pH9.7中稳定。RNA为单股正链线状,大于20kb,有感染性,3'末端具有poly A尾。病毒粒子有3种主要蛋白质:核衣壳蛋白,分子量约为18kD;囊膜蛋白,分子量约为26kD;纤突蛋白,分子量约为200kD,为糖基化蛋白。