

綜論：沙門達正布尼亞病毒

李璠*

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

摘要 沙門達正布尼亞病毒屬於週邊布尼亞病毒科、正布尼亞病毒屬，牛是目前已知唯一的易感動物。牛感染沙門達正布尼亞病毒通常呈不顯性感染；懷孕母牛感染可能導致犢牛先天畸形。犢牛的先天畸形包括扭頸、關節攣縮、脊柱彎曲、顱部畸形、側腦室擴張、中腦發育不全。東亞地區目前僅日本與韓國有沙門達正布尼亞病毒感染的病毒學及血清學證據。

關鍵字：沙門達正布尼亞病毒、牛、先天畸形

緒言

依據美國疾病控制中心的資料記載，發現沙門達正布尼亞病毒(*Shamonda orthobunyavirus*)的是奈及利亞伊巴丹大學(University of Ibadan)的伊巴丹病毒實驗室(Ibadan Virus Laboratory)，1965年這種病毒首次自屠宰場的牛血中分離到，第一個分離株的編號是「An 5550」[3, 4]。

沙門達正布尼亞病毒在2017年重新命名前原名沙門達病毒(*Shamonda virus*)，屬於週邊布尼亞病毒科(暫譯；family *Peribunyaviridae*)、正布尼亞病毒屬(genus *Orthobunyavirus*)。正布尼亞病毒屬包含了51種病毒，除了赤羽正布尼亞病毒(*Akabane orthobunyavirus*)、薩蘇佩里正布尼亞病毒(*Sathuperi orthobunyavirus*)、舒尼正布尼亞病毒(*Shuni orthobunyavirus*)、辛布正布尼亞病毒(*Simbu orthobunyavirus*)等[11]。

沙門達正布尼亞病毒的成熟病毒顆粒具有封套，病毒的基因體包含三條線狀的負相單股RNA，依其長度命名為長(Long, L)、中(Medium, M)、短(Short, S)片段。L片段帶有RNA聚合酶(或稱L蛋白)基因；M片段帶有Gn、Gc二種封套醣蛋白基因及NSm非結構蛋白基因；S片段帶有核蛋白基因及NSs非結構蛋白基因[20]。核蛋白及醣蛋白基因的核苷酸序列分析顯示，沙門達正布尼亞病毒與薩蘇佩里

正布尼亞病毒及道格拉斯病毒(Douglas virus)的親緣關係最接近[17]。然而，如果分別以三個片段進行親緣關係分析，S片段和L片段的親緣樹均呈現沙門達正布尼亞病毒與施馬倫貝格病毒(*Schmallenberg virus*)最接近；但M片段的親緣樹中沙門達正布尼亞病毒與赤羽正布尼亞病毒、皮騰病毒(*Peaton virus*)等病毒的親緣關係較接近，施馬倫貝格病毒則位於較遠的另一支[7, 21]。因此，施馬倫貝格病毒的基因體片段可能分別來自沙門達正布尼亞病毒與薩蘇佩里正布尼亞病毒[21]。

易感動物

牛是沙門達正布尼亞病毒目前所知唯一能感染的脊椎動物，沒有其他脊椎動物感染沙門達正布尼亞病毒的文獻。

傳播方式

由於沙門達正布尼亞病毒曾在庫蠅(Biting midge; *Culicoides* spp.)的體內檢出[13, 20]，庫蠅這類小型吸血昆蟲的叮咬應是沙門達正布尼亞病毒的重要傳播途徑。

症狀與病變

有關沙門達正布尼亞病毒感染牛之後的症狀與病變描述並不多，也沒有文獻記載沙門達正布尼亞病毒的人工感染試驗，在亞洲地區主要的資訊是日

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

本鹿兒島中央家畜保健衛生所平島宜昌(Yoshimasa Hirashima)等人的調查報告[16, 17]。

因沙門達正布尼亞病毒感染的流、死產小牛，四肢有時會彎曲而呈現不正常的姿勢。從病例的統計上，小牛出現扭頸(Torticollis)或關節攣縮(Arthrogyriposis)的病例佔六成以上，頭部變形和脊柱彎曲是外觀上最容易觀察到的典型病變。剖檢的時候可以觀察到脊柱呈S型彎曲。大腦半球通常正常，但是也有少數病例出現側腦室輕度擴張和中腦發育不全[7]。

在組織病理學方面，中樞神經系統有多發性鈣化，單核球性的血管周圍浸潤；膠質細胞增生(Gliosis)常見於大腦和腦幹。脊髓腹角的神經細胞數目減少且灰質與白質的界線變得模糊。有時可見到骨骼肌發炎、肌纖維萎縮或被脂肪置換是骨骼肌常見的病變，肌肉色澤異常的病例約佔三分之一。如果以免疫組織化學染色，可以在中樞神經組織內檢測到病毒的抗原[6]。

流行病學與疫情

根據過去的調查，沙門達正布尼亞病毒曾被發現的區域包括非洲、中東及亞洲[20]。曾發現該病毒或牛隻血清抗體呈陽性反應的非洲國家為奈及利亞[3]、坦尚尼亞[14]。

沙門達正布尼亞病毒在東亞地區國家僅有日本曾提出病例報告[20]。2002年日本的農業食品產業技術綜合研究機構動物衛生研究部門九州支所的梁瀨徹(Tohru Yanase)等人在鹿耳島市以捕蟲燈捕獲的庫蠓及採集自宮崎縣的牛隻血漿中分離到未曾發現過的病毒，經過血清學及核酸序列的鑑定，證實其為沙門達正布尼亞病毒。梁瀨徹等人推測這種病毒應該是透過季風引進日本九州的。血清學調查顯示除了2002年九州南端的鹿耳島縣與宮崎縣以外，在2002年與2007年在沖繩縣南部石垣島(Ishigaki)、西表島(Iriomote)、與那國島(Yonaguni)等島嶼採集的血漿，也曾檢測出沙門達正布尼亞病毒的抗體[10]。除了日本之外，韓國在2013年至2015年進行的小規模血清學調查，顯示受檢牛隻的抗體陽性率為5.6% [8]。

臨床與實驗室診斷

沙門達正布尼亞病毒的診斷，除了臨床上常見的畸形犢牛外，還必須綜合剖檢病變與實驗室檢測結果。

由於正布尼亞病毒屬內的病毒繁多，若一一檢測將消耗大量的檢測資源。日本利用單一轉錄聚合酶連鎖反應(Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)先檢測是否含有境內曾發現的正布尼亞病毒，陽性檢體再進一步鑑別，是一種較為務實的程序。該種RT-PCR組合了AKAI206F引子(5'-CACAAACCAAGTGTGCGATCTTA-3')[16]及SimbuS637-656引子(5'-GAGAATCCAGATTTAGCCCA-3')[9]，熱循環反應條件為反轉錄攝氏50度30分鐘，接著在94度2分鐘後開始進行94度30秒、55度30秒、68度45秒10個循環，然後進行94度30秒、55度30秒、68度45秒(最後一個步驟每個循環增加5秒，即45秒、50秒、55秒...)25個循環；最後在68度加熱7分鐘後結束反應。反應產物在1%TAE瓊脂膠體電泳後觀察。利用這個方法不僅可以檢測到沙門達病毒(包含奈及利亞最早分離到的An 5550分離株)，該研究中選用的15株赤羽正布尼亞病毒、4株愛奴病毒(Aino virus)、5株皮騰病毒(包含一株澳大利亞分離株)、4株薩蘇佩里正布尼亞病毒均可以檢出。

沙門達正布尼亞病毒可以利用幼齡倉鼠腎臟細胞(Baby hamster kidney cell; BHK-21)、倉鼠肺臟細胞(Hamster lung cell; HmLu-1)進行病毒分離[6, 20]。

血清學檢測方面，抗體力價可用病毒中和試驗(Virus neutralization test) 檢測；病毒中和試驗使用的細胞是HmLu-1細胞株，整個檢測需時7日。病毒中和試驗的待測牛血清必須先以攝氏56度、30分鐘進行去除補體活性的處理，然後以不含血清的培養液在96孔盤進行2倍至64倍的連續稀釋。每個稀釋倍數的血清與等體積的病毒液(內含100 TCID₅₀的沙門達病毒)充分混合，置於攝氏37度、5%二氧化碳的環境下作用1小時，然後加入100 μl 以GIT培養液(和光純藥株式會社[Wako Pure

Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan])懸浮的HmLu-1細胞。細胞在攝氏37度、5%二氧化碳的環境下培養7日，以能抑制細胞病變效應的最高稀釋倍數的倒數作為抗體力價。陽性血清的抗體力價應大於或等於8倍[10]。

治療

沒有特殊藥物可以治療沙門達正布尼亞病毒感染或其他布尼亞病毒感染的感染。

討論與結語

由沙門達正布尼亞病毒寥寥可數的文獻記載來看，這個病毒對養牛產業的影響，在遠東地區遠不及赤羽正布尼亞病毒、愛奴病毒。對於我國的獸醫師而言，認識這個看似冷僻的病原，其意義在於拓展小牛發生流死產病例時，類症鑑別時腦中浮現的疾病清單。

母牛懷孕時，能夠因感染而造成胎牛或新生犢牛先天畸形的病原種類很多，除了沙門達正布尼亞病毒之外，牛病毒性下痢病毒、施馬倫貝格病毒、藍舌病病毒、赤羽正布尼亞病毒、愛奴病毒、中山病病毒(Chuzan virus, CV)等，都會導致胎牛中樞神經系統或骨骼肌肉系統的畸形(表一)，雖然無法僅憑藉臨床上的觀察就判斷病因，但畸形的病理樣態仍然可以提供獸醫師診斷的方向。沙門達正布尼亞病毒感染後引起的先天畸形包括側腦室擴張、中腦發

育不全、脊柱彎曲、扭頸、關節攣縮、骨骼肌病變[6]。牛病毒性下痢病毒與藍舌病病毒引起的先天畸形以腦部為主，對脊柱和四肢較無影響。脊柱的畸形僅見於沙門達正布尼亞病毒與施馬倫貝格病毒感染；骨骼肌病變僅見於沙門達正布尼亞病毒與藍舌病病毒感染，但二者的組織病理學變化不同[1]。

目前我國未曾有任何實驗室分離到沙門達正布尼亞病毒，也未出現確診病例，但由於日本的病例與抗體陽性牛隻分布在國境南隅的鹿耳島、宮崎、沖繩等縣，以其他節肢動物媒介動物傳染病的經驗來看，若發現我國境內存有這種病毒，其實並不意外。以牛流行熱為例，我國與日本在近十年牛流行熱疫情的病毒分離株中，均發現新的病毒株中有些病毒株的G蛋白核苷酸序列與鄰近國家的病毒株相似度高於國內既有的病毒株[7, 18, 19]。我國[12]與澳大利亞[2]的藍舌病病毒分離株，從親緣關係上也可以發現與鄰近國家有關。尤其Kato等人[10]的血清學監測顯示，位於我國東岸僅百餘公里的石垣島、西表島、與那國島等島嶼均檢出沙門達正布尼亞病毒抗體陽性的牛隻，透過季風將攜帶病毒的病媒昆蟲搬運入境內的風險的確存在。

本文整理了沙門達正布尼亞病毒的病原特性、臨床表徵、流行病學及診斷方法等資訊，盼能作為獸醫師從事牛隻傳染病診斷與研究之參考。

表一、母牛懷孕期間感染沙門達正布尼亞病毒(*Shamonda orthobunyavirus*, SHAV)、牛病毒性下痢病毒(Bovine viral diarrhea, BVDV)、施馬倫貝格病毒(*Schmallenberg virus*, SBV)、藍舌病病毒(*Bluetongue virus*, BTV)、赤羽正布尼亞病毒(*Akabane orthobunyavirus*, AKV)、愛奴病毒(*Aino virus*, AV)、中山病病毒(*Chuzan virus*, CV)引起犏牛畸形的比較。(修改自 Agerholm 等的論文[1])

病變	SHAV	BVDV	SBV	BTV	AKV/AV	CV
水腦(hydranencephaly)		○	○	○	○	○
孔洞腦(porencephaly)		○	○	○	○	
側腦室擴張(hydrocephalus)	○	○	○	○		
小腦症(microencephaly)		○	○	○	○	
中腦發育不全(cerebellar hypoplasia)	○	○	○	○		○
脊柱上彎(kyphosis)	○		○			
脊柱下彎(lordosis)	○		○			
脊柱側彎(scoliosis)			○			
扭頸(torticollis)	○		○			
關節攣縮(arthrogryposis)	○		○		○	
骨骼肌病變(lesions of skeletal muscles)	○			○		
心臟及肺臟異常(cardiac and pulmonary abnormalities)			○			

參考文獻

- Agerholm JS, Hewicker-Trautwein M, Peperkamp K, Windsor PA. Virus-induced congenital malformations in cattle. *Acta Vet Scand*. 57: 54, 2015.
- Boyle DB, Bulach DM, Amos-Ritchie R, Adams MM, Walker PJ, Weir R. Genomic sequences of Australian bluetongue virus prototype serotypes reveal global relationships and possible entry routes into Australia. *J Virol*. 86: 6724-6731, 2012.
- Causey OR, Kemp GE, Causey CE, Lee VH. Isolations of Simbu-group viruses in Ibadan, Nigeria 1964-1969, including the new types Sango, Shamonda, Sabo and Shuni. *Ann Trop Med Parasitol*. 66: 357-362, 1972.
- Centers for Diseases Control and Prevention. Arbovirus Catalog: <https://wwwn.cdc.gov/arbocat/VirusDetails.aspx?ID=436&SID=5>.
- Hirashima Y, Sakaguchi Z, Okada D, Fujioka M, Kitahara S, Iwamoto J, Yanase T, Fujisono S. Retrospective survey of Shamonda virus infection in sentinel and breeding cattle and in malformed calves in Kagoshima Prefecture. *J Jpn Vet Med Assoc*. 70: 729-734, 2017.
- Hirashima Y, Kitahara S, Kato T, Shirafuji H, Tanaka S, Yanase T. Congenital malformations of calves infected with Shamonda virus, Southern Japan. *Emerg Infect Dis*. 23: 993-996, 2017.
- Hirashima Y, Nojiri M, Ohtsuka Y, Kato T, Shirafuji H, Kurazono M, Imafuji T, Yanase T. Resurgence of bovine ephemeral fever in mainland Japan in 2015 after a 23-year absence. *J Vet Med Sci*. 79: 904-911, 2017.
- Jun K, Yanaka T, Lee KK, Lee JB. Seroprevalence of bovine arboviruses belonging to genus Orthobunyavirus in South Korea. *J Vet Med Sci*. In press, 2018.
- Kato T, Matsumoto H, Hirashima Y, Shirafuji H, Yamakawa M, Yanase T. Improvement of RT-PCR assay for detection of Orthobunyaviruses isolated in Japan. *Bull Natl Inst Anim Health*. 119: 47-52, 2013.

10. Kato T, Yanase T, Suzuki M, Katagiri Y, Ikemiyagi K, Takayoshi K, Shirafuji H, Ohashi S, Yoshida K, Yamakawa M, Tsuda T. Monitoring for bovine arboviruses in the most southern islands in Japan between 1994 and 2014. *BMC Vet Res.* 12: 125, 2016.
11. Kinney RM, Calisher CH. Antigenic relationships among Simbu serogroup (Bunyaviridae) viruses. *Am J Trop Med Hyg.* 30: 1307-1318, 1981.
12. Lee F, Ting LJ, Lee MS, Chang WM, Wang FI. Genetic analysis of two Taiwanese bluetongue virus isolates. *Vet Microbiol.* 148: 140-149, 2011.
13. Lee VH. Isolation of viruses from field populations of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Nigeria. *J Med Entomol.* 16: 76-79, 1979.
14. Mathew C, Klevar S, Elbers ARW, van der Poel WHM, Kirkland PD, Godfroid J, Mdegela RH, Mwamengele G, Stokstad M. Detection of serum neutralizing antibodies to Simbu serogroup viruses in Cattle in Tanzania. *BMC Vet Res.* 11: 208, 2015.
15. Miura Y, Kubo M, Goto Y, Kono Y. Hydrancephaly-cerebellar hyperplasia in a newborn calf after infection of its dam with Chuzan virus. *Jpn J Vet Sci.* 52: 689-694, 1990.
16. Ohashi S, Yoshida K, Yanase T, Kato T, Tsuda T. Simultaneous detection of bovine arboviruses using single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Virol Methods.* 120: 79-85, 2004.
17. Saeed MF, Li L, Wang H, Weaver SC, Barrett ADT. Phylogeny of the Simbu serogroup of the genus *Bunyavirus*. *J Gen Virol.* 82: 2173-2181, 2001.
18. Ting LJ, Lee MS, Lee SH, Tsai HJ, Lee F. Relationships of bovine ephemeral fever epizootics to population immunity and virus variation. *Vet Microbiol.* 173: 241-248, 2014.
19. Ting LJ, Lee MS, Lin YL, Cheng MC, Lee F. Invasion of exotic bovine ephemeral fever virus into Taiwan into 2013-2014. *Vet Microbiol.* 182: 15-17, 2016.
20. Yanase T, Maeda K, Kato T, Nyuda S, Kamata H, Yamakawa M, Tsuda T. The resurgence of Shamonda virus, an African Simbu group virus of the genus *Orthobunyavirus*, in Japan. *Arch Virol.* 150: 360-369, 2005.
21. Yanase T, Kato T, Aizawa M, Shuto Y, Shirafuji H, Yamakawa M, Tsuda T. Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus *Orthobunyavirus* in nature: implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus. *Arch Virol.* 157: 1611-1616, 2012.

Shamonda Orthobunyavirus in Cattle: a Review

F Lee*

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture

Abstract Shamonda orthobunyavirus is a member of the genus *Orthobunyavirus* within the family *Peribunyaviridae*. Cattle is the only animal know to be susceptible to this virus. Infection of Shamonda orthobunyavirus in cattle is usually subclinical. Infection of pregnant dam may lead to congenital malformations in calves, characterized by torticollis, arthrogryposis, and spinal curvature. Head deformity, hydrocephalus, and cerebellar hypoplasia may be also observed. In East Asia, virological and serological evidence reveal that Shamonda orthobunyavirus exists in Japan and South Korea.

Keywords: *shamonda orthobunyavirus, cattle, congenital malformation*