

第 20 章 凝血性脑脊髓炎病毒

Maurice B. Pensaert

1962 年，在加拿大，从患脑脊髓炎的哺乳仔猪脑组织中分离到一种从前未认识的猪病毒病原（Greig 等，1962）。由于它引起脑脊髓炎而被称为凝血性脑脊髓炎病毒（HEV），后来将其分类为冠状病毒（Greig 等，1971；Phillip 等，1971）。1969 年，在英国从哺乳仔猪分离出一种抗原性相同的病毒，这些仔猪表现食欲不振，精神沉郁及呕吐，但没有明显的脑脊髓炎的症状（Cartwright 等，1969）。幸免于死的猪生长缓慢，因而称此为呕吐消耗病（VWD）。后来 Mengeling 和 Cutlip（1976）使用同一野外分离株，实验性复制出疾病的两种主要形式（即在临床上具有明显的脑脊髓炎和 VWD 表现）。虽然流行病学调查已证实猪受 HEV 感染很普遍，但自然发病并不多见。新生的仔猪通常从初乳获得被动抗体得以保护，以后产生与年龄相关的抵抗力，来防止病毒可能造成的临床疾病。因此，近年来有关猪与该病毒相互作用方面的研究显得不足。

病原学

HEV 分属于冠状病毒科的 2 群，本群的特征是存在一个血凝素—脂酶蛋白的编码基因（Gonzalez 等，2003）。2 群的其它成员包括：牛管状病毒（BCV），人呼吸系管状病毒 OC43（HCV-OC43）和小鼠肝炎病毒（MHV）。用 S2 探针对部分核苷酸的序列分析表明，HEV 与 BCV 和 HCV-OC43 的同源性分别为 92.6% 和 91.9%（Vieler 等，1995）。由中和试验（SN）、血凝抑制（HI）、IF 和免疫电镜技术证明了在 HEV 和牛管状病毒（BCV）之间存在一种抗原相关性。HEV 也与人呼吸系统冠状病毒 OC43（Kaye 等，1977）和小鼠肝炎病毒（Pedersen 等，1978）有关。已发现在 HEV 和火鸡管状病毒之间有轻度的交叉反应性（Dea 和 Tijssen，1989）。虽然 HEV 能够引发不同的临床症状，但已知的病毒仅有一个血清型。

在电镜下与其它冠状病毒很相似。负染的病毒粒子呈球形，直径为 120nm（Greig 等，1971）。棒形表面突起物排列成“日冕”状从囊膜凸出来。Lamontagne 等（1981）证明病毒粒子具有双层膜（一层外膜和一层内膜）包裹着髓芯。用电

镜观察被感染细胞，在胞浆的泡囊中能看到病毒粒子，它是通过内浆网的膜芽生装配而成（Ducatelle 等，1981）。

化学组成分析表明，病毒含有 RNA 和 5 种多肽，其中 4 种被糖基化，分子量在 31~180kD（Callebaut 和 Pensart, 1980; Greig 和 Girard, 1969; Pocock 和 Garwes, 1977）。氯化铯中的浮密度为 1.21g/cm^3 （Mengeling 和 Coria, 1972），酒石酸钾中为 1.18g/cm^3 （Greig 和 Bouillant, 1972）。

病毒在 pH 4~10 稳定，在 56°C 30min 病毒的感染性全部丧失，但在 4°C 7 天感染滴度仅下降 $0.8\log_{10}$ ，Greig 和 Girard（1969）证明 HEV 对脂溶剂敏感，包括脱氯胆汁酸钠在内。

Greig 等（1962）用原代猪肾（PK）细胞培养物首次分离了 HEV，他报道了细胞病变（CPE）是以明显的合胞体为特征。应用免疫荧光（IF）试验也可以证实 HEV 能在其他的猪细胞培养物中增殖，诸如成年猪的甲状腺、胎肺、睾丸细胞系、PK-15 细胞系（Pirtle, 1974）、IBRS₂ 细胞系（Chappuis 等，1975）、SK 细胞系（Lucas 和 Naphine 等，1971）、SK-K 细胞系（Hirano 等，1990）和猪胚胎肾 KSEK6 细胞系（Kadoi 等，1994）。已表明非猪源细胞培养物用于 HEV 的增殖是不易感的。

HEV 具有两种病毒相关血凝素：血凝素—脂酶和 S 蛋白（Sasseville 等，2002; Schultze 和 Herrler, 1993）。病毒能自发凝集小鼠、大鼠、鸡和几种其它种类动物的红细胞（Girard 等，1964），但尚未看到从红细胞上洗脱下来的病毒，这些种类的红细胞在进行血吸附试验能够检验病毒在接种的细胞培养物中是否生长。

猪是 HEV 的自然宿主，但是病毒可以适应实验性小鼠（Keye 等，1977; Yagami 等 1986）和豚鼠（Hirano 等，1993）在其上复制。在小鼠上，病毒是嗜神经的，并且发现鼠的易感性受鼠龄和接种途径的影响（Yagami 等，1993）。4 周龄的豚鼠在通过不同途径接种了 HEV 后死于脑炎（Hirano 等，1993）。

流行病学

已知猪是对 HEV 自然易感的唯一动物，大部分被感染的猪处于亚临床状态，疾病造成的经济意义小。在几个国家已调查 HEV 在猪群中的传播情况。在检验

猪血清中的 HEV 特异抗体时, HI 和 VN 的敏感性几乎相同 (Mengeling, 1975), 但是 VN 的特异性更好 (Sasaki 等, 2003)。血清学监测证明猪感染 HEV 是很普遍和世界性的, 在育肥猪中, 血清阳性率分别是: 加拿大为 31% (Girard 等, 1964)、北爱尔兰 46% (McFerran 等, 1971)、英格兰 49% (Cartwright 和 Lucas, 1970)、日本 52% (Hirai 等, 1974)、德国 75% (Hess 和 Bachmann, 1978), 而在美国, 依据不同的检测地区阳性率为 0~89% (Mengeling, 1975)。在屠宰场带有抗体的母猪, 其百分比各异, 从北爱尔兰的 43% 到美国的 98%。在丹麦 (Sorensen, 1975)、澳大利亚 (Forman 等, 1979)、比利时 (Pensaert 等, 1980)、法国 (Vannier 等, 1981) 和奥地利 (Möstl, 1990) 也发现了大量血清阳性猪。相反, Neuvonen 等 (1982) 检查了 40 个芬兰优良种猪场, 没有血清阳性猪。

1984 年, 在日本从有呼吸疾病猪的呼吸道分离出了 HEV (Hirahara 等, 1987)。在台湾最早的病毒分离物是从 30~50 日龄有中枢神经疾病的猪上获得的 (Chang 等, 1993)。

在试验条件下, 当非免疫猪, 特别是在出生最初的几周, 以口鼻途径接触 HEV, 可造成发病 (Alexander, 1962; Appel 等, 1965), 但临床症状各异。在对几株 HEV 野外分离株毒力的比较研究中, 出现症状的严重程度与每株分离物的毒力有关 (Mengeling 和 Cutlip, 1976) 还与猪的易感性 (甚至同窝猪之间) 差异有关。然而, 较大的猪和已从初乳中获得了抗体的吃奶仔猪, 在相同条件下, 常常不出现临床症状 (Appel 等, 1965)。

据此我们可以解释: 为什么 HEV 在猪中很普遍而自然发病较少见的现象。在 HEV 呈地方性流行的猪场, 大多数猪从初乳中获得了保护性抗体, 且循环血液中母源抗体持续 4~18 周 (平均 10.5) (Paul 和 Mengeling, 1984)。随着时间的推移, 抗体衰退, 而猪已对疾病产生了与年龄相关的抵抗力。这种说法得到了血清学研究的证实, 在比利时的两个种猪场, 仔猪有初乳获得的被动免疫到 8~16 周龄时被亚临床感染而产生的主动免疫所替代 (Pensaert 等, 1980)。

目前关于 HEV 相关疾病发病的报道比较少。最近在加拿大的一个农场, 从发生呕吐和后期的麻痹的初生仔猪和早期段乳仔猪中分离到了 HEV (Sasseville 等, 2001)。值得注意的是, 这次分离到的 HEV 与 1962 年的 HEV-67N 在基因上同源性非常高 (Sasseville 等, 2002)。

临床症状

猪感染HEV后可能有两种临床症状：一种为急性，在临床上呈明显的脑脊髓炎；另一种为VWD。虽然较大的猪偶尔也会发生呕吐和短时的食欲不振及不爱动，甚至神经症状，但两种症状都是发生在3周龄以下的猪。在台湾确诊了30～50日龄的猪发生了由HEV引发的脑脊髓炎(Chang等，1993)。在台湾人的报道之前，仅在加拿大(Alexander等，1959)和美国(Werdin等，1976)报道了典型的脑脊髓类型。一般情况下这两种类型的表现形式很多，从急性脑炎到慢性 VWD的各种程度的症状均可出现。

在发生VWD的最初阶段，可能出现打喷嚏和咳嗽。在病毒接种后4～7天看到的主要症状是重复干呕和呕吐。4周龄以下的仔猪刚吃奶不久停止吸吮，离开母猪，把吃进去的奶又吐出来。它们常常挤在一起，弓着背，看起来苍白而不爱动。开始发病时体温升高，但1～2天内又恢复到正常范围。常能看到受感染的猪磨牙，把嘴伸到水槽中而饮水很少，如果根本不饮水的话则表明有咽麻痹的可能。长时间呕吐及摄食减少导致便秘和体质迅速下降。最小的仔猪几天后就会严重脱水，表现呼吸困难，发绀，陷入昏迷状态而死亡。较大的猪食欲消失，很快消瘦，虽然呕吐不像发病开始阶段那样频繁，但并没有停止。有些猪下颌处肿得很大。猪的这种“消耗”状态可能持续数周直到饿死。在同一窝猪中，死亡率近乎100%，而幸存者成为永久性僵猪。

脑脊髓炎类型的发病可能是从VWD开始。某些猪出生后4～7天就呕吐，呈间歇性，持续1～2天，不严重也不脱水。在某些发病猪中，开始的症状是急性沉郁，爱挤在一起。猪在出生后2天就能患病。偶尔可看到打喷嚏、咳嗽或上呼吸道不畅。体重迅速下降，毛色失去光泽而变得粗糙。

在1～3天后出现严重的脑脊髓炎症候。越小的猪受到的影响越大，表现出各种各样的神经症状。常可见全身肌肉颤动和神经质。能够站立起来的猪一般是步态蹒跚，往后退行，最后呈犬坐姿势。这些猪很快变得很虚弱，不能站立，四肢呈划浆状，鼻子和蹄子发绀，也可能出现失明、角弓反张及眼球颤动现象。最后猪变得虚脱、倒卧和呼吸困难，大部分病例在昏迷中死去。

小猪的死亡率一般是100%。在较大的猪最常见的是后身麻痹，一般是发病轻而短暂。少数病例麻痹伴随失明。

在台湾报道的30~50日龄猪发病的特点是发热，便秘，神经质，肌肉颤动，渐进性的前后肢麻痹，虚脱，卧地不起和划船样运动，其发病率为4%，而死亡率100%，猪是在出现临床症状后4~5天死亡(Chang等，1993)。

一窝猪从开始发病到发病停止或看不到症状的时间间隔一般要 2~3 周(Werdin 等，1976)。发病猪的消失与母猪产生免疫力并传给后代的时间相一致，表明猪感染 HEV 后产生了血清中和抗体和血凝抑制抗体(Pensaert 和 Callebaut，1974)。

发病机理

研究表明，HEV可在上呼吸道中复制，伴有或者不伴有临床症状。Mengeling等(1972)，Pensaert等(1980)和Hirahara等(1989)描述了从发病猪和健康猪的鼻腔、气管和肺分离到的HEV分离物。对50日龄的普通猪经口或鼻内接种后产生了呼吸症状，如打喷嚏和鼻分泌物等，但皮下接种和70日龄的猪鼻内接种没有产生呼吸症状(Hirahara等，1989)。Hirahara等 (1989)对没吃初乳的10日龄仔猪以鼻内接种仅产生了打喷嚏和鼻分泌物；脑内接种的7头猪中有2头出现了神经症状，8~10天的病毒通过口、鼻分泌物排出(Pensaert和Callebaut，1974 ;Hirahara等，1989)，通过接触鼻分泌物而感染。

在野外条件下多数感染呈亚临床过程，通过口、鼻接种，在没有吃初乳的猪上产生了典型的临床疾病。在对本病发病机理的一系列研究中，Andries和Pensaert(1980c)用一株从具有VWD症状的猪分离到的HEV病毒经口鼻接种了没有吃过初乳的新生仔猪，经过4天的潜伏期以后，出现了厌食和呕吐。接种后不同时间剖杀猪，用荧光抗体技术检查，结果揭示出病毒复制的主要部位是在鼻粘膜、扁桃体、肺和小肠的上皮细胞中。

病毒在接近侵入部位的局部复制后，通过外周神经蔓延到中枢神经(CNS)。至少包括三种途径，第一种途径是从鼻粘膜和扁桃体到三叉神经节和脑干的三叉神经传感核；第二种途径是沿着迷走神经通过迷走神经传感节到脑干的迷走传感核；第三种途径是从肠神经丛到脊髓，也是在局部传感节复制后到脊髓。较早的研究表明，毒血症在发病机理中可能意义不大或根本就没有意义(Andries和Pensaert，1980b)。

在CNS系统首先在延髓出现界线分明地感染,以后逐渐进入整个脑干、脊髓,有时也进入大脑和小脑。脑荧光着色总是严格地出现在神经元的核周体和突起(图20-1)。呕吐是由病毒在迷走神经节复制而诱发或是由不同位置受感染的神经元对呕吐中枢产生的刺激所引发(Andries, 1982)。

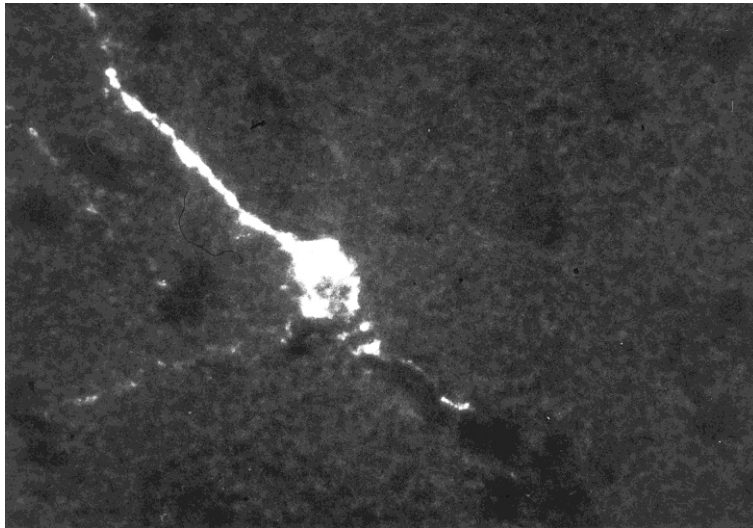


图20.1图示接种了HEV的一头猪,病毒在脑干复制,所见荧光为一个神经元的轴索和核周体,放大500倍

为了阐明消耗病的发病机理,采用慢性感染,切除迷走神经和正常、对照三组猪进行了放射学研究(Andries, 1982)。对照组猪胃排空 总是在 10 h 内完成,而 HEV 感染组,钡餐在猪胃中要保留 2~7 天。切除了双侧腹腔迷走神经组的猪,胃的排空很少紊乱。这说明感染 HEV 的猪 胃排空延迟并不仅仅是由早期病毒在迷走神经节和脑迷走神经核复制引起的,也可能病毒在胃壁内神经丛诱发的病变对胃内容物的滞留起着重要作用。认为胃排空紊乱在消耗病的发病机理中起着重要的作用。

病理变化

自然感染HEV有明显肉眼病变仅仅是报道于某些慢性感染的猪,表现为恶病质和腹部膨胀(Schlenstedt等, 1969; Hoorens等, 1977)。这样的病猪胃被气体充盈扩张。

在急性发病猪的扁桃腺、神经系统、呼吸系统和胃部可观察到显微镜下的病变。从急性发病阶段幸存下来的猪,其病变趋于消失。扁桃腺变化的特征是隐窝

上皮细胞变性和淋巴细胞浸润(Narita等, 1989a)。在自然感染的猪中有20%可看到鼻、气管、肺泡上皮的变性和伴有嗜中性白细胞和巨噬细胞浸润的支气管周围间质性肺炎(Hoorens等, 1977), 而实验性感染的猪中比例更高(Cutlip和Mengeling, 1972; Hirahara等, 1989)。

具有非化脓性脑炎病变的猪, 伴有神经症状的占70%~100%, 伴有VWD综合征的占20%~60%。病变以血管周围套、神经胶质细胞增生和神经元变性为特征(Richards和Savan, 1960; Alexander, 1962; Hoorens等, 1977; Narita等, 1989b; Chang等, 1993)。在脑桥、中脑灰质、延髓及脊髓背角表现最明显。这表明脑炎的病变是对HEV在CNS中复制的一种特异性免疫反应(Narita等, 1989b)。也出现外周神经神经节的神经炎变化, 尤其是在三叉神经神经节。

胃壁和肺脏的显微镜下变化只是在表现VWD综合征的猪身上才能看到。发病猪的15%~85%会有胃壁神经节的变性和外周血管套变化, 在幽门腺区表现最明显(Steinicke和Nielsen, 1959; Schlenstedt等, 1969; Hoorens等, 1977)。

诊断

在感染后刚出现症状时, 尽可能快地将发病仔猪杀死, 无菌采集扁桃体、脑和肺用做病毒分离, 以便最后确诊。当猪已发病超过2天时, 分离病毒会很困难。将被选择的组织制备成悬液, 接种到PK原代细胞或猪甲状腺次代细胞上, 当产生合胞体、血吸附和血凝作用时, 都表明有HEV存在(Andries和Pensaert, 1980a)。由于从感染HEV的猪采到的临床样品常常会含有很少量的感染性病毒, 建议用细胞和培养液进行一次盲传。

用SN、蚀斑减数或HI试验能够鉴定出抗病毒抗体(Mengeling, 1975; Sato等, 1983)。由于病毒的亚临床感染很普遍, 所以, 一定要仔细地测定抗体滴度。此外, 只有当临床症状刚出现就尽快拿到急性期血清时, 才能测到明显上升的抗体滴度。经过6~7天潜伏期后才发病的猪, 在这期间很可能已经有了高滴度的抗体, 这样获得双价血清滴度上升的结果实际上已经不可能了。

对HEV感染、捷申泰法病和伪狂犬病一定要进行鉴别诊断。后两种病造成脑脊髓炎的临床症状通常要比HEV感染的更严重, 并且不但在仔猪中出现, 在较大的猪中也出现。发生伪狂犬病时典型症状是大猪表现呼吸症状, 母猪表现流产。

这些病毒都能在PK和猪甲状腺细胞中生长，它们形成的CPE不同，是可区别的。还可以通过鉴别病毒的各种试验以及HEV产生血凝素对它们进一步区别。

预防与控制

在大部分猪场，HEV的感染成为持久性的地方流行，并且表现为一种呼吸途径的亚临床感染。常常是母猪在首次产仔之前就接触到了病毒，这样，通过初乳中的抗体保护后代仔猪，使其不表现临床症状。即使这些猪被感染了，也会呈亚临床型。只有在母猪产仔时没有获得免疫的情况下(如新建的猪场，或缺少足够的小猪而使病毒不能生存下来的小型猪场)，产下的仔猪在出生后1周内受到感染时才会表现出临床症状。在猪场保持有这种病毒会使处于初产的母猪获得免疫，为后代仔猪创造了一种预防发病的条件。

一旦临床症状明显了，病变将会随病程发展，极少自然康复。母猪发病后2~3周产出的仔猪一般可通过母源抗体获得保护，在这之前，由未产生免疫力的母猪产下的仔猪，可在出生时注射特异性高免血清予以保护。但诊断和发病终止间隔一般很短，使得这种做法并没有什么益处。

(亢文华 译 张中秋 校)