

西尼罗病毒研究进展

高志勇 庄辉

西尼罗病毒(West Nile virus)是 1937 年 12 月从非洲乌干达西尼罗地区 1 例发热女患者的血液标本中首先分离的,并因此而得名。最初,人们只认为它是非洲的一种地方病,直到 1957 年以色列发生西尼罗病毒性脑膜炎爆发后,才真正认识到该病毒的危害。此后,法国、南非也相继发生了该病的流行。20 世纪 90 年代以后,西尼罗病毒感染的流行地区扩大,阿尔及利亚(1994 年)、罗马尼亚(1996-1997 年)、捷克(1997 年)、刚果(1998 年)、俄罗斯(1999 年)、以色列(2000 年)和美国(1999-2003 年)等先后发生西尼罗病毒感染^[1],波及非洲、欧洲、中东、西亚、中亚、大洋州和北美洲等广大地区,流行呈扩大趋势。至今我国尚未发现本病,值得提高警惕,防止该病毒从国外传入。

1. 美国西尼罗病毒感染状况:1999 年 8 月,纽约爆发伴有肌无力的特殊脑炎,流行病学调查提示,该病是由节肢动物传播的。对第一批 8 例患者的血清学和病毒学检测为圣路易斯病毒抗体阳性。由于圣路易斯病毒是经蚊子传播的,因此,立即采取了灭蚊防蚊措施。随后,大量鸟类死亡,因而引起人们的关注,其中主要是乌鸦,还有一些是布朗克斯动物园里外来的鸟类。但圣路易斯病毒性脑炎不引起鸟类死亡,因此,不可能是本次纽约脑炎爆发的病原。后来,衣阿华州的国家兽医实验室从死亡的鸟类组织标本中分离到一株病毒,经美国疾病预防控制中心(CDC)和加利福尼亚大学采用聚合酶链反应(PCR)和 DNA 序列测定表明,该病毒株与从纽约 4 例脑炎患者的脑组织中分离的病毒相似,且与西尼罗病毒密切相关。所有圣路易斯病毒阳性的血清和脑脊液标本用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,西尼罗病毒抗体均为阳性;圣路易斯病毒抗体阴性或为临界值的 18 例患者,西尼罗病毒抗体也均为阳性。因此,确定西尼罗病毒是本次脑炎爆发的病原^[2]。

1999 年后,西尼罗病毒迅速蔓延至美国其他州,2002 年共有 44 个州发生西尼罗病毒感染爆发,共计 4156 例感染者,284 例死亡。至 2003 年 11 月 19 日,已波及 46 个州,8470 例感染者,189 例死亡^[3]。至于西尼罗病毒是如何传入美国的,至今尚未确定,可能是通过感染的候鸟或者进口的鸟类进入北美,或通过蚊子携带西尼罗病毒意外传入所致^[4]。

2. 病毒的形态与结构:西尼罗病毒属于黄病毒科黄病毒属,与乙型脑炎病毒(日本脑炎病毒)、圣路易斯病毒、默里谷病毒、昆津病毒等同属一个血清型。西尼罗病毒为单股正链

RNA 病毒,基因组全长 10 962 bp^[5],5' 端有帽子结构,3' 端无 poly A 结构;5' 端为结构基因,约占基因组全长 1/4,其余为非结构蛋白基因。病毒颗粒为球形,直径 40~60 nm,有包膜,呈 20 面体对称结构。病毒颗粒有 3 种结构蛋白(E、M、C)和 7 种非结构蛋白(NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B 和 NS5),E、M 蛋白为包膜糖蛋白,C 为核心蛋白,E 蛋白可凝集红细胞,介导病毒与宿主细胞粘附,E、NS1、NS3 蛋白可引发中和抗体。西尼罗病毒有 2 个基因型(1 和 2),基因型 1 与人类感染有关,基因型 2 仅局限于非洲,引起地方性动物感染^[6]。所有的黄病毒科病毒的抗原密切相关,易产生交叉反应,特别是与西尼罗病毒同属一个血清型者,因此,在实验室检查时易出现假阳性。

3. 传播特点:西尼罗病毒最常见的传播途径是被已感染的蚊子叮咬。蚊子是通过叮咬感染的鸟类而携带西尼罗病毒,然后再叮咬人和其他动物,将病毒传给人或动物。目前美国至少已从 43 种蚊子中检测到西尼罗病毒。最初从库蚊、按蚊、伊蚊等分离到西尼罗病毒,库蚊对西尼罗病毒最为易感。美国西尼罗病毒的主要传播媒介是尖音库蚊^[7,8]。许多鸟类感染西尼罗病毒后可产生至少 10^5 PFU/ml(感染蚊子的最低水平)的病毒血症,并可维持数天至数周。因此,鸟类是西尼罗病毒主要的储存宿主^[9]。但人、马及多数哺乳动物感染西尼罗病毒后,不产生高滴度的病毒血症,不能通过蚊子在人与人、人与动物间传播。因此,人和其他哺乳动物是终末宿主^[10]。此外,西尼罗病毒还可以通过胎盘、乳汁、输血、器官移植和实验室接触感染等传播^[11-16]。

4. 动物感染情况:到目前为止,至少在 138 种鸟类中检测到西尼罗病毒,属于鸦科的鸟类(乌鸦和蓝背隼)对西尼罗病毒特别易感。尽管这些鸟类可因感染而发病,甚至死亡,但绝大多数能存活下来^[10]。马感染西尼罗病毒也很普遍,2003 年有 14 000 余头马发病,病死率为 35%。马感染西尼罗病毒也是通过感染的蚊子叮咬传播^[4]。西尼罗病毒可能不引起狗和猫发病,但 1999 年对纽约西尼罗病毒流行区的狗血清学调查表明,狗感染西尼罗病毒也很常见。此外,蝙蝠、花栗鼠、臭鼬、松鼠、家兔也可感染西尼罗病毒^[10]。

5. 临床表现:感染西尼罗病毒后,潜伏期为 2-15 天(通常为 2-6 天)。多数感染者无明显临床症状,但 20% 有发热、头痛、背痛、肌痛、厌食等症状,一般持续 3-6 天,全身淋巴结肿大,约一半患者有皮疹,主要在脸部和躯干,可持续 1 周,称为西尼罗热。此外,还可患心肌炎、胰腺炎、暴发性肝炎等严重疾病,但极为罕见。另有约 1/150 感染者由于病毒进入中枢神经系统而出现严重症状,多数为老年人和免疫功

能低下者,病死率较高,有高热、剧烈头痛、颈强直、抽搐、昏迷、震颤、麻痹、肌痉挛、横纹肌溶解等症状^[17]。脑膜脑炎是中枢神经系统感染西尼罗病毒最典型的表现,但也有单独脑膜炎或脑炎发生。有中枢神经系统症状的患者病死率可高达 10%,并可留有后遗症。1999 年纽约西尼罗病毒感染流行时,仅 35% 脑炎患者于 1 年后完全康复^[4]。

6. 实验室检查:

(1) 血常规及生物化学检查:该病患者可能有轻度白细胞增多或减少,部分患者有低钠血症,尤其是脑炎患者。脑膜炎患者的脑脊液检查可见轻度细胞异常增多(一般为 $3 \times 10^7/L \sim 10 \times 10^7/L$, 范围为 $0 \sim 18 \times 10^7/L$, 以淋巴细胞为主),轻度到中度蛋白升高,葡萄糖水平正常。但其他实验室检查一般为正常^[4]。头颅核磁共振(MRI)成像早期呈现脑膜和脑室周围区域信号非特异性增强。有学者提出丘脑和基底神经节 T2 加权像呈高信号,可作为西尼罗病毒性脑炎的早期指征^[18]。

(2) 病毒分离:适用于分离病毒的标本有患者的脑脊液(感染早期的血清可能也可以)和脑组织,马的脑和脊髓组织,鸟的肾、脑和心脏组织,其他哺乳动物可用多种组织标本,最好是脑和肾组织。分离到病毒后,应用间接免疫荧光试验、核酸检测或中和试验确证^[19]。

(3) 血清学检查:于发病 8 天内用 ELISA 检测,至少 90% 患者的血清中可检测到西尼罗病毒特异性 IgM 抗体,大多数患者的 IgM 抗体可持续半年,甚至达 500 天。但西尼罗病毒的 IgM 抗体不是急性感染指标。由于 IgM 抗体不能通过血脑屏障,如脑脊液中检测到 IgM 抗体,则强烈提示中枢神经系统感染。IgG 抗体出现在感染后第 7 天,然后其滴度逐渐升高,绝大多数患者于发病 3 周后仍可检测到 IgG 抗体^[10]。但西尼罗病毒的抗体检测应注意以下两个问题:① 感染黄病毒属的其他病毒或接种这些病毒疫苗可出现假阳性,如日本脑炎病毒、登革病毒等;因此,阳性者应询问其免疫接种史并作进一步检查(如间接免疫荧光试验和空斑减少中和试验等),以排除假阳性。② 由于 IgM 抗体持续时间较长,且绝大多数感染者无症状,因此,检测到 IgM 抗体也可能是既往感染,而与现症无关,需与临床症状及其他实验室检查结果综合分析,以作出准确判断^[20]。目前诊断用的抗原为西尼罗病毒株 Eg101 和 NY99^[10]。

应用特异性多克隆抗体的免疫组化法检测人和鸟类脑组织标本,对判断其是否感染西尼罗病毒极为有效^[10]。

(4) 核酸检测:对脑脊液和各种组织标本,可用逆转录(RT)-PCR 检测病毒 RNA,也可用实时 PCR(real-time PCR)检测。有研究表明,在血清学证实为急性西尼罗病毒性脑炎的患者,其脑脊液和血清 RT-PCR 的阳性率分别为 57% 和 14%^[21]。

7. 临床治疗:目前对西尼罗病毒感染尚无特效的治疗方法,主要是支持治疗和对症治疗,病情严重者应住院治疗。体外研究表明,病毒唑和干扰素 α -2b 等有抗西尼罗病毒作

用,但未被临床证实^[22,23]。给小鼠静脉注射抗西尼罗病毒抗体有预防和治疗效果^[24],美国国家过敏与传染病研究所(NIAID)将分离恢复期患者血清 IgG 抗体进行临床实验研究^[25]。

8. 预防和控制:人类对西尼罗病毒普遍易感,但至今尚无无人用的有效疫苗。目前预防和控制西尼罗病毒的主要措施是疫情监测和防蚊灭蚊。疫情监测包括采集标本进行血清学和病毒分子生物学诊断,分离西尼罗病毒,监测鸟类、家畜和鸡等动物的西尼罗病毒感染情况,评估并预测当地西尼罗病毒流行情况。防蚊灭蚊可减少携带西尼罗病毒的蚊子与人类接触,这是目前预防西尼罗病毒感染的最有效手段,其中主要是灭蚊和加强个人防护,在有感染蚊子存在的地方及蚊子最活跃的早晨和傍晚尽量减少户外活动,清除住所周围的积水,安装纱窗,户外应穿长袖上衣和长裤,以及使用灭蚊剂等。虽然至今尚无接触死于西尼罗病毒感染的动物尸体而感染的证据,但在处理这些动物尸体时,应避免裸手接触。鉴于西尼罗病毒可通过胎盘、乳汁、输血、器官移植和实验室感染传播,因此,也应采取相应的防护措施。

西尼罗病毒的灭活疫苗、减毒活疫苗、基因工程疫苗和 DNA 疫苗等正在研制中。2005 年可能有人用疫苗上市。一种可供马使用的灭活疫苗已研制成功,并已获得使用许可。由减毒的西尼罗病毒株 WNI-25A 制备的减毒活疫苗,经小鼠和鹅试验证明有良好的保护作用。以登革病毒为载体,表达西尼罗病毒结构蛋白,并制成基因工程疫苗,经小鼠和猕猴试验显示,可产生有效的保护作用。表达西尼罗病毒 E 蛋白和 M 蛋白的质粒 DNA 疫苗,证明可产生中和抗体,有一定的保护作用^[26]。

目前我国尚未发现感染西尼罗病毒的病例,也未发现动物感染西尼罗病毒。但由于我国开展对西尼罗病毒的研究较少,因此,不能完全排除国内有西尼罗病毒感染的可能。值得注意的是,我国存在该病毒传人的自然条件:西尼罗病毒的宿主鸟类种类繁多,并随季节南北迁移;媒介蚊子遍布全国,虫媒传染病广泛存在;乙型脑炎病毒、登革病毒与西尼罗病毒同为黄病毒属,有相近的生物学特性,而乙型脑炎在我国许多地区流行,登革热流行也呈扩大趋势;对西尼罗病毒易感的马等哺乳动物分布广泛。因此,随着我国与世界其他国家之间的贸易、旅游、人员往来日益频繁,西尼罗病毒通过各种途径传入我国是有可能的。

西尼罗病毒对我国是一种新的病原,人群无免疫力,对其普遍易感。此外,西尼罗病毒有可能被当作生物战剂。因此,我们应及早作好准备,严防西尼罗病毒入侵。目前防止西尼罗病毒入侵的最主要措施是防止“蚊子进口”,出入境检验检疫机构对来自疫区的交通工具、集装箱等要实施严格的检疫和检验,以免带有西尼罗病毒的蚊虫进入我国;鸟类的进口也应检疫,禁止从疫区带进鸟和其他动物。更为重要的是有关部门应有忧患意识,及早作好准备,防止西尼罗病毒传入我国。

参 考 文 献

- 1 Background; virus history and distribution. Available at <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/background.htm>
- 2 Centers for Disease Control and Prevention. Update: Surveillance for West Nile virus in overwintering mosquitoes-New York, 2000. *MMWR*, 2000, 49: 178-179.
- 3 Statistics, Surveillance and Control. Available at <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount03.htm>
- 4 Sampathkumar P. West Nile virus: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and prevention. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78: 1137-1143.
- 5 West Nile virus, complete genome. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/framk.cgi?db=genome&gi=10411>
- 6 Brinton MA. The molecular biology of West Nile virus: a new invader of the Western Hemisphere. *Annu Rev Microbiol*, 2002, 56: 371-402.
- 7 West Nile Virus Mosquito Information Available at <http://npic.orst.edu/wnv/mosquito.htm>
- 8 Ilkal MA, Mavale MS, Prasanna Y, et al. Experimental studies on the vector potential of certain *Culex species* to West Nile virus. *Indian J Med Res*, 1997, 106: 225-228.
- 9 Bernard KA, Maffei JG, Jones SA, et al. West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York State, 2000. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7: 679-685.
- 10 Vertebrate Ecology Available at <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/birds&mammals.htm>
- 11 Centers for Disease Control and Prevention. Investigations of West Nile virus infections in recipients of blood transfusions. *MMWR*, 2002, 51: 973-974.
- 12 Food and Drug Administration. Revised recommendatoons for the assessment of donor suitability and blood product safety cases of known or suspected West Nile virus infection. May 2003. Abaolable at <http://www.fda.gov/cber/gdlns/wnvguid.pdf>. Accessibility verified July 30 2003.
- 13 Iwamoto M, Iernigan DB, Guasch A, et al. West Nile virus in transplant recipients investigation team. Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med*, 2003, 348: 2196-2203.
- 14 Centers for Disease Control and Prevention. Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding-Michigan, 2002. *MMWR*, 2002, 51: 877-878.
- 15 Centers for Disease Control and Prevention. Intrauterine West Nile virus infection-New York, 2002. *MMWR*, 2002, 51: 1135-1136.
- 16 Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired West Nile virus infection-United States, 2002. *MMWR*, 2002, 51: 1133-1135.
- 17 West Nile Virus; What you need to know. Available at <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/wnv.factSheet.htm>
- 18 Solomon T, Ooi MH, Beasley DW, et al. West Nile encephalitis. *BMJ*, 2003, 326: 865-869.
- 19 Guidelines for Surveillance, Prevention and Control, Available at <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/lab.guidance.htm>
- 20 Huhn GD, Sejvar JJ, Montgomery SP, et al. West Nile virus in the United States: an update on an emerging infectious disease. *Am Fam Physician*, 2003, 68: 653-660.
- 21 Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, et al. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol*, 2000, 38: 4066-4071.
- 22 Jordan I, Briense T, Fischer N, et al. Ribavirin inhibits West Nile virus replication and cytopathic effect in neural cell. *J Infect Dis*, 2000, 182: 1214-1217.
- 23 Anderson JF, Rahal JJ. Efficacy of interferon alpha-2b and ribavirin against West Nile virus in vitro. *Emerg Infect Dis*, 2002, 6: 107-108.
- 24 Ben-Nathan D, Lustig S, Tan G, et al. Prophylactic and therapeutic efficacy of human intravenous immunoglobulin in treating West Nile virus infection in mice. *J Infect Dis*, 2003, 188: 5-12.
- 25 A phase I/II randomized, placebo-controlled trial to assess the safety and efficacy of intravenous immunoglobulin G (Omr-IgG-am) containing high anti-West Nile virus antibody titers in patients with, or at high risk for progression to West Nile virus (WNV). Available at <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00069316?Order=1>
- 26 Literature Reports of Vaccine Developments for West Nile Virus Disease. Available at <http://212.187.155.84/wnv/List-WPMod-Cont/westnile/Disease-WNV Infection/WNV Chem Vacc.html>

(收稿日期: 2003-12-16)

(本文编辑: 尹廉)