

第七章 豬流行性下痢 (Porcine Epidemic Diarrhea ; PED)

蔡睦宗、劉振軒

豬流行性下痢 (porcine epidemic diarrhea ; PED) 是一種高度傳染性疾病，以引起所有豬齡豬隻嘔吐、下痢和食慾不振為主徵；本病對年幼仔豬死亡率較豬傳染性胃腸炎低。豬流行性下痢病毒 (PEDV) 屬於第一類 (group I) 冠狀病毒 (coronavirus)。

病原

依據病毒形態學，PEDV 病毒顆粒顯示具冠狀病毒科之特徵，豬糞材中檢測之病毒顆粒具多形性，傾向球形。病毒顆粒包括突出物，平均直徑是 130 nm，範圍介於 95-190 nm；許多病毒顆粒具電顯不透明之中央區，棒狀突出物(spike) 約 18-23 nm 長，呈放射線狀等間隔排列於病毒核心外圍；病毒內部構造尚未被確認；PEDV 於腸道上皮細胞之形態增殖與其他冠狀病毒相同，病毒合成是藉由宿主細胞質膜出芽 (budding) 形成。

物理化學和生物性狀研究已確認 PEDV 屬於冠狀病毒科 (*Coronaviridae*)，此病毒對乙醚和氯仿敏感，於蔗糖密度為 1.18 g/ml；從發病仔豬腸道灌流液濃縮和純化病毒，無法與 12 種不同動物品種之紅血球產生凝集現象；經細胞培養馴化之 PEDV，當加熱超過 60⁰C，30 分鐘會失去感染力，但於 50⁰C 則呈適度穩定；本病毒於 pH 介於 5.0-9.0，4⁰C 時和於 pH 介於 6.5-7.5，37⁰C 時穩定；病毒感染力藉由超音波碎擊，或多次冷凍和解凍皆未喪失；病毒複製未被 5-iodo-2'-deoxyuridine 所抑制，這顯示病毒核酸是 RNA。

PEDV 結構蛋白模式與其他冠狀病毒相似，本病毒具有一種醣化微囊粒蛋白 (glycosylated peplomer protein)，分子量約 85,000-135,000 daltons；一種醣化封套蛋白 (glycosylated envelope protein)，分子量約 20,000-32,000 daltons；和一種未醣化 RNA 結合核蛋白衣蛋白 (unglycosylated RNA-binding nucleocapsid protein)，分子量約 58,000 daltons。

應用直接螢光和免疫電顯，發現 PEDV 與二種已知之豬冠狀病毒 (豬傳染性胃腸炎病毒及血球凝集性腦脊髓炎病毒)，及犬冠狀病毒、初生仔牛下痢病毒、雞傳染性支氣管炎病毒、和貓傳染性腹膜炎病毒抗原性不同。然而以較敏感技術輔助，如免疫墨漬(immunoblotting)和免疫沉澱技術顯示，PEDV 與貓傳染性腹膜炎病毒之抗原決定位相同，這些決定位位於核蛋白衣蛋白；鑑定其膜蛋白，支持其分類屬於第一類 (group I) 冠狀病毒；根據基因分析，PEDV 介於人類冠狀病毒 229E 和豬傳染性胃腸炎病毒中間位置；以上這些試驗資料確切證實 PEDV 是冠狀病毒。

本病毒最初培養成功是藉由接種仔豬和隨後於早期下痢期間所收集小腸及

其腸內容；現成製備病毒每 ml 含有 10^5 豬感染劑量簡單易獲得。

PEDV 之馴化，於實驗室條件下生長於人工宿主，過程繁瑣。從豬胚胎和新生仔豬摘取之腸管和氣管所試圖培養之不同分離株病毒，大多失敗；且使用許多細胞株經胰蛋白酶和胰酵素處理，仍無法複製 PEDV；然而 Vero（非洲綠猴腎臟）細胞發現可成功連續繼代 PEDV；某些 Vero 細胞株可成功生長，但有些則不能，因此不同來源細胞應加以嘗試；病毒生長須依賴細胞培養液中胰蛋白酶；細胞病變效應（CPE）包括空泡化，和融合細胞形成，其融合細胞可含有超過 100 個核以上；Vero 細胞繼代之 PEDV，已成功的繼代於其他細胞株如 MA104。

PEDV 並沒有不同血清型存在，從歐洲、韓國和中國分離株與原型 CV777 株血清學相似同；此外，應用免疫墨漬（immunoblotting）檢測多肽帶（polypeptide band），顯示韓國分離株與 CV777 株有相似之分子量；且韓國 PEDV 分離株之 N 段基因，其核苷酸序列與比利時 CV777 分離株有 97% 之同源性。

病史

於 1971 年，英國保育豬與肥育豬先前曾急性爆發不明原因之下痢（Oldham 1972），其臨床表現與豬感染豬傳染性胃腸炎相似，除了重要之不同點在哺乳豬（4-5 周齡以下）未發病；豬傳染性胃腸炎病毒與其他已知腸道致病性感染原被排除，但一種未被證實新的病原已被疑似，此疾病傳播至其他歐洲國家，因而將本病命名為“流行性病毒性下痢（epidemic viral diarrhea；EVD）”。

於 1976 年，一種類似豬傳染性胃腸炎引起之急性下痢爆發於所有豬隻年齡，包括哺乳仔豬（Wood 1977），但再次豬傳染性胃腸炎病毒與其他已知腸道致病性感染原被排除，流行性病毒性下痢第二型（EVD type 2），被用來與爆發於 1970 年代所描述命名為第一型（type 1）加以區別；第一型與第二型流行性病毒性下痢之不同，在於第二型爆發時，哺乳仔豬會發生。

於 1978 年，一種類似冠狀病毒之病原被發現與第二型流行性病毒性下痢相關（Chasey and Carwright 1978；Pensaert and DeBouck 1978）；實驗接種一種命名為 CV777 分離株顯示對仔豬及肥育豬隻具腸道致病性（Debouck and Pensaert 1980）；似乎這種冠狀病毒可引起第一型與第二型流行性病毒性下痢之爆發，豬流行性下痢（porcine epidemic diarrhea；PED）被命名建議（Pensaert et al. 1982），迄今仍然被使用；第一型與第二型臨床症狀差異之機制至目前尚未被釐清。

傳播途徑

本病傳播途徑為經感染動物糞便，自然感染從口腔食入開始，糞便口腔途徑傳播可能為主要的途徑，即使非唯一途徑。豬流行性下痢於感染豬場急性爆發，通常發生於豬隻買賣後 4-5 天；病毒可能藉由污染之卡車、鞋子、或其他可攜帶病毒之器具進入感染豬隻；育種場爆發感染後，病毒可能不是消失，就是成為地

方流行病；當豬場如果有足夠豬隻窩數生產和離乳，此病毒會經由連續豬窩感染而保持，豬隻於離乳時喪失其乳汁免疫，地方流行狀況便可形成；PEDV 可能是此型育種場，5-8 週齡豬隻持續性離乳下痢之一種原因。

PEDV 與豬傳染性胃腸炎病毒有關於傳染模式並沒有極大之差異，但一旦急性感染經過，PEDV 於豬場較易顯現持續感染。

流行病學

於 1982 年至 1990 年，曾執行血清學檢驗以檢測 PEDV 之存在，比利時、英國、德國、法國、荷蘭、瑞士、保加利亞、臺灣曾檢測到此專一抗體，奧地利和北美則無；歐洲大多數養豬國家且和中國、韓國及日本都曾分離出此病毒；目前為止，北美或南美尚未證實有 PEDV 發生。

最近幾年，亞洲曾報告嚴重爆發豬流行性下痢病毒具高死亡率情況，1996 年冬天，豬流行性下痢流行發生於日本 9 個縣，108 個大多數為分娩至肥育一貫作業豬場，下痢和高死亡率發生於幼小仔豬，總共 56,256 頭哺乳豬中死亡 39,509 頭；且日本於 1993 年九月至 1994 年六月間曾爆發哺乳豬有 14,000 頭，死亡率約 30-80%，於此流行時，成豬顯示只有短暫食慾不振，泌乳量降低。

於韓國，豬流行性下痢引起爆發所有豬齡豬隻下痢，於 1992 年一月至 1993 年十二月期間，所送檢至獸醫研究實驗室作診斷之 71 件病毒性腸炎病例中，有 56.3% 證實為豬流行性下痢；本病整年皆可發生，但盛行於冬季；本病發生於韓國全國，爆發病例中 90% 檢測於豬齡小於 10 日齡仔豬。

最近血清學調查或診斷試驗尚未發表在歐洲，其豬流行性下痢於哺乳豬流行疫情已變成較稀少；由於 PEDV 引起之下痢爆發，主要限於保育期及肥育期豬隻和新育種豬隻；非常可能，這是由於此病毒地方流行特性和乳汁免疫存在以保護哺乳豬隻。

於西班牙，7-15 個豬場急性水樣下痢流行之病因，被證實是由於 PEDV 引起，而其中一場豬場一小部份母豬變成持續性下痢感染。1992-1993 年西班牙執行血清學調查，PEDV 專一抗體於 5,098 頭母豬中檢測出 1,513 頭；798 場育種場中有 55.9% 為抗體陽性豬隻；於 20 頭以上母豬場，其盛行率高。

於荷蘭，曾有報告以臨床及病毒試驗，於混合之育種及肥育豬群，發生急性爆發 PEDV；疾病初期症狀發現在肥育豬隻，且感染快速擴散到母豬及其哺乳仔豬、新女豬及離乳豬飼養於不同豬舍；下痢於肥育豬及懷孕母豬最為明顯，下痢於哺乳豬和剛離乳豬則輕微或無下痢症狀；病毒變成地方流行，持續存在於 6-10 週齡豬隻和原先爆發後至少經過 1.5 年以上豬場所新引進之新女豬；此次所爆發在臨床上與爆發於 1970 年代早期所見到之第一型類似。

於亞洲之情況，豬隻下痢和高死亡率發生與歐洲現況不同；這些亞洲流行疫情呈現如此嚴重，因此他們臨床上無法與典型急性豬傳染性胃腸炎病毒爆發區別，引起嚴重經濟損失；病毒於此亞洲大陸和日本顯示發現未免疫豬群；也許一

種演進至地方性流行盛行和至豬群免疫將隨後而來，如同歐洲。

目前歐洲，本病於高密度養豬群地區呈現易持續性感染，但此持續性感染之機序或形態試驗尚未被執行。

臨床症狀

豬流行性下痢，通常唯一之主要明顯臨床症狀為水樣下痢。育種豬場之新生豬隻急性爆發，已於廣布本病毒或母豬群大量免疫之區域或國家變的稀少。

易感受育種豬群爆發，其發病率與死亡率也許會呈現更大差異；某些豬場，所有豬齡豬隻發病，發病率近 100%。本病非常相似於豬傳染性胃腸炎，除了傳播速度較慢和哺乳仔豬較低死亡率；仔豬至一週齡於下痢持續 3-4 天後會因脫水而死亡，死亡率平均 50% 但可能高至 80%，較大豬隻於一週後恢復，於急性爆發經過後，下痢於離乳後可持續維持約 2-3 週，而新引進豬隻可能系統性發病；日本及韓國於近年來已被報告，有出生仔豬急性爆發具高死亡率特性情形。

然而，在歐洲於某些豬場，其離乳豬和甚或成豬已被嚴重感染，然而哺乳豬隻則沒有或僅輕微下痢，即使缺乏免疫力；仔豬發病率因此低；目前無法解釋於育種場所觀察到之臨床症狀有高差異性；許多分離株對仔豬毒力之差異已被檢測，但未見差異。

當急性豬流行性下痢爆發發生於多來源保育豬隻或於肥育期豬隻時，觀察到較少差異；所有豬隻在豬舍於一週內將呈現下痢；該豬隻略微食慾不振、沉鬱及其糞便呈水樣（沒有帶血）；豬流行性下痢感染於肥育末期豬隻造成較豬傳染性胃腸炎嚴重疾病；該豬隻呈現有較多腹痛，通常於 7-10 天後恢復，1-3% 死亡率可見於感染在肥育末期之肥育豬，這些豬隻通常在下痢早期甚或下痢症狀出現前急性死亡，這些豬隻通常解剖會發現急性背部肌肉壞死（acute back muscle necrosis）；最高死亡率發生於對緊迫敏感之豬隻品種豬場。一般而言，PEDV 於保育豬和肥育豬隻腸管較哺乳豬隻較易開始複製，因此肥育豬隻較易受本病毒攻擊，爆發期間常發生 100% 發病率。

與豬傳染性胃腸炎比較，PEDV 於封閉式育種場且和肥育舍間與之內傳播較慢；於育種場有許多不同豬舍與於肥育場有不同豬舍建築，本病毒要感染不同豬群前，可能需時 4-6 週，但某些豬舍可能甚至仍然未被感染。

診斷

一、臨床診斷

豬流行性下痢診斷不能只有靠臨床症狀，急性豬流行性下痢爆發，引起所有豬齡豬隻，包括哺乳仔豬之下痢，無法與豬傳染性胃腸炎臨床上加以區別。於歐洲，在育種場之離乳豬和較大豬隻爆發快速傳播水樣下痢，而哺乳仔豬未發生，指近趨向豬流行性下痢。

二、實驗室診斷

病因診斷可藉由實驗室 PEDV 直接檢查且或抗原或抗體檢測。直接免疫螢光試驗和免疫組織化學染色技術應用於下痢仔豬小腸切片是最敏感、快速和可信賴之方法；這些方法只可用於下痢急性期期間，最好是發生後 3 天內撲殺豬隻腸管；這些技術通常於自然死亡豬隻檢驗之結果不太可靠，因為絨毛已嚴重萎縮。

(一) 病理學檢查。

(二) 電子顯微鏡檢查

PEDV 可直接以電子顯微鏡於下痢豬隻糞便中發現；糞便檢查冠狀病毒通常困難，因為病毒顆粒若失去棒狀突出物（spike）或不清楚可見就不易去檢測；糞材收集最高檢測百分比，發生於實驗接種下痢開始發生後第 1 日所收集之仔豬糞便，達 73%。再則，免疫電顯必須被應用，以區別豬流行性下痢病毒與豬傳染性胃腸病毒，因為該兩種病毒有相同之形態。

(三) 血清學檢查

血清學診斷可藉由 PEDV 抗體檢測達成，許多檢測方法被報告，包括：間接免疫螢光試驗（indirect IF test）和免疫螢光阻斷試驗（IF-blocking test）應用於 PEDV 陽性豬隻腸管冷凍切片，ELISA 及 ELISA 阻斷試驗；應用 ELISA 阻斷試驗於接種後 7 天和應用間接免疫螢光試驗於接種後介於 10-13 天，可檢測到抗體；所有試驗配對血清（paired serum）樣本必須檢查，第二次（恢復期）血清樣本必須於下痢發生後最少 2-3 週採集。間接免疫螢光技術所檢測之抗體據報對溫度不穩定，於實際診斷狀況使用此方法變的困難；間接免疫螢光試驗也發現較免疫螢光阻斷試驗和 ELISA 試驗不敏感。應用 ELISA 阻斷試驗和免疫螢光阻斷試驗檢測血清中 PEDV 抗體至少持續 1 年。

(四) 病毒分離

目前下痢糞便中之豬流行性下痢野外病毒株，於可加以例行性培養前，須被馴化於細胞培養，如 Vero 細胞株；因此細胞培養不能被當做例行性豬流行性下痢診斷。

(五) 免疫螢光抗體技術

一些 ELISA 技術已發展成功，以用於檢測糞便中 PEDV 抗原和血清中專一抗體存在；這些技術作為診斷用敏感且可靠，尤其於群體基礎上。作為抗原 ELISA，多源或單源抗體與豬隻培養病毒使用；作為抗體 ELISA，抗原由半純化病毒組成，由豬隻細胞培養，或由感染之 Vero 細胞粹取之 S 和 N 病毒蛋白；抗體試驗亦被使用於檢測母豬乳汁中免疫球蛋白。PEDV 抗原，實驗接種後 3-11 天於糞便拭子可發現，於 4-5 天具最高排毒量；抗原排出期間於自然感染豬隻較短，糞材須從許多豬隻收集，最好於下痢急性期採集；ELISA 抗原試驗已有足夠敏感性用以檢測病毒，於地方流行性情況和於育種場持續性下痢，病毒量太低以致於以其他檢測方法無法檢測時。

(六) 分子生物學診斷

應用 RT-PCR 和原位雜交技術 (*in situ hybridization*)，以檢測 PEDV 和豬傳染性胃腸炎病毒臨床病材，包括糞材、冷凍和新鮮組織；韓國報告已發展出直接使用空腸經福馬林固定，石蠟組織包埋，應用多對引子反轉錄酶巢式聚合酶鏈鎖反應技術 (*multiplex RT-nested PCR assay*) 以區別 PEDV 和豬傳染性胃腸炎病毒與原位雜交技術一致性達 100%，此方法可提高敏感度和較傳統診斷方法經濟省時 (Jung et al. 2003)。

三、病理學診斷

(一) 肉眼病變

肉眼主要病變局限於小腸，小腸擴張充滿黃色液體，小腸腸壁變薄情形較豬傳染性胃腸炎較輕微。

(二) 組織病理

接種病毒 24 小時後，顯微鏡下，開始觀察到小腸絨毛腸上皮空泡化和脫落，與開始發生下痢之實際時間吻合，從該時間起，發生絨毛變短，絨毛長度與腺窩深度比值由正常的 7:1 降到 3:1；這些發現經穿透式電子顯微鏡研究證實；組織化學上，小腸酵素活力明顯降低；此病理病變與豬傳染性胃腸炎描述病變十分相似；結腸未發現有組織病變。

(三) 超顯微病變

主要發生於腸腺上皮細胞質，細胞質內胞小器官 (*organelles*) 減少，剩下電子透明區域，隨後，微絨毛 (*microvilli*) 和終網 (*terminal web*) 消失，細胞質部分突入腸管腔，細胞變成扁平，緊連接 (*tight junction*) 消失和發生細胞釋放進入腸腔，細胞內病毒藉由內質網膜出芽形成。結腸於腸腺細胞觀察到有些微細胞改變，包含病毒顆粒，但沒有發現脫落。

四、鑑別診斷

豬流行性下痢需要與其他引起豬隻病毒性下痢區別，包括豬傳染性胃腸炎病毒 (TGEV) 和豬呼吸道冠狀病毒 (PRCV) 及豬輪狀病毒 (*rotavirus*) 感染。

五、致病機序

豬流行性下痢致病機序，於未吃初乳經帝王子宮切開術生產仔豬已被試驗研究；仔豬於 3 日齡口服接種 CV777 分離株，接種後，豬隻於 22-36 小時後發病；經間接免疫螢光與穿透式電子顯微鏡顯示，病毒複製發生於全段小腸絨毛上皮細胞細胞質和結腸。

接種後早在 12-18 小時，就可觀察到感染上皮細胞，於 24-36 小時後達到最高，病毒於小腸複製造成細胞變性引起絨毛萎縮，觀察到絨毛高度與腺窩深度比值降低從 7:1 變成 3:1；結腸上皮細胞未見細胞變性；螢光細胞直至接種後五天才偵測到。

PEDV 於仔豬小腸致病特徵非常相似於豬傳染性胃腸炎病毒；但豬傳染性胃

腸炎過程較快速和急遽，引起較廣泛之絨毛萎縮，發生於接種後 18-24 小時；因為 PEDV 於小腸病毒複製和感染過程發生速度較慢，可觀察到一較長潛伏期；仔豬 PEDV 複製未於腸道外細胞檢測到。

PEDV 於較大豬隻之致病機序尚未被太詳細研究，但傳統肥育豬隻小腸與結腸絨毛上皮經實驗和自然感染後可見螢光；然而，未觀察到此情形但發現只有於 1 日齡仔豬結腸呈螢光陽性，而非於無特殊病原性較大豬隻。

目前尚不清楚結腸感染對臨床症狀嚴重度影響有多大，而且，無致病機轉可解釋肥育後期豬隻及成豬常觀察到急性死亡伴有急性背部肌肉壞死；一最近試驗證實 40-70 公斤 halothane 陽性肥育豬隻，顯示於接種 PEDV 後 3 天開始，骨骼肌酵素包括肌酸及乳酸去氫酶明顯增加於血液中。韓國和日本所報告致病特徵與歐洲所觀察到情形相同。

治療與預防

豬流行性下痢爆發所應採取之確實建議措施，目前尚無法給與，抗生素治療無效；下痢豬隻應供與水分以減低脫水，建議控制飼料給與，尤其是肥育豬隻；因為 PEDV 傳播速率不快，預防性措施以防止病毒入侵分娩舍新生仔豬，也許可幫忙延後這些仔豬感染直至稍大豬齡，造成較少死亡。同時人工傳播本病毒於懷孕母豬，將刺激一種快速乳汁免疫和縮短豬場爆發，此人工接種方法與豬傳染性胃腸炎病毒使用方法相似，藉由使用水樣下痢豬隻糞材或死亡豬隻腸內容物來完成。當育種場於發生爆發後，連續離乳窩豬被診斷有本病毒持續感染時，可嘗試藉由移除剛離乳豬隻至不同欄舍至少 4 星期，以清除病毒，且新豬引進應暫時停止。

衛生措施應避免豬場引進病毒，目前流行病學知識顯示，病毒引進主要（即使非唯一）藉由動物或人類頻繁交通發生。

在歐洲，於 1997 發生豬流行性下痢，當時並未引起嚴重經濟損失，但開始研究發展疫苗；在亞洲曾爆發嚴重感染，所以發展減毒病毒有其必要性。有報告指出 CV777 病毒之細胞培養馴化，使其基因序列相當不同；且此細胞培養馴化之病毒株毒力對經帝王子宮切開術新生之仔豬較低，因為只有 21 頭中之 5 頭仔豬於接種後 40 小時後有輕微下痢和組織病變有減輕其嚴重度。一韓國豬流行性下痢病毒株，當經 93 次繼代於 Vero 細胞，也發現對新生仔豬病原性降低和對懷孕母豬安全；因此使用此細胞培養馴化之病毒株做為疫苗之代表可行性曾被建議。

公共衛生

豬流行性下痢病原屬冠狀病毒科，根據冠狀病毒抗原基因序列，主要可分為三類，本病毒分類屬於第一類冠狀病毒，目前並沒有報告證據顯示對人類有病原

性。而 2003 年報告起源於中國大陸南方由冠狀病毒所引起之人類嚴重急性呼吸道症候群（severe acute respiratory syndrome；SARS）不屬於此三類，而是介於第二類與第三類中間，為一種新型冠狀病毒。

參考文獻

1. ISHIKAWA K., SEKIGUCHI H., OGINO T., & SUZUKI S. (1997).- Direct and rapid of porcine epidemic diarrhea virus by RT-PCR. *J Virol Methods*, 9, 191-195.
2. JUNG K., KIM J., KIM O., KIM B., & CHAE C. (2003).- Differentiation between porcine epidemic diarrhea virus and transmissible gastroenteritis in formalin-fixed paraffin-embedded tissues by multiplex RT-nested PCR and comparison with in situ hybridization. *J Virol Methods*, 108, 41-47.
3. KIM O., CHAE C. (2000).- In situ hybridization for the detection and localization of porcine epidemic diarrhea virus in the intestinal tissues from naturally infected piglets. *Vet. Pathol.*, 37, 62-67.
4. KSIAZEK T.G. et al. (2003).- A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*, 348, 1953-1966.
5. PENSAERT M.B. (1999).- In: Porcine Epidemic Diarrhea. Diseases of swine. 8th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 179-185.
6. TAYLOR D.J. (1995).- In: Endemic Diarrhea. Pig diseases. 6th ed., St Edmundsbury Press. Bury St. Edmund's, Suffolk, UK, 36-39.



圖 7-1 豬流行性下痢
成豬有水樣的下痢症狀，欄舍地有下痢便。

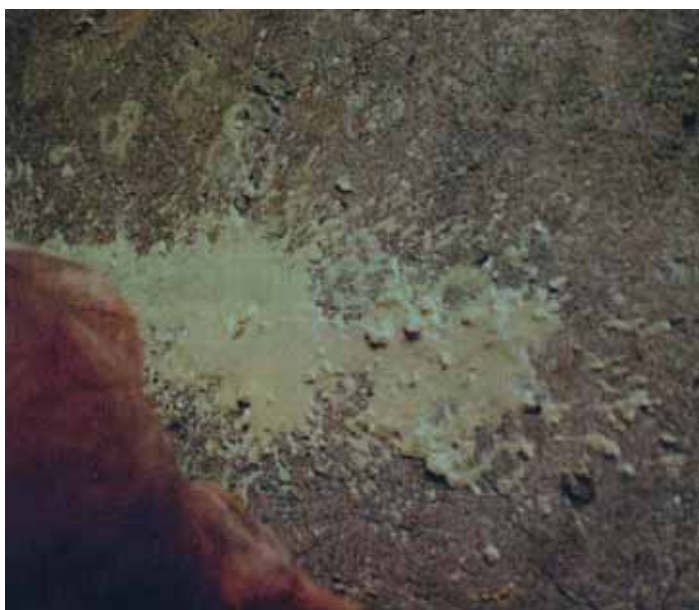


圖 7-2 豬流行性下痢
成豬水樣的下痢便。



圖7-3：豬流行性下痢
成豬水樣性下痢便。

圖 7-3 豬流行性下痢
成豬水樣性下痢便。