

小反刍兽疫研究概况*

李林^{1,2} 才学鹏¹ 孟庆玲² 乔军^{1,2,△}

(1 中国农业科学院兰州兽医研究所,家畜疫病病原生物学国家重点实验室 甘肃 兰州 730046;

2 石河子大学动物科技学院 新疆 石河子 832003)

摘要 小反刍兽疫是严重危害山羊和绵羊等家畜的 A 类动物传染病,目前该病已经给我国养羊业造成了巨大的威胁。近年来,国内外学者对该病开展了许多研究工作,本文从病原学、流行病学、临床症状、发病机理、病理变化、诊断、防控措施等几个方面对该病研究概况进行了综述,为该病的有效防控提供有益的参考。

关键词 小反刍兽疫病毒,研究概况

中图分类号 S851 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 07-1373-03

An Overview on the Progress of Peste des petits ruminants*

LI Lin^{1,2}, Cai Xue-peng¹, MENG Qing-ling², QIAO Jun^{1,2,△}

(1 College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China;

2 State Key Lab of Veterinary Etiological Biology, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China)

ABSTRACT: Peste des petits ruminants is one of A category animal infectious diseases endangered goat and sheep, which has posed a heavy threat to goat and sheep breeding industry. In recent years, many domestic and foreigners have carried out studies on Peste des petits ruminants. In this paper, we take an overview about Peste des petits ruminants from the aspects of etiology, epidemiology, clinical symptom, pathogenesis, pathological change, diagnosis, prevention measures, which provide a beneficial reference to prevent and control this infectious disease.

Key words: Peste des petits ruminants, overview, prevention and control

Chinese Library Classification(CLC): S851 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)07-1373-03

小反刍兽疫是由小反刍兽疫病毒 (Peste des petits ruminants virus, PPRV) 所引起小反刍兽的一种急性高度接触性传染病,曾被称为小反刍兽假牛瘟、绵羊和山羊瘟疫、胃肠炎-肺炎综合征等。该病于 1942 年在非洲西部的象牙海岸首次暴发后,被命名为小反刍兽疫。世界动物卫生组织 (OIE) 动物卫生法典将其列为必需报告 A 类动物疫病,在我国列为一类动物疫病。该病临床上以眼和鼻有浆性分泌物、溃疡和坏死性口腔炎、肺炎及腹泻为特征,主要感染山羊、绵羊、野生羚羊、美国白尾鹿等小反刍动物。近年来,国内外学者对该病开展了许多研究工作,本文从病原学、流行病学、临床症状、发病机理、病理变化、诊断、防控措施等几个方面对该病研究概况进行了综述。

1 病原学

小反刍兽疫病毒 (Peste des petits ruminants virus, PPRV) 属于副黏病毒科 (Paramyxoviridae) 麻疹病毒属 (Morbillivirus) 的成员,同属的其他成员还有牛瘟病毒 (Rinderpest virus, RPV)、犬瘟热病毒 (Canine distemper virus, CDV)、海豹瘟病毒 (Porpoise distemper virus, PDV) 等。PPRV 病毒粒子呈多形性,多为圆形或椭圆形,直径为 130 nm~390 nm。病毒粒子外被一层囊膜,囊膜上有 8 nm~15 nm 的纤突。

PPRV 基因组是不分节段的单股负链 RNA,基因组全长为 15948 bp, RNA 链从 3' 至 5' 依次是 N-P-M-F-H-L 6 个基因,分别编码 N 蛋白、P 蛋白、基质蛋白 (M)、融合蛋白 (F)、血凝素蛋白 (H) 和 L 蛋白 6 种结构蛋白和 2 种非结构蛋白^[1]。F 蛋白全长 546 氨基酸,分子量 57 kD,位于病毒囊膜表面,为病毒融合宿主细胞膜所必需,并可诱导机体产生中和抗体。H 蛋白是病毒囊膜表面的另一种糖蛋白,决定 PPRV 感染宿主的特异性,并协助 F 蛋白使 CDV 以囊膜与宿主细胞膜发生融合的方式进入宿主细胞,同时也是诱导机体产生中和抗体的保护性抗原之一。L 蛋白含 2183 氨基酸残基,是一个多功能酶单位,可能参与了转录起始、延伸、核糖核苷酸多聚化的终止、mRNA 转录时的加帽和 polyA 尾、甲基化等转录和复制相关的酶促过程。N 蛋白含 525 个氨基酸残基,参与包裹 RNA,使 RNA 免受 RNA 酶的降解,同时该蛋白含有 T 细胞抗原表位^[16],可诱导机体产生特异性细胞免疫反应。M 蛋白含 335 氨基酸残基,分子量 39 kD,在副黏病毒科病毒的感染中具有重要作用,它与细胞膜上的表面糖蛋白、胞浆内的核衣壳结构以及病毒的装配和出芽有关。P 蛋白参与构成核衣壳蛋白复合体,有聚合酶活性。

PPRV 对热敏感,56℃ PPRV 在血、脾、淋巴结内的半衰期为 5 分钟。70℃ 以上迅速灭活。在 4℃ 下、pH 7.2-7.9 时 PPRV

* 基金项目 家畜疫病病原生物学国家重点实验室开放课题 (KEYLAB200802) ;

石河子大学高层次人才专项 (RCZX200801)

作者简介 李林 (1987-),男,硕士研究生,主要从事病原生物学研究

△通讯作者 乔军, Tel: 0993-2055036; E-mail: qj710625@sogou.com

(收稿日期 2010-11-12 接受日期 2010-12-05)

比较稳定。PPRV 可在胎绵羊肾、胎羊、新生羊的睾丸细胞、Vero 细胞、B95a 细胞上增殖,并产生细胞病变,形成合胞体。

PPRV 与同属的 RPV、CDV 有相似的物理化学及免疫学特性,但免疫原性上存在明显的差异,可以通过血清中和试验来进行鉴别。目前,虽然只发现 PPRV 存在一个血清型,但根据 PPRV F、H 和 N 蛋白基因差异^[2,3,6],可将 PPRV 世界不同地域流行毒株分成 4 个基因群,其中 3 个来自非洲,1 个来自亚洲,来自非洲的 1 个基因群在亚洲也被发现。同时还发现,在亚洲流行的基因群中还存在不同的基因亚群。2007 年我国西藏爆发了 PPR,我国农业部青岛动物检疫所王志亮等通过对 1 号样本病原核酸 N 基因和 F 基因片段进行遗传发生分析,发现流行株为第 4 基因亚群^[19]。

2 流行病学

该病潜伏期是 4~6 天,主要通过直接和间接接触传染或呼吸道飞沫传染,饮水也可以导致感染。病畜急性期自分泌物、排泄物及呼气等排出病毒,成为传染源。同地区动物以直接接触方式或经由咳嗽而行短距离飞沫传染,不同地区因以引入感染动物而引发感染。一般认为,羊恢复后不会成为慢性带原者,但感染后的潜伏期间可能传播该病。病毒发现于精液及胚中,可经人工授精或胚移植传染。感染母羊可经乳汁传染给羔羊。从宿主的敏感性来看,山羊和绵羊是 PPRV 易感的自然宿主,其中山羊比绵羊更易感。3~8 月龄的山羊感染后发病率可达 100%,严重暴发期致死率为 100%。不同品种的山羊或同品种不同个体的感受性亦有差异,欧洲品系山羊的较易被感染发病。绵羊也偶尔有严重病例发生。猪对该病呈亚临床感染,不传播病毒。牛以人工接种或接触感染后不表现出临床症状,但可产生抗 PPRV 抗体。鹿、野山羊、长角大羚羊、东方盘羊、瞪羚羊、驼可感染发病。

自 1942 年在非洲西部的象牙海岸首次报道该病以来,在随后的 10 年内 PPR 几乎遍及了从撒哈拉沙漠到赤道的所有国家。1999 年,OIE 和 FAO 的公报证实了位于大西洋和红海之间的大多数非洲国家已经有 PPR 流行,并向东扩展到了加蓬,向南扩展到肯尼亚,向北扩展到了埃及。近年来,位于撒哈拉沙漠到赤道的诸多非洲国家,保加利亚、约旦、印度等西南亚国家以及包括位于阿拉伯半岛的以色列、伊拉克等 10 个中东国家和地区都先后暴发了大规模 PPR 疫情。据 OIE 公报,2004 年国际上共有 29 个国家暴发该病。2006 年初,我国周边国家包括孟加拉国、印度、尼泊尔、巴基斯坦、哈萨克斯坦、坦桑克斯坦和蒙古等国家先后暴发了大规模 PPR 疫情^[9-14]。因此,PPR 的地理分布呈扩散和从西向东移动的趋势。Zahur AB 等(2008)应用竞争 ELISA 法对巴基斯坦 24 个不同地区的竞争 ELISA 法 1463 山羊和绵羊样品进行了血清学检测,结果有 1096 样品为阳性,表明该病在巴基斯坦广泛流行^[10]。Raghavendra AG 等(2008)对印度南部 1492 份绵羊和 2068 山羊血清样品进行了检测,结果绵羊和山羊血清样品阳性率分别为 41.35%和 34.91%,表明该病在印度等国广泛流行^[11]。2007 年 7 月 25 日,西藏自治区日土县热帮乡龙门卡村 262 只山羊发病死亡,经国家外来动物疫病诊断中心确诊为 PPRV 感染,这标志着小反刍兽疫已经传入我国^[19]。

3 临床症状

山羊在自然感染 PPRV 2~6 d 后出现临床症状,主要表现为高热,直肠温度高达 40~41℃;出现精神沉郁,嗜睡,被毛竖起,体态臃肿,特别是短毛的品种。随后,眼、鼻、口中有浆液性的分泌物排出。当继发细菌感染时,分泌物变为黄稠样。大部分患畜会出现眼球凹陷,最终因脱水而陆续死亡。在该病的后期会出现共同的特征:鼻口周围、嘴唇的外侧的皮肤,形成小的结痂损伤。

4 发病机理与病理变化

PPRV 主要通过呼吸道侵入机体,然后在呼吸道粘膜上皮细胞、局部淋巴结等部位大量复制引起原发病灶,然后迅速通过淋巴和血液循环到达全身组织器官,PPRV 迅速增殖并产生很高的滴度,引起全身性感染。尸体剖解病变与牛瘟相似,患畜可见结膜炎,坏死性口炎等肉眼病变,在鼻甲、喉、气管等处有出血斑,严重病例可蔓延到硬腭及咽喉部。皱胃常出现病变,病变部常出现有规则,有轮廓的糜烂,创面红色,出血。瘤胃、网胃、瓣胃很少出现病变,肠可见糜烂或出血。大肠内、盲肠、结肠结合处出现特征性线状出血或斑马样条纹。淋巴结肿大,脾脏出现坏死灶病变。显微病变与其他麻疹病毒属感染症相似。即出现多核巨细胞,肺最易看到。此外,可见嗜伊红性核内或细胞质内包涵体。

5 诊断

根据山羊和绵羊发病而接触牛不发病、高发病率和高死亡率,临床症状主要为高热、分泌物、腹泻、死亡、呼吸困难,病理变化主要为口腔糜烂、肺炎、肠出血、结膜炎,可以做出初步诊断,确诊要进行实验室检查。用棉拭子无菌采集活体动物眼睑下结膜分泌物和鼻腔、颊部及直肠黏膜病料,采集全血时加抗凝剂如肝素,供病毒分离、PCR 和血液学检验用。制取血清时,血液样品不冷冻,但要保存在阴凉处。用于组织病理学检查的样品,可采集淋巴结(尤其是肠系膜和支气管淋巴结)、脾、大肠、肠黏膜和肺脏。

电镜检查 采取病畜的粪便或直肠黏膜病料,制备悬液进行负染,在电镜下可观察到形状不规则、有囊膜、带有纤突的病毒粒子,直径为 130~360nm。

病毒分离鉴定 PPRV 可在羔羊原代肾细胞或者 Vero 传代细胞上增殖再进行分离,将可疑病料经过过滤除菌后接种单层细胞,逐日观察细胞病变作用(CPE),通常在 7~11 d 内可出现 CPE。CPE 表现为细胞圆化、聚集,在羔羊细胞内最终形成合胞体,在 Vero 细胞有时合胞体很小,对感染的 Vero 细胞进行染色后就可看见。

血清学试验 常规血清学试验有病毒中和试验(VN)、对流免疫电泳试验(CIEP)、酶联免疫吸附试验(ELISA)^[4]、重组核蛋白间接 ELISA^[15,17]、竞争 ELISA^[18]、琼脂凝胶免疫扩散(AGID)、间接荧光抗体试验(IFAT)等。在国际贸易中,指定诊断方法为 VN,替代诊断方法为 ELISA。

分子生物学技术 目前常用 PPR 特异性的 cDNA 探针和 RT-PCR 两种方法检测^[5,7],可特异性鉴定,并且敏感性较高。

鉴别诊断 该病应与牛瘟、羊传染性胸膜肺炎、巴氏杆菌病、羊传染性脓疱、口蹄疫和蓝舌病相鉴别。(1)与牛瘟鉴别: PPRV 主要感染山羊,绵羊较少发病,牛及大型偶蹄兽动物一

般呈隐性感染。同时采用聚合酶链反应技术可特异性地鉴别 PPRV 和 PRV。(2) 与羊传染性胸膜肺炎鉴别 在急性病例中二者均有呼吸道症状,但羊传染性胸膜肺炎由支原体引起,以浆液性和纤维性肺炎和胸膜炎为主要病症,无黏膜病变和腹泻症状。(3) 与巴氏杆菌病鉴别 在急性病例中二者均有呼吸道症状存在,但羊巴氏杆菌病由巴氏杆菌引起,以胸腔积水、肺炎及呼吸道黏膜和内脏器官发生出血性炎症为主,无溃疡性和坏死性口腔炎及舌糜烂。(4) 与羊传染性脓疱鉴别 羊传染性脓疱是由副痘病毒引起,以口唇、眼和鼻孔周围的皮肤上出现丘疹和水疱,并迅速变为脓疱,最后形成痂皮或疣状病变,但无腹泻症状。(5) 与蓝舌病鉴别 蓝舌病是由蓝舌病毒引起,以颊黏膜和胃肠道黏膜严重卡他性炎症为主,乳房和蹄冠等部位发生病变,但不发生水疱。小反刍兽疫无蹄部病变。(6) 与口蹄疫鉴别:口蹄疫是由口蹄疫病毒引起,临床以口鼻黏膜、蹄部和乳房等处皮肤发生水疱和糜烂为特征。

6 防控措施

该病对小反刍动物危害严重,被 OIE 列为法定报告的传染病,所以一旦确诊后,不进行治疗,而是立即扑杀,扑灭疫情。

① PPR 暴发时,应按照“早、快、严、小”的原则,采取严格的封锁、扑杀、检疫、消毒、无害化处理以及疫源的追踪调查和处理等综合性防治措施,以控制和扑灭疫情。② 加强饲养管理 易感动物饲养、生产、经营等场所必须符合《动物防疫条件审核管理办法》规定的动物防疫条件,并加强种羊调运检疫管理 羊群应避免与野羊群接触 各饲养场、屠宰厂、交易市场、动物防疫监督检查站等要建立并实施严格的卫生消毒制度;③ 严格检疫 产地检疫 羊在离开饲养地之前,养殖场必须向当地动物卫生监督机构报检。动物卫生监督机构接到报检后必须及时派员实施检疫。检疫合格后,出具合格证明 对运载工具进行消毒,出具消毒证明,对检疫不合格的按照有关规定处理。屠宰检疫:动物卫生监督机构的检疫人员对羊进行检疫,合格后方可入厂屠宰。运输检疫 国内跨省调运山羊、绵羊时,应当先到调入地动物卫生监督机构办理检疫审批手续,经调出地按规定检疫合格,方可调运。种羊调运时还需在到达后隔离饲养 10 天以上,由当地动物卫生监督机构检疫合格后方可投入使用。④ 加强边境地区疫情监测 与疫情国相邻的边境区域,应当加强血清学监测。⑤ 进行强制免疫接种 发生过疫情的地区及受威胁地区,应用牛瘟组织培养苗期对风险羊群进行免疫接种。对与有疫情国家相邻的边境县,定期对羊群进行预防性强制免疫,建立免疫带。目前,商品化的 PPR 疫苗有 适应细胞的 RP 弱毒疫苗,该苗诱导的免疫力至少可维持 3 年 2PPR 弱毒疫苗,该苗诱导的免疫力可维持终身,对孕畜安全,母源抗体可维持 2~4 月 表达的 PPRV F 蛋白和 H 蛋白的重组羊痘病毒,该苗安全、免疫力确实。

参考文献 (References)

- [1] Bailey D, Banyard A, Dash P, et al. Full genome sequence of peste des petits ruminants virus, a member of the Morbillivirus genus [J]. Virus Research, 2005, 110: 119-124
- [2] Dhar P, Muthuchelvan D, Sanyal A, et al. Sequence analysis of the haemagglutinin and fusion protein genes of peste-des-petits ruminants vaccine virus of Indian origin [J]. Virus Genes, 2006, 32(1): 71-78
- [3] Kerur N, Jhala MK, Joshi CG. Genetic characterization of Indian peste des petits ruminants virus (PPRV) by sequencing and phylogenetic

- analysis of fusion protein and nucleoprotein gene segments [J]. Res Vet Sci, 2007, 26(10): 456-463
- [4] Balamurugan V, Singh RP, Saravanan P, et al. Development of an indirect ELISA for the detection of antibodies against peste-des-petits-ruminants virus in small ruminants [J]. Vet Res Commun, 2007, 31(3): 355-364
- [5] George A, Dhar P, Sreenivasa BP, et al. The M and N genes-based simplex and multiplex PCRs are better than the F or H gene-based simplex PCR for peste-des-petits-ruminants virus [J]. Acta Virol, 2006, 50(4): 217-222
- [6] Muthuchelvan D, Sanyal A, Balamurugan V, et al. Sequence analysis of the nucleoprotein gene of Asian lineage peste des petits ruminants vaccine virus [J]. Vet Res Commun, 2006, 30(8): 957-963
- [7] Balamurugan V, Sen A, Saravanan P, et al. One-step Multiplex RT-PCR Assay for the Detection of Peste despetits ruminants Virus in Clinical Samples Veterinary Research Communications, (2006) 30,655-666
- [8] Couacy-Hymann E, Bodjo SC, Danho T, et al. Early detection of viral excretion from experimentally infected goats with peste-des-petits ruminants virus [J]. Prev Vet Med, 2007, 78(1): 85-88
- [9] Sreenivasa BP, Singh RP, Mondal B, et al. Marmoset B95a cells: a sensitive system for cultivation of peste des petits ruminants (PPR) virus [J]. Vet Res Commun, 2006, 30(1): 103-108
- [10] Zahur AB, Irshad H, Hussain M, et al. The epidemiology of peste des petits ruminants in Pakistan [J]. Rev Sci Tech, 2008,27(3):877-884
- [11] Raghavendra AG, Gajendragad MR, Sengupta PP, et al. Seroepidemiology of peste des petits ruminants in sheep and goats of southern peninsular India [J]. Rev Sci Tech, 2008,27(3):861-867
- [12] Yesilbağ K, Yılmaz Z, Gölcü E, et al. Peste des petits ruminants outbreak in western Turkey [J]. Veterinary Record, 2005, 157 (9): 260-261
- [13] Abraham G, Sintayehu A, Libeau G, et al. Antibody seroprevalences against peste des petits ruminants (PPR) virus in camels, cattle, goats and sheep in Ethiopia [J]. Prev Vet Med, 2005, 70(1-2): 51-57
- [14] Frölich K, Hamblin C, Jung S, et al. Serologic surveillance for selected viral agents in captive and free-ranging populations of Arabian oryx (Oryx leucoryx) from Saudi Arabia and the United Arab Emirates [J]. J Wildl Dis, 2005, 41(1): 67-79
- [15] Balamurugan V, Singh RP, Saravanan P, et al. Development of an indirect ELISA for the detection of antibodies against peste-des-petits-ruminants virus in small ruminants [J]. Vet Res Commun, 2007, 31(3): 355-364
- [16] Mitra Kaushik S, Nayak R, Shaila MS. Identification of a cytotoxic T cell epitope on the recombinant nucleocapsid proteins of Rinderpest and Peste des petits ruminants viruses presented as assembled nucleocapsids [J]. Virology, 2001, 279 (1) : 210-220
- [17] Yadav V, Balamurugan V, Bhanuprakash V, et al. Expression of Peste des petits ruminants virus nucleocapsid protein in prokaryotic system and its potential use as a diagnostic antigen or immunogen [J]. J Virol Methods, 2009, 162(1-2):56-63
- [18] Munir M, Siddique M, Ali Q. Comparative efficacy of standard AGID and precipitinogen inhibition test with monoclonal antibodies based competitive ELISA for the serology of Peste des Petits Ruminants in sheep and goats [J]. Trop Anim Health Prod, 2009,41 (3): 413-420
- [19] Wang Z, Bao J, Wu X, Liu Y, et al. Peste des petits ruminants virus in Tibet, China [J]. Emerg Infect Dis, 2009 Feb;15(2):299-301