一种新发现的动物病毒——施马伦贝格病毒

邹兴启,朱元源,赵启祖
(中国兽医药品监察所,北京　100081)

[收稿日期] 2012 - 08 - 01　[文献标识码]A　[文章编号]1002 - 1280 (2013) 01 - 0056 - 04　[中图分类号]S852.65

[摘　要]　从病原学、流行病学、临床症状以及诊断防治等方面对新发现的施马伦贝格病进行了介绍,为进一步研究该病毒、控制其传播等提供参考。

[关键词]　施马伦贝格病毒;新发病;虫媒传播

A New Animal Virus - Schmallenberg Virus

ZOU Xing - qi, ZHU Yuan - yuan, ZHAO Qi - zhu
(*China Institute of Veterinary Drug Control*, *Beijing* 100081, *China*)

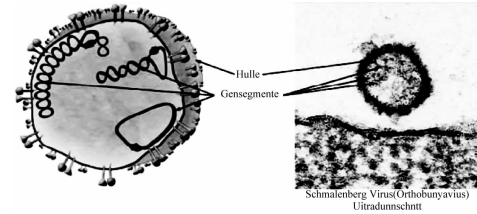
Abstract: A new Schmallenberg virus was introduced from aetiology, epidemiology, clinical symptom, diagnosis, prevention and treatment in order to provide reference for further research of this virus and controlling of the disease.

Key words: Schmallenberg virus; emerging disease; insect - borne

施马伦贝格病毒(Schmallenberg virus,SBV)与赤羽病病毒(Akabane disease virus)和加州脑炎病毒群(California encephalitis viruses)同属于布尼病毒科布尼病毒属。该病毒最早于2011年8月在德国的北莱茵威斯特伐利亚州施马伦贝格(Schmallenberg)小镇发现,并以发现地命名,引起的疫情目前仅在欧洲流行,尤以德国、法国、比利时、荷兰、英国严重[1-3]。该病毒能引起牛、绵羊和山羊的成年动物中度病症,表现为产奶量下降、发烧、腹泻等,引起流产及出生缺陷,该病传播速度较快,对养殖业的危害巨大。

1　病原学

SBV的模式图和电镜照片见图1[1]。电镜观察该病毒为囊膜包被,直径约100 nm的球状病毒,基因组为单链负股RNA,分3个节段,分别为大(L)、中(M)、小(S)[4]。S片段长830 bp,编码核衣壳(N)与非结构蛋白(NSs);M片段4415 bp,编码一个聚合蛋白,经加工形成2个膜蛋白(Gn和Gc)和非结构蛋白(NSm);L片段6865 bp,编码RNA依赖的RNA聚合酶(RdRp)。以上序列已经收录在欧洲核酸库,编号为HE649912 - HE649914[1,5]。Gc蛋白是其中一个较大的膜蛋白,能够被中和抗体所识别。在三个片段中M片段是最容易变异的。



Hülle为外壳;Gensegmente为基因片段

图1　施马伦贝格病毒的模式图(a)和电镜照片(b)

根据布尼亚病毒科正布尼亚病毒属中加州血清群病毒推断,施马伦贝格病毒在50 ~ 60 ℃处理30 min以上传染性明显下降或丧失,对常用消毒剂

作者简介:邹兴启,助理研究员,从事动物病毒学和免疫学研究。
通讯作者:赵启祖。E - mail: zhaoqizu@ ivdc. gov. cn

如1%次氯酸钠、2%戊二醛、70%乙醇、甲醛敏感,长时间暴露在宿主或媒介外很难存活[3]。

2　分类地位

根据德国FLI研究人员已经测定的基因组序列信息,该病毒归为布尼亚病毒科正布尼亚病毒属(orthobunya viruses),其基因组L序列与Shamonda病毒、Akabane病毒等序列的相似性很高,属于Simbu血清群。Yanase T等根据进化树分析认为,施马伦贝格病毒由Sathuperi病毒(SATV)和Shamonda病毒(SHAV)重组而成,SATV提供了M片段,SHAV提供了S(AB183282)与L片段(AB698483),SBV与SHAV的S片段基因序列同源性达97%,L片段的同源性达94%[5]。笔者推测,可能是SATV和SHAV感染同一传播媒介或同一动物发生基因重组变异而产生的一种新病毒,因为正布尼亚病毒发生基因片段重组产生新病毒的情况经常报道[6-7]。

3　流行病学

该病毒自从德国和荷兰个别农场检出后,很快在德国、法国、英国、荷兰等国多个农场检出,该病毒引起的疾病至今仍在西欧肆虐,导致多个农场反刍动物发病,它引起生产性能大幅降低,导致怀孕母畜流产、胎儿畸形,造成了巨大的经济损失。

3.1　*潜伏期*　畜群感染后2~3周发病率较高,达20%~70%,发病成年个体一般在几天内很快康复。Bernd Hoffmann等用病毒培养物接种9月龄牛,经荧光定量PCR检测第2~5天均为阳性,第4天基因的拷贝数最高,有一头第4天发热[8]。牛和羊感染试验表明,接种3~5 d后无症状或出现中等症状,病毒血症持续1~5 d[3]。田间情况比较复杂,其潜伏期及传播规律还需收集更多数据。

3.2　*地理分布*　在德国、荷兰、法国、英国、比利时、卢森堡、意大利及西班牙牧场均检测出施马伦贝格病毒感染,表1中显示施马伦贝格病毒在北欧国家造成了大量牛、羊场感染,对养殖业造成了巨大的损失[1,9]。在德国,2011年最后几周至2012年第5周绵羊发病报告数逐渐增加,然后缓慢下降,至第15周时没有增加,而在牛场至2012年第4周鲜有相关病例的报告,从2012年第5周以后逐渐增多,至2012年第16周达到高峰,2012年第19周仍然处于高位(图2),后续的报告未统计。这是欧洲首次报道simbu血清群病毒感染动物,施马伦贝格病毒起源于何时何地目前还不得而知,在欧洲以外的其他国家和地区均未见报道。

表1　各国报道的施马伦贝格病毒疫情信息

国家	截止日期	感染农场/个	牛场/个	绵羊场/个	山羊场/个
德国	2012.7.17	1779	866	865	48
法国	2012.7.10	2241	1096	1128	17
英国	2012.6.18	271	49	219	3
荷兰	2012.7.10	350	237	107	6
西班牙	2012.6.18	5	0	5	0
比利时	2012.7.12	576	407	167	2
卢森堡	2012.6.18	18	11	6	1
意大利	2012.6.18	3	2	0	1
总计	5243	2668	2497	78	

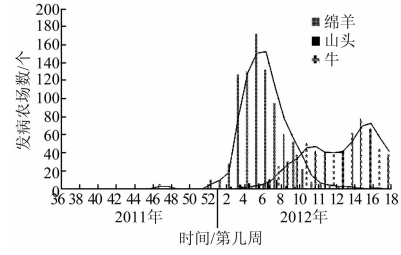


图2　德国每周施马伦贝格病毒疫情信息统计结果

3.3　*宿主范围*　施马伦贝格病毒可引起牛、山羊、绵羊、野牛感染发病,并可通过PCR或病毒分离检测出病原,在马鹿、狍、羊驼(Alpaca)及欧洲盘羊(mouflon)血清中仅检测出施马伦贝格病毒抗体[3]。Simbu血清群病毒的宿主广泛,包括猪、牛、羊和多种野生动物,如Akabane病毒不仅可感染牛、绵羊、山羊、水牛、鹿、骆驼等反刍动物,而且在马、狗、猪中均检测出相应抗体,据此推测其它野生或家养的反刍动物(如骆驼、鹿)均可能是施马伦贝格病毒易感动物。

大多数正布尼亚病毒对人无危害,如Akabane病毒主要通过蚊虫传播,病毒主要感染牛,不是人畜共患病病原,施马伦贝格病毒与Shamonda病毒、Akabane病毒等Simbu血清群病毒相似,可能对人无危害,目前未见人感染该病毒的相关报道,Ducomble T等通过对接触施马伦贝格病毒的羊场工作人员调查,通过血清学和分子生物学试验,没有证据显示传播给人[10]。

3.4　*传播方式*　正布尼亚病毒属中的多数成员均能通过虫媒传播(蚊子或蠓),还能通过接触胎盘直接传播[3],动物之间直接传播的可能性不大。通过流行病学调查表明该病为虫媒传播[3],比利时研究人员在两种蠓(*obsoletus* 和 *dewulfi*)体内均检测出了施马伦贝格病毒,这两种蠓在北欧地区经常发

现,其中包括英国。Lasse Dam Rasmussen 等通过荧光定量 PCR 检测进一步确定了库蠓(*C. obsoletus*)为施马伦贝格病毒的天然媒介[11],也是另一个分节段病毒蓝舌病病毒的载体。可能的情况是施马伦贝格病毒在夏秋季节通过这些蚊虫传播,感染了牛羊等动物,当到冬天及下一年春天怀孕母畜出现流产、出生缺陷等症状时才表现出来。这也正说明了图 2 中为什么前期该病多见于羊场,后期多见于牛场,因为绵羊怀孕周期为 144 ~ 155 d,牛的怀孕周期为 270 d,若在怀孕前或早期感染了该病毒,可通过流产、出生缺陷表现出症状。有多少种蚊、蠓作为媒介传播该病毒还需作进一步研究。

3.5 流行病学预测 根据当前掌握的关于该病毒及亲缘关系很近的 SHAV 和 SATV 的信息,还不能预测该病是否会持续暴发直到所有血清阴性易感动物均感染,或者因为基因变异引起疫病反复发生。按照 SHAV 基因组的稳定性,Garigliany 等[12]推测后者发生的可能性较低。但是主要免疫抗原 Gc 蛋白的编码基因 M 片段易变异,是否会因变异导致抗原漂移还不得而知。

4 临床症状

该病在胎儿和新生动物中主要影响绵羊、牛和山羊,可导致怀孕母畜流产,胎儿畸形,表现为关节畸形、脑畸形、神经症状、共济失调等,对中枢神经系统影响很大。胎儿畸形的不同取决于发病的时期不同。通过实时荧光定量 PCR 检测发病胎儿的脾、脑、胎粪、脊髓、肋软骨、脐带、羊水等不同器官和病料,结果表明羊水和脐带是确定新生胎儿是否感染施马伦贝格病毒的最佳病料[8]。

成年牛的急性症状多表现为厌食、腹泻、发热(>40 ℃)[13]、产奶量下降可达 50%,几天后快速康复,该病在畜群中暴发后一般会持续 2 ~ 3 周。到目前为止关于育龄期或成年绵羊的临床症状还未有报道。

5 诊断与防治

从临床症状来看,该病与许多其它动物病毒病症状类似,可以结合流行病学进行初步诊断,确诊需要进一步通过实验室诊断。采集样品时应注意,成年动物最好采集急性感染期的血清或 EDTA 处理的全血,流产、死胎或畸形胎儿除采集脾脏和血液外,也可采集脑组织[2]。可通过以下方法进行病原诊断:

5.1 RT – qPCR(real time reverse quantitative transcriptase PCR) 德国 FLI 研究所检测了来源 6 个农场的 12 份样品,均为阳性,Ct 值在 24 ~ 35 之间[8,12],该方法已被大多数实验室采用检测病原,具有敏感性高、特异性好的特点。

5.2 细胞培养 该病毒在 BHK21 细胞、Vero 细胞及昆虫细胞(KC)中生长良好。将施马伦贝格牛场死牛的血液样品接种库蠓卵巢细胞(KC),10 d 后收获病毒,然后接种 BHK – 21 细胞,5 d 出现 CPE,RT – qPCR 检测病毒液的 Ct 值约为 14[14]。

5.3 血清学抗体检测法 ①德国和荷兰的科学家开发了 ELISA 检测方法[15],该技术适用于大规模血清学调查,目前法国 IDVet 公司已有商品化的间接 ELISA 试剂盒供应,可以检测反刍动物的血清或血浆该产品通过了欧洲参考实验室的评估;②间接免疫荧光抗体实验(IFAT)[10,16],将施马伦贝格病毒病毒接种感染 Vero 细胞,然后加入待检血清,通过荧光二抗显示,该方法操作简单,直观,但敏感性不高,还受到操作人员的主观影响;③病毒中和试验(VNT),荷兰研究人员通过 RT – PCR 检测证明感染施马伦贝格病毒的动物,通过 VNT 检测发现 94% 的母羊、99% 的母牛血清呈阳性,表明 VNT 的特异性强,敏感性高[17]。

目前没有合适的疫苗和治疗措施应对该病,只能通过监测疾病流行情况和可能受影响的农场来控制该病[18 – 20]。德国的研究人员正在开发相应疫苗。我国目前未见该病的相关报道,按照 OIE 提供的技术资料[3],引进健康动物及其产品肉、奶和健康公牛精液等引起疫病传播的风险可以忽略不计,但需严格检测防止疫病侵入。

参考文献:

[1] Information from the Friedrich – Loeffler – Institut on 'SchmallenbergVirus' [EB/OL]. [2012 – 07 – 30] (2012 – 01 – 10). http://www. fli. bund. de/no _ cache/en/startseite/current – news/animal – disease – situation/new – orthobunyavirus – detected – in – cattle – in – germany. html.

[2] Schmallenberg viruscase definition & guidance[EB/OL]. [2012 – 07 – 30] (2012 – 03 – 22). http://www. nd. gov/ndda/files/resource/SchmallenbergCaseDefinitionandGuidance. pdf.

[3] Schmallenberg Virus. Oie Technical Factsheet. [EB/OL][2012 – 07 – 30]. http://www. oie. int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/A_Schmallenberg_virus. pdf.

[4] First visualization of Schmallenberg virus[EB/OL]. [2012 – 07 – 30] (2012 – 03 – 08). http://www. fli. bund. de/no_cache/en/startseite/press – releases/presse – informationsseite/Pressemitteilung/schmallenberg – virus – erstmals – sichtbar – gemacht. html.

[5] Yanase T, Kato T, Aizawa M, *et al*. Genetic reassortment between

Sathuperi and Shamonda viruses of the genus Orthobunyavirus in nature: Implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus[J]. ArchVirol,2012,157(8):1611-1616.

[6] Briese T, Bird B, Kapoor V, *et al*. Batai and Ngari viruses: M segment reassortment and association with severe febrile disease outbreaks in East Africa[J]. J Virol,2006,80(11):5627-5630.

[7] Briese T, Kapoor V, Lipkin W I. Natural M-segment reassortment in Potosi and Main Drain viruses: implications for the evolution of orthobunyaviruses[J]. Arch Virol,2007,152(12):2237-2247.

[8] Bilk S, Schulze C, Fischer M, *et al*. Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns[J]. Vet Microbiol, 2012,159(1/2):236-238.

[9] Update No.9 on Schmallenberg Virus in Northern Europe[EB/OL]. [2012-07-30]. http://www.defra.gov.uk/animal-diseases/files/poa-schmallenberg-update-120618.pdf.

[10] Ducomble T, Wilking H, Stark K, *et al*. Lack of evidence for schmallenberg virus infection in highly exposed persons, Germany, 2012[J]. Emerg Infect Dis,2012,18(8):1333-1335.

[11] Lasse Dam Rasmussen, Birgit Kristensen, Carsten Kirkeby, *et al*. Culicoids as vectors of Schmallenberg virus[J]. Emerg Infect Dis, 2012,18(7):1204-1206.

[12] Garigliany M M, Bayrou C, Kleijnen D, *et al*. Schmallenberg virus: A new Shamonda/Sathuperi-like virus on the rise in Europe[J]. Antiviral Res,2012,95(2):82-87.

[13] Muskens J, Smolenaars A J, van der Poel W H, *et al*. Diarrhea and loss of production on Dutch dairy farms caused by the Schmallenberg virus[J]. [Article in Dutch] Tijdschr Diergeneeskd,2012, 137(2):112-115.

[14] Hoffmann B, Scheuch M, Höper D, *et al*. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe,2011[J/OL]. Emerg Infect Dis. [2012-06-20]. http://dx.doi.org/10.3201/eid1803.111905

[15] Schmallenberg Virus. "Schmallenbergvirus" in Germany[EB/OL]. [2012-06-20](2012-01-12). http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/animal_health/presentations/11120112_schallenberg_germany.pdf

[16] New Orthobunyavirus detected in cattle in Germany[EB/OL]. [2012-07-30](2011-12-09). http://www.fli.bund.de/en/startseite/current-news/animal-disease-situation/new-orthobunyavirus-detected-in-cattle-in-germany.html.

[17] Loeffen W, Quak S, De Boer-Luijtze E, *et al*. Development of a virus neutralisation test to detect antibodies against Schmallenberg virus and serological results in suspect and infected herds[J]. Acta Vet Scand,2012,54(1):44.

[18] Virus Schmallenberg. [EB/OL][2012-07-30](2012-04-11). http://www.favv-afsca.be/santeanimale/schmallenberg/#d.

[19] 肖　肖. 施马伦堡病,一种新发现的病毒病[J]. 中国动物检疫,2012,29(3):65-69.

[20] 景志忠,才学鹏. 一种新发病毒病在欧洲反刍动物中的流行现状及其研究进展[J]. 中国兽医科学,2012,42(04):426-430.

(责任编辑:李文平)

(上接第55页)

脉给药。因此,建议兽用鱼腥草注射液通过提高质量标准,增加静脉给药方式。针对我国抗生素滥用所导致的细菌耐药性越来越重的不良状况,国家各部委陆续出台一系列措施对此进行整治。抗菌药物临床应用有减少趋势,鱼腥草注射液一类清热解毒类中药注射剂的替代使用会增加,特别是能静脉使用的鱼腥草注射液市场份额会相应扩大,这对生产兽用鱼腥草注射液的企业也是一个难得的机遇。

2.4　目前,兽药企业生产鱼腥草注射液均以干鱼腥草为原药材,若按人药新标准用鲜鱼腥草并在采收后24 h用完,以现有的情况来看,兽药企业很难做到,建立符合中药材生产管理规范(GAP)要求的鲜鱼腥草基地,并就近建立挥发油提取车间是解决问题的唯一方法。

3　结　语

随着中药现代化进程的加快,中药注射剂日益受到关注,其在兽医临床上应用越来越广泛。通过对人用鱼腥草注射液新标准的解读与思考,建议应以质量控制为抓手,把"成分可知可控"作为努力方向,切实提升中兽药注射剂的质量标准水平,改善生产条件,提高产品质量,保证中兽药注射剂的安全、有效。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中药注射液质量标准草案公示[EB/OL]. [2011-07-02]. http//www.chp.org.cn.

[2] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典二〇〇五年版二部[S].

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典二〇一〇年版一部[S].

[4] 卢红梅,梁逸曾,伍贤进,等. 分别用鲜草与干草生产的鱼腥草注射液指纹图谱对比研究[J]. 分析化学,2006,6:813-816.

[5] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典二〇一〇年版二部[S].

[6] 孙伟伟,李贻奎,张金艳,等. 聚山梨酯80及其配制的鱼腥草注射液致Beagle犬类过敏反应实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2011,1:90-93.

[7] 中华人民共和国卫生部. 中药成方制剂第十七册(WS3-B-3264-98)[S].

[8] 罗　杰. 犬鱼腥草注射液过敏[J]. 中国兽医杂志,2004,2:33.

(责任编辑:陈　希)