

犬细小病毒病的防制

诸葛文娟¹ 孙旭东² 孙海娟²

1. 山东省威海市动物疫病预防控制中心, 山东威海 264200;

2. 山东省威海市环翠区温泉畜牧兽医中心站, 山东威海 264200

摘要 犬细小病毒病是由犬细小病毒引起的一种急性、烈性、高接触性并且死亡率较高的烈性传染病。临床上以出血性肠炎、呕吐、心肌炎为主要症状, 传染性高、发病急, 是目前严重危害我国犬饲养行业的传染病之一。本文对近年来犬细小病毒病的病原学、流行病学、临床表现、诊断技术以及防治措施等进行了综述。

关键词 犬细小病毒; 病原学; 流行病学; 临床症状; 诊断技术; 防治

在我国, 1982 年最早报道了犬细小病毒病(Canine parvovirus infection)的发生。犬细小病毒(Canine parvovirus, CPV) 是引起犬科或其它食肉动物细小病毒病的病原。自 1978 年世界上首次发现以来, 很快与犬瘟热病毒(Canine distemper virus, CDV)成为犬的 2 种最重要的病原, 常引起犬严重的出血性胃肠炎、呕吐及脱水等症状。各年龄段犬均易感, 幼犬的易感性最高, 可引起幼犬的心肌炎; 成年犬发病率和死亡率较低, 主要表现出血性肠炎症状。

1 病原学

犬细小病毒(Canine parvovirus, CPV)属于细小病毒科、细小病毒属, 其形态结构是典型的细小病

毒属形态结构。CPV 没有囊膜, 病毒粒子细小, 直径约 20~22 nm, 二十面体对称结构, 其浮密度为 1.438 g/cm³ 氯化铯中。基因大小为 5 233 bp, 其基因组是单股负链 DNA 结构, CPV 主要编码 4 种蛋白, 包括非结构蛋白 NS1、NS2 和结构蛋白 VP1、VP2^[1], 衣壳蛋白主要成分是 VP2, 主要功能是具有血凝活性。在 4 ℃和 25 ℃下, 病毒可凝集猪和恒河猴的红细胞, 而与其它动物的红细胞无凝集反应^[2]。犬细小病毒与猫细小病毒(猫泛白细胞减少症病毒)有密切的关系。用猫细小病毒可研制出本病毒的疫苗。在已报道发现了 CPV 抗原漂移的变异株中, 对猪和恒河猴的红细胞没有血凝性和丢失了与猫患白细胞减少症病毒抗原相关性的特性。犬细小病毒对外界环境具有较强的抵抗力。如在室温下能存活

收稿日期: 2016-08-09

诸葛文娟, 女, 1964 年生, 高级畜牧师。

综合考虑, 制定适合自身鸡场情况的喷洒时间; ②最简单易行的方法是向鸡舍地面进行适当洒水, 通过地面水蒸发而达到散热的目的, 但必须保证通风, 务必确保不可因洒水导致鸡舍内环境湿度过大, 从而得不偿失; ③采用通风的方式进行降温, 安装换气扇, 生产实践证明, 纵向通风比横向通风效果更好。

2) 采取绿化遮阳的方式进行降温, 在鸡舍周围种植绿色植物, 增加绿色植被的面积, 在保证绿化不影响鸡舍自然通风的前提下, 尽可能多地提高绿化率, 通过绿色植物自身可吸收热辐射来达到降温

的目的。

3) 优化饲料配比, 由于鸡只在气温较高的环境下可能对动物蛋白的采食欲下降, 这样会导致采食量下降而引起鸡体的营养物质摄入量不足, 因此可适当增加饲料中的植物蛋白, 减弱对生产性能的影响; 在饲料中添加剁碎的西瓜皮等降温饲料, 提高鸡的抗热能力; 选择合适的饲料添加剂, 如维生素 C 等, 减轻高温对鸡群的危害; 调整饲喂时间, 避开高温时段, 选择相对凉爽的时段加料喂鸡。

4) 当有鸡出现中暑症状, 应立即给予有效的治疗, 阻止病情发展而引起死亡。

3 个月;在 60 °C 的环境下能活 1 h。而福尔马林、次氯酸钠、氧化剂等可使得犬细小病毒失去活性。

在 20 世纪 70 年代初,观察到世界范围内的幼犬感染的一个新的传染病,以出血性胃肠炎或心肌炎为主要特点。通过电镜观察受感染动物的粪便标本,发现一个小的、圆的、无包膜病毒。随后,1 种新的细小病毒被分离出来,并命名为 CPV-2。据推测,CPV-2 在 10 年前已经出现,但并未引起重视。CPV-2 基因的碱基替换十分频繁,具体的生物学意义尚未可知。1979 年,一种新的抗原变异体 CPV-2a 通过抗原漂移产生代替了原始的 CPV-2 并迅速传播。与 CPV-2 相比,在衣壳基因上,CPV-2a 发生了 5 个主要的碱基替换,包括第 87 位蛋氨酸变为亮氨酸,第 300 位丙氨酸变为甘氨酸,第 305 位天门冬氨酸变为酪氨酸。在抗原特性上,CPV-2a 分离株也可以感染猫并导致猫发病,这与 CPV-2 不同。1984 年,1 种新的 CPV-2a 抗原变异体 CPV-2b 被发现,此变异体第 426 位天冬酰胺变为天门冬氨酸,第 555 位异亮氨酸变为缬氨酸。目前,CPV-2a 和 CPV-2b 成为主要的流行毒株在世界范围内广泛传播,并完全取代了原来的 CPV-2 病毒。当前各种不同类型的抗原变异株,以不同的比例共同存在于犬群中。CPV-2a 和 CPV-2b 重新获得的猫科宿主范围可能成为了该病毒选择性进化优势。

2000 年,另一种变异体 CPV-2c 被意大利率先报道,与 CPV-2b 不同,该变异体第 426 位由天门冬氨酸变为谷氨酸,随后越南、西班牙、英国、南美、北美、葡萄牙和印度相继报道了 CPV-2c 的出现。此位点的替换影响了病毒衣壳三倍体纤突的主要抗原区。单克隆抗体技术已被开发应用于检测 CPV-2 新的变异体。此外,分析当前流行的 CPV-2a 毒株发现,第 555 位氨基酸发生了回复突变,这种新的变异体限制了 CPV-2a, 2b 和 2c 仅有一个位点的差异,即第 426 位:CPV-2a 为天冬酰胺;CPV-2b 为天门冬氨酸;CPV-2c 为谷氨酸。目前并没有任何证据表明 CPV-2c 比其他变异株更具威胁。而且,无法从临床症状上将 CPV-2c 与 CPV-2a 或 2b 区分开。CPV-2c 所引起的临床表现与先前毒株相似,包括出血性腹泻、白细胞减少、淋巴细胞减少等。目前,各个国家拥有不同型的犬细小基因型,在美洲 CPV 的主要亚型是 2b 亚型,而在欧洲除了 2b 亚型还包括 2a 亚型,在 1996 年以前我国主要以 2a 亚型为

主,而在此后渐渐以 2b 亚型为主^[3]。

2 流行病学

犬细小病毒病最易感染犬,而水貂、狐狸、貉等犬科、鼬科动物也可以感染。犬细小病毒发病快急,死亡率高,不同年龄段均可发生,断奶前后的幼犬最容易感染,发病率与病死率都高于其他年龄段。4 周龄左右的犬感染后一般呈急性致死性心肌炎,而 9 周龄左右的犬一般呈现肠炎症状,心肌细胞内可见包涵体,4 周龄以下的犬和大于 5 岁龄的犬发病率较低,一般低于 15%。据临床发病犬的种类来看,纯种犬及外来犬比土种犬发病率高。本病一年四季均可发生,一般在冬季和春季发病率较高。

患病犬以及带毒犬为主要的传染源,尤其是其粪便中,蚊虫也可携带该病毒^[4]。犬在感染 3、4 d 后,就可通过排泄物向外界排毒,肠道分泌型 IgA 和因出血进入肠道的 IgM 的 CPV 特异抗体在疾病后期增多,抗体将病毒包裹在一起,感染性降低,血凝性也大大降低甚至丧失。而康复后的犬仍可向外界排毒,这一点往往被人们忽视。而健康犬接触病犬的排泄物或食物及垫料等均可被感染。

CPV-2 和 FPV 的宿主范围十分复杂,且在体内和体外不同。FPV 能感染体外培养的猫细胞及家养的猫,但对于犬细胞几乎没有感染能力。CPV-2 在体外培养的猫和犬细胞内都能复制,但在体内只能引起犬发病。未见任何的猫科动物对 CPV-2 易感,然而,在人工接种下,鼬科水貂会有少量感染。近年来随着 CPV-2 感染范围不断扩大,大多数的家养和野生食肉动物都易感。早在 1976 年,来自比利时和荷兰的报道称这种病毒已经在世界上广泛传播且感染家养和野生的犬科动物。细小病毒病的临床症状已从捕获的土狼和散养的土狼身上早有表现,且 VP2 基因序列分析证实了这一点。

血清学调查显示,豺狼、灰狐狸、圣华金狐、亚洲貉都有不同程度的感染。另有报道称人工养殖的貉也会感染 CPV。CPV-2a 和 CPV-2b 的 DNA 序列已从发病的印度豹和西伯利亚虎中扩增得到。研究表明,大量猫感染 CPV-2a/2b 已广泛存在,CPV-2c 毒株已经从受感染的豹猫中分离出来,但是并没有从同一地区的猫身上分离到。进化树分析表明 CPV-2c (a) 和 CPV-2c (b) 从原始的 CPV-2a 和 CPV-2b 进化而来,从而获得了适应豹猫的特性。

3 临床症状

犬细小病毒病是高接触性传染病,被 CPV 感染的犬在临床上一般分为心肌炎型及肠炎型,两者也可混合发生。

1) 心肌炎型。心肌炎型多见于 60 日龄左右的犬,发病初期症状不明显,偶见腹泻呕吐等症状。随后呼吸困难,迅速衰竭,突然死亡。心率不齐,治愈率极低,死亡率有时可达 100%。剖检病变可见肺部水肿,局灶性充血、出血致使肺表面色彩斑驳。心脏扩张,心房心室有苍白区,其界限不明显,心肌和心内膜有非化脓性坏死,心肌纤维有严重损伤,并有出血性斑纹。

2) 肠炎型。潜伏期 1~2 周,发病初期体温上升至 40℃ 以上,精神沉郁,食欲不振,有呕吐症状,初期呕吐物多为食物,随后为黏稠黄绿色物质,有时还有血液。发病 1 d 开始腹泻。发病初期粪便干燥,3~4 d 后粪便呈咖啡色或番茄酱色的血便。次数逐渐增加,粪便有腥臭味。血便几小时后犬有明显的脱水症状,眼球下陷、鼻镜干燥、体重下降明显,皮肤无弹性等症状。由于肠内容物腐败会导致内毒素中毒和弥散性血管内凝血,使机体休克、昏迷死亡。血相特征变化,病犬的白细胞数可减少 60%~90% (正常犬为 $6.0 \sim 17.0 \times 10^3$ 个/mm³),尤其在病初的 4~5 d 内。也有些病犬只表现间歇性腹泻或仅排软便的。成年犬发病一般不发热。在发病中后期,体温急剧上升的犬(可致 40℃ 以上),死亡率也明显上升。病理变化主要为空肠、回肠,浆膜下出血,呈现暗红色,肠系淋巴结肿胀充血。肠绒毛萎缩,肠腺消失,组织学检查可见核内包涵体于肠腺上皮细胞中^[9],肝脏有坏死灶,有时在干细胞内可发现嗜酸性核内包涵体。

4 诊断技术

CPV 感染的快速诊断用于隔离受感染的犬和预防易受干扰的其它接触动物的继发性感染是十分重要的,临床诊断有时是不准确的,因为其他一些病原体也可能会引起犬腹泻,如冠状病毒、腺病毒、麻疹病毒、轮状病毒、呼肠孤病毒等^[9],因此,临床病例应始终通过实验室检查确诊。有几种方法已被广泛用于实验室诊断 CPV 感染,这通常是采集粪便或肠内容物用于检测。但是在感染的晚期阶段,

EDTA- 血液样本已被证明是用于诊断的最佳样品^[7]。

4.1 免疫学诊断

犬细小病毒病抗原诊断方法在临床上已被广泛应用,但是,实践证明传统诊断方法的效果远远不如分子检测。和分子检测技术相比,免疫色谱(immuno-chromatographic, IC)方法的相对灵敏度仅为核酸诊断方法的一半左右,但是特异性却可达 100%。由于感染的病毒粒子脱落的数量减少,这使得免疫色谱的敏感性较低。

犬细小病毒可凝集猪红细胞以及恒河猴红细胞,所以可用 HA 试验来检测血凝效价,用犬细小特异性血清来做 HI 试验。HA 效价 $\geq 1:8$ 判为病原阳性,HI $\geq 1:8$ 判为抗体阳性^[9]。但这两种方法只能在专门的实验室里操作,且需要新鲜的猪红细胞或猫和恒河猴的红细胞,但它们要么很难获得所需要的数量,要么是昂贵的^[9]。此外,已有报道称某些 CPV-2 毒株缺乏 HA 活性。

ELISA 比血凝抑制更准确更敏感,可用于犬细小病毒抗原抗体的检测。20 世纪 80 年代已有 CPV-2 单抗介导的竞争 ELISA 和双抗体 ELISA 检测方法的建立。在我国,刘宏伟等^[10]用 CPV 单克隆酶标抗体制成快速诊断试剂盒,可在半个小时内判定结果。刘剑郁等用犬肾细胞增殖病毒,纯化后包被抗原,建立的 ELISA 抗体检测方法具有灵敏度高、特异性强的特点^[11]。

最近几年以来,免疫胶体金标记技术得到了进一步发展,在人体医学方面取得了较大的进展。随着该技术的不断发展,胶体金快速检测试纸条广泛应用于兽医临床。王中力等^[12]用柠檬酸三钠制备胶体金颗粒标记纯化的 CPV 单克隆抗体在硝酸纤维素膜上喷加纯化的 CPV 多克隆抗体,制成快速检测 CPV 抗原的试纸条,灵敏性、特异性极高。与一般的 ELISA 方法的敏感性相比,胶体金试纸条灵敏度更强,应用更为简便,已经成为国内外 CPV 检测最常见方法。

免疫电镜主要用于鉴别粪便中病毒颗粒是否为犬细小病毒,它比普通电镜更为敏感和准确。通常电镜下只能观察到分散的病毒粒子,金淮等^[13]将分离出的犬细小病毒细胞培养物与其高免血清混合,在 37℃ 恒温箱里培养 1 h 后低速离心,在电镜下可看到形成团块的免疫复合物,并有抗体桥连现象。

4.2 分子生物学诊断

近几年来,多种 PCR 检测方法已经得到应用,与传统方法相比,它们的灵敏度和特异性得到了大大的增强。刘维全等^[14]建立了检测食肉动物细小病毒通用 PCR 诊断技术,通过通用性、特异性与敏感性试验及对临床送检样品检测证实了该法对肉食兽细小病毒通用且具有快速特异和高度敏感的特点。此外,原位 PCR、降落 PCR、等位 PCR、套式 PCR^[15]也常用于 CPV 检测。最近几年,为提高犬细小病毒(CPV)的检出率,降低检测成本,一种新型敏感、特异、快速、简便、实用的可视化环介导等温扩增(LAMP)技术被建立应用。杨慧等^[16]于 2010 年建立的犬细小病毒 LAMP 快速可视化检测方法,最佳反应时间为 1 h,具有良好的特异性,与同属的其他病毒无交叉反应,其敏感性是 PCR 的 100 倍,与胶体金试纸法的符合率达 100%。

1996 年,美国应用生物系统公司发明 Real time PCR,灵敏度高,特异性强,可以对发病早期或潜伏期的样品准确定量判断^[17]。操作简便,避免了传统 PCR 复杂的加样程序,整个过程只开管 1 次,避免了假阳性的发生。荧光定量 PCR 的所有结果都是以扩增曲线的形式呈现出来,直观判断简便,减少人工处理,为临床及时准确诊断提供了便利。并且,每次可以至少处理 96 个样品,这大大增强了样品处理的效率。2007 年,Elia 等^[18]建立了用于检测 CPV RNA 转录的 TaqMan real-time RT-PCR 方法,证明病毒的复制可在中枢神经系统中进行。2010 年,Kumar 和 Nandi^[19]建立了 SYBR Green I real-time PCR 方法,试验证明此方法的最低检测限度为 10 个拷贝,与 TaqMan 探针灵敏度大致相同。

5 预防与治疗

因为病毒表面无囊膜覆盖,使得 CPV 具有很强的防御外界干扰的能力。它能够耐受零度低温,而且对普通消毒剂不敏感,患病犬会向周围环境释放大量病毒粒子,对于未免疫的犬,其平均感染剂量为 1 000 个病毒粒子。病犬每盎司粪便大约有 350 万个病毒粒子,是平均感染剂量的 35 000 倍。这些散在的病毒粒子在 1 个月内会失去其传染性,因此,对于新引入的犬首先要将其隔离观察 1 个月以后才安全。户外冷冻可以保护病毒粒子不被破坏,如果户外环境被污染,必须等到解冻之后才能引入

新犬。通常情况下,背阴面污染可存在 7 个月,向阳面病毒可存活 5 个月。目前还没有任何有效的措施将受污染的地面完全消毒,通过灌溉的机械去污方式是有效的,过硫酸钾可以借助农药喷雾器喷洒到受污染的地区,效果比较明显。

5.1 预防措施

本病预防主要靠疫苗,目前国内主要使用同源或异源的灭活弱毒疫苗。异源苗主要是用猫细小病毒制成的,安全性高,法国、澳洲等地已在广泛使用。在国外更多使用犬细小病毒灭活苗或弱毒苗,多家生物制药公司已开始研制二联、多联疫苗。一般幼犬于 7~8 周龄首免,灭活苗接种 3 次,间隔 3 周。以后每年加强免疫 1 次,母犬则应在怀孕前 3~4 周免疫接种。

已被污染的犬舍需要彻底消毒,之后关闭 1 个月,才可重新启用。对犬舍和其他用具,用 2%~4% NaOH、1% HCHO、5%~6% HClO 反复消毒。病情严重无法治愈的犬应及早扑杀,焚烧深埋。

5.2 治疗方法

肠炎型发现后应立即隔离饲养,加强护理。治疗原则为强心补液,止血、止吐、对症治疗、抗休克、维持体液平衡。心肌炎型多转归不良,应用心电图监视其变化。用犬细小病毒单克隆抗体,每千克 0.5~2.0 mL,肌肉注射,1 次/d;也可以用犬血红蛋白,每千克 1 mL,静脉注射,用 5%葡萄糖溶液稀释;康复犬血清每次 5~20 mL,皮下注射,1 次/d。

治疗此病最主要的目标是恢复电解质和体液平衡。广谱的抗生素应有效使用(如氨苄青霉素、红霉素、庆大霉素等),诺氟沙星和萘啶酸被证实可有效治疗出血性胃肠炎^[20]。通过激素、抗生素、补充体液等一系列的措施可以使患病动物继续存活。只要查出是 CPV 感染,补液疗法应立即启动。长时间的腹泻可导致酸中毒,钾离子应以 KCl 的形式及时补充,从而维持电解质平衡。在严重呕吐病例中所有食物的摄入应通过非肠道的方式获得。在疾病的最初发展阶段,高免血清可以用来降低病毒感染量,减缓感染进程,然而,高免血清很难获得。

参 考 文 献

- [1] RHODE S L. Nucleotide sequence of the coat protein gene of canine parvovirus[J]. *J Virol*, 1985, 54(2):630-633.

- [2] GOTO H,HIRANO T,UCHIDA E,et al.Comparative studies of physicochemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus[J].Nihon Juigaku Zasshi, 1984,46(4):519-526.
- [3] 苏建青,杨松涛,董延峰,等.犬细小病毒 2b 亚型 VP2 基因的克隆及其 B 细胞抗原表位分析[J].中国兽医科学,2007(3):185-189.
- [4] 杨德威,宋延华,刘福安.犬场蚊子与犬细小病毒[J].广东畜牧兽医科技,2000,25(4):16-18.
- [5] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].2 版.北京:科学出版社,1996:1145-1174.
- [6] POLLOCK R V,CARMICHAEL L E.Canine viral enteritis[J].Vet Clin North Am Small Anim Pract,1983,13(3):551-566.
- [7] DECARO N,CAMPOLO M,DESARIO C,et al.Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection[J].Biologicals,2005(33):259-265.
- [8] 朱军,李峰.犬细小病毒最佳血凝条件初探[J].畜禽业,2005(1):57-58.
- [9] CAVALLI A,BOZZO G,DECARO N,et al.Characterization of a canine parvovirus strain solated from an adult dog [J].New Microbiol,2001(24):239-242.
- [10] 刘宏伟,田克恭,渠川玫.犬细小病毒酶标试剂盒的研制[J].中国畜禽传染病,1994(6):11-13.
- [11] 刘剑郁,李晓成,陈德坤,等.间接 ELISA 检测犬细小病毒血清抗体方法的建立[J].中国动物检疫,2006,23(3):27-29.
- [12] 王中力,宋晓晖,陈西召,等.犬细小病毒病免疫胶体金诊断技术的研究[J].中国预防兽医学报,2004,26(1):62-66.
- [13] 刘霓虹,蔡红,李成.犬细小病毒的免疫胶体金电镜技术[J].电子显微学报,2005,24(4):441.
- [14] 刘维全,范泉水,江禹,等.肉食兽细小病毒通用 PCR 诊断技术的建立[J].中国兽医学报,2001,21(3):249-251.
- [15] 索南卓玛.犬细小病毒套式 PCR 检测方法的建立及应用[J].畜牧与兽医,2013,45(6):71-74.
- [16] 关玮琨.犬细小病毒 LAMP 检测方法建立及其串联表位卵黄抗体中和效力评价[D].哈尔滨:东北农业大学,2012.
- [17] YIN J L,SHACKEL N A,ZEKRY A,et al. Real-time reverse transeriPtase Polymerase chain reaction (RT-PCR) for measurement of cytokine and growth factor mRNA expression with fluorogenic Probes or SYBR Green I [J].Immunol Cell Biol,2001,79(3):213-221.
- [18] ELIA G,CAVALLI A,DESARIO C,et al. Detection of infectious canine parvovirus type 2 by mRNA real-time RT-PCR[J]. J Virol Methods,2007(146):202-208.
- [19] KUMAR M,NANDI S. Development of a SYBR Green based real-time PCR assay for detection and quantitation of canine parvovirus in faecal samples[J].J Virol Methods,2010(169):198-201.
- [20] KELLY W R,ATWELL R B. Diffuse subacute myocarditis of possible viral etiology:a cause of sudden death in pups[J].Aust Vet J,1979(55):36-37.

母猪喂养禁用育肥饲料

在养猪中,育肥饲料可使生猪增膘快、缩短生猪育肥期,降低养猪成本,但有些养猪户为了节约成本,会使用育肥饲料来喂养母猪,其实这是一种不可取的方法。

用育肥猪饲料饲喂未怀过孕的青年母猪,可造成母猪发情晚、不易怀孕甚至不发情。母猪产后哺乳期用育肥猪饲料饲喂,待断乳后,母猪发情期同样推迟,如果断奶后仍继续喂育肥猪饲料的话,多数母猪只见增膘不见发情。

用育肥猪饲料喂母猪,母猪增膘快,脂肪过厚,影响了输卵管的正常功能,不能正常排卵,甚至排不出卵。因此,切不可用育肥猪饲料饲喂母猪,饲喂母猪应用母猪专用饲料。

来源:江西养猪网