

王芳,陈萌萌,宋艳华,等.兔出血症病毒新毒株 RHDV2 的流行与控制(综述)[J].江苏农业科学,2016,44(9):1-3.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.001

兔出血症病毒新毒株 RHDV2 的流行与控制(综述)

王芳,陈萌萌,宋艳华,范志宇,胡波,魏后军,仇汝龙,徐为中,薛家宾

(江苏省农业科学院兽医研究所/农业部动物疫病诊断与免疫重点开放实验室/国家兽用生物制品工程技术研究中心,江苏南京 210014)

摘要:兔出血症病毒(RHDV)可引起兔病毒性出血症(RHD)。RHD 是一种急性、高度致死性兔传染病,给家兔养殖业造成巨大经济损失。2010 年,研究人员在法国兔场发现一种新型兔出血症病毒 RHDV2。与经典 RHDV 不同,该毒株能够感染幼龄家兔,甚至跨物种感染野兔,并突破经典 RHDV 疫苗的免疫防线,迅速在世界范围内流行。目前我国还未有 RHDV2 的报道,但随时面临发生该疫情的风险。本文综述 RHDV2 的病原学、流行病学特征、临床症状、诊断和防控等方面的研究进展,旨在提高对 RHDV2 的认识,加强对 RHDV2 的监测,提前做好防控措施。

关键词:兔出血症病毒;新毒株;跨物种;风险;防控

中图分类号:S852.65 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)09-0001-03

兔出血症病毒(rabbit hemorrhagic disease virus, RHDV)感染家兔可引起兔病毒性出血症(rabbit hemorrhagic disease, RHD),俗称兔瘟,该病传染性强、死亡率高,是一种以急性肝坏死为主要特征的烈性传染病,严重危害我国养兔业。RHDV 一般感染成年家兔,属于杯状病毒科兔病毒属,该属的成员还有欧洲野兔综合症病毒(European brown hare syndrome virus, EBHSV)和非致病性兔类病毒(non-pathogenic lagovirus, NP-LV)^[1]。NP-LV 包含非致病性的兔杯状病毒(rabbit calicivirus, RCV)^[2]和一些类似 RCV 或在系统发育上与 RCV 接近的兔杯状病毒,如 MRCV 株^[3]。1984 年,该病最先在中国公开报道^[4],其后,1986 年在欧洲意大利暴发^[5-6],并以此为源头传遍整个欧洲并波及全球。

从首次报道 RHDV 到现在的 30 年里,RHDV 持续发生遗传变异。1998 年 Capucci 等报道了 RHDV 发生抗原变异,并将变异株命名为 RHDVa^[7],次年,德国也报道了该变异株^[8]。研究者们根据系统发育关系,将 RHDV 毒株分为不同的基因组(分别命名为 G1~G6,G6 也称 RHDVa)^[9]。然而 2010 年,le Gall-Recule 等在法国兔场发现了 1 株兔出血症病毒新毒株,命名为 RHDVb 或 RHDV2。该变异毒株 RHDV2 与经典的 G1~G6 型在遗传特性上有很大的差异,免疫经典毒株 RHDV 不能产生很好的交叉免疫保护作用,导致 RHDV2 在家兔和野兔中跨物种传播^[5]。在接下来的几年里,该毒株蔓延到意大利^[6]、西班牙^[10]、葡萄牙^[11]、英格兰和威尔士^[12]、苏格兰^[13]、德国^[14],并于 2014 年年底和 2015 年年初在欧洲大陆以外的亚速尔群岛被检测到^[14],RHDV2 取代经典 RHDV

的趋势正在扩大。2015 年,Hall 等报道在澳大利亚首都直辖区也检测到 RHDV2,该毒株与葡萄牙和亚速尔群岛报道的变异毒株类似^[15]。2016 年,Martin-Alonso 等指出 RHDV2 有可能会从加那利群岛传播至非洲北部^[16]。由此可见,RHDV2 的流行趋势正在世界范围内逐步扩大。虽然迄今为止在中国还未有检测到该毒株的报道,但是随时面临发生该疫情的风险。因此,我们应该加强对变异毒株 RHDV2 的认识,把握国内流行情况,提前做好防范措施。

1 病原特性

RHDV2 是单股正链 RNA 病毒,无囊膜,呈正二十面体对称结构,直径为 32~44 nm。RHDV2 的全序列已提交至 GenBank,并命名为 RHDV-N11,基因全长 7 447 bp,5'非编码区 9 nt,3'非编码区 69 nt 长于经典 RHDV。RHDV2 基因组包含 2 个开放阅读框(ORF1 和 ORF2)。ORF1 (10~7 044 bp)的翻译产物经过加工切割后至少形成 8 个成熟的蛋白质分子,分别是非结构蛋白 NSP1(2A)、NSP2(2B)、NSP3(2C 核苷酸水解酶)、NSP4(3A)、NSP5(3B VPg)、NSP6(3C 蛋白酶)、NSP7(3D RNA 复制酶)和衣壳蛋白 VP1^[17]。

RHDV2 和 RHDV 同属于杯状病毒科兔病毒属成员,RHDV2 与高致病性 RHDV 一样,可引起家兔病毒性出血症。两者的基因同源性虽然高达 82.4%^[5],但是系统发生树分析结果表明 RHDV2 与引起相同症状的 RHDV 亲缘关系较远,而非致病性的 RCV 亲缘关系更近^[6]。因此研究者推测,RHDV2 很可能是从非致病的兔病毒属成员演变而来的。另外,毒力差异分析表明 RHDV2 对野兔的感染率和致死率明显低于家兔^[18],这可能是因为家兔是 RHDV2 的天然宿主。

2 流行病学特征

易感动物:与经典 RHDV 只感染成年家兔不同,RHDV2 感染宿主范围更广,不但能够感染成年家兔,还能感染幼龄家兔以及欧洲野兔(Cape Hares 品种)^[5]。RHDV2 对各物种的感染敏感性不同,其中最易感的还是家兔,所以家兔应该是 RHDV2 的天然宿主。

收稿日期:2016-08-01

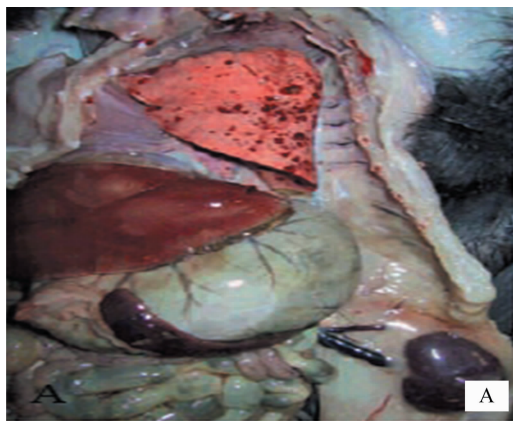
基金项目:现代农业产业技术体系建设兔体系病疫病预防与控制岗位(编号:CARS-44)。

作者简介:王芳(1972—),女,新疆伊犁人,博士,研究员,主要从事家兔重要疫病的病原学、快速诊断、流行病学、致病机理、疫苗研制、综合防控技术等方面的研究。Tel:(025)84390337;E-mail:rwangfang@126.com。

通信作者:薛家宾,研究员,主要从事兔病预防研究。Tel:(025)84390337;E-mail:xuejb@tianbang.com。

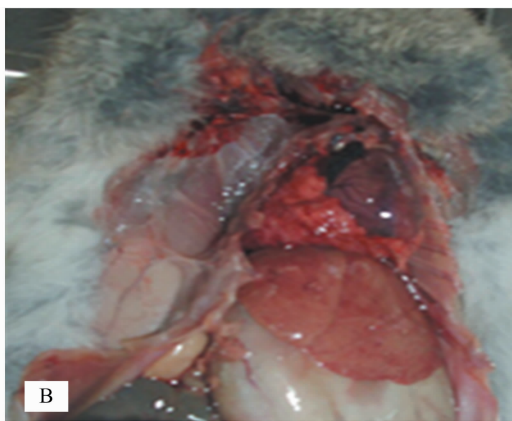
传染源:感染 RHDV2 的兔是主要的传染源,包括感染病死和带毒未死的兔。

传播途径:杯状病毒可通过受污染的水和食物经粪-口传播,病毒可以结合呼吸道和消化道上皮细胞 HBGA 受体进入宿主身体。例如近来研究较透彻的杯状病毒科人诺如病毒就是通过与 HBGA 结合之后进入宿主体内^[19]。已有研究证明 RHDV2 可与 HBGA 的口袋位置 P2 区结合,这与诺如病毒 G II 型结合 HBGA 的方式相似,然而 RHDV 结合的是 HBGA 的 P1 区^[20]。这种不同的结合方式可能导致它们的易感宿主不完全相同。经典 RHDV 可直接通过接触感染动物分泌物、排泄物,或间接通过污染的水、食物、饲养设备等造成感染^[21]。目前关于新毒株 RHDV2 传播途径的报道很少,但可以肯定的是间接接触在该毒株传播过程中起着重要的作用。



3 临床症状

与经典毒株 RHDV 相同,RHDV2 引起的兔病毒性出血症以实质器官出血、瘀血为主要特征。然而,RHDV2 和 RHDV 引起的疾病症状在持续时间、死亡率和亚急性或慢性感染等方面都存在差异,其中亚急性和慢性感染较多地出现在 RHDV2 感染过程中^[5]。在疾病病理方面,RHDV 引起的病变已被详细描述^[22-23],然而关于 RHDV2 感染后病变发展特点的研究资料仍然有限。尸检 RHDV2 感染致死的兔发现在心脏、气管、胸腺、肺、肝脏、肾脏和肠道等多处有出血现象(图 1-A)并伴有黄疸^[10]。RHDV2 感染的病理特征为胸腔和腹腔有丰富的血液样渗出物,肝脏灰白肿大(图 1-B)^[24],肺脏出血,气管充、出血,小肠肠道绒毛有局灶性坏死^[10]。



A—家兔感染 RHDV2 的尸检病变:肺、心脏和肾脏出血,肝脏苍白、软而脆,脾脏肿大;
B—野兔感染 RHDV2 的尸检病变:肝脏苍白,肺充血

图1 感染RHDV2兔的尸检病变^[14, 25]

4 诊断

RHDV 的检测方法主要包括临床检查和实验室检查^[26]。一般先通过流行病学、临床症状、剖检病变等临床检查对发病症状进行观察,然后通过利用血凝、血凝抑制试验,ELISA 试验以及分子生物学等试验方法进行实验室检查来最终确诊。

4.1 临床观察

尸检病死兔,观察有无兔出血症的经典症状:气管弥漫性出血,鼻腔及气管充满血样泡沫,肺肿大出血,肾瘀血并有出血点,心脏瘀血、心包膜有点状出血,肝灰白肿大出血、脾脏肿大等。虽然 RHDV 与 RHDV2 感染的临床特征可能不同,但病理特性很类似^[5],这给两者的区分带来一定困难,因此通过对发病症状的临床观察,仅能对疾病作出初步诊断,最终还是需要实验人员通过实验室分子生物学等技术手段来进行确诊。

4.2 实验室诊断

近年来,随着免疫学与分子生物学技术日臻完善,兔病毒性出血症的诊断方法有了长足的发展,可通过血清学和分子生物学等方法很好地进行实验室诊断。目前,较多采用快速且重复性好的间接 ELISA 法检测 RHDV,然而利用 RHDV2 的衣壳蛋白为包被抗原建立的 ELISA 检测方法不能区分 RHDV 和 RHDV2 的感染,此方法还需要改进^[27]。近来研究

人员已通过建立特异性探针实时定量 PCR 快速检测 RHDV2,该方法可用于鉴别诊断 RHDV2,监测病毒载量和疾病进程,评价疫苗效果^[27]。目前笔者所在实验室依据 RHDV2 衣壳蛋白的变异区已建立区分 RHDV2 与 RHDV 的 RT-PCR 法。尽管如此,目前针对 RHDV2 建立的检测方法还很单一,仍需要研究者进一步建立快速、有效、便捷的诊断方法。

5 防控

疫苗接种是防控该病的有效措施,然而经典 RHDV 疫苗对 RHDV2 不能产生很好的交叉免疫保护,所以需要研发有效的疫苗来预防 RHDV2 引起的新型兔瘟的发生。近来,西班牙的 Montbrau 等研究报道了变异毒株 RHDV2 的灭活苗 ERAVAC,并通过攻毒保护试验证明该疫苗安全有效^[28]。另外,对该病的预防须考虑切断传播途径,尤其是要注意 RHDV2 感染范围广,饲养过程中需避免与带毒兔接触。与此同时,科研人员应加快 RHDV2 疫苗的研发。如果暴发新型兔瘟,应采取紧急预防措施,如免疫灭活苗来控制疫情,防止该病的传播。

6 结语

RHDV2 自 2010 年首次在法国被报道以来,迅速从欧洲

大陆传播开来,逐步在世界范围内流行。RHDV2 不仅传播速度快、潜伏期长,而且感染宿主的范围较经典毒株更广,因此该毒株一旦流行,将对养兔业产生十分严重的危害甚至会造成毁灭性的打击。虽然我国目前还未见 RHDV2 的报道,但对该新毒株的关注不容忽视。当下我们应该建立快速、特异、灵敏的 RHDV2 诊断方法,全面掌握国内 RHDV 毒株的流行情况。一旦发现 RHDV2 在中国流行,相关部门应迅速采取措施,紧急防控,控制传染源,切断传播途径,避免传播范围的扩大,减少兔场的经济损失,保障养兔业健康发展。

参考文献:

- [1] le Gall - Reculé G, Zwingelstein F, Fages M P, et al. Characterisation of a non - pathogenic and non - protective infectious rabbit lagovirus related to RHDV[J]. *Virology*, 2011, 410(2): 395 - 402.
- [2] Capucci L, Fusi P, Lavazza A, et al. Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to rabbit hemorrhagic disease virus but nonpathogenic[J]. *Journal of Virology*, 1996, 70(12): 8614 - 8623.
- [3] Bergin I L, Wise A G, Bolin S R, et al. Novel calicivirus identified in rabbits, Michigan, USA[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2009, 15(12): 1955 - 1962.
- [4] Liu S J, Xue H P, Pu B Q, et al. A new viral disease in rabbits[J]. *Anim Husb Vet Med*, 1984, 16(16): 253 - 255.
- [5] le Gall - Reculé G, Lavazza A, Marchandeu S, et al. Emergence of a new lagovirus related to rabbit haemorrhagic disease virus[J]. *Veterinary Research*, 2013, 44(1): 81.
- [6] Puggioni G, Cavadini P, Maestrale C, et al. The new French 2010 rabbit hemorrhagic disease virus causes an RHD - like disease in the Sardinian Cape hare (*Lepus capensis mediterraneus*)[J]. *Veterinary Research*, 2013, 44(1): 96.
- [7] Capucci L, Fallacara F, Grazioli S, et al. A further step in the evolution of rabbit hemorrhagic disease virus; the appearance of the first consistent antigenic variant[J]. *Virus Research*, 1998, 58(1/2): 115 - 126.
- [8] Schirmeier H, Reimann I, Köllner B, et al. Pathogenic, antigenic and molecular properties of rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) isolated from vaccinated rabbits; detection and characterization of antigenic variants[J]. *Archives of Virology*, 1999, 144(4): 719 - 735.
- [9] le Gall - Reculé G, Zwingelstein F, Laurent S, et al. Phylogenetic analysis of rabbit haemorrhagic disease virus in France between 1993 and 2000, and the characterisation of RHDV antigenic variants[J]. *Archives of Virology*, 2003, 148(1): 65 - 81.
- [10] Dalton K P, Nicieza I, Balseiro A, et al. Variant rabbit hemorrhagic disease virus in young rabbits, Spain[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18(12): 2009 - 2012.
- [11] Rabbit H. New variant of rabbit hemorrhagic disease virus, Portugal, 2012—2013[J]. *New England Journal of Medicine*, 2013, 19(11): 1888 - 1897.
- [12] Westcott D G, Frossard J P, Everest D, et al. Incursion of RHDV2 - like variant in Great Britain[J]. *Veterinary Record*, 2014, 174(13): 333.
- [13] Bailly J L, Dagleish M P, Graham M, et al. RHDV variant 2 presence detected in Scotland[J]. *Veterinary Record*, 2014, 174(16): 411.
- [14] Duarte M, Carvalho C, Bernardo S, et al. Rabbit haemorrhagic disease virus 2 (RHDV2) outbreak in Azores; disclosure of common genetic markers and phylogenetic segregation within the European strains[J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2015, 35: 163 - 171.
- [15] Hall R N, Mahar J E, Haboury S, et al. Emerging rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDVb), Australia[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(12): 2276 - 2278.
- [16] Martin - Alonso A, Martin - Carrillo N, Garcia - Livia K, et al. Emerging rabbit haemorrhagic disease virus 2 (RHDV2) at the gates of the African continent[J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2016, 44: 46 - 50.
- [17] Dalton K P, Abrantes J, Lopes A M, et al. Complete genome sequence of two rabbit hemorrhagic disease virus variant b isolates detected on the Iberian Peninsula[J]. *Archives of Virology*, 2015, 160(3): 877 - 881.
- [18] Camarda A, Pugliese N, Cavadini P, et al. Detection of the new emerging rabbit haemorrhagic disease type 2 virus (RHDV2) in Sicily from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and Italian hare (*Lepus corsicanus*)[J]. *Research in Veterinary Science*, 2014, 97(3): 642 - 645.
- [19] Tan M, Jin M, Xie H P, et al. Outbreak studies of a G II - 3 and a G II - 4 norovirus revealed an association between HBGA phenotypes and viral infection[J]. *Journal of Medical Virology*, 2008, 80(7): 1296 - 1301.
- [20] Leuthold M M, Dalton K P, Hansman G S. Structural analysis of a rabbit hemorrhagic disease virus binding to histo - blood group antigens[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(4): 2378 - 2387.
- [21] Abrantes J, van der Loo W, le Pendu J A. Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): a review[J]. *Veterinary Research*, 2012, 43(1): 12.
- [22] Lavazza A, Scicluna M T, Capucci L. Susceptibility of hares and rabbits to the European brown hare syndrome virus (EBHSV) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) under experimental conditions[J]. *Journal of Veterinary Medicine; Series B*, 1996, 43(7): 401 - 410.
- [23] McIntosh M T, Behan S C, Mohamed F M, et al. A pandemic strain of calicivirus threatens rabbit industries in the Americas[J]. *Virology Journal*, 2007, 4(1): 96.
- [24] Lopes A M, Correia J, Abrantes J, et al. Is the new variant RHDV replacing genogroup 1 in Portuguese wild rabbit populations? [J]. *Viruses*, 2015, 7(1): 27 - 36.
- [25] le Gall - Recule G, Zwingelstein F, Boucher S, et al. Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France[J]. *The Veterinary Record*, 2011, 168: 137 - 138.
- [26] 范志宇, 魏后军, 胡波, 等. 兔出血症病毒杆状病毒载体灭活疫苗安全性及效力试验[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(11): 272 - 275.
- [27] Duarte M D, Carvalho C L, Barros S C, et al. A real time Taqman RT - PCR for the detection of rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2)[J]. *Journal of Virological Methods*, 2015, 219: 90 - 95.
- [28] Montbrau C P M, Ruiz M. Efficacy and safety of a new inactivated vaccine against the rabbit haemorrhagic disease virus 2 - like variant (RHDV - 2)[C]. *Proceedings of the 11th world rabbit congress*, 2016: 237.