

羊传染性脓疱病研究进展

李璐^{1,2}, 王思珍^{1*}

(1. 内蒙古民族大学动物科技学院, 内蒙古通辽 028042; 2. 辽宁省营口市鲅鱼圈区动物疫病预防控制中心, 辽宁营口 115007)

摘要 羊传染性脓疱病主要感染山羊和绵羊, 近年来发现其也可感染包括人在内的多种动物, 为一种人兽共患病。对羊传染性脓疱病的病原学、流行特点、临床症状、病理变化、诊断及防治等方面进行了综述。

关键词 羊传染性脓疱病; 临床症状; 诊断

中图分类号 S858.26 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)33-0109-04

Research Progress of Contagious Ecthyma

LI Lu^{1,2}, WANG Si-zhen^{1*} (1. Animal Science and Technology College, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028042; 2. Animal Disease Prevention and Control Center of Bayuquan District in Yingkou of Liaoning Province, Yingkou, Liaoning 115007)

Abstract Contagious ecthyma mainly affects sheep and goats. In recent years, people and other animals that being affected by ORFV have been reported. The etiology, epidemic characteristic, clinical symptoms, pathological changes, diagnosis and prevention of contagious ecthyma were reviewed.

Key words Contagious ecthyma; Clinical symptoms; Diagnosis

羊传染性脓疱(contagious ecthyma, CE), 也称为羊口疮(orf), 临床上可引起羊脓疱性皮炎, 是一种急性接触性的人畜共患病^[1]。其病原是羊口疮病毒(orf virus, ORFV), 该病较为经典的临床特征为唇部、口腔、舌黏膜、上颚、鼻腔等部位有丘疹、脓疱、溃疡, 破溃干燥后形成疣状厚痂^[2]。此病多发生于羔羊, 群体感染性高, 成年羊一般多表现为散发。该病在一些畜牧业大国广泛流行, 我国的诸多省份均有过该病发生的报道, 给养羊业造成巨大的经济损失^[3-6]。

1 流行特点

羊传染性脓疱的临床发病无明显季节性, 感染羊只不分品种、性别和年龄。主要在山羊和绵羊的产羔季节发病率较高, 其中幼羊最易感, 羔羊发病率 100%, 经常呈现群体性感染, 7 日龄内幼羔感染该病后病死率可达 90%; 成年羊发病较少, 多为散发^[7]。病羊的脓疱和痂皮内存在大量病毒, 健康羊只由于皮肤或黏膜的擦伤通过接触感染该病, 痂皮内病毒存在时间较长, 饲料、饮水、养殖器具经病原污染后均可能成为传播媒介, 诱发该病的发生。该病毒对自然环境的抵抗力较强, 一旦某地区出现该病感染羊只, 可能会出现连年的流行, 给养殖企业带来一定的经济损失。

2 病原

羊口疮病原为羊口疮病毒(Orf virus, ORFV), 属于痘病毒科、脊椎动物痘病毒亚科, 是副痘病毒属的成员之一, 通过透射电镜观察, 羊口疮病毒粒子主要呈现为椭圆形, 个别在镜下为梭型、锥形、砖形, 有的呈现类似线团状的球形粒子。羊口疮病毒最大的特征是其表面具有绳索样的结构, 这些绳索样结构好像是由较多的“8”字形相互交织排列, 或者是以

其他的形式交叉排列而成。外周有囊膜包被, 长 250 ~ 280 nm, 宽 170 ~ 200 nm^[8]。ORFV 全基因组大小为 130 ~ 150 kb, 是双链线性 DNA 病毒, 不同毒株的基因组长度有 10 ~ 25 kb 差异, 末尾两段有共价发卡结构。相比于其他副痘病毒属的 DNA, ORFV 基因组 DNA 中 GC 含量相对较高, 占 63% ~ 64%^[9]。基因组由一个位于中央的核心基因区域和 2 个一样的反向末端重复区(Inverted terminal repeat, ITR), 即由中央编码区基因和两端约 3 000 bp 长度的反向末端重复序列构成, 在末端重复序列中存在小部分的变异序列, 有研究证实其长度为 0.5 ~ 1.0 kb^[10]。当病毒处于增殖状态时, 动物细胞外的病毒粒子具有次级结构, 细胞内的病毒粒子则不具有。经超薄切片处理, 电镜观察发现, 病毒粒子呈圆形或多种形态, 少数病毒存在多倍体现象, 即 2 ~ 3 个核衣壳被同一个病毒囊膜包裹^[11]。ORFV 为该属的代表种, 主要感染绵羊和山羊, 近年来有研究表明, ORFV 也可使其他动物如猫^[12]和家养驯鹿感染^[13], 这意味着该病毒可感染的物种范围正在扩大。副痘病毒属还包括许多新的成员, 例如海豹痘病毒、Auzdyk 病毒以及羚羊丘疹性口炎病毒^[14]。此外, 亦有研究称副痘病毒可使海豹、海狮、南极洲及麻斑海豹感染^[15]。

羊口疮病毒在外界环境中适应性极强, 病毒可在干燥的痂皮内存活几个月至几年, 而在室温条件下, 病毒感染性长达 15 年^[5]。痂皮内的病毒对于持续高温较为敏感, 夏季曝晒 30 ~ 60 d, 病毒便可丧失致病力; 羊舍或草场如被病毒污染, 则传染性一直可持续几个月。试验研究表明, ORFV 的活性在 25 °C 以下会丧失, 而用甘油封存病毒, 4 °C 环境下保存, 其活性可以维持 1 年左右, 如果将其置于超低温冷冻环境, 则 ORFV 的感染力可以保持数年之久。ORFV 不耐受高温、甲醛和紫外线, 在 65 °C 条件下加热 0.5 h, 0.4% 浓度的甲醛处理 48 h, 或者 10 min 弱紫外处理, 均能使其失活。该病毒对超声波不敏感。ORFV 不耐受的试剂还有苯、甲苯、乙醚和氯仿等。病毒的耐酸碱范围为 pH 4.2 ~ 10.9^[16-17]。

基金项目 内蒙古自然科学基金(2017MS0342)。

作者简介 李璐(1984—), 女, 辽宁营口市人, 兽医师, 在读硕士, 从事畜禽传染病诊断及防控研究。* 通讯作者, 教授, 硕士生导师, 从事家畜环境卫生学、动物营养与饲料科学方面的研究。

收稿日期 2017-08-31

3 临床症状

该病潜伏期2~8 d。潜伏期内该病的临床表现不明显,主要表现为体温有所升高,采食量降低,精神萎靡。随着病毒感染时间的延长,在羊只的口腔黏膜、唇部、齿龈、尾部和肛门等处出现红斑、丘疹、水疱和脓疱,母羊的病变则出现在乳房周围,病变部位红肿,当水疱或脓疱破裂后,在皮肤患部可形成疣状硬痂。该病一般在临床上可分为蹄型、唇型和外阴型等3种病型,3种病型也可混合感染^[18]。

3.1 蹄型 绵羊多数情况下发生蹄型,单蹄发生病变几率较高,但有时也会同时或者继发导致多蹄感染,羔羊出现此型较多。一般会在病羊的蹄叉、蹄冠或系部皮肤上形成水疱、脓疱和溃疡。症状严重时会导致继发性感染,造成患病部位的化脓、坏死等,病变范围可波及到蹄骨、基部、肌腱及关节。病初,病羊会因为疼痛而出现跛行,病毒持续感染导致后期不能站立,严重者会因为机体衰竭或继发感染出现败血症而死亡。

3.2 唇型 这是一种最常见的疾病型,羊早期发病主要表现为昏睡、厌食、牙龈肿胀,其次是在病羊口、上唇或鼻出现小红斑,进而形成黄色或棕黄色疣状痂。如果病羊表现为良性经过,7~14 d后痂皮会干燥脱落,生病的羊会慢慢康复。当病情更严重时,眼睑、脸颊、耳和其他皮肤区域反复出现丘疹、脓疱、结痂,病变区有明显的扩散,水疱逐渐变为脓疱,脓疱的破溃会导致烂斑的形成,病羊会排出臭味、浑浊的唾液。病灶破裂出血,最终形成结痂。增生的肉芽组织出现在痂皮下,结痂变厚,呈堤状。病羊肿胀的嘴唇如同外翻的桑葚隆起,或牙齿脱落,严重影响羊只的采食,如不及时进行治疗,生病的羊逐渐消瘦,最后死于衰竭。病程通常为2~3周。研究表明,患有这种疾病的羊通常患有肺部感染并导致坏死性肺炎,死亡率高达90%^[19-21]。

3.3 外阴型 这种类型在母羊中更为常见,受感染母羊的阴唇肿胀导致阴道内的脓性分泌物排出。哺乳母羊的乳房会形成脓疱和烂斑,哺乳羔羊导致其发病。公羊的阴鞘会出现红肿,小脓疱和溃疡也会发生在阴鞘口、阴茎和肛门上。简单的生殖类型很少死亡。

4 病理变化

患病而死的羊营养状况较差,口腔内黏膜出现细胞肿胀、溃疡、糜烂等症状,面部皮下淤血;气管环状充血、出血;肺脏肿大、淤血;心肌以及心外膜有点状出血现象;小肠肠壁菲薄,伴随不同程度的出血;其他的组织器官无典型的病变^[22]。

在感染的皮肤表皮棘细胞明显增多,毛细血管扩张、充血。某些棘细胞出现变性、核浓缩和断裂。部分受感染的细胞在胞浆中会出现嗜酸性包涵体。真皮上有大量的嗜酸性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞增生,血管扩张充血,同时伴有结缔组织的增生。主要的病理学变化表现为表皮角质化、肿胀,出现棘层肥厚和囊泡状的气球样变性。继发感染后,大量的中性粒细胞增生。在疾病的后期,羊会死于继发感染,致病性大肠杆菌、化脓棒状杆菌、葡萄球菌、 α -溶血性

链球菌等致病菌常见于继发感染,部分病死羊脾脏中央动脉附近淋巴鞘增生^[23-24]。

ORFV可以感染人,养殖场兽医、饲养员以及屠宰场工人近距离接触易感。人患口疮后病变主要集中在脸或手指、手腕处。主要病变呈现为开始有丘疹出现,然后有水疱或脓疱形成,病变部位四周皮肤有红肿病灶,淋巴结肿大,脓疱最终结痂、自愈。目前,尚未发现ORFV在人与人之间的传播^[25-27]。

5 诊断

依据临床表现、流行病学、病理变化,尤其是发生部位,羊嘴角周围肿大似桑葚状突起的特征性病变,通过以上症状可做出简单的诊断,但该病易与葡萄球菌感染、口蹄疫、蓝舌病、以及羊痘等病相混淆,需进行鉴别诊断。因此,实验室诊断是诊断的必要条件,实验室诊断通常涉及病原体的分离、鉴定、血清学和分子生物学诊断。

5.1 病毒分离与鉴定 1959年通过羊肾细胞和原代羊睾丸细胞培养成功分离到了ORFV^[14]。后续研究发现,胎牛肺细胞、牛睾丸细胞、绵羊胎儿鼻甲骨骨细胞、胎羊皮肤细胞、胎羊肌肉细胞、原代胎牛肌细胞同样可以用于ORFV的分离培养。因为有不同的适应能力,不同的细胞具有不同的感染滴度^[28]。牛肾细胞、Madin-darby羊肾细胞和Vero细胞最适宜于羊口疮病毒的增殖和培养^[29]。病毒多数从病羊结痂中分离,也有从病羊脏器分离的报道。用含10%双抗的PBS缓冲液将痂皮4℃浸泡过夜,随后通过研磨至匀浆,经离心后收取上清,在易感细胞上接种经细菌滤器过滤除菌后的上清液,传代4~5次后,CPE表现为:细胞变圆,细胞肿胀,细胞间质出现一定宽度,典型细胞病变呈现为拉网状。在电镜下,羊口疮病毒呈现卵圆形,表面纤突交错,类似线团^[30-32]。

5.2 血清学检测 血清学方法也常用于病毒的鉴定和疾病的诊断。目前,对羊口疮进行诊断的血清学方法包括免疫印迹、补体结合试验、ELISA和琼脂扩散试验等。如果血清中和试验滴度大于8或者补体结合试验值大于20,可以判定为阳性感染,否则为阴性或疑似^[14,24]。

李杰等^[33]分别以B2L蛋白、VIR蛋白、羊口疮病毒作为间接ELISA包被抗原,检测53头份的成年羊和已吃初乳的新生羔羊血清,结果显示,B2L蛋白的检测结果显示与羊口疮病毒的检测结果一致,阳性率为56.6%,此结果说明B2L蛋白可以作为包被抗原进行羊口疮抗体ELISA检测。

5.3 分子生物学诊断 PCR技术因其特异性强、灵敏性强等优点,已被广泛应用于羊口疮的临床诊断和鉴别,目前国内已经分离出多株ORFV^[34-38]。何亚鹏等^[39]通过优化多重PCR反应条件,建立了鉴别检测羊口疮病毒(ORFV)、山羊痘病毒(GTPV)和绵羊痘病毒(SPPV)的多重PCR检测方法。结果表明,该方法最低检测量分别为26.94 pg/ μ L的ORFV、28.9 pg/ μ L的GTPV和30.46 pg/ μ L的SPPV;应用该方法检测了临床病料,结果显示,该方法与单一PCR检测结果一致,表明此法可以用于SPPV、GTPV和ORFV的临床鉴别诊断。赵文华等^[40]建立了特异性检测ORFV和GTPV的双重

普通 PCR 及二联实时荧光定量 PCR 检测方法, 双重普通 PCR 检测敏感度可达 10^4 拷贝/ μL DNA, 荧光定量 PCR 二联探针的检测敏感度可分别达 $10^{2.71}$ 拷贝/ μL DNA 和 $10^{2.88}$ 拷贝/ μL DNA。林裕胜等^[41]建立的检测羊口疮病毒(ORFV)和丝状支原体簇(Mm cluster)的方法,可同时扩增出 ORFV 和 Mm cluster 的特异性片段,而对其他常见病原的核酸模板均无扩增,最低检出量分别为 3.8×10^4 拷贝/ μL 和 1.3×10^3 拷贝/ μL 。临床检测结果表明,双重 PCR 检测结果与单一 PCR 检测结果完全一致。鲜思美等^[42]建立了检测 ORFV 的 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 方法,该方法标准曲线的相关系数达到 -1;最低检测限为 1.0×10^3 拷贝/ μL ,比常规 PCR 检测方法高出 100 倍,与山羊痘和口蹄疫疫苗毒无交叉反应;组内变异系数为 1.061% ~ 2.873%,组间变异系数为 0.397% ~ 3.829%。临床检测感染病例和 ORFV 细胞培养物阳性率均为 100%。Venkatesan G 等^[43]应用多重聚合酶链反应(mPCR)建立羊口疮病毒(ORFV)、山羊痘病毒(GTPV)和绵羊痘病毒(SPPV)的鉴别诊断方法,最低检出量病毒基因组 DNA 为 350 pg 或者是 102 个拷贝。通过对 235 个临床样本进行检测,结果表明,该方法特异性强,灵敏度高,优于实验室使用的一般诊断方法,可用于上述 3 种疾病的临床鉴别诊断。Zheng M 等^[44]根据细小病毒(CPV)的 A29 基因和 ORFV 的 P55 基因设计了特异性引物,所建立的多重 PCR 检测方法可对 1 个噬斑形成单位的 CPV 和 ORFV 进行检测,特异性较高。

6 防治

目前,在国内还没有治疗 Orf 的特效药物。临床上,多以创面消毒、药物涂擦患部与肌肉注射等相结合的方法进行治疗。国外研究发现,对于治疗动物和人感染的羊口疮,无环核苷类似物西多福韦(HPMPC)、无环核苷磷酸酯(ANPs)以及腺嘌呤的衍生物^[(S)-HPMPA]等药物治疗效果十分显著。另外,同时包含西多福韦和硫酸铝的胶体也具有抵抗病毒活性的效果,通常采取喷雾形式治疗动物更加方便^[45-48]。

对于预防和控制该病的发生,接种疫苗是最好的方式。最早用含 ORFV 的痂皮经过研磨处理乳化制成疫苗。近年来,利用体外细胞培养的方法制备了减毒活疫苗,临床使用尽管存在一定的安全风险,但在羊口疮的防控中仍然起着很大的作用^[49]。除了灭活疫苗和减毒疫苗外,病毒亚单位疫苗、核酸疫苗和重组病毒疫苗仍处于实验室阶段,未进入临床应用^[50-53]。研究发现,ORFV 基因组中存在编码免疫逃避机制的相关基因。例如 ORFV121 基因,该基因的缺失可明显降低 ORFV 对羊的毒性和致病性^[54]。ORFV 初次感染羊只机体后病毒主要侵袭上皮细胞,再次感染时,ORFV 会形成免疫逃避,用以抵御机体的清除。因此,现有的免疫接种并不能达到长期保护机体免受 ORFV 的攻击与侵害,加快安全有效的新型疫苗的研制有着重要的临床意义。

羊口疮是一种急性、高度接触性传染病。对该病的研究和防治,不仅可以提高养羊业的经济效益,而且具有重要的公共卫生意义。目前,我国对该病的研究仅局限于病原的

生物学特性分析及系统进化,主要免疫蛋白鉴定和新型疫苗开发较为匮乏。相信随着对 ORFV 感染机理、病毒复制以及病毒与宿主关系的深入研究,一些重要功能蛋白的验证,会给准确、快速检测和安全、高效防治羊口疮开辟新的领域。

参考文献

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1997:939-987.
- [2] DE LA CONCHA-BERMEJILLO A, GUO J, ZHANG Z, et al. Severe persistent orf in young goats[J]. J Vet Diag Invest, 2003, 15(5):423-431.
- [3] 李旭东, 庞方圆, 苏日娜, 等. 羊传染性脓疱病毒 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 方法的建立[J]. 中国兽医学报, 2015, 35(9):1441-1445.
- [4] 尚辰, 黄勇, 张秀娟, 等. 陕西关中某羊场羊口疮病毒的分离鉴定与基因序列分析[J]. 西北农业学报, 2014, 23(12):25-32.
- [5] 王盈盈, 贾怀杰, 白刚, 等. 羊口疮病毒甘肃流行株的分离鉴定及其 ORFV059 基因和 ORFV109 基因的序列分析[J]. 中国兽医学报, 2013, 43(8):782-787.
- [6] MUSSER J M B, TAYLOR C A, GUO J H, et al. Development of a contagious ecthyma vaccine for goats[J]. Am J Vet Res, 2008, 69(10):1366-1370.
- [7] 孙峻. 羊口疮的预防治疗措施[J]. 云南农业, 2016(1):42-43.
- [8] BILLINIS C. Wildlife diseases that pose a risk to small ruminants and their farmers [J]. Small Rumin Res, 2013, 110(2/3):67-70.
- [9] 赵魁, 贺文琦, 高丰. 羊传染性脓疱皮炎病毒研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(11):133-137.
- [10] DELHON G A, TULMAN E R, AFONSO C L, et al. Genomes of the parapoxviruses orf virus and bovine papular stomatitis virus[J]. Journal of virology, 2004, 78(1):168-177.
- [11] VIKØREN T, LILLEHAUG A, AKERSTEDT J, et al. A severe outbreak of contagious ecthyma (orf) in a free-ranging musk ox (*Ovibos moschatus*) population in Norway[J]. Veterinary microbiology, 2008, 127(1/2):10-20.
- [12] FAIRLEY R A, WHELAN E M, PESAVENTO P A, et al. Recurrent localised cutaneous parapoxvirus infection in three cats[J]. New Zealand veterinary journal, 2008, 56(4):196-201.
- [13] KLEIN J, TRYLAND M. Characterisation of parapoxviruses isolated from Norwegian semi-domesticated reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) [J]. Virology journal, 2005, 2(1):79.
- [14] 张海瑞. 羊口疮病毒的分离鉴定及其 ELISA 检测方法的建立[D]. 北京:中国农业科学院, 2011.
- [15] NOLLENS H H, JACOBSON E R, GULLAND F M, et al. Pathology and preliminary characterization of a parapoxvirus isolated from a California sea lion (*Zalophus californianus*) [J]. Journal of wildlife diseases, 2006, 42(1):23-32.
- [16] 孙德云. 浅析羊口疮病的综合防治[J]. 草业与畜牧, 2010(3):41-42.
- [17] 李娜. 羊口疮病毒的致病与灭活苗的初步研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2016.
- [18] 王冬梅. 羊传染性脓疱病的诊治[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2014, 30(2):135-136.
- [19] 黄成权. 羊口疮病的防治[J]. 湖北畜牧兽医, 2015(7):36-37.
- [20] 迟源, 王好, 钱爱东. 羊传染性脓疱病的流行及诊治[J]. 吉林畜牧兽医, 2009, (4):7-9.
- [21] 王冬梅. 羊传染性脓疱病的诊治[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2014, 30(2):135-136.
- [22] 李琛. 鉴别诊断山羊痘、绵羊痘、羊口疮和小反刍兽疫多重 PCR 检测方法的建立[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2015.
- [23] 苏高莉. 羊传染性脓疱病毒农安株的分离鉴定及其免疫原蛋白的表达与纯化[D]. 长春:吉林大学, 2013.
- [24] NANDI S, DE U K, HOWDHURY S. Current status of contagious ecthyma orf disease in goat and sheep: A global perspective[J]. Small ruminant research, 2011, 96(2/3):73-82.
- [25] JOSEPH R H, HADDAD F A, MATTHEWS A L, et al. Erythema multiforme after orf virus infection: A report of two cases and literature review [J]. Epidemiology and infection, 2015, 143(2):385-390.
- [26] KITCHEN M, MÜLLER H, ZOBL A, et al. Orf virus infection in a hunter in Western Austria, presumably transmitted by game [J]. Acta dermatovenereologica, 2014, 94(2):212-214.
- [27] NOUGAIREDE A, FOSSATI C, SALEZ N, et al. Sheep-to-human transmission of orf virus during Eid al-Adha religious practices, France [J]. Emerging infectious diseases, 2013, 19(1):102-105.

- [28] 汪园园,童双,李威,等.羊胚胎鼻甲细胞的原代培养及其在羊口疮病毒研究中的应用[J].中国兽医科学,2013,43(5):470-475.
- [29] OEM J K,CHUNG J Y,KIM Y J,et al. Isolation and characterization of orf viruses from Korean black goats[J]. Journal of veterinary science, 2013,14(2):227-230.
- [30] BILLINIS C,MAVROGIANNI V S,SPYROU V,et al. Phylogenetic analysis of strains of *Orf virus* isolated from two outbreaks of the disease in sheep in Greece[J]. Virol J,2012,9(1):24.
- [31] DE OLIVEIRA C H,ASSIS F L,NETO J D,et al. Multifocal cutaneous ORF virus infection in goats in the Amazon region, Brazil[J]. Vector borne zoonotic dis,2012,12(4):336-340.
- [32] VIKØREN T,LILLEHAUG A,AKERSTEDT J,et al. A severe outbreak of contagious ecthyma (orf) in a free-ranging musk ox (*Oribos moschatus*) population in Norway[J]. Vet Microbiol,2008,127(1/2):10-20.
- [33] 李杰,李前瑞,田婷婷,等.羊口疮病毒 B2L 和 VIR 基因原核表达及抗原性鉴定[J].动物医学进展,2013,34(3):1-6.
- [34] 王秋霞,朱相儒,易成功,等.江苏省羊口疮病毒的分离鉴定及 B2L 基因的遗传进化分析[J].中国畜牧兽医,2017,44(4):950-958.
- [35] 郭锐,田永祥,周丹娜,等.羊口疮病毒湖北株 B2L 基因的克隆与遗传进化分析[J].中国兽医杂志,2017,53(2):37-39.
- [36] 涂明亮,安维雪,张志丹,等.羊口疮病毒内蒙株的生物学特性[J].中国兽医学报,2016,36(8):1349-1352.
- [37] 尚辰,黄勇,张秀娟,等.陕西关中某羊场羊口疮病毒的分离鉴定与基因序列分析[J].西北农业学报,2014,23(12):25-32.
- [38] 李瑞芳,李国华,孟仁,等.新疆羊口疮病毒分离鉴定及 B2L 基因分析与表达[J].中国预防兽医学报,2013,35(3):202-205.
- [39] 何亚鹏,张琪,史怀平,等.绵羊痘病毒、山羊痘病毒及羊口疮病毒多重 PCR 检测方法的建立和应用[J].动物医学进展,2017,38(3):11-15.
- [40] 赵文华,杨仕标,姚俊,等.羊口疮病毒及山羊痘病毒双重 PCR 检测方法的建立[J].现代畜牧兽医,2017(1):1-8.
- [41] 林裕胜,江锦秀,江斌,等.羊口疮病毒和丝状支原体簇双重 PCR 检测方法的建立及应用[J].中国预防兽医学报,2017,39(4):292-295.
- [42] 鲜思美,张素辉,杨钰,等.羊口疮病毒 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 的建立及应用[J].贵州农业科学,2014,42(6):104-108.
- [43] VENKATESAN G,BALAMURUGAN V,BHANUPRAKASH V. Multiplex PCR for simultaneous detection and differentiation of sheepox, goatpox and orf viruses from clinical samples of sheep and goats[J]. J Virol Methods,2014,195:1-8.
- [44] ZHENG M,LIU Q,JIN N Y,et al. A duplex PCR assay for simultaneous detection and differentiation of *Capripoxvirus* and *Orf virus*[J]. Mol Cell Probe,2007,21(4):276-281.
- [45] SCAGLIARINI A,MCINNES C J,GALLINA L,et al. Antiviral activity of HPMP(C) (cidofovir) against orf virus infected lambs [J]. Antiviral Res, 2007,73(3):169-174.
- [46] POZZO D F,ANDREI G,LEBEAU I,et al. In vitro evaluation of the anti-orf virus activity of alkoxyalkyl esters of CDV, cCDV and (S) - HPMPA [J]. Antiviral Res,2007,75(1):52-57.
- [47] SONVICO F,COLOMBO G,GALLINA L,et al. Therapeutic paint of cidofovir/sucralfate gel combination topically administered by spraying for treatment of orf virus infections [J]. AAPS J,2009,11(2):242-249.
- [48] 李慧霞,朱学亮,骆学农.羊口疮病的研究进展[J].中国预防兽医学报,2013,35(5):426-430.
- [49] HOSAMANI M,SCAQLIARINI A,BHANUPRAKASH V,et al. Orf: An update on current research and future perspectives [J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2009,7(7):879-893.
- [50] 张立强.羊口疮病原分子流行病学调查及蜂胶佐剂灭活疫苗免疫效果研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [51] FISCHER T,PLANZ O,STITZ L,et al. Novel recombinantparapoxvirus vectors induce protective humoral and cellular immunity against lethal herpesvirus challenge infection in mice[J]. J Virol,2013,77(17):9312-9323.
- [52] 成伟伟,张克山,刘永杰,等.羊传染性脓疱病病毒基因组结构和主要基因功能研究进展[J].动物医学进展,2014,35(7):82-85.
- [53] 张倩,王震,倪伟,等.表达 ORFV F1L 基因的重组山羊痘病毒的构建及初步鉴定[J].生物技术,2014,24(2):68-72.
- [54] 闫丰超,邵佳,窦永喜,等.羊口疮病毒分子生物学的研究进展[J].中国兽医科学,2013,43(1):103-109.

(上接第 99 页)

果酱的颜色呈黄绿色,果香味,酸甜适口,酱体均匀一致,透明有光泽,口感顺滑。

低糖复合果酱加工工艺中,正交试验结果表明最佳工艺条件为 CaCl_2 最适宜用量 0.2%,柠檬酸最适宜用量 0.8%,白砂糖最适宜用量 18%。最后通过验证试验,验证 $\text{A}_3\text{B}_2\text{C}_2\text{D}_2$ 组合为猕猴桃低糖复合果酱的最佳工艺条件。

根据正交优化试验结果,影响猕猴桃低糖复合果酱感官品质因素的主次顺序依次是原料配比、 CaCl_2 添加量、柠檬酸添加量、白砂糖添加量。影响猕猴桃低糖复合果酱最重要的因素是原料配比,其次是 CaCl_2 添加量,柠檬酸添加量和白砂糖添加量对复合果酱的影响不大。分析其原因是在低糖复合果酱中,糖含量对果酱的凝胶效果没有影响,果酱在低糖条件下浓缩过程主要靠增稠剂低甲氧基果胶和金属 Ca 发生结合作用形成果酱凝胶,使得低糖果酱的酱体均匀一致,黏稠度合适,易涂抹,也说明 CaCl_2 对低糖果酱的凝胶形成起着至关重要的作用。

参考文献

- [1] 贾鲁彦.猕猴桃果酱加工工艺研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [2] LESPINARD A R,BAMBICHAA R R,MASCHERONI R H. Quality parameters assessment in kiwi jam during pasteurization. Modelling and optimization of the thermal process [J]. Food and bioproducts processing, 2012,90(4):799-808.
- [3] 周国君,王晓静,陈丽.猕猴桃酸奶的研制[J].中国乳业,2015(2):58-62.
- [4] 韩礼星,黄贞光,李明,等.加入 WTO 后我国猕猴桃产业的发展策略[J].果树学报,2003,20(3):218-223.
- [5] 陈东虹,谭毓治.猕猴桃的药理活性研究进展[J].广东药学院学报,2002,18(3):231-233.
- [6] 曾荣,陈金印,李平,美味猕猴桃果实后熟过程中主要品质指标的变化[J].江西农业大学学报,2002,24(5):587-590.
- [7] 王栋,刘中申,肖盈.国内外猕猴桃的研究及应用进展[J].中医药信息,1995(4):29-31.
- [8] 王皎,李赫宇,刘岱琳,等.苹果的营养成分及保健功效研究进展[J].食品研究与开发,2011,32(1):164-168.
- [9] 王思懿.苹果酒酿造工艺研究[D].杨凌:陕西科技大学,2015.
- [10] 沈尔安.保健抗衰老山药[J].药膳食疗研究,1999(4):21.
- [11] 孔晓朵,白新鹏.山药的活性成分及生理功能研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(13):5979-5981,5984.
- [12] 宋君柳.山药品种资源及化学成分研究进展[J].长江蔬菜,2009(6):1-5.
- [13] ZUO Y F,TANG D C. Science of Chinese Materia [M]. Shanghai:Shanghai University of Traditional Chinese Medicine Press,2003:301-303.
- [14] 张丽梅,陈菁瑛,黄玉吉,等.山药品种间氨基酸含量的差异性研究[J].氨基酸和生物资源,2008,30(2):12-15.
- [15] 吕丽莎.山药功能性食品工艺与储藏稳定性研究[D].郑州:河南工业大学,2012.
- [16] 卫萍,游向荣,张雅媛,等.低糖香蕉果酱的研制[J].食品研究与开发,2016,37(1):63-67.
- [17] 李明元.利用微波辅助技术提高柠檬果皮胶提取率的研究[J].食品研究与开发,2007,28(5):91-94.
- [18] 郝爱军.胡萝卜猕猴桃复合低糖果酱的研制[J].农产品加工,2004(1):30-31.
- [19] 曾维丽,魏永义,王方方.低糖红薯山楂复合果酱的研制[J].北方园艺,2012(16):167-169.