中国科学: 生命科学 2023 年 第 53 卷 第 12 期: 1754 ~ 1766
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
评 述 中国知名大学及研究院所专栏 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所专辑

猪主要病毒性腹泻防控技术与应用

陈建飞, 石达, 时洪艳, 佟有恩, 张鑫, 冯力*

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 动物疫病防控全国重点实验室, 哈尔滨 150069
* 联系人, E-mail: fengli@caas.cn

收稿日期: 2023-08-24; 接受日期: 2023-11-06; 网络版发表日期: 2023-12-12
国家“八五”计划(批准号: 85-013-01-04)、国家“九五”计划(批准号: 96-005-02-02-02A)、国家科技支撑计划子课题(批准号: 2006BAD06A07)、科技部农业科技成果转化资金项目(批准号: 2011GB23260003)、黑龙江省科研机构创新能力提升专项(批准号: YC2015D011)和黑龙江省自然科学基金研究团队项目(批准号: TD2020C002)资助

摘要 猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis, TGE)、猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)、猪轮状病毒感染(porcine rotavirus infection, PoRVI)是三种以猪只呕吐、水样腹泻、脱水和14日龄以内哺乳仔猪高死亡率为主要特征的高度接触性传播的病毒性传染病, 在我国流行广泛且混合感染严重, 给养猪业造成了巨大的经济损失. 疫苗是预防和控制这些传染病最有效、最经济的手段. 本文回顾了这三种猪主要病毒性腹泻在国内外的研究历史, 重点介绍了我国相应疫苗和相关诊断技术的研究进展, 分析了我国防控猪病毒性腹泻疫病的关键问题, 并提出了相应的策略.

关键词 腹泻, 猪传染性胃肠炎, 猪流行性腹泻, 猪轮状病毒感染, 疫苗, 防控

猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis, TGE)、猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)和猪轮状病毒感染(porcine rotavirus infection, PoRVI)是引起猪只发生病毒性腹泻的重要传染病. 这三种疫病在我国猪群中广泛存在且混合感染严重, 是引起哺乳仔猪死亡的“第一杀手”, 给我国养猪业造成了严重的经济损失.

常规灭活疫苗和活疫苗是当前防控这三种病毒性腹泻病的主要手段. 目前不少发达国家已有多种相关的商品化活疫苗, 如TGE活疫苗(欧洲、美国、日本、韩国)、PoRV活疫苗(欧洲、美国、韩国)、TGE-E.coli二联活疫苗(欧洲)、PoRV-E.coli二联活疫苗(欧洲)、TGE-PoRV-E.coli三联活疫苗(欧洲、美国)、PED活疫苗(日本、韩国)、TGE-PED二联活疫苗(日本、韩国)、TGE-PED-PoRV三联活疫苗(韩国). 此外, 美国还有商品化PED甲病毒载体疫苗和灭活疫苗, 韩国有商品化TGE-PED二联灭活疫苗.

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所(哈兽研)从1977年开始从事猪病毒性腹泻的研究工作, 先后完成了TGE弱毒疫苗、PED灭活疫苗、TGE和PED二联灭活疫苗、TGE和PED二联活疫苗、猪病毒性腹泻三联活疫苗的研究工作, 为我国TGE, PED和PoRVI防控做出了重要贡献. 自2011年以来, 国内多家科研院所、高等院校和生物制品企业对PED, TGE和PoRVI开展了相应的研究工作. 我国目前有商品化PED灭活疫苗、TGE-PED二联苗(灭活疫苗和活疫苗)、TGE-PED-

引用格式: 陈建飞, 石达, 时洪艳, 等. 猪主要病毒性腹泻防控技术与应用. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1754–1766
Chen J F, Shi D, Shi H Y, et al. The technologies and their applications in the prevention and control of main porcine viral diarrhea (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1754–1766, doi: 10.1360/SSV-2023-0130

© 2023 《中国科学》杂志社

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

PoRV三联活疫苗.

现有疫苗仍然存在抗原匹配性差、免疫效力低、不能给猪只提供完全保护等问题, 因此开发安全、高效的新型疫苗, 如亚单位疫苗、重组病毒活载体疫苗、多联多价疫苗等是解决这些问题的关键. 此外, 开展免疫接种途径研究, 如口服、喷雾等也是解决免疫效果差、劳动强度大、猪只应激反应大等问题的重要技术手段. 国内外对这三种疫病的诊断技术主要有: 病毒核酸检测技术, 如逆转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)、荧光定量PCR、环介导等温扩增技术、重组酶聚合酶扩增-横向流动试纸条技术等; 病毒抗原检测技术, 如免疫荧光法、双抗体夹心酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫组化、胶体金试纸条等; 病毒抗体检测技术, 如免疫荧光法、血清中和试验、间接ELISA等. 由于这些猪病毒性腹泻病的临床症状非常相似, 肉眼难以区分, 只有进行实验室诊断, 才能对其进行确诊. 因此, 开发敏感、特异、快速的鉴别诊断方法可实现这些疫病的“早发现”, 科学指导疫苗的免疫接种, 实现“早预防”, 从而减少疫病造成的经济损失.

1　流行及危害

1.1　TGE

TGE是猪的一种急性、高度接触性传播的肠道疾病, 是由尼多病毒目(*Nidovirales*)冠状病毒科(*Coronaviridae*)正冠状病毒亚科(*Orthocoronavirinae*)α-冠状病毒属(*Alphacoronavirus*)的猪传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)引起的, TGEV是单股正链、不分节段的RNA病毒. TGE的主要特征是腹泻、呕吐、脱水和2周龄以内哺乳仔猪的高死亡率(可高达100%). 世界动物卫生组织(World Organisation for Animal Health, WOAH)将其规定为B类疫病.

TGE于1946年在美国首次被报道, 随后在世界各地相继报道. 1984年TGEV自然缺失毒株猪呼吸道冠状病毒(porcine respiratory coronavirus, PRCV)在欧洲出现和快速传播, 导致欧洲95%以上猪群呈TGEV抗体阳性. TGE已在欧洲、亚洲、北美洲、南美洲等的养猪国家中流行. 我国最早于1956年在广东发现该病, 于1973年分离出TGEV. 但是, PRCV在我国并不常见. TGE在我国呈地方流行性, 国家将其规定为三类动物疫病.

我国TGEV流行毒株基于全基因组序列构建的系统发育树可分为2个型, 即普渡(Purdue, P)型和米勒(Miller, M)型, 说明我国现地猪群中有这两种类型的流行毒株. 此外, 还发现流行毒株AHHF株是P型与M型毒株的重组病毒株, 其S基因、N基因、ORF1a基因来源于M型毒株, 但E基因、M基因、ORF1b基因、3a基因、3b基因、基因7来源于P型毒株[1]. TGEV只有一个血清型, 各毒株之间有密切的抗原关系. Boniotti等人[2]于2016年首次报道意大利猪群中有TGEV/PEDV重组毒株, 该重组病毒以TGEV基因组为骨架, 用PEDV全长S基因替换了TGEV全长S基因. 这种重组病毒目前只在欧洲部分国家的猪群中发现.

1.2　PED

PED是猪的一种急性、高度接触性传播的肠道疾病, 主要特征是腹泻、呕吐、脱水和1周龄以内哺乳仔猪的高死亡率(可高达100%). PED是由尼多病毒目(*Nidovirales*)冠状病毒科(*Coronaviridae*)正冠状病毒亚科(*Orthocoronavirinae*)α-冠状病毒属(*Alphacoronavirus*)的猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的, PEDV是单股正链、不分节段的RNA病毒.

PED于1971年首次在英格兰的架子猪和育肥猪中暴发, 随后在欧洲大陆相继发生. 1977年比利时根特大学证实其病原为冠状病毒样粒子, 并将获得的小肠组织毒命名CV777. 2013年2月PED首次在美国暴发, 随后, 在加拿大、墨西哥、南美洲、韩国、日本相继发生. PED已在欧洲、亚洲、北美洲和南美洲的养猪国家中流行. 我国于1973年首次在上海的猪群中发现PED, 2010年以前PED在我国部分地区猪群中呈地方流行性[3]. 2010年12月PED首先在华南地区的猪群中暴发, 随后在29个省(直辖市、自治区)的猪群中相继发生[4]. 我国于2022年将其规定为二类动物疫病.

2010年12月PED在我国猪群中暴发后, Chen等人[5]对现地腹泻样品中的PEDV流行毒株进行了全基因组序列测定和分析, 首次证实PEDV变异毒株在我国猪群中流行. PEDV流行毒株基于全长纤突(spike, S)基因构建的系统发育树可分为两个基因型, 即Group 1型(G1, 经典毒株)和Group 2型(G2, 变异毒株), 且主要

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

以G2型为主[4]. PEDV只有一个血清型, 各毒株之间有密切的抗原关系. 随着生猪和猪相关产品国际贸易往来的日益频繁, PED也已成为全球性疾病, He等人[6]通过对近年来世界各国PEDV流行毒株的全基因组序列进行分析, 发现G2型毒株已是全球PED的优势流行毒株. Zhang等人[7]对我国(2011~2021年)和全球672株PEDV流行毒株的全基因组序列进行了系统分析, 结果表明, PEDV有G1和G2两个基因型, 而且主要以G2型为主; 发现PEDV流行毒株之间的重组位点位于基因组18000~24000核苷酸之间, 中国、美国和欧洲毒株的重组位点位于S基因, 而韩国毒株的重组位点位于ORF1与S基因的结合部; 发现PEDV流行毒株与疫苗株之间存在重组现象. 此外, 还发现少数流行毒株是由G1与G2型毒株重组而来.

1.3 PoRVI

PoRVI是猪的一种肠道传染病, 主要感染8周龄以内仔猪, 其特征是呕吐、腹泻和脱水, 普通饲养条件下的仔猪死亡率低于20%[8]. PoRVI是由呼肠孤病毒目(*Reovirales*)光滑呼肠孤病毒科(*Sedoreoviridae*)轮状病毒属(*Rotavirus*)的猪轮状病毒(porcine rotavirus, PoRV)引起的, PoRV是双链、分节段的RNA病毒, 由11个节段组成.

PoRV于1975年首次在澳大利亚的仔猪腹泻样品中发现, 随后在北美洲、南美洲、欧洲、亚洲、非洲、大洋洲的养猪国家猪群中均检测到[9]. 我国于1983年首次在四川腹泻仔猪的样品中检测到PoRV. 目前, PoRVI在我国现地猪群中普遍存在, 2022年我国将其规定为三类动物疫病.

根据VP6基因序列, 轮状病毒可分为10个群(A~J), 其中A, B, C, H群成员能够感染猪, 但80%以上PoRVI是由A群PoRV引起的[9]. 目前, 我国PoRV流行毒株基于VP6基因序列可分为A和C两群[10], 且主要以A群为主. A群PoRV流行毒株基于VP7基因序列可分为9个基因型, 即G1~G5, G9, G11~G12, G26, 其中G5和G9型是流行毒株的主要基因型[11,12]. A群PoRV不同毒株之间有密切的抗原关系.

1.4 对生猪产业的危害

TGEV, PEDV和PoRV在自然情况下只感染猪, 尤其是哺乳仔猪, 一年四季均可发生, 主要发生于每年12月至翌年2月. 病毒主要通过粪-口途径进行传播, PEDV还在母猪乳汁中检测到[4,13]. 这三种病毒引起的猪病毒性腹泻给世界养猪业造成了巨大的经济损失. 7日龄以内哺乳仔猪感染后死亡率可高达100%, 占哺乳阶段仔猪死亡的75%~88%, 从而导致饲料报酬降低. 2013~2014年PED导致美国800多万头哺乳仔猪死亡, 10%猪场破产, 年损失9亿~18亿美元[14]. PED在2013~2018导致日本死亡50多万头哺乳仔猪[15]. 2010年PED在我国暴发后, 哺乳仔猪的死亡率为80%~100%, 至少100万头仔猪死亡[13]. 按照我国每年出栏7亿头肉猪计算, 包括仔猪损失和饲养成本在内, 每年PED给养猪业造成的损失高达上百亿元.

2 毒株分离、鉴定及疫苗株培育

获得适应细胞的病毒株是研究病毒致病机制和制备疫苗的首要一环, 但猪病毒性腹泻病毒存在着病毒难以适应细胞、致弱过程中免疫原性减弱的世界性难题. 研究人员通过在培养液中添加辅助因子、传代过程中结合固相病毒蚀斑克隆, 并通过未吃初乳仔猪交替传代保持弱毒株良好免疫原性等方法使TGEV, PEDV和PoRV适应了细胞, 并优选了安全且免疫原性好的克隆株.

2.1 TGEV

TGEV的细胞感染谱比较窄, 某些病毒分离物适应细胞较困难. 马思奇等人[16]通过在培养液中加二甲基亚砜处理细胞的方法, 于1978年3月将TGEV 27-4代华毒株强毒(小肠组织毒)适应于胎猪肾细胞, 并传至165代. 经克隆纯化、小空斑传代和猪体连续传代5~6代, 成功培育出我国首株TGEV弱毒华毒株. 由于胎猪肾细胞、仔猪肾细胞都是原代细胞, 存在培养工艺复杂、生产成本高和外源病毒污染难以控制的技术瓶颈, 冯力等人在国内率先筛选鉴定了无致瘤性、致癌性, 无细菌、真菌、支原体及外源病毒污染的猪睾丸(swine testicle, ST)细胞, 并通过筛选敏感传代细胞系, 确定ST细胞为TGEV分离培养用最佳细胞系, 传代过程中结合5~6次固相病毒蚀斑克隆, 优选安全且免疫原性好的克隆株(图1, 未发表), 并通过未吃初乳仔猪交替传代保持了弱毒株良好的免疫原性, 发明了适应ST细胞的安全稳定、免疫原性好、高滴度的TGEV弱毒华毒株. 近年

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

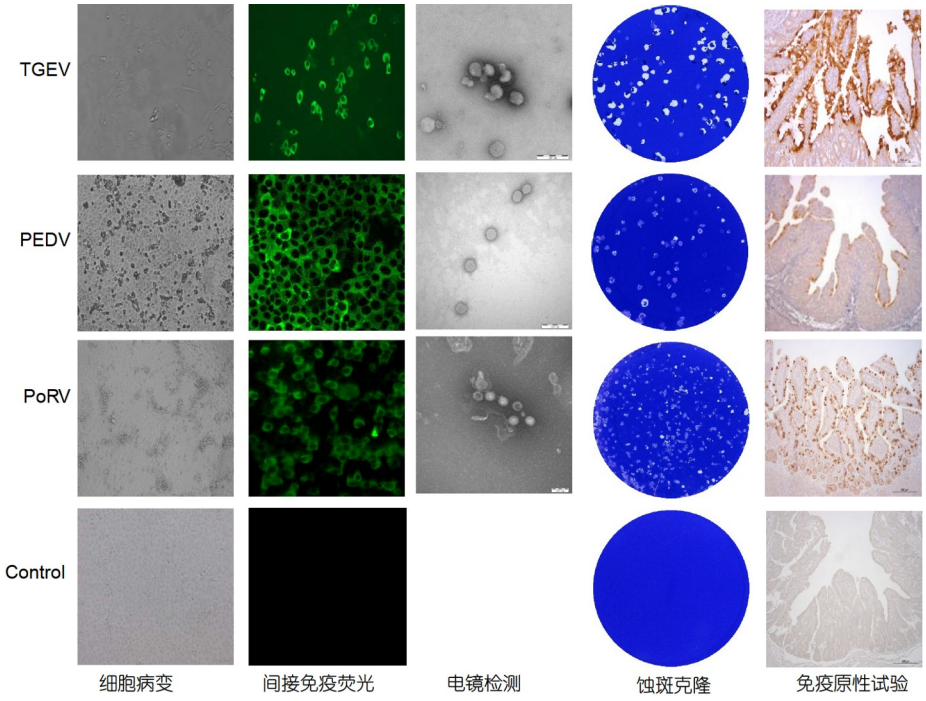

图 1　TGEV弱毒华毒株、PEDV弱毒CV777株和G5型PoRV弱毒NX株培育鉴定(未发表)

Figure 1　Cultivation and identification of attenuated TGEV strain H, attenuated PEDV strain CV777, and type G5 attenuated PoRV strain NX (unpublished)

来，我国科研人员先后分离鉴定了多株TGEV流行毒株, 部分毒株, 如HB08株、WH-1株、SCJY-1株、SD/L株等, 被用于制备灭活疫苗和(或)活疫苗.

2.2　PEDV

PEDV于1978年首次报道，全世界的科学家历经10年才成功将其适应于非洲绿猴肾细胞(Vero细胞)[17]. 马思奇等人[18]采用在病毒培养液中加5~10 μg/mL胰酶及上毒前敏化细胞的培养方法，在国内首次将PEDV CV777强毒(小肠组织毒)适应了Vero细胞. 佟有恩等人[19]将适应Vero细胞的CV777株进行了体外连续传代和克隆纯化，获得了稳定、毒力减弱并保持良好免疫原性的毒株，成功筛选培育了我国首株PEDV CV777弱毒株. 冯力等人在国内率先筛选鉴定了无致瘤性、致癌性，无细菌、真菌、支原体及外源病毒污染的Vero E6细胞, 并确定Vero E6细胞为PEDV分离培养用最佳细胞系，发明了适应Vero E6细胞的安全稳定、免疫原性好、滴度高的PEDV弱毒CV777株(图1). 近年来，我国科研人员先后分离鉴定了多株PEDV流行毒株，部分毒株，如ZJ08株、AJ1102株、SCSZ-1株、LW/L株、XJ-DB2株、CHYJ株等，被用于制备灭活疫苗和(或)活疫苗.

2.3　PoRV

冯力等人通过对我国30个省(直辖市、自治区)208个发病猪场的1039份腹泻病料进行了病原检测及生物信息学分析，明确了A群G5型PoRV是我国PoRV流行毒株的优势基因型，为疫苗候选株的筛选及疫苗研发提供了强有力的科学依据. 时洪艳等人利用非洲绿猴胚胎肾细胞(MA-104细胞)从宁夏某猪场腹泻仔猪的小肠病料中分离了一株A群G5型PoRV强毒株(NX). 通过体外连续传代、克隆纯化(图1)和5次猪体连续传代证实NX弱毒株对3~5日龄健康仔猪均安全, 免疫保护率均不低于80%, 成功培育出了我国首株A群G5型PoRV弱毒NX株. 2018年以来，PoRV在我国部分猪群中流行, 并造成了一定的危害, 逐渐引起了科研人员的密切关注.

3　免疫途径筛选

免疫途径是增强疫苗免疫效果的重要因素之一.

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

根据动物传染病免疫预防的原则，最佳的免疫接种是模拟病毒自然感染途径进行的预防接种. TGE主要通过粪-口途径传播，早期TGE弱毒疫苗大多以口服和鼻内接种为主, 以便达到更好的免疫效果. TGE弱毒疫苗口服免疫接种时易被胃酸、胃蛋白酶、胰蛋白酶等破坏，不能诱导有效的免疫保护作用[20]，这可能是因为大部分弱毒株在母猪肠道中的复制能力有限所导致的[21].

哈兽研在多年TGE弱毒活疫苗的推广应用中采用两种(鼻内及肌肉)接种途径取得了良好的预防效果. 但两次接种，特别是鼻内途径在现地使用上是不方便的. 针灸是祖国医学、兽医学的重要组成部分，早在50年代就有应用免疫学理论和方法研究动物针刺免疫的报道. 孟宪松等人[22]将TGE弱毒活疫苗经口服和后海穴注射两种途径接种3日龄哈白猪，通过分析发现，后海穴接种仔猪的外周血中β-内啡肽含量比口服接种仔猪的外周血含量高，用强毒进行攻击试验，结果证实，后海穴位注射疫苗免疫组的保护率优于口服接种免疫组，且后海穴位免疫组拉稀比口服接种免疫组拉稀轻得多，表明后海穴注射疫苗的效果优于口服途径. 张为民等人[23]利用TGE弱毒活疫苗经后海穴、中脘穴、左肾俞穴免疫3日龄仔猪, 通过分析注射前后阻抗变化百分率，证实后海穴注射疫苗可明显提高猪只免疫力，说明后海穴的免疫促进作用与其所属的督脉经阻变化是相关的. 王明等人[24]以TGE弱毒活疫苗为研究对象，选取与胃肠道疾病相关的督脉经后海穴、足阳明胃经6个穴位(风池穴、足三穴、内庭穴、天枢穴、承浆穴、伏兔穴)对3日龄仔猪进行穴位注射，并与肌肉注射途径进行比对研究，试验结果表明，安全性试验中除风池穴有2头仔猪颜面麻痹，影响吃奶外，其他途径接种的仔猪均正常. 效力试验中仅后海穴、风池穴接种的仔猪全部得到保护，其他穴位和肌肉接种的仔猪中均有少数发病. 从安全性和有效性两个方面综合考虑，后海穴接种弱毒疫苗是预防TGE的最佳免疫途径(表1).

后海穴是位于肛门和尾根之间的凹陷小窝(图2)，是3条经脉(督脉、任脉、冲脉)的交汇处，从神经、血管分布的解剖位置看都有利于激活猪只的肠道免疫系统, 增强其免疫机能. 以小剂量的TGE弱毒苗分别经后海穴、口服接种3日龄仔猪, 间隔7~12天后用相同剂量的强毒攻击，结果表明，后海穴途径保护率为60.53%(23/38)，而口服途径的保护率只有6.67%(1/15). TGE, PED灭活疫苗经后海穴接种，被动免疫(免疫母猪保护仔猪)的保护率分别为77.45%(79/102)，97.06%(33/34)，主动免疫的保护率分别为95%(57/60)，85%(17/20). 用相同剂量的PED灭活疫苗分别经后海穴、肌肉途径接种仔猪，间隔15~25天后用相同剂量的强毒攻击，结果表明，后海穴途径接种的仔猪100%得到保护，而肌肉途径接种的仔猪只有25%得到保护，证实后海穴接种效果比肌肉接种效果好. TGE-PED二联细胞灭活苗经后海穴接种，被动免疫TGE，PED的保护率分别为87.9%(29/33)，82.4%(28/34)，主动免疫TGE，PED的保

表 1 TGE弱毒疫苗穴位筛选试验

Table 1 The acupuncture point screening test of attenuated TGEV vaccine

免疫途径	安全试验		接种后天数	效力试验			
	剂量	发病数		攻毒剂量(ID_{50})	无临床症状	一过性临床症状	发病数
后海穴	0.5 mL	0/3	7	1000	3/3	0/3	0/3
风池穴	0.5 mL	0/3[a)]	7	1000	3/3	0/3	0/3
足三穴	0.5 mL	0/5	7	1000	4/5	1/5	0/5
内庭穴	0.5 mL	0/5	7	1000	3/5	2/5	0/5
天枢穴	0.5 mL	0/5	7	1000	3/5	1/5	1/5
承浆穴	0.5 mL	0/5	7	1000	0/5	3/5	2/5
伏兔穴	0.5 mL	0/5	7	1000	3/5	1/5	1/5
肌肉	0.5 mL	0/5	7	1000	1/2	0/2	1/2[b)]
对照组	PBS	0/8	7	1000	1/8	7/8	7/8

a): 面瘫(facioplegia), b): 死亡(death)

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

图 2　后海穴位置及注射操作
Figure 2　The location of Houhai point and injection operation

护率分别为100%(20/20), 92%(23/25). 经后海穴免疫接种疫苗的妊娠母猪所产仔猪的母源抗体可持续8周, 其中3日龄时为最高, TGE, PED中和抗体平均效价分别为89.6, 76.8, 以后逐渐下降. 强毒攻击试验结果表明, 当二者的中和抗体效价均在8以上时, 仔猪均能得到保护, 也就是说母源抗体可以保护8周龄以内仔猪. 后海穴接种母猪的初乳中白介素2(interleukin 2, IL-2)比口服和肌肉接种母猪的高, 而且血清中IL-2含量及持续时间比口服和肌肉接种母猪的长, 说明后海穴接种疫苗能够诱导细胞免疫[24]. 在此基础上简化为后海穴一次接种TGE-PED二联灭活苗, 取得了85%的免疫保护, 大大地方便了现地应用. 五年的田间试验及区域试验共预防接种160多万头母猪及140多万头仔猪、架子猪及成猪, 很受现地欢迎. 除西藏、青海外, 大陆各省(直辖市、自治区)均有应用, 在防制TGE和PED方面起到了明显作用[25].

穴位免疫途径是中国传统的经络学说和现代免疫学原理的有机结合, 也是疫苗的特异性免疫与针刺的非特异性免疫的有机结合, 取得了明显的免疫效果. 后海穴免疫接种不仅在理论上是对常规免疫途径(口服、肌肉注射)的突破, 在实践上也有重要意义, 是一项创新.

4　疫苗研制

TGE, PED和PoRVI无有效药物可用, 疫苗接种是预防和控制这些传染病最有效、最经济的手段. 我国先后成功研制出单苗、二联灭活疫苗、二联活疫苗和猪病毒性腹泻三联活疫苗. 猪病毒性腹泻系列疫苗为我国TGE, PED和PoRVI防控做出了重要的贡献.

4.1　单苗

美国、欧洲、日本和韩国先后研制成功了TGE弱毒活疫苗, 如TGE-Vac株、BI-300株、CKP株、浮羽株、羽田株、H-5株、TO163株、175L等. 日本和韩国也研制出PED弱毒活疫苗, 如83P-5株、96P-4株、KPEDV-9、SM98P、DR13、61P. 马思奇等人[16]于1985年研制成功了我国首个TGE弱毒活疫苗, 在几个大型养猪场试用后取得了良好的效果. 该研究成果为我国TGE防治奠定了基础, 尤其是对后来的TGE, PED二联灭活疫苗和二联活疫苗的研究, 该适应细胞毒株均作为种子毒株起到了关键性作用[26].

1980年以来, 我国部分省份陆续证明有PED的流行, 已成为重要的猪病毒性腹泻病之一. 王明等人[27]将制备的沪毒株(S株)小肠内容物悬液接种3~9日龄仔猪, 待仔猪发生呕吐、腹泻后剖杀, 采集小肠组织及内容物制备了PED氢氧化铝灭活苗, 填补了国内外无PED疫苗可用的空白. 该疫苗经猪只后海穴接种, 主动免疫的保护率为85%, 被动免疫的保护率为97.06%. 由于小肠组织灭活苗存在生产工艺繁琐、成本高以及质量难以控制等缺点, 马思奇等人[18]用适应Vero细胞的CV777株28代细胞毒制备氢氧化铝灭活苗, 经后海穴接种, 对仔猪的主动免疫保护率为85.19%, 被动免疫保护率为85%, 表明通过该方法制备的PED细胞灭活苗可用于现地PED的预防与控制. 美国HARRIS公司于2013年研制成功PED甲病毒载体疫苗并上市销售, 硕腾公司于2014年研制成功PED灭活疫苗并上市销售. 国内研究人员根据分离培育的流行毒株研制出

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

了PED单苗，如天康生物股份有限公司2021年研制成功PED灭活疫苗并获得三类新兽药注册证书，广东海大畜牧兽医研究院有限公司2023年研制成功PED灭活疫苗并获得三类新兽药注册证书. 目前，我国有2种商品化单苗用于PED的防控(表2).

4.2 二联苗

TGE与PED的病毒粒子形态、临床症状及流行病学都极其相似，且无任何抗原交叉关系[28]. 哈兽研几年的抽样调查发现，二者混合感染率由最初的21.2%上升至30.77%~46.15%. 马思奇等人[29]在TGE, PED单苗研制成功的基础上, 研制出我国首个TGE, PED二联灭活疫苗. 该疫苗主动免疫的总保护率TGE为100%、PED为92%，被动免疫的总保护率TGE为87.9%、PED为82.4%. 在黑龙江、北京、浙江余姚市、上海市奉贤县等猪场进行了田间试验，共接种母猪31758头，仔猪及中成猪1505头，田间试验的保护率为92%~96.35%. 经中国农业科学院文献中心查新证明，在后海穴位注射TGE，PED二联细胞灭活苗的研究未见国内外文献报道，是国际上领先研制成功的. 该疫苗于1999年获农业部颁发的一类新兽药证书. 虽然TGE, PED二联灭活疫苗具有安全、稳定的优点，但同时存在接种剂量大、抗体产生时间较慢、生产工艺繁琐、成本高及易被外源病毒污染等缺点，这就促进了TGE, PED二联弱毒疫苗的研制工作. 佟有恩等人[30]成功研制出TGE, PED二联弱毒疫苗, 该疫苗主动免疫的总保护率TGE为95.2%、PED为100%，被动免疫的总保护率TGE为96%、PED为100%. 1997年10月~1999年在黑龙江省、河北省及北京市的8个猪场进行了田间试验，共接种母猪2474头，断奶仔猪1586头，保护率为95%~98%. 从2000年开始进行中间试验及区域试验，扩大到福建、辽宁、吉林、河北的猪场，均表明二联弱毒苗对猪是安全的，并具有良好的免疫保护力，特别是用于紧急预防接种的效果更好. TGE, PED二联弱毒疫苗是国际上领先研制成功的，并于2003年获得农业部颁发的一类新兽药证书[25]. 国内研究人员根据分离培育的TGEV，PEDV毒株研制出了系列疫苗，如北京大北农科技集团股份有限公司于2015年研制成功了TGE, PED二联活疫苗并获得三类新兽药注册证书. 华中农业大学于2016年研制成功了TGE、PED二联灭活疫苗，于2017年研制成功了TGE, PED二联活疫苗，两个疫苗先后获得三类新兽药注册证书. 华派生物工程集团有限公司于2017年研制成功了TGE，PED二联活疫苗并获得三类新兽药注册证书. 齐鲁动物保健品有限公司于2018年研制成功了TGE，PED二联活疫苗并获得三类新兽药注册证书. 目前，我国有2种商品化二

表 2 我国已批准的猪病毒性腹泻疫苗和抗体检测试剂盒

Table 2 Approved swine viral diarrhea vaccines and antibody testing kits in China

序号	名称	第一研制单位	年份	新兽药证书类别
1	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联灭活苗(强毒华毒株+强毒CV777株)	哈兽研	1999	一类
2	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗(弱毒华毒株+弱毒CV777株)	哈兽研	2003	一类
3	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻、猪轮状病毒(G5型)三联活疫苗(弱毒华毒株+弱毒CV777株+NX株)	哈兽研	2014	二类
4	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗(HB08株+ZJ08株)	北京大北农科技集团股份有限公司	2015	三类
5	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联灭活疫苗(WH-1株+AJ1102株)	华中农业大学	2016	三类
6	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗(WH-1R株+AJ1102-R株)	华中农业大学	2017	三类
7	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗(SCJY-1株+SCSZ-1株)	华派生物工程集团有限公司	2017	三类
8	猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联活疫苗(SD/L株＋LW/L株)	齐鲁动物保健品有限公司	2018	三类
9	猪流行性腹泻灭活疫苗(XJ-DB2株)	天康生物股份有限公司	2021	三类
10	猪流行性腹泻灭活疫苗(CHYJ株)	广东海大畜牧兽医研究院有限公司	2023	三类
11	猪流行性腹泻病毒ELISA抗体检测试剂盒	哈兽研	2022	二类
12	猪流行性腹泻病毒ELISA(IgA)抗体检测试剂盒	华中农业大学	2023	二类

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

联灭活疫苗、5种商品化二联活疫苗用于TGE, PED的防控(表2). 日本、韩国将用于单苗的毒株组合在一起, 研制出TGE, PED二联灭活疫苗和二联活疫苗.

4.3　三联苗

TGE, PED和PoRVI在世界范围内广泛流行和肆虐, 混合感染问题突出, 危害极大. 联苗的免疫接种是解决上述问题的关键. 韩国在单苗、二联苗的基础上率先研制出了猪病毒性腹泻三联活疫苗. 冯力等人首先建立了国内猪病毒性腹泻分子流行病学研究技术平台, 明确了引起我国猪只腹泻的主要病原是TGEV, PEDV和PoRV, 三者的混合感染为26.2%~51.8%, 确定了PoRV流行毒株的优势基因型为G5型. 发明了我国首个安全、高效的猪病毒性腹泻三联活疫苗, 既可以用于主动免疫, 又可用于被动免疫, 其主动免疫保护率为96.15%, 被动免疫保护率为88.7%. 区域免疫保护率超过95.0%, 猪场腹泻发病率由原来的15.0%~35.2%下降到0~3.0%. 该疫苗对哺乳仔猪、断奶仔猪、育肥猪和成年母猪、公猪均安全, 可用于哺乳仔猪、断奶仔猪、育肥猪和成年母猪、公猪的免疫, 具有针对性强(针对TGEV, PEDV, PoRV混合感染及A群G5型PoRV感染)、免疫效果好和适用范围广的优点, 对TGEV或PEDV或PoRV单一感染、双重感染及三重混合感染均有效. 该疫苗填补了我国无猪轮状病毒疫苗及猪病毒性腹泻三联苗可用的空白, 实现了一针预防TGE, PED, PoRVI三种重大疫病的目的. 猪病毒性腹泻三联活疫苗于2014年获得国家二类新兽药注册证书, 为国内率先创制成功, 是目前我国唯一预防三种病毒混合感染及猪轮状病毒感染的疫苗(表2), 同时也是世界上仅有的两个三联活疫苗之一, 疫苗于2015年3月上市销售, 并于2020年入选“十三五”国家十大农业科技标志性成果.

猪病毒性腹泻三联活疫苗实现了“一针三防”, 解决了三种猪腹泻病毒的混合感染问题, 节省了养殖户和养殖企业的人力成本, 减少了劳动量, 降低了劳动强度, 避免了多次免疫对猪只产生的应激反应, 减轻了养殖户和养殖企业的经济负担, 提高了生产效率和经济效益. 该疫苗的成功研制提高了我国生物制品整体研制水平, 引领了猪病毒性腹泻新型多联、多价疫苗研发的新趋势, 完善了猪病防控疫苗体系, 为养殖户和养殖企业防控猪病毒性腹泻提供了保障, 带动了产业发展, 增加了农民收入, 促进了生猪产业绿色健康发展. 创建的新生产工艺彻底摆脱了疫苗生产过程中仔猪的使用, 保证了动物福利, 使疫苗生产成本大幅下降, 为疫苗生产企业提供了一个新的效益增长点, 利润增加显著, 增强了疫苗生产企业的市场竞争力和影响力.

哈兽研研制的猪病毒性腹泻系列疫苗累计转让24家生物制品企业, 转让金额约1.4亿元, 推广应用6000多万头份, 产生直接经济效益约5亿元, 提升了生物制品企业的竞争力, 为我国猪病毒性腹泻防控做出了重要贡献.

5　诊断技术

TGE, PED和PoRVI在临床上引起的症状非常相似, 而且肉眼可见的剖检病变(小肠充气, 变薄, 含淡黄色液体, 肠系膜淋巴结肿大、充血)也极其相似, 无法对它们进行鉴别诊断, 因此, 实验室诊断是非常必要的. 实验室的诊断方法有病原学诊断和血清学诊断, 其中病原学诊断方法主要有病毒分离、免疫荧光法、抗原ELISA、RT-PCR、实时荧光定量RT-PCR等; 血清学诊断方法主要有间接免疫荧光法、中和试验、抗体ELISA检测等. 这三种疫病在韩国猪群中的广泛流行, 给韩国养猪业造成了严重的经济损失, 韩国率先研制出了TGEV, PEDV和PoRV抗原快速检测试纸条.

诊断技术是疫病防控体系中不可或缺的重要一环, 其标准化与规范化可以保证诊断更为科学, 减少诊断遗漏和失误. 马思奇等人制定了农业行业标准《猪流行性腹泻诊断技术(NY/T 544-2002)》《猪传染性胃肠炎诊断技术(NY/T 548-2002)》. 为了更好地满足疫病诊断需求和服务于现地, 冯力等人根据实验室建立的诊断技术和方法, 又对上述2个农业行业标准进行了修订并于2015年颁发、实施. 《猪流行性腹泻诊断技术(NY/T 544-2015)》《猪传染性胃肠炎诊断技术(NY/T 548-2015)》为我国PED和TGE的诊断、检疫、检测、监测提供了有力的技术支持. 哈兽研率先对TGEV, PEDV, PoRV进行了全基因组序列测定、分析, 发现TGEV华毒强、弱毒株, PEDV CV777强、弱毒株存在独特的分子标记(图3), 为TGEV和PEDV强、弱毒株的鉴别诊断提供了依据.

李长龙等人[31]利用PEDV强、弱毒株独特分子标

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

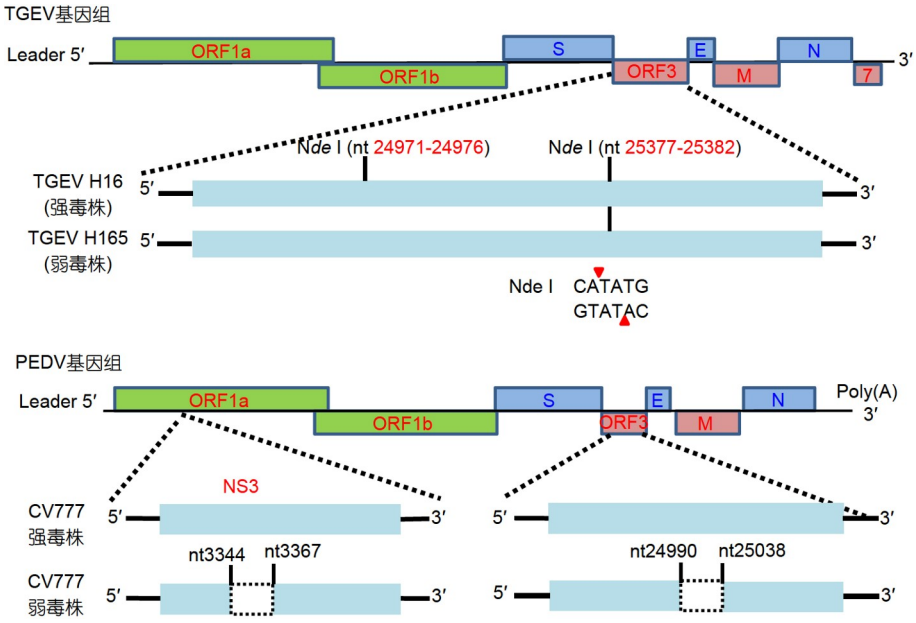

图 3 TGEV, PEDV强弱毒株分子标记

Figure 3 Molecular markers in virulent and attenuated TGEV and PEDV

记建立了区分强、弱毒株感染的RT-PCR诊断方法, 此外, 研究人员也建立了区分TGEV强、弱毒株感染的限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析, 实现了疫苗株与野毒株的鉴别诊断. 陈小金[32]建立了敏感、特异的TGEV, PEDV和PoRV荧光定量PCR方法, 敏感性为常规PCR的100倍, 实现了三种病原的快速高通量检测和精准诊断. 为了快速评价疫苗的免疫效果或判断腹泻仔猪是否感染野毒, Liu等人[33]建立了检测PEDV特异性SIgA的免疫层析试纸条, 可用于检测乳汁中的SIgA, 该方法与ELISA抗体检测方法相比省时、省力. Liu等人[34]研制出一种快速灵敏的基于铕(III)螯合微粒的横向流动试纸条, 用于PEDV检测和流行病学监测, 实现了PED快速诊断. 抗体水平是评价疫苗免疫效果、诊断病毒感染和指导科学免疫的重要指标. 加拿大率先研制出了PEDV ELISA抗体检测试剂盒, 西班牙率先研制出了TGEV阻断ELISA抗体检测试剂盒, 韩国率先研制出了PEDV IgA抗体检测试剂盒. 为了实现对PEDV, TGEV, PoRV抗体水平的科学评价, 冯力等人成功研制出了PEDV, TGEV, PoRV ELISA抗体检测试剂盒, 其中PEDV ELISA抗体检测试剂盒于2022年获得国家二类新兽药注册证书, 填补了国内空白. 与国外同类试剂盒相比, 该试剂盒价格便宜、敏感性高、稳定性好、适用性强, 降低了养猪企业(户)的检测、监测成本. 华中农业大学何启盖等人成功研制出PEDV ELISA(IgA)抗体检测试剂盒, 该试剂盒于2023年获得国家二类新兽药注册证书(表2), 填补了国内空白.

6 应用基础研究

为解决猪病毒性腹泻病毒缺少体外感染模型的瓶颈问题, Li等人[35]建立了一种新的猪肠道类器官模型, 可以很好地模拟病毒感染猪体内的情况, 研究揭示了PEDV等肠道冠状病毒诱导免疫的分子机制, 为新型疫苗创制奠定了理论基础. 病毒入侵是病毒感染细胞的第一步, 也是最重要的一步. Ji等人[36]在针对TGEV入侵宿主细胞研究中发现, TGEV的M蛋白与宿主细胞膜表面的热休克蛋白70(HSC70)蛋白相互作用, 并通过网格蛋白(clathrin)介导的内吞途径促使病毒完成内化过程, 该研究成果为抗病毒研究奠定了理论基础. 病毒质是PoRV基因组复制和包装的场所, 是病毒复制的关键因素, Jing等人[37]研究发现, PoRV通过其非结构蛋白2与动力蛋白中间链(dynein intermediate chain,

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

DIC)相互作用, 利用动力蛋白(dynein)转运介导其病毒质的形成, 而这一生物学过程对于子代病毒的有效包装至关重要, 为疫苗生产中提高PoRV病毒含量提供了理论依据. 先天免疫系统是宿主抵抗所有传染性微生物的第一道防线. 所有病原微生物的结构保守成分称为病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMPs), 宿主细胞利用不同类型的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs)来识别这些PAMPs, 随后通过一系列的级联反应, 促进干扰素和促炎性细胞因子的表达, 以对抗病毒感染并协调适应性免疫. FBXW7是E3泛素连接酶的重要组成成分, 可以正调控干扰素和干扰素刺激基因的表达, 从而发挥抗病毒作用. Li等人[38]发现, PEDV利用自身的非结构蛋白nsp2通过K48蛋白酶体途径降解FBXW7, 以逃避宿主天然抗病毒作用. 除了经典的RIG-I/MDA5通路, Xue等人[39]发现, TGEV也能通过内质网应激中的PERK非经典通路诱导Ⅲ型IFN产生, 首次发现TGEV的非结构蛋白nsp1诱导Ⅲ型IFN产生的分子机制; Zhao等人[40]进一步揭示了TGEV感染后通过gasdermin D(GSDMD)对细胞膜成孔, 将产生的IFN释放出细胞外的分子机制. 这些研究成果为抗猪病毒性腹泻药物的研制提供了新的靶点.

7　挑战与展望

中国作为世界养猪大国以及猪肉消费大国, 其生猪产业更是关乎国计民生的重要产业, 在全面实现小康社会的发展道路上发挥着重要作用. 目前, 危害我国养猪业健康发展的主要疫病有猪病毒性腹泻病, 其中危害最为严重的有PED, TGE, PoRVI, 给全球的生猪产业造成了巨大的经济损失. 当前, 国内外情况都会对我国猪病毒性腹泻疫病防控造成严峻态势. 对于国内, 一方面集约化养殖规模巨大, 养殖水平参差不齐, 疫病防控条件千差万别; 另一方面, 我国猪病毒性腹泻相关疫病种类繁多, 流行复杂, 发病范围广, 同一养殖场多病原共存, 混合感染现象普遍存在. 同时, 还面临老病新发(病毒变异)、新发疫病和多病原共感染的挑战, 在持续免疫和环境压力下, 病原产生适应性进化, 不断发生变异, 导致新毒株或新亚型的不断出现. 对于国际方面, 随着经济的发展, 我国与世界各国贸易往来频繁, 外来疫病传入风险巨大. 同时, 广大养殖企业对动物疫病发生、变异、致病、扩散和免疫机制的认识有待加强. 尽管我国在猪病毒性腹泻疫病防控制剂创制方面发展迅速, 但迫切需要改进传统生产工艺, 提高疫苗免疫效果和免疫质量.

针对上述种种问题, 新理论、新技术、新方法和新型疫苗是防控猪病毒性腹泻疫病的关键. 理想的疫苗应该具有良好的免疫效果、安全有效、稳定、易于接种、成本低、应用范围广, 可与其他疫苗联合应用、一针多防等特点. 随着分子免疫学、微生物基因组学以及生物信息学等相关学科的不断发展及完善, 免疫学和疫苗相关研究得到了快速发展, 研发出多种新型疫苗. 标记疫苗可区分自然感染动物和疫苗接种动物, 有利于相关病原的流行病学调查, 同时为防控相关传染病提供疫苗选择依据. 在现代遗传学中, 反向遗传学被认为是一种不可或缺的工具, 它彻底改变了人们对病毒发病机制和疫苗研发的认知. 通过反向遗传技术可实现对病毒基因的改造和修饰, 包括病毒毒力、免疫原性及抗原成份稳定性等, 从而获得预期生物特性的毒株. 基于反向遗传学技术的疫苗研究, 还可以发现在经典疫苗研发过程中难以发现的“特殊”保护性抗原, 为传染性疫病的疫苗研制, 以及发展新型多价或广谱疫苗提供新的方向和思路. 活载体疫苗兼有常规活疫苗和灭活疫苗的优点, 如具有活疫苗的免疫效力高, 成本低及灭活疫苗的安全性好等优点, 是当今与将来疫苗开发与研制的主要方向之一. 口服疫苗饲喂方便, 成本低, 安全性好, 无副作用, 尤其适合大规模养殖场的群体免疫. mRNA疫苗作为一种新型疫苗, 打破了传统灭活、减毒疫苗的免疫激活模式, 创新性地利用宿主本身细胞生产抗原, 以此激活特异免疫. mRNA疫苗具有极高的有效保护率, 同时相较于其他创新型疫苗(如DNA疫苗、病毒载体疫苗)具有更高的安全性. 在研发上, mRNA疫苗能够快速地更新迭代以应对不断出现的变异毒株. 由于mRNA疫苗不需进行体外转译, 因此生产过程也有所缩短. 针对新发动物疫病, mRNA疫苗技术可以快速、充足地生产出有效的疫苗. 同时, mRNA疫苗技术还可以快速地应对病毒的变异, 有利于迅速切断传染病的传播. 我国对猪病毒性腹泻的防控主要以免疫预防为主, 猪病毒性腹泻系列传统疫苗的成功研制为我国猪病毒性腹泻的防控提供了有力保障, 为养猪业的健康、绿色发展和乡村振兴贡献了智慧和力量.

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

参考文献

1 Zhang X, Zhu Y, Zhu X, et al. Identification of a natural recombinant transmissible gastroenteritis virus between Purdue and Miller clusters in China. Emerg Microbes Infect, 2017, 6: 1–10

2 Boniotti M B, Papetti A, Lavazza A, et al. Porcine epidemic diarrhea virus and discovery of a recombinant swine enteric coronavirus, Italy. Emerg Infect Dis, 2016, 22: 83–87

3 Chen J, Wang C, Shi H, et al. Molecular epidemiology of porcine epidemic diarrhea virus in China. Arch Virol, 2010, 155: 1471–1476

4 Chen J, Liu X, Shi D, et al. Detection and molecular diversity of spike gene of porcine epidemic diarrhea virus in China. Viruses, 2013, 5: 2601–2613

5 Chen J, Liu X, Shi D, et al. Complete genome sequence of a porcine epidemic diarrhea virus variant. J Virol, 2012, 86: 3408

6 He W T, Bollen N, Xu Y, et al. Phylogeography reveals association between swine trade and the spread of porcine epidemic diarrhea virus in China and across the world. Mol Biol Evol, 2022, 39: msab364

7 Zhang H, Zou C, Peng O, et al. Global dynamics of porcine enteric coronavirus PEDV epidemiology, evolution, and transmission. Mol Biol Evol, 2023, 40: msad052

8 Bohl E H, Kohler E M, Saif L J, et al. Rotavirus as a cause of diarrhea in pigs. J Am Vet Med Assoc, 1978, 172: 458–463

9 Vlasova A, Amimo J, Saif L. Porcine rotaviruses: epidemiology, immune responses and control strategies. Viruses, 2017, 9: 48

10 Jiao R, Ji Z, Zhu X, et al. Genome analysis of the G6P6 genotype of porcine group C rotavirus in China. Animals, 2022, 12: 2951

11 Li C, Lu H, Geng C, et al. Epidemic and evolutionary characteristics of swine enteric viruses in South-Central China from 2018 to 2021. Viruses, 2022, 14: 1420

12 Miao Q, Pan Y, Gong L, et al. Full genome characterization of a human-porcine reassortment G12P[7] rotavirus and its pathogenicity in piglets. Transbound Emerg Dis, 2022, 69: 3506–3517

13 Sun R Q, Cai R J, Chen Y Q, et al. Outbreak of porcine epidemic diarrhea in suckling piglets, China. Emerg Infect Dis, 2012, 18: 161–163

14 Lin C M, Saif L J, Marthaler D, et al. Evolution, antigenicity and pathogenicity of global porcine epidemic diarrhea virus strains. Virus Res, 2016, 226: 20–39

15 Suzuki T, Terada Y, Enjuanes L, et al. S1 subunit of spike protein from a current highly virulent porcine epidemic diarrhea virus is an important determinant of virulence in piglets. Viruses, 2018, 10: 467

16 Ma S Q, Wang M, Wang Y C, et al. Research of immunity of swine transmissible gastroenteritis virus 1. Development of swine transmissible gastroenteritis attenuated virus (in Chinese). Domest Anim Infect Dis, 1985, 2: 4–10 [马思奇, 王明, 王玉春, 等. 猪传染性胃肠炎免疫的研究1. 猪传染性胃肠炎弱毒疫苗的培育. 家畜传染病, 1985, 2: 4–10]

17 Hofmann M, Wyler R. Propagation of the virus of porcine epidemic diarrhea in cell culture. J Clin Microbiol, 1988, 26: 2235–2239

18 Ma S Q, Wang M, Zhou J F, et al. Adaption of porcine epidemic diarrhea virus to growth in cell cultures and efficacy of the killed virus vaccine (in Chinese). Chin J Prev Vet Med, 1994, 2: 15–19 [马思奇, 王明, 周金法, 等. 猪流行性腹泻病毒适应Vero细胞培养及以传代细胞毒制备氢氧化铝灭活苗免疫效力试验. 中国畜禽传染病, 1994, 2: 15–19]

19 Tong Y E, Feng L, Li W J, et al. Development of porcine epidemic diarrhea attenuated virus (in Chinese). Chin J Anim Poult Infect Dis, 1998, 20: 329–332 [佟有恩, 冯力, 李伟杰, 等. 猪流行性腹泻弱毒株的培育. 中国畜禽传染病, 1998, 20: 329–332]

20 Saif L, Bohl E H. Role of SIgA in passive immunity of swine to enteric viral infections. In: Ogra P, Dayton D, eds. Immunology of Breast Milk. New York: Raven Press, 1979. 237–248

21 Frederick G T, Bohl E H, Cross R F. Pathogenicity of an attenuated strain of transmissible gastroenteritis virus for newborn pigs. Am J Vet Res, 1976, 37: 165–169

22 Meng X S, Shi J S, Tang L P, et al. β-endrophin in peripheral blood of pigs and acupuncture immunity (in Chinese). J Trad Chin Vet Med, 1992, 5: 12–16 [孟宪松, 史计署, 唐丽萍, 等. 猪外周血液中β-内啡肽与针刺免疫. 中兽医医药杂志, 1992, 5: 12–16]

23 Zhang W M, Tang Y Z, Zhang L S, et al. Study on the correlation between meridian system and promoting function by Houhai point vaccination of piglets (in Chinese). J Trad Chin Vet Med, 1993, 5: 5–8 [张为民, 唐宜昭, 张隆山, 等.仔猪后海穴免疫促进作用与经络系统相关性探讨. 中兽医医药杂志, 1993, 5: 5–8]

24 Wang M, Ma S Q, Zhou J F, et al. Acupture points vaccination against transmissible gastroenteritis and porcine epidemic diarrhea (in Chinese). Chin J Anim Poult Infect Dis, 1997, 19: 6–13 [王明, 马思奇, 周金法, 等. 猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻穴位针刺免疫的研究. 中国畜禽传

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

染病, 1997, 19: 6–13]

25 Ma S Q. Review of the development of bi-combined vaccines against viral diarrhea of swine (in Chinese). Sci Agric Sin, 2007, 40 (Supplement 1): 414–419 [马思奇. 猪病毒性腹泻二联疫苗研究成果的回顾. 中国农业科学, 2007, 40(增刊1): 414–419]

26 Feng L. Review of the development of attenuated vaccine against swine transmissible gastroenteritis virus (in Chinese). Sci Agric Sin, 2007,40 (Supplement 1): 420–427 [冯力. 猪传染性胃肠炎弱毒疫苗研究回顾与展望. 中国农业科学, 2007, 40(增1): 420–427]

27 Wang M, Ma S Q, Zhou J F, et al. Development of killed vaccine against porcine epidemic diarrhea virus (in Chinese). Chin J Anim Poult Infect Dis,1993, 5: 17–19 [王明, 马思奇, 周金发, 等. 猪流行性腹泻灭活疫苗的研究. 中国畜禽传染病, 1993, 5: 17–19]

28 Lin C M, Gao X, Oka T, et al. Antigenic relationships among porcine epidemic diarrhea virus and transmissible gastroenteritis virus strains. J Virol, 2015, 89: 3332–3342

29 Ma S Q, Wang M, Feng L, et al. Study on bi-combined killed vaccine transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus (in Chinese). Chin J Prev Vet Med, 1995, 17: 23–27 [马思奇, 王明, 冯力, 等. 猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻二联氢氧化铝灭活疫苗的研究. 中国畜禽传染病, 1995, 17: 23–27]

30 Tong Y E, Feng L, Li W J, et al. Development of bi-combined attenuated vaccine against transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus (in Chinese). Chin J Prev Vet Med, 1999, 21: 406–410 [佟有恩, 冯力, 李伟杰, 等. 猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻二联弱毒疫苗的研究. 中国预防兽医学报, 1999, 21: 406–410]

31 Li C L, Chen J F, Shi H Y, et al. Establishment of RT-PCR method for distinguishing wild PEDV from the attenuated strain (in Chinese). Chin J Vet Med, 2014, 50: 6–8 [李长龙, 陈建飞, 时洪艳, 等. 猪流行性腹泻病毒野毒疫苗毒RT-PCR鉴别诊断方法的建立. 中国兽医杂志, 2014, 50: 6–8]

32 Chen X J. Establishment of differential methods of PEDV, TGEV and PoRV by SYBR Green I real time PCR assay. Dissertation for Master's Degree. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010 [陈小金. PEDV、TGEV、PoRV SYBR Green I实时荧光PCR诊断方法的探索. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院研究生院, 2010]

33 Liu J, Gao R, Shi H, et al. Development of a rapid immunochromatographic strip test for the detection of porcine epidemic diarrhea virus specific SIgA in colostrum. J Virol Methods, 2020, 279: 113855

34 Liu J, Shi H, Cong G, et al. Development of a rapid and sensitive europium (III) chelate microparticle-based lateral flow test strip for the detection and epidemiological surveillance of porcine epidemic diarrhea virus. Arch Virol, 2020, 165: 1049–1056

35 Li L, Fu F, Guo S, et al. Porcine intestinal enteroids: a new model for studying enteric coronavirus porcine epidemic diarrhea virus infection and the host innate response. J Virol, 2019, 93: e01682-18

36 Ji Z, Dong H, Jiao R, et al. The TGEV membrane protein interacts with HSC70 to direct virus internalization through clathrin-mediated endocytosis. J Virol, 2023, 97: e0012823

37 Jing Z, Shi H, Chen J, et al. Rotavirus viroplasm biogenesis involves microtubule-based dynein transport mediated by an interaction between NSP2 and dynein intermediate chain. J Virol, 2021, 95: e0124621

38 Li M, Wu Y, Chen J, et al. Innate immune evasion of porcine epidemic diarrhea virus through degradation of the FBXW7 protein via the ubiquitin-proteasome pathway. J Virol, 2022, 96: e0088921

39 Xue M, Wang W, He H, et al. Different mechanisms are utilized by coronavirus transmissible gastroenteritis virus to regulate interferon lambda 1 and interferon lambda 3 production. J Virol, 2022, 96: e0138822

40 Zhao L, Li L, Xue M, et al. Gasdermin D inhibits coronavirus infection by promoting the noncanonical secretion of beta interferon. mBio. 2022, 13: e0360021

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130

The technologies and their applications in the prevention and control of main porcine viral diarrhea

CHEN JianFei, SHI Da, SHI HongYan, TONG YouEn, ZHANG Xin & FENG Li

State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China

Transmissible gastroenteritis (TGE), porcine epidemic diarrhea (PED) and porcine rotavirus infection (PoRVI) are three main swine viral diseases, which are highly contagious and characterized by clinical signs including vomiting, watery diarrhea, dehydration and high mortality in suckling piglets less than two-weeks old. These diseases are widespread in China with serious co-infection, which have caused huge economic losses to the pig industry. In the prevention and control of infectious diseases, vaccine is one of the most effective and economic means. In this article, the research history of these three major porcine viral diarrhea at home and abroad is reviewed, with a focus on the research progress of corresponding vaccines and related diagnostic technologies in China. We also analyze the key problems in the prevention and control of porcine viral diarrhea in China, and propose relevant strategies to solve these problems.

diarrhea, transmissible gastroenteritis, porcine epidemic diarrhea, porcine rotavirus infection, vaccine, control and prevention

doi: 10.1360/SSV-2023-0130

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0130