

## Progress in Vaccines against Canine Parvovirus

Lele Hou<sup>1\*</sup>, Yonglian Dai<sup>1</sup>, Xiaojing Hao<sup>1</sup>, Tingrong Zhang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Qingdao Research Institute of Husbandry and Veterinary, Qingdao

<sup>2</sup>Qingdao Agricultural University, Qingdao

Email: houlele2006@126.com

Received: Dec. 12<sup>th</sup>, 2012; revised: Dec. 18<sup>th</sup>, 2012; accepted: Jan. 5<sup>th</sup>, 2013

**Abstract:** The canine parvovirus (CPV) disease is a deadly infection disease which characterized by acute vomiting, diarrhea, leucopenia and the high rate of incidence and mortality, and brings significantly losses to the breeding industry. Currently, prevention of CPV disease is mainly by canine parvovirus vaccines. The paper provided a review of the research and development of CPV vaccines as a reference.

**Keywords:** Canine Parvovirus; Vaccine; Advance

## 犬细小病毒疫苗的研究进展

侯乐乐<sup>1\*</sup>, 代永联<sup>1</sup>, 郝小静<sup>1</sup>, 张廷荣<sup>2</sup>

<sup>1</sup>青岛市畜牧兽医研究所, 青岛

<sup>2</sup>青岛农业大学, 青岛

Email: houlele2006@126.com

收稿日期: 2012年12月12日; 修回日期: 2012年12月18日; 录用日期: 2013年1月5日

**摘要:** 犬细小病毒病是一种具有高度接触性的烈性传染病, 以呕吐、腹泻和白细胞减少为特征, 发病率和死亡率比较高, 给犬饲养业造成重大的经济损失。目前在犬细小病毒病的预防方面, 以疫苗的应用最为广泛。本文概述了犬细小病毒病疫苗的研究现状, 为犬细小病毒病的预防提供参考。

**关键词:** 犬细小病毒病; 疫苗; 进展

### 1. 引言

犬细小病毒病是由犬细小病毒引起的, 可感染犬、猫、貂、狐狸等犬科和鼠鼯科动物, 以幼犬最易感。在接触病犬的粪便时, 感染的机率会增大, 因为病毒在粪便中可以存活很长时间。外界环境的骤变也会促进本病的发生, 例如机体的防御机制下降, 肠道内的菌群毒力增强等, 导致细菌或者病毒极易侵害机体, 可使犬发生严重的肠炎综合征(以剧烈呕吐、血样腹泻、严重脱水等为特征)和心肌炎综合征(以突然死亡的非化脓性心肌炎为特征)<sup>[1]</sup>。

CPV 基因组是一条单股负链线性的 DNA, 是自

\*通讯作者。

主复制的病毒, 含有 5323 个氨基酸, 无囊膜, 是 DNA 病毒中分子量最小的病毒。病毒的核衣壳为对称的 20 面体<sup>[2]</sup>, 分子量  $1.4 \times 10^6 \sim 1.7 \times 10^6$ 。CPV 的核衣壳由结构蛋白 VP1 和 VP2 交错构成, VP2 是衣壳蛋白的主要组成部分, 在病毒中起到重要的作用, 能够识别宿主细胞受体, 决定病毒组织嗜性的功能<sup>[3]</sup>。

犬细小病毒的发病率和死亡率都极高, 治疗效果不是很明显, 疫苗免疫就成为本病预防的根本措施, 但也会出现免疫失败, 与疫苗的质量有关, 也与免疫干扰有关系, 选取的疫苗应避免母源抗体干扰, 品质越高的疫苗免疫效果越好<sup>[4]</sup>。本文概述了犬细小病毒病疫苗的研究现状, 为犬细小病毒病的预防提供参考。

## 2. 灭活疫苗

灭活苗是使用灭活的病毒接种动物,具有免疫效果确实,免疫持续期长,生产成本较低等特点。1982年,Pollock 和 Carmichael 报道了犬源灭活苗预防犬细小病毒感染的报告,研究指出,血清 HI 效价超过 1:80 的犬即可抵抗 CPV 感染。在攻毒试验中发现,CPV 灭活苗一次免疫后,HI 效价在 1:40 以上,二次免疫后多在 1:80 以上,口服攻击强毒后均无临床症状和排毒现象。20 周后,免疫犬抗体水平仍在 1:80 以上。因此,CPV 灭活苗在临床应用时应间隔两周进行重复注苗<sup>[5]</sup>。1990 年,徐汉坤等以分离自南京病犬的犬细小病毒株,研制成细小病毒细胞培养灭活疫苗用于免疫试验,发现 CPV 灭活苗免疫后无不良反应和排毒现象,安全可靠。虽然灭活的强毒对动物可以起到一定的保护力,但对于已经感染的犬不能阻止排毒,也就是说病毒的传播仍然无法预防,病毒仍然会感染动物<sup>[6]</sup>。

## 3. 弱毒疫苗

CPV 弱毒疫苗接种实验动物后产生免疫应答,需要多次免疫才能使机体产生达到高滴度的保护性抗体<sup>[7]</sup>。Pratelli 等研究发现,对幼犬接种 CPV-2b 的变种疫苗,疫苗可以克服母源抗体的干扰,抗体滴度比较高,抗体滴度达到 1:10~1:40 的比例为 100%,抗体滴度达到 1:80 的比例为 83%,抗体滴度达到 1:160 的比例 57%<sup>[8]</sup>。中国军事兽医研究所犬病研究组从貂体内分离获得一株细小病毒株,此毒株大剂量接种对犬安全,遗传性稳定,能克服母源抗体对疫苗的干扰,目前已经大量应用于我国军犬基地的预防工作,对犬的保护作用极高<sup>[9]</sup>。传统的弱毒疫苗虽能诱导良好的免疫应答和提供较长的免疫保护期,疫苗在生产过程中有可能没有被完全杀死或者充分致弱,具有散毒和毒力返强的危险,其使用受到一定的限制<sup>[10]</sup>。

## 4. 基因工程亚单位疫苗

运用 DNA 重组技术使编码病原微生物保护性抗原的基因在原核或真核细胞中高效表达,提取保护性抗原蛋白,加入适当佐剂即制成重组亚单位疫苗。由于亚单位疫苗不含有病原体的其他遗传信息,因此具有安全性好、副作用小等优点<sup>[11]</sup>。Lopez 等<sup>[12]</sup>在昆虫

杆状病毒表达系统中表达了 CPV-VP2 蛋白,10 μg 的表达蛋白可使犬获得良好的免疫效果;Langeveld<sup>[13]</sup>合成的位于 VP2 氨基两段多肽分别免疫犬,均能产生免疫保护作用。王亚君等<sup>[14]</sup>利用杆状病毒表达系统表达的犬细小病毒 VP2 蛋白具有良好的免疫原性。在无佐剂参与的情况下,用重组蛋白免疫 6~8 周龄的 BALB/c 小鼠,能诱导小鼠产生抗 CPV 的特异性中和抗体,且抗体产生快,可维持较高水平。但由于重组亚单位疫苗存在一些不足(产品研发费用高,价格昂贵,免疫原性通常比完整病原体差<sup>[15]</sup>,需要多次免疫才能得到有效保护等),需要进一步优化。

## 5. 核酸疫苗

核酸疫苗是继减毒疫苗、基因工程疫苗之后的第三代疫苗,不仅能够高效诱导免疫应答,而且还有明显的治疗作用。核酸疫苗是随着现代分子生物学和免疫学的发展而产生的。核酸疫苗又名基因疫苗或 DNA 疫苗,就是将编码某些特异性抗原的基因插入真核表达载体内,然后把重组质粒导入机体细胞中,经载体的真核启动子转录后,使外源基因得以表达,产生的抗原刺激机体免疫系统,并诱发特异性的免疫反应<sup>[16-19]</sup>。DNA 疫苗具有可同时诱导体液免疫和细胞免疫;可将含有不同抗原基因的质粒混合起来联合免疫;可在同一载体上插入多种基因;可持续表达外源蛋白;易于构建和制备;稳定性好等优点。因此,近年来在犬细小病毒病新型疫苗的研发中也显示出其独特的优势。Jiang W 等<sup>[20]</sup>将 CPV 的 VP1 基因插入真核载体构建了 Pgt36VP1 重组体,将此核酸疫苗免疫犬,取得了良好的免疫效果。邱薇等<sup>[21]</sup>构建 pIRESVP1 重组质粒,不同剂量分别接种 6 只 9 月龄犬,每 8 周免疫 1 次,共 3 次。结果显示,第 2 次免疫后即可检测到较高的血清抗体效价。在第 3 次免疫 4 周后攻毒。所有接种 pIRESVP1 疫苗的犬均能抵抗 CPV 强毒的攻击,而接种空载体质粒和生理盐水的对照犬则全部发病。上述研究不仅证明接种所构建的重组质粒 pIRESVP1 能使犬免受犬细小病毒强毒的感染,而且将 VP1 作为犬细小病毒病基因疫苗的候选基因,具有确实的免疫效果,为随后的基因疫苗改进提供了思路。陈同海等<sup>[22]</sup>应用 pcDCPV 和 pIRcpvIL2 重组质粒配置成疫苗,对幼貂进行免疫,结果证明免疫后的幼

貂对 CPV 的攻击具有一定的保护作用。但核酸疫苗在安全性方面尚有许多需要探讨的问题<sup>[23,24]</sup>。例如：局部反应原性和全身毒性；遗传毒性作用，即质粒 DNA 与宿主基因组整合的问题；生殖毒性；致肿瘤性；表达抗原的载体自身可能有其他生物活性；自身免疫疾病；质粒携带的抗性基因的转移等。

## 6. 结语

随着时间的变化，病毒的抗原性和宿主范围都在不断发生变化，常规的免疫接种可以作为一个有效的保护预防措施，但是有研究发现，在接受过免疫接种的犬，仍然有可能再次感染细小病毒，这些可能与 CPV 近年来不断变异有关，各种疫苗各有优劣，因此在研究预防工作的同时也要进一步监测病毒的变异和流行情况，研制出更有效更理想的疫苗。

## 参考文献 (References)

- [1] 祝兴林, 何剑斌, 赵玉军等. 犬细小病毒感染的研究现状[J]. 辽宁畜牧兽医, 2004, 10: 40-42.
- [2] 李河林, 焦铁军, 刘淑红等. 犬细小病毒病研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(5): 73-77.
- [3] 周云朵. 犬细小病毒的分离鉴定与生物学特性研究[D]. 华中农业大学, 2011.
- [4] 王洪林. 犬细小病毒北京株分离和动物发病模型建立[D]. 中国农业科学院, 2009.
- [5] R. V. Pollock, L. E. Carmichael. Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia virus vaccines. *Cornell Veterinarian*, 1982, 72(1): 16-35.
- [6] S. H. Yoon, W. Jeong, H. J. Kim, et al. Molecular insights into the phylogeny of canine parvovirus 2 (CPV-2) with emphasis on Korean isolates: A Bayesian approach. *Archives of Virology*, 2009, 154(8): 1353-1360.
- [7] 陈琛, 邬静, 张海亮等. 犬细小病毒病诊断与防治情况调查[J]. 湖北农业学, 2010, 59(8): 1926-1928.
- [8] A. Pratelli, A. Cavalli, G. Normanno, et al. Immunization of pups with maternally derived antibodies to canine parvovirus (CPV) using a modified-live variant (CPV-2b). *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 2000, 47(4): 273-276.
- [9] 夏咸柱, 叶俊华, 范泉水等. 犬细小病毒性肠炎弱毒疫苗的研究[J]. 兽医大学学报, 1989, 9(4): 325-329.
- [10] R. Arnon, T. Ben-Yedidia. Old and new vaccine approaches. *International Immunopharmacology*, 2003, 3(8): 1195-1204.
- [11] 徐进, 孙世琪, 曹随忠等. 犬细小病毒基因工程疫苗的研究进展[J]. 中国兽医科学, 2012, 42(5): 541-544.
- [12] J. A. López de Turiso, E. Cortés, C. Martínez, et al. Recombinant vaccine for canine parvovirus in dogs. *Journal of Virology*, 1992, 66(5): 2748-2753.
- [13] J. P. Langeveld, J. I. Casal, A. D. Osterhaus, et al. First peptide vaccine providing protection against viral infection in the target animal: Studies of canine parvovirus in dogs. *Journal of Virology*, 1994, 68(7): 4506-4513.
- [14] 王亚君, 华育平. 犬瘟热病毒抗原表位 T<sup>H</sup>1 和犬细小病毒 VP2 蛋白的共表达及免疫小鼠特异性抗体的测定[J]. 兽类学报, 2009, 29(2): 204-209.
- [15] I. J. Amanna, M. K. Slifka. Wanted, dead or alive: New viral vaccines. *Antiviral Research*, 2009, 84(2): 119-130.
- [16] I. Castagliuolo, R. Piccinini, E. Beggiao, et al. Mucosal genetic immunization against four adhesins protects against *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. *Vaccine*, 2006, 24(20): 4393-4402.
- [17] C. Hatzifoti, Y. Roussel, A. G. Harris, et al. Mucosal immunization with a urease B DNA vaccine induces innate and cellular immune responses against *helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 2006, 11(2): 113-122.
- [18] R. Liu, C. Zhou, D. Wang, et al. Enhancement of DNA vaccine potency by sandwiching antigen-coding gene between secondary lymphoid tissue chemokine (SLC) and IgG Fc fragment genes. *Cancer Biology & Therapy*, 2006, 5(4): 427-434.
- [19] W. Fuchs, J. Veits and T. C. Mettenleiter. Recombinant viruses of poultry as vector vaccines against fowl plague. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 2006, 119(3-4): 160-166.
- [20] W. Jiang, H. J. Baker, L. J. Swango, et al. Nucleic acid immunization protects dogs against challenge with virulent canine parvovirus. *Vaccine*, 1998, 16(6): 601-607.
- [21] 邱薇, 范泉水, 李作生等. 犬细小病毒核酸疫苗制备及免疫试验[J]. 动物医学进展, 2006, 27(3): 78-81.
- [22] 陈同海, 孙志明, 赵福广等. CPV 基因疫苗对幼貂的免疫试验[J]. 经济动物学报, 2005, 9(2): 80-83.
- [23] Department of Health and Human Services. Points to consider on plasmid DNA vaccines for preventive infectious disease indications. Office of the Federal Register, National Archives and Records Administration, 1996, 61(250): 5-7.
- [24] WHO. Technical Report Series, 1998, 878: 107.