

Research Progress on Porcine Deltacoronavirus

Yunfeng Long, Yiqian Wang, Shan Jiang, Huiyuan Lu, Yan Jiang*

Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing Jiangsu
Email: *jiangyan@jsci.gov.cn

Received: Apr. 6th, 2017; accepted: Apr. 23rd, 2017; published: Apr. 27th, 2017

Abstract

Porcine deltacoronavirus (PDCoV) is an emerging swine enteropathogenic coronavirus that causes acute diarrhea and mortality in piglets. At present, there is no proven medication or vaccine for PDCoV. Since it was reported in the US in early 2014, PDCoV has spread to many countries and has the potential of global endemic. It has raised global public health concerns regarding the current situation and its future evolution. Recent advances in studies on etiology, epidemiology and laboratory diagnosis about PDCoV were summarized in this paper to provide the guidance for its further research and prevention.

Keywords

Porcine Deltacoronavirus, Etiology, Epidemiology, Diagnostics

猪 δ 冠状病毒研究进展

龙云凤, 王毅谦, 姜 珊, 陆慧媛, 姜 焱*

江苏出入境检验检疫局, 江苏 南京
Email: *jiangyan@jsci.gov.cn

收稿日期: 2017年4月6日; 录用日期: 2017年4月23日; 发布日期: 2017年4月27日

摘 要

猪 δ 冠状病毒是近年发现的一种新型猪肠道病冠状病毒,可引起猪急性腹泻和新生仔猪死亡。目前没有有效的抗病毒治疗药物和疫苗。自从2014年初美国报道检出PDCoV以来, PDCoV快速蔓延至多个国家,具有全球流行的潜在趋势,引起了世界各国的极大关注及众多的调查研究。本文就PDCoV的病原学、流

*通讯作者。

行病学、检测技术等方面的研究进展进行综述, 为该病的进一步研究和有效防控提供依据。

关键词

猪 δ 冠状病毒, 病原学, 流行病学, 检测方法

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

冠状病毒(Coronaviridae, CoV)属于尼多目(Nidovirales)冠状病毒科(Coronaviridae)冠状病毒亚科(Coronavirinae), 包括 α -冠状病毒(Alphacoronavirus)、 β -冠状病毒(Betacoronavirus)和 γ -冠状病毒(Gammacoronavirus)和 δ -冠状病毒(Deltacoronavirus)四个属[1]。猪 δ 冠状病毒(Porcine deltacoronavirus, PDCoV)是继 α 冠状病毒属的猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)、猪传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)、猪呼吸道冠状病毒(porcine respiratory coronavirus, PRCV)以及 β 冠状病毒属的猪凝血性脑脊髓炎病毒(porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, PHEV)后发现的第五种感染猪的冠状病毒, 属于 δ -冠状病毒属成员[2], 是一种新发现的猪肠道病原体, 主要感染猪的小肠, 尤其是空肠和回肠部位, 能引起严重的萎缩性肠炎, 临床症状主要表现为急性粥样腹泻、呕吐[3]。PDCoV 的流行特点、临床症状和病理变化都与猪流行性腹泻(PED)、猪传染性胃肠炎(TGE)较为相似, 但在病症的严重程度和感染动物的死亡率方面存在差异, TGEV 和 PEDV 对初次感染的新生仔猪死亡率高达 90%~100% [4], 随着猪龄升高, 死亡率有所降低, 而 PDCoV 引起小猪的死亡率约 30%~40% [5]。自 2010 年以来, 全世界范围内爆发的大面积仔猪腹泻给养猪业造成了巨大的经济损失[6] [7] [8], 大部分研究报道显示在这些大面积仔猪腹泻中 PEDV 的检出率超过 60% [9]。然而, 近年的研究发现这些腹泻猪群中还存在较高比例的 PDCoV [10] [11] [12]。PDCoV 的传播给养猪业带来严重的经济损失, 引起了人们的关注, 目前我们对 PDCoV 的认识还比较匮乏, 追溯 PDCoV 的来源和分析各毒株间的进化关系, 以及对该病毒的分离、病毒基因功能、致病性研究, 乃至疫苗开发是目前亟待开展的工作。

2. 病原学

2.1. 病毒结构与基因组

PDCoV 是一种有囊膜的单股正链 RNA 病毒。电子显微镜下观察, PDCoV 呈球形或椭圆形等多形性, 包膜上有冠状棘突, 除棘突外, 病毒颗粒直径约为 80~160 nm [5]。根据目前已测定的 PDCoV 全基因组序列, 除 3'端 poly(A)尾, 该病毒基因组大小约为 25.4 kb, 是目前已知冠状病毒中基因组最小的, GC 含量约为 43%。PDCoV 基因组的组成、排列与其他冠状病毒相似, 两端包含较短的非编码区 5'-UTR 和 3'-UTR。从 5'端开始 3/4 的基因组包含两个重叠的开放阅读框(Open reading frame, ORF) ORF1a 和 ORF1b, 分别编码多聚蛋白 pp1a 和 pp1b。基于其他冠状病毒非结构蛋白的组成并通过生物信息软件预测, PDCoV 的多聚蛋白 pp1a 和 pp1b 可能被切割、加工成 16 种非结构蛋白(Nonstructural proteins, Nsps), 这些非结构蛋白主要为病毒复制、转录相关的蛋白酶, 包括 Nsp3 (木瓜蛋白酶, PL^{pro})、Nsp5 (糜蛋白酶, 3CL^{pro}), Nsp12 (RNA 依赖的 RNA 聚合酶, RdRp)、Nsp13 (解旋酶, Hel)以及其它未知蛋白酶[13]。国内 Zhu 等人[14]

通过实验证明 PDCoV 的 Nsp5 蛋白通过切割 κ B 核因子必需调制蛋白(NF- κ B essential modulator, NEMO)保守氨基酸残基 Q231 来抑制 β 干扰素(IFN- β)的生成。PDCoV 基因组下游依次编码表面纤突蛋白(spike, S)、小膜蛋白(Envelope, E)、膜蛋白(Membrane, M)、非结构蛋白 6 (nonstructural protein 6, NS6)、核衣壳蛋白(Nucleocapsid, N)和非结构蛋白 7 (nonstructural protein 7, NS7)。PDCoV 的 S 蛋白是位于病毒颗粒表面的纤突蛋白, 主要参与病毒与宿主细胞的吸附和融合, 同时也是诱导宿主产生中和抗体的主要抗原分子。另外, S 蛋白与病毒的细胞适应性和病毒毒力有关, 因此 S 蛋白是开发疫苗的重要靶点[15]。PDCoV 的 NS6 基因和禽源 δ 冠状病毒一样, 位于 M 和 N 基因之间, 而 NS7 基因的位置与禽源 δ 冠状病毒略有不同, PDCoV 的 NS7 基因与 N 基因重叠, 而禽源 δ 冠状病毒 NS 基因包含 2-4 个开放阅读框(NS7a, NS7b, NS7c, NS7d), 这些开放阅读框或与 N 基因重叠, 或位于 N 基因下游[13] [16] [17]。PDCoV HKU15 的 NS7 基因, 转录调控序列为有缺陷的 5'-GCACCA-3'序列, 并且非同义突变率与同义突变率的比值(Ka/Ks)为 1.046, 暗示 NS7 基因可能不表达[13]。在冠状病毒的结构基因之间分布着数量不等的附属基因, 编码群特异性附属蛋白(Accessory protein), 这些附属蛋白在不同冠状病毒中的编码区位置以及个数差异都比较大, 主要发挥免疫调节功能[18]。

2.2. 病毒的细胞培养特性和减毒性

目前对于 PDCoV 的分离培养, 主要采用 LLC 猪肾细胞(LLC-PK)和猪睾丸细胞(ST)。在 LLC-PK 和 ST 细胞中, PDCoV 的致细胞病变效应(CPEs)相似, 表现为细胞变大、变圆、单个或成簇存在的密集颗粒细胞以及细胞皱缩、脱落, 最终导致细胞凋亡[19]。美国国家兽医服务实验室利用 ST 细胞(ATCC CRL-1746)成功分离到 PDCoV USA/IL/2014 和 Michigan/8977/2014 株[3] [4]。Hu 等[19]尝试在非洲绿猴肾细胞(Vero)和猪肠上皮细胞(IPEC-J2)分离 PDCoV, 未取得成功, 但在 LLC-PK1(ATCC CCL-101)和 ST 细胞中成功从病料中分离得到 PDCoV OH-FD22 株, 以及从病料感染的无菌猪小肠内容物中分离到 PDCoV OH-FD22 (DC44)株, 其中 PDCoV OH-FD22 已在 LLC-PK 细胞中连续传代超过 90 次。国内陈建飞等人从黑龙江某猪场的病料中也成功在 LLC-PK 细胞分离得到 PDCoV NH 株[20]。在 PDCoV 细胞培养过程中, 添加胰蛋白酶、胰液素或无菌猪小肠内容物(SIC)能促进病毒在细胞内有效繁殖, 其作用机制还未明了。冠状病毒的 S 蛋白被内源性或外源性蛋白酶切割能诱导细胞间的融合以及病毒顺利进入胞内, 对于病毒的有效感染至关重要[21] [22], 因此认为是胰蛋白酶或 SIC 对 PDCoV 表面 S 蛋白的切割作用增强了病毒对细胞的感染力。

冠状病毒的 S 蛋白与受体结合位点、宿主适应性密切相关, 因此是病毒基因组中最容易发生突变的基因。有研究证实冠状病毒 S 蛋白的改变能够导致冠状病毒跨物种传播和新宿主的出现[4]。Hu 等人[23]对比了细胞传代培养前后 PDCoV OH-FD22 株的 S 基因序列, 在 ST 细胞或 LLC-PK 细胞中传代至 11 次时, S 基因上出现 5 个点突变, 并分别引起氨基酸改变, 这五个点突变一直保留至第 20 代。在第 40 代, S 基因上又出现了一个新的点突变。试验结果提示第 11 代出现的 5 个点突变可能是病毒为获得细胞适应性而发生的关键改变。

Ma 等人[4]的试验中, 在野生型 PDCoV Ohio CVM1 株和细胞适应株 Ohio CVM1 感染剂量分别为 10^6 和 10^9 基因组 RNA 拷贝条件下, Ohio CVM1 株对无菌猪的病症比细胞适应株 Ohio CVM1 严重, 说明 PDCoV 的细胞适应过程可能降低了病毒的毒力。Hu 等人[23]对比了野生型 PDCoV OH-FD22 株和细胞适应株 TC-PDCoV OH-FD22 不同代次(P5, P20, P40)对无菌猪的致病性, 这些毒株表现出相似的毒力, 均引起猪只严重腹泻和呕吐, 出现萎缩性肠炎, 并诱导产生高水平的血清 IgG、IgA 和中和抗体滴度, 说明病毒在有限的传代次数内未获得减毒特性。

3. 流行病学

3.1. δ 冠状病毒的起源与进化

2006 年, Dong 等人[24]在对中国南方的严重急性呼吸道综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)进行血清学监测时,从活动物市场的野生亚洲豹猫和中国白鼬獾粪便中检出两种新型冠状病毒,基因组测序和进化树分析结果表明这两个病毒在遗传学上相近但与其他冠状病毒氨基酸同源性较低,且独立于其他冠状病毒属的系统发生。后来这两株病毒被列为 δ 冠状病毒属成员。2009 年 Woo 等[17]从鸟群中检出三种禽源新型冠状病毒,包括夜莺冠状病毒(BuCoV HKU11)、画眉冠状病毒(ThCoV HKU12)以及文鸟冠状病毒(MunCoV HKU13),最初是将这三种病毒列为 γ 冠状病毒属下的一个新型冠状病毒亚组,随后这三种禽源冠状病毒被改列为 δ 冠状病毒属成员。2012 年, Woo 等[13]又从死亡鸟类、鸡、哺乳动物采集的 7140 个样本中检测到 50 多个冠状病毒阳性样本,其中七种为新型 δ 冠状病毒,包括 1 种猪 δ 冠状病毒(PDCoV, HKU15)和 6 种禽源 δ 冠状病毒(HKU16, HKU17, HKU18, HKU19, HKU20, HKU21)。该研究首次证明了 PDCoV 存在于 2007~2011 年采集自中国大陆和香港的猪粪便中,检测率为 10.1%,并且首次发表了 PDCoV 毒株 HKU15-44 和 HKU15-155 的全基因组序列,它们的 Hel 基因、S 基因和 N 基因与亚洲豹猫、中国白鼬獾来源的冠状病毒核苷酸同源性高达 99.8%,提示存在 δ 冠状病毒在这些小型哺乳动物和猪之间传播的可能性。

冠状病毒广泛的宿主性以及自身基因组的结构特征使其在进化过程中极易发生基因重组或缺失突变,从而引起病毒的组织嗜性、传播途径、宿主特异性等的改变,呈现遗传多样性[4]。最初发现的亚洲豹猫、中国白鼬獾 δ 冠状病毒 RdRp 结构域和 S 基因核苷酸同源性为 100%,当时的检测样本是同时采集自同一个市场,说明这两种动物是短时间内从其他未知感染源感染了 δ 冠状病毒[24]。同时, PDCoV HKU15 与麻雀冠状病毒(SpCoV HKU17)的核苷酸同源性较高,这也意味着 δ 冠状病毒从禽类到猪的种间传递发生时间可能较近[13]。HKU17 3'端的非结构蛋白基因 NS7a 和 NS7b 缺失可能发生在病毒从禽类到猪的跨种传播过程中,这与 SARS-CoV 从麝猫传播到人类的过程中 ORF8 缺失了 29 nt 的过程非常类似[13],因此不排除该病毒后期继续向其他物种传播的可能性。Woo 等人[13]提出的冠状病毒进化模型主张蝙蝠为 α 、 β 冠状病毒的最初基因源,而鸟类为 γ 、 δ 冠状病毒的最初基因源,因此 δ 冠状病毒有可能是由野生鸟类传给小型哺乳动物和/或家猪。

3.2. PDCoV 的在各国的流行情况

目前报道 PDCoV 检出的国家有中国、美国、加拿大、韩国和泰国。2012 年 Woo 等人[13]以全基因组测序的方法首次报道了 PDCoV 的存在,但没有分离到病毒,也没进行大规模的流行病学调查。2014 年 2 月,美国俄亥俄州 5 个农场的猪同时出现腹泻,在排除其它猪腹泻病病原后,42 份来自腹泻猪的粪便和小肠样本的 RT-PCR 检测结果显示 39 份(92.9%)为 PDCoV 阳性,此次流行相关的 PDCoV HKU15-OH1987 毒株和 HKU15 株核苷酸同源性为 99% [5]。同期,美国明尼苏达州立大学兽医诊断实验室和爱荷华州立大学兽医诊断实验室检测到 PDCoV,测序结果显示美国株 PDCoV 与香港检测到的两株 PDCoV (HUK15-44 和 HUK15-155)同源性高达 99% [10]。随后, PDCoV 在美国快速散布开来,成为猪群中普遍存在的一个重要病原体。目前为止,美国至少在 20 个州的猪群中检出 PDCoV [25]。2014 年 3 月加拿大安大略州 6 个农场出现 PDCoV 引起的传染性腹泻病[26]。2014 年 4 月,韩国首次在腹泻小猪的粪便中检出 PDCoV,相比香港毒株,韩国 PDCoV 毒株核苷酸同源性与美国毒株更接近[27]。Lee 等人[28]采用 RT-PCR 检测方法对韩国 2014 年 1 月至 2015 年 3 月 59 个猪场的 691 份腹泻粪便样本进行检测,结果显示仅来自其中一个猪场的 2 份样本为 PDCoV 阳性。近年,国内的一些流行病学调查结果表明 PDCoV

在中国大陆的流行较为普遍，检测率高达 30% [11] [29] [30]。2015 年 7 月，泰国一个养猪场的小猪和母猪出现急性腹泻，RT-PCR 检测 30 份样品结果显示其中 26 份为 PDCoV 阳性[31]。

在对 PDCoV 流行病学调查时发现，该病毒与其它猪肠道病原共同感染的现象较为普遍。Marthaler 等[26]检测了 293 份粪便、肠道、饲料及环境样本，发现 PDCoV 的检出率为 30% (89/293)，其中与轮状病毒的共同感染率高达 58% (52/89)。吴美洲等人[32]对我国三个省 10 个猪场的 64 份样品进行了检测，PDCoV 的检测率为 23.4%，比 PEDV 的检测率 17.2% 要高，同时 PDCoV 单独感染率为 17.2%，与 PEDV 混合感染率为 6.4%。Song 等人[11]对我国江西省的调查，PDCoV 检测率为 33.1%，同 PEDV 共同感染率为 19.66%。

3.3. PDCoV 的存在早于首次检出时间

在自然条件下，因 PDCoV 与其它猪肠道病原共同感染的情况较为普遍，且病症较为相似，使人们忽视了 PDCoV 的存在，关于 PDCoV 确切的起源时间无从考证。自从 PDCoV 被认为是猪群中的一种重要的肠道病原以来，许多学者进行了回顾性研究。Sinha 等[33]采用 qRT-PCR 对来自 18 个州的 1734 份样本的检测结果表明至少在 2013 年 8 月就已经存在 PDCoV。Thachil 等[34]采用 PDCoV 特异性 IgG 间接 ELISA 方法，从 2010 年的血清样品中检出阳性样本。国内 Dong 等[12]在 2004 年存档的安徽样本中检出 PDCoV CHN-AH-2004。上述结果说明 PDCoV 早于首次发现时就已存在猪群中。

3.4. 影响 PDCoV 感染病症严重程度的因素

临床上，PDCoV 可感染各个年龄段的猪，但主要引起新生猪的腹泻。在实验室条件下，人工感染 5-19 日龄的无菌猪或普通猪，感染后 1~2 天出现明显的临床症状，主要表现为粥样腹泻，和/或呕吐，症状持续 7~12 日后恢复[35]。Dong 等人[36]比较了 PDCoV 细胞适应株 CHN-HN-2014 对 5 日龄和 21 日龄猪的致病性，临床观察结果显示 5 日龄猪更易感。实验室条件下，母猪临床发病情况较哺乳仔猪轻，且恢复更快。在[37]实验中，2 日龄仔猪感染 PDCoV 后的存活率低于 3 日龄仔猪，提示 PDCoV 感染后，病症的严重程度、死亡率与猪龄负相关。该现象的机制可能与不同猪龄肠细胞更新周期不同有关，1 日龄小猪肠绒毛上皮细胞更新周期约 7~10 天，感染 PDCoV 引起猪腹泻的时间大约是一个细胞周期，而肠细胞更新周期随着猪龄增大而缩短，因此 PDCoV 引起疾病的严重程度与猪龄相关。但 2015 年在泰国猪场暴发的 PDCoV，主要感染母猪，说明该病毒致病性不局限于小猪[31]。相同感染剂量条件下[4]，PDCoV Ohio MI 株引起普通小猪腹泻比无菌猪更严重，在普通猪组，感染病毒 1 天开始出现严重急性腹泻，而无菌猪组与感染 2 天后出现临床症状。普通猪组与无菌猪组比较，粪便病毒 RNA 检出并不因腹泻更为严重而明显增加，说明普通猪肠道菌群或其他生理因素可能与 PDCoV 发生协同作用，从而影响病程。

4. 诊断和检测技术

4.1. 临床诊断

PDCoV 引起的猪病表现为严重粥样腹泻、呕吐。病变区局限在小肠，肠壁彭满扩张，变薄、透明，盲肠和结肠有大量淡黄色液体，小肠和胃内有未消化的凝乳块[3]。组织病理检查可在空肠至结肠近端观察到急性、多病灶散布、中到重度的萎缩性肠炎，盲肠和结肠浅表层上皮细胞变性、坏死和空泡化[35]。本病依据临床、病理变化和流行病学难于做出诊断，特别是与 PEDV 和 TGEV 不易区别，必须依靠实验室技术才能作出确诊。

4.2. 实验室检测技术

目前，PDCoV 的检测方法主要有病原学和血清学检测方法。病原学检测方法主要包括免疫电镜(IEM)、

免疫荧光(IF)、RT-PCR 检测方法等。Song 等[11]根据 PDCoV HKU15 IN2847 株的 N 基因建立了套氏 RT-PCR 检测方法,对江西省 51 个养猪场的临床样品进行检测,证实了 PDCoV 在江西地区的普遍流行。张帆帆等[38]针对 PDCoV N 基因一段长为 329 bp 的保守区设计特异性引物建立的 RT-PCR 方法,对 249 份临床样本检测结果说明该方法具有较好的敏感性和特异性。逢凤娇等[39]根据 Genbank 登录的 PDCoV M 基因设计特异性引物建立的 RT-PCR 检测方法,特异性好,敏感性高,最低检测限达 6.33×10^4 拷贝/ μL 。Chen 等[3]针对 PDCoV 的 M 和 N 基因建立的 rRT-PCR 检测方法,每个反应仅需 0.056TCID₅₀ PDCoV; Marthaler 等[26]建立的 PDCoV rRT-PCR 检测限仅需 2 个 RNA 拷贝。Zhang 等[40]针对 M 基因建立了一种双重 PEDV/PDCoV rRT-PCR,可以同时检测 PDCoV 和 PEDV,其中对 PEDV 的检测限为 7 个 RNA 拷贝,对 PDCoV 的检测限为 14 个 RNA 拷贝。将该方法应用于临床检测,对 170 份临床样本的检测方法与 PDCoV rRT-PCR 和 PEDV rRT-PCR 相符合。Jung 等[41]建立的 PDCoV 原位杂交和免疫荧光染色法,对 PDCoV 在组织中的感染位点进行了测定,结果显示 PDCoV OH-FD22 和 OH-FD100 株在猪的整个肠道引起急性感染,但病毒最先在空肠和回肠部位进行复制。Chen 等[3]以兔抗 PDCoV M、N 和 S 蛋白抗体作为一抗建立了 PDCoV 组织免疫化学分析法,并利用该方法分析了 PDCoV 感染猪的组织,结果显示 PDCoV 主要集中在空肠中段、末端及回肠部位,说明 PDCoV 对此部位较为敏感,为 PDCoV 的临床诊断、组织分布以及致病机理研究奠定了基础。

在抗体检测技术方面, Thachil 等[34]以真核表达 PDCoV S 蛋白的 S1 多肽为包被抗原建立的间接 ELISA 法,用于检测 PDCoV 特异性的 IgG 抗体,该检测方法敏感性 91%,特异性为 95%。该方法对 PEDV、TGEV 或 PRCV 感染血清没有交叉反应。Su 等[42]以原核表达的 PDCoV N 蛋白作为包被抗原建立了 ELISA 检测方法并与 Western blot 法进行了比较,对 62 份血清样品的检测结果证明该方法敏感性为 100%,特异性为 90.4%。Okda 等[43]在大肠杆菌(*E. coli*)中重组表达了 PDCoV N 蛋白并对重组 N 蛋白进行了复性折叠,使其空间构象更接近于天然构象,增强了对特异性抗体的捕获能力。以该重组 N 蛋白作为包被抗原和荧光微球偶联抗原分别建立了 ELISA 检测方法和荧光微球免疫检测法(fluorescent microsphere immunoassay, FMIA),使用矩阵法对两种方法中的检测抗原最佳浓度和待测血清最佳稀释度进行了确定,在对 629 份已知为 PDCoV 抗体阴性和 311 份已知 PDCoV 抗体阳性样品进行检测时,ELISA 检测方法的敏感性和特异性分别为 96.1%和 96.2%,FMIA 的敏感性和特异性分别为 95.8%和 98.1%。使用这两种方法对 93 份 TGEV 阳性血清、20 份 PRCV 阳性血清和 251 份 PEDV 阳性血清进行检测,均无交叉反应。

5. 结语

长期以来,猪腹泻病一直是困扰养猪业的一大难题。近年来,随着对 PDCoV 的不断深入研究以及世界各地进行的流行病学监测显示,PDCoV 是一种普遍存在的猪肠道疾病病原体,有较强的致病性且对哺乳仔猪造成很高的死亡率,严重危害养猪业生产安全。目前,对 PDCoV 还有很多的问题有待解决,首先,进一步开展 PDCoV 的分子流行病学调查是研究该病毒的重点工作之一,这对追溯该病毒的起源与进化具有重要意义,同时还有助于揭示小型哺乳动物作为中间宿主的可能性,以及 δ -冠状病毒在小型哺乳动物、猪和鸟类之间跨物种传播的机制。其次,建立新的快速、灵敏、准确并能与其他猪肠道病原进行鉴别诊断的检测技术。最后,加快对 PDCoV 的基因功能、遗传变异和致病性等方面的研究,以揭示病毒在传播过程中的突变及毒力变化、病毒与宿主细胞之间的相互作用等机制。这需要各国投入更多的调查与研究,尽快明确传播病原及传播途径,以便实施有效的预防和监控措施,并尽早研制出特异性的治疗药物和预防疫苗。

基金项目

国家重点研发计划项目(NO.2016YFD0501100)。

参考文献 (References)

- [1] ICTV Virus Taxonomy: 2009 Release. <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009>
- [2] Zhang, J.Q. (2016) Porcine Deltacoronavirus: Overview of Infection Dynamics, Diagnostic Methods, Prevalence and Genetic Evolution. *Virus Research*, **226**, 71-84 <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.05.028>
- [3] Chen, Q., Gauger, P., Stafne, M., *et al.* (2015) Pathogenicity and Pathogenesis of a United States Porcine Deltacoronavirus Cell Culture Isolate in 5-Day-Old Neonatal Piglets. *Virology*, **482**, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.024>
- [4] Ma, Y., Zhang, Y., Liang, X., *et al.* (2015) Origin, Evolution, and Virulence of Porcine Deltacoronaviruses in the United States. *MBio*, **6**, e00064-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.00064-15>
- [5] Wang, L.-Y., Byrum, B. and Zhang, Y. (2014) Detection and Genetic Characterization of Deltacoronavirus in Pigs, Ohio, USA, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, **20**, 1227-1230. <https://doi.org/10.3201/eid2007.140296>
- [6] Sun, R.Q., Cai, R.J., Chen, Y.Q., *et al.* (2012) Outbreak of Porcine Epidemic Diarrhea in Suckling Piglets, China. *Emerging Infectious Diseases*, **18**, 161-163. <https://doi.org/10.3201/eid1801.111259>
- [7] Song, D. and Park, B. (2012) Porcine Epidemic Diarrhoea Virus: A Comprehensive Review of Molecular Epidemiology, Diagnosis, and Vaccines. *Virus Genes*, **44**, 167-175. <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0713-1>
- [8] Huang, Y.W., Dickerman, A.W., Piñeyro, P., *et al.* (2013) Origin, Evolution, and Genotyping of Emergent Porcine Epidemic Diarrhea Virus Strains in the United States. *MBio*, **4**, e713-e737. <https://doi.org/10.1128/mBio.00737-13>
- [9] Ge, F.F., Yang, D.Q., Ju, H.B., *et al.* (2013) Epidemiological Survey of Porcine Epidemic Diarrhea Virus in Swine Farms in Shanghai, China. *Archives of Virology*, **158**, 2227-2231. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1722-7>
- [10] Marthaler, D., Jiang, Y., Collins, J., *et al.* (2014) Complete Genome Sequence of Strain SDCV/USA/Illinois121/2014, a Porcine Deltacoronavirus from the United States. *Genome Announcements*, **2**, e00218-14. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00218-14>
- [11] Song, D., Zhou, X., Peng, Q., *et al.* (2015) Newly Emerged Porcine Deltacoronavirus Associated with Diarrhoea in Swine in China: Identification, Prevalence and Full-Length Genome Sequence Analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*, **62**, 575-580. <https://doi.org/10.1111/tbed.12399>
- [12] Dong, N., Fang, L., Zeng, S., *et al.* (2015) Porcine Deltacoronavirus in Mainland China. *Emerging Infectious Diseases*, **21**, 2254-2255. <https://doi.org/10.3201/eid2112.150283>
- [13] Woo, P.C., Lau, S.K., Lam, C.S., *et al.* (2012) Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus *Deltacoronavirus* Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of *Alphacoronavirus* and *Betacoronavirus* and Avian Coronaviruses as the Gene Source of *Gammacoronavirus* and *Deltacoronavirus*. *Journal of Virology*, **86**, 3995-4008. <https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11>
- [14] Zhu, X.Y., Fang, L.R., Wang, D., *et al.* (2016) Porcine Deltacoronavirus Nsp5 Inhibits Interferon- β Production through the Cleavage of NEMO. *Virology*, **502**, 33-38.
- [15] Masters, P.S. (2006) The Molecular Biology of Coronaviruses. *Advances in Virus Research*, **66**, 193-292. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(06\)66005-3](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)66005-3)
- [16] Chu, D.K., Leung, C.Y., Gilbert, M., *et al.* (2011) Avian Coronavirus in Wild Aquatic Birds. *Journal of Virology*, **85**, 12815-12820. <https://doi.org/10.1128/JVI.05838-11>
- [17] Woo, P.C., Lau, S.K., Lam, C.S., *et al.* (2009) Comparative Analysis of Complete Genome Sequences of Three Avian Coronaviruses Reveals a Novel Group 3c Coronavirus. *Journal of Virology*, **83**, 908-917. <https://doi.org/10.1128/JVI.01977-08>
- [18] Woo, P.C., Huang, Y., Lau, S.K.P., *et al.* (2010) Coronavirus Genomics and Bioinformatics Analysis. *Viruses-Basel*, **2**, 1804-1820. <https://doi.org/10.3390/v2081803>
- [19] Hu, H., Jung, K., Vlasova, A.N., *et al.* (2015) Isolation and Characterization of Porcine Deltacoronavirus from Pigs with Diarrhea in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, **53**, 1537-1548. <https://doi.org/10.1128/JCM.00031-15>
- [20] 陈建飞, 王潇博, 焦贺勋, 等. 国内首株猪德尔塔冠状病毒(*Porcine deltagoronavirus*)的分离鉴定[J]. 中国兽医学报, 2016, 38(3): 171-174.
- [21] Shirato, K., Matsuyama, S., Ujike, M., *et al.* (2011) Role of Proteases in the Release of Porcine Epidemic Diarrhea Virus from Infected Cells. *Journal of Virology*, **85**, 7872-7880. <https://doi.org/10.1128/JVI.00464-11>
- [22] Wicht, O., Li, W., Willems, L., *et al.* (2014) Proteolytic Activation of the Porcine Epidemic Diarrhea Coronavirus Spike Fusion Protein by Trypsin in Cell Culture. *Journal of Virology*, **88**, 7952-7961. <https://doi.org/10.1128/JVI.00297-14>

- [23] Hu, H., Jung, K., Vlasova, A.N., *et al.* (2016) Experimental Infection of Gnotobiotic Pigs with the Cell-Culture-Adapted Porcine Deltacoronavirus Strain OH-FD22. *Archives of Virology*, **161**, 3421-3434. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3056-8>
- [24] Dong, B.Q., Liu, W., Fan, X.H., *et al.* (2007) Detection of a Novel and Highly Divergent Coronavirus from Asian Leopard Cats and Chinese Ferret Badgers in Southern China. *Journal of Virology*, **81**, 6920-6926. <https://doi.org/10.1128/JVI.00299-07>
- [25] Jung, K., Hu, H. and Saif, L.J. (2016) Porcine Deltacoronavirus Infection: Etiology, Cell Culture for Virus Isolation and Propagation, Molecular Epidemiology and Pathogenesis. *Virus Research*, **226**, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.04.009>
- [26] Marthaler, D., Raymond, L., Jiang, Y., *et al.* (2014) Rapid Detection, Complete Genome Sequencing, and Phylogenetic Analysis of Porcine Deltacoronavirus. *Emerging Infectious Diseases*, **20**, 1347-1350. <https://doi.org/10.3201/eid2008.140526>
- [27] Lee, S. and Lee, C. (2014) Complete Genome Characterization of Korean Porcine Deltacoronavirus Strain KOR/KNU14-04/2014. *Genome Announcements*, **2**, e01191-14. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01191-14>
- [28] Lee, J.H., Chung, H.C., Nguyen, V.G., *et al.* (2016) Detection and Phylogenetic Analysis of Porcine Deltacoronavirus in Korean Swine Farms. *Transboundary and Emerging Diseases*, **63**, 248-252. <https://doi.org/10.1111/tbed.12490>
- [29] Wang, Y.W., Yue, H., Fang, W., *et al.* (2015) Complete Genome Sequence of Porcine Deltacoronavirus Strain CH/Sichuan/S27/2012 from Mainland China. *Genome Announcements*, **3**, e00945-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00945-15>
- [30] Chen, F., Zhu, Y., Wu, M., *et al.* (2015) Full-Length Genome Characterization of Chinese Porcine Deltacoronavirus Strain CH/SXD1/2015. *Genome Announcements*, **3**, e01284-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01284-15>
- [31] Janetanakit, T., Lumyai, M., Bunpamong, N., *et al.* (2012) Porcine Deltacoronavirus, Thailand, 2015. *Emerging Infectious Diseases*, **22**, 757-759. <https://doi.org/10.3201/eid2204.151852>
- [32] 吴美洲, 陈芳洲, 朱银杏, 等. 丁型冠状病毒在我国猪源株的遗传变异分析[J]. 中国兽医科学, 2016, 46(6): 689-694.
- [33] Sinha, A., Gauger, P., Zhang, J., *et al.* (2015) PCR-Based Retrospective Evaluation of Diagnostic Samples for Emergence of Porcine Deltacoronavirus in US Swine. *Veterinary Microbiology*, **179**, 296-298. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.06.005>
- [34] Thachil, A., Gerber, P.F., Xiao, C.T., *et al.* (2015) Development and Application of an ELISA for the Detection of Porcine Deltacoronavirus IgG Antibodies. *PLoS ONE*, **10**, e0124363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124363>
- [35] Wang, L.Y., Hayes, J., Sarver, C., *et al.* (2016) Porcine Deltacoronavirus: Histological Lesions and Genetic Characterization. *Archives of Virology*, **161**, 171-175. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2627-4>
- [36] Dong, N., Fang, L.R., Yang, H., *et al.* (2016) Isolation, Genomic Characterization, and Pathogenicity of a Chinese Porcine Deltacoronavirus Strain CHN-HN-2014. *Veterinary Microbiology*, **196**, 98-106. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.10.022>
- [37] Vitosh-Sillman, S., Loy, J.D., Brodersen, B., *et al.* (2016) Experimental Infection of Conventional Nursing Pigs and Their Dams with Porcine Deltacoronavirus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **28**, 486-497. <https://doi.org/10.1177/1040638716654200>
- [38] 张帆帆, 宋德平, 周信荣, 等. 新现猪 Delta 冠状病毒 RT-PCR 方法的建立及其应用[J]. 中国农业科学, 2016, 49(7): 1408-1416.
- [39] 逢凤娇, 张柏猛, 何孔旺, 等. 猪 δ 冠状病毒 M 基因 RT-PCR 检测方法的建立及应用[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(9): 50-53.
- [40] Zhang, J., Tsai, Y.L., Lee, P.A., *et al.* (2016) Evaluation of Two Singleplex Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR Tests and a Duplex Real-Time RT-PCR Test for the Detection of Porcine Epidemic Diarrhea Virus and Porcine Deltacoronavirus. *Journal of Virological Methods*, **234**, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.03.016>
- [41] Jung, K., Hu, H. and Saif, L.J. (2016) Porcine Deltacoronavirus Induces Apoptosis in Swine Testicular and LLC Porcine Kidney Cell Lines *in Vitro* but Not in Infected Intestinal Enterocytes *in Vivo*. *Veterinary Microbiology*, **182**, 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.10.022>
- [42] Su, M., Li, C., Guo, D., *et al.* (2016) A Recombinant Nucleocapsid Protein-Based Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Detect Antibodies against Porcine Deltacoronavirus. *Journal of Veterinary Medical Science*, **78**, 601-606. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0533>
- [43] Okda, F., Lawson, S., Liu, X.D., *et al.* (2016) Development of Monoclonal Antibodies and Serological Assays Including Indirect ELISA and Fluorescent Microsphere Immunoassays for Diagnosis of Porcine Deltacoronavirus. *BMC Veterinary Research*, **12**, 95. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0716-6>

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：acrpvm@hanspub.org