

猪流行性腹泻的研究进展

陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 任晓峰, 赵凯

■背景资料

近年来, 猪流行性腹泻(PED)的流行区域和流行强度有不断扩大和增强的趋势, 对哺乳仔猪造成很高的致死率, 给养猪业造成了很大的经济损失. PED是由PEDV引起的猪的一种急性接触性肠道传染病, 以呕吐、腹泻、食欲下降和脱水为基本特征, 各种年龄的猪均易感染, 发病率达100%, 尤以哺乳仔猪受害最重, 本病的发生具有一定的季节性, 多发生于冬季.

陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 赵凯, 黑龙江大学生命科学学院 微生物黑龙江省高校重点实验室 黑龙江省哈尔滨市 150080

陈刚, 上海兽用生物制品工程技术中心 上海海利生物技术股份有限公司 上海市 201403

任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030

陈刚, 在读硕士, 主要从事动物疫苗黏膜免疫递送系统方面的研究.

国家国际科技合作专项基金资助项目, No. 2012DFA30250

“十一五”国家科技部支撑计划重大项目子课题基金资助项目, No. BAD06A03

国家自然科学基金资助项目, No. 31072119

教育部科学技术研究重点基金资助项目, No. 212048

哈尔滨市科技攻关计划基金资助项目, No. 2009AA6CN125

哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目, No. 2010RFQXN091, No. 2011RFQXN039

黑龙江省教育厅面上基金资助项目, No. 12521408

作者贡献分布: 文献检索、资料分析由陈刚、李伟、张阳及吴昊完成; 论文撰写由陈刚与李伟完成; 文字校对和排版由施慈完成; 选题和审校由赵凯、陈刚及任晓峰完成.

通讯作者: 赵凯, 教授, 150080, 黑龙江哈尔滨市南岗区学府路74号, 黑龙江大学生命科学学院, 微生物黑龙江省高校重点实验室. zk395@yahoo.com.cn

电话: 0451-86609046

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

Progress in research of porcine epidemic diarrhea

Gang Chen, Wei Li, Yang Zhang, Hao Wu, Ci Shi, Kai Zhao, Xiao-Feng Ren, Kai Zhao

Gang Chen, Wei Li, Yang Zhang, Hao Wu, Ci Shi, Kai Zhao, Laboratory of Microbiology, College of Life Science, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang Province, China

Gang Chen, Shanghai Engineering Center of Veterinary Biological Products, Shanghai HILE Bio-pharmaceutical Co, Ltd. Shanghai 201403, China

Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Program for International Science and Technology Cooperation Projects of China, No. 2012DFA30250; the Major Project of the National Key Technology R&D Program during the “Eleventh Five-year Plan” Period, No. BAD06A03; the National Natural Science Foundation of China, No. 31072119; the Key Science and Technology Project of Chinese Ministry of Education, No. 212048; the Key Scientific and Technological Project of Harbin, No. 2009AA6CN125; the Scientific and Technological Innovation Talent Foundation of Harbin, Nos. 2010RFQXN091 and 2011RFQXN039; and the General Project of Science and Technology Research Foundation of Education Department of Heilongjiang Province, No. 12521408

Correspondence to: Kai Zhao, Professor, Laboratory of Microbiology, College of Life Science, Heilongjiang Uni-

versity, Harbin 150080, Heilongjiang Province, China. zk395@yahoo.com.cn

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

Abstract

Porcine epidemic diarrhea (PED) is a highly contagious, enteric swine disease caused by porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), which is characterized by severe enteritis with vomiting, acute diarrhea, anorexia, and dehydration. In recent years, the epidemic area and intensity of PED have continuously enlarged, causing a significantly high mortality of suckling piglets and huge economic losses in pig industry. This paper summarizes the etiology, pathogenesis, diagnosis, and prevention of PED.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Porcine epidemic diarrhea; Etiology; Pathogenesis; Diagnosis; Prevention

Chen G, Li W, Zhang Y, Wu H, Shi C, Ren XF, Zhao K. Progress in research of porcine epidemic diarrhea. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 28-32

摘要

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的猪的一种急性接触性肠道传染病, 以呕吐、腹泻、食欲下降和脱水为基本特征. 近年来, 该病的流行区域和强度有不断扩大和增强的趋势, 对哺乳仔猪造成了很高的致死率, 给养猪业造成了很大经济损失. 为了能有效防制PED, 本文就PED病原学、发病机制、诊断和预防等方面的研究进展做一概述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 猪流行性腹泻; 病原学; 发病机制; 诊断; 预防

陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 任晓峰, 赵凯. 猪流行性腹泻的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 28-32
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/28.asp>

■同行评议者

李君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

0 引言

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的猪的一种急性接触性肠道传染病,以呕吐、腹泻、食欲下降和脱水为基本特征,各种年龄的猪均易感染,发病率达100%,尤以哺乳仔猪受害最重,本病的发生具有一定的季节性,多发生于冬季^[1,2]。病毒存在于肠绒毛和肠系膜淋巴结中,随粪便排出,病猪是主要的传染源,感染的途径是胃肠道。本病的流行特点、临床症状和病理变化都与猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis of swine, TGE)十分相似,但哺乳仔猪死亡率较低,在猪群中的传播速度相对较慢。通过仔猪接种、直接免疫荧光、免疫电镜和中和试验,证明PEDV与TGE病毒在抗原上有明显差异。

PEDV于1971年首次在英国发现,主要引起架子猪和育肥猪急性腹泻,当时称为猪流行性病毒性腹泻(epidemic viral diarrhea, EDV)。1982年将该病统一命名为“猪流行性腹泻”。该病在许多国家如比利时、荷兰、德国、法国、瑞士、保加利亚、匈牙利、前苏联、日本及韩国均有发生。PEDV在亚洲与欧洲的致病情况有所差异,在欧洲地区, PEDV主要引起较大日龄猪的腹泻(6-15周龄),造成感染猪群较轻微腹泻流行,并在1 wk后很快康复,一般不造成很大的损失。而在亚洲地区, PEDV引起的仔猪死亡率较高,并且在我国PEDV感染更加严重^[3]。我国自20世纪80年代以来陆续有本病的报道,并分离到病毒,之后PED在我国绝大多数省市自治区广泛流行。近年来,该病的流行区域和流行强度有不断扩大和增强的趋势,对哺乳仔猪造成很高的致死率,给养猪业造成了很大的经济损失^[4-6]。

1 病原学

PEDV为套式病毒目(*Nidovirales*)冠状病毒科(*Coronaviridae*)冠状病毒属(*Coronavirus*)的成员。病毒粒子略呈球形,在粪便中的病毒粒子呈多态形,直径约95-190 nm,平均直径为130 nm,有囊膜,囊膜上有花瓣状纤突,长12-24 nm,由核心向四周放射,其间距较大且排列规则,呈皇冠状。病毒核酸为线性单股正链RNA,具有侵染性。基因组全长为27 000-33 000个核苷酸,相对分子量为 6×10^6 - 8×10^6 。基因组5'端有帽子结构,3'端有PolyA尾,具有Kozak序列,基因组序列包括6个ORF,从5'到3'端依次是*Po1*基因、*S*基因、*ORF3*

基因、*sM*基因、*M*基因、*N*基因,分别编码复制多聚蛋白lab(pplab)、纤突蛋白(S)、ORF3蛋白、小膜蛋白(E)、膜糖蛋白(M)和核衣壳蛋白(N)^[7]。

免疫荧光和免疫电镜试验表明, PEDV与鸡传染性支气管炎病毒、猪血凝性脑脊髓炎病毒、新生犊牛腹泻冠状病毒、犬冠状病毒、猫传染性腹膜炎冠状病毒之间没有抗原相关性^[8]。中和试验和ELISA等都证明PEDV和TGEV在抗原性上不同,无共同抗原。目前,尚无迹象表明存在不同的PED血清型,所有分离的PEDV毒株属于同一个血清型。PEDV不能凝集家兔、小鼠、豚鼠、猪、牛、羊、雏鸡和人的红细胞。一般消毒药物都可将其杀灭。PEDV对外界抵抗力较弱,对乙醚和氯仿敏感,一般消毒药物都可将其杀灭。病毒在60 °C 30 min,可失去感染力,但在50 °C条件下相当稳定。病毒在4 °C pH 5.0-9.0或在37 °C pH 6.5-7.5时稳定。

最初, PEDV增值是经口腔接种仔猪完成的。病毒只能在肠上皮组织培养物内生长^[9]。由于在细胞培养液中加入犊牛血清会抑制PEDV与红细胞受体的结合,故该细胞的细胞培养很长一段时间内未获得成功。后来发现Vero细胞(非洲绿猴肾细胞)有利于PEDV的持续增值,病毒生长依赖于无血清细胞培养液中的胰蛋白酶^[10]。细胞病变(cell elongating factor, CEF)包括空胞化和形成合胞体。

2 发病机制

病毒经口鼻感染,侵入小肠后,在小肠和结肠绒毛吸收上皮细胞浆内通过内质网膜以出芽方式增值,在复制过程中损伤细胞器,继而出现细胞功能障碍,因线粒体肿胀引起细胞数量减少,营养物质吸收不良,这是绒毛萎缩前发生腹泻的主要原因^[11]。随着病程的发展,吸收上皮损伤逐渐加重,直至上皮脱落,形成绒毛萎缩、变短,吸收面积减少^[12]。引起吸收营养物质的机能显著障碍,另一方面由于肠黏膜上皮细胞内各种酶活性显著降低或缺乏,蛋白质、糖、脂肪不能彻底被分解,使肠内物质腐败发酵,刺激肠末梢感受器,蠕动增强,加之ATP酶活性降低或缺乏,肠上皮细胞内钠泵失活,又可造成晶体渗透压升高,最终导致仔猪发生渗透性腹泻。仔猪由于肠内碱性物质大量排出,而引起酸中毒、自体中毒、脱水 and 贫血,发生败血性休克衰竭而死^[9,13]。

3 诊断

病猪表现为呕吐、迅速腹泻脱水、精神萎顿、

■ 研发前沿

虽然灭活疫苗具有安全、稳定的优点,但同时具有免疫期短,免疫剂量大等缺点,且灭活苗只能通过注射免疫,仔猪无法获得sIgA,保护效果不佳。而弱毒苗由于存在成本高、易返祖、有潜在感染危险等缺陷,很难在实践中推广应用。

■相关报道

免疫荧光和免疫电镜试验表明, PEDV与鸡传染性支气管炎病毒、猪血凝性脑脊髓炎病毒、新生犊牛腹泻冠状病毒、犬冠状病毒、猫传染性腹膜炎冠状病毒之间没有抗原相关性。

食欲下降. 病变区域局限在小肠, 肠管膨满扩张, 肠壁透明, 肠系膜充血, 肠系膜淋巴结水肿. 病理组织学变化表现为上皮细胞变性、坏死和脱落, 感染的上皮细胞, 电镜观察可见微绒毛缩短或减少, 细胞浆破裂, 在胞浆的空腔内或滑面内质网中可见到病毒粒子^[14]. 超微结构变化主要发生于小肠细胞胞浆中, 可见细胞器减少, 出现电子半透明区, 接着绒毛和末端网状结构消失, 部分胞浆突入肠腔, 肠细胞变平、紧密连接消失, 脱落进入肠腔内. 在结肠内, 含毒的肠细胞出现一些CEF, 但未见细胞脱落.

本病依据临床、病理变化和流行病学很难做出诊断, 特别是与TEG不易区别, 必须依靠实验室技术才能作出确诊. 目前, 诊断方法有免疫电镜(IEM)、免疫荧光(IF)、间接血凝试验(IHA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、RT-PCR、中和试验等, 其中IF和ELISA是较常用的^[15-17].

王继科等^[18]把PEDV的抗原和抗体分别经10 000 r/min离心、免疫复合物又经12 000 r/min离心后, 通过电镜观察到了典型的病毒粒子形成的免疫复合物, 并建立了具有3次筛选作用改良的IEM法. 朱维正等^[19]以细胞培养的PED病毒致敏醛化鞣酸化红细胞, 对健康猪血清作间接血凝试验, 建立了IHA诊断PEDV的方法. 林志雄等^[20]利用已适应于传代细胞生长的PED病毒PEDV-G1株, 以PK-15作指示细胞, 与被检血清进行微量中和, 测定待检血清中的特异性抗体, 48 h进行结果判定, 证实该方法可以用来检测PED病毒, 而且检测结果准确、可靠, 具有较高的敏感性, 可用于大规模的流行病学调查, 并建立了PED微量血清中和试验.

用直接免疫荧光法(fluorescent antibody technique, FAT)检测PEDV是最为敏感、快速、可靠的特异性诊断方法, 目前应用最为广泛, 但仅适用于急性腹泻期内患病仔猪切片的检查. 崔现兰等^[21]应用FAT对PEDV人工感染仔猪的检出阳性率为91.4%(42/46), 应用间接FAT对PED阳性猪场血清的检出阳性率为89%. 林志雄等^[22]用适应于Vero、PK-15等传代细胞株生长繁殖的PEDV-G1株建立了PEDV的FAT, 并与哈尔滨兽医研究所的荧光抗体方法检测结果相比较, 阳性符合率达95%, 阴性符合率90%, 且与TGE病毒、猪细小病毒、轮状病毒和大肠杆菌等没有交叉反应, 证明FAT法用于PED的诊断具有较高的准确性和特异性.

ELISA的最大的优点是可从粪便中直接检

查PEDV抗原, 目前应用也较为广泛. 此法最好在腹泻的急性期收集几个不同猪的粪便做检查. 对实验感染猪在感染后2-5 d检查, 可检出PED抗原. 朱维正等^[23]用双抗体夹心法ELISA从腹泻病猪的粪便样本中直接检测PED病毒抗原, 其与电镜检查的阳性符合率为97.37%, 阴性符合率为100%.

近年来, 随着分子生物学的发展, 其诊断技术也发展迅速. 对于其病原的诊断, RT-PCR方法以其高度的敏感性和特异性在诊断中逐渐得到应用. 修金生等^[24]参考GenBank上登录的PEDV的ORF3基因序列保守型片段设计特异性引物, 建立了检测PEDV的SYBR Green I 荧光定量RT-PCR方法, 结果表明, 建立的SYBR Green I 实时荧光定量RT-PCR方法为PEDV的早期感染的诊断及定量分析提供了新的方法. Ishikawa等^[25]根据S基因序列设计了一对可扩增目的片段的引物, 成功地建立了诊断PEDV的RT-PCR方法, 可进行细胞毒和粪便毒的检测^[25]. Jung等^[26]使用了RT-PCR方法探测了PEDV的感染. Sozzi等^[27]使用基于单克隆抗体的双抗体夹心法酶联免疫吸附试验(DAS-ELISA)和RT-PCR探测了PEDV, 并比较了两者在检测排泄物和肠道样品的相关性, 发现二者在检测排泄物时相关性较高.

4 免疫预防

疫苗免疫接种是目前预防PED的有效而可靠的方法. 该病由于发病日龄小、发病急、病死率高, 依靠自身的主动免疫往往来不及, 因此现行的PED疫苗大多是通过给母猪预防注射, 依靠初乳中的特异性抗体给仔猪提供良好的保护. 我国预防PED主要依赖于灭活疫苗和弱毒疫苗.

PED灭活疫苗安全性好, 母源抗体对免疫效果的影响小. 免疫妊娠母猪后, 产生的母源抗体对仔猪的保护性确实. 灭活疫苗可在母猪分娩前20-30 d肌肉或后海穴注射, 仔猪通过采食初乳而被动免疫获得保护. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所马思奇等在“八五”期间和“九五”期间分别完成了“TGE、PED二联灭活疫苗”的研制并应用于现地猪场. 哈药集团生物疫苗有限公司生产的TGE、PED二联灭活疫苗的主动免疫保护率为96%, 被动免疫保护率为85.1%, 可有效地预防PED的发生^[28].

Song等^[29]将经Vero细胞致弱后的PEDV毒株通过口服途径免疫晚期妊娠母猪, 发病率明显降低, 且仔猪抗PEDV的SIgA含量明显升高.

研究表明, 细胞致弱的PEDV毒株可以用于口服疫苗, 诱导特异性的免疫, 从而有效预防PEDV感染. 李树根等^[30]制备了PED和TGE弱毒二联疫苗, 用该弱毒二联疫苗免疫妊娠母猪, 对妊娠母猪安全, 其仔猪获得了良好的被动免疫, 用该二联弱毒疫苗免疫8-10日龄的哺乳仔猪证明安全, 并且免疫后能有效地保护妊娠母猪、初生仔猪、断奶猪和肥育猪抵抗TGEV和PEDV强毒的攻击. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所还研制出了PEDV、TGEV和RV三联活疫苗, 目前, 三联活疫苗在4个省的9个猪场先后进行了不同批次疫苗的临床试验(共计45 000头份). 临床试验各猪场反馈效果良好, 区域免疫保护率超过95%^[31].

虽然灭活疫苗具有安全、稳定的优点, 但同时具有免疫期短, 免疫剂量大等缺点. 且灭活苗只能通过注射免疫, 仔猪无法获得sIgA, 保护效果不佳. 而弱毒苗由于存在成本高、易返祖、有潜在感染危险等缺陷, 很难在实践中推广应用. 在病毒性腹泻的免疫机制中, 黏膜免疫具有非常重要的作用. 肠道黏膜分泌的IgA抗体能抵御入侵的病原体. 口服疫苗能刺激黏膜免疫, 并能产生黏膜和血清保护性IgA抗体, 是预防肠道传染病的有效途径^[32]. Bae等^[33]将PEDV的S基因转入烟草中, 构建了表达抗原的转基因烟草. 把这种携带抗原基因的转基因烟草饲喂动物, 试验结果表明这种转基因植物可诱导小鼠产生全身免疫和黏膜免疫. 焦茂兴等^[34]构建了含有PEDV疫苗株sM、M、S基因的重组腺病毒, 将3个具有感染能力的复制缺陷性重组腺病毒共同感染Vero细胞, 细胞上清液进行小鼠免疫特性研究. 结果表明, 共同感染Vero细胞所得蛋白能诱导小鼠产生特异性体液免疫应答. PEDV重组腺病毒疫苗可经口接种, 使抗原物质对黏膜的免疫刺激作用更接近于病毒的自然感染途径, 有效地刺激黏膜免疫细胞产生分泌型IgA并引起全身性体液免疫应答. 葛俊伟等^[35]将PEDV纤突蛋白S1基因片段插入干酪乳杆菌分泌型表达载体中, 构建了重组表达载体, 将其电转化干酪乳杆菌, 获得了表达分泌PEDV S1蛋白的重组乳酸菌杆菌. 将该重组干酪乳杆菌经口服接种途径免疫Balb/c小鼠, 结果表明该重组干酪乳杆菌表达系统能刺激动物黏膜免疫应答和系统免疫应答, 在肠道可产生分泌型IgA抗体, 并可检测到高水平血清IgG抗体. Suo等^[36](2012)构建了表达全长PEDV S基因和含有主要抗原位点

的S基因氨基酸端片段的DNA疫苗, 这些DNA疫苗可在真核细胞中表达, 同时在实验鼠体中诱导细胞和体液免疫应答, 特别是全长PEDV S基因有更好的免疫应答效果. 这些结果提示真核DNA质粒可作为一种预防PEDV的候选疫苗. 但PEDV抗原或PEDV抗原基因表达的蛋白经口接种时易被体内消化液、pH值、渗透强度、温度等生理因素破坏而失去抗原性. 如果利用高分子聚合物包裹如壳聚糖或壳聚糖季铵盐包裹PEDV重组腺病毒抗原或抗原蛋白, 制成生物降解微球或纳米粒, 使抗原颗粒化, 则可克服体内消化液、pH值、渗透强度、温度等生理因素对抗原的消化破坏作用^[37].

5 结论

近年来, PED的流行区域和流行强度有不断扩大的趋势, 对哺乳仔猪造成很高的致死率, 给养猪业造成了很大的经济损失. 我们相信随着对PEDV分子生物学技术的进一步完善和发展, 对PEDV结构的研究会越来越深入, 并能建立更为快捷而简便的分子生物学诊断方法, 并能研制出有效而经济的疫苗, 控制PED的发生.

6 参考文献

- 1 刘邓, 冉多良, 袁秀芳, 徐丽华, 牛登元, 张存, 王朝文, 王一成. 猪流行性腹泻病毒CH/ZJ分离株S基因的克隆、原核表达和免疫原性分析. 黑龙江畜牧兽医 2010; 3: 19-22
- 2 陈如敬, 吴学敏, 车勇良, 王隆柏, 魏宏, 庄向生, 严山, 周伦江. 猪流行性腹泻病毒FJ-11A株的分离与ORF3基因序列分析. 福建农业学报 2011; 26: 947-951
- 3 刘孝珍, 陈建飞, 时洪艳, 张鑫, 石达, 刘胜旺, 冯力. 2011年猪流行性腹泻病毒的遗传变异分析. 中国预防兽医学报 2012; 34: 180-183
- 4 徐国栋, 李峰, 张广峰. 国内猪流行性腹泻防治概况. 畜牧与兽医 2011; 43: 88-93
- 5 张世忠, 江斌. 2011年福建省猪流行性腹泻的流行特点及其防治措施. 福建畜牧兽医 2012; 34: 23-25
- 6 李龙. 仔猪流行性腹泻的最新流行情况. 养猪 2011; (5): 87-88
- 7 王凤, 汤德元, 李春燕, 王彬, 张晓杰, 甘振磊, 刘志杰. 猪流行性腹泻病毒基因及其疫苗的研究. 猪业科学 2010; 27: 42-47
- 8 殷震, 刘景华. 动物病毒学. 北京: 科学出版社, 1997: 688-689
- 9 宣长和, 马春全, 陈志宝. 猪病学. 北京: 中国农业大学出版社, 2010: 213-217
- 10 Barbara E. Straw, Jeffery J. Zimmerman, Sylvie D'Allaire, David J. Taylor. Diseases of swine. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2006
- 11 甘孟侯, 杨汉春. 中国猪病学. 北京: 中国农业出版社, 2005: 188-190
- 12 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所. 动物传染病学. 北京: 中国农业出版社, 2008: 331-333
- 13 陈敷言. 兽医传染病学. 北京: 中国农业出版社, 2006: 229-231

■同行评价

本文就PED的病原学、发病机制、诊断和预防等方面的研究进展进行了较为系统的综述, 为相关研究提供了参考.

- 14 白文斌, 于康震. 动物传染病诊断学. 北京: 中国农业出版社, 2002: 395-401
- 15 李思银, 杨亮宇, 杨玉艾. 猪流行性腹泻的实验室诊断方法. 猪业科学 2010; 27: 54-57
- 16 李晓东. 猪流行性腹泻研究进展. 河北畜牧兽医 2005; 21: 29-30
- 17 Song D, Park B. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes* 2012; 44: 167-175 [PMID: 22270324 DOI: 10.1007/s11262-012-0713-1]
- 18 王继科, 刘长明, 马思奇, 王明, 魏凤祥, 于文涛, 周金法. 猪传染性胃肠炎和猪流行性腹泻病毒的免疫电镜诊断的研究. 中国畜禽传染病 1991; (2): 22-25
- 19 朱维正, 郑瑞峰. 猪流行性腹泻血清学诊断法的研究. 中国畜禽传染病 1990; 11: 16-19
- 20 林志雄, 李树根, 李力复, 陈茹, 童昆周. 猪流行性腹泻微量血清中和试验的建立和应用. 中国兽医科技 1994; 24: 3-6
- 21 崔现兰, 马思奇, 王明, 于文涛, 魏凤祥, 周金法. 应用免疫荧光法诊断猪流行性腹泻的研究. 中国预防兽医学报 1990; (5): 20-26
- 22 林志雄, 黄引贤, 李树根, 李力复, 童昆周. 应用直接免疫荧光法检测猪流行性腹泻病毒的研究. 中国进出口动植物检验 1997; (2): 32-34
- 23 朱维正, 王新平, 常建兵. 应用ELISA(双抗体夹心法)检测猪流行性腹泻病猪粪便中的病毒抗原. 兽医大学学报 1988; (2): 14-18
- 24 修金生, 周伦江, 陈如敬, 王隆柏, 陈小权. 猪流行性腹泻病毒SYBR I 实时荧光定量RT-PCR检测方法的建立. 中国兽医科学 2012; 42: 160-165
- 25 Ishikawa K, Sekiguchi H, Ogino T, Suzuki S. Direct and rapid detection of porcine epidemic diarrhoea virus by RT-PCR. *J Virol Methods* 1997; 69: 191-195 [PMID: 9504764 DOI: 10.1016/S0166-0934(97)00157-2]
- 26 Jung K, Kang BK, Lee CS, Song DS. Impact of porcine group A rotavirus co-infection on porcine epidemic diarrhoea virus pathogenicity in piglets. *Research in Veterinary Science* 2008; 84: 502-506 [PMID: 17727905 DOI: 10.1016/j.rvsc.2007.07.004]
- 27 Sozzi E, Luppi A, Lelli D, Martin AM, Canelli E, Brocchi E, Lavazza A, Cordioli P. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and RT-PCR for the detection of porcine epidemic diarrhoea virus. *Res Vet Sci* 2010; 88: 166-168 [PMID: 19501378 DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.05.009]
- 28 张海丰, 李叔伟. 猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联灭活疫苗的生产应用. 用药指南 2011; (5): 62
- 29 Song DS, Oh JS, Kang BK, Yang JS, Moon HJ, Yoo HS, Jang YS, Park BK. Oral efficacy of Vero cell attenuated porcine epidemic diarrhoea virus DR13 strain. *Res Vet Sci* 2007; 82: 134-140 [PMID: 16730762 DOI: 10.1016/j.rvsc.2006.03.007]
- 30 李树根, 周仲芳, 李力复, 林志雄, 童昆周, 罗长保, 颜思通, 陈茹. 猪流行性腹泻和猪传染性胃肠炎弱毒二联疫苗研究. 中国兽医杂志 2000; 26: 5-8
- 31 郭春和, 黄毓茂, 项林盛, 唐丽云, 甘建平, 郭强, 焦茂兴. 猪流行性腹泻病毒结构蛋白及疫苗的研究进展. 畜牧与兽医 2011; 43: 83-87
- 32 陈建飞, 冯力, 时洪艳, 崔尚金. 猪流行性腹泻疫苗的研究. 猪业科学 2010; 27: 50-51
- 33 Bae JL, Lee JG, Kang TJ, Jang HS, Jang YS, Yang MS. Induction of antigen-specific systemic and mucosal immune responses by feeding animals transgenic plants expressing the antigen. *Vaccine* 2003; 21: 4052-4058 [PMID: 12922142 DOI: 10.1016/S0264-410X(03)00360-8]
- 34 焦茂兴, 吴锋, 刘德辉, 黄毓茂. 猪流行性腹泻病毒重组腺病毒疫苗的构建及小鼠免疫试验. 中国畜牧兽医 2012; 39: 11-16
- 35 葛俊伟, 姜艳平, 汪淼, 乔薪媛, 徐义刚, 唐丽杰, 李一. 猪流行性腹泻病毒S1蛋白在干酪乳杆菌中的分泌表达及免疫原性分析. 中国预防兽医学报 2009; 31: 256-257
- 36 Suo S, Ren Y, Li G, Zarlenga D, Bu RE, Su D, Li X, Li P, Meng F, Wang C, Ren X. Immune responses induced by DNA vaccines bearing Spike gene of PEDV combined with porcine IL-18. *Virus Res* 2012; 167: 259-266 [PMID: 22643071 DOI: 10.1016/j.virusres.2012.05.007]
- 37 Zhao K, Shi X, Zhao Y, Wei H, Sun Q, Huang T, Zhang X, Wang Y. Preparation and immunological effectiveness of a swine influenza DNA vaccine encapsulated in chitosan nanoparticles. *Vaccine* 2011; 29: 8549-8556 [PMID: 21945253 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.09.029]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.