

赵辉, 吴珊珊, 韩伟, 等. 猪塞内卡病毒感染的研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (11): 128-135.

ZHAO H, WU S S, HAN W, et al. Progress in research on porcine Senecavirus infection [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (11): 128-135.

猪塞内卡病毒感染的研究进展

赵辉^{1,2,3}, 吴珊珊^{1,2,3}, 韩伟^{1,2,3}, 王贵华^{1,2,3}, 付秀花^{1,2,3}, 孙瑶^{1,2,3*}

(1. 中牧实业股份有限公司, 北京 100070;

2. 农业农村部兽用生物制品与化学药品重点实验室, 北京 100095;

3. 北京市兽用多肽疫苗设计与制备工程技术中心, 北京 100095)

摘要: 猪塞内卡病毒感染是由塞内卡病毒 (SVA) 导致的, 临床上表现为鼻吻、蹄冠部出现明显的水疱, 与口蹄疫引起的临床症状比较类似。2007 年, 加拿大首次报告该病毒感染猪群, 随后在全世界多个国家相继出现, 对世界生猪养殖业带来了巨大的经济损失。目前该病尚未有商品化疫苗使用, 因此对该病的防控形势严峻。本文从 SVA 感染的病原学、流行病学、临床症状及病理变化、实验室诊断、疫苗研究等多个方面进行综述, 以期为该病的防控、诊断、疫苗研发等方面提供参考。

关键词: 塞内卡病毒; 病原学; 流行病学; 临床症状; 诊断方法; 疫苗

中图分类号: S855.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)11-0128-08

Progress in research on porcine Senecavirus infection

ZHAO Hui^{1,2,3}, WU Shanshan^{1,2,3}, HAN Wei^{1,2,3}, WANG Guihua^{1,2,3}, FU Xiuhua^{1,2,3}, SUN Yao^{1,2,3*}

(1. China Animal Husbandry Industry Co., Ltd., Beijing 100070, China;

2. Key Laboratory of Biological Products and Chemical Drugs for Animals, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100095, China;

3. Technology Research Center for Beijing Veterinary Peptide Vaccine Design and Preparation, Beijing 100095, China)

Abstract: Seneca virus infection is caused by Senecavirus A (SVA). The clinical symptoms of SVA infection include typical blisters on the nose and hoof crown, which are similar to foot-and-mouth disease virus infection. The virus was first detected in 2007 in Canada, and then it appeared in many countries all over the world, which brought huge economic losses to the world pig breeding industry. At present, there is no commercial vaccine against the disease, so the situation of prevention and control of this disease is grim. This article reviews the etiology, epidemiology, clinical symptoms and pathological changes, laboratory diagnosis methods, vaccine research progress of SVA, in to the hope of offering reference for effective prevention and control, diagnosis, vaccine development and other aspects of SVA.

Keywords: Senecavirus A; etiology; epidemiology; clinical symptoms; diagnostic methods; vaccine

塞内卡病毒 (Senecavirus A, SVA) 又称为塞内卡谷病毒 (Seneca Valley virus, SVV), 中文翻译名称又有塞内卡病毒 A、塞内卡谷病毒、塞尼卡病毒和塞内加病毒。猪感染 SVA 后典型的临床特征是口鼻、口腔黏膜、冠状带和蹄上的水疱或溃疡性病损, 同时可能引起仔猪的急性死亡, 临床症状与口蹄疫 (foot and mouth disease, FMD)、猪水泡病 (swine vesicular disease, SVD) 和水疱性口炎 (vesicular stomatitis, VS) 很难区分^[1-2]。

SVA 最初是美国 2002 年人类胎儿视网膜细胞系 (PER. C6) 培养中偶然发现的^[3]。美国农业部国家兽医服务实验室对类似微 RNA 病毒感染的流行病学开展调查, SVA 至少在 1988 年在美国猪群中就已存在。SVA 目前已在全球范围不断扩散, 自 2015 年传入我国广东, 初期呈散发状态, 但 2017 年之后迅速由南向北扩散, 引起多省区发生疫情, 其作为一种新发动物传染病, 传播和致病机制研究尚不清楚, 存在大规模暴发的风险, 并且国内外仍没有商品化疫苗可用, 防控形势严峻。SVA 感染的反复暴发和全球流行, 导致大量受感染的猪被扑杀, 造成了严重的经济损失, 威胁着养猪业的发展。此外, 牛和小鼠血清中检测到 SVA 中和抗体, 这对 SVA 感染的防控造成严

收稿日期: 2023-11-23; 修回日期: 2024-09-06

第一作者: 赵辉, 男, 硕士, 兽医师

* 通讯作者: 孙瑶, 高级兽医师, 主要从事动物病毒分子免疫学研究, E-mail: sunyao99@sina.com。

峻的挑战^[3]。

1 病原学

SVA 是一种单股、正链的无囊膜 RNA 病毒，基因组全长约为 7.2 kb，呈二十面体结构，属于微 RNA 病毒科，是塞内卡病毒属的唯一成员^[4]。SVA 基因组由 L 和 3 个主要蛋白质区域组成，命名为多聚蛋白 P1、P2 和 P3。多聚蛋白 P1 可水解为 VP1、VP3 和 VP0 蛋白，VP0 蛋白在 SVA 组装的过程中会被水解为 VP2 和 VP4 蛋白。VP1、VP2、VP3、VP4 这 4 种结构蛋白构成病毒衣壳，其他蛋白质参与病毒复制。P2 编码区编码 3 种非结构蛋白 2A、2B 和 2C，P3 编码区编码 4 种非结构蛋白 3A、3B、3C 和 3D^[5]。病毒基因组的中心编码区（ORF1），侧接 5'-非翻译区域（5' UTR）和 3'-非翻译区域（3' UTR），3' UTR 接 poly (A)^[6]。

通过对 SVA 的演化和流行情况分析，SVA 可能起源于 1986 年，已分化为 2 个分支：分支 I（2007 年之前的毒株）和分支 II（2007 年之后的毒株）。SVA 主要抗原蛋白（VP1、VP2 和 VP3）的 29 个氨基酸位点在分支 I 和 II 之间具有显著差异，表明分支 I 和 II 之间的抗原存在显著差异。2015 年以来的流行毒株进化分析发现巴西可能是 2015 年以来 SVA 暴发的源头地点。SVA 在流行过程中发生了重组，在中国表现得尤其突出^[7]。

目前已有多个研究证明，SVA 可在多种细胞上进行增殖，如人视网膜母细胞（PER. C6）、人肺癌细胞单层（NCI - H1299）、人胚胎肾细胞（HEK293T）、猪睾丸细胞（ST）、猪肾细胞（PK-15 和 IBRS2）和幼仓鼠肾细胞（BHK21）^[3,8-12]。有研究报道，理化环境的改变，可以有效阻止蛋白质之间的相互作用，有的会导致病毒表面配体结构破坏，影响与宿主细胞受体结合^[13]。张燕红等^[14]发现，将 SVA 病毒液调整 pH 为 1.0~7.0 时，病毒滴度下降 0.3~0.5 个滴度；当调整 pH 在 8.0~10.0 时，病毒滴度下降十分明显。胡振儒等^[15]研究发现，温度和酸性等多种理化因素会影响 SVA 的稳定性，随温度升高，SVA 病毒颗粒稳定性显著下降。Strauss 等^[16]在对 SVA 进行酸稳定性测试时，发现酸处理后，病毒滴度下降明显。

2 流行病学

猪是 SVA 的主要宿主，不同年龄的猪均易感^[17-19]。传染源主要是发病猪，病毒潜伏期一般为 3~5 d，一年四季均可发病，但以春、秋季节多发。发病率较高，但死亡率因猪群不同而有所差异^[20]。

感染 SVA 的猪在不同生长阶段的临床表现也不同。在新生仔猪中，SVA 感染导致猝死、皮肤充血、急性腹泻、流涎、嗜睡和神经症状^[21]。断奶仔猪表现嗜睡、跛行、口腔水疱、腹泻和蹄部病变^[22]。已有研究从患有水疱症状的病猪的组织、分泌物等样本中检测到 SVA；此外，在发生 SVA 疫情的环境样本以及同环境的其他动物身上检测到 SVA 核酸阳性，并且分离到 SVA 毒株，这些结果表明，SVA 在环境中可能仍然具有活性^[23]，表明啮齿动物和昆虫可能有助于传播该病毒。

2.1 全球流行情况

SVA 在全球呈现暴发态势，加拿大、美国、巴西、哥伦比亚、中国、泰国、越南等多个国家均有疫情报道。

SVA（SVA-001）在 2002 年首次被分离鉴定，2008 年完成首个全长 SVA 基因组测序^[24-25]。2007 年加拿大某养猪场暴发了水疱病，从患病猪的水疱中分离、鉴定获得 SVA^[26]；2014 年 11 月至 2015 年初，巴西的几个猪场报告了猪水疱症状的急性暴发和初生仔猪急性死亡等疫情^[27]，通过二代测序，发病猪中检测到 SVA 核酸。这次疫情是北美以外的首次关于 SVA 病例的报道^[1]。2016 年 2 月在哥伦比亚的中西部地区的生猪养殖场内也分离到 SVA 毒株，遗传进化分析表明该毒株与巴西的流行株核苷酸同源率为 97.66%~97.71%^[28]。为明晰 SVA 何时在猪群流行，多国研究人员对 SVA 进行了回顾性研究。根据巴西提供的猪血清开展了 SVA 的 10 年的回顾性研究，研究发现，2014 年之前 SVA 并未在巴西流行，由此判定 SVA 传播到巴西的时间为 2014 年以后^[29]。而美国的调查发现早在 1988 年就存在 SVA 的流行，2016 年美国又报告了新生猪中新暴发 SVA 疫情^[20]。2018 年巴西暴发了第二次 SVA 疫情^[30]；2020 年 5 月巴西南部几个猪场报告猪水疱病，RT-PCR 检测 SVA 核酸阳性^[31]。在巴西 SVA 暴发间隔时间越来越短，2015 年到 2018 年间隔 3 年，2018 年末与 2020 年间隔 1.5 年，且毒株也发生了不同程度的变异。

中国在 2015 报道了 SVA 疫情^[32]。2016 年 10 月，泰国首次检测到 SVA。遗传进化分析表明泰国 SVA 毒株与加拿大的 11-55910-3 分离株关系密切^[33]。2018 年越南暴发了 SVA 疫情，并获得新型 SVA 分离株 SVA/VIT/3187/2018 的完整序列^[34]。2022 年 4 月，智利报告了一例养猪场疑似水泡病病例。截至 2022 年 6 月，在 44 个农场中的 16 个农场检测到了 SVA。经遗传进化分析推断可能是从美国传播至智利^[35]。

2.2 国内流行情况

我国在 2015 年首次发现 SVA。在广东省某些生猪养殖场猪群发生了疑似猪水疱病, 母猪出现跛行和水疱等症状, 部分仔猪出现急性死亡。经 RT-PCR 检测 SVA 核酸阳性, 遗传进化分析表明该分离株与美国毒株处于同一分支^[32,36]。2015~2016 年, Zhao 等^[37]对广东省的 6 个不同猪养殖场开展 SVA 的相关研究, 成功分离出 6 株 SVA 毒株, 结果发现分离毒株与之前流行毒株有所差异, 处于 2 个不同的分支, 这表明 SVA 在进入我国之后发生了变异。

Qian 等^[9]研究发现华中地区已发生多起 SVA 的感染, 呈零星散发, 经序列分析, 华中地区毒株与 SVACH-01-2015 株同源性最高。Wang 等^[38]从黑龙江一猪场成功分离 SVA/HLJ/CHA/2016 株, 与 US-15-39812IA 亲缘关系近, 而与中国分离株亲缘关系较远。福建省、河南省几乎同时发生猪水疱病, Zhu 等^[12]从发病猪场提供的病料中分离 7 株 SVA 毒株, 与美国分离株处于同一分支, 与中国毒株亲缘关系较远。Bai 等^[39]在山东分离 SVA 强毒株 SVV-CH-SD, 与美国分离株具有高度同源性。2019 年报道首次从屠宰场分离出 SVA, 遗传进化分析表明该毒株与中国毒株 (KY419132 和 KY747510) 的亲缘关系更为密切^[40]。随后广西报道了 SVA 的感染, 广西 SVA CH-GX-01-2018 可能与广东省 2017 年分离的毒株密切相关^[41]。此外研究发现, 河南分离的毒株 HeN-1/2018 株已发生重组^[42]。吉林^[43]、海南^[44]、河北^[45]、浙江^[46]、甘肃^[47]、重庆^[48]等省份相继有 SVA 感染的报道。

3 临床症状及病理变化

SVA 引起的水疱样症状与口蹄疫、猪水疱病、水疱性口炎等疾病在临床症状无明显区别^[23]。SVA 感染主要是在猪鼻吻部、蹄冠部和舌部等出现大小不等、完整或破裂的水疱^[49]。因此, 受感染的成年猪通常出现跛行、厌食、嗜睡和发烧等临床症状^[20]。当水疱破裂时, 通常会在蹄趾间观察到深度溃疡、结痂和坏死, 以及口鼻部皮肤的多灶性溃疡和溃疡性舌炎等^[49-50]。SVA 感染成年猪后, 病毒血症持续约 7 d, 发病症状可维持 2~14 d。病猪表现为行动困难、采食量降低以及日增重下降等。新生猪感染 SVA, 发病率和死亡率高, 一些猪场的 1~4 日龄的新生仔猪死亡率可达到 30%~70%, 称为流行性暂时性新生仔猪死亡 (ETNL)。在与 SVA 相关的 ETNL 中, 仔猪虚弱、嗜睡、唾液分泌过多、皮肤充血、神经症状、腹泻和死亡^[27]。

自然感染 SVA 的猪, 脑膜出血, 肾脏出血, 舌、

蹄冠部发生溃疡, 肺水肿和充血^[1]。仔猪感染 SVA 后, 可见间质性肺炎、膀胱和肾盂上皮气球样变性^[51]。此外, 有腹泻症状的仔猪, 解剖后观察到小肠萎缩性肠炎。在 ETNL 的仔猪中可观察到非化脓性脑膜脑炎和脉络膜丛炎, 皮肤病变为角化过度、坏死和真皮结痂等^[52]。部分出现间质性肺炎、心肌炎。还有部分猪会发生萎缩性肠炎、非化脓性脑膜炎^[21]。实验室感染 SVA 的育肥猪, 病理学变化有炎症细胞浸润、皮肤角质化、中性粒细胞浸润和纤维蛋白聚集等; 在感染 3~7 d 内, 在扁桃体和脾脏和淋巴结出现淋巴增生^[50]。在口腔中主要表现为局部或广泛的糜烂和溃疡性坏死性舌炎、牙龈炎和唇炎等病变; 组织病理学变化主要是肠系膜淋巴结和粘膜相关淋巴组织病变包括淋巴滤泡增生; 扁桃体滤泡淋巴增生; 有腹泻临床表现的仔猪还存在肠上皮细胞坏死和空泡化^[52]。

4 诊断方法

SVA 感染引起的蹄部症状与水疱性口炎、口蹄疫等疾病的临床症状非常相似, 无法通过临床观察进行区分, 对疾病的诊断造成了极大的困扰, 需要结合实验室检测技术来进行鉴别诊断。目前 SVA 的实验室诊断方法包括抗原诊断和抗体诊断。

4.1 血清学诊断

血清学检测方法主要是监测猪的 SVA 抗体或抗原, 包括: 酶联免疫吸附试验 (ELISA)、间接免疫荧光 (IFA) 和病毒中和试验 (VNT)。血清学检测用处广泛, 可以用于流行病学研究, 并且在大规模诊断中能够检测大量样品。

间接 ELISA 方法具有敏感性高, 简便快捷, 成本低, 但存在特异性差, 易受补体或血清中各种细胞因子的影响^[53]。研究者研制出了 SVA 特异性单抗, 开发了 SVA 间接 ELISA 和竞争 ELISA 诊断方法^[54]。Dvorak 等^[55]通过比较 VP1、VP2、VP3 的免疫原性, 发现 VP2 免疫原性更高, 并建立了一种基于 VP2 蛋白的间接 ELISA 检测方法, 可以快速、准确地检测猪体内是否存在 SVA 抗体。Goolia 等^[56]利用 SVA 单克隆抗体建立了竞争 ELISA, 其灵敏度可达 96.9%。

VNT 具有敏感性和特异性高, 但操作繁琐, 试验技能要求高, 检测时间长, 增加了散毒风险^[57]。Liu 等^[58]建立了快速病毒中和试验方法, 比传统的 VNT 检测方法的检测时间更短, 灵敏度和特异性更高, 结果的判定依赖于绿色荧光, 减少人为的误判。

IFA 优点是敏感性高, 方法简便, 覆盖面广, 缺点是容易产生非特异性荧光, 仪器要求高。Houston 等^[17]建立 IFA 方法, 此方法与间接 ELISA 方法的结

果基本一致。

4.2 病毒分离和组织学检测

病毒分离鉴定是诊断 SVA 感染的常用手段之一,从首株 SVA 的分离鉴定^[24],到后来多个规模化猪场暴发 SVA 感染,均采用病毒分离方法并成功分离出 SVA^[1,9,38,59],多种细胞均可以用于 SVA 的分离鉴定。

原位杂交 (ISH) 是通过特定的核酸探针与组织样品中抗原进行杂交,从而显示抗原分布情况, SVA ISH-RNA 显示出高特异性,但原位杂交技术的缺点是难以识别具有低 DNA 和 RNA 拷贝的靶标,灵敏度比 qRT-PCR 低, Resende 等^[60]研究发现用 ISH 方法与 ELISA 方法联合使用,可以提高阳性样品检出效率。

免疫组织化学 (IHC) 利用抗原抗体的特异性结合达到检测相关病原或蛋白的目的。优点是特异性高,定位准确,缺点是必须依赖单克隆抗体,每个特定抗体只能检测一种抗原, Hole 等^[61]通过免疫组织化学技术从肾盂和膀胱上皮、肠上皮细胞和小猪舌头中检测到 SVA。

4.3 分子生物学方法

RT-PCR、荧光定量 PCR、逆转录环介导等温扩增 (RT-LAMP) 等分子生物学方法,具有敏感性高、特异性强、操作简单等优点,成为 SVA 监测较为常用的方法。

荧光定量 PCR 具有检测速度快、灵敏度高、特异性强等优点^[62]。能够快速准确地检测出不同样品中的 SVA 核酸。为保证荧光定量 PCR 检测结果准确性,避免假阳性或假阴性等情况的出现,采用荧光定量 PCR 检测需要采集具有典型症状部位的组织和水疱液等。

王淑娟等^[63]建立了 SVA 的荧光定量 RT-PCR (FQ-PCR) 检测方法,检测技术比常规 RT-PCR 方法的灵敏性更高,重复性好。Zhang 等^[64]基于 SVA 聚合酶 3D 基因,建立了液滴式数字 PCR (RT-ddPCR) 检测方法,检测下限为 (1.53 ± 0.22) 拷贝,灵敏度比实时荧光定量 RT-PCR 高约 10 倍。Leme 等^[21]针对 SVA 基因保守区域设计荧光定量 PCR,对 SVA 核酸的最低检测限为 3.75 拷贝,批内和批间重复性试验的变异系数均小于 5%。Bracht 等^[65]研制了 SYBR Green RT-eaPCR 检测方法,此方法与 RT-qPCR 检测方法结果一致。Wang 等^[66]建立了 SVA 的 TaqMan 荧光定量 PCR 检测方法,该技术比普通 PCR 反应更灵敏,且具有良好的稳定性。多重 PCR 是一种基于 PCR 技术的高效病毒检测技术。

具有特异性强、灵敏度高等优点。谢彩华等^[67]建立了 SVA 和 FMDV 二重 PCR 检测技术,重复性好,变异系数小于 4%。

RT-LAMP 方法可以对 SVA 进行快速准确的检测,该方法准确、简便、经济有效,对 SVA 感染的早期防控具有重要意义。杨钰楚等^[68]基于 SVA VP1 基因序列设计一套对应目的片段 6 个区域的 4 条特异性引物,建立了一种检测 SVA 的 RT-LAMP 方法,该方法适用于实验室条件简单的基层检测 SVA。Zeng 等^[69]基于 SVA VP2 基因保守区域,建立了实时逆转录环介导等温扩增技术 (real time RT-LAMP) 检测猪群中 SVA 的方法,该方法的检出限为 1 TCID₅₀/mL,该方法经济有效,特异性和敏感性高,可快速检测临床标本中 SVA。

5 疫苗研究

5.1 灭活疫苗

Yang 等^[11]基于中国福建分离毒株 SVV CH-FJ 2017,通过 BEI 灭活,研发了 SVV 灭活疫苗;试验证明该疫苗具有良好的安全性和免疫原性,并对 SVV 感染具有良好的保护作用。

Buckley 等^[70]制备了 SVA 灭活疫苗,该疫苗对育肥猪和成年母猪均有良好的有效性和安全性,对哺乳期母猪进行免疫,无病毒复制和传播。Li 等^[71]从中国中部地区分离出一株新型 SVA CH-HNCY-3 毒株,并制备了灭活疫苗,在小鼠体内评估灭活 CH-HNCY-2019 疫苗的免疫原性和保护效力,该灭活疫苗具有良好的免疫原性,在小鼠体内诱导了高滴度的中和抗体, SVA 攻毒保护率为 100%。孙瑶等^[72]制备 SVA 灭活疫苗并进行了免疫持续期测定,该疫苗安全性良好,攻毒保护率达 80%~100%,通过 2 次免疫、中和抗体测定和攻毒保护试验,明确疫苗免疫持续期达 200 d,为 SVA 灭活疫苗的生产、上市、使用提供了重要的试验数据。

FMDV 与 SVA 同属于微 RNA 病毒科,目前关于 FMDV 疫苗的研究较为丰富,并且成果显著,这为 SVA 候选疫苗研发指明了方向^[71]。自 2015 年疫情传入中国,疫苗就成为该病的研究重点内容之一,中国农业科学院兰州兽医研究所、普莱柯生物工程股份有限公司与广东温氏大华农生物科技有限公司联合申请猪塞尼卡谷病毒灭活疫苗 (SVV/FJ/001 株),于 2018 年 7 月 31 日获得临床批件,截至目前,在国家兽药基础数据库临床试验审批数据库中查询到有 12 家单位已经获得临床批号 (表 1)。

表 1 处于临床试验阶段疫苗统计

序号	批件号	产品名称	申请单位
1	20180060	猪塞尼卡谷病毒灭活疫苗 (SVV/FJ/001 株)	中国农业科学院兰州兽医研究所、普莱柯生物工程股份有限公司、广东温氏大华农生物科技有限公司
2	20190008	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (CH/ZZ/2016 株, 悬浮培养)	金宇生物技术股份有限公司、中国兽医药品监察所、扬州优邦生物制药有限公司
3	20190030	猪塞尼卡谷病毒灭活疫苗 (SD02 株)	北京大北农科技集团股份有限公司、福州大北农生物技术有限公司、南京天邦生物科技有限公司
4	20190033	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (A/ZJ/2015 株)	中国农业科学院兰州兽医研究所、华派生物技术(集团)股份有限公司、中农威特生物科技股份有限公司
5	2020031	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (HB16 株)	华中农业大学、武汉科前生物股份有限公司
6	2021005	猪 A 型塞内卡病毒病灭活疫苗 (CH-FuJ 株)	北京畜牧兽医研究所、浙江美保龙生物技术有限公司、北京康谷生物科技有限公司
7	2021009	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (HN2017 株, 悬浮培养)	河南省动物疫病预防控制中心、陕西诺威利华生物科技有限公司、青岛易邦生物工程有限公司
8	2021016	猪塞尼卡谷病毒病灭活疫苗 (HuN-1/2017 株, 悬浮培养)	中牧实业股份有限公司
9	2022002	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (HLJ17 株)	吉林特研生物技术有限责任公司、国药集团动物保健股份有限公司、天津瑞普生物技术股份有限公司
10	2022018	猪 A 型塞内卡病毒病灭活疫苗 (QS 株)	齐鲁动物保健品有限公司、华南农业大学
11	2022058	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (A 型 XY 株)	北京生泰尔科技股份有限公司、北京华夏兴洋生物科技有限公司、华夏兴洋(江苏)生物科技有限公司
12	2023005	猪塞内卡病毒病灭活疫苗 (GD 株)	哈药集团生物疫苗有限公司

5.2 弱毒疫苗

Sharma 等^[73]构建了一株新型候选减毒活疫苗, 并验证对同源 SVA 攻毒的保护作用, 与接种野生型 SVA SD15-26 病毒比, 接种 rSVA mSacII 病毒的育肥猪没有明显临床症状, 血液、口腔、鼻腔分泌物和粪便中的病毒量较低。rSVA mSacII 病毒已经被致弱, 并保留了良好的免疫原性, 是预防 SVA 的良好候选疫苗。

5.3 病毒样颗粒(virus like-particles, VLPs)疫苗

VLPs 是由一种或多种病毒结构蛋白组装而成的高度结构化的蛋白质颗粒, 直径约 20~100 nm。VLPs 的一个独特特征是: 结构蛋白、包膜蛋白或衣壳蛋白与其他结构蛋白一起, 可以独立地或集体地自发自组装形成 VLPs, 而不需要病毒基因组, 因此, 任何病毒都可以用来开发 VLPs。VLPs 与天然病毒颗粒有着相同或相似的结构, 并且具有病毒的相关蛋白的天然构象, 因此可以刺激宿主产生免疫反应。因缺乏调节蛋白和感染性核酸, 不能自主复制, 故不具有感染性, 安全性高。从 20 世纪 80 年代开始, VLPs 就逐步替代传统疫苗成为了疫苗生产的第一选择。

SVA VLPs 多采用大肠杆菌表达系统进行表达, 表达率高, 操作简单, 成本低。Wu 等^[74]在通过原核表达系统, 表达 SVA VP0、VP3 和 VP1 等结构蛋白, 在体外缓冲液中自组装 VLPs; 用 SVA VLPs 免疫豚鼠, 可诱导高滴度的中和抗体。Mu 等^[75]为了研制 SVA VLPs 疫苗并评价其免疫效果, 采用大肠杆菌表达系统, 成功表达 SVA 的结构蛋白 VP0、VP1、VP3 等蛋白, 并成功完成 SVA VLPs 的组装, 用 ISA 201 佐剂乳化的 SVA VLPs 免疫猪, 诱导的中和抗体和特异性抗体水平与灭活 SVA 疫苗相似; 在攻毒后, VLPs 疫苗提供了与灭活 SVA 疫苗相似的保护水平。莫亚霞^[76]采用原核表达系统, 表达 SVA 结构蛋白 VP0、VP1、VP3, 并在体外形成完整的 VLPs。鲁荣^[77]通过原核表达系统, 表达了 SVA 的结构蛋白, 在体外环境下自组装形成 VLPs, 并且组装成的 VLPs 可以一定程度上降低病毒载量, 产生一定的体液免疫反应。

此外, SVA VLPs 还可用于包被抗原, 开发 ELISA 方法用于血清的检测。Bai 等^[78]用原核表达系统表达 SVA 的蛋白, 组装的 VLPs 作为包被抗原, 建

立竞争 ELISA 方法, 检测 342 份血清样本, 特异性和敏感性分别为 100% 和 94%。与 BIOSTONE SVA 抗体检测试剂盒和间接免疫荧光法的一致性分别为 90.0% 和 94.2%。

郭慧琛等^[79] 2018 年公开了一种 A 型 SVA VLPs 及其制备方法和用途。制备的 VLPs 疫苗免疫组中和抗体效价为 1:32~1:256, 未组装蛋白免疫组的为 1:16~1:45, VLPs 的免疫优势明显, 为基因工程疫苗研发提供了技术支持。

6 总结

SVA 作为微 RNA 病毒, 直到 2007 年才确认其是引起塞内卡病的病原, 临床特征为猪的水疱样病变^[1]。SVA 目前在世界多个国家被检出, 对全球生猪养殖业造成了巨大的经济损失, 引起了各国重视。

2015 年, SVA 首次传入我国, 目前已在我国大部分省份流行。SVA 的防控存在诸多亟待解决的问题。SVA 感染猪后出现口鼻部和冠状带水疱性病变, 其临床症状与其他水疱病非常相似, 临床不易识别, 需通过实验室手段鉴别。此外, 病毒间的重组使 SVA 在我国的遗传多样性变得更加复杂^[12]。为更好地监测 SVA 的流行情况, 做到更好的防控工作, 亟需建立一种快速、准确诊断 SVA 的方法。虽然血清学诊断和病毒分离鉴定可以对 SVA 的感染做出准确的诊断, 但操作复杂且耗时长。RT-PCR、荧光定量 PCR、RT-LAMP 等分子生物学方法, 特异性、灵敏性强, 是实验室检测 SVA 的常用方法, 多重荧光定量 PCR 可以对多种病原进行同时检测, 大大提高疾病的诊断效率。RT-PCR、荧光定量 PCR 对实验室要求比较高, 操作较为繁琐, 不适用于基层使用。RT-LAMP 方法可实现肉眼直接读取检测结果, 对实验室条件、仪器要求比较低, 操作也相对简单, 但因为灵敏度过高, 使用不当会造成气溶胶污染, 导致假阳性的出现; 而且对引物要求比较高, 因此制备特异、高效的 RT-LAMP 方法, 对基层临床检测 SVA 具有重要意义。

预防和控制 SVA 感染最有效的方法之一是疫苗接种, 因此研发高效疫苗十分必要。灭活疫苗在临床上是非常常见、常规的一类疫苗, 在许多疾病的预防和控制中发挥着至关重要的作用; 灭活疫苗的安全性高, 制作成本比较低, 且诱导抗体的时间长, 因此研发优质、有效的灭活疫苗可以作为 SVA 防控研究的重要技术方向。同时, 随着蛋白类疫苗表达系统和蛋白工艺的技术成熟, VLP 亚单位疫苗已成为研究的热点, 尤以大肠杆菌表达系统在制备病毒 VLP 方面更加高效, 成本也更低, 适合疫苗大规模生产。

猪 SVA 感染为新发病, 虽然没有商品化疫苗, 但是只要采取适当的措施, 如查明病畜、隔离病畜、扑杀病畜、集体治疗、消杀舍畜、控制传染源、阻断传播途径等, 完全能够预防疾病的发生。

参考文献:

- [1] LEME R A, ZOTTI E, ALCÂNTARA B K, et al. Senecavirus A: an emerging vesicular infection in brazilian pig herds [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2015, 62 (6): 603-611.
- [2] WU P, RODRÍGUEZ Y Y, HERSHEY B J, et al. Validation of a binary ethylenimine (BEI) inactivation procedure for biosafety treatment of foot-and-mouth disease viruses (FMDV), vesicular stomatitis viruses (VSV), and swine vesicular disease virus (SVDV) [J]. *Vet Microbiol*, 2021, 252: 108928.
- [3] SEGALÉS J, BARCELLOS D, ALFIERI A, et al. Senecavirus A [J]. *Vet Pathol*, 2017, 54 (1): 11-21.
- [4] ZHANG X, ZHU Z, YANG F, et al. Review of Seneca Valley virus: a call for increased surveillance and research [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 940.
- [5] LIN J Y, CHEN T C, WENG K F, et al. Viral and host proteins involved in picornavirus life cycle [J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16 (1): 103.
- [6] FERNANDES M H V, DE LIMA M, JOSHI L R, et al. A virulent and pathogenic infectious clone of Senecavirus A [J]. *J Gen Virol*, 2021, 102 (8): 001643.
- [7] WU H, LI C, JI Y, et al. The evolution and global spatiotemporal dynamics of Senecavirus A [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10 (6): e0209022.
- [8] QIAN S, FAN W, LIU T, et al. Seneca Valley virus suppresses host type I interferon production by targeting adaptor proteins MAVS, TRIF, and TANK for cleavage [J]. *J Virol*, 2017, 91 (16): e00823-17.
- [9] QIAN S, FAN W, QIAN P, et al. Isolation and full-genome sequencing of Seneca Valley virus in piglets from China, 2016 [J]. *Virology*, 2016, 13 (1): 173.
- [10] REDDY P S, BURROUGHS K D, HALES L M, et al. Seneca Valley virus, a systemically deliverable oncolytic picornavirus, and the treatment of neuroendocrine cancers [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99 (21): 1623-1633.
- [11] YANG F, ZHU Z, CAO W, et al. Immunogenicity and protective efficacy of an inactivated cell culture-derived Seneca Valley virus vaccine in pigs [J]. *Vaccine*, 2018, 36 (6): 841-846.
- [12] ZHU Z, YANG F, CHEN P, et al. Emergence of novel Seneca Valley virus strains in China, 2017 [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64 (4): 1024-1029.
- [13] YOKOYAMA T, MIZUGUCHI M, NABESHIMA Y, et al. Hydrogen-bond network and pH sensitivity in transthyretin: Neutron crystal structure of human transthyretin [J]. *J Struct Biol*, 2012, 177 (2): 283-290.
- [14] 张燕红, 史琳凯, 齐志涛, 等. 理化环境对塞内卡病毒复制的影响 [J]. *中国兽医杂志*, 2020, 56 (5): 94-96.
- [15] 胡振儒, 赵司森, 周回迎, 等. 温度和酸性环境对 A 型塞内卡病

- 毒稳定性的影响 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2023, 44 (4): 51-58.
- [16] STRAUSS M, JAYAWARDENA N, SUN E, et al. Cryo-electron microscopy structure of Seneca Valley virus procapsid [J]. *J Virol*, 2018, 92 (6): e01927-17.
- [17] HOUSTON E, GIMÉNEZ-LIROLA L G, MAGTOTO R, et al. Seroprevalence of Senecavirus A in sows and grower-finisher pigs in major swine producing-states in the United States [J]. *Prev Vet Med*, 2019, 165: 1-7.
- [18] MAGGIOLI M F, FERNANDES M H V, JOSHI L R, et al. Persistent infection and transmission of Senecavirus A from carrier sows to contact piglets [J]. *J Virol*, 2019, 93 (21): e00819-19.
- [19] TOUSIGNANT S J P, BRUNER L, SCHWARTZ J, et al. Longitudinal study of Senecavirus a shedding in sows and piglets on a single United States farm during an outbreak of vesicular disease [J]. *BMC Vet Res*, 2017, 13 (1): 277.
- [20] BAKER K L, MOWRER C, CANON A, et al. Systematic epidemiological investigations of cases of Senecavirus A in US swine breeding herds [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64 (1): 11-18.
- [21] LEME R A, OLIVEIRA T E S, ALFIERI A F, et al. Pathological, immunohistochemical and molecular findings associated with Senecavirus A-induced lesions in neonatal piglets [J]. *J Comp Pathol*, 2016, 155 (2/3): 145-155.
- [22] LIU C, LIU Y, LI X, et al. Pathogenicity analysis of weaned piglets challenged with novel emerging Senecavirus A in Fujian, China [J]. *Front Vet Sci*, 2021, 8: 694110.
- [23] JOSHI L R, MOHR K A, CLEMENT T, et al. Detection of the emerging picornavirus Senecavirus A in pigs, mice, and houseflies [J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 54 (6): 1536-1545.
- [24] HALES L M, KNOWLES N J, REDDY P S, et al. Complete genome sequence analysis of Seneca Valley virus-001, a novel oncolytic picornavirus [J]. *J Gen Virol*, 2008, 89 (Pt 5): 1265-1275.
- [25] GUO Z, CHEN X X, RUAN H, et al. Isolation of three novel Senecavirus A strains and recombination analysis among Senecaviruses in China [J]. *Front Vet Sci*, 2020, 7: 2.
- [26] PASMA T, DAVIDSON S, SHAW S L. Idiopathic vesicular disease in swine in Manitoba [J]. *Can Vet J*, 2008, 49 (1): 84-85.
- [27] VANNUCCI F A, LINHARES D C, BARCELLOS D E, et al. Identification and complete genome of Seneca Valley virus in vesicular fluid and sera of pigs affected with idiopathic vesicular disease, Brazil [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2015, 62 (6): 589-593.
- [28] SUN D, VANNUCCI F, KNUTSON T P, et al. Emergence and whole-genome sequence of Senecavirus A in Colombia [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64 (5): 1346-1349.
- [29] SAPORITI V, FRITZEN J T T, FERONATO C, et al. A ten years (2007-2016) retrospective serological survey for Seneca Valley virus infection in major pig producing states of Brazil [J]. *Vet Res Commun*, 2017, 41 (4): 317-321.
- [30] LEME R A, MIYABE F M, DALL AGNOL A M, et al. Seneca Valley virus RNA detection in pig feed and feed ingredients in Brazil [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2019, 66 (4): 1449-1453.
- [31] VIEIRA M V, YASUMITSU C Y, DALL AGNOL A M, et al. The third wave of Seneca Valley virus outbreaks in pig herds in southern Brazil [J]. *Braz J Microbiol*, 2022, 53 (3): 1701-1706.
- [32] WU Q, ZHAO X, BAI Y, et al. The first identification and complete genome of Senecavirus A affecting pig with idiopathic vesicular disease in China [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64 (5): 1633-1640.
- [33] SAENG-CHUTO K, RODTIAN P, TEMEEYASEN G, et al. The first detection of Senecavirus A in pigs in Thailand, 2016 [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65 (1): 285-288.
- [34] ARZT J, BERTRAM M R, VU L T, et al. First detection and genome sequence of Senecavirus A in Vietnam [J]. *Microbiol Resour Announc*, 2019, 8 (3): e01247-18.
- [35] BENNETT B, URZÚA-ENCINA C, PARDO-ROA C, et al. First report and genetic characterization of Seneca Valley virus (SVV) in Chile [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2022, 69 (6): e3462-e3468.
- [36] WU Q, ZHAO X, CHEN Y, et al. Complete genome sequence of Seneca Valley virus CH-01-2015 identified in China [J]. *Genome Announc*, 2016, 4 (1): e01509-e01515.
- [37] ZHAO X, WU Q, BAI Y, et al. Phylogenetic and genome analysis of seven Senecavirus A isolates in China [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64 (6): 2075-2082.
- [38] WANG H, LI C, ZHAO B, et al. Complete genome sequence and phylogenetic analysis of Senecavirus A isolated in northeast China in 2016 [J]. *Arch Virol*, 2017, 162 (10): 3173-3176.
- [39] BAI J, FAN H, ZHOU E, et al. Pathogenesis of a Senecavirus a isolate from swine in Shandong Province, China [J]. *Vet Microbiol*, 2020, 242: 108606.
- [40] ZHANG Z, NI B, ZHANG L, et al. Complete genome sequence of a novel Senecavirus A isolate from an asymptomatic pig in China [J]. *Microbiol Resour Announc*, 2019, 8 (14): e01660-18.
- [41] WANG H, NIU C, NONG Z, et al. Emergence and phylogenetic analysis of a novel Seneca Valley virus strain in the Guangxi Province of China [J]. *Res Vet Sci*, 2020, 130: 207-211.
- [42] WANG Z, ZHANG X, YAN R, et al. Emergence of a novel recombinant Seneca Valley virus in central China, 2018 [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7 (1): 180.
- [43] 穆国冬, 卢松岩, 张忠湛, 等. 吉林省塞内卡病毒流行情况监测预警分析 [J]. *吉林畜牧兽医*, 2019, 40 (12): 73-74.
- [44] 代蕾, 王金秀, 方莉, 等. 2018年海南省猪A型塞尼卡病毒血清流行病学调查 [J]. *中国动物检疫*, 2019, 36 (12): 8-11.
- [45] 王晶, 郭禹, 赵云环, 等. 河北省塞内卡病毒A VP2基因克隆和序列分析 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2022 (8): 69-71.
- [46] 张红丽, 王雅婷, 黄靖, 等. 浙江省猪群塞内卡病毒感染流行病学调查 [J]. *中国动物检疫*, 2022, 39 (10): 1-6.
- [47] 丁凯璐, 马雪青, 韩庆彦, 等. 2020—2022年甘肃地区猪塞内卡病毒血清学调查与分析 [J/OL]. *中国动物传染病学报* [2023-11-20]. <https://doi.org/10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20230711.001>.
- [48] 王晨. A型塞内卡病毒的分离鉴定及检测方法的建立 [D]. 重庆: 西南大学, 2023.
- [49] LEME R A, ALFIERI A F, ALFIERI A A. Update on Senecavirus infection in pigs [J]. *Viruses*, 2017, 9 (7): 170.
- [50] JOSHI L R, FERNANDES M H V, CLEMENT T, et al. Pathogenesis of Senecavirus A infection in finishing pigs [J]. *J Gen Virol*, 2016, 97 (12): 3267-3279.
- [51] LEME R A, OLIVEIRA T E, ALCÂNTARA B K, et al. Clinical manifestations of Senecavirus A infection in neonatal pigs, Brazil,

- 2015 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22 (7): 1238-1241.
- [52] OLIVEIRA T E S, MICHELAZZO M M Z, FERNANDES T, et al. Histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural evidence of spontaneous Senecavirus A-induced lesions at the choroid plexus of newborn piglets [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 16555.
- [53] 张志, 张丽丽, 吴发兴, 等. 猪塞尼卡病毒 TaqMan 探针荧光 RT-PCR 方法的建立和应用 [J]. *中国兽医学报*, 2020, 40 (1): 49-53.
- [54] 张蕾, 董春娜, 李静, 等. 猪塞尼卡病毒 A 型间接 ELISA 抗体检测方法的建立 [J]. *病毒学报*, 2022, 38 (5): 1182-1186.
- [55] DVORAK C M, AKKUTAY-YOLDAR Z, STONE S R, et al. An indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the identification of antibodies to Senecavirus A in swine [J]. *BMC Vet Res*, 2017, 13 (1): 50.
- [56] GOOLIA M, VANNUCCI F, YANG M, et al. Validation of a competitive ELISA and a virus neutralization test for the detection and confirmation of antibodies to Senecavirus A in swine sera [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2017, 29 (2): 250-253.
- [57] WANG M, MOU C, CHEN M, et al. Infectious recombinant senecavirus A expressing novel reporter proteins [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105 (6): 2385-2397.
- [58] LIU F, HUANG Y, WANG Q, et al. Construction of eGFP-tagged Senecavirus A for facilitating virus neutralization test and antiviral assay [J]. *Viruses*, 2020, 12 (3): 283.
- [59] GUO B, PIÑEYRO P E, RADEMACHER C J, et al. Novel Senecavirus A in swine with vesicular disease, United States, July 2015 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22 (7): 1325-1327.
- [60] RESENDE T P, MARTHALER D G, VANNUCCI F A. A novel RNA-based in situ hybridization to detect Seneca Valley virus in neonatal piglets and sows affected with vesicular disease [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (4): e0173190.
- [61] HOLE K, AMBAGALA T, NFOR C. Vesicular disease in pigs inoculated with a recent Canadian isolate of Senecavirus A [J]. *Can J Vet Res*, 2019, 83 (4): 242-247.
- [62] LI J, LIANG W, XU S, et al. Rapid and sensitive detection of Senecavirus A by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick method [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (5): e0216245.
- [63] 王淑娟, 王东方, 赵月龙, 等. 塞尼卡病毒荧光定量 RT-PCR 检测方法的建立及初步应用 [J]. *中国预防兽医学报*, 2019, 41 (5): 479-483.
- [64] ZHANG Z, ZHANG Y, LIN X, et al. Development of a novel reverse transcription droplet digital PCR assay for the sensitive detection of Senecavirus A [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2019, 66 (1): 517-525.
- [65] RESENDE T P, MARSHALL LUND L, ROSSOW S, et al. Next-generation sequencing coupled with in situ hybridization; a novel diagnostic platform to investigate swine emerging pathogens and new variants of endemic viruses [J]. *Front Vet Sci*, 2019, 6: 403.
- [66] WANG H, CONG F, ZENG F, et al. Development of a real time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method (RT-LAMP) for detection of a novel swine acute diarrhea syndrome coronavirus (SADS-CoV) [J]. *J Virol Methods*, 2018, 260: 45-48.
- [67] 谢彩华, 闫若潜, 班付国, 等. 塞尼卡病毒和口蹄疫病毒二重实时荧光 RT-PCR 鉴别检测方法的建立 [J]. *中国兽医学报*, 2019, 39 (12): 2298-2304.
- [68] 杨钰楚, 王晨曦, 周雪珂, 等. A 型塞尼卡病毒 RT-LAMP 检测方法的建立及应用 [J]. *江苏农业学报*, 2019, 35 (4): 868-873.
- [69] ZENG F, CONG F, LIU X, et al. Development of a real time loop-mediated isothermal amplification method for detection of Senecavirus A [J]. *J Virol Methods*, 2018, 261: 98-103.
- [70] BUCKLEY A, LAGER K. Efficacy of an inactivated Senecavirus A vaccine in weaned pigs and mature sows [J]. *Vaccine*, 2022, 40 (12): 1747-1754.
- [71] LI N, QIAO Q L, GUO H F, et al. Evaluation of immunogenicity and protective efficacy of a novel Senecavirus A strain-based inactivated vaccine in mice [J]. *Res Vet Sci*, 2021, 142: 133-140.
- [72] 孙瑶, 吴珊珊, 王贵华, 等. 猪塞尼卡谷病毒病灭活疫苗免疫持续期测定 [J]. *畜牧与兽医*, 2023, 55 (8): 73-78.
- [73] SHARMA B, FERNANDES M H V, DE LIMA M, et al. A novel live attenuated vaccine candidate protects against heterologous Senecavirus a challenge [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2660.
- [74] 伍春平, 茹毅, 田宏, 等. A 型塞尼卡病毒的病毒样颗粒的制备及其免疫原性分析 [J]. *生物工程学报*, 2021, 37 (9): 3211-3220.
- [75] MU S, SUN S, DONG H, et al. Potent protective immune responses to Senecavirus induced by virus-like particle vaccine in pigs [J]. *Vaccines (Basel)*, 2020, 8 (3): 532.
- [76] 莫亚霞. A 型塞尼卡病毒衣壳蛋白的原核表达及其病毒样颗粒的体外组装与效果评价 [D]. 成都: 四川农业大学, 2021.
- [77] 鲁荣. 塞尼卡病毒病毒样颗粒的制备与鉴定 [D]. 广州: 华南农业大学, 2022.
- [78] BAI M, WANG R, SUN S, et al. Development and validation of a competitive ELISA based on virus-like particles of serotype Senecavirus A to detect serum antibodies [J]. *AMB Express*, 2021, 11 (1): 7.
- [79] 郭慧琛, 孙世琪, 韩世充, 等. 一种 A 型塞尼卡病毒病毒样颗粒及其制备方法和用途: CN108642021B [P]. 2019-12-24.