

易鑫, 袁雪松, 钟纯燕, 等. 猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒、猪 δ 冠状病毒三联灭活疫苗的安全性和免疫持续期研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (5): 93-98.

YI X, YUAN X S, ZHONG C Y, et al. Study on safety and immune duration of TGEV, PEDV and PDCoV triple inactivated vaccine [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (5): 93-98.

猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒、猪 δ 冠状病毒三联灭活疫苗的安全性和免疫持续期研究

易鑫^{1,2#}, 袁雪松^{2,3#}, 钟纯燕⁴, 蔡旭航^{2,5}, 郭容利²,
李基棕^{2,3,6*}, 李彬^{2,3,6*}, 贡嘎^{1*}

(1. 西藏农牧学院动物科学学院, 西藏 林芝 860000;

2. 江苏省农业科学院兽医研究所/农业农村部兽用生物制品工程技术重点实验室, 江苏 南京 210014;

3. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095; 4. 黔西南民族职业技术学院生物工程系, 贵州 兴义 562400;

5. 西北农林科技大学动物医学院, 陕西 杨凌 712000; 6. 江苏大学生命科学学院, 江苏 镇江 212013;)

摘要: 旨在探究以猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV) SHXB 株、猪流行性腹泻病毒 (PEDV) ZJ/15 株和猪 δ 冠状病毒 (PDCoV) LYG/14 株制成的 TGEV、PEDV、PDCoV 三联灭活疫苗的安全性和免疫持续期。将 3 种病毒灭活、乳化、制备成为疫苗, 15 头 TGEV、PEDV、PDCoV 抗原抗体阴性的健康仔猪分为 2 组, 分别接种 2 和 4 mL 疫苗, 观察三联灭活疫苗的安全性并检测其二免 10 d 至 6 个月血清中和抗体效价及 ELISA 抗体效价。结果显示: 仔猪注射 2 和 4 mL 疫苗后均存活, 精神状态良好, 体温、食欲皆正常, 接种部位吸收良好, 无肿胀溃烂等不良情况发生; 在二免 10 d 后, TGEV、PEDV、PDCoV 平均中和抗体水平分别为 1:1024、1:64 以及 1:1024, 且 ELISA 结果也全部转为阳性; 中和抗体能持续到二免后 5 个月, 中和抗体效价分别为 1:32、1:32 以及 1:32。提示: 该三联灭活疫苗安全性优良, 且免疫持续时间长, 为疫苗的推广奠定了基础。

关键词: 猪传染性胃肠炎病毒; 猪流行性腹泻病毒; 猪 δ 冠状病毒; 三联灭活疫苗; 安全性; 免疫原性

中图分类号: S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)05-0093-06

Study on safety and immune duration of TGEV, PEDV and PDCoV triple inactivated vaccine

YI Xin^{1,2#}, YUAN Xuesong^{2,3#}, ZHONG Chunyan⁴, CAI Xuhang^{2,5}, GUO Rongli²,
LI Jizong^{2,3,6*}, LI Bin^{2,3,6*}, GONG Ga^{1*}

(1. College of Animal Science, Xizang Agriculture & Animal Husbandry University, Linzhi 860000, China;

2. Institute of Veterinary Medicine, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Veterinary Biological Engineering and Technology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China;

3. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

4. Biological Engineering Department, Southwest Guizhou Vocational and Technical College for Nationalities, Xingyi 562400, China;

5. College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712000, China;

6. Institute of Life Sciences, School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: This study was to investigate the safety and immune duration of the TGEV, PEDV, and PDCoV triple inactivated vaccine. The vaccine was developed by inactivating and emulsifying the TGEV (SHXB strain), PDCoV (LYG/14 strain), and PEDV (ZJ/15 strain).

收稿日期: 2024-06-12; 修回日期: 2025-03-12

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFD1801303); 江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX (24) 2001)

第一作者: 易鑫, 男, 硕士研究生; 袁雪松, 男, 硕士研究生。#共同第一作者

* 通信作者: 李基棕, 副研究员, 研究方向为动物腹泻病防控技术, E-mail: lijizong22@sina.com; 李彬, 研究员, 研究方向为动物腹泻病防控技术, E-mail: libinana@126.com; 贡嘎, 副教授, 研究方向为高原动物传染病学, E-mail: xzlgg@163.com。

To observe the safety of the triple inactivated vaccine, and detect the serum neutralizing antibody titer and ELISA antibody titer at 10 days to 6 months after immunization, fifteen healthy piglets with negative TGEV, PEDV and PDCoV antigens were used and divided into two groups and inoculated with 2 mL and 4 mL vaccine, respectively. The results showed that all piglets survived after vaccination, with good mental state, normal body temperature and appetite. Besides, the triple inactivated vaccine was well-absorbed at the injection site, with no swelling or ulceration observed. After 10 days of immunization, the mean neutralizing antibody levels of TGEV, PEDV and PDCoV were 1 : 1 024, 1 : 64 and 1 : 1 024, respectively; and all the ELISA results turned positive. The neutralizing antibodies lasted up to 5 months after immunization; and the mean neutralizing antibody levels of TGEV, PEDV and PDCoV were 1 : 32, 1 : 32 and 1 : 32, respectively. The present results indicated that the triple inactivated vaccine had good safety and long duration of immunity, which laid a foundation for promotion of the vaccine.

Keywords: TGEV; PEDV; PDCoV; triple inactivated vaccine; security; immunogenicity

传染性胃肠炎病毒 (TGEV)、猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 和猪 δ 冠状病毒 (PDCoV) 都属于冠状病毒科成员。TGEV 主要传播途径是粪口传播、呼吸道传播和母乳喂养传播^[1]。所有日龄的仔猪易感 TGEV, 由 TGEV 引起的仔猪腹泻多发于冬春季, 其疾病严重程度与感染仔猪的年龄呈负相关。1 周龄以内的仔猪发病率、死亡率最高, 临床表现为水样腹泻、呕吐、腥臭和夹杂有未消化的凝乳块。2 周龄仔猪为呕吐、水样腹泻和脱水症状。成年猪的症状包括短期体温升高、呕吐、腹泻、厌食和母猪停止泌乳, 死亡很少^[2]。PEDV 传播途径广, 主要经粪口、鼻腔黏膜、母乳传播给仔猪^[3-4]。各年龄段仔猪易感 PEDV, 由 PEDV 引起的腹泻多发于冬春季, 集中于无特异性免疫力和特异性免疫力低下的哺乳仔猪、架子猪和育肥猪。不同年龄猪群感染后症状不同, 7 日龄内仔猪感染后表现为严重腹泻、呕吐、脱水等症状甚至死亡; 2~4 周龄仔猪为轻度腹泻; 8~12 周龄仔猪无临床症状, 但产生针对 PEDV 的特异性抗体^[4]。PDCoV 传播的主要途径可能是粪口途径^[5]。PDCoV 可感染各个年龄段的猪, 对仔猪的致死率高达 30%~50%^[6], 临床表现为呕吐、急性腹泻、脱水等。仔猪感染 PDCoV 后表现的临床症状严重程度往往低于 PEDV^[7]。有研究显示, PDCoV 可以感染 5 种动物来源的 10 种细胞系, 还可以跨物种感染禽类、哺乳动物^[8]。2021 年有研究人员在患有急性发热性疾病的儿童血浆样品中检测到 PDCoV, 提示该病毒具有感染人的风险^[9]。

在猪生产实践中, 病毒性腹泻严重影响猪生产性能, 给我国养猪业带来巨大损失, 复杂的病原构成和病毒的变异是导致猪病毒性腹泻难以根治的重要原因。猪群常发生混合感染, 为临床诊断与疫病防控增加了难度^[10]。合理的免疫疫苗则会十分有效地减少经济损失, 减少猪腹泻病原的流行性传播。目前 TGEV、PEDV 疫苗是控制猪病毒性腹泻的主要疫苗,

且大多数商品化的 TGEV 疫苗是以减毒活疫苗或灭活疫苗结合 PEDV 或者 PoRV 制备为二联或三联疫苗, 缺乏针对 PDCoV 的特异性疫苗。近年来, 我国学者已开发多种 PDCoV 疫苗, 例如灭活疫苗、减毒活疫苗、亚单位疫苗和病毒载体疫苗等。目前, 国内多所高校与多家单位联合研制 PDCoV 疫苗已获临床试验批件, 进入临床研究阶段^[11]。

目前尚无有效的 TGEV、PEDV、PDCoV 三联疫苗, 因此本研究利用 TGEV、PEDV、PDCoV 3 株毒株制备了猪腹泻病三联灭活疫苗, 并对其安全性及免疫持续期进行评价, 以期研制一种能够有效预防 3 种仔猪病毒性腹泻病, 减少养猪业由腹泻造成的损失。

1 材料与方法

1.1 细胞及毒株

ST 细胞、Vero 细胞、LLC-PK1 细胞由江苏省农科院兽医研究所保存。

TGEV SHXB 株和 PDCoV LYG/14 株, 由江苏省农业科学院兽医研究所分离、鉴定和保存; PEDV ZJ/15 株, 由浙江大学分离鉴定。

1.2 主要试剂

高糖 DMEM 购自上海源培生物科技有限公司, 胎牛血清购自 Biological Industries 公司, 胰酶-EDTA 消化液购自南京生航生物技术有限公司, 甲醛购自广东省精细化学品工程技术研究开发中心, Gel 01 佐剂购自法国 Seppic 公司。

1.3 试验动物

3~5 日龄 TGEV、PEDV、PDCoV 抗原抗体阴性猪, 购自扬州某猪场。

1.4 病毒增殖

取生长良好的 ST、Vero 及 LLC-PK1 细胞, 分别使用含终浓度为 20~30、50~60 和 20~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 胰酶的无血清培养基稀释至 3.0×10^6 、 2.5×10^6 、 4.0×10^6 个/mL, 按照病毒感染复数 (MOI) 为 0.1~0.2、

0.005 ~ 0.01、0.005 ~ 0.01 接入 TGEV、PEDV、PDCoV, 置 37 °C、130 r/min, 含 5% CO₂ 细胞培养箱继续培养 24~36 h、48~54 h、24~36 h, 收取细胞培养物进行病毒含量测定。

1.5 病毒半数组织培养感染量 (TCID₅₀) 测定

采用 96 孔培养板进行, 将培养的 TGEV、PEDV 和 PDCoV 用含 5.0 μg/mL 胰酶的 DMEM 培养液分别做 8 个梯度稀释, 即 10⁻¹ ~ 10⁻⁸ 稀释再分别接种于已长成单层 ST、Vero 及 LLC-PK1 细胞, 每个稀释度设置 8 个复孔, 100 μL/孔, 置 37 °C 细胞培养箱, 在 96 h 内观察并记录出现细胞病变效应 (CPE)。根据 Reed-Muench 法计算病毒的 TCID₅₀。

1.6 病毒灭活及灭活检验

向病毒滴度合格的 TGEV、PEDV 和 PDCoV 病毒液中分别加入终浓度为 0.1% 甲醛溶液, 37 °C 灭活 24 h。灭活后的病毒液用病毒维持液 10 倍稀释后, 接种在生长状态良好的细胞上 37 °C 培养 5 d。设置未接种的细胞为对照, 培养 5 d, 每日观察病变。冻融 1 次收获细胞培养液, 再按上述方法盲传 2 代, 观察 CPE, 灭活病毒液和对照细胞均应无细胞病变产生。

1.7 疫苗的配制

使用无菌 PBS 溶液将灭活好的 3 种病毒液 (TGEV、PEDV 和 PDCoV) 分别稀释至 10^{8.0}、10^{7.0} 和 10^{7.0} TCID₅₀/mL; 将稀释好的 3 种病毒液按 1:5:3 (质量比) 混合均匀, 然后与 Gel 01 佐剂按照 9:1 的比例 (质量比) 混合, 低速搅拌 30 min。

1.8 无菌检验

按现行《中国兽药典》附录检验, 步骤如下: 配制若干硫乙醇酸盐流体培养基 (TG) 和酪胺琼脂培养基 (GA) 分别用于厌氧菌和需氧菌的检查, 将配制的半成品疫苗用倾注法接种于上述两种培养基上, 置于 37 °C 和 25 °C 两种条件下培养 7 d, 观察是否有菌落生长。

1.9 疫苗的安全性试验

将 15 头 3~5 日龄仔猪随机分为 3 组, 每组 5 头, 第 1 组颈部肌肉注射 2.0 mL 疫苗, 第 2 组颈部肌肉注射 4.0 mL 疫苗, 第 3 组颈部肌肉注射 4 mL 生理盐水作为对照组。连续观察 14 d, 每日测量体温, 观察是否有食欲、精神异常现象, 接种部位是否有明显肿胀溃烂等不良反应。

1.10 疫苗免疫效力试验方法

1.10.1 中和抗体效价检测

上述疫苗首免后 21 d 进行二次免疫。疫苗接种后分别于首免后 14 d, 二免后 10 d、1 个月、2 个月、5 个月及 6 个月采血, 分别检测其 PEDV、TGEV、PDCoV 中和抗体效价。

将待检血清 56 °C 灭活 30 min, 以 TGEV 为例, 在 96 孔细胞版中用高糖 DMEM 将血清作 8 个稀释度, 即 10⁻¹ ~ 10⁻⁸, 并设置阴性血清与阳性血清对照。将 TGEV 病毒液用高糖 DMEM 稀释至 200 TCID₅₀/0.1 mL 与稀释后的血清等体积混合, 置于 37 °C 含 5% CO₂ 细胞培养箱感作 1 h 后, 按 100 μL/孔接种于长满单层 ST 细胞的 96 孔板中 (PEDV、PDCoV 分别接种于 Vero、LLC-PK1 细胞)。将细胞培养板置于 37 °C 含 5% CO₂ 细胞培养箱中吸附 2.5 h (PEDV、PDCoV 分别吸附 2 h、3 h)。吸附结束后, 将 96 孔板中的细胞用高糖 DMEM 清洗 3 次, 加入维持液 120 μL/孔 (TGEV 病毒维持液为 5 μg/mL 接毒用胰酶的高糖 DMEM, PEDV、PDCoV 病毒维持液为含 10 μg/mL 接毒用胰酶的高糖 DMEM), 置 37 °C 含 5% CO₂ 细胞培养箱 3~5 d, 每日观察并记录 CPE。以细胞不发生病变的最高稀释倍数为被检血清的中和效价。

1.10.2 间接 ELISA 抗体检测方法

疫苗接种后分别于首免后 14 d, 二免后 10 d、1 个月、2 个月、5 个月及 6 个月采血, 按照文献 [12] 建立的间接 ELISA 检测方法, 检测其 TGEV、PEDV、PDCoV IgG 抗体效价。

2 结果与分析

2.1 病毒增殖

使用生长良好的 ST、Vero 及 LLC-PK1 细胞进行病毒增殖。结果显示, ST、Vero 及 LLC-PK1 细胞在接种病毒前, 生长形态良好, 排列整齐; 分别接种 TGEV、PEDV、PDCoV 24 h 后, 出现不同形态的病变特征, 如图 1 所示。

2.2 病毒 TCID₅₀

经测定, 收获的 TGEV、PEDV、PDCoV 病毒液病毒含量分别为 10^{7.5}、10^{8.5} 和 10^{7.0} TCID₅₀/mL, 将其分别稀释成 10^{7.0}、10^{8.0} 和 10^{7.0} TCID₅₀/mL 以满足配制疫苗的要求。

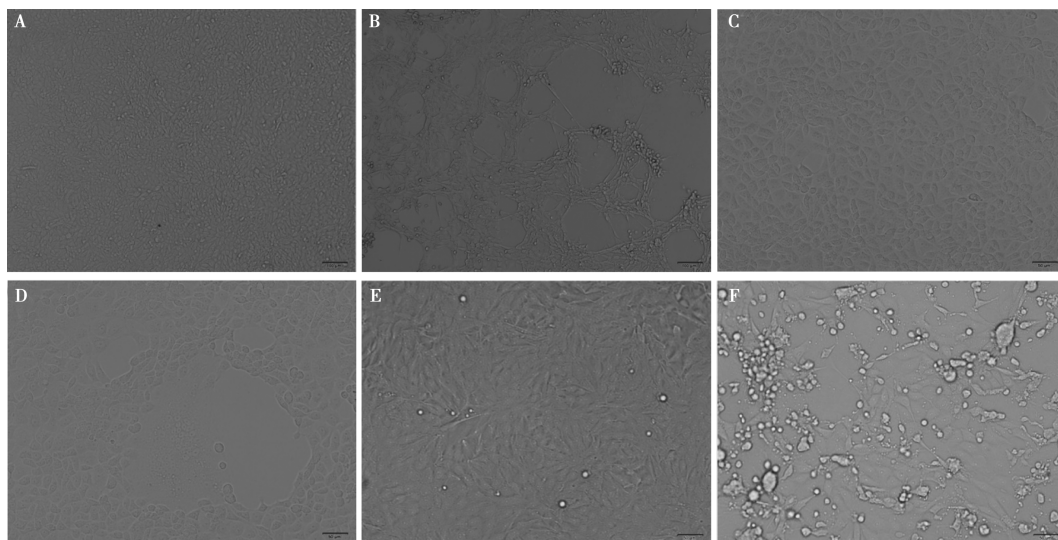


图 1 TGEV、PEDV、PDCoV 接种前后细胞形态特征
A. 正常 ST 细胞; B. 接种 TGEV 24 h 后细胞病变; C. 正常 Vero 细胞; D. 接种 PEDV 24 h 后细胞病变; E. 正常 LLC-PK1 细胞; F. 接种 PDCoV 24 h 后细胞病变。标尺=100 μm (A、B), 标尺=50 μm (C、D、E、F)。

图 1 TGEV、PEDV、PDCoV 接种前后细胞形态特征

2.3 半成品检验

2.3.1 无菌检验

按现行《中国兽药典》附录检验,结果显示,含硫乙醇酸盐流体(TG)小管、酪胺琼脂培养基(GA)斜面在37℃条件和25℃条件培养7d均无菌生长,即无菌检验合格。

2.3.2 灭活检验

制苗用的3种病毒液(TGEV、PEDV、PDCoV)经甲醛溶液灭活后,分别经ST、Vero及LLC-PK1细胞盲传两代,结果显示均无可见CPE出现,同时对对照组细胞也无CPE出现。

2.4 灭活疫苗的检验

经3种病毒稀释液混合后,再与佐剂混合搅拌,制备的疫苗外观为均匀水性混悬液,久置后底部有少量沉淀,振荡后呈均匀水性混悬液,性状符合质量标准。

2.5 疫苗的安全性试验

颈部肌肉注射2.0、4.0 mL灭活疫苗及4.0 mL生理盐水对照组仔猪,在接种后14 d均存活,精神状态均良好,体温、采食、饮水情况皆正常,接种部位吸收良好,无肿胀溃烂等不良情况发生,说明三联灭活疫苗的安全性优良。

2.6 疫苗免疫效力试验

2.6.1 中和抗体检测

如图2所示,首免14 d后,70% (7/10) 的仔

猪出现大于1:8的TGEV中和抗体(中和抗体阳性);二免后10 d所有仔猪的TGEV中和抗体水平显著提升,100% (10/10)的仔猪TGEV中和抗体高于1:128;二免后1个月TGEV中和抗体水平达到峰值,为1:1 024;二免后5个月依旧有100% (10/10)的仔猪有TGEV中和抗体,直到二免后6个月仍有40% (4/10)的仔猪中和抗体阳性。

首免14 d后,有60% (6/10)的仔猪出现大于1:8的PEDV中和抗体(中和抗体阳性);二免后10 d仔猪PEDV中和抗体水平达到峰值,为1:64,且70% (7/10)的仔猪PEDV中和抗体高于1:32;二免后5个月依旧有90%的仔猪有PEDV中和抗体,直到二免后6个月仍有70% (7/10)的仔猪中和抗体阳性。

首免14 d后,有90% (9/10)的仔猪出现大于1:8的PDCoV中和抗体(中和抗体阳性);二免后10 d PDCoV中和抗体水平达到峰值,为1:1 024,且90% (9/10)的仔猪PDCoV中和抗体高于1:128;二免后5个月依旧有90% (9/10)的仔猪有PDCoV中和抗体,直到二免后6个月仍有40% (4/10)的仔猪中和抗体阳性。

结果说明三联灭活疫苗的免疫保护至少可以持续到二免后5个月内。

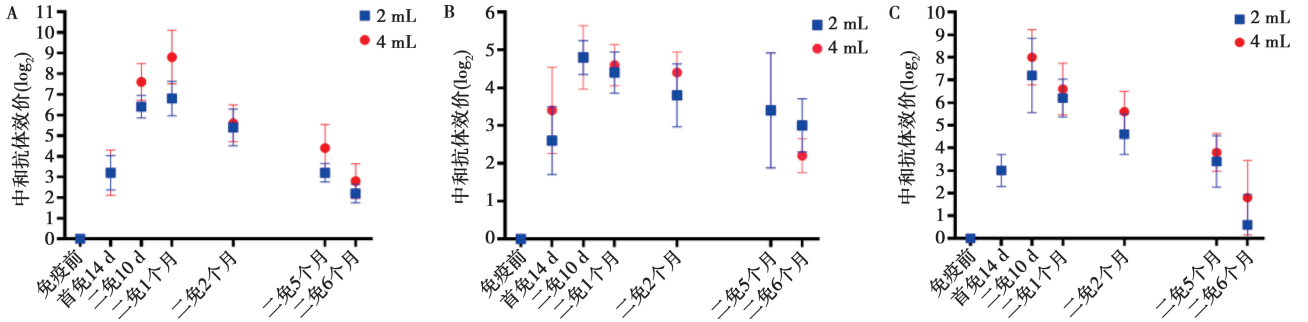


图2 仔猪免疫后 TGEV (A)、PEDV (B)、PDCoV (C) 中和抗体效价比较

2.6.2 间接 ELISA IgG 抗体检测

疫苗免疫后，所有仔猪产生相应抗体，TGEV 在二免 1 个月达到峰值，PEDV、PDCoV 在二免 10 d 达

到峰值，随后抗体水平逐渐减少，直到二免后 5 个月抗体依旧呈阳性，如图 3 所示。表明三联疫苗具有良好的免疫原性，预期能够产生较好的免疫保护效果。

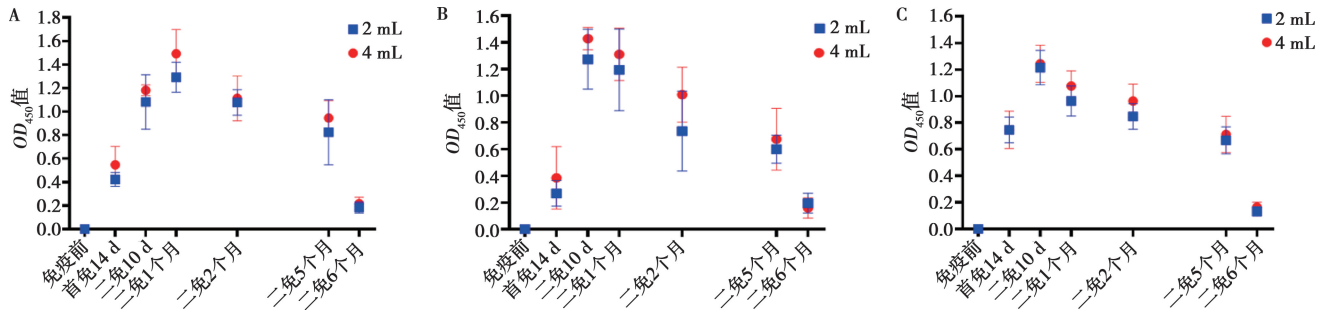


图3 仔猪免疫后 TGEV (A)、PEDV (B)、PDCoV (C) 间接 ELISA 抗体消长规律比较

3 讨论

仔猪病毒性腹泻因其较高的流行率与致死率，对我国养猪产业造成极大的经济损失。不只是国内，其世界范围内也造成重大的影响，自 20 世纪以来，PEDV 在欧洲^[13]、亚洲^[14-15]与美洲^[16]都造成过大范围流行；TGEV 也曾是引起仔猪腹泻并死亡的主要原因^[17]；而 PDCoV 作为一种新发的仔猪腹泻病原，已经能够在全球各地被广泛地检测出来^[18]。作为能够引起仔猪腹泻的病原，TGEV、PEDV 与 PDCoV 所引起的临床症状相似，不易分辨，并且这 3 种冠状病毒常呈混合感染，例如 2012 年 11 月至 2015 年 3 月，江西省 PEDV 与 PDCoV 混合感染率有 19.66%^[19]；河南省 101 份 PDCoV 阳性病料中有 61 份 (60.40%) 检出了 PEDV 阳性^[6]；韦学雷等^[20]对河南省 176 份猪腹泻样品进行多重 RT-PCR 检测，发现 2 份病料存在 PDCoV、PEDV 和 TGEV 混合感染情况，而 TGEV 阳性病料仅 4 份。所以开发一种能够同时对这三种腹泻病原起到保护效果的疫苗，对解决病毒性腹泻在仔猪上的传播有着重大的意义。

目前防控由冠状病毒引发的仔猪腹泻最有效的方

法依旧是疫苗免疫。Cao 等^[21]将分离出来的 PDCoV NH 株灭活，制备成 PDCoV 灭活苗，其免疫保护率可达到 87.1%，且免疫组的临床症状与病理变化皆较攻毒对照组有所减弱。佟有恩等^[22]研制过 PEDV、TGEV 二联灭活疫苗与二联弱毒活疫苗，二联灭活苗的被动免疫保护率有 85.1%，而二联活疫苗的被动免疫保护率可达到 97.7%，但弱毒苗存在一定的安全问题，适合紧急预防接种。目前市面上还没有 TGEV、PEDV、PDCoV 三联灭活疫苗，所以经常出现仅免疫一种疫苗后仔猪依旧发生腹泻的情况，而同时免疫多种疫苗又可能会提高成本，耗时耗力。刘德琴等^[23]利用生物反应器微载体细胞培养技术将配苗的 PEDV 滴度提高到 10^{-8} TCID₅₀/mL，制成能够提供较高免疫保护效果并增加母猪初乳抗体水平的灭活苗。马思奇等^[24]将滴度为 $10^{8.0} \sim 10^{8.5}$ TCID₅₀/mL 的 PEDV 与 TGEV 制成二联灭活苗也产生了较好的主动及被动免疫保护效果。本次试验将配苗的 TGEV、PEDV 和 PDCoV 滴度分别提高到 $10^{9.5}$ 、 $10^{8.5}$ 和 $10^{8.5}$ TCID₅₀/mL，病毒滴度均高于同类产品。仔猪接种该疫苗后均存活，且精神、食欲皆正常，接种部位吸收良好，无不良情况发生。

综上,本研究选用 TGEV (SHXB 株)、PEDV (ZJ/15 株) 和 PDCoV (LYG/14 株) 制备成的三联灭活疫苗可以使免疫仔猪产生较高的中和抗体水平与 ELISA 抗体水平,且其一直从二免 10 d 持续到二免 6 个月,抗体水平与免疫剂量呈正相关。本研究为解决由冠状病毒引起的仔猪腹泻提供了新的方向。

参考文献:

- [1] YAN Q, LIU X, SUN Y, et al. Swine enteric coronavirus; diverse pathogen - host interactions [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (7): 3953.
- [2] CHEN Y, ZHANG Y, WANG X, et al. Transmissible gastroenteritis virus; an update review and perspective [J]. *Viruses*, 2023, 15 (2): 359.
- [3] 刘维哲, 罗成刚, 袁蓉, 等. 一株猪流行性腹泻病毒强毒株的分离与鉴定 [J]. *畜牧兽医学报*, 2024, 55 (7): 3049-3063.
- [4] SHIBATA I, TSUDA T, MORI M, et al. Isolation of porcine epidemic diarrhea virus in porcine cell cultures and experimental infection of pigs of different ages [J]. *Vet Microbiol*, 2000, 72 (3/4): 173-182.
- [5] 李任峰, 卢晓辉, 姜金庆, 等. 猪新发冠状病毒研究进展 [J]. *畜牧兽医学报*, 2020, 51 (10): 2359-2366.
- [6] ZHANG H, LIANG Q, LI B, et al. Prevalence, phylogenetic and evolutionary analysis of porcine deltacoronavirus in Henan province, China [J]. *Prev Vet Med*, 2019, 166: 8-15.
- [7] KOONPAEW S, TEERAVECHYAN S, FRANTZ P N, et al. PEDV and PDCoV pathogenesis: the interplay between host innate immune responses and porcine enteric coronaviruses [J]. *Front Vet Sci*, 2019, 6: 34.
- [8] 瞿欢, 胡靖飞, 李施倩, 等. 不同动物源性细胞系对猪丁型冠状病毒的易感性 [J]. *微生物学报*, 2022, 62 (2): 672-685.
- [9] LEDNICKY J A, TAGLIAMONTE M S, WHITE S K, et al. Independent infections of porcine deltacoronavirus among Haitian children [J]. *Nature*, 2021, 600 (7887): 133-137.
- [10] 石迎, 陶洁, 李本强, 等. 适应肠道细胞的猪德尔塔冠状病毒对仔猪的致病性分析 [J]. *中国农业大学学报*, 2024, 29 (5): 56-64.
- [11] 刘诗雨, 李彬. 仔猪腹泻病流行现状及防控技术研究进展 [J]. *广东畜牧兽医科技*, 2023, 48 (3): 1-7.
- [12] 钱嘉莉, 宋旭, 张雪, 等. 猪流行性腹泻病毒 S1 蛋白 IgG 抗体间接 ELISA 检测方法的建立 [J]. *中国兽医科学*, 2023, 53 (3): 269-276.
- [13] BONIOTTI M B, PAPETTI A, LAVAZZA A, et al. Porcine epidemic diarrhea virus and discovery of a recombinant swine enteric coronavirus, Italy [J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22 (1): 83-87.
- [14] LEE S, LEE C. Complete genome sequence of a novel S-insertion variant of porcine epidemic diarrhea virus from South Korea [J]. *Arch Virol*, 2017, 162: 2919-2922.
- [15] LIANG W, ZHOU D, GENG C, et al. Isolation and evolutionary analyses of porcine epidemic diarrhea virus in Asia [J]. *PeerJ*, 2000, 8: e10114.
- [16] DAVIES P R. The dilemma of rare events: porcine epidemic diarrhea virus in North America [J]. *Prev Vet Med*, 2015, 122: 235-241.
- [17] 赵晓春, 宋丽, 郭昭林. 猪冠状病毒病的危害及其防治 [J]. *畜牧兽医科技信息*, 2023 (5): 24-29.
- [18] LUO J, FANG L, DONG N, et al. Porcine deltacoronavirus (PDCoV) infection suppresses RIG-I-mediated interferon- β production [J]. *Virology*, 2016, 495: 10-17.
- [19] SONG D, ZHOU X, PENG Q, et al. Newly emerged porcine deltacoronavirus associated with diarrhoea in swine in China: identification, prevalence and full-length genome sequence analysis [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2015, 62: 575-580.
- [20] 韦学雷, 梁青青, 曹贝贝, 等. 猪 Delta 冠状病毒、猪传染性胃肠炎病毒和猪流行性腹泻病毒多重 RT-PCR 检测方法的建立及应用 [J]. *中国兽医学报*, 2018, 38 (1): 11-16.
- [21] CAO L, ZHU X, WANG X, et al. Pathogenicity of porcine deltacoronavirus (PDCoV) strain NH and immunization of pregnant sows with an inactivated PDCoV vaccine protects 5-day-old neonatal piglets from virulent challenge [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2020, 67 (2): 572-583.
- [22] 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 [J]. *中国预防兽医学报*, 1999 (6): 406-410.
- [23] 刘德琴, 肖敏, 卢昌, 等. 猪流行性腹泻病毒灭活疫苗临床免疫效果评价 [J]. *猪业科学*, 2022, 39 (4): 76-78.
- [24] 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细胞灭活疫苗的研究 [J]. *中国畜禽传染病*, 1995 (6): 25-29.