

郭桂兰, 王凯莉, 王鑫鑫, 等. 福州市某规模化猪场 3 种腹泻病毒流行情况调查及猪流行性腹泻病毒 S 基因序列遗传变异分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (7): 131-138.

GUO G L, WANG K L, WANG X X, et al. Epidemiological survey of three diarrheal viruses and genetic variation analysis of porcine epidemic diarrheal virus S gene in a large-scale pig farm in Fuzhou City [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (7): 131-138.

福州市某规模化猪场 3 种腹泻病毒流行情况调查及猪流行性腹泻病毒 S 基因序列遗传变异分析

郭桂兰, 王凯莉, 王鑫鑫, 郭桂杰*

(福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 为了解福建地区致猪腹泻病病毒的流行现状和猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 的变异情况, 2023—2024 年从福州市某疑似感染腹泻病毒的规模化猪场采集发病仔猪样品, 经 RT-PCR 进行 PEDV、猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV) 和猪轮状病毒 (PoRV) 核酸检测, 并对 PEDV 阳性病料进行纤突蛋白 (S) 基因序列扩增和测序, 进行遗传演化分析。结果: PEDV、TGEV 和 PoRV 检出率分别为 32.29% (31/96)、30.21% (29/96) 和 4.17% (4/96), 其中 PEDV 和 TGEV 混合感染 17 份 (17.71%), TGEV 和 PoRV 混合感染 1 份 (1.04%), PEDV、TGEV 和 PoRV 三重混合感染 1 份 (1.04%)。从 10 份 PEDV 阳性猪肠道组织样品中获得 10 株 PEDV 的 S 基因序列, 全长 3 753 ~ 4 179 bp, 编码 1 250 ~ 1 392 aa, 10 株 PEDV 的 S 基因核苷酸及氨基酸序列同源性分别为 94.9%~99.8% 和 83.8%~99.7%。S 基因系统发育进化树结果表明, 6 株属于 G I b 亚型, 4 株属于 G II b 亚型, 且 4 株 PEDV 的 S 基因为独立的一小分支。与经典毒株 CV777 的 S 基因序列相比, 10 株 PEDV 的 S 基因核苷酸及氨基酸序列同源性分别为 93.6%~96.9% 和 83.9%~95.9%, 存在 23 个保守氨基酸位点突变, 在 162 aa 处缺失 1 个氨基酸 (R), G I b 亚型的 6 株 PEDV S 蛋白存在 10 个保守氨基酸位点突变; G II b 亚型的 4 株 PEDV S 蛋白存在 45 个保守氨基酸位点突变, 在 59~62 aa 处有 4 个氨基酸 (QGVN) 插入, 163 aa 处缺失 1 个氨基酸 (D)。综上, 福建某规模化猪场 PEDV 流行率较高, 流行毒株基因型呈现多样性, 说明流行株持续变异, 临床上应予以高度重视。

关键词: 猪流行性腹泻病毒; 猪轮状病毒; 猪传染性胃肠炎病毒; 鉴定; 序列分析; 福州

中图分类号: S825.28 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)07-0131-08

Epidemiological survey of three diarrheal viruses and genetic variation analysis of porcine epidemic diarrheal virus S gene in a large-scale pig farm in Fuzhou City

GUO Guilan, WANG Kaili, WANG Xinxin, GUO Guijie*

(College of Animal Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to understand the epidemic status of porcine diarrhea-causing viruses and the variation of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in Fujian Province, this study collected samples from diseased piglets in a large-scale pig farm suspected of being infected with diarrheal viruses, in Fuzhou City, Fujian Province, from 2023 to 2024. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the nucleic acid of PEDV, transmissible gastroenteritis virus of pigs (TGEV) and porcine rotavirus (PoRV). Next, the spike protein (S) gene sequences of the PEDV-positive samples were amplified and sequenced, and genetic evolution and sequence analysis were conducted to identify the genetic variation of the S gene. The results showed that the positive rates of PEDV, TGEV and PoRV were 32.29% (31/96), 30.21% (29/96) and 4.41% (4/96), respectively; and there were 17 samples (17.71%) were of PEDV and TGEV mixed infection, 1 sample (1.04%) was of TGEV and PoRV mixed infection, 1 sample (1.04%) was of PEDV, TGEV and PoRV triple mixed infections. The S gene sequences of ten PEDV strains were obtained from the PEDV-positive intestinal tissue samples, with a full length ranging from 3753 bp to 4179 bp, encoding 1250 to 1392 amino acids. The nucleotide and amino acid sequence homologies among the S genes of the 10 PEDV strains were 94.9%~99.8% and 83.8%~99.7%, respectively. The results of the phylogenetic tree of the S gene indicated that 6 strains belonged to the G I b subtype, and 4 strains belonged to the G II b subtype. Additionally, the S gene of 4 PEDV strains formed a sep-

收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-04-30

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目 (2024J01388)

第一作者: 郭桂兰, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 郭桂杰, 博士, 教授, 主要从事动物病毒感染致病机理、免疫机理及防控技术研究, E-mail: guojie1125@163.com。

arate small branch. Compared with the S gene sequence of CV777, the nucleotide and amino acid sequence homologies of S genes of the 10 PEDV strains were 93.6%–96.9% and 83.9%–95.9%, respectively. And a total of 23 conserved amino acid mutations were identified, including a deletion of 1 amino acid (R) at position 162 aa. Among the G I b subtype strains, 10 amino acid mutations were observed in the S protein, while the G II b subtype strains exhibited 45 amino acid mutations, including an insertion of 4 amino acids (QGVN) at positions 59–62 aa and a deletion of 1 amino acid (D) at position 163 aa. These results indicated that the prevalence of PEDV is relatively high in the large-scale pig farm in Fujian Province, and the genotypes of the prevalent strains are diverse, suggesting that the prevalent strains are continuously mutating.

Keywords: porcine epidemic diarrhea virus; porcine rotavirus; transmissible gastroenteritis virus of swine; identification; sequence analysis; Fuzhou

病毒感染导致的仔猪腹泻是影响养猪业健康发展的主要疾病，猪流行性腹泻病毒（porcine epidemic diarrhea virus, PEDV）是导致仔猪腹泻的主要病原^[1-2]，且临床上常与猪传染性胃肠炎病毒（transmissible gastroenteritis virus, TGEV）和猪轮状病毒（porcine rotavirus, PoRV）发生混合感染^[3]。仔猪感染这3种腹泻病毒，临床表现均以呕吐、厌食、腹泻、脱水为主要特征，传统临床诊断方法难以区分这3种病毒感染的疾病^[1,4-5]。猪的腹泻问题一直是影响猪场生产效益和猪健康的重要因素。近年来，随着养猪业的不断发展和规模化程度的提高，猪的腹泻疾病呈现出复杂多变的态势，给猪场的疾病防控带来巨大挑战^[6]。

PEDV是引起猪腹泻的重要病原之一，尽管各年龄段猪均可感染PEDV，但哺乳仔猪感染PEDV后致死率可达100%^[7-8]。2010年10月，PEDV在中国南方各省大规模暴发，并迅速席卷全国，给养猪业造成重大经济损失，其发病率至今居高不下^[7,9-10]。PEDV是单股正链RNA病毒，基因组全长约28 kb，纤突蛋白（S）是PEDV最重要的膜蛋白，以三聚体的形式存在于病毒粒子表面，主要介导病毒的吸附和入侵过程，还能够诱导机体产生针对PEDV的中和抗体等免疫反应^[11-15]。S基因极易发生变异，从而使病毒抗原性发生改变，最终可能导致猪群疫苗免疫失败^[16]。目前，临床上常用的经典疫苗毒株（如CV777、DR13等）很难有效交叉中和PEDV新型重组变异毒株，不能为猪群提供可靠免疫保护^[14]。因此，通过对S基因序列的遗传变异分析，能够深入了解病毒的进化规律、毒力变化及其与宿主的互作关系，为PED的防控提供理论依据。

本研究对2023—2024年福建省福州市某规模化猪场采集的96份疑似腹泻病毒感染的仔猪小肠和肛拭子样品进行PEDV、TGEV和PoRV检测，了解这3种病毒的流行情况以及混合感染状况，进而对其中10份PEDV阳性样品进行S基因分段扩增及测序，利用生物信息学软件对PEDV S基因序列进行遗传演

化分析，为福建地区猪流行性腹泻的防控和疫苗开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 病毒及病料来源

PEDV、TGEV、PoRV阳性对照来源于哈尔滨维科生物有限公司疫苗产品。临床样品来源于2023—2024年福建省福州市某规模化猪场送检的临床腹泻病料，包括33份腹泻猪的肛拭子和63份腹泻病死猪的肠道组织，共96份。发病仔猪的临床症状为呕吐、腹泻、严重脱水，最后死亡。该猪场在发病前已实施PEDV和TGEV疫苗免疫程序，但依然暴发性腹泻疾病。

1.2 主要试剂和仪器

FastPure Viral DNA/RNA Mini Kit Pro-BOX 2、HiScript Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)、HiScript III 1st Starand cDNA Synthesis Kit (+gDNA wiper) 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；通用型DNA纯化回收试剂盒购自天根生化科技（北京）有限公司；2×Taq PCR StarMix (Dye)、StarMarker D2000、StarMarker D2000 Plus 购自北京康润诚业生物科技股份有限公司；pMD18-T载体试剂盒购自TaKaRa公司；Trans 5α感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司。

1.3 引物设计与合成

参考文献[17-18]设计病毒特异性检测引物及PEDV S基因全长扩增引物（表1），引物由天津擎科生物技术有限公司合成。

1.4 病料处理

将肠道组织样品剪碎，放入预冷的研磨器中，加入适量含有青霉素和链霉素的PBS，研磨至糊状；肛拭子样品直接加入适量含有青霉素和链霉素的PBS。将以上处理好的样品反复冻融3次，12 000 r/min离心10 min，取上清液，用0.22 μm过滤器过滤，置于-80℃冻存，备用。

表 1 病毒特异性检测引物及 PEDV S 基因全长扩增引物

引物名称	引物序列 (5'→3')	片段长度/bp
PEDV-M-F	TTTCAGCATCCTTATGGCTT	236
PEDV-M-R	TAGCAACCTTATAGCCCTCT	
TGEV-N-F	GGAAGAGAAGTGCAGGTAAA	418
TGEV-N-R	ATCTCAACCTGTGTGCATC	
PoRV-VP7-F	ATGTATGGTATTGAATATAC	620
PoRV-VP7-R	CAACCTATTGCTAAAGTCTG	
PEDV-S-1-F	TCAACGTAAACAAATGAAGTC	890
PEDV-S-1-R	GGCCTAGTCCATAAATCTTA	
PEDV-S-2-F	AGCATCGACTAATTTTGTGATGCACT	1 456
PEDV-S-2-R	ACTGGGTGAGTAATTGTTT	
PEDV-S-3-F	CAACTTTAGTATGAGTATTAG	1 338
PEDV-S-3-R	CGCACTCATTAACCTTTTGCT	
PEDV-S-4-F	CACTTAATGCTTTTGTGCTCA	884
PEDV-S-4-R	TCACTGCACGTGGACCTTTTCA	

1.5 RT-PCR 鉴定

取 1.4 制备的病料上清液 200 μL ，用 FastPure Viral DNA/RNA Mini Kit Pro-BOX 2 试剂盒，按照说明书提取 RNA。利用 HiScript Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA，采用 RT-PCR 方法对获得的 cDNA 进行检测。RT-PCR 扩增体系总体积为 25 μL ：上下游引物各 1.25 μL ，2 \times Taq PCR StarMix (Dye) 12.5 μL ，病毒核酸 1 μL ，RNase Free ddH₂O 9 μL 。PCR 反应条件为：95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min；95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，54 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，72 $^{\circ}\text{C}$ 15 s，35 个循环；72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测鉴定。

1.6 PEDV S 基因扩增与克隆

取经 1.5 鉴定为 PEDV 阳性的 10 份肠道组织样品，以其 cDNA 为模板，通过表 2 中的引物进行 PCR

分段扩增 PEDV 全长 S 基因，PCR 反应体系和反应程序与 2 \times Taq PCR StarMix (Dye) 试剂说明书基本保持一致，测序引物的退火温度为 55.4 $^{\circ}\text{C}$ ，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测，并切胶回收纯化。将纯化产物连接至 pMD18-T 载体并转化 Trans 5 α 感受态细胞，通过菌落 PCR 进行初步鉴定，对鉴定为阳性的单克隆扩大培养后提取质粒，送天津擎科生物技术有限公司测序分析。

1.7 PEDV S 基因序列分析

运用 SeqMan 软件对 S 基因序列进行分析、拼接、剪切，获得各毒株完整的 S 基因序列。应用系统发育分析软件 MEGA 7，将测序的全长 S 基因序列与 GenBank 中收录的 46 株代表性 PEDV 毒株 (表 2) S 基因进行序列比较分析，并构建遗传进化树。

表 2 PEDV 参考毒株信息

亚型	参考毒株	GenBank 登录号	来源	年份
G I a	CH/JLGZL/2011	JQ638923.1	中国	2012
	CH/SCGA/03/2021	MZ161076.1	中国	2021
	JS-2004-2	AY653204.1	中国	2004
	NL/GD002/2014	KR011122.1	荷兰	2018
	OH851	KJ399978.1	美国	2014
	USA/Hawaii/2014	KR265761.1	美国	2016
	USA/Iowa106/2013	KJ645695.1	美国	2015

续表2

亚型	参考毒株	GenBank 登录号	来源	年份
G I b	Br1/87	Z25483.1	法国	2006
	CH/S	JN547228.1	中国	2011
	CV777	AF353511.1	英国	2001
	DR13	JQ023162.1	韩国	2012
	GDS03	AB857235.1	中国	2014
	HLJBY	KP403802.1	中国	2015
	JS2008	KC210146.1	中国	2013
	LZC	EF185992.1	中国	2007
	SD-M	JX560761.1	中国	2012
	SM98	GU937797.1	韩国	2011
G II a	AH2012	KC210145.1	中国	2013
	CAN/Quebec334/2014	KR265831.1	加拿大	2015
	CH/JX-1/2013	KF760557.2	中国	2015
	CH/SXYL/2016	MF462814.1	中国	2017
	CH/ZJXC-1/2012	KF840537.1	美国	2014
	GD-B	JX088695.1	中国	2012
	JS-HZ2012	KC210147.1	中国	2013
	LZW	KJ777678.1	中国	2014
	MYG-1/JPN/2014	LC063838.1	日本	2015
	OH1414	KJ408801.1	美国	2014
	USA/Iowa/16465/2013	KF452322.1	美国	2013
	ON-018	KM189367.2	加拿大	2014
	USA/Colorado/2013	KF272920.1	美国	2013
	USA/Kansas166/2014	KR265814.1	美国	2015
	G II b	22-53AG0211	KF724937.1	泰国
AJ1102		JX188454.1	中国	2012
CH-HB1-2018		MK606368.1	中国	2019
CH/HBTS/2017		MH581489.1	中国	2018
CH/HNAY/2015		KR809885.1	中国	2015
FJLY03-2021		OP171897.1	中国	2023
CH-SD01		KU380331.1	中国	2016
CH/SCYB/12/2020		MZ161000.1	中国	2021
GD-1		JX647847.1	中国	2012
KNU-0802		GU180143.1	韩国	2010
LW/L		MK392335.1	中国	2019
SPPED0212_1		KC764958.1	泰国	2014
SX/YC/2019		MT090140.1	中国	2020
TG5		MG373533.1	越南	2017
PEDV-WS		KM609213.1	中国	2015

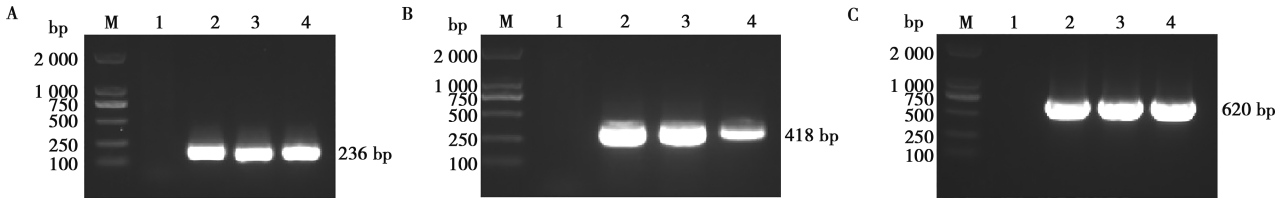
2 结果与分析

2.1 目的基因的扩增

分别扩增 PEDV M 基因、TGEV N 基因和 PoRV VP7 基因, 阳性样品可分别扩增出 236、418 和 620 bp 条带, 产物大小正确, 条带单一, 见图 1。

2.2 样品中 3 种腹泻病原的检测

将采集的 96 份样品, 采用 RT-PCR 法检测 3 种常见腹泻病毒 PEDV、TGEV、PoRV 的感染情况。结果显示, 病料样品中 PEDV、TGEV 和 PoRV 检出率分别为 32.29% (31/96)、30.21% (29/96) 和 4.17% (4/96)。



M. DNA 标准 DL2000; 1. 阴性对照; 2. 阳性对照; 3~4. 阳性样品。

图1 PEDV M (A)、TGEV N (B) 和 PoRV VP7 (C) 基因 RT-PCR 检测结果

2.3 样品中 3 种腹泻病原混合感染情况的统计

由表 3 可以看出, 单一感染样品中 PEDV 和 TGEV 检出比例相对较高, 分别为 13.54% (13/96) 和 10.42% (10/96)。双重感染样品中 PEDV+TGEV 检出率最高, 为 17.71% (17/96); PEDV+TGEV+

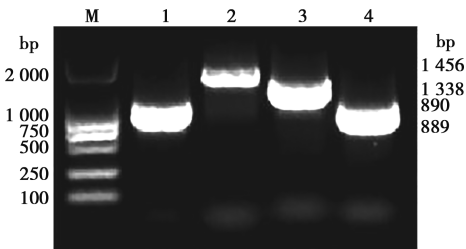
PoRV 三重感染阳性样品只有 1 份, 所占比例为 1.04% (1/96)。结果提示, 引起该养猪场猪群发生腹泻的主要病原是 PEDV 和 TGEV, 其中 PEDV 与 TGEV 混合感染情况较为常见。

表 3 猪腹泻样本病毒混合感染情况

病毒感染类型		阳性样品数/份	阳性率/%	合计阳性率/%
单一感染	PEDV	13	13.54	26.04
	TGEV	10	10.42	
	PRoV	2	2.08	
双重感染	PEDV+TGEV	17	17.71	18.75
	TGEV+PRoV	1	1.04	
三重感染	PEDV+TGEV+PRoV	1	1.04	1.04

2.4 PEDV S 基因 PCR 扩增及克隆

以 10 份 PEDV 阳性样品 cDNA 为模板, 将 PEDV S 基因全长分成 4 个片段进行 PCR 扩增。结果如图 2 所示, PEDV S 基因各片段大小分别为 890、1456、1338 和 889 bp, 均与预期一致 (图 2)。对符合预期大小的 PEDV S 基因各片段 PCR 胶回收产物进行 T-A 克隆。挑取单菌落扩大培养后进行菌落 PCR 鉴定, 对鉴定为阳性的菌液进行扩大培养, 提取质粒后送擎科生物科技有限公司测序。



M. DNA 标准 DL2000; 1~4. 分别为 S1、S2、S3、S4 扩增结果。

图 2 PEDV S 基因全长扩增结果

2.5 PEDV S 基因序列的同源性和遗传进化分析

利用 MegAlign 软件将 10 个 PEDV S 基因序列与 GenBank 中收录的 46 株国内外代表性 PEDV S 基因

进行序列同源性比较分析。结果显示, 10 个 PEDV S 基因间核苷酸序列同源性为 94.9%~99.8%, 氨基酸序列同源性为 83.8%~99.7%; 与 46 株参考毒株核苷酸序列同源性为 83.2%~99.8%, 氨基酸序列同源性为 83.0%~99.5%; 与 G I a 亚群毒株的核苷酸序列同源性为 92.3%~96.4%, 氨基酸序列同源性介于 83.5%~96.0%; 与 G I b 亚群毒株的核苷酸序列同源性为 93.0%~99.8%, 氨基酸序列同源性介于 83.2%~99.5%; 与 G II a 亚群毒株的核苷酸序列同源性为 93.3%~96.4%, 氨基酸序列同源性介于 86.1%~95.5%; 与 G II b 亚群毒株的核苷酸序列同源性为 92.0%~96.4%, 氨基酸序列同源性介于 83.6%~95.5%; 与 CV777 疫苗株 S 基因序列相比, 核苷酸及氨基酸序列同源性分别为 93.6%~96.9% 和 83.9%~95.9%。上述结果表明, 10 个 PEDV S 基因核苷酸及氨基酸序列之间的相似性存在一定的差异, 可能存在不同基因亚型 PEDV 的流行。

利用 MEGA 7 软件将 10 个 PEDV 全长 S 基因序列与 46 株代表性 PEDV 毒株 S 基因进行序列比较分析并构建进化树。PEDV 毒株分为 G I 和 G II 两个亚型, G I 进一步分为 G I a 和 G I b 两个分群, G II 进一步分为 G II a 和 G II b 两个分群。如图 3 所示, 基

(D) 的缺失。上述结果表明，福州市某规模化猪场 PEDV 的流行株与经典疫苗株和变异株相比出现了不

同程度的变异。

表 4 PEDV S 基因突变情况

FJPT-01~10 与 CV777 相比		FJPT-01~06 与 CV777 相比		FJPT-07~10 与 CV777 相比			
突变位点/aa	突变氨基酸	突变位点/aa	突变氨基酸	突变位点/aa	突变氨基酸	突变位点/aa	突变氨基酸
10	L→F	3	S→P	2	R→K	231	Y→S
162	缺失 R	15	P→L	5	I→T	233~234	EP→QL
466	A→S	30	T→I	15	P→S	240	T→I
486	A→S	74	A→D	27~28	QS→SA	250	D→E
534	L→H	160~161	YM→LQ	55~58	SMNS→TGEN	251	S→P
536	S→G	166	D→N	59~62	插入 QGVN		
624	A→E	190	L→I	64	S→T		
631	L→F	204	R→K	68~72	GTGIE→AGQHP		
652	E→Q	240	T→I	84	Y→H		
654	I→V			86~87	DS→RG		
726	N→D			92	Q→H		
783	S→L			123	I→T		
785	Y→D			133~134	DN→SI		
793	T→M			141~142	VN→AD		
896	A→V			143	插入 N		
992	Y→H			160	Y→D		
1 183	L→I			163	缺失 D		
1 186	A→D			164~167	GKDI→SEHS		
1 193	E→D			182	A→S		
1 243	V→L			190	L→F		
1 279	T→I			200	R→K		
1 321	N→Y			204~206	RRS→SGG		
1 351	V→F			214	T→E		

注：L 表示亮氨酸，F 表示苯丙氨酸，R 表示精氨酸，A 表示丙氨酸，S 表示丝氨酸，H 表示组氨酸，G 表示甘氨酸，E 表示谷氨酸，Q 表示谷氨酰胺，I 表示异亮氨酸，V 表示缬氨酸，N 表示天冬酰胺，D 表示天冬氨酸，Y 表示酪氨酸，T 表示苏氨酸，M 表示甲硫氨酸，P 表示脯氨酸，K 表示赖氨酸。

3 讨论

PEDV、TGEV 和 PoRV 是引起猪病毒性腹泻的 3 种主要病原，被感染的仔猪主要临床症状表现为腹泻、呕吐和脱水，因其传染性强，死亡率高，给生猪养殖业造成不可估量的经济损失，严重影响养猪业的发展^[4]。本研究对福州市某规模化猪场的 96 份临床样本进行 3 种腹泻病毒的 RT-PCR 检测，结果显示，3 种病毒均被检出，其中病原单一感染阳性率为 26.04%，混合感染（2 种及以上病原感染）阳性率为 18.75%，提示 PEDV 与 TGEV 感染可能是引起猪群发生腹泻的主要病因。

本研究发现 TGEV 阳性率较高，进一步追溯猪场疫病流行情况发现，该猪场在发病前已实施 PEDV 和

TGEV 疫苗免疫程序，但依然暴发病毒性腹泻，并且该猪场近些年曾暴发过病毒性腹泻，因此这可能是本研究 TGEV 阳性率较高的主要原因。这也进一步说明在依靠疫苗防控病毒性腹泻的基础上，需进一步加强猪场生物安全管理，包括建立定期病原监测机制，实时掌握流行毒株变异动态；优化疫苗免疫策略，开发基于本地流行株的多价疫苗；强化环境消毒与隔离措施，切断病毒传播途径。

自 2010 年起，我国持续出现 PEDV 高毒力变异株，导致基于 CV777 和 DR13 弱毒株的传统疫苗保护效率显著降低^[10,19]。S 基因作为决定 PEDV 抗原性和致病性的关键基因，其重组突变可显著影响病毒生物学特性，因此被广泛应用于 PEDV 分子流行病学监测^[16, 20-21]。近年分子流行病学调查显示，PEDV G II

基因型已成为我国主要流行分支, 广西地区 PEDV 的主要流行毒株是 G II a 亚型^[22]; 云南地区 PEDV 的主要流行毒株是 G II b 亚型^[23]; 福建地区 PEDV 的主要流行毒株是 G II b 亚型, 同时有 G I b 亚型流行^[24]。值得注意的是, 本研究发现福建地区呈现 G I b 亚型 (58.3%) 与 G II b 亚型 (41.7%) 共循环的流行模式, 该现象可能与样本量较少且监测周期较短相关。进一步分析表明, PEDV 福建流行株 S 蛋白出现高频突变及插入缺失, 这些变异可能导致抗原漂移, 进而削弱传统疫苗株的中和抗体效力^[20]。尽管 CV777 和 DR13 疫苗仍可诱导部分交叉保护, 但流行株 S 蛋白的持续进化提示需建立基于本地流行株的疫苗更新策略。为明确福建省 PEDV 的长期进化趋势, 后续拟将监测周期延长至 36 个月, 样本量扩充至 300 例以上, 覆盖福建省 9 个地级市, 系统评估变异株的免疫逃逸潜力。

本研究通过对福州市某规模化猪场 PEDV 毒株的 S 基因进行序列分析, 了解当前该地区 PEDV 毒株的流行状况以及变异特征, 为该地区 PED 的防控提供理论基础。本研究结果表明, 当前福建地区 PEDV 毒株 S 蛋白存在多处抗原表位突变, 这可能是疫苗接种失败的主要原因, 提示研究新型 PEDV 疫苗以及加强 PEDV 疫苗管理十分必要。

参考文献:

- [1] JUNG K, SAIF L J, WANG Q. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): an update on etiology, transmission, pathogenesis, and prevention and control [J]. *Virus Res*, 2020, 286: 198045.
- [2] LIN F, ZHANG H, LI L, et al. PEDV: insights and advances into types, function, structure, and receptor recognition [J]. *Viruses*, 2022, 14 (8): 1744.
- [3] TURLEWICZ-PODBIELSKA H, POMORSKA-MOL M. Porcine coronaviruses: overview of the state of the art [J]. *Virol Sin*, 2021, 36 (5): 833-851.
- [4] LIU G, JIANG Y, OPRIESSNIG T, et al. Detection and differentiation of five diarrhea related pig viruses utilizing a multiplex PCR assay [J]. *J Virol Methods*, 2019, 263: 32-37.
- [5] ZHANG F, LUO S, GU J, et al. Prevalence and phylogenetic analysis of porcine diarrhea associated viruses in southern China from 2012 to 2018 [J]. *BMC Vet Res*, 2019, 15 (1): 470.
- [6] WANG J, ZHU X, CAI C, et al. Risk analysis of viral diseases in infected pig farms during the lockdown period in China, January to May 2020 [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19 (6): 3215.
- [7] LI M, PAN Y, XI Y, et al. Insights and progress on epidemic characteristics, genotyping, and preventive measures of PEDV in China: a review [J]. *Microb Pathog*, 2023, 181: 106185.
- [8] PARK J E. Porcine epidemic diarrhea: insights and progress on vaccines [J]. *Vaccines (Basel)*, 2024, 12 (2): 212.
- [9] LIN C M, SAIF L J, MARTHALER D, et al. Evolution, antigenicity and pathogenicity of global porcine epidemic diarrhea virus strains [J]. *Virus Res*, 2016, 226: 20-39.
- [10] LI W, LI H, LIU Y, et al. New variants of porcine epidemic diarrhea virus, China, 2011 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18 (8): 1350-1353.
- [11] KOCHERHANS R, BRIDGEN A, ACKERMANN M, et al. Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence [J]. *Virus Genes*, 2001, 23 (2): 137-144.
- [12] DUARTE M, TOBLER K, BRIDGEN A, et al. Sequence analysis of the porcine epidemic diarrhea virus genome between the nucleocapsid and spike protein genes reveals a polymorphic ORF [J]. *Virology*, 1994, 198 (2): 466-476.
- [13] LI W, VAN KUPPEVELD F J M, HE Q, et al. Cellular entry of the porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Virus Res*, 2016, 226: 117-127.
- [14] LI Z, MA Z, LI Y, et al. Porcine epidemic diarrhea virus: molecular mechanisms of attenuation and vaccines [J]. *Microb Pathog*, 2020, 149: 104553.
- [15] CHANG S H, BAE J L, KANG T J, et al. Identification of the epitope region capable of inducing neutralizing antibodies against the porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Mol Cells*, 2002, 14 (2): 295-299.
- [16] LUO H, LIANG Z, LIN J, et al. Research progress of porcine epidemic diarrhea virus S protein [J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1396894.
- [17] 辛忠昊, 焦安琪, 朱彤, 等. 四种常见猪肠道病毒多重 RT-PCR 检测方法的建立及临床应用 [J]. *微生物学通报*, 2022, 49 (12): 5126-5137.
- [18] 邱存义, 杨业民, 张静雅, 等. 猪流行性腹泻病毒 PEDV-NX-2022 株的分离鉴定及遗传进化分析 [J]. *中国动物传染病学报*, 2023: 1-13. DOI: 10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20230712.002.
- [19] MOHUDDIN M, DENG S, ZHU L, et al. Genetic evolution and phylogenetic analysis of porcine epidemic diarrhea virus strains circulating in and outside China with reference to a wild type virulent genotype CHYJ130330 reported from Guangdong Province, China [J]. *Gut Pathog*, 2024, 16 (1): 21.
- [20] YU J, CHAI X, CHENG Y, et al. Molecular characteristics of the spike gene of porcine epidemic diarrhoea virus strains in Eastern China in 2016 [J]. *Virus Res*, 2018, 247: 47-54.
- [21] SATO T, TAKEYAMA N, KATSUMATA A, et al. Mutations in the spike gene of porcine epidemic diarrhea virus associated with growth adaptation in vitro and attenuation of virulence *in vivo* [J]. *Virus Genes*, 2011, 43 (1): 72-78.
- [22] 陆颖, 王亚鹏, 王若木, 等. 广西地区猪流行性腹泻案例及病毒序列分析 [J]. *云南畜牧兽医*, 2024 (6): 10-14.
- [23] 冉李燕, 赵筱, 张梅, 等. 云南部分地区猪流行性腹泻病毒 M 和 ORF3 基因的遗传进化分析 [J]. *云南农业大学学报 (自然科学)*, 2024, 39 (6): 59-65.
- [24] 李雨琪, 许静茹, 郑欣, 等. 2016 年~2022 年福建地区猪流行性腹泻病毒 S 基因的遗传变异分析 [J]. *中国预防兽医学报*, 2024, 46 (1): 84-91.