

董建国, 饶丹, 覃燕灵, 王艳午, 张宁, 易本驰, 黄立, 刘纪成, 邓凯伟. 猪德尔塔冠状病毒研究进展 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(3): 113-118.

猪德尔塔冠状病毒研究进展

董建国¹, 饶丹¹, 覃燕灵², 王艳午², 张宁³, 易本驰¹, 黄立¹, 刘纪成¹, 邓凯伟¹

(1. 信阳农林学院牧医工程学院, 河南 信阳 464000; 2. 广西农垦永新畜牧集团有限公司良圻原种猪场, 广西 南宁 530000; 3. 河南丰源和普农牧有限公司, 河南 驻马店 463000)

摘要: 猪德尔塔冠状病毒 (Porcine Deltacoronavirus, PDCoV) 为 δ 冠状病毒成员, 是 2012 年新发现的一种感染猪的冠状病毒, 临床特征是引起母猪和仔猪腹泻症状, 以呕吐、水样腹泻、脱水和食欲下降为基本特征, 发病仔猪中的死亡率为 30%~40%。该病于 2014 年在美国猪场爆发, 同年在我国内陆爆发, 随后几年该病已经蔓延至世界上许多国家和地区, 给养殖业带来了巨大的经济损失。目前针对 PDCoV 已经建立了一系列检测方法, 检测结果显示 PDCoV 既存在单独感染, 也存在与其他猪肠道冠状病毒混合感染情况, 然而目前针对 PDCoV 的致病机制研究较少, 对该病的认识不够全面, 仍没有有效疫苗防控该病的发生。综述了 PDCoV 基因组特征、蛋白功能、流行病学、遗传进化分析、检测方法及防控措施等方面的研究现状, 以期 PDCoV 致病机制研究和临床研究提供借鉴。

关键词: 猪德尔塔冠状病毒; 基因组; 病原学; 进化分析; 防控

中图分类号: S858.28

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2019) 03-0113-06

Research Progress on Porcine Deltacoronavirus

DONG Jianguo¹, RAO Dan¹, TAN Yanling², WANG Yanwu², ZHANG Ning³,

(1. College of Animal Husbandry and Veterinary, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 46400, China;

2. Guangxi State Farms Yongxin Livestock Husbandry Group Co., LTD, Nanning 530000, China;

3. Henan Fengyuan Hefu Agriculture and Animal Husbandry Co. LTD, Zhumadian 463000, China)

Abstract: Porcine Deltacoronavirus (PDCoV) is a member of the δ -coronavirus, a newly discovered coronavirus in 2012 which can infect porcine. Such coronavirus is clinically characterized by diarrhea symptoms in sows and piglets and basically characterized by vomiting, watery diarrhea, dehydration and loss of appetite. The mortality rate of the infected piglets is 30%~40%. The disease outbreaked in the United States in 2014. The disease emerged in our country in the same year and has spread to many countries and regions in the following years, which brought huge economic losses to pig industry. At present, a series of test methods have been established for PDCoV infection, test results showed that PDCoV not only infected pigs alone but also mixed with other porcine intestinal coronavirus to infect pigs. However, up to now, there are few researches on the pathogenic mechanism of PDCoV and the understanding of the disease is not comprehensive enough. There is still no effective vaccine for preventing and controlling the emergence of the disease. In this paper, the current research status of PDCoV genome characteristics, protein function, epidemiology, genetic and evolutionary analysis, detection methods and prevention and control measures were summarized so as to provide reference for the study of pathogenic mechanism and clinical research of PDCoV.

Key words: porcine Deltacoronavirus; genome; etiology; evolutionary analysis; prevention and control

收稿日期: 2018-12-27

基金项目: 河南省科技攻关项目 (182102110037); 河南省规模猪场重大疫病净化创新型科技团队项目; 信阳农林学院重点学科培育学科预防兽医学 (ZDXK201702); 信阳农林学院青年基金项目 (201701005)

作者简介: 董建国 (1988—), 男, 博士, 讲师, 研究方向为动物传染病, E-mail: dongjianguo213@163.com

通信作者: 邓凯伟 (1977—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向向动物疾病与繁殖, E-mail: dkwjys@163.com

猪德尔塔冠状病毒 (Porcine Deltacoronavirus, PDCoV) 是 2012 年新发现的一种感染猪的冠状病毒 [1]。冠状病毒分为 α 、 β 、 γ 、 δ 等 4 个冠状病毒属, 其中 α 冠状病毒属和 β 冠状病毒属主要由哺乳动物冠状病毒组成, γ 冠状病毒属主要以鸟类冠状病毒为主, 而 δ 冠状病毒属近年新分出的冠状病毒属, 在哺乳动物和鸟类中都能检测到。 δ 冠状病毒最早在 2007 年从中国白鼬獾和亚洲豹猫中检测出 [2], 该类冠状病毒基因组大小为 26 396~26 552 nt, 为已知最小的冠状病毒 [3]。PDCoV 首次于 2012 年在香港从收集的猪粪便样本中检测到 [1]。2014 年初, 美国俄亥俄州的猪场爆发大面积的仔猪流行性腹泻, 腹泻症状以呕吐、水样腹泻、脱水和食欲下降为基本特征, 经检测为 PDCoV 阳性, 但其他肠道病毒例如猪流行性腹泻病毒 (PEDV)、猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV) 以及轮状病毒 (PoRV) 检测结果为阴性 [4]。在美国的主要养猪地区也相继检测到了该新型猪冠状病毒 [5-7]。随后, 在韩国、加拿大猪只粪便样品中也检测到了 PDCoV [8]。我国大陆地区于 2014 年首次报道检测到该病毒, 迄今多个省市地区的已检测到 PDCoV 感染 [9-10]。目前 PDCoV 在我国有些地区呈流行趋势, 该病的发生增加了猪只肠道病毒性疾病的危害, 同时也增加了猪只肠道细菌性疾病的严重性, 给猪场疾病的防控带来了困难, 同时造成一定的经济损失。为了对该病有详细的了解, 以便于疾病的深入研究和防控, 我们根据近年来研究者对 PDCoV 的报道, 从猪德尔塔冠状病毒的基因组分析、流行现状、遗传进化分析、检测方法及防控措施等方面进行阐述。

1 PDCoV 基因组特征

PDCoV 是一种具有囊膜、单股正链的 RNA 病毒, 基因组长为 25.4 kb, 包含 5' 和 3' 非编码区及 7 个开放性阅读框, 分别编码多聚酶蛋白 1a/1b、纤突蛋白 (S)、小膜蛋白 (E)、膜蛋白 (M)、非结构蛋白 6 (NS6)、核衣壳蛋白 (N) 及非结构蛋白 7 (NS7), 其中包括 4 个结构基因和 4 个非结构基因 [1]。5' 非编码区长度为 511~540 nt, 主要功能是调控病毒的转录。多聚酶蛋白基因全长约 19 000 nt, 占整个基因组的 3/4, 由两个开放阅读框 (ORF) ORF1a 和 ORF1b 组成,

ORF1a 和 ORF1b 编码多聚蛋白 pp1a 和 pp1ab, pp1a 和 pp1ab 进一步水解成 15 个非结构蛋白 (nsp) 参与病毒复制和转录。

2 PDCoV 蛋白功能

2.1 PDCoV 非结构蛋白功能

目前对 PDCoV 各蛋白功能研究较少, nsp5 是 3C 样蛋白酶, Zhu 等 [11] 证实 PDCoV nsp5 能够切割 JAK-STAT2 信号通路中的 STAT2 蛋白, 导致 STAT2 降解, 影响干扰素诱导基因 (ISGs) 的表达, 进而拮抗 I 型干扰素 (IFN- I), 抑制先天性免疫。非结构蛋白 NS7 和 NS6, 为 PDCoV 的辅助蛋白。Fang 等 [12] 发现异位表达的 NS6 通过干扰 RIG-I/MDA5 与双链 RNA 的结合可阻碍干扰素 β 的产生, 揭示了 PDCoV 辅助蛋白所采用的一种新策略来抵抗宿主先天抗病毒免疫应答。NS7 特异性单克隆抗体 (MAb) 能够识别来自 PDCoV 感染的细胞裂解物, 但不识别 NS7 异位表达的细胞, 后通过实验证明该蛋白条带代表 1 个新的辅助蛋白, 称为 NS7a。此外, Fang 等还证实 NS7a 由独立的亚基因组 mRNA 编码, 具有非经典的转录调节序列 [13]。

2.2 PDCoV 结构蛋白功能

目前尚未有关 PDCoV 结构蛋白 (S、N、E 和 M) 功能的研究报道。在其他冠状病毒中, PEDV 的 S 蛋白在病毒与细胞受体结合后通过膜融合侵入宿主细胞的过程中发挥重要生物学作用, N 蛋白在病毒复制过程中起重要作用。TGEV 和 PEDV 的 M 蛋白对构建病毒颗粒起重要作用, 还具有抗干扰素活性的功能 [14-15]。PEDV 的 E 蛋白在病毒粒子的组装及出芽释放到细胞外发挥重要作用 [16]。PDCoV 结构蛋白的生物学功能有待进一步研究。

3 PDCoV 流行现状

3.1 国内外地区 PDCoV 流行情况

PDCoV 可引起母猪和仔猪腹泻症状, 以呕吐、水样腹泻、脱水和食欲下降为基本特征, 各年龄段猪群均易感, 发病仔猪中的死亡率为 30%~40% [4, 17]。2012 年, Woo 等 [1] 首次在香港从猪腹泻猪粪便中检测到 PDCoV, 研究显示 169 份样品中有 17 份样品为 PDCoV 阳性。随后, 该病于 2014 年 2 月在美国俄亥俄州暴发, 至今

该病已经蔓延至美国 20 多个地区^[18]。同年 6 月,在加拿大安达罗湖周边的 5 个猪场中检测到 PDCoV。对美国以及加拿大地区猪场的 293 份样本进行 PDCoV 检测,有 30% (89/293) 的样本呈 PDCoV 阳性^[6]。这些结果表明 PDCoV 在北美国广泛传播,给猪场造成了巨大经济损失。此外,亚洲国家韩国和东南亚国家泰国均检测到 PDCoV,且泰国阳性率高达 87%^[19-20]。我国学者对国内 PDCoV 的流行情况进行了广泛的调查,张帆帆等对 2012—2015 年从江西省各地区采集的腹泻母猪粪便及腹泻仔猪粪便/小肠组织样品进行检测,结果显示 2012 年的腹泻样品中能检测出 PDCoV,2012—2015 年间江西 PDCoV 阳性率为 31.33% (78/249)^[21]。Zhai 等^[22]对采自广东、海南共 15 个猪场 390 份粪便样品进行 PDCoV 病原检测,检测阳性样品阳性率为 1.28% (5/390)。这些检测结果表明不同地区 PDCoV 阳性率存在差异,PDCoV 在腹泻样品中的检测率可大于 30%,引起仔猪死亡率为 30%~40%,与 PEDV 相比死亡率要低些。有学者对在我国安徽、广西、湖北和江苏 4 个地区收集的 215 份样本 (2004—2015 年)进行 PDCoV 检测,发现样本中 14 份 (6.51%) 呈 PDCoV 阳性,110 份 (51.2%) 为 PEDV 阳性,5 份 (2.3%) 为 TGEV 阳性;14 份 PDCoV 阳性样品中,有 7 份 (50%) 同时是 PEDV 阳性,2 份样品同时是 PEDV、TGEV 和 PDCoV 阳性,阳性样品最早采样时间是 2004 年^[23]。宋亚兵等^[24]对 2012—2016 年间采集的 420 份猪腹泻病料样品进行 PDCoV 抗原检测,PDCoV 阳性率为 13.33%,与 PEDV 混合感染率为 5.95%。这些结果表明 PDCoV 不仅单独感染猪只,还与 PEDV 和 TGEV 混合感染,且与 PEDV 混合感染率较高。我国最早检测到 PDCoV 样品年份可追溯到 2004 年,说明该病毒很早就在我国猪群中存在却未被发现。这些研究结果提示我们需要加强对 PDCoV 以及其他猪肠道病毒性腹泻的长期监测,及时发现疫情加以防控,以防止疾病蔓延。

3.2 PDCoV 季节流行特征

宋亚兵等^[24]检测的 420 份猪腹泻病料样品中,春、夏、秋、冬 4 个季节中 PDCoV 阳性病料样品占比分别为 35.7%、10.7%、12.5%、41.1%,表明冬春季节是该传染病的高发季节,PDCoV 的发

生呈现明显的季节性。这是由于冬春季节气温变化幅度较大,出生仔猪抵抗力较弱,易产生应激,造成肠道功能紊乱,导致病毒性腹泻发生。这与 PEDV、TGEV 和 RV 等引起腹泻的发病季节类似。因此,冬春季节应加强该病的防控工作,及时补液,加强饲养,注意温度变化对仔猪腹泻的影响。

4 PDCoV 遗传进化分析

目前 GenBank 已收录了近 100 条猪 δ 冠状病毒全基因组的序列,来源于美国、中国、韩国、老挝、越南、泰国、日本等,系统发育和进化树分析显示这些毒株的同源性很高,遗传进化关系非常亲近,可能起源于同一毒株。其中,美国毒株与韩国毒株 KOR/KNU14-04/2014 的 S 基因核苷酸序列最接近,核苷酸同源性为 99.5%~99.9%,全基因组核苷酸序列同源性为 99.6%~99.9%,且没有基因序列的插入或缺失^[25],遗传进化树分析发现美国毒株与韩国毒株 KOR/KNU14-04/2014 处于同一分支,表明它们可能起源于同一毒株;韩国毒株与香港毒株 HKU15-44 和 HKU15-155 存在 98.8%~99.0% 基因相似性,与美国毒株存在 99.6%~99.8% 基因相似性,这也表明韩国毒株与美国毒株亲缘关系更相近^[8];中国大陆毒株 (CHN-AH-2004、CHN-HB-2014 和 CHN-JS-2014) 与先前所有报道 PDCoV 株的核苷酸同源性在 98.9% 以上。香港株 HKU 15-44 与美国株及韩国株在 S 基因上均有 3 nt 的插入,但香港株 HKU 15-155 没有这一插入;CHN-AH- 株也同样有这个插入,然而 CHN-HB-2014 株和 CHN-JS-2014 株像 HKU 15-155 株一样缺少这个插入^[21]。系统进化树分析表明老挝 BTL-0115 毒株与美国及中国毒株均不在一分支上,但是与中国株亲缘关系更近^[26]。基于全因组的遗传进化分析表明,2014 年在日本检测到的 7 株 PDCoV 毒株与 2013—2016 年美国 and 韩国分离的毒株的基因相似性一致^[27]。表明不同地区 PDCoV 已经发生广泛的变异,且变异主要集中在 S 基因上。因此,及时开展针对 PDCoV S 基因的遗传变异分析,分析突变碱基对病毒致病性的影响,对于研发有效的疫苗防控该病具有重要意义。

5 PDCoV 检测方法

5.1 抗原检测方法

PDCoV 引起的临床症状和病理变化与猪流行性腹泻和猪传染性胃肠炎相似, 一般很难通过肉眼观察辨别, 需要借助实验室诊断方法确诊。在病原检测方面, 借助电子显微镜, 可以观察到病毒超微结构形态, PDCoV 在电镜下呈球型带囊膜的颗粒, 直径 120~180 nm^[17], 结合病猪出现腹泻、呕吐、脱水等临床症状进行诊断。RT-PCR 是检测病毒核酸常用的方法之一, 除了传统的 RT-PCR 外还有套式 RT-PCR、实时荧光定量 PCR、多重 RT-PCR 以及恒温 RT-PCR 等。由于 PDCoV 的 N 基因和 M 基因高度保守, 大部分的 RT-PCR 检测技术都是针对这两个基因建立的。张帆帆等^[22]设计 1 对扩增 PDCoV 核衣壳 (N) 蛋白基因片段的特异性引物, 建立了一种检测 PDCoV 的 RT-PCR 方法。逢凤娇等^[28]根据保守的 M 基因建立了 RT-PCR 的检测方法。此外, 针对 PDCoV 与 PEDV 和 TGEV 混合感染情况, 也建立了一系列的多重 PCR 检测方法。刘玲玲等^[29]建立了检测 PDCoV 和 TGEV 的双重 RT-PCR 检测方法; 任玉鹏等^[30]建立了同时检测 PEDV 和 TGEV 及 PDCoV 的多重 RT-PCR 方法; Song 等^[10]根据 N 基因设计内套和外套两对引物, 在中国大陆首次建立套式 PCR 技术, 完成了 PDCoV 感染情况调查并率先报道了 1 株 PDCoV 全基因序列。荧光定量 PCR 技术作为一种新的 PCR 技术, 具有检测灵敏度高、特异性强等优点, 受到了广泛的应用。Marthaler 等^[6]建立了基于 SYBR green 染料法的实时荧光定量检测方法, 检测猪群中 PDCoV 感染情况, 并同时检测了其他腹泻相关病原, 发现猪群中存在不同程度的混合感染; Wang 等^[31]建立实时荧光定量 PCR 用于临床样品的检测, 对 2014—2015 年中国 10 个省份收集的 254 份样品进行检测, 检测阳性率为 4.33%。此外, Masuda 等^[32]建立了可同时检测 PEDV、PDCoV、TGEV、PRV 等 4 种腹泻相关病原的四重实时荧光定量 PCR, 检测灵敏度比普通 RT-PCR 方法高 1 000 倍。LAMP 具有方便、快速和灵敏等优点, Zhang 等^[33]建立了检测 PDCoV 的 RT-LAMP 方法, 对比检测 192 份临床样品, 该方法检测灵敏度高于套式 PCR 和常规 RT-PCR。由此可见, PDCoV

抗原的 PCR 检测方法国内外都已有很多报道, 不仅有针对 PDCoV 的单重 RT-PCR 和荧光定量 PCR 检测方法, 还有针对各类引起猪腹泻病毒的多重 RT-PCR 和荧光定量 PCR 检测方法, 这为病毒的检测提供了很便利的方法参考。

5.2 抗体检测方法

在检测抗体方面, 近年来也有许多关于酶联免疫吸附试验 (ELISA)、免疫荧光试验 (IFA) 等的报道。Faten 等^[34]通过表达 N 基因的重组蛋白建立了检测抗体的间接 ELISA 方法、荧光微球免疫技术 (FMIA) 和间接 IFA 技术, 检测敏感性和特异性均达 95% 以上。Luo 等^[35]基于 M 基因表达的重组蛋白建立的间接 ELISA 方法, 检测敏感性和特异性分别为 90.6% 和 93.3%, 通过对河北省 40 个猪场共 871 份血清进行监测, 结果显示血清抗体阳性率为 11% (96/871), 阳性猪场率为 25% (10/40)。Thachil 等^[7]建立了一种间接抗 PDCoV IgG ELISA 方法, 该方法是基于 S1 部分的刺突蛋白而建立的, 检测敏感性和特异性分别为 91% 和 95%, 血清抗体阳性率为 8.7%, 阳性猪场率为 25.5%, 该报道还发现 PDCoV 抗体阳性率低于 PEDV 阳性率 (22.8%)。这些抗体检测方法的建立为及时掌握猪场猪体内 PDCoV 抗体水平, 全面反映畜群中疾病的感染情况、免疫水平、流行特点等提供重要的科学依据。

6 PDCoV 防控措施

引起猪病毒性腹泻的病原有 PEDV、TGEV、PoRV、猪伪狂犬病病毒 (PRV) 及 PDCoV 等, 但目前尚无针对 PDCoV 的商品疫苗, 且对于采用干扰素、鸡卵黄抗体等特异性抗病毒治疗的报道也较少。

病毒性腹泻病原可以是一种或多种, 这样就使得实际诊断复杂化, 需要借助实验室的一些诊断方法。对于腹泻猪需要科学地进行护理, 如对腹泻猪进行收敛止泻、补液和纠正酸中毒的治疗, 都能减少患猪的死亡。防控病毒性腹泻首先应加强饲养管理。通过给予饲喂营养丰富的全价饲料以提高机体的免疫力与抗病力; 保持猪舍清洁卫生和干燥, 严格舍内消毒和周边环境的消毒, 冬季寒冷季节注意保温, 产房和保育舍保持适宜温度和湿度, 适当通风换气; 建立完善的生物安全体系, 场内外车辆、人员、物料、猪等的转移需

严格把控。PDCoV 主要引起仔猪的腹泻，重点防控对象为哺乳仔猪与保育猪，该病没有相关有效的疫苗进行预防，疾病发生时主要是补液补盐，同时防止激发感染，再者需要做好猪舍的消毒工作和应激工作，具体防控措施可参照同样由冠状病毒引起的猪流行性腹泻与猪传染性胃肠炎的防控方法。

7 展望

近几年猪场肠道性疾病不断发生，特别是近年来引起相似症状的与 PDCoV 同科的变异毒株 PEDV 的爆发，引起了研究者和饲养人员的注意，随着各种猪肠道病毒性腹泻病的发生，外界环境的复杂和仔猪体抗力的下降，越来越多的猪场相继爆发 PDCoV，给养殖业造成了一定的危害和经济损失。目前针对 PDCoV 病毒蛋白如何调控宿主机能，利用宿主机制逃避免疫反应，利于病毒自身存活和增殖的研究较少。PDCoV 有许多非结构蛋白，这些非结构蛋白在病毒复制和转录中具有重要作用，它们的具体功能如何，是否有与免疫调控相关的病毒蛋白存在，能否根据这些与免疫调控相关的病毒蛋白研制新型亚单位疫苗，通过病毒自身蛋白直接调控宿主免疫系统进而对疾病本身进行预防；同时遗传变异分析显示 S 基因容易发生变异，存在碱基的插入或缺失，这些碱基的插入或缺失是否影响病毒毒力，是否与中和抗体的水平变化呈线性相关，随着研究的深入，相信研究者在这方面会有详细的阐述。

参考文献 (References):

- [1] WOO P C, LAU S K, LAM C S, LAU C C, TSANG A K, LAU J H, BAI R, TENG J L, TSANG C C, WANG M, ZHENG B J, CHAN K H, YUEN K Y. 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 [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(7):3995–4008.
- [2] DONG B Q, LIU W, FAN X H, VIJAYKRISHNA D, TANG X C, GAO F, LI L F, LI G J, ZHANG J X, YANG L Q, POON L L, ZHANG S Y, PEIRIS J S, SMITH G J, CHEN H, GUAN Y. Detection of a novel and highly divergent coronavirus from asian leopard cats and Chinese ferret badgers in Southern China [J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(13):6920–6926.
- [3] WOO P C, LAU S K, LAM C S, LAI K K, HUANG Y, LEE P, LUK G S, DYRTING K C, CHAN K H, YUEN K Y. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus [J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(2):908–917.
- [4] WANG L, BYRUM B, ZHANG Y. Detection and genetic characterization of deltacoronavirus in pigs, Ohio, USA, 2014 [J]. *Emerging Infectious Disease*, 2014, 20(7):1227–1230.
- [5] MARTHALER D, JIANG Y, COLLINS J, ROSSOW K. Complete genome sequence of strain SDCV/USA/Illinois121/2014, a porcine Deltacoronavirus from the United States [J]. *Genome Announcements*, 2014, 2(2): e00218–14. doi: 10.1128/genomeA.00218–14.
- [6] MARTHALER D, RAYMOND L, JIANG Y, COLLINS J, ROSSOW K, ROVIRA A. Rapid detection, complete genome sequencing, and phylogenetic analysis of porcine Deltacoronavirus [J]. *Emergence Infectious Disease*, 2014, 20(8):1347–1350.
- [7] THACHIL A, GERBER P F, XIAO C T, HUANG Y W, OPRIESSNING T. Development and application of an ELISA for the detection of porcine deltacoronavirus IgG antibodies [J]. *Plos One*, 2015, 10(4):e124363.
- [8] LEE S, LEE C. Complete genome characterization of Korean porcine Deltacoronavirus strain KOR/KNU14–04/2014 [J]. *Genome Announcements*, 2014, 2(6): e01191–14. doi: 10.1128/genomeA.01191–14.
- [9] WANG Y W, YUE H, FANG W, HUANG Y W. Complete genome sequence of porcine Deltacoronavirus strain CH/Sichuan/S27/2012 from Mainland China [J]. *Genome Announcements*, 2015, 3(5): e00945–15. doi: 10.1128/genomeA.00945–15.
- [10] SONG D, ZHOU X, PENG Q, CHEN Y, ZHANG F, HUANG T, ZHANG T, LI A, HUANG D, WU Q, HE H, TANG Y. Newly emerged porcine Deltacoronavirus associated with diarrhoea in swine in China: Identification, prevalence and full-length genome sequence analysis [J]. *Emergence Infectious Disease*, 2015, 62(6):575–580.
- [11] ZHU X, WANG D, ZHOU J, PAN T, CHEN J, YANG Y, LV M, YE X, PENG G, FANG L, XIAO S. Porcine Deltacoronavirus nsp5 antagonizes type I interferon signaling by cleaving STAT2 [J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(10): e00003–17.
- [12] FANG P X, FANG L R, REN J, HONG Y Y, LIU X R, ZHAO Y Y, WANG D, PENG G Q, XIAO S B. Porcine Deltacoronavirus accessory protein NS6 antagonizes interferon beta production by interfering with the binding of RIG-I/MDA5 to double-stranded RNA [J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(15):e00712–18. doi: 10.1128/JVI.00712–18.
- [13] FANG P X, FANG L R, HONG Y Y, LIU X R, DONG N, MA P P, BI J, WANG D, XIAO S R. Discovery of a novel accessory protein NS7a encoded by porcine deltacoronavirus [J]. *Journal of General Virology*, 2017, 98(2):173–178.
- [14] GAO S Y, ZHA E H, LI B X, QIAO X Y, TANG L J, GE J W, LI Y J. High-level prokaryotic expression of envelope exterior of membrane protein of porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Veterinary Microbiology*, 2007, 123(1/3):187–193.
- [15] SIU K L, KOK K H, NG M H, POON V K, YUEN K Y, ZHENG B J, JIN D Y. Severe acute respiratory syndrome coronavirus M protein inhibits type I interferon production by impeding the formation of TRAF3-TANK-TBK1/IKKepsilon complex [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(24):16202–16209.
- [16] 孙东波, 冯力, 时洪艳, 陈建飞. 猪流行性腹泻病毒分子生物学研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2006 (10) : 11–14.
- SUN D B, FENG L, SHI H Y, CHEN J F. Advances in molecular biology of porcine epidemic diarrhea virus [J]. *Progress In Veterinary*

- Medicine*, 2006(10):11–14.
- [17] MA Y, ZHANG Y, LIANG X, LOU F, OGLESBEE M, KRACOWKA S, LI J. Origin, evolution, and virulence of porcine Deltacoronaviruses in the United States [J]. *Microbiology and Molecular Biology*, 2015,6(2):e64.
- [18] LI G W, CHEN Q, HARMOON K M, YOON K J, SCHWARTZ K J, HOOGLAND M J, GAUGER P C, MAIN R G, ZHANG J Q. Full-length genome sequence of porcine Deltacoronavirus strain USA/IA/2014/8734 [J]. *Genome Announcements*, 2014,2(2): e00278–14.
- [19] LEE J H, CHUNG H C, NGUYEN V G, MOON H J, KIM H K, PARK S J, LEE C H, LEE G E, PARK B K. Detection and phylogenetic analysis of porcine Deltacoronavirus in Korean swine farms, 2015 [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2016,63(3):248–252.
- [20] JAN ETANA K I T, LUMYAI M, BUMPAPONG N, BOONYAPISITSOPA S, CHAIYAWONG S, NONTHABENJAWAN N, KESDAENGSAKONWUT S, AMONSIN A. Porcine Deltacoronavirus, Thailand, 2015 [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016,22(4):757–759.
- [21] 张帆帆, 宋德平, 周信荣, 黄冬艳, 李安琪, 彭棋, 陈燕君, 吴琼, 何后军, 唐玉新. 新现猪 Delta 冠状病毒 RT-PCR 检测方法的建立及其应用 [J]. *中国农业科学*, 2016 (7) : 1408–1416.
- ZHANG F F, SONG D P, ZHOU X R, HUANG D M, LI A Q, PENG Q, CHEN Y J, WU Q, HE H J, TANG Y X. Establishment and application of a new RT-PCR detection method for porcine Delta coronavirus [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016(07):1408–1416.
- [22] ZHAI S L, WEI W K, LI X P, WEN X H, ZHOU X, ZHANG H, LV D H, LI F. Wang D Occurrence and sequence analysis of porcine deltacoronaviruses in southern China [J]. *Journal of Virology*, 2016,13:136.
- [23] DONG N, FANG L, ZENG S, SUN Q, CHEN H, XIAO S. Porcine Deltacoronavirus in Mainland China [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2015,21(12):2254–2255.
- [24] 宋亚兵, 徐帅飞, 苏丹萍, 石坚, 贺东生. 2012 年 ~ 2016 年广东省猪丁型冠状病毒的流行病学调查及分析 [J]. *中国预防兽医学报*, 2018 (10) : 886–890.
- SONG Y B, XU S F, SU D P, SHI J, HE D S. Epidemiological investigation and analysis of porcine ding coronavirus in guangdong province from 2012 to 2016 [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2018(10):886–890.
- [25] ZHANG J. Porcine deltacoronavirus: Overview of infection dynamics, diagnostic methods, prevalence and genetic evolution [J]. *Virus Research*, 2016,226:71–84.
- [26] LORSIRIGOO A, SAENG-CHUTO K, TEMEEYASEN G, MADAPONG A, TRIPAT T, WEGNER M, TUNTIUVANONT A, INTRAKAMHAENG M, NILUBOL D. The first detection and full-length genome sequence of porcine deltacoronavirus isolated in Lao PDR [J]. *Archives of Virology*, 2016,161(10):2909–2911.
- [27] SUZUKI T, SHIBAHARA T, IMAI N, YAMAMOTO T, OHASHI S. Genetic characterization and pathogenicity of Japanese porcine deltacoronavirus [J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2018,61:176–182.
- [28] 逢凤娇, 张柏猛, 何孔旺, 俞正玉, 徐向伟, 郭容利, 范宝超, 温立斌, 李彬, 姜平. 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 (9) : 50–53.
- PANG F J, ZHANG B M, HE K W, YU Z Y, XU X W, GUO R L, FAN B C, WEN L B, LI B, JIANG P. Establishment and application of detection method for M gene rt-pcr of porcine delta coronavirus [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2016(9):50–53.
- [29] 刘玲玲, 曹贝贝, 张利卫, 韩丽, 韦学雷, 兰培英, 胡慧, 王亚宾. 新发 PDCoV 和 TGEV 双重 RT-PCR 检测方法的建立及初步应用 [J]. *农业生物技术学报*, 2016 (12) : 1955–1963.
- LIU L L, CAO B B, ZHANG L W, HAN L, WEI X L, LAN P Y, HU H, WANG Y B. Establishment and preliminary application of dual rt-pcr detection methods for newly developed PDCoV and TGEV [J]. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology*, 2016(12):1955–1963.
- [30] 任玉鹏, 张斌, 汤承, 曹恭貌, 岳华. 同时检测 PEDV 和 TGEV 及 PDCoV 的多重 RT-PCR 方法的建立及初步应用 [J]. *中国兽医学报*, 2016 (6) : 756–762.
- REN Y P, ZHANG B, TANG C, CAO G M, YUE H. Establishment and preliminary application of multiple RT-PCR methods for detection of PEDV, TGEV and PDCoV [J]. *Veterinary Science in China*, 2016(6):756–762.
- [31] WANG J L, LEI X, QIN P, ZHAO P, WANG B, WANG Y, LI Y, JIN H, LI L, HUANG Y W. Development and application of real-time RT-PCR and S1 protein-based indirect ELISA for porcine Deltacoronavirus [J]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 2017,33(8):1265–1275.
- [32] MASUDA T, TSUCHIAKA S, ASHIBA T, YAMASATO H, FUKUNARI K, OMATSU T, FURUYA T, SHIRAI J, MIZUTANI T, NAGAI M. Development of one-step real-time reverse transcriptase-PCR-based assays for the rapid and simultaneous detection of four viruses causing porcine diarrhea [J]. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 2016,64(1):5–14.
- [33] ZHANG F, YE Y, SONG D, GUO N, PENG Q, LI A, ZHOU X, CHEN Y, ZHANG M, HUANG D, TANG Y. A simple and rapid identification method for newly emerged porcine Deltacoronavirus with loop-mediated isothermal amplification [J]. *Biological Research*, 2017,50(1):30.
- [34] OKDA F, LAWSON S, LIU X, SINGREY A, CLEMENT T, HAIN K, NELSON J, CHRISTOPHER-HENNINGS J, NELSON E A. Development of monoclonal antibodies and serological assays including indirect ELISA and fluorescent microsphere immunoassays for diagnosis of porcine deltacoronavirus [J]. *BMC Veterinary Research*, 2016,12:95.
- [35] LUO S X, FAN J H, OPRIESSNIG T, DI J M, LIU B J, ZUO Y Z. Development and application of a recombinant M protein-based indirect ELISA for the detection of porcine deltacoronavirus IgG antibodies [J]. *Journal of Virological Methods*, 2017,249:76–78.

(责任编辑 邹移光)