

猪塞尼卡谷病毒流行态势与诊断防控研究进展

赵振翔^{1,2} 朱紫祥² 杨帆² 曹伟军² 刘湘涛² 杨孝朴^{1*} 郑海学^{2*}

(1. 甘肃农业大学动物医学院 甘肃 兰州 730070)

(2. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原学国家重点实验室
口蹄疫国家参考实验室 甘肃 兰州 730046)

摘要: 塞尼卡谷病毒(Seneca valley virus, SVV)为小 RNA 病毒科塞尼卡病毒属的唯一成员, 2002 年首次发现于 PER.C6 细胞培养物中, 被鉴定为细胞培养基中的污染物。最初 SVV 被用作溶瘤病毒进行肿瘤治疗研究。现已证实 SVV 感染猪能够引发原发性水泡病, 引起猪的鼻吻、蹄部冠状带的水泡病变, 同时伴有跛行、厌食、嗜睡和发烧等临床表现。与口蹄疫、猪水泡病和水泡性口炎引起的临床症状难以区分。2015–2017 年期间, 在美国、中国、泰国等多个国家暴发了 SVV 疫情, 并且流行范围逐步扩大。针对该病的不断扩散, 急需提出和制定有效的诊断与防控策略及措施。因此, 一些新的诊断方法被不断开发出来, 新的防控策略也在逐步建立。本文主要针对 SVV 最新的流行态势及特点、诊断与防控技术进行综述, 旨在提供 SVV 最新研究进展, 提高疾病防控及科研工作人员对该病的进一步认识和了解, 为该病的防控提供理论依据和参考。

关键词: 塞尼卡谷病毒, 猪水泡病, 流行病学, 诊断方法

Advance in Seneca valley virus epidemiology, diagnosis and control

ZHAO Zhen-Xiang^{1,2} ZHU Zi-Xiang² YANG Fan² CAO Wei-Jun² LIU Xiang-Tao²
YANG Xiao-Pu^{1*} ZHENG Hai-Xue^{2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

(2. State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, National Foot and Mouth Diseases Reference Laboratory, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730046, China)

Abstract: Seneca valley virus (SVV) belongs to Senecavirus genus of family Picornaviridae, and is classified as the unique member of Senecavirus genus. SVV was identified in 2002 while cultivating viral vectors in PER.C6 cell culture and was suggested to be contaminated by fetal bovine serum or porcine trypsin. Many studies about SVV at the initial time have focused on the potential oncolytic

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. U1501213, 31672585); Gansu Science Foundation for Distinguished Young Scholars (No. 1606RJDA313); Natural Science Foundation of Gansu Province (No. 1606RJYA280)

*Corresponding authors: E-mail: YANG Xiao-Pu: yangxpu@gsau.edu.cn; ZHENG Hai-Xue: haixuezheng@163.com
Received: July 17, 2017; Accepted: October 26, 2017; Published online (www.cnki.net): November 01, 2017

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. U1501213, 31672585); 甘肃省杰出青年基金项目(No. 1606RJDA313); 甘肃省自然科学基金项目(No. 1606RJYA280)

*通讯作者: E-mail: 杨孝朴: yangxpu@gsau.edu.cn; 郑海学: haixuezheng@163.com

收稿日期: 2017-07-17; 接受日期: 2017-10-26; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-11-01

activity of SVV in human cancer therapy. It is now identified as a pathogen to infect pigs and cause porcine idiopathic vesicular disease. The clinical signs include: cutaneous vesicular lesions on the snout and coronary bands, lameness, anorexia, lethargy and fever. These clinical signs are similar with that caused by foot-and-mouth disease, swine vesicular disease and vesicular stomatitis. Therefore, these diseases are indistinguishable by clinical signs. In 2015 to 2017, SVV infection occurred in the United States, China, Thailand and many other countries, with increasing spread and outbreaks. Therefore, urgent surveillance and control policies are needed to limit the spread of SVV. Several new diagnostic and control methods have been exploited. In the present review, we summarized the recent spread information, diagnostic and control methods of SVV to provide theoretical foundation for controlling of this disease.

Keywords: Seneca valley virus, Swine vesicular disease, Epidemiology, Diagnosis methods

塞尼卡谷病毒(Seneca valley virus, SVV)也称为塞尼卡病毒 A (Senecavirus A, SVA), 属于小 RNA 病毒科塞尼卡病毒属^[1]。SVV 与其他小 RNA 病毒科成员一样, 具有直径约 25 nm–30 nm 的无囊膜衣壳, 呈二十面体对称。SVV 基因组长约 7.2 kb, 为单链正股 RNA, 拥有一个唯一的开放阅读框(ORF); ORF 两侧为 5'非翻译区(约 668 个核苷酸)和 3'非翻译区(约 68 个核苷酸), 3'非翻译区后具有多聚(A)尾巴。SVV 唯一的 ORF 编码一个由 2 181 个氨基酸组成的多聚蛋白前体。多聚蛋白前体可以被病毒蛋白水解酶逐步切割形成前导蛋白(L^{P0})和 3 个主要的多聚蛋白(P1-2A、P2-BC 和 P3)。3 个多聚蛋白进一步水解形成病毒衣壳的 4 个结构蛋白(VP4、VP2、VP3 和 VP1)和参与病毒复制的 7 个非结构蛋白(2A、2B、2C、3A、3B、3C 和 3D)^[1-2]。

SVV 多聚蛋白遵循小 RNA 病毒基因组的标准 L-4-3-4 布局, 结构蛋白编码区在基因组的 5'端, 非结构蛋白编码区在基因组 3'端。多聚蛋白的裂解主要包括: 通过一种核糖体跳过机制使 P1-2A 与 2BC-P3 分离^[3]; 3C 蛋白酶通过其水解酶活性将 L 和 P1 以及 2BC 和 P3 裂解开来; L、2A 和 3C 蛋白进一步对中间体蛋白进行切割形成成熟病毒蛋白。对分离的第一株 SVV 病毒(SVV-001)的 ORF 序列分析发现, 其 P1、2C、3C 和 3D 的编码区与心病毒属病毒相似性极高, 但多聚蛋白的其他区域则与已知的小 RNA 病毒科其他成员差异较

大^[1]。SVV 的 5'非编码区序列中含有内部核糖体进入位点(IRES), 其 IRES 结构与小 RNA 病毒的 IRES 差异较大, 但与黄病毒科中猪痘病毒(CSFV)的 IRES 元件(IV 型 IRES)的二级结构类似^[4]。这些研究进展表明 SVV 与其他小 RNA 病毒科成员相比具有其独特的特性。

1 SVV 的致病特征和流行态势

2002 年, SVV 首次在美国被报道, 病毒被发现于 PER.C6 细胞培养物中, 被认为是细胞培养基的污染物。2007 年 SVV 被发现是引起加拿大发生的猪原发性水泡病(PIVD)的致病病原^[5]。2015 年以后, 在美国、巴西等多国均发现 SVV 感染导致猪发生 PIVD 的临床病例, 进一步确认了 SVV 对猪的致病性^[6]。SVV 感染引发的水泡病与口蹄疫(FMD)、猪水泡病(SVD)和水泡性口炎(VS)引起的病变极为类似(图 1), 具体表现为病畜鼻吻部、蹄部冠状带出现明显水泡, 同时伴有跛行、厌食、嗜睡和发烧等症状。因此, 仅从临床症状上无法区分 SVV 感染和其他水泡病。SVV 是引起猪发生 PIVD 的致病因子的观点最初不被人们认可, 因为当时并未从发病猪体内分离到活病毒, 仅有测序结果^[1,7]。同时, 由于常见的病毒感染, 例如细小病毒、肠道病毒、食物供应中的毒素或烧伤都有可能形成类似的水泡病变, 因此直到人为将 SVV 感染猪的病例复制出后, 才确证了 SVV 对猪的致病性^[8-13]。本实验室前期证实育肥猪感染 SVV 后能够引起猪鼻部和

蹄冠部产生显著的水泡病变，并成功分离了 SVV 毒株^[6]。现有研究已证实 SVV 感染后能引起断奶仔猪及保育、育肥和繁殖的各年龄段猪发生水泡病^[14-17]。这包括以前巴西、美国和中国报道的引起急性跛行、突发新生仔猪死亡和水泡病变临床症状的 SVV 感染病例^[16-20]。

比较有意思的是，在对更早的水泡病发病猪保藏样品进行测序分析时发现，自 20 世纪 80 年代后期以来，美国猪群中便存在 SVV^[7]。自 2002 年确定 SVV 病原的存在至 2015 年初，SVV 感染猪

的病例只有在美国和加拿大零星发生。但自 2015 年下半年后，在巴西、美国、加拿大、中国、哥伦比亚等多国相继发生了 SVV 感染猪的疫情，而且呈蔓延之势。

2015 年初，巴西的 6 个州报告了病因不明的水泡病疫情的发生，后经鉴定均由 SVV 感染引起^[16,21]。几乎与此同时，中国广东省在 5 月份也发生了 PIVD 疫情，其特征也是位于鼻吻和蹄冠部产生明显水泡，发病母猪伴随着发热和厌食，产房的仔猪急性死亡，经鉴定致病病原也是 SVV^[17,22]。



图 1 SVV 感染猪引发的水泡病临床症状(引自本实验室前期发表数据^[6])

Figure 1 Clinical signs of vesicular disease caused by SVV infection in pigs (cited from our previous data^[6])

2016年10月,泰国北部地区的一个育肥猪场发生了水泡病疫情,疫情持续了两周,暴发疫情的猪群共有6133头猪,其中246头发病,但没有死亡;从12只发病猪收集的3个水泡液样品和9个蹄冠水泡皮样品进行了SVV测定,检测结果显示所有样品均为SVV阳性样品;对口蹄疫在内的其他水泡病病原进行检测,结果则均为阴性^[23]。本实验室2017年初鉴定了我国福建和河南再次发生的猪感染SVV案例,并证实毒株与美国流行毒株相似性极高,而与加拿大和巴西毒株相似性较低^[6]。截至目前,已有美国、加拿大、巴西、哥伦比亚、中国和泰国报道了SVV感染猪的案例(表1),其他国家的流行情况仍不清楚,但根据现有研究报道显示SVV流行的地域正在逐步扩大,发生的国家数量也在近两年迅速增加,因此,其未来流行的动态需要持续关注^[6]。将美国、哥伦比亚、巴西和中国流行的SVV分离株序列与以往的SVV历史株进行比对分析发现,新出现的SVV毒株与历史毒株相比相似性显著降低(相似性为91%–93%),这表明当下毒株和历史毒株相比已经发生了显著的进化和变异^[13,24]。变异和突变的积累可能增加了SVV致病性和传染性,因此,导致SVV快速流行开来。

表1 SVV 流行状况统计
Table 1 The reported outbreaks of SVV infection in different countries

流行国家 Countries	暴发年份(年) Outbreak year	感染宿主 Hosts
美国 America	2015、2016	猪
加拿大 Canada	2007、2011、2016	猪
巴西 Brazil	2014、2015	猪
哥伦比亚 Colombia	2016	猪
中国 China	2015、2016、2017	猪
泰国 Thailand	2016	猪

2 SVV 的鉴定和诊断

鉴于SVV快速传播的能力,建立高效、准确的诊断方法是进行该病防控的前提。目前已经用于诊断SVV的实验室方法包括病毒分离、病毒中和、竞争ELISA、常规RT-PCR和实时荧光RT-PCR(rRT-PCR)等方法^[21,25-26]。2007年在加拿大猪中检测到SVV后^[5],迫切需要开发一种能够用于检测SVV的便捷、可扩展的血清学诊断方法。制备出SVV特异性单克隆抗体(mAb)显得尤为重要,借助制备的mAb可以开发SVV竞争性酶联免疫吸附检测方法(cELISA)或免疫组织化学反应。针对2007年加拿大发生的SVV疫情,Yang等制备了反应性很高的mAb,并成功开发了针对SVV的cELISA检测方法,证明其可用于猪体内SVV抗体的检测,并且与其他小RNA病毒没有交叉反应^[26]。然而,由于当时SVV阳性血清数量的限制,该检测方法并未得到充分验证。因此,在2015年大面积暴发SVV疫情后,Goolia等对先前开发的cELISA进行了进一步验证,同时还建立了病毒中和试验(VNT)方法以确保SVV的准确诊断^[27]。在开发VNT检测方法过程中,将cELISA、VNT和明尼苏达大学兽医诊断实验室建立的免疫荧光抗体检测(IFAT)方法进行了SVV检测的比对,对273份SVV阳性血清和1014份阴性血清进行了检测^[27]。结果显示,cELISA的诊断特异性和敏感性分别为98.2%(97.2%–98.9%)和96.9%(94.5%–98.4%),VNT为99.6%(99.0%–99.9%)和98.2%(95.8%–99.4%),IFAT为100%和90%。当基于卡帕系数(Kappa coefficient)进行比较时,cELISA、VNT和IFAT检测结果之间有很好的关联性和一致性。此外,该研究还证明建立的VNT方法对FMDV、VSV和SVDV并无交叉反应,具有很好的特异性。建立的cELISA同样与FMDV、VSV和SVDV无交叉反应,与VNT结果相符,表明100%检测特异性。对IFAT、cELISA和VNT

三种方法进行系统的比较表明均可用于 SVV 的检测。但在实际检测过程中, cELISA 要优于其他两种检测方法, 因为它的操作更快更简单, 成本更便宜, 不依赖显微镜观察, 适用于大规模样本检测, 因此可用于常规畜群的筛查。VNT 和 IFAT 可作为进一步确诊方法, 与 cELISA 结合使用。

除了血清学检测方法, 针对 SVV 基因组的 PCR 检测方法也可以快速进行 SVV 的诊断。SVV 的 RT-PCR 检测方法的建立对 SVV 的发病机制和流行病学研究具有重要意义。RT-PCR 检测方法可以对 SVV 在环境的分布及传播的路线进行调查, 对病毒在其他宿主中进行监测, 鉴定新的传播媒介和途径, 也可以进行组织嗜性和病毒载量分析。3D 基因是 SVV 基因组中最为保守的区域, 因此针对 3D 基因建立的 RT-PCR 方法比针对其他基因的检测方法灵敏度更高。现在已经建立了针对 3D 基因的实时 RT-PCR 方法, 并证明其可以广泛用于 SVV 的检测^[28]。除了针对 3D 基因的 RT-PCR, 现在还建立了针对 VP1 的 RT-PCR^[29]。

虽然针对 SVV 检测的 VNT 和 cELISA 方法已经建立, 并且具有很好的特异性和灵敏性, 但这些方法目前仍局限于实验室内部使用, 未能推广应用^[30-31]。然而基于 SVV 基因组检测的 RT-PCR 方法可以快速推广使用, 应用到 SVV 的流行病学调查及基础研究中。进一步研发可大范围推广使用的血清学诊断方法对于 SVV 的防控依然非常紧迫和重要。将不同种检测方法结合使用确保诊断结果的准确率和可信性, 能够为 SVV 的防控提供有力保障和支持。

3 SVV 疫苗的研发

控制传染病最主要的手段是预防, 而利用疫苗免疫进行预防是最为有效的措施, 但目前仍然无法推广使用的 SVV 商品化疫苗的报道。堪萨斯州立大学 Chen 等以 SVV 美国流行毒株 KS15-01 基因组为模板构建了 SVV 全长 cDNA, 并进一步建立了 SVV 感染性克隆 pKS15-01-Clone, 希望借助

构建重组病毒, 然后对病毒蛋白位点进行突变修饰开发出高免疫效力、无致病性的重组活病毒疫苗^[4]。感染性克隆的重要用途之一是能够作为外源基因表达的病毒骨架。然而插入增强型绿色荧光蛋白 EGFP 的示踪病毒是研究病毒生物学特性、发病机理和标记疫苗的重要工具^[32-34]。Chen 等成功将 EGFP 的表达序列插入到 SVV 的 2A 和 2B 之间, 获得了能够表达 EGFP 荧光蛋白的 SVV 重组病毒。该重组示踪病毒的获得为 SVV 致病机制研究和重组病毒疫苗的研发提供了非常好的研究材料^[4]。

Poirier 等曾以 SVV 首个分离株 SVV-001 为框架构建了表达 EGFP 的重组病毒 SVV-GFP, 用于开发基于 SVV 的溶瘤药物研究。其研究表明 SVV-GFP 仅在肺癌细胞系中表现临床病症, 而在天然宿主细胞和动物中并不能引起任何病变^[35]。因此, Chen 等同样研究了 SVV KS15-01-EGFP 重组病毒对宿主细胞及猪的致病性。结果表明 KS15-01-EGFP 重组病毒和其亲本病毒相比, 它在体外和体内都能进行复制, 并在感染动物中诱导相似水平的中和抗体和细胞因子, 但相比之下, KS15-01-EGFP 重组病毒在猪体内显示出较低的复制水平, EGFP 的插入显著降低了重组病毒在宿主体内的复制水平。亲本病毒 KS15-01 感染的所有猪都表现出明显的蹄部病变, 但 KS15-01-EGFP 重组病毒感染的猪未表现出任何临床症状^[4]。这些结果表明, EGFP 插入的 SVV 病毒可作为无致病性重组病毒活疫苗研究工具。另外, 灭活疫苗在传染病的防控中发挥着重要作用, 已被广泛应用, 灭活疫苗对病原进行了有效的灭活, 提供了疫苗的安全性, 因此, 开发高效保护的灭活疫苗可以作为当下 SVV 防控研究的一个方向。

4 SVV 的其他用途

SVV 在发现之初, 主要研究方向是基于溶瘤病毒治疗的应用, 它在不同类型的癌症治疗中具有潜在的治疗用途。SVV 作为一种天然的溶瘤药

物,具有选择性复制的能力,而且能杀死神经内分泌肿瘤细胞,因此该病毒作为癌症潜在治疗干预的工具应当被深层次研究^[36]。溶瘤病毒是可复制的病毒,其选择性地在癌细胞中引起细胞毒性而对正常组织无明显损伤。在实验室研究阶段,已经有使用 SVV 来感染具有神经内分泌特征的肿瘤,包括小细胞肺癌和小儿神经内分泌肿瘤等探索研究。初步数据表明 SVV 具有在肿瘤细胞内复制的能力。因此,SVV 在医疗领域被认为是一个潜在的癌症治疗工具,关于其抗癌作用和机制有待于进一步深入阐明和应用。

5 展望

老病不断、新病又添是当下我国养猪业面临的一个重大难题。近两年猪群中新发的 PCV-3、猪颤抖病、SVV 引发的水疱病不断出现,给我国的养猪行业带来了很大的危害。在这些新发病还未大范围流行前,如何有效地限制其进一步传播显得尤为重要。由于针对这些新发病目前尚无可用疫苗,一旦发生疫情,很难进行控制。为有效控制这些新发病在我国的流行和蔓延,急需建立有效的诊断方法,创制高效保护的疫苗。在 SVV 的防控中,新的研究方法和工具正在被快速地开发和评价,新的疫苗也在开发中;多种诊断方法的结合使用,配合疫苗免疫的预防,加上有效的控制计划和策略,相信在不远的将来 SVV 的流行会得到有效的控制。在 SVV 致病性研究方面,现在已经有了关于其受体鉴定、抑制宿主天然免疫反应相关的研究结果,为 SVV 的发病机理、临床诊断和免疫提供了数据支持和理论依据。虽然针对 SVV 的研究取得了一定的进展,但许多问题仍有待于深入研究,比如:(1) SVV 病毒的具体特征,包括其生物学和分子进化特征,pH 稳定性,感染与入侵途径,细胞大分子,复制周期,存活环境等;(2) 仔猪致病机制;(3) 宿主免疫反应,包括初乳中的保护性抗体滴度等。

参考文献

- [1] Hales LM, Knowles NJ, Reddy PS, et al. Complete genome sequence analysis of Seneca valley virus-001, a novel oncolytic picornavirus[J]. *Journal of General Virology*, 2008, 89(Pt5): 1265-1275
- [2] Knowles NJ, Hallenbeck PL. A new picornavirus is most closely related to cardioviruses[A]//EUROPIC 2005: 13th meeting of the European Study Group on the molecular biology of picornaviruses[C]. Lunteren, the Netherlands: European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses, 2005
- [3] Donnelly MLL, Luke G, Mehrotra A, et al. Analysis of the aphthovirus 2A/2B polyprotein 'cleavage' mechanism indicates not a proteolytic reaction, but a novel translational effect: a putative ribosomal 'skip'[J]. *Journal of General Virology*, 2001, 82(Pt 5): 1013-1025
- [4] Chen ZH, Yuan FF, Li YH, et al. Construction and characterization of a full-length cDNA infectious clone of emerging porcine Senecavirus A[J]. *Virology*, 2016, 497: 111-124
- [5] Pasma T, Davidson S, Shaw SL. Idiopathic vesicular disease in swine in Manitoba[J]. *Canadian Veterinary Journal*, 2008, 49(1): 84-85
- [6] Zhu Z, Yang F, Chen P, et al. Emergence of novel Seneca valley virus strains in China, 2017[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017, 64(4): 1024-1029
- [7] Singh K, Corner S, Clark SG, et al. Seneca valley virus and vesicular lesions in a pig with idiopathic vesicular disease[J]. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 2012, 3(6): 123
- [8] Harvey RB, Kubena LF, Corrier DE, et al. Cutaneous ulceration and necrosis in pigs fed aflatoxin- and T-2 toxin-contaminated diets[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1990, 2(3): 227-229
- [9] Knowles NJ. The association of group III porcine enteroviruses with epithelial tissue[J]. *Veterinary Record*, 1988, 122(18): 441-442
- [10] Kresse JI, Taylor WD, Stewart WW, et al. Parvovirus infection in pigs with necrotic and vesicle-like lesions[J]. *Veterinary Microbiology*, 1985, 10(6): 525-531
- [11] Lager KM, Mengeling WL. Porcine parvovirus associated with cutaneous lesions in piglets[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1994, 6(3): 357-359
- [12] Whitaker HK, Neu SM, Pace LW. Parvovirus infection in pigs with exudative skin disease[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1990, 2(3): 244-246
- [13] Joshi LR, Fernandes MHV, Clement T, et al. Pathogenesis of Senecavirus A infection in finishing pigs[J]. *Journal of General Virology*, 2016, 97(12): 3267-3279
- [14] Canning P, Canon A, Bates JL, et al. Neonatal mortality, vesicular lesions and lameness associated with Senecavirus A in a U.S. sow farm[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2016, 63(4): 373-378
- [15] Leme RA, Oliveira TES, Alcântara BK, et al. Clinical manifestations of Senecavirus A infection in neonatal pigs, Brazil, 2015[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(7): 1238-1241
- [16] Vannucci FA, Linhares DCL, Barcellos DESN, et al.

- Identification and complete genome of Seneca valley virus in vesicular fluid and sera of pigs affected with idiopathic vesicular disease, Brazil[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2015, 62(6): 589-593
- [17] 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]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017, 64(5): 1633-1640
- [18] Guo BQ, Piñeyro PE, Rademacher CJ, et al. Novel Senecavirus A in swine with vesicular disease, united states, July 2015[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(7): 1325-1327
- [19] Wang L, Prarat M, Hayes J, et al. Detection and genomic characterization of Senecavirus A, Ohio, USA, 2015[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(7): 1321-1323
- [20] Zhao X, Wu Q, Bai Y, et al. Phylogenetic and genome analysis of seven Senecavirus A isolates in China[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017. DOI: 10.1111/tbed.12619
- [21] Leme RA, Zotti E, Alcântara BK, et al. Senecavirus A: an emerging vesicular infection in Brazilian pig herds[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2015, 62(6): 603-611
- [22] Qian SH, Fan WC, Qian P, et al. Isolation and full-genome sequencing of Seneca valley virus in piglets from China, 2016[J]. *Virology Journal*, 2016, 13(1): 173
- [23] Saeng-Chuto K, Rodtian P, Temeeyasen G, et al. The first detection of Senecavirus A in pigs in Thailand, 2016[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017. DOI: 10.1111/tbed.12654
- [24] Sun D, Vannucci F, Knutson TP, et al. Emergence and whole-genome sequence of Senecavirus A in Colombia[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2017, 64(5): 1346-1349
- [25] Bracht AJ, O'Hearn ES, Fabian AW, et al. Real-time reverse transcription PCR assay for detection of Senecavirus A in swine vesicular diagnostic specimens[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146211
- [26] Yang M, van Bruggen R, Xu WH. Generation and diagnostic application of monoclonal antibodies against Seneca valley virus[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2012, 24(1): 42-50
- [27] 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]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2017, 29(2): 250-253
- [28] Fowler VL, Ransburgh RH, Poulsen EG, et al. Development of a novel real-time RT-PCR assay to detect Seneca valley virus-1 associated with emerging cases of vesicular disease in pigs[J]. *Journal of Virological Methods*, 2017, 239: 34-37
- [29] Bracht AJ, O'Hearn ES, Fabian AW, et al. Real-time reverse transcription PCR assay for detection of Senecavirus A in swine vesicular diagnostic specimens[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146211
- [30] Munday BL, Ryan FB. Vesicular lesions in swine-possible association with the feeding of marine products[J]. *Australian Veterinary Journal*, 1982, 59(6): 193
- [31] Zhang JQ, Piñeyro P, Chen Q, et al. Full-length genome sequences of Senecavirus A from recent idiopathic vesicular disease outbreaks in U.S. swine[J]. *Genome Announcements*, 2015, 3(6): e01270-15
- [32] Fang Y, Christopher-Hennings J, Brown E, et al. Development of genetic markers in the non-structural protein 2 region of a US type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for future recombinant marker vaccine development[J]. *Journal of General Virology*, 2008, 89(Pt 12): 3086-3096
- [33] Fang Y, Rowland RRR, Roof M, et al. A full-length cDNA infectious clone of North American type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus: expression of green fluorescent protein in the Nsp2 region[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(23): 11447-11455
- [34] Zhao DM, Fukuyama S, Yamada S, et al. Molecular determinants of virulence and stability of a reporter-expressing H5N1 influenza A virus[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(22): 11337-11346
- [35] Poirier JT, Reddy PS, Idamakanti N, et al. Characterization of a full-length infectious cDNA clone and a GFP reporter derivative of the oncolytic picornavirus SVV-001[J]. *Journal of General Virology*, 2012, 93(Pt 12): 2606-2613
- [36] Reddy PS, Burroughs KD, Hales LM, et al. Seneca valley virus, a systemically deliverable oncolytic picornavirus, and the treatment of neuroendocrine cancers[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2007, 99(21): 1623-1633