

动物病毒学的成就及展望

金宁一

(解放军军需大学兽医研究所, 吉林长春 130062)

Advances and Achievements in Animal Virology

JIN Ning-yi

(Quartermaster University of PLA, Changchun 130062, china)

关键词: 动物病毒学; 病毒病; 进展; 方向; 建议

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1013-5152 (2004) 03-0398-05

1 我国动物病毒学领域 50 年的主要成就及相关科学家的贡献

动物病毒学是一门综合性学科, 它是建立在生物化学、生物物理学、分子生物学、分子遗传学和生物高新技术等相关学科基础上, 其中任一学科的每一次突破, 都将带动动物病毒学的飞速发展。80 年代以来, 生物技术的出现和发展, 先后创制了几十种疫苗, 通过对免疫预防、诊断技术的系统研究, 取得了前所未有的成果。近些年来, 人们在病毒特性的研究方面, 尤其是在病毒本身基因组结构分析、病毒培养技术、病毒诊断技术、病毒分子流行病学调查以及生物工程疫苗研制等诸多方面, 取得了前所未有的巨大成就, 标志着动物病毒学已经进入了一个崭新的时代。

1.1 畜禽主要病毒病综合防制研究中取得的重大成果

1.1.1 马、牛、羊病毒病: 牛瘟在建国前几乎流行全国, 疫情十分严峻, 在推广应用我国陈凌风、袁庆志等研制的牛瘟兔化弱毒、牛瘟山羊化兔化弱毒、牛瘟绵羊化兔化弱毒疫苗, 自 1949 年算起仅用 6 年时间 (1956 年) 消灭了危害严重的牛瘟, 为我国近代动物病毒学史添写了光辉的一页。

早在 20 世纪 30 年代, 马传染性贫血传入我国, 在广大地区引起暴发流行, 造成大批马匹死亡, 严重危害我国养马业和农业生产。沈荣显院士研究组和解放军兽医大学研究所马传贫研究团队等于 1965 年和 1976 年相继用人白细胞和驴胎皮肤继代

细胞分离培养马传贫强毒获得成功, 并于 1982 年用弱毒的驴白细胞或驴胎皮肤二倍体细胞培养物制成马传贫弱毒疫苗, 是目前国际上唯一的马传染性贫血活疫苗, 该成果达到国际先进水平。

此外, 我国在牛流行热、羊痘、牛粘膜病、牛白血病、蓝舌病等病的免疫预防和诊断技术等方面的研究也都取得了卓越的成果, 特别是近年来开展单克隆抗体、核酸探针和 PCR 诊断技术研究, 建立了马传染性贫血、牛白血病等的分子诊断技术, 在科学研究和生产实践中应用, 取得了可喜的成果。

1.1.2 猪病毒病: 猪瘟是危害最大的猪病毒病之一。建国初期, 何正礼、方时粟等选用抗原性优良的石门系毒株研究改进制成的猪瘟结晶紫疫苗效果显著, 及时控制了当时猪瘟的广泛流行。1955-1956 年周泰冲等研制成功了我国系猪瘟兔化弱毒疫苗, 1957 年起, 国内广泛应用后有效控制了疫情, 欧亚很多国家, 则应用该疫苗控制、消灭了猪瘟, 这是我国动物病毒学家的一大杰出贡献。近年来在猪瘟疫苗生产方法的改进、免疫程序、免疫诊断、免疫监测以及非典型猪瘟等方面的研究都取得了显著成果。

1980 年李佑民、钱永清等在猪体中分离了猪流行性腹泻病毒, 1982 年宣华等利用猪胎小肠原代单层上皮细胞成功培养了猪流行性腹泻病毒。1995 年郭宝清等分离了猪繁殖与呼吸综合征病毒。

在伪狂犬病、猪细小病毒病、流行性乙型脑炎、传染性胃肠炎和流行性腹泻等病的免疫预防、诊断技术研究方面均已取得显著成果, 研制成安全有效的疫苗和快速简便的诊断方法, 使很多传染病得到

收稿日期: 2004-03-20

作者简介: 金宁一(1956-), 男, 吉林龙井籍, 教授, 博士, 中国畜牧兽医学会传染病分会理事长。Tel: 0431-6986747, E-mail: ningyij@yahoo.com

了有效的控制。

1.1.3 禽病毒病: 进入 80 年代以来, 随着养禽业的高速发展, 在新城疫、马立克氏病、传染性囊病、传染性支气管炎、传染性喉气管炎、慢性呼吸道病、小鹅瘟等病毒病的诊断、检测、免疫、防制研究有了显著的进展。1956-1963 年方定一等首次发现并系统研究了小鹅瘟, 并研制成疫苗和抗血清, 有效控制了该病的流行, 贡献卓越, 是我国动物病毒学家在国际上首先发现的家禽病毒病。1957 年黄引贤首次报道了鸭瘟在我国的流行, 1983 年林绍仪等分离了鸡传染性支气管炎病毒, 1983 年毕英佐等证明了鸡脑脊髓炎的存在, 1986-1987 年颜伟、刘福安等分离到禽呼肠病毒。1986 年金扩世、金宁一等首次分离了鸡新城疫弱毒疫苗株, 中试效果显著。此外, 还对禽流感、产蛋下降综合征、网状内皮增殖症、鸡传染性贫血、肾病变型传染性支气管炎和番鸭细小病毒病等进行了深入的研究。对新城疫、传染性囊病、马立克氏病和传染性支气管炎等主要禽病病原的研究已深入到分子生物学领域, 在其病毒的遗传变异和分子流行病学研究方面已取得较高水平的研究成果。

1.1.4 小动物病毒病: 1984 年由杜念兴、王永坤等在我国首次发现了兔出血症病毒。我国对此病进行了系统的研究, 并研制成安全有效的疫苗, 基本上控制了该病的流行。80 年代后期, 该病在世界上很多国家广泛流行, 引起国际动物病毒学和国际兽医界的重视, 我国对该病的研究居国际先进水平。1986 年夏成柱等成功地分离了犬细小病毒自然弱毒疫苗 CR86106 株, 1998 年夏成柱等又成功地分离了犬 2 型腺病毒自然弱毒疫苗 YCA18 株, 并研制成功犬五联治疫苗。

1.1.5 近年来的成就: 近年来, 对马传染性贫血、猪瘟、牛白血病、牛粘膜病、牛鼻气管炎等 10 多种疫病开展了单克隆抗体、核酸探针和 PCR 诊断技术研究, 有的已在生产实践中广泛应用, 并取得了可喜成果。

已故殷震院士等首次提出病毒病快速诊断 (1968 年) 的新概念以来, 已建立了 30 多种猪、禽病毒病的微量、快速、特异的诊断方法, 有的已进入产业化。

对猪瘟、新城疫、传染性囊病、马立克氏病、传染性支气管炎、传染性喉气管炎、禽流感、鸡产蛋下降综合症等病原的研究, 已深入到分子生物学领域, 包括病毒载体的构建, 有关免疫原性基因的分鉴定、克隆和表达, 基因表达产物的生物学功

能研究, 核酶剪切 RNA 病毒以及用于诊断的单克隆抗体、核酸探针、PCR、酶切图谱分析和核酸系统测定等。

猪瘟病毒、猪流感病毒、新城疫病毒、传染性囊病病毒、传染性支气管炎病毒等 10 多种重要疫病病毒的遗传变异和分子流行病学研究和基因组结构与功能研究, 居国际先进水平。

在成功构建高效、安全痘苗病毒载体系统和具有自主知识产权的鸡痘病毒载体系统基础上, 正在积极构建包括马传染性贫血、口蹄疫、狂犬病、伪狂犬病、猪细小病毒病、流行性乙型脑炎、新城疫、马立克氏病、传染性囊病、传染性支气管炎、传染性喉气管炎和禽流感病毒在内的 20 多种基因工程疫苗或基因重组活载体疫苗, 其中口蹄疫基因工程亚单位疫苗已上市, 具有知识产权的部分基因工程重组疫苗接近完成临床实验。已建立了狂犬病病毒、乙肝病毒转基因动物模型。已启动了有关动物病毒病的转基因植物疫苗和分子设计疫苗研究。克隆了牛、猪、鸡的多种细胞因子, 有的已进入产业化阶段。

20 年来先后分离鉴定了牛、猪轮状病毒、蓝舌病病毒、山羊关节炎—脑炎病毒、鹿狂犬病病毒 (侯世宽等, 1985 年) 等 20 多种病毒, 殷震院士等 1976 年至 80 年代末, 又进行了 13 种动物病毒的分离鉴定和生物学特性研究。

在上述研究中马传染性贫血病毒、小鹅瘟病毒、猪流行性腹泻病毒、兔出血症病毒、番鸭细小病毒病和貂冠状病毒是国内外首次分离成功。已进行了几十种病毒病的流行病学调查, 建立了相应的诊断方法, 有的已经制成疫苗, 为预防和控制这些传染病, 打下了坚实的基础。

1.2 学科现状与水平

建国以来, 我国动物病毒学的学科水平有很大提高, 在兽医科学中位列前茅, 为动物传染病防制和研究取得的显著成就, 为我国跃居世界畜牧生产大国提供了可靠保障。但与发达国家相比, 疫病防制技术手段还有较大差距, 难以满足飞速发展的畜禽养殖业的迫切需要。

我国对一些重大疫病的基础性研究还不够, 未能充分掌握其流行规律、病原体的变异和变异规律, 因此一些疫病的病原在流行过程中发生了变异, 使原有的旧病以新的面貌出现时, 往往造成诊断上的差误和免疫效果参差不齐, 甚至免疫失败。

此外, 对已建立和研制的各种诊断技术、诊断制剂和疫苗, 由于缺乏标准化的技术要求和标准化

的生产工艺,常使新的技术不能尽快完善和推广应用。

我国动物病毒病防制和研究工作虽已取得重大进展,在某些方面的研究成果已达到或接近国际先进水平,但总体上与发达国家先进水平相比还有一定差距。为使我国畜牧业生产持续发展,加强和提高我国畜禽传染病防制和研究的水平,应是我们的当务之急。

2 当前国际动物病毒学领域研究的主要进展和未来十年的发展方向

目前许多发达国家在防制动物病毒病方面重点仍是放在免疫、检疫、隔离和消毒等综合性防制措施,使危害严重的病毒病得到消灭和控制。发达国家的兽医科学家着手应用分子流行病学对疫病的流行预测预报;分离、克隆和研究与免疫有关的基因;动物疫苗研究进入到针对多血清型、变异病原体的工程苗、多肽疫苗和重组疫苗,已研制成幼畜腹泻、伪狂犬病、口蹄疫等基因工程苗;开展了基因定位、克隆和表达、无致病活性载体及有效佐剂的研究;工艺上实现了自动化连续培养抗原浓缩技术等新技术研究,以提高疫苗质量;诊断技术趋向微量、标准化、系列化,要求快速而特异;常用单克隆抗体及多聚酶链反应(PCR)快速诊断动物传染病。

2.1 动物病毒病的分子流行病学研究

随着 20 世纪 80 年代末以来 PCR (RT-PCR)、核酸序列测定以及序列分析等现代分子生物学和生物信息学技术的发展和成熟。对动物病毒流行病学研究已经迈入更为精确的序列测定、分析阶段,并陆续取得一些成果。

通过该方面的研究,探索了动物病毒起源和进化、动物病毒的分型、强毒与弱毒株的鉴别;进行了动物中病毒的分布和流行规律、疫情的预测预报、预防和控制措施的制定与评价。

2.2 动物病毒发病机理研究

通过建立一些病毒的感染性克隆或反向遗传操作技术 (Reverse Genetics),成功地探索了猪瘟病毒、猪流感病毒的基因结构与蛋白功能研究;证明了 PRRS 病毒传播途径,确定了保护性结构蛋白和抗原表位;证明了圆环病毒-2 型复制机制和靶细胞感染机理,明确了病毒病的发生、发展与动物所在生态环境和进化相关。疫病是病原、宿主、环境不断相互作用的结果,时空不断进化造成疫病发

生;野生动物源性疫病的越界传播、不同物种的种间传播,例如,发现了朊病毒 (Prion) 可在实验鼠肌肉组织中得到增殖 (2002 年)。新的生产经营条件、新的物流模式等使得“新”的病毒病不断产生;特定病毒病的流行病学内涵已发生变化,应将动物个体/动物群与疾病当作是复杂而动态变化的生态系统加以研究和控制。

2.3 多效复合佐剂型疫苗研究

伪狂犬病灭活疫苗和猪白细胞提取物或转移因子联用,明显加强灭活疫苗的免疫效果,这在禁用弱毒疫苗地区应用前景很好;圆环病毒-2 型与颗粒丙酸杆菌 (*Propionibacterium granulosum*) 和大肠杆菌的一条短链脂多糖联用有效激活免疫细胞级联反应。

2.4 转基因植物疫苗研究

到目前为止,已经用植物包括如烟草、马铃薯、豌豆、苜蓿、拟南芥、番茄等表达了貂肠炎病毒 (MEV)、兔出血症病毒、口蹄疫病毒、传染性胃肠炎病毒、狂犬病病毒、诺沃克 (Norwalk) 病毒等病毒的相关免疫原基因,免疫动物后均可使其产生一定的保护力。

2.5 转基因动物病毒感染模型研究

建立了一些病毒或病毒受体的转基因动物,不仅用于病毒疫苗及药物的筛选,同时又用于对病毒基因结构和功能、免疫机制、致病以及癌变机制等研究。携带或缺失各种动物基因的转基因小鼠或转基因动物有巨大的应用前景。

2.6 对重新出现、局部地区出现、新出现的病毒以及自然疫源性病毒和人兽共患病毒的分离鉴定研究

分离鉴定了澳大利亚出现的 Hendra 病毒 (1994 年)、Menangle 病毒 (1997 年)、马来西亚出现的 Nipah 病毒 (1998-1999 年) 和 Tioman 病毒 (1999 年研究尼帕病毒时发现);分离了禽戊肝病毒 (Avian HEV)、猪圆环病毒 2 型 (PCV2) (1994 年);证明了美国、加拿大、日本、荷兰、新西兰、西班牙和台湾相继出现猪戊型肝炎病毒;在北美猪群中分离了 H3N2 (对人具有致病性) 流感病毒,并证明猪源和人源和/或禽源毒株重排的 H3N2 流感病毒;而在美国和欧洲猪群出现了 H1N1 与 H3N2 重排形成的 H1N2 流感病毒,从加拿大安大略省猪体内还分离出完全禽源的流感病毒 H4N6;圆环病毒 2 型在新的地区不断出现;PRRSV 在各地区出现、欧洲型 PRRSV 在北美洲出现以及欧洲型 PRRSV 在亚洲 (泰国) 出现。

2.7 新型疫苗/候选疫苗研究

构建了以伪狂犬病病毒、腺病毒 5 型为活载体的重组尼帕病毒 (Nipah virus) F 蛋白/G 蛋白的疫苗、猪流感病毒 H3N2 亚型 HA 基因和 NP 基因的重组活载体疫苗、以禽痘病毒为载体的重组活载体疫苗、利用新型免疫佐剂的病毒疫苗、利用转基因植物的植物口服疫苗 (Oral Vaccine) 或食用疫苗 (Edible Vaccine)、DNA 疫苗、灭活疫苗以及与其他病原 (如猪肺炎支原体、伪狂犬病病毒、猪红斑丹毒丝菌等) 的二联/三联疫苗、蓝眼病灭活疫苗、西尼罗河病毒的杂合病毒蛋白疫苗、Ebola 病毒疫苗, 证明了上述疫苗具有好的抗感染效果, 前景令人鼓舞。在免疫接种方法方面, 开发了非针头喷射 (jet injector device) 和透皮注射器具 (transdermal injector device), 利用该工具接种疫苗, 则安全、有效, 抗体水平高于肌注接种, 且提高屠宰猪胴体的质量, 今后新型免疫工具开发研究, 将会更加活跃。

2.8 新的诊断和检测方法研究

建立了实时 RT-PCR、竞争 PCR、定量 PCR、套式 PCR、PCR 增强免疫测定技术 (PIA)、阻断 ELISA、抗原捕获 ELISA、核酸序列依赖性扩增 (NASBA) 技术、Pen-side 技术、MALDI-TOF 技术等新的诊断和检测手段。

2.9 重点病毒病控制计划的制定

瑞士实施了地方性肺炎扑灭计划 (该国没有或已消灭了猪瘟、伪狂犬病、PRRS、TGE 等), 荷兰自 1988 年起启动了进行性萎缩性鼻炎 (PAR) 扑灭计划。有些国家实施了全国性流行病学监测计划, 美国启动了猪流感监测计划, 建立了全国性监测网络, 这些对我国制定疫病控制计划很有借鉴意义。

2.10 动物病毒分类学研究

动物病毒的分类更加明确、重新组织了分类, 病毒的书写方法更加规范 (ICTV, 2000 年)。

3 我国未来十年动物病毒学领域发展的重点及建议

动物病毒学领域的总体目标是贯彻预防为主方针, 努力提高基础研究、应用研究和发展的总体水平, 加快成果转化程度, 缩短与发达国家先进水平的差距。要把生物技术、计算机模拟技术、生物传感器技术等高新技术与常规技术相结合, 重点研究畜禽主要传染病病原生态学、分子流行病学、病毒基因组功能、免疫与发病机理、流行规律和预测预报技术; 建立用于口岸和市场的快速检疫

技术对于烈性病毒病防控的快速反应平台; 初步实现动物病毒相关生物制品的国际标准化和产业化生产工艺等。

3.1 基础研究方面

对一些重要的畜禽传染病 (特别是 A 类传染病) 如口蹄疫、猪瘟、新城疫、禽流感、传染性囊虫病和传染性支气管炎等, 应进行分子病原学和流行病学研究, 病原微生物的基因结构分析、遗传变异规律和致病性分析, 以探明目前一些重要传染病免疫保护效果欠佳的原因, 为选择疫苗种毒和开发新型疫苗提供依据。

现有疫苗普遍存在保存期短, 保存条件要求高, 稳定性差, 病毒疫苗滴度不高, 多联、多价疫苗生产水平低等问题。不断发展和提高我国兽用生物制品产业的水平, 这些都需要在针对性很强的基础研究方面加快步伐, 才能有效地取得突破性进展。

开展重要病毒病、烈性病毒病, 特别是自然源性病毒病和人兽共患病毒病的生物学特性、基因组背景分析, 充分掌握疫病流行病学数据库、预测流行趋势、建立较完整的基因储备库, 建设适合于我国国情的高技术防控技术平台。

开展重要病毒病的基因组结构与功能研究。

开展病毒病的感染与抗感染分子机制研究。

开展病毒病免疫机理的研究。

3.2 高新技术和探索性研究方面

开展新型基因重组载体的构建和改造的研究, 为新型疫苗和抗病育种研究打好基础。到本世纪中、后叶, 新型疫苗代替“第一代、第二代传统疫苗”成为预防动物病毒性疾病的“主体”, 因此加快进行基因工程重组疫苗的分子设计, 加强安全、有效、廉价的新型疫苗构建研究。

进行稳定、高效转基因植物疫苗研究。

进行细胞受体屏蔽变构制剂及其配套技术研究。

进行抗体工程制剂研究 (单克隆抗体和基因工程抗体、导向药物、多效抗体复合制剂等)。

进行免疫佐剂相关基因工程生物制剂研究。

进行基因芯片和生物传感器的快速诊断技术研究。

探索畜禽转基因抗病育种和基因治疗的新途径。

尽快完善新技术使科技成果转化为商品, 加快推广应用, 提高我国动物病的防制技术和学科水平。

3.3 应用研究方面

应加强如下利用常规技术进行的动物病毒学

领域中的相关研究。

进行主要疫病、疫情监测预报系统研究。

进行口岸和市场的快速检疫技术的系统工程研究。

进行病毒的环境控制研究(免疫监测、疫病净化、环境卫生监测、系统而科学的消毒与消毒监测评价技术研究和各种防疫卫生配套措施研究)。

进行多病原混合感染和复合征的相关研究。

进行畜禽主要疫病宏观免疫质量综合评价系统研究(进行不同环境条件下各类畜禽主要疫病“免疫抗体最低保护标准(临界值)”研究、各类畜禽主要疫病群体抗体整齐度与发病程度之间的相关性研究、各类主要病毒病感染的动态变化标准曲线研究)。

拓展常规疫苗的开发和应用,例如进行多联及多价疫苗、多效复合佐剂型疫苗、速效复合佐剂疫苗、口服(饮水或混饲)或气雾接种的群体免疫性弱毒活苗、长效浓缩(微囊缓释)疫苗、应急免疫性生物制品(主、被动复合双向应急免疫制剂、变异株或多价现地株疫苗等)和提高现有传统弱毒疫苗的内在质量。

动物病毒相关生物制品的国际标准化和产业化生产工艺等研究。

进行高效群体免疫性疫苗及免疫技术研究。

进行无病毒内污染的同源或异源抗体(多价或多联)制品的研制。

进行疫苗(国产与进口)的科学客观、全面综合评价研究。

研究制订符合我国国情的、达到国际标准的诊断技术,使现有的抗原生产标准化、诊断试剂标准化、种毒标准化、生物制剂生产工艺和监察方法标准化。加快传统诊断、免疫检测(包括监测)生物制剂的研制和推广普及和应用。

加快自然疫源性病毒病和人兽共患病毒病防治研究。

树立烈性病毒病的防控意识,研究适合国情的病毒病综合防控模式。

参考文献

- [1] 沈荣显,相文华,马传染性贫血病驴白细胞弱毒株的致病及免疫机理的研究[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(5): 505-512.
- [2] 曹胜波,陈焕春,肖少波,等. 猪Ⅱ型圆环病毒豫A株的全基因组克隆与序列分析[J]. 病毒学报, 2002, 18(2): 137-141.
- [3] 蒋贻海,陈溥言. 传染性支气管炎病毒中国和东南亚分离株的分子流行病学[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(5): 417-421.
- [4] 曹殿军,郭鑫,梁荣,等. 我国部分地区NDV的分子流行病学研究[J]. 中国预防兽医学报, 2001, 23(1): 29-32.
- [5] 聂玉春,陈建国,丁明孝. 由标准强毒F114株全长cDNA克隆恢复猪瘟疫病毒[J]. 科学通报, 2003, 48(10): 1059-1063.
- [6] 金宁一,殷震,舟桥,等. 痘病毒高效表达载体的构建研究[J]. 中国兽医学报, 1994, 14(1): 5-13.
- [7] 夏志平,金宁一,金扩世,等. 共表达新城疫病毒F基因、传染性法氏囊病毒VP-O基因的重组鸡痘病毒的抗原性和免疫原性[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(3): 214-217.
- [8] 方六荣,陈焕春,肖少波,等. 伪狂犬病病毒gI/gE双缺失通用转移载体的构建与初步应用[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(1): 4-6.
- [9] 李昌,金宁一,王昱,等. 基因枪法转化马铃薯及转基因植株的获得[J]. 作物杂志, 2003, (1): 12-14.
- [10] 郑洁,郭鑫,杨汉春,等. PRRS病毒感染对猪细胞因子IL-2、IL-4和IL-10mRNA转录的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(5): 452-454.
- [11] Bosque P J, Ryou C, Telling G, et al. prions in skeletal muscle[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(6): 3812-3817.
- [12] Chua K B, Wang L F, Lam S K, et al. Full length genome sequence of Tioman virus, a novel paramyxovirus in the genus Rubulavirus isolated from fruit bats in Malaysia[J]. Arch Virol, 2002, 147(7): 1323-1348.
- [13] Karasin A I, Brown I H, Carman S, et al. Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada[J]. J Virol, 2000, 74(19): 9322-9327.
- [14] Guillaume V, Contamin H, Loth P, et al. Nipah virus: vaccination and passive protection studies in a hamster model[J]. J Virol, 2004, 78(2): 834-840.
- [15] Tang M, Harp J A, Wesley R D. Recombinant adenovirus encoding the HA gene from swine H3N2 influenza virus partially protects mice from challenge with heterologous virus: A/HK/1/68(H3N2)[J]. Arch Virol, 2002, 147(11): 2125-2141.
- [16] Janouskova O, Nellessen T, Stokrova J, et al. Delivery of recombinant adeno-associated virus by jet injection [J]. Int J Mol Med, 2003, 12(5): 678-691.
- [17] Vastag B. Ebola vaccines tested in humans, monkeys[J]. JAMA, 2004, 291(5): 549-550.
- [18] Chikwamba R, Cunnick J, Hathaway D, et al. A functional antigen in a practical crop: LT-B producing maize protects mice against Escherichia coli heat labile enterotoxin (LT) and cholera toxin(CT)[J]. Transgenic Res, 2002, 11(5): 479-493.
- [19] Guichon A, Chiparelli H, Martinez A, et al. Evaluation of a new NASBA assay for the qualitative detection of hepatitis C virus based on the NucliSens Basic Kit reagents[J]. J Clin Virol, 2004, 29(2): 84-91.
- [20] Mayo M A. Virus Taxonomy-Houston 2002[J]. Arch Virol, 2002, 147(5): 1071-1076.