



病毒学报
Chinese Journal of Virology
ISSN 1000-8721, CN 11-1865/R

《病毒学报》网络首发论文

题目：口蹄疫流行情况及检测技术进展
作者：周正，石正旺，廖焕程，罗俊聪，武嘉惠，杨倩倩，王琳，谢亚格，田宏，郑海学
收稿日期：2025-12-19
网络首发日期：2026-06-01
引用格式：周正，石正旺，廖焕程，罗俊聪，武嘉惠，杨倩倩，王琳，谢亚格，田宏，郑海学. 口蹄疫流行情况及检测技术进展[J/OL]. 病毒学报.
<https://link.cnki.net/urlid/11.1865.R.20260601.1010.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

口蹄疫流行情况及检测技术进展

周正, 石正旺, 廖焕程, 罗俊聪, 武嘉惠, 杨倩倩, 王琳, 谢亚格, 田宏, 郑海学
(中国农业科学院兰州兽医研究所 兰州大学动物医学与生物安全学院 动物疫病防控全国重点实验室, 兰州 730000)

摘要: 口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)感染引起的一类严重危害偶蹄兽的高致病性、高传染性疾病。FMDV 共有 7 个血清型及超过 65 个拓扑型, 且不同血清型的流行特征差异明显。全球范围内, 以 O 型、A 型病毒分布最为广泛, FMD 疫情整体呈现“零星散发、毒株多元化”的复杂态势。近年来, FMDV 的传播模式发生显著转变, 传统依赖地理隔离的防控屏障不断被突破: 2025 年匈牙利时隔 52 年再次暴发 FMD 疫情, 且周边国家未发现关联病例; 南非型 FMDV 亦突破传统的流行区域, 呈现出向西亚、中东等地区持续扩散的流行态势, 致使全球防控形势日趋严峻, 进一步增加了防控难度。新发 FMD 疫情普遍存在溯源挑战, FMD 防控策略亟需加快迭代, 而精准的检测技术是疫情预警与溯源的核心, 对风险评估与精准防控具有决定性作用。为系统理清 FMDV 的流行规律和检测技术体系, 本文综合梳理并分析了国内外 FMDV 的流行现状与特征, 系统总结了当前主流的 FMD 检测方法, 并针对抗体水平评价、疫苗接种与野毒感染的血清学鉴别检测等核心技术难点展开深入讨论, 为 FMD 防控提供科学的理论支撑与实用的技术参考。

关键词: 口蹄疫; 流行情况; 检测技术; 防控策略

中图分类号: S852.65 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-8721(XXXX)XX-0001-13

口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是一种高度传染性的疾病, 主要感染偶蹄兽, 在全球范围内对家畜和野生动物的经济和贸易产生重大影响。在 FMD 流行的地区, 每年的经济损失和疫苗接种方面的花费预计在 65 亿至 210 亿美元之间, 防控 FMD 疫情流行的经济压力巨大^[1]。FMD 的病原体是口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV), 属于小 RNA 病毒科口蹄疫病毒属^[2], 可经由接触途径传播, 包括直接接触感染以及间接接触受污染饲料、排泄物及车辆等; 同时, 它还具备空气传播特性, 其感染性气溶胶能在空气中长距离扩散, 进而造成感染^[3]。近年来, 国际贸易与动物产品流通的扩大显著改变了 FMDV 传播模式, 不断突破地理隔离屏障, 导致疫情跨境传播、溯源困难, 全球防控形势日趋严峻, 迫切要求防控策略加快更新。因此, 了解 FMDV 流行情况, 掌握其检测方法, 对于保障畜牧

业的健康发展、维护公共卫生安全和减少经济损失具有重要意义。

1 病毒流行现状

1.1 世界流行现状

FMDV 是一种小型的二十面体非包膜单链 RNA 病毒, 病毒由一个线性、单链 RNA (single-stranded RNA, ssRNA) 基因组组成, 该基因组正链, 非分段, 长度约为 8.5 kb。临床上, 该病表现为舌、口唇、牙龈、齿垫、蹄间和蹄冠形成水疱, 继而破溃引发感染化脓, 导致跛行或站立不稳, 乳头病变还可能引起乳腺炎^[4], 猪群以严重跛行、蹄壳脱落为主要表现, 牛群的主要感染特征则为口腔水疱大量流涎以及口腔糜烂。

在免疫学上, FMDV 分为 7 种不同的血清型, 分别为 A、O、C、亚洲 1 型(Asia 1)、南非 1 型(SAT 1)、SAT 2 和 SAT 3, 血清型 O 和 A 于 1922 年由 Vallée 和 Carré 发现, 并以它们的原产地命名: “O”代表法国 Oise 省, “A”代表法语中德国 Allemagne; Waldmann 和 Trautwein 在 1930 年左右确定了血清型 C; 随后, 1950 年左右, 在南非的样本中发现了另外三种血清型, 称为南非 1、2 和 3(SAT 1、SAT 2、SAT 3); 第七种血清型 Asia 1 于 1954 年在巴基斯坦旁遮普邦奥卡拉收集的水牛标本中首次被发现, 各血清型间不会诱导彼此的任何交叉保护^[5]。其中血清型 O 是全球流行最为严重的血清型, 造成重大经济损失^[6], 血清型 A 含有 26 个拓扑型, 型内变异

收稿日期: 2025-12-19; **接受日期:** 2026-04-12

基金项目: 1. 国家自然科学基金重点项目(项目号: 32330107), 题目: 口蹄疫病毒从牛适应到猪的嗜性变异机制; 2. 中国农业科学院兰州兽医研究所所级重点项目(项目号: CAAS-ASTIP-JBGS-20230402), 题目: 诊断新材料的研制及应用

作者简介: 周正(2001-), 男, 硕士研究生, 主要从事动物疫病诊断技术研究, Email: 1844960313@qq.com。

***通信作者:** 田宏(1976-), 女, 研究员, 从事动物病毒分子生物学及疫病诊断技术研究 Email: xi-beitian0931@163.com; 郑海学(1979-), 男, 研究员, 从事动物传染病学与流行病学研究, Email: zhenghaixue@caas.cn

最大^[7]。

全球口蹄疫流行区域被划分为 7 个流行圈 (Pool), 其中 3 个位于亚洲与欧洲部分地区 (Pool 1~3)、3 个区域位于非洲 (Pool 4~6)、Pool 7 位于南美洲^[8]。在 FMDV 的血清型中, O 型和 A 型的分布呈现出全球性特征, 覆盖了 7 个区域; Asia 1 型具有明显的地域特异性, 仅在亚洲地区及俄罗斯流行, 近五年未见病例报告; SAT 1 型和 SAT 2 型的流行具有集中性, 主要分布于 Pool 4 (东非)、Pool 5 (西非) 和 Pool 6 (南非); SAT 3 型的流行区域则集中在 Pool 4 (东非) 和 Pool 6 (南非); 2004 年之后, 全球未见血清型 C 的报道^[8], 该血清型被广泛认为已灭绝^[9]。

根据 2021-2025 年世界动物卫生组织 (World Organization for Animal Health, WOAH) 全球 FMD 流行病学监测数据显示, FMDV 的七种血清型呈现显著的空间异质性分布, 其中 O 型呈现跨洲际流行态势, 在非洲 (如突尼斯、阿尔及利亚)、亚洲及欧洲 (德国、匈牙利、斯洛伐克) 持续传播, 匈牙利时隔 52 年再次出现 FMD 疫情, 且周围国家未发现疫情报告, 凸显其极强的环境适应性和传播能力。A 型疫情近三年仅局限于缅甸、利比亚及土耳其, 而 C 型自 2004 年之后未再检出, 被认为已经灭绝。值得注意的是, 南非型 (SAT) 已突破地区限制: SAT 1 型 2025 年突破传统非洲疫区, 扩散至伊拉克、科威特及土耳其等西亚国家, 提示我国应做好检测技术储备工作; SAT 2 型在非洲与亚洲 (尤其是伊拉克) 形成稳定流行链; SAT 3 型仍局限于南非。许多封闭地区出现的 FMD 疫情反映了血清型分布格局的演变, 疫情流行情况与国际活畜及动物产品贸易网络高度耦合, 显示跨境活畜流通与病毒传播存在显著相关性^[8], 同时全球贸易加速了病毒基因重组与适应性进化。

1.2 国内及周边传入风险

我国于 1958 年在中国新疆维吾尔地区首次发现 FMDV, 2000 年以后引起大流行的毒株均来自境外^[10]。Asia 1 型 FMDV 最早在中国云南省被发现, 2005 年, 在江苏省无锡市的牛群中再次检测到 Asia 1 血清型^[4], 2005-2009 年, FMD 影响了国内 17 个省份。2009 年, Asia 1 型 FMDV 在中国被成功根除。自 2010 年起, 中国西北部和东南部地区仅检测到 O 型和 A 型血清型, 其他血清型未见相关感染病例报告^[11]。2017-2022 年, 中国所报告的 54 次 FMD 疫情中, O 型 FMD 疫情有 51 起, A 型 FMD 疫情为 3 起,

表明国内 FMD 以 O 型为主^[12]。空间上, 中国安徽、甘肃、广东、广西壮族自治区等 15 个省份地区报告 FMD 疫情, 2017-2022 年 FMD 疫情总体上主要在西部地区^[12], 2022 年至今主要以 O 型为主, A 型零星散发。

当前, 我国 FMD 防控呈现“内部散发”与“外部输入”风险并存的复杂态势。经过强制免疫和有效的防控手段, 国内疫情虽总体平稳, 但病毒传播链条未被彻底切断; 与此同时, 来自周边地区的疫情输入压力持续加剧。西亚方向, SAT 2 型在 2022-2023 年首次出现在西亚, 溯源显示其源自东非并多次传入导致扩散^[13], 尽管未直接报告中国境内病例, 但该病毒在易感动物中的快速传播存在传入中国的潜在风险; 东南亚方向, 中国云南省与老挝接壤 710 公里的边境地区, 因频繁跨境贸易和动物流动, 长期面临 FMD 跨境输入压力^[14]; 2022 年印尼 FMD 疫情复燃, 该国在维持数十年无疫状态后突然暴发疫情, 表明东南亚地区可能已重新形成活跃的病毒传播网络, 通过区域贸易往来, 疫情可能向中国南部省份扩散^[15, 16]; 南亚方向, 印度作为潜在威胁, 需警惕活牛进口风险^[17]。全球化进程显著影响了 FMD 的流行特征, 其跨境传播途径呈现出高度的复杂性与多样性, 进而形成覆盖全球的潜在风险。

1.3 O 型变异情况

亚洲 FMDV 拓扑型演变复杂, 其中血清型 O 的流行最为广泛^[18], 迄今为止在亚洲已发现至少 7 种 O 血清型拓扑型, 包括 Cathay 型、中东-南亚型 (ME-SA)、东南亚型 (SEA)、印尼-1 型 (Indonesia-1)、印尼-2 型 (Indonesia-2)、欧-南美型和东非 3 型。在这些拓扑型中, Cathay 型、中东-南亚型和东南亚型是近几十年来流行最持久的三种拓扑型, 病毒分离株数量最多, 相比之下, 其他拓扑型只是零星散发。我国主要流行过的血清型为 O、A 和 Asia 1 型, 其中 Asia 1 型已在国内通过大规模疫苗免疫实现消灭, 而 A 型变异速度慢, 较易实现疫苗保护。因此, 我国国内主要对养猪业造成危害的 FMDV 血清型为 O 型。

在我国, 血清型 O 已形成四个特征明显的流行谱系: O/SEA/Mya-98、O/ME-SA/PanAsia、O/ME-SA/Ind-2001 和 O/Cathay^[19]。与 ME-SA 和 SEA 拓扑型相比, Cathay 拓扑型的进化速率更高^[20], 同时, 自 2011 年以来, FMDV Cathay 拓扑型的遗传多样性呈现显著上升趋势, 而 ME-SA 与 SEA 拓扑型的遗传多样性则均出现下降。在此演化背景下, 现

有疫苗对 O/Cathay 谱系毒株的保护效力不足问题日益凸显^[21],反映了该病毒正在发生显著的抗原漂移,并凸显出开发与流行毒株更匹配的新型疫苗的紧迫性^[22, 23]。这些结果表明,亚洲地区 Cathay 拓扑型 FMDV 引起的感染正成为一种更为严重的流行病。

对 NCBI 数据库中及本实验室测序得到的 FMDV 血清型 O 拓扑型 Cathay 各毒株基因型中 VP1 区域进行系统进化树分析,如图 1 所示,随着时间推移,近年新发的 Cathay 拓扑型毒株基因型中 VP1 区域变化较大,VP1 区域的高突变率导致 Cathay 拓扑型与现有疫苗株的抗原差异扩大,疫苗保护效力不足,增加了疾病控制难度,显著影响了病毒的流行病学特征和防控策略,未来研究需持续针对 VP1 突变对疫苗设计和检测方法的挑战^[20, 24]。

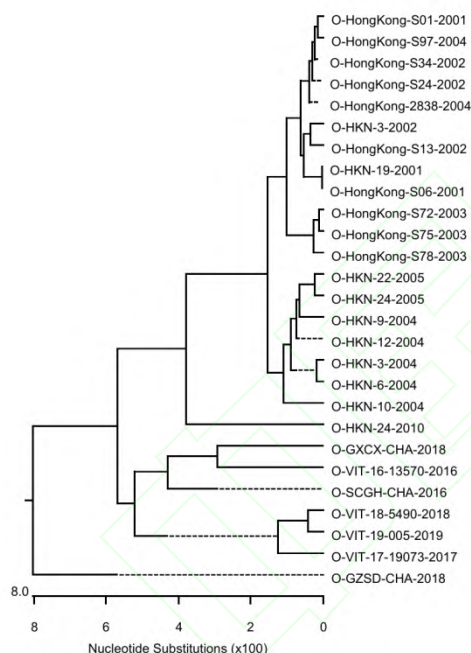


图 1 Cathay 流行毒株突变进化树分析

Figure 1 Phylogenetic analysis of Cathay-lineage FMDV strains

在病毒宿主嗜性研究方面,分子流行病学证据显示 FMDV 不同拓扑型呈现显著的宿主适应性差异。研究发现^[20, 25], Cathay 拓扑型全基因组假结(PK)区域的缺失会显著减弱其对牛的感染能力,却不影响对猪的致病性,PK 区可能是决定 Cathay 型猪嗜性的关键分子基础;类似地,越南和韩国猪源 SEA 拓扑型毒株也检测到 PK 区 86 个核苷酸缺失,而同期牛源毒株则保留完整序列,证实 PK 区缺失可能通过改变受体结合特性来重塑宿主范围。从进

化动态看,O/Cathay 型表现出严格的猪嗜性,其基因组特征与猪宿主适应性显著相关;O/ME-SA 型虽具备广宿主感染能力,但流行病学数据显示其对牛存在明显宿主偏好;而 O/SEA 型则展现出时序性演化特征——2010 年前流行株主要适应牛宿主,近年来猪源分离株比例显著升高,暗示该拓扑型正在通过抗原变异或受体结合位点的分子进化来优化跨宿主传播效率。这些发现共同揭示了 FMDV 通过基因组结构变异,特别是 PK 区变异驱动宿主适应性进化的分子机制,为理解病毒跨种传播及设计针对性防控策略提供了重要理论依据。

这些现象共同揭示了 FMDV 种群生态学的一个重要特征:不同病毒拓扑型通过精细的分子适应机制(包括但不限于受体结合特异性、免疫逃逸能力等)来维持其特定的宿主嗜性模式,这种适应性差异对疫情的跨物种传播风险评估具有重要的流行病学意义。

2 FMD 检测技术

诊断方法的应用范畴广泛,涵盖从疫情确认等基础工作,到病毒特征解析与分型等深度研究。多种类的检测技术在流行病学调查中发挥着关键作用,不仅用于确定疾病流行程度和 FMDV 感染状态,还能够指导疫苗筛选和持续监测群体免疫水平。

2.1 抗原检测

2.1.1 基层检测方法

基层检测的核心优势在于快速、简便和现场可操作性,不依赖高端仪器设备。这类检测主要采用试纸条或仅需要小型便携设备,通过简单操作实现肉眼判读,短时间内即可获得结果。其灵敏度虽略低于实验室操作,但完全满足田间初筛需求。其便携性特别适合基层养殖场、边境关卡等资源受限场景,实现了“样本进-结果出”的极简流程,为疫情早期预警提供不可替代的技术支撑。

胶体金免疫层析技术(Colloidal gold immunochromatographic assay, CGIA)因其操作简便快速、无需专业培训及复杂仪器、安全性高、易于制备储存且成本低廉等优势,已成为多种病原现场快速检测的常用技术。石鑫泰等^[26]基于原核表达系统制备的 SAT 2-VP1 蛋白,建立了针对血清型 SAT 2 的胶体金双抗原夹心免疫层析法,用于特异性抗体的检测,该方法为边境及牧区提供了快速、可靠且低成本的抗体监测技术,为我国防范 SAT 2 毒株传入形成了重要的技术储备,将有效提升口岸与一线的疫病防控能力。李昕等^[27]成功建立了针对

FMDV O、A 和 Asia 1 三种血清型的胶体金免疫层析定量检测方法。该方法基于双抗体夹心原理,具有良好的特异性、敏感性和重复性,其检测结果与蔗糖密度梯度法高度一致,可实现 FMDV 抗原的快速分型及 146S 完整病毒颗粒的准确定量,为疫苗质量控制和现场疫情监测提供了可靠的技术手段。

比色侧流免疫测定 (Colorimetric lateral flow immunoassay, LFIA) 是一种基于免疫层析技术的快速检测方法,广泛应用于医学诊断、食品安全、环境监测等领域,由于其操作简单且便于运输保存,成为基层流调筛查的重要手段。其核心原理是通过抗原-抗体特异性结合反应,依靠如胶体金、荧光微球此类显色标记,实现目标物的可视化检测。Cavalera 等^[28]基于夹心式免疫分析原理,采用多组经过充分验证的单克隆抗体 (Monoclonal antibody, mAb) 配对组合,开发了两款多重 LFIA 检测装置,其中一款装置可检测并区分 O 型、A 型和 Asia 1 型血清型,另一款则专门针对 SAT 1 型和 SAT 2 型血清型,两套系统均设有广谱检测线,可不受毒株和血清型限制进行检测,该装置可为基层检测提供有力帮助。Yang 等^[29]使用重组牛整合素 $\alpha v \beta 6$ 作为通用捕获配体,并结合泛血清型 mAb,开发了一种泛血清型侧向流动试纸,可实现对 FMDV 的七个血清型进行检测,并且和其他导致口部水疱的疾病不产生交叉反应。Kim 等^[30]将近红外信号纳米探针与识别所有 FMDV 血清型和拓扑型的 FMDV mAb 偶联,并研制了一种便携式近红外读数仪,该设备与装配有近红外信号纳米探针的侧向流动免疫层析试条配套使用,检测结果能够通过软件进行分析,并能够自动传输至服务器,该平台能够对 FMDV 的七种血清型进行检测,显示出早期发现和实时监测 FMD 的潜力。

聚合酶链式反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 是一种用于放大扩增特定 DNA 片段的分子生物学技术,其原理基于 DNA 的半保留复制特性,在此基础上,逆转录定量聚合酶链反应 (Reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 检测方法能够对 RNA 进行检测,实现对目的样品的定量检测。Ryoo 等^[31]将 RT-qPCR 技术与微型化光学及热学模块集成于一块半导体芯片上,通过集成硅基微型加热器和双波长荧光滤光片,开发了一种针对 FMDV 的检测平台,经过流程优化,从获取 RNA 到结果输出的全过程可在 100 min 内完成,较传统实验室 RT-qPCR 方法缩短约 50%

的时间,且即使直接检测粗提样本仍能保持稳定的检测性能,该装置能够通过云端连接具有实时数据传输功能,进一步提升了其在大规模监测和疫情管理中的应用价值。

基层检测的重要性在于其能够实现快速筛查和早期预警,通过便携的现场检测方法,及时识别疑似病例,阻断疫情扩散,减少经济损失。然而基层检测的灵敏度和特异性有限,需与实验室检测相结合:基层初筛提供快速响应,实验室复核确保结果准确性,并通过分子溯源指导防控策略。这种基层初筛和实验室确认相协同的模式,既能满足突发疫情的快速处置需求,又能保障监测数据的科学性和可靠性。

2.1.2 实验室检测

临床上,猪水疱病、水泡性口炎和塞内卡病毒病引起的临床症状与 FMD 类似,均会出现口腔、蹄部水疱及发热等症状,极易造成混淆。然而,一旦误诊漏诊,不仅延误病畜治疗,还可能导致疫情扩散,严重威胁畜牧业健康发展与公共卫生安全,实验室诊断依靠完善的实验设备能够实现对抗原的精确检测。

酶联免疫吸附测定 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 是一种广泛使用的生物化学分析技术,利用抗体-抗原的特异性反应,以及酶对底物的催化放大作用,来检测样品中微量的特定物质。Grazioli 等^[32]使用 mAbs 开发和验证了简化的多重 ELISA,结合已有的检测方法,开发了一种检测工具箱,用于鉴别检测 FMDV 血清型 O、A、C 和 Asia 1,该技术通过选用能覆盖全球流行毒株抗原多样性的 mAb,并创新性地集成特异性分型与泛型检测于一体,能够同时包含血清型特异性检测和泛 FMDV 检测,有效解决了传统多克隆 ELISA 存在的交叉反应、批次差异及对变异毒株灵敏度不足等问题。这种稳定、即用型试剂盒的开发,显著提升了检测的标准化与可行性,尤其适用于 FMD 流行地区的现场诊断与监测。该工具箱为亚洲 FMD 流行国家提供了快速、低成本的病毒谱系鉴定方法,尤其适用于缺乏测序能力的地区,为疫情监测和防控提供帮助,有助于及时选择匹配疫苗并制定防控策略,减少疫情对畜牧业的冲击。

分子生物学检测方法在实验室检测中同样至关重要,Biswal 等^[33]开发并评估了一种基于 TaqMan 探针的双重一步法 RT-qPCR,该体系可同步靶向 FMDV 的 2B NSP 编码区及 18S rRNA 管家基因,经评估,该检测方法敏感性是病毒分离和基于琼脂

糖凝胶的 RT-PCR 的 1×10^2 倍,敏感性及特异性均为 100%,为实验室检测提供了准确的技术手段。Biswal 等^[34]针对 FMDV 的 3D 聚合酶编码区,开发了一种基于 SYBR Green 的实时一步式 RT-PCR 方法,用于检测和定量临床样品中的病毒 RNA,较传统的 RT-PCR 具有更好的敏感性和特异性,有助于在感染早期准确诊断病毒感染。

实验室诊断在 FMD 防控中具有核心作用,通过如 ELISA、RT-PCR 等高特异性检测技术精准鉴定毒株型和变异特征,为疫情溯源、疫苗匹配和防控决策提供科学依据。其能够弥补基层快速筛查的局限性,确保检测结果的权威性,并支撑国家层面制定精准的扑杀、免疫和跨境管控策略,是阻断传播链条和降低经济损失的关键技术保障。

2.1.3 新型检测方法

传统的 FMDV 诊断方法可能存在操作繁琐、低敏感性和低特异性等缺点,随着计算机技术和人工智能的高速发展,新型材料和先进科技与传统检测技术的结合愈加密切。如电化学检测是利用物质在电极表面发生的电化学反应所产生的电流、电位等信号来进行分析检测的方法,其优点是灵敏度高、选择性好,能快速检测多种物质,且仪器简单、便于微型化,适用范围广泛。

试卤灵- β -D-吡喃葡萄糖苷 (Resorufin- β -D-glucopyranoside, res- β -glc) 是一种稳定的荧光生成型半乳糖苷酶底物,当与 β -葡萄糖苷酶 (β -glc) 等酶相互作用时,可生成荧光试卤灵分子和葡萄糖分子。 β -glc 通过催化水解 res- β -glc 中的糖苷键,形成 β -D-葡萄糖苷类及寡糖的非还原末端残基,同时释放试卤灵和葡萄糖分子,通过分析二者产生的荧光与电化学双重信号,可以对待检物进行分析检测。Hwang 等^[35]使用磁性纳米颗粒 (Magnetic nanoparticles, MNPs),与能够和所有 FMDV 血清型发生反应的泛 FMDV 抗体 (pan-Ab) 进行偶联,加入 β -glc 标记的 O 型或 A 型 FMDV 特异性抗体形成免疫复合物,加入 res- β -glc 进行催化水解,测量产生的荧光和电信号,该双模式检测平台的灵敏度约为市售侧流诊断试剂盒的四倍,这一高效的双模传感系统可为 O 型和 A 型的 FMDV 诊断分型提供有效帮助。

病毒印迹传感器 (Virus imprinted sensor, VIP) 因能选择性检测病原体而受到广泛关注, Hussein 等^[36]将 SAT 2 型的完整病毒颗粒与金-铜改性丝网印刷电极上的聚邻苯二胺 (PoPD) 电聚合膜结合,制

备了 SAT 2 病毒印迹聚合物 (SAT-2-VIP),并利用循环伏安法、线性扫描伏安法、原子力显微镜、扫描电子显微镜和傅里叶变换红外光谱对 SAT-2-VIP 进行了全面表征,开发了一种电化学纳米传感器,检测限和定量限分别为 0.1 ng/mL 和 0.4 ng/mL,并且未显示出对其他动物病毒的交叉反应性,检测灵敏度是 RT-PCR 的 70 倍,可快速分析临床样本,有助于 SAT 2 的现场即时诊断。Sun 等^[37]使用具有过氧化物质活性的 Pt-Pd 双金属纳米颗粒作为制备试纸的标志物,实现对 O 型 FMDV 清晰精确的定量分析,与胶体金相比,灵敏度提高了 24 倍,值得注意的是,这是中国首次使用酶活性 Pt-Pd 双金属纳米颗粒来诊断动物疾病。

根据检测目的的不同,如需现场快速排查,可选用胶体金试纸条、RT-LAMP、RT-RPA 等便携方案,在实验室确诊与血清型鉴定方面,选用 RT-qPCR、多重 RT-qPCR、VNT、LPB-ELISA/SPC-ELISA 等方法,流行病学溯源则使用全基因组测序,实验人员可根据使用场景和目的选择合适的检测技术。

2.2 疫苗评价

疫苗评价是指利用体外检测方法来预测疫苗在动物体内所能产生的实际保护效果,其效力评价体系主要由抗原定量与中和抗体评价两大部分构成。FMD 疫苗的抗原定量通过精准测定疫苗中完整病毒颗粒 146S 载量,建立免疫原性与制剂质量的量化关联;中和抗体检测则通过分析免疫后血清的中和抗体水平,构建特异性应答与实际保护效力的关系。二者分别从制剂与免疫两方面,为疫苗质控及免疫策略提供理论依据。

2.2.1 抗原定量

疫苗中的有效抗原含量往往和 FMD 灭活疫苗的保护效果呈正相关,同时一种成熟高效的抗原定量方法有助于企业对疫苗质量进行把控。传统的疫苗评价是通过攻毒实验来测定疫苗的半数保护剂量 (PD_{50}),但是存在检验成本高、试验时间长、需要生物安全 3 级 (Biosafety Level 3, BSL-3) 实验室等缺点,新型的抗原替代评价方法正在国内外推广应用,减少了时间和经济成本。替代方法通过对其进行抗原定量,尤其是对完整病毒颗粒 146S 含量进行精确测定,其核心作用在于评估疫苗的免疫效力、指导生产工艺,并为替代动物攻毒试验提供关键技术依据,有相关研究表明,FMDV 抗原 146S 含量不低于 1.0 μ g/mL 时,所生产疫苗免疫效力在 6 个 PD_{50} 以上^[50]。

表 1 FMDV 检测方法优缺点

Table 1 Advantages and limitations of FMDV detection methods

	技术名称	简要原理	检测对象	主要优势	局限性
免疫学方法	病毒中和试验 (VNT)	活病毒与细胞培养,测定抗体中和效力	中和抗体	金标准,特异性最高	需BSL-3实验室,操作耗时2-3 d
	液相阻断ELISA (LPB-ELISA)	病毒结构蛋白包被,检测血清中中和抗体阻断率 ^[38]	中和抗体	国际参考标准,定量、敏感,适合监测免疫水平	多步骤、耗时,对实验室条件有要求
	固相竞争ELISA (SPC-ELISA)	固相抗原+单克隆抗体与样本竞争结合 ^[39]	中和抗体	与LPB-ELISA类似但更简单,重复性好	需高质量单抗
	间接免疫荧光 (IFA)	荧光标记抗体结合病毒抗原,荧光显微镜观察 ^[40]	病毒抗原	直观、定位准确,数小时内出结果	主观性强,需荧光显微镜,样本制备要求高
	胶体金免疫层析 (CGIA)	抗体/抗原-胶体金结合,在膜上形成可视条带 ^[26]	病毒抗原或抗体	10-20 min出结果,便携,现场筛查	灵敏度/特异性低于实验室方法,多为定性
	3ABC等非结构蛋白抗体ELISA (NSP-ELISA)	检测非结构蛋白抗体,区分感染与免疫 ^[41]	非结构蛋白抗体	区分疫苗/自然感染	可能与不完全灭活疫苗交叉,对早期感染敏感性较低
分子生物学方法	常规逆转录PCR (RT-PCR)	FMDV RNA→cDNA,扩增特异区段后电泳检测 ^[31]	FMDV RNA	高灵敏/特异,实验室常用	多步、易污染、需要凝胶电泳
	逆转录实时定量PCR(RT-qPCR)	扩增同步荧光监测,定量检测 ^[42]	FMDV RNA	极高灵敏度,定量、速度快	仪器昂贵,需专业人员
	多重RT-qPCR	一反应区分多血清型或多靶基因 ^[43]	多血清型RNA	一次检测多靶点,提高实验效率	引物/探针设计复杂,可能互相干扰
	逆转录环介导等温扩增 (RT-LAMP)	60-65℃恒温下扩增,颜色/荧光读数 ^[44]	FMDV RNA	无需热循环仪,30-45 min完成,便携	特异性略低,多段引物设计复杂
	逆转录重组酶聚合酶扩增 (RT-RPA)	37-42℃等温,重组酶+聚合酶快速扩增 ^[45]	FMDV RNA	15-20 min,现场友好,对温控要求低	试剂稳定性、专利及成本问题
	全基因组测序	样本总RNA,建库测序,生信比对照解析完整基因组	全基因组RNA	获得血清型、变异信息,溯源和分子流行病学分析	成本高、周期长,需要生信平台
新型检测技术	纳米孔测序	单分子RNA/cDNA通过蛋白纳米孔产生电流信号直接测序 ^[46]	全基因组RNA	实时输出序列,便携,可发现新血清型/突变,集成式可现场检测	需依赖深度学习提升准确性,并处理电流信号噪声
	CRISPR-Cas12a/13a系统	RT-RPA预扩增+Cas12/13特异识别切割荧光,通过荧光或试纸显示结果 ^[47, 48]	FMDV RNA	灵敏度高;30-60 min出结果,可荧光或试纸条显示结果;便携性好	技术新,商品化认证与标准化仍在完善
	微流控一体化核酸检测芯片	芯片内集成裂解-提取-扩增-检测,自动控制液体流速,荧光/电化学读数 ^[49]	FMDV RNA	全流程封闭,检测用时<1 h,样本与试剂用量极少,便携防污染	芯片制造成本与配套设备需求
	电化学传感器	将FMDV识别元件(如抗体、核酸适体等)固定于电极,病毒结合直接引发电信号变化实现检测 ^[36]	完整病毒颗粒或衣壳蛋白、FMDV的特异性核酸	数分钟出结果,易于集成,为便携式,适合现场	复杂样本(如组织液)需前处理,识别元件的固定和长期储存稳定性需提升

目前抗原定量的主要方法有蔗糖密度梯度离心法、高效液相色谱法以及ELISA方法等。

蔗糖密度梯度离心 (Sucrose density gradient centrifugation, SDGC)是检测FMDV抗原完整病毒粒子146S的常用检测方法^[51],也是WOAH推荐的标准方法,但是实验流程相对繁琐,且需要专业设备和熟练技术人员。2017年开始,利用高效液相色谱法 (High - performance liquid chromatography,

HPLC)测定FMD灭活疫苗146S抗原含量的方法,在国内相关生产企业中作为一项试行技术得到了推广^[52]。2010年,Capozzo等^[53]开创性地采用辅助化学发光免疫分析法,实现了对FMD疫苗抗原批次中非衣壳蛋白的精确定量,对纯化的非衣壳结构蛋白和不同疫苗批次的检测限分别达到了2ng和4ng。相较于SDGC,ELISA操作更加简便,周广青^[52]将病毒中和实验与液相阻断ELISA相结合,建立了能

够定量 FMD 灭活疫苗抗原 146S 的反向液相阻断 ELISA 方法,该方法能够降低检测的假阳性率,并有助于开发检测 O、A 血清型的试剂盒产品,操作简便且耗时短,为多方面的应用提供了技术支持和产品储备。

FMD 灭活疫苗抗原的精确量化,是保障疫苗质量、评估免疫效力及实现有效防控的核心环节。建立可靠的体外抗原定量方法,有望部分替代或补充繁琐、昂贵且周期长的动物攻毒试验,同时能够保障疫苗质量可控性与批次间的一致性,对 FMD 的科学防控与最终净化具有重要意义。

2.2.2 抗体评价

中和抗体(Neutralizing antibodies, NAb)水平是评估疫苗免疫保护效果的关键指标:其滴度高低直接反映了疫苗诱导的保护性免疫应答强度,为评价疫苗效力提供了客观量化依据。通过采用可评估动物中和抗体水平的血清学检测方法,并建立抗体滴度与临床保护力的量效关系,能够替代部分动物攻毒实验,从而显著降低疫苗效力评价中高昂的经济与时间成本。FMDV 的抗体评价试验针对病毒结构蛋白和非结构蛋白的抗体,以确定病毒在动物中的流行率和分布,并监测疫苗接种所产生的保护^[54],检测方法包括病毒中和试验(Viral neutralization test, VNT)、固相竞争 ELISA (SPC-ELISA)和液相阻断 ELISA (LPB-ELISA)等。

VNT 是检测 FMDV 中和抗体的“金标准”方法,但是由于 VNT 和 FMDV 的攻毒需要细胞培养设施和活病毒,所以需要在具有较高生物防护水平的 BSL-3 实验室中进行,一些条件不足的机构或地区无法达到实验条件,同时所需时间较长,具有一定的局限性,所以,需要开发简便、快速且易于操作的中和抗体检测方法来适应 BSL-2 实验室的应用需求。Li 等^[38]采用广谱中和性单域抗体与 FMDV 病毒样颗粒(Virus-like particle, VLP),建立了一种液相阻断 ELISA 方法,用于检测 O 型 FMDV 病毒样颗粒疫苗接种动物的抗体效价,将该方法与 VNT 及传统 LPB-ELISA 进行对比,并利用逻辑回归模型分析结果,结果显示,该方法较二者保护效力的相关性更优。除 LPB-ELISA 以外,SPC-ELISA 也是常用的抗体评价方法,李敏杰等^[39]将制备的 mAb 作为捕获抗体,以 HRP 标记的另一株 mAb 作为检测抗体,建立了一种检测 A 型 FMDV 抗体的 SPC-ELISA 方法,经评价,相较于 LPB-ELISA,该方法可靠性较好且与 VNT 的相关性更高。

一些新兴技术的出现也在完善着抗体评价体系,Li 等^[55]开发了一种基于磁珠的全自动管状化学发光免疫测定方法,可以特异性检测 FMDV 血清型 A 的抗体,该方法可以在 20 min 内得到检测结果,并且全程全自动,对大量样品的检测具有重要意义。生物发光报告系统,如纳米荧光素酶二元技术(NanoBiT)具有易于检测和定量的优势,该系统由大片段 N 端组分(LgBiT, 18 kDa)和小片段 C 端组分(HiBiT, 1.3 kDa)构成,可在活细胞内实时检测蛋白质-蛋白质交互作用^[56, 57],HiBiT 标记病毒已成为监测病毒感染的重要工具,被广泛应用于基础与应用病毒学研究、抗病毒药物筛选及疫苗评估^[58, 59],Cho 等^[60]成功构建了 HiBiT 标记的 FMDV Asia1 Shamir 株(AS)活病毒,将其灭活后可在 BSL-2 实验室进行相关实验,Kim 等^[61]在此研究的基础上,开发了基于 AS-HiBiT 病毒样颗粒的 NanoBiT 检测法,可以实现对 Nab 的高灵敏度检测,为传统检测方法提供了更安全、更有效的替代方法,同时减少了在高防护等级设施中处理活病毒的需求。Cao 等^[62]利用基于荧光的单 B 细胞抗体技术,成功制备了一株针对 FMDV 血清型 A 的牛源广谱中和单克隆抗体,并以生物素标记其作为检测抗体,联合已制备的牛源交叉反应单克隆抗体作为捕获抗体,建立了一种用于检测 FMDV 血清型 A 中和抗体的竞争性酶联免疫吸附试验(NAC-ELISA)。该方法的特异性和灵敏度分别为 99.04% 和 100%。NAC-ELISA 效价与 VNT 效价之间存在显著统计学相关性($r=0.9334$, $P<0.0001$),该方法可用于评估保护性免疫水平。

在抗体检测中,LPB-ELISA 或 SPC-ELISA 等检测是首选,因为它们不需要处理活病毒,然而,LPB-ELISA 由于其固有的交叉反应性,可能导致部分低滴度样本出现假阳性结果,鉴于这一局限性,常需借助 VNT 对 LPB-ELISA 的阳性结果进行确认,以最大程度地降低假阳性率^[63],但会增加时间成本,所以需要开发更加准确且便捷的抗体评价方法。随着高通量检测技术、单克隆抗体技术和生物信息学的快速发展,抗体评价体系的完善将进一步提升检测精准性和疫苗研发的效率,为兽医公共卫生和畜牧业可持续发展提供强有力的技术支撑。

2.3 野毒感染与免疫接种的区分

在动物疫病防控中,血清学检测所呈现的抗体阳性需进一步明确其是自然感染还是疫苗免疫。自然感染反映野毒的传播,通常伴随疾病临床表现和疫情扩散风险,对畜牧业经济及生物安全构成直接

威胁;而疫苗免疫则是通过人工接种抗原模拟免疫应答,以建立特异性保护力,可有效阻断病毒传播并巩固群体免疫屏障。因此,快速、精准地鉴别抗体来源,对于疫情研判、免疫效果评估及防控策略优化具有决定性意义。

部分以纯化 FMDV 作为抗原制备的灭活疫苗由于其纯化过程已去除大部分病毒的非结构蛋白,主要诱导机体产生针对病毒结构蛋白的抗体,而自然感染则会同时诱导针对病毒结构蛋白(SP)和非结构蛋白(NSP)的抗体应答,所以区分感染动物与疫苗接种动物(Differentiate between infected and vaccinated animals, DIVA)主要针对病毒的非结构蛋白进行检测。在所有非结构蛋白中,3A、3B、3C、3AB、3ABC 和 3D 蛋白因其强免疫原性及在疫苗生产过程中的含量较低,被认为是开发 DIVA 检测的理想抗原,其中 3ABC 蛋白具有高度的免疫原性和保守性,被视为 DIVA 检测中最可靠的抗原^[64-68]。

WOAH 推荐的标准方法为采用 ELISA 对 3ABC 进行初筛,随后通过免疫印迹试验检测针对 3A、3B、3ABC、3D 和 2C 的抗体进行进一步确认,然而,这种检测方案费时费力且基层养殖户不具备实验条件。Tewari 等^[69]开发了基于四种重组蛋白 3ABC、3D、3CD 和 2C 以及 2B 肽和 3B 肽共六种 NSP 抗原的系列检测方法,并使用实验性接种和野毒感染动物的牛血清进行验证,结果表现良好。Zia 等^[41]基于重组的 3ABC 蛋白,建立了一种间接 ELISA 方法,经验证敏感性与特异性分别为 95.3% 和 96.3%。通过与商品化试剂盒对比验证,两种检测方法的结果具有良好的一致性,且符合率较高。Tegegne 等^[70]通过使用针对 3ABC 的 ELISA 方法验证了疫苗接种后的有效性,并证明疫苗接种并不会干扰 DIVA 鉴别,确认了疫苗与 DIVA 检测的兼容性。

准确区分 FMD 疫苗免疫与野毒感染,是防控实践中的核心环节,直接关乎疫苗效能的科学评判及防控策略的制定。目前 DIVA 技术仍有较大发展空间,相关试剂盒价格昂贵难以推广,液相阻断 ELISA 存在耗时长、假阳性等局限性。未来,基于非结构蛋白的新型血清学检测技术和高通量测序等分子诊断方法将显著提升鉴别诊断的准确性与可靠性。同时, DIVA 等标记疫苗的研发与应用,将从源头上破除鉴别诊断的瓶颈,随着鉴别技术体系的日趋成熟,预计未来五年内 DIVA 能力将实现跨越式提升,为我国乃至全球口蹄疫无疫区建设、区域净化

及国际贸易中的生物安全管理提供更为稳固的技术支撑。

3 小结及展望

当前全球 FMD 疫情形势严峻复杂, O 型病毒持续跨洲际传播, SAT 血清型突破非洲传统疫区向西亚地区蔓延,我国虽然整体疫情平稳,但仍面临东南亚方向老挝-云南边境的持续输入压力、南亚印度活牛贸易带来的潜在风险以及西亚 SAT 2 新型毒株的传播威胁。如何让流调和监测成为疫情防控的有力手段,高效且准确的检测技术至关重要。面对当前疫情严峻形势,检测必须走在防控第一步,建议从基层出发,在乡镇、养殖场等一线推广快速试纸条普筛,当养殖人员一旦发现筛查阳性,立即启动逐级上报机制:市县实验室用 RT-PCR 等技术复核确诊,省级机构开展毒株分析与风险评估,国家级参考实验室则聚焦变异监测与广谱疫苗研发。同时,依托信息化平台实现“采样—检测—预警—处置”数据实时共享,并通过技术培训强化基层筛查能力与应急响应速度,建立以基层广泛筛查为基础、上级精准研判为支撑的协同防控体系。

FMD 的检测技术已形成一套涵盖基层快速筛查与实验室精准诊断的标准流程,旨在应对疫情早期预警和科学决策的双重挑战。在基层一线,侧流免疫层析等快速检测方法凭借其简便、快速和便携的优势,为第一时间发现和阻断疫情提供了关键支持。而在实验室层面, RT-qPCR 等传统技术以及新型检测技术则向着精准化和深度化发展。同时,为了有效区分疫苗免疫与野毒感染,基于非结构蛋白的鉴别诊断技术不断优化,疫苗评价方法逐步完善,为疫苗效果评价提供了核心工具。

未来, FMD 检测技术将呈现智能化的发展趋势,现有技术将与微流控芯片、基因编辑和人工智能等前沿科技结合,催生出更便携、低成本、自动化的检测设备,实现“样本入、结果出”的现场精准诊断,为疫区净化和国际贸易扫清障碍。最终,检测技术的进步将推动构建基层普筛上级研判的防控网络,通过技术保障防控口蹄疫流行,推进 FMD 区域净化。

作者贡献声明

田宏:方案设计、获取资助;郑海学:获取资助;周正:初稿写作;石正旺:数据管理、审查和编辑写作;廖煥程:方法设计、方案设计;武嘉惠:方法设计;罗俊聪:监督指导;杨倩倩:监督指导;王琳:监督指导;谢亚格:监督指导

作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献:

- [1] Knight-Jones TJD, Rushton J. The economic impacts of foot and mouth disease - What are they, how big are they and where do they occur? [J]. *Prev Vet Med*, 2013, 112 (3 - 4) : 161 - 173. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2013.07.013.
- [2] Grubman MJ, Baxt B. Foot-and-mouth disease [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17 (2) : 465 - 493. DOI: 10.1128/cmr.17.2.465-493.2004.
- [3] Brown E, Nelson N, Gubbins S, et al. Airborne transmission of foot-and-mouth disease virus: a review of past and present perspectives [J]. *Viruses*, 2022, 14 (5) : 1009. DOI:10.3390/v14051009.
- [4] Aslam M, Alkheraije KA. The prevalence of foot-and-mouth disease in Asia [J]. *Front Vet Sci*, 2023, 10: 1201578. DOI:10.3389/fvets.2023.1201578.
- [5] Domingo E, Escarmís C, Baranowski E, et al. Evolution of foot-and-mouth disease virus [J]. *Virus Res*, 2003, 91(1) : 47-63. DOI:10.1016/S0168-1702(02)00259-9.
- [6] Hwang SY, Shin SH, Park SH, et al. Serological conversion through a second exposure to inactivated foot-and-mouth disease virus expressing the JC epitope on the viral surface [J]. *Vaccines*, 2023, 11 (9) : DOI: 10.3390/vaccines11091487.
- [7] Mohapatra JK, Subramaniam S, Pandey LK, et al. Phylogenetic structure of serotype A foot-and-mouth disease virus: global diversity and the Indian perspective [J]. *J Gen Virol*, 2011, 92 (4) : 873 - 879. DOI: 10.1099/vir.0.028555-0.
- [8] 张津铭, 马维民, 丁耀忠, 等. 南非 2 型口蹄疫流行动态与传入风险分析 [J]. *病毒学报*, 2025, 41(5) : 1685-1690.
- [9] Paton DJ, Di Nardo A, Knowles NJ, et al. The history of foot-and-mouth disease virus serotype C: the first known extinct serotype? [J]. *Virus Evol*, 2021, 7: veab009. DOI:10.1093/ve/veab009.
- [10] 何继军, 靳野, 马维民, 等. 外来口蹄疫流行毒株跟踪分析与防控 [J]. *中国动物检疫*, 2018, 35(11) : 52-55, 61. DOI:10.3969/j.issn.1005-944X.2018.11.015.
- [11] Chen J, Wang J, Wang M, et al. Retrospect and risk analysis of foot-and-mouth disease in China based on integrated surveillance and spatial analysis tools [J]. *Front Vet Sci*, 2020, 6: 511. DOI: 10.3389/fvets.2019.00511.
- [12] 何继军, 马维民, 吕律, 等. 2017—2022 年中国口蹄疫流行状况分析 [J]. *微生物学报*, 2023, 63(10) : 3955-3966. DOI:10.13343/j.cnki.wsxb.20230136.
- [13] Di Nardo A, Shaw AE, Gondard M, et al. Eastern Africa origin of SAT2 topotype XIV foot-and-mouth disease virus outbreaks, western Asia, 2023 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2025, 31 (2) : DOI: 10.3201/eid3102.240395.
- [14] Xin J, Lan S, Ai J, et al. Risk assessment and prevention of foot-and-mouth disease transmission from Laos to China [J]. *Vet Sci*, 2025, 12 (2) : 92. DOI: 10.3390/vetsci12020092.
- [15] Rehman S, Ullah S, Abuzahra M, et al. Determination of risk factors for foot and mouth disease emergence in East Java, Indonesia [J]. *Open Vet J*, 2025, 15 (5) : 2049. DOI:10.5455/ovj.2025.v15.i5.21.
- [16] Kedang VMK, Permatasari I, Chanchaidechachai T, et al. Spatial-temporal distribution and risk factors of foot and mouth disease outbreaks in Java Island, Indonesia from 2022 to 2023 [J]. *BMC Vet Res*, 2025, 21 (1) : 180. DOI:10.1186/s12917-025-04621-2.
- [17] Li Y, Qiu S, Lu H, et al. Spatio-temporal analysis and risk modeling of foot-and-mouth disease outbreaks in China [J]. *Prev Vet Med*, 2024, 224: 106120. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2024.106120.
- [18] Hossen M, Ahmed S, Khan M, et al. The emergence of foot-and-mouth disease virus serotype O PanAsia-02 sub-lineage of Middle East-South Asian topotype in Bangladesh [J]. *J Adv Vet Anim Res*, 2020, 7 (2) : 360. DOI:10.5455/javar.2020.g429.
- [19] Li P, Huang S, Zha J, et al. Evaluation of immunogenicity and cross-reactive responses of vaccines prepared from two chimeric serotype O foot-and-mouth disease viruses in pigs and cattle [J]. *Vet Res*, 2022, 53 (1) : 56. DOI: 10.1186/s13567-022-01072-7.
- [20] Li F, Li Y, Ma J, et al. Molecular evolution, diversity, and adaptation of foot-and-mouth disease virus serotype O in Asia [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1147652. DOI:10.3389/fmicb.2023.1147652.
- [21] Nishi T, Morioka K, Kawaguchi R, et al. Quantitative analysis of infection dynamics of foot-and-mouth disease virus strain O/CATHAY in pigs and cattle [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (1) : e0245781. DOI:10.1371/journal.pone.0245781.
- [22] Mahapatra M, Upadhyaya S, Aviso S, et al. Selection of vaccine strains for serotype O foot-and-mouth disease viruses (2007-2012) circulating in Southeast Asia, East

- Asia and Far East[J]. *Vaccine*, 2017, 35(51): 7147-7153. DOI:10.1016/j.vaccine.2017.10.099.
- [23] Park SH, Lee SY, Kim JS, et al. Scale-up production of type O and a foot-and-mouth disease bivalent vaccine and its protective efficacy in pigs[J]. *Vaccines*, 2021, 9(6): 586. DOI:10.3390/vaccines9060586.
- [24] Hossain KA, Anjume H, Mazharul Alam KM, et al. Emergence of a novel sublineage, MYMBD21 under SA-2018 lineage of Foot-and-Mouth Disease Virus serotype O in Bangladesh[J]. *Sci Rep*, 2023, 13: 9817. DOI: 10.1038/s41598-023-36830-w.
- [25] Zhu Z, Yang F, Cao W, et al. The pseudoknot region of the 5' untranslated region is a determinant of viral tropism and virulence of foot-and-mouth disease virus [J]. *J Virol*, 2019, 93(8): e02039-e02018. DOI: 10.1128/JVI.02039-18.
- [26] 石鑫泰, 朱昱茜, 石正旺, 等. 南非 2 型口蹄疫病毒抗体胶体金免疫层析试纸条的研制及初步应用[J]. *病毒学报*, 2025, 41(3): 856-867.
- [27] 李昕, 孙燕燕, 林密, 等. O、A、Asia1 型口蹄疫病毒胶体金定量检测免疫层析方法的建立[J]. *畜牧兽医学报*, 2021, 52(4): 1042-1052. DOI: 10.11843/j.issn.0366-6964.2021.04.019.
- [28] Cavallera S, Russo A, Foglia EA, et al. Design of multiplexing lateral flow immunoassay for detection and typing of foot-and-mouth disease virus using pan-reactive and serotype-specific monoclonal antibodies: Evidence of a new hook effect[J]. *Talanta*, 2022, 240: 123155. DOI:10.1016/j.talanta.2021.123155.
- [29] Yang M, Zhmendar D, Mioulet V, et al. Combining a universal capture ligand and pan-serotype monoclonal antibody to develop a pan-serotype lateral flow strip test for foot-and-mouth disease virus detection[J]. *Viruses*, 2022, 14(4): 785. DOI:10.3390/v14040785.
- [30] Kim S, Ryoo S, Park EK, et al. On-site remote monitoring system with NIR signal-based detection of infectious disease virus in opaque salivary samples[J]. *ACS Sens*, 2023, 8(3): 1299-1307. DOI: 10.1021/acssensors.2c02818.
- [31] Ryoo S, Seo SM, Kang H, et al. Development of a complementary metal-oxide-semiconductor-based biosensor system enabling *in situ* real-time polymerase chain reaction on chip for onsite detection, serotyping, and differentiation of foot-and-mouth disease [J]. *Biosens Bioelectron*, 2025, 282: 117345. DOI: 10.1016/j.bios.2025.117345.
- [32] Grazioli S, Ferris NP, Dho G, et al. Development and validation of a simplified serotyping ELISA based on monoclonal antibodies for the diagnosis of foot-and-mouth disease virus serotypes O, A, C and Asia 1[J]. *Transbound Emerg Dis*, 2020, 67(6): 3005-3015. DOI:10.1111/tbed.13677.
- [33] Biswal JK, Ranjan R, Mohapatra JK, et al. Development of TaqMan probe-based one-step RT-qPCR assay targeting 2B-NSP coding region for diagnosis of foot-and-mouth disease in India[J]. *Curr Microbiol*, 2023, 80(8): 245. DOI: 10.1007/s00284-023-03369-y.
- [34] Biswal JK, Jena BR, Ali SZ, et al. One-step SYBR green-based real-time RT-PCR assay for detection of foot-and-mouth disease virus circulating in India[J]. *Virus Genes*, 2022, 58(2): 113-121. DOI:10.1007/s11262-021-01884-3.
- [35] Hwang YJ, Lee KK, Kim JW, et al. Effective diagnosis of foot-and-mouth disease virus (FMDV) serotypes O and A based on optical and electrochemical dual-modal detection[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(6): 841. DOI:10.3390/biom11060841.
- [36] Hussein HA, El Nashar RM, El-Sherbiny IM, et al. High selectivity detection of FMDV-SAT-2 using a newly-developed electrochemical nanosensors [J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 191: 113435. DOI: 10.1016/j.bios.2021.113435.
- [37] Sun Y, Li X, Lin M, et al. An innovative immunochromatographic assay employing Pt-Pd bimetallic nanoparticles as labels for the detection of foot-and-mouth disease virus serotype O[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2024, 1235: 124043. DOI:10.1016/j.jchromb.2024.124043.
- [38] Li H, Dekker A, Zhang Y, et al. Novel liquid-phase blocking ELISA using single-domain antibody M8 and virus-like particles for *in-vitro* potency assessment of foot-and-mouth disease virus-like particle vaccine [J]. *Vaccine*, 2025, 62: 127466. DOI: 10.1016/j.vaccine.2025.127466.
- [39] 李敏杰, 许智强, 刘彦玲, 等. A 型口蹄疫抗体固相竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2020, 42(9): 899-904. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0589.201911014.
- [40] 蔡扩军, 乔军, 孟庆玲, 等. O 型口蹄疫病毒间接免疫荧光检测方法的建立[J]. *西北农业学报*, 2012, 21(6): 13-16, 21.
- [41] Zia MA, Dobson SJ, Rowlands DJ, et al. Development of an ELISA to distinguish between foot-and-mouth disease virus infected and vaccinated animals utilising the viral non-structural protein 3ABC[J]. *J Med Microbiol*,

- 2022, 71(4): . DOI: 10.1099/jmm.0.001516 DOI: 10.1099/jmm.0.001516.
- [42] Kabelo TI, Fana EM, Kesamang M, et al. A TaqMan-based RT - qPCR assay for serotyping of Southern African territories (SAT) 2 strains of Foot-and-Mouth disease virus (FMDV) in Southern Africa [J]. BMC Res Notes, 2023, 16(1): 323. DOI:10.1186/s13104-023-06586-7.
- [43] El Bagoury GF, Elhabashy R, Mahmoud AH, et al. Development and evaluation of one-step real-time RT-PCR assay for improved detection of foot-and-mouth disease virus serotypes circulating in Egypt [J]. J Virol Methods, 2022, 306: 114525. DOI: 10.1016/j.jviromet.2022.114525.
- [44] Bath C, Scott M, Sharma PM, et al. Further development of a reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of foot-and-mouth disease virus and validation in the field with use of an internal positive control [J]. Transbound Emerg Dis, 2020, 67(6): 2494-2506. DOI:10.1111/tbed.13589.
- [45] Howson ELA, Kurosaki Y, Yasuda J, et al. Defining the relative performance of isothermal assays that can be used for rapid and sensitive detection of foot-and-mouth disease virus [J]. J Virol Methods, 2017, 249: 102-110. DOI:10.1016/j.jviromet.2017.08.013.
- [46] Zhang T, Li H, Jiang M, et al. Nanopore sequencing: flourishing in its teenage years [J]. J Genet Genom, 2024, 51(12): 1361-1374. DOI: 10.1016/j.jgg.2024.09.007.
- [47] Zhong Z, Li G, Liang G, et al. Establishment of a nucleic acid detection method for foot-and-mouth disease virus serotype O utilizing RPA-CRISPR/Cas12a technology [J]. J Virol Meth, 2026, 340: 115304. DOI:10.1016/j.jviromet.2025.115304.
- [48] Singh M, Bindal G, Misra CS, et al. The era of Cas12 and Cas13 CRISPR-based disease diagnosis [J]. Crit Rev Microbiol, 2022, 48(6): 714-729. DOI:10.1080/1040841X.2021.2025041.
- [49] Chen Z, Mao K, Chen Z, et al. Isothermal nucleic acid amplification for monitoring hand-foot-and-mouth disease: current status and future implications [J]. Microchim Acta, 2024, 192(1): 31. DOI: 10.1007/s00604-024-06899-9.
- [50] 翟国元, 秦建, 刘杨, 等. 口蹄疫 O 型抗原(O/MYA98/BY/2010 株)₁₄₆S 含量与疫苗免疫效力相关性研究 [J]. 甘肃科技, 2018, 34(17): 37-38, 9. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0952.2018.17.016.
- [51] Van Maanen C, Terpstra C. Quantification of intact 146S foot-and-mouth disease antigen for vaccine production by a double antibody sandwich ELISA using monoclonal antibodies [J]. Biologicals, 1990, 18(4): 315-319. DOI:10.1016/1045-1056(90)90036-Y.
- [52] 周广青. 口蹄疫病毒 O 型和 A 型抗原抗体定量 ELISA 方法的建立及试剂盒研制 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2025.
- [53] Capozzo AV, Martínez MR, Schielen WJG. Development of an in process control filtration-assisted chemiluminometric immunoassay to quantify foot and mouth disease virus (FMDV) non-capsid proteins in vaccine-antigen batches [J]. Vaccine, 2010, 28(40): 6647-6652. DOI:10.1016/j.vaccine.2010.05.049.
- [54] Wong CL, Yong CY, Ong HK, et al. Advances in the diagnosis of foot-and-mouth disease [J]. Front Vet Sci, 2020, 7: 477. DOI:10.3389/fvets.2020.00477.
- [55] Li F, Bao Y, Jiang T, et al. Development of an automatic tubular chemiluminescence immunoassay using magnetic particles for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus serotype A [J]. Microb Pathog, 2025, 199: 107211. DOI:10.1016/j.micpath.2024.107211.
- [56] Dixon AS, Schwinn MK, Hall MP, et al. NanoLuc complementation reporter optimized for accurate measurement of protein interactions in cells [J]. ACS Chem Biol, 2016, 11(2): 400-408.
- [57] Oh-hashii K, Furuta E, Fujimura K, et al. Application of a novel HiBiT peptide tag for monitoring ATF4 protein expression in Neuro2a cells [J]. Biochem Biophys Rep, 2017, 12: 40-45. DOI: 10.1016/j.bbrep.2017.08.002.
- [58] Liang XY, Zhu QC, Liang JQ, et al. Development of HiBiT-tagged recombinant infectious bronchitis coronavirus for efficient *in vitro* and *in vivo* viral quantification [J]. Front Microbiol, 2020, 11: 2100. DOI:10.3389/fmicb.2020.02100.
- [59] Nagashima S, Primadharsini PP, Nishiyama T, et al. Development of a HiBiT-tagged reporter hepatitis E virus and its utility as an antiviral drug screening platform [J]. J Virol, 2023, 97(9): e00508-e00523. DOI: 10.1128/jvi.00508-23.
- [60] Cho G, Kim H, Kim DW, et al. Establishment of the foot-and-mouth disease virus type Asia1 expressing the HiBiT protein: a useful tool for a NanoBiT split luciferase assay [J]. Viruses, 2024, 16(7): 1002. DOI: 10.3390/v16071002.
- [61] Kim H, Kim DW, Cho G, et al. Neutralizing antibody

- screening using NanoBiT-based virus-like particles of foot-and-mouth disease type Asia1 enhances biosafety and sensitivity[J]. *Viruses*, 2025, 17(3): 337. DOI: 10.3390/v17030337.
- [62] Cao Y, Li K, Xing X, et al. Development and validation of a competitive ELISA based on bovine monoclonal antibodies for the detection of neutralizing antibodies against foot-and-mouth disease virus serotype A[J]. *J Clin Microbiol*, 2022, 60(4): e02142-e02121. DOI:10.1128/jcm.02142-21.
- [63] Hamblin C, Barnett ITR, Hedger RS. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus I. Development and method of ELISA [J]. *J Immunol Meth*, 1986, 93(1): 115-121. DOI:10.1016/0022-1759(86)90441-2.
- [64] Kweon CH, Ko YJ, Kim W II, et al. Development of a foot-and-mouth disease NSP ELISA and its comparison with differential diagnostic methods[J]. *Vaccine*, 2003, 21(13-14): 1409-1414. DOI:10.1016/S0264-410X(02)00684-9.
- [65] Yakovleva AS, Shcherbakov AV, Kan'shina AV, et al. Use of the recombinant nonstructural 3A, 3B, and 3AB proteins of foot-and-mouth disease virus in indirect ELISA for differentiation of vaccinated and infected cattle[J]. *Mol Biol*, 2006, 40(1): 146-151. DOI: 10.1134/S0026893306010195.
- [66] Clavijo A, Hole K, Li M, et al. Simultaneous detection of antibodies to foot-and-mouth disease non-structural proteins 3ABC, 3D, 3A and 3B by a multiplexed Luminex assay to differentiate infected from vaccinated cattle[J]. *Vaccine*, 2006, 24(10): 1693-1704. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.09.057.
- [67] Zhong Z, Li B, Tao J, et al. Development of an indirect ELISA to distinguish between porcine sapelovirus-infected and -vaccinated animals using the viral nonstructural protein 3AB [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2024, 46(9): 9821-9830. DOI: 10.3390/cimb46090583.
- [68] Brocchi E, Bergmann IE, Dekker A, et al. Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus[J]. *Vaccine*, 2006, 24(47-48): 6966-6979. DOI:10.1016/j.vaccine.2006.04.050.
- [69] Tewari A, Ambrose H, Parekh K, et al. Development and validation of confirmatory foot-and-mouth disease virus antibody ELISAs to identify infected animals in vaccinated populations[J]. *Viruses*, 2021, 13(5): 914. DOI:10.3390/v13050914.
- [70] Tegegne H, Ejigu E, Woldegiorgis D. RETRACTED ARTICLE: Analysis of the immunological response elicited by a polyvalent foot and mouth disease vaccine and its compatibility with a diva test in Jimma Town, Ethiopia [J]. *Virol J*, 2024, 21(1): 250. DOI: 10.1186/s12985-024-02485-w.

Epidemiology of Foot - and - Mouth Disease and Advances in Diagnostic Technologies

ZHOU Zheng, SHI Zhengwang, LIAO Huancheng, LUO Juncong, WU Jiahui, YANG Qianqian,
WANG Lin, XIE Yage, TIAN Hong*, ZHENG Haixue*

(State Key Laboratory of Animal Disease Control and Prevention, College of Veterinary Medicine, Lanzhou University, Lanzhou Veterinary
Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious and transboundary viral disease affecting cloven-hoofed animals, caused by foot-and-mouth disease virus (FMDV). FMDV comprises seven serotypes and more than 65 topotypes, with marked differences in epidemiological characteristics among serotypes. Globally, serotypes O and A are the most widely distributed, and the overall epidemiological pattern of FMD is characterized by sporadic outbreaks and high genetic diversity. In recent years, the transmission dynamics of FMDV have undergone significant changes, with traditional control barriers based on geographic isolation increasingly being breached. For example, Hungary reported a resurgence of FMD in 2025 after a 52-year absence, without epidemiological links to neighboring countries. In addition, South African Territories (SAT) strains have expanded beyond their traditional endemic regions, showing continued spread toward West Asia and the Middle East, thereby further complicating global control efforts. Recent outbreaks are frequently associated with challenges in source tracing, underscoring the urgent need to refine and update current control strategies. Accurate and sensitive diagnostic technologies play a central role in early warning, outbreak investigation, and source tracing, and are critical for risk assessment and targeted control. This review systematically summarizes the global epidemiological patterns and characteristics of FMDV and provides an overview of current diagnostic methods. It also discusses key technical challenges, including antibody level evaluation and serological differentiation between vaccinated animals and those infected with wild-type virus, with the aim of providing a scientific basis and practical guidance for FMD prevention and control.

Keywords: Foot-and-mouth disease; Epidemiology; Diagnostic technology; Prevention and control strategies

Funding: 1. The Key Project of National Natural Sciences Foundation of China (No. 32330107), title: Mechanism of Tropism Variation of Foot-and-Mouth Disease Virus from Cattle to Pigs; 2. The key project of Lanzhou Institute of Veterinary Medicine, Chinese Academy of Agricultural Sciences (No. CAAS-ASTIP-JBGS-20230402), titled: Development and application of new diagnostic materials.

* Corresponding author: TIAN Hong, Email: xi-beitian0931@163.com; ZHENG Haixue, Email: zhenghaixue@caas.cn

引用本文: 周正, 石正旺, 廖焕程, 等. 口蹄疫流行情况及检测技术进展[J]. 病毒学报, XXXX, XX(X): 1-13.

ZHOU Zheng, SHI Zhengwang, LIAO Huancheng, et al. Epidemiology of Foot-and-Mouth Disease and Advances in Diagnostic Technologies[J]. Chin J Virol, XXXX, XX(X): 1-13.