

广东猪输血传播病毒流行病学调查及其主要抗原编码区进化分析

陈轶雯¹, 李中圣^{2*}, 白挨泉³, 陈善真², 李其昌², 姚火春¹, 王贵平^{2*}

(1. 南京农业大学 动物医学院, 南京 210095; 2. 广东现代农业集团研究院有限公司, 广州 510630; 3. 佛山科学技术学院, 佛山 528000)

摘要: 为了解广东省猪群中猪输血传播病毒(TTSuVs)的感染情况, 采用 Nest-PCR 方法对广东省 7 个不同地区规模化猪场抽检采集的 159 份育肥猪血清进行检测。结果表明, TTSuVs 的 2 个种——TTSuV1 和 TTSuV2 的阳性检出率分别为 54.72% 和 35.22%, 二者的共感染率为 29.56%, 说明 TTSuVs 在广东猪群中有较为广泛的传播。挑选 Nest-PCR 检测 TTSuV1 和 TTSuV2 为阳性的样品, 分别在病毒保守区设计引物, 扩增病毒基因, 测序验证后, 与其它已发表的不同属种 TTVs ORF1 序列进行进化树分析。结果表明猪 TTVs 与人、犬、猫、猴的 TTVs 分别处在进化树的不同分枝, 具有很大差异; 本次研究获得的 TTSuV1 ORF1 序列与国内多株已发表的 TTSuV1 ORF1 序列相似性为 72%~75%; 获得的 TTSuV2 ORF1 序列与现有测序的多株 TTSuV2 的 ORF1 序列相似性为 88%~97%。此研究为进一步研究 TTSuVs 流行状况、血清学诊断方法和临床防治技术奠定基础。

关键词: TTSuV1; TTSuV2; 流行病学; 抗原进化分析

中图分类号: S852.659.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)11-1767-06

Epidemiological Investigation and Antigen Phylogeny Analyses in Guangdong for Porcine Transfusion Transmitted Virus

CHEN Yi-wen¹, LI Zhong-sheng^{2*}, BAI Ai-quan³, CHEN Shan-zhen²,

LI Qi-chang², YAO Huo-chun¹, WANG Gui-ping^{2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Guangdong Institute of Modern Agricultural Group, Guangzhou 510630, China;

3. Foshan University, Foshan 528000, China)

Abstract: The objective of this study was to investigate the prevalence of porcine transfusion transmitted virus (TTV) species (TTSuV1 and TTSuV2). The study was conducted in 7 different intensive pig farms of Guangdong province in China. A total of 159 swine sera were collected, and then the virus were tested using Nest-PCR. The results demonstrated that the TTSuV1 and TTSuV2 infection rates were 54.72% and 34.22% respectively, and the co-infection rate was 29.56%. We designed PCR primers based upon the conserved region of the two viruses for amplifying the two virogenes. By blast analysis with our cloned TTSuVs sequences in NCBI database, we found that our isolated TTSuV1 ORF1 and TTSuV2 ORF1, have high homologous to those known TTSuVs sequences, 72%-75% and 88%-97% respectively; while have big gaps with the TTVs which infecting other species like felis, canis, tupaia, tamarin, douroucoulis and homo in the nucleotide sequence. To sum up, TTSuVs had been widely distributed in Guangdong's pig populations. This study laid the foundation for further research of the prevalence situation, sero-

收稿日期: 2012-05-09

基金项目: 广东省科技厅项目(2011A090400011)

作者简介: 陈轶雯(1987-), 女, 山东淄博人, 硕士, 主要从事动物病毒学与免疫学的研究, E-mail: wscyw1987@126.com

* 通讯作者: 李中圣, 王贵平, Email: lzs-jason@hotmail.com

logic diagnostic methods and to prepare for safe and valid vaccine.

Key words: Torque teno sus virus 1; Torque teno sus virus 2; epidemiology; antigen evolutionary analysis

输血传播病毒(Transfusion transmitted virus, TTV)是一类无囊膜,二十面体,单股负链环状 DNA 病毒,电镜观察病毒颗粒直径为 30~32 nm。TTV 首次由日本学者从一例未知病原的非甲—非戊型输血后肝炎病人的血清中发现^[1],随后人们在非灵长类以及猪、牛、羊、犬、猫、家禽等多种家养及野生动物体内也发现了 TTV 的感染^[2-3]。2009 年,国际病毒分类协会(ICTV)将猪的 TTV 划分到指环病毒科(Anelloviridae)细环病毒属(Iotatorquevirus),并进一步划分为 2 个种;Torque teno sus virus 1 (TTSuV1) 和 2 (TTSuV2)^[4]。

TTSuVs 全长约 2 900 bp,起初预测包括 3 个开放阅读框,目前认为 ORF1 编码病毒衣壳蛋白和复制相关蛋白^[2,5]。TTSuV1 ORF1 的核苷酸长度在 1 914~1 950 bp, TTSuV2 ORF1 的核苷酸长度在 1 875~1 884 bp。TTSuV1 ORF2 编码 73~74 个氨基酸, TTSuV2 ORF2 编码 69 个氨基酸^[5],具有与蛋白酪氨酸磷酸激酶类似的结构域,可能与感染期间细胞或病毒蛋白的调节有关^[6],王礞礞^[7]认为 ORF2 编码复制酶蛋白。ORF3 被类似于真核生物基因编码区中内含子的序列分隔为 2 段^[8],侯军委^[9]认为 ORF3 在被预测的剪接方式的基础上又发生了 2 种形式的剪接,从而产生 2 个新的阅读框,即 ORF4 和 ORF5,其具体功能还不清楚。TTSuVs 的非编码区和 ORF2 基因序列较为保守,因此对 TTSuVs 的检测多以此保守序列为基础建立 Nest-PCR 或实时荧光 PCR 的检测方法。

作为一种较为新型的病毒, TTSuVs 的致病机理知之甚少。2004 年, McKeown 对中国、爱荷华州、泰国、安大略、韩国、西班牙、魁北克和萨斯喀彻温省这六个不同国家地区的 154 份猪血清进行检测, TTSuVs 阳性率可高达 66.2% (102/154)^[10]。Aramouni 等^[8]证实了 TTSuV1 与断奶仔猪多系统衰竭综合征(PMWS)和猪皮炎肾病综合征(PDNS)之间有一定的联系并发现 TTSuVs 与其他已知的猪病原体协同感染可以导致疾病加重^[11]。近年来,关于 TTSuVs 的报道逐渐增多, TTSuVs 的感染具有广泛性和普遍性,这一特点引起了诸多科研工作者的关注。因此,加强对 TTSuVs 的流行病学调

查,确定其抗原性位点,对 TTSuVs 的防治有十分重要的意义。

本研究拟对采集于广东省猪场的 159 份样本采用 Nest-PCR 的方法对 TTSuVs 的保守区进行检测,以确定广东省猪群是否存在 TTSuVs 感染,并且对比分析该病毒结构蛋白的编码区 ORF1 与其他已发表的 TTVs ORF1 序列的进化关系和相似性,为进一步研究其遗传变异,血清学诊断方法以及亚单位疫苗的制备奠定基础。

1 材料和方法

1.1 样品采集

随机采集广东省河源、肇庆、四会、佛山、惠州、增城、从化 7 个不同地区的规模化养猪场的育肥猪血清样品,分装保存于-80 °C 冰箱中。

1.2 菌株、质粒与试剂

大肠杆菌(*E. coli*) DH5 α 由本室保存; rTaq DNA 聚合酶及相关试剂、LA TaqDNA 聚合酶及相关试剂、T4DNA 连接酶、DL2000 DNA marker、DL10000 DNA marker、Agarose gel DNA purification kit 等购自 TaKaRa 生物工程公司; Omega Cycle-pure kit、血液 DNA 抽提试剂盒、小量质粒提取试剂盒为 OMEGA 公司产品。

1.3 血清样品 DNA 的提取

血清样品的核酸提取均利用 OMEGA DNA 抽提试剂盒,基本步骤:将血液样品 10 000 r·min⁻¹ 离心,取上清,与适量 OB 蛋白酶混和,加入适量 Buffer TNA 和 Carrier RNA,充分混合后加入异丙醇清洗,上柱、清洗、甩干,最后用双蒸水洗脱提取的核酸,-20 °C 保存或备用。

1.4 TTSuV1 与 TTSuV2 的 PCR 诊断

根据 GenBank 中已有 TTSuV1 和 TTSuV2 序列,经比对分析后利用 Primer5 软件分别设计扩增 TTSuV1 和 TTSuV2 的诊断引物,序列见表 1。

TTSuV1 与 TTSuV2 2 种病毒的检测均采用 Nest-PCR。扩增 2 病毒基因的 PCR 反应程序一致:一扩,94 °C 预变性 4 min,94 °C 变性 30 s,50 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 30 个循环,72 °C 终延伸 8 min;以稀释 300 倍的一扩产物为模板分别用

二扩引物进行扩增,PCR 反应程序与一扩的一致。

表 1 TTSuV1 或 TTSuV2 诊断引物

Table 1 Primer sequence of TTV

引物名称 Primer	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	产物大小/bp Product size
TTSuV1-F1	TACACTTCCGGGTACACG	673
TTSuV1-R1	AACGCTGCCATGTCTGTTA	
TTSuV1-F2	GGGTTAACGAGCGTCAAT	544
TTSuV1-R2	CGTCTCTTAAGCGGATA	
TTSuV2-F1	ATGACATGGTTCCCCAGA	760
TTSuV2-R1	AGTCGCAAGGTCCTGGCG	
TTSuV2-F2	AACCAGCAATCCACATGA	604
TTSuV2-R2	AAAGGGGAGCCAGGTCTG	

1.5 结果鉴定与数据统计

对应用 TTSuV1 与 TTSuV2 诊断引物扩增出来的目的片段(随机样本)进行回收纯化,将其连接于 pMD-18T 载体,将鉴定为阳性的质粒交广州英潍捷基公司进行测序。

分批对搜集的样本进行 Nest-PCR 分析,记录结果,应用 Microsoft Excel 软件对数据进行分析处理。

1.6 TTSuVs ORF1 的扩增与相似性分析

分别以 TTSuV1、TTSuV2 阳性样品为模板,在

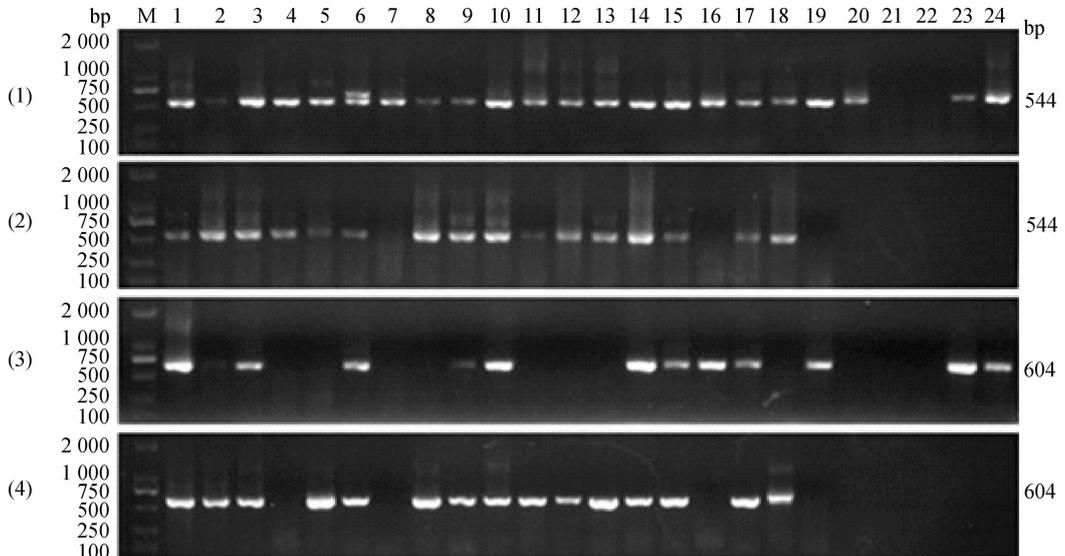
病毒基因序列的保守区设计引物,应用诊断引物反向扩增目的片段,TTSuV1 和 TTSuV2 的扩增引物分别如下: TTSuV1-F: TATGCGCTTTAGACGACG, TTSuV1-R: ATTGAGCCTCCTGAACCC; TTSuV2-F: CGTACCTGTCTCCCCTTT, TTSuV2-R: CGTACGGATGACTCTCGG-3')。分别随机选取 3 个 TTSuV1 和 3 个 TTSuV2 检测结果为阳性的血清样品,应用 LA Taq DNA 聚合酶扩增目的片段的反应程序:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,52 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 100 s,共 30 个循环;72 °C 延伸 8 min。用 1.0% 的琼脂糖凝胶对 PCR 扩增产物进行电泳,切下目的条带,利用 OMEGA 胶回收试剂盒回收 DNA,将纯化的片段送广州英潍捷基公司进行测序。

使用 DNASTar 软件包中的 MegAlign 进行 TTSuVs ORF1 序列匹配和多重序列比对(ClustalX 法);Mega5.0 软件用于分子遗传进化分析,使用 Neighbor-Joining(NJ, Replication=500)法绘制物种系树。

2 结果

2.1 样品的 PCR 检测结果

利用 TTSuV1 和 TTSuV2 的诊断引物对采集样品进行 Nest-PCR。TTSuV1 与 TTSuV2 Nest-PCR 特异扩增的产物大小分别为 544 和 604 bp(图 1)。



M. DL2000 DNA 相对分子质量标准; (1)、(2). TTSuV1;(3)、(4). TTSuV2

M. DL2000 DNA marker; (1), (2). TTSuV1;(3), (4). TTSuV2

图 1 TTSuV1 与 TTSuV2 Nest-PCR 产物部分结果电泳

Fig. 1 Some Nest-PCR product of TTSuV1 and TTSuV2

2.2 TTSuVs 检测结果统计分析

对广东省 7 个地区 159 份猪血清样品进行了检

测。TTSuV1 阳性率为 54.72%，TTSuV2 的阳性率为 35.22%；二者的共感染率为 29.56% (表 2)。

表 2 Nest-PCR 方法检测血清样品中 TTV1、TTV2

Table 2 Detection of samples for TTV1, TTV2 by Nest-PCR

地区(总数) District(Total)	TTSuV1 和 TTSuV2 的阳性率/% Positive number and positive ratio of TTSuV1 and TTSuV2		
	TTSuV1	TTSuV2	TTSuV1+TTSuV2
河源 Heyuan (7)	85.71(6)	57.14(4)	42.86(3)
肇庆 Zhaoqing (18)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
四会 Sihui (13)	30.77(4)	30.77(4)	23.08(3)
佛山 Foshan (29)	41.38(12)	31.03(9)	24.14(7)
增城 Zengcheng (27)	85.19(23)	40.74(11)	33.33(9)
从化 Conghua (46)	73.91(34)	47.83(22)	41.30(19)
惠州 Huizhou (19)	42.11(8)	31.58(6)	31.58(6)
总计 Total (159)	54.72(87)	35.22(56)	29.56(47)

括号内为血清样本数

The data in bracket are number of sera samples

2.3 TTSuVs ORF1 的相似性分析

选取经 Nest-PCR 检测 TTSuVs 为阳性的样品, 针对其基因进行 PCR 扩增的电泳图如图 2(A) 所示, 经测序比对得到 2 条序列(TTSuV1 和 TTSuV2), 根据 DNASTAR 软件和网站 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html> 进行 TTSuV1 和 TTSuV2 阅读框的预测, 确定病毒的结构蛋白 ORF1 序列, 将所获得 2 个种的 ORF1 分别命名为 TTSuV1 GDIMA 和 TTSuV2 GDIMA(登录号: JQ782385)。

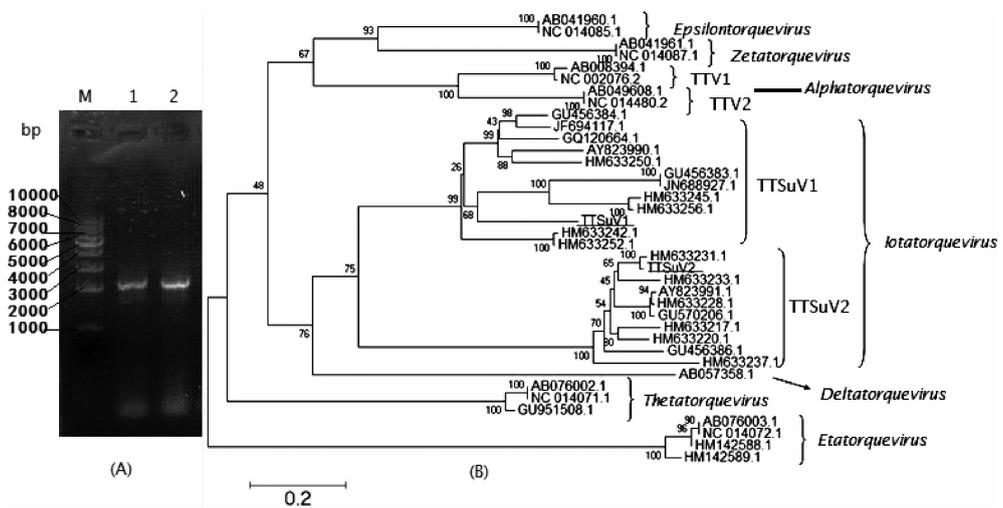
本研究中所使用的 36 个参考序列均从 GenBank 获得(登录号: AY823990.1、GQ120664.1、GU456383.1、GU456384.1、HM633242.1、HM633245.1、HM633250.1、HM633252.1、HM633256.1、JF694117.1、JN688927.1、AY823991.1、GU456386.1、GU570206.1、HM633217.1、HM633220.1、HM633228.1、HM633231.1、HM633233.1、HM633237.1、AB057358.1、AB041960.1、NC_014085.1、AB076003.1、HM142588.1、HM142589.1、NC_014072.1、AB076002.1、GU951508.1、NC_014071.1、AB041961.1、NC_014087.1、AB008394.1、NC_002076.2、AB049608.1、NC_014480.2)。经 ClustalX 比对及利用 Mega5.0 软件分析, 绘制了

TTVs ORF1 系统发育进化树, 结果见图 2(B)。

图 2(A) 为所获得的 TTSuV1 和 TTSuV2 的 PCR 产物, 经测序 TTSuV1 为 2 917 bp, TTSuV2 为 2 824 bp, 其中 TTSuV1 ORF1 片段长度为 1 993 bp, TTSuV2 ORF1 片段长度为 1 883 bp。

图 2(B) 的进化树关系表明, 猪 (*Iotatorquevirus*) 与人 (*Alphatorquevirus*)、犬 (*Thetatorquevirus*)、猫 (*Etatorquevirus*)、树鼩 (*Deltatorquevirus*)、绢毛猴 (*Epsilontorquevirus*)、夜猴 (*Zetatorquevirus*) 的 TTVs ORF1 分别位于不同的进化分支, 具有较大差异。

本文所测序的广东 TTSuV1GDIMA1 与国内其它地区毒株, 如与 HM633256.1、HM633245.1 和 JN688927.1 的 ORF1 序列相似性均为 75%; 与 JN688927.1、HM633245.1、AY823990.1、HM633250.1、GQ120664.1 的序列相似性为 72%~74%; 与 JN688927.1 和国外较早测序的毒株 GU456383.1 (PTTV1a-VA) 序列相似性为 72%。TTSuV2GDIMA1 与 HM633231.1 的 ORF1 序列在同一分支, 序列相似性高达 97%, 与 GU570206.1、AY823991.1 和 HM633228.1 的 ORF1 序列相似性均在 88%~93%。



M. DL10000 DNA 相对分子质量标准; 1. TTSuV1 基因片段的 PCR 产物; 2. TTSuV2 基因片段的 PCR 产物
M. DL10000 DNA marker; 1. PCR product of TTSuV1; 2. PCR product of TTSuV2

图 2 TTSuV1 与 TTSuV2 基因片段的 PCR 产物(A)以及 TTVs ORF1 基因系统发育进化树分析(B) (划线部分为本研究所分离的病毒株)

Fig. 2 Amplification of the gene of TTSuV1 and TTSuV2(A) and phylogenetic tree of 38 strains of TTVs ORF1(B)

3 讨论

TTVs 不是最近才出现的病毒, TTV 的检出可以追溯到 1 瓶 1985 年的冻存细胞^[12]。1999 年, Leary 等初次在猪体内检出 TTV^[3]。据 Kekarainen 等报道 TTSuVs 不仅对猪疫苗存在污染, 同时也是含有猪源性成分的人医药品及实验室所用酶中的污染物^[13], 然而, 迄今为止还没有发现适合 TTSuVs 病毒培养的细胞系^[14]。

近年来, 国内科研工作者对 TTSuVs 的流行病学做了大量调查。流行病学调查表明 TTSuVs 已广泛流行于中国大部分地区。为了明确广东省猪群中 TTSuVs 的感染情况, 作者对 2011 年采集自广东省 7 个不同地区猪场随机抽检得到的 159 份育肥猪血清样品进行 TTSuVs 感染情况的调查, 结果证实在广东省的猪群中广泛存在 TTSuVs 的感染。所测血清样本中, TTSuV1 的平均阳性率为 54.72%, TTSuV2 平均阳性率为 35.22%, TTSuV1 和 TTSuV2 的混合感染率为 29.56%。在流行病学调查过程中, 肇庆猪场 TTSuVs(18 份血清)Nest-PCR 检测无一例阳性, 而增城(27 份血清)、从化(46 份血清)猪场 TTSuV1 血清阳性率分别为 85.19% 和 73.91%, TTSuV2 阳性率分别为 40.74% 和 47.83%, 共感染率分别为 33.33%、41.30%; 经调查, 发现 TTSuVs 的感染率可能与猪的养殖状况有

密切相关性, TTSuVs 感染严重的猪场细菌性疾病发病率也高, 且难以控制, 反之则少。本文的研究结果显示, 在广东省 TTSuV1 的感染率比 TTSuV2 高; 这一结果与王礞礞、温立斌、李俊等^[7,15-18]的研究结果不同, 但与南文金^[19]、刘建波^[14]的报道相符。由于本研究仅在广东省内开展, 对于广东猪群的 TTSuVs 的感染具有较好指示。综合国内外的相关报道, 可以看出, TTSuV1 和 TTSuV2 两种病毒的感染率有一定的差异, 这可能与不同地区猪场的猪只种、猪的免疫情况、养殖水平和气候因素等有关, 说明中国 TTSuVs 的流行具有复杂性和多样性, 特别是在生猪交易频繁的广东地区更为显著。Zheng 等^[18]通过试验证明人的 TTV2 ORF2 所表达的蛋白对 NF- κ B(Nuclear factor- κ -gene binding)途径抑制, 说明该蛋白参与机体的天然和获得性免疫反应。因此, 加强生猪交易频繁地区的检疫制度尤其重要。

Huang 等^[7,14,20]表达了 TTSuV2 ORF1 的截短蛋白, 纯化后作为抗原, 对 TTSuV2 阳性和阴性的血清进行了 Western Blot 和 ELISA 检测, 证实了 TTSuV2 能诱导猪体内产生抗 ORF1 抗体。TTSuVs 的 ORF1 普遍被认为是编码衣壳蛋白和复制相关结构域的基因。本研究通过扩增 TTSuVs 的基因获得 TTSuV1 和 TTSuV2 的 ORF1, 经过对核苷酸序列的比对发现, TTSuV1 ORF1 的基因序列之

间的差异较 TTSuV2 的 ORF1 基因序列之间的差异大,这表现出 TTSuV1 基因在宿主中进化的复杂性;也可能是本次流行病学调查中 TTSuV1 阳性率高于 TTSuV2 的原因之一。从本文的进化树中可以看出, TTSuV2 ORF1 序列与 HM633231.1 (TTSuV Gx3-2)的 ORF1 的相似性高达 97%,表明 TTSuV2 ORF1 的核苷酸序列较为保守,其抗原性未发生较大变化,这对建立该种病毒的血清学诊断方法以及亚单位疫苗具有重大意义。

综上所述, TTSuVs 在广东省猪群中乃至全国养猪业中都具有较高感染率,是一个不容忽视的问题。因此加大研究力度,深入研究 TTSuVs 的流行状况、潜在致病性、遗传变异性及生态学特性对全面了解该病毒及更好地研究其血清学诊断方法和制备亚单位疫苗具有十分重要的意义。

参考文献:

- [1] NISHIZAWA T, OKAMOTO H, KONISHI K, et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 241(1):92-97.
- [2] 夏应菊, 訾占超, 蔡林, 等. 猪细小病毒和猪圆环病毒 2 型混合感染状况的调查[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(3):424-430.
- [3] LEARY T P, ERKER J C, CHALMERS M L, et al. Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals[J]. *J Gen Virol*, 1999, 80(8):2115-2120.
- [4] International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy: 2009 Release (9th Report) [OL/DB]. <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009>.
- [5] CORTEY M, MACERA L, SEGALÉS J, et al. Genetic variability and phylogeny of Torque teno sus virus 1 (TTSuV1) and 2 (TTSuV2) based on complete genomes [J]. *Vet Microbiol*, 2011, 148(2-4):125-131.
- [6] OKAMOTO H, TAKAHASHI M, NISHIZAWA T, et al. Genomic characterization of TT viruses (TTVs) in pigs, cats and dogs and their relatedness with species-specific TTVs in primates and tupaias [J]. *J Gen Virol*, 2002, 83(6):1291-1297.
- [7] 王礞礞. 猪源 TTV_分子流行病学_全长序列分析及感染性分子克隆的构建[D]. 上海:中国农业科学院, 2011.
- [8] ARAMOUNI M, SEGALÉS J, SIBILA M, et al. Torque teno sus virus 1 and 2 viral loads in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) and porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) affected pigs[J]. *Vet Microbiol*, 2011, 153(3-4):377-381.
- [9] 侯军委. 猪源 TTV 转录本的鉴定及荧光定量 PCR 检测方法的建立[D]. 上海:中国农业科学院, 2011.
- [10] McKEOWN N E, FENAUX M, HALBUR P G, et al. Molecular characterization of porcine TT virus, an orphan virus, in pigs from six different countries[J]. *Vet Microbiol*, 2004, 104(1-2):113-117.
- [11] KEKARAINEN T, SEGALÉS J. Torque teno virus infection in the pig and its potential role as a model of human infection[J]. *Vet J*, 2009, 180(2):163-168.
- [12] TEIXEIRA T F, DEZEN D, CIBULSKI S P, et al. Torque teno sus virus (TTSuV) in cell cultures and trypsin[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3):e17501.
- [13] KEKARAINEN T, ARTINEZ-GUINO L, SEGALÉS J, et al. Swine torque teno virus detection in pig commercial vaccines, enzymes for laboratory use and human drugs containing components of porcine origin[J]. *J Virol*, 2009, 90:648-653.
- [14] 刘建波. 猪输血传播病毒流行病学调查与 Cap 蛋白表达及感染性克隆构建[D]. 哈尔滨:中国农业科学院, 2011.
- [15] 温立斌, 何孔旺, 杨汉春. 中国猪群存在 Torque teno Virus (TTV) 感染[J]. *江苏农业学报*, 2010, 26(1):85-90.
- [16] 李俊, 时建立, 刘洋, 等. 山东省猪群 TTV 感染情况及分子流行病学分析[J]. *中国动物检疫*, 2010, 28(1):65-68.
- [17] 伍志伟, 王红宁, 杨鑫, 等. 中国西南地区猪群中 TTV 分子流行病学调查[J]. *中国兽医学报*, 2011, 33(6):779-782.
- [18] 伍志伟, 王红宁. 猪 Torque teno 病毒研究进展[J]. *中国预防兽医学报*, 2011, 33(4):331-334.
- [19] 南文金, 姜高明. 华南地区猪输血传播病毒流行病学调查与分析[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(12):145-148.
- [20] HUANG Y W, HARRALL K K, DRYMAN B A, et al. Expression of the putative ORF1 capsid protein of Torque teno sus virus 2 (TTSuV2) and development of Western blot and ELISA serodiagnostic assays: Correlation between TTSuV2 viral load and IgG antibody level in pigs[J]. *Virus Res*, 2011, 158(1-2):79-88.