

猪博卡病毒流行病学研究

郝飞¹, 汤德元^{1*}, 李春燕¹, 罗险峰², 张华², 马萍², 曾智勇^{1*}, 洪尼宁², 刘霞²

(1. 贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省动物疫病预防控制中心, 贵阳 550008)

摘要: 猪博卡病毒属于细小病毒科细小病毒亚科博卡病毒属单链线性 DNA 病毒, 该病毒于 2009 年在瑞典发现。作为一种新型病毒, 人们对其的研究仍处于初步探索阶段。本文从博卡病毒的由来、猪博卡病毒的发现、分类、基因组结构及流行病学等方面进行阐述, 并根据 GenBank 收录的 25 条猪博卡病毒的部分基因和全基因序列, 利用 DNASTar 分析软件, 通过 Jotun-Hein 算法, 分别从猪博卡病毒的 NS、NP、VP 以及全基因序列进行相似性临近排组分析, 并建立了 PBoV 系统发育树。结果发现可将猪博卡病毒分为 2 个大支和若干遗传簇, 但这些不同的遗传簇所包含的毒株在核苷酸序列上仍然存在着一一定的差异。

关键词: 猪博卡病毒; 分子流行病学; 遗传进化分析

中图分类号: S852.659.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)10-1609-09

Research on the Epidemiology of Porcine Bocavirus

HAO Fei¹, TANG De-yuan^{1*}, LI Chun-yan¹, LUO Xian-feng², ZHANG Hua², MA Ping²,
ZENG Zhi-yong^{1*}, HONG Ni-ning², LIU Xia²

(1. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Animal Disease Prevention and Control Center in Guizhou Province, Guiyang 550008, China)

Abstract: The Porcine Bocavirus was found in Sweden in 2009, which belongs to Parvovirus subfamily, Parvoviridae with single-stranded DNA. As a new kind of virus, the studies on Porcine Bocavirus is in the stage of preliminary exploration by humans. The paper has described the source, discovery, classification, genome and epidemiology of Porcine Bocavirus. According to the GenBank including partial and complete gene sequences of 25 Porcine Bocaviruses, we put analysis of arranging the group of homology on NS, NP, VP and complete gene sequences about PBoV with analysis software of DNASTar, arithmetic Jotun-Hein. And we established the PBoV system of Phylogenetic tree. The result revealed that the PBoV includes two large branches and many hereditary clusters. But there are some differences in the nucleotides sequences of different hereditary clusters containing strains.

Key words: Porcine Bocavirus; molecular epidemiology; phylogenetic analysis

猪博卡病毒(Porcine Bocavirus, PBoV)是一种新型的细小病毒。猪感染该病毒后主要症状为腹泻, 并集中在产房哺乳仔猪, 哺乳仔猪死亡率达 70% 以上, 抗生素治疗和腹泻性疫苗免疫均不能获得效果。目前细小病毒科分为细小病毒亚科和浓核

病毒亚科 2 个亚科, 其中细小病毒亚科(Parvovirinae)主要感染脊椎动物, 根据病毒基因组的结构、宿主以及在病毒的复制过程中是否依赖辅助病毒的原则又将其分为 6 个属, 分别是细小病毒属(Parvovirus)、红病毒属(Erythrovirus)、依赖病毒属(Depen-

收稿日期: 2012-04-05

基金项目: 贵州省 2011 年农业攻关项目资助[黔科合 NY 字(2011)3103 号]; 贵州省 2010 年农业科技攻关项目(黔科合 NY 字[2010]3042 号)

作者简介: 郝飞(1988-), 男, 江苏如皋人, 硕士研究生, 主要从事动物传染病病原分子病毒学研究, E-mail: haofei19880812@163.com

* 通讯作者: 汤德元(1964-), 男, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事动物传染病病原分子生物学和中西兽医结合的学科科研工作, E-mail: tdyuan@163.com; 曾智勇(1978-), E-mail: as.zyeng@gzu.edu.cn

dovirus)、水貂阿留申病毒属(Amdovirus)、博卡病毒属(Bocavirus)以及 *Hokovirus* 属(*Hokovirus*)^[1-3]。2009年瑞典科学家首次发现第1例猪博卡病毒(PBo-Like Virus),此后在中国境内上海市、湖北省、江苏省以及贵州省等地相继发现并分离到猪博卡病毒。猪博卡病毒作为一种新型的病毒,它的许多特性都不同于传统的细小病毒科病毒,目前人们对该病毒的研究还只停留在初级阶段。

1 猪博卡病毒的由来和发现

早在20世纪60年代初博卡病毒就已被发现,早期的博卡病毒只有2种:牛细小病毒(Bovine Parvovirus, BPV)和犬微小病毒(Canine Minute Virus, CnMV)。分类之初取此2种病毒宿主动物的英文前两字母(Bovine+Canine)组成了博卡病毒属(Bocavirus),博卡病毒属与其他细小病毒相比较最主要的特征:博卡病毒在基因组的中间位置存在第3个开放阅读框(非结构蛋白NP1)。后来将具有第3个ORF基因组特征的病毒归入博卡病毒属。目前博卡病毒属成员有牛细小病毒、人博卡病毒(1~4型)、犬微小病毒、猪博卡病毒、大猩猩博卡病毒以及黑猩猩博卡病毒。2009年,Blomstöm等采集病死猪的淋巴结进行研磨,经一系列处理后提取DNA,采用随机多重置换扩增法(MDA)和高通量测序技术进行DNA扩增,最终将获得的所有片段进行克隆、测序,进行生物信息学分析,拼接出1条1 879

bp的新型细小病毒片段,经序列比对后发现扩增出的片段与人博卡病毒较为相似,且其主要是NP蛋白和部分VP1蛋白的编码序列,暂将其命名为猪类博卡病毒(PBo-Like Virus, PBoLV)^[4]。随后Zhai等^[5]参照Blomström等人获得的猪类博卡病毒的序列设计引物,于2010年首次在中国检测出了猪博卡病毒。此后Shan等^[6]、Zeng等^[7]也分别在国内发现了猪类博卡病毒的存在,并获得了4 786 bp的近似全长序列,2010年Cheng等^[8]利用不依赖序列的单引物扩增技术扩增出4种不同的猪博卡病毒,分别命名为PBoV1、PBoV2、6V及7V,并获得了PBoV1和PBoV2近似全序列,首次报道了其他型猪博卡病毒的存在。此外,Cheung等还发现病分离了另外一种新的博卡病毒,并将其暂时命名为PPV4^[9]。

2 猪博卡病毒的分子特征

PBoV是一种单链无包膜的DNA病毒,体积小,结构简单,为正二十面体颗粒,直径约为25~30 nm。基因组为单链线性DNA,大小为4 786~5 905 bp。各类型猪博卡病毒的基因组结构基本一致,基因组编码3个开放阅读框(ORF),ORF1(5'末端)编码非结构蛋白NS1,ORF2(3'端)编码结构蛋白VP1/VP2,ORF3(中间序列)编码非结构蛋白NP1(图1)。其中VP1/VP2是其主要抗原基因。但Cheung等^[9]研究发现PPV4的序列为环状结构,长度约5 905 bp。

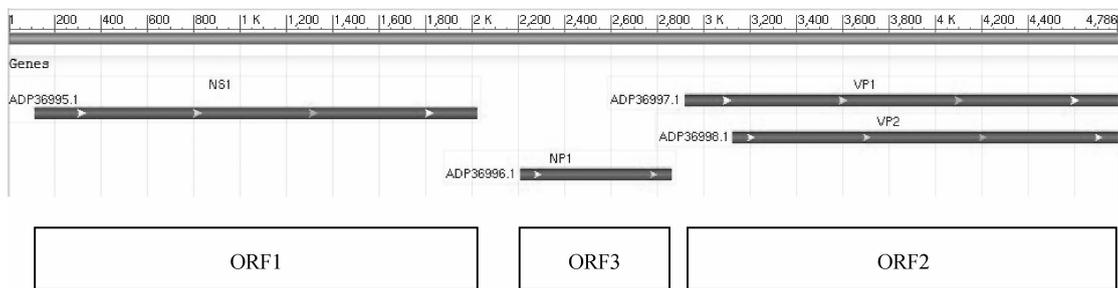


图1 猪博卡病毒的基因组结构

Fig. 1 Genome structure of PBoV

目前对猪博卡病毒相关功能蛋白的研究还仅是通过生物信息学软件分析。在猪博卡病毒的ORF1中存在4个亚基因组,并存在着与病毒滚环复制、解螺旋酶以及三磷酸腺苷酶活性相关的保守序列;ORF2中VP蛋白编码病毒核衣壳蛋白,存在2个亚基因组,VP1编码的序列内存在与病毒感染性相

关的磷脂酸A2序列(与Ca²⁺结合环及催化残基相关序列相连)^[10];ORF3中存在2个亚基因组,但其功能还不明确。当前,PBoV的体外培养只有北爱尔兰的研究人员成功进行了病毒的细胞适应性研究,在猪肾原代细胞上成功培养4代,并出现了明显的细胞病变^[11]。

随着人们对猪博卡病毒研究的深入,其基因型的分型也逐渐受到重视。当前国际上对博卡病毒尚

无统一的分类,笔者参考 GenBank 上登录的猪博卡病毒全序列暂将其分 7 个基因型(表 1)。

表 1 猪博卡病毒的基因分型

Table 1 Genome types of PBoV

类型 Genome types	基因组大小/bp Genome	GenBank 登录号 Accession number	参考毒株 Reference strain
PBoLV	4 786	HQ223038	SX
PBoV1	5 267	HQ291308	H18
PBoV2	5 186	HM053694	ZJD
PBoV3	4 710	JF713714	22
PBoV4	4 125	JF512473	F41
PBoV5	5 076	JN831651	JS677
PPV4	5 400	GU978964	HEN0922-5400

3 猪博卡病毒流行病学研究

3.1 猪博卡病毒的分布特点

自 2009 年首例 PBoV 在瑞典被发现以来,目前 PBoV 还只在瑞典、北爱尔兰、美国和中国的家猪被检测并分离。此外,在罗马尼亚^[12]和乌干达^[13]的野猪体内也检测到了该病毒,其中猪博卡病毒在全球的分布见图 2。PBoV 自 2010 年首次在国内被检测到以来,其已在多个省市自治区被检测到。2009 年 Zhai 等^[5]检测了来自浙江、江西、安徽、河北、河南、江苏、北京、上海、新疆 9 省市的送检病料,PBoV

的检出率在 12.5%~88.9%,并且在健康的猪样品中也检测到 PBoV 的存在,检出率为 7.3%(3/41)。2010 年 Shan 等^[6]在来自上海、江苏、安徽、山东以及贵州的共计 340 份健康猪病料中检测到 PBoV,其阳性率为 45%~75%。表明贵州省存在猪博卡病毒的流行。2010 年 Cheng 等^[8]共检测了 397 份临床病料,检出 PBoV 的阳性率为 12.59%。这些研究表明目前我国猪博卡病毒的检出率非常高,且大部分阳性猪为健康猪,猪博卡病毒在中国的分布见图 3。



图 2 猪博卡病毒在全球的分布

Fig. 2 Global distribution of PBoV

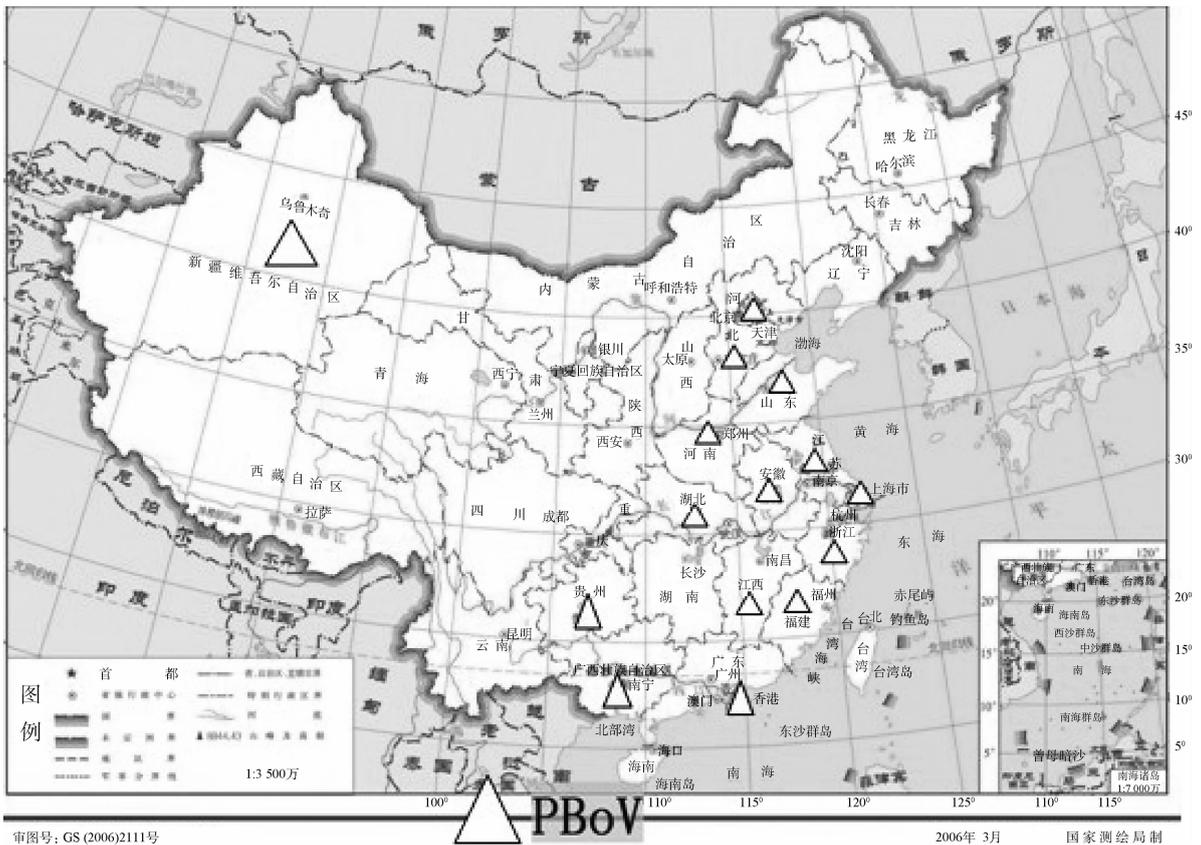


图3 猪博卡病毒在中国的分布

Fig. 3 Distribution of PBoV in China

3.2 猪博卡病毒的流行感染特点

国内学者在对 PBoV 的流行进行统计时发现: PBoV 主要在断奶仔猪中流行^[14], 在断奶前和死产的仔猪以及成年的种公猪、母猪中流行率较低。在春季感染率最高, 而在其它季节感染率相对较低。PBoV 在患繁殖障碍的母猪中流行率较低, 而在断奶仔猪中流行率较高, 这表明 PBoV 主要引起断奶仔猪呼吸道疾病, 而不是繁殖系统疾病。PPV4 的攻毒试验发现, 病毒在猪体内存在明显的消长曲线, 猪体内的病毒含量在接毒后第 8 天达到最高峰, 随后开始缓慢下降; 病毒可在 8 d 内由一只猪传染给另一只猪, PPV4 可感染猪几乎所有的器官, 但在肠道和泌尿道的含量要明显高于其他器官^[15]。此外, 大部分 PBoV 感染猪都患有 PMWS, 且 PRRSV 和 CSFV 的检出率均很高^[16], PBoV 与 PRRSV 和 CSFV 的混合感染机制还有待于进一步研究。但 PBoV 在健康猪检出阳性率高达 60% 以上, 并且存在多重感染。而 PBoV 的致病性如何还有待进一步研究。

3.3 猪博卡病毒的分子流行病学研究方法

3.3.1 PCR 技术及测序分析 PCR 技术因其较好的敏感性、特异性和重复性, 常被用于诊断病毒的 DNA。博卡病毒的型内基因组序列相对保守, 非常便于 PCR 引物设计(表 2), PBoV 目前主要采用 NP、VP1 片段设计引物进行 PCR 检测。翟少伦等^[17]首次建立了 PBoV 的 PCR 诊断方法, 该法特异性强, 敏感度高且重复性好。在对 191 份临床样品检测时, 阳性率达 39.3% (75/191), 敏感性达 32.2 ng · μL⁻¹。该 PCR 方法的建立为猪博卡病毒分子流行病学的研究提供了快捷有效的检测方法。

3.3.2 实时聚合酶链式反应(Real-time PCR)

RT-PCR 省去了普通 PCR 的凝胶成像步骤, 大大缩短了病毒的检测时间。Li 等^[18]建立了 PBoV1 的 RT-PCR 诊断方法, 在对 258 份临床样品进行检测时, 阳性率达 44.2% (114/258), 敏感性达 20 个质粒拷贝, 特异性与重复性均较好。黄律等^[19]建立了 PPV4 的 Taq Man 荧光定量 PCR 诊断方法, 该法快速敏感且特异性高, 在 $6.73 \times 10^1 \sim 6.73 \times 10^9$ cop-

ies · μL^{-1} 范围内线性关系良好,相关系数为 0.998;对 PPV4 的最低检测限为 $6.73 \times 10^1 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。该方法的建立不仅可用于临床病料的检测,还为 PBoV 的体外敏感细胞的筛选以及病毒器官嗜性的

研究提供了快捷敏感的分子检测技术,大大促进了 PBoV 分子流行病学的发展,为今后 PBoV 的深入研究奠定了技术基础。

表 2 猪博卡病毒不同基因的普通 PCR 引物

Table 2 Primers for differential genes of PBoV

扩增基因 Gene	上游引物(5'→3') Upstream primer	下游引物(5'→3') Downstream primer	目的片段/bp Fragment	来源 Origin
VP1/VP2	CGGGATCCGGGCGAGAACATTG AAGAG	CGGAATTCTTGTGAGTATGGGTA TTGGTGTG	512	本实验室
NP1	CCCAAGCTTATGAGTCAGAGATT CTCCGAT	CGGAATTCTTAAGACTCATTTCATT GATTCAAC	698	本实验室
NS1	CGGGATCCATGGCTCTACTTCAC TTCAAGAATG	CGGAATTCTTACTTACGTCC GTCGTCC	1 927	本实验室
VP1/VP2	GGGCGAGAACATTG AAGAGGT	TTGTGAGTATGGGTA TTGTGT	496	翟少伦
NP1	TTTGATCCATGAGTGGGCATCA CAGCCAC	GGGAAGCTTTTTTCCAGCTTCAGC TTCTTGC	675	李彬
PPV4 全基因	TGGCCCGGTCATCGCTACACAGGT	TCCCGTCCC GCAAAGCTCAAATC	543	黄律

3.3.3 环介导等温核酸扩增技术(LAMP) 环介导等温核酸扩增技术(LAMP)是一种新型的核酸扩增技术,依赖 4 条特异设计的引物和一条具有链置换特性的 DNA 聚合酶,在等温条件下可高效、高特异性地扩增靶序列。近年来该法一被广泛应用于病原体的检测。江苏省农业科学院的李彬等发明了猪博卡病毒的 LAMP 检测试剂盒及其检测方法,最低可检测到 10 个拷贝(未发表资料)。其 LAMP 检测试剂盒不需要先进的仪器,避免了现有猪博卡病毒检测手段存在的问题,并且具有特异性强、敏感度高、检测周期短、操作简便以及易于推广等优点。该方法的有效建立,丰富了猪博卡病毒的分子流行病学研究的方法,且大大缩短了猪博卡病毒的检测时间,进一步减少了试验过程中的污染机会(只需一步即可完成试验),为大规模的猪博卡病毒检测调查提供了有效的方法。

3.4 猪博卡病毒的遗传进化树分析

基于病毒的核酸或蛋白质序列或结构构建的系统进化树,可在同一病毒种属内进行种系分析,还可研究一定时期内病毒的变异和流行状况,综合研究病毒的分子流行病学,从而为寻找病毒的传播途径

以及防治疾病提供指导。本研究根据 GenBank 收录的 25 条猪博卡病毒的部分基因和全基因序列(2012 年 3 月以前),利用 DNASTar 分析软件,通过 Jotun-Hein 算法,对从 GenBank 上获得的多株 PBoV 的不同基因序列进行同源性临近排组分析,并建立了 PBoV 系统发育树。

3.4.1 PBoV NS 基因的核苷酸序列相似性分析

将表 3 中的含有 PBoV NS 基因的 22 条基因序列进行 NS 核苷酸序列相似性排组比较及遗传进化树分析,可得出以下结论:由图 4 可得 PBoV NS 序列分为 2 个细支,其后有分为多个小支。上支代表毒株有 HEN0922-5400、JS09410-5400、JS0918a 等,其相似性为 99.1%~100%;下支代表毒株有 SH17N-2、64-1、SH20F、JS677 等,其相似性为 80.6%~97%;它们之间的相似性均小于 30%。其中的 H18、SX 与其他毒株的相似性为 24.2%~31.7%。

3.4.2 PBoV NP 基因的核苷酸序列相似性分析

将表 3 中的含有 PBoV NP 基因的 25 条基因序列进行 NP 核苷酸序列相似性排组比较及遗传进化树分析,可得出以下结论:由图 5 可知,PBoV NP 序列有 2 个大支,分别为以 HEN0922-5645、

JS0918a、JS0910-5400 为代表的 1 支,相似性为 99.2%~100%;以 SH17N-1、SH20F、6V 及 JS677 为代表的 2 支,相似性为 79.5%~100%;其中的

H18、SX 及 Swbo-1 相似性为 99.2%~100%;A6、ZJD 相似性为 91.7%~94.4%。2 大支之间差异较大,其相似性为 33.6%~57.2%。

表 3 本研究引用的猪博卡病毒分离株信息一览表

Table 3 Details of PBoV strains used for analysis in this study

毒株名称 Strain	来源 Origin	GenBank 收录号 Accession number	年份 Year
Swebo_1	瑞典	FJ872544	2009
SX	中国湖北	HQ223038	2010
A6	中国上海	HQ291309	2011
PPV4	美国	GQ387499	2010
PPV4	美国	GQ387500	2010
HEN0922-5400	中国上海	GU978964	2010
HEN0922-5645	中国上海	GU978965	2010
JS0918-5598	中国上海	GU978966	2010
JS0910-5644	中国上海	GU978967	2010
JS0910-5400	中国上海	GU978968	2010
JS0918a	中国上海	HM031134	2010
JS0918b	中国上海	HM031135	2010
ZJD	中国北京	HM053693	2010
ZJD	中国北京	HM053694	2010
H18	中国上海	HQ291308	2011
6V	中国北京	HM053672	2010
7V	中国北京	HM053673	2010
Jan-64	北爱尔兰	JF512472	2011
F41	北爱尔兰	JF512473	2011
SH20F	中国香港	JF429834	2011
SH17N-2	中国香港	JF429836	2011
JS677	中国江苏	JN831651	2012
SH17N-1	中国香港	JF429835	2011
23	美国	JF713715	2011
22	美国	JF713714	2011
GZ-XX	中国贵州	待定	待定

3.4.3 PBoV VP 基因的核苷酸序列相似性分析

将表 3 中的含有 PBoV VP 基因的 22 条基因序列进行 VP 核苷酸序列相似性排组比较及遗传进化树分析,可得出以下结论:由图 6 可知,PBoV VP 序列可分为 2 个大支,1 支是以 HEN0922-5400、JS0910-5644、JS0918 及 SX 等为代表,其有可分为 2

个小支,其中 H18 和 SX 为一支,相似性为 99.6%,其余为另一支,相似性为 99.2%~100.0%;2 支以 JS677、SH17N、SH20F 及 ZJD 为代表,其中 ZJD 和 A6 可分一支,相似性为 93.1~96.0%,其余为另一支,相似性为 76.9%~94.2%。2 大支之间的相似性较低,仅为 32.2%~53.7%。

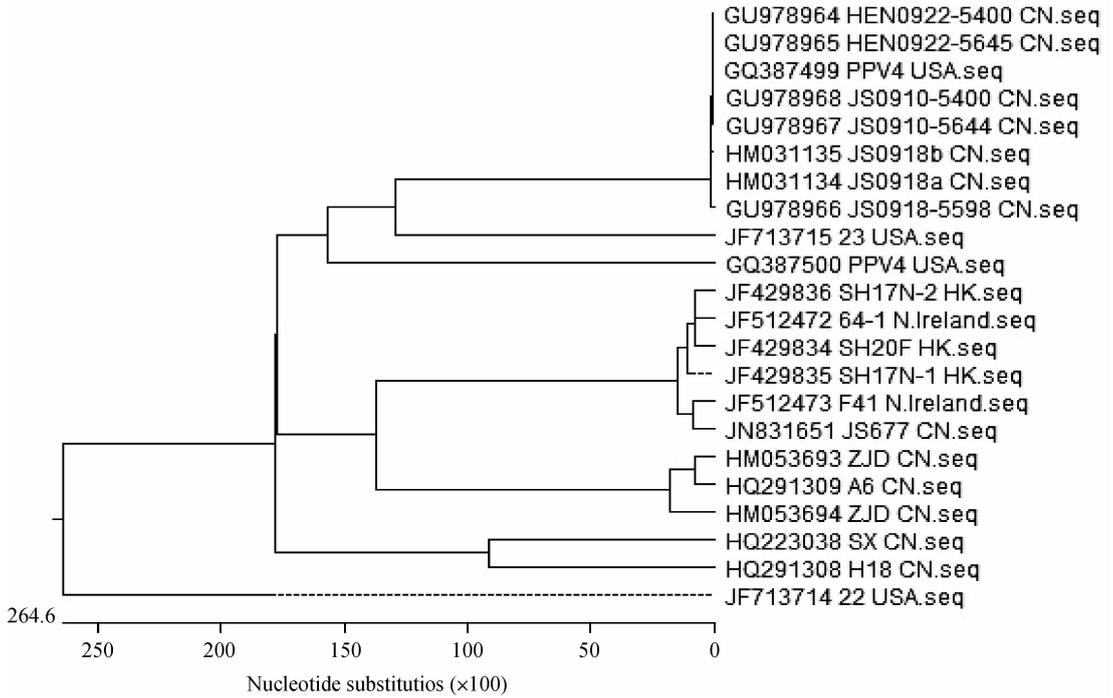


图 4 PBoV NS 核苷酸系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of NS gene nucleotide sequences of PBoV

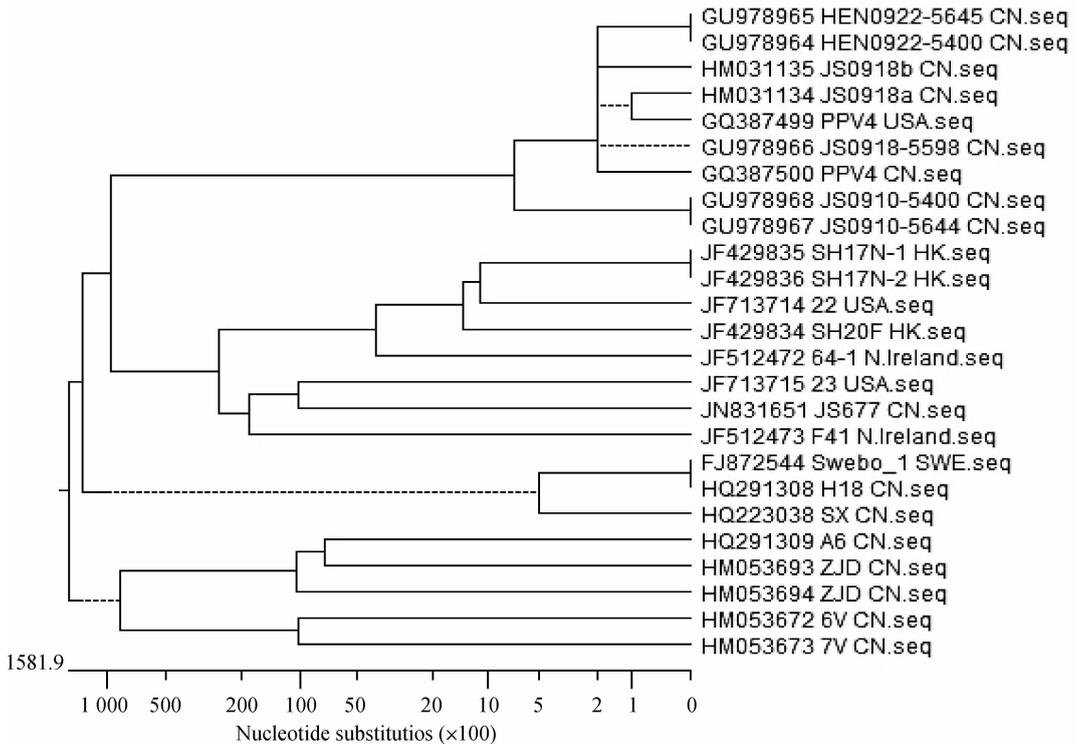


图 5 PBoV NP 核苷酸系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of NP gene nucleotide sequences of PBoV

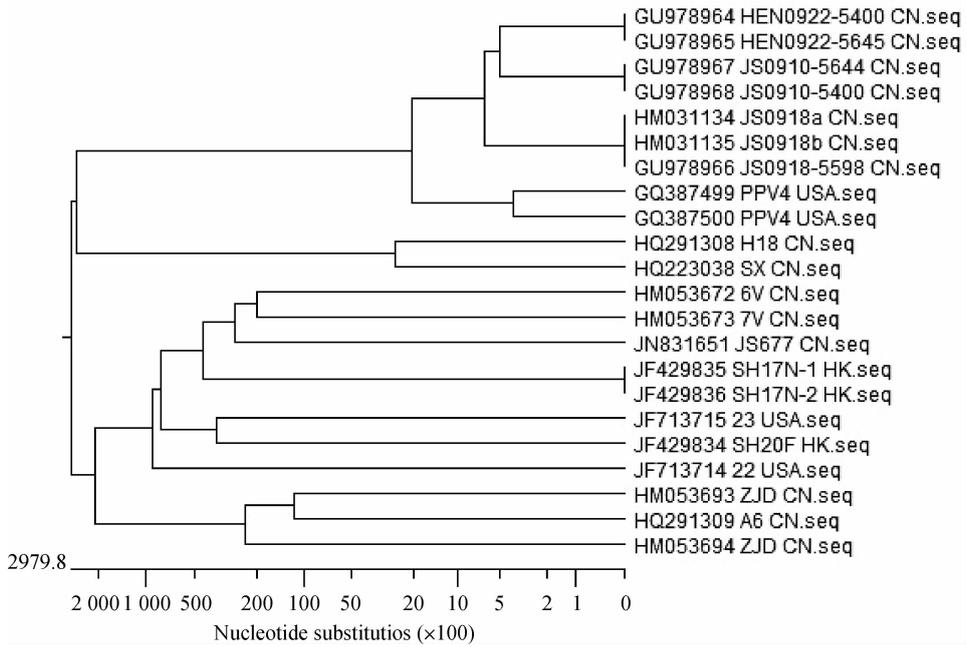


图 6 PBoV VP 核苷酸系统进化树
 Fig. 6 Phylogenetic tree of VP gene nucleotide sequences of PBoV

为了对 PBoV 有更深入的认识,为下一步更好地探讨其病毒基因组结构与功能的关系打下基础,本研究分别对表 3 中的 25 株 PBoV 分离株进行全基因组序列及 NS、NP、VP 序列进化分析比较,发现猪博卡病毒基因较为离散,其种属内的差异较大,主

要可分为 2 个大支,且 2 个大支间还可分为许多细支(图 7)。推测猪博卡病毒在分子进化过程中可能存在地域差异性。根据其核苷酸相似性比较推测猪博卡病毒在传播过程中可能发生了重组,从而产生了较大的变异。

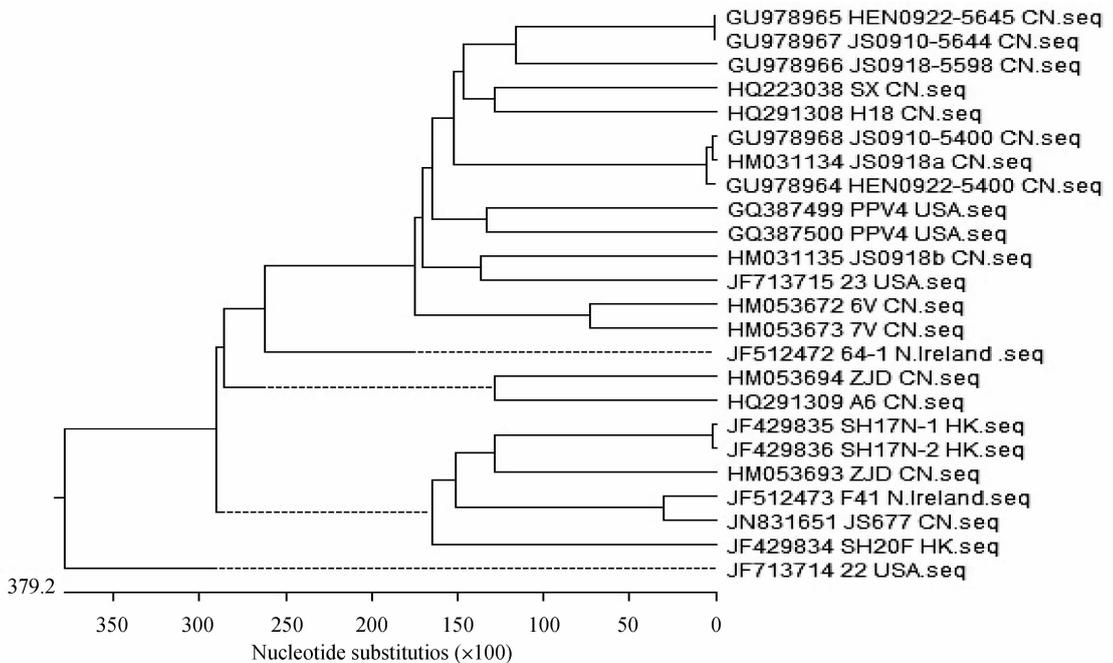


图 7 PBoV 全基因核苷酸系统进化树
 Fig. 7 Phylogenetic tree of complete gene nucleotide sequences of PBoV

PBoV 作为一种新发病毒,现在对其研究处于初级阶段。当前主要研究病毒的形态和基因组情况,并建立分子和血清学诊断方法,但对 PBoV 的体外培养、致病性及共感染、感染性克隆等方面的研究还有所欠缺。本研究根据 NCBI 公布的 PBoV 信息,收集了 2012 年 3 月以前 GenBank 全部 25 条 PBoV 部分基因和全基因组序列,根据序列分析,PBoV 大体可分为 2 个大支和若干遗传簇,但是这些不同的遗传簇所包含的毒株在核苷酸序列上存在着一定的差异;通过分别对 NS、NP 以及 VP 基因序列进行相似性比较分析时发现,不同分离株的相似性有差异,但同支序列的分离株的相似性较高,变异性较低;且猪博卡病毒基因中的 VP 蛋白编码区核苷酸序列具有高度的保守性。其中以 HEN0922、JS0910 以及 JS0918 等为代表的 PPV4 的特异性较高,与其他猪博卡病毒之间的相似性较低,表明 PPV4 的变异较快。但是由于至今尚未找到合适的体外细胞培养系和动物模型,分离猪博卡病毒几乎都是应用超速离心的方式,这大大限制了对不同 PBoV 之间抗原性差异的进一步研究。相信随着分子生物学和免疫学技术的发展,人们对猪博卡病毒的认识会越来越深刻。

参考文献:

[1] FAUQUET C M, FARGETTE D. International committee on taxonomy of viruses and the 3,142 unassigned species[J]. *Virology*, 2005, 2:64.

[2] MANTEUFEL J, TRUYEN U. Animal bocaviruses: a brief review[J]. *Intervirology*, 2008, 51:328-334.

[3] LAU S K, WOO P C, TSE H, et al. Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4 [J]. *J Gen Virol*, 2008, 89: 1840-1848.

[4] BLOMSTÖM A L, BELÁK S, FOSSUM C, et al. Detection of a novel porcine boca-like virus in background of porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome[J]. *Virus Res*, 2009, 146(1-2):125-129.

[5] ZHAI S, YUE C, WEI Z, et al. High prevalence of a novel porcine bocavirus in weanling piglets with respiratory tract symptoms in China[J]. *Arch Virol*, 2010,155(8):1313-1317.

[6] SHAN T, LAN D, LI L, et al. Genomic characterization and high prevalence of bocaviruses in swine[J/OL]. *PLoS One*, 2011,6(4):e17292.

[7] ZENG S, WANG D, FANG L, et al. Complete coding sequences and phylogenetic analysis of porcine bocavirus[J]. *J Gen Virol*, 2011, 92:784-788.

[8] CHENG W X, LI J S, HUANG C P, et al. Identification and nearly full-length genome characterization of novel porcine bocaviruses [J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13583.

[9] CHEUNG A K, WU G, WANG D, et al. Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus[J]. *Arch Virol*, 2010, 155(5):801-806.

[10] LAU S K, WOO P C, YIP C C, et al. Co-existence of multiple strains of two novel porcine bocaviruses in the same pig, a previously undescribed phenomenon in members of the family Parvoviridae, and evidence for inter-and intra-host genetic diversity and recombination[J]. *J Gen Virol*, 2011, 92(Pt9):2047-2059.

[11] MCKILLEN J, MCNEILLY F, DUFFY C, et al. Isolation in cell cultures and initial characterization of two novel bocavirus species from swine in Northern Ireland[J]. *Vet Microbiol*, 2011,152(1-2):39-45.

[12] CADAR D, CSÁGOLA A, LÖRINCZ M, et al. Genetic detection and analysis of porcine bocavirus type 1(PoBoV1) in European wild boar(*Sus scrofa*) [J]. *Virus Genes*, 2011, 43:376-379.

[13] BRINK M. Porcine viruses in Uganda-a study of TTSuV and PPV4 in wild and domestic pigs[D]. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2011.

[14] 翟少伦.猪群中三种新发小 DNA 病毒的分子流行病学研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2010.

[15] 黄 律.猪细小病毒四型的初步研究[D].上海:中国农业科学院上海兽医研究所,2011.

[16] BLOMSTÖM A L, BELÁK S, FOSSUM C, et al. Studies of porcine circovirus type 2, porcine boca-like virus and torque teno virus indicate the presence of multiple viral infections in postweaning multisystemic wasting syndrome pigs[J]. *Virus Res*, 2010, 152(1-2):59-64.

[17] 翟少伦,岳 城,韦祖樟,等.猪博卡病毒 PCR 检测方法的建立及其应用[J]. *中国动物传染病学报*, 2010, 18(2):14-17.

[18] LI B, XIAO S, MA J, et al. Development of a novel TaqMan-based real-time PCR assay for the detection of porcine boca-like virus (Pbo-likeV) [J]. *Virology*, 2011,8:357.

[19] 黄 律,龙进学,翟少伦,等.猪细小病毒 4 型 TaqMan 荧光定量 PCR 方法的建立与应用[J]. *动物医学进展*, 2011,32(1):1-9.