

张超林,刘攀,沈萌,等. 猪圆环病毒 3 型感染 BALB/c 小鼠的实验观察[J].中国实验动物学报, 2019,27(3):353 – 358.
Zhang CL,Liu P,Shen Y, et al. Porcine circovirus 3 infection in BALB/c mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(3):353 – 358.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.03.013

猪圆环病毒 3 型感染 BALB/c 小鼠的实验观察

张超林¹,刘攀³,沈萌¹,王妍³,王娟¹,颜世君¹,严权斌²,邓均华¹
孙哲¹,郭小参²,王同燕¹,李向东^{1*},田克恭^{1,3*}

(1. 国家兽用药品工程技术研究中心,河南洛阳 471003; 2. 普莱柯生物工程股份有限公司,河南洛阳 471000;
3.河南农业大学牧医工程学院,郑州 410005)

【摘要】 目的 研究猪圆环病毒 3 型(porcine circovirus 3,PCV3)对 BALB/c 小鼠的感染情况。**方法** 将雌性 BALB/c 小鼠分为两组,实验组感染 PCV3 组织毒,对照组接种同样剂量的 PBS。感染后每天观察小鼠状态,并在第 0,3,7,11 和 14 天采血进行荧光定量 PCR 检测和 ELISA 检测。实验结束后,对所有动物进行安乐死和剖检,对心脏、肝、脾、肺、肾、脑和淋巴结取样进行荧光定量 PCR 检测,并制片进行组织病理学检查。选择 PCR 检测阳性组织进行 PCV3 CAP 基因测序分析。**结果** PCV3 组织毒感染小鼠不引起明显的临床症状和病理变化。病毒可在感染早期的血清中检测到,病毒含量最高的器官是肝脏和脾脏,PCV3 感染小鼠后核酸序列未发生变化。随着感染时间的增加血清中抗体水平逐渐升高。**结论** PCV3 可以感染 BALB/c 小鼠,并在小鼠体内增殖。本研究结果为猪圆环病毒 3 型致病性的研究以及防控提供了参考。

【关键词】 猪圆环病毒 3 型;BALB/c 小鼠;感染;荧光定量 PCR;ELISA;组织病理学
【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 03-0353-06

Porcine circovirus 3 infection in BALB/c mice

ZHANG Chaolin¹, LIU Pan³, SHEN Meng¹, WANG Yan³, WANG Juan¹, YAN Shijun¹, YAN Quanbin²
DENG Junhua¹,SUN Zhe¹,GUO Xiaocan²,WANG Tongyan¹,LI Xiangdong^{1*},TIAN Kegong^{1,3*}

(1. National Research Center for Veterinary Medicine,Luoyang 471003, China.
2. Pulike Biological Engineering Inc., Luoyang 471000. 3. Henan Agricultural University, Zhengzhou 410005)
Corresponding author: LI Xiangdong. E-mail: xiaonanzhong@163.com; TIAN Kegong. E-mail: tiankg@263.net

【Abstract】 Objective To study porcine circovirus 3 (PCV3) infection in BALB/c mice. **Methods** Female BALB/c mice were divided into two groups. Mice in the experimental group were infected with PCV3 derived from infected pig tissues. The mice in the control group were injected with the same volume of PBS. The status of the mice was observed daily after infection, and blood samples were analyzed by quantitative RT-PCR and ELISA at days 0, 3, 7, 11 and 14 post infection. At the end of the experiment, all animals were euthanized, and samples of heart, liver, spleen, lung, kidney, brain and lymph nodes were taken for quantitative RT-PCR and pathological examination. The PCV3 CAP gene was sequenced in the PCR-positive tissues. **Results** Mice infected with PCV3 did not show obvious clinical symptoms or pathological changes, and the virus was detected in serum during early infection. The liver and spleen showed the highest viral copy numbers, and the nucleic acid sequence was not changed in the infected organs. Antibody titers were increased

[基金项目] 洛阳河洛英才计划。
Funded by Luoyang Heluo Talent Plan.
[作者简介] 张超林(1986—)男,硕士,研究方向:病毒分子生物学。Email:lushizel@163.com
[通信作者] 李向东(1980—)男,副研究员,博士。Email:xiaonanzhong@163.com;
田克恭(1964—)男,研究员,博士生导师。Email:tiankg@263.net
* 共同通信作者

during the infection. **Conclusions** BALB/c mice can be infected with PCV3. This study provides useful information to study the pathogenicity of PCV3 as well as prevention and control of the disease.

【Keywords】 porcine circovirus 3; BALB/c mice; infection; real-time PCR; ELISA; histopathology

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

猪圆环病毒 (porcine circovirus, PCV) 是单股闭合环状无囊膜的 DNA 病毒, 属于圆环病毒科 (Circoviridae) 圆环病毒属 (Circovirus), 病毒粒子直径平均为 17 nm, 是迄今为止发现的最小动物病毒之一^[1]。目前根据猪圆环病毒的致病性、抗原性及核苷酸序列的差异, 将其划分为猪圆环病毒 1 型 (PCV1)、猪圆环病毒 2 型 (PCV2) 和猪圆环病毒 3 型 (PCV3)^[2]。PCV1 最早在 PK-15 细胞中被发现, 该病毒在细胞上不产生病变, 也不会引起猪的发病, 通常被认为是一种无致病性的细胞污染物, 基因组全长 1759 bp; PCV2 可引起断奶仔猪多系统衰竭综合征, 同时还与母猪繁殖障碍、猪皮炎与肾病综合征、猪坏死性及增生性肺炎等疾病密切相关, 具有较强的致病性, 基因组全长 1768 bp 或 1767 bp^[1-2]; PCV3 最早于 2016 年, 由 Palinski 等^[3]在美国某商品化猪场发现并报道, PCV3 基因组全长 2000 bp, 基因结构与 PCV 相似, 同样包含 3 个主要开放阅读框。与 PCV3 相关的疾病包括猪皮炎与肾病综合征、呼吸道疾病综合征, 母猪繁殖障碍, 仔猪心脏和多系统炎症、腹泻、先天性震颤等, 而且在各个年龄阶段以及无明显临床症状的猪中均能检测到 PCV3 的存在, 这就给临床确诊提高了难度, 对疾病的预防和控制带来困难^[3-13]。

猪对 PCV2 具有较强的易感性, 该病毒可以水平传播, 也可以垂直传播, 目前世界各地规模化猪场普遍存在 PCV2 感染, 给全球养猪业造成的巨大的经济损失^[2]。自 2016 年美国报道 PCV3 以来, 随后在中国、韩国、波兰、英国、意大利、丹麦、西班牙、巴西、瑞典和泰国等地陆续都报道存在该病^[4-13]。目前对该病的研究还处于起始阶段, 针对 PCV3 的预防和控制还处于探索阶段。目前, 已有研究显示在中国的犬类中检测出 PCV3 阳性感染, 而在鸭类中未检出 PCV3^[2, 14]。对于鼠类是否感染 PCV3 尚未有报道, 为了了解 PCV3 对小鼠的感染情况, 本研究以临床检测为 PCV3 阳性的猪肺脏组织样品制备 PCV3 组织毒, 将其感染 BALB/c 小鼠, 观察其临床症状、剖检和病理变化, 并通过血清学检测、荧光定量 PCR 检测和测序分析方法分析 PCV3 感染情况, 以期对 PCV3 的预防和控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 4~6 周龄 BALB/c 雌性小鼠 10 只, 体重 18~22 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2016-0011】。饲养于普莱柯生物工程股份有限公司【SYXK(豫)2013-0003】P2 实验室+饲养间小型 SPF 实验动物设施 IVC 系统, 所有小鼠均在已消毒的动物室中隔离饲养, 采取自由饮水和采食。小鼠饲料购自北京科奥协力饲料有限公司。所有操作均符合实验动物伦理学要求【伦理审批号: AEEI-2018-031】。

1.1.2 PCV3 阳性组织

猪源 PCV3 阳性组织由国家兽用药品工程技术研究中心保存。

1.1.3 主要试剂

Viral Nucleic Acid Extraction Kit 购自中国 Geneaid 公司; 荧光定量 PCR 试剂 Probe qPCR Mix 和高保真 DNA 聚合酶 PrimeSTAR HS DNA Polymerase 均购自日本 TaKaRa 公司; DNA 凝胶回收试剂盒购自美国 Omega; 2×Taq PCR MasterMix 购自中国天根生化科技(北京)有限公司; TransScript II Reverse Transcriptase [M-MLV, RNaseH-] (High Temperature RT), Ribonuclease Inhibitor 和 pEASY-Blunt Cloning Kit 均购自中国北京全式金生物技术有限公司; 胰蛋白胨 (Tryptone) 和酵母浸出液 (Yeast Extract) 均购自英国 Oxoid 公司; HRP 标记的羊抗鼠单抗购自美国 Sigma Aldrich, PCV3 Cap 蛋白由国家兽用药品工程技术研究中心制备和纯化, 其他试剂为国产试剂。

1.1.4 主要仪器

荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司; 酶标仪购自美国 Biotek 公司; Mini 台式离心机购自德国 Eppendorf 公司; PCR 仪购自美国 ABI 公司; 紫外透射分析仪购自其林贝尔公司; 琼脂糖凝胶电泳仪购自美国 Hoefer 公司; 紫外成像仪购自美国 UVP 公司; 恒温培养箱购自德国 MMM 公司; 循环水浴锅购自英国 Prima 公司; 旋涡混合器购自美国 Scientific

Industries Inc;全封闭式组织脱水机、组织包埋机、半自动轮转切片机和摊片烤片一体机均购自美国 Leica 公司;空气浴震荡摇床购自美国 NBS 公司;恒温水浴锅购自中国上海一恒公司。

表 1 检测用引物序列

Table 1 Sequences of the primers used for detection		
引物名称 Primers	引物序列(5'-3') Sequences (5'-3')	片段大小/bp Fragment size/bp
PCV3-F	CAAGAAAGAGGGGATTACC	69
PCV3-R	GCTTGAAGATCCGATCTGG	
PCV3-P	FAM-5'-GGCGAAGATTCCTC-3'-Eclipse	645
CAPF	ATGAGACACAGAGCTATATTAGAA	
CAPR	TTAGAGAACGGACTTGTAACGAATC	

1.2 方法

1.2.1 PCV3 组织毒的制备

选择 PCV3 阳性组织样品,称重后使用研磨器进行研磨,以 1 g:10 mL 的比例加入灭菌 PBS 溶液,混匀后于-80℃冻融 3 次,经 4℃、5000 g、10 min 离心,收集上清,4℃、10 000 g、10 min 离心,收集上清经 0.22 μm 滤器过滤分装,取样用 Viral Nucleic Acid Extraction Kit 制备核酸,使用 TransScript II Reverse Transcriptase [M-MLV, RNaseH -] (High Temperature RT), Ribonuclease Inhibitor 和 2× Taq PCR MasterMix 进行外源病毒 PCR 或 RT-PCR 检测(包括猪圆环病毒 I 型、猪圆环病毒 II 型、猪伪狂犬病毒、猪繁殖与呼吸综合征病毒、猪细小病毒、猪瘟病毒、乙脑病毒等),外源病毒检测阴性的组织样品,于-80℃保存备用。

1.2.2 感染及试验设计

将 10 只 BALB/c 小鼠随机分为两组,实验组小鼠分别以 0.1 mL/只滴鼻和 0.5 mL/只腹腔注射感染 PCV3 组织毒(2.4×10⁶ 拷贝),对照组小鼠接种同样剂量的 PBS 溶液。两组小鼠分别饲养,均自由采食和饮水,感染开始前的时刻记为 0 d,分别于感染后第 0、3、7、11、14 天经尾静脉采血。于感染后 14 d 对小鼠实施安乐死,剖检并采集组织样品。若实验中小鼠死亡,则立即剖检并采集组织样品。

1.2.3 临床症状、剖检病变及病理组织学观察

感染后每天早晚各观察一次,观察小鼠的临床症状。感染 14 d 后解剖小鼠并记录各组织器官的眼观病变。取心脏、肝、脾、肺、肾、脑和淋巴结组织,4% 甲醛溶液固定,常规制备石蜡切片,HE 染色,光镜观察组织病变。

1.2.4 血清及各组织含毒量检测

小鼠血清,以 50 μL/样制备检测样品;观察组

1.1.5 引物设计

参考文献中所述^[15],合成检测 rep 基因和 CAP 基因的引物,引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成,其序列如表 1 所示。

织病变情况,选择病变交界处称取 0.2 g,放入研磨器中研磨,加入 2 mL 灭菌 PBS,按照组织毒的制备方法制备样品,按照 Viral Nucleic Acid Extraction Kit 核酸提取试剂盒的说明书提取核酸。参考文献中 PCV3 荧光定量 PCR 检测方法^[15],使用 REP 基因检测引物扩增目的基因,构建标准质粒,建立标准曲线。按照 Probe qPCR Mix 试剂和 BIO-RAD 荧光定量 PCR 仪要求进行操作,反应条件:95℃,1 min;95℃ 5 s,60℃ 35 s,40 个循环,每个样品均进行三次重复检测。

1.2.5 阳性组织样品的测序分析

根据 BALB/c 小鼠各组织样品 RT-QPCR 检测结果,选择阳性样品核酸,使用 PrimeSTAR HS DNA Polymerase、CAP 基因测序引物进行扩展,胶回收 PCR 产物,将其克隆至 pEASY-Blunt 载体,选择阳性克隆送苏州金唯智生物科技有限公司测序,使用 DNASTar 软件分析感染小鼠后病毒核酸序列是否发生变化。

1.2.6 血清抗体检测

使用 PCV3 CAP 蛋白包被 96 孔板,采用间接 ELISA 法对小鼠血清样品进行检测^[16],具体操作参考文献中所述,实验数据经 Graphpad Prism5 统计软件进行分析。

1.3 统计学分析

若数据服从正态分布,用独立样本 t 检验比较感染组与对照组间的差异,若数据不服从正态分布,则用非参数检验。统计软件采用 SPSS 16.0,数据以均数±标准差(mean±SD)表示。

2 结果

2.1 临床症状及剖检病变

实验过程中对照组未观察到任何临床变化,被毛

光泽,反应灵敏,饮食、饮水和活动均正常。感染组在感染后第 3 天有轻微精神沉郁,个别小鼠表现为不愿走动,其他未见有明显症状。剖检观察对照组和实验组小鼠组织器官基本正常,未看到明显变化。

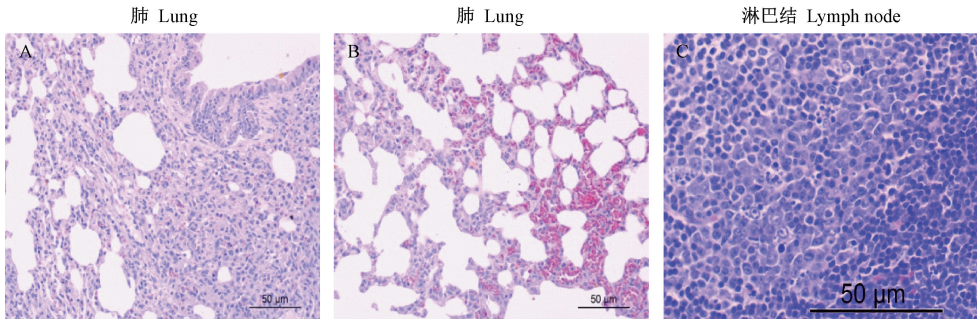
2.2 病理组织学变化

组织病理检测结果显示对照组 5 只小鼠各组织器官未见明显病变。个别感染组小鼠在肺脏局部看见肺泡隔轻微增厚,肺泡上皮细胞增生(见图 1A);局部肺小叶边缘肺泡壁血管扩张淤血(见图 1B);淋巴结巨噬细胞内可见吞噬有少量崩解坏死

的淋巴细胞碎片(见图 1C),其他组织无明显变化。

2.3 血清和各组织病毒含量检测结果

根据检测方法判断标准,以 Ct 值>36 判为阴性,血清样品检测结果说明,PCV3 感染小鼠 3 d 血清样品检测为阳性,1 只小鼠 7 d 血清样品检测为阴性,11、14 d 样品检测为阴性(表 2)。各组织中病毒含量检测结果如表 3 所示,感染后 14 d 小鼠的心脏、肝、脾、肺、肾、脑和淋巴结组织均能检测到病毒,其中以肝的病毒含量最高,其次为脾,其他组织中病毒含量较低。



注:A, 肺泡上皮细胞增生;B,肺泡壁血管扩张淤血;C,巨噬细胞内有少量崩解坏死的淋巴细胞碎片。

图 1 感染小鼠的组织病理变化

Note. A. Alveolar epithelial cell hyperplasia. B. Vasodilation and congestion in alveolar wall. C. A small amount of disintegrating and necrotizing lymphocyte fragments were present in macrophages.

Figure 1 Histopathological changes in the lung tissues of infected mice

表 2 BALB/c 小鼠感染 PCV3 后血清样品荧光定量 PCR 检测结果(̄x±s)

Table 2 Quantitative fluorescence RT-PCR assay of serum samples of the BALB/c mice after PCV3 infection(̄x±s)						
分组 Groups	编号 Numbers	0 d	3 d	7 d	11 d	14 d
病毒感染组 Infected group	1#	—	33.77 ± 0.21	35.58 ± 0.31	38.22 ± 0.26	38.22 ± 0.26
	2#	—	34.49 ± 0.25	35.67 ± 0.31	38.02 ± 0.30	38.02 ± 0.30
	3#	—	34.59 ± 0.25	36.71 ± 0.25	38.99 ± 0.25	38.99 ± 0.15
	4#	—	33.94 ± 0.20	33.67 ± 0.36	36.17 ± 0.36	36.47 ± 0.32
	5#	—	33.57 ± 0.20	34.70 ± 0.31	35.94 ± 0.31	37.07 ± 0.15
空白对照组 Control group	6#	—	—	—	—	—
	7#	—	—	—	—	—
	8#	—	—	—	—	—
	9#	—	—	—	—	—
	10#	—	—	—	—	—

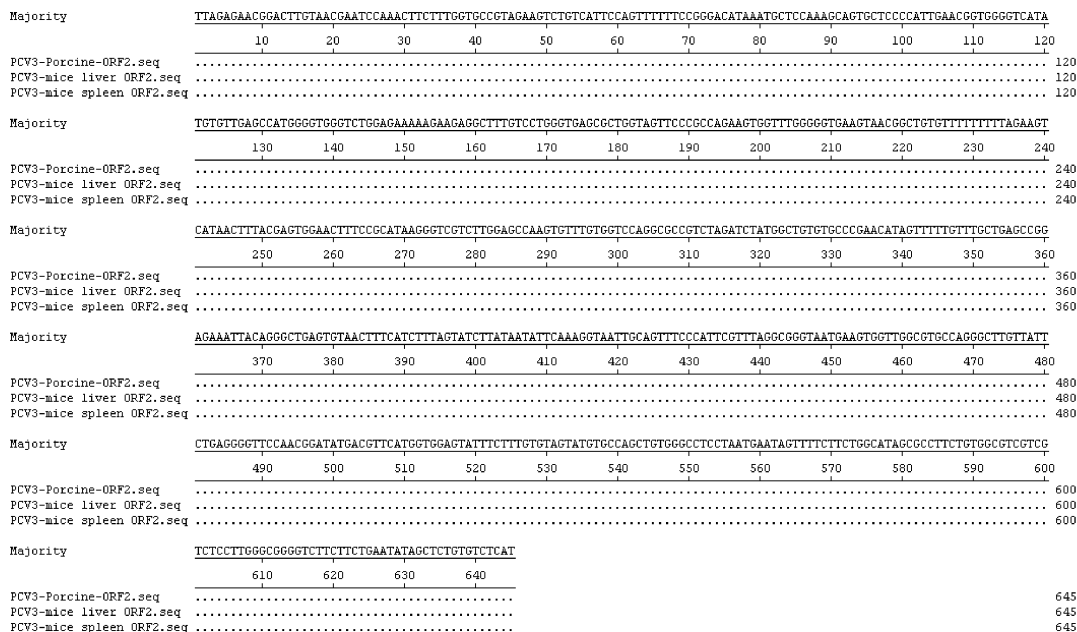
表 3 BALB/c 小鼠感染 PCV3 后各脏器荧光定量 PCR 检测结果(̄x±s)

Table 3 Results of quantitative fluorescence RT-PCR detection of PCV3 in different organs of BALB/c mice after PCV3 infection(̄x±s)								
分组 Groups	编号 Numbers	心脏 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肺 Lungs	肾 Kidneys	脑 Brain	淋巴结 Lymph Nodes
病毒 感染组 Infected group	1#	35.90 ± 0.25	29.76 ± 0.31	30.58 ± 0.21	35.73 ± 0.25	34.15 ± 0.25	38.63 ± 0.18	33.97 ± 0.20
	2#	35.78 ± 0.30	28.13 ± 0.25	23.80 ± 0.18	30.38 ± 0.28	32.30 ± 0.31	34.80 ± 0.21	33.57 ± 0.15
	3#	36.10 ± 0.28	29.34 ± 0.21	28.59 ± 0.25	33.85 ± 0.31	36.89 ± 0.20	36.86 ± 0.19	34.36 ± 0.17
	4#	35.83 ± 0.35	29.09 ± 0.29	30.15 ± 0.21	32.82 ± 0.12	31.72 ± 0.15	35.83 ± 0.31	33.97 ± 0.31
	5#	35.90 ± 0.29	30.76 ± 0.30	30.58 ± 0.17	35.73 ± 0.15	34.15 ± 0.19	38.63 ± 0.22	33.57 ± 0.20
空白 对照组 Control group	6#	—	—	—	—	—	—	—
	7#	—	—	—	—	—	—	—
	8#	—	—	—	—	—	—	—
	9#	—	—	—	—	—	—	—
	10#	—	—	—	—	—	—	—

2.4 BALB/c 小鼠 PCV3 阳性组织样品克隆测序

选择肝和脾核酸样品,分别扩增 PCV3 CAP 基因,对其进行测序分析,结果图 2 所示,在小鼠肝和

脾中的 PCV3 序列与猪组织中 PCV3 序列相同,未发生变化。



注:PCV3-Porcine-ORF2,猪组织样品中 PCV3 CAP 序列;PCV3-Mice Liver ORF2,感染小鼠肝中 PCV3 CAP 序列;
PCV3-mice spleen ORF2,感染小鼠脾中 PCV3 CAP 序列。

图2 PCV3 CAP 基因序列分析

Note. PCV3-Porcine-ORF2; The sequence of PCV3 CAP in pig tissue sample. PCV3-Mice Liver ORF2; The sequence of PCV3 CAP in the liver tissue of infected mice. PCV3-mice spleen ORF2; The sequence of PCV3 CAP in the spleen tissue of infected mice.

2.5 血清抗体检测结果

如图 3 所示,经 ELISA 检测小鼠血清抗体,对照组小鼠在整个试验过程中,血清抗体均保持阴性。PCV3 感染组小鼠在感染后第 3 天血清中开始出现抗体阳性,但此时抗体水平较低,在感染后第 7 天抗体阳性率显著升高,随后血清抗体水平逐渐升高。

3 讨论

自 2016 年美国首次发现并报道 PCV3 以来,在世界各地多个国家的猪群中陆续报道了 PCV3 的存在,而且与猪皮炎与肾病综合征、呼吸道疾病综合征、母猪繁殖障碍、仔猪心脏和多系统炎症、腹泻、先天性震颤等疾病的发生可能相关^[3-13],对养猪业的发展造成了巨大的经济损失。近期有学者报道在中国犬类中检测到感染 PCV3 的研究,针对 PCV3 防控受到越来越多的关注。目前,市场上还未有针对 PCV3 的疫苗,也未发现合适的药物用于预防和

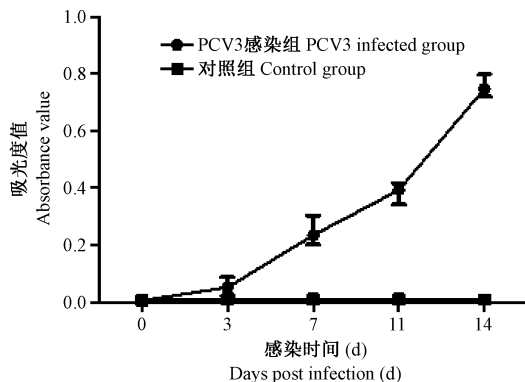


图 3 间接 ELISA 检测小鼠血清抗体

Figure 3 Detection of PCV3 antibodies in the serum of mice by indirect ELISA

治疗该病。为了有效地控制该病,预防和控制传播源,切断传播途径是根本,提高猪场生物安全防护,加强猪群免疫水平有利于对疾病的防控。此外,简便、快速有效的检测技术是防控疾病的保障。

本研究中显示 PCV3 组织毒感染小鼠不引起明

显的临床症状和病理变化,但可以在小鼠血清和多个组织中检测到病原存在,说明 PCV3 可以感染小鼠。在本次研究中,PCV3 感染小鼠并不引起明显临床症状,可能跟病毒剂量较低和毒力较弱相关。组织病理观察结果显示在个别小鼠局部肺小叶边缘有肺泡壁血管扩张淤血,可能是发病所致,但也不排除实验过程中操作原因造成的局部淤血。荧光定量 PCR 检测结果显示,在感染早期可以在血清中检测到 PCV3,随后血清中病毒含量有下降的趋势;在小鼠肝和脾中病毒含量较高,其他组织中相对较少,因此针对该病的检测,应在感染早期取样,优选小鼠肝和脾样品进行检测。

本研究结果显示 PCV3 组织毒可以感染 BALB/c 小鼠,虽然不表现明显症状,但小鼠可以携带病毒,因此灭鼠是预防 PCV3 流行的一个重要影响因素。

参 考 文 献(References)

- [1] Fenaux M, Opriessnig T, Halbur PG, et al. Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV2) and nonpathogenic PCV1 in weanling pigs [J]. J Virol, 2003, 77(20): 11232-11243.
- [2] 刘玉伟,辛长勋,王硕,等. 山东省鸭类感染猪圆环病毒 3 型的初步调查 [J]. 山东农业科学, 2018, 50(5):126-128.
Liu YW, Xin CX, Wang S, et al. Preliminary investigation on porcine circovirus 3 infection in ducks in Shandong Province [J]. Shandong Agr Sci, 2018, 50(5):126-128.
- [3] Palinski R, Pineyro P, Shang P, et al. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure [J]. J Virol, 2016, 91(1): e01879-16.
- [4] Shen H, Liu X, Zhang P, et al. Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China [J]. Transbound Emerg Dis, 2018, 65(1): 264-266.
- [5] Zhai S L, Zhou X, Zhang H, et al. Comparative epidemiology of porcine circovirus type 3 in pigs with different clinical presentations [J]. Virol J, 2017, 14(1): 222.
- [6] Kwon T, Yoo SJ, Park CK, et al. Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations [J]. Vet Microbiol, 2017, 207: 178-180.
- [7] Kim HR, Park YR, Lim DR, et al. Multiplex real-time polymerase chain reaction for the differential detection of porcine circovirus 2 and 3 [J]. J Virol Methods, 2017, 250: 11-16.
- [8] Stadejek T, Wozniak A, Milek D, et al. First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland [J]. Transbound Emerg Dis, 2017, 64(5): 1350-1353.
- [9] Collins PJ, Mckillen J, Allan G. Porcine circovirus type 3 in the UK [J]. Vet Rec, 2017, 181(22): 599.
- [10] Franzo G, Legnardi M, Hjulsager C K, et al. Full-genome sequencing of porcine circovirus 3 field strains from Denmark, Italy and Spain demonstrates a high within-Europe genetic heterogeneity [J]. Transbound Emerg Dis, 2018, 65(3): 602-606.
- [11] Tochetto C, Lima DA, Varela APM, et al. Full-genome sequence of porcine circovirus type 3 recovered from serum of sows with stillbirths in Brazil [J]. Transbound Emerg Dis, 2018, 65(1): 5-9.
- [12] Ye X, Berg M, Fossum C, et al. Detection and genetic characterisation of porcine circovirus 3 from pigs in Sweden [J]. Virus Genes, 2018, 54(3): 466-469.
- [13] Kedkovid R, Woonwong Y, Arunorat J, et al. Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC) [J]. Vet Microbiol, 2018, 215: 71-76.
- [14] Zhang JX, Liu ZG, Zou YW, et al. First molecular detection of porcine circovirus type 3 in dogs in China [J]. Virus Genes, 2018, 54(1): 140-144.
- [15] Li X, Qiao M, Sun M, et al. A duplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of porcine circovirus 2 and circovirus 3 [J]. Virol Sin, 2018, 33(2):181-186
- [16] Deng J, Li X, Zheng D, et al. Establishment and application of an indirect ELISA for porcine circovirus 3 [J]. Arch Virol, 2018, 163(2): 479-482.

[收稿日期] 2018-11-24