

王小敏, 何孔旺, 王东田, 等. PCV2、P1 和 TTV 混合感染的流行病学调查 [J]. 福建农业学报, 2013, 28 (9): 864-868.

WANG X-M, HE K-W, WANG D-T, et al. Investigation on Epidemiology of Co-infection of PCV2, P1 and TTV [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 28 (9): 864-868.

PCV2、P1 和 TTV 混合感染的流行病学调查

王小敏¹, 何孔旺¹, 王东田², 周忠涛^{1,3}, 茅爱华¹, 俞正玉¹, 汪 伟¹, 倪艳秀¹, 温立斌¹

(1. 江苏省农业科学院兽医研究所/农业部兽用生物制品工程技术重点实验室/国家兽用生物制品工程技术研究中心, 江苏 南京 210014; 2. 山东省蓬莱市村里集镇畜牧兽医工作站, 山东 蓬莱 265604; 3. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘 要: 【目的】研究 2012 年我国部分地区猪圆环病毒 2 型 (PCV2)、类猪圆环病毒 P1 和猪输血传播病毒 (TTV) 混合感染的情况。【方法】采用 PCR 方法对采集自我国江苏、安徽和浙江 3 省的 108 份组织和血清样品进行 PCV2、P1 和 TTV 检测。【结果】PCV2 感染率为 64.81%, P1 感染率为 12.96%, TTV1 感染率为 33.33%, TTV2 感染率为 51.85%, 其中 8 份样品表现为 PCV2 和 P1 的混合感染, 42 份样品表现为 PCV2 和 TTV 的混合感染, 4 份样品表现为 PCV2、P1 和 TTV 的混合感染, 分别占样品总数的 7.41%、38.89% 和 3.7%。【结论】猪群中 PCV2 和 TTV 的感染比较普遍, P1 的感染率较低, PCV2 和 TTV 的混合感染率较高, 混合感染种类复杂, 加重了疫病防控的难度。

关键词: 猪圆环病毒 2 型; 类猪圆环病毒因子 P1; 猪输血传播病毒

中图分类号: S 852.65

文献标识码: A

Investigation on Epidemiology of Co-infection of PCV2, P1 and TTV

WANG Xiao-min¹, HE Kong-wang¹, WANG Dong-tian³, ZHOU Zhong-tao^{1,2}, MAO Ai-hua¹,
YU Zheng-yu¹, WANG Wei¹, NI Yan-xiu¹, WEN Li-bin¹

(1. Institute of Veterinary Medicine, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Veterinary Biological Engineering and Technology/Ministry of Agriculture National Center for Engineering Research of Veterinary Bio-Products, Nanjing, Jiangsu 210014, China; 2. The college of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural university, Nanjing, Jiangsu 210095, China; 3. Workstation of Animal husbandry and Veterinary Medicine of Cunliji Town, Penglai, Shandong 265604, China)

Abstract: To study the epidemiology of co-infection of porcine circovirus type 2 (PCV2), porcine circovirus-like agent P1 (P1) and Torque Teno virus (TTV) in China, 2012, 108 tissue and serum samples of diseased pigs obtained from Jiangsu, Anhui and Zhejiang provinces of China were detected for PCV2, P1 and TTV by PCR. The results showed that the positive rate of PCV2, P1 and TTV were 12.96%, 33.33% and 51.85% respectively. 8 samples were positive for both PCV2 and P1, 42 samples were positive for PCV2 and TTV as well, 4 samples were positive for all of the three, and the corresponding co-infection rate were 7.41%, 38.89% and 3.7% respectively. These results indicated that the PCV2 and TTV infection were widespread, while the prevalence of P1 infection was lower. The co-infection of different viruses was complicated and the PCV2-TTV co-infection rate was the highest, which increased the difficulty of prevention and controlling diseases of swine.

Key words: porcine circovirus type 2 (PCV2); porcine circovirus-like agent P1; torque teno virus (TTV);

猪圆环病毒 2 型 (Porcine circovirus type 2, PCV2) 是单股环状无囊膜的负链 DNA 病毒, 属于圆环病毒科 (Circoviridae), 圆环病毒属。

PCV2 感染可严重导致猪群产生免疫抑制, 从而容易继发和并发其他传染病, 对养猪业的危害日益加剧^[1]。研究结果表明^[2-3], PCV2 可引起猪断奶后

收稿日期: 2013-06-10 初稿; 2013-07-05 修改稿

作者简介: 王小敏 (1983-), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事动物病毒学研究 (E-mail: JAAS.WXM@Gmail.com)

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31272574); 江苏省自主创新专项 [CX (11) 2060]

多系统衰竭综合征 (Post-weaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)、猪呼吸道综合征、猪皮炎与肾病综合征、先天性震颤等多种疾病,临床上以 PMWS 最为常见,被认为是 PMWS 的原发性病原。PMWS 的主要临床症状表现为消瘦、生长迟缓或停滞,有时也表现为腹泻、黏膜苍白、黄疸和呼吸困难等。目前,该病已成为危害世界养猪业的重要免疫抑制性疾病之一。试验表明,单一的 PCV2 感染主要引起猪的隐性感染,很难复制出与临床 PMWS 相似的典型症状^[4],而当 PCV2 与其他病原协同感染时,可引起猪圆环病毒相关疾病的全面爆发。

P1 (Porcine circovirus-like agent P1) 是近年从患 PMWS 的猪血清中分离的类 PCV2 因子,又称类猪圆环病毒因子 P1,是无囊膜的单股环状 DNA 病毒,全长基因组长度为 648 bp,部分基因组与 PCV2 高度同源,是目前为止发现的最小的动物病毒。试验表明 P1 具有致病性,感染猪出现类似 PMWS 的症状,可能与 PCV2 一样将给养猪业带来巨大经济损失^[5-6]。

TTV (Torque Teno virus) 又名输血传播病毒,属指环病毒科 Anelloviridae,壬型细环病毒属 *Iotatorquevirus*,是一种无囊膜的单股环状负链 DNA 病毒。TTV 在猪群中感染很普遍,可以分为 TTV1 和 TTV2 两个基因型^[7]。目前,很多国家都有关于 TTV 感染的报道,各国猪群感染率不一,从 33%~100%。Segales J 等^[8]对 1985~2005 年间的 162 份的母猪和肉猪的血清样品进行 TTV 检测,结果在所有年份中均检测出猪 TTV,母猪和肉猪的 TTV1 的阳性率分别为 34.2% 和 30.9%,TTV2 的阳性率分别为 46.6% 和 62.8%,TTV1 和 TTV2 共感染率分别为 19.8% 和 24.5%。王礞礞等^[9]对国内来自广东、福建和江西等 7 个省份的 258 份猪血液样品和组织样品进行了检测,结果表明猪群中 TTV1 和 TTV2 感染阳性率分别为 37.6% 和 82.6%,TTV2 阳性率明显高于 TTV1,二者的混合感染率为 38.4%,证实我国猪群中存在 TTV 感染,并且以 TTV2 较为流行。猪 TTV 的致病性至今没有确切的定论,但 Kekarainen^[10]发现 TTV 在 PMWS 表现猪中的检出率高达 97%,而在非 PMWS 猪中只有 78%。可见,TTV 在 PMWS 的发生中可能具有一定的作用,具有潜在的致病性。

因此,为更好地了解猪群中 PCV2 与 P1 和 TTV 的混合感染情况和规律,本研究对 2012 年送

检的病料进行 PCV2、P1 和 TTV 的检测,为 PCV2 及其混合感染防治措施的制定和 PMWS 的防控工作提供理论依据和指导。

1 材料和方法

1.1 病料采集和处理

2012 年 1~12 月采集自我国江苏、安徽和浙江的疑似 PMWS 发病猪群的血液、脾脏、淋巴结等病料共 108 份。组织病料经剪碎、研磨,制成匀浆后反复冻融 3 次,4℃ 8 000 r·min⁻¹ 离心 8 min,取上清置于 -70℃ 保存备用。血液样品经 4 000r·min⁻¹ 离心 8 min 后吸取血清,于 -70℃ 保存备用。

1.2 阳性对照

PCV2 阳性毒株为本实验室分离鉴定并保存;P1 阳性病料和 TTV 阳性病料为本实验室临床检测鉴定并保存。

1.3 主要试剂

病毒基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技有限公司,Agarose Gel DNA Purification Kit 购自 Axygen 公司,dNTP、ExTaq DNA 聚合酶、DNA Marker DL 2000 等均购自 TaKaRa 公司。

1.4 引物设计与合成

根据 GenBank 中收录的 PCV2 Haian 株和 HBxz-PCV2a 株的基因序列 (GenBank accession number: FJ712216 和 FJ870968),P1 的基因序列 (GenBank accession number: EU708726),利用 Oligo6.0 软件分别设计可以扩增 PCV2、P1 和 TTV 的特异性引物^[5,11],引物序列见表 1。由上海英骏技术有限公司合成,纯度级别为 PAGE。

表 1 扩增 PCV2、P1 和 TTV 基因的引物序列
Table 1 Primers for amplifying genomics of PCV2, P1 and TTV

引物名称	引物序列 (5'-3')	扩增长度 /bp
SFPCV2	CGGTACCAGCTATGACGTATCCAAG	745
SRPCV2	GCCAAGCTTTCACTTCGTAATGG	
SFP1	TGAGGATCCACTAGTAACGGCCGC	
SRP1	AGTGGATCCTCATTTAGGGTTTAAGTG	660
SFTTV1	CGGGTTCAGGAGGCTCAAT	
SRTTV1	GCCATTCGGAAGTCACTTACT	
SFTTV2	TCATGACAGGGTTCACCGGAA	252
SRTTV2	CGTCTGCGCACTTACTTATATACTCTA	

注:F 代表 PCR 正向引物;R 代表 PCR 反向引物。

1.5 PCR 检测

1.5.1 病毒总 DNA 的提取 按照 TIANamp

Genomic DNA Kit 的说明书提取血清和病料中的病毒 DNA, -20°C 保存备用。

1.5.2 PCV2 的 PCR 扩增 取 DNA 模板 $3\ \mu\text{L}$, $10\times$ Buffer 和 MgCl_2 各 $5\ \mu\text{L}$, $2.5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP $4\ \mu\text{L}$, ExTaq DNA 聚合酶 $0.5\ \mu\text{L}$, 上下游引物 ($20\ \text{pmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 各 $1\ \mu\text{L}$, 加 ddH_2O 至终体系 $50\ \mu\text{L}$ 。反应参数: 95°C 预变性 $5\ \text{min}$; 94°C 变性 $30\ \text{s}$, 56°C 退火 $30\ \text{s}$, 72°C 延伸 $50\ \text{s}$, 共 40 个循环; 最后 72°C 延伸 $10\ \text{min}$ 。反应结束后, 1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察。

1.5.3 P1 的 PCR 扩增 取 DNA 模板 $3\ \mu\text{L}$, $10\times$ Buffer 和 MgCl_2 各 $5\ \mu\text{L}$, $2.5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP $4\ \mu\text{L}$, ExTaq DNA 聚合酶 $0.5\ \mu\text{L}$, 上下游引物 ($20\ \text{pmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 各 $1\ \mu\text{L}$, 加 ddH_2O 至终体系 $50\ \mu\text{L}$ 。反应参数: 95°C 预变性 $5\ \text{min}$; 94°C 变性 $30\ \text{s}$, 58°C 退火 $30\ \text{s}$, 72°C 延伸 $40\ \text{s}$, 共 40 个循环; 最后 72°C 延伸 $10\ \text{min}$ 。反应结束后, 1.2% 琼脂糖凝胶电泳观察。

1.5.4 TTV 的 PCR 扩增 取 DNA 模板 $3\ \mu\text{L}$, $10\times$ Buffer 和 MgCl_2 各 $5\ \mu\text{L}$, $2.5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP $4\ \mu\text{L}$, ExTaq DNA 聚合酶 $0.5\ \mu\text{L}$, 上下游引物 ($20\ \text{pmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 各 $1\ \mu\text{L}$, 加 ddH_2O 至终体系 $50\ \mu\text{L}$ 。反应参数: 95°C 预变性 $5\ \text{min}$; 94°C 变性 $30\ \text{s}$, 54°C (TTV2 为 56°C) 退火 $30\ \text{s}$, 72°C 延伸 $30\ \text{s}$, 共 40 个循环; 最后 72°C 延伸 $10\ \text{min}$ 。反应结束后, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳观察。

2 结果与分析

2.1 PCV2 检测结果

对送检的 108 份疑似 PMWS 的病料应用 PCR 进行 PCV2 目的基因扩增, PCR 产物电泳结果显示 (图 1), 检测样品和阳性对照 (PCV2 阳性毒株) 均扩增出与预期大小一致的 $745\ \text{bp}$ 的片段, 阴性对照未扩增出任何片段。所检测的 108 份猪病料中, 检出 PCV2 阳性 70 份, 阳性率为 64.81% 。

2.2 P1 检测结果

对 108 份病料进行类猪圆环病毒因子 P1 的检测, PCR 产物电泳结果显示 (图 2), 检测样品中有 14 份可以扩增出预期的目的基因条带, 且与阳性对照 (P1 阳性病料) 所扩增出的片段符合, 约为 $660\ \text{bp}$, 阴性对照未扩增出任何片段, 阳性率为 12.96% 。

2.3 TTV 检测结果

对 108 份病料分别进行 TTV1 和 TTV2 的检测, PCR 产物电泳结果显示 (图 2), 检测样品和

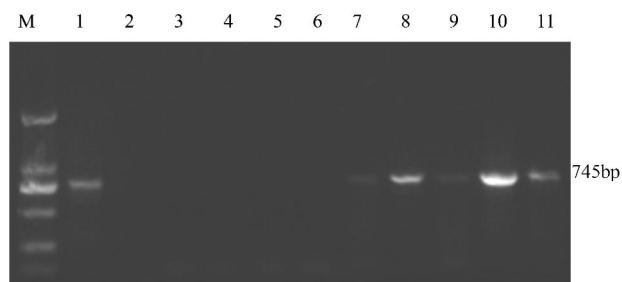


图 1 PCV2 PCR 检测电泳结果

Fig. 1 Electrophoretogram of the PCR products of detection PCV2

注: M 为 DNA Marker DL 2000; 1 为阳性对照, 2 为阴性对照, 3~11 为阴性对照。

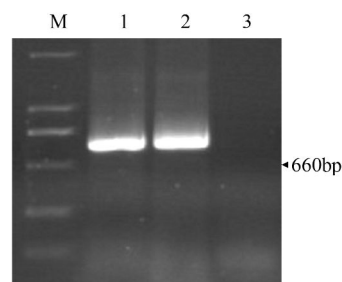


图 2 P1 PCR 检测电泳结果

Fig. 2 Electrophoretogram of the PCR products of detection P1

注: M 为 DNA Marker DL 2000; 泳道 1 为检测样品, 泳道 2 为阳性对照, 泳道 3 为阴性对照。

阳性对照 (TTV1 和 TTV2 阳性病料) 扩增出的特异性条带与预期大小一致, 分别为 $314\ \text{bp}$ 和 $252\ \text{bp}$, 阴性对照未扩增出任何片段。108 份检测的猪病料中 36 份为 TTV1 阳性, 56 份为 TTV2 阳性, 阳性率分别为 33.33% 和 51.85% , 两者的共感染率为 24.07% , 总阳性率为 61.11% 。

2.4 PCV2、P1 和 TTV 混合感染统计结果

PCV2、P1 和 TTV 单独感染的阳性率分别为 64.81% 、 12.96% 和 61.11% 。PCV2 与 P1 或 TTV 的混合感染占 PCV2 感染的 71.43% ($50/70$), 其中, PCV2 与 P1 混合感染和 PCV2 与 TTV 混合感染分别占 PCV2 感染的 11.43% ($8/70$) 和 60.0% ($42/70$)。PCV2、P1 和 TTV 三者的混合感染率为 3.7% 。在 PCV2 与 TTV 不同亚型的混合感染中, PCV2 与 TTV2 的混合感染率 (51.85%) 高于 PCV2 与 TTV1 的混合感染率 (33.33%)。

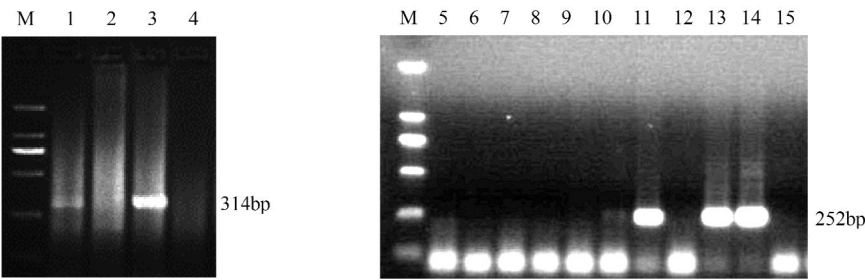


图 3 TTV PCR 检测电泳结果

Fig. 3 Electrophoretogram of the PCR products of detection TTV

注：M 为 DNA Marker DL 2000；泳道 1~2、5~13 为检测样品，泳道 3、14 为阳性对照，泳道 4、15 为阴性对照。

表 2 PRRSV、P1 和 TTV 单一感染统计
Table 2 Prevalence of PCV2, P1 and TTV infection

病原	感染份数/份	感染率/%
PCV2	70	64.81
P1	14	12.96
TTV1	36	33.33
TTV2	56	51.85
TTV	66	61.11

表 3 PRRSV、P1 和 TTV 混合感染统计
Table 3 Prevalence of PCV2, P1 and TTV co-infection

混合感染情况	混合感染类型	混合感染份数/份	混合感染率/%
二重感染	PCV2/P1	8	7.41
	PCV2/TTV1	20	18.52
	PCV2/TTV2	32	29.63
	PCV2/TTV	42	38.89
	PCV2/P1/TTV	4	3.7

3 讨论与结论

猪断奶后多系统衰竭综合征（PMWS）、猪呼吸道综合征（PRDC）、猪皮炎与肾病综合征（PNDS）等猪圆环病毒相关疾病（PCVAD）已在世界范围内流行，给各国养猪业造成了巨大的经济损失。PCV2 是这些疾病的主要病原，但并不是唯一的病原。PCV2 感染猪体后能够引起淋巴细胞凋亡，降低细胞增殖活性，减弱抗原递呈细胞递呈抗原能力，同时降低 B 细胞、参与细胞毒性免疫应答的 CD8+T 淋巴细胞和具有记忆和免疫效应的 CD4+/CD8+双阳性细胞（DP）数量，从而影响机体正常的免疫应答，导致猪体免疫抑制，使机体抵抗力和对疫苗的反应性下降^[12-14]，易引起其他病毒和细菌的继发感染，大大提高死亡率，加重了疾病的危害性，给养猪业造成了巨大的经济损失。本研究对 2012 年采集自江苏、安徽和浙江三省的

108 份 PMWS 疑似病料进行了 PCV2、P1 和 TTV 混合感染的流行病学调查，结果表明，采集的样品 PCV2 阳性率为 64.81%，其中 PCV2 与 P1 或 TTV 的混合感染占 PCV2 感染的 71.43%（50/70），其中，PCV2 与 P1 混合感染和 PCV2 与 TTV 混合感染分别占 PCV2 感染的 11.43%（8/70）和 60.00%（42/70），表明 PCV2 感染率高，混合感染率也较高，混合感染种类复杂。TTV 在由猪圆环病毒 2 型引起的 PMWS 中的检测率较 P1 高，这也表明 TTV 可能在 PCV2 引起的 PMWS 中具有一定的协同作用。

猪 TTV 在猪群中广泛传播，其 2 种基因型 TTV1 和 TTV2 已在猪血清、血浆、精液、粪便和鼻腔拭子中被检测到，且感染率较高。Kekarainen 等^[10]发现 TTV 在 PMWS 感染猪中的检出率高达 97%，而在未感染猪中只有 78%，且 TTV2 在感染猪和非感染猪中阳性率分别为 97%和 72%，而 TTV1 的感染率则明显低于 TTV2。我国王礞礞等^[15]研究表明，PCV2 与 TTV 存在混合感染，且 PCV2 与 TTV2 的混合感染率（74.8%）高于 PCV2 与 TTV1 的混合感染（36.4%）。刘捷等^[16]研究结果表明，TTV2 与 PCV2 混合感染占 PCV2 感染数的 73.5%。本研究中，TTV 的阳性率为 61.11%，TTV1 和 TTV2 阳性率分别为 33.33%和 51.85%，可见 TTV2 感染率明显高于 TTV1。PCV2 与 TTV 混合感染现象也很普遍，108 份病料中 42 份表现为 PCV2 和 TTV 的混合感染，阳性率为 38.89%，占 PCV2 总阳性数的 60.00%，这与刘捷等的报道一致。在 PCV2 与 TTV 不同亚型的混合感染中，PCV2 与 TTV2 的混合感染率（29.63%）高于 PCV2 与 TTV1 的混合感染率（18.52%），这也与我国王礞礞等报道一致。

P1 是温立彬等^[17]在诊断 PCV2 过程中得到的

一类 PCV2 因子, 与 PCV2 相似, 且高度同源, 是目前已知的拥有较小基因组的 DNA 因子。体外试验证实 P1 具有感染性, 且感染猪会出现类似 PMWS 的症状, 可能与 PCV2 一样将会给养猪业带来巨大经济损失^[5-6]。本研究结果表明, 江苏、安徽、浙江三省送检的 108 份病料中, P1 阳性率为 12.96% (14/108), PCV2 与 P1 的混合感染率为 7.41%, 这也表明我国猪群中存在该病毒, 但其致病性还有待进一步研究。

另外还有一些样品表现为 PCV2、P1 和 TTV 三重感染, 出现 PCV2+P1+TTV 三重感染的共 4 份, 占样品总数的 3.7%, 这也进一步导致 PMWS 难以防控。

综上所述, 本研究对 PMWS 相关病原 PCV2、TTV 和 P1 的混合感染情况进行了检测和研究, 结果表明, 我国江苏、安徽和浙江地区 PMWS 发病猪群中普遍存在 PCV2 和 TTV 的感染, 感染率较高, P1 的感染率略低, 且 P1 和 TTV 的感染主要以和 PCV2 混合感染的形式存在。PMWS 发病猪群多表现为 2 种甚至 3 种病原的混合感染, 且 PCV2 与 TTV2 的混合感染率要明显高于 PCV2 与 TTV1 和 PCV2 与 P1 的混合感染率, 这也暗示 3 种病毒之间可能存在一定的协同作用, 但其协同致病的程度不一, TTV2 和 PCV2 的混合感染可能在 PMWS 的发生中起主要作用。

近年来, 多病原混合感染已使养猪业遭受重大损失, 关于混合感染的报道也逐渐增多。本研究反映了江苏、安徽和浙江地区 PCV2、P1 和 TTV 单独感染和混合感染情况, 为 PCV2 的防控和 PCVAD 的诊疗提供了理论依据。但对于这 3 种病原在 PCV2 相关疾病发生中相互影响、相互协作的关系如何, 还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] GILLESPIE J, OPRIESSNIG T, MENG X J, et al. Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease [J]. *Am J Vet Intern Med*, 2009, 23: 1151-1163.
- [2] HASSLUNG F, WALLGREN P, LADEKJAER-HANSEN AS, et al. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in Sweden and denmark with a Swedish isolate of porcine circovirus type2 [J]. *Vet Microbiol*, 2005, 106: 49-60.
- [3] FIRTH C, CHARLESTON MA, DUFFY S, et al. Insight into the evolutionary history of an emerging livestock pathogen: porcine circovirus 2 [J]. *J Virol*, 2009, 83 (24): 12813-21.
- [4] MUHLING J, RAYE W S, BUDDLE J R, et al. Genetic characterization of Australian strains of porcine circovirus type 1 and 2 [J]. *Aust Vet J*, 2006, 84 (12): 421-425.
- [5] LIBIN WEN, KONGWANG HE, QI XIAO, et al. A novel porcine circovirus-like agent Plis associated with wasting syndromes in pigs [J]. *Plos one*, 2012, 7 (8): e41565.
- [6] LIBIN WEN, KONGWANG HE, ZHENGYU YU, et al. Complete genome sequence of a novel porcine circovirus-like agent [J]. *J Virol*, 2012, 86: 1639.
- [7] NIEL C, DINIZ-MENDES L, DEVALLE S. Rolling-circle amplification of Torque teno virus (TTV) complete genomes from human and swine sera and identification of a novel swine TTV genogroup [J]. *J Gen Virol*, 2005, 86 (5): 1343-1347.
- [8] SEGALES J, MARTINEZ-GUINO L, CORTEY M, et al. Retrospective study on swine Torque teno virus genogroups 1 and 2 infection from 1985 to 2005 in Spain [J]. *Vet Microbiol*, 2009, 134: 199-207.
- [9] 王礞礞, 周艳君, 陈宗艳, 等. 我国猪群中 TTV 的鉴定及其分子流行病学分析 [J]. *中国预防兽医学报*, 2009, 31(10): 751-755.
- [10] KEKARAINEN T, SIBILA M, SEGALES J. Prevalence of swine Torque teno virus in post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs in Spain [J]. *J Gen Virol*, 2006, 87 (4): 833-837.
- [11] KEKARAINEN T, MARTINEZ-GUINO L, SEGALES J. Swine torque teno virus detection in pig commercial vaccines, enzymes for laboratory use and human drugs containing components of porcine origin [J]. *J Gen Virol*, 2009, 90 (3): 648-653.
- [12] SHIBAHARA T, SATO K, ISHIKAWA Y, et al. Porcine circovirus induces B lymphocyte depletion in pigs with wasting disease syndrome [J]. *J Vet Med Sci*, 2000, 62 (11): 1125-1131.
- [13] DARWICH L, SEGALES J, DOMINGO M, et al. Changes in CD4+, CD8+, CD4+ CD8+, and Immunoglobulin M-Positive Peripheral Blood Mononuclear Cells of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome-Affected Pigs and Age-Matched Uninfected Wasted and Healthy Pigs Correlate with Lesions and Porcine Circovirus Type 2 Load in Lymphoid Tissues [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, (3): 236-242.
- [14] ZUCKERMANN F A, HUSMANN R J. Functional and phenotypic analysis of porcine peripheral blood CD4/CD8 double-positive T cells [J]. *Immunology*, 1996, 87: 500-512.
- [15] 王礞礞, 周艳君, 侯军委, 等. 猪圆环病毒 2 型与猪 TTV 混合感染的流行病学调查 [J]. *中国动物传染病学报*, 2010, 18 (1): 75-78.
- [16] 刘捷, 陆琪, 王先炜, 等. 猪圆环病毒 2 型、猪巨细胞病毒和 TTV-2 混合感染的流行病学调查 [J]. *中国兽医学报*, 2011, 31 (8): 1095-1098.
- [17] 温立彬, 何孔旺, 杨汉春. P1 因子分子克隆的体外感染性分析 [J]. *畜牧兽医学报*, 2008, 39 (7): 941-944.

(责任编辑: 柯文辉)