

傅秋玲,傅光华,陈翠腾,等.半番鸭源鸭1型甲肝病毒亚型的分离鉴定及其VP1基因分析[J].福建农业学报,2017,32(8):813~817.

FU Q-L, FU G-H, CHEN C-T, et al. Identification and Sequencing of Duck Hepatitis A Virus 1 Subtype a Isolated from Mule Ducklings [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 32 (8): 813~817.

半番鸭源鸭1型甲肝病毒亚型的分离鉴定及其VP1基因分析

傅秋玲,傅光华,陈翠腾,程龙飞,万春和,施少华,陈红梅,陈珍,朱春华,黄瑜*

(福建省农业科学院畜牧兽医研究所/福建省畜禽疫病防治工程技术研究中心/
福建省禽病防治重点实验室,福建 福州 350013)

摘要:自胰腺泛黄的雏半番鸭中分离获得1株病毒(命名为FJ1605株),经RT-PCR检测为鸭1型甲肝病毒,通过鸭胚中和试验发现该株病毒可被鸭1型甲肝病毒亚型(DHAV-1a)高免血清特异性中和,确定该株病毒为鸭1型甲肝病毒亚型。对该株病毒VP1基因进行分子特征分析,发现其核苷酸大小为714 bp,与GenBank登录的DAHV-1a同源性为98.1%~99.7%,与DAHV-1 FJ1220毒株同源性最高达99.7%;而与鸭2型甲肝病毒(DHAV-2)、鸭3型甲肝病毒(DHAV-3)VP1基因的核苷酸同源性仅分别为65.7%和68.3%左右。基于VP1基因的遗传进化分析表明,FJ1605分离株属鸭1型甲肝病毒亚型谱系。以该株病毒对7日龄雏半番鸭进行人工感染试验,可完全复制出同于临床病例的病变。以上结果显示,雏半番鸭也可感染DAHV-1a,且表现为胰腺泛黄。

关键词:鸭1型甲肝病毒亚型;半番鸭源;VP1基因

中图分类号:S 852.65

文献标识码:A

文章编号:1008-0384(2017)08-813-05

Identification and Sequencing of Duck Hepatitis A Virus 1 Subtype a Isolated from Mule Ducklings

FU Qiu-ling, FU Guang-hua, CHEN Cui-teng, CHENG Long-fei, WAN Chun-he, SHI Shao-hua,
CHEN Hong-mei, CHEN Zhen, ZHU Chun-hua, HUANG Yu*

(Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Fujian Academy of Agricultural Sciences/
Fujian Animal Diseases Control Technology Development Center/Fujian Provincial Key Laboratory
for Avian Diseases Control and Prevention, Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: A strain of duck hepatitis A virus 1 subtype a (DAHV-1a), coded as FJ1605, was isolated from the mule ducklings with pancreatitis. It was identified by RT-PCR analysis and a neutralization test in duck embryos that showed the strain specifically being neutralized by the anti-DAHV-1a hyperimmune serum. Molecular characteristics of VP1 gene of the virus was analyzed to indicate the nucleotide to be 714 bp in length with a homology with those of other DAHV-1a isolates ranging from 98.1% to 99.7% and sharing the greatest similarity to strain FJ1220. On the other hand, the homology between FJ1605 and DAHV-2 was merely 65.7%; and, that between FJ1605 and DAHV-3, approximately 68.3%. Phylogenetic analysis on the VP1 gene also showed FJ1605 to be in the viral lineage of DAHV-1a. Furthermore, an animal infection test clearly displayed the same clinical symptoms as those shown in clinical cases. Thus, it was concluded that the pancreatitis in the mule ducklings was caused by DAHV-1a.

Key words: DAHV-1a; mule duckling; VP1 gene

收稿日期:2017-06-12 初稿; 2017-07-10 修改稿

作者简介:傅秋玲(1985—),女,硕士,助理研究员,主要从事水禽疫病研究(E-mail: qiuilingfu0822@163.com)

* 通讯作者:黄瑜(1965—),男,博士,研究员,主要从事动物传染病研究(E-mail: huangyu_815@163.com)

基金项目:现代农业产业体系建设专项(CARS-43);国家自然科学基金项目(3147222);福建省畜禽疫病防控技术重大研发平台(2014N2003);福建省科技计划项目——省属公益类科研院所基本科研专项(2015R1023-3、2016R1102);福建省自然科学基金项目(2017J01058);福建省农业科学院畜牧兽医研究所基金(MYQJ2015-6)

鸭 1 型甲肝病毒病是由鸭 1 型甲肝病毒 (duck hepatitis A virus 1, DHAV-1) 引起的一种主要侵害 6 周龄内雏鸭的急性高度致死性疾病。该病的临床特征为角弓反张和肝脏肿大出血, 其发病率达 100%, 死亡率因感染鸭日龄的不同而有所不同^[1-2]。近年来, 随着该病毒的不断进化突变, 该病的致病特点发生了改变, 呈现新的致病特征。2011 年, 本研究室从以胰腺发黄或出血为特征的雏番鸭中分离到 1 株病毒, 经病原分离纯化鉴定、病毒全基因组序列测定与分析、致病性试验和血清交叉中和试验等一系列研究, 确定其病原为鸭 1 型甲肝病毒的亚型 (DHAV-1a)^[3-6]。

随着近年来对该病的监测, 2016 年 5 月, 在福建某半番鸭饲养场的雏半番鸭 (10 日龄) 发生以胰腺发黄或出血为典型特征的疫病, 该病的发病率及病死率分别为 15% 和 25% 左右。其特征性病理变化与傅光华等^[3]报道的雏番鸭感染胰腺型鸭 1 型甲肝病毒的特征相似, 因此初步推断其病原为胰腺型鸭 1 型甲肝病毒, 而后利用 RT-PCR 等分子学方法对该病原进行确诊, 且对其 VP1 基因遗传关系进行报道。

1 材料与方法

1.1 试验材料

10 日龄番鸭胚和 7 日龄雏半番鸭均来自漳州龙海非免疫种鸭场; DHAV-1a 阳性血清由福建省农业科学院畜牧兽医研究所禽病室研制并保存; 组织总 RNA 抽提试剂盒、DNA 琼脂胶回收试剂盒购自 QIAGEN 科技有限公司; 反转录试剂盒 (Reverse transcription kit) 和 DNA Maker 均购自 Thermo 生物科技有限公司; 高保真 DNA 聚合酶 (FastPfu DNA Polymerase)、dNTPs (2.5 mmol·L⁻¹) 和 pMD18-T 载体购自大连宝生物技术有限公司。

1.2 病料处理及核酸提取

采集胰腺发黄或出血的病死雏半番鸭胰腺, 按样品: PBS=1:3 的比例, 加入灭菌 PBS 缓冲液 (pH 7.2) 进行匀浆, 样品冻融 3 次后, 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清分成 2 份, 用组织总 RNA 抽提试剂盒对其中 1 份提取病料总 RNA, 具体步骤参照试剂盒操作说明书进行。将提取的 RNA 样品按反转录试剂盒操作说明书反转录为 cDNA, 且以此 cDNA 作为后续试验的模板。

1.3 RT-PCR 检测

参照傅光华等^[3] 报道的一对扩增 DHAV-1

VP1 基因特异引物 (上游引物为 5'-GGTGATTCCAACCAGTTAGGGAT-3' 和下游引物为 5'-TTCAATTCCAGGTTGAGTTCA-3') 对病毒 cDNA 进行 PCR 扩增, 扩增目的片段大小为 714 bp, 由上海博尚生物技术有限公司合成。以上述制备的模板进行 PCR 扩增, 50 μL PCR 反应体系为: 10 × Buffer 5 μL, dNTP (2.5 mmol·L⁻¹) 4 μL, Fast Pfu DNA polymerase 1 μL (2.5 U·μL⁻¹), 引物各 1 μL, 模板 3 μL, 用 ddH₂O 补充体积为 50 μL, 分别参照文献 [3] 的 PCR 反应条件进行目的产物的扩增。扩增产物胶纯化后直接送上海博尚生物技术有限公司进行测序。

1.4 病毒的分离

取上述处理的病料上清 1 份经滤器 (直径为 0.22 μm) 抽滤后按每枚 0.2 mL 的剂量经尿囊腔接种 5 枚无母源抗体的 10 日龄番鸭胚, 37℃ 孵育, 每日观察 2 次, 弃去于 24 h 内死亡的胚, 5 d 后将接种鸭胚放入 4℃, 过夜无菌收取尿囊液。经无菌检验后, 以 10 日龄鸭胚连续传 3 代, 无菌条件收集含毒胚液, 同时对其进行 DHAV-1 的鉴定, -80℃ 保存。

1.5 鸭胚中和试验

按照文献 [7] 采用固定血清稀释病毒法进行鸭胚中和试验。将上述分离的病毒液按 10 倍梯度稀释, 取 10²~10⁶ 的 5 个稀释度病毒液等量分成 2 份, 其中 1 份与抗 DHAV-1a 阳性血清等量混合, 另 1 份与正常鸭阴性血清等量混匀, 每个稀释度的混合液于 37℃ 反应 1 h 后, 分别接种 5 枚 10 日龄番鸭胚, 每枚 0.2 mL, 同时分别设病毒和血清对照组, 置 37℃ CO₂ 培养箱培养 7 d, 每天观察且记录鸭胚死亡情况, 并按 Reed-Muench 法计算病毒中和组与病毒对照组的 ELD₅₀ 及其中和指数。

1.6 结构蛋白 VP1 基因的克隆与序列分析

将扩增产物经琼脂凝胶纯化回收后, 将目的片段克隆至克隆载体 pMD18-T 上, 而后筛选 5 个阳性克隆送生工生物上海工程有限公司进行测序。利用 Lasergene V 7.1 DNASTar 软件对测序结果进行编辑整理后, 用 MEG align 软件比较其结构蛋白 VP1 基因核苷酸序列与其他 19 株鸭肝炎病毒 (表 1) 的同源性, 并分析 VP1 基因核苷酸序列的遗传进化关系。同时使用 Lasergene V 7.1 DNASTar 中的 Protean 软件对 VP1 结构蛋白的亲水性、抗原性和表面展示进行分析。

表1 参考毒株相关信息

Table 1 Information on reference viruses

登录号	名称	基因型	分离地	分离时间
KF924552	MPZJ1206	DHAV-1a	中国	2012
KC904272	FJ1220	DHAV-1a	中国	2012
KX507161	JX1405	DHAV-1a	中国	2014
KX507163	FJ1513	DHAV-1a	中国	2015
JQ804521	Du/CH/LGD/111238	DHAV-1a	中国	2011
DQ249299	03D	DHAV-1	中国	2005*
JX390984	FZ99	DHAV-1	中国	1999
GU9446771	MY	DHAV-1	中国	2006
JQ316452	X	DHAV-1	中国	2011*
DQ864514	C80	DHAV-1	中国	2006*
JX390983	FZ05	DHAV-1	中国	2005
DQ226541	R85952	DHAV-1	美国	2005*
DQ219396	DRL62	DHAV-1	韩国	2005*
JX390982	FZ86	DHAV-1	中国	1986
EF427899	CL	DHAV-1	中国	2007*
EF067924	90D	DHAV-2	中国	2007*
JF828996	Du/CH/LJS/090905	DHAV-3	中国	2009
EU755009	G	DHAV-3	中国	1999
DQ812093	AP-04114	DHAV-3	韩国	2003

注: * 表示基因序列提交时间。

1.7 动物回归试验

将30羽7日龄雏半番鸭随机分成2组(攻毒组和对照组),于相同条件下隔离饲养。对攻毒组以 $10^{5.5}$ ELD₅₀的病毒量肌肉注射接种病毒,接种剂量为0.5 mL·羽⁻¹;对照组以同样方式接种同等剂量的高压灭菌PBS(pH7.2)缓冲液。接种后连续观察2周,每天观察试验鸭的临床症状及死亡情况,对死亡鸭进行剖解观察病理变化,同时采集胰腺、肝脏和脾脏进行病原鉴定。

2 结果与分析

2.1 病毒RT-PCR鉴定

针对DHAV-1 VP1基因的特异性引物进行RT-PCR扩增,结果显示扩增的目的片段大小约714 bp(图1)。

2.2 病毒分离

将病料接种10日龄番鸭胚48~84 h后,番鸭胚全部死亡。收集的尿囊液盲传2代,第3代对5枚番鸭胚的致死率均为100%。死亡胚体的病变为

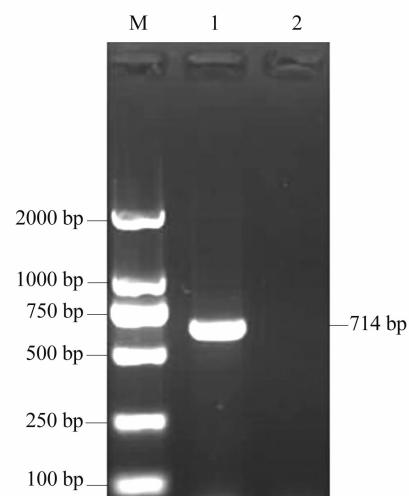


图1 RT-PCR检测结果

Fig. 1 Result of RT-PCR analysis

注: M为DNA分子量标准;1为分离株的扩增片段;2为阴性对照。

体表出血与水肿。三代收集的尿囊液菌检均呈阴性。收集的含毒尿囊液经DHAV-1鉴定呈阳性,毒株命名为FJ1605。

2.3 鸭胚中和试验

运用Reed-Muench法计算病毒中和组及病毒对照组的ELD₅₀分别为 $10^{-2.69}$ /0.1 mL和 $10^{-5.58}$ /0.1 mL,计算该血清中和指数为 $10^{2.89}$ ($10^{2.89} = 776.2$),表明FJ1605株病毒能被DHAV-1a高免血清中和。

2.4 VP1基因的分子特征

以DHAV-1a的VP1基因特异性引物从分离株(FJ1605)基因组中扩增出714 bp的条带,其大小与预期扩增产物大小一致。测序结果表明,所扩增的基因片段大小均为714 bp,编码238个氨基酸。FJ1605株与GenBank中登录的DHAV-1的VP1基因核苷酸同源性为94.1%~99.7%,其中与DHAV-1a同源性介于98.1%~99.7%,且与福建分离株的DHAV-1毒株(FJ1220)同源性最高(99.7%);而与DHAV-2毒株VP1基因的核苷酸同源性仅为65.7%,与DHAV-3毒株的同源性仅为67.2%~68.3%(图2)。

VP1结构蛋白氨基酸序列的分析结果表明,FJ1605株与其他DHAV-1毒株的VP1结构蛋白氨基酸残基的同源性为95.5%~99.6%,其中与DHAV-1a同源性为97.1%~99.6%,亦与福建分离株(FJ1220)同源性最高,而与DHAV-2和DHAV-3毒株的VP1结构蛋白氨基酸序列同源性仅分别为69.8%和75.2%左右。

Divergence	Percent Identity																				FJ1605
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	99.7	99.3	98.1	95.9	95.7	95.9	94.1	95.2	95.7	99.6	98.8	94.1	94.2	94.2	92.6	68.3	67.9	67.2	65.7	1	
2	0.3	99.6	98.3	96.1	96.0	96.1	94.4	95.5	96.0	99.9	99.0	94.4	94.5	94.5	92.8	68.6	68.2	67.5	66.0	2	
3	0.7	0.4	97.9	95.7	95.6	95.7	93.9	95.0	95.6	99.4	98.6	93.9	94.1	94.1	92.4	68.6	68.2	67.5	65.8	3	
4	2.0	1.7	2.1	97.9	94.8	94.6	94.8	93.0	94.4	94.6	98.2	97.9	93.5	93.7	93.7	92.3	68.9	68.5	67.6	66.3	4
5	4.4	4.1	4.5	5.6	5.6	99.9	100.0	94.9	94.9	95.5	96.0	95.2	94.9	95.0	95.0	93.4	68.0	67.6	66.8	66.0	5
6	4.5	4.2	4.7	5.8	0.1	99.9	94.8	94.8	95.3	95.9	95.0	94.8	94.9	94.9	93.3	68.2	67.8	66.8	66.1	6	
7	4.4	4.1	4.5	5.6	0.0	0.1	94.9	94.9	95.5	96.0	95.2	94.9	95.0	95.0	93.4	68.0	67.6	66.8	66.0	7	
8	6.4	6.1	6.6	7.7	5.4	5.6	5.4	94.5	94.5	94.2	93.7	96.4	96.6	96.6	94.1	68.3	67.9	67.2	65.0	8	
9	5.1	4.8	5.3	6.1	5.4	5.6	5.4	5.9	96.7	95.3	94.5	94.4	94.5	94.5	93.4	68.2	67.8	66.7	65.4	9	
10	4.5	4.2	4.7	5.8	4.8	5.0	4.8	5.9	3.5	95.9	95.6	95.0	95.2	94.9	93.5	67.4	67.2	66.1	64.9	10	
11	0.4	0.1	0.6	1.9	4.2	4.4	4.2	6.2	5.0	4.4	98.9	94.2	94.4	94.4	92.7	68.5	68.0	67.4	65.8	11	
12	1.3	1.0	1.4	2.1	5.1	5.3	5.1	6.9	5.9	4.7	1.1	94.8	94.6	94.4	92.7	68.3	67.9	67.1	65.7	12	
13	6.4	6.1	6.5	7.0	5.4	5.6	5.4	3.8	6.1	5.3	6.2	5.6	5.6	99.0	96.6	93.8	67.6	67.2	66.1	65.2	13
14	6.2	5.9	6.4	6.9	5.3	5.4	5.3	3.6	5.9	5.1	6.1	5.8	1.0	96.7	93.9	67.9	67.4	66.3	65.6	14	
15	6.2	5.9	6.4	6.9	5.3	5.4	5.3	3.6	5.9	5.5	6.1	6.1	3.6	3.5	95.6	67.9	67.8	67.2	65.8	15	
16	8.1	7.8	8.3	8.5	7.2	7.3	7.2	6.4	7.2	7.0	8.0	8.0	6.7	6.5	4.7	68.0	67.6	66.7	66.4	16	
17	39.9	39.4	39.4	38.9	40.3	40.1	40.3	39.9	40.1	41.6	39.6	39.9	41.1	40.9	40.6	40.4	98.5	94.9	71.3	17	
18	40.6	40.1	40.1	39.6	41.1	40.9	41.1	40.6	40.8	41.9	40.4	40.6	41.6	40.9	41.1	1.5	95.3	71.2	18		
19	41.8	41.3	41.3	41.1	42.6	42.6	42.6	41.9	42.8	43.9	41.6	42.1	43.9	43.6	41.8	42.9	5.4	4.9	71.3	19	
20	44.4	43.9	44.2	43.4	43.9	43.7	43.9	45.8	44.9	46.0	44.2	44.4	45.5	44.7	44.2	43.1	33.4	33.6	33.3	20	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		

图 2 FJ1605 VP1 基因核苷酸序列与其他鸭肝炎病毒的同源性

Fig. 2 Homology of VP1 gene nucleotides of FJ1605 and other duck hepatitis virus strains

基于 VP1 基因核苷酸的遗传进化关系分析表明, FJ1605 株病毒与番鸭源胰腺型 DHAV-1a (MPZJ1206) 处于一个进化谱系, 并与其他的经典 DHAV-1 毒株同处于 DHAV-1 进化大分支(图 3)。

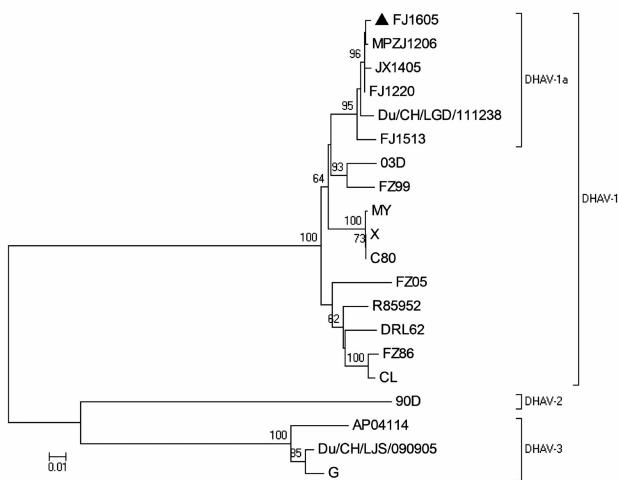


图 3 FJ1605 毒株 VP1 基因遗传进化分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis on VP1 gene isolated from FJ1605

2.5 VP1 结构蛋白的细胞抗原表位的预测

应用 Lasergene V 7.1 DNASTar 中的 Protean 软件对 FJ1605 毒株的 VP1 结构蛋白进行亲水性、抗原性和表面展示分析, 结果表明在 132~137 和 209~219 位氨基酸显示较强的亲水性和抗原性, 且表明这些区域也可能形成细胞抗原表位 (图 4)。

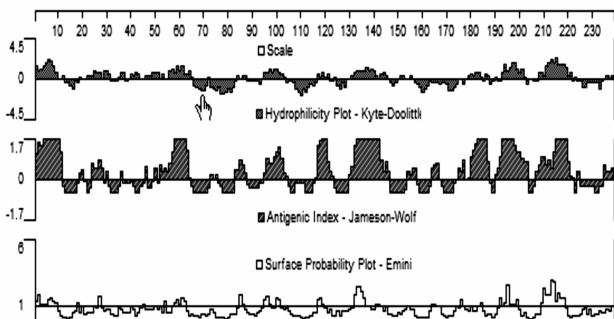


图 4 DHAV-1a VP1 蛋白的亲水性、抗原指数及表面展示概率分析

Fig. 4 Analyses on hydrophilicity, antigenic index and surface display probability of VP1 protein

2.6 人工感染试验

攻毒组接种 FJ1605 毒株后, 初期临床症状主要为精神沉郁、采食量下降、喜趴伏静卧, 并部分发病鸭出现拉稀现象, 随后发病鸭表现绝食和萎靡不振, 攻毒后第 3 d 出现死亡, 剖检病死半番鸭主要为胰腺泛黄, 个别病死鸭的胰腺出现出血和坏死, 且其他器官未发现肉眼可见的病变。这些剖解病变与临床病例的病变极其类似。2 周后攻毒组的发病鸭 9 羽, 死亡鸭 4 羽, 即发病率和病死率为 60% 和 44.4%。对死亡鸭采集的胰腺、肝脏和脾脏采用 RT-PCR 方法检测 DHAV-1a, 均呈阳性。

3 讨 论

胰腺型鸭1型甲肝病毒病是由鸭1型甲肝病毒亚型(DHAV-1a)引起的一种主要危害10~30日龄内雏(半)番鸭的传染性疾病^[3,7]。该病的临床特征为胰腺出血或胰腺坏死,其发病率为42.8%,病死率77.8%。相比较于经典的鸭肝炎病毒病,该病的易感动物发生了改变,由雏樱桃谷鸭和麻鸭变为雏番鸭和半番鸭^[9];且感染日龄亦有所差异,主要是侵害30日龄内的雏鸭,且随着雏番鸭日龄的增长其对DAV-1a的易感性明显降低;另外其组织嗜性和特征肉眼病变均发生改变^[5,10]。该病除了在流行病学上存在差异,其病原在分子生物学特征上亦存在一定的差异。

DAV-1a的基因组特征与DAV-1相似,但存在一定的差异,主要体现在结构蛋白VP1基因及其5'-UTR^[4,11-13]。经分析FJ1605株的VP1基因发现,该株的VP1基因核苷酸和氨基酸序列与其他DAV-1毒株的VP1基因同源性分别为94.1%~99.7%和95.5%~99.6%,其中与DAV-1a的同源性分别为98.1%~99.7%和97.1%~99.6%。同时与福建分离株的DAV-1毒株(FJ1220)同源性最高。经VP1基因遗传进化分析发现,FJ1605株病毒与番鸭源胰腺型DAV-1a(MPZJ1206)共同构成了一个进化谱系,并与其他经典DAV-1毒株处于DAV-1进化大分支。因此,半番鸭源的DAV-1a(FJ1605)VP1基因与其他DAV-1a毒株的差异不大,表明该株病毒在结构蛋白VP1基因未发生明显的变异。且通过VP1基因遗传进化树结果进一步验证了FJ1605株属于DAV-1a毒株。

结构蛋白VP1是DAV-1a表面的衣壳蛋白,该蛋白是DAV-1a体外中和作用的主要靶点,也是抗原表位的高度可变区,且具有中和活性。同时VP1基因及其编码蛋白在病毒基因和血清分型上起关键作用^[14-15]。因此,分析VP1基因的分子特征对分析DAV-1a分子进化规律、疫病的流行特征、疫苗的筛选以及诊断抗原的研制具有重要的指导意义^[4]。本研究通过生物学软件对FJ1605株的VP1结构蛋白进行细胞抗原表位预测分析,为进

一步研究VP1结构蛋白的生物学特性奠定基础。

参 考 文 献:

- [1] OWENS R A, DI S, LI S F, et al. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses [C] //Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2011: 1221-1234.
- [2] SAIF Y M. 禽病学 [M]. 苏敬良, 高福, 索勋, 译. 11版. 北京: 中国农业出版社, 2005: 376-389.
- [3] 傅光华, 陈红梅, 黄瑜, 等. 雏番鸭胰腺型鸭1型甲肝病毒分离鉴定及VP1基因分析 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (9): 43-45.
- [4] 傅光华, 黄瑜, 傅秋玲, 等. 致胰腺泛黄鸭1型甲肝病毒全基因组分子特征 [J]. 微生物学报, 2014, 54(9): 1082-1089.
- [5] 陈珍, 傅秋玲, 陈红梅, 等. 胰腺型、经典型1型甲肝病毒对雏鸭的致病性差异 [J]. 福建农业学报, 2013, 28 (10): 939-942.
- [6] 傅秋玲, 陈珍, 黄瑜, 等. 鸭1型甲肝病毒亚型的鉴定 [J]. 中国兽医杂志, 2015, 51 (7): 36-38.
- [7] 殷震, 刘景华. 动物病毒学: 第2版 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 343-354.
- [8] 傅秋玲, 刘伟, 黄瑜, 等. 鸭1型甲肝病毒亚型VP1蛋白单克隆抗体的研制及鉴定 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44 (2): 554-560.
- [9] 郭玉璞, 蒋金书. 鸭病 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1988: 30-31.
- [10] 陈红梅, 施少华, 程龙飞, 等. 鹅源鸭1型甲肝病毒的分离与鉴定 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (11): 1165-1168.
- [11] DING C, ZHANG D. Molecular analysis of duck hepatitis virus 1 [J]. Virology, 2007, 361: 9-17.
- [12] KIM M C, KWON Y K, JOH S J, et al. Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 reveals a novel lineage close to the genus parechovirus in the family Picornaviridae [J]. J Gen Virol, 2006, 87: 3307-3316.
- [13] TSENG C H, KNOWLES N J, TSAI H J. Molecular analysis of duck hepatitis virus type 1 indicates that it should be assigned to a new genus [J]. Virus Res, 2007, 123: 190-203.
- [14] KIM M C, KWON Y K, JOH S J, et al. Recent Korean isolates of duck hepatitis virus revealed the presence of a new genotype and serotype when compared to duck hepatitis virus type 1 type strain [J]. Arch Virol, 2007, 152: 2059-2072.
- [15] FU Y, PAN M, WANG X Y, et al. Molecular detection and typing of duck hepatitis A virus directly from clinical specimens [J]. Vet Microbiol, 2008, 131 (3/4): 247-257.

(责任编辑:张梅)