

BƯỚC ĐẦU XÁC ĐỊNH GYROVIRUS GALGA 1 Ở GÀ NUÔI TẠI TỈNH THÁI NGUYÊN

Anousack Sormixay, Đồng Văn Hiếu, Đinh Thị Thuỳ Dương, Mai Thị Ngân, Trần Thị Hương Giang*

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: tthgiang@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.03.2024

Ngày chấp nhận đăng: 23.05.2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã được thực hiện nhằm xác định sự xuất hiện của Gyrovirus ở gà nuôi tại tỉnh Thái Nguyên. Tổng số 42 mẫu gộp gồm phủ tạng của gà được thu thập từ gà có các biểu hiện như còi cọc, ủ rũ và tiêu chảy tại một số trang trại thuộc các huyện Phú Bình, Phú Lương và Võ Nhai thuộc tỉnh Thái Nguyên từ tháng 3/2023 đến 08/2023. Kết quả chẩn đoán bằng phương pháp PCR cho thấy, số mẫu dương tính với virus Gyrovirus ở gà lần lượt là 17,65%; 28,57% và 27,27% tương ứng với mẫu bệnh phẩm thu thập từ huyện Phú Bình, Phú Lương và Võ Nhai. Kết quả giải trình tự một phần gen mã hoá protein VP2 cho thấy chủng virus thực địa ở gà thuộc nhóm Gyrovirus galga 1 và tương đồng với chủng Gyrovirus đã được báo cáo ở Trung Quốc (2014) và Brazil (2019). Kết quả của nghiên cứu này đã khẳng định sự hiện diện của Gyrovirus ở gà làm cơ sở cho những nghiên cứu chuyên sâu về Gyrovirus sau này.

Từ khóa: Thái Nguyên, gà, PCR, Gyrovirus.

Preliminary detection of Gyrovirus Galga 1 in chickens farmed in Thai Nguyen province

ABSTRACT

The study aimed to determine the occurrence of Gyrovirus in chickens raised in several districts in Thai Nguyen province. A total of 42 pooled samples were collected from chickens with symptoms such as stunting, drooping, and diarrhea at various farms in Phu Binh, Phu Luong, and Vo Nhai districts of Thai Nguyen province from March to August 2023. Results of Polymerase chain reaction (PCR) showed that the positive rate for chicken Gyrovirus virus was 17.65%, 28.57%, and 27.27% collected from Phu Binh, Phu Luong, and Vo Nhai districts, respectively. The partial sequencing of the gene encoding the VP2 protein revealed that the field virus strains in chickens showing drooping and stunted behavior belonged to the Gyrovirus galga 1 and were genetically close to the Chinese Gyrovirus strain (2014) and Brazilian Gyrovirus strain (2019). The results of this study supplement the presence of Gyrovirus galga 1 in chickens as a basis for future in-depth research on Gyrovirus.

Keywords: Chickens, Gyrovirus galga 1, Thai Nguyen province, Polymerase chain reaction.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gyrovirus galga 1 (GyVg1, trước đây được công nhận là Gyrovirus 2 ở gia cầm) là 1 thành viên mới của chi Gyrovirus có điểm tương đồng với virus gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở gà (Chicken infectious anemia virus - CAV) (Kraberger & cs., 2021).

GyVg1 thuộc chi *Gyrovirus* họ *Anelloviridae*. Họ *Anelloviridae* gồm 155 loài thuộc 31 chi (Kraberger & cs., 2021). Toàn bộ hệ gen của GyVg1 chứa một vùng chưa được dịch mã (UTR, khoảng 490 nucleotide và 3 khung đọc mở (open

reading frame - ORF) chồng chéo một phần: ORF1 mã hoá protein virus 2 (VP2); một protein phi cấu trúc, ORF2 mã hoá protein virus 3 (VP3), một loại protein phi cấu trúc gây ra quá trình chết theo chương trình trong các tế bào bình thường (apoptosis) và ORF3 mã hoá protein virus 1 (VP1), đây là một protein cấu trúc được biết đến mang tính kháng nguyên của GyVg1 (Bullenkamp & cs., 2012; Yao & cs., 2017). Những ORF của GyVg1 được báo cáo có khoảng 40% tương đồng với protein được mã hoá của CAV (Rijsewijk & cs., 2011; Dos Santos & cs., 2012).

GyVg1 lần đầu tiên được phát hiện trong huyết thanh gà có biểu hiện lâm sàng như ủ rũ và sụt cân vào năm 2011 ở Brazil (Rijsewijk & cs., 2011). Abolnik & cs. (2014) đã báo cáo rằng nhiễm GyVg1 ở gà có thể dẫn đến tổn thương não, suy giảm tinh thần và sụt cân. Mặc dù, các triệu chứng cụ thể khác của nhiễm GyVg1 chưa được quan sát thấy, tuy nhiên, các nghiên cứu dựa trên khám nghiệm gà bệnh đã ghi nhận các biểu hiện lâm sàng như xuất huyết, phù nề, loét dạ dày tuyến, sưng mắt và đầu ở gà bị nhiễm bệnh (Abolnik & cs., 2014).

GyVg1 đã được phát hiện ở các đàn gà nuôi tại các khu vực khác nhau ở châu Âu, Nam Mỹ, châu Phi và châu Á (Yao & cs., 2016; Ye & cs., 2015; Smuts & cs., 2014; dos Santos & cs., 2012). Ngoài ra, Gyrovirus còn được ghi nhận ở người, chủng virus có sự tương đồng nucleotide 96% với GyVg1 khi kiểm tra mẫu da của người khỏe mạnh (Maggi & cs., 2012; Biagini & cs., 2013). Kết quả này đã đưa ra giả thiết, GyVg1 cũng có thể lây nhiễm sang người. Sau đó, GyVg1 được phát hiện trong các mẫu máu người, phân người, phân chồn sương, rắn, ve và chó. Kết quả này cho thấy virus có thể lây nhiễm cho nhiều loài động vật (Liu & cs., 2021; Zang & cs., 2021; Wu & cs., 2019; Phan & cs., 2015; Feher & cs., 2014).

Ở Việt Nam, đến nay chưa có một báo cáo khoa học nào về sự hiện diện của GyVg1 trên đàn gà nuôi cũng như các thông tin liên quan đến bệnh. Chính vì vậy, việc khẳng định sự hiện diện của GyVg1 trên đàn gia cầm ở nước ta là cần thiết, không chỉ giúp cho người chăn nuôi cũng như những nhà nghiên cứu sẽ có những thông tin khoa học ban đầu về GyVg1 trên đàn gà nuôi. Từ đó, những nghiên cứu chuyên sâu sau này cần được thực hiện để làm rõ sự lưu hành và đặc điểm bệnh do GyVg1 gây ra giúp cho công tác phòng trị bệnh hiệu quả hơn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu

Đối tượng của nghiên cứu này là GyVg ở gà nuôi tại Huyện Phú Bình, Phú Lương và Võ Nhai thuộc tỉnh Thái Nguyên.

Vật liệu sử dụng trong nghiên cứu này gồm: (i) Kít tách ADN (Viral Gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction, iNtRON, Hàn Quốc), (ii) Kít PCR (GoTag Green Master Mix, Promega, Mỹ), (iii) Kít tách chiết tinh sạch sản phẩm PCR (QIAquick PCR Purification, QIAgen, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập và xử lý mẫu

Tổng số 42 mẫu gà đã được thu thập từ các trang trại thuộc các huyện Phú Bình, Phú Lương và Võ Nhai trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên trong khoảng thời gian từ tháng 3/2023 đến tháng 8/2023. Bệnh phẩm là mẫu gộp phủ tạng được thu thập từ những gà có biểu hiện còi cọc, chậm lớn và tiêu chảy theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-83:2011. Mẫu bệnh phẩm sau đó được đồng nhất theo tỉ lệ 10% phosphate-buffered saline 1X (PBS 1X). Hỗn dịch đồng nhất được bảo quản ở -80°C tới khi sử dụng.

2.2.2. Phương pháp chiết tách ADN

ADN trong mẫu đã được đồng nhất được chiết tách dựa trên kít thương mại Viral Gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction (Intron, Hàn Quốc). Quy trình tách chiết theo hướng dẫn của nhà sản xuất. ADN được hòa tan trong 30µl và được bảo quản ở -30°C cho tới khi sử dụng.

2.2.3. Phản ứng polymerase chain reaction (PCR)

Phản ứng PCR sử dụng cặp mồi GyVg-F1 và GyVg-R1 đã được công bố trước đây (Bảng 1) để khuếch đại một phần đoạn gen VP2 và VP3 của GyVg có độ dài 346bp (Ye & cs., 2015).

Cụ thể, tổng số 25µl hỗn hợp phản ứng gồm có 12,5µl GoTag Green Master Mix (Promega, Mỹ), 1µl mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược (10µM) (Bảng 1), 8,5µl nước tinh khiết và 2µl ADN khuôn mẫu. Phản ứng PCR được thực hiện ở điều kiện 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ gồm 95°C trong 30 giây, 60°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây và hoàn tất phản ứng ở 72°C trong 2 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarose 1% có bổ sung thuốc nhuộm RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (Intron, Hàn Quốc).

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu để phát hiện GyVg

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Sản phẩm PCR (bp)	Tài liệu tham khảo
GyVg-F1	CGTGTCCGCCAGCAGAAACGAC	346	Ye & cs. (2015)
GyVg-R1	GGTAGAAGCCAAAGCGTCCACGA		

2.2.4. Phương pháp giải trình tự, phân tích gen và xây dựng cây phả hệ

Sản phẩm PCR khuếch đại có kích thước 346bp được tinh sạch bằng Kit thương mại QIAquick PCR Purification (QIAGEN, Mỹ). Sản phẩm sau đó được gửi tới Công ty 1st BASE, Singapore để giải trình tự gen. Phần mềm BioEdit tích hợp công cụ CLUSTAL W đã được sử dụng để căn chỉnh trình tự nucleotide (Hall, 1999; Thompson & cs., 1994).

Phân tích tỉ lệ tương đồng nucleotide khi so sánh với các chủng Gyrovirus tham chiếu được đăng tải trên ngân hàng GenBank bằng phần mềm GENETYX v.10 (GENETYX Corp., Tokyo, Nhật Bản) và chương trình BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Cây phả hệ được xây dựng dựa trên các trình tự GyVg thu được trong nghiên cứu này và các trình tự từ GenBank bằng phần mềm MEGA 6 (Tamura & cs., 2013).

Trình tự chủng GyVg thu được đã được báo cáo trên ngân hàng dữ liệu GenBank (với mã số GenBank PP754857-PP754859) và sẽ được công bố vào ngày 15/6/2025.

3. KẾT QUẢ VÀ THO LUẬN

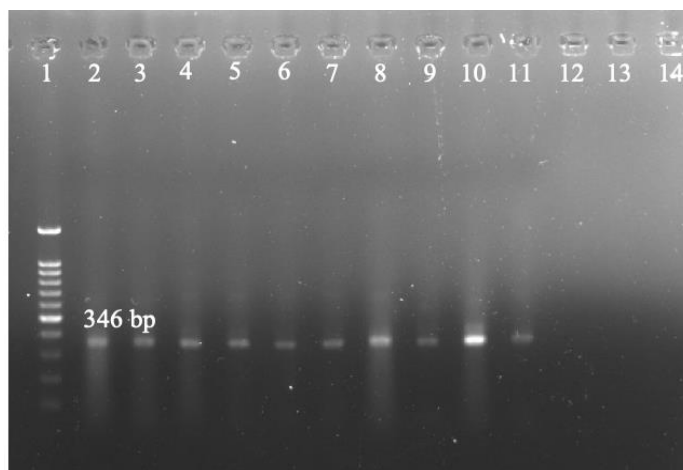
3.1. Kết quả chẩn đoán GyVg bằng phản ứng PCR

Phản ứng PCR được tiến hành với mẫu bệnh phẩm thu thập tại thực địa cho thấy, sản phẩm PCR được khuếch đại chỉ có duy nhất một vạch có kích thước bằng 346bp, không có vạch sản phẩm phụ, trong khi đó giếng đối chứng âm chỉ bổ sung nước tinh khiết không xuất hiện vạch (Hình 1). Như vậy, có thể sử dụng cặp mồi GyVg -F1/R1 đã được công bố trước đây (Ye & cs., 2015) để chẩn đoán GyVg trong mẫu bệnh phẩm tại Việt Nam. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này không có mẫu đối chứng dương, do vậy, những mẫu khi chạy phản ứng PCR cho sản

phẩm đặc hiệu có kích thước tương đương 346bp đã được gửi giải trình tự để khẳng định chính xác sự có mặt của GyVg ở những mẫu kiểm tra.

Kết quả chẩn đoán cho thấy trong tổng số 42 mẫu thu thập từ gà nghi có những dấu hiệu lâm sàng còi cọc, lười vận động và một số có biểu hiện tiêu chảy, có 10 mẫu (23,08%) đã được xác định dương tính với virus GyVg bằng phản ứng PCR. Cụ thể, tỉ lệ dương tính với GyVg theo cá thể ở các huyện Phú Bình, Phú Lương và Võ Nhai dao lần lượt là 17,65%; 28,57% và 27,27% (Bảng 2).

GyVg1 (còn được gọi là Gyrovirus gia cầm 2) lần đầu tiên được báo cáo bởi Rijsewijk & cs. (2011) trên gà bị bệnh ở Brazil, kể từ đó, GyVg1 được ghi nhận là thành viên thứ hai của chi virus Cyclovirus. Sau đó, GyVg1 đã được xác định ở một số địa điểm khác nhau ở Pháp, Brazil, Ý, Hungary, Hà Lan, Nam Phi và Chile (Yao & cs., 2017; dos Santos & cs., 2012; Smuts., 2014; Ye & cs., 2015). Nghiên cứu trước đây đã đặt giả thiết về sự hiện diện của GyVg1 ở gà bệnh, ở người và một số loài khác qua sự lây truyền giữa các loài (Rijsewijk & cs., 2011; Sauvage & cs., 2011; Feher & cs., 2014; Niu & cs., 2019; Wu & cs., 2019). Sự bùng phát đồng nhiễm GyVg1 với virus Newcastle nhược độc đã gây ra các triệu chứng thần kinh có tỉ lệ tử vong cao ở Nam Phi. Năm 2015, GyVg1 lần đầu tiên được phát hiện trên một đàn gà và người khỏe mạnh ở Trung Quốc (Yao & cs., 2016). Nghiên cứu tập trung điều tra dịch tễ học ở một số vùng của Trung Quốc cho thấy GyVg1 được phát hiện với tỉ lệ dương tính ở gà là 12,28% (Yao & cs., 2016). Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy tỉ lệ dương tính với GyVg1 là 23,80% ở gà tại 3 huyện trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên, đặc biệt khẳng định sự có mặt của GyVg1 tại những đàn gà bị bệnh có biểu hiện còi cọc, tiêu chảy. Tuy nhiên, dung lượng mẫu trong nghiên cứu còn hạn chế đồng thời mẫu được lấy chỉ định ở những gà còi cọc, tiêu chảy; do đó tỉ lệ dương tính với GyVg1 cao hơn một số báo cáo trước đây.



Ghi chú: Giếng 1 là thang ADN chuẩn 100bp (CSL-MDNA Cleaver Scientific, Anh); giếng 2-11: Mẫu thực địa với vạch sản phẩm PCR đặc hiệu có kích thước 346bp; giếng 12-13: Mẫu thực địa âm tính; giếng 14: Đối chứng âm.

Hình 1. Kết quả chẩn đoán GyVg ở gà bằng phản ứng PCR

Bảng 2. Kết quả xác định hệ gen của GyVg ở gà theo địa điểm lấy mẫu, cá thể tại tỉnh Thái Nguyên bằng phản ứng PCR

Huyện	Theo cá thể		
	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỉ lệ (%)
Phú Bình	17	3	17,65
Phú Lương	14	4	28,57
Võ Nhai	11	3	27,27
Tổng	42	10	23,80

Bảng 3. Kết quả so sánh mức độ tương đồng trình tự nucleotide giữa các chủng GyVg2 lưu hành trong nghiên cứu này với chủng tham chiếu trên thế giới

Chủng virus	Phân loại	Chủng virus với mức độ tương đồng nucleotide cao nhất			
		Tên chủng	Quốc gia	Mã số GenBank	Tỉ lệ (%)
VNUA/GyVg 1/PB/2023	GyVg2	AGV2-2014YZ01	Trung Quốc	KP993124	99,67
VNUA/GyVg1/PL/2023	GyVg2	BR_DF4	Brazil	MN175606	98,36
VNUA/GyVg1/VN/2023	GyVg2	AGV2-2014YZ01	Trung Quốc	KP993124	99,01

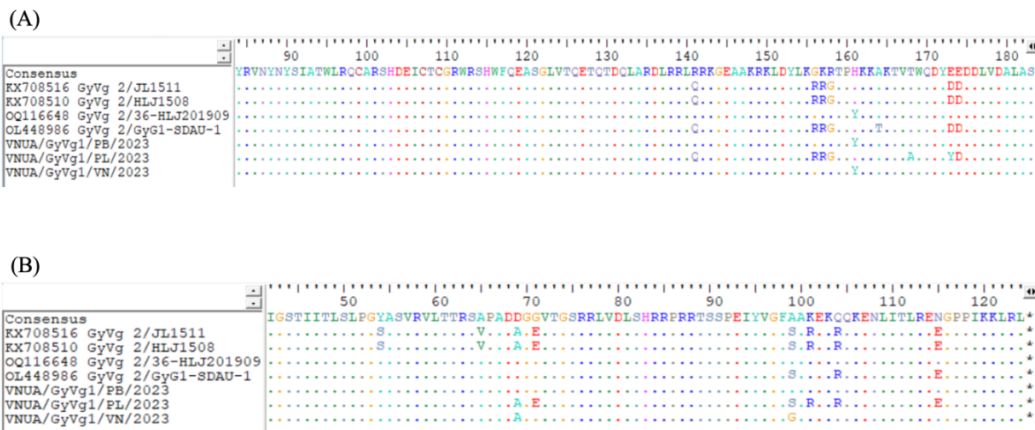
3.2. Kết quả phân tích một phần gen mã hoá protein VP2 của các chủng GyVg1 và cây phả hệ

Kết quả tìm kiếm trình tự tương đồng từ cơ sở dữ liệu của GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) cho biết trình tự đầu vào (318 nucleotide) giống với các chủng Gyrovirus ở gà đã được công bố ở Trung Quốc và Brazil (tính tương đồng nucleotide dao động 98,36-99,67%) dựa vào trình tự gen mã hoá protein

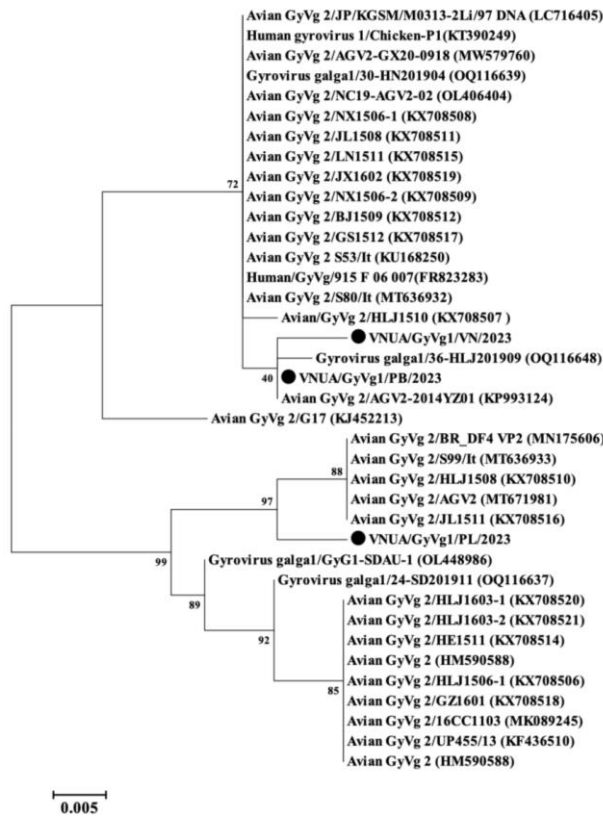
VP2 của GyVg1 (Bảng 3).

Protein VP2 gồm 231 trình tự aa và được nhận định rằng đây là protein có tính bảo tồn cao của Gyrovirus galga 1 (Yao & cs., 2017). Trong nghiên cứu này, một phần trình tự axit amin của protein VP2 và VP3 của 03 chủng GyVg1 đã được phân tích và so sánh với nhau. Kết quả phân tích bước đầu cho thấy có một số thay đổi aa được phát hiện trên một phần trình tự aa của protein VP2 và VP3 của 3 chủng GyVg1 trong nghiên cứu này (Hình 2).

Bước đầu xác định Gyrovirus galga 1 ở gà nuôi tại tỉnh Thái Nguyên



Hình 2. So sánh trình tự axit amin của một đoạn protein VP2 (A) và VP3 (B) của 3 chủng GyVg1 trong nghiên cứu với một số chủng trên ngân hàng GenBank



Ghi chú: 03 chủng GyVg1 trong nghiên cứu này được đánh dấu bằng hình tròn đen trên cây phả hệ.

Hình 3. Cây phả hệ (phylogenetic tree) của Gyrovirus dựa vào trình tự một phần gen mã hoá protein VP2

Cây phả hệ được xây dựng dựa trên một phần gen mã hóa protein VP2 và VP3 của 3 chủng GyVg1 trong nghiên cứu này và một số chủng GyVg1 tham chiếu trên ngân hàng GenBank. Kết quả được thể hiện ở hình 3.

Kết quả cho thấy, 3 chủng virus đều thuộc nhóm Gyrovirus galga 1 (còn được gọi là Gyrovirus 2, GyVg 2) ở gia cầm. Hai chủng VNUA/GyVg1/VN/2023 và VNUA/GyVg1/PB/2023 cùng thuộc một nhánh cluster và có mối quan hệ

di truyền gần với chủng Gyrovirus được báo cáo ở Trung Quốc năm 2014 (KP993124); trong đó, chủng VNUA/GyVg1/PL/2023 thuộc một nhánh Gyrovirus khác với hai chủng trên và có mối quan hệ di truyền gần với chủng Gyrovirus ghi nhận ở Brazil năm 2019 (MN175606).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này lần đầu khẳng định sự có mặt của Gyrovirus trong mẫu gộp thu thập ở những gà có biểu hiện lâm sàng nuôi tại một số trang trại tại tỉnh Thái Nguyên từ tháng 3/2023 đến tháng 8/2023 với tỉ lệ dương tính là 23,80%. Kết quả bước đầu đã xác định 3 chủng Gyrovirus lưu hành tại tỉnh Thái Nguyên có quan hệ di truyền gần với chủng Gyrovirus có nguồn gốc từ Trung Quốc báo cáo năm 2014 và Brazil báo cáo năm 2019. Kết quả về sự có mặt của Gyrovirus trên đàn gà bệnh đặt ra yêu cầu về việc thực hiện nghiên cứu chuyên sâu tập trung phân tích sự lưu hành và vai trò gây bệnh của Gyrovirus trên đàn gia cầm nuôi tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abolnik C. & Wandrag D.B.R. (2014). Avian gyrovirus 2 and avirulent newcastle disease virus coinfection in a chicken flock with neurologic symptoms and high mortalities. *Avian Dis.* 58: 90-94.
- Biagini P., Bédarida S., Touinssi M., Galicher V. & de Micco P. (2013). Human gyrovirus in healthy blood donors, France. *Emerg. Infect. Dis.* 19: 1014-1015.
- Bullenkamp J., Cole D., Malik F., Alkhatibi H., Kulasekararaj A., Odell E.W., Farzaneh F., Gäken J. & Tavassoli M. (2012). Human Gyrovirus Apoptin shows a similar subcellular distribution pattern and apoptosis induction as the chicken anaemia virus derived VP3/Apoptin. *Cell Death Dis.* 3: e296.
- DosSantos H.F., Knak M.B., deCastro F.L., Slongo J., Ritterbusch G.A., Klein T.A. (2012). Variants of the recently discovered avian gyrovirus 2 are detected in Southern Brazil and The Netherlands. *Vet Microbiol.* 155: 230-6.
- Fehér E., Pazár P., Kovács E., Farkas S.L., Lengyel G., Jakab F., Martella V., Bányai K. (2014). Molecular detection and characterization of human gyroviruses identified in the ferret fecal virome. *Arch. Virol.* 159: 3401-3406.
- Kraberger S., Opriessnig T., Celer V., Maggi F., Okamoto H., Blomström A.L. Cadar D., Harrach B., Biagini P. & Varsani A. (2021). Taxonomic updates for the genus Gyrovirus (family Anelloviridae): recognition of several new members and establishment of species demarcation criteria. *Arch Virol.* 166:2937e42.
- Liu Y., Lv Q., Li Y., Yu Z., Huang H., Lan T., Wang W., Cao L., Shi Y., Sun W. & Zheng M. (2022). Cross-species transmission potential of chicken anemia virus and avian gyrovirus 2. *Infect. Genet. Evol.* 99: 105249.
- Maggi F., Macera L., Focosi D., Vatteroni M.L., Boggi U., Antonelli G., Eloit M. & Pistello M. (2012). Human gyrovirus DNA in human blood, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 18: 956-959.
- Niu J.T., Yi S.S., Dong G.Y., Guo Y.B., Zhao Y.L., Huang H.L., Wang K., Hu G.-X. & Dong H. (2019). Genomic characterization of diverse gyroviruses identified in the feces of domestic cats. *Sci Rep.* 9:13303. doi.org/10.1038/s41598-019-49955-8.
- Phan T.G., da Costa A.C., Zhang W., Pothier P., Ambert-Balay K., Deng X. & Delwart E. (2015). A new gyrovirus in human feces. *Virus Genes.* 51: 132-135.
- Rijsewijk F.A.M., dos Santos H.F., Teixeira T.F., Cibulski S.P., Varela A.P.M., Dezen D., Franco A.C. & Roehe P.M. (2011). Discovery of a genome of a distant relative of chicken anemia virus reveals a new member of the genus Gyrovirus. *Arch. Virol.* 156: 1097-1100.
- Sauvag, V., Cheval J., Foulongne V., Gouilh M.A., Pariente K., Manuguerra J.C., Richardson J., Dereure O., Lecuit M., Burguiere A., Caro V. & Eloit M. (2011). Identification of the first human gyrovirus, a virus related to chicken anemia virus. *J Virol.* 85: 7948e50. doi.org/10.1128/jvi.00639-11.
- Smuts H.E.M. (2014). Novel gyroviruses, including chicken anaemia virus, in clinical and chicken samples from South Africa. *Adv. Virol.* p. 321284.
- Wu Q., Xu X., Chen, Q., Ji J., Kan Y., Yao L. & Xie Q. (2019). Genetic analysis of avian gyrovirus 2 variant-related Gyrovirus detected in farmed king ratsnake (*Elaphe carinata*): The first report from China. *Pathogens.* 8: 185.
- Yao S., Gao X., Tuo T., Han C., Gao Y., Qi X., Zhang Y., Liu C., Gao H., Wang Y. & Wang X. (2017). Novel characteristics of the avian gyrovirus 2 genome. *Sci Rep.* 7: 41068.
- Ye J., Tian X., Xie Q., Zhang Y., Sheng Y., Zhang Z., Wang C., Zhu H., Wang Y., Shao H. & Qin A. (2015). Avian gyrovirus 2 DNA in fowl from live poultry markets and in healthy humans, China. *Emerg. Infect. Dis.* 21:1486-1488.
- Yang Z., Zhang J., Yang S., Wang X., Shen Q., Sun G., Wang H. & Zhang W. (2021). Virome analysis of ticks in a forest region of Liaoning, China: Characterization of a novel hepe-like virus sequence. *Virol. J.* 18: 163.