

· 实验研究 ·

北京市部分人群和农产品集散地 鼠间汉坦病毒感染的研究

江佳富 吴晓明 王日明 左曙青 徐伟才 郭天宇 陈立泉 曹务春

【摘要】 目的 了解北京地区鼠间汉坦病毒(HV)感染的可能来源与线索。方法 2004 年 4-5 月选取北京城区某大型火车站和郊区某大型农产品贸易集散地,采用夹夜法捕鼠,应用间接 ELISA 法检测鼠血清 IgG 抗体;针对 HV M 和 S 基因片段设计汉城型病毒(SEOV)特异引物,应用逆转录-聚合酶链反应检测鼠肺中 HV,阳性标本直接测序,与 GenBank 已知序列进行两两比较,对获得序列进行多重比较分析并构建系统发育树。结果 共捕获鼠类 24 只,平均密度 3.49% (24/690),火车站和农产品集散地平均鼠密度分别为 1.25% (3/240) 和 4.67% (21/450),血清抗体阳性率分别为 0.0% 和 9.5%。优势种分别为小家鼠和褐家鼠,带病毒率分别为 14.28% (1/7) 和 5.89% (1/17)。序列比较结果显示:2 份扩增阳性标本 M 片段核苷酸差异为 7.6%,来自火车站的 dc501 与山东省 SD227、河北省 Hebei4 株亲缘关系较近。来自集贸市场的 BjFT01 株与 GenBank 中已注册的其他北京市 SEOV 株比较,存在一些独特的基因差异,并与海南省 HN71 株、浙江省 K24-E7 株多个位点变异类型一致,同源性较高,构成一个支系。而其 S 片段与韩国 80-39 株同源性最高(96.4%),与浙江 K24-E7 同源性为 95.5%。结论 北京市人群及农产品集散地鼠类 HV 感染对肾综合征出血热流行的潜在危险较大,家栖鼠携带并传播的 SEOV 由上述类似地区从外埠输入到北京的可能性较大,但有待进一步研究。

【关键词】 汉坦病毒;啮齿动物

Investigation on hantaviruses infection in rodents from free markets in Beijing areas JIANG Jia-fu*, WU Xiao-ming, WANG Ri-ming, ZUO Shu-qing, XU Wei-cai, GUO Tian-yu, CHEN Li-quan, CAO Wu-chun. *State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China
Corresponding author: CAO Wu-chun, Email: caowc@nic.bmi.ac.cn

【Abstract】 Objective In order to find out the factors related to hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) infection, and to evaluate the probability of endemic hantaviruses (HV) infection in rodents in Beijing areas. **Methods** Rodents were collected in a large-scale railway station and a produce market with 'trap nights' method from April to May, 2004. The IgG reacting sera to HV antigen were detected using ELISA. The partial M and S segment of HV from captured rodent lung samples were amplified with RT-PCR. The PCR products were purified and sequenced. BLAST program was then used to perform on nucleotide pairwise alignment with all available sequence in GenBank. The alignment of the multiply nucleotide and the deduced amino acid sequences, together with phylogenetic analysis were completed with DNASTAR software. **Results** The average population density was 3.49% (24/690). The overall seroprevalence of HV infection was 8.3% (2/24). RT-PCR positive rates were 8.3% (2/24). The nucleotide sequences of 356 bp region (1958-2313) of M segment obtained from 2 samples were all identified to Seoul virus (SEOV), with 7.6% heterogeneity. The dc501 strain from railway station was closely related to SD227 and Hebei4 from Shandong and Hebei provinces respectively. BjFT01 strain from the farm product market had more special nucleotide transitional mutations than other known SEOV from Beijing in GenBank. This strain, together with known HN71 from Hainan province, K24-E7 from Zhejiang province, L99 from Jiangxi province and R22 from Henan province, represented a monophyletic linkage. **Conclusion** The higher HV prevalence of rodents in transportation center was the potential and important risk for HFRS epidemic in Beijing. The increasing prevalence of *M. musculus*

基金项目:北京市自然科学基金重点资助项目(7021004)

作者单位:100071 北京,军事医学科学院微生物流行病研究所病原微生物生物安全国家重点实验室(江佳富、吴晓明、左曙青、徐伟才、郭天宇、曹务春);北京市东城区疾病预防控制中心(王日明、陈立泉)

通讯作者:曹务春,Email: caowc@nic.bmi.ac.cn

should call for attention. It was possible that SEOV in Beijing was imported by infected rodents through vehicles from other provinces.

【Key words】 Hantavirus; Rodents

汉坦病毒(Hantavirus, HV)是由鼠类等动物传播的一种动物疫源性病原,主要引起欧亚地区的肾综合征出血热(HFRS)和南、北美洲的汉坦病毒肺呼吸综合征(HPS)。北京地区自 1996 年首次从某火车站集装箱中采集的褐家鼠身上发现 HV 感染的病原学证据后,疫情迅速上升,并向市中心蔓延,其疫情随宿主动物从外源输入的可能性较大。汉坦病毒 M 基因编码糖蛋白 G₁ G₂,是病毒的毒力、中和抗原和型特异性抗原位点,Xiao 等^[1]利用该基因的 1983~2316 片段创立了一种简捷、可靠的 HV 基因分型诊断方法。利用该片段或扩展的该片段的分型方法目前也被国内外很多研究者所采用^[2-5]。鉴于此,本研究选取部分外埠 HV 宿主的可能输入点捕鼠,在进行鼠血清学 HV 抗体检测的同时,利用巢式 PCR 扩增 1936~2353 靶序列。另外,我们对扩增得到的 M 片段变异较大的毒株 S 基因部分片段进行巢式 PCR 扩增,以进一步比较确定所获得序列的分类地位和病毒感染的可能来源。

材料与方法

1. 材料:双价出血热灭活疫苗购自浙江天元生物药业有限公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG 为北京鼎国生物技术公司产品;Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;AMV 逆转录酶、RNA 酶抑制剂为美国 Promega 公司产品;玻璃奶 DNA 回收纯化试剂盒由博大泰克公司提供。

2. 调查地点和标本采集:2004 年 4-5 月选取北京城区某大型火车站和郊区某大型农产品贸易集散地,采用夹夜法捕鼠。在火车站站台内两侧铁道沿线以及紧挨铁道沿线的库房、平房和火车外来垃圾中转站置夹。铁道沿线置夹两行,行距 50~100 m,夹距 5 m,每行约 25 夹。房屋内和垃圾站内沿墙根、暖气、拐角等隐蔽处置夹,每 10 m² 置 1 夹,总共 80 夹/夜,连续捕获 3 夜。农产品贸易集散地调查点在粮油、蔬菜贸易摊点、门面店内与外来货车停车场附近等地置夹,屋内置夹密度同前,场外沿四周隐蔽处置夹,夹距 5~10 m 不等,总共 150 夹/夜,连续 3 夜。现场对捕获鼠用 75% 酒精进行腹部消毒,剪取全部肺脏标本,置液氮罐中冻存运输备检。用移液器抽取胸腔血或心血,分离血清,-20℃

保存。血清量不足的用滤纸片吸蘸后置离心管中,-20℃ 保存备检。

3. 宿主动物血清 HV IgG 抗体检测:采用间接 ELISA 法检测血清 HV-IgG 抗体。

(1) 血滤片处理:每张蘸血滤纸片加入 200 μl 0.85% 生理盐水,4℃ 过夜,56℃ 水浴 30 min 灭活,5000 r/min 离心 5 min,取上清即为 1:4 稀释血清。检测血清稀释度为 1:40,筛出的阳性标本再以 1:80 稀释度进行复核检验。

(2) HV-IgG 抗体检测:取双价出血热灭活疫苗超声破碎后包被聚苯乙烯微孔板,每孔 100 μl,4℃ 过夜,110 μl TSTA 封阻液(Tris 50 mmol/L pH 值 7.6、NaCl 142 mmol/L、Tween-20 0.05%、NaN₃ 0.05%、BSA 2%)37℃ 封阻 2 h,加入 TSTA 稀释血清(1:40) 100 μl,37℃ 1 h,加入 TSTA 稀释(1:1000)的辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG,37℃ 1 h,显色后在 450 nm 波长处测定吸光度值。阳性对照血清由双价出血热灭活疫苗免疫 BALB/C 小鼠后获取,阴性对照血由正常对照 BALB/C 小鼠获取。每板设 2 孔不同稀释度阳性对照,12 复孔以上阴性对照。结果判定以阴性对照 < 0.1 (< 0.05 以 0.05 计)且 P/N 值 ≥ 2.0 为阳性。

4. 宿主动物 HV RNA 检测:采用 TRIzol[®] 一步法提取标本肺组织总 RNA,按照说明书操作。采用 RT-PCR 法检测病毒核酸:在提取的 RNA 中加入特异引物 P14 3 μl,70℃ 5 min,冰上冷却 5 min,加入 AMV 逆转录酶 9 U,5× 反应缓冲液 5 μl,10 mmol/L dNTPs 2 μl,RNA 酶抑制剂 1.5 U,总体积为 25 μl,离心后 42℃ 1 h,99℃ 10 min,-20℃ 贮存。按参考文献[6,7]设计 HV M、S 基因片段分型引物(表 1),对 M 片段进行扩增和测序,对序列变异较大的标本 S 基因片段进行扩增,M 片段大小为 382 bp(汉滩型)和 395 bp(汉城型),S 片段大小为 402 bp。反应体系:10× 缓冲液 3.0 μl,Taq 酶 1 U,dNTPs 各 1 mmol/L,MgCl₂ 1.5 mmol/L,模板 3 μl,总体积 30 μl。第一轮扩增产物 10 倍稀释作为第二轮扩增模板。M 片段扩增条件为:94℃ 4 min,94℃ 15 s,54℃ 20 s,72℃ 20 s,38 个循环,72℃ 7 min。S 片段扩增条件为:94℃ 4 min,94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,35 个循环。扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝

表1 所用引物名称、序列和位置

引物类型	名称	序 列	位置*	扩增片段
逆转录引物	P14	TAGTAGTAGACTCC	1~14	LM S(+)
M 片段外引物	HTV-MFO	AAAAGTAGGTGITAYATCYTIACAATGTGG	1910~1939	M(+)
	HTV-MRO	GTACAICCTGTRCCIACCCC	2373~2354	M(-)
HTN 型引物	HMF	GAATCGATACTGTGGGCTGCAAGTGC	1958~1984	M(+)
	HMR	GGATTAGAACCCAGCTCGTCTC	2318~2340	M(-)
SEO 型引物	SEO-MF	GTGGACTCTTCTTCTCATTATT	1936~1957	M(+)
	SEO-MR	TGGGCAATCTGGGGGGTTGCATG	2331~2353	M(-)
S 片段外引物	PS1	AATGATGAACCTACAGGAC	361~379	S(+)
	PS2	ACAAGCATGTTGGTGGAC	980~997	S(-)
S 片段内引物	PS3	AGCATGAAGGCAGAAGAG	595~612	S(+)
	PS4	TGTATCCCCATTGATTGTG	1142~1160	S(-)

* 为汉滩型 76-118 株 M、S 片段对应位置

胶电泳分离。

5. DNA 序列测定与比较分析:阳性标本扩增产物纯化后,送上海博亚生物工程有限公司测序。所得序列与 GenBank 已知序列进行两两配对比较;选择代表性 HV 参考序列,利用 DNASTAR 软件包中 EditSeq 和 MegAlign 软件进行多重分析比较,构建系统发育树。

结 果

1. 宿主动物捕获及 HV 感染情况:

(1)不同生境鼠类分布和构成:两个调查点共捕获鼠类 24 只,均为褐家鼠和小家鼠。其中在火车站捕获的均为小家鼠,捕获率为 1.25% (3/240),均捕获于客车外来垃圾中转站。其他采集生境(铁道两旁及两侧平房内、铁路桥下等)均未捕获。农产品集散中心调查点在粮油、蔬菜贸易摊点、门面店内以及货场附近等生境均有捕获,捕获率为 4.67% (21/450),其中褐家鼠占优势(表 2)。

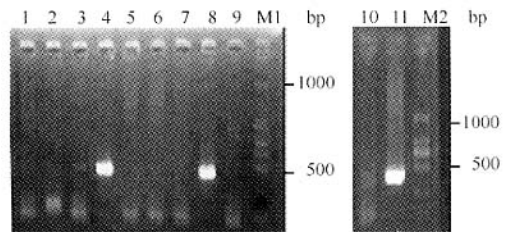
表2 不同生境鼠类动物构成(%)

鼠种	火车站	农产品集散地	合计
褐家鼠	0(0.00)	17(80.95)	17(70.83)
小家鼠	3(100.00)	4(19.05)	7(29.17)
合计	3(100.00)	21(100.00)	24(100.00)

(2)HV-IgG 抗体检测结果:经 ELISA 检测,火车站和农产品集散地鼠类血清标本 HV 抗体阳性率分别为 0.0% (0/3)和 9.5% (2/21)。

(3)RT-PCR 检测结果:24 份肺组织中,使用汉城型内特异引物(SEOV),BjFT01 和 dc501 扩增到与目的基因大小相符的片段,检出率 8.3% (2/24)(图 1 左),其余样品两种型别引物扩增均为阴性。对 M 片段序列变异较大的 BjFT01 株 S 片段进行了

RT-PCR 扩增,也得到了约 400 bp 目的带(图 1 右)。dc501 来源于某火车站外来垃圾中转站小家鼠,BjFT01 来源于农产品集散地褐家鼠,两地阳性率分别为 66.67% (1/3)和 4.75% (1/21)。



左图为 M 片段,1:NC; 4:dc501; 8:BjFT01,其余为其他个体鼠肺组织样品,M1:100 bp Marker

右图为 S 片段扩增产物,10:NC; 11:BjFT01; M2:Marker

图1 RT-PCR 扩增产物 1.2% 琼脂糖电泳结果

2. M 基因片段序列比较结果:2 份阳性标本(dc501 和 BjFT01)M 基因片段序列,向 GenBank 进行了注册,其序列号分别为 AY725996 和 AY645717。两者对应位置核苷酸差异为 7.6%。选取亲缘关系较近的一些参考株,比较该区段的序列差异,结果发现:这些毒株该区域有 36 个位点存在核苷酸差异(48~327 nt,即对应 SEOV 标准株 Z37 M 全基因 2006~2285 nt 位置)(表 3),dc501 在 138 nt 位点发生 C→T 变异,并与山东 SD227 株该位点变异类型相同,在 309 nt 位点不同株型各有两种碱基(C 和 T)。BjFT01 株在该区域内有多个位点碱基发生改变,在 51 nt、147 nt 和 297 nt 位点处具有独特的碱基类型。在 150 nt、264 nt 和 270 nt 位点处与 K24-E7、HN71 具同样碱基类型。273 nt 处,BjFT01 仅与 HN71 相同(表 3)。进一步推导氨基酸序列,未发现氨基酸变化。

表3 HV-M 基因片段与已知参考株相对应位置序列核苷酸类型的比较

株 型	有差异位点与核苷酸类型																																			
	48	51	97	102	114	123	126	129	138	144	147	150	156	166	168	195	227	231	234	237	243	246	261	264	267	270	273	276	282	285	288	291	297	309	324	327
BjHD01	T	C	A	T	T	A	T	T	T	T	A	A	T	G	T	T	A	T	T	T	A	T	A	G	C	A	A	C	T	T	C	T	C	C	C	T
dc501	A	C	A	T	T	A	T	T	T	T	A	A	T	G	T	T	A	T	T	T	A	T	A	G	T	A	A	C	T	T	C	T	C	C	T	T
K24-E7	T	C	G	T	C	A	T	C	C	T	A	G	C	G	C	T	A	C	C	T	A	T	G	A	T	G	A	C	C	T	T	T	C	T	C	T
SR	T	C	G	T	T	A	C	T	C	C	A	A	C	G	T	T	C	T	T	T	A	T	A	G	T	A	A	C	T	T	T	T	C	T	C	T
Z37	T	C	A	C	T	A	T	T	C	T	A	A	T	G	T	T	A	T	T	T	G	T	G	G	C	A	A	T	T	C	C	C	C	C	C	C
Indonesia	C	C	A	T	T	T	C	T	C	T	A	A	C	G	T	C	A	T	T	T	A	C	A	G	T	A	A	C	T	T	T	T	C	T	C	C
BjFT01	T	A	G	T	T	A	C	T	C	T	G	G	C	G	T	T	A	T	T	T	A	T	A	A	T	G	G	C	T	T	T	T	A	T	C	C
SD227	A	C	A	T	T	A	T	T	T	T	A	A	T	A	T	T	A	T	T	T	A	T	A	G	T	A	A	C	T	T	C	T	C	C	C	T
Hebei4	T	C	A	T	T	A	T	T	C	T	A	A	T	G	T	T	A	T	T	T	A	T	A	G	T	A	A	C	T	T	C	C	C	C	T	T
HN71	C	C	G	T	T	A	C	T	C	T	A	G	C	G	T	T	A	A	T	T	A	T	A	A	T	G	G	C	T	T	C	T	C	T	C	T
Majority	T	C	A	T	T	A	T	T	C	T	A	A	T	G	T	T	A	T	T	T	A	T	A	G	T	A	A	C	T	T	T	T	C	T	C	T

注:参考株来源和 GenBank 注册序列号: BjHD01(北京海淀 AY627049), SD227(山东 AB027091), Hebei4(河北 AB027089), Z37(浙江 AF190119), K24-E7(浙江 AF288653), HN71(海南 AB027084), SR(日本 M34882), Indonesia(印尼 AJ620583)

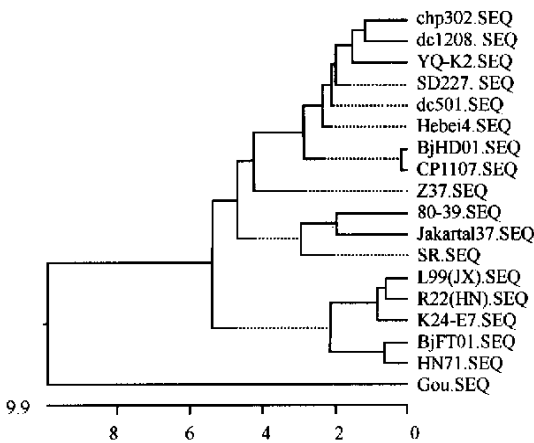
系统发育树结果表明:dc501 源自某火车站外来垃圾中转场一小家鼠,与山东省 SD227、河北省 Hebei4 株更为接近,同北京海淀褐家鼠分离株 BjHD01 等共同位于 Z37 簇。BjFT01 则与北京其他株、邻近省份等毒株关系较远,而与来自海南省 HN71、浙江省 K24-E7 以及河南省 R22 和江西省分离自罗赛鼠 (*R. losea*) 的 L99 位于一个支系,同源性较高(图 2)。

变异较大的 BjFT01 株 S 片段序列变异较少,经 BLAST 比较,发现其与 80-39 对应的 S 片段同源性最高(96.4%),次之为黑龙江株 Zy27,而与 Z37 株为 95.8%,与 K24-E7 S 片段相应区段同源性为 95.5%。

讨 论

当今交通运输和经济贸易的迅猛发展也加剧了物种的迁移与交流,外来生物的危害事件也时有发生,作为 SEOV 重要宿主的家栖鼠随着火车、农产品货车流窜迁移的机会也更多,从而使包括 HV 在内的鼠源疾病传播加快,使得人群被感染 HV 的机会也大大增加。而且不同宿主(种群)来源 HV 在新的宿主体内重组变异,使 HFRS 疫情面临新的问题与挑战。近些年我国 HFRS 病例依然居高不下,家鼠型 HFRS 疫情也逐渐向大城市蔓延,其原因亟待解决。由于褐家鼠、小家鼠的世界范围性分布,欧洲和印尼最近也发现与我国及日本亲缘关系非常接近的 SEOV^[2,3],说明了 SEOV 通过家栖鼠远距离传播已是现实。鉴于北京地区 1996 年后疫区逐渐扩大,本研究的调查结果可以从一个侧面了解其中的一些原因和线索。

本研究表明,来自某火车站外来垃圾中转场一小家鼠的病毒 dc501 与山东株 SD227、河北株 Hebei4 接近,由于河北省、山东省是 HFRS 高发省份,为我国主要的流行区,加之小家鼠耐干燥、栖居场所更为隐蔽的生态习性,垃圾中转场通过火车垃圾夹带小家鼠的可能性极大,所以该地带采集的小家鼠携有外来小家鼠种群遗传基因的频率也应较



注:参考株来源和 GenBank 注册序列号:北京地区为昌平 chp302(A Y725990)、CP1107(A Y725991)、东城 dc1208(A Y725995)、延庆 YQ-K2(A Y725998)和海淀 BjHD01(A Y627049);邻近省份株为山东 SD227(AB027091)和河北 Hebei4(AB027089);远距离省份株为浙江 Z37(AF190119)、K24-E7(AF288653)和 Gou(AB027521)、河南 R22(S68035)、江西 L99(AF035833)和海南 HN71(AB027084);国外 SEOV 株为韩国 80-39(S47716)、日本 SR(M34882)和印尼 Jakartal 37(AJ620583)

图2 基于 M 片段部分序列构建 dc501、BjFT01 与其他相近 SEOV 系统树

3. 病毒 S 基因片段序列比较分析:M 片段序列

高,该地 SEOV 输入性的可能性也大。该火车站位于城市中心地带,加之城区近几年才发现有本埠 HFRS 病例发生,这不仅仅是巧合。幸运的是,该地区的鼠密度较低(1.25%),但阳性率很高。由于人们往往注重脏乱差之地褐家鼠的防控,经常忽视小家鼠的捕杀,而小家鼠更强的生态适应性,其较之褐家鼠更难防控,尤其是和其同域褐家鼠被大量毒杀后,种群数量往往会明显波动,危害会尤为突出,这些足以说明了北京这些类似地区潜在的 HFRS 疫情蔓延的危险性不容忽视。

本研究还发现,来自丰台区某大型农产品集贸市场褐家鼠的 BjFT01 株与北京其他株、邻近省份等毒株关系相对较远,在 GenBank 中已知的相关 HV 中,与来自海南 HN71、浙江株 K24-E7、江西 L99 和河南株 R22 亲缘关系较近,其中 HN71 的注册片段长为 300 bp,经 BLAST 比较,两者的同源率为 98.67% (296/300),而与 K24-E7 的同源率为 96.07% (342/356)。其中 L99 来自同属的罗赛鼠,宿主不同,但 HV 基因差异不大,说明该种变异类型的 HV 宿主生态适应性更强。另外,张秀春等^[5]研究认为,北京地区 SEOV 并非均一,至少存在有 4 个不同的进化分支,而其中来自丰台区的 BF7 株与海南 HN71 株同为一个进化分支。本研究获得 BjFT01 与其结果较一致。由于未获得 BF7 的序列以及相关采集资料,未能将其与来源同一地区的 BjFT01 进行比较,但两者应较为近似。该型病毒在丰台地区的存在应有一定的时间跨度和范围,而且这种远距离大跨度的相似性是否提示北京汉坦病毒远距离传播的可能。另外,与 GenBank 中北京地区相关 HV 对应 356 bp 的片段内的碱基相比,BjFT01 变异较多,并有 3 个位点具有特异的碱基类型,在 3 位点处与 K24-E7、HN71 具同样碱基类型(区别于其他毒株)。273 nt 处仅与 HN71 相同,虽均为无义突变,但很可能处于氨基酸变异的量变过程,也可能是感染不同宿主种群时的一种生态适应性改变,无疑也是形成新型 HV 的过程。而其 S 片段与最接近的株 80-39 同源率为 96.4%,次之为黑龙江株 Zy27,而与 Z37 株为 95.8%,与 K24-E7 和 K24-V2

S 片段相应区段同源率为 95.5%,反映两个片段的基因变异的非同步性。由于该地区为北京最大的农产品交易批发市场,每天来自全国各地的货车络绎不绝,可以认为北京 SEOV 也极有可能由此类途径传入。该地区食物资源丰富,鼠害防治相对困难,所以鼠密度也较高(4.67%),且褐家鼠为优势种,来自各地携带有 HV 的宿主也极有可能在这里进行互相传播和基因交流,所以加强交通工具的鼠害防治也是刻不容缓。

当然,确凿以及详尽的 HV 传播证据尚需进一步获取更多的标本,同时结合宿主遗传进化方面的信息来证实。而且,病毒来源于传播是一个很复杂的问题,这需要在加强我国各疫区病毒与宿主基因信息研究的基础上,继续深入地进行研究,为更加科学地制定 HFRS 防治措施提供决策依据。

参 考 文 献

- 1 Xiao SY, Leduc JW, Chu YK, et al. Phylogenetic analyses of virus isolates in the genus Hantavirus, family Bunyviridae. *Virology*, 1994, 198:205-217.
- 2 Plyusnina A, Ibrahim IN, Winoto I, et al. Identification of Seoul hantavirus in *Rattus norvegicus* in Indonesia. *Scand J Infect Dis*, 2004, 36:356-359.
- 3 Heyman P, Plyusnina A, Berny P, et al. Seoul hantavirus in Europe: first demonstration of the virus genome in wild *Rattus norvegicus* captured in France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004, 23:711-717.
- 4 Wang H, Yoshimatsu K, Ebihara H, et al. Genetic Diversity of Hantaviruses Isolated in China and Characterization of Novel Hantaviruses Isolated from *Niviventer confucianus* and *Rattus rattus*. *Virology*, 2000, 278:332-345.
- 5 张秀春,周绍莲,王华,等.北京地区流行性出血热 SEO 型汉坦病毒基因差异的研究. *中华流行病学杂志*, 2000, 21:349-351.
- 6 王世文,杭长寿,王华,等.我国汉坦病毒基因型和基因亚型的分布研究. *病毒学报*, 2002, 18:211-216.
- 7 潘蕾,白雪帆,黄长形,等. HFRS 患者血清中 HV-RNA 的 PCR 检测及扩增产物的测序分析. *第四军医大学学报*, 2000, 21:856-860.

(收稿日期:2005-03-14)

(本文编辑:孙强正)