

· 实验室研究 ·

辽宁省部分地区 2006 年虫媒病毒分离鉴定

孟维珊 张稷博 孙肖红 刘起男 陈哲 翟友刚 付士红 曹玉玺 王环宇 丁俊
褚发俊 李志 张立田 赵玉军 梁国栋

【摘要】 目的 调查辽宁省虫媒病毒的种类及分布。方法 2006 年 8 月在辽宁省沈阳市、营口市、盘锦市、锦州市和丹东市采集蚊虫标本,利用组织细胞培养分离病毒,对病毒分离物进行血清学和分子生物学鉴定。结果 5 个市共采集蚊虫标本 5410 只,分离到 8 株阳性分离物,经鉴定其中 3 株(LN0684、LN0688、LN0689)为版纳病毒,1 株(LN0636)为甲病毒属盖塔病毒,另外 4 株尚在鉴定。新分离的版纳病毒与我国此前的分离株处于同一个进化簇,核苷酸同源性 91.2% ~ 94.7%。新分离的盖塔病毒与韩国分离株(*swine*)在一个进化枝上,核苷酸同源性为 99.2%,与俄罗斯分离株、中国大陆分离株及台湾分离株的核苷酸同源性在 95% ~ 99% 之间。结论 2006 年在辽宁省分离到 3 株版纳病毒、1 株盖塔病毒和 4 株未知虫媒病毒。版纳病毒、盖塔病毒为辽宁省首次分离;盖塔病毒核苷酸同源性和韩国分离株最近。

【关键词】 虫媒病毒; 版纳病毒; 甲病毒; 序列分析; 种系发生

Isolation and identification of arboviruses from mosquito pools in some regions of Liaoning province, China MENG Wei-shan*, ZHANG Ji-bo, SUN Xiao-hong, LIU Qi-nan, CHEN Zhe, ZHAI You-gang, FU Shi-hong, CAO Yu-xi, WANG Huan-yu, DING Jun, CHU Fa-jun, LI Zhi, ZHANG Li-tian, ZHAO Yu-jun, LIANG Guo-dong. *Department of Viral Encephalitis, Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100052, China
Corresponding author: LIANG Guo-dong, Email:gdliang@hotmail.com

【Abstract】 **Objective** To isolate and identify arboviruses from mosquito pools in some regions of Liaoning province. **Methods** Mosquitoes were collected from Shenyang, Yingkou, Panjin, Jinzhou and Dandong cities of Liaoning province in 2006. Viruses were isolated by inoculating the specimens onto C6/36 and BHK-21 cells. The new isolates were identified using serological and molecular biological methods. **Results** 5410 mosquitoes were collected from the five cities in total. Three isolates produced CPE in C6/36 cell and five isolates produced CPE in both C6/36 and BHK-21 cell. Three isolates (LN0684, LN0688 and LN0689) were identified as Banna virus and one isolate (LN0636) was identified as Getah virus. Phylogenetic analysis showed that the three Banna virus strains were clustered into the same evolution branch as the other Chinese isolates. The identity of nucleotide sequence was between 91.2% and 94.7%, compared with other Banna virus strains. The new isolated Getah virus was clustered into the same branch with the strain of South Korea (*swine*). The identity of nucleotide sequence was 99.2%, when comparing with the strain of South Korea and was 95% to 99% with the strains from Russia, mainland of China and Taiwan region. **Conclusion** Eight virus isolates, including three Banna virus, one Getah virus and four unknown virus strains were isolated from mosquitoes in Liaoning province. Banna virus and Getah virus were reported for the first time in Liaoning province, while Getah virus showed the highest nucleotide homology with the South Korea strains.

【Key words】 Arboviruses; Banna virus; Getah virus; Sequencing analysis; Phylogeny

虫媒病毒(arbovirus)可引起人畜共患病。现已证实有 4 种虫媒病毒及相关疾病在我国存在和流

行,即乙型脑炎(乙脑)、森林脑炎、新疆出血热、登革热(1~4 血清型)^[1]。辽宁省地处于温带-暖温带区域并与吉林、内蒙古、河北等省区接壤,东南隔鸭绿江与朝鲜相邻。境内山地、丘陵、平原遍布,地形多样,雨水充沛,河流密布,适于各类宿主动物、吸血节肢动物的生存繁殖,利于某些虫媒病毒的存在和传播。因此,深入调查研究辽宁省虫媒病毒的种类及分布,同时对分离到的病毒进行详尽的鉴定,对当地传染病的预防控制有重要意义。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.01.015

基金项目: 国家科技部重大传染病专项资助项目(2003BA12A08-01); 中法先进性研究计划资助项目(B06-04)

作者单位: 100052 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所脑炎室传染病预防控制国家重点实验室(孟维珊、孙肖红、翟友刚、付士红、曹玉玺、王环宇、梁国栋); 辽宁省疾病预防控制中心(张稷博、丁俊、李志); 丹东市疾病预防控制中心(刘起男); 东港市疾病预防控制中心(陈哲、褚发俊、张立田); 沈阳农业大学畜牧兽医学院(赵玉军)

第一作者现工作单位: 161005 齐齐哈尔, 黑龙江省畜牧研究所

通信作者: 梁国栋, Email:gdliang@hotmail.com

材料与方法

1.标本采集、处理及细胞接种:在蚊虫密度较高的8月份,选择农村地区民居及其附近的水沟、牲畜棚、猪圈、厕所等生境,用诱蚊灯进行标本采集,将蚊虫分类,剔除雄蚊,50~100只为一组,装入冻存管中,标本保存于液氮罐中。从液氮罐中取出冻存管,将蚊虫标本迅速倒入预冷无菌的玻璃研磨器中,加入1.5 ml无血清Eagle液(含2%青霉素和链霉素),用力研磨,直到蚊虫被磨至组织碎片基本消失为止。将研磨液吸入1.5 ml离心管,4℃离心,18 000 g,20 min。将200 μl研磨液加到生长至80%的单层BHK-21细胞管和C6/36细胞管(先弃去细胞培养液),吸附1 h后弃去研磨液,加入1 ml细胞维持液(含1%血清,其他同培养液),置于37℃(C6/36细胞为28℃)培养箱中继续培养,每天观察细胞病变情况。无病变者在细胞内连续盲传三代后仍无病变者舍弃,出现病变者连续传代使之出现规律病变。

2.鉴定方法:

(1)ELISA:用病毒感染后的细胞上清液,滤过后制备病毒全抗原。黄病毒属、布尼亚病毒属、甲病毒、版纳病毒特异性小鼠免疫腹水(本实验室制备^[2])分别与病毒全抗原反应。羊抗小鼠IgG由辣根过氧化物酶(HRP)标记,效价1:1500。进行常规ELISA检测。

(2)免疫荧光试验(IFA):病毒感染的细胞有75%发生病变时将细胞吹下,1000 g离心3 min,弃上清,用PBS洗细胞2次,用适量PBS重悬细胞,制备病毒抗原片,同时设立正常细胞对照,晾干后用冷丙酮固定10 min,分别用PBS和蒸馏水洗片2次,晾干。用黄病毒属、布尼亚病毒属、甲病毒属多克隆抗体和版纳病毒(BAV)单抗作为一抗,FITC标记抗鼠IgG抗体作为二抗,参照文献[3]的方法进行。

(3)病毒核酸电泳试验:参照文献[3]介绍的方法进行病毒分离物的RNA提取和聚丙烯酰胺凝胶电泳,检测双链RNA病毒。

(4)RNA提取、cDNA合成及RT-PCR:用美国QIAamp® Viral RNA提取试剂盒(美国QIAGEN公司)提取病毒RNA,利用随机引物和Ready-to-Go™ You prime First-Strand Beads试剂盒(美国Amersham Biosciences公司)制备cDNA。参照文献中使用的黄病毒属、布尼亚病毒属、甲病毒属及BAV特异性引物(引物信息见表1)进行PCR检测,PCR产物测序在利嘉泰成科技有限公司完成。

3.序列分析:采用Clustal X(1.8)软件进行碱基

表1 本研究中使用的引物

引物名称	序列(5'~3')	扩增长度
	黄病毒属 ^[4]	310
FU1	TACCACATGATGGGAAAGAGAGAGAA	
cFD2	GTGTCCCAGCCGGCGGTGTCATCAGC	
	甲病毒属 ^[5]	434/310
M2W(+)	YAGAGCDTTTTTCGCAYSTRGCHW	
cM3W	ACATRAANKGNGTNGTRTCRAANCCDAYCC	
M2w2(+)	TGYCCNVTGMDNWSYVCNGARGAYCC	
	布尼亚病毒属 ^[6]	250
BUP	ATGACTGAGTTGGAGTTTGATGTCGC	
BDW	TGTTCTCTGTTGCCAGGAAAAT	
	BAV ^[7]	850
12-854-S	AAATTGATAGYGYTTGCGTAAGAG	
12-B2-R	GTTCTAAATTGGATACGGCGTGC	

的配对、核苷酸序列同源性分析,MEGA 3.1软件完成病毒进化分析,氨基酸位点分析由GENEDOS(3.2)软件完成,核苷酸及氨基酸差异度分析由DNASar软件包中的MegAlign软件完成。

结 果

1.蚊虫标本的采集:本研究在辽宁省共采集5410只蚊虫标本,共92批。蚊种分别为中华按蚊(3960只,73.2%)、库蚊(1390只,25.7%)、伊蚊(60只,1.1%)。蚊种以中华按蚊和库蚊为辽宁省的优势蚊种;采集地锦州、盘锦、营口、丹东为沿海城市,沈阳为内陆城市;生境广泛选择猪圈、牛棚、人房、苇塘等,蚊虫标本具有代表性(表2)。

表2 2006年辽宁省蚊虫采集背景

地区	生境	采集时间(月-日)	蚊虫种类及数量			合计
			中华按蚊	库蚊	伊蚊	
营口	苇塘、人房	08-14	—	1000	60	1060
盘锦	牛棚	08-15	1750	100	—	1850
沈阳	牛棚、人房	08-17	1060	120	—	1180
锦州	猪圈、人房	08-21	1040	170	—	1210
丹东	猪圈、牛棚	08-23	110	—	—	110
合计			3960	1390	60	5410

2.病毒分离:把所采集到的92批蚊虫全部分批研磨,接种于C6/36细胞和BHK-21细胞,经过连续细胞传代有8株分离物(表3)。其中3株(LN0684、LN0688、LN0689)只引起C6/36细胞病变,表现为圆缩;另外5株分离物可引起C6/36细胞和BHK-21两种细胞病变,LN0636、LN0640在C6/36细胞表现为圆缩、脱落,在BHK-21细胞表现为聚集、脱落。LN0661、LN0676、LN0677在C6/36细胞表现为破裂、脱落,在BHK-21细胞表现为圆缩、脱落。

3.血清学鉴定:

(1)ELISA:使用黄病毒属、布尼亚病毒属、甲病毒、BAV特异性小鼠免疫腹水分别与病毒全抗原反

表 3 病毒分离与鉴定

病毒株	分离地点	生境	蚊种	病毒分离		病毒鉴定							
				细胞病变 (d)		ELISA/IFA				分子生物学 (RT-PCR)			
				C6/36	BHK-21	甲病毒	黄病毒	布尼亚病毒	BAV	甲病毒	黄病毒	布尼亚病毒	BAV
LN0636	沈阳	牛棚	中华按蚊	3	3	+	-	-	-	+	-	-	-
LN0640	沈阳	牛棚	中华按蚊	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-
LN0661	盘锦	牛棚	中华按蚊	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-
LN0676	盘锦	牛棚	中华按蚊	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-
LN0677	盘锦	人房	中华按蚊	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-
LN0684	锦州	猪圈	中华按蚊	3	-	-	-	-	+	-	-	-	+
LN0688	锦州	猪圈	中华按蚊	3	-	-	-	-	+	-	-	-	+
LN0689	锦州	猪圈	中华按蚊	3	-	-	-	-	+	-	-	-	+

应。8 株阳性分离物 ELISA 结果显示, LN0636 与甲病毒属抗体反应, 提示 LN0636 为甲病毒; LN0684、LN0688、LN0689 为 BAV 抗体阳性, 提示为 BAV; 其他 4 株分离物与上述抗体不反应。

(2) IFA: 用 8 株阳性分离物接种 C6/36 细胞制作抗原片, 用虫媒病毒中黄病毒属、布尼亚病毒属、甲病毒属多克隆抗体以及 BAV 特异性抗体进行间接免疫荧光检测, 结果显示 LN0636 与甲病毒抗体反应, LN0684、LN0488、LN0489 与 BAV 特异性抗体反应(图 1); 其他 4 株分离物与上述抗体不反应。与 ELISA 结果一致。

4. 病毒分子生物学鉴定:

(1) 病毒核酸电泳试验: 由于 ELISA 和 IFA 试验证明了 3 株病毒(LN0684、LN0688、LN0689)与 BAV 抗体呈阳性反应, 提示为 BAV, 为了进一步明确其类别, 对 3 株阳性分离物进行 RNA PAGE 电泳试验, 结果显示这 3 株病毒的基因组为 12 节段的双链 RAN, 呈 6-6 带形(图 2), 与 BAV 对照一致, 说明这 3 株为 BAV。

(2) 甲病毒的基因扩增: 提取阳性分离物 LN0636 的 RNA, 使用甲病毒特异性引物进行反转录, 以甲病毒属引物进行 PCR 扩增, 结果扩增出大约 1500 bp 的目的条带, 阳性产物进行核酸序列测定, 使所测得的序列与 GenBank 中已有的相应序列进行对比, 构建基于 Neibour-Jioning 方法的核苷酸序列系统发生树[图 3 罗斯河病毒(RRV)作为外群]。对辽宁分离株 LN0636 序列分析, 结果显示新分离株与甲病毒属盖塔病毒标准株(韩国分离株 swine)同源性最近(99.2%), 在一个进化枝上。与俄罗斯分离株、我国大陆分离株及台湾分离株的同源性在 95% ~ 99% 之间。

(3) BAV 的基因扩增: 提取阳性分离物 LN0684、LN0688、LN0689 的 RNA, 使用随机引物进行反转录, 以 BAV 第 12 节段引物进行 PCR 扩增, 结果扩增

出大约 850 bp 的目的条带, 阳性产物进行核酸序列测定, 使所测得的序列与 GenBank 中已有的东南亚 12 节段 RNA 病毒属 (Seadornavirus) [BAV、辽宁病毒(LNV)、Kadipiro 病毒(KDV)] 的序列进行分析, 构建基于 Neibour-Jioning 方法的核苷酸序列系统发生树。

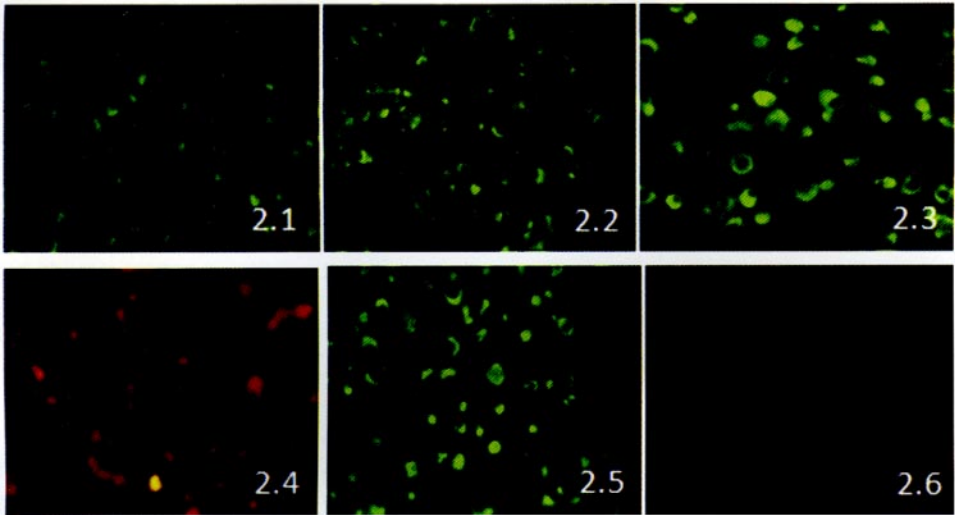
从以 LN0684、LN0688、LN0689 第 12 片段部分核苷酸序列绘制的系统发生树(图 4)可以看出, BAV 分为两个独立的进化群, 即印度尼西亚和中国群。显示了该病毒的进化在地域上的差异。同时新分离株与北京分离株(BJ95-75)和 BAV 分离株(Banna、YN-6)明显不同, 位于独立的进化枝上。

(4) 其他 4 株阳性分离物的基因扩增: 提取阳性分离物 LN0640、LN0661、LN0676、LN0677 的 RNA, 使用随机引物进行反转录, 分别以黄病毒属、甲病毒属、布尼亚病毒属加利福尼亚血清组特异性引物进行 PCR 扩增, 结果均未扩增出目的条带。

讨 论

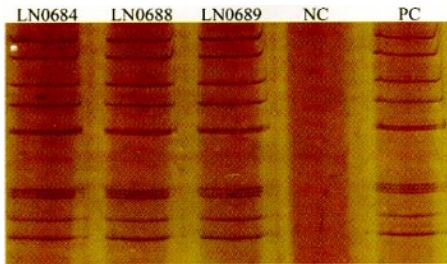
我国已经确定的 4 种虫媒病毒病中, 辽宁省只有乙脑病毒存在和流行, 但是我国学者在辽宁省人群中检测出新疆出血热病毒和森林脑炎病毒阳性抗体^[8,9], 说明辽宁省可能还有其他种类虫媒病毒的存在和流行, 但在辽宁省还没有从蚊虫体内分离到除乙脑病毒外的其他虫媒病毒报道。本研究通过在辽宁省 5 个地区采集蚊虫标本进行病毒分离, 共分离 8 株阳性分离物, 其中已鉴定 1 株为甲病毒属的盖塔病毒, 3 株为 BAV, 4 株未鉴定。

辽宁省的蚊虫种类有 5 属 34 种之多^[10], 分别为按蚊属、库蚊属、伊蚊属、阿蚊属、杵蚊属。本次采集由于专业限制, 没有对蚊虫进行详尽的分类, 库蚊只鉴定到属, 辽宁省的库蚊种类有淡色库蚊、凶小库蚊、三带喙库蚊、棕盾库蚊、东方库蚊等, 本次采集到的库蚊可能为上述蚊种, 但可以排除三带喙库蚊; 三带喙库蚊曾经在辽宁省广泛分布, 且是携带传播乙



注:1:BAV 单克隆抗体/LN0684; 2: BAV 单克隆抗体/LN0688; 3:BAV 单克隆抗体/LN0689; 4:BAV 单克隆抗体/阴性对照; 5:甲病毒组抗体/LN0636; 6:甲病毒组抗体/阴性对照

图 1 LN0684、LN0688、LN0689 和 LN0636 分离物 IFA 检测结果



注:NC:C6/36 对照; PC:BAV BJ95-75 株

图 2 新分离株 LN0684、LN0688、LN0689 的 RNA PAGE 电泳结果

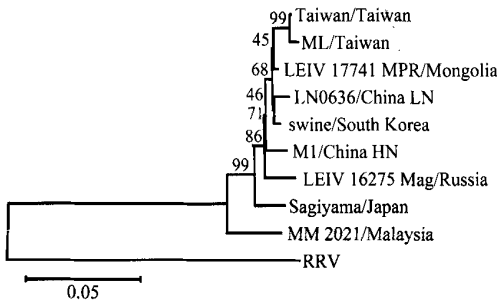


图 3 盖塔病毒部分核苷酸序列的系统发生分析

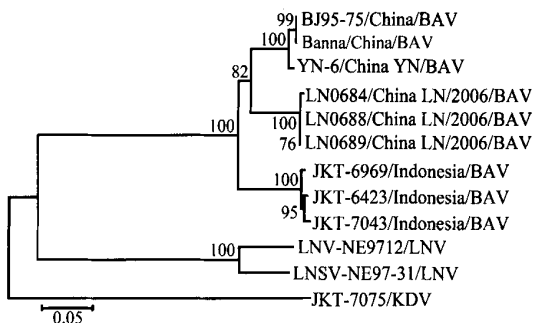


图 4 BAV 第 12 片段部分核苷酸序列的系统发生分析

脑病毒的主要蚊种,本次没有采集到三带喙库蚊,这与辽宁省在近几年蚊虫调查显示的三带喙库蚊数量明显减少,甚至有的监测点捕不到该蚊种相一致。从采集的蚊种上可以看出,中华按蚊和库蚊为辽宁省的优势蚊种,这与辽宁省以往的记录相同。本次分离到的 BAV 和盖塔病毒均分离自中华按蚊,并且分离到未知的病毒,说明中华按蚊可携带多种虫媒病毒,应该对该蚊种的自然分布状况以及携带的虫媒病毒进行更加深入的调查。

BAV 是 Seadornavirus 属成员,为 12 片段的双链 RNA 病毒。我国学者徐普庭等^[11]1987 年从云南省西双版纳地区 5—7 月采集的无名热和脑炎患者血清和脑脊液中首次分离到该病毒,命名为 Banna 病毒。已经在我国新疆、甘肃、云南、北京、吉林等地分离到过多株 BAV^[12,13],感染 BAV 的患者显示流感样症状,如疲乏、关节痛、发热,严重者可引起脑炎^[14]。本次分离到的 BAV 为辽宁省首次发现,分析表明辽宁分离株 LN0684、LN0688、LN0689 位于一个独立的进化枝上,与我国已经分离到的其他分离株的核苷酸同源性在 91.2%~94.7%。鉴于 BAV 与人的疾病有关,因此应该深入地了解此病毒的生物学特性及其与当地疾病的关系,为当地虫媒病毒病防治提供依据。

盖塔病毒属于甲病毒属成员,是一种重要的家畜哺乳动物病原,能对马和猪等动物致病,但还没有引起人感染病例的报道^[15]。盖塔病毒广泛分布于亚洲,在中国、印度、巴基斯坦、东南亚、日本等国家和地区均报道有盖塔病毒流行^[15]。我国在海南、河

北、甘肃等省分离到该病毒^[16,17]。辽宁分离株与韩国株 swine 位于同一个进化枝上,核苷酸同源率为 99.2%,与其他地方分离株同源性在 95%~99%。我国辽宁省与朝鲜半岛接壤,并且地理环境十分相似,本研究分离到的盖塔病毒与韩国分离株同源性最高,提示辽宁省可能存在与朝鲜半岛相似的虫媒病毒。

本次还分离到 4 株未知的病毒分离物,鉴定过程中发现这些分离物不与乙脑病毒、甲病毒、布尼亚病毒特异性抗体反应,并且用这些病毒的引物也未扩增出特异片段,由此可以排除乙脑病毒、甲病毒和布尼亚病毒。病毒分离物能引起 BHK-21 细胞病变,说明它们能在哺乳动物体内繁殖,因此有必要深入研究病毒新分离株的生物学特征及其与当地疾病之间的关系,为虫媒病毒病的防治提供病原学依据。

(感谢中国疾病预防控制中心传染病预防控制所刘起勇研究员对本次调查中标本采集工作的大力支持;本项研究是在中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所脑炎室完成,谨此谢忱)

参 考 文 献

[1] 梁国栋.我国虫媒病毒研究状况.中国人畜共患病杂志,1997,13(4):61-63.
 [2] 梁国栋,何英,陈伯权,等.虫媒病毒组特异性免疫腹水的制备及应用.中华实验和临床病毒学杂志,1993,7(4):374-376.
 [3] 自登云,陈伯权,俞永新.虫媒病毒与虫媒病毒病.昆明:云南科技出版社,1995:420-423.
 [4] Kuno G. Universal diagnostic RT-PCR protocol for arboviruses. J Virol Methods, 1998,72(1): 27-41.
 [5] Pfeffer M, Proebster B, Kinney RM, et al. Genus-specific detection of alphaviruses by a semi-nested reverse transcription-polymerase chain reaction. Am J Trop Med Hyg,

1997, 57: 709-718.
 [6] Kuno G, Carl J, Mitchell, et al. Detecting Bunyaviruses of the Bunyamwera and California Serogroups by a PCR technique. J Clin Microbiol, 1996, 34: 1184-1188.
 [7] 徐丽宏,陶三菊,曹玉玺,等.我国 Colti 病毒基因分型的研究.中华实验和临床病毒学杂志,2003,17(4):346-350.
 [8] 蔡增林,鲁志新,胡玲美,等.东北部分地区人血清检出新疆出血热病毒抗体.中国人兽共患病杂志,1994,10(5):50.
 [9] 张志强,吴益民,冯立,等.东北部分地区人群森林脑炎病毒抗体调查.沈阳部队医药,2006,19(2):112-113.
 [10] 辽宁省动物学会刊.沈阳:辽宁省动物学会编辑出版,1983: 31-40.
 [11] 徐普庭,王逸民,左建民,等.从云南省无名热病人和脑炎病人分离到新环状病毒.病毒学报,1990,6(1):27-32.
 [12] Attoui H, Billoir F, Biagini P, et al. Complete sequence determination and genetic analysis of Banna virus and Kadipiro virus: proposal for assignment to a new genus (Seadornavirus) within the family Reoviridae. J Gen Virol, 2000,81:1507-1515.
 [13] Tao SJ, Chen BQ. Studies of coltivirus in China. Chin Med J, 2005,118: 581-586.
 [14] 徐丽宏,梁国栋.引起人类脑炎的新双链 RNA 病毒.中华实验和临床病毒学杂志,2006,20(3):292-294.
 [15] Bryant JE, Crabtree MB, Nam VS, et al. Isolation of arboviruses from mosquitoes collected in northern Vietnam. Am J Trop Med Hyg, 2005, 73(2):470-473.
 [16] 王焕琴,刘卫滨,杨冬荣,等.河北省虫媒病毒分离鉴定.中华实验和临床病毒学杂志,2006,20(1):52-57.
 [17] Zhai YG, Wang HY, Sun XH, et al. Complete sequence characterization of isolates of Getah virus (genus Alphavirus, family Togaviridae) from China. J Gen Virol, 2008, 89: 1507-1515,1446-1456.

(收稿日期:2008-07-07)
 (本文编辑:张林东)

· 征 稿 通 知 ·

第八届全国环境与职业医学研究生学术研讨会征文

由《环境与职业医学》杂志编委会、苏州大学放射医学与公共卫生学院共同主办的“第八届全国环境与职业医学研究生学术研讨会”拟于 2009 年 4 月在苏州大学举行。

1. 会议主题:环境与职业医学研究;微观与宏观的结合。2. 征文内容:(1)环境与职业医学相关的流行病学研究、卫生统计学方法和实验方法研究;(2)相关的人类后基因组学、蛋白组学及表型遗传学研究;(3)相关的卫生经济学及法律法规研究;(4)相关的卫生信息管理学的研究;(5)环境与职业危害因素的卫生毒理学研究;(6)职业病临床及其发病机制研究;(7)环境相关疾病现状及干预研究;(8)生态环境健康与环境污染治理研究;(9)其他环境与职业医学相关领域的交叉研究。3. 征文要求:(1)论文须是未在国内公开发表的文章,具有一定创新性和学术性;(2)论文同时用中英文撰写,字数在 4000~10 000 字。提交论文一律采用电子版 WORD 文本。具体要求参见 <http://ldyx.chinajournal.net.cn>;(3)论文提交均以附件形式发送至 Email:jeom@scdc.sh.cn 邮件标题请设为:“第八届研究生学术研讨会征文”;欲同时向《环境与职业医学》杂志投稿者,请在邮件中说明;(4)征文截稿时间:2008 年 12 月 31 日。4. 联系方式:联系人:王晓宇,郭薇薇;电话:021-62758710-1322; Email: jeom@scdc.sh.cn。

《环境与职业医学》编委会

第八届全国环境与职业医学研究生学术研讨会筹备组

