

浙江省天台县2011—2018年汉坦病毒基因型别和进化变异研究

姚苹苹¹ 陈钢¹ 徐芳¹ 杨章女¹ 陈晨¹ 孙一晟¹ 卢杭景¹ 庞卫龙² 张云³
朱函坪¹ 项海青⁴

¹浙江省疾病预防控制中心微生物检验所 浙江省传染病疫苗与预防控制研究重点实验室, 杭州 310051; ²天台县疾病预防控制中心 317200; ³南京军区军事医学研究所 210002; ⁴杭州市卫生事业发展中心 310001

姚苹苹和陈钢对本文有同等贡献

通信作者:朱函坪, Email:hpzhu@cdc.zj.cn; 项海青, Email:xhq87065651@163.com

【摘要】 目的 研究2011—2018年肾综合征出血热(HFRS)国家监测点浙江省天台县汉坦病毒(HV)的基因型别和进化变异情况,了解天台县HV分子流行病学特点。方法 将天台县2011—2018年HV抗原阳性的鼠肺标本超声后提取核酸,利用HV型特异性引物,应用巢式PCR对部分M片段进行扩增分型和序列测定,将天台县2011—2018年的HV序列与国内外其他已知的HV序列进行比较,以明确该地区的基因型别,分析病毒的进化变异情况。结果 HV抗原阳性的67份鼠肺标本经型特异性引物巢式PCR扩增后31份标本为阳性,其中30份为汉滩病毒(HTNV)、1份为汉城病毒(SEOV),31份PCR阳性鼠肺均来自黑线姬鼠。31份巢式PCR阳性产物的部分M片段核苷酸序列有30株分布在HTNV单元群,1株分布在SEOV单元群。HTNV单元群中的天台T2018-130株与天台其余29株及国内外其他株同源性为84.8%~87.9%,差异较大,天台其余29株亲缘关系较近;SEOV发生群中的T2016-31株来自黑线姬鼠的鼠肺标本,与SEOV天台以往分离株ZT71株、ZT10株和浙江温州分离株Z37株在系统发生树上分布于同一或临近分支。结论 浙江省天台县HV流行的主要型别HTNV基因表现出明显的地理聚集现象,但也存在着基因差异较大的变异株T2018-130株;同时从病毒基因序列分析证实SEOV T2016-31株存在于黑线姬鼠中,可能意味着在SEOV进化过程中病毒在宿主间发生了“溢出”现象。

【关键词】 汉坦病毒;基因型;进化变异;流行特征

基金项目: 国家自然科学基金(81473036,81171609);国家重点研发计划(2017YFC1601503);国家科技重大专项(2018ZX10714002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.10.021

Genotype and evolution of hantavirus in Tiantai of Zhejiang province, 2011–2018

Yao Pingping¹, Chen Gang¹, Xu Fang¹, Yang Zhangnyu¹, Chen Chen¹, Sun Yisheng¹, Lu Hangjing¹, Pang Weilong², Zhang Yun³, Zhu Hanping¹, Xiang Haiqing⁴

¹Institute of Microbiological Test, Key Laboratory of Vaccine, Prevention and Control on Infectious Disease of Zhejiang Province, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China; ²Tiantai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Tiantai 317200, China; ³Institute of Military Medicine, Nanjing Command, Nanjing 210002, China; ⁴Hangzhou Municipal Center for Health Development, Hangzhou 310001, China

Yao Pingping and Chen Gang contributed equally to the article

Corresponding authors: Zhu Hanping, Email: hpzhu@cdc.zj.cn; Xiang Haiqing, Email: xhq87065651@163.com

【Abstract】 Objective By investigating the genotype and evolutionary variation of hantavirus (HV) in Tiantai county, a national surveillance site for hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) was set in Zhejiang province, from 2011 to 2018, to reveal the molecular epidemiological characteristics of hantavirus (HV) in Tiantai. **Methods** Total RNA was extracted from ultrasound treated HV antigen- positive rat lung samples in Tiantai from 2011 to 2018. After cDNA was prepared, nested PCR was used to amplify partial sequence of M fragments by using specific primers of HV. The sequences of HV in Tiantai from 2011 to 2018 were compared with other known HV sequences in

order to identify the genotype and analyze the evolution and variation of the virus. **Results** In 67 HV antigen-positive lung specimens, 31 were positive in nested PCR amplification with type-specific primers, including 30 Hantaan virus (HTNV) positive samples, 1 Seoul virus (SEOV) positive sample, and all the 31 samples were from *Apodemus agrarius*. The phylogenetic tree based on partial M segment was divided into monophyletic group, 30 strains were distributed in HTNV group and 1 was in SEOV group. The HTNV strain Tiantai T2018-130 was independently in one branch, sharing 84.8%–87.9% homology with other strains both at home and abroad, including 29 strains in HTNV group in Tiantai. The other 29 HTNV strains in Tiantai showed closer relationship. The SEOV strain T2016-31 from *Apodemus agrarius* showed closer relationship with previous strains of SEOV, Tiantai ZT71, ZT10 and Z37 strains of Wenzhou, Zhejiang province. **Conclusions** HTNV, the main genotype of HV in Tiantai of Zhejiang province, showed obvious geographic clustering, but the strain T2018-130 was distinct from the others in Tiantai. Meanwhile, by sequence analysis, we confirmed that The SEOV strain T2016-31 existed in *Apodemus agrarius*, indicating there was a phenomenon of “spillover” between virus and host in SEOV evolution.

【Key words】 Hantavirus; Genotype; Gene variation; Epidemiological characteristic

Fund programs: National Natural Science Foundation of China(81473036, 81171609); National Key Research and Development Program of China (2017YFC1601503); National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10714002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.10.021

汉坦病毒属于布尼亚病毒科汉坦病毒属(hantavirus, HV),是有胞膜、单股、负链、分节段的RNA病毒,其基因结构分为大(L)、中(M)、小(S)3个片段,分别编码病毒的RNA聚合酶、糖蛋白(GP)G1和G2以及核衣壳蛋白(NP)^[1]。HV的宿主动物是啮齿类动物并由啮齿动物传播给人类,人类感染HV主要导致肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)和HV肺综合征(Hantavirus pulmonary syndrome, HPS)。HV包括汉滩病毒(hantaan virus, HTNV)、汉城病毒(seoul virus, SEOV)、多布拉法-贝尔格莱德病毒(dobrava-beigrade, DOBV)、普马拉病毒(puumala virus, PUUV)等型别的病毒^[2],我国以HTNV和SEOV为主要流行株^[3]。

中国是HFRS流行的主要地区,发病率占全世界90%以上^[4],浙江省是我国HFRS的主要疫区之一^[5],天台县又是浙江省HFRS的高发区。庞卫龙等^[6]报道天台县自1965年发现首例HFRS以来,疫情开始逐渐上升,20世纪80年代达到高峰,1983年发病822例,发病率为170.4/10万,居浙江省首位^[6]。1984年开展监测并采取针对性防治措施,发病率逐年下降,但仍是全国疫情较重的发病县之一,为HFRS国家监测点。

为了研究天台县HV的基因型别分布及病毒进化变异规律和流行趋势,我们持续对该地区的HV宿主动物进行调查^[7]。本研究在前期的工作基础上利用HTNV和SEOV特异性引物,应用巢式PCR方法对2011—2018年HV抗原阳性的鼠肺标本进行病毒核酸扩增分型和序列测定,将本次测序的天台HV部分M片段序列与HV国内外其他病毒株进行比较分析。

资料与方法

1. 研究样本:来自2011—2018年浙江省HFRS国家监测点天台县捕获的野外和居民区鼠形动物中HV抗原阳性的鼠肺标本67份。

2. 病毒RNA提取:天台县HV抗原阳性的鼠肺标本经超声粉碎后采用EX2400核酸自动提取仪(上海之江生物科技股份有限公司)进行RNA提取,最后用40 μl的无RNA酶的去离子水溶解,-70℃保存备用。

3. 巢式PCR分型和测序:使用M-MLV反转录酶和反转录引物(5'-TAGTAGTAGACTCC-3')合成cDNA;应用M片段的通用外引物(上游引物:5'-AAAGTAGGTGITAYATCYTIACAATGTGG-3'、下游引物:5'-GTACAICCTGIRCCIAACCC-3');型特异性引物:HTNV上游引物(5'-GAATCGATACTGTGGGCTGCAAGTGC-3')、下游引物(5'-GGA TTAGAACCCAGCTCGTCTC-3');SEOV上游引物(5'-GTGGACTCTTCTTCTCATTATT-3')、下游引物(5'-TGGGCAATCTGGGGGGTTGCATG-3');PCR扩增的反应条件为95℃ 10 min,94℃ 60 s,55℃ 60 s,72℃ 45 s,扩增30个循环,72℃延伸12 min;扩增产物用1%~2%琼脂糖凝胶电泳鉴定,若条带的分子量与预期片段大小相同(HTNV扩增片段长度为385 bp,SEOV扩增片段长度为418 bp),则表明为特异性扩增产物,确定病毒的型别。天台县鼠肺标本经巢式PCR扩增后的阳性产物委托杭州擎科梓熙生物技术有限公司测序。

4. 分析用毒株:选取DNA序列数据库(GenBank)有代表性的27株HV与天台县2011—

2018年31份HV的序列进行比较分析,HTNV 17株和SEOV 10株,包括HTNV国际标准株76-118、SEOV国际标准株80-39、浙江省以往分离株及国内外其他分离株。27株病毒的型别、名称、宿主动物、来源以及序列号等信息,见表1。参照孙彦峰等^[8]对HV基因分型的研究,本研究的30株天台黑线姬鼠携带的病毒为HTNV的同一亚型;1株天台黑线姬鼠携带的病毒为SEOV,与浙江株Z37、ZT71和ZT10同为一个亚型。

5. 核苷酸序列分析:2011—2018年天台县31份HV与GenBank中选择的国内外有代表性的27株HV,利用M基因G2区2003~2303 nt的核苷酸序列,应用Mega 5.0和DNA Star 7.1软件包进行系统发生分析,以邻位相连法(NJ)、T92+G模型构建系统进化树^[8],分析病毒基因的型别和进化变异。

结 果

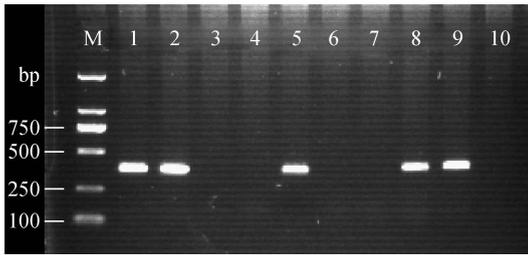
1. PCR检测及分型:采用巢式PCR方法,从天

台县67份HV抗原阳性的鼠肺标本提取RNA,利用HTNV和SEOV特异性引物,经巢式PCR扩增,30份标本用HTNV特异性引物扩增出目的条带385 bp(2012年4份:T2012-52、T2012-58、T2012-61、T2012-80;2013年9份:T2013-2、T2013-9、T2013-10、T2013-15、T2013-16、T2013-35、T2013-36、T2013-66、T2013-67;2017年5份:T2017-2、T2017-3、T2017-12、T2017-63、T2017-71;2018年12份:T2018-9、T2018-108、T2018-123、T2018-130、T2018-131、T2018-133、T2018-148、T2018-153、T2018-164、T2018-167、T2018-180、T2018-187),而用SEOV特异性引物未扩增出基因片段;1份标本用SEOV特异性引物扩增出目的条带418 bp(2016年1份:T2016-31),而用HTNV特异性引物未扩增出基因片段。31份PCR产物阳性标本均来自黑线姬鼠,这表明PCR产物阳性的30只黑线姬鼠携带HTNV,1只黑线姬鼠携带SEOV。HTNV和SEOV PCR产物条带示意图见图1。

表1 研究中用于系统发生分析的毒株信息

病毒型别	毒株	宿主动物	国家	地区	年份	序列号	
HTNV	76-118	黑线姬鼠	韩国	-	1978	M14627	
	Bao14	黑线姬鼠	中国	黑龙江省-	2003	AB127995	
	Q32	黑线姬鼠	中国	贵州省-	2006	DQ371905	
	A9	黑线姬鼠	中国	江苏省-	1997	AF035831	
	Liu	人	中国	山东省-	2000	AF288648	
	cl-1	-	日本	-	1993	D25529	
	SN7	社鼠	中国	四川省-	2000	AF288656	
	A16	黑线姬鼠	中国	陕西省-	2000	AF288645	
	TJJ16	社鼠	中国	天津市-	2007	EU074672	
	JilinAP06	大林姬鼠	中国	吉林省-	2007	EF371454	
	SC-1	大林姬鼠	韩国	-	2004	AY675353	
	B78	人	中国	山东省-	2003	AB127994	
	Z10	人	中国	浙江省嵊州市	1982	AF276987	
	Z5	黑线姬鼠	中国	浙江省嵊州市	1981	EU074224	
	Z251	黑线姬鼠	中国	浙江省龙泉市	2006	GQ120966	
	ZLS6-11	黑线姬鼠	中国	浙江省丽水市	2007	FJ753397	
	ZLS-12	黑线姬鼠	中国	浙江省丽水市	2007	FJ753399	
	SEOV	80-39	褐家鼠	韩国	-	1980	S47716
		R22	褐家鼠	中国	河南省-	1991	S68035
		SR-11	褐家鼠	日本	-	1990	M34882
L99		罗赛鼠	中国	江西省-	1997	AF035833	
K24-v2		褐家鼠	中国	浙江省新昌县	1985	AF288654	
K24-e7		褐家鼠	中国	浙江省新昌县	1985	AF288652	
Z37		褐家鼠	中国	浙江省温州市	1989	AF190119	
ZT10		东方田鼠	中国	浙江省天台县	2004	DQ159911	
ZT71		褐家鼠	中国	浙江省天台县	2003	EF117248	
Gou3		褐家鼠	中国	浙江省建德市	1981	AF145977	
ZJ5		褐家鼠	中国	浙江省建德市	2001	FJ811839	
DOBV		Dobrava	黄吼姬鼠	斯洛文尼亚	-	1994	L33685
PUUV		P360	棕背	俄罗斯	-	1993	LO8755
SNV	NMR-11	鹿鼠	美国	-	1996	NC005228	
KBRV	MF-43	东方田鼠	俄罗斯	-	1998	AJ011648	

注:-:信息未检索到;SNV:辛诺柏病毒;KBRV:哈巴罗夫斯基病毒



注: M: Mark; 1 和 2: HTNV 阳性鼠肺标本 HTNV 引物; 3 和 4: HTNV 阳性鼠肺标本 SEOV 引物; 5: HTNV 阳性对照 Z10 株 HTNV 引物; 6: 阴性对照(H₂O)HTNV 引物; 7: SEOV 阳性鼠肺标本 HTNV 引物; 8: SEOV 阳性鼠肺标本 SEOV 引物; 9: SEOV 阳性对照 Z37 株 SEOV 引物; 10: 阴性对照(H₂O)SEOV 引物

图 1 HV 抗原阳性鼠肺标本经型特异性 M 基因引物巢式 PCR 扩增分型结果

2. 同源性分析: 天台监测点 HV M 基因 G2 区 2003 ~ 2303 nt 处 300 bp 的核苷酸序列经测序, 30 株 HTNV 中的 T2018-130 株与天台县其余 29 株及 HTNV 国际标准株 76-118 和国内外其他株相比较同源性差异均较大, T2018-130 株与天台县其余 29 株同源性为 84.8% ~ 87.9%, 与 HTNV 国际标准株 76-118 同源性为 74.2%, 与邻县嵊州市 Z10 株(本实验室 HTNV 疫苗株)同源性为 76.0%, 与国内外其他 HTNV 同源性为 76.8% ~ 86.6%; 而天台县其余 29 株 HTNV 之间同源性为 95.3% ~ 100.0%。1 株来自天台县黑线姬鼠的 SEOV T2016-31 株与 SEOV 国际标准株 80-39 同源性为 93.4%, 与同为天台县 2003 年分离自褐家鼠的 SEOV ZT71 株和 2004 年分离自东方田鼠的 ZT10 株同源性分别为 98.7% 和 99.3%, 与浙江省新昌县和温州市分离株同源性为 92.0% ~ 99.0% 和 84.1% ~ 85.4%。

3. 病毒基因系统发生树分析: 利用 M 基因 G2 区 2003 ~ 2303 nt 的核苷酸序列进行系统发生分析, 2011—2018 年天台县监测点的 31 株病毒中 30 株分布在 HTNV 单元群, 从系统发生树上看同为天台县的 29 株亲缘关系较近, 分布较集中, 而天台县 T2018-130 株与其余天台株及国内外其他株相比亲缘关系较远, 但还是与天台株同分布在 HTNV 单元中的一个分支。来自天台县黑线姬鼠的 SEOV T2016-31 株分布在 SEOV 发生群, 与天台株 ZT10、ZT71 和温州株 Z37(本实验室 SEOV 疫苗株)构成一进化支, 亲缘关系较近。构建的进化树见图 2。

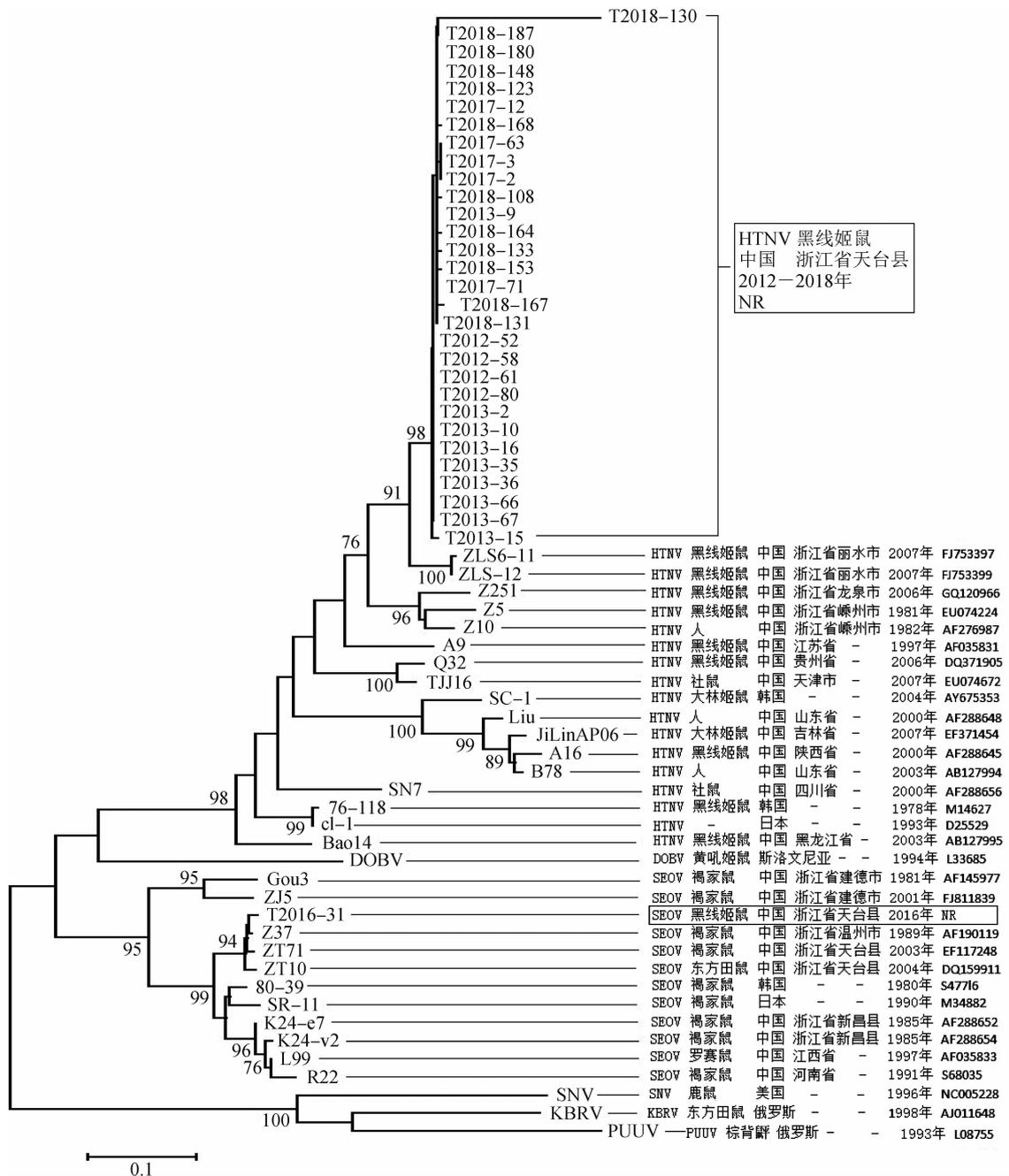
讨 论

HV 引发疾病的类型及其严重程度取决于病毒的型别。因此, 对 HV 的分型以及阐明病毒之间的关系对 HV 病原学理论研究及其防治具有重要的意

义。HV 的基因结构分为大(L)、中(M)、小(S)3 个片段, 3 个基因片段的核酸变异以 M 基因片段的变异最显著, 被认为是决定 HV 毒力和致病性的主要因素^[9]。不同型别 HV 的 M 片段核苷酸序列有明显差异, 是研究 HV 基因变异和分型的主要区域^[10]。张永振等^[11]研究发现以 NJ 法用 G2 区的 2003 ~ 2303 nt 的核苷酸序列可以代替 G1、M 或 M+S 基因片段的全序列构建系统发生树对 HV 进行分型, 而且 NJ 法可能优于最大简约法。基于病毒基因序列数据分析不但能对病毒进行基因分型, 而且也能较好地反映病毒间的系统发生关系。本研究利用巢式 PCR 分型技术及核苷酸序列测定技术, 采用 NJ 法对 2011—2018 年天台县 HV M 基因 G2 区 2003 ~ 2303 nt 的核苷酸序列构建系统发生树进行病毒基因分型及进化分析。巢式 PCR 经 HTNV 和 SEOV 型特异性引物扩增, 67 份 HV 抗原阳性鼠肺标本 HTNV 30 株、SEOV 1 株。HTNV 的主要自然宿主为黑线姬鼠, 姚苹苹等^[7]对天台县 2011—2018 年 HV 宿主动物进行了调查监测, 发现当地鼠种 78.0% 为黑线姬鼠, 本研究 67 份 HV 抗原阳性鼠肺 1 份来自褐家鼠, 其余 66 份均来自黑线姬鼠。天台县属以黑线姬鼠为主要传染源、HTNV 为主 SEOV 为辅的 HFRS 混合型疫区。

30 株 HTNV 中 29 株病毒核苷酸同源性高达 95.3% ~ 100.0%, 而 T2018-130 株与其余 29 株同源性为 84.8% ~ 87.9%, 但与 HTNV 国际标准株 76-118 和国内外其他株相比较同源性更低, 与 76-118 株为 74.2%, 与国内外其他 HTNV 为 76.8% ~ 86.6%。从系统发生树看, T2018-130 株还是与天台县其余 29 株病毒分布在 HTNV 单元群中的同一分支, 属同一亚型。

1 株 SEOV T2016-31 来自黑线姬鼠, 与 SEOV 国际标准株 80-39 同源性为 93.4%, 与同来源于天台县本实验室 2003 年分离自褐家鼠的 SEOV ZT71 株^[12]和 2004 年分离自东方田鼠的 ZT10 株^[13]同源性分别为 98.7% 和 99.3%, 与 20 世纪 80 年代分离自新昌县和温州株的同源性为 92.0% ~ 99.0% 和 84.1% ~ 85.4%。从系统发生树看, 本研究 T2016-31 株与天台县以往分离 ZT10、ZT71 株分布在同一进化支, 同属一个亚型, 3 株同地区不同宿主来源的 SEOV 在系统发生树上亲缘关系较近。这个现象再次证明浙江省 HV 的基因差异和亲缘远近关系主要表现在地区性, 而与病毒的宿主关系并不大^[14]。这种地区性现象在浙江省的 SEOV 尤为明显, 徐芳等^[15]曾发现在浙江省建德市存在 SEOV 发生群中独立分支的特殊



注：-：信息未检索到；NR：序列未注册到GenBank；SNV：辛诺柏病毒；KBRV：哈巴罗夫斯其病毒

图2 天台县2011—2018年HV与国内外代表性HV部分M片段核苷酸序列(2003~2303 nt)以NJ法构建的系统进化树

亚型病毒 Gou3 和 ZJ5 株,这 2 株病毒系本实验室分别在 1981 和 2001 年分离^[16],时间跨度 20 年,但基因序列表现出高度的地区同源性^[14]。

多年的 HV 进化理论认为 HV 与其原始宿主间存在共进化关系,即一个型别的 HV 往往只有一种原始宿主动物,即每型病毒具有相对稳定的宿主与啮齿类动物的种类形成对应关系^[17],一般认为同一个型别的 HV 在一定区域只有一种宿主动物。浙江省的 HTNV 和 SEOV 的宿主动物大部分分别为黑线姬鼠和褐家鼠,但 HV 在与宿主的共进化过程中,也

会出现病毒与宿主动物不一致的现象。2003 年本实验室从天台县的褐家鼠中分离到 SEOV ZT71 株,2004 年率先从天台县的东方田鼠中分离到 SEOV ZT10 株,本研究又从天台县的黑线姬鼠中发现 SEOV T2016-31 株。天台县的这种原始宿主与其携带病毒不一致的现象称为宿主“溢出”(spillover),国内近年研究也证实了不同型 HV 基因宿主转换现象:Liu 等^[18]研究发现湖北省出现 SEOV 溢出感染 HV 的自然宿主黑线姬鼠;范胜涛等^[19]也报道了吉林省的褐家鼠、黑线姬鼠和小家鼠中均检测到 SEOV

的存在。宿主溢出可能是暂时的,很快在动物体内得以清除,对病毒的进化和维持没有太大的意义;但也可能是永久性的,发生宿主转换并加以进化^[20]。

天台县属浙中丘陵山区,其中山丘占天台县总面积的82.3%、溪流山塘占4.0%,气候温暖湿润,生态环境非常适合啮齿类动物的生存和活动,是浙江省乃至全国重要的HFRS自然疫源地。本实验室研究发现天台县SEOV进化过程中由褐家鼠溢出到东方田鼠和黑线姬鼠,而且这一模式在鼠类中可能不断循环。天台县HV主要以HTNV为主的地区聚集性及SEOV可能不断进化突破了宿主之间的间隔现象,使此地HV防控形势变得更加严峻。因此,有必要持续深入开展HV的宿主动物调查和病毒基因进化变异研究,进一步了解HV进化规律,为寻找HV的进化动力提供资料。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 张俊丽,肖寒.肾综合征出血热病原学、实验室检测、防治措施的研究进展[J].医学综述,2017,23(21):4303-4307. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2017.21.028.
- [2] Zhang JL, Xiao H. Research progress of etiology, laboratory detection, prevention of hemorrhagic fever with renal syndrome [J]. Med Recapit, 2017, 23(21): 4303-4307. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2017.21.028.
- [3] 杨其松,张天琛,刘晓青,等.汉坦病毒及其与宿主基因相互作用研究进展[J].中华疾病控制杂志,2018,22(7):751-754. DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.07.022.
- [4] Yang QS, Zhang TC, Liu XQ, et al. Research progress of Hantavirus and its interaction with host genes [J]. Chin J Dis Control Prev, 2018, 22(7): 751-754. DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.07.022.
- [5] 黄鹏,杨章女,刘源,等.东南沿海地区1980—2015年汉坦病毒分子特征及流行病学分析[J].中国媒介生物学及控制杂志,2017,28(4):354-358. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2017.04.012.
- [6] Huang P, Yang ZN, Liu Y, et al. The molecular characteristics and epidemiological analysis of Hantavirus in southeast coastal area of China from 1980 to 2015 [J]. Chin J Vector Biol Control, 2017, 28(4): 354-358. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2017.04.012.
- [7] 王芹,李建东,张全福,等.2014年全国肾综合征出血热监测总结 and 疫情分析[J].疾病监测,2016,31(3):192-199. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2016.03.005.
- [8] Wang Q, Li JD, Zhang QF, et al. Surveillance for hemorrhagic fever with renal syndrome in China, 2014 [J]. Dis Surveill, 2016, 31(3): 192-199. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2016.03.005.
- [9] Wu HC, Wang XY, Xue M, et al. Spatial-temporal characteristics and the epidemiology of haemorrhagic fever with renal syndrome from 2007 to 2016 in Zhejiang province, China [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10244. DOI: 10.1038/s41598-018-28610-8.
- [10] 庞卫龙,葛君华,周雪冰.2011—2016年天台县肾综合征出血热监测分析[J].中国农村卫生事业管理,2018,38(7):914-916.
- [11] Pang WL, Ge JH, Zhou XB. A surveillance analysis of hemorrhagic fever with renal syndrome in Tiantai county, Zhejiang province from 2011 to 2016 [J]. Chin Rural Health Serv Adm, 2018, 38(7): 914-916.
- [12] 姚苹苹,徐芳,朱函坪,等.天台县汉坦病毒宿主动物调查及病毒分离结果[J].预防医学,2019,31(5):433-436,440. DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2019.05.001.
- [13] Yao PP, Xu F, Zhu HP, et al. The host investigation and virus isolation of Hantavirus in Tiantai county [J]. Prev Med, 2019, 31(5): 433-436, 440. DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2019.05.001.
- [14] 孙彦峰,胡侃,武永平,等.宝鸡地区汉坦病毒基因分型及序列特征研究[J].职业与健康,2016,32(8):1049-1052. DOI: 10.13329/j.cnki.zyyjk.2016.0290.
- [15] Sun YF, Hu K, Wu YP, et al. Study on genotype and gene sequence characters of Hantavirus in Baoji [J]. Occup Health, 2016, 32(8): 1049-1052. DOI: 10.13329/j.cnki.zyyjk.2016.0290.
- [16] 车雷,张国斌,高丹,等.沈阳市鼠携带汉坦病毒G2片段基因分型及序列特征分析[J].中国媒介生物学及控制杂志,2019,30(1):91-94. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.01.022.
- [17] Che L, Zhang GB, Gao D, et al. Genotyping and sequence analysis of G2 segment of Hantavirus carried by rats in Shenyang, China [J]. Chin J Vector Biol Control, 2019, 30(1): 91-94. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.01.022.
- [18] Hu TS, Fan QS, Hu XB, et al. Molecular and serological evidence for Seoul virus in rats (*Rattus norvegicus*) in Zhangmu, Tibet, China [J]. Arch Virol, 2015, 160(5): 1353-1357. DOI: 10.1007/s00705-015-2391-5.
- [19] 张永振,屈勇刚,杨东明,等.汉坦病毒系统发生分析及其基因分型的研究[J].中国人兽共患病学报,2006,22(3):193-197,201. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2006.03.001.
- [20] Zhang YZ, Qu YG, Yang DM, et al. The genotypes and phylogenetic analysis of Hantavirus [J]. Chin J Zoonoses, 2006, 22(3): 193-197, 201. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2006.03.001.
- [21] 谢荣辉,翁景清,姚苹苹,等.浙江新分离汉坦病毒ZT71株S基因片段的克隆及序列分析[J].中国人兽共患病杂志,2005,21(7):570-573. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2005.07.007.
- [22] Xie RH, Weng JQ, Yao PP, et al. Molecular cloning and nucleotide sequence analysis of the S segment of Hantavirus ZT71 strain isolated in Zhejiang province [J]. Chin J Zoonoses, 2005, 21(7): 570-573. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2005.07.007.
- [23] 翁景清,谢荣辉,姚苹苹,等.汉坦病毒东方田鼠分离株ZT10的分子特性研究[J].中华实验和临床病毒学杂志,2008,22(1):2-5. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2008.01.002.
- [24] Weng JQ, Xie RH, Yao PP, et al. Molecular characterization of Hanta virus Zhejiang isolate ZT10 strain from *M. fartsis* [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2008, 22(1): 2-5. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2008.01.002.
- [25] 姚苹苹,朱函坪,徐芳,等.浙江省汉坦病毒基因分子进化分析[J].病毒学报,2010,26(6):465-470. DOI: 10.13242/j.cnki.bingduxuebao.002124.
- [26] Yao PP, Zhu HP, Xu F, et al. Molecular evolution analysis of Hantaviruses in Zhejiang province [J]. Chin J Virol, 2010, 26(6): 465-470. DOI: 10.13242/j.cnki.bingduxuebao.002124.
- [27] 徐芳,姚苹苹,朱函坪,等.汉坦病毒浙江分离株的基因分型[J].中华实验和临床病毒学杂志,2012,26(5):344-347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2012.05.008.
- [28] Xu F, Yao PP, Zhu HP, et al. Genotype of Hantavirus in Zhejiang province [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2012, 26(5): 344-347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2012.05.008.
- [29] 姚苹苹,徐芳,朱函坪,等.汉坦病毒Vero细胞灭活疫苗候选毒种筛选[J].中国公共卫生,2007,23(2):208-209. DOI: 10.11847/zgggws2007-23-02-45.
- [30] Yao PP, Xu F, Zhu HP, et al. Selection of virus strain for production of inactivated Hantavirus vaccine of Vero cells [J]. Chin J Public Health, 2007, 23(2): 208-209. DOI: 10.11847/zgggws2007-23-02-45.
- [31] 马超锋,余鹏博,吴瑞,等.携带汉坦病毒宿主动物分布特征研究[J].中国人兽共患病学报,2015,31(1):26-29. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2015.01.006.
- [32] Ma CF, Yu PB, Wu R, et al. Spatial and temporal distribution of hosts carrying Hantaviruses [J]. Chin J Zoonoses, 2015, 31(1): 26-29. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2015.01.006.
- [33] Liu J, Liu DY, Chen W, et al. Genetic analysis of Hantaviruses and their rodent hosts in central-south China [J]. Virus Res, 2012, 163(2): 439-447. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.11.006.
- [34] 范胜涛,高晓龙,李元果,等.吉林省汉坦病毒宿主动物携带病毒的遗传进化分析[J].中国生物制品学杂志,2014,27(4):467-471,475. DOI: 10.13200/j.cnki.cjb.000245.
- [35] Fan ST, Gao XL, Li YG, et al. Genetics and evolution of viruses carried by animal hosts of Hantaviruses in Jilin province, China [J]. Chin J Biol, 2014, 27(4): 467-471, 475. DOI: 10.13200/j.cnki.cjb.000245.
- [36] Hu XQ, Li SG, Liu H, et al. Diversity and distribution of host animal species of Hantavirus and risk to human health in Jiuhua Mountain Area, China [J]. Biomed Environ Sci, 2014, 27(11): 849-857. DOI: 10.3967/bes2014.122.

(收稿日期:2019-02-05)

(本文编辑:斗智)