

## 江苏省 2009—2013 年汉坦病毒分离株全基因序列测定及分析

王慎骄<sup>1,2</sup>, 王笑辰<sup>2</sup>, 朱小娟<sup>2</sup>, 郭喜玲<sup>2</sup>, 付建光<sup>2</sup>, 祁 贤<sup>2</sup>, 朱叶飞<sup>2</sup>, 朱凤才<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 211166; <sup>2</sup>江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009)

**[摘要]** 目的:从分子水平分析 2009—2013 年江苏省分离汉坦病毒(Hantavirus, HV)的型别及变化,为疾病的预防控制提供实验依据。方法:采集 2009—2013 年江苏省肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)急性期患者血清及监测点鼠肺标本。采用胶体金法检测血清样本中汉坦病毒的 IgM、IgG 抗体,采用免疫荧光检测鼠肺样本中汉坦病毒抗原,并用 VERO E6 细胞分离病毒,RT-PCR 检测标本培养物中病毒 M 片段以鉴定 HV 病毒,采用高通量测序技术对分离株进行全基因组测序,MEGA6.0 软件对其进行序列比对和进化分析。结果:分离到的 11 株病毒与陕西分离株 LR1、四川分离株 S85-46 以及汉坦病毒原型株 76-118 遗传距离最为接近,属于汉滩(Hantaan, HTN)型病毒。分离株与 2002 年分离的江苏(A9, HTN 型)株以及浙江株、安徽株处于不同的进化分支上,表明遗传关系较远。结论:江苏的汉坦病毒优势株发生了变化,而且发生了宿主转换。目前疫苗仍具有保护效力,但需加强监测。

**[关键词]** 肾综合征出血热;汉坦病毒;基因组;序列测定;系统发生树

**[中图分类号]** R373

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)11-1564-08

**doi:**10.7655/NYDXBNS20151114

## Gene sequence determination and analysis of Hantavirus isolated strains in Jiangsu province from 2009 to 2013

Wang Shenjiao<sup>1,2</sup>, Wang Xiaochen<sup>2</sup>, Zhu Xiaojuan<sup>2</sup>, Guo Xiling<sup>2</sup>, Fu Jianguang<sup>2</sup>, Qi Xian<sup>2</sup>, Zhu Yefei<sup>2</sup>, Zhu Fengcai<sup>1,2\*</sup>  
(<sup>1</sup>School of Public Health, NJMU, Nanjing 211166; <sup>2</sup>Jiangsu Provincial Center for Diseases Control and Prevention, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective:** The gene sequence of Hantavirus isolated strains during 2009 and 2013 was analyzed at molecular level to provide evidence for the prevention and control of this disease. **Methods:** The serum of patients with acute hemorrhagic fever with renal syndrome(HFRS)and rat lung specimens were collected from 2009 to 2013. Hantavirus IgM and IgG antibody in serum samples and antigen in mouse lung samples were detected using colloidal gold and IFA assay, respectively. With VERO E6 cell line, Hantavirus was isolated, then analyzed using RT-PCR assays, and genome was sequenced using high-throughput sequencing technology. Finally, sequence alignment and phylogenetic analysis were accomplished with MEGA6.0 software. **Results:** With the closest genetic distance, isolated 11 virus isolates and Shanxi LR1, Sichuan isolates s85-46 and Hantavirus strain 76-118 prototype were all classified as Hantaan(HTN)virus. In addition, strains isolated in Jiangsu 2002(A9, HTN type)and strains in Zhejiang and Anhui on different evolutionary branches, indicated a larger genetic distance. **Conclusion:** Both Hantavirus predominant strains switchover and host transfer have happened in Jiangsu. Surveillance should be strengthened to guarantee the efficacy of the vaccine.

**[Key words]** hemorrhagic fever with renal syndrome; Hantavirus; genome; sequence; phylogenetic tree

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(11): 1564-1571]

汉坦病毒(Hantavirus, HV)属于布尼亚病毒科汉坦病毒属,病毒基因组由 3 个独立的分段负链 RNA 组成,即小(S)、中(M)和大(L)片段,它们分别

**[基金项目]** 江苏省临床医学科技专项(BL2014081);江苏省科教兴卫工程(ZX201109, RC2011085)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: jszfc@vip.sina.com

编码核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, NP)、包膜糖蛋白(G1/G2 glycoprotein)和病毒 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(putative RNA-dependent RNA polymerase)<sup>[1]</sup>。人类感染 HV 主要导致两种严重的疾病:肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)和汉坦病毒肺综合征(hantavirus pulmonary syn-

drome, HPS)。

全世界每年因此住院 60 000~100 000 例,绝大多数病例在中国<sup>[2]</sup>。2009—2013 年江苏省累计报告出血热病例 1 402 例,平均发病率达 0.36/10 万。男 1 062 例,女 340 例,男女性别比为 1:0.32,发病多以从事户外劳作的青壮年农民为主,全年存在 2 个发病高峰,秋冬峰(10 月至翌年 2 月)明显高于春峰(4 月至 7 月)。以长江为界,南部地区和北部地区发病的季节高峰存在明显差异,南部地区春峰报告病例数约占其累计发病的 50%;北部地区秋冬峰呈明显优势,报告病例占其总数的 78.01%,2011—2013 年,秋冬峰病例逐渐增多。

HV 根据其生物学性状和基因差异情况不同,可分为很多基因型,相同基因型 HV 中又可分为很多亚型。虽然目前我国流行的 HV 仍然主要是汉滩(Hantaan, HTN)型和汉城(Seoul, SEO)型,但是随着时间的推移和自然条件的变化,无论是 HTN 还是 SEO 型病毒均发生了不同程度的变异,疫区也相应地发生了变化,如新疫区的出现、传统疫区的变迁等<sup>[3]</sup>。为了解目前江苏省 HFRS 患者及宿主动物携带的汉坦病毒的型别及特征,我们采用了胶体金、免疫荧光、RT-PCR、二代测序以及构建分子进化树等方法对 HFRS 病例急性期血清及鼠肺标本进行了检测和序列分析,为制定有针对性的 HFRS 预防控措施提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

HFRS 病例急性期血清及 HFRS 鼠肺标本来源:HFRS 病例急性期血清由各地级市疾控中心送检,选取发病 5 d 内且胶体金检测 IgM 阳性血清标本 5 份;鼠肺标本来源于 1 个国家级监测点(赣榆)和 2 个省级监测点(金坛、沛县),选取免疫荧光法检测阳性的鼠肺标本 10 份。所有标本均-80℃冷冻保存。试验所用 VERO E6 细胞株由本研究室液氮保存复苏。

主要试剂:DMEM 培养基及胎牛血清(FBS)(GIBCO 公司,美国);OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN 公司,德国);TaKaRa Taq、dNTP Mixture、PCR Buffer 及 DL-100 DNA Marker (大连宝生物公司);汉坦病毒抗体检测试剂盒(胶体金法)(厦门波生生物科技有限公司);荧光标记的抗 HV 单克隆抗体(浙江省疾控中心馈赠);High Pure PCR Product Purification Kit (Roche 公司,美国);MagMAX™-96 Viral RNA Isolation Kit, SuperScript®III First-Strand

Synthesis System、Platinum-PCR Super Mix(Invitrogen 公司,美国),High Sensitivity DNA Assay Kit(Agilent Technologies 公司,美国),Nextera XT DNA Sample Preparation Kit、MiSeq Reagent Kit(300-cycles)及 Illumina MiSeq 测序系统(Illumina 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 免疫荧光检测方法

将鼠肺用冷冻切片机切成 4~5 μm 薄片,黏附在有孔的载玻片上,吹干后,冷丙酮固定 10 min;滴加荧光标记的抗 HV 单克隆抗体,置于 37℃水浴锅中的湿盒内结合 30 min;用 pH7.2 PBS 振洗 3 次,每次 1~2 min,用蒸馏水冲洗,吹干;甘油缓冲液封片镜检。如在鼠肺上皮细胞质内见颗粒状黄绿色荧光即为特异性抗原阳性。具体操作参考《病毒性出血热实验室检测操作规范》<sup>[4]</sup>。

#### 1.2.2 鼠肺标本处理

将鼠肺标本从冰箱中取出,置于冰上,在 II 级生物安全柜内取约黄豆大小的鼠肺组织,置于 2 mL 离心管内(管内提前加入 2 个 3 mm 不锈钢珠),加入 1 mL DMEM 培养液,用组织研磨器(Qiagen 公司,德国)研磨 1 min,使组织成匀浆。将匀浆液-80℃冻融 1 次,14 000 r/min 低温离心 20 min,上清转至 1.5 mL 离心管。

#### 1.2.3 病毒分离

采用 VERO E6 细胞分离 HFRS 病例急性期血清和鼠肺研磨上清液样本中的 HV。病毒分离参考《病毒性出血热实验室检测操作规范》<sup>[4]</sup>中的方法进行。分离 2 代,以获得足够的病毒载量。HV 在 VERO E6 细胞中不产生明显细胞病变。

#### 1.2.4 病毒基因组 RT-PCR 扩增制备测序模板

cDNA 第一链合成:退火 Buffer 1.0 μL,随机引物 1.0 μL,模板核酸 6.0 μL,总体积 8.0 μL。65℃ 5.0 min,冰浴 2~3 min,加入 2 × Buffer RT 10.0 μL, Sensiscript Reverse Transcriptase 2.0 μL,总体积 20.0 μL。25℃ 10 min,50℃ 50 min,85℃ 5 min,冰浴 2~3 min,加入 RNase H(60 U/μL)1.0 μL,37℃ 20 min,94℃ 2 min,10℃ 5 min。

双链 cDNA 合成:10 × NEB Buffer 2 1.0 μL, Sequenase 酶(5 U/μL)0.5 μL, RNase-free water 8.5 μL, cDNA 第一链产物 20.0 μL,总体积 30.0 μL。37℃ 8 min (Ramp to 37℃, 0.1℃/s), 94℃ 2 min, 10℃ 5 min(重复此循环步骤 2 次,每次在 37℃时补充加入 1 × NEB Buffer 2 0.5 μL, Sequenase 酶 0.5 μL)。此步扩增得到的双链 cDNA 做为测序文库制备用模板。

### 1.2.5 文库构建与测序

Qubit 2.0 荧光计将双链 cDNA 准确定量后,稀释放成 0.2 ng/ $\mu$ L。取 5  $\mu$ L 作为测序模板,按照 Nextera XT DNA Sample Preparation Kit 操作说明构建测序文库。主要步骤包括:DNA 的 Tagmentation、PCR 扩增、纯化、文库标化及混合。取 600  $\mu$ L 混合样加入 MiSeq 测序试剂样品孔,进行 1 $\times$ 150 bp 配对末端测序。

### 1.2.6 BLAST 分析、多序列比对、进化树构建分析

采用 CLC Genomics workbench (CLC Bio) 软件对测序结果进行拼接整理,将序列用 Blast 进行同源性检索并导出序列,MEGA6.0 软件进行多序列比对、整理和对齐,然后采用邻近归并法 (Neighbor-Joining),构建系统发生树,用 Bootstrap 重复抽样 1 000 次对进化树进行验证。

## 2 结果

### 2.1 病毒鉴定分离及测序结果

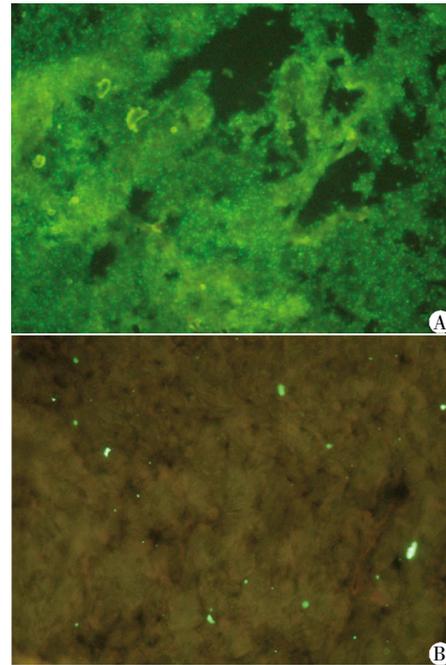
鼠肺组织免疫荧光检测结果见图 1, HV 阳性鼠肺标本上皮细胞质内可见颗粒状黄绿色荧光,而阴性标本未见特异性荧光,10 份鼠肺标本检测均为 HV 阳性。因分离病毒过程中有 3 份鼠标本污染,最终得到 12 份培养物。12 份样本培养物经 RT-PCR 检测结果,均可见 300 bp 左右的 M 片段条带(图 2),表明 HV 阳性,证明最终分离得到 12 株病毒,根据标本时间与类型命名为 JS1~JS12 株(表 1)。其中,完成全基因组测序 11 株,将测定的基因片段提交至 NCBI,登录号 L 片段:KP896307~KP896311、KP896313~KP896318;M 片段:KP970560~KP970564、KP970566~KP970571;S 片段:KP970572~KP970576、KP970578~KP970583。

### 2.2 分离株基因组序列同源性分析

高通量测序结果表明新分离 11 株 HV L 片段全长 6 533 个核苷酸,最大读码框架从 38 到 6 493,共编码 2 151 个氨基酸。M 片段为 3 618 个核苷酸,最大读码框架从 41 到 3 448,共编码 1 135 个氨基酸,核苷酸同源性为 98.20%~99.94%,与疫苗株 LR1 株同源性介于 92.68%~95.32%。S 片段为 1 692 个核苷酸,最大读码框架从 37 到 1 326,共编码 429 个氨基酸,核苷酸同源性为 97.50%~99.82%,与疫苗株 LR1 株同源性介于 86.01%~88.06%。M 片段的同源性要高于 S 片段。

### 2.3 分离株基因组序列遗传进化分析

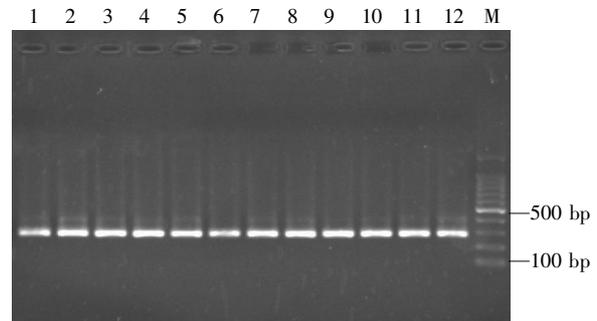
基于病毒全基因组序列数据分析不但能对病毒进行基因分型,而且也能较好反映病毒间的系统



A: 鼠肺 HV 阳性标本; B: 阴性标本。

图 1 荧光显微镜观察 HFRS 鼠肺标本

Figure 1 Fluorescence microscope result of HFRS rat's lung tissue



1~7: HFRS 鼠肺标本; 8~12: HFRS 患者血清标本。M: DL2000 marker。

图 2 HTN 型 HV M 片段扩增产物电泳图

Figure 2 The amplified product of the M segment of HV (HTN type)

表 1 毒株相关信息

Table 1 The virus strains related information

毒株	宿主	地区	年份
JS1	黑线姬鼠	沛县	2009
JS2	黑线姬鼠	沛县	2009
JS3	褐家鼠	金坛	2009
JS4	黑线姬鼠	赣榆	2009
JS5	褐家鼠	赣榆	2010
JS7	东方田鼠	金坛	2010
JS8	患者	南京	2013
JS9	患者	无锡	2010
JS10	患者	无锡	2010
JS11	患者	东海	2012
JS12	患者	东海	2012

发生关系,用于病毒进化分析的病毒株见表 2。为了进一步探明 11 株病毒各基因片段的遗传演化关系,应用 MEGA6.0 软件将分离株与 GenBank 下载的不同地区的 HV 参考毒株构建进化树。

L 片段分子进化树片段较少(图 3),显示分离株与 2002 年分离的江苏(A9、HTN 型 H8)株以及周边省份的浙江株 Z10 株(H7)不在同一分支上,表示遗传关系较远。

M、S 片段进化树均显示分离株病毒与 HTN 型外的病毒距离较远,与陕西分离株 LR1 (疫苗

株)、四川分离株 S85-46 以及韩国的 HV CUMC-B11 以及原型株 76-118 遗传关系最为接近,在同一分支上,进化上高度同源,属于 HTN 型 H5 亚型病毒。另外分离株与 2002 年分离的江苏(A9、HTN 型 H8)株以及周边省份的浙江 Z10 株(H7)、Z5 株(H7)、安徽 Chen4 株(H3)处于不同的进化分支上,表明遗传关系较远(图 4、5)。

### 3 讨论

与其他的布尼亚病毒属不同的是,HV 不通过

表 2 用于病毒进化分析的病毒株  
Table 2 The virus strains used for evolution analysis

毒株名称	来源	地区	基因号		
			S 片段	M 片段	L 段
AA1719	黑线姬鼠	俄罗斯	AF427319		
AA2499	黑线姬鼠	俄罗斯	AF427320		
AA1028	黑线姬鼠	俄罗斯	AF427318		
Bao14	黑线姬鼠	中国,黑龙江	AB127998	AB127995	
HTN261	黑线姬鼠	中国,海南	AF252259		
CJAp93	大林姬鼠	中国,吉林	EF208929	EF208930	
CGHu1	人	中国,贵州	EU092218	EU092222	
S85-46	黑线姬鼠	中国,四川	AF288659	AF288658	
LR1	疫苗株	中国	AF288294	AF288293	
CUMC-B11	未知	韩国	U37768	U38177	
76-118	黑线姬鼠	韩国	M14626	M14627	X55901
Lee	人	韩国		D00377	
CFC94-2	人	韩国	X95077		
Maaji-2	人	韩国	AF321095		
CGRn2616	褐家鼠	中国,贵州	EU363811	EU363816	
CGHu2	人	中国,贵州	EU363813	EU363819	
CGRni1	大足鼠	中国,贵州	EU363812	EU363815	
CGAa2	黑线姬鼠	中国,贵州	EU092219	EU092223	
CGRn2618	褐家鼠	中国,贵州	EU363808	EU363817	
CGRn45	褐家鼠	中国,贵州	EU092221	EU092225	
CGAa31P9	黑线姬鼠	中国,贵州	EF990910	EF990924	
CGRn15	褐家鼠	中国,贵州	EU363810	EU363814	
A16	黑线姬鼠	中国,陕西	AF288646	AF288645	
TJJ16	社鼠	中国,天津	AY839871	EU074672	
CGAa75	黑线姬鼠	中国,贵州	EU092220	EU092224	
CGHu3	人	中国,贵州	EU363809	EU363818	
CGAa31MP7	黑线姬鼠	中国,贵州	EF990911	EF990925	
Q32	黑线姬鼠	中国,贵州	AB027097	DQ371905	DQ371906
CGRn9415	褐家鼠	中国,贵州	EF990902	EF990916	
CGRn8316	褐家鼠	中国,贵州	EF990903	EF990917	
CGRn5310	褐家鼠	中国,贵州	EF990906	EF990920	
CGRn93P8	褐家鼠	中国,贵州	EF990904	EF990918	
CGRn93MP8	褐家鼠	中国,贵州	EF990905	EF990919	
CGRn53	褐家鼠	中国,贵州	EF990907	EF990921	
A9	黑线姬鼠	中国,江苏	AF329390	AF035831	AF293665
Hu	人	中国,河北	AB027111		

续表 2 用于病毒进化分析的病毒株  
Table 2(Continued) The virus strains used for evolution analysis

毒株名称	来源	地区	基因号		
			S 片段	M 片段	L 段
Z10	人	中国,浙江	AF184987	AF276987	AF189155
Z5	未知	中国,浙江	EF103195	EU074224	
CGAa1015	黑线姬鼠	中国,贵州	EF990912	EF990926	
CGAa1011	黑线姬鼠	中国,贵州	EF990913	EF990927	
CGAa4MP9	黑线姬鼠	中国,贵州	EF990915	EF990929	
CGAa4P15	黑线姬鼠	中国,贵州	EF990914	EF990928	
84FLi	人	中国,陕西	AY017064	AF345636	AF336826
Chen4	人	中国,安徽	AB027101		
SN7	社鼠	中国,四川	AF288657	AF288656	
RG9	疫苗株	中国,广州	AF288296		
E142	绒鼠	中国,云南	AF288644		
AP1371	大林姬鼠	俄罗斯	AF427324		
AP1168	大林姬鼠	俄罗斯	AF427323		
AP708	大林姬鼠	俄罗斯	AF427322		
Solovey-AP61-1999	大林姬鼠	俄罗斯	AB071183		
Solovey-AP63-1999	大林姬鼠	俄罗斯	AB071184		
H5	人	中国,黑龙江	AB127996	AB127993	
B78	人	中国,山东	AB127997	AB127994	
Liu	人	中国,山东	AF288649	AF288648	
JilinAp06	大林姬鼠	中国,吉林	EF121324	EF371454	
Hojo	人	韩国		D00376	
HV-114	人	中国		L08753	
H8205	人	中国		AB030232	
SC-1	大林姬鼠	韩国	AY675349	AY675353	DQ056292
SC-2	大林姬鼠	韩国		DQ056293	AY675354
SEOV					
L99	黄毛鼠	中国,江西	AF288299	AF288298	AF288297
DOBV					
Dobrava-Belgrade	黄喉姬鼠	斯洛文尼亚	L41916	L33685	
Poroia	黄喉姬鼠	希腊			AJ410617

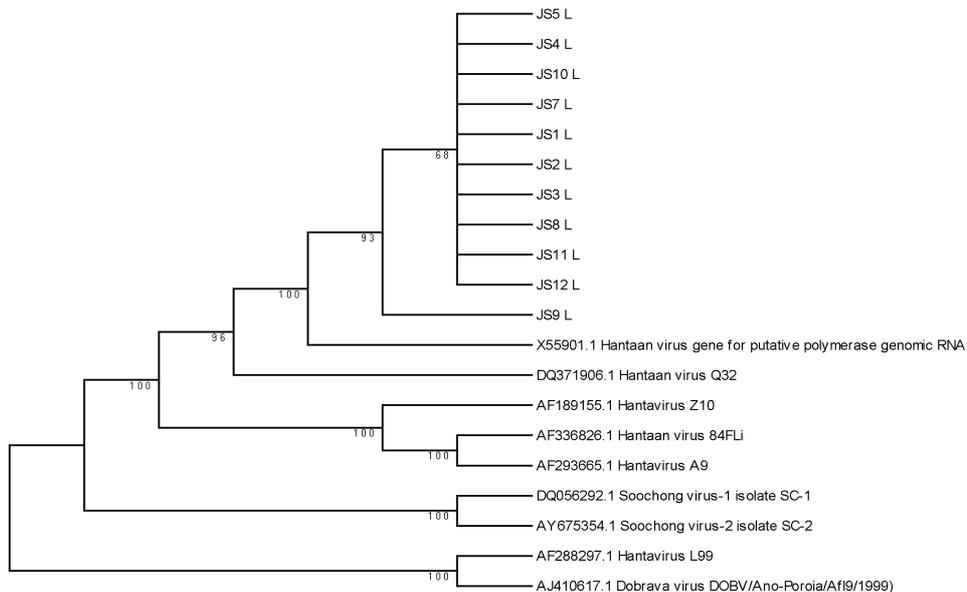


图 3 L 片段系统发生树  
Figure 3 Phylogenetic trees of L segment

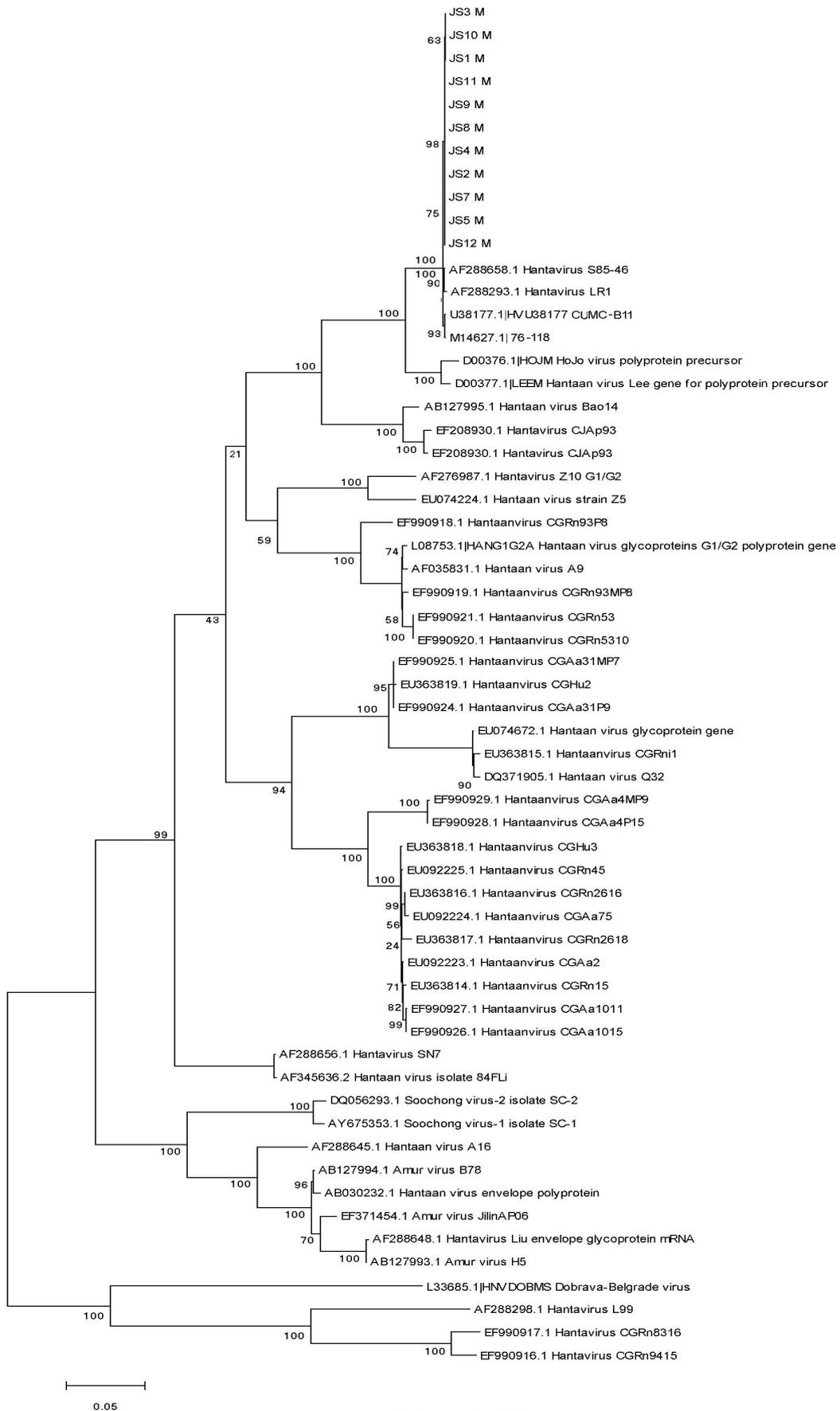


图 4 M 片段系统发生树  
Figure 4 Phylogenetic trees of M segment

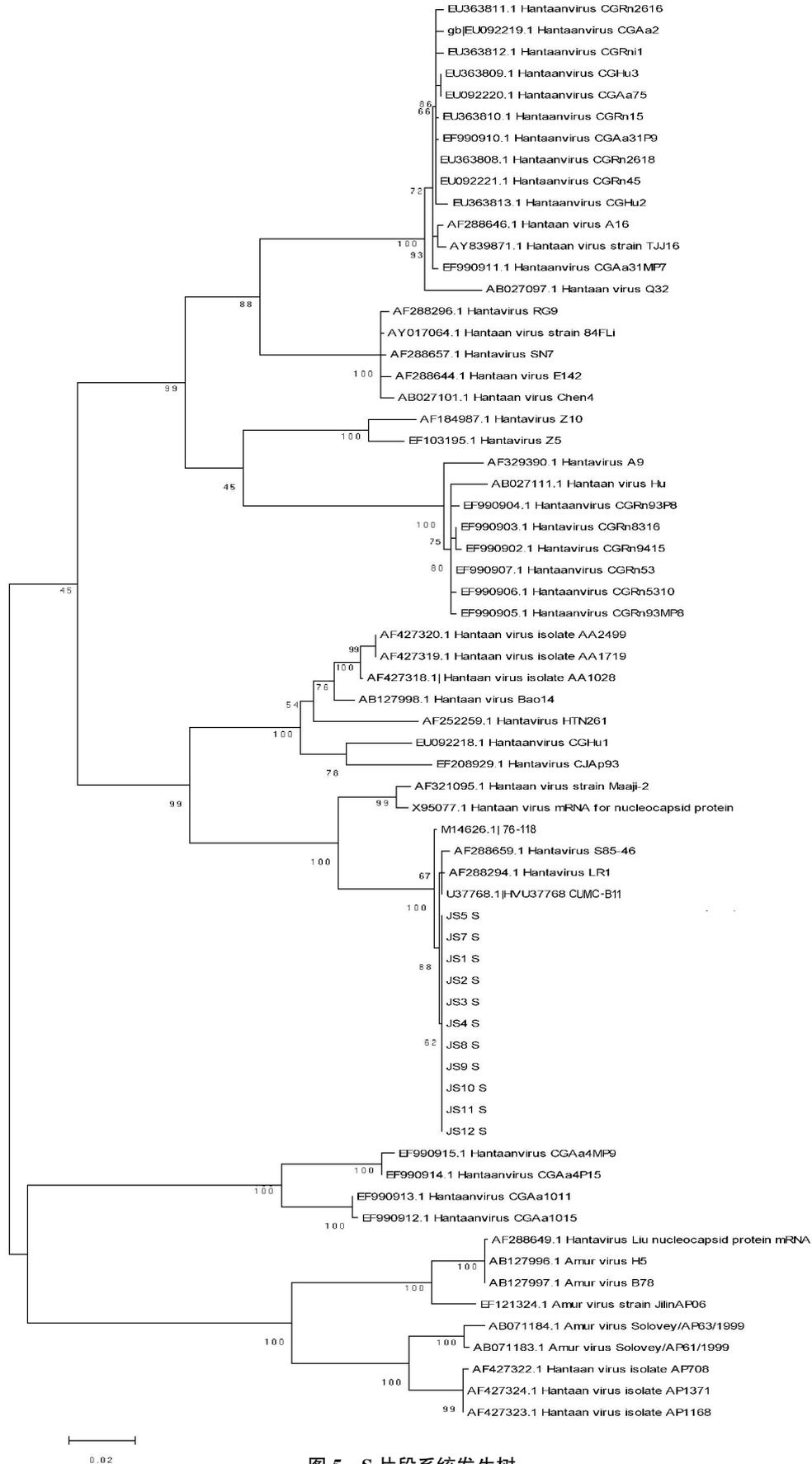


图 5 S 片段系统发生树

Figure 5 Phylogenetic trees of S segment

节肢动物传播<sup>[6]</sup>。目前全球至少有 22 种 HV,除 Thottapalayam virus 外,大部分由啮齿动物传播<sup>[7]</sup>。主要途径是人吸入带毒鼠类排泄物(唾液、尿液和粪便)的气溶胶<sup>[8]</sup>。另外还有报道通过啮齿动物咬伤<sup>[9]</sup>以及输血<sup>[10]</sup>导致传播。目前研究表明,HV 在长期的进化过程中与它们的宿主共同进化<sup>[1,11]</sup>,由于啮齿动物感染 HV 后可较长期携带病毒或排出病毒,而且通常缺少节肢动物作为传播媒介,再加上在啮齿动物间水平传播效率不高,这就限制了 HV 大范围内的快速扩散及在不同种宿主动物间的传播能力,使得 HV 的进化被局限在局部地区啮齿动物的种群中<sup>[12]</sup>。一般认为一个型别的 HV 在一定区域只有一种主要宿主动物,但同时也存在着病毒与宿主动物不一致而产生宿主溢出现象<sup>[13]</sup>,因此会导致两种结果:其一是这种感染可能只是暂时的,很快在动物体内得以清除,这种情况对病毒的维持和进化无意义;其二是发生宿主转换即病毒能够较好适应新的宿主动物并加以进化<sup>[5,14]</sup>。已有报道显示,江苏省属于 HV 混合疫区,HTN 型和 SEO 型汉坦病毒同时存在<sup>[3]</sup>。

根据以上研究,通过分子进化树 S 片段的系统分析 A9 株与贵州分离株 CGRn9415 株、CGRn8316 株、CGRn5310 株、CGRn93P8 株、CGRn93MP8 株、CGRn53 株以及湖北 Hu 株处于同一进化分支,与浙江分离株(Z10、Z5)、安徽分离株(Chen 4)较为接近。说明江苏 A9 株、周边省份的分离株可能是由贵州作为辐射中心传入<sup>[15]</sup>。但是经过十多年的变化,江苏的 HV 分离株已经与 2002 年分离的 A9 株处于不同的分支之上,由 H8 亚型<sup>[3]</sup>转变为 H5 亚型<sup>[16]</sup>。并且,与相邻省份浙江株 Z10 株、Z5 株、安徽 Chen4 株也处于不同分支,显示出地理聚集性。这可能由于国外毒株或者陕西、四川的毒株传入江苏地区后,取代了 A9 株,并且宿主群落相对稳定未经过自然界中不同地区宿主动物之间的传代。由于江苏处于混合疫区,野外也存在一定量的褐家鼠以及东方田鼠,可能发生了宿主转换的现象。由于阳性标本数量的限制,我们尚不能说明江苏已从混合疫区转变为单一的 HTN 型疫区,或者说 H8 亚型已经完全被 H5 亚型所取代。但是从标本的地区与时间分布来看,分离并测序的 11 株病毒目前为优势病毒株,且与疫苗株 LR1 株核苷酸同源性很高,可以推断目前的疫苗仍具有保护效力。由于在江苏省传统疫区大范围接种过疫苗,如果将来出现发病率增多的现象可能提示病毒的优势型别发生了变化,或者出现了新的亚型,今后仍应该加强 HV 分子流行病学的监测。

#### [参考文献]

- [1] Plyusnin A, Vapalahti O, Vaheri A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution[J]. *J Gen Virol*, 1996, 77 (Pt 11): 2677-2687
- [2] Fang LQ, Goeijenbier M, Zuo SQ, et al. The association between hantavirus infection and selenium deficiency in mainland China[J]. *Viruses*, 2015, 7(1): 333-351
- [3] 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[J]. *病毒学报*, 2002, 18(3): 211-216
- [4] 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所. 病毒性出血热实验室检测操作规范[S]. 2008
- [5] Sanchez AJ, Abbott KD, Nichol ST, et al. Genetic identification and characterization of limestone canyon virus, a unique peromyscus-borne hantavirus [J]. *Virology*, 2001, 286 (2): 345-353
- [6] Schmaljohn C, Hjelle B. Hantaviruses: a global disease problem[J]. *Emerg Infect Dis*, 1997, 3(2): 95-104
- [7] Sane J, Reimerink J, Harms M, et al. Human hantavirus infections in the Netherlands[J]. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20(12): 2107-2110
- [8] Hardestam J, Karlsson M, Falk KI, et al. Puumala hantavirus excretion kinetics in bank voles (*Myodes glareolus*) [J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(8): 1209-1215
- [9] Jonsson CB, Figueiredo LT, Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2010, 23(2): 412-441
- [10] Simisalo M, Vapalahti O, Ekblom KS, et al. Headache and low platelets in a patient with acute leukemia[J]. *J Clin Virol*, 2010, 48(3): 159-161
- [11] Meheretu YI, Cifková D, Těšíková J, et al. High diversity of RNA viruses in rodents, Ethiopia[J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(12): 2047-2050
- [12] 鄢燕贞, 陈化新, 俞永新, 等. 汉坦病毒宿主动物及其相互关系[J]. *中华预防医学杂志*, 2007, 41(2): 134-138
- [13] Mills JN, Johnson JM, Ksiazid TG, et al. A survey of hantavirus antibody in small mammal population in selected United States national parks[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, 58(4): 525-532
- [14] Chin C, Chiueh TS, Yang WC, et al. Hantavirus infection in Taiwan: the experience of a geographically unique area [J]. *J Med Virol*, 2000, 60(2): 237
- [15] Zou Y, Hu J, Wang ZX, et al. Molecular diversity and phylogeny of Hantaan virus in Guizhou, China: evidence for Guizhou as a radiation center of the present Hantaan virus[J]. *J Gen Virol*, 2008, 89(Pt 8): 1987-1997
- [16] 徐 芳, 朱函坪, 姚莘莘, 等. 浙江省 2008-2011 年啮齿动物中汉坦病毒的分离及鉴定[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2013, 24(4): 285-288

[收稿日期] 2015-04-23