DOI:10.3969/j.issn.1002－2694.2018.00.135

·实验研究·

青藏高原地区 Arctic-like 狂犬病病毒的分子流行病学研究

田 登[1]，刘桂香[1]，石 燕[1]，姜双应[1]，赵生仓[1]，徐莉莉[1]，
张华一[1]，雷有菊[1]，旦 措[2]，尕 沙[3]，罗志明[3]

摘 要：目的 为了解青海地区狂犬病病毒在人和不同动物中的流行趋势和变异特点。**方法** 在2012至2016年间，我们从青海不同地区收集194个组织样本，用直接荧光抗体（DFA）进行检测。获得的阳性标本在进行核酸扩增和序列测序分析。**结果** 从194个标本中获得了38个直接荧光抗体（DFA）阳性标本，从38个阳性标本中获得了8个狂犬病病毒全基因组序列，比较这8个完整核苷酸序列，并与CQH2012D（KM27 2192.1）和来自西藏的2012年的CXZ1201D犬（KC46352）株进行同源性分析，发现他们与2个核苷酸序列之间的相似性在95％和100％之间。对8个G基因和N基因核苷酸序列和从中国和世界的代表株的进化分析，结果表明我们得到的狂犬病病毒核苷酸全序列属于Arctic-like2组，是China Ⅳ基因型，从38个DFA阳性标本的地区分布分析表明，阳性标本的发生率在青海地区有从西向东逐渐减少的趋势。**结论** 青海流行的狂犬病以Arctic-like2为主，并随动物迁徙有由西向东扩展的趋势，流行病学数据提示人和家养动物狂犬病的传播途径是感染了狂犬病的犬或狼咬伤而发病。

关键词：Arctic-like狂犬病病毒；分子流行病学；青藏高原地区
中图分类号：R373.9 **文献标识码：**A **文章编号：**1002－2694(2018)09－0817－06

Molecular epidemiology of Arctic-like rabies viruses in the Qinghai-Tibet Plateau areas of China

TIAN Deng[1], LIU Gui-xiang[1], SHI Yan[1], JIANG Shuang-ying[1], ZHAO Sheng-cang[1], XU Li-li[1], ZHANG Hua-yi[1], LEI You-ju[1], DAN Cuo[2], GA Sha[3], LOU Zhi-ming[3]

(1.*Qinghai Province Center for Disease Control and Prevention, Xining* 810007 *China*;
2.*Guoluo Tibentan Autonomous Prefecture Center for Disease Control and Prevention, Maqin* 815000 *China*;
3.*Yushu Tibentan Autonomous Prefecture Center for Disease Control and Prevention, Yushu* 814000 *China*)

Abstract: We investigated the epidemic trend and the characteristics of mutation about rabies virus in human and different animals in Qinghai. From 2012 to 2016, we collected 194 tissue samples from different regions of Qinghai, and used direct fluorescent antibody (DFA) to test them. The positive samples were analyzed for nucleic acid amplification and sequence analysis. We obtained 38 direct fluorescent antibody (DFA)-positive specimens from 194 tissue samples and got 8 whole genome sequence of rabies virus from these 38 positive specimens. Comparing the complete nucleotide sequences of these 8 strains with each other and with CQH2012d (KM272192.1) and 2012 CXZ1201D dog from Tibet (KC46352) strain for the homology analysis, we found that the nucleotide identity was between 95％ and 100％ in between any two strains. The result of the phylogenetic analysis of the N genes and G genes of these 8 strains and representative strains from China and elsewhere in the world showed that the nucleotide sequences of these viruses belong to the Arctic-like2 group, which was closely related to the China IV lineage. Analysis of the regional distribution of 38 DFA positive specimens indicated that the incidence of positive specimens gradually decreased from west to east in Qinghai Province. The Arctic-like2 was the main prevalence type of rabies in Qinghai, and its tend to expand from west to East with the migration of animals. The epidemiological data sug-

青海省卫生计生委指导研究项目（No.20140523-35）

通讯作者：刘桂香，Email：Liucdc@ 126.com
作者单位：1.青海省疾病预防控制中心，西宁市城东区八一中路55号，西宁 810007；
2.果洛藏族自治州疾病预防控制中心，玛沁县大武镇团结路，玛沁 815000；
3.玉树省藏族自治州疾病预防控制中心，玉树县红卫路252号，玉树 814000

gest that the rabies found in domestic animals or human came from infected dogs or wild wolves in the Qinghai-Tibet Plateau area in China.

Keywords: Arctic-like rabies virus; Molecular epidemiology; Qinghai-tibet plateau area

Supported by the Qinghai Provincial Health and Family Planning Commission Guidance Research Project (No. 20140528-35)
Corresponding author: Liu Gui-xiang, Email: liucdc@126.com

目前,在国内研究狂犬病的主要对象是狗和人类,而较少对野生动物进行研究。然而,近年来,狂犬病病毒(RABV)也已从其他野生动物中分离出来,包括猫、狼、狐狸、大鼠、蝙蝠和家畜,牛、猪、羊和梅花鹿等[1-3]。早在 1991 年初,在我国内蒙古突泉县[4],狼突然袭击了一个村子,咬伤了人,牛和马。与此同时,在村里发现许多不明原因的狐狸死亡。在 2002 和 2008,许多类似的案件也发生在我国浙江省淳安县和周边地区,随后研究人员从被鼬獾咬伤后死亡的家养动物(狗、猫、猪)中得到狂犬病病毒的全序列[5-6],同时,在 2007,研究人员从内蒙古浣熊狗和红狐身上分离出狂犬病病毒[7],2012,韩国科学家在家养的动物(狗和猫)和野生动物(浣熊狗)中检测到狂犬病病毒[8]。自 1986 以来,我省根据流行病学调查资料和临床诊断结果,20 余只家畜在被感染犬或狼咬伤后感染了狂犬病,但是由于实验条件有限,研究人员没有得到实验室资料直到 2012 和 2014 年,我们发现在青海省果洛藏族自治州和玉树藏族族自治州发生了类似狼伤人和家畜事件,因此,我们开始收集狗、牦牛脊髓和人类血清和唾液标本的脑组织。对核酸片段进行测序并比较和分析,建立分子进化树,以确定感染的来源和传播途径。

1 材料与方法

1.1 收集不同来源的组织样本 2012—2016 年我们从青海省不同地区共收集了 194 个样本,包括果洛州、玉树州、黄南州、海北州、海西州、海南州、海东市。样本包括 1 例患者血清标本,5 人唾液,3 只牦牛骨髓,和 8 只狼和其他动物样本的脑组织(2 只猫,1 只蝙蝠和 3 只狐狸),其余 142 个样本由 3 种犬的脑组织组成(见表 1),第 1 种是有狂犬病的病犬,有咬伤的人和牦牛,第 2 种是犬被野狼或狂犬病咬伤,第 3 种犬是流浪犬或垂死的犬(活的动物是以安乐死的方式处死,死去的动物是取尸体)。

1.2 直接免疫荧光法检测狂犬病病毒 取脑组织或脊髓,均匀的涂印在载玻片上(使用前,将玻璃浸泡在无水酒精中 30 min)制成组织压印片,用丙酮固定10 min,加入狂犬病病毒荧光素标记的抗 RABV-N 单克隆(Japanese, Chemicon company)和伊文斯蓝染料在压片上,在 37 ℃下孵育 30 min 后,用 PBS 液洗涤 3 次,吹干。用 90%甘油封闭片,在荧光显微镜下,可见针尖大小,点状,发绿色荧光的颗粒,疑似高尔基体体(Negri 小体)和病毒颗粒[9]。

表 1 不同动物样品的组成

Tab.1 The composition of different animals sample

动物类型	样本数(只)	DFA 阳性数	全序列数
犬	142	30	5
狼	8	3	1
牦牛	3	2	1
人	5	3	1
猫	2	0	0
蝙蝠	1	0	0
狐狸	3	0	0

1.3 核酸提取与逆转录反应 用 TRIzol 法(Ambion, USA)[10-11]从脑组织和脊髓中提取总 RNA。Oligo-dT (TaKaRa, Japan)作为一个随机引物,用 Ready-To-Go™ You-Prime First-Strand Beads kit (GE Healthcare, UK)为逆转录反应试剂,根据试剂盒说明书对 mRNA 进行第一链 cDNA 的合成。

1.4 PCR 引物 通过参照 NCBI 库中 8 个毒株(AY956319.1, AF499686.2, EF437215.1, HE802676.1, HQ450386.1, KC171645.1, KF155000.1, NC001542.1)的基因组保守区序列设计了 7 对外引物和 7 对内引物(见表 2),由上海生物工程有限公司合成。

1.5 PCR 扩增 用合成的 cDNA 为模板,用 Go-Taq Green Master Mix Kit (Promega, USA)对 7 对外引物和 7 对内引物片段进行扩增,巢式 PCR 条件[12]如下:第 1 次扩增:94 ℃,预变性 3 min,94 ℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 1 min 40 s,共 34 个循环。第 2 次扩增为 94 ℃,预变性 3 min,94 ℃ 30 ℃,56 ℃ 40 秒,72 ℃ 30 ℃,35 次循环,72 ℃ 10 min,用 1.5% 琼脂糖凝胶 120 V,30 min 电泳,用 TaKaRa (100 bp-2 000 bpDNA)Markers 进行鉴定扩增产物。如果样本显示阳性条带,将其切下用于下一步的实验。

表 2　本文中使用的引物序列

Tab.2　Primer reference sequences used in this study

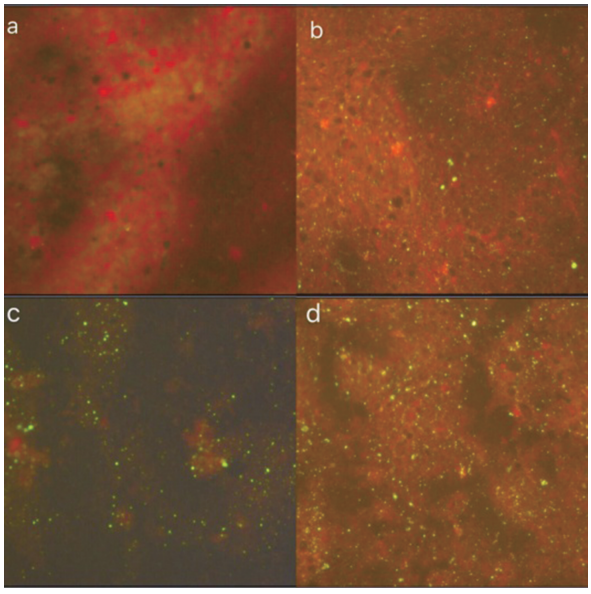
命名	引物序列	核苷酸数	退火温度	位点	长度
1rabiesF1	acgcttaaca acaagatcaa agaagaa	27	62.7		
1rabiesR1	ccctggag(A)gg ttaggaaagt tgac	24	64.5	1927	1927
rabiesR2	ttgtctgact atctggactc caacatt	27	62.7	1834	1834
rabiesF3	gaagataatc aggctcatct ccagg	25	62.7	1610	
1rabiesR3	gatgtcccca gtctcggatt ctc	23	63.7	3940	2331
rabiesF4	caagtatcga gaagactttc agatggat	28	63.2	1738	
rabiesR4	atatctgggg tcaccggcca t	21	65.0	3701	1964
rabiesF5	ggg(A)aaattcc ccatctacac gatac	25	64.3	3375	
rabiesR5	tg(A)gaacaatt g(A)tctgtcagg gtcat	25	64.5	5624	2250
rabiesF6	tcc(T)tacatgg aacttaaagt gggataca	28	64.1	3501	
rabiesR6	tagtca(G)gaat tcctcaa(G)gat gttggg	25	63.1	5520	2020
rabiesF7	tgaaggacat aagcaatagc ttacaatca	29	64.5	5260	
rabiesR7	c(T)ccgatgagg tctgatct(G)gt ctga	24	65.1	7423	2164
rabiesF8	gtacataatt ataaagggct gggtcatct	29	63.6	5308	
rabiesR8	tcctct(C)gtt(C)g actccaatct(G) ttgatg	26	68.8	7311	2004
rabiesF9	gacttgataa ttggtcttaa accaaagga	29	64.4	7016	
rabiesR9	ccgtatatgt tgacaggg(A)aa gatggt	26	64.8	9645	2063
rabiesF10	tggccaacta catcctgcca(C) ctt(C)t	24	66.8	7128	
rabiesR10	gccactaaga tt(C)gaatataa gagcccct	28	65.5	9591	2464
rabiesF11	catgtttcag ccattgatgc tttatg	26	65.1	9262	
rabiesR11	ctctc(T)tgcat ctcactcttt(C) ggg(A)ct	25	65.4	11141	1880
rabiesF12	agaatatcta gaatggtttc tggagct(G)gt	29	63.5	9440	
rabiesR12	gctacaattg aacaacacaa ggctcat	27	65.2	11116	1677
rabiesF13	agtgatagat tttgactcca tctggga	27	63.9	10684	
rabiesF14	cagaagttac tgacatc(T)gca tctatcaa	28	63.5	10806	1123
rabiesR14	acgcttaaca aataaacaag aaagataaaa a	31	63.5	11928	1245

1.6　cDNA 测序　MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit Ver. 4.0 (TaKaRa) 试剂用于熔化和纯化切下的含 DNA 片段的琼脂糖,用得到纯化 DNA 作为模板,用 BigDye Terminator v. 3.1 kit (Applied Biosystems, USA)进行了测序反应扩增,扩增的片段通过 Performa DTR Gel Filtration Cartridges kit (EdgeBio, USA)进行纯化,(上述实验参照试剂盒说明书),用 ABI 3500 基因分析仪进行序列测序。

1.7　序列分析与系统发育树的构建　用 ATGC 软件 (GenetyxCo. Tokyo, Japan)校准测序的序列片段,用 DNAstar (5.01 version, Laser gene,USA)软件用来拼接序列,The Clustal X 软件[13]用来进行全序列比对,用 Mega 2 软件包中的 The Neighbor Joining(NJ)法[14]构建系统发育树,并用 1000 个 Bootstrap(BP)复制方法估计 bootstrap neighbor-joinin tree 的可靠性。

2　结　果

2.1　狂犬病病毒抗原检测　在 2012—2016 年间,我们从青海省玉树、黄南、果洛、海北、海西、海东市等地获得了 194 个动物脑组织标本,其中有牦牛骨髓、家犬脑组织和自然死亡狼脑组织标本等均用于制成组织压印片。在荧光显微镜下,我们观察到不同大小带荧光的点和点状物,见(图 1),从这 194 种不同的动物获得 38 个 DFA 阳性结果。



(a)狂犬病病毒抗原阴性犬脑组织;(b)狂犬病病毒抗原阳性的2014狼脑组织;(c)狂犬病病毒抗原阳性2014年牦牛脊髓;(d)狂犬病病毒抗原阳性2014犬脑组织

图1 直接免疫荧光法(抗狂犬病病毒N单克隆抗体)检测狂犬病毒核蛋白抗原

Fig.1 Detection of rabies virus nucleoprotein antigens by direct immunofluorescent assay with anti-rabies virus N monclonal antibody

2.2 流行病学分析 在2012和2016年间,分别在青海省果洛藏族自治州玛多县扎陵湖和鄂陵湖附近,家犬和羊群被狼咬伤后不明原因死亡,同时,两主人被自家的犬咬伤继而感染了狂犬病而死亡,2014年,青海玉树藏族自治州称多县仲达乡和拉卜乡,发生了许多类似的疫情,因为狼咬犬,犬感染狂犬病后咬伤牦牛和羊,同时,人们在村里发现了野狼的尸体。在4年的时间里,我们得到了38个阳性样本,它们主要分布在玉树和果洛藏族自治州(见图2),在海北州或西宁地区没有发现阳性样本,大部分DFA阳性标本分布在青海省西部和南部,而且DFA阳性样品的分布趋势是由西向东递减。在相邻的省份西藏和甘肃,在2012年和2013年,也有狂犬病发生的报告,但是对于2013年来自甘肃的CGS1301D.GS株,属于China Ⅰ型[15],它与青海得到的序列不是相同的基因型别。根据流行病学区域分布数据,青海省狂犬病病毒的传播途径为西向东。在时间分布上,阳性率主要在2014和2015年,阳性样品26个,占总阳性样品的68.42%,2016年开始的阳性病例在减少,主要是因为我省牧区开展家养犬定期接种疫苗和对疯狗捕杀的工作。

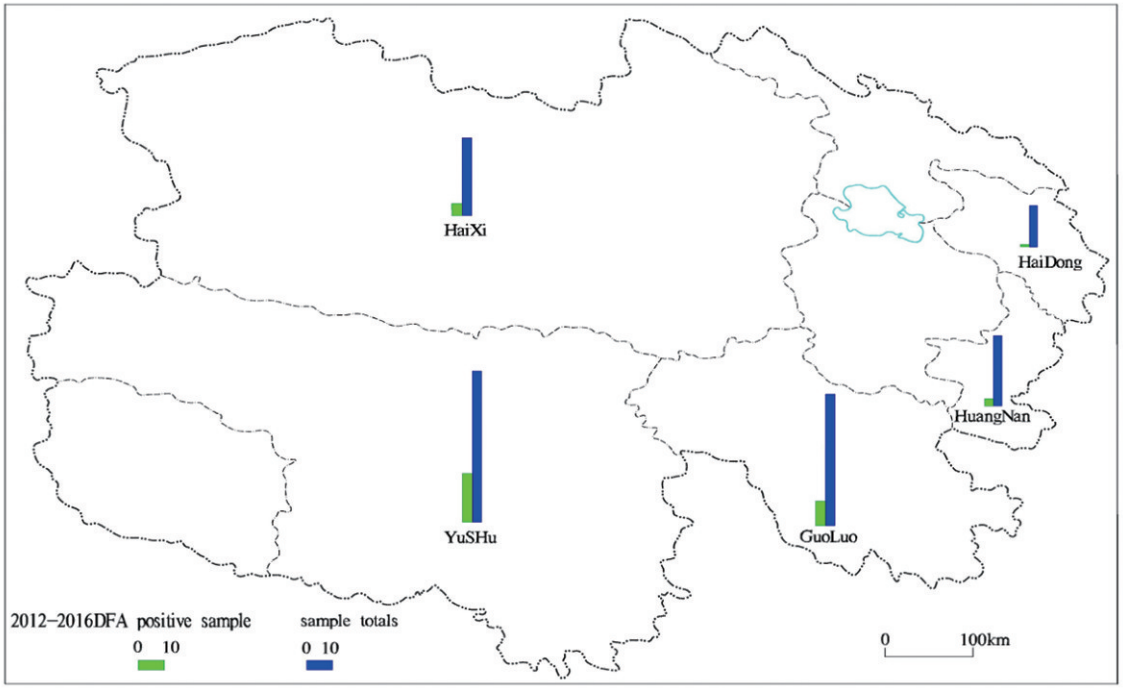


图2 青海地区DFA阳性数和样本的区域分布图

Fig.2 The regional distribution of DFA-positive case and samples in Qinghai province

2.3 核酸序列分析 通过对38个DFA阳性标本进行核酸序列片段的扩增和测序,通过生物信息学软件将序列直接连接在一起,最终获得8个全长基因组的核酸序列,(其余的样品由于核酸浓度较低,未测序成功)。这8个核苷酸序列提交到GenBank后得到的登录号为:(KY982923、KY99752、

KY982922、KY912036、KY952220、KY952219、KY964 323 和 KY964 322)。狂犬病病毒的基因是典型基因组结构,它由 N-P- G-G-L 片段组成,第一个开放阅读框(ORF)编码核蛋白(NP)开始于 75(CQHY2014W),76(CQHM2016D,CQHY2014D150,CQHY2016D),78(CQHY2014Y)和 79(CQHM2012-,CQHY2014D-Y,CQHM2016H)位氨基酸,长度为 1 350 bp,编码区起始于 ATG 密码,终止于 TAA 或 TGA;PP143-148 具有高度保守的 DKSTQT 结构域,保证和 Dynin 相互作用。在细胞质中,在含有结构脯氨酸 PPEY 的 MP 45-48 中,确保功能基的结构不改变;55-58 NLS 的 GP 糖基化位点,265-267 的 DET,33 3-335 KVS,35-340 的 NKT,通过分析,我们发现这 8 个核苷酸序列中相似性和我们实验室在 2012 年提交的序列 CQH2012D(KM27 2192.1)的相似性在 95%－100%,在序列结构上没有差异(见表 3)。

表 3　狂犬病全序列标本基本情况

Tab.3　The basic situation of whole sequence rabies specimen

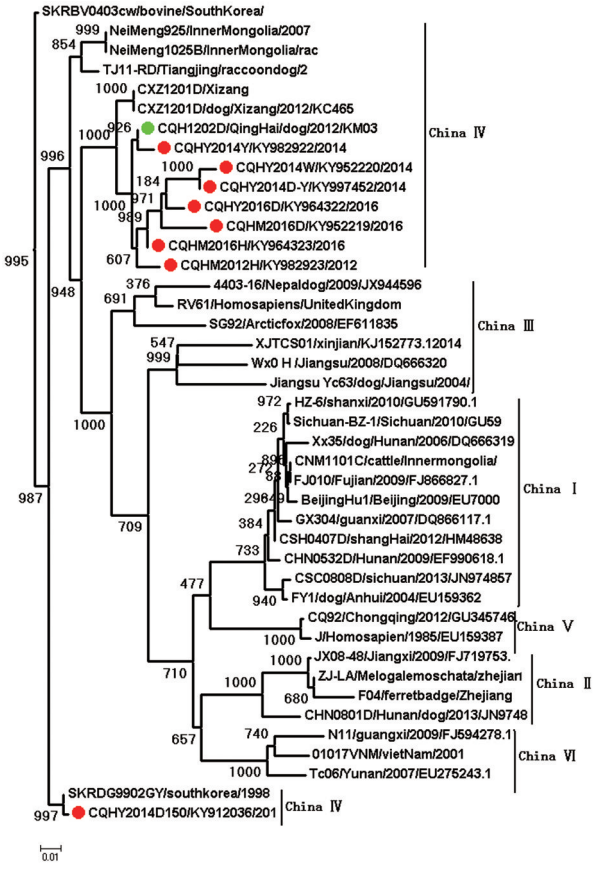
实验室编号	宿主	样品类型	样品编号	时间	收录号	其他
2012humang	human	surmer	CQHM2012H	2012.12	KY982923	Bitten by dog
2014dog-Yak	dog	brain	CQHY2014D-Y	2014.4	KY997452	dog-Yak
2014Yak	cattle	spinal cord	CQHY2014Y	2014.4	KY982922	
2014dog-150	dog	brain	CQHY2014D150	2014.10	KY912036	
2014wolf	wolf	brain	CQHY2014W	2014.11	KY952220	Natural death
2016dog	dog	brain	CQHM2016D	2016.11	KY952219	Dog-human
2016human	human	saliva	CQHM2016H	2016.11	KY964323	Bitten by dog
2016ysdog	dog	brain	CQHY2016D	2016.6	KY964322	

2.4　核苷酸序列的进化分析　我们比较了 8 株狂犬病病毒开放阅读框(ORF)的 G 基因和 N 基因核苷酸序列与来自 GenBank 中的中国和世界各地 35 株 N 基因和 38 株 G 基因序列,构建 NJ(NJ,复制＝1000)进化树,但 N 基因和 G 基因的结果相同。本研究以 8 个 N 基因序列和分别来自我省 2012 年的 CQH2012D 株(KM27 2192.1)和来自西藏的 2012 年的 CXZ1201D 犬(KC46352)株,它们形成一个独立的分支(图 3)。按照中国狂犬病病毒分成 6 个主要基因型(China I-China VI)[15-16]作为参考,我们得到的 8 个核苷酸序列属于 China Ⅳ,与 Arctic-like2 类病毒高度相关,其中包括 2008 年在内蒙古分离的 neimeng925(FJ415313)和 neimeng1025b(EU652445),这些分离株具有非常密切的亲缘关系,他们和在中国其他流行地区分离到的基因型别(Ⅰ-Ⅱ)[9]有很大的区别,(见图 3)。虽然我们没有足够的证据发现我国有独立持续存在野生动物中的狂犬病,以前的研究表明所有的结果都是狼的狂犬病是从狗溢出引起的[7]。然而,根据序列的相似性和流行病学的数据分析,表明狂犬病毒在中国青藏高原地区的传播途径是家养动物和人被野生狼或疯犬咬伤后发病。

3　讨　论

在我国狂犬病病例的报道中大多数是犬类,相对较少发生在牛中[17]。然而,在我国牛的狂犬病也有少量报道,曾发生在新疆和河南省[18-19]。近年来,韩国和其他地方有狂犬病发生在家养动物和野生动物上的报道[20-22],在我们的研究中,在青海省的人和不同动物组织样品(牦牛、狼、狗)中检测到狂犬病病毒。在我们此次的调查中表明狂犬病可以从被野狼咬伤的家养狗传播给家养的牦牛和人,通过青海狂犬病最近流行趋势表明,野生的狼可以在中国西北传播狂犬病。

在中国狂犬病的基因型中,目前 China Ⅰ型为优势型别,其中 80%分布在 19 个省(自治区、直辖市),China Ⅱ型遍及全国 7 个省(自治区、直辖市)。然而,中国的Ⅲ,Ⅳ,Ⅴ和Ⅵ组相对发生率较低,其分布区域相对有限[9],我们对本研究获得的 8 个核酸序列进行了 G、N 基因核苷酸序列的同源性和进化分析,比较他们与西藏犬 XZ1(2012)与和蒙古野生动物的亲缘关系,发现了同属于 Arctic-like 群,该群主要分布在世界的北极地区,以及亚洲西部、俄罗斯、内蒙古、韩国等国家和地区,并在野生动物中发现[18],我们此次从青藏高原地区的家畜和野生动物



“红点”是青海省疾病预防控制中心提交序列,“绿点”是中国疾病预防控制中心提交序列。

图 3 基于中国狂犬病病毒和世界其他国家狂犬病病毒 N 基因开放阅读框(ORF)核苷酸序列的系统发生树

Fig.3 Phylogenetic tree base on the open reading frame (ORF) nucleotide sequences of the N geneof Chinese rabies viruses and those from other countrie in the world

中分离出 Arctic-like2 病毒。他们都属于中国Ⅳ组。I. V. Kuzmin 在他的研究[23]表明喜马拉雅山脉和西藏的山区可能是野生动物中病毒种群的自然屏障,但我们在研究中发现的证据表明狂犬病可以打破这种自然屏障。我们所获得的序列和 2012 年从 CXZ1201d(KC465372)序列高度相似,这一结果表明 Arctic-like2 病毒分布在中国的西北部青藏高原地区。此外,由青海病毒阳性的地区分布表明,提示青海由西向东传播狂犬病的趋势与野生动物由西向东的迁移可能有一定关系。

青海位于中国西北部的青海西藏高原、果洛藏族自治州和玉树藏族自治州位于青海省南部,与玉树与西藏、四川、新疆和其他省份接壤。本研究中,38 个阳性样品主要分布在玉树州称多县和果洛州玛多县扎陵湖和岭湖,牦牛是青海－西藏高原上较为常见和优质的家畜,由于其对青海恶劣生态条件的适应性强,高山草场和雪地是这些草畜不可缺少的,牦牛在天然草地上放养,使它们易受野生动物伤害。牧民靠放牧牦牛和羊群为生,犬被用来保护主人和家畜。当狼携带狂犬病并咬伤家畜,如犬时,犬会携带狂犬病,那么主人也会被狗咬伤后死于狂犬病。在青藏高原上有许多野生动物,主要包括狼、红狐、棕熊、雪豹、土拨鼠等。2009 年,约翰逊[24]在土耳其发现狐狸、牛、猫、松鼠和其他野生动物的狂犬病。2015 年中国畜牧业发表的一项研究指出,在我国北方浣熊狗可以传播 Arctic-like 狂犬病病毒给人和动物。最近的研究表明,其他野生动物(田鼠、狐狸和蝙蝠)也能传播狂犬病病毒[25],在我们的研究中,我们收集了猫、狐狸和蝙蝠的样本,但没有发现阳性标本。这些结果表明,我们应该加强在中国西北地区狂犬病的研究和密切关注其他病毒基因型的传播。

(**致谢**:作者在卢茁壮博士的指导和帮助下完成了所有的实验室工作和引物设计。卢茁壮博士来自中国疾病预防控制中心,担任青海项目官员的国家顾问。他在我们实验室工作了一年,参与和指导我们的实验市工作。此外,我们还得到了我省的州、县疾病预防控制中心在样本采样和流行病调查工作的支持,在此一并致谢!)

参考文献:

[1] Wang LH, Tang Q, Liang GD, et al. Rabies and rabies virus in wildlife in mainland China, 1990－2013[J]. Internat J infect Dis, 2014, 8(25):22-129.DOI:org/10.1016/j.ijid.2014.04.016

[2] Zhang YZ, Xiong CL, Xiao DL, et al. Human rabies in China [J]. Emerg Infect Dis, 2005, 11: 1983-1984. DOI: 10. 3201/eid1112.040775

[3] Hu RL, Tang Q, Tang JR, et al. Rabies in China: an update[J]. Vector-Borne Zoonoat Dis, 2009, 9: 1-11. DOI: org/10. 1089/vbz.2008.0046

[4] 张永振,熊成龙,邹洋,等.贵州省安龙及其周边地区狂犬病流行病学研究[J].中国病毒学, 2006, 21(4):395-440.

[5] 王纯山,袁有,田玉生,等.疯狼引起两次狂犬病调查[J].中国人兽共患病杂志, 1997, 13(1):55-57.

[6] 施柏年,周建方,俞涧,等. 鼬獾咬伤致狂犬病 7 例[J].中国人兽共患病杂志,2004, 20(12):1103.

[7] 雷永良,王晓光,陶晓燕,等.浙江地区鼬獾和犬源狂犬病病毒分离株全基因组测序与分析[J].中国病毒学杂志,2010, 26(1):45-52.

[8] Shao XQ, Yan XJ, Luo G.L, et al. Genetic evidence for domestic raccoon dog rabiescaused by Arctic-like rabies virus in Inner Mongolia, China[J]. Epidemi Infect, 2011, 139(4): 629-635. DOI:10.1017/S0950268810001263

(下转第 829 页)