

五例恙虫病东方体感染基因型及其基因变异

姚立农² 陆群英¹ 阮卫² 占喆¹ 朱水荣¹ 姜理平¹

【摘要】目的 旨在了解浙闽地区人群恙虫病东方体感染的基因型, 并分析其基因变异。**方法** 从浙闽地区5例散发恙虫病发热期患者血中分离病原体并进行细胞培养; 提取感染细胞DNA, 巢式PCR扩增完整恙虫病东方体56-kD型特异性抗原(TSA)基因和热休克蛋白基因(groESL)并测序; 采用MEGA 7.0软件, 进行序列比对和系统发育分析。**结果** 病原学确认5例恙虫病患者, 并分离到恙虫病东方体菌株。序列比对表明, 5菌株中有2株的56-kD TSA基因和groESL基因100%一致, 另2菌株的此二个基因序列一致性亦为100%, 分别将两组菌暂时命名为浙江-1型和浙江-2型。56-kDa TSA基因比对和系统发育分析表明, 浙江-1型和浙江-2型分别与台湾-A基因型和Gilliam-C基因型亲缘较近(98.45%和98.50%), 但有明显变异; 另1株菌Wuj/2014与台湾-A基因型高度相似(99.94%)。56-kDa TSA基因各基因型支系的时间树分析表明, 台湾-A基因型、浙江-1型和浙江-2型3支系与祖先的分歧时间相对其他原型株晚, 尤其是浙江-2型, 说明这些基因型或亚型在恙虫病东方体的进化过程中出现较晚。**结论** 本研究病例所感染恙虫病东方体基因型不同, 可能为未被认识的新的基因亚型, 迫切需要进行全基因组测序确认, 并探讨其基因变异与人恙虫病严重程度间的关系。

【关键词】 立克次体病; 恙虫病; 恙虫病东方体; 基因型; 基因变异

Gene genotypes and variation of 5 cases with Orientia tsutsugamushi infection Yao Linong², Lu Qunying¹, Ruan Wei², Zhan Zhe¹, Zhu Shuirong¹, Jiang Liping¹. ¹Department of Microbiology, Zhejiang Province Center for Diseases Control and Prevention, Hangzhou 310051, China; ²Department of Communicable Diseases Control and Prevention, Zhejiang Province Center for Diseases Control and Prevention, Hangzhou 310051, China

Corresponding author: Lu Qunying, Email: lqycdc@163.com

【Abstract】Objective To investigate the genotype of Orientia tsutsugamushi (O. tsutsugamushi) infection in Zhejiang and Fujian provinces, southeastern China and to analyze the gene variation. **Methods** Strains of O. tsutsugamushi were isolated from the blood of 5 scrub typhus patients of febrile phase and then cell culture were carried out. DNA from the infected cells were extracted and full-length 56-kD type-specific antigen (TSA) gene and full-length heat shock protein gene (groESL) were amplified. The gene products were sequenced. Multiple sequence alignment and phylogenetic analyses were conducted by Mega 7.0 software. **Results** Five febrile patients with O. tsutsugamushi infection were confirmed etiologically and five O. tsutsugamushi strains were isolated. The sequence alignment of 56-kD TSA gene and groESL gene showed that 2 among the 5 strains had 100% identity; while other two strains also had 100% identity of these two genes. These two groups were temporarily named Zhejiang-1 and Zhejiang-2. The 56-kDa TSA gene alignment and phylogenetic analysis showed that Zhejiang-1 was closely related to Taiwan-A genotype (98.45%) and Zhejiang-2 was closely related to Gilliam-C genotype (98.50%), but there were obvious variations. The other 1 strain of Wuj/2014 was significantly similar to Taiwan-A genotype (99.94%). Based on 56-kDa TSA gene, the timetree based on the RelTime method showed that Taiwan-A genotype, Zhejiang-1 and especially Zhejiang-2 genotype were later than other prototypes on the divergence time from their ancestors of each genotypic clade. These genotypes or subtypes emerged later in evolutionary process of O. tsutsugamushi. **Conclusions** There may be unrecognized novel O. tsutsugamushi variants among the patients in this study. The relationship between genetic variation and severity of scrub typhus also should be discussed.

【Key words】 Rickettsiosis; Scrub typhus; Orientia tsutsugamushi; Genotype; Gene variation

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2020.02.005

基金项目: 2018年浙江省卫生科技项目 (No. 2018KY340)

作者单位: 310051 杭州市, 浙江省疾病预防控制中心微生物所¹、传染病防治所²

通信作者: 陆群英, Email: lqycdc@163.com

恙虫病 (Scrub typhus) 是一种人兽共患病, 由立克次体科的恙虫病东方体 (*Orientia tsutsugamushi*, OT) 感染引起, 以鼠类为主要传染源, 经恙螨幼虫叮咬传染人。恙虫病不仅对全球公共卫生构成严重威胁, 而且是影响世界各地旅行者健康的危险因素^[1-4]。我国为恙虫病重点疫区之一, 中国古籍记载已有1 700多年历史, 恙虫病几乎波及全国^[5-12]。恙虫病以高热、皮疹、特征性焦痂、淋巴结肿大为典型临床特征, 可引起多种并发症, 重者可致死亡。因早期临床表现缺乏特异性, 临床医生对立克次体病认知不足, 但其诊断往往仅依据临床表现, 易导致漏诊和误诊。2006年至2016年国家疾病监测数据表明, 11年间全国监测系统共记录93 481例恙虫病病例, 实验室确诊病例比例自2006年的16.3%持续下降到2016年的2.6%, 总体实验室确诊比例仅为4.7%^[13]。早期恙虫病患者易被忽视, 且很少就诊于具有病原体分离能力的医院或研究机构, 造成了病原体的分离比较困难。

本研究确认5例散发恙虫病患者, 采用体外细胞培养, 从患病急性期患者血液分离到5株OT菌株。为了解恙虫病患者感染OT的基因型, 拟扩增和测序5个菌株的完整56-kDa型特异性抗原 (type-specific antigen, TSA) 基因、10-kDa和60-kDa热休克蛋白 (10 and 60-kDa heat shock protein, groESL) 基因序

列, 进行基因型和基因变异分析, 现报道如下。

资料与方法

一、入组患者的基本资料

2011年至2014年, 收到浙江大学医学院附属第一医院、浙江大学医学院附属儿童医院、杭州市中医院和杭州市第一医院送检的5例发热患者临床样本, 5例患者临床表现为发热、皮疹、焦痂和淋巴结肿大。除1例为15个月女童, 其余患者均为男性, 年龄分别为63岁、67岁、2岁和45岁。45岁男性患者来自福建省地处闽浙赣三省交界处的浦城县, 其余4例患者均来自浙江省。

二、立克次体检测

采集患者急性期和恢复期血液送往浙江省疾病预防控制中心, 进行立克次体感染实验室确认。患者急性期血液标本首先进行OT、斑点热群 (spotted fever group Rickettsiae, SFGR) 和斑疹伤寒群 (typhus group Rickettsiae, TGR) 立克次体核酸检测, DNA提取采用DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), 操作严格参照说明书进行。靶向groEL基因片段的巢式PCR参照中国CDC《立克次体病诊断与处置手册》^[14], 引物由上海生工生物技术有限公司合成 (表1), 应用3 730 DNA Analyzer测

表 1 56-kDaTSA 基因和 groESL 基因巢式 PCR 引物

基因	引物	序列 (5'→3')	来源
groESL gene	Gro1	AAGAAGGHGTGATMAC	文献 ^[9]
	Gro2	ACTTCMGTAGCACC	
	SF1	GATAGAAGAAAAGCAATGATG	
	SR2	CAGCTATTTGAGATTAAITTG	
	TF1	ATATATCACAGTACTTTGCAAC	
	TR2	GTTCTAACTTAGATGTATCAT	
	GroF1	GGAAGAAAAGTTATATGAAAAGGTGG	
	GroF591	TGTACATGGCGATCAATGTCG	
	GroF1384	TTAAAGTAGTAGCTGTGAAGGCACC	
	GroR698	GCTGTTCTATTGCTACACATCTACC	
56-kDa TSA gene	GroR2424	GCAAAATACATAACTAGCAACCTTATAC	本研究
	F1	GGTTTCGAACGTGTCTTTAAG	
	F14	GCGGAAGCTATATATAAGAGCAGT	
	F754	TGCGTATAAGTATAGCKGATCGTGA	
	F1425	AGTAGCAGCWGCAGCTGTTAGG	
	F1490	GATCTTGTTAAATTGMAGCGTCA	
	R918	CCTTACCATATAGTCAAYACCAGCA	
	R1527	TTCTTAAWTCCTGCATGACGCT	
	R1989	GGACCTAGAAGTTATAGCGTACA	
	R2036	CTGCAAAGGACTTTTAGCTGCT	
	R2039	AACCCTGCAAAGGACTTTTAGCT	

序仪测序(擎科生物技术有限公司)。

三、病原分离和间接免疫荧光法检测

急性期血液标本接种到DH82细胞单层, 37℃培养1~2个月。当培养细胞出现细胞病变效应(如圆缩、脱落)时, 制备细胞抗原片, 用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA)检测是否感染OT, 方法参考文献^[15], 第一抗体为抗OT阳性血清。

四、56-kDa TSA基因和groESL基因扩增和测序

设计针对OT完整56-kDa TSA基因和groESL基因的引物(表1), 从感染细胞中提取DNA, 采用半巢式PCR扩增目标基因, 扩增程序参考文献^[15]。

五、序列比对和系统发育分析

目标条带测序应用MEGA 7.0进行拼接(<https://www.megasoftware.net/>)。获得的核苷酸序列进行BLAST比对(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), 并从Genbank中检索OT 56-kDa TSA基因和groESL基因序列, 选择部分在中国和亚太地区具有代表性的基因型序列, 包括经典的和新发现的菌株。分别采用邻接法(neighbor-joining, NJ)和最大似然法(maximum likelihood, ML)构建系统发育树, Bootstrap试验采用1 000次重复, 进化距离采用p-distance方法计算, 并基于RelTime时间树ML法估计各基因型支系与祖先分歧时间。

六、核苷酸序列Genbank登录号

本研究引用的56-kDa TSA基因和groESL基因参考序列的Genbank登录号及菌株名称见图1和图2。本文测序获得新序列的Genbank登录号: KC485338~40、KJ001159~63和KY701319~20。

结 果

一、恙虫病病原确认和分离

5例患者患病急性期血液标本扩增到目标片段并测序。BLAST搜索比对, 364 bp的序列与OT相似。所有血液标本显示SFGR和TGR核酸阴性。

5份血液标本接种的DH82细胞, 37℃培养2~4周后出现细胞病变效应, 细胞圆缩、脱落。制备细胞抗原片进行IFA检测, 细胞中出现典型的短杆状绿荧光颗粒, 提示接种DH82细胞已感染OT。分离到5株OT菌株, 命名为Liu/2011、Jin/2012、Zhou/2012、Mu/2013和Wuj/2014。

二、OT菌株基因型与系统发育分析

序列比对和系统发育分析表明: 无论groESL

基因还是56k-Da TSA基因, Jin/2012株和Zhou/2012株有序列100%一致, Liu/2011株和Mu/2013株也有序列100%一致。两组1 897 bp的56k-Da TSA基因序列和2 380 bp的groESL基因序列分别有88.58%和97.42%一致性。GenBank检索OT的56-kDa TSA基因和groESL基因序列, 两两比对筛选一致性较高的基因型原型株和相关株序列见表2。

56-kDa TSA基因是基因分型的主要依据, Jin/2012株和Zhou/2012株的56-kDa TSA基因与KM11-2株一致性最高(98.45%), KM11-2株、KM07和Taitung-6均属于Karp基因型相关的台湾-A型^[16-17], 被分类在Karp-A基因型。Liu/2011株和Mu/2013株与FPW2049株和KHC0706a株一致性较高, FPW2049株和KHC0706a株目前被分类在日本Gilliam-C基因型(JG-C)。根据56-kDa TSA基因, 上述4个菌株与其他已报道的Karp和Gilliam相关菌株有显著差异, 本研究暂将其命名为浙江-1型和浙江-2型。多序列比对表明, 浙江-1型符合Karp-A基因型的主要特征, 尤其在可变结构域(VD) I和II编码区变异导致的氨基酸改变(图1), 但浙江-1型和台湾-A基因型有28个核苷酸(nt)存在差异, 其中13个核苷酸差异导致了氨基酸改变而引起错义突变。另外, Wuj/2014与台湾-A基因型(Karp相关)高度相似(99.94%)。浙江-2型的56-kDa TSA基因是台湾-A型与JG-C基因型的重组产物, 重组位置在VD I编码区内的第363和364个核苷酸之间。台湾-A型序列在此有24nt的插入发生点突变, 浙江-1型也有此插入, 浙江-2型无此插入, 但此位置前后序列分别与台湾-A型和JG-C型相似。

选择GenBank中的中国和亚太地区具有代表性的OT 56-kDa TSA基因和groESL基因序列, 采用NJ和ML构建系统发育树(图2A和图2B), 拓扑结构无显著不同。56-kDa TSA基因的系统发育拓扑结构表明, 浙江-1型、浙江-2型和Wuj/2014分别属于3个分支, Wuj/2014包含在台湾-A型分支内, 而浙江-1型形成了不同于台湾-A型的独立分支, 浙江-2型和一些东南亚OT菌株形成了新的分支。

基于RelTime时间树ML法分析56-kDa TSA基因并估计各基因型支系的分歧时间表明, 包含本文菌株序列的3个分支分歧时间并不一致(图4), 浙江-1型支系较台湾-A型支系分歧时间早, 浙江-2支系与祖先分歧最晚, 可能是新出现的基因型。

表2 本研究分离菌株与参考菌株 56-kDa TSA 基因和 groESL 基因序列的一致性

菌株	基因	序列号	参考菌株	来源	一致性 (%)
Wuj/2014	56-kDa TSA	GU120152	KM07	中国台湾省	99.94
		EF583448	Taitung-6	中国台湾省	99.81
		GU446591	KM11-2	中国台湾省	99.07
		KJ001163	Zhou/2012	中国福建省	97.77
		M33004	Karp	新几内亚	92.50
		AP008981	Ikeda	日本	78.46
	groESL	KC485340	Zhou/2012	中国福建省	98.69
		AP008981	Ikeda	日本	98.23
Jin/2012、Zhou/2012 (浙江-1型)	56-kDa TSA	KP334159	Panzhihua45	中国四川省	100.00 ^a
		AY283180	China/GDst103	中国广东省	98.58
		GU446591	KM11-2	中国台湾省	98.45
		EF583448	Taitung-6	中国台湾省	97.96
		LS398552	UT76	泰国	97.43
		HQ718454	07QN_VN	越南	96.96
	groESL	M33004	Karp	新几内亚	92.08
		AP008981	Ikeda	日本	79.24
		AP008981	Ikeda	日本	99.42
		M31887	Karp	新几内亚	98.60
Liu/2011、Mu/2013 (浙江-2型)	56-kDa TSA	EF213093	FPW2049	泰国	98.50
		GQ332759	KHC0706a	中国台湾省	98.12
		HQ718444	T1116116_KH	柬埔寨	97.84
		HQ718460	61QN_VN	越南	97.65
		AP008981	Ikeda	日本	95.17
	groESL	AF050669	Sxh951	中国山西省	94.43
		KC688331	O3	日本	99.38
		JX188393	Kato	日本	98.59
		AP008981	Ikeda	日本	97.81

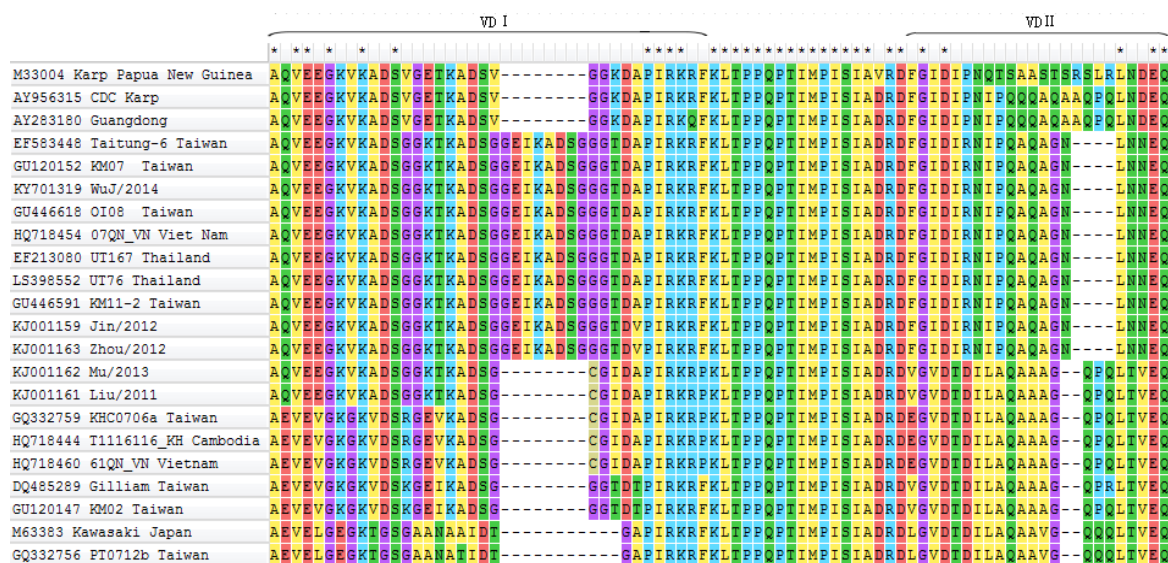
注: ^a: 此序列仅 401 bp, 其余序列均为包含完整 56-kDa TSA 基因和 groESL 基因序列

图1 浙江-1型和浙江-2型56 kDa TSA蛋白VD I 和VD II氨基酸变异

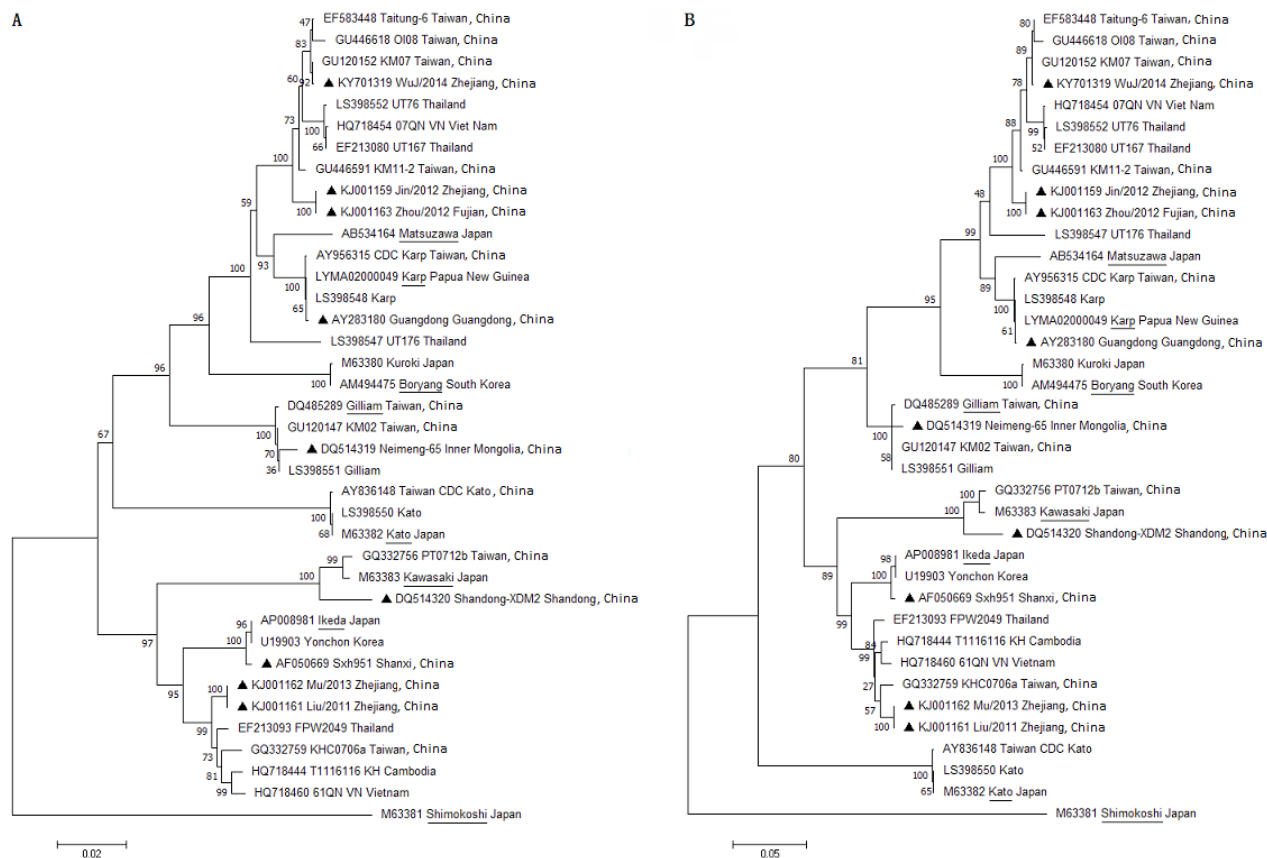


图2 基于56-kDaTSA基因构建的系统发育树

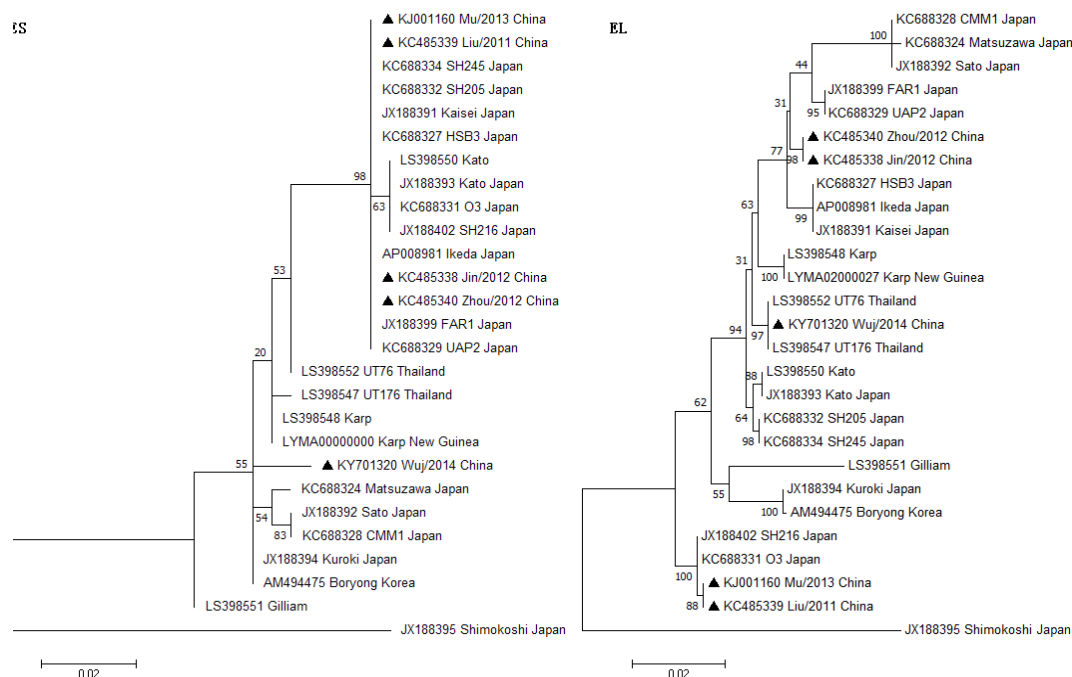


图3 基于GroESL基因构建的系统发育树 (ML)

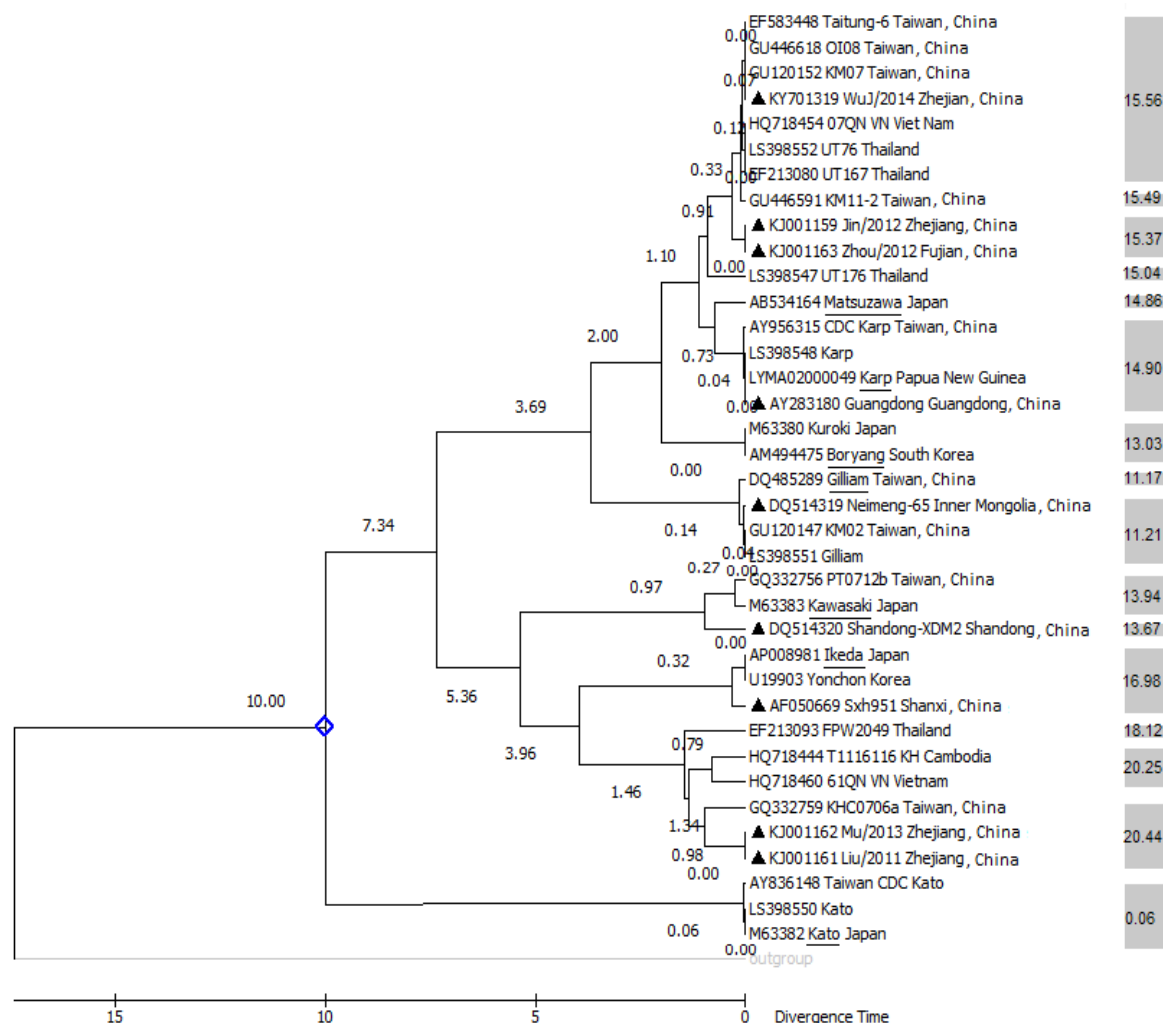


图4 基于RelTime时间树ML法估计的分歧时间

讨 论

OT菌株分型目前主要依据编码外膜蛋白的56-kDa TSA基因,其具有显著株间变异。Enatsu等^[18]将OT菌株划分成以下型: Gilliam、JG (日本Gilliam)、Karp、JP-1 (日本Karp 1型)、JP-2 (日本Karp 2型)、Kato、Kawasaki、Kuroki、Shimokoshi和其他未定型。近年来,基于56-kDa TSA基因的核苷酸序列,中国、韩国、泰国、柬埔寨和越南学者广泛研究了感染人、啮齿动物、恙螨的OT基因型,系统发育分析显示:各OT基因型不同程度的分布在各个地区,还不断有新的基因型和基因亚型被认识^[3, 19-21]。随着分子生物学技术的广泛应用,研究发现我国大陆OT菌株也存在多样性。56-kDa TSA分型表明我国长江以北报道以Kawasaki型为主,同时存在Karp、Gilliam和Ikeda

型。长江以南主要有Karp、Gilliam和Kawasaki型,还有Kato、Ikeda和TA763型。新疆维吾尔自治区人群及动物感染OT基因型以Karp为主,可能存在Saitama型。内蒙古自治区、新疆维吾尔自治区部分地区鼠类自然感染OT基因型较为复杂,可能还存在较大的变异^[22-25]。已有的OT基因型相关研究中,部分因未测序或者序列较短,分型还不够确切,需要进一步广泛并深入的调查和监测我国OT菌株的基因型。

浙江省为恙虫病流行区,近十几年来虽未发生大规模的暴发流行,但每年均有散发病例,却少有恙虫病东方体感染血清型和基因型的相关资料。近年来,在中国、泰国、柬埔寨、越南检测到Karp-A和JG-C基因亚型,这2个基因分支可能是新发现的、在东南亚地区流行的优势OT基因型或亚型。依据56-kDa TSA基因系统发育和序列比

对分析,本研究从发热期患者血液分离到的5个OT株中,Wuj/2014菌株与Karp-A亚型高度一致。浙江-1型虽然与Karp-A(台湾-A型)一致性较高(97.96%~98.58%),但变异很大,其中一些引起错义突变。56-kDa TSA基因中浙江-1型也与其他Karp-A相关株形成了不同分支。而从MEGA7.0软件RelTime法建立的时间树来看,2个支系的分歧时间不同,浙江-1型发生较早,从序列比对分析也能发现,浙江-1型与台湾-A型28个核苷酸存在差异,大部分是因台湾-A型序列的点突变引起的,浙江-1型仅有5个点突变,提示浙江-1型与祖先亲缘更近。另外,浙江-2型虽然与JG-C基因亚型相似(97.65%~98.50%),但56-kDa TSA基因序列比对表明,其是台湾-A型和JG-C型的重组产物,在系统发育树中形成了独立分支,分歧时间最晚。

综上,浙江-1型和浙江-2型与其他已知的Karp和Gilliam原型菌株和相关基因亚型明显不同,可能为未被认识的新基因亚型。但仅对几个基因测序还不够,如依据GroESL基因和56-kDa TSA基因构建的系统发育树中各基因型和亚型相互拓朴关系并不一致,故迫切需要进行全基因组测序,以发现更多的OT潜在型,并对其病原学和分子生物学特性行进一步研究,探讨基因变异与人类致病性间的相关性。

参 考 文 献

- [1] Tamura A, Ohashi N, Urakami H, et al. Classification of Rickettsia tsutsugamushi in a new genus, Orientia gen. nov., as Orientia tsutsugamushi comb. nov[J]. Int J Syst Bacteriol, 1995, 45(3): 589-591.
- [2] Walker DH. Scrub Typhus-scientific neglect, ever-widening impact[J]. N Engl J Med, 2016, 375(10): 913-915.
- [3] Luce-Fedrow A, Lehman ML, Kelly DJ, et al. A review of scrub typhus (Orientia tsutsugamushi and related organisms): then, now, and tomorrow[J]. Trop Med Infect Dis, 2018, 3(1): E8.
- [4] Bonell A, Lubell Y, Newton PN, et al. Estimating the burden of scrub typhus: A systematic review[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2017, 11(9): e0005838.
- [5] Yang YF, Wang JL, Yao YC. A survey on scrub typhus found first time in Shandong Province[J]. Chin J Epidemiol, 1987, 8(5): 280-284.
- [6] Zhang M, Zhao ZT, Wang XJ, et al. Genetic variants of Orientia tsutsugamushi in domestic rodents, Northern China[J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(7): 1135-1137.
- [7] Hu J, Tan Z, Ren D, et al. Clinical characteristics and risk factors of an outbreak with scrub typhus in previously unrecognized areas, Jiangsu Province, China 2013[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0125999.
- [8] Cao M, Che L, Zhang J, et al. Determination of scrub typhus suggests a new epidemic focus in the Anhui Province of China[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20737.
- [9] Sun Y, Wei YH, Yang Y, et al. Rapid increase of scrub typhus incidence in Guangzhou, southern China, 2006-2014[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 13.
- [10] Li W, Dou X, Zhang L, et al. Laboratory diagnosis and genotype identification of scrub typhus from Pinggu district, Beijing, 2008 and 2010[J]. Am J Trop Med Hyg, 2013, 89(1): 123-129.
- [11] Zheng L, Yang HL, Bi ZW, et al. Epidemic characteristics and spatio-temporal patterns of scrub typhus during 2006-2013 in Tai'an, Northern China[J]. Epidemiol Infect, 2015, 143(11): 2451-2458.
- [12] Wu YC, Qian Q, Soares Magalhaes RJ, et al. Spatiotemporal dynamics of scrub typhus transmission in mainland China, 2006-2014[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2016, 10(8): e0004875.
- [13] Xin HL, Yu JX, Hu MG, et al. Evaluation of scrub typhus diagnosis in China: analysis of nationwide surveillance data from 2006 to 2016[J]. Infect Dis Poverty, 2019, 8(1): 59.
- [14] 中国疾病预防控制中心传染病所立克次体研究室. 立克次体病诊断与处置手册[M]. 北京: 卫生部办公厅, 2008.
- [15] Lu Q, Yu J, Yu L, et al. Rickettsia japonica Infections in Humans, Zhejiang Province, China, 2015[J]. Emerg Infect Dis, 2018, 24(11): 2077-2079.
- [16] Yang HH, Huang IT, Lin CH, et al. New genotypes of Orientia tsutsugamushi isolated from humans in eastern Taiwan[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e46997.
- [17] Lin PR, Tsai HP, Tsui PY, et al. Genetic typing, based on the 56-kilodalton type-specific antigen gene, of Orientia tsutsugamushi strains isolated from chiggers collected from wild-caught rodents in Taiwan[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(10): 3398-3405.
- [18] Enatsu T, Urakami H, Tamura A. Phylogenetic analysis of Orientia tsutsugamushi strains based on the sequence homologies of 56-kDa type-specific antigen genes[J]. FEMS Microbiol Lett, 1999, 180(2): 163-169.
- [19] Jeong HW, Choi YK, Baek YH, et al. Phylogenetic analysis of the 56-kDa type-specific protein genes of Orientia tsutsugamushi in Central Korea[J]. J Korean Med Sci, 2012, 27(11): 1315-1319.
- [20] Ruang-Areerate T, Jeamwattanalert P, Rodkumtong W, et al. Genotype diversity and distribution of Orientia tsutsugamushi causing scrub typhus in Thailand[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(7): 2584-2589.
- [21] Duong V, Mai TT, Blasdel K, et al. Molecular epidemiology of Orientia tsutsugamushi in Cambodia and Central Vietnam reveals a broad region-wide genetic diversity [J]. Infect Genet Evol, 2013, 15(1): 35-42.
- [22] Zhang L, Bi Z, Kou Z, et al. Scrub typhus caused by Orientia tsutsugamushi Kawasaki-related genotypes in Shandong Province, Northern China [J]. Infect Genet Evol, 2015, 30: 238-243.
- [23] De W, Jing K, Huan Z, et al. Scrub typhus, a disease with increasing threat in Guangdong, China[J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0113968.
- [24] 张倩, 刘运喜, 吴晓明, 等. 中国内蒙古, 新疆部分地区鼠类自然感染恙虫病东方体的调查[J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(6): 475-478.
- [25] 任立松, 党荣理, 马德新, 等. 新疆部分地区人群及动物感染恙虫病东方体调查[J]. 热带医学杂志, 2012, 12(10): 1249-1257.

(收稿日期: 2019-06-11)

(本文编辑: 孙荣华)

姚立农, 陆群英, 阮卫, 等. 五例恙虫病东方体感染基因型及其基因变异[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020, 14(2): 110-116.