

· 论 著 ·

5例HIV-1感染者 pol 基因进化和感染时间推断研究

辛若雷¹, 李佳¹, 孙丽君², 刘安², 张琴¹, 孙伟东¹, 李洁¹, 卢红艳¹, 白立石¹

1.北京市疾病预防控制中心(北京市预防医学研究中心)性病艾滋病防治所,北京 100013; 2.首都医科大学附属北京佑安医院

摘要: **目的** 研究未接受抗反转录病毒治疗的HIV-1感染者 pol 基因进化特征,并用贝叶斯合并理论推断感染时间,为艾滋病疫情评估提供依据。**方法** 募集5例未接受抗反转录病毒治疗的HIV-1感染者,定期随访并采集血样,用RT-PCR法扩增 pol 基因片段,分析基因型耐药突变;采用贝叶斯合并理论分析毒株进化关系,构建最大可信(MCC)进化树,推测其最近共同祖先株形成时间,进而推断感染时间。**结果** 5例HIV-1感染者均为男性,年龄为27~50岁。每例感染者有5~9个采样时间点,其 pol 基因序列各自聚集成一个独立的次级进化簇(后验概率值为100%)。1例急性期感染者携带传播性耐药突变(M46I突变),并表现出快速疾病进展和准种病毒变异特征。推断3例急性期感染者的感染时间为HIV抗体初筛有反应前1~5个月;2例初检即确诊病例感染时间分别为HIV抗体初筛有反应前14个月和前7个月。**结论** 运用贝叶斯合并理论分析HIV-1感染者 pol 基因进化情况,可大致推断感染时间,有助于艾滋病疫情形势研判。

关键词: 艾滋病病毒; 基因进化; 贝叶斯合并理论; 感染时间

中图分类号: R512.91 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087(2021)06-0545-06

Intra-host genetic evolution of HIV-1 pol gene and estimation of infection time for five infections

XIN Ruolei*, LI Jia, SUN Lijun, LIU An, ZHANG Qin, SUN Weidong, LI Jie, LU Hongyan, BAI Lishi

*Institute of AIDS/STD Prevention and Treatment, Beijing Municipal Center for Disease Prevention and Control

(Beijing Research Center for Preventive Medicine), Beijing 100013, China

Abstract: Objective To explore the intra-host genetic evolution of HIV-1 pol gene via follow-up for treatment-naïve HIV infections, and estimate the infection time with Bayesian coalescent theory, so as to support the evaluation of HIV epidemic. **Methods** Five cases were recruited and followed up. The pol gene fragments were amplified for the characteristics of transmitted drug resistance (TDR) by RT-PCR. Bayesian coalescent theory was utilized to construct maximum clade credibility (MCC) tree for genetic evolution and calculate the time to the most recent common ancestor (tMRCA). **Results** The five cases were all male, and aged from 27 to 50 years old. Five to nine sampling times were obtained from each case, and the pol gene sequences from each case formed a unique subcluster (posterior probability: 100%), with different evolution characteristics, in the MCC tree. The three cases in primary HIV-1 infection were estimated to be infected one to five months before the first positive reaction of HIV screening, whereas the two HIV-1 diagnosed cases at first screening were extrapolated to get infected fourteen months and seven months before diagnosis, respectively. One case with acute HIV-1 infection carried TDR mutation (M46I), expressing fast disease progress and quasispecies variation. **Conclusions** The general infection time can be estimated by analyzing the characteristics of intra-host genetic evolution of HIV-1 pol gene with Bayesian coalescent theory, and this method can help to estimate the HIV epidemic.

Keywords: human immunodeficiency virus; genetic evolution; Bayesian coalescent theory; infection time

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.06.002

基金项目: 国家自然科学基金(81273136); 北京市自然科学基金(7202074)

作者简介: 辛若雷, 博士, 副研究员, 主要从事HIV分子流行病学和耐药发生研究工作

通信作者: 白立石, E-mail: bai001@tom.com

一些 HIV 感染者早期无症状或症状不典型,传播具有隐匿性^[1]。2018 年我国新报告艾滋病病毒感染者和艾滋病患者(HIV/AIDS) 14.8 万例,估计当年新发感染 8.1 万例^[1-2],其中约 45.5% 的新报告 HIV/AIDS 病例为既往感染病例^[1]。准确判定新发现 HIV/AIDS 病例的感染时间,对了解艾滋病流行趋势、制订和实施艾滋病防控策略具有重要意义^[3]。目前推断 HIV 感染时间常用的方法是 BED 捕获酶联免疫法和 HIV-1 限制性抗原亲和力酶联免疫法,但这两种方法只能用于估计群体新发感染水平,不能用于个体诊断,且易受到抗病毒治疗、机体免疫水平和检测样本保存质量等因素影响,限制了在临床诊疗研究中的应用^[4-7]。

HIV-1 遗传多样性随时间的推移呈线性增加^[8]。贝叶斯合并理论结合分子钟模型可用于推断 HIV-1 起源时间和传播事件起始时间^[9-11]。本研究对筛查发现的 HIV-1 感染者进行随访,检测不同采样时间的 *pol* 基因片段并分析基因进化特征,采用贝叶斯合并理论推断其感染时间。现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 选择北京市疾病预防控制中心 HIV 抗体初筛发现且未接受抗反转录病毒治疗(antiretroviral therapy, ART)的 5 例 HIV-1 感染者为研究对象。本研究遵循知情同意原则,通过北京市疾病预防控制中心伦理委员会审查。

1.2 方法

1.2.1 HIV 抗体检测 HIV 抗体筛查试验采用雅培化学发光、生物梅里埃、北京万泰 HIV 抗原抗体检测试剂;确证试验采用上海英旻泰公司 HIV-1/2 抗体检测试剂。

1.2.2 随访 HIV 抗体检测结果不确定病例每 2~4 周随访 1 次,随访至 HIV 感染确证。确证后每年随访 1~2 次,采集静脉血样,采用贝克曼公司 FC500 流式细胞仪检测 CD4⁺T 淋巴细胞(CD4 细胞),采用 RT-PCR 法检测 HIV-1 基因型耐药。接受 ART 治疗后停止随访。随访样本编号方式为病例编号加 01、02……

1.2.3 HIV-1 核酸提取 采用 Roche 公司 MagNa Pure LC 2.0 核酸提取仪从 200 μ L 血浆样本中提取病毒 RNA,用 Takara Bio 公司 One Step RNA PCR Kit (AMV) 试剂,RT-PCR 法扩增 HIV-1 *pol* 基因片段,扩增引物(外套引物对:MAW26 和 RT21;内套引物对:PRO-1 和 RT20)和扩增条件参见文献^[12]。

1.2.4 系统进化分析和亚型判定 阳性扩增子送北京诺赛基因组研究中心有限公司采用 Sanger 法测序。获得的 Abi 序列文件采用 Sequencher 5.0 软件进行序列拼接和清理,然后用 Los Alamos 国家实验室 HIV Database 在线工具 Gene Cutter 进行基于密码子的序列比对。采用 Mega 6.0 软件,参数设置为自展法(bootstrap)检验、最大构成似然法(maximum composite likelihood)模型,通过 1 000 次重复运算构建邻接法(neighbor-joining, NJ)系统进化树,进行亚型鉴定和聚类分析。

1.2.5 HIV-1 基因型耐药分析 将获得的 *pol* 基因序列通过美国斯坦福大学 HIV 耐药数据库 HIVdb 程序和 CPR 工具(<https://hivdb.stanford.edu>)进行基因型耐药突变判读和耐药程度解析,预测传播性耐药^[12]。

1.2.6 贝叶斯合并理论分析 采用 BEAST 1.10 软件处理比对后的 *pol* 基因片段序列,赋值样本采集时间,设置 GTR + Gamma + Invariant Sites、松弛型分子钟、Bayesian skyline plot 模块,用马尔科夫链蒙特卡洛方法(Markov chain Monte Carlo, MCMC)运行 2×10^8 次计算,计算每例随访感染者的最近共同祖先株形成时间(time to the most recent common ancestor, tMRCA)、95% 较高后验密度区间(higher posterior density interval, HPD)及 *pol* 基因进化速率,根据 tMRCA 值计算感染时间。舍弃 10% 的 MCMC 运算结果,采用 TreeAnnotator 1.10.2 软件解析并构建最大可信(maximum clade credibility, MCC)进化树,并用 Figtree 1.4 软件解读,后验概率值 >90% 为可靠的进化簇^[10, 13]。

2 结果

2.1 5 例 HIV-1 感染者随访及筛查情况 5 例 HIV-1 感染者均为男性,年龄为 27~50 岁。除 XF027 和 XF151 外,其他 3 例为北京市以外户籍。其中 4 例经男男性行为(men who have sex with men, MSM)感染,1 例经异性性行为感染(XF027)。3 例 HIV 抗体初筛有反应、HIV 抗体不确定,且随访检测呈现进展性免疫印迹(western blot, WB)带型,为 Fiebig 急性期 IV 期;2 例初次检测即确证 HIV 抗体阳性,且此前 6 个月内未接受过 HIV 抗体筛查。采样时间跨度为 7 个月至 4.5 年,每例感染者有 5~9 个采样时间点。感染者 BL1596、XF151 和 BL2290 随访超过 4 年,前 2 例的 CD4 细胞计数维持在 500 个/ μ L 以上。见表 1。

感染者 XF027 于 2010 年 2 月 15 日 HIV 抗

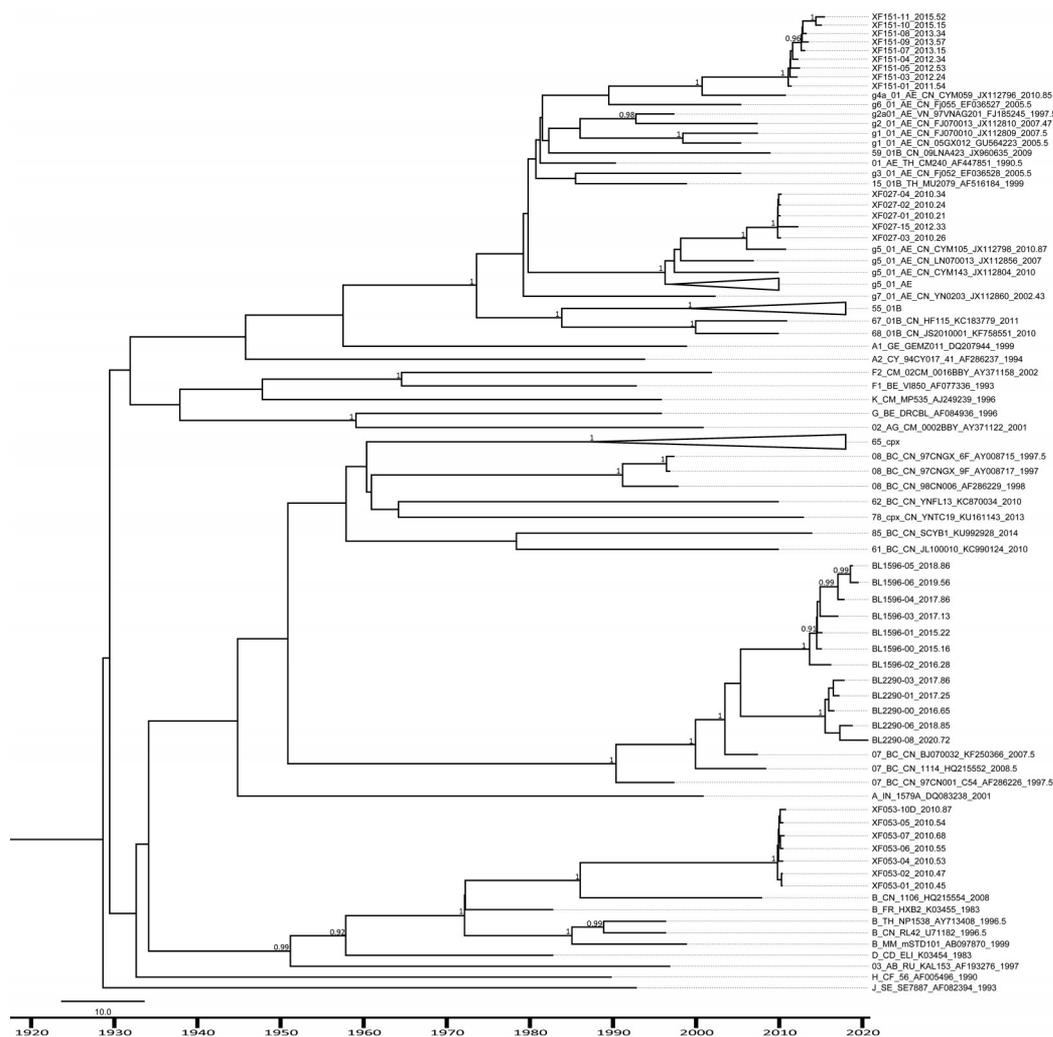
体初筛有反应、HIV 抗体不确定，WB 带型为 p24/gp120/gp160，16 天后随访检测 WB 带型为 p17/p24/p31/gp41/p51/p66/gp120/gp160（全条带）。确证后首次 CD4 细胞计数为 452 个/ μL 。

感染者 XF053 于 2010 年 2 月 25 日 MSM 人群随访检测 HIV 抗体初筛阴性。5 月 10 日随访检测 HIV 抗体初筛有反应、WB 带型为 p17/p24/gp160，报告为 HIV 抗体不确定。15 天后随访 WB 带型为 p17/p24，6 月 8 日 WB 带型转为全条带。确证后首次 CD4 细胞计数为 68 个/ μL ，1 周后达到 227 个/ μL ，1 个月后降至 169 个/ μL ，2 个月后维持在 300 个/ μL 左右。

感染者 XF151 于 2011 年 4 月 7 日 HIV 抗体初筛有反应、WB 带型为 p24/gp120/gp160，报告为 HIV 抗体不确定；2 个月后随访检测 WB 带型为全条带。确证后首次 CD4 细胞计数为 1 116 个/ μL 。

2.2 5 例 HIV-1 感染者感染时间推断 5 例感染者 *pol* 基因片段构建的 MCC 进化树见图 1。感染者不同采样时间点获得的序列各自形成一个独立的次级进化簇，后验概率值为 100%。感染者 BL1596、BL2290 与 CRF07_BC 参考株（GenBank 收录号 KF250366）一起形成大单系进化簇。感染者 XF053 与 B' 亚型毒株（GenBank 收录号 HQ215554）聚集成大单系进化簇，后验概率值为 100%。感染者 XF027 和 XF151 分别与 g5（GenBank 收录号 JX112798）和 g4 CRF01_AE（GenBank 收录号 JX112796）参考株^[9]聚集成大单系进化簇，后验概率值均为 100%。贝叶斯合并理论分析 5 个病例体内 *pol* 基因进化速率为 1.67×10^{-3} 替换/核苷酸/年。

推测感染者 XF027 的感染时间为 2009 年 11 月，距 2010 年 2 月 HIV 抗体初筛有反应 2~3 个月；XF053 的感染时间为 2009 年 12 月，距 2010 年 5



注：>90% 的后验概率值显示在节点处。横坐标显示时间轴；树枝末端和节点所对应的时间点指示序列对应样本采样时间和进化簇最近共同祖先株形成时间。

图 1 5 例感染者 HIV-1 *pol* 基因 MCC 进化树

月 HIV 抗体初筛有反应 4~5 个月; XF151 的感染时间为 2011 年 2 月, 距 2011 年 4 月 HIV 抗体初筛有反应 1~2 个月。BL1596 的感染时间为 2013 年 9 月, 距 2014 年 12 月 HIV 抗体初筛有反应 14~15 个月。BL2290 的感染时间为 2015 年 7 月, 距 2016 年 3 月 HIV 抗体初筛有反应 7~8 个月。见表 1。

表 1 5 例 HIV-1 感染者信息及贝叶斯合并理论分析结果

病例编号	确证时间	HIV 抗体初筛有反应时间	随访时间	亚型或流行重组型	tMRCA		感染时间		换算结果
					中位数	95% HPD	中位数	95% HPD	
BL1596	2014年 12月20日	2014年 12月20日	2015年1月22日;2015年 3月9日;2016年3月30 日;2017年1月10日;2017 年10月24日;2018年11 月22日;2019年7月24日	CRF07_BC	6.92	5.81~8.52	2013.80	2012.20~2014.91	2013年 9月
BL2290	2016年 3月10日	2016年 3月10日	2016年8月21日;2017年 2月20日;2017年10月23 日;2018年11月21日; 2020年9月8日	CRF07_BC	5.04	4.07~6.70	2015.68	2014.02~2016.65	2015年 7月
XF027	2010年 3月3日	2010年 2月15日	2010年3月3日;2010年3 月15日;2010年3月23 日;2010年4月15日;2012 年4月12日	CRF01_AE	10.79	10.53~11.37	2009.93	2009.35~2010.19	2009年 11月
XF053	2010年 6月8日	2010年 5月10日	2010年5月18日;2010年 5月25日;2010年6月12 日;2010年6月17日;2010 年7月20日;2010年8月 30日;2010年11月26日	B'	10.76	10.39~11.50	2009.96	2009.22~2010.33	2009年 12月
XF151	2011年 6月7日	2011年 4月7日	2011年7月14日;2012年 2月17日;2012年4月17 日;2012年7月12日;2013 年1月21日;2013年4月 16日;2013年6月27日; 2015年1月21日;2015年 6月9日	CRF01_AE	9.51	9.18~10.23	2011.21	2010.49~2011.54	2011年 2月

2.3 5 例 HIV-1 感染者基因型耐药情况 XF151、BL1596 和 BL2290 未发现耐药突变。XF027 各采样时间点获得的 *pol* 基因片段均携带 V179E 突变, 对依非韦伦和奈韦拉平潜在耐药。XF053 表现出耐药相关突变的动态变化: XF053-01 (2010 年 5 月 18 日采集) 血样携带 M46I 突变, 对奈非那韦中度耐受, 携带 E138G/V179E 突变, 对依非韦伦和奈韦拉平低度耐药; XF053-02 (2010 年 5 月 25 日采集)、XF053-04 (2010 年 6 月 12 日采集)、XF053-05 (2010 年 6 月 17 日采集)、XF053-06 (2010 年 7 月 20 日采集) 血样仅检测到 V179E 突变; XF053-07 (2010 年 8 月 30 日采集) 血样新增 T215I 突变, 对齐多夫定低度耐药, 3 个月后, XF053-10 (2010 年 11 月 26 日采集) 血样仅保留 V179E 突变。XF053

携带传播性耐药突变, 且表现出准种病毒变异的变化特征: XF053-01 血样的 M46I 突变和 XF053-07 血样的 T215I 突变, 后续随访采样检测这 2 个突变位点均消失。

3 讨论

本研究提供了推断 HIV 感染时间的一种方法, 即获得感染者随访 *pol* 基因序列, 运用贝叶斯合并理论分析基因进化特征^[3, 14], 推算感染毒株最近共同祖先株形成时间, 推断感染时间。本研究纳入的 5 例 HIV-1 感染者中, XF027、XF053 和 XF151 确证前 1~2 个月 HIV 抗体初筛有反应, 并呈现进展性 WB 带型, 处于 Fiebig 急性期 IV 期^[15], 推断分别在 HIV 抗体初筛有反应前 2~3 个月、4~5 个月和 1~2

个月感染。该结果基本符合急性期感染实验室检测周期特征^[15]，可认为该方法能推断感染时间^[3]。用该方法对初检即确证的 BL1596 和 BL2290 进行进化分析，推断其感染时间分别为 HIV 抗体初筛有反应前 14 个月（2013 年 9 月）和 7 个月（2015 年 7 月），为慢性感染者。除 BL1596 以外的 4 例感染者均可以被认为是新发感染病例（1 年内发生的感染并确证）。

XF053 的感染时间与 HIV 抗体初筛有反应时间间隔偏长（4~5 个月），可能与其感染的病毒毒株自身特征、感染后免疫反应引起血清学指标变化、疾病进展过快有关。XF053 为蒙古族 MSM 感染者，感染 B' 亚型，且急性期存在 WB 带型波动；疾病进展迅速，CD4 细胞计数呈动态变化特征：确证后首次检测 CD4 细胞计数为 68 个/ μL ，后升至 227 个/ μL ，1 个月后又降至 169 个/ μL ，之后维持在 300 个/ μL 。XF053 感染毒株的耐药特征也表现出准种病毒遗传学异质性，可能感染具有不同变异体的准种病毒而在体内呈现适应性改变，出现与东北地区 MSM 人群 CRF01_AE 急性期病例类似的疾病快速进展现象^[16-17]。

HIV-1 是一个快速进化的 RNA 病毒，反转录酶易错配而缺乏校正功能、高效复制能力、体内毒株群体庞大和宿主免疫选择压力等多重因素导致了其进化动态特征^[18]。*gag* 基因体内进化速率为 5.22×10^{-3} 替换/核苷酸/年，而 *env* 基因为 $8.39 \times 10^{-3} \sim 1.58 \times 10^{-2}$ 替换/核苷酸/年^[8, 18]。本研究 5 例病例的 *pol* 基因片段进化速率为 1.67×10^{-3} 替换/核苷酸/年，略低于 FENG 等^[9]报道的群体水平 CRF01_AE *pol* 基因区进化速率 3.25×10^{-3} 替换/核苷酸/年。

确证时 CD4 细胞计数通常是晚发现病例的判断依据：CD4 细胞 ≤ 199 个/ μL 提示感染 8 年及以上，200~349 个/ μL 提示感染 5~8 年，350~449 个/ μL 提示感染 3~5 年， ≥ 450 个/ μL 提示感染不到 3 年^[5, 19]。本研究中 BL1596、XF151 感染 4 年后，CD4 细胞计数仍维持在 500 个/ μL 以上。但一些疾病进展较快的感染者 CD4 细胞计数下降较快，如 XF053 于感染后的早期阶段（3~6 个月）维持较低的 CD4 细胞水平，属于疾病进展较快的免疫反应。有研究显示我国 CRF01_AE 毒株感染者的疾病进展较快，59 例急性期 MSM 病例中有 45 例（76.3%）在随访半年内 CD4 细胞计数快速降至 350 个/ μL 以下^[17]；但在泰国的 CRF01_AE 感染者研究中未发现此现象^[20]。因此，对新发感染的判定或晚发现病例的分类宜结合病毒亚型和疾病进展综合判断。

贝叶斯合并理论一般用于某一地区群体水平毒株的流行趋势评估和传入时间分析^[9-10, 13]，而较少用于个体感染时间推断和进化分析^[3, 21]。本研究运用贝叶斯合并理论对随访感染者的 HIV-1 基因序列进行系统进化分析，推断感染时间，有助于评估新报告病例的新发感染发生水平和特征。本研究存在一定的应用局限性：需要对感染者进行随访且至少获得 3 个采样时间点的样本，并经 RT-PCR 扩增获得随访样本基因序列。用病例感染早期的序列信息来推断病毒起源时间或感染时间会更精确^[8, 11]。

参考文献

- [1] 吕繁, 陈方方. 艾滋病疫情估计及结果解读要点 [J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40 (10): 1191-1196.
- [2] ZHAO Y, HAN M J, MA Y, et al. Progress towards the 90-90-90 targets for controlling HIV-China, 2018 [J]. China CDC Weekly, 2019, 1: 4-7.
- [3] MOYO S, WILKINSON E, VANDORMAEL A, et al. Pairwise diversity and tMRCA as potential markers for HIV infection recency [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96 (6): e6041.
- [4] CHEN Q, SUN Y, SUN W, et al. Trends of HIV incidence and prevalence among men who have sex with men in Beijing, China: nine consecutive cross-sectional surveys, 2008-2016 [J]. PLoS One, 2018, 13 (8): e0201953.
- [5] 王译葵, 刘平, 刘静, 等. 应用 HIV 感染的常规检测指标辅助判定新发感染的研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2020, 34 (6): 594-599.
- [6] KARATZAS-DELGADO E F, RUIZ-GONZÁLEZ V, GARCÍA-CISNEROS S, et al. Evaluation of an HIV recent infection testing algorithm with serological assays among men who have sex with men in Mexico [J]. J Infect Public Health, 2020, 13 (4): 509-513.
- [7] KONIKOFF J, BROOKMEYER R, LONGOSZ A F, et al. Performance of a limiting-antigen avidity enzyme immunoassay for cross-sectional estimation of HIV incidence in the United States [J]. PLoS One, 2013, 8 (12): e82772.
- [8] PARK S Y, LOVE T M, PERELSON A S, et al. Molecular clock of HIV-1 envelope genes under early immune selection [J]. Retrovirology, 2016, 13 (1): 38.
- [9] FENG Y, HE X, HSI J H, et al. The rapidly expanding CRF01_AE epidemic in China is driven by multiple lineages of HIV-1 viruses introduced in the 1990s [J]. AIDS, 2013, 27 (11): 1793-1802.
- [10] SU L, FENG Y, LIANG S, et al. The origin and spread of CRF85_BC, driven by heterosexual transmission among older people in Sichuan, China [J]. BMC Infect Dis, 2020, 20 (1): 772.
- [11] HASELKORN T, KUNSTMAN K, BUNCE M, et al. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960 [J]. Nature, 2008, 455 (7213): 661-664.
- [12] 孙伟东, 姜天俊, 黄辉煌, 等. 北京地区 HIV-1 感染者治疗前耐药特征及 2 年抗病毒治疗效果研究 [J]. 国际病毒学杂志,

2020, 27 (3): 224-227.

[13] LI Z, HE X, WANG Z, et al. Tracing the origin and history of HIV-1 subtype B' epidemic by near full-length genome analyses [J]. AIDS, 2012, 26 (7): 877-884.

[14] CURTIS K A, CAMPBELL E M, HANSON D L, et al. A multiplex HIV incidence assay for inferring recent HIV-1 transmission and time of infection [J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2019, 80 (4): 454-460.

[15] STEKLER J D, TAPIA K, MAENZA J, et al. No time to delay! Fiebig stages and referral in acute HIV infection: Seattle primary infection program experience [J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2018, 34 (8): 657-666.

[16] 辛若雷, 孙丽君, 李佳, 等. 单基因组测序分析病毒学失败 HIV-1 感染者耐药发生特征研究 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40 (12): 916-922.

[17] CUI H L, GENG W Q, SUN H, et al. Rapid CD4⁺T-cell decline is associated with coreceptor switch among MSM primarily infected with HIV-1 CRF01_AE in Northeast China [J]. AIDS, 2019, 33 (1): 13-22.

[18] NOVITSKY V, WANG R, ROSSENKHA R, et al. Intra-host evolutionary rates in HIV-1 C env and gag during primary infection [J]. Infect Genet Evol, 2013, 19: 361-368.

[19] 王丽艳, 秦倩倩, 葛琳, 等. 我国 50 岁及以上艾滋病病毒感染者/艾滋病患者特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37 (2): 222-226.

[20] LEELAWIWAT W, PATTANASIN S, SRIPORN A, et al. Association between HIV genotype, viral load and disease progression in a cohort of Thai men who have sex with men with estimated dates of HIV infection [J]. PLoS One, 2018, 13 (7): e0201386.

[21] GRAY R R, PARKER J, LEMEY P, et al. The mode and tempo of hepatitis C virus evolution within and among hosts [J]. BMC Evol Biol, 2011, 11: 131.

收稿日期: 2021-02-22 修回日期: 2021-03-14 本文编辑: 徐文璐

(上接第 544 页)

a novel cross-sectional and forward follow-up study [EB/OL]. medRxiv [2021-03-10]. <https://doi.org/10.1101/2020.03.06.20032417>.

[16] ZOU L R, RUAN F, HUANG M X, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients [J]. N Engl J Med, 2020, 382 (12): 1177-1179.

[17] 陈奕, 王爱红, 易波, 等. 宁波市新型冠状病毒肺炎密切接触者感染流行病学特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (5): 668-672.

[18] 林君芬, 吴梦娜, 吴昊澄, 等. 浙江省新型冠状病毒肺炎病例流行特征分析 [J]. 预防医学, 2020, 32 (3): 217-221, 225.

收稿日期: 2021-02-21 修回日期: 2021-03-10 本文编辑: 姜申

欢迎广大卫生健康科技工作者向《预防医学》投稿

www.zjfyxzz.com