

DOI:10.13350/j.cjpb.240404

• 论著 •

2019-2020年海南省登革病毒E基因序列分析

王如敏¹, 杜珊珊², 陈菁菁¹, 李丹丹¹, 马焱¹, 崔蕾¹, 孙初阳¹, 李建东^{2*}, 任莉娜^{1*}

(1. 海南省疾病预防控制中心微生物检验室, 海南海口 570203; 2. 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所, 传染病溯源预警与智能决策全国重点实验室, 卫生部医学病毒和病毒病重点实验室)

【摘要】 **目的** 了解2019-2020年海南省登革病毒(Dengue virus, DENV)E基因序列分子特征, 探讨病毒可能的输入来源。 **方法** 收集登革热疑似病例血清样本, 采用RT-PCR法进行核酸检测并分型, 阳性样本进行登革病毒包膜(envelope, E)蛋白基因扩增及测序, 应用生物信息软件进行同源性和系统进化分析。 **结果** 从49例DENV阳性样本中获得14条DENV E基因序列。进化分析显示, 11条DENV1型E基因序列间核苷酸同源性为97.2%~100.0%, 均属于基因I型, 其中2条E基因序列(HNLS-8和HNLCM-14)与2019年广州流行株(Guangzhou/19XN24503/2019)的核苷酸同源性为100.0%; 2条DENV2型E基因序列分别属于Asian 1基因型和Cosmopolitan基因型, 其中1条(HNLS-10)与2019-2020年广州流行株(Guangzhou/19XN22111/2019, Guangzhou/19XN50506/2020)同源性为99.6%, 另1条(HNLD-2)与2019年昆明2株流行株(Kunming/HNQY20180091/2019, Kunming/HNQY2018005/2019)核苷酸同源性为100.0%。1条DENV3型E基因序列属于基因III型, 与2018年广州流行株(Guangzhou/18XN61927/2018)和2017年新加坡流行株(Singapore/15095Y15/2017)同源性较高, 分别为99.6%和99.5%。 **结论** 2019-2020年, 海南省检出输入引发的本地传播DENV1、DENV2和DENV3多型病毒, 以DENV1为主, 显示了加强流动人口中登革热监测与管理, 及时防控登革热跨省、跨境传播的重要性。

【关键词】 登革病毒; 包膜蛋白基因; 基因型; 同源性

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)04-0389-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Apr.; 19(4):389-394.]

Sequence analysis of Dengue virus E gene in Hainan Province, 2019 -2020

WANG Rumin¹, DU Shanshan², CHEN Jingjing¹, LI Dandan¹, MA Yan¹, CUI Lei¹, SUN Chuyang¹, LI Jiandong², REN Lina¹ (1. Hainan Center for Disease Control and Prevention, Haikou 570203, China; 2. Key Laboratory of Medical Virology, Ministry of Health, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, National Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Infectious Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention)*

【Abstract】 **Objective** To study the molecular characteristics of Dengue virus (DENV) E gene in Hainan province during 2019-2020, exploring the possible sources of Dengue virus. **Methods** The serum samples of suspected cases of dengue fever were collected, and the nucleic acid was detected and typed by RT-PCR. The envelope (E) protein gene of dengue virus was amplified and sequenced in the positive samples, use Bioinformatics Software for homology and system evolution analysis. **Results** 14 DENV E gene sequences were obtained from 49 DENV positive samples. The phylogenetic analysis showed that the nucleotide homology among the 11 strains of DENV 1 E gene sequences was 97.2%-100% and all belonged to genotype I. Among them, two strains of DENV1 E gene sequences (HNLS-8 and HNLCM-14) have higher nucleotide homology with the Guangzhou Epidemic Strain in 2019 (Guangzhou/19XN24503/2019) was 100%. Two strains of DENV2 E gene sequences belonged to Asian 1 and Cosmopolitan genotype, among them, one E Gene (HNLS-10) has higher nucleotide homology with the Guangzhou epidemic strains in 2019 and 2020 was 99.6%, another strain (HNLD-2) have higher nucleotide homology with two strains isolated from Kunming in 2019 (Kunming/HNQY20180091/2019 and Kunming/HNQY2018005/2019) was 100%. One strain of DENV3 E gene belongs to Genotype III, and has higher nucleotide homology with the strains of Guangzhou (Guangzhou/18XN61927/2018), Singapore (Singapore/15095Y15/2017) were 99.6% and 99.5%. **Conclusion** From 2019 to 2020, local transmission of imported DENV1, DENV2, and DENV3 was detected in Hainan Province, with DENV1 accounting for the highest proportion, which indicated the necessity of strengthening monitoring and management of dengue fever among

* **【通讯作者】** 李建东, E-mail: ldong121@126.com; 任莉娜, E-mail: cimigo2004@163.com

【作者简介】 王如敏(1991-), 女, 海南定安人, 本科, 主管技师, 主要从事病原微生物研究。E-mail: 335862149@qq.com
王如敏与杜珊珊为共同第一作者。

mobile populations, for timely prevention and control of cross provincial and cross-border transmission.

【Key words】 Dengue virus; envelope protein gene; genotype; homology

登革热(Dengue fever, DF)是由登革病毒引起的主要经白纹伊蚊和埃及伊蚊叮咬传播的虫媒病毒性传染病。登革病毒(Dengue virus, DENV)属于黄病毒科黄病毒属,基因组为单股正链 RNA,长度约 11 kb,内部编码 3 种结构蛋白((衣壳蛋白(C)、膜蛋白(M)和包膜蛋白(E)) 和 7 种非结构蛋白(NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B 和 NS5)^[1]。根据病毒抗原性不同,可分为 4 种血清型 I~IV 型(DENV1~DENV4),每种血清型之间存在一定的交叉反应^[2],依据病毒 E 基因核苷酸序列不同,每个血清型病毒可分成不同基因型^[3]。

登革热广泛流行于东南亚、太平洋岛国及加勒比海地区,是导致东南亚地区儿童死亡的主要原因之一,根据世界卫生组织(WHO)估计,每年全球大约有 3.9 亿人感染 DENV,危害严重,已成为严重的全球公共卫生问题^[4-5]。在我国广东、广西、海南、云南和台湾等地是受登革热流行威胁较重的地区。1979 年以来,海南省先后多次发生 II 型、III 型和 I 型登革病毒引起的登革热流行^[6-7],而广东、广西和福建等省也发生过几次大的流行,尤其是 2014 年广东省爆发我国 21 世纪以来最严重的登革热疫情,以 DENV 1 为主,同时伴有 DENV 2、DENV 3 的流行^[8-9]。海南省位于中国最南端,北以琼州海峡与广东省划界,西在北部湾与越南相对,东面和南面与菲律宾、文莱、印度尼西亚和马来西亚隔海相邻,属热带季风气候,温度适宜,雨量丰富,存在虫媒病毒繁殖和传播的天然条件,面临着输入导致本地暴发流行的风险。登革热流行具有一定周期性,优势流行株的型别、基因型别转换往往预示较大规模的流行发生。DENV 感染存在抗体依赖增强效应(antibody dependent enhancement, ADE),不同型别 DENV 交替流行,会增加登革出血热或登革休克综合征等重症登革热风险,给登革热防治带来严峻挑战。

为了解海南省 DENV 流行株的基本特征及其可能来源,本研究对 2019-2020 年海南省 129 例疑似登革热患者血清样本进行核酸检测,核酸阳性进行 E 基因扩增及测序,完成初步的遗传进化和基因型别鉴定分析,为海南省登革热疫情风险评估和防控措施落实提供依据。

材料与方法

1 样本来源

根据中华人民共和国卫生行业标准 WS216-2018《登革热诊断》确定的病例定义,收集 2019-2020 年海

南省各市县采集的疑似登革病毒感染病例急性期血清样本 129 例,在 48 h 内送至海南省疾病预防控制中心微生物检验室虫媒实验室-80 °C 待检。

2 病毒核酸提取与检测

在样本中提取登革病毒 RNA 的实验要求在 BSL-2 实验室操作,PCR 分型检测在专门 PCR 室或区域操作。使用 QIAamp Viral RNA Mini 试剂盒,按照试剂说明书,提取血清样本中病毒 RNA。采用一步法荧光定量 RT-PCR 检测试剂盒(AgPath-ID Onestep RT-PCR Kit, ABD)检测血清样本中登革病毒核酸并鉴定其型别,DENV 特异性引物和探针见表 1,配制四重检测反应体系。反应体系为 RNA 模板 5 μL,酶 1 μL,缓冲液 12.5 μL,引物各 0.5 μL(共 4 对,8 条),探针各 0.25 μL,加重水至总体积 25 μL。反应条件为 50 °C 30 min;95 °C 10 min;95 °C 10 s,共循环 45 次;58 °C 45 s。标本扩增产生的荧光信号达到荧光阈值时所对应的循环数为循环阈值(Ct 值),反应结果当 Ct<35 荧光信号数据线性化处理对应循环数生成的曲线图成“S”形的标本,可判断为相应的登革病毒核酸检测阳性。

表 1 DENV 四重实时荧光定量 RT-PCR 引物探针序列
Table 1 Primers and probes for DENV detection in quadruplex real-time quantitative RT-PCR

引物/探针 Primers/probes	序列(5'-3') Sequence	荧光标记 Fluorescent labeling
DENV1F	CAAAAGGAAGTCGTGCAATA	
DENV1R	CTGAGTGAATTCTCTACTGAACC	
DENV1P	CATGTGGTTGGGAGCAGC	FAM/BHQ-1
DENV2F	CAGGTTATGGCACTGTCCAGAT	
DENV2R	CCATCTGCAGAACACCATCTC	
DENV2P	CTCTCCGAGAACAGGCCTCGACTCAA	HEX/BHQ-1
DENV3F	GGACTGGACACACGCACTCA	
DENV3R	CATGTCTCTACCTTCTCGACTGTCT	
DENV3P	ACCTGGATGTCGGCTGAAGGAGCTTG	TexasRed/BHQ-2
DENV4F	TTGTCCTAATGATGCTGGTCCG	
DENV4R	TCCACCTGAGACTCCTTCCA	
DENV4P	TTCTACTCCTACGCATCGCATTCCG	Cy5/BHQ-3

3 病毒 E 基因扩增及测序

病毒 RNA 使用 SuperScript™ III First-Strand Synthesis System (Invitrogen™, Carlsbad, CA, USA) 试剂盒合成 cDNA,以此作为模板,采用 Faststart High Fidelity PCR System, dNTP (Roche) 试剂盒,用设计的 DENV E 基因扩增序列分段扩增引物,进行 PCR 扩增。分段引物设计,从国际公共数据库上分别下载所有已知登革病毒基因组序列,设计引物(表 2),由上海生工公司合成。PCR 扩增片段产物

送北京博兴科生物技术有限公司,采用 Sanger 测序方法进行一代序列测定。

表 2 DENV E 基因扩增序列引物
Table 2 Primer sequences for amplification of DENV E gene

引物名称 Name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	基因组位置 Genome position
D1-816F	CTCTGAGACACCCAGGATTCAC	
D1-1229F	AGAGGCTGGGGCAATGG	
D1-2598R	GCTGATCGAATTCCACACAC	1-2431
D1-1710R	GCTCCTTCTGTGATCCTAGTAC	
D2-851F	CAATCCTGGCATAACACCATAG	
D2-1353F	GTGATAACACCTCACTCAGGG	
D2-1298R	CCTATAGATGTGAACACTCCTCC	2230-4661
D2-2540R	GAAGGGGATTCTGGTTGG	
D3-793F	AGTCGAGAAGTAGAGACATGG	
D3-1307F	ATAGAGGAAAAGTGGTGCA	
D3-2503R	CTCTGTCCAGGTGTGGACCT	4157-6495
D3-1867R	GGAGACTTCTTTCTTCAACACAAA	
D4-896F	CTGTTTTCTTTGTCTAATGATGCT	
D4-1954R	TCTCTATGGGGARTTTACACG	
D4-1760F	ATGGAAATCATATGTTTGCAGGACA	6161-8531
D4-2434R	AACCCATGTCTGCTGAACTGTGA	

4 序列分析

将测序结果通过 DNA Star 7.0 软件中的 SeqMan 进行拼接,获得登革病毒 E 基因序列。从国际公共数据库中下载各个基因型的国际标准株序列以及国内标准株序列,与本研究获得的 14 条登革病毒 E 基因序列进行比对,使用 DNA Star 7.0 软件中的 MegAlign 软件进行核苷酸序列同源性分析,并采用 MEGA 7.0 邻位归并法(Neighbor-joining, NJ),参数设定为默认值,重复次数(Replications)设为 1000,绘制系统发育树,并用 iTOL 在线对进化树进行修正。

结 果

1 样本信息及检测结果

129 例疑似登革热病例血清样本经 RT-PCR 分型,49 例登革病毒核酸阳性,其中文昌市 18 例、陵水县 12 例、万宁市 8 例、澄迈县 3 例、海口市 2 例、白沙县、昌江县、儋州市、乐东县、临高县以及洋浦各 1 例,阳性率为 38.0%,44 例 DENV1 型,3 例 DENV2 型,2 例 DENV3 型(图 1)。阳性样本经过 E 基因扩增共得到 11 例 DENV1 型,2 例 DENV2 型和 1 例 DENV3 型(表 3)。49 例阳性样本,其中男 29 例,女 20 例,年龄 6~92 岁,其中中青年患者为 33 例,儿童与 ≥60 岁老年患者相对较少,分别为 1 例和 15 例,职业主要是农民和工人,发病时间分布在 4~11 月,其中 10 月份为高峰,共有 14 例,占全部病例的 28.6%。

表 3 2019 年登革病毒 E 基因序列来源及型别

Table 3 Source and type of DENV virus E gene sequences in 2019

序列编号 Serial number	来源地 Region of origin	血清型 Serotype	基因型 Genotype
HNLS-5	陵水	1 型	genotype I
HNLS-8	陵水	1 型	genotype I
HNCM-14	澄迈	1 型	genotype I
HNZZ-17	儋州	1 型	genotype I
HNWC-25	文昌	1 型	genotype I
HNWC-26	文昌	1 型	genotype I
HNWC-31	文昌	1 型	genotype I
HNWC-32	文昌	1 型	genotype I
HNWC-40	文昌	1 型	genotype I
HNWN-30	万宁	1 型	genotype I
HNWN-38	万宁	1 型	genotype I
HNLD-2	乐东	2 型	Cosmopolitan
HNLS-10	陵水	2 型	Asian 1
HNWC-9	文昌	3 型	genotype III

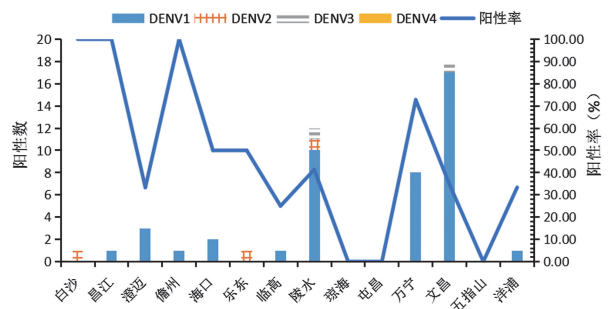


图 1 2019-2020 年海南省登革病毒型别及核酸阳性率地区分布(市县)
Fig. 1 Regional Distribution of Dengue virus Types and positive rate of nucleic acid in Hainan Province, 2019-2020 (Cities and counties)

2 序列分析

2.1 DENV1 的 E 基因遗传进化分析 将 44 例 DENV1 阳性样本进行 E 基因序列测定,共获得 11 条基因序列。在 NCBI GenBank 数据库中选择部分登革病毒上传的基因序列与之进行序列相似性比对和型别分析,分别与相应的基因型标准株和流行株比较分析,构建遗传进化树,结果显示 11 条 1 型 E 基因序列属于基因 I 型(表 3,图 2),同源性分析显示,11 株 DENV1 序列之间核苷酸相似性为 97.2%~100.0%,与 DENV1 型标准序列核苷酸相似性为 90.4%~100.0% 之间,其中 HNLS-5 与 Kunming/MY21 (2017)/2018 (GenBank 号:MG679800.1) 同源性为 99.7%,HNLS-8 和 HNCM-14 与 Guangzhou/19XN24503/2019 (GenBank 号:MN923083.1) 同源性最高,达 100.0%。HNZZ-17,HNWN-38,HNWN-30,HNWC-40,HNWC-32,HNWC-31,HNWC-26,HNWC-25 与 HMU-HKU-2 和 GZ8H 序列之间核苷酸相似性为 99.7%~99.9% 之间(表 4)。

表 4 海南省 2019 年 DENV I 型病毒序列之间同源性比较 (%)
Table 4 Homology comparison of DENV I virus sequences in Hainan province in 2019

序号 Serial number	病毒编号 Virus number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	HNZZ-17	***	99.9	100	99.9	99.9	100	100	99.9	97.3	97.5	97.3
2	HNWN-38	0	***	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	97.2	97.4	97.2
3	HNWN-30	0	0	***	99.9	99.9	100	100	99.9	97.3	97.5	97.3
4	HNWC-40	0.1	0.1	0.1	***	99.9	99.9	99.9	99.9	97.2	97.4	97.2
5	HNWC-32	0.1	0.1	0.1	0.1	***	99.9	99.9	99.9	97.2	97.4	97.2
6	HNWC-31	0	0	0	0.1	0.1	***	100	99.9	97.3	97.5	97.3
7	HNWC-26	0	0	0	0.1	0.1	0	***	99.9	97.3	97.5	97.3
8	HNWC-25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	***	97.2	97.4	97.2
9	HNLS-8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	***	97.4	100
10	HNLS-5	2.5	2.5	2.5	2.6	2.6	2.5	2.5	2.6	2.6	***	97.4
11	HNLC-14	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	0	2.6	***

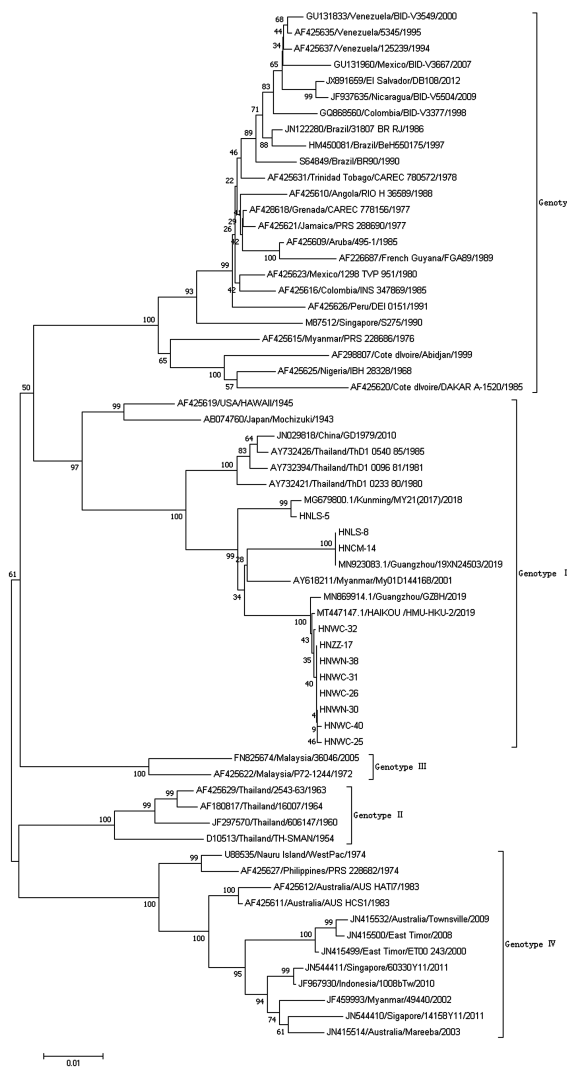


图 2 登革病毒 I 型 E 基因进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of E gene of dengue virus type I

2.2 DENV2 的 E 基因遗传进化分析 对 3 例 DENV2 阳性样本进行 E 基因序列测定, 获得 2 条 2 型登革病毒基因序列, 分别与相应的基因型标准株和流行株比较分析, 构建遗传进化树, 结果显示, 2 条 2

型登革病毒序列分别属于 Asian 1 基因型和 Cosmopolitan 基因型(表 3, 图 3), 根据同源性比较结果, HNLS-10 与 HNLD-2 虽然分别在两个基因型上, 但是同源性达 97%, 与 DENV II 型标准序列核苷酸相似性为 92.3%~100.0% 之间, HNLS-10 与 Guangzhou/19XN50506/2020 (GenBank 号: MN923115.1) 同源性为 99.6%, 与 Guangzhou/19XN22111/2019 (GenBank 号: MN923122.1 号) 同源性为 99.6%, HNLD-2 与 Kunming/HNQY20180091/2019 (GenBank 号: MK543450.1) 同源性为 100.0%, 与 Kunming/HNQY2018005/2019 (GenBank 号: MK543471.1 号) 同源性为 100.0% (表 5)。

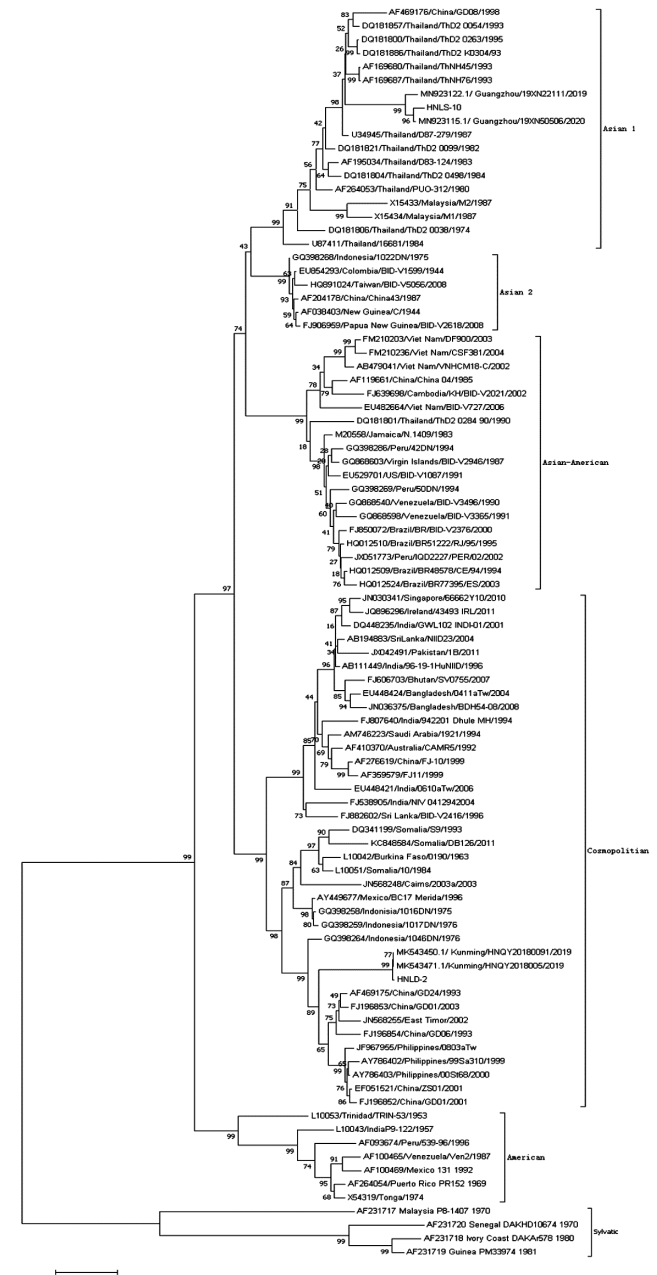


图 3 登革病毒 II 型 E 基因进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of E gene of dengue virus type II

表5 海南省2019年DENV II型病毒序列与部分标准株序列
同源性比较(%)

Table 5 Homology comparison of DENV II and some standard
strains in Hainan province in 2019

序号 Serial number	病毒编号 Virus number	1	2	HNQY20180091	HNQY2018005	19XN50506	19XN22111
1	HNLD-2	***	97	100	100	97.4	97.4
2	HNLS-10	3.1	***	97	97	99.6	99.6

2.3 DENV3的E基因遗传进化分析 2例DENV3阳性样本,经RT-PCR扩增和序列测定后,共获得1条3型登革病毒序列,与相应的基因型标准株和流行株比较分析,构建遗传进化树,结果显示其属于基因III型(表3,图4),根据同源性比较,与DENV III型标准序列核苷酸相似性为88.4%~99.5%之间,HNWC-9与Guangzhou/_18XN61927/2018(GenBank号:MK894341.1)同源性最高,约为99.6%,与Singapore/15095Y15/2017(GenBank号:KY921907.1号)同源性为99.5%。

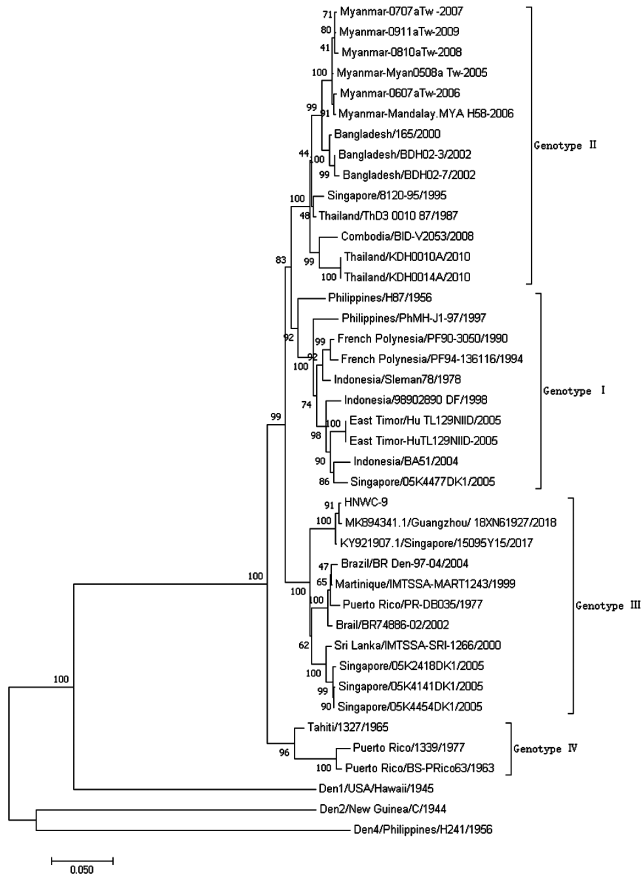


图4 登革病毒III型E基因进化树
Fig. 4 Phylogenetic tree of E gene of dengue virus type III

讨论

登革热是主要经伊蚊叮咬传播的一种自限性病毒感染性疾病,重症登革热可以导致死亡,在亚洲、大洋洲、美洲和非洲大约100余个国家和地区流行,随着全球化、城市化进程的不断推进,登革热感染人数及感染

范围不断增加^[10-11]。1979年10月初,登革热首次在海岛儋县的北部洋浦港沿岸流行,并造成疫情迅速传播扩散,至1980年波及全岛18个市县的208个乡镇,1981年发病逐渐减少,直到次年9月份疫情终止。实验室检测显示由DENV3引起的登革热和登革出血热流行,持续了36个月,共发病440 063例。时隔3年,一场由DENV2引起的登革热和登革出血热再次流行,首发地与1979年相同,在1986年造成全岛大流行,波及18个市县的182个乡镇和27个农场,第2次登革热流行持续了40个月,共发病164 247例。1991年6月,由DENV2引起的登革热疫情在海南第3次大规模暴发,流行波及琼山等5个县市的13个乡镇,发病521例,同年11月结束^[6]。此后,直到2019年,我国有13个省市报告了登革热本地传播病例,显示登革热在我国可以造成快速传播,甚至存在本地化的风险^[12],是引起社会经济负担的严重公共问题之一^[13-15]。

近年来,登革病毒的流行区域开始出现多地域扩散的趋势^[16-19],监测结果显示登革热在海南省并未形成本地化疫源地,报告病例均为输入或输入引发的本地传播病例。但海南省是既往登革热流行区,适宜登革热传播的伊蚊媒介广泛存,密度均较高,活跃期长,病例一旦输入,存在发生暴发或大规模流行甚至本地化的潜在危险^[20]。同时,海南省是华侨大省,与登革热高发的东南亚国家人员和货物往来频繁,登革病毒传入的风险高,登革热防控形势严峻。做好病毒监测,掌握既往流行病毒株分子生物学特征,有利于评估登革热疫情风险,科学制定防控措施。

在本研究中,从2019-2020年登革热疑似患者血清样本中获得14条E基因序列,系统进化树分析结果显示,2019年海南省流行的DENV E基因序列分别与邻近地区广州、云南昆明和新加坡的参考序列具有最近的遗传距离。11条DENV1 E基因序列聚为一簇,均属于基因I型,其中2条序列与参考序列Guangzhou/_18XN61927/2018,同源性为100.0%,提示海南省2019年本地流行的DENV1有可能是由广州地区输入引起的。2条DENV2 E基因序列分属于两个基因型,分别与云南昆明的参考序列有最近的遗传距离,而2条DENV2 E基因序列分为2个小支,分别属于Asian 1基因型和Cosmopolitan基因型。1条DENV3 E基因序列与参考序列Guangzhou/_18XN61927/2018和Singapore/15095Y15/2017同源性较高,聚为一簇,归属于基因III型。由此可以看出,2019年海南省登革热流行存在多个基因型,但均未引发显著扩散,可能为输入引发的本地传播,来源地可能为云南、广州和新加坡等地区。

登革热流行具有周期性,优势流行株型别与基因型转换易于引起大规模流行,持续监测跟踪登革病毒流行情况,加强登革病毒分子流行特征研究,及时发现本地病例关联,确定传播来源,分析流行特点,可为登革热科学防控提供理论依据。

【参考文献】

[1] Chambers JT, Hahn SC, Galler R, et al. Flavivirus genome organization, expression, and replication [J]. Annual Rev Microb, 1990, 44(1): 649-688.

[2] Holmes CE, Twiddy S. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus[J]. Infect Gene Evol, 2003, 3(1): 19-28.

[3] 陈仲威, 张莉萍, 方昌勇, 等. 东莞市 2014-2017 年 I 型登革病毒流行情况及 E 基因序列分析[J]. 中国热带医学, 2018, 18(10): 1016-1020.

[4] Prommalikit O, Thisyakorn U. Dengue virus virulence and diseases severity [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2015, 46(1): 35-42.

[5] World Health Organization. Dengue and severe dengue [EB/OL]. <https://www.who.int/dengue/control/en>, 2021-01-12.

[6] 王传滋, 陈文洲. 海南省登革热历年流行概况[J]. 海南医学, 1992, 3(3): 1-4.

[7] 吴琳, 钱凡凡, 王熙, 等. 海南省 2019 年 9 例登革病毒的鉴定及 E 基因序列分析[J]. 中国热带医学, 2021, 21(12): 1140-1143.

[8] 郭前方, 崔国辉, 方丹云, 等. 2014 年广东省登革热大流行的病原体来源及分子进化特点[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2017, 38(1): 21-28.

[9] Sun J, Wu D, Zhou H, et al. The epidemiological characteristics and genetic diversity of dengue virus during the third largest

historical outbreak of dengue in Guangdong, China, in 2014[J]. J Infect, 2016, 72(1): 80-90.

[10] 樊景春, 刘起勇. 气候变化对登革热传播媒介影响研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(7): 745-749.

[11] Xu L, Stige C L, Chan K, et al. Climate variation drives dengue dynamics[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(1): 113-118.

[12] Earl L, Marczak LB, Shirude S, et al. The current and future global distribution and population at risk of dengue[J]. Nat Microbiol, 2019, 4(9): 1508-1515.

[13] Shepard DS, Undurraga EA, Betancourt-Cravioto M, et al. Approaches to refining estimates of global burden and economics of dengue[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2014, 8(11): e3306.

[14] Halstead B S, Dans F L. Dengue infection and advances in dengue vaccines for children[J]. Lancet Child Adolesc Health, 2019, 3(10): 734-741.

[15] 陈奕, 易波, 劳旭影, 等. 浙江省宁波市登革热疾病经济负担研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2020, 31(4): 385-388, 480.

[16] 高文, 黄钢, 韩晓莉, 等. 河北省登革热媒介伊蚊监测点小型积水容器白纹伊蚊羽化情况调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2019, 30(6): 648-652.

[17] 鲍君铎, 冯生, 高岩, 等. 登革病毒铁蛋白纳米颗粒抗原的表达与纯化[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(12): 1365-1369, 1374.

[18] 张朵, 冯冠榕, 彭程程, 等. 登革病毒分子流行病学研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(11): 1361-1363.

[19] 曾毅, 周春丽, 闭志友, 等. 2010-2020 年南宁市登革热疫情流行病学特征分析[J]. 医学动物防制, 2022, 38(12): 1123-1127, 1131.

[20] 吴维学, 金玉明, 孙莲英, 等. 海南省 2006 年登革热传播媒介监测分析[J]. 中国热带医学, 2007(10): 1863-1864, 1920.

【收稿日期】 2023-10-15 【修回日期】 2024-01-09



(上接 388 页)

[10] Romdhane E, Rammeh S, Riahi H, et al. The value of histology in the diagnosis of tuberculous spondylodiscitis [J]. J Clin Rheumatol, 2020, 26(2): 63-66.

[11] Chan E, Heifets L, Iseman M. Immunologic diagnosis of tuberculosis: a review[J]. Tubercle Lung Dis, 2000, 80: 131-140.

[12] Hilary SW. Biomarkers of tuberculosis: a research roadmap[J]. Biomarkers Med, 2013, 7: 349-362.

[13] Karen RS, Megan H, Suman L, et al. Commercial serological antibody detection tests for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review[J]. PLoS Med, 2007, 4(6): e202, 1041-1060.

[14] Ma G, Zhang K, Zhou F, et al. Improving basic and membrane protein MS detection of the culture filtrate proteins from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv by biomimetic affinity prefractionation[J]. Proteomics, 2017, 17(10): e1600177.

[15] 时晓慧, 马国荣, 张舒林, 等. 不同佐剂组合对结核分枝杆菌四种蛋白的免疫原性影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(Z4): 3500-3507.

[16] World Health Organization. Global tuberculosis report 2014 [R]. Geneva: WHO, 2014; 7-31.

[17] 杨航, 努尔塞力克·努素甫, 杨亚军, 等. 结核分枝杆菌 rv1985c、

rv3807c、rv1981c 基因编码蛋白生物信息学分析以及间接 ELISA 方法的建立[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(2): 143-149.

[18] Wilson ML. Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and drug susceptibility testing[J]. Arch Pathol Lab Med, 2013, 137(6): 812-819.

[19] Buckoreellall K, Wilson L, Parker WB. Identification and characterization of two adenosine phosphorylase activities in *Mycobacterium smegmatis*[J]. J Bacteriol, 2011, 193(20): 5668-5674.

[20] Dawes SS, Warner DF, Tsenova L, et al. Ribonucleotide reduction in *Mycobacterium tuberculosis*; function and expression of genes encoding class Ib and class II ribonucleotide reductases[J]. Infect Immun, 2003, 71(11): 6124-6131.

[21] Yang F, Curran SC, Li LS, et al. Characterization of two genes encoding the *Mycobacterium tuberculosis* ribonucleotide reductase small subunit[J]. J Bacteriol, 1997, 179: 6408-6415.

[22] Ma GR, Wang P, Yang YH, et al. emPAI-assisted strategy enhances screening and assessment of *Mycobacterium tuberculosis* infection serological markers [J]. Microbial Biotechnol, 2021, 14(4): 1827-1838.

【收稿日期】 2023-10-14 【修回日期】 2024-01-05