

云南省景洪市2013年登革热暴发的分子流行病学研究

冯云 范建华 朱进 李鸿斌 车英 李卫平 刀天友 杨卫红 章域震 张海林

【关键词】 登革热; 分子流行病学

Molecular epidemiology of an outbreak of Dengue fever in Jinghong city, Yunnan province, China, 2013 Feng Yun¹,Fan Jianhua², Zhu Jin², Li Hongbin², Che Ying², Li Weiping²,Dao Tianyou², Yang Weihong¹, Zhang Yuzhen¹, Zhang Hailin¹.

1 Yunnan Institute of Endemic Diseases Control and Prevention,

Dali 671000, China; 2 Xishuangbanna Prefecture Center for

Disease Control and Prevention

Corresponding author: Zhang Hailin, Email: zhangHL715@163.com

【Key words】 Dengue fever; Molecular epidemiology

2000年以来,云南省每年均有来自境外的登革热输入性病例报告,局部地区还发生过输入性登革热暴发或本地流行^[1-3]。2013年云南省西双版纳州景洪市发生本地登革热暴发,本研究对患者血清标本进行登革病毒(DENV)核酸检测和基因序列测定与分析。

1. 对象与方法:

(1)病例及血清标本:登革热病例资料来源于中国疾病预防控制中心疫情信息报告网络系统以及登革热病例个案调查表和流行病学调查资料。根据《登革热诊断标准》(WS 216-2008)对病例进行诊断,所有登革热病例均为实验室诊断病例。采集登革热疑似和临床诊断病例的急性期血清,进行DENV-NS1抗原检测(试剂为美国CTK生物有限公司产品),其余血清标本保存于-70℃冰箱。

(2)DENV RT-PCR检测:用QIAamp Viral RNA Mini Kit(德国Qiagen公司)提取患者血清中的病毒RNA,用Amersham Bioscience Ready-To-Go™ You Prime First-Strand Beads(美国Amersham Pharmacia Biotech公司)制备cDNA。取2 μl cDNA为模板,以D1(TCA ATA TGC TGA AAC GCG CGA GAA ACC G)和D2(TTG CAC CAA CAG TCA ATG TCT TCA GGT TC)为引物,PCR扩增DENV C/PrM区段基因(511 bp)。反应条件:94℃ 2 min;94℃ 30 s,55℃ 30 s,68℃ 30 s,扩增9个循环后,94℃ 30 s,55℃ 30 s,68℃ 30 s,扩增25个循环(每个循环增加10 s);68℃ 10 min。反应结束后,取2 μl产物进行电泳。

(3)序列测定和分析:PCR产物测序均在生工生物工程(上海)股份有限公司完成。采用ClustalX 1.83软件进行核苷酸序列比对,采用Mega 5.0软件进行构建系统进化树(邻接法)。

2. 结果:

(1)一般情况:2013年8月14日,景洪市城区发生2例经特异性检测确诊的登革热病例,均无外出史,属本地感染病例。随后,该市城区病例数快速上升,9月病例数几乎占总病例数的50%,10月和11月显著下降,末例病例发病时间为11月20日,流行期99 d。共确诊(实验室诊断)1 269例,其中本地感染病例1 253例,占病例总数的98.74%;输入性病例16例,占1.26%,其中来自老挝5例、缅甸5例、泰国6例。2013年景洪市登革热发病率为244.04/10万,景洪市城区发病率为1 764.95/10万。所有病例的发病地点均在景洪市,全部本地感染病例的感染地点均在景洪市城区。各年龄组和各职业人群均有发病。

(2)DENV核酸检测和序列测定:采用RT-PCR对景洪市100例DENV-NS1抗原阳性患者血清标本进行DENV核酸检测,43份获得C/PrM区基因核苷酸序列。其中8月17例、9月5例、10月12例、11月9例,包括本次暴发疫情的首例和末例以及流行期间各个阶段不同疫点的病例。

(3)DENV-C/PrM区的系统进化分析:将43株DENV C/PrM区基因核苷酸序列与不同国家和地区的52株DENV 1~4型代表株相应区段核苷酸序列构建系统进化树,结果显示,景洪市43株DENV聚集在相对独立的一个小分支,与登革3型病毒(DENV-3)同在一个分支,亲缘关系较为接近,与登革1、2和4型DENV亲缘关系较远,提示43株病毒均为DENV-3(图1B)。为阐明景洪流行株之间的进化关系,单独用43株病毒构建系统进化树(图1A),它们之间差异较小,为同一个流行株系。进一步分析,其中31株组成一个大分支,分别来自首例病例(发病时间为8月14日)以及8月中下旬13例、9月5例、10月6例、11月7例直至本次疫情的最后1例病例。

进化分析显示,景洪流行株与新加坡(AY766104)、泰国(GQ868593、FJ744729、AY676348)、柬埔寨(FJ639722、KF955464、KF955507)、越南(JQ045695、JQ045689)、菲律宾(DQ401695)、斯里兰卡(KF955476)、印度尼西亚(AY648961)、孟加拉国(AY496874)和印度(KF955477)等流行株亲缘关系较近,与巴西、秘鲁、委内瑞拉、墨西哥、特立尼达、多巴哥、美国、加勒比海地区(波多黎各)以及澳大利亚和南太平洋地区流行株亲缘关系较远(图1A)。提示本次登革热暴发的DENV-3来源于东南亚地区。

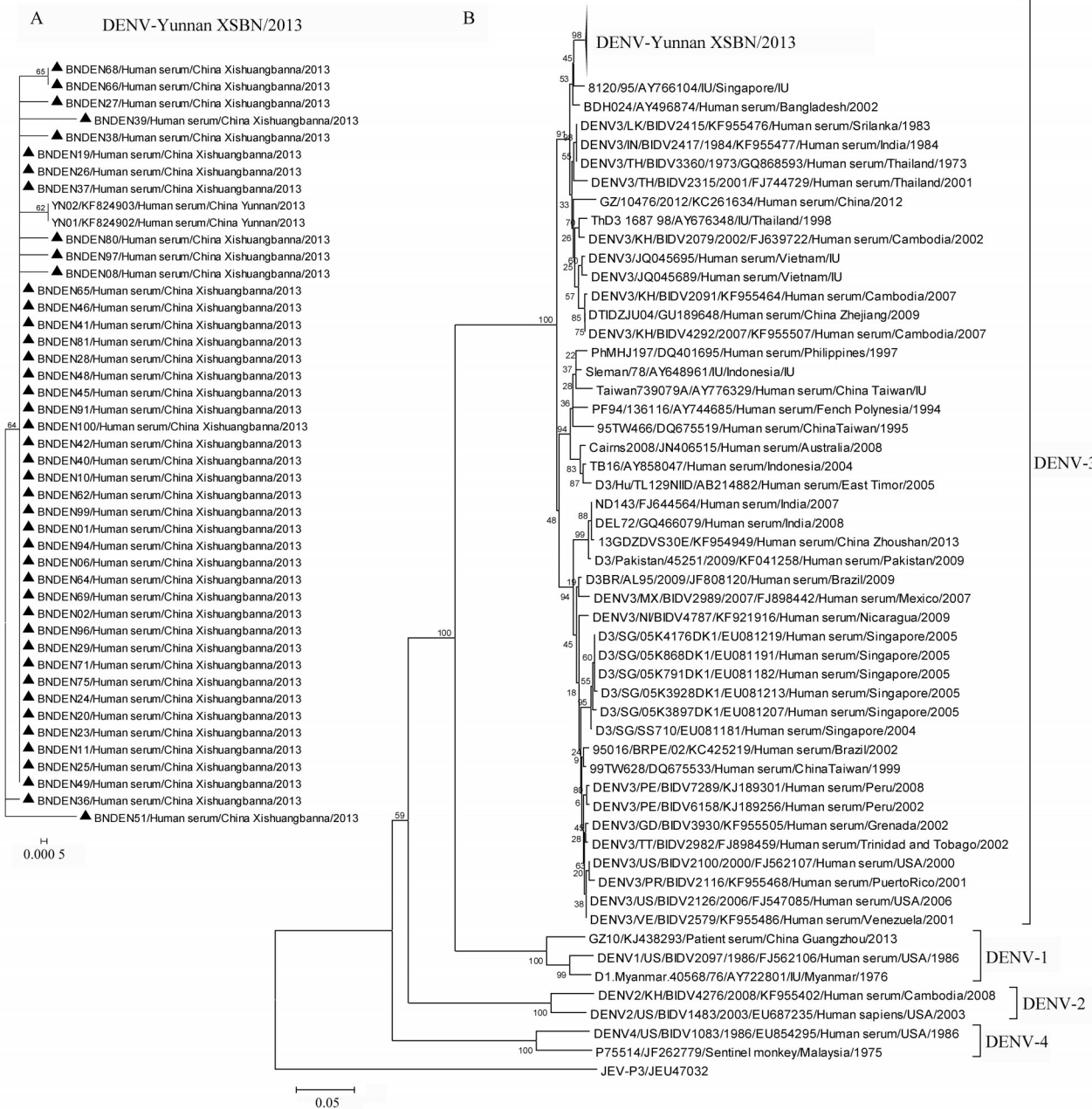
DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.12.023

基金项目:中美新发和再发传染病合作项目(U19-GH000004)

作者单位:671000 大理,云南省地方病防治所/云南省病毒立克次体研究中心(冯云、杨卫红、章域震、张海林);西双版纳州疾病预防控制中心(范建华、朱进、李鸿斌、车英、李卫平、刀天友)

冯云和范建华同为第一作者

通信作者:张海林, Email: zhangHL715@163.com



注: DENV Yunnan-XSBN/2013 代表 2013 年景洪市 43 株 DENV-3; A 为景洪市 43 株 DENV-3 进化树; B 为景洪市 43 株 DENV 与国外 52 株 DENV-3 的进化树

图 1 2013 年云南省景洪市 DENV-3 流行株 C/PrM 区核苷酸序列进化分析

3. 讨论: 东南亚地区为登革热地方性流行区, 病例主要为儿童^[3], 而本次疫情中各个年龄段均有病例, 但以青壮年为主, 并有较多老年患者。根据人群分布特征, 景洪市属于登革热新发地区, 为输入性病例引起的本地流行。登革热流行形式分为城市型、乡村型和丛林型^[4], 本次疫情所有本地感染病例的感染地点均为景洪市城区, 疫点几乎遍及整个城区, 属典型的城市型登革热流行。此为西双版纳州首次发生登革热本地流行, 也是云南省历史上最大的一次登革热流行。

东南亚地区存在 DENV 1~4 型的广泛流行^[4], DENV 流行株存在一定差异并具有明显地域性。景洪市 43 株 DENV-C/PrM 区基因序列进化分析显示, 本次登革热疫情的

病原均为同一个株系 (DENV-3), 而且与东南亚地区 DENV-3 流行株亲缘关系最近。2013 年景洪市出现首例本地感染的登革热病例之前, 当地就有多例来自老挝等东南亚国家的输入性病例, 而这些国家近几年均存在 DENV-3 的流行^[5]。推测本起疫情与当年 6—8 月来自老挝等相邻国家的登革热输入性病例 (或隐性感染者) 密切相关。为防止本病再次流行, 今后应加强输入性病例的监测和管理以及全年有效的伊蚊媒介监测和控制。

本研究从 DENV-NS1 抗原阳性的 100 份患者血清中仅检测到 DENV 核酸阳性 43 份, 可能与标本保存有关。在本次疫情调查处置中, 血清标本采集后需立即送到实验室进行

DENV-NS1 抗原检测,然后保存于低温冰箱,而本次核酸检测则为本起疫情结束后才进行。此期间这些标本历经室温放置、冻存、复检和运输等过程,以致有的标本未能始终处于超低温保存状态或被多次冻融,可能导致病毒RNA降解而影响检测效果。因此,标本的有效保存和及时检测非常重要。

参 考 文 献

- [1] Bureau of International Cooperation, Department of Health of China, Department of Health of Yunnan Province, and Yunnan Provincial Institute for Parasitic Diseases. Manual for Dengue Fever Control in Yunnan Border Areas [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2011: 1-81. (in Chinese)
中国卫生部国际合作司,云南省卫生厅,云南省寄生虫病防治所. 云南边境登革热防治手册[M]. 昆明:云南科技出版社, 2011: 1-81.
- [2] Zhang HL, Fu SH, Deng Z, et al. An outbreak of imported dengue fever from Myanmar to the border of China, with its viral molecular epidemiological features [J]. Chin J Epidemiol, 2013,

34(5): 428-432. (in Chinese)

张海林,付士红,邓掌,等. 云南中缅边境一起输入性登革热暴发的分子流行病学研究[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(5): 428-432.

- [3] Zhang HL, Shi HF, Mi ZQ, et al. The character of mosquitoes distribution and relation with the arbovirus in Xishuangbanna prefecture, Yunnan province [J]. Endemic Dis Bull, 2000, 15(4): 35-38. (in Chinese)
张海林,施华芳,米竹青,等. 云南省西双版纳州蚊虫分布特点及与虫媒病毒的关系[J]. 地方病通报, 2000, 15(4): 35-38.
- [4] Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever [J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(3): 480-496.
- [5] Thu HM, Lowry K, Myint TT, et al. Myanmar dengue outbreak associated with displacement of serotypes 2, 3, and 4 by dengue 1 [J]. Emerg Inf Dis, 2004, 10(4): 593-597.

(收稿日期: 2014-07-11)

(本文编辑: 万玉立)

血清HBV-DNA水平与精液参数及体外受精-胚胎移植结局的相关性分析

杨旭 李庆兴 林佳 张李雅 黄学锋 郑九嘉

【关键词】 乙型肝炎病毒; 精液参数; 体外受精-胚胎移植
Association between serum HBV-DNA with sperm parameters and out-comes of in vitro fertilization pre-embryo transfer Yang Xu, Li Qingxing, Lin Jia, Zhang Liya, Huang Xuefeng, Zheng Jiujia. Reproductive Medicine Center, the First Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Corresponding author: Zheng Jiujia, Email: zhengjiujia@126.com

This work was supported by a grant from the Wenzhou Science and Technology Cooperation Program (No. Y20140025).

【Key words】 Hepatitis B virus; Semen parameter; In vitro fertilization pre-embryo transfer

HBV可以通过血睾屏障进入睾丸组织和精液中,可能影响精液质量,降低男性生育能力^[1]。近年来,接受辅助生殖技术(ART)治疗的夫妻中HBV感染及高HBV-DNA载量者并不少见,男方慢性HBV感染且血清HBV-DNA拷贝数 $> 5.0 \times 10^2$ IU/ml的患者接受ART治疗后是否对体外受精-胚

胎移植(IVF-ET)结局有影响还不清楚。本研究对男性HBV-DNA阳性(其配偶完全排除HBV感染的可能)和阴性对照行IVF-ET治疗的夫妻进行比较,旨在探讨男方HBV-DNA高拷贝数对IVF-ET治疗结局可能的影响。

1. 对象与方法:

(1)研究对象:收集2012年1—12月在温州医科大学附属第一医院生殖医学中心就诊,接受IVF-ET治疗的182对不育夫妇,女方排除无影响卵子质量的生殖系统疾病,年龄 < 35 周岁。

(2)研究方法:采用美国CASA精子分析系统检测精子活动力,包括前向运动精子(a+b级)、原地活动精子(c级)和静止精子(d级);采用荧光定量PCR法测定血清HBV-DNA拷贝数、精子染色质扩散(SCD)实验检测精子DNA损伤。

(3)统计学分析:应用SPSS 16.0软件进行数据分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2. 结果:

(1)样本特征:182对不育夫妇中,84对为HBV-DNA阳性,98对为HBV-DNA阴性。血清HBV-DNA阳性组精子浓度、活动精子(a+b+c,%)百分率、正常形态精子数和d级精子数与阴性组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而精液量、液化时间及pH值在两组间差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

(2)血清HBV-DNA拷贝对精子DNA碎片指数(DFI)的