

规模医院治疗使用抗菌药物病原菌培养送检率平均为 32.81%，床位 < 300 张的医院送检率仅有 22.25%，略高于吴安华等<sup>[4]</sup>的调查结果。建议对小规模医院无菌手术操作进行强化培训，加强对其抗菌药物使用的监督管理。

[感谢所有参加调查的医院和专职人员对本研究给予的支持]

### 参 考 文 献

- [1] Li LY, Liu YC. The hospital infection management [M]. Beijing: Beijing Medical University Press, 2011: 28-33. (in Chinese)  
李六亿, 刘玉村. 医院感染管理学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2011: 28-33.
- [2] Wenzel RP. Prevention and Control of Nosocomial Infection [M].

3<sup>rd</sup> ed. Maryland: Williams & Wilkins, 1997: 187.

- [3] Zhang YP, He JF. Investigation and analysis on the prevalence rate of nosocomial infection [J]. Mod Prev Med, 2014, 41(22): 4163-4165. (in Chinese)  
张燕萍, 何俊凤. 医院感染现患率调查[J]. 现代预防医学, 2014, 41(22): 4163-4165.
- [4] Wu AH, Ren N, Wen XM, et al. Study on the frequency of antibiotics use per day among inpatients in 151 hospitals in 2003 [J]. Chin J Epidemiol, 2005, 26(6): 451-454. (in Chinese)  
吴安华, 任南, 文细毛, 等. 151 家医院 2003 年度住院患者日抗菌药物使用率的调查分析[J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26(6): 451-454.

(收稿日期: 2015-02-07)

(本文编辑: 万玉立)

## 深圳市龙岗区首次本地登革热暴发疫情的分子流行病学研究

周健明 陈应坚 李静媚 金玉娟 杨慧 甘莉萍 刘渠

【关键词】 暴发; 系统进化树

**Molecular epidemiological characteristics of the first local dengue fever outbreak in Longgang district, Shenzhen**

Zhou Jianming, Chen Yingjian, Li Jingmei, Jin Yujuan, Yang Hui, Gan Liping, Liu Qu. Longgang District Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518172, China

Corresponding author: Li Jingmei, Email: lijingmei10@126.com

【Key words】 Outbreak; Phylogenetic tree

登革热是广东省重点应对的虫媒病毒性疾疾病<sup>[1]</sup>。2014 年 9 月 27 日, 深圳市龙岗区首次出现由本地登革热感染病例引起的暴发, 本研究对疫情状况及其病原的分子流行病学特征进行研究。

### 1. 材料与方法:

(1) 流行病学调查: 参照《登革热诊断标准》(WS 216—2008) 对病例进行诊断, 按照《登革热疫情现场调查处理规范(2006)》收集病例个案调查表及流行病学调查资料, 采集病例急性期血清进行登革病毒(DENV)抗体 IgM(试剂为中山生物工程有限公司产品)和 DENV-1~4 型病毒核酸检测(试剂为上海之江生物科技有限公司产品), 并开展媒介调查。

(2) 病毒分离与滴度测定: 血清接种至单层 C6/36 细胞中, 置于 28 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 7 d, 出现细胞病变(CPE)为阳性, 连续盲传 3 代仍无 CPE 为阴性。将 C6/36 细胞传代至 96 孔板中, 取分离成功的病毒悬液用维持液连续稀释 8 个滴度至 10<sup>-8</sup>, 每稀释度接种 4 孔, 每孔 100 μl, 并设对照孔, 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 96 h 后逐日观察 CPE, 按照 Reed-Muench

法计算 50% 组织细胞病毒感染量(TCID<sub>50</sub>)。

(3) RT-PCR 扩增: 选用日本 TaKaRa 公司的 Prime Script RT-PCR 试剂盒进行 RT-PCR, 参照说明书, 利用 Random 6 mers 为引物制备 cDNA, 取 4 μl 为模板, 以 DV-816F(CTC TGA GAC ACC CAG GAT TCA C) 和 DV-2598R(GCT GAT CGA ATT CCA CAC AC) 为引物, 扩增 DENV 的 E 区段基因(1 782 bp), 反应结束后, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增片段, 预测大小为 1 782 bp, 测序由英潍捷基(上海)公司完成。

(4) 序列测定与分析: 应用 BioEdit 软件对测序结果进行拼接, 以 DNASTAR 软件中的 MegAlign 插件和 Mage 4.1 软件分别进行同源性分析并构建系统进化树(邻接法)。

### 2. 结果:

(1) 疫情概况: 2014 年 9 月 27 日至 10 月 2 日, 龙岗区某工地共确诊 DENV-1 型感染病例 7 例(SZ2014LG01~07), 均为男性, 无外出史, 至 10 月 11 日未出现新增病例。

首例确诊病例(SZ2014LG01)为工程师, 9 月 21 日发热、头痛、乏力, 就医未见好转, 27 日检出 DENV 核酸及抗体 IgM。9 月 29 日至 10 月 2 日对工地在职员工 174 人进行排查, 共确诊 4 例病例(SZ2014LG02~SZ2014LG05), 均为建筑工人。SZ2014LG04 于 9 月 6 日发病, 为最早出现临床症状的首发病例, 未进行治疗继续工作, 29 日血清学检测 IgM 为阳性后隔离治疗。对 9 月 27 日前离职员工进行追踪, 分别在南山区和罗湖区发现 2 例病例(SZ2014LG06、SZ2014LG07), 离职前一直为该工地建筑工人, SZ2014LG06 于 18 日离开龙岗前往南山工作, 22 日出现发热症状, 28 日确诊为登革热; SZ2014LG07 于 25 日离开工地, 27 日出现临床症状, 10 月 1 日确诊。

(2) 媒介监测结果: 建材堆放处与在建楼盘地下车库的排水明渠是主要的蚊虫孳生地。9 月 27 日(疫点消毒和杀菌)、30 日和 10 月 3、6 日, 对工地及周边小区进行伊蚊幼虫监

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.09.033

作者单位: 518172 深圳市龙岗区疾病预防控制中心

通信作者: 李静媚, Email: lijingmei10@126.com

测,布雷图指数分别为8.6、6.8、4.5、3.2。

(3)病毒分离与滴度:血清样本用C6/36细胞进行病毒分离,2份(SZ2014LG01、04)成功分离出病毒,分别在第一代4 d和3 d出现CPE,TCID<sub>50</sub>分别为10<sup>-5.3</sup>/0.1 ml和10<sup>-6.8</sup>/0.1 ml。

(4)E基因序列分析:采用RT-PCR对确诊患者血清进行DENV核酸检测,4份(SZ2014LG01、SZ2014LG02、SZ2014LG04、SZ2014LG05)获得E区基因核苷酸序列,BioEdit软件拼接整理后长度为1 485 bp,核苷酸序列相似性为100.0%,未发现碱基缺失和插入。首例确诊病例SZ2014LG01与国内外不同时期的DENV-1型代表株进行同源性比对(表1),核苷酸同源率为90.8%~99.6%,推导氨基酸为96.2%~100.0%,与东莞市分离株D13459/Donguang/2013的同源性最高(核苷酸:99.6%,氨基酸:100.0%)。SZ2014LG01的E基因推导氨基酸序列与DENV-1型代表株相似,含有2个糖基化位点,分别位于第67~69位(NTT)和153~155位(NET),其中3个毒力位点<sup>[2]</sup>E44(E)、E156(T)和E366(N)均无改变。根据Goncalvez等<sup>[3]</sup>对DENV-1的分型原则,构建龙岗分离株(SZ2014LG01)与5个基因型代表株的系统进化树(图1),龙岗株SZ2014LG01与东莞市分离株D13459/Donguang属同一个进化分支(V型)。

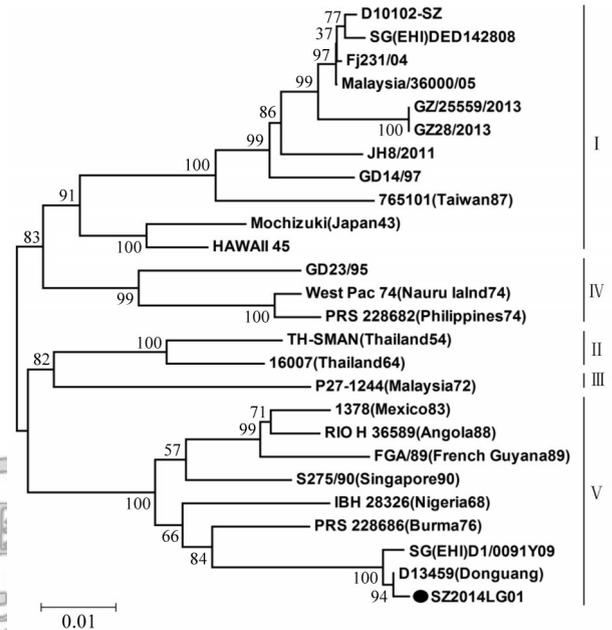


图1 深圳市龙岗区DENV-1型病毒SZ2014LG01株E基因系统进化树

表1 深圳市龙岗区DENV-1型SZ2014LG01株与国内外部分毒株E基因同源率比较

病毒株名称	同源率(%)	
	核苷酸	氨基酸
D13459(Donguang)	99.6	100.0
SG(EHI)D1/0091Y09	99.4	100.0
PRS 228686	96.2	99.2
S275/90	94.5	98.2
RIO H 36589(Angola88)	95.3	99.0
1378(Mexico83)	95.6	99.0
FGA/89(French Guyana89)	94.9	98.6
IBH 28326(Nigeria68)	95.1	98.4
16007(Thailand64)	92.5	97.6
P27-1244(Malaysia72)	92.1	97.8
GD23/95	91.3	97.0
HAWAII 45	92.6	97.4
D10102-SZ	91.0	97.2
GZ28/2013	90.4	97.4
GD14/97	90.8	96.6

3. 讨论:本起疫情的病例分布具有明显聚集性,患者以建筑工人为主(85.7%),查阅本街道未发现其他本地或输入性病例;疫情持续时间较短(26 d),呈现单峰流行趋势,9月6日首发病例出现后,在22、23、27日出现1个发病高峰(4例),29日起迅速对患者进行隔离治疗,并筛查密切接触者,对疫点进行消毒、杀菌和灭蚊,10月1日出现2例新增患者后未出现二代病例;9月6—27日该地区午间室外温度为(30±4)℃,工地工人(包括患者SZ2014LG02~07)习惯在阴凉潮湿的地下车库午休并反映有蚊虫叮咬经历,而车库内明渠存在严重幼蚊孳生情况,提示地下车库是重要的暴露因素,初步判断此为本地感染病例引起的聚集性登革热暴发疫情。

1985—2007年,深圳市出现的登革热病例以输入性为主,未出现本地感染病例<sup>[4]</sup>,2010年才首次出现由本地感染病例引起的登革热暴发<sup>[5]</sup>,病原为DENV-1。与其相似,本次疫情7例登革热病例均由DENV-1引起,提示深圳市本地感染的优势型可能为DENV-1型。

1985—2010年,广东DENV-1流行株以基因I型为主(1997、1999、2003),IV型(1991、1995)和V型(1985、2006)交替出现<sup>[1]</sup>;本研究进化树分析显示,2010年深圳本地流行株(D10102-SZ)与2013年广州流行株(GZ28/2013, GZ/25559/2013)为DENV-1基因I型,而本疫情病原均为基因V型,与2013年东莞市分离株D13459/Donguang属同一进化分支,提示2010年后广东地区DENV-1的基因型流行趋势未见明显改变。同源率分析显示,龙岗株SZ2014LG01与东莞株D13459/Donguang同源率最高,而两地地理相邻,人流物流频繁,不排除本疫情的病原源自东莞市。

参 考 文 献

[1] Wu JY, Lun ZR, James AA, et al. Dengue fever in mainland China [J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 83(3): 664-671.  
 [2] Puri B, Nelson WM, Henchal EA, et al. Molecular analysis of dengue virus attenuation after serial passage in primary dog kidney cells [J]. J Gen Virol, 1996, 77(Pt 9): 2287-2291.  
 [3] Goncalvez AP, Escalante AA, Pujol FH, et al. Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type 1 [J]. Virology, 2002, 303(1): 110-119.  
 [4] Zhang FC, Yang ZC. Dengue fever [M]. Beijing: Science Press, 2008: 5-7. (in Chinese)  
 张复春, 杨智聪. 登革热 [M]. 北京: 科学出版社, 2008: 5-7.  
 [5] Yang F, Guo GZ, Chen JQ, et al. Molecular identification of the first local dengue fever outbreak in Shenzhen city, China: a potential imported vertical transmission from Southeast Asia? [J]. Epidemiol Infect, 2014, 142(2): 225-233.

(收稿日期:2015-02-03)

(本文编辑:王玉立)