

云南省保山市人间狂犬病调查及病毒分子生物学特征分析

张海林 唐青 陶晓燕 王晓光 张云智 杨卫红 米竹青 王静林
章城震 冯云 郑维斌 鲁国勇 李胜国

【摘要】 目的 了解云南省保山市发生 2 例狂犬病患者的流行病学特点,根据病原分子生物学特征分析可能的传染来源。方法 采用狂犬病个案调查表进行流行病学调查,采集狂犬病患者脑组织标本,用直接免疫荧光光试验(DFA)检测狂犬病病毒抗原,用RT-PCR法检测狂犬病病毒核酸,测定狂犬病病毒 P、M 和 N 基因全序列并根据其同源性比较及系统进化树进行分子流行病学分析。结果 2006 年 7 月保山市隆阳区发生 1 例人间狂犬病,2007 年 4 月腾冲县发生 1 例狂犬病。2 例患者犬伤暴露程度均为Ⅲ度。2 例死亡病例均采集到脑组织(编号为 CYN0601H 和 CYN0701H),经 DFA 和 RT-PCR 两种实验室方法检测确诊为狂犬病病毒阳性。CYN0601H 和 CYN0701H 与国内外狂犬病病毒的 P、M 和 N 基因核苷酸和推导氨基酸序列同源性分析显示,CYN0601H 和 CYN0701H 与泰国分离株的同源性最高。系统进化分析显示,2 株病毒标本亲缘关系很近,同属于狂犬病病毒基因 1 型,且与泰国病毒株有较近的亲缘关系。结论 从病原学和病毒分子水平证实云南省保山市 2 例患者均为狂犬病,保山市狂犬病病毒流行株可能为境外传入,应加强云南省边境地区狂犬病防控工作。

【关键词】 狂犬病病毒; 基因; 分子流行病学

Survey on human rabies cases and its viral molecular biological features in Baoshan city, Yunnan province
ZHANG Hai-lin*, TANG Qing, TAO Xiao-yan, WANG Xiao-guang, ZHANG Yun-zhi, YANG Wei-hong, MI Zhu-qing, WANG Jing-lin, ZHANG Yu-zhen, FENG Yun, ZHENG Wei-bin, LU Guo-yong, LI Sheng-guo. *Yunnan Provincial Institute of Endemic Disease Control and Prevention, Dali 671000, China

【Abstract】 Objective To understand the epidemiological features of two rabies cases in Baoshan city year 2006 and 2007 and to analyze its source of infection. **Methods** Questionnaires were used to do the epidemiological survey on each of the rabies cases. Brain tissue samples of rabies patients were collect to detect the rabies virus by direct immunofluorescence assay (DFA) and RT-PCR assay. Homology and phylogenetic tree were analyzed, based on the whole nucleotide and deduced amino acid sequence of P, M and N gene of rabies virus followed by molecular epidemiological analysis. **Results** In July 2006, one human rabies case was identified in Longyang district, and another one in Tengchong county in Baoshan city in 2007. The degrees of exposure of these two patients was all at degree III. Two brain tissue samples among the dead patients (No. CYN0601H and CYN0701H) were confirmed positive by both DFA and RT-PCR assay. The homology analysis of P, M and N gene sequences among CYN0601H, CYN0701H and other rabies strains isolated from other provinces and other counties, showed that the samples in Baoshan city shared the highest homology with the strains in Thailand. Phylogenetic analysis indicated that the two samples were very close and all belonged to genotype 1 Lyssavirus, with the closest relationship between samples in Baoshan city and strains in Thailand. **Conclusion** It was confirmed on the virus molecular level that the two patients in Baoshan city were both suffered from rabies. The prevalent strains in Baoshan city was probably imported from foreign country, suggesting that prevention and control measures on rabies virus in the boarder areas of Yunnan should be strengthened.

【Key words】 Rabies virus; Gene; Molecular epidemiology

基金项目:国家高技术研究发展计划“863”资助项目(SQ2006AA02Z112882)

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(张海林、张云智、杨卫红、米竹青、王静林、章城震、冯云);中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所(唐青、陶晓燕、王晓光);云南省保山市疾病预防控制中心(郑维斌);保山市隆阳区疾病预防控制中心(鲁国勇);腾冲县疾病预防控制中心(李胜国)

狂犬病是由弹状病毒科中的狂犬病病毒引起的一种自然疫源性疾病,可引起人和多种动物致死性的中枢神经系统感染。近几年云南省狂犬病发病数逐渐上升,疫区面积不断扩大,2005 年滇西德宏州首次发生该病流行,随后该州陇川和梁河县相继发生,表明滇西地区疫情在扩散。以往,滇西保山市无狂犬病记载,2006 年和 2007 年该市隆阳区和腾冲县先后发生 3 例人间狂犬病,为核实诊断和了解狂犬病病毒流行株的分子特征,我们对其中 2 例儿童患者进行流行病学调查和病毒分子生物学检测。

材料与方法

1. 流行病学调查:采用全国狂犬病监测方案的个案调查表进行调查。

2. 标本采集:由于病例 1 和病例 2 症状不典型,为核实诊断,征得死者家属同意,分别于病例死亡后 15 和 17 h 进行尸体解剖,每例均获得大脑、小脑和脑干组织各 2 份。标本分别放入螺口冻存管,并立即冻存于液氮罐中,待检。病例 1 和病例 2 脑组织标本的编号分别为 CYN0601H 和 CYN0701H。

3. 狂犬病病毒抗原检测:采用直接免疫荧光试验(DFA)检查脑组织中的病毒抗原。分别取大脑、脑干和小脑组织进行印片,干燥后冷丙酮(4℃)固定 10 min,用荧光素标记抗狂犬病病毒单克隆抗体染色,37℃ 湿盒 30 min, PBS 振洗 2 次,蒸馏水振洗 1 次,90% 甘油封片,荧光显微镜观察结果。

4. RT-PCR 法检测:以 TRIzol 试剂(Invitrogen 公司)提取细胞总 RNA,经 Ready-To-Go You-Prime First-Strand Beads (Amersham Bioscience 公司)试剂盒反转录得到 cDNA。巢式 PCR 法扩增狂犬病病毒特异 N 基因片段(引物由中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所脑炎室提供),1% 琼脂糖凝胶检测扩增产物。

5. P、M、N 基因序列扩增及测序:以狂犬病病毒磷蛋白(P)、膜基质蛋白(M)和核蛋白(N)基因特异性引物(由中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所脑炎室提供)扩增其序列,PCR 产物纯化(QIAquick PCR Purification Kit, QIAGEN 公司)后送测序公司双向测序。

6. 序列分析:用 BioEdit、Clustal X 1.8 对获得的核苷酸序列进行编辑比较, DNASar 中 MegAlign 进行序列同源性分析,用 MEGA 3.1 软件 NJ (Neighbor-Joining)法进行系统进化树分析。

结 果

1. 流行病学调查:

[病例 1] 男性 5 岁,保山市隆阳区潞江镇顿东村,无外出史。2006 年 7 月 11 日被本村一农户的 6 月龄犬咬伤左眼上、下眼睑及前额,有伤口和出血,伤口暴露程度均为Ⅲ度。当日到当地卫生院诊治,伤口仅清创消毒(不规范,未做清洗)和接种狂犬病疫苗,7 月 25 日接种狂犬病疫苗第 4 剂,未完成全程免疫即发病。7 月 24 日患儿自诉左眼伤口疼痛。7 月 25-27 日相继出现发热(37.5~39.5℃)、呕吐、头痛、怕光、嗜睡、烦躁、自言自语和抽搐等。7 月 27 日转到保山市人民医院就诊,抢救无效死亡。该患儿恐水症状不明显。潜伏期 14 d,病程 4 d。伤人病犬未注射过狂犬病疫苗。该犬同期还咬伤另外 3 人,咬伤部位分别为左上臂、左小臂和左下肢大腿,均及时接种狂犬病疫苗,至今未发病。该犬于 7 月 11 日下午被处死深埋。

[病例 2] 男性 2 岁半,保山市腾冲县曲石乡红木村谢家寨人,无外出史。患儿于 2007 年 3 月中下旬(具体时间家长记述不清)被家中自养的犬抓、咬伤头面部(鼻梁至上唇),有流血,伤口暴露程度均为Ⅲ度。自行处理伤口但不规范,未注射狂犬病疫苗。2007 年 4 月 11 日患者突然出现发热和烦躁等,次日出现高热(39.5℃)、抽搐等,到曲石乡卫生院医治,14 日转入腾冲县人民医院,主要症状为频繁抽搐、烦躁、颈项强直、角弓反张、呕吐,有恐惧感,但患儿意识清楚。恐水、怕光,怕声症状不明显。15 日病情加重,经抢救无效死亡。推测潜伏期约 15~20 d,病程 4 d。

2. 狂犬病病毒抗原及核酸检测:经 DFA 检测, CYN0601H 的大脑、脑干和小脑组织标本均为阴性; CYN0701H 的小脑和脑干组织标本为阳性, 大脑组织标本为阴性。RT-PCR 法检测 CYN0601H 的脑干和小脑 2 份组织标本均为阳性, CYN0701H 标本的大脑、脑干和小脑组织均为阳性。

3. P、M 和 N 基因核苷酸和氨基酸序列同源性分析: CYN0601H 和 CYN0701H 标本 P 基因全序列同源性分析显示(表 1),两者具有极高的同源性(核苷酸序列同源性为 99.1%,氨基酸序列同源性为 99.0%)。CYN0601H 和 CYN0701H 病毒核苷酸序列与泰国流行毒株(HM208 和 HM65 株)的同源性较高(95.6%~96.4%),而与我国宁夏流行株

(CNX8601 和 CNX8511) 的同源性仅为 86.4%~87.0%, 与日本流行株(RCHL 和 Nishigahara 株)的同源性为 82.8%~83.7%, 与中国疫苗株(aG 和 CTN 株)核苷酸同源性为 83.9%~87.2%, 与法国疫苗株(PV 和 PM 株)和美国疫苗株 ERA 株为 83.1%~84.2%, 与国际标准攻击毒株 CVS 株为 83.4%~83.9%。氨基酸序列同源性普遍高于相应的核苷酸序列的同源性。CYN0601H 和 CYN0701H 病毒氨基酸序列与泰国流行毒株的同源性最高(98.0%~98.3%)。

CYN0601H 与 CYN0701H 的 M 基因全序列同源性也很高(核苷酸为 99.8%, 氨基酸为 99.5%)。CYN0601H 和 CYN0701H 与泰国流行毒株(8743THA 株)的 M 基因核苷酸及氨基酸序列同源性均较高(95.4%和 97.5%), 而与我国宁夏流行株(CNX8601 和 CNX8511) 的同源性为 89.0%~89.7%和 95.6%~96.1%, 与日本流行株(RCHL 和

Nishigahara 株) 为 84.4%~86.0% 和 91.6%~93.1%, 与中国疫苗株(aG 和 CTN 株)为 86.5%~90.5%和 93.1%~96.1%, 与法国疫苗株(PV 和 PM 株)为 85.1%~87.2%和 92.6%~94.1%, 与美国疫苗株 ERA 株为 85.2%~85.4%和 93.1%, 与国际标准攻击毒株 CVS 株为 86.0%~86.2%和 93.1%(表 2)。

CYN0601H 标本得到 N 基因全序列。CYN0601H 与泰国人分离株 HM88 核苷酸同源性最高(95.7%), 而与我国广西(GX091, GX01)、贵州(Guizhou _ A101)、江苏(Jiangsu _ Wx1)、湖南(Hunan _ Xx33)毒株和我国疫苗株 CTN 及印度尼西亚(印尼)(SC02-90)、墨西哥(V920)毒株的核苷酸同源性均低于 90%。CYN0601H 与 10 株国内国际狂犬病病毒的 N 基因氨基酸同源性在 93.3%~96.7%之间, 依然与泰国人分离株同源性最高, 而与墨西哥毒株同源性最低(表 3)。

表1 云南省保山市 2 株狂犬病病毒 P 基因核苷酸和推导氨基酸序列同源性分析

| 毒株 | HM208 | HM65 | CYN 0601H | CYN 0701H | CTN | CNX 8601 | CNX 8511 | RCHL | Nishi-gahara | aG | ERA | PV | CVS | PM |
|-------------|-------|------|-----------|-----------|------|----------|----------|------|--------------|------|------|------|------|------|
| HM208 | | 97.8 | 95.9 | 96.4 | 86.5 | 86.2 | 86.5 | 82.3 | 82.9 | 83.6 | 83.4 | 83.6 | 83.6 | 83.1 |
| HM65 | 98.7 | | 95.6 | 96.1 | 87.4 | 85.9 | 86.1 | 82.3 | 82.9 | 83.7 | 83.6 | 83.7 | 83.6 | 83.1 |
| CYN0601H | 98.0 | 98.3 | | 99.1 | 87.2 | 86.8 | 87.0 | 83.1 | 83.7 | 84.3 | 84.2 | 84.1 | 83.9 | 83.6 |
| CYN0701H | 98.0 | 98.3 | 99.0 | | 86.8 | 86.4 | 86.6 | 82.8 | 83.4 | 83.9 | 84.0 | 83.9 | 83.4 | 83.1 |
| CTN | 91.3 | 90.9 | 91.3 | 91.3 | | 87.8 | 88.0 | 81.5 | 81.7 | 83.6 | 83.0 | 82.7 | 83.3 | 82.8 |
| CNX8601 | 91.9 | 91.3 | 91.9 | 91.9 | 92.3 | | 99.8 | 83.3 | 83.7 | 85.0 | 84.0 | 83.8 | 85.5 | 85.3 |
| CNX8511 | 92.6 | 91.9 | 92.6 | 92.6 | 93.0 | 99.0 | | 83.3 | 83.7 | 85.2 | 84.2 | 84.0 | 85.7 | 85.6 |
| RCHL | 85.6 | 84.9 | 85.9 | 85.2 | 84.2 | 86.2 | 86.6 | | 98.9 | 95.7 | 88.8 | 88.9 | 86.4 | 86.0 |
| Nishigahara | 87.2 | 86.6 | 87.6 | 86.9 | 85.9 | 87.9 | 88.3 | 97.7 | | 96.4 | 89.5 | 89.6 | 87.0 | 86.7 |
| aG | 87.9 | 87.2 | 88.3 | 87.6 | 87.2 | 88.9 | 89.6 | 93.3 | 95.0 | | 89.8 | 89.7 | 87.7 | 87.7 |
| ERA | 88.3 | 87.2 | 88.3 | 87.6 | 88.6 | 88.9 | 89.6 | 87.2 | 88.9 | 89.9 | | 99.0 | 89.0 | 89.3 |
| PV | 89.3 | 88.3 | 89.3 | 88.6 | 87.9 | 88.9 | 89.6 | 87.9 | 89.6 | 90.6 | 97.7 | | 88.8 | 88.9 |
| CVS | 88.3 | 87.6 | 88.6 | 87.9 | 88.3 | 90.6 | 91.3 | 85.9 | 87.6 | 89.3 | 91.3 | 91.3 | | 98.5 |
| PM | 87.6 | 87.2 | 87.9 | 87.2 | 87.6 | 89.9 | 90.6 | 85.2 | 86.9 | 88.9 | 91.3 | 91.3 | 98.3 | |

注:上三角部分为核苷酸序列同源性,下三角部分为氨基酸序列同源性

表2 云南省保山市 2 株狂犬病病毒 M 基因核苷酸和推导氨基酸序列同源性分析

| 毒株 | CNX 8601 | CNX 8511 | CYN 0601H | CYN 0701H | 8743 THA | CTN | RCHL | Nishi-gahara | aG | ERA | PV | CVS | PM |
|-------------|----------|----------|-----------|-----------|----------|------|------|--------------|------|------|------|------|------|
| CNX8601 | | 99.5 | 89.2 | 89.0 | 88.8 | 88.5 | 83.3 | 84.4 | 84.2 | 84.1 | 83.7 | 83.6 | 84.2 |
| CNX8511 | 99.0 | | 89.7 | 89.5 | 89.3 | 89.0 | 83.3 | 84.4 | 84.2 | 84.1 | 83.7 | 83.6 | 84.2 |
| CYN0601H | 95.6 | 96.1 | | 99.8 | 95.4 | 90.5 | 84.4 | 85.9 | 86.5 | 85.2 | 85.1 | 86.0 | 87.0 |
| CYN0701H | 95.6 | 96.1 | 99.5 | | 95.4 | 90.3 | 84.6 | 86.0 | 86.7 | 85.4 | 85.2 | 86.2 | 87.2 |
| 8743THA | 95.6 | 96.1 | 97.5 | 97.5 | | 89.7 | 83.9 | 85.4 | 86.0 | 85.9 | 85.6 | 85.7 | 86.2 |
| CTN | 95.6 | 96.1 | 96.1 | 96.1 | 96.1 | | 81.9 | 82.9 | 83.4 | 83.4 | 83.1 | 84.6 | 85.2 |
| RCHL | 92.6 | 96.1 | 91.6 | 91.6 | 91.6 | 92.6 | | 98.9 | 96.2 | 90.6 | 90.0 | 89.2 | 89.8 |
| Nishigahara | 94.1 | 93.1 | 93.1 | 93.1 | 93.1 | 93.1 | 98.0 | | 97.4 | 91.0 | 90.6 | 90.1 | 91.0 |
| aG | 93.1 | 94.6 | 93.1 | 93.1 | 93.6 | 93.1 | 96.1 | 97.5 | | 91.8 | 91.6 | 90.8 | 91.6 |
| ERA | 93.1 | 93.6 | 93.1 | 93.1 | 93.6 | 92.6 | 91.1 | 91.6 | 91.6 | | 97.7 | 90.8 | 91.6 |
| PV | 92.6 | 93.1 | 92.6 | 92.6 | 92.6 | 92.1 | 89.7 | 91.1 | 91.1 | 94.1 | | 90.0 | 91.0 |
| CVS | 92.1 | 92.6 | 93.1 | 93.1 | 94.1 | 91.6 | 90.6 | 91.6 | 91.1 | 91.6 | 90.1 | | 99.0 |
| PM | 93.1 | 93.6 | 94.1 | 94.1 | 94.1 | 92.6 | 91.6 | 93.1 | 92.6 | 92.1 | 91.6 | 97.0 | |

注:同表 1

表3 云南省保山市 2 株狂犬病病毒 N 基因核苷酸和推导氨基酸序列同源性分析

| 毒株 | HM88 | D23 | CYN0601H | GX091 | GX01 | Guizhou_A101 | CTN | Jiangsu_Wx1 | Hunan_Xx33 | SC02-90 | V920 |
|--------------|------|------|----------|-------|------|--------------|------|-------------|------------|---------|------|
| HM88 | | 96.7 | 95.7 | 88.3 | 87.9 | 88.1 | 89.2 | 87.2 | 87.4 | 87.6 | 83.6 |
| D23 | 97.9 | | 94.0 | 87.8 | 87.4 | 87.5 | 88.5 | 86.8 | 87.2 | 86.7 | 82.9 |
| CYN0601H | 96.7 | 95.8 | | 89.2 | 88.5 | 88.6 | 89.4 | 87.9 | 87.8 | 87.4 | 83.9 |
| GX091 | 97.9 | 97.1 | 95.8 | | 97.8 | 97.9 | 95.1 | 89.6 | 89.4 | 88.2 | 86.5 |
| GX01 | 97.5 | 96.7 | 95.4 | 98.8 | | 97.1 | 94.0 | 89.3 | 89.2 | 88.2 | 85.7 |
| Guizhou_A101 | 95.8 | 95.0 | 93.8 | 97.5 | 96.7 | | 94.3 | 89.0 | 88.9 | 88.2 | 86.0 |
| CTN | 97.5 | 96.7 | 95.4 | 99.2 | 98.3 | 97.1 | | 90.0 | 90.4 | 89.7 | 85.4 |
| Jiangsu_Wx1 | 97.5 | 96.7 | 95.4 | 99.2 | 98.3 | 97.1 | 98.8 | | 98.5 | 91.2 | 85.0 |
| Hunan_Xx33 | 97.5 | 96.7 | 95.4 | 99.2 | 98.3 | 97.1 | 98.8 | 98.8 | | 91.9 | 85.4 |
| SC02-90 | 95.8 | 95.0 | 93.8 | 97.1 | 96.2 | 95.0 | 96.7 | 96.7 | 96.7 | | 84.7 |
| V920 | 95.4 | 94.6 | 93.3 | 96.7 | 95.8 | 96.2 | 96.2 | 96.2 | 96.2 | 94.6 | |

注:同表 1

4. 系统进化树分析: 根据 CYN0601H 和 CYN0701H 脑组织标本中狂犬病病毒 P、M 和 N 蛋白基因测序结果, 与 GenBank 中收录的狂犬病病毒基因 1~7 型毒株的核苷酸序列构建系统进化树。结果显示: CYN0601H 和 CYN0701H 标本与来自泰国(HM208、HM65 株和 8743THA 株)、中国宁夏(CNX8601 和 CNX8511)和国际标准攻击毒株(CVS 株)以及中国(aG 和 CTN 株)、法国(PV 和 PM 株)和美国(ERA 株)疫苗株等狂犬病病毒 P 和 M 蛋白基因序列在同一分支上, 同属于狂犬病病毒中的基因 I 型, 其中与来自泰国患者和犬的狂犬病病毒进化距离最近(图 1、2)。此外, CYN0601H 标本的 N 基因序列与我国贵州(Guizhou_A101)、广西(GX091、GX01 和 GX09)、湖南(Hunan_Xx33)和江苏(Jiangsu-Wx1)以及泰国(HM88 和 D23)、印尼

(SC02-90)犬类流行毒株 N 基因序列也在同一分支上, 同样属于狂犬病病毒中的基因 I 型, 同样与泰国患者和犬的狂犬病病毒进化距离最近(图 3)。

讨 论

近年来我国狂犬病疫情快速回升, 已成为日益严重的公共卫生问题^[1,2]。云南省近几年狂犬病发病数也逐渐上升, 疫区范围不断扩大, 因此分析其流行特征, 掌握流行病毒株的分子生物学特征, 是制定防控措施的基础。云南省狂犬病主要分布在滇东北和滇东南与四川、贵州和广西省区毗邻地区, 而滇西地区以往未发生过狂犬病^[3]。2005-2007 年滇西各地相继发生该病。从狂犬病疫情报告看, 以往云南省乃至全国报告的狂犬病病例几乎均为临床诊断病例, 缺乏实验室检测依据。本研究对保山市 2 例

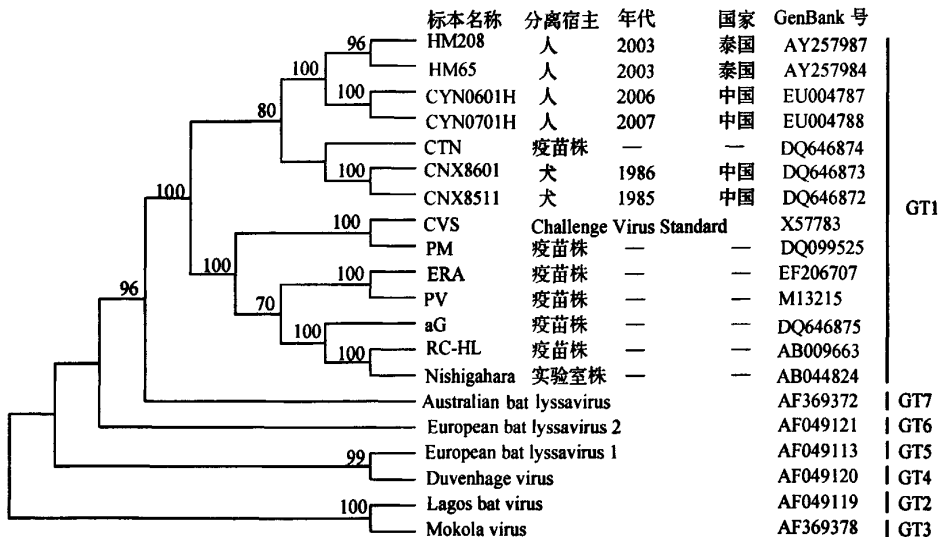


图1 MEGA 3.1 软件 NJ 方法构建 P 基因核苷酸序列种系发生树

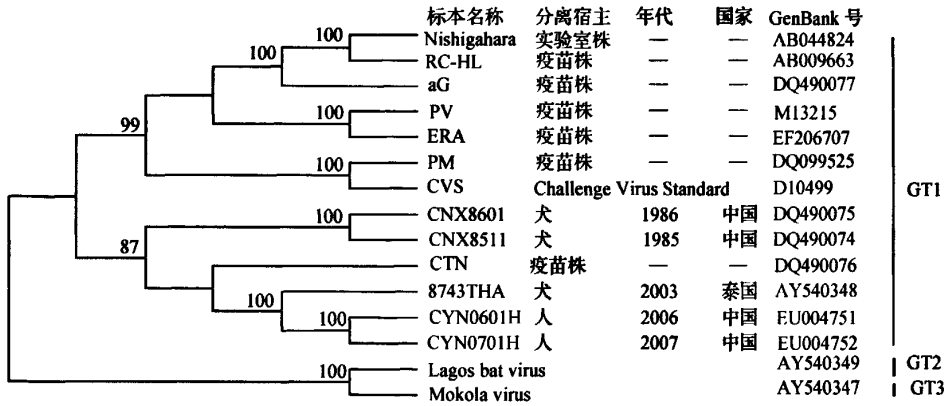


图2 MEGA 3.1 软件 NJ 方法构建 M 基因核苷酸序列种系发生树

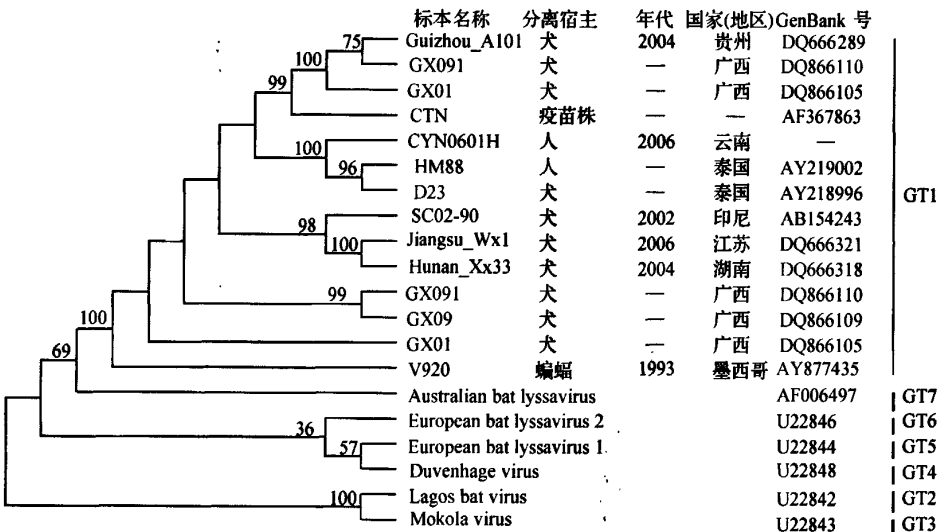


图3 MEGA 3.1 软件 NJ 方法构建 N 基因核苷酸序列种系发生树

狂犬病患者进行狂犬病病毒抗原、核酸和基因序列测定分析,结果从病毒分子水平证实这 2 例均为狂犬病,此为云南省首次报告的狂犬病实验室确诊病例,具有重要意义。

RT-PCR 及基因测序是病毒分子流行病学研究的常用方法^[4]。本次狂犬病病毒基因序列分析发现,保山市隆阳区和腾冲县 2 例死亡儿童之间的病毒基因序列同源性较高;与国际基因库中的狂犬病病毒基因序列比较,该 2 例的病毒基因序列与泰国流行株的同源性较高,而与我国其他省区犬类流行株的同源性较低。系统发生树分析显示,2 例患儿的 N 基因与泰国毒株形成了一个分支,结果提示保山市 2 起狂犬病疫情的流行毒株来源相同,均为境外传入。

一般认为,血清抗体或唾液病毒核酸的检测,可

作出狂犬病实验室确诊病例的诊断,然而,由于狂犬病患者病程短,很难从血清中查到抗体,因此,检测患者血清中的抗体在狂犬病诊断上意义不大。虽然狂犬病患者分泌的唾液中存在狂犬病病毒,但在整个发病期间并非每次排出的唾液中都含有病毒,因此从患者唾液中检测狂犬病病毒核酸的阳性率不高,单纯靠唾液核酸检测作出诊断也有不足。由于狂犬病引起全脑炎,用 RT-PCR 法从死者脑组织中检测狂犬病病毒核酸具有快速、特异等优点。本次 CYN0701H 的狂犬病病毒抗原和核酸检测均为阳性,二种方法相符,而 CYN0601H 的核酸检测为阳性, DFA 抗原检测为阴性,表明 DFA 的检出率可能受到组织细胞新鲜程度和实验条件等的影响较大,因此对脑组织的检测不能仅凭 DFA 结果作出诊断。

狂犬病病毒的基因组为单股负链不分节段的

RNA,全长约12 kb(11~15 kb)。由基因组的3'端至5'端依次排列着N、NS、M、G、L 5个结构基因,各基因的序列长度分别为1424、991、805、1675和6475个核苷酸,分别编码N、P、M、G和L蛋白。N蛋白基因相对恒定,点突变较少,而且与狂犬病病毒的型别有关^[5]。本次对死者脑组织首先采用N基因核酸检测,2例标本均获得阳性结果,认为可用该法确诊狂犬病。

Bourhy等^[6]通过测定狂犬病病毒属中具有代表性的病毒分离物N基因的序列,将狂犬病病毒区分为6个基因型:基因1型(狂犬病病毒,RABV)、2型(拉各斯蝙蝠病毒,LBV)、3型(莫科拉病毒,MOKV)、4型(杜文海洛病毒,DUVV)、5型(欧洲蝙蝠狂犬病病毒1,EBLV-1)、6型(欧洲蝙蝠狂犬病病毒2,EBLV-2)。Skerratt等^[7]从澳大利亚的蝙蝠中分离出狂犬病病毒的基因7型(澳大利亚蝙蝠狂犬病病毒,ABLV)。de Mattos等^[8](2001)也证明狂犬病病毒基因型和血清型基本一致,N基因核苷酸序列的同源性用于狂犬病病毒基因分型是可靠的。本次2例患儿分离病毒的N、P和M基因序列均与国际基因库中的基因1型病毒同源性较高,种系发生树也与1型病毒同在一个分支,而与其他基因型距

离较远,均为RABV感染。结果认为,无论检测N、P或M基因序列,均可对狂犬病病毒进行基因分型。

参 考 文 献

- [1] 宋森,唐青,许真,等.中国2005年狂犬病流行相关因素分析.中华流行病学杂志,2006,27(11):956-959.
- [2] 唐青.中国狂犬病流行因素分析及预防控制建议.卫生部自然疫源性传染病专家咨询委员会资料汇编(第十辑),2008:54-60.
- [3] 张海林,何建华.云南省狂犬病流行及防治策略.中国人兽共患病杂志,2003,19(1):127-128.
- [4] Bourhy H, Kissi B, Tordo N, et al. Molecular epidemiological tools and phylogenetic analysis of bacteria and viruses with special emphasis on lyssaviruses. *Prev Vet Med*, 1995, 25: 164-181.
- [5] Tordo H, Poch O, Ermine A, et al. Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome: segmented homology with VSV. *Nucleic Acids Res*, 1986, 14(6): 2671-2683.
- [6] Bourhy H, Kissi B, Tordo N. Molecular diversity of the Lyssavirus genus. *Virology*, 1993, 194(1): 70-81.
- [7] Skerratt LF, Speare R, Berger L, et al. Lyssaviral infection and lead poisoning in black flying from Queensland. *J Wild Dis*, 1998, 34(2): 355-361.
- [8] de Mattos CA, de Mattos CC, Rupprecht CE. *Rhabdoviruses*/Kinpe DM, Howley PM. *Fields Virology*. 4th ed. Vol 1. Philadelphia: Lipponcott Williams and Wilkins, 2001: 1245-1257.

(收稿日期:2008-04-15)

(本文编辑:张林东)

· 消息 ·

第二届全国儿童伤害防治研讨会暨世界防止虐待儿童日 宣传大会征文通知

第二届全国儿童伤害防治研讨会暨世界防止虐待儿童日宣传大会定于2008年11月18-20日在广东省深圳市召开。
会议主题:关爱儿童,远离伤害,携手托起明天的太阳。
主办单位:中华预防医学会伤害预防与控制分会、深圳市疾病预防控制中心、《中华流行病学杂志》编辑部、《疾病控制杂志》编辑部、第四军医大学西京医院儿童医学中心、西安博爱儿童虐待防治救助中心。
征文内容:儿童伤害的调查研究、儿童伤害发生的环境及社会因素、儿童伤害的治疗实验研究、群体儿童伤害的预防及应急干预、儿童急性中毒的诊治、自然灾害对儿童的伤害及其救治、儿童伤害后心理障碍的诊治、儿童虐待的临床研究和分析、儿童忽视的临床研究和分析、儿童摇晃综合征的临床研究和分析、儿童权利与儿童伤害的研究、留守/流浪儿童的健康问题与干预、安全社区与儿童伤害干预项目的效果评价。
征文要求:①论著包括题目、作者、单位、摘要、关键词、材料与方法、结果、讨论、参考文献(不超过10条),其中题目、作者、单位、摘要、关键词和图表同时用中英文;必须附单位证明;②摘要按目的、方法、结果、结论四段式撰写;③作者简介包括姓名、出生年、性别、籍贯、学位、职称、主要研究方向;④出席会议并希望能在医学期刊刊出稿件者,请注明“要求发表”;已发表或不需发表的稿件,请注明“只交流不刊出”;⑤请同时邮寄纸质稿和电子版,写明联系电话、传真号码、邮箱地址。
截稿日期:只交流不发表的稿件于2008年10月10日之前送达。
稿件寄送:第四军医大学西京医院儿科张国成主任, 邮寄地址:710032 西安市长乐西路15号, 电话:029-84775395, 传真:029-84773306, Email: zhangguoch538@sina.com
会议费用:会务费每人800元(学生凭有效证件减半),食宿费及差旅费自理。需要学分证书者另交30元证书工本费。