

· 监测 ·

2020 年广州市登革热流行状况和病毒 E 基因进化特征分析

蒋力云 刘远 苏文哲 曹毅敏 刘文辉 狄飏 杨智聪

广州市疾病预防控制中心病毒免疫部, 广州 510440

通信作者: 蒋力云, Email: year800325@163.com

【摘要】目的 分析 2020 年广州市登革热流行状况和病毒 E 基因进化特征, 探讨广州市登革热的流行特征和病毒传播特点。**方法** 通过中国疾病预防控制中心传染病报告信息管理系统收集登革热病例信息, 采用荧光定量 PCR 检测血清标本并测定登革病毒 E 基因序列, 运用 MEGA 5.05 软件构建最大相似性基因树, 使用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。**结果** 2020 年广州市共报告 33 例登革热确诊病例, 其中输入病例 31 例 (93.94%), 本地病例 2 例 (6.06%)。相比于 2016–2019 年, 登革热确诊病例数、总发病率和本地发病率均有明显下降, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。输入病例来自东南亚地区的占 90.32% (28/31)。输入病例和本地病例登革病毒 E 基因序列及进化分析与东南亚序列亲缘关系相近, 与我国广州市近年序列关系相对较远。**结论** 2020 年我国广州市登革热本地疫情受输入病例, 特别是东南亚地区输入病例影响大。本研究结果支持我国广州市登革热疫情尚未本地化, 由输入病例导致的本地流行的推论。

【关键词】 登革热; 登革病毒; 包膜基因; 基因进化树

基金项目: 广州市科技计划 (202002030117); 广州市重点学科项目 (2021–2023–11); 广州市卫生健康科技 (20191A011059)

Analysis on epidemiological characteristics of dengue fever and E gene evolution of dengue virus in Guangzhou, 2020

Jiang Liyun, Liu Yuan, Su Wenzhe, Cao Yimin, Liu Wenhui, Di Biao, Yang Zhicong

Department of Virology and Immunology, Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China

Corresponding author: Jiang Liyun, Email: year800325@163.com

【Abstract】Objective To assess the incidence of dengue fever and E gene evolution of dengue virus in Guangzhou in 2020 and understand the local epidemiological characteristics of dengue fever and spreading of dengue virus. **Methods** The information of dengue fever cases in Guangzhou in 2020 was collected from Notifiable Infectious Disease System of Chinese Center for Disease Control and Prevention Information System. Serum samples from the cases were detected by real-time PCR. The E gene was sequenced and analyzed. Maximum likelihood phylogenetic trees were constructed using software MEGA 5.05. The statistical analysis was conducted using software SPSS 20.0. **Results** A total of 33 dengue fever cases were reported in Guangzhou in 2020, including 31 (93.94%) imported cases and 2 (6.06%) local cases. Compared with the data during 2016 to 2019, the number of cases, overall incidence and local incidence all decreased with statistically significant differences (all $P < 0.05$). The imported cases from Southeast Asia constituted 90.32% (28/31) of imported cases. The E gene sequences and the phylogenetic trees of imported and local

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20210930-00763

收稿日期 2021-09-30 本文编辑 斗智

引用格式: 蒋力云, 刘远, 苏文哲, 等. 2020 年广州市登革热流行状况和病毒 E 基因进化特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2022, 43(5): 716–721. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20210930-00763.

Jiang LY, Liu Y, Su WZ, et al. Analysis on epidemiological characteristics of dengue fever and E gene evolution of dengue virus in Guangzhou, 2020[J]. Chin J Epidemiol, 2022, 43(5): 716–721. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20210930-00763.



cases demonstrated close relationship with the virus sequences from Southeast Asian, and they were less homologous with the sequences of dengue virus isolated in Guangzhou in previous years.

Conclusions The incidence of dengue in Guangzhou in 2020 was significantly affected by the imported cases, especially those from Southeast Asian countries. The study result demonstrated that dengue fever was not endemic in Guangzhou and it was caused by imported ones.

【Key words】 Dengue fever; Dengue virus; Envelope gene; Phylogenetic tree

Fund programs: Guangzhou Science and Technology Department Program (202002030117); Project for Key Medicine Discipline Construction of Guangzhou Municipality (2021-2023-11); Bureau of Health of Guangzhou Municipality (20191A011059)

登革热是登革病毒引起的、全球流行范围广泛的虫媒传染病,从南纬 25°至北纬 25°地区均有分布。有研究估计 2010 年的全球感染病例达 9 600 万人,其中 70% 分布在亚洲地区^[1]。我国登革热主要流行于东南沿海地区和云南省。其中,广东省是登革热的高发地区,病例数、暴发流行次数和规模、流行持续时间均显著高于其他省份^[2]。2001–2011 年,广东省报告 3 577 例登革热确诊病例,其中 2 536 例(70.90%)发生在广州市。2014 年,广东省发生历史上最大规模的登革热流行,确诊病例数达 45 236 例^[3],广州市报告 37 340 例,占广东省病例数的 82.54%。近年来,广州市登革热疫情上升迅猛且持续时间长,波及范围从 2008–2012 年的 7 区,34.71%(59/170)的街镇,扩大到 2017 年全市 12 区,97.06%(165/170)的街镇^[4-5]。本研究通过分析 2020 年广州市登革热流行状况和病毒 E 基因进化,探讨广州市登革热的流行特征和病毒传播特点,为登革热防控提供参考依据。

资料与方法

1. 资料来源:登革热疑似和确诊病例参照文献[6]。登革热确诊病例信息来源于中国疾病预防控制中心传染病报告信息管理系统。广州市 CDC 收检的疑似病例血清标本由广州市各医院及各区 CDC 送检。

2. 荧光定量 PCR 检测血清标本:将收检的疑似病例血清标本用病毒核酸提取试剂(磁珠法)(江苏硕士生物科技有限公司)提取核酸,登革病毒通用/1 型/2 型/3 型/4 型核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)(江苏硕士生物科技有限公司)进行核酸检测,实验步骤和反应条件参见试剂说明书。

3. 病毒 E 基因序列测定及进化分析:按照文献中的引物、试剂和步骤扩增病毒 E 基因,产物送上

海英维捷基公司测序^[7]。测得的 E 基因序列全部上传至 GenBank,并下载参考序列,使用 MEGA 5.05 软件构建最大相似度基因进化树^[8],登革病毒 4 种血清型的基因型分类参考 Rico-Hesse 的分类标准^[9]。

4. 统计学分析:应用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,采用 χ^2 检验比较 2020 年登革热发病率与 2016–2019 年发病率之间的差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本情况:2020 年广州市共报告登革热确诊病例 33 例,其中输入病例 31 例(93.94%),本地病例 2 例(6.06%)。总发病率为 0.20/10 万,输入病例和本地病例的发病率分别为 0.18/10 万、0.01/10 万。2016–2019 年共报告确诊病例数分别为 244、942、1 296 和 1 634 例,发病率分别为 1.74/10 万、6.50/10 万、8.68/10 万和 10.60/10 万;本地病例数分别为 204、873、1 199 和 1 365 例,本地发病率分别为 1.45/10 万、6.02/10 万、8.04/10 万和 8.92/10 万。相比于 2016–2019 年,登革热确诊病例数、总发病率和本地发病率均有明显下降,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2. 确诊病例信息:33 例登革热确诊病例中,血清型 2 型(DENV2)、血清型 1 型(DENV1)、血清型 3 型(DENV3)、血清型 4 型(DENV4)和无法确认血清型的病例数分别为 12 例(36.36%)、4 例(12.12%)、2 例(6.06%)、2 例(6.06%)和 13 例(39.40%)。31 例输入病例均在新型冠状病毒肺炎疫情防控的入境隔离期间被发现,所有输入病例无二代相关病例报告,除 1 例从我国广西壮族自治区输入、2 例从印度输入外,其他均由东南亚地区输入(90.32%,28/31),其中,来自柬埔寨的输入病例为 10 例(32.26%,10/31),居于首位,2 例本地病例

为 DENV2 感染。

3. 血清标本检测:2020 年广州市 CDC 共接收疑似病例血清标本 47 例,采用荧光定量 PCR 检测分型。其中,阴性 41 例、阳性 6 例,DENV1~4 阳性分别为 1、3、1 和 1 例。荧光定量 PCR 检测结果为阳性的疑似病例归入确诊病例。

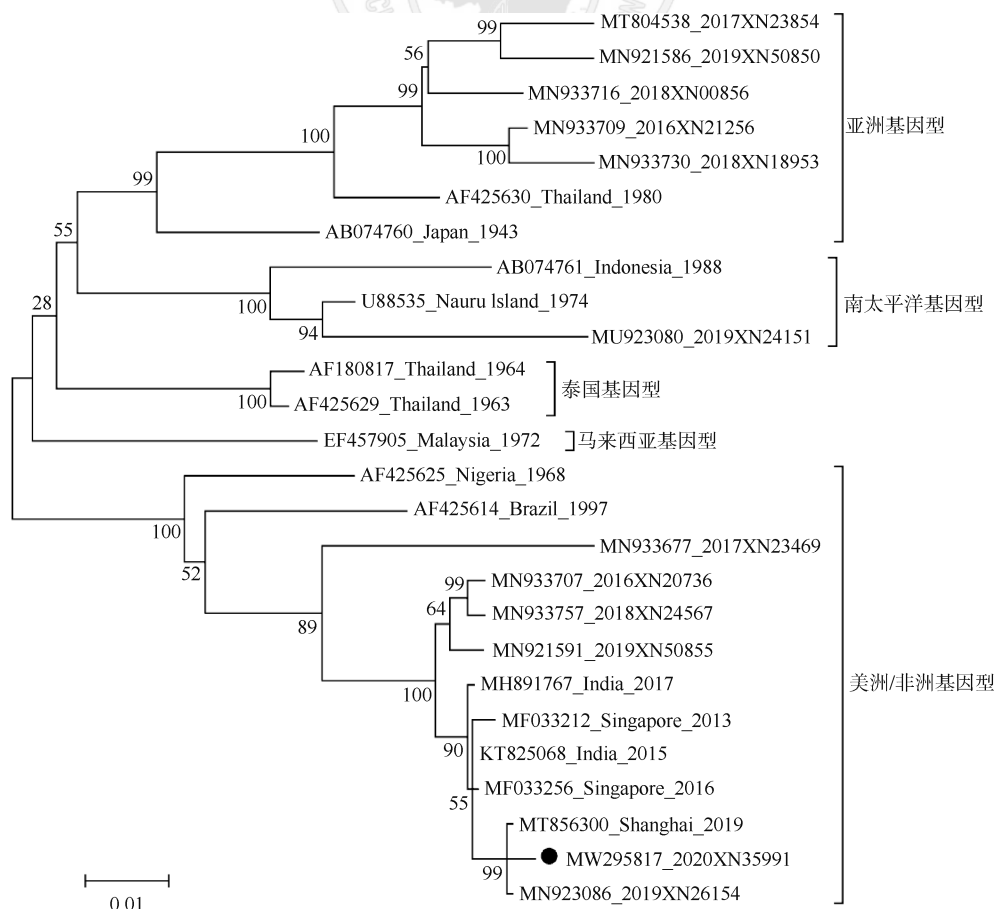
4. 登革病毒 E 基因序列测定及进化分析:荧光定量 PCR 检测结果为阳性的疑似病例标本全部测得登革病毒 E 基因序列,序列上传至 GenBank。将 2020 年测得的序列与 GenBank 中的参考序列和广州市 2016–2019 年序列比对并构建基因进化树,广州市序列以 GenBank 序列编号、年份和实验室编号表示,其他序列以 GenBank 序列编号、国家(地区)和年份表示。

2020 年我国广州市 DENV1 序列属于美洲/非洲基因型(图 1),与新加坡和印度近年来的序列亲缘关系相近,流行病学调查结果显示,该序列来自新加坡输入病例。2020 年我国广州市 DENV2 序列包括 2 条来自本地病例的序列(GenBank 序列编号为 MW295818 和 MW345921)均属于马来西亚/印度

次大陆基因型(图 2),与我国上海市 2019 年、我国浙江省 2017 年、新加坡 2016 和 2017 年、泰国 2016 年的序列亲缘关系相近。我国广州市 2020 年 DENV3 序列(图 3)属于东南亚/南太平洋基因型,流行病学调查结果显示,来自缅甸输入病例,与我国云南省 2016 年以及东南亚地区近年来的序列亲缘关系相近。2020 年我国广州市 DENV4 序列在 E 基因进化树(图 4)中属于印度尼西亚基因型,流行病学调查显示来自马来西亚输入病例,并且与印度尼西亚、东帝汶和澳大利亚近年来的序列亲缘关系相近。E 基因进化树分析结果显示,2020 年我国广州市 DENV1~4 序列与广州市 2016–2019 年序列亲缘关系均相对较远,如 DENV2~3 序列与广州市 2016–2019 年大部分序列分属不同基因型。

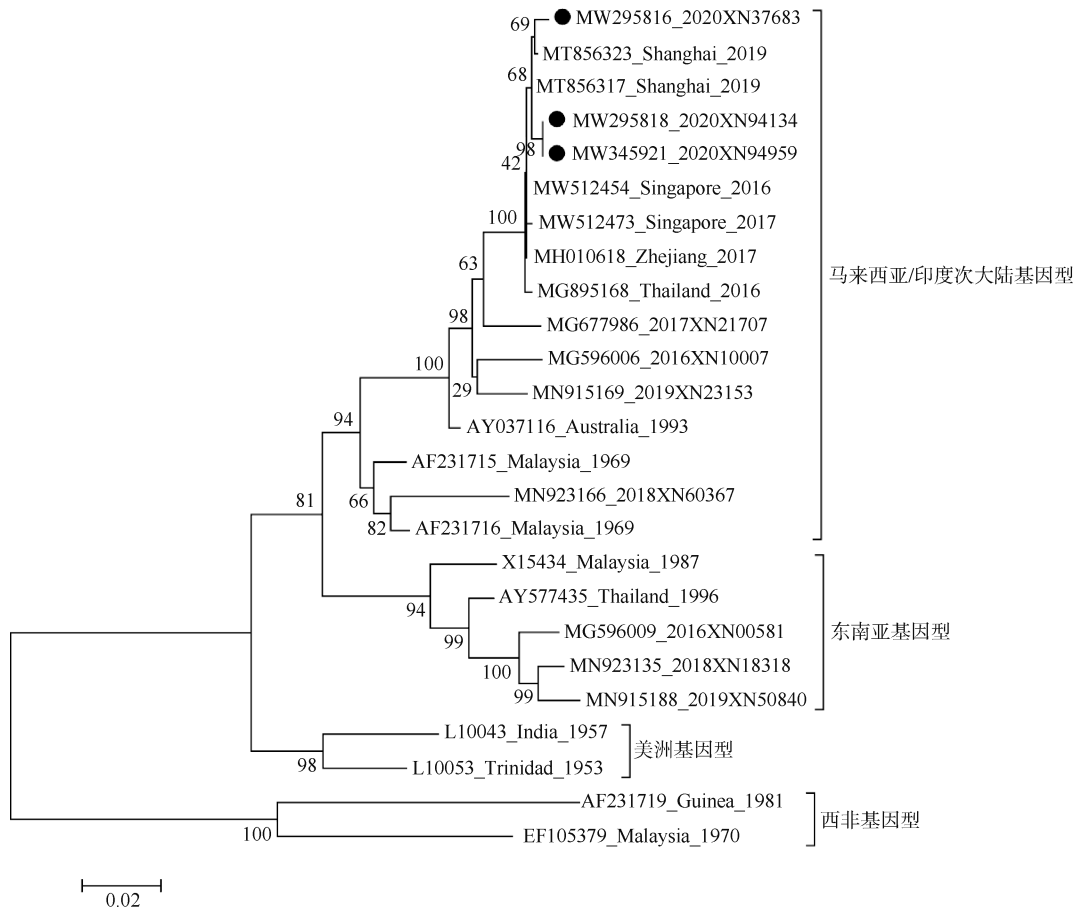
讨 论

关于广州市登革热流行是否本地化的争论由来已久。有文献通过流行病学、病原学和健康人群抗体特征认为,登革热在广东省呈地方性流行趋



注:●广州市 2020 年登革病毒 E 基因序列

图 1 2020 年广州市登革病毒血清型 1 型 E 基因进化树



注: ●广州市2020年登革病毒E基因序列

图2 2020年广州市登革病毒血清型2型E基因进化树

势^[5,10]。2020年,新型冠状病毒肺炎在全球流行,我国采取了入境人员防控隔离政策,使得登革热的输入和传播受限,为观察广州市登革热本地流行状况提供了条件。在广州市并未改变登革热防治措施,以及诱蚊诱卵指数与往年相比不具有统计学差异的情况下,随着输入病例的下降,2020年本地发病数和发病率明显下降,与2016–2019各年比较降幅均达99%以上,差异有统计学意义^[11],表现出广州市登革热本地疫情在较大程度上受输入病例影响的特点。其次,DENV1作为广州市近20年来登革热流行的优势血清型,能在每年的本地病例中检测出^[5,7,12-13],在2020年却无感染DENV1的本地病例。同时,2例本地病例登革病毒E基因进化分析发现,病毒序列与我国上海市2019年、我国浙江省2017年以及东南亚地区的序列亲缘关系最近,而与我国广州市2016–2019年的序列亲缘关系相对较远,甚至属于不同的基因型(图2),不能排除本地病例为国内其他地区输入引起二代病例的可能。研究结果支持广州市登革热疫情尚未本地化,是由输入病例导致本地流行的理论。采取控制和减少

输入病例,避免出现二代病例,能有效降低广州市登革热本地病例发病数和发病率。

本研究发现,90.32%的输入病例来自东南亚地区。通过对DENV1~4进化树分析也印证2020年我国广州市输入病例病毒E基因序列与东南亚地区近年来的序列亲缘关系相近^[13-14]。WHO数据显示,全球约50%的登革热病例发生在东南亚地区,2015–2019年该地区的登革热发病数增长了46%^[15]。我国广州市作为我国重要的沿海城市之一,由于地理和经济关系,与东南亚地区有密切的往来^[16],为登革热的输入提供了条件。因此,出入境口岸、商务外事和疾病预防控制机构应联合落实登革热入境检疫,特别是对东南亚地区的入境人员的监测,加强出境人员登革热的健康宣教工作,预防登革热的输入和扩散。

综上所述,2020年我国广州市登革热本地疫情受输入病例,特别是东南亚地区输入病例影响。本研究结果支持我国广州市登革热疫情尚未本地化,由输入病例导致的本地流行的推论。加强对入境人员的登革热监测,及时发现输入病例,进而实施

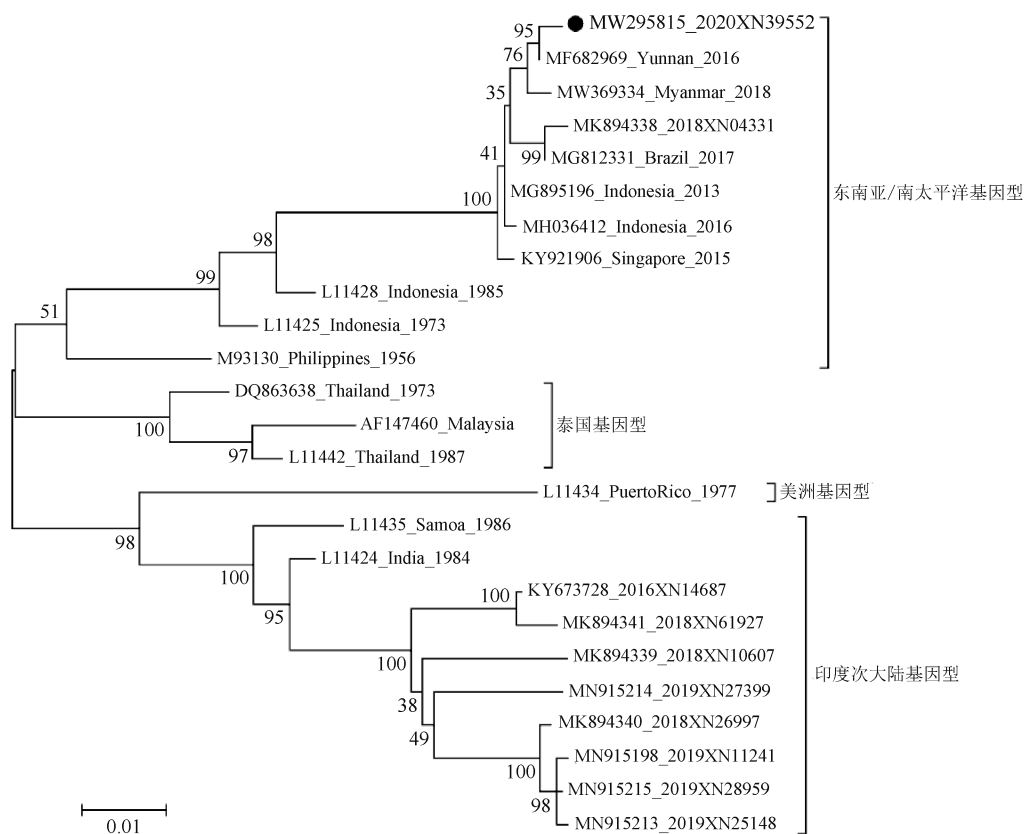


图3 2020年广州市登革病毒血清型3型E基因进化树

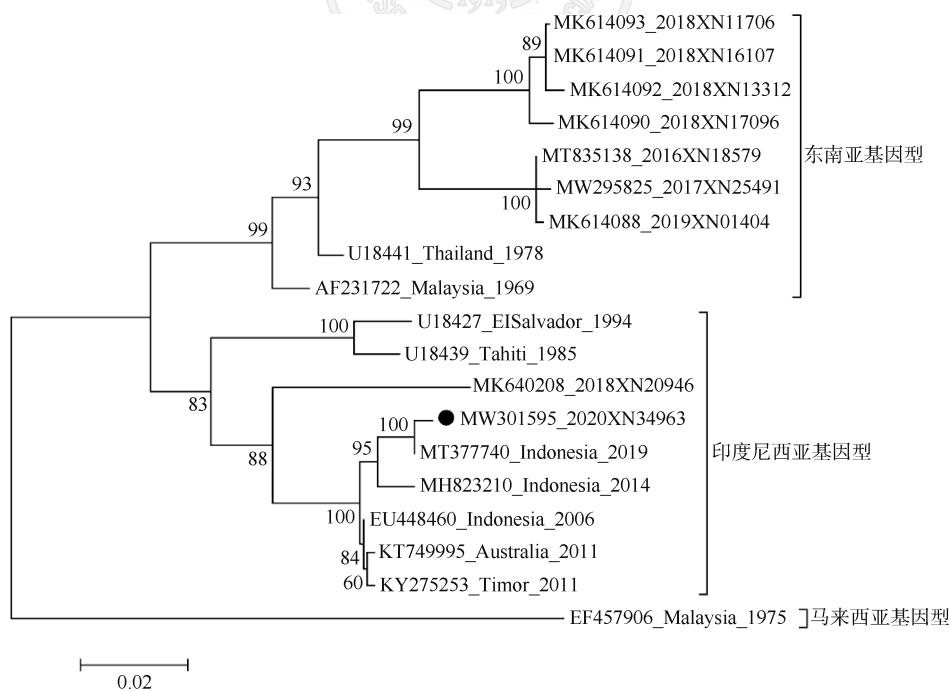


图4 2020年广州市登革病毒血清型4型E基因进化树

有效的公共卫生干预,将有助于广州市登革热的防控。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 蒋力云:研究设计、实施研究、采集数据、分析数

据、起草文章、获取研究经费;刘远:分析数据、起草文章、审阅、指导;苏文哲:实施研究、起草文章、申请研究经费;曹毅敏:实施研究、材料支持;刘文辉:采集数据、统计分析;狄飏:审阅、支持性贡献;杨智聪:审阅、指导、技术支持

参 考 文 献

- [1] Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, et al. The global distribution and burden of dengue[J]. *Nature*, 2013, 496(7446):504-507. DOI:10.1038/nature12060.
- [2] 牟笛, 崔金朝, 殷文武, 等. 2015-2018 年我国登革热暴发流行病学特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(5):685-689. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20190715-00523.
Mu D, Cui JC, Yin WW, et al. Epidemiological characteristics of dengue fever outbreaks in China, 2015-2018[J]. *Chin J Epidemiol*, 2020, 41(5): 685-689. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20190715-00523.
- [3] Sun JF, Wu D, Zhou HQ, 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. DOI:10.1016/j.jinf.2015.10.007.
- [4] 罗雷, 杨智聪, 王玉林, 等. 广州市 1978 至 2006 年登革热流行病学特征分析[J]. *中华传染病杂志*, 2008, 26(8): 490-493.
Luo L, Yang ZC, Wang YL, et al. The analysis of the epidemiologic features of dengue fever from 1978 to 2006 in Guangzhou, China[J]. *Chin J Infect Dis*, 2008, 26(8):490-493.
- [5] 陆剑云, 陈宗道, 马蒙蒙, 等. 2008-2017 年广州市登革热疫情流行趋势[J]. *热带医学杂志*, 2018, 18(7):973-976, 985. DOI:10.3969/j.issn.1672-3619.2018.07.031.
Lu JY, Chen ZQ, Ma MM, et al. Epidemic trend of dengue fever in Guangzhou city from 2008 to 2017[J]. *J Trop Med*, 2018, 18(7):973-976, 985. DOI:10.3969/j.issn.1672-3619.2018.07.031.
- [6] 国家卫生和计划生育委员会. 登革热诊断(WS 216-2018) [S]. 北京:中国标准出版社, 2018.
National Health and Family Planning Commission. Diagnosis for dengue fever (WS 216-2018) [S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.
- [7] 蒋力云, 曹毅敏, 许杨, 等. 广州市 2011 年登革病毒流行状况及 E 基因进化特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2012, 33(12):1273-1275. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.12.017.
Jiang LY, Cao YM, Xu Y, et al. Epidemiological situation and the E gene evolution of dengue virus in Guangzhou, 2011[J]. *Chin J Epidemiol*, 2012, 33(12):1273-1275. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.12.017.
- [8] Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, et al. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0[J]. *Syst Biol*, 2010, 59(3): 307-321. DOI: 10.1093/sysbio/syq010.
- [9] Rico-Hesse R. Microevolution and virulence of dengue viruses[J]. *Adv Virus Res*, 2003, 59: 315-341. DOI: 10.1016/s0065-3527(03)59009-1.
- [10] 张复春. 中国登革热现状[J]. *新发传染病电子杂志*, 2018, 3(2):65-66. DOI:10.3877/j.issn.2096-2738.2018.02.002.
Zhang FC. The current situation of dengue fever in China [J]. *Electr J Emerg Infect Dis*, 2018, 3(2): 65-66. DOI: 10.3877/j.issn.2096-2738.2018.02.002.
- [11] Jiang LY, Liu Y, Su WZ, et al. Decreased dengue cases attributable to the effect of COVID-19 in Guangzhou in 2020[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2021, 15(5):e0009441. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009441.
- [12] Jiang LY, Wu XW, Wu YJ, et al. Molecular epidemiological and virological study of dengue virus infections in Guangzhou, China, during 2001-2010[J]. *Virol J*, 2013, 10: 4. DOI:10.1186/1743-422X-10-4.
- [13] Jiang LY, Jing QL, Liu Y, et al. Molecular characterization and genotype shift of dengue virus strains between 2001 and 2014 in Guangzhou[J]. *Epidemiol Infect*, 2017, 145(4):760-765. DOI:10.1017/S0950268816002429.
- [14] 蒋力云, 刘远, 苏文哲, 等. 广州市 2019 年登革热确诊病例空间聚集性及登革病毒 E 基因进化特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(5): 878-885. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201015-01238.
Jiang LY, Liu Y, Su WZ, et al. Spatial autocorrelation of Dengue cases and molecular biological characteristics of envelope gene of Dengue virus in Guangzhou, 2019[J]. *Chin J Epidemiol*, 2021, 42(5):878-885. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20201015-01238.
- [15] World Health Organization. Dengue and severe dengue [EB/OL]. (2020-01-01) [2021-09-22]. <https://www.who.int/southeastasia/health-topics/dengue-and-severe-dengue>.
- [16] 丁健, 李林芳. 广州市居民的出境旅游行为[J]. *地理研究*, 2004, 23(5):705-714. DOI:10.3321/j.issn:1000-0585.2004.05.015.
Ding J, Li LF. A study on tourist behavior of outbound travel for Guangzhou residents[J]. *Geogr Res*, 2004, 23(5): 705-714. DOI:10.3321/j.issn:1000-0585.2004.05.015.