

# 福建省 2015 年本地登革热病例的病原学特征

张拥军, 吴生根, 王金章, 游丽斌, 阚乃鹏, 翁育伟

**摘要:** 目的 分析 2015 年福建省本地登革热病例部分登革病毒流行株的基因组序列, 调查相关病毒株之间的遗传联系, 为福建省登革热防控提供病原学证据。方法 采集急性期患者血清, 实时荧光 RT-PCR 检测登革病毒 RNA, 阳性者分离病毒, 扩增病毒基因组并测序, 以病毒全长编码区序列进行种系发生分析。结果 2015 年福建省先后出现登革 1 型(DENV1) 和登革 2 型病毒(DENV2) 引起的本地暴发疫情, 共发生 4 起聚集性病例, 报告 41 例。分离到 DENV1 病毒株 9 株, DENV2 病毒株 8 株。种系发生分析显示, 9 株 DENV1 高度相似, 同属于基因 1 型(G1), 提示其共同的输入来源可能为斯里兰卡; 而 8 株 DENV2 病毒虽然同属于大都市基因型, 却分为差异较大的两簇, 表明莆田与福州两地疫情相关毒株的遗传关联度较低, 可能分别来自马来西亚和印度。结论 2015 年共出现 4 起聚集性本地登革热疫情, 部分患者病毒分离株的病原学特征表明, 福建省 2015 年本地登革热暴发疫情存在多个输入来源。

**关键词:** 登革热; 病原学; 基因组; 序列分析

中图分类号: R373.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-2694(2019)01-0028-06

## Etiological characterization of indigenous dengue cases in Fujian province, 2015

ZHANG Yong-jun, WU Sheng-gen, WANG Jin-zhang, YOU Li-bin, KAN Nai-peng, WENG Yu-wei

(1. Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China;

2. Fujian Provincial Key Laboratory of Zoonosis Disease Research, Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** Introduction of dengue viruses from dengue-endemic regions may lead to indigenous outbreaks in regions with high density of mosquito vectors. During mid-September to mid-October in 2015, a total of 41 indigenous dengue cases emerged in 4 clusters were notified in Fujian province, China. In this study, the etiological characterization of clinical isolates linked to these outbreaks was investigated. It was revealed by phylogenetic analyses on the full-length coding sequences that the 9 dengue serotype 1(DENV1) isolates, belonging to genotype 1(G1), showed high similarity in nucleotide sequences, and that the 8 dengue serotype 2 (DENV2) isolates showed distinct variations within the genotype of Cosmopolitan. According to the phylogenetic trees, DENV1 strains associated with clusters 2 and 4 were likely originated from Sri Lanka, while Malaysia and India were sources of the DENV2 strains associated with Cluster 1 and Cluster 3, respectively. Therefore, these results suggested that multiple sources of introduction caused the indigenous dengue outbreaks in Fujian province, 2015.

**Keywords:** dengue fever; etiology; genome; sequence analysis

Supported by the Department of Science and Technology, Fujian province (No. 2016Y0011), the Young Researcher Project (No. 2018-1-22) and the Innovative Project of Medical Sciences (No. 2015-CXB-13), Fujian Provincial Health and Family Planning Commission

登革热是由登革病毒感染引起的、经伊蚊传播

福建省科技厅引导性项目(No. 2016Y0011)、福建省卫计委青年科研课题(No. 2018-1-22)和福建省医学创新课题(No. 2015-CXB-13)联合资助

第一作者: 张拥军, Email: zhangyj@fjcdc.com.cn;

ORCID: 0000-0001-5137-1002

作者单位: 1. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001;

2. 福建省人兽共患病重点实验室, 福州 350001

的一种急性传染病, 临床表现为突起发热, 伴随头痛, 全身肌肉、骨骼和关节痛, 皮疹, 白细胞减少, 部分病人有出血倾向。重症病例可发生严重内出血、休克等<sup>[1-4]</sup>。登革病毒属于黄病毒科黄病毒属, 有四种血清型(DENV1-DENV4), 是全球分布最广的虫媒病毒之一, 目前有 100 多个国家或地区报告过登革热病例, 并且在一些热带、亚热带国家或地区呈地方性流行<sup>[1-4]</sup>。

登革病毒的传播循环分为城市循环和丛林循环,城市循环的主要传播媒介为埃及伊蚊和白纹伊蚊,病毒以蚊-人-蚊途径通过带病毒蚊虫叮咬人传播<sup>[1,4]</sup>。我国自1978年海南出现登革热疫情以来,南方的广东、云南、广西、福建、浙江等省均暴发过规模不等的本地登革热疫情<sup>[5]</sup>。福建省首次登革热本地暴发疫情出现于1999年,随后每年报告的登革热病例以输入性病例为主,偶尔会出现输入病例引起的本地流行<sup>[5-6]</sup>。近10年来福建省先后出现过几次规模较大的本地登革热疫情,分别是2004年福州台江、2007年莆田涵江、2014年南平建瓯疫情<sup>[5-8]</sup>。

2015年9月中旬福建省莆田市涵江区和福州市鼓楼区先后报告了本地聚集性登革热病例,分别为登革2型(DENV2)和登革1型病毒(DENV1)引起,随后10月初福州市晋安区也出现DENV2毒株引发的聚集性病例。为了追溯这些毒株可能的传播来源以及调查毒株之间的遗传联系,本文对2015年福建省部分本地登革热病例样品进行了病毒分离及基因组序列测定,分析分离株全长编码区序列与国内外流行毒株的种系发生关系,为福建省今后的登革热防控提供准确的病原学证据。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料及血清标本** 病例资料来自“中国疾病预防控制信息系统”福建省2015年报告的本地登革热病例。本地感染病例是指发病前14 d内未离开过所在县(区),或未到过登革热疫情报告的地区,其感染地点位于报告地区。患者血清标本来自福州市内部分医院送检的疑似登革热标本,以及各设区市送检的登革热监测复核样品。实验室初筛结果显示,部分样品血清学检测登革病毒NS1抗原阳性或登革病毒特异IgM抗体阳性。

**1.2 登革病毒核酸检测及血清型鉴定** 按QIAGEN公司试剂盒(QIAamp Viral RNA Mini Kit)操作手册提取患者血清样品总RNA,采用通用型实时荧光RT-PCR试剂盒检测登革病毒RNA(上海之江生物科技股份有限公司),随后用登革病毒1-4型实时荧光RT-PCR试剂盒对阳性样品进行血清型鉴定(上海之江生物科技股份有限公司)。

**1.3 病毒分离** 登革病毒核酸阳性血清样品经过适当稀释,接种单层C6/36细胞,每日观察细胞,待出现细胞病变(CPE),收集培养上清,−80℃冰箱保存待检。

**1.4 基因组片段扩增** 采用分段扩增的策略分别扩增登革病毒的基因组片段,扩增引物序列参考文献略做调整<sup>[9-10]</sup>。每个片段长度为1.0—1.5 kb,共10个片段,覆盖全长基因组。扩增试剂盒为大连TaKaRa公司PrimeScript One Step RT-PCR Kit Ver.2(Dye Plus),扩增产物送铂尚生物技术(上海)有限公司测序。

**1.5 序列分析** 对测序数据进行拼接、组装,得到毒株的全长基因组。分别从Virus Pathogen Resource(ViPR)数据库中选取基因型确定的登革病毒参比毒株、近几年福建省及国内外流行毒株约40株基因组序列(<https://www.viprbrc.org>),特别是近几年福建省输入病例来源地国家的毒株,以BioEdit软件(V7.0.5)进行序列比对和编辑。利用MEGA6.0软件,选择病毒全长编码区序列,以最大似然法(Maximum Likelihood)进行种系发生分析<sup>[11]</sup>。

## 2 结 果

**2.1 福建省2015年本地登革热疫情概况** 2015年1—8月,福建省累计报告输入性登革热病例32例。9月中旬,莆田市和福州市先后出现本地登革热疫情,共报告41例。其中8例来自莆田市涵江区,其余33例来自福州市鼓楼区、晋安区和仓山区。初步流行病学调查显示,这些病例与当年已经确诊的输入性病例无关联性,发病时间集中在9月中旬至10月中旬(图1)。根据报告病例的流行病学信息及部分患者病毒血清型分型结果综合判断,大致分为4起聚集性病例(簇1-簇4),见表1。其中簇1为莆田涵江病例,共8例,由DENV2引起。簇2为福州鼓楼病例,来自同一社区,先后报告23例,由DENV1引起。簇3为福州晋安区病例,由DENV2感染,共报告病例7例。簇4的3例病例来自福州仓山区和鼓楼区,患者都供职于同一家公司,感染的病原体为DENV1。从时间顺序来看,簇1和簇2几乎同时报告,而簇3和簇2在时间和空间存在部分重叠(图1)。

**2.2 本地登革热疫情相关病毒分离株** 患者血清样品接种C6/36细胞,部分培养瓶观察到细胞病变,经实时荧光RT-PCR分型鉴定,共有DENV1毒株9株,DENV2毒株8株,分别来自上述4起聚集性疫情,相关信息见表2。

表 1 福建省 2015 年本地登革热病例汇总  
Tab.1 Summary of indigenous dengue cases in Fujian province, 2015

Clusters	Location	Onset time of the index case	Diagnosis time of the index case	Diagnosis time of the last case	No. of reported cases
1	Hanjiang, Putian	Sept 12	Sept 17	Sept 19	8
2	Gulou, Fuzhou	Sept 14	Sept 18	Sept 27	23
3	Jin'an, Fuzhou	Sept 18	Sept 24	Oct 13	7
4	Cangshan, Fuzhou	Oct 4	Oct 7	Oct 8	3

表 2 福建省 2015 年本地登革病毒分离株信息汇总  
Tab.2 Summary of indigenous dengue viruses isolated in Fujian province, 2015

Strain ID	Serotype-genotype	Location	Onset time	Diagnosis time	Cluster	Full-length (bp)
DF150301	D2-Cosmopolitan	Hanjiang, Putian	Sept 16, 2015	Sept 17, 2015	1	10 668
DF150303	D2-Cosmopolitan	Hanjiang, Putian	Sept 15, 2015	Sept 17, 2015	1	10 671
DF150305	D2-Cosmopolitan	Hanjiang, Putian	Sept 14, 2015	Sept 17, 2015	1	10 657
DF150308	D2-Cosmopolitan	Hanjiang, Putian	Sept 12, 2015	Sept 19, 2015	1	10 666
DF150336	D2-Cosmopolitan	Jin'an, Fuzhou	Oct 3, 2015	Oct 7, 2015	3	10 641
DF150361	D2-Cosmopolitan	Jin'an, Fuzhou	Oct 5, 2015	Oct 8, 2015	3	10 650
DF150407	D2-Cosmopolitan	Jin'an, Fuzhou	Oct 10, 2015	Oct 13, 2015	3	10 641
DF150409	D2-Cosmopolitan	Jin'an, Fuzhou	Oct 10, 2015	Oct 13, 2015	3	10 667
DF150275	D1-G1	Gulou, Fuzhou	Sept 14, 2015	Sept 18, 2015	2	10 654
DF150278	D1-G1	Gulou, Fuzhou	Sept 16, 2015	Sept 18, 2015	2	10 658
DF150328	D1-G1	Gulou, Fuzhou	Sept 25, 2015	Sept 30, 2015	2	10 659
DF150340	D1-G1	Gulou, Fuzhou	Sept 19, 2015	Sept 22, 2015	2	10 644
DF150344	D1-G1	Gulou, Fuzhou	Sept 21, 2015	Sept 24, 2015	2	10 658
DF150348	D1-G1	Cangshan, Fuzhou	Sept 23, 2015	Sept 29, 2015	2	10 655
DF150364	D1-G1	Cangshan, Fuzhou	Oct 4, 2015	Oct 7, 2015	4	10 658
DF150365	D1-G1	Cangshan, Fuzhou	Oct 6, 2015	Oct 8, 2015	4	10 653
DF150366	D1-G1	Gulou, Fuzhou	Oct 6, 2015	Oct 8, 2015	4	10 663

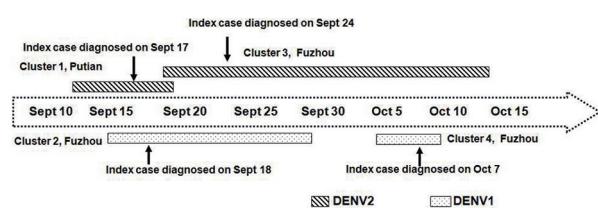


图 1 福建省 2015 年本地登革热病例时间轴  
Fig.1 Timeline of indigenous dengue cases in Fujian province, 2015

提取病毒 RNA, 分别扩增病毒基因组节段, 得到的序列数据经过拼接, 获得病毒全长基因组序列, 长度在 10 641-10 671 bp 之间。将病毒基因组序列在 GenBank 数据库进行 BLAST 分析, 所有新分离

DENV1 毒株与 G1 基因型毒株的核苷酸相似度最高, 所有 DENV2 与大都市基因型 (D2-Cosmopolitan) 毒株核苷酸相似度最高, 见表 2。

**2.3 新分离毒株与国内外流行毒株的种系发生分析** 通过对 9 株新分离 DENV1 毒株与 41 株国内外流行株基因组序列进行比对, 用全长编码区 10 179 bp 构建种系发生树。图 2 显示, 这 9 株病毒之间具有较高的同源性, 聚集在种系发生树的顶端, 位于 G1 基因型的分支。遗传关系最近的参比毒株为 2014 年斯里兰卡分离株 DK87 (GenBank 登录号: KP398852)。福建省 2004 年 DENV1 分离株 FJ231/04 (DQ193572) 及 2012 年分离株 DF1203 (KC759167), 与这 9 株病毒虽然同属于 G1 基因

型,但分别位于G1基因型的另外两个分支,显示了它们之间的遗传差异性。而其它参考毒株,包括国内部分省市1991—2015年分离的DENV1毒株、2009—2015年福建省主要输入病例来源地的国外流行株,与这9株病毒则存在明显的差异,位于种系发生树的不同分支,分属于不同的基因型(图2)。

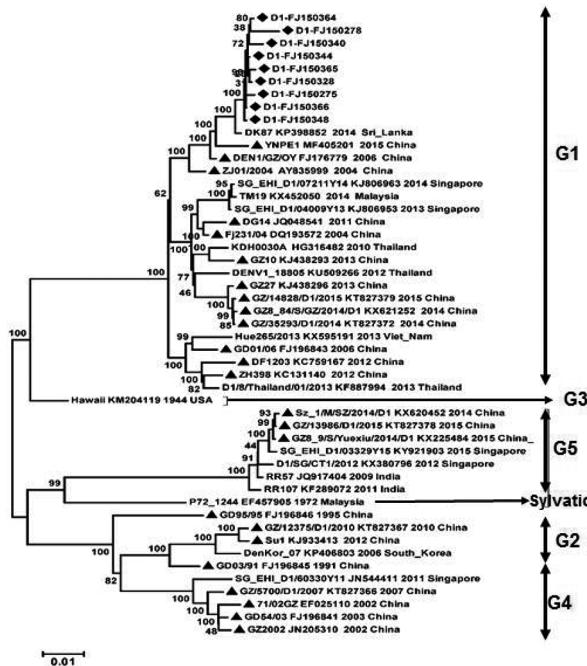


图2 福建省2015年部分本地登革1型病毒分离株与国内外流行株的遗传联系

Fig. 2 Phylogenetic relationship of global circulating DENV1 strains with indigenous isolates in Fujian province, 2015

新分离的DENV2共8株,将其基因组序列与40株国内外基因组序列比对之后,选取全长编码区10 176 bp,构建种系发生树(图3)。尽管这8株病毒都属于DENV2的大都市基因型,其中4株莆田毒株之间相似度高,聚集成簇,位于该基因型的顶端分支。而4株福州毒株也表现出高度相似性,聚集成另外一簇,但位于该基因型的底端分支。以上结果显示,莆田毒株与福州毒株之间存在明显的遗传异质性。从种系发生树上看,与莆田毒株遗传关系最近的参比毒株是2014年马来西亚毒株TM39(KX452018)及2015年8月由菲律宾输入福建的毒株PH-CN77-15(KU517847)。而与福州毒株遗传关系最接近的参比毒株则是2011年印度分离株RGCB921/2011(KY427085)。唯一的福建省DENV2既往毒株,1999年福州本地分离株FJ11/99(AF359579)与这两簇病毒存在不同程度的差异。

其它参比毒株,分属不同的基因型,位于种系发生树的不同分支,与这8株病毒存在不同程度的遗传差异(图3)。

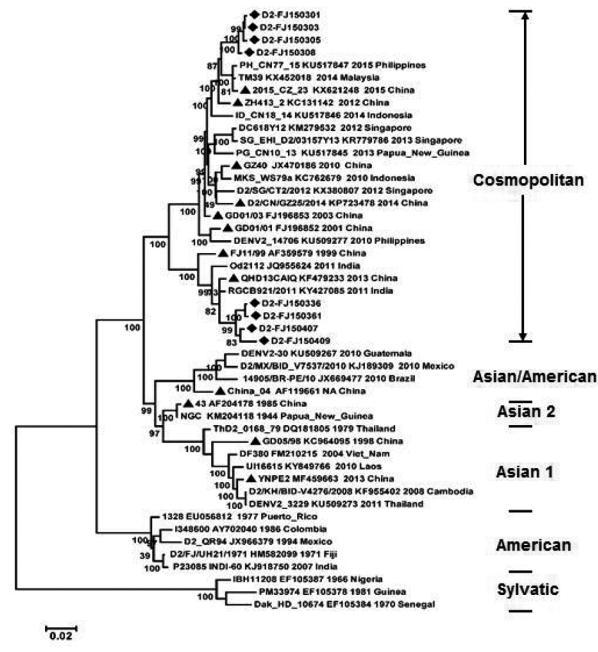


图3 福建省2015年部分本地登革2型病毒分离株与国内外流行株的遗传联系

Fig. 3 Phylogenetic relationship of global circulating DENV2 strains with indigenous isolates in Fujian province, 2015

### 3 讨论

过去数十年里,登革热在全球发病率增长超过30倍,成为分布最广的虫媒病毒病之一。随着主要传播媒介伊蚊孽生地的地理范围不断扩大,日益增长的国际贸易、跨境旅游、森林破坏、城市化以及气候变化等因素,也促进了登革病毒的传播<sup>[1-4]</sup>。登革热主要发生在热带和亚热带国家和地区,近几年里,法国、葡萄牙及日本等温带国家也出现了本地登革热疫情,显示登革热流行地区正在由地方性区域逐渐向非地方性区域扩散<sup>[12-15]</sup>。我国属于登革热非地方性流行国家,全国报告病例以输入性病例为主,在蚊媒活跃季节也出现因输入病例引起的本地暴发流行<sup>[5]</sup>。在这样的国际环境和流行趋势下,福建省近10年来不仅存在来自登革热地方性流行地区的输入性登革热病例,同时由于地处亚热带区域,全省大部分地区都具备适合白纹伊蚊生长的温度和湿度,因此自1999年以来,还陆续出现了几起本地登革热暴发疫情,其中包括2015年出现聚集性本地病例的莆田市和福州市<sup>[6-8]</sup>。

不同于以前的几次本地登革热疫情,福建省

2015年的疫情表现为多疫点发病、多种血清型同时流行的特点<sup>[6-8]</sup>。在前后1 d之内,相隔近100 km的莆田涵江区和福州鼓楼区同时报告本地登革热病例,且分别为DENV2和DENV1感染。簇1中大部分病例来自同一个行政村,簇2中病例集中在一个社区,根据时间、空间和血清型综合判断,簇1和簇2病例应该是互相独立的事件。簇3病例感染的是DENV2,簇4的病原体为DENV1,如何揭示它们与簇1、簇2病例之间的联系,必须通过解析病原体基因组序列,获得病原学证据。因此,本研究测定了相关毒株的全长基因组序列,并进行种系发生分析。根据DENV1构建的种系发生树(图2),簇2和簇4病例中分离毒株的基因组序列显示出较高的同源性。虽然簇4的病例居住地不属于簇2病例所在社区,但几例病例就职于同一家公司,其工作场所距离簇2病例的社区不到3公里,因此尽管二者发病时间无交集,从基因组序列分析推测,簇4病例可能为簇2疫情的延续。而根据DENV2构建的种系发生树(图3),簇1和簇3病例的分离株各自聚集成簇,虽然同属于大都市基因型,仍然显示了两组基因组序列具有明显的差异,表明两起疫情的病原体之间无遗传关联性。

我国属于登革热非地方性流行地区,近10多年来,福建省输入性登革热病例来源地包括东南亚、南亚、非洲、大洋洲、南美洲等国外疫区,也出现过从国内流行区返回的输入性病例<sup>[5-8]</sup>。在出现本地登革热病例之后,由于流行病学调查结论不支持当年输入性病例与本地病例之间的关联性,为了追溯本地病例的可能来源,阐明新分离株与国内外流行毒株之间的遗传联系,我们测定了这些本地分离株的基因组序列,并分别选取了约40株参比毒株进行种系发生分析。在种系发生树上,新分离的9株DENV1毒株与2014年斯里兰卡分离株DK87(KP398852)同源性最高,显示引起簇2和簇4病例的DENV1毒株可能的共同输入来源为斯里兰卡。而簇1的4株DENV2毒株,与2014年马来西亚毒株TM39(KX452018)同源性最高,簇3的4株DENV2毒株,则与2011年印度分离株RGCB921/2011(KY427085)最接近,因此它们的输入地可能分别为马来西亚和印度。福建省近几年登革热输入病例来源地名单中,也包括以上这些国家。

在登革病毒传播过程中,病毒要经历两个阶段,即在人体中扩增的内潜伏期和在蚊媒中复制的外潜伏期,分别为3~14 d和5~12 d,而患者发病之后还有5~6 d的病毒血症期<sup>[1,4]</sup>。处于病毒血症期的

患者容易被蚊媒叮咬将病毒扩散,经过外潜伏期以后的蚊媒终生具有感染性,可以感染多人<sup>[1,4]</sup>。因此,一旦在登革热地方性流行区域之外,出现了本地登革热疫情,往往由于人群普遍无免疫力而导致短时间内涌现大量病例。例如,始于2012年10月的葡萄牙马德拉群岛本地登革热疫情,前后历时7个月,病例超过2000例,有13个欧洲国家报告输入病例<sup>[12-13]</sup>。2014年日本东京的本地登革热疫情,历时两个月,报告病例160例,新卡里多利、英国、澳大利亚报告输入病例<sup>[14]</sup>。相对来说,2015年福建省的本地登革热疫情,经历的时间短、涉及病例少,可能原因是莆田和福州曾经发生过登革热疫情,相关部门具有处理类似疫情的经验,能够密切配合进行病例管理,积极开展蚊媒控制,从而有效防止了病毒的进一步扩散。

综上所述,福建省2015年本地登革热疫情涉及4起聚集性病例,分别为DENV2和DENV1感染引起。根据部分病毒分离株全长基因组序列分析,簇2和簇4的DENV1毒株高度同源,可能输入来源为斯里兰卡。簇1和簇3的DENV2毒株存在明显差异,可能输入来源分别为马来西亚和印度。因此,通过对2015年本地登革热毒株的病原学特征分析,提示福建省今后登革热防控的重点依然是加强对境内外输入病例的监测及管理,同时在蚊媒活跃季节积极开展本地蚊媒控制,提前切断登革病毒在本地的传播链,才能避免输入登革病毒的扩散蔓延。

#### 利益冲突:无

引用本文格式:张拥军,吴生根,王金章,等.福建省2015年本地登革热病例的病原学特征[J].中国人兽共患病学报,2019,35(1):28-33. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.210

#### 参考文献:

- [1] World Health Organization (WHO). Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control[M]. New Edition. Geneva: World Health Organization, 2009.
- [2] 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
- [3] Messina JP, Brady OJ, Scott TW, et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history[J]. Trends Microbiol, 2014, 22(3): 138-146. DOI: 10.1016/j.tim.2013.12.011
- [4] Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, et al. Dengue infection [J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2:16055. DOI: 10.1038/nrdp.2016.55
- [5] Lai S, Huang Z, Zhou H, et al. The changing epidemiology of dengue in China, 1990—2014: a descriptive analysis of 25 years

- of nationwide surveillance data. *BMC Med.*, 2015, 13: 100. DOI: 10.1186/s12916-015-0336-1
- [6] Wang J, Chen H, Huang M, et al. Epidemiological and etiological investigation of dengue fever in the Fujian province of China during 2004–2014[J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 60(1): 72-80. DOI: 10.1007/s11427-016-0021-y
- [7] 严延生,洪荣涛,沈晓娜,等.福州市2004年登革热流行病学和病原学特征分析[J].中华流行病学杂志,2006,27(5):371-374.
- [8] 王金章,陈宏斌,张拥军,等.2014年福建省南平市登革病毒E基因序列分析[J].中国人兽共患病学报,2016,32(3):281-285. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2016.03.014
- [9] Schreiber MJ, Holmes EC, Ong SH, et al. Genomic epidemiology of a dengue virus epidemic in urban Singapore. *J Virol*, 2009, 83(9):4163-73. DOI: 10.1128/JVI.02445-08
- [10] Cruz CD, Torre A, Troncos G, et al. Targeted full-genome amplification and sequencing of dengue virus types 1-4 from South America. *J Virol Methods*, 2016, 235:158-167. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.06.001
- [11] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0[J]. *Mol Biol Evol*, 2013(12), 30: 2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197
- [12] Sousa CA, Clairouin M, Seixas G, et al. Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: preliminary report[J]. *Euro Surveill*, 2012, 17 (49): 20333.
- [13] Franco L, Pagan I, Serre Del Cor N, et al. Molecular epidemiology suggests Venezuela as the origin of the dengue outbreak in Madeira, Portugal in 2012–2013[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(7):713.e5-8. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.03.016
- [14] Tajima S, Nakayama E, Kotaki A, et al. Whole genome sequencing-based molecular epidemiologic analysis of autochthonous dengue virus type 1 strains circulating in Japan in 2014 [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2017, 70(1):45-49. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2016.086
- [15] Succo T, Leparc-Goffart I, Ferré J, et al. Autochthonous dengue outbreak in Nîmes, South of France, July to September 2015[J]. *Euro Surveill*, 2016, 21(21):pii=30240. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.21.30240

收稿日期:2018-07-30 编辑:王晓欢

## (上接第27页)

- [13] Gomez G, Pei J, Mwangi W, et al. Immunogenic and invasive properties of *Brucella melitensis* 16M outer membrane protein vaccine candidates identified via a reverse vaccinology approach [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (3): e59751. DOI: 10.1371/journal.pone.0059751
- [14] Sun P, Ju H, Liu Z, et al. Bioinformatics resources and tools for conformational B-cell epitope prediction [J]. *Comput Math Methods Med*, 2013, 2013:943636. DOI: 10.1155/2013/943636
- [15] 杨丹,白雪娟,阳幼荣,等.结核潜伏感染蛋白Rv2657c T细胞和B细胞表位的预测与分析[J].实用医学杂志,2017,33(1):55-58. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2017.01.015
- [16] Jafarpour S, Ayat H, Ahadi AM. Design and antigenic epitopes prediction of a new trial recombinant multiepitopic rotaviral vaccine: in silico analyses[J]. *Viral Immunol*, 2015, 28(6):325-330. DOI: 10.1089/vim.2014.0152
- [17] He Y. Analyses of *Brucella* pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2012, 2: 2. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00002
- [18] 程华,成彬,羊红光.线性B细胞表位预测方法研究进展[J].中国免疫学杂志,2017,33(9):1422-1425+1429. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2017.09.032
- [19] Nadugala MN, Premaratne PH, Goonasekara CL. Systematic bioinformatic approach for prediction of linear B-cell epitopes on dengue E and prM protein[J]. *Adv Bioinformatics*, 2016, 2016:1373157. DOI: 10.1155/2016/1373157
- [20] Potocnakova L, Bhide M, Pulzova LB. An Introduction to B-cell epitope mapping and in silico epitope prediction[J]. *J Immunol Res*, 2016, 2016:6760830. DOI: 10.1155/2016/6760830
- [21] Reche PA, Fernandez-Caldas E, Flower DR, et al. Peptide-based immunotherapeutics and vaccines[J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014:256784. DOI:10.1155/2014/256784
- [22] Vita R, Overton JA, Greenbaum JA, et al. The immune epitope database (IEDB) 3.0[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(Database issue), D405-D412. DOI: 10.1093/nar/gku938
- [23] Di Carluccio AR, Trifunovic CF, Chen W. Perpetual complexity: predicting human CD8<sup>+</sup> T-cell responses to pathogenic peptides[J]. *Immunol Cell Biol*, 2018, 96 (4): 358-369, DOI: 10.1111/imcb.12019
- [24] Shen CM, Zhu BF, Deng YJ, et al. Allele polymorphism and haplotype diversity of HLA-A,-B and -DRB1 Loci in sequence-based typing for Chinese uyghur ethnic group[J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(11):e13458. DOI: 10.1371/journal.pone.0013458.

收稿日期:2018-05-20 编辑:刘岱伟