

中国境内首次发现输入性 D4 基因型麻疹病例

王慧玲^{1,2}, 郑蕾³, 王骥涛^{2,4}, 郜慧³, 张燕², 孔晓慧¹, 许文波²

(1. 首都医科大学 附属北京儿童医院, 北京 100045; 2. 中国疾病预防控制中心 病毒病预防控制所, 北京 100052; 3. 山西省疾病预防控制中心, 太原 030012; 4. 太原市疾病预防控制中心, 太原 030012)

摘要: 本文报道了2009年中国首例输入性D4基因型麻疹病例。使用Vero/SLAM细胞(淋巴信号激活因子转染的非洲绿猴肾细胞)对该麻疹病例的咽拭子标本进行麻疹病毒分离,经逆转录聚合酶链反应(Reverse transcript polymerase chain reaction, RT-PCR)方法扩增出麻疹病毒核蛋白(Nucleoprotein, N)羧基(COOH)端676个核苷酸片段。通过对扩增产物进行核苷酸序列测定和分析,以COOH端450个核苷酸片段构建基因亲缘性关系树,进行核苷酸和氨基酸同源性分析。该麻疹病毒分离株(MV/ Shanxi CHN/ 20 09/ 1)和WHO D4基因型参考株 Mont-real CAN/89在基因亲缘性关系树上同属一个分支,核苷酸同源性为97.3%;与2009年流行于美国、加拿大、印度和俄罗斯的D4基因型麻疹野病毒的核苷酸和氨基酸同源性分别为98.0%~100%和97.3%~100%。结果表明,在本次输入性麻疹病例中分离到的麻疹病毒属于D4基因型,这对积累我国麻疹分子流行病学基线数据具有重要的意义,同时也有助于监测和阐明麻疹病毒的传播途径。

关键词: 麻疹病毒; 病毒学监测; D4基因型; 亲缘性分析

中图分类号: R373.1⁺1 文献标识码: A 文章编号: 1000-8721(2010)02-0103-06

麻疹病毒属于副粘病毒科,麻疹病毒属;目前只有一个血清型,但存在多个基因型。截至2008年,麻疹病毒已划分成A~H八个基因组共23个基因型,其中B1、D1、E、F、G1基因型已消失,目前只有18个基因型在世界各地的人群中流行^[1,2]。自1993年我国开展麻疹病毒学监测以来,截止2009年4月,监测到麻疹病毒野毒株A基因型1株,疫苗相似A基因型4株,输入性H2基因型1株及输入性D9基因型1株,其余均为H1基因型。证实H1基因型是中国流行的麻疹病毒的绝对优势基因型^[3-9]。

我国于2001年建立并完善了麻疹实验室网络,省级实验室针对麻疹暴发或散发病例采集临床标本,分离麻疹病毒并送交中国疾病预防控制中心病毒病所国家麻疹实验室(下简称:“国家麻疹实验室”)进行分子流行病学监测^[10]。国家麻疹实验室于2009年5月25日接收到山西省疾病预防控制中心麻疹实验室送检的1份麻疹病毒培养物,经逆转录聚合酶链反应(Reverse transcript polymerase chain reaction, RT-PCR)和编码N蛋白(Nucleoprotein, N)羧基(COOH)端450个核苷酸序列测定和分析,

结合流行病学资料,证实送检麻疹毒株为输入性D4基因型麻疹病毒,并对该病毒株的N蛋白COOH端核苷酸和氨基酸特征进行了分析。现将鉴定分析情况报告如下。

材料与方法

1 标本来源 标本来源于一名赴山西省太原钢铁(集团)有限公司(以下简称“太钢”)实习的法籍学生,男性,23岁。该学生于2009年5月10日到达山西省太原市,5月14日出疹,5月15日同时采集静脉血(不加抗凝剂)5ml及咽拭子标本^[11]。标本的采集和处理方法参照全国麻疹监测方案^[11]。简述如下:血标本于常温下1500r/min离心20min分离血清。咽拭子标本保存在2ml麻疹病毒标本运输液中(含有2%牛血清和1000U/mL青霉素,1000^μg/mL链霉素和25U/mL制霉菌素的DMEM细胞培养液中)。经上述处理后的标本保存在4℃备用。

2 麻疹IgM抗体测定 采用麻疹IgM酶联免疫吸附(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)检测试剂盒(德国Virion/Serion公司,批号:SA.Y.BE,有效期至2009年8月)检测所收集血清标本的麻疹IgM抗体。按照说明书进行操作。

3 麻疹病毒分离 使用WHO推荐的Vero/SLAM细胞(淋巴信号激活因子转染的非洲绿猴肾细胞)分离病毒,吸取经上述处理的咽拭子标本浸出液0.5ml接种75%汇合度的Vero/SLAM细胞单层,吸附1h后,弃上清液,换成含2%牛血清的细胞培养维持液,每天观察麻疹病毒特异性的巨细胞融合病变,待75%~90%细胞呈现病变时收获和冻存。

收稿日期: 2009-09-07; 修回日期: 2010-01-27

基金项目: 重大传染病防治科技重大专项(2009ZX10004-202, 2009ZX10004-201, 2008ZX10004-014-5, 2008ZX10004-008)

作者简介: 王慧玲(1981-),女,山西太原人,硕士研究生,主要从事小儿呼吸道病毒的研究。E-mail: wangh10520@163.com

通讯作者: 许文波, E-mail: wenbo_xu1@yahoo.com.cn; 孔晓慧, E-mail: xiaohuikong@hotmail.com

4 核酸提取和 RT-PCR 使用 AxyPrep Multisource Total RNA Miniprep Kit (Axygen Scientific, USA) 试剂盒提取病毒 RNA, 具体方法参照说明书。参照文献^[6]的引物和 RT-PCR 方法, 进行 N 蛋白 COOH 端的 676 个核苷酸 (bp) 片段的扩增。

5 序列测定和分析 扩增后的 PCR 产物经纯化后, 用 Big Dye™ Terminator V3.0 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 试剂盒进行双向标记反应, 标记反应和标记产物纯化参照文献方法^[6]进行。纯化的标记产物于 ABI 3100 型序列分析仪上进行自动测序和分析。从序列分析仪上获得的序列资料以标准图形文件 (.ab1) 格式保存, 使用 Sequencher 4.0.5 软件 (Gene Code, Ann Arbor, Michigan, USA) 整理序列。从 GenBank 数据库下载 23 个麻疹基因型的参考株序列, 2009 年的 D4 基因型麻疹病毒流行株和中国使用的麻疹疫苗株, 使用 MEGA 4.0 软件对这些参考株和本文分离的野毒株的 N 蛋白 COOH 端 450bp 序列进行核苷酸同源性和基因亲缘性关系分析。

结 果

1 血清 IgM 检测 血清学 ELISA 检查结果显示麻疹 IgM 抗体阳性, 确诊该病例为麻疹病例。

2 麻疹病毒分离和鉴定 咽拭子标本浸出液接种 Vero/SLAM 细胞后, 于第二代出现了典型的麻疹

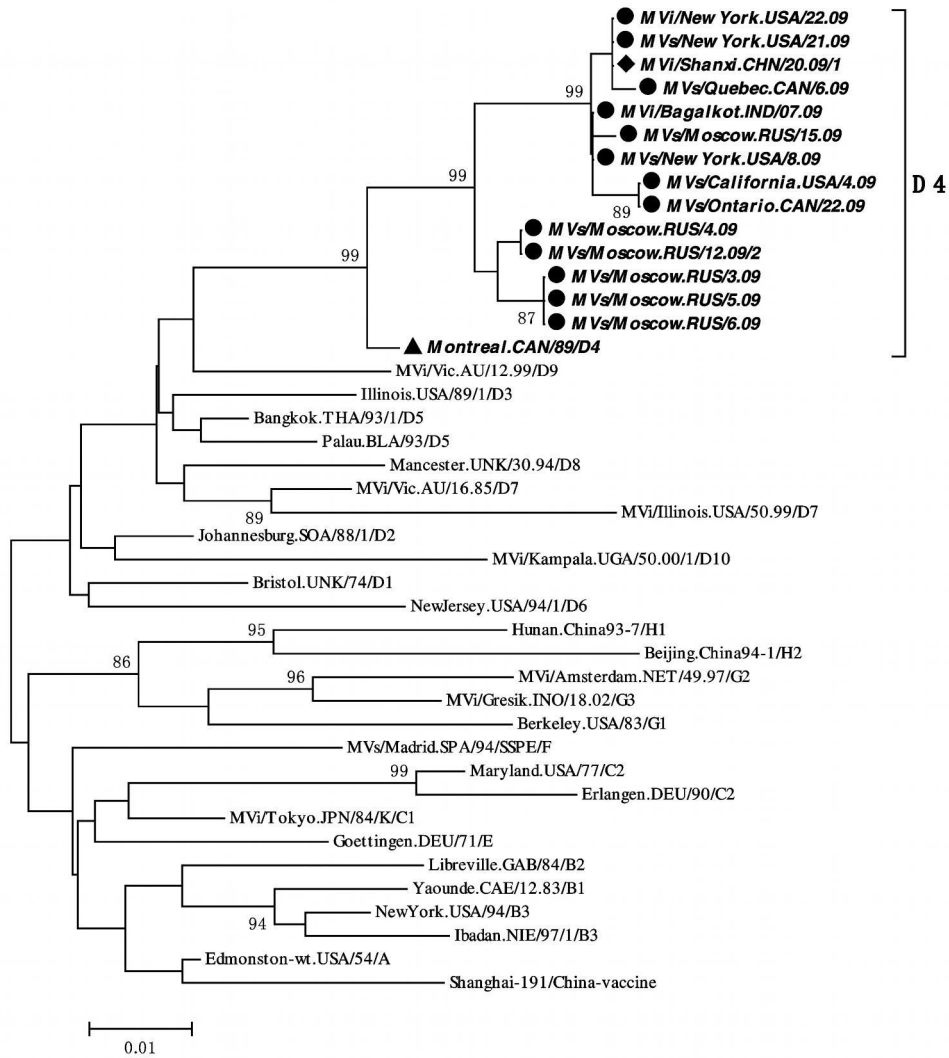
巨细胞融合病变。病毒分离物经 RT-PCR 鉴定, 扩增出特异性条带, 片段大小为 700bp 左右, 符合预期。根据 WHO 推荐的麻疹野病毒标准命名法, 将分离的山西麻疹病毒命名为: MVi/Shanxi CHN/20.09/1。

3 分离株基因型的确定 将所得山西麻疹病毒分离株 (MVi/Shanxi CHN/20.09/1) 的编码 N 蛋白 COOH 端的 450 个核苷酸片段序列与 23 个 WHO 基因型参考株 (表 1)、2009 年 D4 基因型麻疹病毒流行株和中国疫苗株构建基因亲缘性关系树 (图 1)。结果显示, MVi/Shanxi CHN/20.09/1 在亲缘关系树上与 WHO D4 基因型参考株 (Montreal CAN/89) 同属于一个大的分支, 可信度为 99; 此序列与 2009 年美国 (MVi/New York USA/22.09, MVs/New York USA/21.09, MVs/New York USA/8.09, MVs/California USA/4.09) 加拿大 (MVs/Quebec CAN/6.09, MVs/Ontario CAN/22.09)、印度 (MVi/Bagalkot IND/07.09) 和俄罗斯 (MVs/Moscow. RUS/15.09) 流行的 D4 基因型序列在亲缘关系树上形成独立的分支。上述分析结果提示 MVi/Shanxi CHN/20.09/1 属于 D4 基因型。

表 1 用于麻疹野毒株基因分析的 23 个 WHO 参考毒株

Table 1 The list of 23 WHO reference strain used in the phylogenetic tree

Genotype	Reference strains	N gene accession	Status
A	Edmonston-wt USA/54	U01987	Active
B1	Yaounde. CAE/12.83	U01998	Inactive
B2	Libreville. GAB/84	U01994	Active
B3	New York. USA/94; Ibadan. NIE/97/1	I46753; AJ232203	Active
C1	Tokyo. JPN/84/K	A Y043459	Active
C2	Maryland. USA/77; Erlangen. DEU/90	M 89921; X84872	Active
D1	Bristol. UNK/74	D01005	Inactive
D2	Johannesburg. SOA/88/1	U64582	Active
D3	Illinois. USA/89/1	U01977	Active
D4	Montreal. CAN/89	U01976	Active
D5	Palau. BLA/93; Bangkok. THA/93/1	I46758; AF079555	Active
D6	New Jersey. USA/94/1	I46750	Active
D7	Victoria. AUS/16.85; Illinois. USA/50.99	AF243450; AY037020	Active
D8	Manchester. UNK/30.94	AF280803	Active
D9	Victoria. AUS/12.99	AF481485	Active
D10	Kampala. UGA/50.00/1	A Y923185	Active
E	Goettingen. DEU/71	X84879	Inactive
F	MVs/Madrid SPA/94 SSPE	X84865	Inactive
G1	Berkeley. USA/83	U01974	Inactive
G2	Amsterdam. NET/49.97	AF171232	Active
G3	Gresik. INO/17.02	A Y184217	Active
H1	Hunan. CHN/93-7	AF045212	Active
H2	Beijing. CHN/94-1	AF045217	Active



◆Shanxi isolate; ▲WHO D4 genotype reference strain; ● 2009 D4 genotype representative strains.

图 1 山西分离株 MVi/Shanxi.CHN/20.09/1 和 WHO 23 个麻疹基因型参考株及 2009 年 D4 基因型流行株序列的亲缘性关系树(基于编码 N 蛋白 COOH 端的 450 个核苷酸序列)

Figure 1 The phylogenetic tree of MVi/Shanxi.CHN/20.09/1, WHO 23 genotype reference strains and 2009 D4 genotype representative strains, based on the 450 nucleotides sequence of 3' terminus of N gene

4 山西 D4 基因型麻疹病毒分离株的核苷酸和氨基酸变异分析

将山西 D4 基因型麻疹病毒分离株 (MVi/Shanxi.CHN/20.09/1) 的 N 蛋白 COOH 端 450 个核苷酸和相应的 150 个氨基酸序列分别与 23 个 WHO 基因型参考株的对应序列进行同源性对比分析, 发现 MVi/Shanxi.CHN/20.09/1 与 WHO D4 基因型参考株 Montreal.CAN/89 的核苷酸和氨基酸同源性分别为 97.3% 和 96.7%; 与中国目前流行的绝对优势基因型 H1 基因型参考株 Hunan.CHN/93/7 的核苷酸和氨基酸同源性分别为 90.4% 和 88.0%; 与其他 21 个基因型参考株的核苷酸和氨基酸同源性分别在 89.3%~94.9% 和 86.7%~94.0% (表 2)

表 2 山西 D4 基因型麻疹病毒分离株 (MVi/Shanxi.CHN/20.09/1) N 蛋白 COOH 端 450 个核苷酸和 150 个氨基酸与 23 个 WHO 基因型参考株的同源性对比分析

Table 2 The comparison of nucleotide and amino acid homology analysis between MVi/Shanxi.CHN/20.09/1 and

WHO 23 genotype reference strains

Genotype representative	Nudeotide	Amino acid
	homology(%)	homology(%)
D4: Montreal.CAN/89	97.30	96.70
H1: Hunan.CHN/93/7	90.40	88.00
A: Edmonston-wt.USA/54	92.70	89.30
B1: Yaounde.CAE/12.83	90.70	88.70
B2: Libreville.GAB/84	90.70	88.70
B3: New York.USA/94	91.20	89.30
C1: Tokyo.JPN/84/K	92.90	88.70
C2: Maryland.USA/77	90.70	86.70
D1: Bristol.UNK/74	93.60	92.00

Genotype representative	Nucleotide	Amino acid
	homology(%)	homology(%)
D2: Johannesburg, SOA/ 88/ 1	94. 00	92. 70
D3: Illinois, USA/ 89/ 1	94. 00	93. 30
D5: Palau, BLA/ 93	94. 90	94. 00
D6: New Jersey, USA/ 94/ 1	91. 80	90. 00
D7: Victoria, AUS/ 16. 85	94. 20	93. 30
D8: Manchester, UNK/ 30. 94	93. 60	91. 30
D9: Victoria, AUS/ 12. 99	94. 40	93. 30
D10: Kam pala, UGA/ 50. 00/ 1	91. 60	88. 00
E: Goettingen, DEU/ 71	91. 60	88. 00
F: Madrid, SPA/ 94/ SSPE	91. 60	88. 70
G1: Berkeley, USA/ 83	89. 80	89. 30
G2: Amsterdam, NET/ 49. 97	89. 80	88. 70
G3: Gresik, INO/ 17. 02	90. 40	88. 00
H2: Beijing, CHN/ 94/ 1	89. 30	88. 70

表 3 山西麻疹病毒分离株(MVi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1)和其他 D4 基因型流行株、中国麻疹疫苗株的核苷酸和氨基酸同源性对比分析

Table 3 The comparison of nucleotide and amino acid homology analysis between M Vi/ Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1, 2009 D4 genotype representative strains and Chinese measles vaccine strain

Strain name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. M Vi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1		1. 000	1. 000	0. 993	0. 993	0. 987	0. 987	0. 987	0. 973	0. 973	0. 873
2. M Vi/ New York, USA/ 22. 09	1. 000		1. 000	0. 993	0. 993	0. 987	0. 987	0. 987	0. 973	0. 973	0. 873
3. M Vs/ Quebec, CAN/ 6. 09	0. 998	0. 998		0. 993	0. 993	0. 987	0. 987	0. 987	0. 973	0. 973	0. 873
4. M Vi/ Bagalkot, IND/ 07. 09	0. 998	0. 998	0. 996		1. 000	0. 993	0. 993	0. 993	0. 980	0. 980	0. 880
5. M Vs/ New York, USA/ 8. 09	0. 998	0. 998	0. 996	1. 000		0. 993	0. 993	0. 993	0. 980	0. 980	0. 880
6. M Vs/ Moscow, RUS/ 15. 09	0. 996	0. 996	0. 993	0. 998	0. 998		0. 987	0. 987	0. 973	0. 973	0. 873
7. M Vs/ California, USA/ 4. 09	0. 993	0. 993	0. 991	0. 996	0. 996	0. 993		1. 000	0. 973	0. 973	0. 873
8. M Vs/ Ontario, CAN/ 22. 09	0. 993	0. 993	0. 991	0. 996	0. 996	0. 993	1. 000		0. 973	0. 973	0. 873
9. M Vs/ Moscow, RUS/ 12. 09/ 2	0. 982	0. 982	0. 980	0. 984	0. 984	0. 982	0. 980	0. 980		1. 000	0. 873
10. M Vs/ Moscow, RUS/ 6. 09	0. 980	0. 980	0. 978	0. 982	0. 982	0. 980	0. 978	0. 978	0. 993		0. 873
11. Shanghai-191/ China-vaccine	0. 907	0. 907	0. 904	0. 909	0. 909	0. 907	0. 904	0. 904	0. 911	0. 913	

Note: lower-left triangle is the homology for nucleotide acid, and upper-right triangle is the homology for amino acid

The numbers listed in the first line represent the strains, which were corresponding to the strains in the left column of the Table 3

讨 论

麻疹病毒基因型别具有地理分布特征, 不同地区有不同的本土流行株或优势流行株, 同时全球麻疹野病毒流行也与年代存在一定相关性^[12-14]。通过监测不同国家甚至同一国家不同地区所流行的麻疹病毒的基因型分布, 可以鉴定病毒的来源, 确定病毒传播途径, 提供评估麻疹控制策略效果的方法, 科学地阻断麻疹病毒传播^[12-14]。D4 基因型麻疹病毒地理分布广泛, 1989 年在印度次大陆、东非、南非和加拿大引起麻疹大暴发; 随后在地中海地区、东南亚地区、欧洲和美洲地区都有 D4 基因型麻疹暴发和散发病例的报道, 主要是从印度次大陆、东非、南非地区输入^[15-29]。

将本研所得麻疹病毒分离株(MVi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1)的 N 蛋白 COOH 端的 450 个核苷酸和

进一步将其和 2009 年其他 D4 基因型流行株, 中国大陆目前所用麻疹疫苗株 Shanghai-191/ China-vaccine 进行核苷酸和氨基酸同源性对比分析。结果发现: MVi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1 与 2009 年流行于美国、加拿大、印度和俄罗斯的 D4 基因型的麻疹野病毒的核苷酸和氨基酸同源性分别在 98. 0% ~ 100% 和 97. 3% ~ 100%; 与中国疫苗株的核苷酸和氨基酸同源性分别为 90. 7% 和 87. 3%; (表 3)。

150 个氨基酸序列与 2009 年流行于美国、加拿大、印度和俄罗斯的 D4 基因型麻疹野病毒进行同源性对比分析, 结果显示核苷酸同源性 and 氨基酸同源性分别是 98. 0% ~ 100% 和 97. 3% ~ 100%; 与 23 个 WHO 基因型参考株序列的基因亲缘性关系分析结果也显示 MVi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1 与 WHO D4 基因型参考株同属于一个分支; 对核苷酸和氨基酸分析结果表明: MVi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1 和 WHO D4 代表株在核苷酸水平和氨基酸水平上同源性均为最高。WHO 规定麻疹病毒 N 蛋白 COOH 端 450 个核苷酸序列可以鉴定麻疹病毒的基因型别, 因此确定本研究获得的麻疹病毒分离株(MVi/Shanxi, CHN/ 20. 09/ 1)为 D4 基因型。

自 1993 年我国开展麻疹病毒监测以来, 曾于 1994 年监测到 1 株 H2 基因型麻疹病毒的输入, 2009 年 3 月初监测到 1 株 D9 基因型麻疹病毒的输入。此次在中国山西省发现的麻疹病例为来华实习

的法籍学生, 于 2009 年 5 月 9 日从法国巴黎乘飞机于当晚到达莫斯科, 后转乘飞机于 2009 年 5 月 10 日上午到达北京, 当日乘 D2011 次火车到达山西省太原市, 随后即乘专车直达太钢, 在中国逗留期间没有接触麻疹病例。2009 年 5 月 13 日出现不适, 无发热, 2009 年 5 月 14 日出疹, 2009 年 5 月 15 日发热, 体温达 38.7°C , 并伴有咽痛、咳嗽、打喷嚏等临床症状。依据麻疹病毒感染的潜伏期为 $7\sim 21\text{d}^{30}$, 推算该病例在抵达中国之前已经感染麻疹病毒。通过对该患者咽拭子标本进行病毒分离及基因型别鉴定, 证实从该麻疹病例分离到的麻疹病毒为 D4 基因型, 该病毒 N 蛋白 COOH 端 450 个核苷酸序列与世界卫生组织麻疹数据库中 2009 年流行于法国的麻疹毒株序列同源性为 100% (内部资料)。结合以上流行病学资料和实验室鉴定结果分析, 提示此次在我国山西发现的麻疹病例是由法国输入性 D4 基因型麻疹病毒引起的。

该病例无麻疹疫苗免疫史, 从该病例分离到的麻疹病毒 N 蛋白 COOH 端序列与中国大陆目前所使用的麻疹疫苗株相比较, 两者的核苷酸和氨基酸同源性分别为 90.7% 和 87.3%; 与中国目前流行的绝对优势基因型 H1 病毒代表株相比较, 其核苷酸和氨基酸同源性分别为 90.4% 和 88.0%。对该病例抵达中国后的密切接触者全部进行医学观察, 均未发现异常情况。说明我国所使用的麻疹疫苗株或 H1 基因型本土病毒株的自然感染可能对该 D4 基因型病毒感染具有保护作用, 其传播可能被阻断, 但还需要进一步加强病毒学监测, 防止 D4 基因型病毒的扩散和传播。

参考文献:

- [1] WHO. Update of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses; new genotypes and reference strains [J]. *Wkly Epidemiol Rec*, 2003, 78(27): 229-232.
- [2] WHO. Global measles and rubella laboratory network-update [J]. *Wkly Epidemiol Rec*, 2005, 80(44): 384-388.
- [3] Xu W B, Tamin A, Rota J S, et al. New genetic group of measles virus isolated in the People's Republic of China [J]. *Virus Res*, 1998, 54(2): 147-156.
- [4] 许文波, 朱贞, 张珍英, 等. 麻疹野病毒 H₁ 基因型在中国流行的分析 [J]. *中国计划免疫*, 2003, 9(1): 1-8.
- [5] 张燕, 许文波, 朱贞, 等. 中国 2003 年流行的麻疹野病毒分子流行病学分析 [J]. *中国计划免疫*, 2005, 11(3): 165-174.
- [6] Zhang Y, Zhu Z, Rota P A, et al. Molecular epidemiology of measles viruses in China, 1995-2003 [J]. *Virology*, 2007, 4(14): 1-9.
- [7] Rota J S, Rota P A, Redd S B, et al. Genetic analysis of measles viruses isolated in the United States, 1995-1996 [J]. *J Infect Dis*, 1998, 177(1): 204-208.
- [8] Rota P A, Rota J S, Redd S B, et al. Genetic analysis of measles viruses isolated in the United States between 1989 and 2001: absence of an endemic genotype since 1994 [J]. *J Infect Dis*, 2004, 189: S160-164.
- [9] 张燕, 何吉兰, 孙莉, 等. 我国首例输入性 D9 基因型麻疹病毒的分离与鉴定 [J]. *中国疫苗和免疫*, 2009, 15(4): 304-309.
- [10] 许文波, 朱贞, 蒋小泓, 等. 中国麻疹实验室网络的建立及运转 [J]. *中国计划免疫*, 2006, 12(1): 1-6.
- [11] 卫生部. 全国麻疹监测方案 [S]. 卫办疾控发(2009)9 号.
- [12] Mulders M N, Truong A T, Muller C P. Monitoring of measles elimination using molecular epidemiology [J]. *Vaccine*, 2001, 19(17): 2245-2249.
- [13] Rota J S, Heath J L, Rota P A. Molecular epidemiology of measles virus; identification of pathways of transmission and implications for measles elimination [J]. *J Infect Dis*, 1996, 173(1): 32-37.
- [14] Jin L, Brown D W G, Ramsay M E B, et al. The diversity of measles virus in the United Kingdom, 1992-1995 [J]. *J Gen Virol*, 1997, 78 (Pt 6): 1287-1294.
- [15] Chibo D, Birch C J, Rota P A, et al. Molecular characterization of measles viruses isolated in Victoria, Australia, between 1973 and 1998 [J]. *J Gen Virol*, 2000, 81(Pt 10): 2511-2518.
- [16] Nigatu W, Jin L, Cohen B J, et al. Measles virus strains circulating in Ethiopia in 1998-1999: molecular characterisation using oral fluid samples and identification of a new genotype [J]. *J Med Virol*, 2001, 65(2): 373-380.
- [17] Wairagkar N, Rota P A, Liffick S, et al. Characterization of measles sequences from Pune, India [J]. *J Med Virol*, 2002, 68(4): 611-614.
- [18] Rota P A, Liffick S L, Rota J S, et al. Molecular epidemiology of measles viruses in the United States, 1997-2001 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8(9): 902-908.
- [19] Rota P A, Bellini W J. Update on the global distribution of genotypes of wild type measles viruses [J]. *J Infect Dis*, 2003, 187 (Suppl 1): S270-276.
- [20] Mbugua F M, Okoth F A, Gray M, et al. Molecular epidemiology of measles virus in Kenya [J]. *J Med Virol*, 2003, 71(4): 599-604.
- [21] Tipples G A, Gray M, Garbutt M, et al. Genotyping of measles virus in Canada, 1979-2002 [J]. *J Infect Dis*,

- 2004, 189 (Suppl 1): S171-176.
- [22] Riddell M A, Rota J S, Rota P A. Review of the temporal and geographical distribution of measles virus genotypes in the prevaccine and postvaccine era[J]. *Virology*, 2005, 2: 87.
- [23] Forcic D, Ivancic J, Baricevic M, et al. Genetic characterization of wild type measles virus isolated in Croatia during the 2003-2004 outbreak[J]. *J Med Virol*, 2005, 75(2): 307-312.
- [24] Djebbi A, Bahri O, Mokhtariazad T, et al. Identification of measles virus genotypes from recent outbreaks in countries from the Eastern Mediterranean Region[J]. *J Clin Virol*, 2005, 34(1): 1-6.
- [25] Siedler A, Tischer A, Mankertz A, et al. Two outbreaks of measles in Germany 2005[J]. *Euro Surveill*, 2006, 11(4): 131-134.
- [26] Nigatu W, Nokes D J, Afework A, et al. Serological and molecular epidemiology of measles virus outbreaks reported in Ethiopia during 2000-2004[J]. *J Med Virol*, 2006, 78(12): 1648-1655.
- [27] Waku-Kouomou D, Landreau D, Olivier S, et al. Molecular characterization of measles virus circulating in the Indian Ocean Islands during 2005-2006 and in France in 2006[J]. *J Med Virol*, 2007, 79(9): 1381-1387.
- [28] Kremer J R, Brown K E, Jin L, et al. High genetic diversity of measles virus, World Health Organization European Region, 2005-2006[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(1): 107-114.
- [29] Kokotas S N, Bolanaki E, Sgouras D, et al. Cocirculation of genotypes D4 and D6 in Greece during the 2005 to 2006 measles epidemic[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 62(1): 58-66.
- [30] Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection [M]. 2nd Edition, Geneva, Switzerland; WHO, 2007: 48.

The First Imported Measles Case Associated with Genotype D4 Measles Virus in China

WANG Hui-ling^{1, 2}, ZHENG Lei³, WANG Ji-tao^{2, 4}, GAO Hui³, ZHANG Yan²,
KONG Xiao-hui¹, XU Wen-bo²

(1. *Beijing Childrens Hospital Affiliate to Capital Medical University, Beijing 100045, China;*

2. *National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention,*

Beijing 100052, China; 3. Center for Disease Control and Prevention of Shanxi, Taiyuan 030012, China;

4. *Center for Disease Control and Prevention of Taiyuan, Taiyuan 030012, China)*

Abstract: This study reported the first imported measles case associated with genotype D4 measles virus in Shanxi province in China. The clinical specimen of throat swab was inoculated into Vero/SLAM culture to isolate the virus. A RT-PCR(Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) was performed to amplify the 676 nucleotides sequence corresponding to the carboxyl terminus of measles virus nucleoprotein. The phylogenetic tree based on the 450 nucleotide acids of carboxyl terminus of N protein was constructed and the homology similarity was analyzed. The Shanxi isolate MVi/Shanxi. CHN/20.09/1 was clustered within the same genotype group with WHO genotype D4 reference strain, Montreal. CAN/89, and the homology of nucleotide acid between Shanxi isolate and WHO genotype D4 reference strain was 97.3%. The homology of nucleotide acid and amino acid between Shanxi isolate and 2009 genotype D4 representative strain circulating in USA, Canada, India and Russian were 98.0%-100% and 97.3%-100%, respectively. These results showed that the virus isolated from the imported measles case was genotype D4. This is the first report that the genotype D4 measles virus was imported and isolated in China. It is important to accumulate baseline data of China and help to measure transmission pathways and to clarify epidemiological links.

Key words: measles virus; molecular virology surveillance; D4 genotype; phylogenetic analysis

Corresponding author: XU Wen-bo, E-mail: wenbo_xu@yahoo.com.cn; KONG Xiao-hui, E-mail: xiaohuikong@hotmail.com