

# 中国大陆首例输入性猴痘病例的基因特征分析

唐云<sup>1,2</sup>, 文海燕<sup>3</sup>, 赵华<sup>2</sup>, 黄为<sup>2</sup>, 叶盛<sup>2</sup>, 裴晓方<sup>1</sup>

1. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院; 2. 重庆市疾病预防控制中心;
3. 重庆国际旅行卫生保健中心(重庆海关口岸门诊部)

**摘要:**目的 通过不同文库构建方式,结合高通量测序方法,了解中国大陆首例输入性猴痘确诊病例病毒的基因特征,比较不同文库类型优缺点。**方法** 以中国大陆首例输入性猴痘病例的疱疹液及鼻咽拭子为样本,提取核酸定量后直接进行文库构建或使用猴痘病毒全基因组捕获试剂盒进行扩增子文库构建,通过高通量测序,获得病毒全基因组序列。结合 NCBI 和 GISAID 数据库下载的 34 个猴痘病毒序列,以牛痘病毒、天花病毒和痘苗病毒序列为外群,构建系统发育进化树。**结果** 两种文库构建方式均测序获得该病毒的全基因组序列,命名为 hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022,属于 MPXV I1b 分支,与属于 I1b B.1 分支的 hMpxV/Germany/BE - ChVir28656/2022 位于同一分支。宏基因组文库较扩增子文库所得序列覆盖度更均匀,但测序深度较低,有效数据量占比较少。**结论** I1b B.1 分支猴痘病毒已经传入中国大陆境内,对后续发现的猴痘病毒测序时应根据样本量和测序时限、测序费效比等因素选择适合的文库构建方法。

**关键词:**猴痘病毒;高通量测序;基因特征

中图分类号:R511 文献标志码:A 文章编号:1003 - 8507(2024)10 - 1878 - 06

DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202403475

## Genetic characteristics of the first imported monkeypox virus in the mainland, China

TANG Yun\*, WEN Hai-yan, ZHAO Hua, HUANG Wei, YE Sheng, PEI Xiao-fang

\* West China School of Public Health / West China No. 4 Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

**Abstract: Objective** Different library construction methods, combined with high-throughput sequencing methods, were used to understand the genetic characteristics of the virus of the first confirmed imported monkeypox case in mainland China, and to compare the advantages and disadvantages of different library types. **Methods** The herpetic fluids and nasopharyngeal swabs of the first imported monkeypox case in the Chinese mainland were used as samples. After nucleic acid extraction and quantification, the library was directly constructed or the amplicon library was constructed using the monkeypox virus whole genome capture kit, and the whole genome sequence of the virus was obtained by high-throughput sequencing. Combined with 34 monkeypox virus sequences downloaded from the NCBI and GISAID databases, a phylogenetic evolutionary tree was constructed using vaccinia, variola, and cowpox sequences as out groups. **Results** The whole genome sequence of the virus was obtained by both library construction methods, named hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022, which belongs to the monkeypox virus branch I1b, located in the same branch as hMpxV/Germany/BE - ChVir28656/2022 belonging to the I1b B.1 branch. Metagenomic libraries have more uniform sequence coverage than amplicon libraries, but the sequencing depth is lower and the effective data volume accounts for less. **Conclusion** Clade I1b B.1 monkeypox viruses have already been introduced into the mainland China, and the sequencing of subsequently discovered monkeypox viruses should be based on the sample size and sequencing timeframe, sequencing cost-effectiveness ratio, and other factors to choose the appropriate library construction method.

**Keywords:** Monkeypox virus; High-throughput sequencing; Genetic characteristics

**基金项目:**四川省科技厅重大专项(2022ZDZX0017);重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(CSTB2022TIAD - GPX0073);海关总署科研课题(2022HK68);重庆市卫生健康委医学科科研项目(2024WSJK068)

**作者简介:**唐云(1993-),女,硕士在读,主管技师,研究方向:微生物、公从健康与检验

**通信作者:**裴晓方, E-mail: xfpescu@163.com

猴痘(Monkeypox, Mpox)是一种通常由猴痘病毒(Monkeypox virus, MPXV)引起的自限性人兽共患疾病<sup>[1]</sup>。

猴痘病毒是痘病毒科正痘属的双链 DNA 病毒,曾分为“西非分支”和“中非”或“刚果盆地”分支两大

主要分支。刚果盆地分支病死率较西非分支更高、传染性更强。猴痘病毒一般在一些非洲国家的人群中流行,且多是动物传播到人类,鲜有持续的人传人报道<sup>[2]</sup>。然而 2022 年西非分支在非猴痘流行国家如英国等多个国家引起了人群聚集性疫情<sup>[3-5]</sup>。截至 2023 年 8 月,全球已有 112 个国家和地区报告了超过 8.8 万例猴痘病例,其中包括 149 例死亡病例<sup>[6]</sup>。在如今全球疫情的流行情况下,为避免污名化病毒株,世卫组织不再使用地理位置命名病毒株,根据系统发育的相似性命名为 I, IIa, IIb 等分支。分支 I 对应于先前的“刚果盆地分支”,分支 IIa 和 IIb 对应于先前的“西非分支”。引起 2022 年疫情的病毒株属于 IIb 分支<sup>[7]</sup>。

继 2022 年 9 月 14 日,重庆市发现中国大陆首例输入性猴痘病例以来<sup>[8]</sup>,2023 年我国大陆猴痘病例剧增,出现本土传播,截至 2023 年 8 月 31 日,中国内地(不含港澳台)25 省(区、市)已报告千余例猴痘确诊病例<sup>[9]</sup>。为了解猴痘病例的基因特征,本研究使用了猴痘病毒高通量测序方法,对中国大陆首例输入病例的猴痘病毒进行了全基因组测序,分析其基因特征。

## 1 材料和方法

**1.1 样本采集与核酸提取** 2022 年 9 月,一名途经德国和西班牙的旅客进入重庆后,在新冠肺炎隔离点接受为期两周的隔离。隔离期间,该人员自述出现猴痘样临床表现,怀疑感染猴痘病毒<sup>[8]</sup>。立即采集患者 2 支鼻咽拭子和 2 支疱疹液拭子,分别置于含有胍盐灭活剂的病毒样本采集管中,低温(4~8℃)转运至重庆市疾病预防控制中心实验室。涡旋混匀后,每个样品取 200 μl 进行核酸提取(病毒核酸提取试剂,江苏硕世生物科技股份有限公司,中国泰州),60 μl 洗脱液洗脱。

### 1.2 实时荧光定量 PCR 检测与文库构建

**1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测** 按照猴痘实时荧光定量 PCR 检测试剂盒说明书(北京金豪药业有限公司,中国北京;上海伯杰医疗科技股份有限公司,中国上海)配制 PCR 反应体系,分别在 ABI7500(Thermofisher,美国)和 Bio-Rad CFX96(Bio-Rad,美国)实时荧光 PCR 仪上完成检测。根据 Ct 值(循环数阈值)选择较高病毒浓度的鼻咽拭子和疱疹液拭子核酸进行文库构建。

**1.2.2 文库构建** 本研究使用了两种文库构建方法:

方法 1:使用 Illumina DNA Prep(Illumina Inc,美国圣地亚哥)和 Nextera™ DNA CD Indexes(Illumina Inc,美国圣地亚哥),从样本提取的核酸直接进行文库构建。构建的文库经 Agilent 2100(Agilent Technologies,美国)测定文库片段长度后,将文库稀释至终浓度 2 nM(2 nmol/L);然后,吸取 20 μl 稀释好的文库至 Illumina NextSeq 2000 试剂盒上样孔中,装载试剂盒与测序芯片后,运行测序。

方法 2:使用猴痘病毒全基因组捕获试剂盒(北京微未来)扩增核酸,扩增产物经 AMPure Beads(Beckman Coulter Inc,美国)纯化产物并定量(Qubit 3.0,Thermofisher,美国),后续文库构建步骤同方法 1。

**1.2.3 基因组组装** 下机 FastQ 数据导入 CLC Genomics Workbench 22.0 软件(Qiagen,德国)中。去除宿主基因组序列后,以猴痘病毒参考株(NC\_063383.1)作为参考序列,将剩余 reads 进行有参拼接生成一致性序列。

**1.2.4 系统发育分析** 从 NCBI 和 GISAID 下载 34 个猴痘病毒序列,以及痘苗病毒、天花病毒和牛痘病毒序列各 1 条(表 1)<sup>[10]</sup>,经 Mafft 7.22 对齐后,用 MEGA vision 6.06 构建系统发育进化树,建树方法选择最大似然法,Bootstrap 值设定为 1 000。痘苗病毒、天花病毒和牛痘病毒序列作为外群。

表 1 本研究中使用的基因组序列信息

Table 1 Genomes included in the analyze

| 名称                                              | 登录号              | 国家/地区 | 采集日期       | 分支        |
|-------------------------------------------------|------------------|-------|------------|-----------|
| 猴痘病毒                                            | NC_063383.1      |       |            | IIb A     |
| Zaire-96-I-16                                   | NC_003310.1      | 扎伊尔   |            | I         |
| 痘苗病毒                                            | NC_006998.1      |       |            | 外群        |
| 天花病毒                                            | NC_001611.1      |       |            | 外群        |
| 牛痘病毒                                            | NC_003663.2      |       |            | 外群        |
| MpxV/cynomolgus_monkey/USA/un-WRAIR7-61-P2/1962 | EPI_ISL_13056556 | 美国    | 1962       | IIa       |
| hMpxV/Liberia/CDC-184/1970                      | EPI_ISL_13058405 | 利比里亚  | 1970       | IIa       |
| hMpxV/Israel/IIBR-01/2018                       | EPI_ISL_13056289 | 以色列   | 2018-10-04 | IIb A.1   |
| hMpxV/Singapore/NCID-01/2019                    | EPI_ISL_13058475 | 新加坡   | 2019-05-08 | IIb A.1   |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA-2091/2019            | EPI_ISL_13734230 | 英国    | 2019-12    | IIb A.1   |
| hMpxV/India/KL-ICMR-16-5316-553/2022            | EPI_ISL_13953610 | 印度    | 2022-07-13 | IIb A.2.1 |

(续表)

| 名称                                               | 登录号              | 国家/地区 | 采集日期           | 分支           |
|--------------------------------------------------|------------------|-------|----------------|--------------|
| hMpxV/Thailand/CU - 220016 - FTV/2022            | EPI_ISL_14011193 | 泰国    | 2022 - 07 - 17 | IIB A. 2     |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - 9000166/2022        | EPI_ISL_14752288 | 英国    | 2022 - 06 - 29 | IIB A. 2. 2  |
| hMpxV/USA/PA - CDC - 0016/2022                   | EPI_ISL_15016116 | 美国    | 2022 - 07      | IIB A. 2. 2  |
| hMpxV/Nigeria/CDC - M3021/2018                   | EPI_ISL_13056285 | 尼日利亚  | 2018           | IIB A        |
| hMpxV/Thailand/NIC - PKT - M1/2022               | EPI_ISL_14295679 | 泰国    | 2022 - 08 - 02 | IIB A        |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - 50/2022             | EPI_ISL_14439755 | 英国    | 2022 - 06 - 14 | IIB B. 1. 10 |
| hMpxV/USA/WA - CDC - 0009/2022                   | EPI_ISL_15016106 | 美国    | 2022 - 07      | IIB B. 1. 11 |
| hMpxV/Brazil/SP - IAL - 07/2022                  | EPI_ISL_13436658 | 巴西    | 2022 - 06 - 14 | IIB B. 1. 12 |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - 9000426/2022        | EPI_ISL_15158453 | 英国    | 2022 - 08      | IIB B. 1. 1  |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - 9000390/2022        | EPI_ISL_15158421 | 英国    | 2022 - 08      | IIB B. 1. 2  |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - 56/2022             | EPI_ISL_14439761 | 英国    | 2022 - 07 - 07 | IIB B. 1. 3  |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - J6xzTO_9000287/2022 | EPI_ISL_14934687 | 英国    | 2022 - 08      | IIB B. 1. 4  |
| hMpxV/Switzerland/ZH - UZH - IMV - 3ba64538/2022 | EPI_ISL_13251723 | 瑞士    | 2022 - 06 - 02 | IIB B. 1. 5  |
| hMpxV/Peru/LIM - INS - 102/2022                  | EPI_ISL_14584307 | 秘鲁    | 2022 - 08 - 03 | IIB B. 1. 6  |
| hMpxV/Hong_Kong/HKU - 220914 - 001/2022          | EPI_ISL_14945299 | 香港    | 2022 - 09 - 06 | IIB B. 1. 7  |
| hMpxV/United_Kingdom/UKHSA - W0cPOH_9000297/2022 | EPI_ISL_14934692 | 英国    | 2022 - 08      | IIB B. 1. 7  |
| hMpxV/Germany/un - RKI - 103/2022                | EPI_ISL_13734238 | 德国    | 2022 - 07      | IIB B. 1. 8  |
| hMpxV/Brazil/BA - IAL - 92/2022                  | EPI_ISL_14995619 | 巴西    | 2022 - 08 - 31 | IIB B. 1. 9  |
| hMpxV/USA/IL - IDPH - 021/2022                   | EPI_ISL_15158335 | 美国    | 2022 - 07 - 05 | IIB B. 1     |
| hMpxV/USA/IL - IDPH - 084/2022                   | EPI_ISL_15158398 | 美国    | 2022 - 07 - 06 | IIB B. 1     |
| hMpxV/DRC/CDC - 005/1978                         | EPI_ISL_13053218 | 刚果金   | 1978           | I            |
| hMpxV/DRC/OHSU - 01 - P5/1978                    | EPI_ISL_13058456 | 刚果金   | 1978           | I            |
| hMpxV/Taiwan/TCDC - 110 - 364682/2022            | EPI_ISL_13908328 | 中国台湾  | 2022 - 07      | IIB B. 1     |
| hMpxV/Taiwan/CVDCDC - 110 - 231642/2022          | EPI_ISL_13632071 | 中国台湾  | 2022 - 06 - 27 | IIB B. 1. 5  |
| hMpxV/Germany/BE - ChVir28656/2022               | EPI_ISL_13889435 | 德国    | 2022 - 06 - 21 | IIB B. 1     |
| hMpxV/Germany/BE - ChVir28446/2022               | EPI_ISL_13890471 | 德国    | 2022 - 06 - 10 | IIB B. 1     |

**1. 2. 5 编码区域分析** 基于序列相似性原理,利用 NCBI 参考序列 (NC\_063383. 1) 的注释和文献<sup>[2,11-12]</sup>对 ORF 功能的描述和预测,推断核苷酸突变对样品中病毒编码的氨基酸的影响。

## 2 结果

**2. 1 实时荧光定量 PCR 检测** 鼻咽拭子和疱疹液通过两个生产厂家的实时荧光定量 PCR 试剂检测,检测结果为猴痘病毒核酸阳性,且鼻咽拭子的 Ct 值低于疱疹液的 Ct 值(表 2)。

表 2 两种不同类型样本实时荧光 PCR 检测结果

Table 2 Ct value of the two kinds of samples

| Ct 值   | 试剂 1   | 试剂 2   |
|--------|--------|--------|
| 疱疹液 1  | 24. 82 | 26. 33 |
| 疱疹液 2  | 24. 74 | 26. 16 |
| 鼻咽拭子 1 | 21. 79 | 23. 33 |
| 鼻咽拭子 2 | 21. 24 | 23. 03 |

注:试剂 1:北京金豪药业有限公司,试剂 2:上海伯杰医疗科技股份有限公司。

**2. 2 NGS 测序** 由于两种样本类型的 Ct 值接近,因此从每种类型中选择一个样本进行文库构建。

方法 1:经 Qubit 3. 0 定量,鼻咽拭子和疱疹液样品中总 DNA 浓度分别为 2. 02 ng/μl 和 0. 276 ng/μl。

由于疱疹液中总 DNA 浓度太低,不满足 Illumina DNA Prep 试剂盒起始浓度的要求,因此仅使用 30 μl 鼻咽拭子样品核酸根据 Illumina DNA Prep 试剂盒说明书进行文库构建。文库终浓度为 19. 0 ng/μl,平均长度为 583 bp。经测序总共获得了约 2. 43 亿条 reads。去除宿主序列 reads 后,将剩余 reads 以猴痘病毒序列 (NC\_063383. 1) 为参考基因组进行有参拼接,覆盖度 100% (图 1,图 2),以 30 × 为最小测序深度生成一致性序列。

方法 2:鼻咽拭子样本使用猴痘病毒全基因组捕获试剂盒扩增。磁珠纯化后经 Qubit 3. 0 定量,产物总 DNA 浓度为 18. 7 ng/μl。取 10 μl PCR 产物根据 Illumina DNA Prep 试剂盒说明书进行文库构建并上机测序,总共获得了约 1. 25 亿条 reads,与方法 1 以相同参数生成一致性序列。

两种方法得到的一致性序列相同,命名为 hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022,并上传至 GISAID 数据库,登录号为 EPI\_ISL\_15005641。

系统发育分析显示,hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022 位于系统发育树中猴痘病毒大分支下的 IIB 分支中,与属于 IIB B. 1 分支的另一株病毒 hMpxV/Germany/BE - ChVir28656/2022 位于同一分支,表明该病毒也属于 IIB B. 1 分支(图 3)。

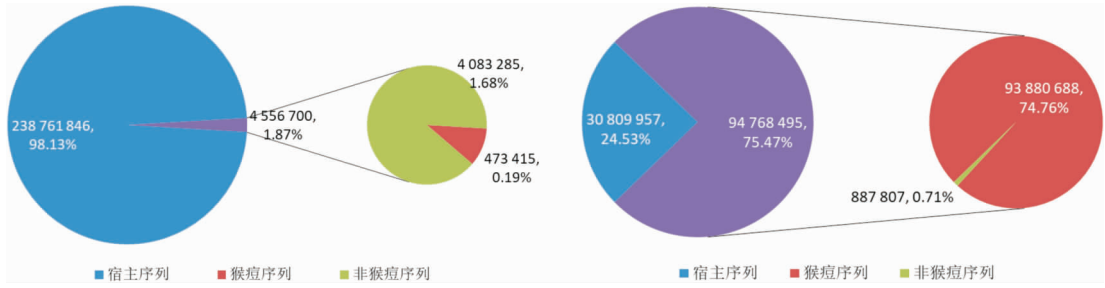


图 1 两种方法下机数据中 reads 的构成情况图

Fig. 1 Summary of the reads generated by each of the two methods

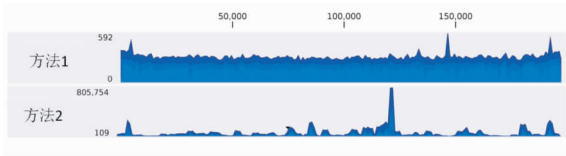


图 2 两种方法有参拼接时覆盖度情况

Fig. 2 Traces of two methods mapping to the Reference NC\_063383.1

与参考序列 NC\_063383.1 相比, hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022 序列中的 GC 含量为 33%, 共有 72 个核苷酸变异位点(图 4), 其中 10 个位于序列 5' 和 3' 末端的 ITR 区域。64 个变异位点分别位于 38 个编码区, 其中有 36 个导致氨基酸变化(表 3)。余下 28 个位点位于非编码区。

### 3 讨论

由于样本为中国大陆首例猴痘病例, 为在短时间内取得尽可能完整的病毒基因组数据进行后续研究, 本研究选择两种文库构建方式互为补充验证。

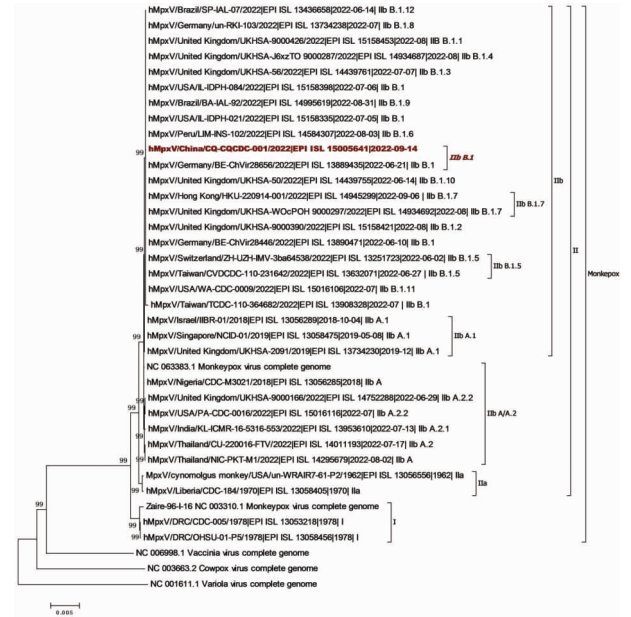


图 3 基于全基因组的猴痘病毒进化比对(最大似然法, Bootstrap 值设定为 1 000)

Fig. 3 Phylogeny of monkeypox viruses based on complete genomes

表 3 hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022 变异位点分析<sup>[2,11-12]</sup>

Table 3 Molecular analysis of the hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022

| 变异核苷酸位点 | 编码基因   | 氨基酸变异 | 蛋白质结构域的结构、定位和功能                                     |
|---------|--------|-------|-----------------------------------------------------|
| G1262A  | OPG001 | S105L | PIE 结构域, 趋化因子结合蛋白(Cop - C23L)                       |
| G2591A  | OPG002 | S54F  | T TNF - $\alpha$ 受体同源物和 PIE 结构域, 趋化因子结合蛋白, CrmB     |
| G3111A  | OPG003 | -     |                                                     |
| G3522A  | OPG003 | -     |                                                     |
| C3818T  | OPG003 | D264N | ANK 和 PRANC 结构域, 与 NF - $\kappa$ B p105 亚基和 SCPI 结合 |
| C7771T  | OPG019 | -     |                                                     |
| G14000T | OPG025 | A423D | ANK 和 PRANC 结构域, 针对 IFIT 进行降解, 抗 IFN                |
| G15428A | NA     | -     |                                                     |
| A18769G | OPG031 | -     |                                                     |
| G21723A | OPG037 | -     |                                                     |
| C23105T | OPG038 | E19K  | PIE 结构域, 阻止 SD28 介导的 T 细胞活化, 分泌型                    |
| C23564T | OPG039 | -     |                                                     |
| G25661A | NA     | -     |                                                     |
| T28175C | OPG044 | -     |                                                     |
| G30367A | OPG047 | -     |                                                     |
| G31053A | OPG047 | R48C  | BTB 和 Kelch 结构域, 有助于毒力, 更大的病变大小                     |

(续表)

| 变异核苷酸位点  | 编码基因   | 氨基酸变异 | 蛋白质结构域的结构、定位和功能                 |
|----------|--------|-------|---------------------------------|
| G34459A  | OPG053 | P78S  | 成熟病毒粒子(MV)膜蛋白,进入融合复合体(EFC)成分    |
| G37202A  | OPG056 | -     |                                 |
| G38360A  | OPG056 | E125K | 包裹的病毒粒子(WV)成分与 E2 蛋白复合,促进 WV 运输 |
| C38662T  | OPG056 | -     |                                 |
| C39119T  | OPG057 | -     |                                 |
| C39139T  | OPG057 | E353K | 棕榈脂化包膜病毒(EV)糖蛋白,P-脂肪酶同源物,WV 形成  |
| G52885A  | OPG071 | -     |                                 |
| G54117A  | OPG071 | L108F | DNA 聚合酶                         |
| G54635A  | OPG072 | D56N  | 巯基氧化酶,S-S 键形成途径,病毒蛋白            |
| G63921T  | OPG083 | E266K | 丝氨酸蛋白酶,病毒粒子形态发生                 |
| G64297A  | OPG083 | -     |                                 |
| C72362T  | OPG092 | D196N | 病毒磷蛋白,7 蛋白复合体,早期形态发生            |
| C73066T  | OPG093 | S30L  | 病毒晚转录因子 1,(VLTf-1),PCNA 同源物     |
| G73239A  | OPG093 | D88N  | 病毒晚转录因子 1,(VLTf-1),PCNA 同源物     |
| G74205A  | OPG094 | M142I | MV 膜,EFC 组分,肉豆蔻酸酯               |
| G77383A  | OPG098 | E162K | DNA 结合核心转录蛋白(VP8),I7 依赖性裂解      |
| G81275A  | OPG105 | -     |                                 |
| A81977G  | OPG105 | -     |                                 |
| C82373T  | OPG105 | -     |                                 |
| G82451A  | OPG105 | -     |                                 |
| C83326T  | OPG105 | S734L | DNA 依赖性 RNA 聚合酶亚基 rop147        |
| C84587T  | OPG105 | -     |                                 |
| G87230A  | OPG109 | H740Y | RNA 聚合酶相关蛋白(RAP94),早期转录         |
| G87297A  | OPG109 | -     |                                 |
| G91728A  | NA     | -     |                                 |
| G95034A  | OPG115 | -     |                                 |
| A100261G | OPG118 | K606E | 早期转录因子(VETF)小亚基,ATP 酶,预测解旋酶     |
| C118161T | OPG136 | R476Q | 主要核心蛋白 4a 的前体(p4a),形态发生         |
| C119296T | OPG136 | D98N  | 主要核心蛋白 4a 的前体(p4a),形态发生         |
| G120262A | OPG137 | D221N | 新月膜和 IV 形成,VMAP                 |
| C121320T | OPG139 | A17T  | MV 膜磷蛋白,形态发生                    |
| G124130A | OPG145 | E62K  | DNA 依赖性 ATP 酶,DNA 解旋酶           |
| G124674A | OPG145 | R243Q | DNA 依赖性 ATP 酶,DNA 解旋酶           |

注: - 表示未造成氨基酸变异;NA 表示核苷酸变异在非编码区。

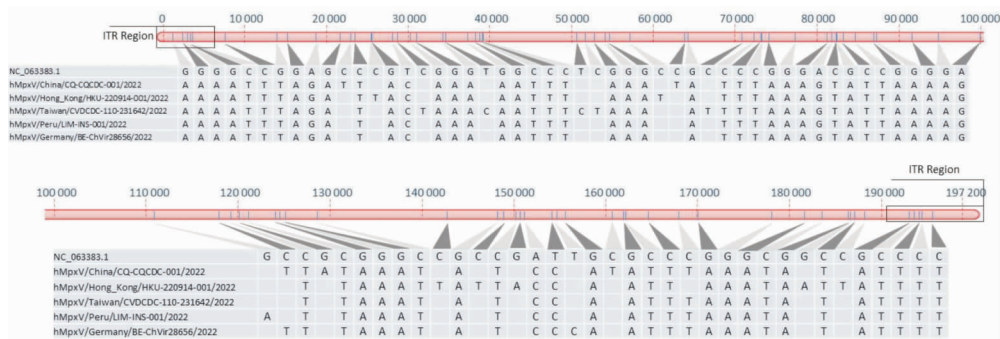


图 4 hMpxV/China/CQ - CQDC - 001/2022 的变异位点示意图

Fig. 4 SNPs characterizing of the virus from the import case

方法 1 从临床样本中直接进行宏基因组文库构建。优点为无需耗时进行病毒培养,能够快速获得猴痘病毒的全基因组序列,但产出的数据中含有大量宿主序列,猴痘病毒序列仅占比 0.19% (473 415 条),因此需选用高通量测序试剂盒提升猴痘病毒序列的绝对量,测序成本更高。方法 2 使用猴痘病毒全基因

组捕获试剂盒,靶向扩增病毒序列后再进行文库构建。产出的数据中猴痘病毒序列占比达到了 74.76% (93 880 688 条)。但由于进行了多轮 PCR 扩增,引入了 PCR 扩增偏倚,覆盖度和测序深度的差异较方法 1 大。且当时的猴痘病毒扩增子试剂盒的扩增效率和试剂盒引物覆盖情况不确定,因此使用两种构建

方式互相对比,也互为补充。宏基因组文库通过高通量测序能获得较均匀的猴痘病毒序列覆盖度和较好的测序深度,但会产生大量的无关数据,浪费测序芯片通量;扩增子文库得到的猴痘病毒序列覆盖度分布均匀性稍差,但测序深度更高,且可能引入 PCR 扩增偏倚。对后续发现的猴痘病毒测序时需综合考量选择适合的文库构建方法。

系统发育树表明该病毒属于 MPXV IIB B.1 分支,与 hMpxV/Germany/BE - ChVir 28656/2022 位于同一分支,和患者曾到过德国的流行病学调查情况相符。

hMpxV/China/CQ - CQCDC - 001/2022 病毒编码区的核苷酸变异导致核苷酸编码的 36 个氨基酸发生变化。发生相关变化的基因中有 14 个与猴痘病毒 - 宿主相互作用有关;基因 OPG001, OPG002, OPG003, OPG025, OPG176 和 OPG193 被认为参与病毒的免疫逃逸<sup>[11,13]</sup>。免疫原性表面糖蛋白 OPG210 中发生的三种氨基酸变化(D209N、P722S 和 M1741I)与 2022 年一些国家猴痘疫情中的病毒特征一致<sup>[14]</sup>。最近的研究表明,2022 年引起非流行地区猴痘暴发疫情的猴痘病毒较 2018—2019 年流行的病毒有着约 50 个单核苷酸多态性(SNP)的不同,远超过正痘病毒替代率(每个基因组每年产生 1~2 个替代变化),这表明当前广泛分布的病毒内的微进化很可能导致了病毒对人类和社区传播的适应性<sup>[14-15]</sup>。且 IIB 分支流行株的毒性较 I 分支低<sup>[16]</sup>,具有隐匿性,易被忽略,更应加强关注,因此及时完成病毒的序列测定及数据共享至关重要。

人员流动的频繁以及旅行和贸易的全球化,进一步促进了全球传播。2022 年爆发的猴痘疫情涉及六大洲、100 多个国家,感染人数和死亡病例较往年大大增加,造成极大的疾病负担。为应对猴痘疫情的变化,口岸和疾控部门应继续加强对猴痘疫情的防控监测,推进数据世界共享,有助于观察病毒进化轨迹、传播动态,有助于指导防控措施的制订及后续研究方向。

**医学伦理审查:**通过重庆市疾病预防控制中心伦理审查,意见号:KY-2024-009-1

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

[1] Bunge EM, Hoet B, Chen L, et al. The changing epidemiology of human monkeypox - A potential threat? A systematic review[J]. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2022, 16(2): e0010141.

[2] Likos AM, Sammons SA, Olson VA, et al. A tale of two clades: monkeypox viruses[J]. Journal of General Virology, 2005, 86(Pt 10): 2661 - 2672.

[3] Vivancos R, Anderson C, Blomquist P, et al. Community transmission of monkeypox in the United Kingdom, April to May 2022[J]. Euro Surveillance: Bulletin European sur les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin, 2022, 27(22): 2200422.

[4] Mahase E. Seven monkeypox cases are confirmed in England[J]. BMJ, 2022, 377: o1239.

[5] Otu A, Ebenso B, Walley J, et al. Global human monkeypox outbreak: atypical presentation demanding urgent public health action[J]. The Lancet. Microbe, 2022, 3(8): e554 - e555.

[6] World Health Organization. Multi - country outbreak of mpox, external situation report #26 - 14 July 2023[EB/OL]. [2024 - 04 - 30]. <https://www.who.int/publications/m/item/multi-country-outbreak-of-mpox-external-situation-report-26--14-july-2023>.

[7] Happi C, Adetifa I, Mbala P, et al. Urgent need for a non - discriminatory and non - stigmatizing nomenclature for monkeypox virus[J]. PLOS Biology, 2022, 20(8): e3001769.

[8] Zhao H, Wang WL, Zhao L, et al. The first imported case of monkeypox in the mainland of China - Chongqing municipality, China, September 16, 2022[J]. China CDC Weekly, 2022, 4(38): 853 - 854.

[9] 中国疾病预防控制中心. 2023 年 7 月猴痘疫情监测情况[EB/OL]. [2024 - 04 - 30]. [https://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/qt/szkb\\_13037/gwjszl\\_13092/202308/t20230809\\_268502.html](https://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/qt/szkb_13037/gwjszl_13092/202308/t20230809_268502.html). Chinese Center for Disease Control and Prevention. Monkeypox outbreak surveillance July 2023[EB/OL]. [2024 - 04 - 30]. [https://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/qt/szkb\\_13037/gwjszl\\_13092/202308/t20230809\\_268502.html](https://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/qt/szkb_13037/gwjszl_13092/202308/t20230809_268502.html).

[10] Khare S, Gurry C, Freitas L, et al. GISAIID's role in pandemic response[J]. China CDC Weekly, 2021, 3(49): 1049 - 1051.

[11] Senkevich TG, Yutin N, Wolf YI, et al. Ancient gene capture and recent gene loss shape the evolution of Orthopoxvirus - Host interaction genes[J]. mBio, 2021, 12(4): e0149521.

[12] Chen NH, Li GY, Liszewski MK, et al. Virulence differences between monkeypox virus isolates from West Africa and the Congo basin[J]. Virology, 2005, 340(1): 46 - 63.

[13] Yu X, Shi HC, Cheng G. Mpx virus: its molecular evolution and potential impact on viral epidemiology[J]. Viruses, 2023, 15(4): 995.

[14] Isidro J, Borges V, Pinto M, et al. Phylogenomic characterization and signs of microevolution in the 2022 multi - country outbreak of monkeypox virus[J]. Nature Medicine, 2022, 28(8): 1569 - 1572.

[15] World Health Organization. 2022 - 23 Mpox (Monkeypox) outbreak: Global trends[EB/OL]. [2024 - 04 - 30]. [https://mcc-covid.crc.pitt.edu/COVID19\\_official\\_websites/Global/monkeypox\\_who\\_report/2023-02-23\\_183451.html](https://mcc-covid.crc.pitt.edu/COVID19_official_websites/Global/monkeypox_who_report/2023-02-23_183451.html).

[16] Sadeuh - Mba SA, Yonga MG, Els M, et al. Monkeypox virus phylogenetic similarities between a human case detected in Cameroon in 2018 and the 2017 - 2018 outbreak in Nigeria[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2019, 69: 8 - 11.