

DOI:10.13350/j.cjpb.240609

• 论著 •

厦门市 11 株柯萨奇病毒 A4 型分离株全基因组序列分析^{*}

张建梅,温娟,张荣秋,陈泽辉,徐雪荣^{**}

(厦门市疾病预防控制中心,福建厦门 361021)

【摘要】 目的 通过分析 11 株 CVA4 病毒毒株的全基因组序列,揭示其基因进化及变异特征。 **方法** 将 PCR 检测阳性且 Ct 值<25 的样本进行病毒分离培养,获得的毒株提取核酸(RNA)后采用高通量宏基因组测序方法进行序列测定,将质控合格的测序数据进行基因组组装;获得的基因组序列提交至肠道病毒分型网站获得毒株血清型,同时与公共数据库下载的其他国家或地区的 CVA4 毒株序列通过 MegAlign、Mega X、Simplot3.5.1 软件分别进行相似性分析、系统进化树分析和重组分析。 **结果** 11 株毒株全基因组序列长度在 7 434~7 419 bp 之间,血清型均为 CVA4,核苷酸与氨基酸序列相似性分别为 91.7%~99.3%和 98%~100%;与原型株序列相比,核苷酸序列何氨基酸序列相似性分别在 84.3%~84.7%和 97.1%~97.3%之间;与其他参考序列相比,核苷酸与氨基酸序列相似性分别为 80.8%~98.8%和 96.9%~99.6%;全基因组遗传进化分析表明,其与中国其他地区 CVA4 毒株序列属同一遗传分枝;根据 VP1 基因进化树分析,本研究的毒株与中国其他地区毒株属于 C 基因型中的 C2 亚型;重组分析结果显示,11 株 CVA4 与其他毒株无明显重组特征,但其中 1 株的部分区段序列与 CVA2 毒株序列一致性可达 97.2%,剩余毒株与既往重组株相似度可高达 98.6%。 **结论** 11 株 CVA4 毒株为中国主要流行基因型,虽然与其他毒株无重组现象,但是与其他型别及以往重组株相似性较高,故在工作中需加强毒株重组监测,为手足口病的预防控制工作提供数据支撑。

【关键词】 柯萨奇病毒 A 组 4 型(CVA4);全基因组;基因测序;基因重组

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)06-0665-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Jun.;19(6):665-670.]

Whole genome analysis of 11 Coxsackievirus A4 strains isolated in Xiamen

ZHANG Jianmei, WEN Juan, ZHANG Rongqiu, CHENG Zehui, XU Xuerong (*Xiamen center for Disease Control and Prevention, Xiamen 361100, Fujian, China*)^{***}

【Abstract】 Objective To analyze the whole genome of 11 strains of CVA4 to reveal its gene evolution and mutation characteristics. **Methods** The samples with PCR positive results and Ct value <25 were cultured. Viral RNA was extracted from the isolates, then the qualified sequencing data were assembled for genome assembly after sequences were acquired by high-throughput metagenomic sequencing. The obtained genome sequences were submitted to the enterovirus typing website to determine strains' serotypes. Meanwhile, the 11 CVA4 strains sequences were compared with other whole genomes downloaded from the public database by MegAlign, Mega X and Simplot 3.5.1 software to obtain results of similarity analysis, phylogenetic tree and recombination analysis. **Results** The whole genome sizes of the 11 strains identified as CVA4 ranged from 7 434 bp to 7 419 bp, and the nucleotide and amino acid sequence similarities were 91.7%-99.3% and 98%-100%, respectively; Compared with prototype strain sequence, the consistency of nucleotide and amino acid sequences was 84.3%-84.7% and 97.1%-97.3%; Compared with other reference sequences, the nucleotide and amino acid sequence similarities were 80.8%-98.8% and 96.9%-99.6%; 11 CVA4 stains and other strains from China were clustered into the same lineage based on Genome-wide genetic evolution analysis; According to VP1 gene phylogenetic tree, the strains in our study and strains from other areas of China belong to C2 subtype of C genotype; The results of recombination analysis showed that 11 CVA4 strains had no apparent recombination characteristics with other strains. However, part gene region of one strain was 97.2% consistent with the sequence of CVA2 strain, and the similarity of the remaining strains with the previous recombinant strain was 98.6%. **Conclusion** There were not prominent differences between 11 CVA4 strains and epidemic genotypes in China. Although there was no recombination with other strains, they were highly similar to the previous recombination strain. Therefore, it is necessary to strengthen the monitoring of strain recombination in routine work to provide data support for the prevention and control of HFMD.

【Keywords】 coxsackievirus A4; whole genome; gene sequencing; gene recombination

^{*} **【基金项目】** 厦门市重点专科建设项目资助(厦卫科教[2021]215号)。

^{**} **【通讯作者】** 徐雪荣, E-mail: xmcwsw@163.com

【作者简介】 张建梅(1981-),女,福建厦门人,硕士,副主任技师,研究方向:病原微生物检测。E-mail:64369521@qq.com

手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是一种常见的婴幼儿高发疾病,一般发生在5岁以下儿童,该疾病为自限性疾病且大多预后良好,但也可引起无菌性脑膜炎、心肌炎、AFP(急性弛缓性麻痹)等较严重的疾病,从而危及生命。该病的病原体主要为小核糖核酸病毒科肠道病毒属的肠道病毒,该肠道病毒分为EV-A、EV-B、EV-C和EV-D 4个组,病毒全基因组长度约7 400 bp,包含VP4、VP2、VP3、VP1等4个结构蛋白及2A、2B、2C、3A、3B、3C和3D等7个非结构蛋白,其中VP1区基因因编码几个重要的抗原中和位点而被作为肠道病毒血清型的鉴定依据。柯萨奇病毒A4型属于EV-A组,在该组中, EV71, CVA16, CVA10和CVA6是引起手足口病的主要亚型^[1-3],但从1948年分离出CVA4第一株原型株High Point以来,由该亚型引起的暴发事件在多个国家和地区均有报道^[4-7]。目前,关于CVA4型的全基因组的序列信息和分析都相对较少。本研究通过对2022年分离得到的11株CVA4病毒毒株的全基因序列与原型株及其他地区的毒株序列进行比较分析,揭示其基因进化机制及变异特征。

材料与方法

1 样本来源

11份样本均为咽拭子,来自手足口病监测的常规非重症病例。细胞为人横纹肌瘤细胞RD。

2 主要试剂及仪器

2.1 试剂 MEM培养基(含1%谷氨酰胺)(Gibco, 美国)、青-链霉素(ABK Bio, 厦门);胎牛血清(普诺赛, 武汉);样本RNA提取试剂Ex-DNA/RNA 4.0(天隆, 西安),柯萨奇病毒A16型和肠道病毒71型+肠道病毒通用型核酸检测试剂盒(硕世, 江苏), MGI Easy RNA文库制备试剂套装和高通量测序试剂套装PE100(华大, 深圳)。

2.2 仪器 提取仪GeneRotex96(西安, 天隆), MGISEQ-200RS测序仪(华大, 深圳), MGISP-100自动建库仪(华大, 深圳), SLANS-96 PCR仪(上海, 宏石), 毛细管电泳仪QIAxcel(德国, Qiagen), Qubit4.0荧光定量仪(ThermoFisher, 美国)。

3 方法

3.1 肠道病毒核酸检测 通过天隆自动核酸提取仪提取拭子核酸,应用硕世核酸检测试剂对样本进行定性分析,将肠道病毒通用型阳性且Ct值小于25的样本用于细胞培养。

3.2 细胞培养 咽拭子用0.22 μ m滤器过滤除菌,经-80℃冰箱冻融一次使细胞破裂,释放病毒颗粒,然后4℃、10 000 r/min(离心半径8.2 cm)离心20

min,将上清接种到1:3稀释好的RD细胞上,每天使用倒置显微镜观察一次,当细胞出现明显病变时进行二次传代,二次传代的细胞培养液在-80℃冰箱反复冻融两次后,再经3 000 r/min(离心半径8.4 cm)离心5 min收集上清液,取200 μ L收集的上清液进行核酸提取及荧光PCR检测。

3.3 建库与测序 荧光PCR检测Ct值低于20的样本核酸用于RNA建库。提取的核酸经过Qubit4.0定量后,每份样本吸取10 μ L采用MGISP-100自动建库仪进行建库。建库流程包括RNA片段化、反转录及二链合成、纯化产物进行末端修复并添加dA尾、添加接头和PCR扩增。扩增产物使用dsDNA Assay Kit试剂进行定量检测,浓度应 ≥ 218 ng,采用QIAxcel对扩增产物长度分布情况进行质检。建库产物总投入量为220 ng,按照样本数量及建库产物浓度分别计算每份产物所需体积,按体积混合后进行单链环化处理,环化产物浓度在8.8 ng以上方可进行上机测序操作。

测序:取10 ng环化产物进行DNA纳米球(DNB)制作,DNB浓度在8 ng/ μ L以上合格,大于40 ng/ μ L需稀释。制作好的DNB按照PE100测序试剂盒说明书进行试剂制备,通过MGISEQ-200RS测序仪进行样本加载及上机测序。

3.4 数据分析 测序数据分析:首先将Raw Reads(原始测序数据)中含有接头的、低质量碱基数目比例超过阈值的、带有“N”碱基数目比例超过阈值的reads(数据)去除,统计出Clean Reads(过滤后数据)及其相应的比例,得到Q30值。对于非人样本(此次实验样本为病毒毒株,均为非人体本身样本),将过滤后的数据进行去宿主处理,使用De Bruijn graph算法对质控合格的测序数据进行基因组组装,并且利用测序数据对组装长度进行延伸。将组装后将较长的scaffold(多个reads重叠组装成一个较大的片段,多个较大的片段重叠组装成一个更长的基因片段,称为scaffold)通过<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>进行比对,将比对结果中相似度最高的基因作为参考基因再次进行组装,从而获得全基因序列,将此序列提交至肠道病毒分型网站(<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/enterovirus/>),以确定肠道病毒亚型。

序列分析:从NCBI数据库中下载CVA4原型株及所有其他CVA4毒株全基因序列和VP1段序列,去除同一地区同一年份相似度大于97%的序列后,其余序列与厦门地区的序列采用DNASTAR_Lasergene.v7.1中的MegAlign工具对序列及氨基酸相似性进行分析。通过Mega X软件使用最大似然法(ML)进行分子进化树分析,步长检验为1000,全基因组分析参

数为 GTR+G+I, VP1 段基因分析参数选择 GTR+G。通过 Simplot3.5.1 软件进行基因重组分析,采用 200 bp 滑动窗口,每步为 20 bp(100 bootstrap,邻接法, Kimura 模型)。

结 果

1 全基因组序列分析

经过数据分析及组装,一共获得 11 份样本的全基因序列,编号为 XM001~012,序列长度在 7 434 bp~7 419 bp 之间,CDS(编码区)长度为 6 606 bp,编码 2 200 个氨基酸。从 NCBI(美国国家生物技术信息中心)数据库中共筛选下载全基因序列 65 个,其中 AY421762 为 CVA4 原型株 High point 序列,其余序列主要来自中国,7 个序列来自澳大利亚、美国、泰国及英国。序列来源具体信息见表 1。本次研究获得的 11 份毒株序列核苷酸之间相似性为 91.7%~99.3%,氨基酸序列相似性 98%~100%。与原型株序列相比,核苷酸序列和氨基酸序列相似性分别在 84.3%~84.7%和 97.1%~97.3%之间;与其他地区和国家的序列相比,核苷酸序列和氨基酸序列相似性分别为 80.8%~98.8%和 96.9%~99.6%。

按照肠道病毒的基因构成,将此次获得的 11 株毒株序列的各个基因区段之间进行相互比较,同时与原型株进行比对。11 株毒株在 2A、2B 及 3A 区段核苷酸相似度<90%,其他区段均在 90%以上,氨基酸整体相似度都较高,仅 2A 区氨基酸相似度较低。所有分离株基因所有区段与原型株相比,除 3' UTR 核苷酸序列相似度大于 90%外,其余各区段都低于该值。其中一毒株的 2B 区与原型株相似度最低,仅有 79.8%。各区段比较情况见表 2。

11 株分离株与来自不同地区的全基因组序列经过 Mega X 软件构建系统进化树。结果显示,本次的 11 株毒株序列主要与山东、长沙、江苏、陕西等地区毒株序列同源性较高,其中 XM003、XM004、XM007、XM008、XM014、XM018、XM022、XM023 与山东 2020 年的 ON730850 分离株亲缘关系近, XM005、XM025 及 XM012 分别与山东 2019 年 ON730865 和 ON730866 序列相似度较高(图 1)。

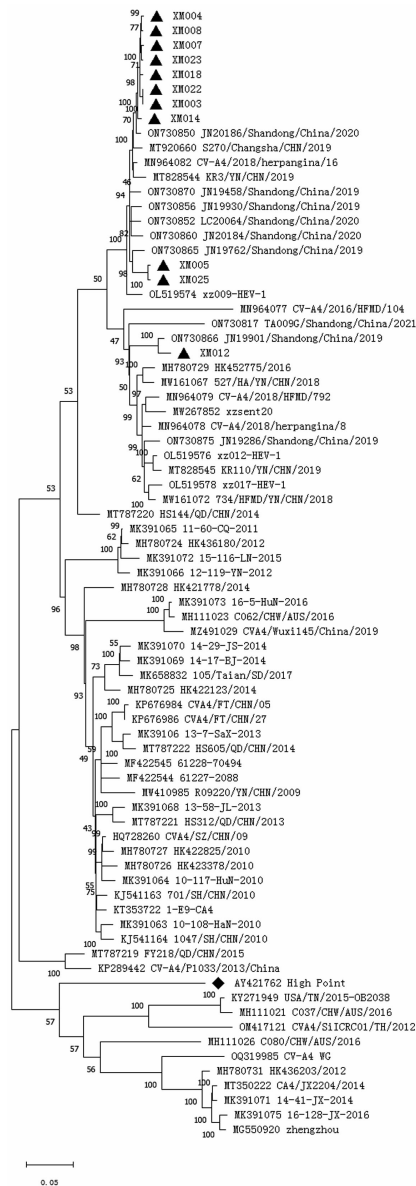
2 病毒 VP1 区遗传进化分析

CVA4 毒株 VP1 区完整序列长度为 915 bp,从 NCBI 数据库下载不同地区 CVA4 毒株 VP1 序列共 65 条,分别来自北京(3 株)、四川(6 株)、重庆(1 株)、贵阳(3 株)、山东(8 株)、云南(9 株)、深圳(2 株)、青海(1 株)、陕西(2)、英国(1 株)、越南(1 株)、美国(2 株),俄罗斯(5 株)、印度(3 株)、日本(1 株)、肯尼亚(1 株),其中包括参考株 High Point、11023 和 JR 毒株序列,

表 1 CVA4 全基因组参考序列来源信息表
Table 1 Information of CVA4 whole genome download from Genbank

Genbank 编号 Genbank number	毒株名称 Stains	年份 Year	来源 Source
AY421762	High_Point	1948	美国
MT350222	CA4/JX2204/2014	2014	中国江西
MK391075	16-128-JX-2016	2016	中国江西
MH780725	HK422123/2014	2014	中国香港
KY271949	USA/TN/2015-OB2038	2015	美国
MG550920	AA	2016	中国郑州
MH111021	C037/CHW/AUS/2016	2016	澳大利亚
MK391071	14-41-JX-2014	2014	中国江西
KP676984	CVA4/FT/CHN/05	2011	中国北京
KP676986	CVA4/FT/CHN/27	2011	中国北京
MH111026	C080/CHW/AUS/2016	2016	澳大利亚
ON730850	JN20186/Shandong/China/2020	2020	中国山东
MN964082	CV-A4/2018/herpangina/16	2018	中国陕西
MT920660	S270/Changsha/CHN/2019	2019	中国长沙
MT828544	KR3/YN/CHN/2019	2019	中国云南
ON730852	LC20064/Shandong/China/2020	2020	中国山东
ON730870	JN19458/Shandong/China/2019	2019	中国山东
ON730856	JN19930/Shandong/China/2019	2019	中国山东
ON730860	JN20184/Shandong/China/2020	2020	中国山东
ON730865	JN19762/Shandong/China/2019	2019	中国山东
MN964078	CV-A4/2018/herpangina/8	2018	中国长沙
MH780729	HK452775/2016	2016	中国香港
ON730875	JN19286/Shandong/China/2019	2019	中国山东
OL519576	xz012-HEV-1	2018	中国江苏
MT787220	HS144/QD/CHN/2014	2014	中国山东
MN964079	CV-A4/2018/HFMD/792	2018	中国陕西
MT828545	KR110/YN/CHN/2019	2019	中国云南
ON730866	JN19901/Shandong/China/2019	2019	中国山东
MH780728	HK421778/2014	2014	中国香港
MK391070	14-29-JS-2014	2014	中国江西
MK391069	14-17-BJ-2014	2014	中国北京
HQ728260	CVA4/SZ/CHN/09	2009	中国深圳
MK658832	105/Taian/SD/2017	2017	中国山东
KJ541163	701/SH/CHN/2010	2010	中国上海
MK391064	10-117-HuN-2010	2010	中国湖南
MK391063	10-108-HaN-2010	2010	中国湖南
MH780727	HK422825/2010	2010	中国香港
MK391068	13-58-JL-2013	2013	中国长春
KJ541164	1047/SH/CHN/2010	2010	中国上海
MH780726	HK423378/2010	2010	中国香港
MT787221	HS312/QD/CHN/2013	2013	中国山东
MK391067	13-7-SaX-2013	2013	中国西安
MK391065	11-60-CQ-2011	2011	中国重庆
MH780724	HK436180/2012	2012	中国香港
MK391066	12-119-YN-2012	2012	中国云南
MW410985	R09220/YN/CHN/2009	2009	中国云南
MK391072	15-116-LN-2015	2015	中国辽宁
MN964077	CV-A4/2016/HFMD/104	2016	中国陕西
MT787219	FY218/QD/CHN/2015	2015	中国山东
KP289442	CV-A4/P1033/2013/China	2013	中国浙江
MK391073	16-5-HuN-2016	2016	中国湖南
KT353722	1-E9-CA4	2008	中国台湾
OL519578	xz017-HEV-1	2018	中国江苏
OL519574	xz009-HEV-1	2018	中国江苏
MW161072	734/HFMD/YN/CHN/2018	2018	中国云南
OM417121	CVA4/SiCRC01/TH/2012	2012	泰国
MH780731	HK436203/2012	2012	中国香港
MW161067	527/HA/YN/CHN/2018	2018	中国云南
MF422545	61228-70494	2008	中国台湾
MF422544	61227-2088	2008	中国台湾
ON730817	TA009G/Shandong/China/2021	2021	中国山东
OQ319985	CV-A4_WG	2020	英国
MH111023	C062/CHW/AUS/2016	2016	澳大利亚
MW267852	xzscent20	2018	中国江苏
MT787222	HS605/QD/CHN/2014	2014	中国山东
MZ491029	CVA4/Wuxi145/China/2019	2019	中国江苏

这些毒株与本此研究的 11 株 VP1 序列作进化树分析。根据 Ji 等^[8]的分型规则,即同一个血清型中核酸序列差异>15%时可作为单独的一个基因亚型,所有毒株序列可分为 4 个基因亚型 A~D,其中原型株为 A 型,来自肯尼亚的 11023 毒株为 B 型,日本的 JR 毒株为 D 型,本次研究毒株及其他来源的毒株序列均为 C 型。C 型毒株又可分为 5 个亚型,其中 C2 亚型毒株数量最多,有 32 株(49.2%,32/65),均来自中国大陆各个地区,厦门地区的 11 株毒株也属于该亚型;C3~C5 亚型大部分毒株来源于其他国家。具体进化树分析结果见图 2。



注:◆表示 CVA4 原型株,▲表示本次研究毒株。

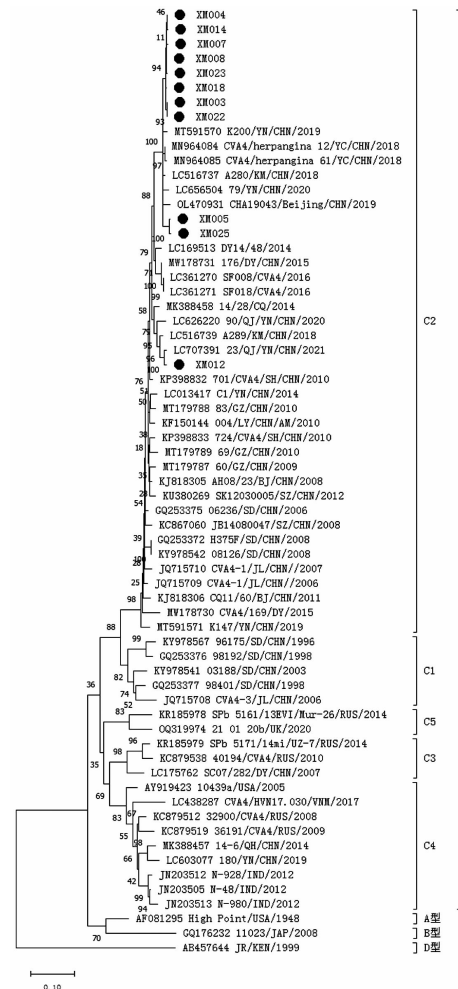
图 1 厦门市 11 株 CVA4 全基因组与参考序列系统进化分析图

Note:◆ Indicates CVA4 prototype strain ▲ Indicates CVA4 strains in this study

Fig. 1 Phylogenetic analysis of 11 CVA4 strains in Xiamen with known strains based on the whole genome

表 2 全基因组序列分段比较结果
Table 2 Comparison result of all regions of whole genome among prototype strain and 11 CAV4 strains

基因段 Region	与 AY421762 相比 High Point		11 株序列之间相比 Among 11 strains	
	核苷酸 相似性 Nucleotide (%)	氨基酸 相似性 Amino acid(%)	核苷酸 相似性 Nucleotide (%)	氨基酸 相似性 Amino acid(%)
5'UTR	85.4~88.1	—	92.8~99.5	—
VP4	85.0~85.5	97.1~98.6	90.8~100	98.6~100
VP2	84.5~85.7	97.7~98.8	90.9~99.6	99.6~99.2
VP3	85.1~86.9	98.3~99.2	91.5~100	98.3~100
VP1	83.6~85.0	97.4~98.0	91.7~100	98.7~100
2A	80.2~81.8	94.7~96.0	83.1~99.8	94.0~100
2B	79.8~82.2	94.9~97.0	89.6~100	96.0~100
2C	84.3~84.9	97.3~97.6	91.9~99.8	98.2~100
3A	83.7~85.3	97.7~98.8	89.1~100	97.7~100
3B	81.8~86.4	86.4~95.5	90.9~100	90.9~100
3C	82.5~84.0	96.7~97.3	91.6~100	98.4~100
3D	84.0~84.8	95.7~96.5	90.1~99.8	96.3~100
3'UTR	92.6~95.1	—	95.1~100	—



注:●表示本次研究毒株。

图 2 厦门市 CAV4 型毒株 VP1 段基因序列系统进化分析图

Note:● Indicates CVA4 strains in this study.

Fig. 2 Phylogenetic analysis of 11 CVA4 strains in Xiamen with known strains based on VP1 gene

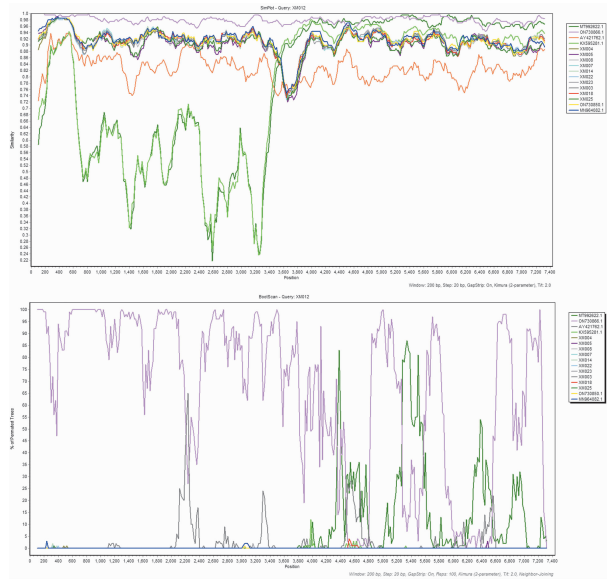


图 3 分离株 XM012 重组分析
Fig. 3 Recombinant analysis between XM012 strain and other strains

3 基因重组分析

将 11 株 CVA4 的分段序列分别通过 Blastn 进行搜索,将相似度高的其他型别序列下载后与本研究毒株序列进行重组分析。结果发现,虽然 XM012 号毒株序列在 2B 与和 3C 段分别与 CAV2 型毒株 KX59528 及 MT992622 序列相似较高(97.6%),但是无明显重组特征,其余毒株各段均与 CAV4 毒株序列相似,亦无明显重组现象,但与之前的重组株 MN964082 相似度高达 98.6%。

讨论

大部分地区的肠道病毒常见血清型为 EV71、CVA16、CVA6 和 CVA10,且在以往的病例分析中, EV71、CVA16 引起的重症患者较多,所以在我国大部分地区手足口病监测项目主要是这两种肠道病毒及其他肠道病毒(非 EV71、CVA16 肠道病毒),有的地区也把 CVA6 和 CVA10 纳入日常的监测工作中。CVA4 属于其他肠道病毒,并未作为单独检测项目列出。但近年来很多地区其他肠道病毒在监测阳性的病例中所占比例呈现上升的趋势,且在一些地区 CVA4 在其他肠道病毒中所占比例较高。广东省其他肠道病毒病原谱分析中,CVA4 在其他肠道病毒阳性的标本中占比 20.33%,仅次于 CVA10^[9];安徽省 2016~2020 年以其他肠道病毒引起的手足口病为主,其他肠道病毒阳性标本中 CVA4 阳性样本数位列第三^[10],福建省 2011~2015 年 CVA4 也占其他肠道病毒构成比的第三位^[11]。CVA4 不仅是在日常监测样本中常有检出,在重症患者中,该血清型在所有肠道病毒型别构成中占比也较高^[12-13],因此建议在以后的监测工作中

把 CVA6、CVA10、CVA4 等其他肠道病毒分型工作纳入其中,及时了解厦门地区肠道病毒病原学特征和流行情况。

VP1 区包含中和抗原决定簇,因此可作为肠道病毒属内不同血清型和基因型分类的主要依据。目前通过局部或完整的 VP1 序列进行血清型分型已经成为肠道病毒分子流行病学研究的主要手段。本次研究通过高通量宏基因组测序方法,不仅可以获得完整的 VP1 序列,还可以通过参考序列组装获得全基因组信息,同时也避免了引物设计不当而造成部分样本扩增、测序失败的问题。本实验室 11 株 CVA4 全基因组序列与从 GeneBank 公共数据库中下载的其他地区的序列相比,发现其与中国大陆的大部分毒株序列在同一个遗传分枝,说明这 11 株毒株与我国流行的 CVA4 型毒株一致。因考虑到公共数据库中可用的全基因组序列数量有限,在实际工作中通过 VP1 测序进行分析的情况更为普遍,故在 VP1 区构建进化树分析时,将 GeneBank 库中其他来源的 VP1 完整序列一同纳入分析。结果表明,本实验室毒株属于 C 基因型中的 C2 亚型,该亚型中的序列都来自中国大陆分离株,这与全基因序列分析一致,也与 Ji 等^[8,14]报道的结果一致。

肠道病毒作为 RNA 病毒,它的进化主要依靠基因突变和重组。由于依赖 RNA 的聚合酶缺乏校对机制,病毒复制过程中容易发生突变从而产生新的亚种,而基因重组不仅可以获得比突变更大的基因比例呈现不同的遗传多样性,而且还具有修复机制及适应环境选择压力的作用^[15]。从 1962 首次对脊髓灰质炎病毒和流感病毒重组事件报道以来,关于肠道病毒重组现象的研究也日益增多^[16]。基因重组让不同基因组的优势特性组合成一个新的基因组,出现耐药,甚至免疫逃避,造成疾病的暴发或持续流行。2008 年安徽阜阳手足口病的暴发事件就是 EV71 的 3D 区与 CVA16 基因组发生重组引起的^[17];山东省曾报道过一起由 CVA4 与 CVA16 的重组体导致的幼儿园手足口病暴发事件^[6];2018 年江苏盐城儿童咽峡炎的流行也是 CVA4 与 CVA2 发生重组引发的^[18]。本次研究毒株 XM012 虽然在各个区段与 EV-A 组的其他血清型没有明显的重组现象,但是其与原型株相似度不到 87%,并且从 2A 区开始与 CVA2 型毒株 KX59528 及 MT992622 序列相似度逐渐升高,最高达 97.6%,推测该型病毒在很大程度上来源于重组株,其在不断流行变异过程中与其他血清型毒株有过重组,只是无法精准溯源到最初的重组供体。除 XM012 外的其他毒株与 CVA4 毒株 MN964082 相似度可高达 98.6%,而 MN964082 本身就是 CVA2 和 CVA6 的重组株。

鉴于病毒分离培养的成功率及测序成本的问题,

全市监测阳性样本未能都获得全基因序列信息,因此进行本次分析的 11 株 CVA4 并不能揭示厦门市 2022 年所有该型病毒的分子生物学特征,故在以后的工作中应继续对其他肠道病毒进行血清分型和基因测序,以期能更好的了解厦门地区肠道病毒的病原谱组成及及时发现重组株,为手足口病的防控预警工作提供数据支撑。

【参考文献】

- [1] Mirand A, Henquell C, Archimbaud C, et al. Outbreak of hand, foot and mouth disease/herpangina associated with coxsackievirus A6 and A10 infections in 2010, France: A large citywide, prospective observational study[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(5): E110-E118.

[2] Saguil A, Kane S, Lauters R, et al. Hand-foot-and-mouth disease: Rapid evidence review[J]. Am Fam Physician, 2019, 100(7): 408-414.

[3] Nayak G, Bhuyan SK, Bhuyan R, et al. Global emergence of enterovirus 71: A systematic review[J]. BeniSuef Univ J Basic Appl Sci, 2022, 11(1): 78.

[4] Wu Y, Yeo A, Phoon MC, et al. The largest outbreak of hand, foot and mouth disease in Singapore in 2008: the role of enterovirus 71 and coxsackievirus A strains[J]. Int J Infect Dis, 2010, 14(12): e1076-1081.

[5] Li JS, Dong XG, Qin M, et al. Outbreak of febrile illness caused by coxsackievirus A4 in a nursery school in Beijing, China[J]. Virol J, 2015, 18(12): 92.

[6] Li J, Ni N, Cui Y, et al. An outbreak of a novel recombinant Coxsackievirus A4 in a kindergarten, Shandong province, China, 2021[J]. Emerg Microbes Infect, 2022, 11(1): 2207-2210.

[7] 董泽丰, 徐智, 慧王笛, 等. 苏州市一起聚集性人感染柯萨奇病毒 A 组 4 型基因特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2023, 27(3): 363-367.

[8] 董泽丰, 徐智, 慧王笛, 等. 苏州市一起聚集性人感染柯萨奇病毒 A 组 4 型基因特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2023, 27(3): 363-367.

[9] 董泽丰, 徐智, 慧王笛, 等. 苏州市一起聚集性人感染柯萨奇病毒 A 组 4 型基因特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2023, 27(3): 363-367.

[10] 董泽丰, 徐智, 慧王笛, 等. 苏州市一起聚集性人感染柯萨奇病毒 A 组 4 型基因特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2023, 27(3): 363-367.

[11] 董泽丰, 徐智, 慧王笛, 等. 苏州市一起聚集性人感染柯萨奇病毒 A 组 4 型基因特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2023, 27(3): 363-367.

[12] 聂陶然. 手足口病重症及死亡病例流行特征及病原谱的研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心. 2020.

[13] 张超, 曾竣, 王晶, 等. 2014-2019 年广西手足口病重症病例流行特征[J]. 医学动物防制, 2022, 38(6): 594-597.

[14] 杨溪, 姜黎黎, 周晓芳, 等. 2018-2021 年云南省手足口病病例柯萨奇病毒 A4 型流行株基因特征[J]. 中国疫苗和免疫, 2022, 28(6): 690-694.

[15] Muslin C, Mac Kain A, Bessaud M, et al. Recombination in enteroviruses, a multi-step modular evolutionary process[J]. Viruses, 2019, 11(9): 859.

[16] Nikolaidis M, Mimouli K, Kyriakopoulou Z, et al. Large-scale genomic analysis reveals recurrent patterns of intertypic recombination in human enteroviruses[J]. Virology, 2019, 526: 72-80.

[17] Zhang Y, Zhu Z, Yang W, et al. An emerging recombinant human enterovirus 71 responsible for the 2008 outbreak of hand foot and mouth disease in Fuyang City of China[J]. Virol J, 2010, 7: 94.

[18] Guo WP, Chen GQ, Xie GC, et al. Mosaic genome of human coxsackievirus A4 associated with herpangina and HFMD in Yancheng, China, 2016 and 2018[J]. Int J Infect Dis, 2020, 96: 538-540.

【收稿日期】 2024-01-17 【修回日期】 2024-04-08

(上接 664 页)

[16] Liu N, Jia L, Yin J, et al. An outbreak of aseptic meningitis caused by a distinct lineage of coxsackievirus B5 in China[J]. Int J Infect Dis, 2014, 23: 101-104.

[17] 王海岩, 李岩, 徐爱强, 等. 柯萨奇 B5 病毒引起山东省一起无菌性脑膜炎暴发的鉴定及其亲缘进化分析[J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31(1): 64-68.

[18] 马红霞, 潘静静, 康锴, 等. 2011 年河南省脑炎患者柯萨奇病毒 B5 型分离株基因组序列分析[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(12): 1213-1215.

[19] 雷延岭, 褚秀芳, 褚丽敏, 等. 2016-2018 河北地区儿童病毒性脑炎流行特征调查[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(12): 1433-1437.

[20] Tan M, Suo J, Zhang Z, et al. Molecular characterization of coxsackievirus B5 from the sputum of pneumonia children patients of Kunming, Southwest China[J]. Virol J, 2023, 20(1): 74.

[21] 姚雪, 谢彬, 韦庆娟, 等. 柯萨奇 A2、A4、A6、A10 和 A12 型病毒的密码子使用偏好性分析[J]. 病毒学报, 2023, 39(1): 75-86.

[22] 许丹蕊, 郭伟, 张名, 等. 一株柯萨奇病毒 B 组 5 型分离株 V1641/YN/CHN/2016 的全基因序列分析[J]. 病毒学报, 2022, 38(3): 573-580.

[23] Oberste MS, Maher K, Kilpatrick DR, et al. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification[J]. J Virol, 1999, 73(3): 1941-1948.

【收稿日期】 2024-01-02 【修回日期】 2024-03-25