

DOI:10.13350/j.cjpb.230801

• 论著 •

云南株埃可病毒 6 型的全基因组序列分析*

陈俊薇^{1,2}, 张名², 刘煜菡², 郭伟², 冯昌增², 马绍辉^{2**}

(1. 云南大学生命科学学院, 云南昆明 650504; 2. 中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室)

【摘要】 目的 对分离自云南省手足口病患者粪便的 8 株埃可病毒 6 型(Echovirus 6, E6)进行全基因组遗传特征分析, 为 E6 基因组的变异和重组研究提供数据参考。 **方法** 分别采用人横纹肌肉瘤细胞(human rhabdomyosarcoma cells, RD)、人胚肺二倍体成纤维细胞(human embryonic lung diploid fibroblasts, KMB17)以及非洲绿猴肾细胞(Vero)对云南省 2019 年从手足口病患者粪便样分离的 8 株 E6 进行增殖培养。提取病毒 RNA, RT-PCR 扩增其 VP1 序列, 并鉴定其血清型。设计针对 E6 的引物, 分段扩增获得全基因组并测序, 使用 Mega 7.0、Geneious 9.1.4 及 Simplot 3.5.1 等软件对其全基因组序列进行分析。 **结果** 8 株 E6 分离株中 RD 细胞分离的病毒 6 株, KMB17 细胞分离的病毒 2 株, Vero 细胞未分离到病毒。8 株 E6 病毒分离株基因组全长为 7 440~7 450 个核苷酸, 编码 2 191 个氨基酸, 8 个分离株之间全基因组核苷酸和氨基酸序列相似性分别为 99.6%~99.8% 和 99.4%~99.9%。VP1 序列分析显示, 8 个 E6 分离株均属于中国流行的优势基因型 F。基于 P1、P2、P3 系统进化与重组分析显示: 在 P1 区, 8 个 E6 分离株与 E6 原型株 D'Amori 聚在一起, 与 VP1 分型结果一致; 在 P2 区, 与柯萨奇病毒 B 组 5 型(Coxsackievirus B5, CVB5)、埃可病毒 16 型(Echovirus 16, E16)以及 2 个中国 E6 毒株聚类在一起; 在 P3 区, 与柯萨奇病毒 A 组 9 型(Coxsackievirus A9, CVA9)、E16 和其他中国 E6 病毒分离株聚类在一起, 表明 8 个 E6 病毒分离株与 EV-B 的其他血清型病毒之间可能发生过重组。 **结论** 8 个云南分离株 E6 病毒均属于中国流行的优势基因型 F, 且与 EV-B 的其他血清型之间可能发生过重组事件。

【关键词】 埃可病毒 6 型; 全基因组序列; 系统进化分析

【中图分类号】 R373.23

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)08-0869-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Aug;18(8):869-874.]

Complete gene sequence analysis of 8 echovirus 6 strain isolates in Yunnan Province, China

CHEN Junwei^{1,2}, ZHANG Ming², LIU Yuhua², GUO Wei², FENG Changzeng², MA Shaohui² (1. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650504, China; 2. Key Laboratory for Research and Development of Major Infectious Diseases Vaccine in Yunnan, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College)***

【Abstract】 Objective In order to provide references for the related research on Ecovirus 6 (E6) genome variation and recombination, the genomic genetic characteristics of 8 E6 strains isolated from the feces of children with hand-foot-mouth disease (HMFD) in Yunnan Province were analyzed. **Methods** Human rhabdomyosarcoma cells (human rhabdomyosarcoma cells, RD), human embryonic lung diploid fibroblasts (human embryonic lung diploid fibroblasts, KMB17) and African green monkey kidney cells (Vero) were used to proliferate and culture 8 strains of E6 isolated from feces of HMFD patients. Viral RNA was extracted from the virus cultures. The partial VP1 sequence was amplified by RT-PCR, and the serotype was identified. The whole genome sequences of the 8 isolates were amplified and sequenced using primers designed for E6. The whole genome sequence was analyzed by Mega Mega 7.0, Geneious 9.1.4 and Simplot 3.5.1. **Results** Eight E6 isolates were obtained, including 6 isolates from RD, 2 isolates from KMB17, and no virus was isolated from Vero. The full-length genomes of the eight E6 isolates were 7440-7450 nucleotides in length, encoding 2191 amino acids. The nucleotide and amino acid sequence similarities of the whole genome among the 8 novel isolates were 99.6%-99.8% and 99.4%-99.9%, respectively. VP1 sequence analysis showed that the 8 E6 isolates belonged to the genotype F. Phylogenetic and recombination analysis based on P1, P2 and P3 showed that in the P1 region, the 8 E6 isolates in this study were clustered with the E6 prototype strain D'Amori, which was consistent with the VP1 typing results. However, they were clustered with Coxsackievirus B5 (CVB5), Echovirus 16 (E16) and two Chinese E6 strains rather than the E6

* **【基金项目】** 云南省重大科技专项计划(No. 202202AA100016)。

** **【通讯作者】** 马绍辉, E-mail: shaohuima70@126.com

【作者简介】 陈俊薇(1998-), 女, 云南人, 硕士研究生, 主要从事肠道病毒应用基础研究。E-mail: cjw15108723360@163.com
陈俊薇和张名为共同第一作者。

prototype strain in the P2 region. Similar to P2, in the P3 region, instead of forming a cluster with the E6 prototype strain, the 8 Yunnan isolates grouped together with Coxsackievirus A9 (CVA9), E16 and other Chinese E6 strains. These results show that there may be recombination between the 8 E6 isolates and other serotypes of EV-B. **Conclusion** Eight E6 isolates in this study belong to genotype F, which is the dominant genotype in China, and recombination events may occur between the eight E6 isolates and other serotype isolates of EV-B.

【Key words】 Echovirus 6; Complete genome sequence; Phylogenetic analysis

肠道病毒(Enterovirus, EV)属于小核糖核酸病毒科肠道病毒属, 主要包括 EVA 至 EVL 和鼻病毒(Rhinovirus, RV) A、B、C 等 15 种^[1]。EV 中囊括 100 多种血清型, 其中埃可病毒 6 型(Echovirus 6, E6)是最常分离到的肠道病毒之一^[2], 与手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)、无菌性脑膜炎、脑炎、心肌炎以及新生儿的严重疾病相关^[3-8]。据报道, 美国 2006-2008 年肠道病毒感染中 E6 占 10.7%, 排第二位^[9], 并常引起无菌性脑膜炎暴发^[10]。近年来, E6 也常在 HFMD 和无菌性脑膜炎的病例中检出^[11]。

本实验对分离自云南省 HFMD 患者粪便的 8 株 E6 病毒并进行全基因组序列分析, 旨在为 E6 的流行和进化等相关研究提供参考数据, 为 E6 引起的无菌性脑膜炎及心肌炎等疾病的防控提供参考。

材料与方 法

1 材料

1.1 病毒株及细胞 8 个 E6 分离株(K23/17K3/YN/CHN/2019、K131/21R3/YN/CHN/2019、K220/10R3/YN/CHN/2019、K129/16R3/YN/CHN/2019、K169/23R3/YN/CHN/2019、K63/7R3/YN/CHN/2019、K220/10K3/YN/CHN/2019 和 K129/16K3/YN/CHN/2019EV), 以及人横纹肌肉瘤细胞(human rhabdomyosarcoma cells, RD)、人胚肺二倍体成纤维细胞(human embryonic lung diploid fibroblasts, KMB17)以及非洲绿猴肾细胞(Vero)由本室保存。

1.2 主要试剂 病毒 RNA 提取试剂盒 Axygen Body Fluid viral DNA/RNA Miniprep Kit 购自美国 Axygen 公司; RT-PCR 扩增试剂盒 PrimeScript™ One step RT-PCR Kit Ver. 2 购自日本 TaKaRa 公司; MEM 基础培养基由中国医学科学院医学生物研究所中心供应室提供; 新生牛血清购自兰州民海生物工程有限公司。

2 方法

2.1 病毒的增殖培养与 RNA 提取 分别使用 RD 细胞、KMB17 细胞以及 Vero 细胞盲传病毒 3 代, 每天观察 EV 典型的致细胞病变效应(CPE)。从出现 CPE 的病毒培养液中取 200 μL, 按照 Axygen Body Fluid viral DNA/RNA Miniprep Kit (Axygen, 美国)

病毒 RNA 提取试剂盒说明书提取病毒 RNA, 使用无 RNA 酶的 TE 重悬, 置于 -80 °C 保存备用。

2.2 序列扩增与血清型鉴定 使用肠道病毒的通用引物 AN88 和 AN89, 采用一步法 RT-PCR 扩增 VP1 序列。扩增条件: 55 °C 30 min, 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 70 s, 共 35 个循环; 72 °C 7 min。扩增产物委托昆明擎科生物科技有限公司测序。使用 NCBI 基因数据库 BLAST 对病毒分离株的血清型进行鉴定。根据 CLI-B1-11-E6 毒株(基因登录号 MT641361)和文献^[12]设计引物, 分段对全基因组各片段进行扩增。全基因组及测序引物序列见表 1。

表 1 E6 全基因组序列扩增和测序引物
Table 1 Primers for whole gene amplification and sequencing of E6

引物名称 Primer	引物序列(5'-3') Sequence(5'-3')	引物位置 Site
AN88	TACTGGACCACTGGNGGNAYRWACAT	2977-2951
E201F	TTAAAACAGCCTGTGGGTTG	1-20
E63R	TCCTGCACACTGGTTATAAC	2829-2810
E93F	CCGTGGAGAACTTCTCTCAG	2636-2654
E98R	ACCGAATGCGGAGAATTTAC	7444-7426
E61r	AGGTAAACAATCGCTCTG	669-652
E61f	CTATAAAGATGCAGCCTC	840-857
E62r	GTATAACTATCCTTGGAC	2288-2271
E64f	GCGTCACCACGTCCCGGA	3257-3274
E64r	TTCTTAAAGTTGACTGG	4933-4917
E610R1ff	TATAGCTATTGGATTGGC	-
E65r	CCACCCAGGTTGAGGAA	5749-5733
E66r	GCAATGAGGTGGCCGTCG	6604-6587
E67f	ACCCAATTGATGCCTCAC	6939-6956

2.3 全基因组序列测定与分析 全基因组测序由昆明擎科生物科技有限公司完成, 使用 DNASTar 7.1 进行全基因组的拼接及组装。利用 Gen Bank 数据库中随机选取的 71 株 E6 毒株与本研究中的 8 个 E6 分离株序列, 使用 Mega 7.0 及 Geneious 9.1.4 软件对其进行同源性分析, 利用 Mega 7.0 软件中的邻近法构建系统进化树对其进行系统发育分析; 使用 Simplot 3.5.1 软件对其进行重组分析。

结 果

1 病毒的增殖培养与血清型鉴定

分别用 3 种细胞对 8 个病毒株进行盲传。其中 RD 细胞出现 CPE 共 6 个病毒株, KMB17 细胞出现 CPE 共 2 个病毒株, Vero 细胞未出现 CPE。对扩增

的 VP1 序列阳性扩增产物进行血清型鉴定,8 株病毒均为 E6。

2 8 株 E6 病毒的全基因组序列分析

8 株 E6 病毒基因组全长 7 440~7 450 核苷酸,编码 2 191 个氨基酸。编码序列的 5'-UTR 为 752~756 nt,3'-UTR 为 106~116 nt。8 株 E6 病毒的总体碱基组成为:腺嘌呤(A)含量占 28.2%~28.3%,鸟嘌呤(G)含量占 24.4%~24.5%,胞嘧啶(C)含量占 24.0%~24.5%,尿嘧啶(U)含量占 23.9%~24.1%。

8 株病毒之间全基因组核苷酸和氨基酸序列相似性分别为 99.6%~99.8%和 99.4%~99.9%。选择 K220/10K3/YN/CHN/2019(K220/10K3)分离株进行进一步分析,其中 K220/10K3 分离株与 E6 原型株 D'Amori 和我国其他 E6 分离株的全基因序列及氨基酸序列的比较见表 2。K220/10K3 与 E6 原型株 D'Amori 及中国其他的 E6 分离株的全基因组序列相似性分别为 79.3%和 82.1%~89.8%,氨基酸序列相似性分别为 95.7%和 93.7%~97.9%。K220/10K3 与 E6 原型株 D'Amori 在 P1、P2、P3 不同基因组区域相似性分别为 76.8%~80.1%、78.1%~81.8%和 77.3%~80.1%,氨基酸相似性分别为 92.8%~97.1%、94.6%~97.9%和 95.2%~96.2%。K220/10K3 与中国其他 E6 分离株 P1、P2、P3 不同基因组区

域相似性分别为 78.6%~96.6%、75.1%~92.6%和 74.2%~90.9%,氨基酸序列相似性分别为 88.9%~100%、89.1%~98.0%和 88.0%~100%(表 3)。

表 2 K220/10K3 分离株与 E6 原型株 D'Amori 和中国其他 E6 病毒分离株的基因组区域核苷酸和氨基酸同源性比较
Table 2 Comparison of nucleotide and amino acid homology between the genomic regions of K220/10K3 isolates and E6 prototype strain D'Amori and other E6 strain isolates in China

基因区域 Genomic region	E6 原型株 Prototype of echovirus 6		中国其他 E6 病毒分离株 Other Chinese echovirus 6 strains	
	核苷酸 同源性(%) Nucleotide Identity	氨基酸 同源性(%) Amino acid identity	核苷酸 同源性(%) Nucleotide Identity	氨基酸 同源性(%) Amino acid identity
5'UTR	84.0		84.1-96.4	
VP4	80.1	94.2	79.1-96.6	97.1-100
VP2	78.7	96.2	78.6-93.6	88.9-99.2
VP3	77.2	97.1	79.8-94.7	94.5-99.2
VP1	76.8	92.8	80.0-94.9	95.9-100
2A	78.5	94.6	80.3-92.5	89.1-97.3
2B	78.1	94.9	75.1-92.6	92.9-98.0
2C	81.8	97.9	80.9-84.6	95.4-97.6
3A	80.1	95.5	80.1-84.6	91.0-97.8
3B	77.3	95.5	74.2-90.9	95.5-100
3C	77.6	96.2	77.8-89.6	88.0-98.4
3D	79.1	95.2	78.6-89.0	95.0-97.2
3'UTR	75.5		72.3-89.3	
genome	79.3	95.7	82.1-89.8	93.7-97.9

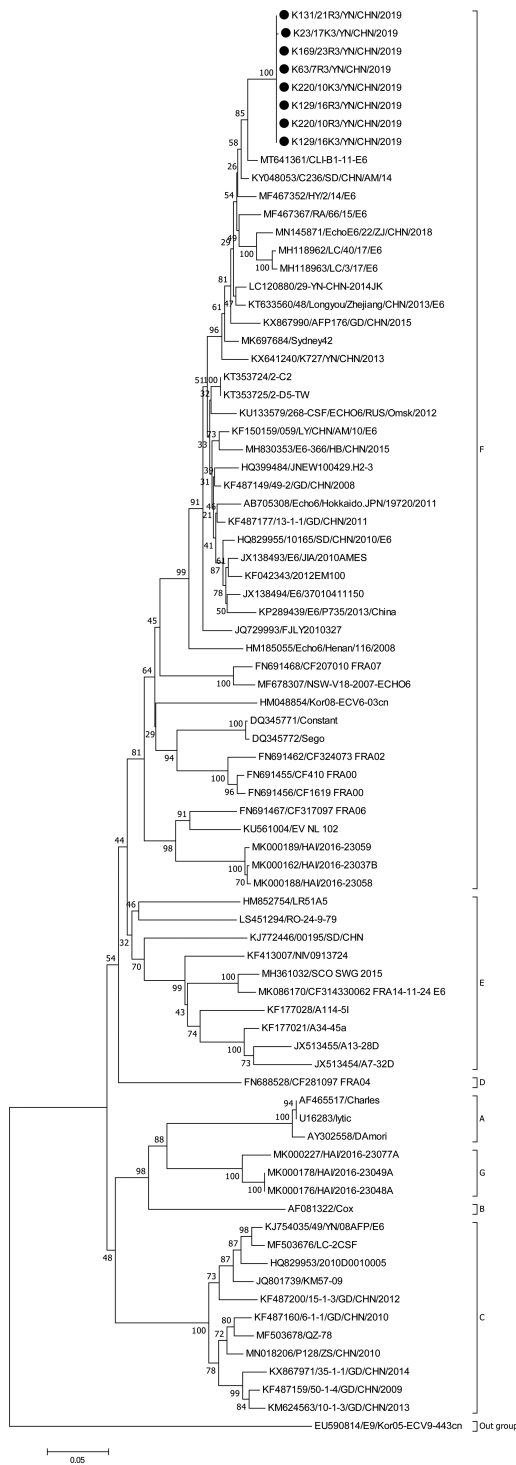
表 3 K220/10K3 分离株其他 EV-B 病毒分离株之间所有不同基因组区域的同源性比较
Table 3 Comparison of homology of all different genomic regions between other EV-B strain isolates of K220 / 10K3 isolates

基因区域 Genomic region	血清型 Type	毒株 Strain	核苷酸同源性(%) Nucleotide identity	基因登录号 GenBank accession number	疾病 Disease
5'UTR	E6	E6/22/ZJ/CHN/2018	96.62	MN145871	acute respiratory infection
VP4	E6	CLI-B1-11-E6	98.07	MT641361	aseptic meningitis
VP2	E6	CLI-B1-11-E6	96.42	MT641361	aseptic meningitis
VP3	E6	CLI-B1-11-E6	97.20	MT641361	aseptic meningitis
VP1	E6	C523/SD/CHN/AM/14	97.35	KY048068	aseptic meningitis
2A	E6	CLI-B1-11-E6	96.44	MT641361	aseptic meningitis
2B	E6	CLI-B1-11-E6	95.29	MT641361	aseptic meningitis
2C	E106	148/YN/CHN/12	85.63	KF990476	acute flaccid paralysis patient
3A	E30	Bastianni	86.42	KY888275	aseptic meningitis
3B	E18	HeB15-54462/HeB/CHN/2015	93.94	MG720260	Hand,foot and mouth disease
3C	CVA9	CVA9_Alberta_2010	91.80	JQ837914	aseptic meningitis
3D	CVB5	P727/2013/China	90.55	KP289438	Hand,foot and mouth disease
3'UTR	E16	E16/P85/2013/China	92.31	KP289436	Hand,foot and mouth disease
P1	E6	CLI-B1-11-E6	97.02	MT641361	aseptic meningitis
P2	E6	E6/22/ZJ/CHN/2018	88.06	MN145871	acute respiratory infection
P3	CVB5	P727/2013/China	89.70	KP289438	Hand,foot and mouth disease

3 系统进化分析

基于本研究分离的 8 株 E6 病毒的全长 VP1 序列与从 GenBank 数据库中随机选取的 71 株 E6 毒株的 VP1 序列构建的系统进化树(图 1)显示,E6 分离株分为 7 个基因型,分别命名为 A~G。其中,根据 EV 基

因型分型标准要求,VP1 之间差异超过 15%为一个新的基因型。中国 E6 分离株多聚类为 3 个基因型,分别是 C、E 和 F 基因型。目前中国流行的优势基因型为 F 基因型,与文献^[13]的研究结果一致。本研究中的 8 个 E6 分离株均属于 F 基因型。



注：“●”表示本研究分离的毒株。

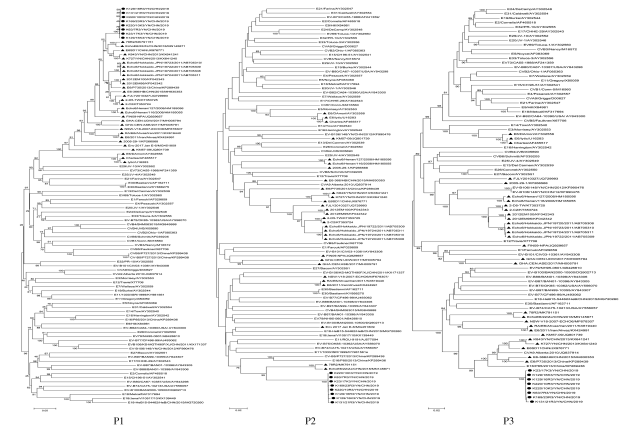
图1 基于GenBank数据库中8株E6病毒和71株E6病毒的VP1基因系统发育树

Note: The symbol “●” indicates the strains isolated in this investigation).

Fig. 1 Phylogenetic tree of eight E6 isolates and 71 E6 strains in GenBank database based on the overall VP1 gene sequence generated by the neighbor-joining algorithm implemented in MEGA version 6.06

基于P1、P2和P3区,将本研究中的8株E6病毒与GenBank数据库中所有EV-B原型株和除本研究8株E6病毒分离株以外的E6毒株进行系统发育分析,结果如图2。在P1区,8个E6分离株与E6原型株

D'Amori聚在一起,与VP1分型结果一致,8个E6分离株属于同一个基因型。在P2区,8个E6分离株未与所有GenBank数据库中可获得的除本研究中的E6分离株以外的E6毒株聚类在一起,而是与柯萨奇病毒B组5型(Coxsackievirus B5, CVB5)分离株P727/2013/China、E16分离株P85/2013/China以及2株中国E6分离株78R2/CHN/China/2018和EchoE6/22/ZJ/CHN/2018聚类在一起。在P3区,8个E6分离株与E6原型株和除本研究中的E6分离株以外的大部分E6分离株不在同一进化分支,而是与CVA9分离株Alberta 2010/JQ837914、E16分离株P85/2013/China/KP289436和其他几株中国E6分离株(E6SD11CHN、K843/YN/CHN/2013、K727/YN/CHN/2013、E6-366/HB/CHN/2015和E6/P735/2013/China)聚类在一起。这些结果表明本研究中的E6病毒分离株与其他EV-B病毒分离株之间可能发生过重组。



注：“●”为本研究分离的E6菌株；“▲”为GenBank数据库中的其他E6菌株。

图2 基于GenBank数据库中现有的8个E6分离株、E6毒株和EV-B原型株的P1、P2、P3与MEGA6中核苷酸序列比对生成的部分EV-B毒株的系统发育关系

Notes: The symbol “●” indicates the E6 strains isolated in this investigation; the symbol “▲” indicates the other E6 strains available in GenBank database.

Fig. 2 Phylogenetic relationship based on the P1, P2, and P3 of eight isolates and E6 strains and EV-B prototype strains available in GenBank database and some EV-B strains generated from nucleotide sequence alignment (the neighbor-joining algorithm) in MEGA 6

4 重组分析

为了验证本研究中的E分离株与其他EV-B病毒分离株之间可能发生的重组情况,利用BLAST对K220/10K3与其他EV-B病毒分离株之间的所有不同基因组区域的同源性进行分析,结果如表3。K220/10K3的P1和P2区与E6分离株CLI-B1-11-E6和E6/22/ZJ/CHN/2018的相似性最高,分别为97.02%和88.06%;K220/10K3的P3区与CVB5分离株P727/2013/China的相似性最高,为89.70%。K220/

10K3 的 5'UTR 至 2B 区与 E6 分离株 E6/22/ZJ/CHN/2018、CLI-B1-11-E6、C523/SD/CHN/AM/14 的相似性最高,为 95.29%~98.07%;2C 至 3'UTR 区与埃可病毒 106 型(E106)分离株 148/YN/CHN/12、埃可病毒 30 型(Echovirus 30, E30)分离株 Bastianni、埃可病毒 18 型(Echovirus 18, E18)分离株 HeB15-54462/HeB/CHN/2015、萨奇病毒 A 组 9 型(Coxsackievirus A9, CVA9)分离株 CVA9_Alberta_2010、CVB5 分离株 P727/2013/China 和 E16 分离株 E16/P85/2013/China 的相似性最高,为 85.63%~93.94%。

K220/10K3 与其他 EV-B 病毒分离株之间的全基因组序列 Simplot 和 Bootscan 分析见图 3。通过相似性分析进一步验证 K220/10K3 可能的多个重组位点,如 E106 分离株 148/YN/CHN/12、E30 分离株 Bastianni、E18 分离株 HeB15-54462/HeB/CHN/2015、CVA9 分离株 CVA9_Alberta_2010、CVB5 分离株 P727/2013/China 和 E16 分离株 E16/P85/2013/China,提示 K220/10K3 分离株在进化过程中可能与其他 EV-B 病毒分离株发生了重组,且重组位点位于非结构编码区。

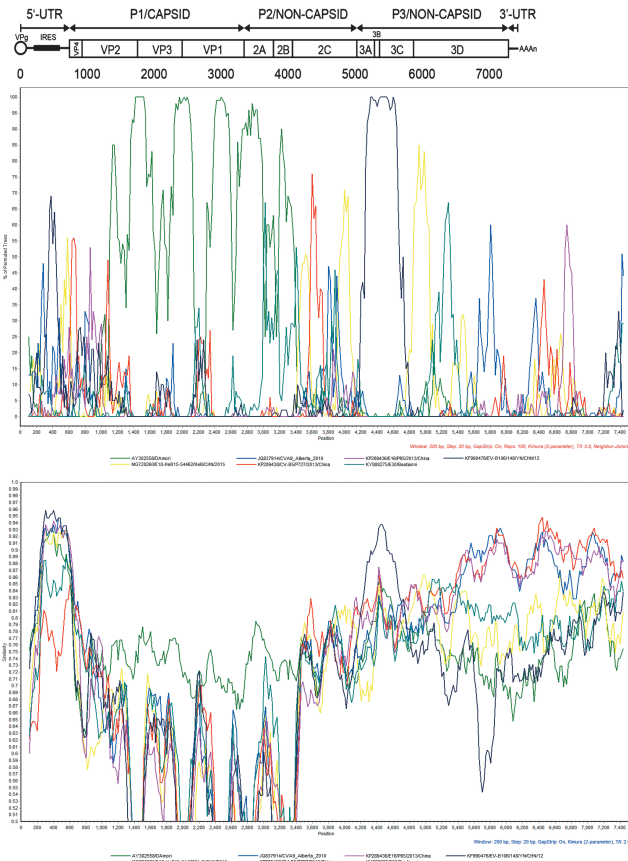


图3 K220/10K3 分离株与其他 EV-B 病毒分离株之间全基因组序列的 Simplot 和 Bootscan 分析

Fig.3 Simplo and Bootscan analyses of the K220/10K3 with other EV-B strain isolates based on whole genome sequence

讨 论

肠道病毒属于 RNA 病毒,与 DNA 病毒相比,由于 RNA 病毒聚合酶缺乏碱基校正的功能而容易发生基因突变,因而存在高进化率,E6 的进化率约为 3.631×10^{-3} /位点/每年,本研究根据基因型划分标准,即 VP1 之间差异超过 15% 为一分支,将 E6 划分为 A、B、C、D、E、F、G 等 7 个基因型。1988 年至今,在我国流行的 E6 毒株主要为 C、E、F 基因型。C 基因型主要在污水中检测到;E 基因型在云南省的西南部地区检测到,但在 2002 年后的监测中未发现 E 基因型。我国自 2007 年首次分离到 F 基因型的 E6 毒株之后,F 基因型持续流行,其地理分布最广,也是最大的分支,是优势基因型^[13]。VP1 是肠道病毒的抗原的主要决定簇,对本研究中的 8 株 E6 病毒分离株的全长 VP1 序列与从 GenBank 数据库中随机选取的 71 株 E6 毒株的 VP1 序列进行系统进化分析,结果显示 8 个 E6 分离株均属于 F 基因型,与目前我国流行的 E6 毒株优势基因型一致,提示目前在我国流行的 E6 毒株优势基因型可能仍为 F 基因型,但是否存在其他基因型 E6 病毒的广泛流行还需要更多的 E6 监测数据作进一步分析。

肠道病毒经常发生重组,特别是 EV-B。基因重组是 EV 进化的主要分子机制之一^[14],而 EV-B 经常发生在非结构蛋白编码区 P2 和 P3 区发生基因重组事件。如 5 个云南 E9 分离株与柯萨奇病毒 B5 和 B4 的 2C 和 3D 区域分别发生了区间重组^[14-15];柯萨奇病毒 B 组 3 型(Coxsackievirus B3, CVB3)毒株在 3D 区与 CVB5 云南株 A210/KM/09 发生重组,在 2C 区与 CVB5 河南株 19CSF 及吉林株 CBV5/CC10/10 都发生了重组^[16];2 个 E30 分离株 YNK35 和 YNA12)与其他 EV-B 病毒如 EV-B86, CV-B3, E-4 和 EV-B106 株在 P2 和 P3 区发生重组^[17]。对本研究中的 8 个 E6 分离株与 GenBank 数据库中的所有 EV-B 的原型株以及除本研究中的 8 个 E6 分离株以外的 E6 分离株的 P1、P2 和 P3 区进行重组分析,结果发现 8 个 E6 分离株的 P1 区在进化过程中相对保守,未发生重组事件。而在 P2、P3 非结构编码区,8 个 E6 分离株与 E106、E30、E18、CVA9 和 CVB5 等毒株高度同源。表明 E6 分离株的重组事件主要发生在非结构编码区,进一步验证 EV-B 经常发生在非结构蛋白编码区发生重组。

自 2008 年以来,HFMD 仍是一种严重的丙型传染病,病例数量仍然居高不下,主要发病人群为 5 岁以下儿童,夏秋两季为发病流行季。肠道病毒是引起 HFMD 的主要病原体,存在 20 多个 EV-A 和 EV-B

血清型共同循环^[18]。而 EV-B 病毒如 E6、E30、E18、CVA9 和 CVB5 等又经常在 HFMD 的散发和流行病例中检出,提示多 EV 血清型共流行可能有助于 EV 的重组^[19]。而 E6、E30 和 CVB5 是引起无菌性脑炎的主要病原体,常引起无菌性脑炎的暴发^[20-24]。伴随着肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)疫苗的上市及使用, HFMD 的病原谱也发生了一定的改变,柯萨奇病毒 A 型 16 型(Coxsackievirus A16, CVA16)、CVA6 已经成为 HFMD 的主要病原体,同时 EV-B 在 HFMD 中的检出率也在逐渐增加^[25],因此需要进一步监测 HFMD 和无菌性脑炎的病原谱变化。

综上所述,本研究将从云南省 HFMD 监测中鉴定出的 8 个 E6 分离株与 GenBank 中的 EV-B 进行了序列比较与分析,使 E6 监测数据得到了更新,可为进一步了解和监测 E6 基因组的变异和重组提供参考,并有助于对 E6 引起的相关疾病的预防和控制。

【参考文献】

- [1] 李春辉,吴安华. 埃可病毒感染特征及医院感染防控要点[J]. 中国感染控制杂志,2019,18(9):882-887.
- [2] 程文隽. 2009-2018 年中国大陆地区埃可病毒 6 型流行病学及基因特征分析[D]. 淮南:安徽理工大学,2021.
- [3] Liu L, Wang L, Qi C, et al. Epidemiological characteristics and spatiotemporal analysis of hand-foot-mouth diseases from 2010 to 2019 in Zibo city, Shandong, China[J]. BMC Public Health, 2021, 21(1):1-10.
- [4] Zhao Y, Zhou D, Ni T, et al. Hand-foot-and-mouth disease virus receptor KREMEN1 binds the canyon of Coxsackie Virus A10 [J]. Nat Commun, 2020, 11(1):38.
- [5] Chuang YY, Huang YC. Enteroviral infection in neonates[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2019, 2(6):851-857.
- [6] 周永明,徐闻,伏晓庆,等. 2013 年云南省元江县健康儿童肠道病毒病原学调查及 E6 病毒 VP1 区 3'端基因特征分析[J]. 中国病毒病杂志,2019,9(5):365-370.
- [7] Brouwer L, Moreni G, Wolthers KC, et al. World-Wide Prevalence and Genotype Distribution of Enteroviruses. Viruses. 2021 Mar 8;13(3):434.
- [8] Gambaro F, Perez AB, Aguera E, et al. Genomic surveillance of enterovirus associated with aseptic meningitis cases in southern Spain, 2015-2018[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):21523.
- [9] Center for Disease Control and Prevention. Nonpolio enterovirus and human parechovirus surveillance-United States, 2006-2008 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2010, 59(48):1577-1580.
- [10] 曹良玉. 一起由埃可病毒 6 型引起的病毒性脑炎流行的调查 [J]. 现代预防医学, 2007, 34(23):4487-4489.
- [11] Ji T, Guo Y, Lv L, et al. Emerging sub-genotype C2 of coxsackievirus A10 associated with Hand, Foot and Mouth Disease extensively circulating in mainland of China[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):13357.
- [12] 冯昌增,刘昕蓓,张名,等. 云南省 3 株柯萨奇 A 组 16 型病毒全基因组序列分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(2):149-153, 158.
- [13] Cheng W, Ji T, Zhou S, et al. Molecular epidemiological characteristics of echovirus 6 in mainland China: extensive circulation of genotype F from 2007 to 2018[J]. Arch Virol, 2021, 166(5):1305-1312.
- [14] 谭昭麟,吕莉琨,李力,等. 天津市致病性脑炎柯萨奇病毒 B 组 5 型全基因组序列分析[J]. 病毒学报, 2021, 37(1):97-105.
- [15] Abbasi S, Makvandi M, Teimoori A, et al. Complete genome sequence of a multi-recombinant echovirus 6 strain isolated from CSF in Ahvaz, Southwestern Iran[J]. J Chin Med Assoc, 2018, 81(4):340-347.
- [16] 魏雷雷,王乔,吴东林,等. 2015~2017 年吉林省柯萨奇病毒 A 组 16 型基因特征分析[J]. 中国生物制品学杂志, 2020, 33(5):535-539.
- [17] Zhang J, Liu H, Zhao Y, et al. Identification of a new recombinant strain of echovirus 33 from children with hand, foot, and mouth disease complicated by meningitis in Yunnan, China[J]. Virol J, 2019, 16(1):63.
- [18] Zhou YH, Tan LV, Luo KW, et al. Genetic variation of multiple serotypes of enteroviruses associated with Hand, Foot and Mouth Disease in Southern China[J]. Virologica Sinica, 2021, 36(1):61-74.
- [19] Zhang M, Guo W, Xu D, et al. Molecular characterization of echovirus 9 strains isolated from hand-foot-and-mouth disease in Kunming, Yunnan Province, China[J]. Sci Rep, 2022, 12(1):2293.
- [20] Farshadpour F, Taherkhani R. Molecular epidemiology of enteroviruses and predominance of echovirus 30 in an Iranian population with aseptic meningitis[J]. J Neurovirol, 2021, 27(3):444-451.
- [21] Xu W, Li H, Zhang Y. Temporal phylogeny and molecular characterization of echovirus 30 associated with aseptic meningitis outbreaks in China[J]. Virol J, 2021, 18(1):118.
- [22] Yamaguchi H, Maruo Y, Nakanishi M, et al. Genetic characterization of a novel recombinant echovirus 30 strain causing a regional epidemic of aseptic meningitis in Hokkaido, Japan, 2017 [J]. Arch Virol, 2020, 165(2):433-438.
- [23] Ramalho E, Sousa I Jr, Burlandy F, et al. Identification and phylogenetic characterization of human enteroviruses isolated from cases of aseptic meningitis in Brazil, 2013-2017 [J]. Viruses, 2019, 11(8):690.
- [24] Machado RS, Gomes-Neto F, Aguiar-Oliveira ML, et al. Analysis of coxsackievirus B5 infections in the central nervous system in Brazil: Insights into molecular epidemiology and genetic diversity[J]. Viruses, 2022, 14(5):899.
- [25] Liu Y, Chen J, Zhang M, et al. Coxsackievirus B; The important agent of hand, foot, and mouth disease[J]. J Med Virol. 2023, 95(3):e28669.

【收稿日期】 2023-03-17 【修回日期】 2023-06-01