

· 实验室研究 ·

云南省2009年埃可病毒6型分离株KM57-09全基因组序列分析

朱艳莉 潘玥 陈俊英 马忠飞 邓新强 刘建生 马绍辉

【摘要】 目的 对云南埃可病毒6型(Echo6)分离株KM57-09全基因组序列进行分析和研究,了解其遗传特性。**方法** 设计针对Echo6引物,提取病毒RNA,RT-PCR扩增和产物直接测序获得序列。利用Mega 5.05、RDP 3和SimPlot 3.5.1等生物学软件分析全基因组序列。**结果** 获得KM57-09全基因组核苷酸序列长度为7419 bp,编码含2191个氨基酸残基的多聚蛋白;与其他Echo6参考株核苷酸和氨基酸同源性分别为79.3%~80.2%和93.3%~94.4%,与原型株D'Amor核苷酸和氨基酸同源性分别为79.3%和93.6%。在基因组各个区段上,Echo6 KM57-09分离株的2C和3A区,与HN-2-E25核苷酸同源性最高,分别为86.3%和85.0%,而其5'UTR、VP4、3D和3'UTR区则与CoxB5-Henan-2010核苷酸同源性最高,分别为91.7%、81.2%、89.7%和96.9%。在VP1区上,与中国其他省份分离株的核苷酸和氨基酸同源性分别为80.0%~96.0%和95.8%~99.0%,而与其他国家分离株的核苷酸和氨基酸同源性分别为77.6%~96.0%和95.2%~99.0%。进化分析发现Echo6可分为5个分支,中国分离株分属C和E分支,其中KM57-09属于E分支,且5个分支之间核苷酸的差异为15.6%~23.3%。3D基因序列种系进化分析以及RDP 3和SimPlot 3.5.1软件分析发现KM57-09序列在非结构区可能存在重组。**结论** Echo6可分为5个基因型,KM57-09分离株属于E基因型;中国大陆曾存在不同Echo6株传播链的流行。

【关键词】 埃可病毒6型;全基因组;序列分析

Complete nucleotide sequence of a human echovirus 6 strain KM57-09 isolated in Yunnan, China, in 2009 ZHU Yan-ju, PAN Yue, CHEN Jun-ying, MA Zhong-fei, DENG Xin-qiang, LIU Jian-sheng, MA Shao-hui. Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research and Development on Severe Infectious Disease, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Kunming 650118, China
Corresponding authors: MA Shao-hui, Email: shaohuima70@hotmail.com; LIU Jian-sheng, Email: ljsh3300@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the genetic characterization of the complete genome from a human echovirus 6 (Echo6) strain KM57-09 isolated in Yunnan, China, in 2009. **Methods** Using the RT-PCR, eight fragments containing about 1000 nucleotides which covered the whole viral genome were sequenced. The sequences were aligned with other reference enterovirus sequences downloaded from the GenBank, using Mega 5.05, RDP 3 and SimPlot 3.5.1 softwares. **Results** Similar to the other human enterovirus, KM57-09 isolate genome appeared to have 7419 nucleotides in length, encoding for 2191 amino acids. In the complete genome, the rates of homology on nucleotide and amino acid among the seven Echo6 isolates were 79.3%~80.2% and 93.3%~94.4%, respectively as well as 79.3% and 93.6% of the rates of homology when compared with that of D'Amor prototype strain. In different segment of genome. The 2C-3A genome region was most similar to the HN-2-E25 strain, the 5'UTR, VP4, 3D and 3'UTR genome region were most similar to the CoxB5-Henan-2010. In the VP1 gene, the rates of homology on nucleotide and amino acid among the China isolates were 80.0%~96.0% and 95.8%~99.0%, respectively, and showed 77.6%~96.0% and 95.2%~99.0% of the rates on homology when compared to the other Echo6 reference strains isolated from other countries or areas, respectively. Results from phylogenetic analysis showed that the Echo6 formed five distinct groups, A-E. The KM57-09 strain belonged to clade E. The nucleotide divergence between clades was 15.6%~23.3%. The putative recombinant event for KM57-09 was detected with RDP 3, SimPlot 3.5.1 and 3D sequence phylogenetic analysis. **Conclusion** All the Echo6 isolates could be divided into five clades, the KM57-09 strain belonged to Clade E. The Echo6 strains isolated in China

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.09.017

收稿日期: 650118 昆明, 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
通信作者: 马绍辉, Email: shaohuima70@hotmail.com; 刘建生, Email: ljsh3300@163.com

were contributed to several different chains of transmission.

[Key words] Echovirus 6; Complete genome; Sequence analysis

埃可病毒 6(Echo6)属于肠道病毒 B 群,其感染常与散发或爆发性病毒性脑炎有关^[1]。在美国或欧洲,Echo6 是肠道病毒最常见的血清型之一^[2,3]。我国尚无系统的调查统计资料,但由 Echo6 引起的无菌性脑膜炎近年有增加趋势^[4-6]。

Echo6 与其他肠道病毒一样,为单股正链 RNA 病毒,其基因组含一个开放的读码框架(ORF),该 ORF 依次分为 P1、P2 和 P3 三个区,其中 P1 区编码病毒的结构蛋白 VP1~VP4,组成病毒衣壳,而 P2 和 P3 区分别编码非结构蛋白 2A、2B、2C 和 3A、3B、3C、3D。目前根据 VP1 核苷酸序列的差异将 Echo6 病毒分为 A、B、C 三个基因型,而 C 又进一步分为 C1~C4 亚型^[1,6]。肠道病毒 B 群流行株存在重组现象^[7,8]。因而,对 Echo6 云南分离株 KM57-09 全基因组测序并与从 GenBank 中获得中国其他省份或其他国家及地区的 Echo6 株全基因序列进行比较和分析,有利于进一步研究我国 Echo6 毒株的遗传特性以及为我国无菌性脑炎的预防和控制提供实验室资料。

材料与方法

1. 标本来源与病毒分离:脑脊液标本采集于 2009 年昆明市儿童医院无菌性脑炎患儿,-70℃保存。采用组织培养法,将 100 μl 脑脊液接种已长成致密单层的 Hep-2 细胞和 RD 细胞,细胞培养严格按 WHO 分离肠道病毒规程操作,于 37℃培养,培养液为含 10% 小牛血清的 MEM。观察病毒在细胞上的细胞病变情况(CPE),如果无 CPE,盲传 3 代;3 代后无 CPE 出现,判为阴性。

2. 病毒的提取:根据 RNA 提取试剂盒:Axxygen Body Fluid viral DNA/RNA Miniprep Kit 的操作说明提取 RNA。用 60 μl 无 RNA 酶的纯水重悬。保存于 -80℃。

3. 引物设计:根据 Echo6-Henan-127-2008(基因登录号 HM185055)设计引物见表 1。

4. RT-PCR:采用 TaKaRa 公司生产的 One-step RNA PCR Kit (AMV)试剂盒。分 8 段分别扩增,2×reaction buffer 25 μl,RT-PCR MIX 1 μl,引物 F 20 pmol,引物 R 20 pmol,RNA 10 μl 加水至 50 μl,混匀离心后 50℃反转录 40 min,按 94℃ 5 min,94℃ 0.5 min,50℃ 0.5 min,72℃ 1 min,30 个循环;72℃延伸 10 min。取扩增产物 5 μl,用 1.0%琼脂糖

表 1 Echo6 全基因组扩增和测序引物

引物	序列(5'→3')	位置
E6-1F	TTAAACACAGGCCTGTGGGT	1~20
E6-1R	CCGTACCCACACGACGAT	1034~1015
E6-2F	GTGAAAGACATAATGGTGAA	889~908
E6-2R	GTGCCATTGCCGACCCACA	2090~2071
E6-3F	GGGCAGACACGGTGTATGGA	1979~1997
E6-3R	AGTGCACACCCATCATATA	3049~3033
E6-4F	GCATACAGCAACTTTTATGA	2998~3014
E6-4R	ACTTTCAACATTCTATGAA	4158~4139
E6-5F	TCATGACCATGGCGTTGGCT	3968~3987
E6-5R	GTTGCACCCACACTGTGTC	5006~4988
E6-6F	AATGGCAAAATCAACATGCC	4807~4826
E6-6R	TCATGGTCTGTGCTGATG	6174~6193
E6-7F	ACAAGGAGCCAGCAAGTTTG	6017~6036
E6-7R	AGAGGAGGAATGCCATCTGG	6757~6776
E6-8F	CCATACACAGATAAACCAT	6559~6578
E6-8R	CCGCACCGAATGCGGAGAT	7418~7419

电泳,根据 Marker 位置对扩增片段进行确认。

5. 序列测定和数据分析:扩增阳性 PCR 产物由北京三博生物技术有限公司进行纯化和序列测定(每个样品测 3 次)。其他 Echo6 的全基因序列和 VP1 序列从 NCBI 的基因数据库(GenBank)上下载,通过 Mega 5.05 软件对测序结果进行系统进化分析处理以及采用 RDP 3 和 SimPlot 3.5.1 软件对序列进行重组分析^[9]。

本研究所用参考序列的基因登录号:全基因组: D' Amori (AY302558), Echo6-Henan-116-2008 (HM185055), Echo6-Henan-127-2008 (HM185056), EV6-10887-99 (AY896760), EV6-14103-00 (AY896761), lytic (U16283), Charles (AF465517), CoxB5-Henan-2010 (HQ998851), JV-10-E29 (AY302552), HN-2-E25 (HM031191)。

VP1 基因: LR61G3 (HM852755), LR51A5 (HM852754), 07.075.3753 (GU232805), 92767.91 (FJ868317), C4901.JUN2001 (HQ674734), CF295028FRA02 (FN688524), CF317097FRA06 (FN688530), E6-6576-BLR-2007 (GQ352385), E626332KomsAm06 (EF397652), Kor08-ECV6-11cn (HM048863), Kor99-ECV6-286bs (HM048864), S125.09.DZA2002 (HQ674733), 10171C2-SD-CHN-2010-E6 (HQ829956), 10180-SD-CHN-2010-E6 (HQ829959), Anhui05-21 (FJ542033), Anhui05-30 (FJ542035), 2010D0010005 (HQ829953), JNEW1009137 (HQ829950), JNEW10081129 (HQ399487), 06415-SD-CHN-2006-E6 (GQ329780), 01229-SD-CHN-2001-E6 (HQ399493)。

结 果

1. 病毒分离及其 RT-PCR 产物测定: 将 22 份无菌性脑膜炎患儿的脑脊液分别接种 RD 和 Hep-2 细胞后, 获得一个阳性分离物, 收集上清, 并保存在 -70 ℃。阳性培养物上清采用肠道病毒通用引物做 RT-PCR 扩增, PCR 产物进行序列的测定, 用 BLAST 检索比对, 以证实该分离株为 Echo6 型^[10]。采用特异性引物做一步法 RT-PCR, 产物取 5 μl 1% 琼脂糖胶电泳后大小与所设计一样。将扩增出的特异性核酸片段测序, 通过将 8 段序列拼接成一个完整序列。结果与 Echo6 原型株 (D' Amori) 序列同源为 79.3%。

2. 全基因组序列测定及分析: 经过测序、序列拼接和分析, 获得 KM57-09 的全基因组核苷酸序列长度为 7419 bp, 其中 5' 端非编码区 (5' UTR) 长 742 bp, 病毒基因组编码区全长 6576 个核苷酸, 编码含 2191 个氨基酸残基的多聚蛋白; 3' 端非编码区末端长 96 bp。KM57-09 基因组的组成和结构符合肠道病毒特征。KM57-09 整个基因组的核苷酸和氨基酸同源性与 Echo6-Henan-116-2008 最为同源, 分别为 80.7% 和 94.5%; 而与其他 Echo6 株如 lytic, D' Amori, Echo6-Henan-127-2008, EV6-10887-99, EV-14103-00, Charles 核苷酸和氨基酸同源性分别为 79.3% ~ 80.4% 和 93.3% ~ 94.5%; 与 Cocksackievirus (Cox) B5 株 CoxB5-Henan-2010, Echo25 株 HN-2-E25 和 Echo29 毒株 JV-10-E29 的核苷酸和氨基酸同源性分别为 76.9% ~ 78.6% 和 85.7% ~ 88.4%。Echo6 分离株 KM57-09 的基因组序列已提交至 GenBank, 基因登记号为 JQ801739。

3. 核苷酸和氨基酸序列同源性比较: 将 KM57-09 与 GenBank 中其他 Echo6 株 lytic, D' Amori, Echo6-Henan-127-2008 和 Charles 全基因组序列的各个区段分别加以比较, 同时选择了 CoxB5-

Henan-2010 株、HN-2-E25 株和 JV-10-E29 株作为外源参照, 结果 (表 2) 发现 KM57-09 与其他 Echo6 毒株的各区域核苷酸和氨基酸同源性分别为 75.1% ~ 86.2% 和 88.5% ~ 100.0%, 而与外源参考株的核苷酸和氨基酸的同源性分别为 63.3% ~ 91.7% 和 65.4% ~ 100.0%。在基因组各个区段上, KM57-09 分离株的 2C 和 3A 区与 HN-2-E25 株核苷酸同源性最高, 分别为 86.3% 和 85.0%, 而其 5' UTR、VP4、3D 和 3' UTR 区则与 CoxB5-Henan-2010 核苷酸同源性最高, 分别为 91.7%、81.2%、89.7% 和 96.9%。

通过对 KM57-09 和 30 株 Echo6 参考株全长 VP1 基因的 867 个核苷酸和 289 个氨基酸分析结果显示, 与中国其他省份的核苷酸和氨基酸同源性分别为 80.0% ~ 96.0% 和 95.8% ~ 99.0%, 其中与山东分离株 2010D0010005 最高, 而与安徽分离株 Anhui05-30 最低; 与其他国家分离株的核苷酸和氨基酸同源性分别为 77.6% ~ 96.0% 和 95.2% ~ 99.0%。

Echo6 可凝集人 O 型红细胞。其 VP1、VP2 和 VP3 上的 5 个氨基酸对其血凝素的结合能力有关即 Vp1: E88、V139 和 V157; VP2: T163 和 VP3: V62^[11]。而 KM57-09 株只有 V157 (VP1) 和 V62 (VP3) 与之相符合, K88 (VP1) 为非血凝素的 E6 特有, 其他位点 S163 (VP2) 和 T139 (VP1) 均与二者不符。说明与其血凝素能力有关的位点有待进一步研究。

4. 种系进化分析: 利用 Mega 5.05 软件对 KM57-09 和 GenBank 中的其他 Echo6 株以及以 CoxB5-Henan-2010 株、HN-2-E25 株和 JV-10-E29 株作为外源参照选用 Neighbor-joining 方法分别基于全基因组和 VP1 序列进行种系进化分析。由图 1、2 可见基于 VP1 和全基因组序列进行的种系进化分析结果基本相似。而图 2 显示, 目前 Echo6 可形成 5 个进化分支, 其中 KM57-09 与 2010D0010005 和 6415-SD-CHN-2006-E6 等中国分离株的关系较近,

表 2 Echo6 型分离株 KM57-09 与其他分离株的核苷酸 (氨基酸) 同源性比较

病毒株	合计	基 因 组												
		5'UTR	VP4	VP3	VP2	VP1	2A	2B	2C	3A	3B	3C	3D	3'UTR
D'Amori-E6	79.3 (93.6)	86.4 (95.7)	77.3 (94.5)	79.0 (94.5)	75.9 (88.5)	77.2 (94.5)	76.7 (96.0)	79.5 (92.9)	82.0 (98.2)	79.0 (97.8)	83.3 (95.7)	77.0 (91.8)	78.5 (91.1)	86.6
Echo6-Henan-127-2008	80.2 (94.4)	86.3 (98.6)	78.3 (95.8)	79.1 (95.8)	78.8 (89.7)	80.8 (97.3)	86.2 (97.3)	80.5 (91.9)	81.0 (98.2)	79.0 (97.8)	80.3 (95.7)	76.3 (91.3)	77.9 (91.8)	86.6
lytic-E6	79.3 (93.3)	86.5 (94.2)	75.8 (93.7)	79.4 (93.7)	76.0 (88.9)	76.8 (95.2)	75.1 (94.7)	78.4 (92.9)	81.3 (97.3)	79.4 (97.8)	78.3 (100)	77.0 (91.3)	78.4 (90.9)	85.6
Charles-E6	79.3 (93.5)	86.7 (94.2)	75.8 (94.5)	79.7 (94.5)	76.1 (88.9)	77.6 (95.2)	76.7 (95.3)	79.1 (92.9)	81.4 (97.3)	79.4 (97.8)	81.8 (100)	77.0 (91.3)	78.3 (90.9)	84.5
CoxB5-Henan-2010	78.6 (85.7)	91.7 (94.2)	81.2 (94.2)	68.4 (72.3)	68.2 (75.5)	63.3 (65.4)	77.6 (93.3)	80.5 (93.9)	80.4 (97.0)	79.0 (97.8)	72.7 (91.8)	79.4 (90.2)	89.7 (92.2)	96.9
HN-2-E25	77.5 (86.2)	88.1 (87.0)	72.0 (76.1)	70.7 (76.1)	66.1 (73.9)	66.1 (70.8)	79.3 (96.0)	77.8 (93.9)	86.3 (97.9)	85.0 (95.6)	81.8 (100)	80.3 (90.2)	78.5 (91.4)	86.6
JV-10-E29	76.9 (88.4)	85.6 (91.3)	79.2 (81.1)	74.9 (79.7)	70.8 (75.3)	68.2 (75.3)	78.9 (94.7)	78.8 (94.9)	81.5 (97.0)	78.3 (95.6)	80.3 (100)	74.7 (91.3)	77.9 (92.0)	81.4

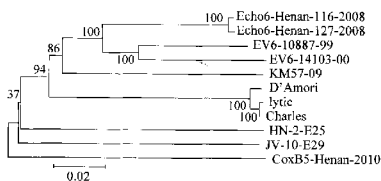


图1 Echo6全基因组核苷酸序列的种系进化分析

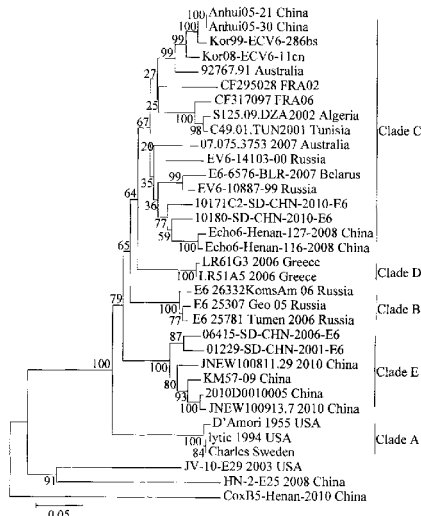


图2 Echo6 VP1 核苷酸序列的种系进化分析

属于进化树上的一个分支;中国分离株 Anhui05-21 和 Echo6-Henan-116-2008 等又属于另一分支;与 lytic、D'Amori 和 Charles 相对较近,后者构成另一个相对独立的分支;对于 CoxB5-Henan-2010 株、HN-2-E25 株和 JV-10-E29 株就更远,是进化树上另一分支。这说明不同国家或地区包括我国不同省份分离出的 Echo6 可属于进化树上不同分支。提示不同国家或地区分离株之间亲缘关系存在明显的距离。而基于 3D 基因序列种系进化分析发现, Echo6 分属进化树上的两大分支, HN-2-E25 与 Echo6-Henan-116-2008 和 Echo6-Henan-127-2008 为一支; KM57-09 与 CoxB5-Henan-2010 为另一个独立分支。说明 KM57-09 与 CoxB5-Henan-2010、HN-2-E25 与 Echo6-Henan-116-2008、Echo6-Henan-127-2008 分别在 3D 基因上的关系相近。

5. 基因型: 通过对 31 株 Echo6 的全长 VP1 基

因序列系统进化分析,发现 31 株可形成 5 个分支(图2),且对其相互之间核苷酸和氨基酸同源性比对分析(表3),发现这 5 个分支相互之间核苷酸的差异在 15.6%~23.3%,每个分支内除 C 分支中 Echo6-Henan-127-2008 与 Anhui05-21、Anhui05-30 和 Kor99-ECV6-286bs 的差异大于 15.0% (15.2~15.3)% 外,其他均在 2.9%~14.9%;氨基酸的差异在 1.4%~7.3%。按照肠道病毒不同基因型之间 VP1 基因差异大于 15.0%,即可分为不同的基因型,因此可将目前 Echo6 分为 5 个基因型。

表3 Echo6 各基因型之间 VP1 区核苷酸和氨基酸序列同源性分析(%)

基因型	A	B	C	D	E
A	77.0	77.4	77.3	79.6	77.4
B	92.7	94.5	82.6	83.3	84.1
C	92.7	93.4	96.2	98.6	82.2
D	93.8	94.5	98.3	98.6	97.2
E	95.2	95.5	94.8	97.2	94.8

注: 黑体数据为核苷酸同源性,其他数据为氨基酸同源性

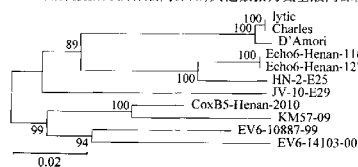


图3 Echo6 3D 核苷酸序列的种系进化分析

6. 重组分析: 利用 RDP3 重组软件对 8 株 Echo6 全基因组和其他 3 种肠道病毒血清型 (CoxB5、Echo25 和 Echo29) 进行重组分析, 结果发现 RDP、BootsCan、MaxChi、Chimaera、SiScan 和 3Seq 分别检测出 KM57-09 重组, 开始断裂点在 5647, 结束断裂点为 901 (BootsCan 法, $P=9.08 \times 10^{-35}$), 亲本序列为 Echo6-Henan-127-2008 和 CoxB5-Henan-2010。但是未发现 HN-2-E25 与 Echo6-Henan-116-2008、Echo6-Henan-127-2008 存在重组信号。

为进一步证实重组, 利用 SimPlot 3.5.1 软件进行相似性分析发现, 在 250~3750 区段, 与 CoxB5-Henan-2010 显示出约 95% 的相似性; 在 4250~5000 区段则与 HN-2-E25 有约 85% 的相似性; 在 5750~7250 区段, 与 CoxB5-Henan-2010 显示出约 80% 的相似性。

讨论

Echo6 VP1 的替代率为每年每位点 $(8.597 \sim 7.047) \times 10^{-3}$ [12,13]。Echo6 根据 VP1 基因分为 A、B、C 三个基因型, 而 C 又进一步分为 C1~C4 亚型。根据 EV71 基因型划分标准, VP1 基因型之间的差异一般

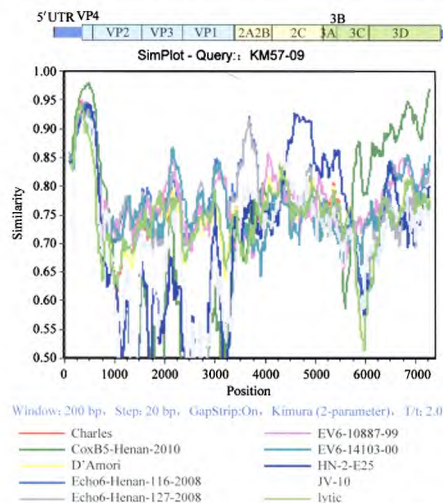


图4 肠道病毒B群全基因组的相似性

为 15%~20%^[14]。本研究对 VP1 进行种系进化和核苷酸差异分析发现 Echo6 可簇集为 5 个分支,其相互之间核苷酸的差异大于 15.0%,而不是以前文献所划分的 3 个分支。因而推测可能由于当时可用的基因序列有限,只将 Echo6 划为 A、B、C 三个基因型,随着可用的 Echo6 基因序列增加,目前可分为 A、B、C、D 和 E 五个基因型或簇。

通过对 Echo6 全基因组的核苷酸和氨基酸同源性比较,发现 KM57-09 株与其他 Echo6 株和其他 3 种肠道病毒血清型的各区段的核苷酸及氨基酸同源性普遍不高,结构区和非结构区的同源性均未超过 87.0%,但是可以看出相同血清型的结构区同源性高,特别是亚型;不同地区或不同时间分离的病毒株其核苷酸和氨基酸也不同,提示不同地域或时间分离的病毒株存在差异^[15]。本研究表明,中国大陆 Echo6 分离株分属不同分支,而其核苷酸和氨基酸之间存在一定差异,提示在中国大陆可能有多个不同 Echo6 株传播链的流行。

肠道病毒普遍存在重组现象,对所有肠道病毒 B 群病毒的全基因组序列分析表明 RNA 病毒重组是一种正常的进化事件,而重组常发生在基因组的非结构区域^[7,8]。肠道病毒 B 群流行株之间同样存在自然重组现象。通过非结构区域的 3D 基因监测

可能的重组事件^[14]。通过对以 Echo6 3D 基因所构建的进化树和序列比对分析发现:KM57-09 与 CoxB5-Henan-2010 基因型的亲缘关系较近,可能存在重组;其 5' UTR、VP4、3D 和 3' UTR 核苷酸和氨基酸同源性也高于其他 Echo6。进一步通过 RDP3 重组软件和 SimPlot 3.5.1 软件分析,初步认为 KM57-09 株有重组的可能,但局限于目前可用的全基因较少,该推测尚需进一步的验证。

鉴于目前 GenBank 上 Echo6 毒株全基因序列资料较少,而在我国可能存在多个基因型或簇同时流行,以及人群的流动等原因,广泛开展对 Echo6 的监测特别是全基因序列的测定和分析,有助于阐明 Echo6 株在我国的起源、流行和进化特征。

参考文献

- [1] Papa A, Skoura L, Dumaidi K, et al. Molecular epidemiology of Echovirus 6 in Greece. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009, 28 (6): 683-687.
- [2] Lee HY, Chae CJ, Huang YC, et al. Clinical features of echovirus 6 and 9 infections in children. J Clin Virol, 2010, 49 (3): 175-179.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Enterovirus and human parechovirus sur Nonpolio surveillance—United States, 2006-2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2010, 59 (48): 1577-1580.
- [4] Cao LY. Study on an outbreak of echovirus type 6 of meningitis. Mod Prev Med, 2007, 34 (23): 4487-4489. (in Chinese) 曹良玉.一起由埃可病毒 6 型引起的病毒性脑膜炎流行的调查.现代预防医学, 2007, 34 (23): 4487-4489.
- [5] He SC, Xiong CL, Wu JB, et al. Study on an outbreak of echovirus type 6 of meningitis in Liu'an city, Anhui province. Chin J Epidemiol, 2007, 28 (7): 663-666. (in Chinese) 何晓春,熊传良,吴家兵,等.安徽省六安市一起可病毒 6 型脑膜炎暴发的调查.中华流行病学杂志, 2007, 28 (7): 663-666.
- [6] Mao N, Zhao L, Zhu Z, et al. An aseptic meningitis outbreak caused by echovirus 6 in Anhui province, China. J Med Virol, 2010, 82 (3): 441-445.
- [7] Oberste MS, Maher K, Pallansch MA, et al. Evidence for frequent recombination within species human enterovirus B based on complete genomic sequences of all thirty-seven serotypes. J Virol, 2004, 78 (2): 855-867.
- [8] Lukashev AN, Lashkevich VA, Ivanova OE, et al. Recombination in circulating human enterovirus B: independent evolution of structural and non-structural genome regions. J Gen Virol, 2005, 86 (Pt 12): 3281-3290.
- [9] Ma SH, Pan Y, He CY, et al. Complete nucleotide sequence of a human coxsackievirus A16 strain KMM08 isolated in Kunming, China in 2008. Chin J Epidemiol, 2012, 33 (2): 220-225. (in Chinese) 马绍辉,潘明,何春梅,等. 2008 年柯萨奇病毒 A16 型昆明分离株 KMM08 的全基因组序列分析.中华流行病学杂志, 2012, 33 (2): 220-225.
- [10] Iturriza-Gómara M, Megson B, Gray J, et al. Molecular detection and characterization of human enteroviruses directly from clinical samples using RT-PCR and DNA sequencing. J Med Virol, 2006, 78 (2): 243-253.
- [11] Lévesque N, Norder H, Zieck Y, et al. Echovirus 6 strains derived from a clinical isolate show differences in haemagglutination ability and cell entry pathway. Virus Res, 2007, 30 (1-2): 1-9.
- [12] Bailly JL, Mirand A, Henquell C, et al. Repeated genomic transfers from echovirus 30 to echovirus 6 lineages indicate co-divergence between co-circulating populations of the two human enterovirus serotypes. Infect Genet Evol, 2011, 11 (2): 276-289.
- [13] Tao Z, Wang H, Li Y, et al. Cocirculation of two transmission lineages of echovirus 6 in Jinan, China, as revealed by environmental surveillance and sequence analysis. Appl Environ Microbiol, 2011, 77 (11): 3786-3792.
- [14] Chan YF, Sam IC, Abubakar S, et al. Phylogenetic designation of enterovirus 71 genotypes and subgenotypes using complete genome sequences. Infect Genet Evol, 2010, 10 (3): 404-412.
- [15] Fares W, Rezig D, Seghier M, et al. Phylogenetic analysis of complete VP1 sequences of echoviruses 11 and 6: high genetic diversity and circulation of genotypes with a wide geographical and temporal range. J Med Microbiol, 2011, 60 (Pt 7): 1017-1025. (收稿日期: 2012-05-24) (本文编辑: 张林东)