

· 疾病控制 ·

2010—2013年江苏省泰州市非EV71和非Cox A16型手足口病肠道病毒病原谱及Cox A6 VP1基因特征分析

查杰 封琦 马智龙

【关键词】 手足口病; 肠道病毒; 柯萨奇病毒

The pathogenic spectrum of the enteroviruses for non-EV71 and Cox A16 for HFMD in Taizhou between 2010 and 2013 and the VP1 gene character analysis for coxsackievirus A6 Zha Jie¹, Feng Qi², Ma Zhilong¹. 1 Taizhou Center for Disease Control and Prevention, Taizhou 225300, China; 2 Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College

Corresponding author: Ma Zhilong, Email: mzl6421@126.com

This work was supported by a grant from the Jiangsu Province Preventive Medical Research Fund (No. Y2012009).

【Key words】 Hand-foot-mouth disease; Enteroviruses; Coxsackievirus

肠道病毒(EV)71型和柯萨奇病毒(Cox)A16型是导致手足口病的主要病毒,也有部分非EV71和非Cox A16型病毒导致手足口病,针对这部分病毒的研究较少。本研究对泰州市各监测哨点医院诊断为手足口病患儿的1 509份临床咽拭子和肛拭子混合标本进行研究。

1. 材料与方法:

(1)标本采集与核酸检测:2010年6月至2013年12月在泰州市各监测哨点医院采集诊断为手足口病患儿的1 509份临床咽拭子和肛拭子混合标本。标本经振荡混匀后吸取150 μl采用德国Qiagen公司的QIAamp Viral mini试剂盒提取核酸,然后采用江苏默乐生物科技公司三重荧光PCR试剂盒检测EV71、Cox A16和EV共有位点,结果按说明书进行判断。用自行设计的引物对EV共有位点阳性、EV71和Cox A16阴性者的EV进行VP1序列扩增并测序。

(2)EV VP1序列及血清型分析:VP1序列通过BLAST方法搜索GenBank同源性最大的EV VP1序列,从而确定所属血清型。统计未分型EV各血清型构成比,选取主要血清型进行构成比时间趋势分析,并计算相应的 χ^2 检验和皮尔逊线性相关系数^[1]。

(3)Cox A6 VP1基因特征:从GenBank中下载其他地区Cox A6 VP1基因全序列,与本研究所测序列合并为1个数据集。用MrBayes软件构建进化树,并用BLAST软件对进化树中的重点分支进行分化时间、有效种群规模以及毒株传播路径进行推算。用PAML软件包中的Codeml程序对VP1基因氨基酸位点的变异进行选择压力分析。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.10.024

基金项目:江苏省预防医学课题(Y2012009)

作者单位:225300 泰州市疾病预防控制中心(查杰、马智龙);江苏农牧科技职业学院(封琦)

通信作者:马智龙, Email: mzl6421@126.com

2. 结果:

(1)血清型构成:共检出非EV71和非Cox A16 EV 283株,占有阳性EV总数的24.91%,包括12种血清型,分别是194株Cox A6、61株Cox A10、10株Cox A12、6株Cox A4、3株Cox A14、2株Echo 3以及Cox A5、Cox A2、Cox A24、Echo 9、Echo 19和Cox B3各1株。Cox A6是其中最主要的血清型,在泰州市随时间的流行趋势与总体未分型EV相应趋势高度一致(图1),两者的皮尔逊相关系数为0.993 7。Cox A6在2010—2013年的其他时段处于散发态势,2012年第四季度至2013年第四季度出现1个流行高峰,顶峰在2013年第二季度,而处于该流行峰期间的Cox A6的数量显著高于其他时段,相应的统计量为 $\chi^2=170.179 1$,自由度为1的显著性 $P<0.01$ 。

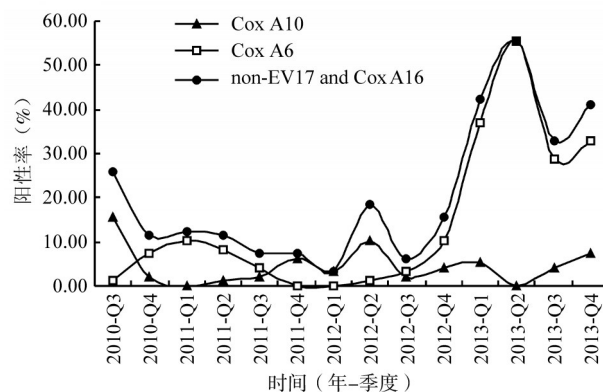


图1 Cox A6和Cox A10构成比按季度变化趋势

(2)Cox A6基因特征:选取符合要求的403株Cox A6 VP1序列构建基因进化树,上述流行高峰期所采集的Cox A6共计114株,其中84株聚集成1个单独分支(CladeTZ2013),该分支与2012—2013年上海地区及2009—2011年台湾地区部分流行株高度同源,聚集成一个更大的分支(命名为Clade 1)。CladeTZ2013分支内部有1个52株泰州市流行株聚集成的较大分支(Clade 2),分支内的所有毒株在VP1基因氨基酸序列254位点均发生R→K突变。对上述3个分支内的种群规模扩张趋势分析均推测出3个较为一致的种群扩张高峰,即在2012年12月种群规模开始扩张,到2013年5—6月到达顶峰。对254位点所发生变异的自然选择作用分析,结果显示,在分支位点模型的假设下该位点 $\omega(\omega=dN/dS)>1$ 的经验贝叶斯后验概率为99.8%,而与相应的无效模型的似然比 χ^2 检验的 $P<0.01$,故推测该位点的变异是正向选择作用的。Clade 1中Cox A6的传播进程分析显示,在2012年

7 月起源于常熟地区附近的 Cox A6 变异株传入泰州市。经过约 5 个月的传播与扩散,于 2012 年 12 月底在泰州市高港区附近分化出 VP1 基因氨基酸序列 254 位点发生了 R→K 突变的变异株,随后以该地点为扩散中心,Cox A6 在泰州市加速扩散,至 2013 年 12 月传播格局已基本形成。

3. 讨论:泰州市 2010—2013 年的手足口病 EV 的血清型谱除 EV71 和 Cox A16 外,以 Cox A6 为主,该结果与已有研究结果类似^[2-4]。Clade 1、Clade TZ2013 和 Clade 2 进化分支均推测出 1 个几乎一致的种群扩张峰;Clade 2 为前 2 个分支的共有子集,推断该扩张峰是由 Clade 2 内的种群扩张引起的,而 Clade 2 正是由 VP1 基因氨基酸 254 位点发生 R→K 的突变的 52 株变异株所形成的分支,故进一步推测 254 位点的变异与所推测出的这轮有效种群规模的扩张有关联。同时,Cox A6 传播路径分析也显示 VP1 氨基酸 254 位点发生 R→K 突变(形成 Clade 2)后,加快其传播速度。Cox A6 在泰州市实际出现的流行高峰起峰时间以及达顶峰的时间与推测出

有效种群规模扩张高峰完全吻合,故泰州市 Cox A6 的流行高峰与 VP1 氨基酸 254 位点发生 R→K 突变有关联。

参 考 文 献

- [1] Rosner B. Fundamentals of Biostatistics (the seventh edition) [M]. BROOKS/COLE, Cengage Learning, Inc., 2010.
- [2] Blomqvist S, Klemola P, Kaijalainen S, et al. Co-circulation of coxsackieviruses A6 and A10 in hand, foot and mouth disease outbreak in finland [J]. J Clin Virol, 2010, 48(1):49-54.
- [3] Wang YQ, Ji YL, Qu M. Molecular characterization of hand, foot and mouth disease related non-EV71, non-Cox A16 enteroviruses in Beijing [J]. Int J Virol, 2011, 18(3):75-79. (in Chinese) 王永全, 吉彦莉, 曲梅. 北京地区与手足口病相关的非 EV71、非 Cox A16 型肠道病毒的分子特征分析 [J]. 国际病毒学杂志, 2011, 18(3):75-79.
- [4] Zhang XL, Yu HJ, Yu Y, et al. The pathogenic spectrum and molecular epidemiology analysis of 440 hand, foot and mouth disease cases in Shanghai in 2010 [J]. J Microbes Infect, 2011, 6(4):214-224. (in Chinese) 张晓玲, 俞慧菊, 余曜, 等. 2010 年上海部分地区 440 例手足口病病例的病原谱及分子流行病学分析 [J]. 微生物与感染, 2011, 6(4):214-224.

(收稿日期:2014-05-14)

(本文编辑:万玉立)

· 会 讯 ·

第七次全国流行病学学术会议暨中华预防医学会 流行病学分会、中华医学会中华流行病学杂志 编辑委员会第七届换届会议通知

由中华预防医学会、中华预防医学会流行病学分会和中华医学会中华流行病学杂志编辑委员会主办,江苏省预防医学会和江苏省疾病预防控制中心承办的“第七次全国流行病学学术会议暨中华预防医学会流行病学分会、中华医学会中华流行病学杂志编辑委员会第七届换届会议”,定于 2014 年 10 月 24—26 日在江苏省南京市举行。这是我国流行病学界又一次难得的学术盛会,流行病学界同仁们将就我国流行病学各领域的研究成果和进展做广泛交流和深入讨论。

1. 时间地点:①时间:2014 年 10 月 24—26 日。24 日报到,25 日全天至 26 日上午开会,26 日下午离会。②地点:江苏省会议中心(钟山宾馆)。地址:江苏省南京市中山东路 307 号,邮编:210016。电话:025-84818888,传真:025-84809209。

2. 会议内容:

(1)学术报告:①大会报告:邀请 5 位国内外知名专家、学者做大会学术报告;②分会场报告:包括传染病流行病学、慢性非传染病流行病学、流行病学方法学和教学四个专题内容,邀请 19 位各领域知名专家、学者作学术报告;③青年论坛:邀请中青年流行病学专家和优秀论文作者报告。

(2)换届及工作会议:①中华预防医学会流行病学分会第七届换届会议;②中华医学会中华流行病学杂志编辑委员会第七届换届会议;③中华预防医学会流行病学分会第七届委员会第一次常委会;④中华医学会中华流行病学杂志第七届编委会第一次全体会议。

(3)颁奖会议:①宣布中国流行病学终身荣誉奖、杰出贡献奖及优秀奖获奖名单并颁奖;②宣布会议主题征集获奖者名单并颁奖;③宣布优秀论文作者名单并颁发证书。

3. 参会人员:①中华预防医学会、中华医学会杂志社有关领导及工作人员;②中华预防医学会流行病学分会第六届委员会委员、青年委员,七届委员会委员;③中华医学会中华流行病学杂志第六届编委会成员、通讯编委,七届编委会成员、通讯编委;④流行病学杰出贡献奖及优秀奖获奖人员,会议主题征集获奖者,会议征文优秀论文作者;⑤参加学术报告和学术交流的会议代表。

4. 参会回执:参会代表可通过以下任一方式提交参会回执:①登录中华流行病学杂志网站(<http://chinaepi.icdc.cn/>),在信息公告栏中点击“注册参会”,完成注册并提交;②登录中华流行病学杂志网站(<http://chinaepi.icdc.cn/>),在信息公告栏或下载专区下载参会回执,将填写的参会回执发送至邮箱 lxzbzqz@qq.com;③将填写的参会回执传真至 010-58900730。

5. 注意事项及联系人:中华预防医学会流行病学分会第七届委员会委员,中华流行病学杂志第七届编委会成员及通讯编委,请务必出席换届会议。①中华预防医学会流行病学分会联系人:王岚(电话:010-58900730),吕筠(电话:010-82801528-322);②中华流行病学杂志编委会联系人:王岚(电话:010-58900730);③江苏省预防医学会联系人:蒋辽远(电话:025-83759330);④江苏省疾病预防控制中心联系人:陆伟(电话:025-83759454,传真:025-83759498)。

中华预防医学会流行病学分会

中华医学会中华流行病学杂志编辑委员会