

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20245155

· 论 著 ·

## 一株柯萨奇病毒 A 组 4 型云南株的全基因组分析

陈俊薇<sup>1,2</sup>, 冯昌增<sup>2</sup>, 楚昭阳<sup>2</sup>, 刘煜菡<sup>2</sup>, 张 名<sup>2</sup>, 李 丽<sup>3</sup>, 马绍辉<sup>2</sup>

(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微生物学研究所云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 云南 昆明 650118; 3. 昆明市妇幼保健院检验科, 云南 昆明 650031)

**[摘要]** 目的 了解中国云南 2022 年分离到的一株柯萨奇病毒 A 组 4 型(Coxsackievirus A4, CVA4)病毒株的全基因组序列特征, 探讨 CVA4 系统发育特征。方法 对 CVA4 分离株 194R3/YN/CHN/2022 进行全基因组序列扩增测序, 并应用 Mega 7.0、Geneious 9.1.4 及 Simplot 3.5.1 等软件拼接比对, 构建 CVA4 分离株系统进化树, 分析其全基因组序列特征。结果 194R3/YN/CHN/2022 分离株为 CVA4, 属于 C2 基因亚型, 与我国近年的优势基因亚型一致。重组分析显示, 在 P2、P3 非结构编码区, CVA4 病毒分离株可能与 EVA114 原型株 V13-0285、CVA16 原型株 G-10、CVA14 原型株 G-14 发生过重组。结论 云南分离的 194R3/YN/CHN/2022 属于 CVA4 中国流行的 C2 基因亚型, 但发生了一定变异。

**[关键词]** 柯萨奇病毒 A 组 4 型; 全基因组序列; 系统进化分析; 194R3/YN/CHN/2022

**[中图分类号]** R373.2<sup>+</sup>3

## Whole genome analysis of a Coxsackievirus A4 strain from Yunnan

CHEN Jun-wei<sup>1,2</sup>, FENG Chang-zeng<sup>2</sup>, CHU Zhao-yang<sup>2</sup>, LIU Yu-han<sup>2</sup>, ZHANG Ming<sup>2</sup>, LI Li<sup>3</sup>, MA Shao-hui<sup>2</sup> (1. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650504, China; 2. Key Laboratory for Research and Development of Major Infectious Diseases Vaccine in Yunnan Province, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Kunming 650118, China; 3. Department of Laboratory Medicine, Kunming Maternal and Child Health Hospital, Kunming 650031, China)

**[Abstract]** **Objective** To understand the whole genome sequence characteristics of a Coxsackievirus A4 (CVA4) isolated from Yunnan, China in 2022, and explore the phylogenetic characteristics of CVA4. **Methods** The whole genome sequence of CVA4 isolate 194R3/YN/CHN/2022 was amplified and sequenced, and the phylogenetic tree of CVA4 isolate was constructed by using Mega 7.0, Geneious 9.1.4 and Simplot 3.5.1 softwares. The whole genome sequence characteristics were analyzed. **Results** The 194R3/YN/CHN/2022 isolate was identified as CVA4, belonging to the C2 gene subtype, which was consistent with the dominant gene subtype in recent years in China. Recombination analysis showed that recombination of CVA4 virus isolate with EVA114 prototype (V13-0285), CVA16 prototype (G-10), and CVA14 prototype (G-14) at the non-structural coding regions of P2 and P3 may have occurred. **Conclusion** The 194R3/YN/CHN/2022 isolated from Yunnan belongs to the C2 gene subtype, which is the prevalent CVA4 in China, but with certain mutations.

**[Key words]** Coxsackievirus A4; whole genome sequence; phylogenetic analysis; 194R3/YN/CHN/2022

**[收稿日期]** 2023-10-24

**[基金项目]** 云南省重大科技专项计划项目(202202AA100016)

**[作者简介]** 陈俊薇(1998-), 女(汉族), 云南省玉溪市人, 硕士研究生在读, 主要从事肠道病毒应用基础研究。

**[通信作者]** 李丽 E-mail: zhuoyuell@163.com; 马绍辉 E-mail: shaohuima70@126.com

手足口病(hand, foot, and mouth disease, HFMD)是全球广泛流行的儿童传染病,多发于 5 岁以下儿童,主要临床表现为发热、手足和口腔等部位出现疱疹或皮疹<sup>[1-3]</sup>,而肠道病毒(Enterovirus, EV)是其病原体。其中柯萨奇病毒 A 组 4 型(Coxsackievirus A4, CVA4)除可引起 HFMD,也与疱疹性咽峡炎、急性局部皮疹、急性弛缓性麻痹、无菌性脑膜炎、脑炎等疾病相关<sup>[4]</sup>。近年来,流行病学研究<sup>[5-7]</sup>显示,CVA4 在 HFMD 中的检出率逐渐升高,CVA4 引起的 HFMD 在多个国家及地区流行和暴发。

因此,本研究分析了 2022 年云南省一株 CVA4 病毒分离株的全基因组序列,探索 CVA4 流行株的进化特点及基因变异趋势,为云南省 CVA4 流行株的遗传变异情况提供实验室数据,对 CVA4 的疫苗研发和相关疾病的防控具有参考意义。

## 1 材料与方法

1.1 病毒株及细胞 病毒分离株来源于 2022 年云南省 HFMD 监测中一例 2 岁 10 个月男性儿童 HFMD 轻症患者,其临床特点为皮疹,见于手掌、足

趾,伴有发热。人横纹肌肉瘤(human rhabdomyosarcoma, RD)细胞由本实验室保存、提供。

1.2 主要仪器与设备 二氧化碳恒温细胞培养箱购自美国 Thermo 公司,PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司,生物安全柜购自苏州安泰空气技术有限公司。

1.3 病毒增殖与病毒 RNA 提取 病毒分离株经 RD 细胞增殖培养,收获阳性病毒培养液,取 200  $\mu$ L,按照 Axygen Body Fluid viral DNA/RNA Mini-prep Kit(Axygen,美国)说明书,提取病毒 RNA。

1.4 序列扩增与血清型鉴定 根据 CVA4 分离株 JN19075/Shandong/China/2019(基因收录号 No. 730874.1)与参考文献[8]设计针对该病毒分离株全基因组各片段的引物,分段扩增其全基因组序列并测序。扩增及测序引物序列见表 1。

使用 RT-PCR 扩增试剂盒(PrimeScript™ One step RT-PCR Kit Ver. 2)扩增全基因组序列,扩增程序为:55℃ 30 min,94℃ 4 min,94℃ 30 s,50℃ 30 s,72℃ 1 min,循环 30 次,最后 72℃ 10 min 进行终末延伸。由昆明擎科生物科技公司完成测序。使用 NCBI 在线网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)BLAST 工具鉴定病毒分离株血清型。

表 1 病毒分离株全基因组序列扩增和测序引物

Table 1 Primers for whole genome amplification and sequencing of virus strains

引物名称	序列(5'→3')	核苷酸位点	引物方向
A-OAS#*	GGRTANCCRTCRTARAACCAAYTG	2 268~2 287	下游
A-OS#*	CCNTGGATHAGYAACCANCAYT	3 109~3 089	上游
E201F#*	TTAAAACAGCCTGTGGGTTG	1~20	上游
A4N2R#*	GGGTTATCTCAGGTGTGTCT	2 407~2 388	上游
A4N1r*	GTGATAGCGGAATGAATC	683~666	下游
A4N1f*	CACTAATATTAATTATTA	815~832	上游
A4N1ff*	CACAGCGATCTGGGTCTC	749~776	上游
A4N1f2*	ACCATTGAGCCAGGCATT	1 457~1 474	上游
A4N3F#*	CCCTAAACCTGACGCCGAGAATC	2 907~2 930	上游
E208R#*	ACCGAATGCGGAGAATTTAC	7 384~7 365	下游
A4N3f*	GAGGGATCTCCTCGTGTC	3 455~3 472	上游
A4N4f*	GCCACTACTGGAGAATCA	4 250~4 267	上游
A4N5f*	TGCGGGAAAGCTATTACAG	4 947~4 964	上游
A4N6f*	GTTGGGAAGGTCATTGGC	5 862~58 49	上游
A4N7f*	GTCCAGTTTGTTTCAGGG	6 689~6 706	上游
CA168R#*	GGTTATAACAATTTACCCCC	7 413~7 393	下游

注:#表示扩增引物;\*表示测序引物。

1.5 全基因组序列测定与分析 应用 DNASTar 7.1 软件对分离株全基因组进行拼接及组装。从 GenBank 数据库中随机选取 45 株 CVA4 毒株作为参考株,信息见表 2。应用 Geneious 9.1.4 软件对本研究病毒分离株序列及参考株序列进行 VP1 区序列

比对及同源性分析。应用 Mega 7.0 软件,采用最大似然法(maximum likelihood, ML)构建进化树,建树自展值(Bootstrap)检验 1 000 次,对 VP1 序列进行系统进化分析。

表 2 VP1 系统进化分析参考株信息

Table 2 Information of reference strains used in phylogenetic analysis based on VP1

毒株名称	国家	采样年份	基因登录号	毒株名称	国家	采样年份	基因登录号
High Point	美国	1948	AY421762	701/SH/CHN/2010	中国	2010	KJ541163
N-48	印度	2007—2009	JN203505	SaX10-8	中国	2010	KJ818325
N-56	印度	2007—2009	JN203507	4208/CVA4/SH/CHN/2012	中国	2012	KP398837
N-253	印度	2007—2009	JN203509	13-11-HeN-2013	中国	2013	MK388451
N-980	印度	2007—2009	JN203513	13219/SD/CHN/2013	中国	2013	KY978560
C082/CHW/AUS/2016	澳大利亚	2016	MH111027	CV-A4/P1033/2013/China	中国	2013	KP289442
JR	日本	2008	AB457644	13-66-CQ-2013	中国	2013	MK388454
11023.1	肯尼亚	1999	GQ176232	14-41-JX-2014	中国	2014	MK391071
SPb-5171/14mi/UZ-7/14/RU	俄罗斯	2015	KR185979	CVA4/FT/CHN/05	中国	2015	KP676984
SPb 5161/13EVI/Mur-26/14/RU	俄罗斯	2013	KR185978	CVA4/FT/CHN/07	中国	2015	KP676985
USA/TN/2015-OB2038	美国	2015	KY271949	15-116-LN-2015	中国	2015	MK391072
98401/SD/CHN/1998/CA4	中国	1998	GQ253377	CVA4/FT/CHN/27	中国	2015	KP676986
GD10-114	中国	1998—2012	KJ818310	16-69-TJ-2016	中国	2016	MK388484
03188/SD/CHN/2003	中国	2003	KY978541	AA	中国	2016	MG550920
JL-CHN-AFP-CVA4-3/2006	中国	2006	JQ715708	CV-A4/2018/herpangina/17	中国	2018	MN964086
JL-CHN-AFP-CVA4-1/2006	中国	2006	JQ715709	SF047	中国	2018	LC361273
SC06-44	中国	2006	LC175758	180-QJ-YN-CHN-2019-CV-A4	中国	2019	LC603077
SC07-282	中国	2007	LC175762	56/QJ/YN/CHN/2020/CV-A4	中国	2020	LC626199
JL-CHN-H-CVA4-1/2007	中国	2007	JQ715710	180/QJ/YN/CHN/2020/CV-A4	中国	2020	LC626238
1-E9-CA4	中国	2008	KT353722	69-QJ-YN-CHN-2021-CVA4	中国	2021	LC707407
F1212/SD/CHN/2008	中国	2008	KY978537	189-QJ-YN-CHN-2021-CVA4	中国	2021	LC707448
JB141230145	中国	2008—2012	KC867064	23-QJ-YN-CHN-2021-CVA4	中国	2021	LC707391
CVA4/SZ/CHN/09	中国	2009	HQ728260				

应用相同软件和参数对本研究分离株和 GenBank 数据库中获得的 CVA4 分离株及所有 EV-A 原型株的全长 P1、P2、P3 区域进行系统进化分析和发育分析。应用 Simplot 3.5.1 软件进行重组分析验证。

## 2 结果

### 2.1 血清型鉴定 RD 细胞分离株 VP1 序列经

NCBI 在线网站确定其血清型为 CVA4,命名为 194R3/YN/CHN/2022。

2.2 CVA4 病毒分离株 194R3/YN/CHN/2022 全基因组序列分析 该分离株基因含 7 434 个核苷酸,编码 2 478 个氨基酸,5'UTR 长度为 747 个核苷酸,一个开放阅读框(open reading frame, ORF)长度为 6 602 个核苷酸,3'UTR 长度为 85 个核苷酸。

不同 CVA4 病毒分离株全基因组序列比对结

果显示,194R3/YN/CHN/2022 分离株与山东分离株 JN20186/Shandong/China/2020 相似性最高;194R3/YN/CHN/2022 分离株与 CVA4 原型株 High Point 核苷酸、氨基酸同源性分别为 84.30%、

97.2%;194R3/YN/CHN/2022 各基因区域与其他 CVA4 分离株核苷酸相似性为 97.60%~99.52%。194R3/YN/CHN/2022 分离株与我国其他 CVA4 病毒分离株的全基因序列对比结果见表 3。

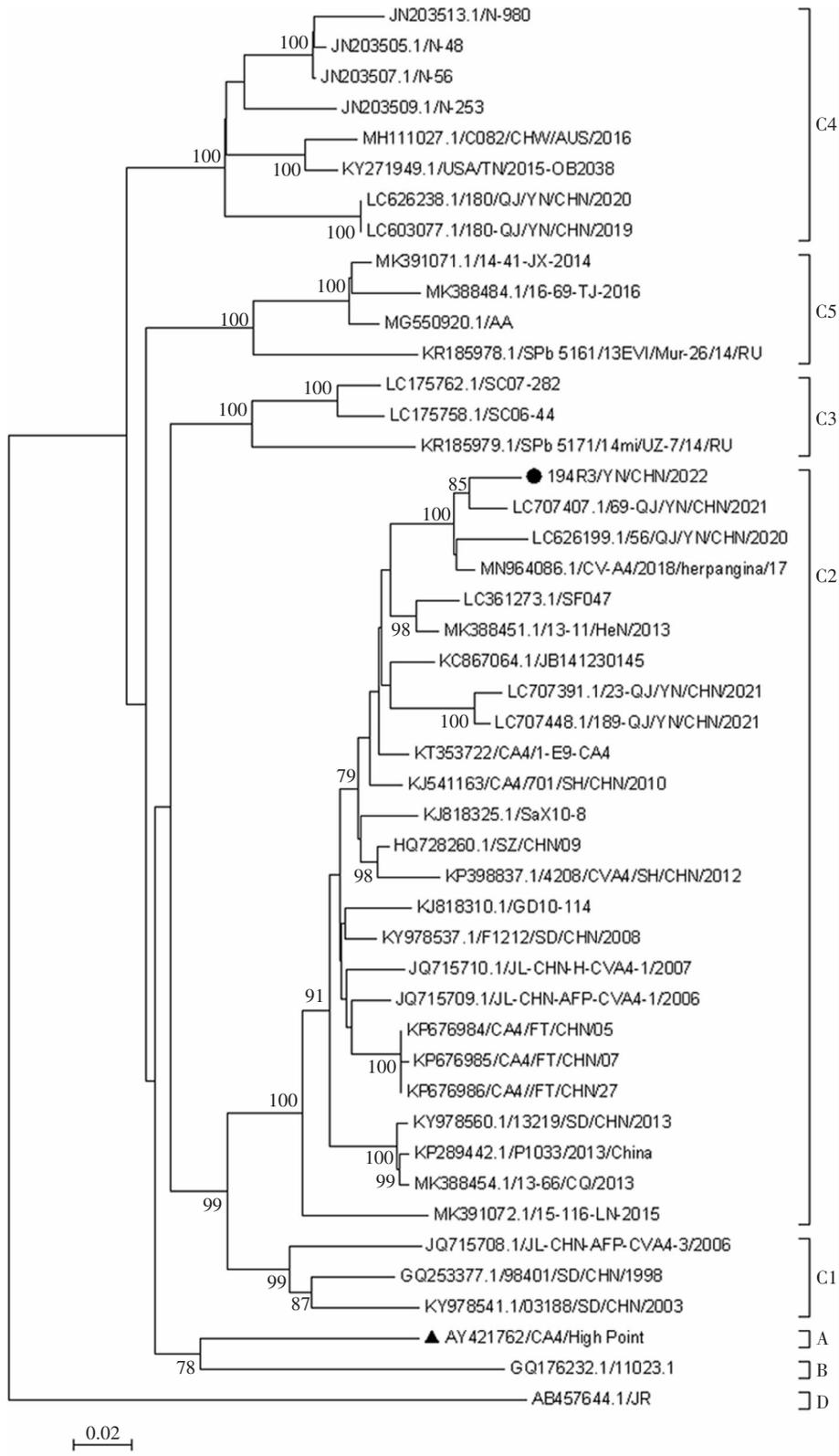
表 3 194R3/YN/CHN/2022 分离株与其他 CVA4 病毒分离株不同基因组区域的同源性比较

Table 3 Homology comparison of different genomic regions between 194R3/YN/CHN/2022 and other CVA4 strains

基因区域	血清型	毒株	核苷酸同源性(%)	基因登录号
5'UTR	CVA4	CV-A4/2018/herpangina/25	98.39	MN964081.1
VP4	CVA4	S270/Changsha/CHN/2019	99.52	MT920660.1
VP2	CVA4	CV-A4/2018/herpangina/16	99.48	MN964082.1
VP3	CVA4	JN20186/Shandong/China/2020	98.89	ON730850.1
VP1	CVA4	SJ2021-41/SH/CHN/CVA4/2021	97.92	MT591575.1
2A	CVA4	E140/YN/CHN/2019	97.60	MT591575.1
2B	CVA4	CV-A4/2018/herpangina/16	98.32	MN964082.1
2C	CVA4	JN20186/Shandong/China/2020	98.48	ON730850.1
3A	CVA4	JN19075/Shandong/China/2019	98.45	ON730874.1
3B	CVA4	CV-A4/2018/herpangina/16	98.48	MN964082.1
3C	CVA4	JN19737/Shandong/China/2019	98.18	ON730851.1
3D	CVA4	JN19737/Shandong/China/2019	98.56	ON730851.1
3'UTR	CVA4	CV-A4/2018/herpangina/25	98.81	MN964081.1
P1	CVA4	JN20186/Shandong/China/2020	98.28	ON730850.1
P2	CVA4	JN20186/Shandong/China/2020	97.81	ON730850.1
P3	CVA4	JN19737/Shandong/China/2019	98.41	ON730851.1
基因组	CVA4	JN20186/Shandong/China/2020	98.20	ON730850.1

2.3 系统进化分析 应用软件 Mega 7.0 将 194R3/YN/CHN/2022 分离株和 45 株参考株的全长 VP1 序列(915 bp)构建系统发育树,见图 1。所有 CVA4 病毒分离株分为 A、B、C、D 4 个基因型,其中,1948 年分离自美国北卡罗来纳州<sup>[9]</sup>的 CVA4 原型株 High Point 单独构成 A 基因型;肯尼亚分离株 11023.1 单独构成 B 基因型。C 基因型的组成较复杂,可进一步分成 C1、C2、C3、C4、C5 5 个基因亚型。C1 基因亚型由一株 2006 年吉林省 CVA4 分离株与山东省 1998、2003 年的两株 CVA4 分离株组成;C3 基因亚型由一株 2014 年俄罗斯 CVA4 分离株与两株四川省于 2006、2007 年分离的 CVA4 分

离株组成;C4 基因亚型由 2007—2009 年期间印度 CVA4 分离株,2015、2016 年中国台湾 CVA4 分离株,以及 2019、2020 年云南 CVA4 分离株组成;C5 基因亚型由一株 2017 年河南省 CVA4 分离株、2016 年一株天津 CVA4 分离株、2014 年一株江西省 CVA4 分离株,以及 2015 年一株俄罗斯 CVA4 分离株组成;其余 CVA4 分离株为 C2 基因亚型。当前世界范围的优势基因型是 C 基因型,我国近几年的优势基因亚型为 C2 基因亚型,这与之前的研究<sup>[10]</sup>结果相同。194R3/YN/CHN/2022 分离株属于 C2 基因亚型。



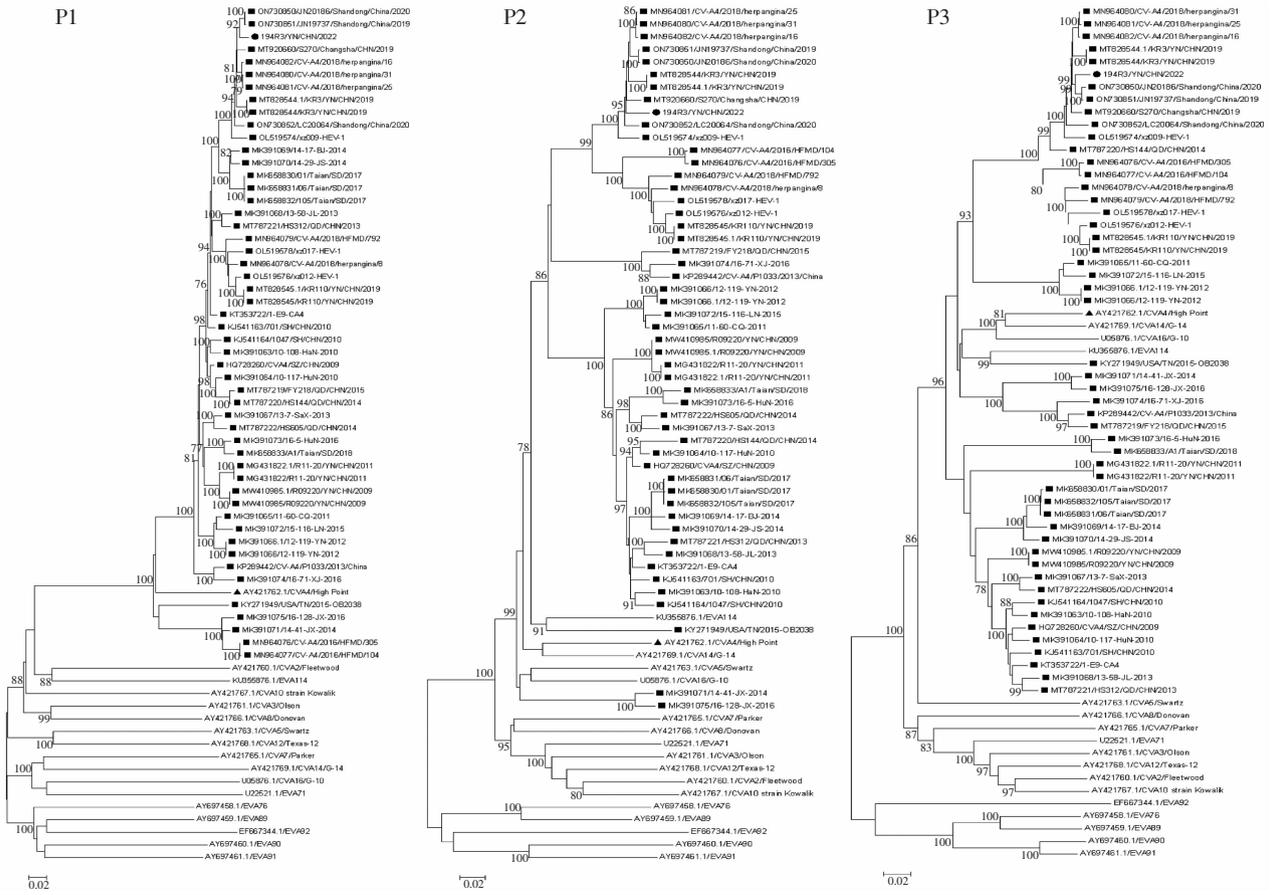
注：●表示 194R3/YN/CHN/2022 分离株，▲表示原型株。

图 1 基于 GenBank 数据库中 45 株 CVA4 分离株和本研究分离的 CVA4 分离株的 VP1 基因系统发育树

Figure 1 VP1 gene phylogenetic tree based on 45 CVA4 isolates from GenBank database and the CVA4 isolate in this study

对本研究分离到的 CVA4 病毒分离株 194R3/YN/CHN/2022 及根据文献报道<sup>[1]</sup>的 GenBank 数据库中下载的所有 EV-A 原型株和随机选取的 CVA4 型病毒代表株的 P1、P2、P3 区,应用软件 Mega 7.0 构建系统进化树,见图 2。系统进化树显示,在 P1 结构编码区,GenBank 数据库中随机选取的 CVA4 型病毒代表株与 194R3/YN/CHN/2022 分离株与 CVA4 原型株 High Point 都聚为一簇,而其他的 EV-A 原型株不与 CVA4 分离株聚类,与 VP1 分型结果一致;在 P2 非结构编码区,194R3/YN/CHN/2022 分离株与 CVA4 原型株 High Point 的亲缘关系较远,与肠道病毒 A114 型(Enterovirus 114, EVA114)原型株 V13 - 0285 及 GenBank 数据库中随机选取的 CVA4 型病毒代表株聚类在一

起,提示 CVA4 分离株 P2 区段可能发生过不同型别间的重组;而在 P3 非结构编码区,本研究分离的 CVA4 病毒分离株 194R3/YN/CHN/2022 与 GenBank 数据库中随机选取的 2019 年及之后的 CVA4 型病毒代表株亲缘关系较近,还与 EVA114 原型株 V13 - 0285、CVA16 原型株 G-10、CVA14 原型株 G-14 聚类在同一进化分支上,而未与 CVA4 原型株 High Point 聚类在同一进化分支,但相比于 GenBank 数据库中随机选取的 2018 年及之前的 CVA4 病毒代表株,194R3/YN/CHN/2022 与 CVA4 原型株 High Point 亲缘关系更近。这些结果表明 CVA4 流行株可能在非结构编码区与 EV-A 原型株之间发生过重组。



注:●表示 194R3/YN/CHN/2022 分离株;▲表示 CVA4 原型株;■表示从 GenBank 数据库中随机选取的 CVA4 分离株。

图 2 基于本研究分离 CVA4 分离株及 GenBank 数据库中随机选取的 CVA4 分离株和 EV-A 原型株的 P1、P2、P3 系统发育树

Figure 2 P1, P2, and P3 phylogenetic trees of CVA4 isolate from this study as well as randomly selected CVA4 isolates and EV-A prototype strains from GenBank database

2.4 重组分析 为进一步探究 194R3/YN/CHN/2022 分离株在非结构编码区与 EV-A 原型株之间是否可能发生重组,以 CVA4 194R3/YN/CHN/2022 分离株为质询序列,与所有 EV-A 原型株的全基因组序列进行 Simplot 和 Bootscan 分析,见图 3。结果显示,在 P1 结构编码区,194R3/YN/CHN/2022 分离株与 CVA4 原型株 High Point 的相似性最高,而在 P2、P3 非结构编码区,194R3/YN/

CHN/2022 分离株与其他多个 EV-A 原型株存在较高的相似性。在 2C 与 3D 区段与 EVA114 原型株的相似性最高,通过相似性分析进一步验证了该结果,提示本研究所分离得到的 194R3/YN/CHN/2022 分离株在进化过程中可能与其他 EV-A 病毒分离株发生了重组,其中最有可能在 2C 与 3D 区段与 EVA114 原型株发生重组,且重组位点位于 P2、P3 非结构编码区。

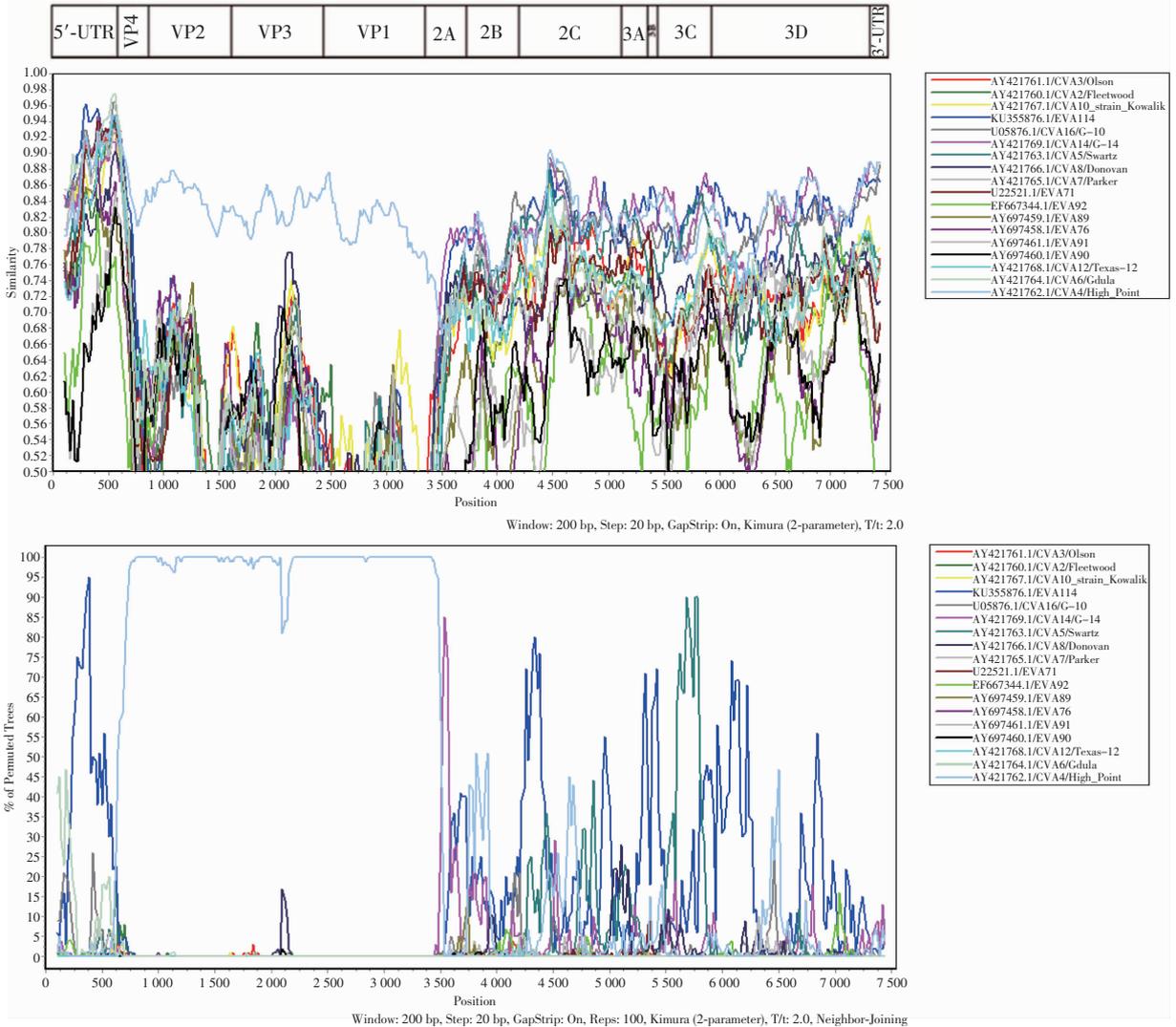


图 3 194R3/YN/CHN/2022 分离株与 EV-A 病毒原型株全基因组序列的 Simplot 和 Bootscan 分析

Figure 3 Simplot and Bootscan analyses of whole genome sequences of 194R3/YN/CHN/2022 isolate and EV-A prototype strains

### 3 讨论

EV71 疫苗获批上市后, HFMD 病原谱逐渐发生变化<sup>[12]</sup>。在中国大陆多地都有 CVA4 病毒引起

HFMD 流行的报道<sup>[13-16]</sup>。2018—2021 年昆明市 HFMD 监测中发现 CVA4 引发的 HFMD 已成为其他 EV(非 EV-71、CVA16)引发 HFMD 的重要组成部分<sup>[17]</sup>。因此,加强对 CVA4 的病原学监测及分子流行病学研究,有助于预防和控制 CVA4 引起的

HFMD。

EV 的 VP1 区域是 CVA4 主要抗原决定簇所在区域,根据 VP1 序列对 EV 进行血清型鉴定和基因分型应用广泛<sup>[18]</sup>。本研究基于 CVA4 完整 VP1 序列,将 CVA4 划分为 A~D 4 个基因型,并发现中国近几年的优势基因亚型为 C2 亚型,且 194R3/YN/CHN/2022 分离株也属于 C2 亚型,与此前研究<sup>[13]</sup>结果一致。近年来,GenBank 数据库中上传的 CVA4 分离株大部分为 C2 基因亚型,提示 C2 基因亚型有一定进化优势,并促进其传播和流行。但是也发现不同区域或年份分离株的核苷酸和氨基酸序列存在差异,提示 CVA4 病毒株已经发生一定进化。

基因重组是 EV 进化的主要方式。病毒复制过程中趋向于更好地适应环境的选择性优势,导致出现新的流行毒株,甚至引起相关疾病的暴发流行<sup>[19-21]</sup>。基于 194R3/YN/CHN/2022 分离株与 GenBank 数据库中随机选取的 CVA4 病毒分离株的 P1、P2、P3 区构建的系统进化树显示,在 P1 编码区,194R3/YN/CHN/2022 分离株与之前分离获得的 CVA4 分离株之间无较大差异;而在 P2、P3 非结构编码区,194R3/YN/CHN/2022 分离株与其他多个 EV-A 原型株之间存在较高的相似性。相似性分析显示,194R3/YN/CHN/2022 分离株可能与 EVA114 原型株在 2C 和 3D 非结构蛋白编码区发生了重组事件。这与青岛分离的病毒株可能在 2C 和 3D 区发生重组的研究<sup>[22]</sup>结果一致;2020—2021 年上海市 EV 监测中,也发现 C2 基因亚型 CVA4 病毒在非结构编码区发生了重组<sup>[23]</sup>。这些结果提示,CVA4 分离株的 C2 基因亚型流行优势可能来源于其不断积累的基因重组导致的遗传变异,使其得以生存,且具有较广泛的传播能力,但是否会形成稳定的进化趋势还需更多监测数据进一步研究。

此外,CVA4 分离株感染 5 岁以下儿童,与 EV 总体感染特征一致,可引起患者 HFMD,轻症出现皮疹伴随发热,重症可导致心肌炎、胰腺炎、肝功能损伤及弛缓性麻痹<sup>[24-25]</sup>。194R3/YN/CHN/2022 的致病性符合 CVA4 分离株引起的轻症 HFMD 症状,出现皮疹,见于手掌、足趾,伴有发热。

本研究针对 2022 年从云南 HFMD 监测中得到的 CVA4 毒株 194R3/YN/CHN/2022,测定其全基因组序列,并分析其全基因组序列特征、系统进化情况及可能的重组事件,更新了我国云南地区的 CVA4 监测数据,为 CVA4 分子流行病学研究和疾病防控工作提供了实验室数据。

致谢:冯昌增和楚昭阳参与了试验。冯昌增、刘煜菡、张名、李丽、马绍辉协助解释研究结果,并协助完成写作。所有作者都审核并通过稿件的最终版本。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参 考 文 献]

- [1] Guo W, Xu DH, Cong SR, et al. Co-infection and Enterovirus B: post EV-A71 mass vaccination scenario in China[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1): 671.
- [2] Wiczorek M, Krzysztoszek A. Molecular characterization of Enteroviruses isolated from acute flaccid paralysis cases in Poland, 1999–2014[J]. Pol J Microbiol, 2017, 65(4): 443–450.
- [3] Liu YH, Chen JW, Zhang M, et al. Coxsackievirus B: the important agent of hand, foot, and mouth disease[J]. J Med Virol, 2023, 95(3): e28669.
- [4] Drago F, Ciccarese G, Gariazzo L, et al. Acute localized exanthem due to Coxsackievirus A4[J]. Infez Med, 2017, 25(3): 274–276.
- [5] Akuzawa N, Harada N, Hatori T, et al. Myocarditis, hepatitis, and pancreatitis in a patient with Coxsackievirus A4 infection: a case report[J]. Virol J, 2014, 11: 3.
- [6] Huang J, Liao QH, Ooi MH, et al. Epidemiology of recurrent hand, foot and mouth disease, China, 2008–2015[J]. Emerg Infect Dis, 2018, 24(3): 432–442.
- [7] 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, 12: 92.
- [8] 陈俊薇, 张名, 刘煜菡, 等. 云南株埃可病毒 6 型的全基因组序列分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(8): 869–874. Chen JW, Zhang M, Liu YH, et al. Complete gene sequence analysis of 8 Echovirus 6 strain isolates in Yunnan Province, China[J]. Journal of Pathogen Biology, 2023, 18(8): 869–874.
- [9] Oberste MS, Peñaranda S, Maher K, et al. Complete genome sequences of all members of the species Human enterovirus A [J]. J Gen Virol, 2004, 85(Pt 6): 1597–1607.
- [10] Ji TJ, Guo Y, Lv LK, et al. Emerging recombination of the C2 sub-genotype of HFMD-associated CV-A4 is persistently and extensively circulating in China[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 13668.
- [11] Zhang M, Chen X, Wang W, et al. Genetic characteristics of Coxsackievirus A6 from children with hand, foot and mouth disease in Beijing, China, 2017–2019[J]. Infect Genet Evol, 2022, 106: 105378.
- [12] 吴绮青, 何家明. EV71 疫苗预防接种对手足口病的流行病学特征及临床症状的影响[J]. 医学食疗与健康, 2022, 20(7): 180–182, 193. Wu QQ, He JM. Effect of EV71 vaccination on epidemiologi-

- cal characteristics and clinical symptoms of hand, foot and mouth disease[J]. *Medical Diet and Health*, 2022, 20(7): 180 - 182, 193.
- [13] Li J, Ni N, Cui YN, 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.
- [14] 甄若楠, 张颖, 谢华萍, 等. 2010—2012 年广州市柯萨奇病毒 A4、A10 型 VP1 基因特征分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2014, 48(6): 445 - 450.
- Zhen RN, Zhang Y, Xie HP, et al. Sequence analysis of VP1 region of Coxsackievirus A4 and Coxsackievirus A10 in Guangzhou city, 2010 - 2012[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2014, 48(6): 445 - 450.
- [15] Hu YF, Yang F, Du J, et al. Complete genome analysis of Coxsackievirus A2, A4, A5, and A10 strains isolated from hand, foot, and mouth disease patients in China revealing frequent recombination of human enterovirus A[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(7): 2426 - 2434.
- [16] Wang M, Li J, Yao MX, et al. Genome analysis of coxsackievirus A4 isolates from hand, foot, and mouth disease cases in Shandong, China[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1001.
- [17] 刘艳艳, 周永明, 赵云珍, 等. 昆明市 2018—2021 年手足口病病例中柯萨奇病毒 A 组 4 型流行情况及 VP1 编码序列基因特征分析[J]. *中国病毒病杂志*, 2022, 12(5): 364 - 370.
- Liu YY, Zhou YM, Zhao YZ, et al. Prevalence of Coxsackievirus A4 among patients with hand, foot, and mouth disease in Kunming in 2018 - 2021 and the phylogenetic analysis of its VP1 coding gene sequence[J]. *Chinese Journal of Viral Diseases*, 2022, 12(5): 364 - 370.
- [18] 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.
- [19] Feng XB, Guan WC, Guo YF, et al. Genome sequence of a novel recombinant Coxsackievirus A6 strain from Shanghai, China, 2013[J]. *Genome Announc*, 2015, 3(1): e01347 - 14.
- [20] 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 - e1081.
- [21] Yang F, Zhang T, Hu YF, et al. Survey of Enterovirus infections from hand, foot and mouth disease outbreak in China, 2009[J]. *Virology*, 2011, 8: 508.
- [22] 宫金伶, 张秀莲, 肖思颖, 等. 青岛市 7 株柯萨奇病毒 A4 型分离株全基因组特征分析[J]. *中国病毒病杂志*, 2022, 12(5): 376 - 380.
- Gong JL, Zhang XL, Xiao SY, et al. Whole genome sequencing of 7 strains of Coxsackievirus A4 isolated in Qingdao[J]. *Chinese Journal of Viral Diseases*, 2022, 12(5): 376 - 380.
- [23] 李云逸, 崔心怡, 费洁, 等. 2020—2021 年上海地区分离株柯萨奇病毒 A4 基因型的全基因组分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2023, 18(8): 875 - 880.
- Li YY, Cui XY, Fei J, et al. Genome analysis of recombinant Coxsackievirus A4 genotype in Shanghai from 2020 to 2021[J]. *Journal of Pathogen Biology*, 2023, 18(8): 875 - 880.
- [24] 王东艳, 徐艺, 张勇, 等. 陕西省急性弛缓性麻痹病例中柯萨奇病毒 A 组 4 型的基因特征[J]. *病毒学报*, 2016, 32(2): 145 - 149.
- Wang DY, Xu Y, Zhang Y, et al. Genetic characteristics of Coxsackievirus group a type 4 isolated from patients with acute flaccid paralysis in Shaanxi, China[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2016, 32(2): 145 - 149.
- [25] 史晓燕, 汪照国, 宫金伶, 等. 2009—2015 年青岛市手足口病病原柯萨奇病毒 A4 型 VP1 区基因特征分析[J]. *中国病毒病杂志*, 2017, 7(2): 124 - 128.
- Shi XY, Wang ZG, Gong JL, et al. Genetic characteristics of the VP1 region of Coxsackievirus A4 in HFMD in Qingdao city of China from 2009 to 2015[J]. *Chinese Journal of Viral Diseases*, 2017, 7(2): 124 - 128.

(本文编辑:翟若南)

**本文引用格式:**陈俊薇, 冯昌增, 楚昭阳, 等. 一株柯萨奇病毒 A 组 4 型云南株的全基因组分析[J]. *中国感染控制杂志*, 2024, 23(9): 1061 - 1069. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20245155.

**Cite this article as:** CHEN Jun-wei, FENG Chang-zeng, CHU Zhao-yang, et al. Whole genome analysis of a Coxsackievirus A4 strain from Yunnan[J]. *Chin J Infect Control*, 2024, 23(9): 1061 - 1069. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20245155.