

2016—2017 年宁夏手足口病的病原构成及流行的 EV-A71 和 CV-A16 基因特征分析

李婕¹ 马江涛² 刘俐³ 张勇¹ 冀天娇¹ 许文波¹ 严冬梅¹ 武桂珍¹

¹国家卫生健康委员会医学病毒学和病毒病重点实验室,中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所,中国疾病预防控制中心,北京 102206;²宁夏疾病预防控制中心病毒科,银川 750004;³北京市海淀区疾病预防控制中心 100089

李婕和马江涛对本文有同等贡献

通信作者:武桂珍, Email: wgzcdc@hotmail.com, 电话: 010-58900656; 严冬梅, Email: dongmeiyan1976@163.com, 电话: 010-58900185

【摘要】 目的 了解引起 2016—2017 年宁夏回族自治区(宁夏)手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)的病原构成,分析主要病原体肠道病毒 A 组 71 型(Enterovirus A71, EV-A71)和柯萨奇病毒 A 组 16 型(coxsackievirus A16, CV-A16)的基因特征。**方法** 分析 2016—2017 年宁夏 HFMD 的核酸检测结果,确定 HFMD 的病原构成;对 2016—2017 年宁夏上送至国家 HFMD 网络监测实验室的肠道病毒毒株利用 RT-PCR 方法扩增 VP1 编码区并进行基因序列测定,BLAST 分析确定毒株的血清型别,同时选取 EV-A71 和 CV-A16 分离株分别构建系统进化树。**结果** 核酸检测结果显示,2016 和 2017 年宁夏 HFMD 中阳性检出率最高的病原体分别为其他肠道病毒(enterovirus, EV)(397, 43.72%)和 EV-A71(918, 56.18%),且不同月份检测出的优势病原体有差异。2017 和 2016 年相比 HFMD 的病原构成由其他 EV 和 CV-A16 为主转变成 EV-A71 和其他 EV 为主。2016—2017 年宁夏上送至国家 HFMD 网络监测实验室的 EV-A71 均属于 C4 基因亚型的 C4a 进化分支, CV-A16 均属于 B1 基因亚型的 B1b 进化分支。**结论** 宁夏 HFMD 的病原构成中,2017 年 EV-A71、CV-A16 和其他 EV 的构成与 2016 年相比发生了动态变化,持续开展宁夏 HFMD 的病原构成中 EV-A71 的动态变化,对指导 EV-A71 疫苗的使用策略、集中优势医疗资源加强救治重症病例,降低重症 HFMD 的病死率具有重要意义。

【关键词】 手足口病;病原构成;公共卫生;分子流行病学

基金项目:“十三五”国家科技重大专项课题(2018ZX10713002, 2018ZX10713001-003, 2017ZX10104001)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.01.003

Pathogenic composition of hand, foot and mouth disease and enterovirus-A71 and coxsackievirus-A16 genetic characteristics analysis in Ningxia, 2016-2017

Li Jie¹, Ma Jiangtao², Liu Li³, Zhang Yong¹, Ji Tianjiao¹, Xu Wenbo¹, Yan Dongmei¹, Wu Guizhen¹

¹NHC Key Laboratory of Medical Virology and Viral Disease, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC, Beijing 102206, China; ²Ningxia Center for Disease Control and Prevention, Yinchuan 750004, China; ³Haidian Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100089, China

Li Jie and Ma Jiangtao are contributed equally to the article

Corresponding author: Wu Guizhen, Email: wgzcdc@hotmail.com, Tel: 0086-10-58900656; Yan Dongmei, Email: dongmeiyan1976@163.com, Tel: 0086-10-58900185

【Abstract】 Objective To understand the pathogenic composition of hand, foot and mouth disease (HFMD) in Ningxia Hui Autonomous Region (Ningxia) from 2016 to 2017, and analyze the genetic characteristics of the main pathogens enterovirus (EV)-A71 and coxsackievirus (CV)-A16. **Methods** Analysis of the result of nucleic acid testing of HFMD in Ningxia from 2016 to 2017 to determine the pathogenic composition of HFMD. The complete VP1 coding region was amplified by RT-PCR and the gene

sequence was determined for the enterovirus strains sent to the National HFMD Network Monitoring Laboratory in Ningxia from 2016 to 2017. BLAST analysis confirmed the serotype of the strain, and the phylogenetic tree was constructed respectively by selecting EV-A71 and CV-A16 isolates. **Results** The leading pathogens of HFMD in Ningxia of 2016 and 2017 were other EV (397, 43.72%) and EV-A71 (918, 56.18%) respectively, and the dominant pathogens in different months may differ. The pathogenic composition causing HFMD in the past two years has changed from CV-A16 and other EV to EV-A71 and other EV. The isolated EV-A71 strains were C4a evolutionary branch and the isolated CV-A16 strains were B1b evolutionary branch. **Conclusions** Compared to 2016, in 2017 EV-A71, CV-A16 and other EV changed dynamically. Dynamic monitoring of EV-A71 in Ningxia is of great significance to guide the strategy of using EV-A71 vaccine, concentrating medical resources to strengthen the treatment and reduce the mortality rate of severe HFMD cases.

【Key words】 Hand, foot and mouth disease; Pathogenic composition; Public health; Molecular epidemiology

Fund programs: The Key Technologies R&D Program of the National Ministry of Science (2018ZX10713002, 2018ZX10713001-003, 2017ZX10104001)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.01.003

手足口病(hand, foot, mouth disease, HFMD)是多种肠道病毒(enterovirus, EV)引起的,以发热、手、足、臀部皮肤及口腔黏膜疱疹样病变为主要表征的儿童常见急性传染性疾。大多数 HFMD 呈现出病程短,病症轻,一周可自愈的特点,但少数病例也可伴有心肌炎,肺水肿,无菌性脑膜炎,脑膜脑炎等严重并发症,甚至引起神经源性肺水肿而导致死亡^[1]。引起 HFMD 的病原体归属于小 RNA 病毒科肠道病毒属,以肠道病毒 71 型(Human enterovirus 71, EV-A71)和柯萨奇病毒 A 组 16 型(Coxsackievirus A16, CV-A16)最为常见^[2, 3]。中国自 2008 年 5 月将 HFMD 纳入法定传染病管理系统以来, HFMD 上报病例数始终居于丙类传染病之首、死亡病例数居于法定传染病前 5 位,成为危害儿童健康的主要公共卫生问题。通过对宁夏 HFMD 的监测数据进行分析发现,2008—2010 年宁夏 HFMD 中 5 例死亡病例的病原体均为 EV-A71^[4], 2010—2015 年引起宁夏 HFMD 的主要病原体仍然以 EV-A71、CV-A16 和其他 EV 等非脊灰肠道病毒为主,并且呈现出年度交替流行的特点^[5]。因此本研究的主要目的在于阐明 2016—2017 年宁夏 HFMD 的病原构成及变化,掌握主要病原体 EV-A71、CV-A16 的变异变迁规律,为该地区 HFMD 的科学防治提供基础数据和理论支持。

1 材料和方法

1.1 实验室检测资料来源 2016—2017 年宁夏 HFMD 实验室检测资料下载于中国疾病预防控制中心网站中的传染病监测信息报告系统。

1.2 标本来源及采集方法 2016—2017 年宁夏

HFMD 标本来源于宁夏 5 市 22 个县区范围内的哨点医院中被诊断为 HFMD 患儿的咽拭子或粪便等标本。标本采集遵循国家 HFMD 预防控制指南(http://www.gov.cn/gzdt/2009-06/04/content_1332078.htm),采集的病例类型包括轻症病例、重症病例和死亡病例。咽拭子标本在患者发病 3 d 内使用专用的采样棉签进行采集,采集后的棉拭子放于装有 3~5 ml 标本保存液的无菌采样管中。粪便样本在患者发病 7 d 内使用无菌采样管进行采集,采集量约为 5~8 g/份。上述生物材料采集后,于 4 ℃ 暂存,并在 12 h 内送往实验室进行检测。

1.3 病毒核酸提取和荧光定量 RT-PCR 检测 病毒核酸的提取使用 BioFlux Simple P Total RNA Extraction Kit 试剂盒,并按照该试剂盒中的说明书对咽拭子或粪便样本进行处理,取其上清液进行病毒总 RNA 的提取。然后以《手足口病防控指南(2012)》为指导依据,用荧光定量 RT-PCR 方法,对病毒核酸进行 EV-A71, CV-A16 和其他 EV 的检测,初步判断病毒的血清型别,所使用的探针和引物参照文献^[6]进行合成。

1.4 病毒分离 将荧光定量 RT-PCR 方法鉴定为 EV-A71, CV-A16 和其他 EV 阳性的病毒标本进行病毒扩增和分离。具体操作步骤为取 100 μl 标本处理后上清液接种于人横纹肌肉瘤细胞(RD)和人喉癌上皮细胞(Hep-2),放于 CO₂ 浓度为 5%,温度为 37 ℃ 的孵箱中进行孵育。逐日观察细胞病变(cytopathic effect, CPE)并记录结果,当观察到 CPE 达到 75%时,可收于-40 ℃ 冰箱中冻存。连续传代 2 次,若某病毒样本在 2 种细胞系中均未观察到 CPE,则判定该病毒样本为阴性。

1.5 EV-A71 和 CV-A16 VP1 区全长基因序列扩增 利用逆转录-聚合酶链式反应 (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR), 采用日本 TaKaRa 一步法 RT-PCR 试剂盒 (One Step RT-PCR Kit Ver2, 货号 RR057A) 进行 EV-A71 和 CV-A16 VP1 区全长 891 个碱基对 (base pair, bp) 的基因序列扩增。扩增引物为国家脊髓灰质炎实验室设计^[3, 7], 储存浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 工作浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 。反应体系的配制和 RT-PCR 反应条件的设定参照《手足口实验室手册 (2010 版)》。扩增是否成功使用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳进行分析。

1.6 核苷酸序列测定 使用 QIAquick PCR purification kit 对 RT-PCR 阳性扩增产物进行纯化。并用 BigDyeTM Terminator V3.1 Cycle Sequencing Ready reaction Kit 试剂盒对上下游引物进行标记, 标记后的产物再经过葡聚糖凝胶 G-50 纯化后, 置于 ABI 3730XL 型测序仪上进行测序及分析。

1.7 生物学信息分析 测序结果使用 Sequencher 5.0 进行拼接和比对。将拼接后的序列结果进行 BLAST 分析确定病毒血清型别。使用 MEGA 7.0, 以邻接法 (neighbor joining, NJ), Kimura 2-parameter model 构建系统进化树, 并将 bootstrap 值设置为 1 000 作为评价系统进化树可靠性的依据。

2 结果

2.1 2016—2017 年宁夏 HFMD 的病原构成

2016—2017 年宁夏 HFMD 上报病例数为 10 629 例, 其中 2016 年上报病例数为 3 096 例, 年发病率为 46.36/100 万, 重症病例 2 例; 2017 年上报病例数为 7 533 例, 年发病率为 111.62/100 万, 重症病例 13 例; 2016—2017 年度均无死亡病例发生。

对 2016—2017 年宁夏 HFMD 核酸检测情况进

行分析, 2016 年共有 908 份样本核酸检测为阳性, 其中 EV-A71 阳性病例数为 131 例 (14.43%), CV-A16 阳性病例数为 380 例 (41.85%), 其他 EV 阳性病例数 397 例 (43.72%)。2017 年共有 1 634 份样本核酸检测为阳性, 其中 EV-A71 阳性病例数 918 例 (56.18%), CV-A16 阳性病例数 105 例 (6.43%), 其他 EV 阳性病例数 611 例 (37.39%)。EV-A71、CV-A16 和其他 EV 核酸检测月分布结果见图 1, 通过分布图, 可以看出 2016—2017 年度病原构成的变化, 表现为 2016 年以其他 EV 和 CV-A16 为主转变为 2017 年以 EV-A71 和其他 EV 为主。在月分布特征上, 2016 年第 1 个阳性核酸检测高峰的主要病原体为其他 EV (53/73), 第 2 个阳性核酸检测高峰的主要病原体为 CV-A16 (62/82), 2017 年 2 个阳性核酸检测高峰的主要病原体均为 EV-A71 (262/469, 101/187), 呈现出不同月份的主要病原体不同的特点。另外, 2016 年上报的 2 例重症病例经实验室检测确定病原体均为 EV-A71, 而 2017 年上报的 13 例重症 HFMD 例中, 8 例经检测为 EV-A71, 5 例为其他 EV, 以上证据都提示引起宁夏 HFMD 的病原谱在 2016—2017 年度发生改变。

2.2 2016—2017 年宁夏 EV-A71 的基因特征 对宁夏 2016—2017 年度上送到国家 HFMD 网络监测实验室的 82 株 EV-A71 毒株进行 VP1 全长 891 个 bp 的序列扩增及测序分析, 并使用 NJ 法构建系统进化树分析其亲缘性关系。从 EV-A71 的进化树图中可以看出, 全球范围内流行的 EV-A71 可以被划分为 A、B、C、D、E、F、G 基因型, 其中 A 基因型仅由 1970 年分离至美国脑炎病例的原型株 BrCr 株构成, 除 B 基因型和 C 基因型又被分别划分为 B0~B7 基因亚型和 C1~C6 基因亚型外, 其他基因型未进行进一步划分。从图 2 中可以看出, 2016—2017 年的

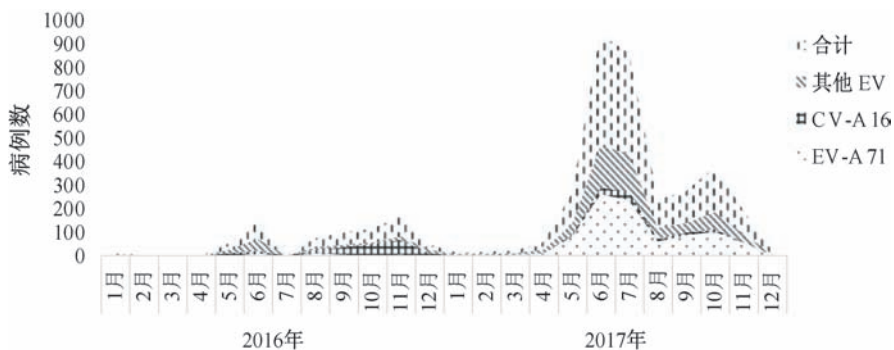


图 1 2016—2017 宁夏 EV-A71、CV-A16 和其他肠道病毒月分布

Fig.1 Monthly distribution of EV-A71, CV-A16 and other enteroviruses isolated in Ningxia in 2016-2017

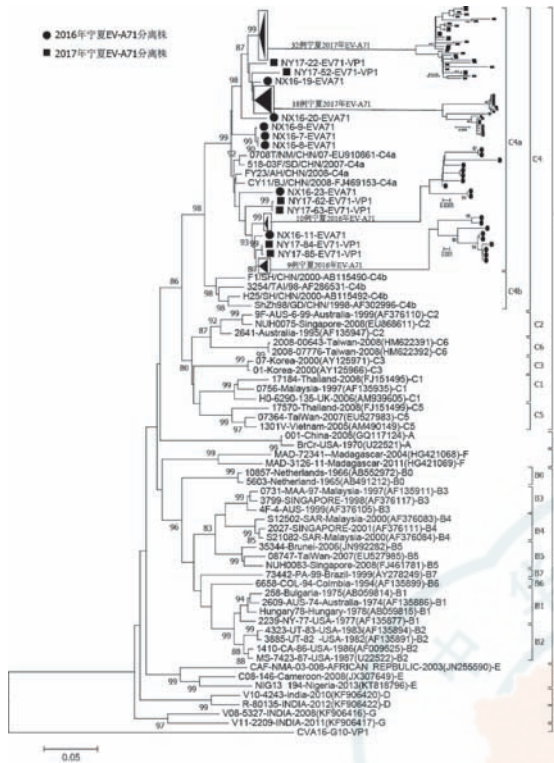


图2 2016—2017年宁夏手足口病例基于EV-A71 VP1全基因的系统进化树

Fig.2 EV-A71 VP1 full-length phylogenetic tree in Ningxia HFMD from 2016 to 2017

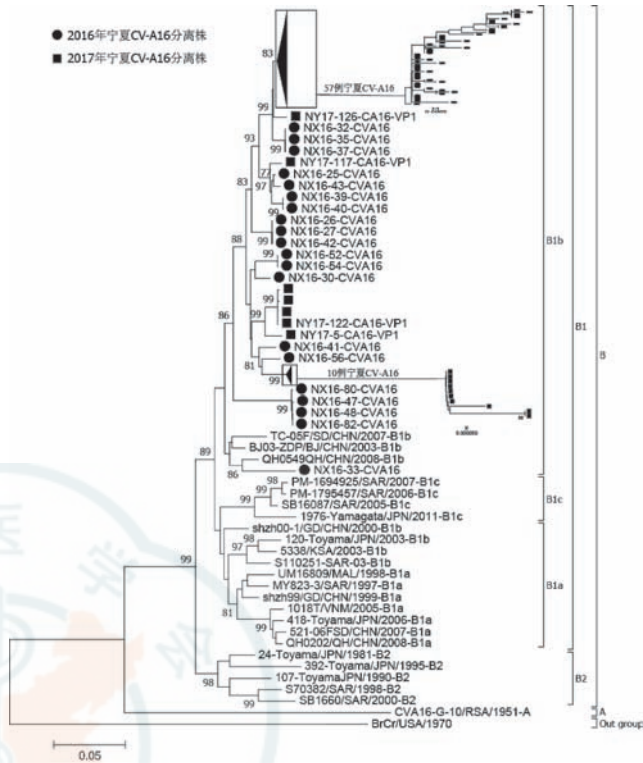


图3 2016—2017年宁夏手足口病例基于CV-A16 VP1全基因的系统进化树

Fig.3 CV-A16 VP1 full-length phylogenetic tree in Ningxia HFMD from 2016 to 2017

82株EV-A71全部属于C4基因亚型的C4a进化分支,且汇聚在不同的簇,提示2016—2017年在宁夏流行的EV-A71仍以C4a作为优势流行株,且存在多条传播链。同时,2016年和2017年分离到的EV-A71呈年度汇聚的特点,不同年代分离株间的遗传距离不同,提示EV-A71在传播过程中仍然在不断地进化。

2.3 2016—2017年宁夏CV-A16的基因特征 同样对宁夏2016—2017年上送到国家HFMD网络监测实验室的94株CV-A16毒株进行VP1全长891个bp的序列扩增及测序分析,使用NJ法构建系统进化树分析其亲缘性关系。从CV-A16的进化树可以看出,全球范围内流行的CV-A16可以被划分为A和B两个基因型,其中A基因型由原型株G-10单独构成,B基因型由B1和B2两个基因亚型构成,其中B1又可划分为B1a, B1b和B1c分支。从图3中可以看出,2016—2017年宁夏流行的94株CV-A16均属于B1基因亚型B1b进化分支,提示以B1b构成的CV-A16是导致2016—2017年宁夏HFMD流行的优势基因型,且不同年代分离株间的

年度聚集性弱于EV-A71。

3 讨论

自1981年中国首个HFMD病例在上海市报道以来,以2007年前后为时间分割点,HFMD在我国的流行趋势发生了由局部暴发流行、重症和死亡病例较少到全国大规模暴发流行、重症和死亡病例逐渐增加的转变。特别是2007年山东临沂和2008年安徽阜阳大规模HFMD暴发事件的发生,使HFMD一时间成为危害儿童健康的主要公共卫生问题。近年来,以柯萨奇病毒A组6型(coxsackievirus A6, CV-A6)和柯萨奇病毒A组10型(coxsackievirus A10, CV-A10)为代表的其他EV检测阳性数呈现出逐年增多的趋势^[8],甚至在某些城市已经取代EV-A71和CV-A16成为导致HFMD暴发的主要病原体^[9-10],但目前仅有针对EV-A71血清型别的HFMD疫苗,使HFMD的防控形势依然不容乐观^[11]。因此加强HFMD的病原学监测,了解病原谱的动态变化,对制定HFMD的防治措施,指导EV-A71疫苗使用策略、降低重症和死亡病例发生等方

面具有重要意义。

20 世纪 80 年代中期至今,导致我国 HFMD 流行的病原体构成逐渐以 CV-A16 为主转变为 EV-A71 和 CV-A16 交替流行^[12]。其中,在中国大陆流行的 EV-A71 以 2004 年为分界点,实现了由 C4b 到 C4a 流行株的转变,C4b 进化分支主要在 1998—2004 年间流行,较少引起 HFMD 重症及死亡病例的发生,现已在我国消失^[13]。C4a 进化分支自 2003 年首次报道以来,以其所具有的神经毒性特点引起较多的重症和死亡病例发生,成为 EV-A71 基因型的绝对优势基因亚型^[14],而 CV-A16 自 1999 年从深圳首次被分离后,一直以 B1a 和 B1b 共循环的方式在中国大陆流行^[3],2008 年宁夏地区 HFMD 中 CV-A16 的基因特征也符合该趋势^[15]。

宁夏地区通过多年的监测数据发现,2008—2015 年导致该地区 HFMD 流行的病原体仍然以非脊灰肠道病毒为主,且不同年份的优势病原体不同,除 2008 和 2011 年以 EV-A71 为主,2009 年以其他 EV 为主外,其他年份均以 CV-A16 为主要病原体^[5, 16]。本研究通过对宁夏 2016—2017 年 HFMD 的监测数据进行分析发现,2016 和 2017 年的主要病原体分别为其他 EV (397, 43.72%) 和 EV-A71 (918, 56.18%),其中主要病原体 EV-A71 和 CV-A16 总的阳性检出率分别为 56.28% 和 62.61%。进一步对 EV-A71 和 CV-A16 进行分子流行病学分析发现,2016—2017 年宁夏 HFMD 中流行的 EV-A71 为 C4a 进化分支,且不同年代的分离株呈现出年度聚集性,说明 EV-A71 在传播过程中仍然在不断的进化,这种进化可能直接导致人群中易感人群的增加。然而本研究同时也发现 2016—2017 年宁夏 HFMD 中以 B1b 进化支构成的 CV-A16 分离株没有明显的时间聚集性,2017 年 CV-A16 检测阳性率大幅度下降,这可能与 2016 年 CV-A16 作为 HFMD 的主要病原体之一,在宁夏流行 1 年后由于进化较少,从而导致当 2017 年具有相似基因特征的病原体再次流行时,大多数易感人群因具有了 2016 年 CV-A16 流行时所获得的抵抗力而使其无法继续在易感人群中传播。

近年来,通过连续的监测数据显示,导致我国 HFMD 的肠道病毒血清型别正在不断地发生改变^[17],宁夏地区 HFMD 的病原构成也同样发生着动态变化^[5, 16]。本研究对 2016—2017 年宁夏 HFMD 的核酸检测情况及主要病原体 EV-A71 和 CV-A16

的基因特征进行分析发现,2016 年宁夏 HFMD 的主要病原体以其他 EV 和 CV-A16 为主,2017 年则以 EV-A71 和其他 EV 为主,2017 年与 2016 年相比病原构成发生了动态改变;C4a 和 B1b 仍然是 EV-A71 和 CV-A16 的流行基因亚型。因此,加强 HFMD 的病原学监测,研究和掌握 EV-A71 和 CV-A16 等主要病原体的基因特征及流行规律,对于及时、正确使用 EV-A71 疫苗,降低 HFMD 重症及死亡病例的发生具有重要意义。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

志谢 本研究得到中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所脊灰室全体教师及宁夏回族自治区疾病预防控制中心病毒科老师的支持和帮助

作者贡献声明 李婕、马江涛、刘俐:实验操作;李婕:论文撰写;张勇、冀天娇、许文波、严冬梅、武桂珍:研究指导,论文修改

参考文献

- [1] 手足口病预防控制指南(2009 版)[J]. 全科医学临床与教育, 2010, 2: 125-127 + 133. DOI: CNKI: SUN: QKYL. 0. 2010-02-005.
- [2] Zhang Y, Tan XJ, Cui AL, et al. Complete genome analysis of the C4 subgenotype strains of enterovirus 71: Predominant recombination C4 viruses persistently circulating in China for 14 years[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56341. DOI: 10.1371/journal.pone.0056341.
- [3] Zhang Y, Wang DY, Yan DM, et al. Molecular evidence of persistent epidemic and evolution of subgenotype B1 coxsackievirus A16-associated hand, foot, and mouth disease in China[J]. J Clin Microbiol, 2009, 48(2): 619-622. DOI: 10.1128/JCM.02338-09.
- [4] 杜建财, 杨炬, 龚瑞, 等. 2008—2010 年宁夏回族自治区 5 例手足口病死亡病例的调查分析[J]. 疾病监测, 2011, 26(3): 200-201. DOI: CNKI: SUN: JBJC. 0. 2011-03-013.
- [5] 陈慧, 袁芳, 马江涛, 等. 2010—2015 年宁夏手足口病非 EV71/CVA16 肠道病毒病原谱分析[J]. 现代预防医学, 2017, 44(4): 729-733. DOI: CNKI: SUN: XDYF. 0. 2017-04-037.
- [6] Cui AL, Xu CP, Tan XJ, et al. The development and application of the two real-time RT-PCR assays to detect the pathogen of HFMD[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61451. DOI: 10.1371/journal.pone.0061451.
- [7] Zhang Y, Tan XJ, Wang HY, et al. An outbreak of hand, foot, and mouth disease associated with subgenotype C4 of human enterovirus 71 in Shandong, China[J]. J Clin Virol, 2009, 44(4): 262-267. DOI: 10.1016/j.jcv.2009.02.002.
- [8] Blomqvist S, Klemola P, Kajjalainen 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. DOI: 10.1016/j.jcv.2010.02.002.
- [9] Song Y, Zhang Y, Ji TJ, et al. Persistent circulation of Coxsackievirus A6 of genotype D3 in mainland of China between

- 2008 and 2015 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 5491. DOI: 10.1038/s41598-017-05618-0.
- [10] He YQ, Chen L, Xu WB, et al. Emergence, Circulation, and Spatiotemporal Phylogenetic Analysis of Coxsackievirus A6-and Coxsackievirus A10-Associated Hand, Foot, and Mouth Disease Infections from 2008 to 2012 in Shenzhen, China [J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51 (11): 3560-3566. DOI: 10.1128/JCM.01231-13.
- [11] 娄伟. 城乡居民儿童 EV71 疫苗接种意愿调查 [J]. *大医生*, 2018, 3 (9): 166-167 + 172. DOI: CNKI; SUN; DYIS. 0. 2018-09-083.
- [12] 甘霖, 滕峥, 王嘉瑜, 等. 2014 年上海市手足口病的病原谱及 EV-A71 和 CV-A16 分子流行病学特征分析 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2016, 30 (3): 286-292. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2016.03.008.
- [13] 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]. *Virology*, 2010, 7(1): 1-9. DOI: 10.1186/1743-422X-7-94.
- [14] Zhang Y, Wang J, Guo W, et al. Emergence and Transmission Pathways of Rapidly Evolving Evolutionary Branch C4a Strains of Human Enterovirus 71 in the Central Plain of China [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (11): e27895. DOI: 10.1371/journal.pone.0027895.
- [15] 王东艳, 陈慧, 严冬梅, 等. 宁夏地区 2008 年柯萨奇病毒 A 组 16 型 VP1 区基因特征分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2010, 31 (8): 904-908. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.08.016.
- [16] 张敏, 李志梅, 马少宁. 宁夏 2008—2011 年手足口病流行病学特征分析 [J]. *现代预防医学*, 2013, 40 (20): 3867-3869. DOI: CNKI; SUN; XDYF.0.2013-20-054.
- [17] 史晓燕, 汪照国, 官金伶, 等. 2009—2015 年青岛市手足口病病原中柯萨奇病毒 A4 型 VP1 区基因特征分析 [J]. *中国病毒病杂志*, 2017, 7 (2): 124-128. DOI: CNKI; SUN; ZRYX. 0.2017-02-011.

(收稿日期: 2018-12-12)

(本文编辑: 吕新军)

· 文献速览 ·

使用牛痘-狂犬病糖蛋白重组病毒疫苗 (RABORAL V-RG®) 的野生动物经口免疫: 全球回顾

Joanne Maki, Anne-Laure Guiot, Michel Aubert, et al. Oral vaccination of wildlife using a vaccinia-rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): a global review [J]. *Vet Res*, 2017, 48: 57. DOI: 10.1186/s13567-017-0459-9.

RABORAL V-RG® 是一种口服狂犬病疫苗诱饵, 含有表达狂犬病病毒糖蛋白基因 (V-RG) 的减毒重组牛痘病毒载体疫苗。自 1987 年以来, 全球共分发约 2.5 亿剂, 自从第一批获得许可的重组口服狂犬病疫苗 (ORV) 被释放到环境中, 对野生动物群体进行抗狂犬病免疫以来, 没有任何野生动物或家畜的不良反应报告。V-RG 基因稳定, 摄入 48 h 后在口腔中未检测到; V-RG 不通过接种疫苗进入环境, 其热稳定性经过一系列实验室和现场条件下的测试。对 50 多种脊椎动物 (包括非人类灵长类) 进行了 V-RG 的安全性评估, 无论其途径或剂量如何, 均未观察到不良反应。在实验室和野外条件下, 已证明 V-RG 对多种目标物种 (包括狐狸、浣熊、郊狼、臭鼬、貉和豺) 具有免疫原性和有效性。液体疫苗包裹在可食用的诱饵 (即 RABORAL V-RG, 疫苗诱饵产品) 中, 然后分发到野生动物栖息地供目标物种食用。3 个欧洲国家 (比利时、法国和卢森堡) 的野生动物狂犬病的消除和美国犬/郊狼狂犬病病毒变种的消除归功于 RABORAL V-RG 的现场应用。德克萨斯州中西部的一项口服狂犬病疫苗接种计划基本上消除了德克萨斯州的灰狐狂犬病病毒变种, 2009 年 1 头牛报告了该狂犬病病毒变种引起的最后狂犬病案例。在美国, 一项使用 RABORAL V-RG 的长期 ORV 屏障计划阻止浣熊狂犬病病毒变种的大规模地理扩展。在以色列 RABORAL V-RG 被用于控制野生动物狂犬病已经超过 10 年。本文: (1) 回顾了 RABORAL V-RG 的发展和历史使用; (2) 强调了在多个物种和国家使用 RABORAL V-RG 的野生动物狂犬病控制计划; (3) 讨论了寻求控制或消除野生动物狂犬病的计划面临的当前和未来的挑战。

(吕新军 编译)