

2017 年 5 月至 12 月河北省儿童病毒性脑炎病原学研究

樊涛¹ 韩彦洁² 张瑞卿³ 于盼辉¹ 赵莉³ 齐菊菊³ 李鑫娜⁴ 王瑞欢⁵ 孙一硕¹
赵剑¹ 胡川泽³ 王佶⁴ 孙素真¹ 马学军⁴

¹河北医科大学附属河北省儿童医院, 石家庄 050031; ²石家庄市第四医院输血科 050011; ³河北医科大学, 石家庄 050017; ⁴国家卫生健康委员会医学病毒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, 北京 102206; ⁵南华大学, 衡阳 421001

樊涛和韩彦洁对本文有同等贡献

通信作者: 孙素真, sunsuzhen2004@126.com, 电话: 0311-85911481; 马学军, Email: maxj@ivdc.chinacdc.cn, 电话: 010-58900810; 王佶, wangji19871229@hotmail.com, 电话: 010-58900811

【摘要】 目的 了解河北省儿童病毒性炎病原学特点。方法 随机收集 2017 年 5 月至 2017 年 12 月河北省儿童医院神经内科住院诊断为病毒性脑炎患儿的脑脊液样本 399 例, 采用结合自动化工作站的实时荧光定量 PCR 方法和 Sanger 测序方法检测脑脊液中的病毒核酸。运用 SPSS21.0 统计分析软件结合临床资料进行分析。不同月份 EV 引起的脑炎的感染率比较, 采用行×列表卡方检验法进行分析。不同病毒引起的脑炎患者的 MRI 和脑电图阳性率比较采用 Fisher 确切概率法进行分析。不同病毒合并感染阳性率的比较采用 Fisher 确切概率法进行分析。**结果** 399 例样本中 80 例阳性, 检出阳性率 20.05%, 包括肠道病毒 (Enterovirus, EV) 22 例, 甲型流感病毒 (Influenza A virus, FluA) 4 例, 腮腺炎病毒 (Mumps virus, MuV) 3 例, 单纯疱疹 1 型 (Herpes simplex virus 1, HSV1) 2 例, 单纯疱疹 2 型 (Herpes simplex virus 2, HSV2) 1 例, EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 4 例, 巨细胞病毒 (Cytomegalovirus, CMV) 7 例, 带状疱疹病毒 (Varicella-zoster Virus, VZV) 7 例, 腺病毒 (Adenovirus, AdV) 8 例, 人疱疹病毒 6 型 (Human herpesvirus 6, HHV6) 14 例。阳性样本中 8 例为合并感染, 分别为 EV 合并 HHV6 3 例, EV 合并乙性脑炎病毒 (Japanese encephalitis virus, JEV, HHV2 合并 AdV1 例, FluA 合并 HHV6 1 例, MuV 合并 HHV6 1 例, HSV1 合并 VZV 1 例。河北省儿童 EV 病毒性脑炎高发于 5 月、6 月 ($P=0.016$)。HHV6 病毒脑炎较非 HHV6 病毒脑炎易合并感染 ($P=0.016$); 不同病毒引起的脑炎患者的 MRI 和脑电图阳性率均无统计学差异 ($P>0.05$)。**结论** EV 是河北省儿童病毒性脑炎最常见的病原。FluA 引起的脑炎在临床不容被忽视。

【关键词】 病毒性脑炎; 病原谱; 自动化工作站; 实时荧光定量 PCR

基金项目: 十三五传染病重大专项课题 (2018ZX10711、2018ZX10713-002001、2017ZX10104001); 河北省重点研发计划自筹项目 (182777153)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.03.011

Pathogen spectrum of viral encephalitis in children living in Hebei province, China from May to December 2017

Fan tao¹, Han yanjie², Zhang Ruiqin², Yu Panhui¹, Zhao Li³, Qi Jujie³, Li Xinna⁴, Wang Ruihuan⁵, Sun Yishuo², Zhao Jian¹, Hu Chuanze³, Wang Ji⁴, Sun Suzhen¹, Ma Xuejun⁴

¹Children's Hospital of Hebei Province Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China; ²Blood Transfusion Department of the Fourth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, China; ³Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; ⁴NHC Key Laboratory of Medical Virology and Viral Diseases, National Institute for Viral Disease Control and Prevention Chinese Center for Disease Control and

Prevention, Beijing 102206, China;⁵ University of South China, Hengyang 421001, China

Fan Tao and Han Yanjie are contributed equally to the article

Corresponding author: Sun Suzhen, Email: sunsuzhen2004@126.com, Tel: 0086-311-85911481; Ma Xuejun, Email: maxj@ivdc.chinacdc.cn, Tel: 0086-10-85900810; Wang ji, Email: wangji19871229@hotmail.com, Tel: 0086-10-58900811

[Abstract] Objective To investigate the pathogenic characteristics of viral encephalitis in children living in Hebei province. **Methods** We randomly collected cerebrospinal fluid specimens from a total of 399 children diagnosed with viral encephalitis in Hebei Children's Hospital from May to December 2017. Real-time fluorescence quantitative PCR and Sanger sequencing were used to detect viral nucleic acids in cerebrospinal fluid by an automatic laboratory station. Statistical analysis was performed on the experimental data using SPSS 21.0 software and the clinical data were analyzed. Comparison of infection rates of EV encephalitis in different months, using line \times column chi-square test. The MRI and EEG positive rates of different viral encephalitis and viral encephalitis patients not infected with the virus were analyzed by Fisher's exact probability test. The positive rate of infection with different viruses and non-virus agents was analyzed by Fisher's exact probability test. **Results** The result showed that 80 of 399 samples were positive, and the positive rate was 20.05%. It included 22 cases of enterovirus, 4 cases of influenza A virus, 3 cases of mumps virus, 2 cases of herpes simplex virus type 1, 1 case of herpes simplex virus type 2, 4 cases of EB virus, 7 cases of cytomegalovirus, 7 cases of herpes zoster virus, 8 cases of adenovirus, 14 cases of human herpesvirus type 6. Eight cases had combined viral infection. Eight cases had concurrent infections: 3 cases had enterovirus and herpesvirus type 6 concurrent infection, 1 case had enterovirus and Japanese encephalitis virus concurrent infection and 1 case had herpes simplex virus type 2 and adenovirus, 1 case had influenza A virus herpesvirus type 6, 1 case had mumps virus and herpesvirus type 6, 1 case had mumps virus and herpesvirus type 6, 1 case had herpes simplex virus type 1 and herpes zoster virus concurrent infections. Children with EV viral encephalitis in Hebei Province were highly prevalent in May and June ($P=0.016$). HHV6 virus encephalitis was more susceptible to infection than non-HHV6 virus ($P=0.016$); The rate of MRI positive findings in patients with different viral encephalitis was not statistically significant ($P>0.05$). The result of EEG of different viral encephalitis were $P>0.05$, which was not statistically significant. **Conclusions** EV was the most common pathogen of children with viral encephalitis in Hebei province. Encephalitis caused by influenza A virus cannot be ignored in clinical practice.

[Key words] Viral encephalitis; Pathogen; Automatic laboratory station; Real-time fluorescent quantitative PCR

Fund programs: China Mega-Projects for Infectious Disease (2018ZX10711, 2018ZX10713-002001, 2017ZX10104001); key Research and Development Plan Self-funded Projects of Hebei Province (182777153)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.03.011

病毒性脑炎是由于病毒感染脑组织引起的中枢神经系统感染性疾病。病毒性脑炎可有严重的后遗症,如癫痫、肢体瘫痪、认知障碍、智能发育落后等后遗症,严重威胁儿童健康,对家庭和社会造成严重影响。病原学诊断对病毒性脑炎临床确诊、治疗、判断预后有着重要意义。

实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, q-PCR) 又可以快速而准确检测到微量的特异性病毒核酸^[1],在病原学检测上应用广泛。Ai^[2]等应用 q-PCR 技术在中国地区多中心病毒性脑炎病原学研究发现肠道病毒是主要病原体^[2]。Chen 等^[3]应用 q-PCR 技术在河北地区检测病毒性脑炎病原发现肠道病毒是最主要的致病病毒,其次为疱疹病毒感染^[3]。本研究根据河北地区病毒性脑炎病原学特点,将肠道病毒 (enter virus, EV)、乙型脑炎病毒 (japanese encephalitis virus, JEV)、风疹病毒 (rubella

virus, RuV)、麻疹病毒 (measles virus, MeV)、腮腺炎病毒 (mumps virus, MuV)、单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV)、水痘-带状疱疹病毒 (varicella-zoster Virus, VZV)、EB 病毒 (epstein-barr virus, EBV)、巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV)、人疱疹病毒 6 型 (human herpesvirus 6, HHV6) 等作为待检测的目标病原体。除了引起脑炎的传统病毒,呼吸道病毒导致的病毒性脑炎也受到广泛关注^[4]。本研究根据儿童呼吸道病毒感染特点选择了甲型流感病毒 (influenza A virus, FluA)、乙型流感病毒 (influenza B virus, FluB)、呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV)。本研究利用结合自动化工作站的 q-PCR 技术检测病毒性脑炎患儿脑脊液中的病毒核酸,利用 Sanger 测序技术作为 PCR 检测的补充,从而了解河北省儿童病毒性脑炎病原学特点,为儿童病毒性脑炎的病原学诊断提供

病原学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 入选标准:以 2017 年 5 月~2017 年 12 月河北省儿童医院神经内科收治的诊断病毒性脑炎的患儿为研究对象,患者来自河北省石家庄市、邢台市、保定市、邯郸市、衡水市、沧州市等地区。急性病毒性脑炎的诊断标准为国际脑炎联盟诊断标准^[5]。根据病史及辅助检查结果确诊为病毒性脑炎。本研究选取发病 7 d 内病毒性脑炎患儿,共计入选 399 例。本研究获得了医院伦理委员会的批准。患儿家属了解标本收集的科研目的,并签署了知情同意书。患儿出院后由研究人员收集全部病者的病例资料并对其进行整理、汇总。病例资料统计表包括一般资料、症状和体征、脑脊液情况、神经影像学 and 神经生理学检测结果。

1.2 标本的收集和运送 由临床医师按照临床技术规范(儿科学分册)行腰椎穿刺术,保证无菌操作,避免标本污染。于 24 h 内将采集的脑脊液标本分装至 1.5 ml 螺口冻存管中于 -80 ℃ 冰箱保存,所有标本统一冷链运送至中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所中心实验室。

1.3 病毒核酸提取 每份脑脊液样本取 200 μl。核酸提取使用仪器为天隆科技公司(中国)NP968-C 核酸提取仪,试剂为天隆科技公司 ZTLJB-Y64 DNA/RNA 核酸提取试剂盒。参照仪器及试剂盒操作说明配置试剂和样本,按照 DNA/RNA 提取程序进行核酸提取。

1.4 实验室检测 本研究共检测 15 种脑炎相关病毒,分别是 HSV1、HSV2、VZV、EBV、CMV、HHV6、ADV、EV、MeV、Ruv、MuV、JEV、RSV、FluA、FluB。应用 q-PCR 方法,参考文献中病毒引物,探针以及反应条件^[6-11],引物及探针详见表 1,FluA、FluB 引物及探针由中国国家流感中心《全国流感监测方案(2017 年版)》。q-PCR 反应体系配置以及加样过程全部使用 Beckman Coulter 公司的 Biomek FX 实验室全自动工作站按照设定程序完成。RNA 病毒反应体系的试剂是 OneStep RT-PCR Kit(QIAgen 公司,德国)。DNA 病毒反应体系的试剂为 Multiplex PCR Kit(QIAgen 公司,德国)。q-PCR 检测仪器为 Bio-rad 公司(美国)CFX96 荧光定量 PCR 检测系统。反应条件:RNA 病毒检测反应条件为:1、50 ℃, 30 min;2、95 ℃, 15 min;3、94 ℃, 45 s;4、55 ℃, 45

s;5、72 ℃, 45 s;6、72 ℃, 10 min, 4 ℃ 保存。第 3~5 步共 40 循环,第 5 步收集荧光型号。DNA 病毒检测反应条件为:1、95 ℃, 15 min;94 ℃, 30 s;60 ℃, 90 s;72 ℃, 90 s;72 ℃, 10 min, 4 ℃ 保存;第 2、3、4 步共 45 循环,第 4 步收集荧光信号。q-PCR 检测结果 Ct 值低于 35 判定为病原学阳性结果,Ct 值高于 35 的样本,其产物产物于擎科新业生物公司(中国)应用 Sanger 测序,若测序结果为目的片段则判断为阳性,反之为阴性。

1.5 统计学方法 运用 SPSS 21.0 进行统计学方法分析不同月份 EV 脑炎的感染率比较。不同病毒引起的脑炎患者的 MRI 和脑电图阳性率比较和不同病毒合并感染阳性率的比较采用卡方检验进行分析。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 临床症状及辅助检查 本研究共收集并检测了 399 例病毒性脑炎患儿的脑脊液标本。患儿中男性 259 例,女性 140 例,男女比例 1.85:1,中位年龄 61 月(month, m),最小年龄 2 m,最大年龄 168 m。352 例有消化系统症状(恶心、呕吐、腹痛),占 88.22%。385 例有咽部红肿症状,占 96.49%。7 例出现下肢运动功能障碍,1 例言语不清合并下肢运动障碍,1 例出现双眼左斜视,14 例有抽搐发作,其中 1 例出现 TODD 麻痹。360 例患儿实行了头部磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查,其中 43 例异常(头颅 MRI 显示脑实质炎性改变或符合病毒性脑炎并发症改变),317 例正常。328 例实行了脑电图(electroencephalogram, EEG)或视频脑电图检测,其中 234 正常,46 例异常(存在慢波或棘波,符合病毒性脑炎脑电图改变),48 例界限脑电图。

2.2 病毒检测结果 399 例病毒性脑炎患儿中 80 例检出病毒,病毒感染阳性率 20.05%。阳性样本中单一病毒感染 72 例,其中 EV 22 例,FluA 4 例, MUV 3 例,HSV1 2 例,HSV2 1 例,EBV 4 例,CMV 7 例,VZV 7 例,ADV 8 例,HHV6 14 例。阳性样本中 8 例为合并感染,分别为 EV 合并 HHV6 3 例, EV 合并 JEV 1 例 HSV2 合并 ADV 1 例,FluA 合并 HHV6 1 例, MUV 合并 HHV6 1 例,HSV1 合并 VZV 1 例。病原体构成见图 1。河北省儿童病毒性脑炎病原发病率的月份分布见图 2。

2.3 数据分析 河北省儿童 EV 病毒性脑炎检出

表 1 河北省病毒性脑炎患儿脑液标本实时荧光定量 PCR 检测引物和探针序列列表

Tab.1 Real-time quantitative PCR detection of cerebrospinal fluid specimens from Children with viral encephalitis in Hebei Province

Virus	Forward primer	Reverse primer	Probe	Product length
EV ^[8]	GCCCTGAATGCG	TGTCACCATAAGCAGY	FAM-CCAAAGTAGTCGGTTC-BHQ1	80
JEV ^[9]	TGGCCTTCTGGTGATGTT	CCCAAGCATCAGCACAAAGTA	FAM-CACCCAGGAGTCTTCGCAAGAG- BHQ1	110
MuV ^[10]	CTGTTCTGCTAGATGAGATGCA	AGCCTCTCTGCCTCATTGTA	FAM-TCACACAATCAAATGCATTGGTGATTGAC-BHQ1	241
RuV ^[10]	GTATCATCCACCCTTGT	CCTTCTGGAGGTCCTCCAT	FAM-AGAGCCCAGGCTGCCGAAT-BHQ1	120
MeV ^[10]	AAGGTGGATAAAGTACACCCAA	TGTCACATATCATTTTCAGCAAT	FAM-CCAACCATTTCCTCCAATCTAAATTCACC-BHQ1	188
RSV ^[11]	CACWGAAGATGCWAATCATAAAATCA	GTATYTTTATRGCTGTCTTCYCTTCCTAACC	FAM-TAATAGGTATGTTATATGCKATGTC-BHQ1	89
FluA	GACCRATCCTGTCACCTCTGAC	GGGCATYTGACAAAACGCTCTACG	FAM-TGCAGTCTCGCTACTGGCAGC-BHQ1	105
FluB	TCCTCAACTCACTCTCGAGCG	CGGTGCTCTTGACAAAATTGG	FAM-CCAATTCGAGCAGCTGAACTGCGGTG-BHQ1	103
HSV1 ^[12]	CGCATCAAGACCACCTCTCTC	GCTCGCACCACGCGA	FAM-TGGCAACGCGCCCAAC-BHQ1	111
HSV2 ^[12]	CGCATCAAGACCACCTCTCTC	GCTCGCACCACGCGA	FAM-CGGCGATGCGCCCGAG-BHQ1	111
VZV ^{[[12]}	AACTTTACATCCAGCCTGGCG	GAAAACCCAAACGTTCTCGAG	FAM-TGTCCTTCACGAGGCAACACGT- BHQ1	201
EBV ^{[[12]}	CGGAAGCCCTCTGGACTTC	CCCTGTTTATCCGATGGAATG	FAM-TGTACACGCAGAGAAATGCGCC- BHQ1	90
CMV ^{[[12]}	CATGAAGTCTTTGCCAGTAC	GGCCAAAGTCTAGGCTACAATAG	FAM-TGGCCCGTAGGTCATCCACTAGG- BHQ1	130
HHV6 ^[12]	GACAATCACATGCCTGGATAATG	TGTAAGCGTGTGTAATGTAATAA	FAM-AGCAGCTGGCAAAAGTCTGTGC- BHQ1	176
ADV ^{[[13]}	GCCACGGTGGG TTTCTAAACT	GCCCCAGTGTCTTACATGCACATC	FAM-TGCACCAGACCCGGCTCAGGTACTCGA- BHQ1	132

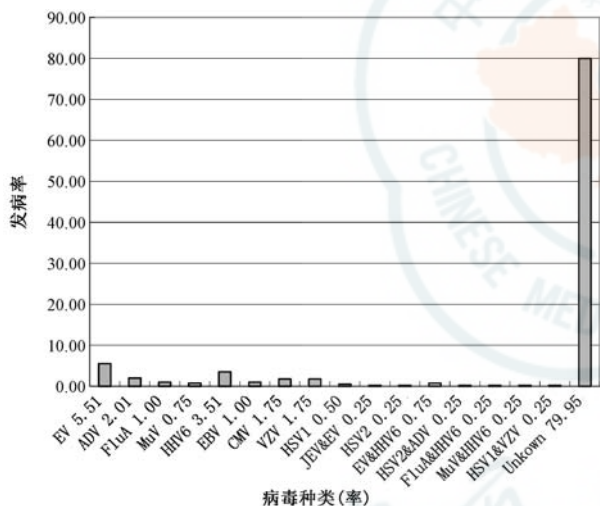


图 1 2017 年 5 月至 12 月河北省儿童病毒性脑炎病原构成比

Fig.1 Percentage of viral pathogens in viral encephalitis cases in Children living in Hebei province, China, from May to December 2017

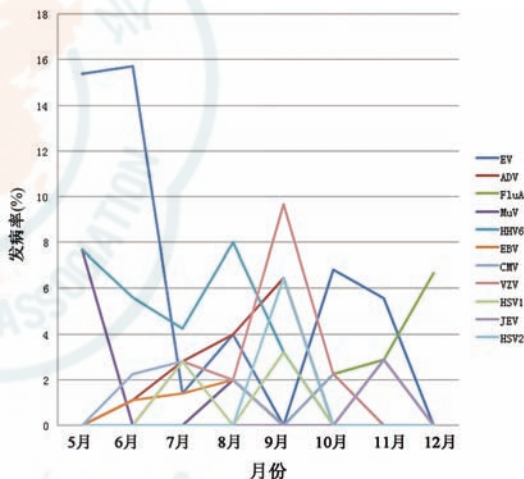


图 2 2017 年 5 月至 12 月河北省儿童病毒性脑炎发病率的月份分布

Fig.2 Months distribution of viral encephalitis rate in Children living in Hebei province, China, from May to December 2017

率最高。河北省 EV 病毒性脑炎高发于 5、6 月份 ($\chi^2 = 17.899, P = 0.016$)。HHV6 病毒脑炎较非 HHV6 病毒易合并感染 ($P = 0.016$)；不同病毒引起的脑炎患者的 MRI 和脑电图阳性率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)

3 讨论

病毒性脑炎是病毒通过各种途径侵入人的脑部引起的感染性疾病。国内外以往报道多种病毒均能引发病毒性脑炎,常见的病原有:EV、MuV、HSV、EBV、TBE、JeV、HHV6 等^[12-13]。本研究检测出的病

毒包括 EV、FluA、MuV、JEV、HSV、ADV、CMV、EBV、HHV6 等,发现 EV 仍然是河北省病毒性脑炎最主要的病原,本研究结果还提示河北省 EV 病毒性脑炎的高发季节为 5、6 月份,这个时期与河北省手足口病的高发期吻合 (5 至 7 月份)。

流感病毒重点防控人群为 15 岁以下人群,尤其是儿童群体^[14]。提示甲型流感病毒引起的脑炎在临床不容被忽视甲型流感病毒造成的颅内感染是否与患者本人免疫状况有关有待进一步的大样本研究。

头部 MRI 作为病毒性脑炎的主要影像学检查手段已经被临床医师广泛认可,也是首选的成像方

式^[15]。病毒性脑炎最常见的 MRI 表现发生在脑叶、脑干、丘脑、小脑、基底节区、放射冠和胼胝体,以灰质为主,白质可同时受累^[14]。本研究未能发现不同病毒引起的脑炎患者的 MRI 的阳性率存在差异。但 Kiroglu 和 Takaya 等^[15-16]研究发现扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)对早期病毒性脑炎病变的诊断和病灶边界的显示优于其他常规成像诊断比常规方法更敏感。因此对拟诊为病毒性脑炎患者进行 MRI 检查和加做 DWI 序列检查可以提高诊断准确性。

脑电图常用于病毒性脑炎的辅助诊断。但病毒性脑炎患者的脑电图表现大多为非特异性的异常^[17]。本研究统计结果中未发现不同病毒引起的脑炎患者的脑电图异常率存在统计学差异。病原学结果是否与脑电图异常有关联,有待进一步深入研究。

HHV6 感染在婴幼儿时期较为常见,HHV6 引发中枢神经系统感染的患者大多有免疫功能紊乱,从而导致其他病毒合并感染。也有可能为其他病毒感染后导致免疫紊乱,诱导体内潜伏的 HHV6 再激活导致合并感染。本研究发现 HHV6 引起的病毒性脑炎较非 HHV6 病毒性脑炎易合并感染($P=0.016$)。由于本研究 HHV6 阳性病例偏少,HHV6 合并感染还有待进一步研究。

本研究采用自动化工作站进行 PCR 体系配置,增加了单样本检测病毒的种类,提升了检测效率。自动化工作站可以实现配体系与加样的自动化。配置检测 12 个样本的 16 种病原体反应体系用时约 30 min,减少了手工操作时间,避免了手工操作失误,同时极大避免了操作过程污染,提升了检测结果的准确性。

此外,本研究中有约 80% 的样品未检测到病原,拟应用高通量的检测技术如基因芯片技术^[18]第二代测序技术(next-generation sequencing technology, NGS)^[19]和纳米孔测序仪—MinION 对未知病原标本进行进一步筛查。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 樊涛、王佶、韩彦洁、张瑞卿、于盼辉、齐菊菊、王瑞欢、李鑫娜、赵剑、胡川泽、孙一硕:实验操作、论文撰写;樊涛、韩彦洁、张瑞卿、于盼辉:数据整理、生信分析;孙素真、马学军、王佶:研究指导、论文审阅、经费支持

参考文献

[1] Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR[J]. Adv

- Physiol Educ, 2005, 29(3): 151-159. DOI: 10.1152/advan.00019.2005.
- [2] Ai J, Xie Z, Liu G, et al. Etiology and prognosis of acute viral encephalitis and meningitis in Chinese children: a multicentre prospective study[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 494. DOI: 10.1186/s12879-017-2572-9.
- [3] Chen X, Li J, Guo J, et al. An outbreak of echovirus 18 encephalitis/meningitis in children in Hebei Province, China, 2015[J]. Emerg Microbes Infect, 2017, 6(6): e54. DOI: 10.1038/emi.2017.39.
- [4] Bohmwald K, Galvez N, Rios M, et al. Neurologic Alterations Due to Respiratory Virus Infections[J]. Front Cell Neurosci, 2018, 12: 386. DOI: 10.3389/fncel.2018.00386.
- [5] Venkatesan A, Tunkel AR, Bloch KC, et al. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: consensus statement of the international encephalitis consortium[J]. Clin Infect Dis, 2013, 57(8): 1114-1128. DOI: 10.1093/cid/cit458.
- [6] Wurtzer S, Prevost B, Lucas F S, et al. Detection of enterovirus in environmental waters: a new optimized method compared to commercial real-time RT-qPCR kits[J]. J Virol Methods, 2014, 209: 47-54. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.08.016.
- [7] Wu H, Rao P, Jiang Y, et al. A sensitive multiplex real-time PCR panel for rapid diagnosis of viruses associated with porcine respiratory and reproductive disorders[J]. Mol Cell Probes, 2014, 28(5-6): 264-270. DOI: 10.1016/j.mcp.2014.07.001.
- [8] Ammour Y, Faizuloev E, Borisova T, et al. Quantification of measles, mumps and rubella viruses using real-time quantitative TaqMan-based RT-PCR assay[J]. J Virol Methods, 2013, 187(1): 57-64. DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.09.011.
- [9] Sanghavi S K, Bullotta A, Husain S, et al. Clinical evaluation of multiplex real-time PCR panels for rapid detection of respiratory viral infections[J]. J Med Virol, 2012, 84(1): 162-169. DOI: 10.1002/jmv.22186.
- [10] Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, et al. Use of multiplex PCR and real-time PCR to detect human herpes virus genome in ocular fluids of patients with uveitis[J]. Br J Ophthalmol, 2008, 92(7): 928-932. DOI: 10.1136/bjo.2007.133967.
- [11] Bennett S, Carman WF, Gunson RN. The development of a multiplex real-time PCR for the detection of herpes simplex virus 1 and 2, varicella zoster virus, adenovirus and Chlamydia trachomatis from eye swabs[J]. J Virol Methods, 2013, 189(1): 143-147. DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.08.020.
- [12] 申欣欣, 马学军. 病毒性脑炎脑膜炎症候群病学研究进展[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2017, 31(1): 75-78. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2017.01.016.
- [13] 杨静, 陈涛, 祝菲, 等. 2017—2018 年度中国大陆流行性感冒病例报告情况分析[J]. 热带病与寄生虫学, 2018, 16(2): 63-66.
- [14] 郭燕军, 徐忠宝. 病毒性脑炎的头颅 MRI 表现[J]. 临床神经病学杂志, 2000(2): 95-97. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1648-2000.02.011.
- [15] Kiroglu Y, Calli C, Yunten N, et al. Diffusion-weighted MR imaging of viral encephalitis[J]. Neuroradiology, 2006, 48(12): 875-880. DOI: 10.1007/s00234-006-0143-7.
- [16] Takaya J, Araki A, Mori K, et al. Usefulness of diffusion-weighted MRI in human herpesvirus-6 encephalitis[J]. Acta Paediatr, 2007, 96(1): 137-138. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2007.00024.x.
- [17] 刘晓燕. 临床脑电图学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 27, 707.
- [18] Wang J, Yu P, Xie Z, et al. A resequencing pathogen microarray method for high-throughput molecular diagnosis of multiple etiologies associated with central nervous system infection[J]. Arch Virol, 2017, 162(12): 3769-3778. DOI: 10.1007/s00705-017-3550-7.
- [19] Capobianchi MR, Giombini E, Rozera G. Next-generation sequencing technology in clinical virology[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(1): 15-22. DOI: 10.1111/1469-0691.12056.

(收稿日期: 2019-02-21)

(本文编辑: 陈培莉)