

一起由腺病毒 B3 和 E4 引起的呼吸道感染疫情的流行病学调查

马广源 肖勇 鲍静 蒋露 季亚勇 沈元

无锡市疾病预防控制中心 214023

通信作者:马广源, Email: mgy2004165@163.com, 电话: 0510-82727730

【摘要】 目的 调查一起学校发生的呼吸道感染暴发疫情的流行病学特征及其病因。**方法** 对学校呼吸道感染病例进行回顾性流行病学分析,采集患儿的咽拭子标本进行呼吸道病毒核酸检测,腺病毒(Adenovirus, AdV)阳性标本扩增六邻体基因并测序。**结果** 所有病例全部在学校,涉及 2 个班级,二(3)班 12 例、三(4)班 13 例,均在 2 号教学楼二楼、三楼西侧。所涉病例从 9 月 3 日至 9 月 12 日共发病 25 例,发病高峰在 10、11 日,临床特征为发热、咳嗽、咽痛和四肢酸痛等,发病有聚集性,病程 5 d 左右,预后良好,无死亡病例。男性 13 人,女性 12 人,男女性别比 1.08 : 1,年龄分布为 7~9 岁,平均 8.6 岁。荧光定量 PCR 检测结果为甲/乙型流感病毒阴性,AdV 阳性,阳性标本经 PCR 扩增后产物测序为 AdV-3 和 AdV-4。**结论** 结合流行病学调查和实验室检测结果,判断这起学校呼吸道感染疫情为 AdV B3 和 E4 混合感染引起的上呼吸道感染。

【关键词】 呼吸道感染;腺病毒;暴发

基金项目: 无锡市卫计委项目(T201739, Q201711);无锡市卫计委重大项目(Z201718)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.04.007

Epidemiological investigation on an epidemic of respiratory infection in schools caused by Adenoviruses B3 and E4

Ma Guangyuan, Xiao Yong, Bao Jing, Jiang Lu, Ji Yayong, Shen Yuan

Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Wuxi 214023, China

Corresponding author: Ma Guangyuan, Email: mgy2004165@163.com, Tel: 0086-510-82727730

【Abstract】 Objective To investigate the epidemiological characteristics and causes of an outbreak of respiratory infection in schools. **Methods** Epidemiological investigation was carried out on respiratory infection cases in schools. Pharyngeal swab samples of children were collected for respiratory tract virus nucleic acid detection, and hexon genes were amplified. Positive PCR result were sequenced. **Results** All cases were in school, involving 2 classes, 12 cases in class 2 (3) and 13 cases in class 3 (4), all on the west side of the 2nd and 3rd floors of teaching building 2. From September 3 to September 12, a total of 25 cases were involved, with the onset peak on the 10th and 11th. The clinical features were fever, cough, sore throat and aching limbs, etc. The onset was aggregated, the course of the disease was about 5 d, the prognosis was good, and there were no deaths. There are 13 males and 12 females. The males to females ratio is 1.08 : 1. The age distribution is 7-9 years, with an average of 8.6 years. The result of fluorescence quantitative PCR were negative for influenza A/B virus and positive for adenovirus. The products of positive samples after PCR amplification were sequenced as AdV-3 and AdV-4. **Conclusions** The combined result of epidemiological investigation and laboratory tests demonstrated that this epidemic of school respiratory tract infection is an upper respiratory tract infection caused by adenovirus B3 and E4 mixed infection.

【Key words】 Respiratory infection; Adenovirus; Outbreak

Fund programs: Program of Wuxi City Health and Family Planning Commission (T201739, Q201711), Major Projects of Wuxi City Health and Family Planning Commission (Z201718)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.04.007

人腺病毒(human adenoviruses, HAdVs)根据凝集红细胞能力的不同,可分为 57 个血清型;根据免

疫学、生物学、生物化学特性不同,又将其分为 A~G 7 个组,不同的血清型有不同的器官亲和性并引起

相应的临床表现^[1]。能引起呼吸道感染的主要包括 B、C、E 组 HAdVs^[1-2]。不同地区流行的 HAdVs 优势基因型也不同。2018 年 9 月,无锡市滨湖区某学校向当地疾控中心报告,学校三年级 1 个班和二年级 1 个班均出现不同程度的呼吸道症状,临床表现为:发热、咳嗽、咽痛和四肢酸痛等症状。滨湖区疾控中心组织流行病学和检验人员现场调查处置。

1 材料与方法

1.1 标本采集 根据病例的临床特点,制定诊断标准,凡符合腋下体温 $\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$,有发热、咳嗽、咽痛、四肢酸痛等症状者 25 人,纳入本次的流行病学调查范围。现场对该校二(3)班、三(4)班的 10 名病例进行鼻、咽拭子采样,采集后立即放入装有 3 ml 病毒采样液的采样管中,4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,立即送无锡市疾控中心进行呼吸道病毒核酸检测。

1.2 病毒核酸提取及 Real-time PCR 检测 核酸提取见参考文献[3]。Real-time PCR 检测应用北京金豪科技有限公司的荧光定量 RT-PCR 核酸检测试剂盒检测 HAdVs、甲型流感病毒和乙型流感病毒。

1.3 Hexon 基因扩增及序列测定 由上海生物工程合成 Hexon 基因测序引物, AdvF 5'-TTCCC ATGGCNCACAACAC-3'; AdvR 5'-GCCTCGATGACGCCGCGGTG-3', 用 TaKaRa 公司的 EX Taq 试剂盒(货号:DRR001R)扩增,PCR 反应条件为 94 $^{\circ}\text{C}$ 2 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,57 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,共 35 个循环;最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 延伸。扩增产物送上海美吉生物技术有限公司序列测定。

1.4 基因比对和构建系统发生树 使用 Bioedit 进行序列的比对和分析,进化树构建采用 MEGA 4.0 软件邻接法(Neighbor-Jointing, N-J)。

2 结果

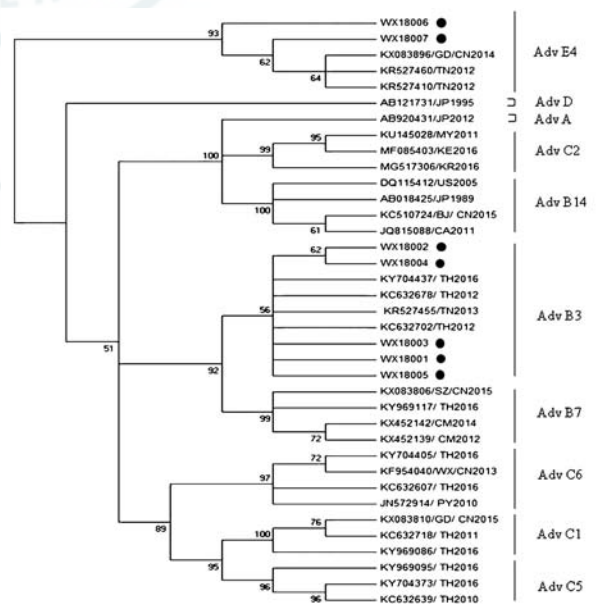
2.1 病例临床特征 首发病例为二(3)班学生,该生于 9 月 3 日出现发烧、咽痛、乏力、四肢酸痛,未就诊,自测体温达 39 $^{\circ}\text{C}$ 。9 月 3~4 日均上课,9 月 5 日上学后仍发烧,然后接回家,当日晚上体温恢复正常,9 月 7 日复课。其余病例症状如下:发热(腋温 $\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$)25 人,咽痛 15 人,头痛、乏力 10 人,畏寒 8 人,四肢酸痛 6 人,鼻塞 6 人,恶心、呕吐 4 人,流涕 2 人,咳嗽 2 人。

2.2 时间分布 从 9 月 3~12 日共发病 25 例,发

病高峰在 10、11 日。其中首例病例在 9 月 3 日出现,间隔 6 d 后于 9 日出现 1 例,10 日出现 12 例,11 日出现 7 例,12 日出现 4 例。之后未发现病例。

2.3 人群分布 本次病例发生在同一学校 2 个年级,男性 13 人,女性 12 人,男女性别比 1.08 : 1。年龄分布为 7~9 岁,平均 8.6 岁。所有患者均为轻症,除首例病例复课外,其他病例均居家隔离观察,其中二(3)班 12 例、三(4)班 13 例,均在 2 号教学楼二楼、三楼西侧。

2.4 病原鉴定 10 份标本经 Real-time PCR 检测后,甲/乙型流感病毒全部阴性,7 份腺病毒核酸阳性,经 Hep-2 细胞培养都有明显的 CPE。对 7 份标本 PCR 扩增、测序,测序获得的序列,登录 NCBI 网站,录入所获得的序列进行 BLAST 比对分析,比对结果为 5 份 B 组 3 型、2 份 E 组 4 型,由此得出引起本次暴发流行的腺病毒型别为 B3 和 E4。病例在班级分布为三(4)班 5 名同学均为 B3 型,二(3)班 2 名同学为 E4 型,两种型别分别分布在 2 个班级,从氨基酸同源性来看,5 株 B3 型标本氨基酸同源性为 99.45%~100%,与代表株 KR527455 比较,有 5 处位点缺失;2 株 E4 型标本氨基酸同源性为 100%,与代表株 KR527410 比较,有 3 处位点缺失。测序株与 GenBank 中腺病毒代表株比较,构建系统进化树



●为本次暴发疫情测序的毒株

图1 腺病毒测序株与 GenBank 中各型代表株 hexon 基因进化树

● Isolates in this study

Fig.1 Phylogenetic tree of hexon gene of adenovirus isolates and strains from GenBank

见图 1。

3 讨论

HAdVs 在全球普遍流行,其流行模式多变,常与 HAdVs 型别、流行地区和易感人群的年龄等因素相关。HAdVs 感染一年四季均可发生,在我国北方以冬春季节多见,南方以春夏季节常见^[4]。近年来,HAdVs 分型检测主要是扩增 HAdVs 六邻体基因并测序来对其分型,该方法简便快捷,可以快速确定突发疫情中 HAdVs 的型别,逐渐成为突发公共卫生事件中的主要手段^[5-6]。

本次 HAdVs 感染的潜伏期为 4~9 d,平均潜伏期为 6 d,根据相关文献资料显示 HAdVs 感染的潜伏期为 3~8 d^[7-8],这可能与本次疫情首发病例发病后继续上课造成的持续感染有关。从感染性别比例来看,男、女都可感染,无明显差别。患病学生主要集中在同一年级 2 个班内,并没有向外扩散,2 个班的日常相互接触频繁和教室相对密闭是此次暴发的主要原因。建议所有病例隔离至症状消失后 48 h,并经学校校医核实后方可复课,发病班级停课 2 d,近期停止参加校内集体活动,建议全校开展消毒工作,重点针对发病年级所在楼层加强消毒,增加教室开窗通风时间。

20 世纪 80 年代后,HAdVs 感染率有所下降,无较大规模暴发流行的报道,但近几年 HAdVs 感染又有所回升,局部引起暴发流行^[2]。2009 年,驻豫某部队暴发 HAdVs 和肺炎支原体混合感染^[9];2016 年,浙江 HAdV-3 引起的咽结膜热疫情^[10];2015 年,徐州某小学暴发 HAdV-14 感染^[11]。通过对 2011—2013 年无锡市儿童医院就诊的急性呼吸道患儿进行病原学检测,HAdVs 型别以 B 组和 C 组为主,未检测到 HADV-4 型,而本次暴发疫情的病原为 B3 型 E4 型混合感染,从而进一步分析,在无锡地区最近几年有出现新的 HAdVs 型别的可能。六邻体基因编码 HAdVs 的主要抗原蛋白,含有大量的抗原表位,不同型别的六邻体有很高的保守(78%~95%),可作为病毒型别鉴别依据^[12]。本次暴发疫情通过流行病学特征分析,发生在相对封闭环境的小学教室,年龄在 8~9 岁,都有急性呼吸道感染症状,再结合分子生物学技术手段扩增 Hexon 基因测序比对分析,最终确定为 B3 和 E4 型,2 个班级两种病原,且在一起暴发疫情中出现,这非常值得关注。说明两个班级的学生接触概率比较小,未出现 1 个班级

混合感染。

近年来 HAdVs 引起的儿童感染、学校和军营散在的暴发疫情多有报道,由于我国还没有形成 HAdVs 的监测网络,HADV-4 型引起的疫情报道也相对较少,无法获得我国 HAdVs 流行的确切信息。因此,非常有必要开展 HAdVs 的连续监测,从而进一步加强开展疾病的流行病学调查和疫苗研发工作。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 马广源: 酝酿和设计实验,撰写文章;肖勇: 分析数据、行政支持;鲍静、蒋露: 采集数据、统计分析;季亚勇: 实施研究;沈元: 流行病学调查,指导

参考文献

- [1] 谢立. 腺病毒感染[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 8-10.
- [2] 段亚丽, 谢正德. 我国呼吸道感染人腺病毒的基因型流行概况[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2018, 32(4): 430-434. DOI: 10.3760/cma.i.issn.1003-9279.2018.04.022.
- [3] 马广源, 刘瑞霞, 肖勇, 等. 2011—2013 年无锡地区人腺病毒流行特征与基因分型研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2016, 30(5): 457-460. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2016.05.010.
- [4] Li Y, Zhou W, Zhao Y, et al. Molecular typing and epidemiology profiles of human adenovirus infection among paediatric patients with severe acute respiratory infection in China[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123234. DOI: 10.1371/journal.pone.0123234.
- [5] La Rosa G, Iaconelli M, Pourshaban M, et al. Molecular characterization of adenovirus from clinical samples through analysis of the hexon and fiber genes[J]. J Gen Virol, 2011, 92(Pt 2): 412-420. DOI: 10.1099/vir.0.023176-0.
- [6] 王蓉, 李寿俊, 易波, 等. 浙江省奉化市一起腺病毒感染暴发疫情调查[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2017, 44(3): 187-190. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1673-4149.2017.03.009.
- [7] 全军传染病委员会. 新发传染病中西医结合临床救治课题组. 腺病毒感染诊疗指南[J]. 解放军医学杂志, 2013, 38(7): 529-534.
- [8] 解艳涛, 杨艳娜, 李洪军, 等. 一起腺病毒 3 型引起的小学呼吸道感染暴发疫情的流行病学调查[J]. 疾病监测, 2016, 31(11): 972-974. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2016.11.019.
- [9] 王全楚, 段新科, 李争. 一起肺炎支原体和腺病毒混合感染暴发疫情的调查[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(7): 725. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.07.020.
- [10] 李寿俊, 董维波, 夏颖苹, 等. 一起腺病毒 3 型引起的咽结膜热暴发疫情流行病学调查[J]. 疾病监测, 2017, 32(8): 703-705. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2017.08.022.
- [11] 祝雯雯, 吴畏畏, 孙传武, 等. 腺病毒感染引起的两起呼吸道感染暴发的调查[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2018, 32(3): 289-291. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2018.03.016.
- [12] Rux JJ, Burnett RM. Adenovirus structure[J]. Hum Gene Ther, 2004, 15(12): 1167-1176. DOI: 10.1089/hum.200415.1167.

(收稿日期: 2019-06-06)

(本文编辑: 唐润英)