

· 现场调查 ·

玉溪市一起人腺病毒感染导致的儿童呼吸道感染暴发疫情调查

贾森泉¹ 吴开伟² 何燕莎¹ 国列¹ 周洁楠¹

¹云南省疾病预防控制中心急性传染病防制所, 昆明 650034; ²玉溪市红塔区疾病预防控制中心急传科, 玉溪 653199

通信作者: 周洁楠, Email: 1191087570@qq.com

【摘要】 **目的** 了解云南省玉溪市一起儿童呼吸道感染暴发疫情的流行病学及病原学特征。**方法** 对此次暴发进行现场调查, 对病例发病过程及流行病学特征进行描述性研究。采集与此次暴发有流行病学相关的住院病例咽拭子样本, 采用实时荧光 PCR 方法对样本进行腺病毒核酸检测, 并对腺病毒核酸阳性样本进行病毒分离培养, 对分离株进行六邻体基因扩增、测序。**结果** 此次疫情历时 11 d, 共出现 58 例住院患儿, 临床症状以发热、畏寒和扁桃体发炎为主, 在发病前 7 d 内有某游泳馆暴露史。所采集的 20 份咽拭子样本腺病毒核酸检测均为阳性, 分离培养得到 13 株腺病毒毒株。六邻体基因测序得出所测 13 株腺病毒序列相同, 基因进化树显示这批分离株均为腺病毒 B 群, 与人腺病毒 7 型参考株处于同一分支, 同源率为 100.00%。**结论** 此次疫情有明显的聚集性和儿童易感性, 引起疫情的病原为腺病毒 7 型。

【关键词】 腺病毒; 人; 儿童; 泳池; 呼吸道疫情; 基因分型

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20220927-00194

Investigation of an outbreak of respiratory tract infection caused by adenovirus in children in Yuxi City

Jia Senquan¹, Wu Kaiwei², He Yansha¹, Guo Lie¹, Zhou Jienan¹

¹Institute of Acute Infectious Disease Prevention and Control, Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650034, China; ²Department of Emergency Communication, Hongta District Center for Disease Control and Prevention, Yuxi 653199, China

Corresponding author: Zhou Jienan, Email: 1191087570@qq.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the epidemiological and pathogenic characteristics of an outbreak of respiratory tract infection in children in Yuxi, Yunnan. **Methods** The outbreak in Yuxi City was investigated to analyze the process of disease and epidemiological characteristics. Throat swab samples of hospitalized cases related to the outbreak were collected and tested by real-time PCR for adenovirus. The positive adenovirus specimens were used for viral isolation. The hexon regions of the isolated strains were amplified and sequenced. **Results** The epidemic lasted 11 days with a total of 58 hospitalized children. The main clinical symptoms were fever, chills, tonsil inflammation. All the cases exposed to the same swimming pool within 7 days before the onset. A total of 20 throat swab specimens were positive for respiratory adenovirus, and 13 adenovirus strains were isolated and cultured. The hexon gene sequencing showed the same sequence among 13 adenovirus strains, which were all adenovirus B subsets by phylogenetic tree and were homologous to those of human adenovirus type 7 with 100.00% similarity. **Conclusions** This outbreak has an obvious aggregation and susceptibility in children, and the pathogen is adenovirus type 7.

【Key words】 Adenoviruses, human; Children; Pool; Respiratory outbreak; Genotype

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20220927-00194

人腺病毒(human adenovirus, HAdV)是一种能引起人类急性呼吸道传染病的常见病原体,主要通过飞沫和接触传播^[1]。HAdV 感染多发于 6 月龄至 5 岁儿童,部分患儿临床表现严重,肺外并发症多,重症病例易遗留慢性气道和肺疾病,是目前造成婴幼儿肺炎死亡和致残的重要原因之一^[2]。HAdV 根据免疫及生化特性分为 A~G 7 个组,至少 113 个血清型(<http://hadv.wg.gmu.edu/>),呼吸道感染疫情中,B 组的 3 型和 7 型是我国的主要流行型别,易引起上呼吸道感染和肺炎。2021 年 8 月初,云南省玉溪市儿童医院报告一起疑似腺病毒的感染事件,感染者均为有某泳池暴露史的儿童,经由医院所在地区 CDC 调查确定此次疫情为一起儿童聚集性呼吸道腺病毒感染疫情。本文对此次疫情进行分析,为今后聚集性疫情的防控提供依据。

对象与方法

一、研究对象

本研究纳入 2021 年 7 月 29 日至 8 月 10 日在云南省玉溪市儿童医院入院的具有呼吸道感染症状的患儿,主要临床症状为发热、扁桃体发炎、结膜炎等。

二、流行病学调查

所有临床诊断病例均由玉溪市红塔区 CDC 专业人员进行流行病学个案调查,使用统一的调查表对住院患儿进行回顾性调查,收集患儿的临床病历资料及流行病学资料,同时对流行病学资料中提到的游泳池场所开展现场调查。

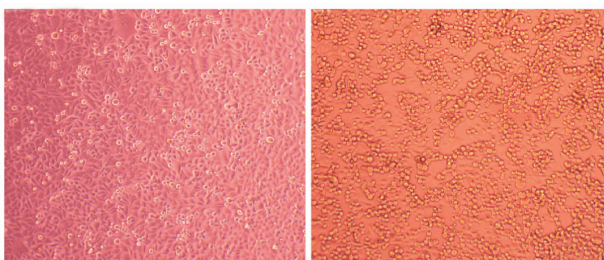
三、实验室检测

1. HAdV 核酸检测

采集住院患儿咽拭子样本 20 份,送玉溪市红塔区 CDC 进行核酸检测。采用全自动核酸提取仪(江苏硕世生物科技有限公司,型号:SSNP-9600A)及其配套核酸提取试剂盒(磁珠法,货号:SDKF60102)进行提取,HAdV 核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法,货号:JC10117)进行检测,操作及结果判定均根据试剂盒说明书进行。所用试剂盒均购自江苏硕世生物科技有限公司。

2. 病毒分离培养

将核酸阳性的咽拭子样本过滤后接种于 Hep-2 细胞,传代培养,待出现典型致细胞病变效应(CPE)后,收集病毒培养液,保存备用。细胞病变效应如图 1 所示。



对照

细胞病变效应

注:对照:Hep-2 传代细胞(72 h);细胞病变效应 Hep-2 病变细胞(72 h)

图 1 接种人腺病毒核酸阳性样本后的 Hep-2 细胞病变效应(无染色,×100)

3. 六邻体基因的扩增及测序

将病毒培养液经核酸提取后进行六邻体通用引物扩增测序。六邻体通用扩增引物设计依据日本国立传染病研究所和地方卫生研究协会 2015 年联合出版的《病原体检测手册》^[3],如表 1 所示。扩增条件:预变性 98 °C 2 min;变性 98 °C 10 s,退火 50 °C 10 s,延伸 72 °C 30 s,35 次循环;最后 72 °C 延伸 5 min。

将上述 PCR 反应得到的扩增产物送北京擎科新业生物技术有限公司进行测序。测序结果运用 seqman 软件进行核苷酸序列拼接整理,并对测序结果进行 BLAST 比对,确定型别。

表 1 呼吸道腺病毒 PCR 所使用的引物

引物类型	引物名称	引物序列(5'-3')
六邻体通用引物	ADV956-F	TTC CCC ATG GCN CAC AAC AC
	ADV956-R	GCC TCG ATG ACG CCG CGG TG

4. 腺病毒全基因组测序及进化分析

对病毒培养物进行核酸提取后,应用 Illumina Miseq 高通量测序仪对病毒进行全基因组序列测定,序列测定使用的 DNA 样本建库试剂盒(Nextera XT DNA Sample Prep Kit)以及 Miseq 测序试剂盒(MiSeq Reagent Kits v2,300cycles)均购自 Illumina 公司。下机数据使用 CLC Genomicsworkbench 软件进行处理,使用 MAFFT 进行多序列比对,采用

MEGA7.0 软件以邻接法(neighbor-joining,NJ)构建腺病毒全基因组亲缘关系树,使用 bootstrap 法对系统发育树进行 1 000 次重复检验。

结 果

一、流行病学现场调查

2021 年 7 月 29 日起,玉溪市儿童医院陆续报告有发热、扁桃体炎和结膜炎等症状的患儿。医院所在玉溪市红塔区 CDC 工作人员对这些患儿进行流行病学调查,共发现 58 例相关病例,年龄在 3~12 岁,其中女性 34 例,男性 24 例,家庭住址散在分布,发病时间在 7 月 29 日至 8 月 9 日(历时 11 d),综合流行病学调查,上述 58 例病例发病前 7 天均有某游泳馆暴露史。

经与该游泳馆工作人员访谈及实地考察,该游泳馆共有大小游泳池各 1 个,以玻璃墙分隔,相对独立。共有 4 个卫生间,其中 1 个为亲子卫生间;3 个为淋浴房,其中 1 个为小龄儿童清洗池。该游泳馆暑期接待人数较多,每日接待量为 60~100 人。

二、临床症状

住院病例主要症状为发热(100.00%,58/58),部分患者儿有畏寒(27.59%,16/58)、咳嗽(22.41%,13/58)、咽充血(24.14%,14/58)、扁桃体肿大(27.59%,16/58)以及咽痛、鼻塞、流涕等呼吸道症状,还有部分患儿出现腹痛、腹泻、呕吐等胃肠道症状。

三、实验室检测

1.病毒核酸检测

20 份咽拭子样本的 HAdV 核酸检测结果均为阳性。

2.病毒分离培养

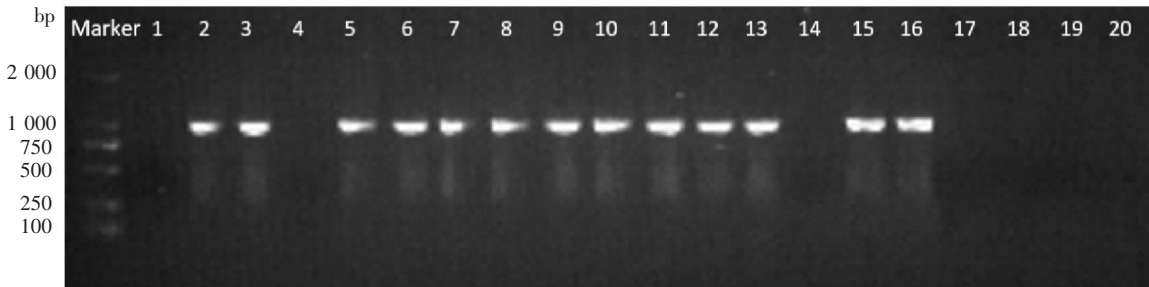
20 份培养物编号为 1~20。经培养得到 13 株毒株,毒株命名为 YXAdV-xx,xx 代表培养物编号。

3.六邻体基因测序分型

20 份培养物的六邻体基因分型通用片段经普通 PCR 扩增后,经电泳鉴定,结果如图 2 所示。20 份培养物的六邻体基因分型通用片段经普通 PCR 扩增后,经 1%琼脂糖凝胶电泳鉴定,13 份在约 1 000 bp 处出现清晰条带,片段大小与目的片段相符。扩增产物送至北京擎科新业生物技术有限公司进行测序,并对测序结果进行比较和 BLAST,13 株毒株序列完全一致,BLAST 结果与 HAdV-7 型最相似,初步确定导致本起疫情的病原为 HAdV-7 型。

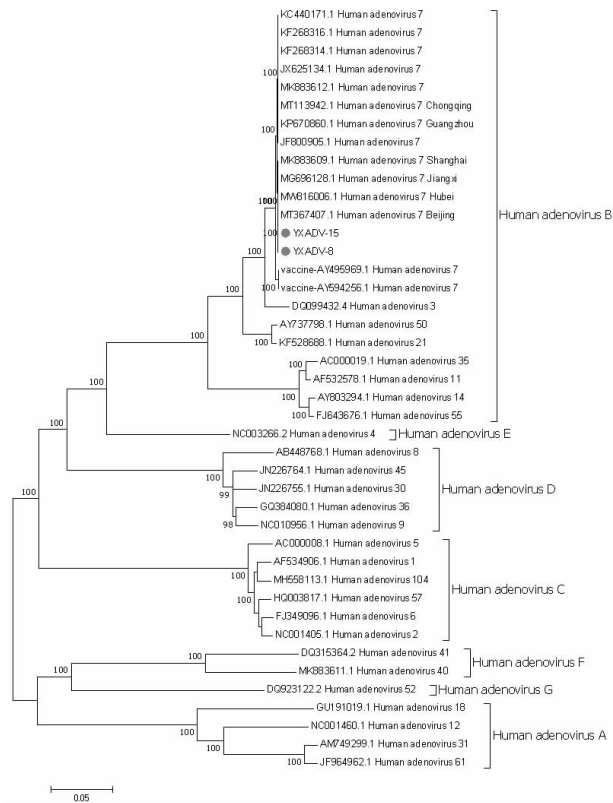
4.全基因组进化分析

随机选取病毒分离株 YXAdV-8、YXAdV-15 进行全基因组测序,经序列拼接分别获得全长 35 226 bp 和 35 235 bp 的基因序列。从 NCBI 中获得腺病毒各组的全基因组序列作为参考株构建系统发育进化树(见图 3),可见 YXAdV-8 与 YXAdV-15 分布在 B 组 HAdV-7 型分支,与 2018 年我国北京市分离的 1 株 HAdV-7 毒株(BJ20180728/CHN/2018,GenBank 登录号 MT367407)亲缘关系最近。经比对分析,结果显示获得的腺病毒基因组 YXAdV-8 与 YXAdV-15 无碱基差异,与数据库中 MT367407 同源性最高,仅存在 2 个核苷酸差异,分别为第 27 181 位(G→T),34 899 位(T→C)。其中 G27181T 位于 protein VIII 的编码区,但未导致氨基酸发生变化,T34899C 位于序列 3' 末端的非编码区。另外,以 MT367407 为准,分离株在 15 513 和 15 514 处存在一个双碱基插入(AA),位于 penton base protein 的 CDS 区(13 880~



注:Marker 代表 DL2000;1~20 代表 20 份培养物

图 2 20 份咽拭子培养物的 Hexon 分型通用片段扩增产物凝胶电泳显示结果



注：“●”标记为本研究病毒分离株,其余为 GenBank 参考株

图 3 基于腺病毒全基因组构建的系统进化树

15 514)末尾,未导致氨基酸变异或移码。在 3 个结构蛋白 penton base、hexon 和 fiber 上,本研究分离株的核苷酸和氨基酸与参考株 MT367407 的同源性均为 100.00%,该结果提示分离株可能与参考株具有相同的进化来源或进化历史。

讨 论

HAdV 感染后出现的呼吸道症状是非特异性的,发热、咳嗽和咽痛是呼吸道 HAdV 感染最常见的 3 种症状^[4]。HAdV 的传播方式主要为飞沫传播、接触传播和粪-口传播^[5],可在群体免疫力水平较低的人群中大范围流行,各年龄段人群均可感染,婴幼儿、老年人以及免疫功能低下者较易感染;在通风不良、相对密闭、人群密集的医院、军营、学校等地方易发生 HAdV 的群体性感染^[1]。根据患儿的临床表现和流行病学调查,结合实验室检测结果,本研究初步判定本次疫情暴发的病原为 HAdV,发病儿童年龄集中在 3~6 岁,都有同一游泳池的接触

史,推测可能是由于该游泳池环境较密闭且感染对象为免疫力较低的儿童,病毒传播较易实现。

由于我国尚未建立 HAdV 的感染监测体系^[6],且针对 HAdV 尚无特效药,因此,快速有效地诊断对疫情防控具有重大意义。六邻体蛋白是 HAdV 的主要群特异性抗原和型特异性抗原^[7-8],常通过扩增 HAdV 六邻体基因并测序来对 HAdV 进行分型分析。本研究使用 HAdV 六邻体基因测序方法,确定本次泳池感染疫情的病原体为 HAdV 的 B 亚群 7 型。HAdV-7 虽然与其他型 HAdV 在感染途径上无差别,但在感染后患儿通常发热持续时间更长,更容易发生呼吸急促/呼吸困难、胸腔积液、腹泻、肝脾肿大和意识改变等症状,也更可能发展成肺炎,同时伴随着更高的死亡率^[4]。本研究通过对分离株全基因组的序列分析,发现本研究分离株与近年来国内流行的 HAdV-7 亲缘关系较近,与 2018 年北京市分离的 1 株 HAdV-7 菌株(BJ20180728/CHN/2018, MT367407)亲缘关系最近,核苷酸同源性为 99.99%,非结构蛋白和结构蛋白 CDS 区氨基酸同源性均为 100.00%,说明腺病毒在基因组上的高度保守性与稳定性,这与国内的其他报道相似^[4]。

近年来,我国多地暴发过与游泳池相关的呼吸道感染疫情^[9-10],与本次疫情的病原型别相同,且均以儿童感染为主,伴有发热、咳嗽、咳痰等临床症状。除 HAdV-7 外,其他型别也会引起游泳池疫情暴发,如广东从化^[11]、北京^[12]以及格鲁吉亚^[13]等地是由 HAdV-4 引起,浙江奉化^[14]以及广东广州^[15]等地由 HAdV-3 引起。由于 HAdV 型别不同导致疫情暴发的严重程度不同,因此对相关疫情的进行病原分析,了解其病原型别,有利于之后制定防控措施,继而更加精准地进行疫情处置。

疫情暴发后,通过对患者进行及时的隔离、诊疗,对密切接触者进行医学观察,对发生疫情的游泳馆进行封锁、消毒等措施,暴发疫情得到有效控制。本次疫情调查也存在一定的局限性,没有收集到全部病例的样本,虽然确定了此次疫情的病原,但由于调查时间较晚,未能找到传染源。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 贾森泉:采集数据,起草文章和对文章的知识性内容作批判性审阅;吴开伟:采集数据;何燕莎:实施研究和统计分析;国列:实施研究;周洁楠:酝酿和设计实验,分析/解释数据和对文章的知识性内容作批判性审阅

参 考 文 献

- [1] 谢立.腺病毒感染[M].北京:科学出版社,2013:29-32.
- [2] 国家卫生健康委员会,国家中医药管理局.儿童腺病毒肺炎诊疗规范(2019年版)[J].传染病信息,2019,32(4):293-298. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2019.04.002.
- [3] 小泉信夫,川端宽树,增泽俊幸,等.病原体检测手册(2015年版)[M].日本:国立传染病研究所,2015:927-943.
- [4] Yu Z, Zeng Z, Zhang J, et al. Fatal community-acquired pneumonia in children caused by re-emergent human adenovirus 7d associated with higher severity of illness and fatality rate [J]. Sci Rep, 2016, 6: 37216. DOI: 10.1038/srep37216.
- [5] 梅晓乐,陈威巍.中国呼吸道腺病毒流行趋势及临床诊疗进展[J].中国临床医生杂志,2019,47(10):1159-1161. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8552.2019.10.010.
- [6] 余昭,孙琬琬,刘社兰,等.呼吸道传染病监测体系运行状况分析[J].预防医学,2021,33(1):101-103. DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.01.027.
- [7] Davison AJ, Benkő M, Harrach B. Genetic content and evolution of adenoviruses[J]. J Gen Virol, 2003, 84(Pt11): 2895-2908. DOI: 10.1099/vir.0.19497-0.
- [8] Lu X, Erdman DD. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene[J]. Arch Virol, 2006, 151(8): 1587-1602. DOI: 10.1007/s00705-005-0722-7.
- [9] 邹勇.一起中小學生咽結膜熱暴發疫情調查[J].中國學校衛生, 2013, 34(5): 632-633.
- [10] 应丽红,戴晓爱,章国宝,等.某游泳池腺病毒感染暴發疫情的調查及病原學檢測[J].中國衛生檢驗雜誌,2021,31(3):364-367.
- [11] 陈凤灵,刘慧,潘雪梅,等.广东省一起因游泳引起的咽结膜热暴發調查 [J]. 疾病监测, 2018, 33 (8): 703-706. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.08.020.
- [12] Li J, Lu X, Sun Y, et al. A swimming pool-associated outbreak of pharyngoconjunctival fever caused by human adenovirus type 4 in Beijing, China[J]. Int J Infect Dis, 2018, 75: 89-91. DOI: 10.1016/j.ijid.2018.08.009.
- [13] D'Angelo LJ, Hierholzer JC, et al. Pharyngoconjunctival fever caused by adenovirus type 4: report of a swimming pool-related outbreak with recovery of virus from pool water[J]. J Infect Dis, 1979, 140(1): 42-47. DOI: 10.1093/infdis/140.1.42.
- [14] 王蓉,李寿俊,易波,等.浙江省奉化市一起腺病毒感染暴發疫情調查[J].國際流行病學傳染病學雜誌,2017,44(3):187-190. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1673-4149.2017.03.009.
- [15] 刘维斯,宋铁,周端华,等.一起由腺病毒 3 型引起的兒童咽結合膜熱暴發[J].疾病监测,2005,20(4):176-179. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2005.04.005.

(收稿日期:2022-09-27)

欢迎订阅

2024 年《国际流行病学传染病学杂志》