

急性下呼吸道感染儿童肠道病毒感染的状况

李嘉¹ 张兵² 肖霓光² 丁小芳² 谢志萍³ 段招军³

(1. 长沙市中心医院, 湖南 长沙 410003; 2. 湖南省人民医院儿科医学中心, 湖南 长沙 410005;
3. 中国疾病预防控制中心与病毒生物技术国家工程研究中心, 北京 100052)

[摘要] **目的** 了解急性下呼吸道感染(ALRTI)患儿肠道病毒(EV)的感染状况和临床特征。**方法** 抽取2007年9月至2008年4月因ALRTI在湖南省人民医院儿科医学中心住院的患儿的鼻咽抽取物单数号样本404份,应用EV5'端非编码区(5'-NCR)保守序列设计引物,采用巢式逆转录RT-PCR法检测标本中EV感染状况。**结果** 404份ALRTI标本中,检出EV19例(4.7%),大部分患儿年龄在3岁以下(95%),男女EV检出阳性率差异无统计学意义。EV阳性患儿临床诊断为支气管肺炎者13例(68%)、毛细支气管炎者6例(32%),90%患儿有发热症状,84%有咳嗽,63%有气喘,63%有合并症,其中主要为腹泻(6例)、粒细胞减少症(4例)和急性呼吸窘迫综合征(2例)。EV阳性患儿白细胞异常的发生率为26%,一半以上存在肝功能异常,少数有心肌受累。**结论** EV是儿童ALRTI不可忽视的病原之一,应密切关注EV感染的流行病学状况和临床特点,并定期测定患儿血常规、肝功能和心肌酶,努力改善其预后。
[中国当代儿科杂志,2013,15(5):372-374]

[关键词] 急性下呼吸道感染;肠道病毒;儿童

Status of enterovirus infection in children with acute lower respiratory tract infection

LI Jia, ZHANG Bing, XIAO Ni-Guang, DING Xiao-Fang, XIE Zhi-Ping, DUAN Zhao-Jun. Changsha Central Hospital, Changsha 410003, China (Zhang B, Email: zhangbing1959415@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To investigate the status of enterovirus (EV) infection in children with acute lower respiratory tract infection (ALRTI). **Methods** A total of 404 samples (with odd numbers) of nasopharyngeal aspirates were collected from the children who were hospitalized in the Children's Medical Center, Hunan Provincial People's Hospital due to ALRTI between September 2007 and April 2008. The conserved sequence in the 5'-noncoding region of EV was used to design the primer, and nested RT-PCR was performed to detect EV in the samples. **Results** Of the 404 samples, 19 (4.7%) were EV-positive, and mostly taken from children under 3 years of age (95%); there was no significant difference in the detection rate between male and female children. Of the EV-positive children, 13 (68%) were clinically diagnosed with bronchial pneumonia, and 6 (32%) with bronchiolitis; 90% of them showed symptoms of fever, 84% had a cough, 63% had asthma, and 63% had complications mainly including diarrhea (6 cases), granulocytopenia (4 cases), and acute respiratory distress syndrome (2 cases). In addition, 26% of the EV-positive children had leukocyte disorder, more than half had liver dysfunction, and a few had myocardial involvement. **Conclusions** EV is a pathogen that should not be neglected in children with ALRTI. For these children, close attention should be paid to the epidemiological status and clinical features of EV infection, and blood routine examination, liver function test and myocardial enzyme assay should be carried out periodically to improve prognosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(5):372-374]

Key words: Acute lower respiratory tract infection; Enterovirus; Child

急性下呼吸道感染(acute low respiratory tract infection, ALRTI)是儿童常见病,以呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、副流感病毒(para-influenza, PIV)、流感病毒(influenza virus, IFV)、腺

病毒(adenovirus, ADV)和人偏肺病毒(human Metapneumovirus, hMPV)等为常见病原^[1-4]。肠道病毒(enterovirus, EV)为小核糖核酸病毒,广泛存在于自然界,可引起无菌性脑膜炎、心肌炎、肝炎、手足口病、

[收稿日期]2012-09-02;[修回日期]2012-10-11
[基金项目]湖南省自然科学基金资助项目,基金编号:07JJ5055。
[作者简介]李嘉,女,硕士研究生,主治医师。
[通信作者]张兵,教授。

流行性出血热等多种临床疾病,少数可出现肺水肿、脑炎、循环衰竭等症状,严重者导致死亡^[5]。近年研究发现,EV 在儿童 ALRTI 中同样占据着重要地位^[6-7],但国内相关报道较少。因此,本研究对 2007 年 9 月至 2008 年 4 月湖南省人民医院儿科医学中心因 ALRTI 住院的患儿进行了 EV 检测,旨在初步了解 ALRTI 患儿 EV 的感染状况和临床特征,为本地区儿童 ALRTI 的防治工作提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以 2007 年 9 月至 2008 年 4 月在湖南省人民医院儿科医学中心因 ALRTI 住院的患儿作为研究对象,出院时未诊断为 ALRTI 的病例予以剔除,临床疾病诊断标准均依据诸福棠《实用儿科学》第七版^[8]。标本采集前征得患儿家属知情同意和医院伦理委员会的批准。符合入选标准患儿的鼻咽抽吸物样本共 808 份,按病例号先后顺序从 1 至 808 依次排序,取单数号标本作为研究对象,最终 404 个标本入选。入选患儿中,年龄范围 1 d 至 8 岁,平均年龄为 13.9 个月,男性 244 例,女性 160 例,男女性别比为 1.53:1。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集 入选患儿均在入院 24 h 内留取标本。先采用一次性无菌吸痰管经鼻腔插入 7~8 cm 达到咽部以下,负压吸取深部分泌物 1~2 mL,再加入约 1 mL 病毒保护液(含 200 U/mL 青霉素,200 U/mL 链霉素,200 U/mL 两性霉素 B 及 0.125% BSA),置漩涡振荡器上充分振荡混匀,冻融 2 次,10000 × g 离心 15 min,吸取上清,最后于 -80℃ 冰箱保存用于病毒核酸提取。

1.2.2 EV 病毒检测 病毒 RNA 的提取使用 QIAamp®病毒 RNA 小量提取试剂盒,具体操作参照说明书进行。M-MuLV 反转录酶为 Biolab 公司产品,Ex Tap 酶为 Takara 公司产品。提取的 RNA 用随机引物逆转录成 cDNA,随后进行 PCR 反应检测 EV71。第一轮 PCR 上游引物:5'-CGGCCCCTGAATGCGGC-3',下游引物:5'-CACCGGATGGCCAATCCA-3',反应条件为 95℃ 预变性 4 min;95℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 15 s,30 个循环;最后 72℃ 延伸 7 min。巢式 PCR 上游引物:5'-ATTGTCACCATAAGCAGC-CA-3',下游引物:5'-CCCCTGAATGCGGCTAAT-3',反应条件为 95℃ 预变性 4 min;95℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 12 s,30 个循环;最后 72℃ 延伸 7 min。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,阳性扩

增产物纯化回收,随后进行核苷酸序列测定。

1.2.3 核苷酸序列测定及比对分析 所有阳性扩增产物纯化回收后送北京诺赛基因研究中心进行序列测定。利用生物软件 DNASTAR 将所测得的序列与 GenBank 中的参考株进行同源性比对及核苷酸、氨基酸序列的变异分析,利用 MEGA 3.1 软件完成种系进化分析。

1.2.4 病例资料收集 临床资料收集按照标本采集登记表在患儿出院后通过病历查阅获得,入选病例均做了血尿粪常规、血生化、血气分析、鼻咽分泌物或大便的细菌培养、肝功能和心肌酶谱等实验室检查。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计数资料以率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EV 阳性检出情况

在 404 名 ALRTI 患儿标本中,检出 EV 阳性 19 例,阳性率为 4.7%。其中,单纯 EV 病毒感染者 5 例,与其它病毒混合感染者 14 例,分别为 RSV(10 例)、鼻病毒(human rhinovirus, HRV)(2 例)、多瘤病毒 KI(KI polyomaviruses, KIPYV)(1 例)、PIV3(1 例)。EV 阳性检出病例的年龄范围为 1 d 至 39 个月,平均为 10.3 个月,大部分为 3 岁以下患儿(95%),其中,12 个月以下患儿占 74%。6 个月以上(含 6 个月)、12 个月以下患儿 EV 阳性检出率最高(6.1%),其次是 6 个月以下患儿(5.5%),但各年龄段 ALRTI 患儿 EV 阳性检出率的差异无统计学意义($\chi^2 = 1.186, P > 0.05$),见表 1。19 例 EV 检出患儿中,男性 12 例,占男性 ALRTI 患儿的 4.9%;女性 7 例,占女性 ALRTI 患儿的 4.4%,男女 EV 阳性检出患儿性别比为 1.7:1,经检验,男女患儿 EV 阳性检出率的差异无统计学意义($\chi^2 = 0.063, P > 0.05$),见表 2。

表 1 ALRTI 患儿 EV 阳性检出者年龄分布

年龄 分组	ALRTI 患儿例数	EV 阳性 检出例数	EV 阳性 检出率(%)
<6 个月	128	7	5.5
6 个月 ~	114	7	6.1
12 个月 ~	116	4	3.5
36 个月 ~	34	1	2.9
60 个月 ~	12	0	0
合计	404	19	4.7

表 2 ALRTI 患儿 EV 阳性检出者的性别分布

性别 分组	ALRTI 患儿例数	EV 阳性 检出例数	EV 阳性 检出率(%)
男	244	12	4.9
女	160	7	4.4

2.2 EV 阳性患儿的临床资料

19 例 EV 阳性患儿中,13 例临床诊断为支气管肺炎(68%),6 例为毛细支气管炎(32%);90% 有发热症状(17 例),84% 有咳嗽(16 例),63% 有气喘(12 例),26% 有气促(5 例),11% 有发绀(2 例)。63% 有其他合并症,主要为腹泻(6 例)、粒细胞减少症(4 例)和急性呼吸窘迫综合征(2 例)。

2.3 EV 阳性患儿的实验室检查结果

EV 阳性患儿的外周血白细胞值范围是(3.40 ~ 17.80) × 10⁹/L,平均水平为(9.49 ± 3.75) × 10⁹/L,以儿童 WBC 取值(5.0 ~ 12.0) × 10⁹/L 为正常,EV 阳性患儿白细胞异常的发生率为 26%,其中 WBC 取值偏低者 2 例,偏高者 3 例,2 例 WBC 偏低者同时伴有粒细胞减少症。

19 例 EV 阳性患儿中,肝功能检测示谷丙转氨酶异常 2 例(11%),谷草转氨酶异常 12 例(63%),CK-MB 取值异常 5 例(26%),乳酸脱氢酶异常 3 例(16%)。

3 讨论

EV 广泛存在于自然界,经消化道或呼吸道传播,可引起多种临床疾病,儿童是最易感人群。研究发现,近年来我国北京、重庆、长春等地区 EV 在儿童 ALRTI 中也占据着重要地位^[9-11]。

本研究中, EV 阳性率为 4.7%, 低于北京(17.4%)^[9]、重庆(16.2%)^[10]、长春(12.7%)^[11]等地区 ALRTI 患儿 EV 阳性率,这可能与气候和地理区域等不同所致,但仍提示 EV 是长沙地区儿童 ALRTI 不可忽视的病原之一。本研究中 EV 检出病例以 3 岁以下患儿为主,可能与婴幼儿免疫功能尚不健全或体内缺乏特异性 EV 抗体有关。本研究 EV 阳性患儿临床诊断以支气管肺炎(68%)和毛细支气管炎(32%)为主,提示 EV 感染与支气管肺炎和毛细支气管炎存在一定关系,需要增强对 EV 感染在各种 ALRTI 疾病中的认识。本研究中 90% 的 EV 感染患儿有发热,84% 的患儿有咳嗽,63% 的患儿有气喘,这与呼吸道合胞病毒相似,63% 的患儿具有除 ALRTI 以外的其他并发症,主要为腹泻、粒细

胞减少症和呼吸功能不全,与北京^[9]、重庆^[10]、长春^[11]等地区的调查一致。儿童 ALRTI 伴有腹泻为 EV 感染的特点之一^[6-7],在临床上可提示应考虑 EV 引起的 ALRTI。同时,本研究中 EV 阳性患儿白细胞异常的占 26%,一半以上存在肝功能异常,16% 有心肌酶谱异常,面临着心肌受累的危险。因此,针对 EV 感染所致的 ALRTI 患儿,要定期测定血常规和肝功能、心肌酶,及时预防各种损伤的发生。

本研究证实了 EV 在长沙市儿童 ALRTI 中的存在,这对公共卫生决策者和医务人员认识 ALRTI 的病毒病原谱是一个很好的补充,同时初步认识了本地区儿童 ALRTI 中, EV 阳性检出病例以低龄婴幼儿为主,与支气管肺炎和毛细支气管炎存在一定关系,常伴有腹泻,此外,出现白细胞、肝功能和心肌酶谱异常较常见,因此,须密切关注 EV 感染的流行病学状况和临床特点,努力改善其预后。

[参 考 文 献]

[1] Ampofo K, Bender J, Sheng X, Korgenski K, Daly J, Pavia AT, et al. Seasonal invasive pneumococcal disease in children: role of preceding respiratory viral infection[J]. Pediatrics, 2008, 122(2): 229-237.

[2] Black RE, Cousens S, Johnson HL, Lawn JE, Rudan I, Bassani DG, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis[J]. Lancet, 2010, 375(9730): 1969-1987.

[3] Pavia AT. Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis[J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(4): 284-289.

[4] 肖霓光,张兵,段招军,谢志萍,周琼华,钟礼立,等. 1165 例急性下呼吸道感染住院儿童的病毒病原学分析[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(1): 28-32.

[5] Khetsuriani N, Lamonte-Fowlkes A, Oberst S, Pallansch MA; Centers for Disease Control and Prevention. Enterovirus surveillance—United States, 1970-2005[J]. MMWR Surveill Summ, 2006, 55(8): 1-20.

[6] Jacobson LM, Redd JT, Schneider E, Lu X, Chern SW, Oberste MS, et al. Outbreak of lower respiratory tract illness associated with human enterovirus 68 among American Indian children[J]. Pediatr Infect Dis J, 2012, 31(3): 309-312.

[7] Jacques J, Moret H, Minette D, Lévêque N, Jovenin N, Deslée G, et al. Epidemiological, molecular, and clinical features of enterovirus respiratory infections in French children between 1999 and 2005[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(1): 206-213.

[8] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第七版. 北京:人民卫生出版社,2002: 1174-1185.

[9] 袁艺,宋国维,曹玲,崔小岱,钱渊,朱春梅,等. 肠道病毒相关的小儿急性呼吸道感染的研究[J]. 中国实用儿科杂志,2007, 22(4): 292-294.

[10] 张志勇,陈昕,杨锡强,赵晓东. 重庆地区急性呼吸道感染儿童肠道病毒检测结果分析[J]. 临床儿科杂志,2008, 26(6): 473-476.

[11] 梁颖,李丽红,孙利炜. 肠道病毒(EV71)所致小儿急性呼吸道感染的临床分析[J]. 中国妇幼保健,2009, 24(35): 5013-5014.

(本文编辑:王庆红)