

呼吸道感染肠道病毒 D68 型病例特征分析

蒋卓婧¹, 黄泽民¹, 王吉玲², 陈金堃²

1. 绍兴市疾病预防控制中心微生物检验科, 浙江 绍兴 312000; 2. 绍兴市疾病预防控制中心, 浙江 绍兴 312000

摘要: **目的** 了解浙江省绍兴市 10 例呼吸道感染肠道病毒 D68 (EV-D68) 型病例特征, 为制定 EV-D68 感染防控策略提供依据。**方法** 收集 2021—2022 年绍兴市哨点医院就诊的急性呼吸道感染病例的基本情况和临床标本, 采用实时荧光 PCR 和肠道病毒 VP1 区测序法检测 EV-D68, 描述性分析 EV-D68 阳性病例的流行病学和病原学特征。**结果** 2021—2022 年共检测急性呼吸道感染病例 3 009 例, 检出 EV-D68 阳性 10 例, 阳性率为 0.33%。其中, 男性 6 例, 女性 4 例; < 18 岁 5 例, 18~60 岁 2 例, > 60 岁 3 例; 夏秋季高发, 5—7 月和 9—10 月各检出 5 例。临床症状以发热 (10 例)、咽痛 (9 例) 和咳嗽 (8 例) 为主; 10 例病例均恢复良好, 无死亡报告。10 份 EV-D68 阳性标本经序列比对均属于 D3 亚型。**结论** 绍兴市 EV-D68 引起的呼吸道感染主要感染 18 岁以下儿童青少年, 夏秋季高发, D3 亚型为主要流行型别。

关键词: 肠道病毒 D68 型; 呼吸道感染; 基因型; 病原学监测

中图分类号: R373.2; R56 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2024) 01-0044-03

Characteristics of cases with enterovirus-D68 infections in the respiratory tract

JIANG Zhuojing¹, HUANG Zemin¹, WANG Jiling², CHEN Jinkun²

1. Department of Microbiological Inspection, Shaoxing Center for Disease Control and Prevention, Shaoxing, Zhejiang 312071, China; 2. Shaoxing Center for Disease Control and Prevention, Shaoxing, Zhejiang 312071, China

Abstract: Objective To investigate the clinical and molecular epidemiological characteristics of 10 patients with enterovirus (EV)-D68 infections in the respiratory tract in Shaoxing City, Zhejiang Province, so as to provide insights into formulation of control interventions for EV-D68 infections. **Methods** Clinical specimens were sampled from patients with acute respiratory tract infections (ARTIs) admitted to sentinel hospitals in Shaoxing City from 2021 to 2022, and EV-D68 was detected using real-time fluorescent PCR assay and sequencing of the VP1 region of enterovirus. The epidemiological and etiological characteristics of EV-D68 infected cases were descriptively analyzed. **Results** A total of 3 009 specimens were sampled from patients with ARTIs from 2021 to 2022, and the detection of EV-D68 was 0.33%. Of all EV-D68-infected patients, there were 6 men and 4 women, and 5 cases under 18 years of age, 2 cases at ages of 18 to 60 years and 3 cases at ages of over 60 years. EV-D68 infection predominantly occurred in summer (5 cases detected between May and July) and autumn (5 cases detected between September and October). The main clinical symptoms included fever (10 cases), sore throat (9 cases) and cough (8 cases), and all 10 cases recovered well, with no deaths reported. Sequencing identified D3 subtype in all 10 specimens positive for EV-D68. **Conclusions** The ARTIs caused by EV-D68 occurred predominantly among children under 18 years of age in Shaoxing City, and was highly prevalent in summer and autumn. D3 was the predominant enterovirus subtype.

Keywords: enterovirus-D68; respiratory tract infection; genotype; etiological surveillance

人肠道病毒 D68 (enteroviruses-D68, EV-D68)

与严重下呼吸道感染有关, 主要累及儿童, 自 2014 年在美国暴发以来受到了广泛关注, 随后西班牙、日本、加拿大、英国等多个国家均报道了 EV-D68 感染病例^[1-3]。美国 EV-D68 暴发期间, 近 50% 感染 EV-D68 的住院儿童需要重症监护^[4]。目前还没有被批准的疫苗或药物可以预防或治疗 EV-D68 感染,

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.01.011

基金项目: 绍兴市级医药卫生类科技计划项目 (2020A13056)

作者简介: 蒋卓婧, 硕士, 副主任技师, 主要从事病原微生物分子检测工作

通信作者: 陈金堃, E-mail: 453772128@qq.com

并且它能够引起潜在的无法控制的严重呼吸道疾病和神经系统并发症^[5]，了解其流行病学谱，阐明此类感染的模式和暴发动态是至关重要的。本研究对2021—2022年绍兴市哨点医院急性呼吸道感染（acute respiratory tract infection, ARTI）病例的咽拭子标本进行分子水平的病毒病原学检测，分析EV-D68感染病例的临床特征和流行病学特征，为制定EV-D68感染防控策略提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象

以2021—2022年绍兴市哨点医院ARTI病例中确诊为EV-D68感染的10例病例为研究对象。急性发热并伴有以下任何1项呼吸道症状诊断为ARTI：（1）咽部不适、咽干或咽痛；（2）鼻塞、流涕；（3）咳嗽或咳痰；（4）胸闷气促；（5）听诊呼吸音异常或肺部影像学异常。

1.2 EV-D68检测

1.2.1 核酸提取与检测

采集病例咽拭子标本冷藏运送至绍兴市疾病预防控制中心微生物实验室，采用硕世SMPE-960自动核酸提取仪及病毒核酸提取试剂盒（磁珠法，硕世公司）提取咽拭子标本总RNA。采用ABI ViiA7实时荧光PCR仪及呼吸道病毒核酸六重联检试剂盒（荧光定量PCR法，上海之江生物科技有限公司）筛选出肠道病毒阳性标本。

1.2.2 VP1区核苷酸序列扩增测序

对肠道病毒阳性标本进行EV-D68目标序列扩增。首先合成EV-D68 VP1区特异性引物^[6]，然后采用Roche公司的PrimeScript一步法RT-PCR试剂盒，按照说明书配制体系并设置反应条件，进行EV-D68 VP1基因扩增。获得EV-D68 VP1产物送上海伯杰医疗科技股份有限公司进行测序。

1.2.3 VP1基因进化分析

从GenBank下载不同国家不同亚型代表株基因序列（基因型/登录号：Fermon/AY426531、A/KT347280、A/JX070222、B1/KM851229、B1/KC763167、B2/KC763168、B2/JX101786、B2/AB601885、B3/KX957757、B3/KT711080、B3/OQ120631、B3/KT873713、D1/KM851231、D1/KT285319、D2/JX898784、D2/KU242683、D3/MG547209、D3/MT543136），采用Mega 6.0软件将获得的EV-D68 VP1序列与代表株序列进行比对，采用近邻连接方法构建系统进化树鉴定EV-D68亚型。

1.3 病例特征分析

通过哨点医院监测报表收集EV-D68感染病例的基本情况和临床表现，描述性分析EV-D68感染病例的流行病学和病原学特征。

1.4 统计分析

采用SPSS 26.0软件统计分析，不同年龄组病例EV-D68阳性率差异比较采用Fisher确切概率法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EV-D68感染病例流行病学特征

2021—2022年检测ARTI病例3 009例，检出EV-D68阳性10例，阳性率为0.33%。男性6例，女性4例，男女性别比为1.5:1。年龄最小13个月，最大66岁，中位数为27岁。<18岁5例，阳性率为0.46%（5/1 098）；18~60岁2例，阳性率为0.21%（2/938）；>60岁3例，阳性率为0.31%（3/973）；不同年龄组EV-D68阳性率差异无统计学意义（ $P = 0.221$ ）。5—7月和9—10月各检出EV-D68型阳性5例。

2.2 EV-D68感染病例临床特征

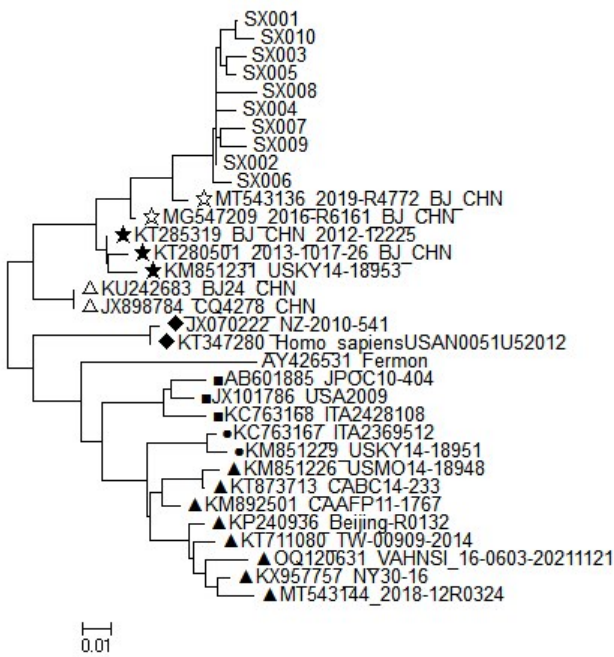
发热10例，咽痛9例，咳嗽8例，咳痰6例，喘息5例；有6例出现胸片异常，诊断为肺炎，包括肺斑纹增多和/或间质改变。10例病例均恢复良好，无死亡报告。

2.3 EV-D68基因分子进化分析

将10株EV-D68与GenBank中EV-D68各亚型参考株进行VP1基因序列比较，结果显示，10株EV-D68均与D3亚型相似性最高，为97%~98%，表明这10株EV-D68均为D3亚型。见图1。

3 讨论

EV-D68感染会导致呼吸道疾病，病例以幼儿为主^[7]。在轻度或亚临床感染期间，病毒主要感染上呼吸道，导致发热和咳嗽；传播到下呼吸道时会引起呼吸困难、喘息性肺炎和缺氧，偶尔需要呼吸机支持和重症监护^[8]。EV-D68感染也会导致广泛的临床中枢神经系统并发症，如急性弛缓性脊髓炎、脑神经功能障碍及脑膜脑炎^[9]。本研究结果显示，10例EV-D68感染病例的临床症状以发热、咽痛、咳嗽为主，症状较轻，没有病例进入重症监护病房，也没有发现中枢神经系统感染病例。既往有哮喘或反应性气道疾病史可能增加进入重症监护病房的风险和通气支持需求^[10]，提示临床医生在接诊时需留意患者既往病史。



注：◆为A亚型，●为B1亚型，■为B2亚型，▲为B3亚型，★为D1亚型，△为D2亚型，☆为D3亚型，SX001~SX010为绍兴株。

图1 2021—2022年绍兴市10株EV-D68型VP1基因系统进化树分析

Figure 1 Phylogenetic analysis of 10 EV-D68 isolates in Shaoxing City from 2021 to 2022 based on the VP1 gene sequence

肠道病毒在温带和热带气候地区具有季节性发病特征^[11]。绍兴市EV-D68感染病例主要在夏秋季检出，冬春季未发现，基本与同类研究报道^[12]一致。除季节性变化外，国外监测到EV-D68出现了2年期疫情模式^[13]，可能与人群中易感性水平的波动相关，每一次EV-D68感染会产生暂时的群体免疫力，随着新的非免疫儿童成长到易感年龄段，免疫力就会减弱。但本研究中双年度周期流行规律不明显，这可能与同时期的新型冠状病毒感染疫情防控有关。

2011年我国香港首次报道B1亚型，2014年在内地首次发现B3亚型，此后，B3亚型成为我国主要的流行型别，直至2016年出现D3亚型热潮^[14]。绍兴市检出的10株EV-D68均为D3亚型，与近几年北京等地区发现的毒株亚型一致^[14]。此外，本研究中儿童和成人的分布比例相似，这种年龄效应可能与亚型型别相关，在D1亚型的流行病学研究中也有相关报道^[1]。

EV-D68作为一种RNA病毒，流行过程中存在较高的变异风险，因此需要加强监测。通过对流行毒

株的分子流行病学分析，有助于了解本地区呼吸道感染人群中EV-D68感染的流行病学特征，进一步了解病毒感染的发病机制，以制定预防和干预措施。

参考文献

[1] GONZALEZ-SANZ R, TARAVILO I, REINA J, et al. Enterovirus D68-associated respiratory and neurological illness in Spain, 2014–2018 [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8 (1): 1438–1444.

[2] FUNAKOSHI Y, ITO K, MORINO S, et al. Enterovirus D68 respiratory infection in a children's hospital in Japan in 2015 [J]. *Pediatr Int*, 2019, 61 (8): 768–776.

[3] DREWS S J, SIMMONDS K, USMAN H R, et al. Characterization of enterovirus activity, including that of enterovirus D68, in pediatric patients in Alberta, Canada, in 2014 [J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53 (3): 1042–1045.

[4] MESSACA K, ABZUG M J, DOMINGUEZ S R. 2014 outbreak of enterovirus D68 in North America [J]. *J Med Virol*, 2016, 88 (5): 739–745.

[5] MESSACAR K, ASTURIAS E J, HIXON A M, et al. Enterovirus D68 and acute flaccid myelitis—evaluating the evidence for causality [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18 (8): 239–247.

[6] XIANG Z C, GONZALEZ R, WANG Z, et al. Coxsackievirus A21, enterovirus 68, and acute respiratory tract infection, China [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18 (5): 821–824.

[7] ITAGAKI T, AOKI Y, MATOBA Y, et al. Clinical characteristics of children infected with enterovirus D68 in an outpatient clinic and the association with bronchial asthma [J]. *Infect Dis (Lond)*, 2018, 50 (4): 303–312.

[8] SCHUSTER J E, MILER J O, SELVARANGAN R, et al. Severe enterovirus 68 respiratory illness in children requiring intensive care management [J]. *J Clin Virol*, 2015, 70: 77–82.

[9] SOOKSAWASD NA AYUDHYA S, LAKSONO B M, VAN RIEL D. The pathogenesis and virulence of enterovirus-D68 infection [J]. *Virulence*, 2021, 12 (1): 2060–2072.

[10] GRENINGER A L, NACCACHE S N, MESSACAR K, et al. A novel outbreak enterovirus D68 strain associated with acute flaccid myelitis cases in the USA (2012–14): a retrospective cohort study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15: 671–682.

[11] 庞孟涛, 李傅冬, 林君芬, 等. 2016—2019年浙江省手足口病流行特征 [J]. *预防医学*, 2022, 34 (3): 307–310.

[12] ZHANG T G, LI A H, CHEN M, et al. Respiratory infections associated with enterovirus D68 from 2011 to 2015 in Beijing, China [J]. *J Med Virol*, 2016, 88 (9): 1529–1534.

[13] ABEDI G R, WATSON J T, NIX W A, et al. Enterovirus and parechovirus surveillance—United States, 2014–2016 [J]. *MMWR*, 2018, 67 (18): 515–518.

[14] 李爱华, 龚成, 李茂中, 等. 2018—2019年北京市呼吸道感染病例中肠道病毒D68型临床和流行特征研究 [J]. *疾病监测*, 2022, 37 (6): 782–788.

收稿日期: 2023-08-11 修回日期: 2023-10-24 本文编辑: 徐文璐