

# 深圳市罗湖区校园重启后鼻病毒引起上呼吸道感染疫情分析

陈仕菊, 张祥, 王礼法, 吴菲菲, 王艳梅, 冯驰宇, 陈传德, 旷翠萍

深圳市罗湖区疾病预防控制中心, 广东 深圳 518020

**摘要:** **目的** 探讨 2020 年深圳市罗湖区校园重启后鼻病毒感染疫情的病原学及传播特征, 分析疫情发生的原因以及对新冠肺炎疫情防控的提示作用。 **方法** 对 2020 年 6 月深圳市罗湖区学校等集体单位报告的急性上呼吸道感染疫情进行调查处置, 采集患者鼻咽拭子。利用荧光定量 PCR 方法进行鼻病毒核酸检测, 巢式 PCR 法进行鼻病毒 VP4/VP2 片段的扩增, 继而测序。对测序结果进行比对, 绘制核苷酸序列相似性矩阵热力图、系统进化树; 再结合疫情发生的时间、地点绘制疫情时空分布图。 **结果** 2020 年 6 月共报告 21 起鼻病毒疫情, 感染者主要为 1~3 年级小学生, 年龄中位数为 8 岁; 共采集鼻咽拭子 248 份, 其中 187 份 (75.40%) 检出鼻病毒核酸阳性; 病原均为鼻病毒 A 型, 包括 8 种亚型, 主要为 A11、A44 和 A47 型, 多所学校存在 2 种型别毒株共同流行。 **结论** 鼻病毒疫情存在多型别毒株共同流行, 缺乏呼吸防护措施情况下容易在校园内外引起传播; 鼻病毒疫情高发提示新冠肺炎疫情的防控措施不够, 必须从严从紧落实防控措施。

**关键词:** 鼻病毒; 基因型; 共同流行; 新型冠状病毒

中图分类号: R56 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2022)06-0706-04 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2022.06.014

## Epidemic situation of upper respiratory tract infection caused by human rhinovirus after reopening of schools in Luohu District of Shenzhen City

CHEN Shi-ju, ZHANG Xiang, WANG Li-fa, WU Fei-fei, WANG Yan-mei, FENG Chi-yu, CHEN Chuan-de, KUANG Cui-ping

Luohu District Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong 518020, China

Corresponding author: KUANG Cui-ping, E-mail: kuanguiping@163.com

**Abstract:** **Objective** To explore the etiology and transmission characteristics of epidemic situation of human rhinovirus (HRV) infection after reopening of schools in Luohu District of Shenzhen City in 2020, and to analyze the causes of the epidemic and the hints for COVID-19 epidemic prevention and control. **Methods** We investigated and dealt with the outbreaks of acute upper respiratory infection in schools and other collective-owned units in Luohu District of Shenzhen City in June 2020. Nasopharyngeal swabs (NPS) were collected from patients. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR) was used to detect human rhinovirus nucleic acid. Amplification of a 540bp fragment containing the HRV VP4 and partial VP2 region was performed by nested PCR. HRV-positive samples were sequenced. Alignment and sequence analyses were performed. Percent identity matrix created by Clustal2.1 was used to draw the heat map. Phylogenetic trees were constructed using MEGA7 software. Combined with time and space of the epidemic situation, the bubble map was drawn. **Results** A total of 21 HRV outbreaks were reported in June 2020. The majority of those affected were pupils in Grades 1-3, with a median age of 8 years. A total of 187 (75.40%) NPS from 248 individuals were HRV positive. The pathogens of the epidemic were HRV-A. Eight subtypes were identified, of which A11, A44 and A47 were the most prevalent and co-circulation of 2 subtypes was spread among schools. **Conclusion** Co-circulation of multiple genotypes during the HRV epidemic was observed, and it was easy to spread within or between primary schools when there was a lack of effective respiratory protection measures. The high incidence of HRV suggests that measures against COVID-19 are not strict enough; and hence, it is necessary to strictly implement prevention and control measures.

**Keywords:** human rhinovirus (HRV); genotype; co-circulation; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

**作者简介:** 陈仕菊 (1987-), 女, 广东惠州人, 硕士, 主管技师, 主要从事病原微生物检验工作。

**通信作者:** 旷翠萍, E-mail: kuanguiping@163.com。

鼻病毒 (human rhinovirus, HRV) 常引起温和、局限性的感冒, 主要通过呼吸道飞沫和气溶胶传播, 是每年春、夏、秋季引起呼吸道病毒性疾病的主要病原

体<sup>[1-2]</sup>,平均潜伏期约为 1.9 d<sup>[3]</sup>。鼻病毒 A、B、C 三个型别共有超过 160 多个亚型<sup>[4]</sup>。儿童是鼻病毒的主要传播者<sup>[5]</sup>。

2020 年初受新型冠状病毒肺炎疫情影响,学校停止校园授课。根据中国国家流感中心发布的流感周报数据显示,学校停课期间全国的流感样病例暴发疫情数持续处于较低水平,罗湖区的流感监测也未检出呼吸道病毒阳性样本。2020 年 5 月 9 日,广东省新型冠状病毒的疫情防控调整为 III 级响应,深圳地区小学生陆续返校。为了防控疫情,学校按要求落实体温监测、症状监测、通风消毒、加强手卫生、防止各班级人员交叉往来等措施以降低病毒传播的风险。但校园重启后,自 6 月起罗湖区多家小学、幼儿园等集体单位仍相继报告了鼻病毒疫情。为探讨新型冠状病毒防控期间、校园重启后鼻病毒疫情发生的原因、流行的毒株型别、传播特点及其对新型冠状病毒防控的提示作用,对感染对象、病原分子分型以及疫情的时空分布特征进行分析。

## 1 材料与方法

1.1 材料 收集 2020 年 6 月 1—30 日深圳市罗湖区报告的急性上呼吸道感染疫情患者(出现咳嗽、咽痛、流涕等症状之一者)的鼻咽拭子样本。

### 1.2 方法

1.2.1 流行病学调查 调查患者基本信息、发病时间、症状、就诊情况等,以及报告单位日常防控措施落实情况、针对本次疫情采取的控制措施等。

### 1.2.2 实验室检测

1.2.2.1 荧光定量 PCR 检测 鼻病毒等常见呼吸道病毒核酸的引物和探针由深圳市疾病预防控制中心赠予。流感病毒检测采用深圳市梓健生物科技有限公司的 A+B 型流感病毒核酸检测试剂盒。PCR 扩增仪器为美国应用生物系统公司(ABI)的 7500 型实时荧光定量 PCR 仪。

1.2.2.2 VP4/VP2 核酸序列扩增及测序 经荧光定量 PCR 检测为鼻病毒核酸阳性的样本,每家疫情单位选取 4~6 份 Ct 值<30 的样本进行鼻病毒 VP4/VP2 片段的扩增(若 Ct 值<30 的样本数不足 4 份,则以 Ct 值<35 的样本补充)。扩增方法为巢式 PCR 法,扩增引物参考 Wisdom 等<sup>[6]</sup>的文章,由宝日医生物技术(北京)有限公司合成,巢式 PCR 扩增的反应条件参考文献<sup>[7]</sup>。巢式 PCR 扩增完成后,通过琼脂糖凝胶电泳观察是否获得大小约为 540 bp 的目标条带。每家单位选取 2~4 份扩增条带明亮的样本送上海伯杰医疗科

技有限公司进行测序。

### 1.2.3 分子分型及疫情传播分析

1.2.3.1 分子分型 从 GenBank 数据库中下载鼻病毒 A、B、C 型参考序列。使用 Clustal Omega 网页版对测序结果及参考序列进行多序列比对,根据相似性矩阵用 Microsoft office Excel 2013 软件绘制热力图分析核苷酸序列的相似性。利用 MEGA 7.0 软件构建系统进化树,选择 Neighbor-Joining 法建树,bootstrap 值设为 1 000。

1.2.3.2 疫情传播分析 结合核苷酸相似性矩阵热力图、系统进化树结果以及疫情发生的时间、地点,用 Microsoft office Excel 2013 软件绘制疫情分布的气泡图。

1.3 统计学分析 以 Microsoft office Excel 2013 软件建立数据库,以 SPSS 25.0 软件进行数据分析。

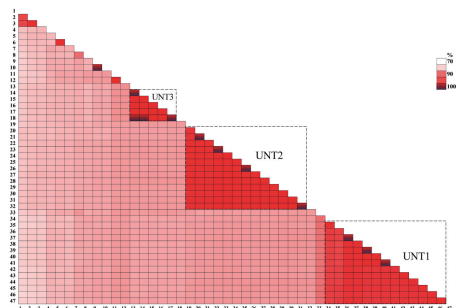
## 2 结果

2.1 基本情况 2020 年 6 月 1—30 日,罗湖区疾病预防控制中心共接到 21 家集体单位报告的急性上呼吸道感染聚集性疫情。采集患者鼻咽拭子样本 248 份进行多种呼吸道病毒的荧光定量 PCR 检测,共检出鼻病毒核酸阳性 187 份(75.40%)。鼻病毒疫情主要集中在 6 月 2—17 日。疫情涉及 19 所小学、1 所幼儿园、1 家戒毒所。小学疫情中被累及的主要是 1~3 年级的小学生(81.85%),感染者年龄最小为 3 岁,最大 35 岁,年龄中位数及众数均为 8 岁,男性略多于女性(1.18:1)。

2.2 VP4/VP2 片段扩增结果 选取鼻病毒核酸阳性的 81 份样本进行 VP4/VP2 基因的扩增。其中 79 份样本扩增到略大于 500 bp 的目标条带。取 48 份扩增产物进行测序。

### 2.3 测序结果

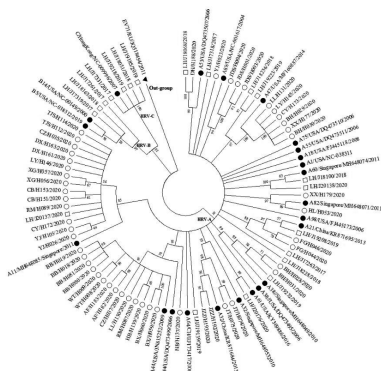
2.3.1 序列比对结果 47 份样本测序成功。多序列对比结果显示疫情样本间的核苷酸序列相似性为 74.55%~100.00%。核苷酸序列相似性矩阵热力图呈现多个独立的聚集性“高热”区域,提示多种毒株共同流行。其中 3 个主要“高热”区 UNT1、UNT2、UNT3 的核苷酸序列相似性最小值分别为 95.79%、98.17%、99.62%;均值为 98.03%、99.30%、99.80%;标准差为 1.12、0.38、0.15;最大值均为 100.00%。UNT1-UNT3 涉及的疫情单位共 17 家,有 10 组 100.00%相似的序列,其中 5 组出现在 4 所学校内部、另 5 组出现在 6 所学校之间,见图 1。



注:样本命名规则为报告单位名称缩写加编号,矩阵序号对应的样本编号如下:1.JDS/H003 2.JDS/H001 3.JDS/H004 4.YJ/H023 5.FG/H046 6.FG/H044 7.XX/H179 8.HL/H053 9.JT/H074 10.JT/H075 11.BH/H028 12.BH/H031 13.CY/H173 14.BH/H030 15.LL/H131 16.XX/H177 17.LY/H145 18.BH/H029 19.YJ/H105 20.CB/H151 21.CB/H153 22.DX/H163 23.TJS/H112 24.CY/H172 25.CZ/H035 26.TJS/H114 27.RM/H089 28.YJ/H026 29.XG/H057 30.XG/H056 31.LY/H146 32.DX/H161 33.HB/H137 34.BX/H059 35.BX/H060 36.WT/H008 37.WT/H009 38.BB/H080 39.BB/H081 40.BB/H018 41.BB/H019 42.AF/H182 43.AF/H183 44.CZ/H037 45.LL/H130 46.HB/H139 47.RM/H087。

图 1 47 份疫情样本的核苷酸序列相似性矩阵热力图

2.3.2 系统进化树分析 系统进化树提示此次聚集性疫情样本主要为鼻病毒 A 型,可能存在 A11、A21、A32、A38、A44、A47、A82、A89 型等至少 8 个亚型。将核苷酸序列相似性矩阵热力图与进化树一同分析,发现矩阵热力图中的 UNT1 所对应的样本均与鼻病毒 A44 型参考株在同一分枝上;UNT2、UNT3 的分别与鼻病毒 A11、A47 型在同一分枝上,提示本次鼻病毒疫情的流行可能主要由 A11、A44 和 A47 型引起,见图 2。



注:○表示鼻病毒疫情样本的序列,命名规则为单位名称缩写加样本编号加年份;●表示 Genbank 上的鼻病毒参考序列;▲表示外群 EV71 序列;□表示流感样病例监测样本。

图 2 47 份疫情标本的核苷酸序列系统进化树

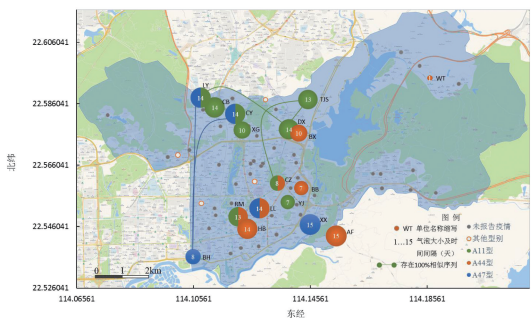
2.4 疫情传播分析 6 月 3 日东部 WT 小学报告的疫情由鼻病毒 A44 型引起,1~2 周后中部的 7 所小学也出现了鼻病毒 A44 型感染疫情。由于各学校之间的疫情样本核苷酸序列相似性在 95.79%~99.43%之间,尚不能确定 A44 型病毒是由 WT 小学传播至其他

学校。

鼻病毒 A11 型引起的疫情首先在中部的 YJ 小学及 CZ 小学出现,此后 1 周时间内另 7 所学校暴发了鼻病毒 A11 型感染疫情。在 CZ 小学与 TJS、DX、LY 小学的疫情样本中共检出 3 组 100.00% 相似的毒株序列,表明上述学校之间发生了疫情传播。

鼻病毒 A47 型感染疫情先出现在中南部 BH 小学,6~7 d 后另 4 所小学出现同一型别病原引起的疫情。5 所学校的疫情样本测序结果高度相似(99.62%~100.00%),且 BH 小学与 LY、CY 小学的疫情样本中存在 2 组 100.00% 相似的毒株序列,提示鼻病毒 A47 型感染疫情很可能由 BH 小学传播到 LY、CY 等 4 所学校。

LY、CY 等 5 所学校内部存在 2 种不同型别的鼻病毒共同流行,表明上述学校的疫情存在 2 个或以上传染源,见图 3。



注:图中气泡的中心位置为疫情发生地点;气泡颜色代表疫情型别;气泡值表示气泡大小,数值根据报告疫情的时间与 6 月 2 日的时间间隔(d)设定,数字越大,时间越晚;报告为其他型别的不设气泡值。气泡旁边的字母代表疫情发生单位名称缩写。气泡之间用实线连接表示两者的样本中存在 100.00% 相似的毒株序列。

图 3 2020 年 6 月深圳市罗湖区鼻病毒疫情分布图

### 3 讨论

2020 年全球多个地区均观察到为防控新型冠状病毒疫情采取城市封锁措施后,包括流感在内的多种呼吸道病毒传播受到抑制;封锁措施放宽、校园重启后,鼻病毒的流行快速上升到与往年同期持平或更高的水平,而流感等其他呼吸道病毒流行持续处于较低水平<sup>[5, 8-9]</sup>。罗湖区校园重启后鼻病毒疫情高发可能是由于:6 月是鼻病毒感染高发期<sup>[10-11]</sup>,且感染者多无症状或症状轻微<sup>[12-13]</sup>,不易被察觉;鼻病毒主要通过接触传播和气溶胶传播,尽管学校落实了多种防控措施,但自 6 月起在校师生无需戴口罩,学生之间没有保持社交距离,因此不能有效阻断鼻病毒的传播;学校是鼻病毒传播的重要场所<sup>[14]</sup>,在校学生属于鼻病毒的易感人群,尤其是低年级学生<sup>[15-17]</sup>;同期常见引起急性



上呼吸道感染的病毒还包括流感病毒、腺病毒等,但感染流感病毒和腺病毒通常引起发热、咳嗽、咽痛等典型症状,能被及时发现并隔离从而阻断传播。此外为防控新型冠状病毒疫情,疾病预防控制中心的工作人员加强了警惕,对学校存在多例急性上呼吸道感染病例的情况要求及时报告,不管发热与否,提高了鼻病毒的检出率。

本轮疫情共检出 8 种鼻病毒亚型,流行毒株型别较多,多所学校存在 2 种型别病毒共同流行,由于未对所有的样本进行测序,鼻病毒型别的多样性可能被低估了。亚型众多且各型别间几乎没有交叉保护作用<sup>[13,18]</sup>、多种型别毒株常年流行<sup>[19]</sup>可能是导致鼻病毒疫情流行株型别较多的原因。根据文献报道,2013—2015 年上海某医院共检出 77 种鼻病毒<sup>[4]</sup>,同期台湾某医院检出 47 种鼻病毒<sup>[20]</sup>;肯尼亚一家小学一年内检出 47 种鼻病毒<sup>[16]</sup>。而同一疫情单位存在 2 种毒株共同流行的情况在国外也有报道,如退伍军人之家暴发疫情检出 3 种鼻病毒<sup>[21]</sup>、儿童托管机构疫情检出 5 种鼻病毒,多个班出现 2 种型别毒株流行<sup>[13]</sup>。

结合生物信息学技术,有助于疫情的传播分析。通过对疫情样本的核苷酸序列进行比对,发现了本轮疫情 3 个主要的鼻病毒流行型别,还发现其中 2 个型别的毒株在不同学校之间进行传播。关于鼻病毒的传播,图 3 显示病毒可在距离 5~6 km 的学校间进行传播,而没有传给临近的学校,提示地理距离的远近不是影响疫情传播的主要因素。本研究显示,当 1 所学校出现了鼻病毒疫情,大约经过 1 周的时间就能将疫情传播给其他的 3~4 所甚至更多的学校,提示鼻病毒在校园间的传播效率高、防控难度大。

有研究发现,鼻病毒的流行与新型冠状病毒的防控措施的严格程度呈负相关,且延迟时间较短,因此鼻病毒的流行可以作为衡量新型冠状病毒防控措施有效性的指标<sup>[22]</sup>。2020 年 6 月校园重启后鼻病毒疫情的高发提示辖区当时所采取的新冠肺炎防控措施较宽松,若要应对新冠肺炎的本地疫情,应采取更加严格的防控措施,从严格落实。

## 参考文献

- [1] Jacobs SE, Lamson DM, St George K, et al. Human rhinoviruses [J]. Clin Microbiol Rev, 2013, 26(1): 135-162.
- [2] 李岩, 韩光跃, 刘艳芳, 等. 石家庄地区夏秋季住院儿童呼吸道病毒检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2017, 24(4): 423-424, 488.
- [3] Lessler J, Reich NG, Brookmeyer R, et al. Incubation periods of acute respiratory viral infections: a systematic review [J]. Lancet Infect Dis, 2009, 9(5): 291-300.
- [4] Zhao Y, Shen J, Wu B, et al. Genotypic diversity and epidemiology

of human rhinovirus among children with severe acute respiratory tract infection in Shanghai, 2013-2015 [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1836.

- [5] Poole S, Brendish NJ, Tanner AR, et al. Physical distancing in schools for SARS-CoV-2 and the resurgence of rhinovirus [J]. Lancet Respir Med, 2020, 8(12): e92-e93.
- [6] Wisdom A, Leitch EC, Gaunt E, et al. Screening respiratory samples for detection of human rhinoviruses (HRVs) and enteroviruses: comprehensive VP4-VP2 typing reveals high incidence and genetic diversity of HRV species C [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(12): 3958-3967.
- [7] 余光清, 荏静, 唐启文, 等. 深圳地区急性上呼吸道感染中鼻病毒的流行状况和基因特征分析 [J]. 职业与健康, 2018, 34(11): 1457-1460.
- [8] Sullivan SG, Carlson S, Cheng AC, et al. Where has all the influenza gone? The impact of COVID-19 on the circulation of influenza and other respiratory viruses, Australia, March to September 2020 [J]. Euro Surveill, 2020, 25(47): 2001847.
- [9] Tang JW, Bialasiewicz S, Dwyer DE, et al. Where have all the viruses gone? Disappearance of seasonal respiratory viruses during the COVID-19 pandemic [J]. J Med Virol, 2021, 93(7): 4099-4101.
- [10] Charlton CL, Babady E, Ginocchio CC, et al. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: viruses causing acute respiratory tract infections [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(1): e 00042-00018.
- [11] Moriyama M, Hugentobler WJ, Iwasaki A. Seasonality of respiratory viral infections [J]. Annu Rev Virol, 2020, 7(1): 83-101.
- [12] 吴迪, 麦玥雪, 莫骏健, 等. 广州市某高校一起人鼻病毒感染暴发疫情调查分析 [J]. 实用预防医学, 2021, 28(11): 1344-1346.
- [13] Martin ET, Kuypers J, Chu HY, et al. Heterotypic infection and spread of rhinovirus A, B, and C among childcare attendees [J]. J Infect Dis, 2018, 218(6): 848-855.
- [14] Greenberg SB. Update on human rhinovirus and coronavirus infections [J]. Semin Respir Crit Care Med, 2016, 37(4): 555-571.
- [15] Hartiala M, Lahti E, Forsström V, et al. Characteristics of hospitalized rhinovirus-associated community-acquired pneumonia in children, Finland, 2003-2014 [J]. Front Med (Lausanne), 2019, 6: 235.
- [16] Luka MM, Kamau E, Adema I, et al. Molecular epidemiology of human rhinovirus from 1-year surveillance within a school setting in rural coastal Kenya [J]. Open Forum Infect Dis, 2020, 7(10): ofaa385.
- [17] Arakawa M, Okamoto - Nakagawa R, Toda S, et al. Molecular epidemiological study of human rhinovirus species A, B and C from patients with acute respiratory illnesses in Japan [J]. J Med Microbiol, 2012, 61(3): 410-419.
- [18] van der Zalm MM, Wilbrink B, van Ewijk BE, et al. Highly frequent infections with human rhinovirus in healthy young children: a longitudinal cohort study [J]. J Clin Virol, 2011, 52(4): 317-320.
- [19] Marcone DN, Culasso A, Carballal G, et al. Genetic diversity and clinical impact of human rhinoviruses in hospitalized and outpatient children with acute respiratory infection, Argentina [J]. J Clin Virol, 2014, 61(4): 558-564.
- [20] Hung HM, Yang SL, Chen CJ, et al. Molecular epidemiology and clinical features of rhinovirus infections among hospitalized patients in a medical center in Taiwan [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2019, 52(2): 233-241.
- [21] Mubareka S, Louie L, Wong H, et al. Co-circulation of multiple genotypes of human rhinovirus during a large outbreak of respiratory illness in a veterans' long-term care home [J]. J Clin Virol, 2013, 58(2): 455-460.
- [22] Kitanovski S, Horemheb - Rubio G, Adams O, et al. Rhinovirus prevalence as indicator for efficacy of measures against SARS-CoV-2 [J]. BMC Public Health, 2021, 21(1): 1178.

收稿日期: 2021-07-27