

# 一起埃可病毒 33 型肠道病毒引起学校流感样疫情暴发调查

李先平<sup>1</sup> 占代红<sup>1</sup> 刘丽莉<sup>1</sup> 檀晓娟<sup>2</sup> 黄威<sup>3</sup> 刘凡兵<sup>1</sup> 唐生辉<sup>4</sup> 刘富强<sup>3</sup>

1. 湖南省石门县疾病预防控制中心, 湖南 石门 415300;

2. 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所 3. 湖南省疾病预防控制中心 4. 湖南省石门县新铺乡卫生院

**摘要:** **目的** 调查分析湖南省石门县某乡学校一起由埃可病毒 33 型肠道病毒 (ECHO33) 引起的流感样疫情暴发的流行病学特征及病因。**方法** 采用现场流行病学调查方法了解病例发生情况及可疑传播途径。对采集的 12 份咽拭子标本进行人肠道病毒 (enterovirus, EV) 核酸检测以及病毒分离。采用 VP1 序列测定比对的方法, 对分离的 EV 型别进行鉴定。**结果** 本次疫情从 2013 年 5 月 29 日开始至 6 月 18 日结束, 持续 20 天, 共发生病例 108 例, 罹患率为 11.26%。6 月 6 日~9 日为发病高峰期, 发病 92 例 (占 85.19%)。病例首发在中学, 病例以中学生为主, 占 69.44%, 男女之比为 1.12:1。高年龄组 (12-, ≥14 岁) 罹患率较低年龄组 (≤5、6-、8-、10-岁) 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。病例的潜伏期为 3.5 天, 主要症状为发热 (76.85%)、咽痛及扁桃体肿大 (54.63%)、头痛、头晕 (42.59%)。大多数患者病情较轻。病原学检测 12 份鼻咽拭子, 其中 10 份标本 EV 阳性, 型别鉴定证实为 ECHO33 型人肠道病毒。**结论** 本次学校流感样病例暴发疫情是由 ECHO33 型肠道病毒引起的, 今后应加强对学校流感样病例暴发疫情的病原学监测和防控工作。

**关键词:** 埃可病毒 33 型 (ECHO33 型); 人肠道病毒 (EV); 流感样病例; 暴发

## An investigation report on influenza outbreak in schools about ECHO33 virus

LI Xian-ping<sup>1</sup>, ZHAN Dai-hong<sup>1</sup>, LIU Li-li<sup>1</sup>, TAN Xiao-juan<sup>2</sup>, HUNAG Wei<sup>3</sup>, LIU Fan-bing<sup>1</sup>, TANG Sheng-hui<sup>4</sup>, LIU Fu-qiang<sup>3</sup>

(1 Shimen county center for disease control and prevention, Shimen, 415300, Hunan; 2 China center for disease control and prevention; 3 Hunan Provincial center for disease control and prevention; 4 Xing Pu township health hospital Shimenn County, Hunan province)

**Abstract: Objective** To investigate the epidemiologic features and etiology on an influenza-like outbreak of students in Shimenn County, Hunan province. **Methods** The field epidemiological survey was used to analyze the cases and suspicious transmitting media of the outbreak. 12 collection of nasopharyngeal swab from patients were performed on for enterovirus nucleic acid detection and virus isolation. VP1 sequence was used for determination of alignment and on identification the type of isolation human enterovirus. **Results** The outbreak lasted 20 days from May 29th to June 18th in 2013. A total of 108 cases were diagnosed, and the attack rate was 11.26%. The peak was between June 6th and June 9th with 92 new cases diagnosed. The first case appeared at a middle school. The cases in middle school accounting for 69.44%, with the gender ratio 1.12:1. The attack rate of students in high grades (12- or over 14 years old) was a bit lower than that of students in lower grades (≤5、6-、8-、10-years old), and result was statistically significant ( $P<0.05$ ). Incubation period was 3.5 days. The main symptoms were fever (76.85%), sore throat and tonsil enlargement (54.63%), headache (42.59%). Most of cases were benign; 12 nasopharyngeal swabs were performed on etiologic testing, 10 samples were positive.

**基金项目:** 湖南省卫生厅科研基金 (项目编号: B2011-106)

**作者简介:** 李先平 (1966—), 男, 副主任医师, 湖南石门县人, 主要从事疾病预防控制中心工作。通讯作者: 刘富强 liufq2001@163.com

of human enterovirus, and they were confirmed echovirus type 33 infection by isolation human enterovirus. **Conclusion** The influenza-like outbreak of students in Shimen county was caused by ECHO33 infection. We should strengthen pathogen monitoring and prevention and control outbreak of influenza-like cases in the schools.

**Key words:** Echovirus type 33(ECHO33); Enterovirus(EV); Influenza-like case; Outbreak

人肠道病毒 (enterovirus, EV) 属小 RNA 病毒科中的肠道病毒属。一种血清型的 EV 可引发多种疾病, 一种疾病可由多种血清型 EV 引起。人体对不同种类和型别的 EV 亦可重复感染。多数 EV 的受体在组织和细胞中广泛分布, 包括神经系统、呼吸系统、心脏、皮肤/黏膜、肌肉、胰腺、肾上腺等靶器官, 引起脑 (膜) 炎、支气管炎、心肌炎、手足口病、弛缓性麻痹、糖尿病等疾病。最常见的疾病有手足口病、脑 (膜) 炎和急性呼吸道感染性疾病。近年来, 很多国家如美国、德国、韩国、日本等将人肠道病毒视作流行性感冒样病例的重要病原体<sup>[1]</sup>。人类肠道致细胞病变孤儿病毒(ECHO, 埃可病毒)是一组重要的 EV。自 2013 年 5 月 29 日开始, 湖南省石门县某乡镇的四所学校学生出现以发热、咽痛为主的流感样病例的暴发疫情, 共导致 108 名学生患病, 无死亡病例发生。为了解此次暴发疫情的流行特征及流行因素, 对可能的传染源、传播途径、危险因素以及病原学开展了现场调查, 结果证实这是一起由埃可病毒 33 型 (ECHO33) 人肠道病毒引起的暴发疫情, 现将有关结果报告如下。

## 1 对象与方法

**1.1 调查对象** 2013 年 5 月 29 日-6 月 18 日湖南省石门县某乡镇学校流感样病例。

**1.2 病例定义** 临床诊断病例: 5 月 29 日以来石门县某乡镇四所学校学生中, 发热 (腋温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ )、伴咳嗽、咽痛及扁桃体肿大、头昏头痛之一者。确诊病例: 在临床诊断病例基础上, 鼻咽拭子 ECHO33 型肠道病毒核酸阳性。

## 1.3 方法

**1.3.1 流行病学调查** 采用统一的流行病学个案调查表, 调查人员经过统一培训, 对本次疫情中所有病例逐一进行现场流行病学调查。同时对学生发病的相关因素如天气变化、教室、宿舍、食堂、厕所、饮用水、学校垃圾处置、学校污水排放以及该乡传染病疫情状况进行了详细调查。

**1.3.2 病原学检测** 6 月 7 日, 从 11 例病例采集 12 份咽拭子标本, 用于病原

学检测。所有标本采用 Purelink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)进行核酸提取,操作按照说明书进行。所有标本用流感 A 和 B 型荧光定量检测试剂盒排除流感病毒感染。采用荧光定量试剂盒对 EV 核酸进行检测(硕世,江苏)。使用人横纹肌肉瘤细胞

(rhabdomyosarcoma, RD)对标本中的 EV 进行分离。病毒分离相关操作参照世界卫生组织《脊灰实验室手册(第四版)》。采用逆转录-聚合酶链反应

(reverse transcript-polymerase chain reaction, RT-PCR)对分离到的 EV 进行部分 VP1 编码区基因的扩增,引物和方法来源于已发表的研究<sup>[2]</sup>。采用 RCR 引物对扩增阳性产物进行序列测定。对所测序列进行 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)在线比对,以确定 EV 型别。

**1.3.3 资料分析** 采用描述性流行病学方法描述疫情特征。所有资料用 Excel2003 软件进行录入和整理,主要分析指标为罹患率、构成比等,资料统计分析用 SPSS13.5 软件进行  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$  (双侧)。

## 2 结果

**2.1 疫情概况** 疫情波及湖南省石门县某乡镇 4 所学校,包括 1 所中学及邻近 1 所小学和 2 所幼儿园,有学生 959 人(包括中学 296 人、小学 559 人、幼儿园 104 人)。首发病例为中学 1 名女生,5 月 29 日发病,以发热、头痛入乡卫生院诊治 3 日,疗效不佳转至县人民医院,诊断为“病毒性脑炎”。6 月 6 日开始,中学生发病急剧增多。疫情逐渐波及至邻近的小学、幼儿园,6 月 18 日发生最后一例病例,累计 108 名学生发病,其中确诊病例 3 例,临床病例 105 例,罹患率为 11.26%。本次疫情未见成年人发病,无死亡病例。

**2.2 现场流行病学调查情况** 四校均位于集镇上,独立院落,校内绿化美好,空气清新,学校教室、老师办公用房、宿舍、食堂等功能分区明确,周围没有农贸市场、化工厂。四校师生均在食堂就餐,食堂卫生状况好,从业人员持有效健康证上岗。师生饮用水为桶装纯净水。学校均设有垃圾池,班级设有垃圾桶。学校厕所均为水冲式无害化厕所,污水实行管网无害化排放。学生实行全封闭式管理,中学、小学实行寄宿制。调查发现,中学学生宿舍卫生条件差,寝室通风不良、室内有异味、周围污水横流伴有恶臭,宿舍管理紊乱。发病期

间天气聚变，5月下旬开始气温迅速上升至 30℃，持续炎热，6月5日晚上开始连续暴雨，气温剧降至 20℃。6月7日天气转晴，一直维持 30℃左右。

2.3 流行病学特征

2.3.1 学校分布 108 例患者分布于石门县某乡镇四所学校，其中中学 75 例（占 69.44%），小学 27 例（占 25.00%），幼儿园 6 例（占 5.56%）。中学、小学、幼儿园学生罹患率分别为 25.34%、4.83%、5.77%。中学生的罹患率高于小学和幼儿园学生（ $\chi^2$  值分别为 75.46，18.20， $P<0.01$ ）。详见表 1。

表 1 2013 年石门县某乡镇四所学校流感样疫情病例分布情况

病例 分类	中学		小学		幼儿园		合计	
	病例 数	罹患率 (%)	病例 数	罹患率 (%)	病例 数	罹患率 (%)	病例 数	罹患率 (%)
临床诊 断病例	73	24.66	26	4.65	6	5.77	105	10.95
确诊 病例	2	0.68	1	0.18	0	0	3	0.31
合计	75	25.34	27	4.83	6	5.77	108	11.26

2.3.2 时间分布 首例病例发病时间为 5 月 29 日，6 月 3 日至 6 月 5 日分别发病 1、2、3 例，但 6 月 6 日至 9 日病例急剧增加，出现高峰，分别发病 12、14、35、31 例，共发病 92 例，占 85.19%。经采取有效控制措施，10 日后疫情迅速下降，6 月 10 日、11 日、12 日、16 日、18 日分别发病 3、1、2、2、1 例。6 月 18 日最后一例病例，累计 108 人发病（见图 1）。

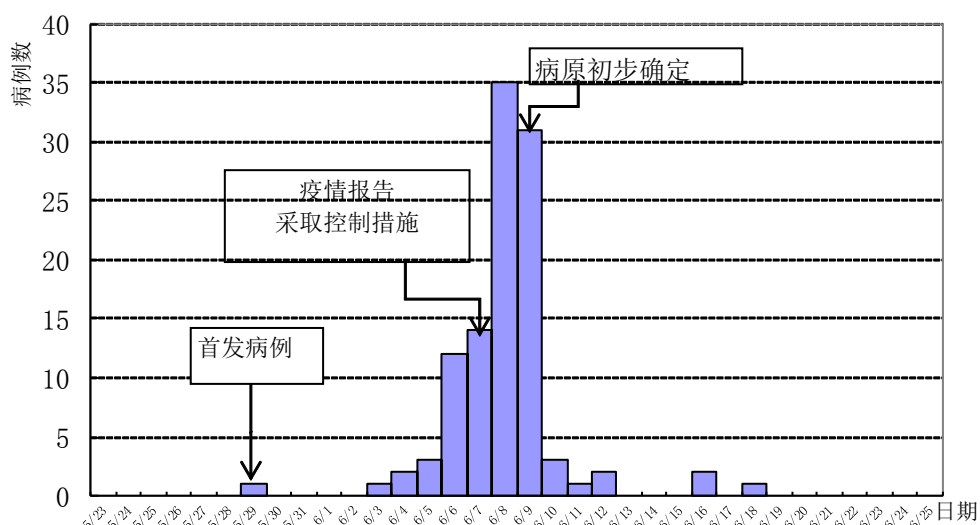


图1 2013年石门县某乡学校ECHO33型肠道病毒感染暴发疫情发病时间分布

**2.3.3 人群分布** 所有病例均为在校学生及幼托儿童，未见成年人及其他散居儿童。发病男生 57 例，女生 51 例，男女性别比为 1.12:1。男生罹患率为 11.49%，女生罹患率为 11.01%，男女生罹患率差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.05$ ,  $P>0.05$ )。从年龄分布来看，低年龄组 ( $\leq 5$ 、6-、8-、10-) 罹患率较低 (5.10%-7.65%)，以 12-岁组罹患率为最高 (25.29%)，其次为  $\geq 14$  岁组 (罹患率 13.79%)。高年龄组 (12-岁和  $\geq 14$  岁) 罹患率 (23.53%，64/272) 与低年龄组 ( $\leq 5$ 、6-、8-、10-岁组) 罹患率 (6.40%，44/687) 差异有统计学意义 ( $\chi^2=57.12$ ,  $P<0.01$ ) (见表 2)。

表 2 2013 年石门县某乡镇学校流感样病例年龄分布情况

年龄	人数			发病人数			罹患率 (%)		
	男	女	合计	男	女	合计	男	女	合计
$\leq 5$	51	47	98	3	2	5	5.88	4.25	5.10
6-	99	89	188	8	6	14	8.08	6.74	7.45
8-	83	88	171	3	8	11	3.61	9.09	6.43
10-	90	93	183	3	11	14	3.33	11.83	7.65
12-	89	38	127	26	8	44	29.21	21.18	25.29
$\geq 14$	74	71	145	12	8	20	16.22	11.26	13.79
合计	496	463	959	57	51	108	11.49	11.01	11.26

**2.3.4 临床表现** 患者的症状主要为发热 (76.85%，83/108)、咽痛及扁桃体肿大 (54.63%，59/108)、头痛头晕 (42.59%，46/108)，咳嗽 (16.67%，18/108)，几乎所有学生均未出现卡他症状。对 63 例患者血常规分析发现，淋巴细胞(L)降低者 76.19% (48/63)，中性粒细胞 (N) 升高者 53.97% (34/63)，白细胞 (WBC) 升高者 36.5% (23/63)。患者病情大部分较轻，仅 1 例为病毒

性脑炎。

**2.3.5 潜伏期** 该疫情病例首发时间为 5 月 29 日，最后发病日期为 6 月 18 日，根据该段时期病例的累积罹患频率，按照不知感染时间的平均潜伏期的计算<sup>[2]</sup>，该病的平均潜伏期为 3.5 天。

**2.3.6 病原学检测** 对来自于中学的 11 例病例的 12 份咽拭子标本进行 EV 核酸检测，所有标本流感 A 和 B 型结果均为阴性；9 例病例（9/11，82%）的 10 份标本（10/12，83%）EV 核酸阳性，其中 8 份标本（来自 7 个病例）中成功分离到 EV。通过对所分离 EV 的部分 VP1 区编码基因进行扩增，以及扩增产物的序列测定和比对，结果显示：分离的 EV 与 2008 年巴基斯坦分离的一株 ECHO33（GU355692）具有最高的序列同源性，提示引起本次疫情爆发的为 ECHO33。分离的 8 株 ECHO33 间核苷酸序列同源性为 99.6%-100 %。

### 3 讨 论

埃可病毒为人肠道病毒的一种，已经发现有 30 多个亚型。该病毒只对人类有感染性，90% 以上为隐性感染或者只出现轻微的上呼吸道症状或流感样症状。埃可病毒感染儿童后，潜伏期一般为 4 天左右，起病时多有上呼吸道症状如发热、咽痛、流涕、咳嗽等，传播途径主要是通过粪-口途径，也可通过呼吸道。

ECHO33 型病毒相对来说是较为罕见的。1959 年，ECHO33 型病毒作为一个新的 EV 病毒的血清型被分离和鉴定，属于人肠道病毒 B<sup>[3]</sup>。从 1966 年到 1990 年，几个欧美国家如加拿大、德国、法国、荷兰、比利时、巴西报道，ECHO33 型病毒可以引起发热、皮疹、腹泻、无菌性脑膜炎、脑炎和急性弛缓性麻痹（AFP）。1994 年日本一家妇幼医院发生了一起 ECHO33 感染导致的暴发疫情，共有 9 名新生儿感染，主要表现为脑炎或弥散性血管内凝血的症状，7 名婴儿的大便标本和脑脊液标本中检测出 ECHO33，且相应抗体滴度在恢复期有显著增高。研究发现提示母体抗体低或者缺乏母体抗体的新生儿感染 ECHO33 型 EV 可能会导致严重症状<sup>[4]</sup>。2000 年冬季，一起 ECHO33EV 疫情在新西兰暴发，确诊 75 例病例（发病率为 2.6/10 万），对其中 56 名病例分析显示，47 名（84%）病人患非细菌性脑膜炎或脑炎<sup>[5]</sup>。在新西兰一起社区 ECHO33 病毒暴发疫情中，一名 3 岁男童表现出右臂无力，伴随轻微无症状特异性发热，在其粪便以及脑脊液标本中检测到了该型病毒。此为第一次报导急性肌无力与 ECHO33 型 EV 感染相关联<sup>[6]</sup>。2008 年，ECHO33 病毒在乍得、喀麦隆、加蓬等非

洲国家发现并报道<sup>[7]</sup>。2007–2010 年印度<sup>[8]</sup>被零星地发现和报道。尽管以前我国云南在 AFP 患儿和健康儿童检测到 ECHO33 病毒<sup>[9-10]</sup>，但直到 2013 年 6 月，本起疫情是我国首次报道 ECHO33 肠道病毒导致的暴发疫情。

本起发生在学校的流感样病例暴发疫情，患者症状主要为发热、咽痛及扁桃体肿大、头痛头晕，咳嗽较少，几乎所有学生没有出现卡他症状。病例症状较轻，仅 1 例为“病毒性脑炎”。血常规检测发现白细胞升高占 36.5%，中性粒细胞升高占 53.97%，淋巴细胞降低占 76.19%。潜伏期为 3.5 天。综合临床资料、流行病学调查和病原学检测结果，判定为一起 ECHO33 型肠道病毒导致的暴发疫情。

本次疫情首先在 1 所中学暴发，然后邻近的小学、幼儿园逐渐有病例报告。患者以中学生为主，占 69.44%。整个疫情只局限于学生及幼托儿童患病，无教师发病。根据流行病学调查分析，引发此次疫情的可能原因有：（1）部分学生个人卫生习惯欠佳；（2）中学住宿卫生环境差，宿舍通风换气不够；（3）天气突变，引起学生身体不适应，抵抗力低，易感染。（4）疫情暴发后，四校之间学生存在直接或间接接触。

人类是人肠道病毒的天然宿主。人肠道病毒感染可以引起多种疾病，尤其对儿童健康危害大，已成为当前严重的公共卫生问题之一。普通人群可能存在 ECHO 隐性感染，15 岁以下儿童为 ECHO 病毒感染的高危人群<sup>[11]</sup>，这提示 ECHO 病毒引发的传染病流行应该引起疾病预防控制人员的高度重视。夏季是人肠道病毒疾病的高发季节，一般认为卫生习惯差是发病的重要原因<sup>[12]</sup>，进一步加强全民爱国卫生运动，促使人们养成良好的卫生习惯以降低人肠道病毒感染的传播流行。

由于 ECHO 病毒可引起出疹性发热、呼吸道感染等，病重的有无菌性脑膜炎等中枢神经系统症状，不能单纯根据临床表现来诊断，必须采集患者的鼻咽部分泌物、粪便或脑脊液，用细胞培养方法及中和试验分离鉴定病毒，同时采集双份血清与分离的病毒进行中和试验<sup>[13-14]</sup>。

由于传染病疫情的致病因子复杂多样，此次疫情表现出的是流感样病例，疫情处置人员初期考虑的是呼吸道传染病（如流感等），故只采集患者的鼻咽拭子检测流感病毒等来查找病原体。当后期进一步确定为人肠道病毒感染后，

需再采集患者的血液标本、粪便标本以进一步分析时，采集相关标本的难度很大。提示需要不断普及新发传染病防控知识，加强卫生应急能力建设，在处理疫情中应尽可能采集患者的血液、粪便、鼻咽拭子标本，即使当时只做针对性的检测，也要将其他标本保存，以备进一步查因，从而明确病原学诊断。

## 参考文献

- [1] 滕峥, 张曦.对人肠道病毒及其感染的再认识[J]. 微生物与感染, 2013, 8(1): 9-15.
- [2] 罗甫周.传染病潜伏期的计算[J].第一军医大学学报, 1984, 3(4):258-260.
- [3] Rosen L, Kern J. Toluca-3, a newly recognized enterovirus [J]. Proc Soc Exp Biol Med 1965,118:389 - 391.
- [4] Sato K, Yamashita T, Sakae K, et al. A new-born baby outbreak of echovirus type 33 infection [J]. J Infect, 1998, 37(2): 123-126.
- [5] Huang QS, Carr JM, Nix WA, et al. An echovirus type 33 winter outbreak in New Zealand [J]. Clin Infect Dis. 2003, 37(5): 650-657.
- [6] Grimwood K, Huang QS, Sadleir LG, et al. Acute flaccid paralysis from echovirus type 33 infection [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(5): 2230-2232.
- [7] Sadeuh-Mba SA, Bessaud M, Massenet D, et al. High frequency and diversity of species C enteroviruses in Cameroon and neighboring countries [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(3):759 - 770.
- [8] Rao DC, Ananda Babu M, Raghavendra A, et al. Non-polio enteroviruses and their association with acute diarrhea in children in India [J]. Infect Genet Evol, 2013, 17: 153 - 161.
- [9] Bingjun T, Yoshida H, Yan W, et al. Molecular typing and epidemiology of non-polio enteroviruses isolated from Yunnan Province, the People's Republic of China [J]. J Med Virol, 2008, 80(4):670 - 676.
- [10] 丁峥嵘, 汤晶晶, 田炳均, 等. 中国云南省与缅甸接壤地区健康儿童肠道病毒携带情况调查 [J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31(2):185 - 188.
- [11] 白永生, 杨安宁, 张静, 等.银川市某医院体检人群 EV71 型和 ECHO 病毒感染率的调查[J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34(5): 453-454.



- [12] 刘传鸽, 冯梓来, 雷洁贞, 等. 一起由埃可病毒型引起的病毒性脑炎疫情调查[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(12): 1515-1517.
- [13] Druyts-Voets E, Yane F, Bosmans E, et al. Method for selecting optimal cells for enterovirus isolation as determined in an outbreak of echovirus type 33 meningitis [J]. Eur J Clin Microbiol, 1985, 4(3): 331-334.
- [14] Pozzetto B, Le Bihan JC, Gaudin OG. Rapid diagnosis of echovirus 33 infection by neutralizing specific IgM antibody [J]. J Med Virol, 1986, 18(4): 361-367.