

· 论 著 ·

山东省 2012 年急性脑炎脑膜炎候群病原谱分析

王敏, 刘桂芳[#], 陶泽新, 林小娟, 宋立志, 徐爱强

山东省疾病预防控制中心, 山东省传染病预防控制重点实验室, 山东 济南 250014

摘要: 目的 了解山东省急性脑炎脑膜炎候群(acute meningitis and encephalitis syndrome, AMES)的病原谱构成与流行病学特征。方法 对2012年山东省济南市6所哨点医院采集的 AMES 病例的血清和脑脊液标本开展8种病毒 IgM 抗体检测,部分 CSF 进行肠道和乙脑病毒分离。结果 全年共报告 AMES 病例629例,99.2%采集了血和/或 CSF 标本(624/629),病原谱中的前几位依次是单纯疱疹病毒、人类肠道病毒、流行性腮腺炎病毒、流行性乙型脑炎病毒、巨细胞病毒、风疹病毒,阳性率分别为20.92%、13.35%、11.35%、8.01%、4.78%、3.58%。另外还有少数水痘-带状疱疹病毒、麻疹病毒感染病例。结论 单纯疱疹病毒、人类肠道病毒、流行性腮腺炎病毒、流行性乙型脑炎病毒仍然是2012年山东省 AMES 病例的主要病原,今后应加强病原学监测,探讨病原体的变异变迁规律。

关键词: 急性脑炎脑膜炎候群;病原谱;监测;特异性 IgM

中图分类号: R512.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-8685(2014)01-0009-04

Analysis of pathogenic spectrum for acute meningitis and encephalitis syndrome in Shandong province in 2012

WANG Min, LIU Gui-fang, TAO Ze-xin, LIN Xiao-juan, SONG Li-zhi, XU Ai-qiang

Shandong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shandong Provincial Key Laboratory of Infectious Disease Control and Prevention, Jinan 250014, China

Abstract: Objective To analyze the pathogenic spectrum constitution and epidemiological characteristics of acute meningitis and encephalitis syndrome (AMES) in Shandong. **Methods** All samples (serum and cerebrospinal fluid) of AMES cases from six sentinel hospitals of Jinan city were collected to test the specific IgM antibody to 8 kinds of virus by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Part of cerebrospinal fluid samples were performed JEV and HEV isolation. **Results** In 2012, 629 AMES cases were reported, and 624 serum and /or CSF samples were collected (99.2%). The main viral pathogens were herpes simplex virus (HSV), human enterovirus (HEV), mumps virus (MuV), Japanese encephalitis virus (JEV), cytomegalovirus (CMV) and rubella virus (RV), and the positive rates were 20.92%, 13.35%, 11.35%, 8.01%, 4.78%, 3.58% respectively. In addition, varicella-zoster virus (VZV) and measles virus (MV) were found in a small number of cases. **Conclusion** The AMES cases of Jinan city in 2012 were mainly caused by HSV, HEV, MuV and JEV as before. In the future, active surveillance and pathogen confirmation should be enhanced and the variation rules should be further studied.

Key Words: Acute meningitis and encephalitis syndrome; Pathogenic spectrum; Surveillance; Specific IgM

急性脑炎脑膜炎候群(Acute meningitis and encephalitis syndrome, AMES)是一组严重危害15岁以下儿童的急性传染性疾病,发病急,病死率高,社会负担严重。AMES的病原广泛分布,包括病毒、细菌、原虫、寄生虫等多种病原体。其中病毒性感染约有100余种,最为常见的病毒有乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)、人类肠道病毒(Human enterovirus, HEV)、单纯疱疹病毒(Herpes simplex virus, HSV)、流行性腮腺炎病毒(mumps virus, MuV)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus, CMV)

)、风疹病毒(Rubella virus, RV)、麻疹病毒(Measles virus, MV)等^[1]。为了评估疾病的全球负担并为WHO监测手册提供现场证据,AMES项目先后在中国、孟加拉国、印度启动^[2]。自2006年开始,包括山东省在内的中国4个省市的哨点监测系统开始启动,藉此了解AMES流行病学概况及病原谱构成,为疾病的整体防控提供依据^[3]。现将2012年山东省济南市的监测结果分析如下。

1 材料与方法

1.1 病例与标本 急性起病,具有发热、头痛、呕吐等症状,伴有不同程度的意识障碍、瘫痪、神经麻痹、肌肉疼痛、肌群松弛和萎缩或脑膜刺激征等症状之一,或临床诊断疑似脑炎脑膜炎患者均作为监测病例。在济南市选择省、市、县级各2所医院(分别为山东大学齐鲁医院、省立医院、济南市儿童医院、济南市传染病医院、章丘市医院、济阳县医院)作为哨点医院,对2012年1月1

基金项目: 国家“十二五”科技重大专项“病毒性传染病病原谱流行规律及变异研究”课题(2013ZX10004202)

作者简介: 王敏(1976-),女,硕士,主管技师,主要从事免疫规划疫苗针对传染病的预防与控制工作。

通讯作者: 徐爱强, E-mail: aqxuepi@163.com

[#]对本文同等贡献,共同第一作者。

日-2012年12月31日就诊/住院的 AMES 病例采集血清和脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)标本。

1.2 检测方法 按照监测方案要求,全部血清、脑脊液标本均先进行 JEV IgM 抗体检测,所用试剂为上海贝西技术有限公司生产的“抗 JEV - IgM 酶联免疫吸附试验(ELISA)诊断试剂”,试剂盒批号为 1206-1。JEV IgM 抗体阴性的血清继续同时进行 HEV、HSV、MuV、CMV、RV、MV、水痘-带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV) 7 种病毒特异性 IgM 抗体,采用德国 Virion-Serion 公司相应病毒的 IgM ELISA 试剂盒,批号分别为 SGC、AR、SDC、BB、SLC、CL、SFB、AI、SIC、AV、SFC、BS、SKB、BS。检测步骤严格按照试剂盒说明书进行。参照我国乙脑等诊断标准,在排除近期接种对应的疫苗免疫史后,凡经上述血清学诊断所检测病毒的特异性 IgM 抗体为阳性者,即为该病毒感染所致原发性或继发性脑炎脑膜炎实验室确诊病例。另外,部分合格并足量的 CSF 标本同时进行了 JEV 和 HEV 病毒分离与血清学定型,所用细胞包括幼仓鼠肾细胞(BHK-21)、白蚊伊蚊卵细胞(C6/36)、人横纹肌肉瘤细胞(RD)、人喉癌上皮细胞(Hep-2),血清由中国医学科学院医学生物学研究所提供。

1.3 数据录入与分析 将全部个案调查、临床检查与诊断以及实验室检测结果等资料,录入 AMES 项目数据库(EPI Date)数据库,应用 EPI Info 2003、Excel 2003 软件对数据进行分析。

2 结果

2.1 流行病学概况 2012 全年共报告病例 629 例,各月均有病例报告,但以夏秋季为主,6 月-10 月发病数占总病例数的 63.11%。从年龄分布来看,最小发病年龄为出生后 1 月,最大年龄 87 岁,15 岁以下病例占总病例数的 50.87%。男性 394 例,女性 235 例,男女性别之比为 1.67:1。按户籍统计,39% 的病例(239 例)属于济南市,其余来自外地市。

2.2 免疫学结果 病例中有 99.2% 采集了血和/或 CSF 标本(624/629),其中 410 例采集了血清和 CSF 双份标本,152 例仅采集了血清标本,62 例仅采集了 CSF 标本。上述标本均检测了 JEV 特异性 IgM 抗体,阳性数 50 例,阳性率 8.01%(50/624)。完成乙脑 IgM 抗体检测后,尚有 502 份血清标本(占总病例数的 79.80%),同时进行了 HSV、HEV、MuV、CMV、RV、VZV 及 MV 7 种特异性 IgM 抗体检测,HSV 抗体阳性病例 105 例(占 20.92%),HEV 抗体阳性病例 67 例(占 13.35%),MuV 抗体阳性病例 57 例(占 11.35%),CMV 抗体阳性病例 24 例(占 4.78%),RV 抗体阳性病例 18 例(占 3.58%),VZV 和 MV 抗体阳性病例各 4 例(占 0.80%)。肠道病毒分离培养 103 例,2 例阳性,血清型分别鉴定为 ECH-O30 和 COXB3。乙脑病毒分离 25 例,均为阴性(表 1)。

表 1 2012 年 AMES 血清和 CSF 标本 8 种病毒 IgM 抗体检测及肠道病毒分离结果

标本类型	检测病例数/阳性数							
	JEV	HSV	HEV	MuV	CMV	RV	VZV	MV
血	562/36	502/105	502/67	502/57	502/24	502/18	502/4	502/4
CSF	472/14	-	-	-	-	-	-	-
CSF 培养	25/0	-	103/2	-	-	-	-	-

2.3 阳性病例流行病学特征

2.3.1 季节分布 JEV 阳性病例全部集中在 7 月-10 月间,9 月呈现发病高峰,病例数占总数的 50%;其余几种抗体阳性病例全年均有发病,HSV、HEV、CMV 均在 7 月-10 月间有较多病例;MuV、RV、VZV、MV 感染病例季节性不明显(图 1)。

2.3.2 人群分布 JEV 阳性病例中,<15 岁与 ≥15 岁病例分别占 51.22%、48.78%。男女基本持平。HSV、MuV、HEV、CMV、RV 抗体阳性病例中男性均多于女性,性别比分别为 1.56:1(64/41)、1.85:1(37/20)、1.68:1(42/25)、3.8:1(19/5)、3.5:1(14/4)。HSV、MuV、HEV 感染病例主要集中于 15 岁以下,<15 岁病例比例分别

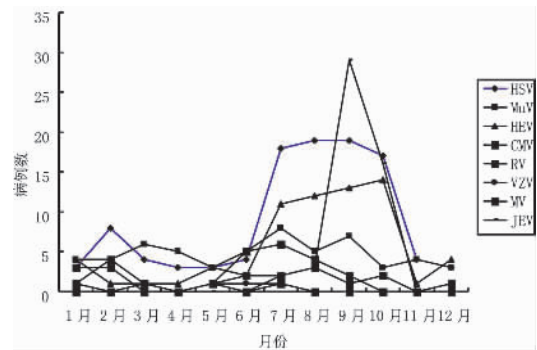


图 1 8 种病毒特异性抗体阳性病例时间分布为 72.38%、70.17%、94.03%。CMV、RV、VZV、MV 感染病例散发于各个年龄段(表 2)。

表2 JEV、HSV、HEV、MuV、CMV、RV 特异性抗体阳性病例年龄分布

年龄组(岁)	JEV		HSV		HEV		MuV		CMV		RV	
	病例数	构成比(%)	病例数	构成比(%)	病例数	构成比(%)	病例数	构成比(%)	病例数	构成比(%)	病例数	构成比(%)
<5	9	18.00	25	23.81	23	34.33	9	15.79	3	12.50	2	11.11
5~	12	24.00	20	19.05	16	23.88	6	10.53	3	12.50	1	5.55
10~	5	10.00	19	18.09	16	23.88	15	26.32	3	12.50	2	11.11
15~	0	0	12	11.43	8	11.94	10	17.54	2	8.33	3	16.67
≥20	24	48.00	29	27.62	4	5.97	17	29.82	13	54.17	10	55.56
合计	50	100.00	105	100.00	67	100.00	57	100.00	24	100.00	18	100.00

2.3.3 地区分布 JEV 病例中,只有 8 例来自济南市,其余均为外地市。HSV、MuV、HEV、VZV、CMV、RV、MV 抗体阳性病例均呈高度散发状态,济南本市病例与外地市病例数之间无明显差别。

3 讨论

急性脑炎脑膜炎候群是严重威胁人类健康的以脑实质和/或脑膜感染为病理表现的系列炎症性疾病,种类繁多,临床表现相互交叉重合^[4]。多种病原体均可导致发病,其中病毒性感染最为常见,据 WHO 估算全球病毒性脑炎发病率约为 3.5/10 万~7.4/10 万^[5]。除了最常见 JEV、HSV、VZV、CMV、HEV、MuV、RV 等,还有陆续发现的新的病毒或某种病毒的新的血清型。另外,由于地理环境、气候等各种因素的影响,在不同地区及不同监测年代,主要病原体有所变化。因此,病原学检测显得尤为重要,不仅可以明确诊断还以指导治疗。

IgM 抗体是早期病原学诊断的理想方法之一,约有 90% 的病例在发病后 4 的 CSF 或是 7 d~9 d 的血清中即可应用 ELISA 方法检测出阳性结果^[6]。本次监测主要采用此方法对本标进行检测,探讨病例的病毒性病原体。数据显示 2012 年山东济南哨点监测 AMES 病例的主要病原体是 HSV、HEV、MuV、JEV,这与山东省先前报道的结果基本一致^[7,8]。但首要病原由之前的 HEV 变迁为 HSV,这与英国的报道相符^[9]。HSV 感染病例在 7 月-10 月较多,与既往研究中发现的 HSV 引起的脑炎发病率在夏季较高的现象吻合^[10]。临床表现来看,HSV 引起的重症病例居多,后遗症严重,病死率高达 30%~70%,因此早期诊断是降低病死率、改善预后的关键。位居第二位的病原是 HEV,而之前国内外的报道中也明确 HEV 是此类症候群的重要病原体^[9,11-13]。此外,HEV 是小儿中枢神经系统感染常见病原,本监测中发现 HEV 感染 <15 岁儿童的比例高达 94.03%,小年龄组 HEV 疑似病例的监测更应该加强。JEV 感染病例均在流行季节中发生,<15 岁与 ≥15 岁病例基本持平,这充分提示,乙脑发病年龄构成发生了变化,有向大年龄推移的现象^[14,15]。

在完成了所有标本共 8 种病毒特异性抗体检测后,仍有 223 份标本为阴性,占总检测数的 44.42%。可能是实验结果假阴性,或是部分病例是由细菌、寄生虫、原虫等感染所致,扩大病原体的检测范围是下一步工作的需要。另外,病例中有一定比例的混合感染存在 2 种甚至 3 种病毒 IgM 抗体同时阳性的病例数占总数的 1.47%,当然也不能排除试剂盒的特异性问题,不同抗原之间可能存在交叉反应。因此,积极探索分子生物学、乳胶凝集等中枢神经感染的快诊技术,可以弥补脑脊液采样率低的不足,提高实验室确诊率。

本研究从血清学诊断和流行病学的角度,进一步明确了济南市目前导致 AMES 病例感染的主要病原体及其主要流行病学特征。鉴于急性脑炎脑膜炎候群的巨大危害,应完善病原学的监测,密切关注主要病原体的变异变迁规律。

志谢 济南市疾病预防控制中心及 6 所医院对本次监测的大力支持

参考文献

- [1] Scheld WM, Whitley RJ, Marra CR. Infections of the central nervous system [M]. New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 1.
- [2] Center for Disease Control and Prevention (CDC). Expanding poliomyelitis and measles surveillance networks to establish surveillance for acute meningitis and encephalitis syndromes - Bangladesh, China, and India, 2006 - 2008 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2012, 61(49): 1008 - 1011.
- [3] Yin ZD, Wang HY, Yang JY, et al. Japanese encephalitis disease burden and clinical features of Japanese encephalitis in four cities in the People's Republic of China [J]. AM J Trop Med Hyg, 2010, 83(4): 766 - 773.
- [4] 吴兴华, 杨进业. 急性脑炎脑膜炎候群及其监测研究进展 [J]. 中国公共卫生 2012 28(11): 1537 - 1540.
- [5] Solomon T. Control of Japanese encephalitis - within our grasp [J]. N Engl J Med, 2006, 355(9): 869 - 871.
- [6] Robinson JS, Featherstone D, Ravi V, et al. Evaluation of three commercially available Japanese encephalitis virus IgM enzyme-linked immunosorbent assays [J]. AM J Trop Med Hyg, 2010, 83(5): 1146 - 1155.

(下转第 15 页)

- [5] Anh DD, Borgdorff MW, Van LN, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype emerging in Vietnam [J]. Emerg Infect Dis, 2000, 6(3): 302-305.
- [6] Toungoussouva OS, Sandven P, Mariandyshev AO, et al. Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(6): 1930-1937.
- [7] Sun YJ, Lee AS, Wong SY, et al. Genotype and phenotype relationships and transmission analysis of drug-resistant tuberculosis in Singapore [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2007, 11(4): 436-442.
- [8] 逢宇, 夏辉, 姜广路, 等. 中国结核分枝杆菌寡核苷酸基因型及其耐药性分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(11): 1023-1028.
- [9] World Health Organization/ International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis - 4th ed [R]. Geneva: WHO, 2009: 13-20.
- [10] 刘敬华, Pourel C, Hauck Y, 等. 一种鉴定结核分枝杆菌“北京家族”菌株的新方法 [J]. 中华微生物与免疫学杂志, 2008, 28(2): 172-175.
- [11] Tsolaki AG, Gagneux S, Pym AS, et al. Genomic deletions classify the Beijing /W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(7): 3185-3191.
- [12] 杜昕, 刘二勇, 陈伟, 等. 2010年全国流动和常住人口涂阳肺结核患者转出与治疗管理结局的对比分析 [J]. 中国防痨杂志, 2011, 33(9): 527-530.
- [13] 曹晓慧, 刘志广, 赵秀芹, 等. 220株结核分枝杆菌北京临床分离株的基因分型研究 [J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(5): 412-417.
- [14] 王胜芬, 赵雁林, 黄海荣, 等. 结核分枝杆菌北京基因型菌株与耐药表型的关系 [J]. 中国医学科学院学报, 2009, 31(4): 427-431.
- [15] Weniger T, Krawczyk J, Supply P, et al. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria [J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(5): 326-331.
- [16] Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology [J]. BMC Microbiol, 2006, 6(5): 23.
- [17] Li WM, Wang SM, Li CY, et al. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in China: a nation wide random survey in 2000 [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2005, 9(12): 1314-1319.
- [18] Dong H, Liu Z, Lv B, et al. Spoligotypes of *Mycobacterium tuberculosis* from different Provinces of China [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 4102-4106.
- [19] 梁庆福, 陈求扬, 赵永, 等. 福建省畲族人群结核分支杆菌 IS6110 DNA 指纹图谱特征分析 [J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(10): 926-929.
- [20] 李晓, 朱宇. 福建省流动人口状况分析 [J]. 福建师范大学学报, 2004, 128(5): 45-51.
- [21] Pang Y, Zhou Y, Zhao B, et al. Spoligotyping and drug resistance analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains from national survey in China [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e32976.
- [22] Liang QF, Pang Y, Chen QY, et al. Genetic Profile of Tuberculosis Among the Migrant Population in Fujian Province, China [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2013, 17(5): 655-661.
- [23] Cox HS, Kubica T, Doshetov D, et al. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia [J]. Respir Res, 2005, 6(11): 134.

收稿日期: 2013-07-05

(上接第11页)

- [7] 冯蕾, 刘桂芳, 宋立志, 等. 急性脑膜炎/脑炎症候群哨点监测病例7种病毒特异性IgM抗体血清学诊断结果分析 [J]. 中国疫苗和免疫, 2010, 16(6): 523-527.
- [8] 林小娟, 刘桂芳, 王敏, 等. 2010年济南市急性脑膜炎/脑炎症候群病原学监测与分析 [J]. 中国疫苗和免疫, 2012, 18(2): 127-130.
- [9] Donoso Mantke O, Vaheri A, Ambrose H, et al. Analysis of the surveillance situation for viral encephalitis and meningitis in Europe [J]. Euro surveillance, 2008, 13(1-3): 1-10.
- [10] Tyler KL. Herpes simplex virus infections of the central nervous System: encephalitis and meningitis, including Mollaret's [J]. Herpes, 2004, 11(Suppl 2): 57A-64A.
- [11] 刘春艳, 申昆玲, 梁国栋. 2002~2005年北京儿童医院住院患儿病毒性脑炎流行病学分析 [J]. 中国实用儿科杂志, 2007, 22(7): 498-501.
- [12] 李幸乐, 张爱梅, 徐子乾, 等. 河南省病毒性脑炎病原谱研究初报 [J]. 中国公共卫生, 2009, 30(14): 47-48.
- [13] 曹建, 吴兆华, 黄晓勇, 等. 流行性病毒性脑炎病原学特征分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(1): 74-79.
- [14] 李芝星, 尹遵栋, 李军宏, 等. 中国2004~2006年流行性乙型脑炎流行病学特征分析 [J]. 中国计划免疫, 2007, 13(6): 825-829.
- [15] 鲁苏娜, 付士红, 尹遵栋, 等. 山东省淄博市病毒性脑炎病例实验室检测及流行病学分析疾病监测 [J]. 疾病监测, 2012, 27(4): 263-266.

收稿日期: 2013-08-22