

2019-2021 年珠海市流感症状人群中腺病毒 (HAdV) 基因特征分析

京舒婷¹ 京舒婷² 林毅雄¹ 黄辉涛¹

(1.珠海市疾病预防控制中心 广东珠海 519000; 2.郴州市食品药品检验中心 湖南郴州 423000)

摘要:目的:了解珠海市腺病毒在流感症状人群中的阳性率。分析珠海市腺病毒的基因分型及分子流行病学。方法:收集 2019-2021 年珠海市哨点医院流感症状人群咽拭子样本,用 PCR 法检测流感样样品中腺病毒核酸,针对腺病毒 hexon 区域进行特异性扩增,分析其型别及遗传进化关系。结果:2019-2021 年共检测 1031 份样本,有 92 份样本 HAdV 核酸阳性,阳性率为 8.92%。对其中 69 份阳性样本进行基因分型测序分析,HAdV-B3 占 75.36% (52/69),HAdV-E4 占 10.14% (7/69),HAdV-B7 占 7.25% (5/69),HAdV-B21 占 4.35% (3/69),HAdV-C6 占 1.44% (1/69),HAdV-C57 占 1.44% (1/69)。HAdV 阳性患者男女性别比例为 1.24:1.00,患者人群占比以小于 5 岁最高,5-10 岁人群次之。结论:HAdV-B3 是 2019-2021 年珠海市呼吸道腺病毒的主要流行基因型别,其他基因型别呈散发且多样化。建议加强流感症状人群咽拭子样本的多病原监测,预防 HAdV 所致的婴幼儿儿童急性呼吸道暴发,实现精准防控。

关键词:人腺病毒;流感症状人群;基因特征;分子流行病学

Analysis of Adenovirus (HAdV) Gene Characteristics in Influenza Symptomatic Population in Zhuhai City from 2019 to 2021

JING Shuping¹, JING Shuting², LIN Yixiong¹, HUANG Huitao¹

1.Zhuhai Center for Disease Control and Prevention,Zhuhai,Guangdong 519000

2.Chenzhou Food and Drug Inspection Center,Hunan Chenzhou 423000

Project: Zhuhai Medical Research Fund Project (ZH24013310210033PWC)

Abstract:Objective: To understand the infection rate of adenovirus in the population with influenza symptoms in Zhuhai city. Analyze the genotype and molecular epidemiology of adenoviruses in Zhuhai city. Methods: Collect throat swab samples from the population with influenza symptoms at Zhuhai Sentinel Hospital from 2019 to 2021, use PCR method to detect adenovirus nucleic acid in influenza like samples, and perform specific amplification on the hexon region of the adenovirus to analyze its type and genetic evolution relationship. Results: A total of 1031 samples were tested from 2019 to 2021, of which 92 samples were positive for HAdV nucleic acid, with a positive rate of 8.92%. Genotyping and sequencing analysis were conducted on 69 positive samples, with HAdV-B3 accounting for 75.36% (52/69), HAdV-E4 for 10.14% (7/69), HAdV-B7 for 7.25% (5/69), HAdV-B21 for 4.35% (3/69), HAdV-C6 for 1.44% (1/69), and HAdV-C57 for 1.44% (1/69). Conclusion: HAdV-B3 is the main prevalent genotype of respiratory adenovirus in Zhuhai from 2019 to 2021, while other genotypes are sporadic and diverse. It is recommended to strengthen the multi pathogen monitoring of throat swab samples from people with influenza symptoms, to prevent acute respiratory outbreaks in infants and children caused by HAdV, and achieve precise prevention and control.

Keywords: human adenovirus; Influenza symptom population; Genetic characteristics; molecular epidemiology

人腺病毒 (Human adenovirus, HAdV) 是一种较常见的呼吸道系统感染病原体,传染性较强,可引起多系统多器官感染,易感人群主要为婴幼儿儿童,青少年及成人也可感染,部队新兵训练营中也常引起感染性疾病的暴发[1-2]。人腺病毒分为 7 个种 (A-G) 和 90 多个基因型,其中 B、C 和 E 组为引起呼吸道感染的主要腺病毒种,可引起急性呼吸道疾病 (Acute Respiratory Disease, ARD) 和婴幼儿致死性肺炎[3]等重症病情。

腺病毒肺炎是我国发病率最高的病毒性肺炎之一,是婴幼儿、儿童时期的一种重症肺炎,儿童呼吸道感染约 5%~15% 是由腺病毒引起。近年来,在我国腺病毒所造成的地方型流行时有暴发,主要以 HAdV-B3、HAdV-E4、HAdV-B7 型为主[4]。为进一步了解珠海市腺病毒在流感症状人群中的病原学特征,预防 HAdV 所致的婴幼儿儿童急性呼吸道暴发,提高对呼吸道疫情的应急处置能力,本研究对珠海市流感症状人群中 HAdVs 样本进行基因分型及分子流行病学分析。

1 材料与方法

1.1 样本来源

采集 2019-2021 年珠海市流感症状人群咽拭子样本 1031 份。

1.2 方法

DNA 提取。使用 Qiagen DNA Kit 提取病毒 DNA,具体方法参照试剂盒说明书。

通用型腺病毒测序扩增引物:上游引物 HexF: 5' -GCCGCAGTGGTCTTACATGCACATC-3', 下游引物 HexR: 5' -AGCACGCCCGCAATGTCAAAG-3', 产物大小为 300bp。腺病毒 hexon 基因扩增测序引物:上游引物 adHexSF: 5' -CGCTTAACTTGCTTCTGTG-3', 下游引物 adHexSR: 5' -GGACGATGGCTTTGAGCTC-3', 产物大小 3kb。

PCR 反应条件 反应体系 20 μL, 各成分如下: 2 × Taq Master Mix 10 μL, 上下游引物 (10 μM) 各 0.5 μL, 模板 2 μL, 无菌水 7 μL。反应条件: 通用型引物的扩增条件: 94℃ 预变性 1min; 变性, 94℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 20s, 35 个循环, 终延伸 72℃ 7min。hexon 基因引物的扩增反应: 94℃ 预变性 1min, 变性, 94℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 3min, 扩增 35 个循环, 终延伸 72℃ 7min。将扩增产物送至艾基生物公司进行基因测序。

1.3 基因特征分析 对扩增产物进行测序分析,获得的序列通过 GeneBank Blast 进行比对,得出腺病毒亚型;利用 Bioedit 和

DNASTAR (Seqman) 序列分析软件, 采用 MEGA 软件中 Clustal W 法, 绘制 Neighbo-Joining 进化树对同亚型测序结果进行同源性分析。

2 结果

2.1 HAdV 基因型分布 对 2019-2021 年 1031 份流感症状人群咽拭子样本用 PCR 法检测流感样样品中腺病毒核酸, 有 92 份样本 HAdV 核酸阳性, 阳性率为 8.92%。对其中 69 份阳性样本进行基因分型测序分析, HAdV-B3 占 75.36% (52/69), HAdV-E4 占 10.14% (7/69), HAdV-B7 占 7.25% (5/69), HAdV-B21 占 4.35% (3/69), HAdV-C6 占 1.44% (1/69), HAdV-C57 占 1.44% (1/69)。

2.2 流行病学结果分析 HAdV 阳性患者中, 男性 51 例, 女性为 41 例, 男女性别比例为 1.24: 1.00。患者人群占比以 <5 岁最高, 5-10 岁人群次之。不同年龄组别中, <5 岁组 49 例, 5-10 岁组 33 例, 11-20 组 4 例, 21-30 岁组 3 例, 30-40 岁组 1 例, >40 组 2 例。占比最高的年龄组为 <5 岁组 (53.26%) 其次为 5-10 岁组 (35.87%), 11-20 组 (4.35%), 21-30 岁组 (4.35%), >40 组 (2.17%), 30-40 岁组 (1.09%)。

2.3 HAdV 进化树分析

38 份腺病毒阳性样品 Hexon 序列同源性分析显示, 基因型别有 5 种, 其中 30 份样品为 HAdV-B3 型, 且序列之间同源性为 100%, 5 份 HAdV-B7 序列同源性为 100%, 同型别序列保守性极高。

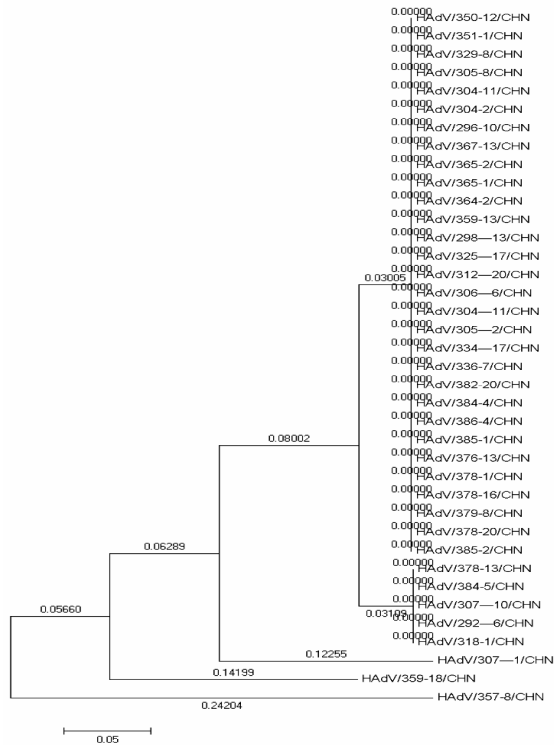


图 1 腺病毒 Hexon 序列进化树

3 讨论

本研究结果显示, 2019-2021 年珠海市流感症状人群中 HAdVs 核酸阳性率为 8.92%, 与相关文献[5]结论不一致, 阳性率较低。这可能由于不同地域气候及人口的差异, 导致病毒的流行特征不同。且本研究期间, 2020-2021 年是在 COVID-19 大流行的背景下, SARS-CoV-2 是否对我国 HAdV 的阳性率及多样性存在影响尚不可

知。

本研究对部分 HAdV 进行基因分型测序分析, 结果显示在 69 份阳性样本中, B、C 和 E 组腺病毒均有检出。其中检出 B 组 60 份, 感染占比最高 86.96%; E 组次之, 检出 7 份, 感染占比为 10.14%; C 组最少, 检出 2 例, 感染占比为 2.90%。这与近年来的研究结果相似, 腺病毒所造成的地方型流行时有暴发, B、C 和 E 组为引起呼吸道感染的主要腺病毒种, 型别主要以 HAdV-B3、HAdV-E4、HAdV-B7 型为主。本研究显示, 基因型别构成比中 HAdV-B3 占 75.36%, 这与之前报道的结果一致[6], 我国南方以 HAdV-B3 流行为主。

流行病学结果分析显示, 患者人群占比以 <5 岁最高, 5-10 岁人群次之, 婴幼儿及儿童患者 (<10 岁) 占地高达 89.13%, 说明低龄人群是呼吸道腺病毒的主要易感人群, 应加强幼儿园及小学校园管理, 尽量避免校园内交叉感染。研究中, 腺病毒感染年龄最高者为 64 岁, 提示低免疫力群体应减少出现在人多密集公共场所的频率, 注意呼吸道病原体的感染。

六邻体序列同源性分析结果显示, 珠海呼吸道腺病毒流行的基因型别较为多样化, 同型别基因型同源性高, 说明序列保守性高。

综上, HAdV-B3 是珠海市呼吸道腺病毒的优势基因型别, 建议加强流感症状人群咽拭子样本的多病原监测, 预防 HAdV 所致的婴幼儿儿童急性呼吸道暴发, 实现精准防控。鉴于 HAdV-3、HAdV-4、HAdV-7 感染的频频暴发, 以及 HAdV-14、-55 腺病毒的强致病性, 针对腺病毒感染的预防和治疗成为我国公共卫生事业亟待解决的问题。

参考文献:

[1]CHMIELEWICZ B, BENZLER J, PAULI G, et al. Respiratory disease caused by a species B2 adenovirus in a military camp in Turkey [J]. Journal of medical virology, 2005, 77(2): 232-7.

[2]RYAN M A, GRAY G C, SMITH B, et al. Large epidemic of respiratory illness due to adenovirus types 7 and 3 in healthy young adults [J]. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 2002, 34(5): 577-82.

[3]TANG L, WANG L, TAN X, et al. Adenovirus serotype 7 associated with a severe lower respiratory tract disease outbreak in infants in Shaanxi Province, China [J]. Virology journal, 2011, 8(23).

[4]唐浏英, 刘秀云, 芦起, et al. 2004 年冬至 2005 年春引起北京地区儿童肺炎的硕士学位论文 86 腺病毒基因特点分析 [J]. 病毒学报, 2006, 22(4): 286-91.

[5]张国英, 娄玉华, 张彤, 等. 乌兰察布地区儿童急性支气管炎哮喘呼吸道感染及临床特征 [J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31 (15) 2382-2386.

[6]Chen Y, Liu F, Wang C, et al. Molecular identification and epidemiological features of human adenoviruses associated with acute respiratory infections in hospitalized children in Southern China, 2012-2013 [J]. PLoS One, 2016, 11 (5): e0155412.

课题项目: 珠海市医学科研项目 (ZH24013310210033PWC)