

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.07.024

◇临床医学◇

儿童肠道病毒性脑炎的临床特点及脑脊液病毒检测结果分析

李永春^a,李小芹^a,张迎辉^b作者单位:郑州大学附属儿童医院、河南省儿童医院、郑州儿童医院,^a消化科,^b肾内科,河南 郑州 450000

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201403251)

摘要:目的 探讨肠道病毒性脑炎(EVE)儿童的临床特点及脑脊液病毒检测结果。**方法** 回顾性分析河南省儿童医院2015年1月至2017年12月收治的216例EVE患儿病例资料。**结果** 临床特点:发热症状占69.44%,头痛占64.35%,呕吐占75.00%;6~8月发病占39.35%,9~11月占31.48%;白细胞(WBC)总数 $>10 \times 10^9/L$ 占68.98%,C反应蛋白(CRP)升高占57.87%;脑电图轻中度异常检出率21.76%。脑脊液病毒检测:肠道病毒(EV)通用核酸检测阳性率55.56%,其中埃柯病毒30(ECHO30)型占79.17%;特异性IgM抗体阳性95例;不同年龄段、不同发病时间段患儿脑脊液EV通用核酸阳性检出率、特异性IgM抗体阳性检出率比较均差异有统计学意义(P 均 <0.05)。预后:均治愈出院。**结论** 儿童EVE主要症状为发热、头痛及呕吐,好发于夏、秋季;脑脊液病毒检测以ECHO30为主且特异性IgM抗体检出率较高,经综合治疗后患儿预后良好。

关键词:脑炎,病毒性; 肠道病毒属; 儿童; 临床特点; 脑脊液; 病毒抗体

Clinical characteristics of children with enteroviral encephalitis and virus detection results of cerebrospinal fluid

LI Yongchun^a, LI Xiaoqin^a, ZHANG Yinghui^b

Author Affiliation: ^aDepartment of Gastroenterology, ^bDepartment of Nephrology, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Children's Hospital of Henan Province, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China

Abstract: Objective To investigate the clinical characteristics of children with enteroviral encephalitis (EVE) and virus detection results of cerebrospinal fluid. **Methods** The data of 216 children with EVE who were admitted to the hospital from January 2015 to December 2017 were analyzed retrospectively. **Results** In terms of clinical characteristics, fever accounted for 69.44%, headache accounted for 64.35% and vomiting accounted for 75.00%. Onset in June-August accounted for 39.35%, and September-November accounted for 31.48%. The total white blood cell count (WBC) $>10 \times 10^9/L$ accounted for 68.98%, and increased C reactive protein (CRP) accounted for 57.87%. The detection rate of mild and moderate abnormal electroencephalogram was 21.76%. The virus detection of cerebrospinal fluid showed that the general nucleic acid detection positive rate of enterovirus (EV) was 55.56%, and enteric cytopathic human orphan virus 30 (ECHO30) accounted for 79.17%. The specific IgM antibody was positive in 95 cases. There were significant differences in the general nucleic acid detection positive rate of EV and the positive rate of specific IgM antibody in cerebrospinal fluid between children of different age and onset time ($P < 0.05$). All children were cured and discharged from hospital. **Conclusion** The main symptoms of children with EVE are fever, headache and vomiting. The disease occurs frequently in summer and autumn. The virus detection of cerebrospinal fluid mainly includes ECHO30, and the detection rate of specific IgM antibody is high. After comprehensive treatment, the prognosis of children is good.

Key words: Encephalitis, viral; Children; Enterovirus; Clinical characteristics; Cerebrospinal fluid; Virus antibody

肠道病毒性脑炎(enterovirus encephalitis, EVE)多表现出头痛、发热症状,夏季为其高发季节,通常发病急^[1]。EVE发病与肠道病毒(enterovirus, EV)对脑实质浸润密切相关,已知血清型超过120个,由于其发热等症状不明显,临床易误诊或漏诊,耽误病情,增加手足口病等发生风险,严重时甚至导致患儿死亡。为此早期诊断EVE至关重要。目前临床关于病毒性

脑炎流行病学、病原学检测相关报道较多^[2-4],而关于病毒性脑炎类型之一的EVE病原学相关研究较少。基于此,笔者对216例EVE患儿病例资料进行回顾性分析,总结EVE临床特点及脑脊液病原学检测特点,以为临床儿童EVE诊治提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集河南省儿童医院2015年1月

至2017年12月收治的EVE病儿216例,均符合《实用内科学》(13版)中EVE相关诊断标准,所有病儿病例资料完整,排除重度EVE、合并重症肺炎、自身免疫性疾病、其他系统严重感染、资料不全等病儿。男150例(69.44%),女66例(30.56%);年龄范围为6个月至~14岁,平均6岁,其中6个月至<3岁44例(20.37%),3~<7岁76例(35.19%),7~<14岁96例(44.44%)。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。病儿或近亲属对研究方案签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 216例病儿入院后120 min内抽取其脑脊液(腰椎穿刺)2 mL、血液4 mL。常规处理后保存,若24 h内检测则保存于4℃冰箱内,超过24 h检测则保存于-70℃冰箱内。

1.2.2 脑脊液病毒检测 (1)EV RNA提取,按照QIAamp MinElute Virus Spin Kit(QIAGEN公司)说明书对病毒核酸提取,保存于-70℃冰箱中;(2)实时定量荧光聚合酶链式反应(Real-Time PCR)检测:试剂盒由上海江莱生物科技有限公司提供,严格依据试剂盒说明书对脑脊液标本行肠道通用型检测,若阳性再对新型肠道病毒71型(EV71)、柯萨奇病毒A组16型(CoxA16)、埃柯病毒30(ECHO30)型检测。(3)对未分型标本来说,将其接种至RD细胞,于35℃、5%二氧化碳环境中培养,细胞病变超过+++则对病毒收取,保存于-70℃冰箱中。(4)逆转录PCR(RT-PCR)、VP1区序列:(1)中提取之病毒核酸为模板,PT-PCR相关试剂盒由上海信裕生物技术有限公司提供,扩增、测序引物以文献[5]为参考;通过半巢式PCR测定VP1区序列,如引物AN32,其序列为5'-GTGTGCCA-3',用于PT;AN224序列为5'-GCIATGYTIGGIACICAYRT-3',用于PCR-1,扩增产物993 bp;AN89序列为5'-CCAGCACTGACAGCAGYNGARAYNGG-3',用于PCR-2,扩增产物376 bp;(5)PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳分析。(6)核苷酸测序。

1.2.3 脑脊液IgM抗体检测 通过酶联免疫吸附法(ELISA)测定脑脊液特异性IgM抗体,相关试剂盒由上海瓦兰生物科技有限公司提供。酶标仪对波长450 nm处吸光度(A)测定,标本A值在1.1倍临界值及以上判断为阳性,在0.9倍临界值及以下判断为阴性,临界值±10%内判断为可疑,重复测定。

1.2.4 资料收集 对216例EVE病儿病例资料收集整理,包括EVE症状、实验室检查[如白细胞

(WBC)、C反应蛋白(CRP)、肝功能指标、心肌酶指标]、脑电图检查、病原学检测、治疗、预后等。

1.3 统计学方法 应用SPSS20.0统计软件处理数据。计数资料以率表示,行 χ^2 检验。多组间比较检验水准 $\alpha=0.05$,两两比较 $\alpha=0.017$ 。

2 结果

2.1 临床特点

2.1.1 临床症状 216例病儿中出现发热症状150例(其中高热50例,中热78例,低热22例),头痛139例,呕吐162例,表现出抽搐2例,有可疑脑膜刺激征或病理征3例,少数表现出腹痛、腹泻、咳嗽症状,大部分无明显流涕、流泪等症状。均无意识障碍、呼吸困难等严重症状发生。不同年龄段病儿主要症状见表1。

表1 不同年龄段EVE病儿主要症状/例(%)

年龄段	例数	发热	头痛	呕吐	抽搐	可疑脑膜刺激征或病理征
6个月至<3岁	44	30(68.18)	—	22(50.00)	2(4.55)	0(0.00)
3~<7岁	76	66(86.84)	46(60.53)	59(77.63)	0(0.00)	1(1.32)
7~<14岁	96	54(56.25)	93(96.88)	81(84.37)	0(0.00)	2(2.08)
合计	216	150(69.44)	139(64.35)	162(75.00)	2(0.92)	3(1.39)

注:“—”表示因病儿主诉不清未统计;EVE为肠道病毒性脑炎

2.1.2 发病时间段 3—5月30例(13.89%),6—8月85例(39.35%),9—11月68例(31.48%),1、2、12月33例(15.28%)。

2.1.3 相关检查 WBC总数超过 $10 \times 10^9/L$ 者149例(68.98%),WBC总数下降者2例(0.92%);CRP上升者125例(57.87%);肝功能异常者40例(18.52%),均未发生黄疸;心肌酶检查异常者172例(79.63%)。所有病儿均接受脑电图检查,显示轻中度异常47例(21.76%);颅脑CT平扫者180例,均未发现显著异常。

2.2 脑脊液病原学检测

2.2.1 脑脊液EV检测结果 216份脑脊液标本EV通用核酸检测阳性120份,其中ECHO30核酸阳性95份(79.17%,95/120),CoxA16核酸阳性5份(4.17%,5/120),EV71核酸阳性5份(4.17%,5/120),未分型15份(12.50%,15/120)。不同年龄段病儿脑脊液EV通用核酸阳性检出率比较差异有统计学意义($\chi^2=25.38, P<0.05$),6个月至<3岁与3~<7岁之间EV通用核酸阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=3.01, P>0.017$),6个月至<3岁与7~<14岁、3~<7岁与7~<14岁之间比较差

异有统计学意义($\chi^2 = 21.34, 12.35, P$ 均 < 0.017), 见表2。同时不同发病季节病儿脑脊液 EV 通用核酸阳性检出率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 111.37, P < 0.05$), 3—5 月与 6—8 月、3—5 月与 9—11 月 EV 通用核酸阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 58.72, 48.87, P < 0.017$), 6—8 月与 9—11 月之间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.28, P > 0.017$), 1、2、12 月与 6—8 月、1、2、12 月与 9—11 月之间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 62.30, 52.01, P < 0.017$), 见表3。

表2 不同年龄段 EVE 病儿脑脊液 EV 通用核酸阳性情况

年龄段	例数	阳性例数/例	检出率/%	阳性构成比/%
6个月至<3岁	44	35	79.55	29.17
3~<7岁	76	49	64.47	40.83
7~<14岁	96	36	37.50	30.00
合计	216	120	55.56	100.00

表3 不同发病时间段 EVE 病儿脑脊液 EV 通用核酸阳性情况

发病时间段	例数	阳性例数/例	检出率/%	阳性构成比/%
3—5月	30	0	0.00	0.00
6—8月	85	68	80.00	56.67
9—11月	68	52	76.47	43.33
1、2、12月	33	0	0.00	0.00
合计	216	120	55.56	100.00

2.2.2 脑脊液 IgM 抗体检测结果 216 例病儿中脑脊液特异性 IgM 抗体阳性 95 例。不同年龄段病儿脑脊液特异性 IgM 抗体阳性检出率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 16.91, P < 0.05$); 6 个月至 <3 岁与 3~<7 岁、6 个月至 <3 岁与 7~<14 岁之间 IgM 抗体阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 5.50, 16.80$, 均 $P < 0.017$), 3~<7 岁与 7~<14 岁之间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 3.95, P = 0.047$), 见表4。不同发病时间段病儿脑脊液特异性 IgM 抗体阳性检出率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 69.83, P < 0.05$); 3—5 月与 6—8 月、3—5 月与 9—11 月 IgM 抗体阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 34.70, 32.43, P < 0.017$), 6—8 月与 9—11 月之间比较差异无统计学

表4 不同年龄段 EVE 病儿脑脊液特异性 IgM 抗体阳性情况

年龄段	例数	阳性例数/例	检出率/%	阳性构成比/%
6个月至<3岁	44	30	68.18	31.58
3~<7岁	76	35	46.05	36.84
7~<14岁	96	30	31.25	31.58
合计	216	95	43.98	100.00

意义($\chi^2 = 0.01, P > 0.017$), 1、2、12 月与 6—8 月、1、2、12 月与 9—11 月之间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 37.35, 34.89, P < 0.017$), 见表5。

表5 不同发病时间段 EVE 病儿脑脊液特异性

IgM 抗体阳性情况

发病时间段	例数	阳性例数/例	检出率/%	阳性构成比/%
3—5月	30	0	0.00	0.00
6—8月	85	53	62.35	55.79
9—11月	68	42	61.76	44.21
1、2、12月	33	0	0.00	0.00
合计	216	95	43.98	100.00

2.3 治疗与预后 所有病儿入院后接受抗病毒、20% 甘露醇静注、支持等综合治疗, 且根据相关检查结果对症处理, 如 WBC、CRP 显著上升者给予抗生素处理, 高热者给予物理降温等处理。所有病儿经综合治疗后好转, 均治愈出院。

3 讨论

于盼辉等^[6]调查显示病毒性脑炎病毒阳性检出率 41.50%, 其中 EV 占 87.88%。但 EV 与其他病毒引发病毒性脑炎病儿在性别、临床表现、脑电图、MRI 检查方面均无明显差异。田茂强等^[7]调查发现儿童病毒性脑炎病原学方面, EV 占 72.00%。根据病毒性脑炎病原学流行特点, 我们选择 EVE 为研究对象, 探讨其 EVE 临床特点及脑脊液病毒检测特点。

3.1 EVE 儿童临床特点 本研究显示 EVE 主要表现为发热、头痛、呕吐等症状, 与病毒性脑炎症状基本类似^[8]。仅 3 例表现出可疑脑膜刺激征或病理征, 抽搐 2 例。进一步观察不同年龄病儿临床症状, 发现 3~<7 岁病儿发热症状比率最高, 其次是呕吐, 第三是头痛; <7~<14 岁病儿头痛症状比率最高, 其次是呕吐, 第三是发热。同时 2 例抽搐均发生于 <3 岁病儿。可见不同年龄段 EVE 临床症状存在一定的不同, 但整体上无明显差异。发病时间段方面, 我们发现 6—11 月发生 153 例(70.83%), 特别是 6—8 月, EVE 发生率占 39.35%。可见 EVE 好发于夏秋季, 特别是夏季。这是因为 EV 在黏液、唾液、排泄物中分布, 经由接触传播, 同时 EV 有耐热、耐酸性, 因此夏季 EVE 发病率高^[9]。相关检查指标方面, WBC、CRP 在临床上常用于感染判断, 本研究显示 WBC 总数 $> 10 \times 10^9/L$ 占 68.98%, CRP 升高占 57.87%, 与 EVE 病儿表现出发热症状保持一致。还发现肝功能异常率 18.52%, 心肌酶异常

占 79.63%。提示 EVE 可能引发心肌炎等相关疾病,需高度重视 EVE。本研究发现 EVE 伴轻中度脑电图异常,但通常不存在脑实质改变征象。此外,目前临床尚无特异方案干预儿童 EVE,患儿虽表现出发热、呕吐等症状,但及时给予抗病毒等综合治疗后,患儿预后通常较好。

3.2 EVE 儿童脑脊液病毒检测 EV 为脑炎发生常见病原体之一,主要包括 ECHO 病毒、COX 病毒、新型肠道病毒等,其中 ECHO 病毒全球流行,是 EVE 发生的主要肠道病毒;CoxA16、EV71 感染引发脑炎在高原地区等也有所报道,EV 全球各地均有所分布,易引发流行性疾病,对机体多系统可以影响,临床症状多样,严重时甚至威胁病人生命,且 EV 引发疾病以儿童多见。目前临床常通过症状、辅助检查、脑脊液病原学检测等综合判断病毒性脑炎。其中脑脊液病原学检测有 ELISA、病毒核酸检测等。Real-Time PCR 为病毒核酸检测重要手段,对微量特异性核酸序列可快速检测,且准确度高^[10]。本研究通过 Real-Time PCR 检测 EV 核酸,结果显示脑脊液 EV 通用核酸检测阳性率 55.56%,其中 ECHO30 核酸阳性最多,占 79.17%,与相关报道^[11]结果相符。ECHO30 感染会导致儿童无菌性脑膜炎流行^[12-13]。同时本研究 CoxA16 与 EV71 检出率均为 4.17%,而未分型检出率 12.50%。可见 EV 类型多样,其中以 ECHO30 最为常见。

ELISA 具有操作简单、特异度强等特点,我们通过 ELISA 法测定脑脊液特异性 IgM 抗体,结果显示 IgM 抗体阳性率 43.98%,比 EV 通用核酸检测阳性率低,这可能与抗体产生与患儿免疫功能、病程相关,有个体差异性有关^[14]。卢囡囡等^[15]研究显示 5~10 岁儿童 EVE 发生率较高,占 EV 通用核酸阳性的 81.82%。本研究 EVE 患儿年龄 7~<14 岁 96 例,<3 岁 44 例,但<3 岁患儿脑脊液 EV 通用核酸阳性检出率最高,与卢囡囡等^[15]研究结果不相符,这可能与不同地区高度、气候条件、环境等不同有关。本研究还显示脑脊液 EV 通用核酸阳性检出率、特异性 IgM 抗体阳性检出率与 EVE 患儿年龄、发病时间段有关,6 个月至<3 岁患儿脑脊液 EV 通用核酸阳性检出率、特异性 IgM 抗体阳性检出率最高,这可能与<3 岁患儿机体免疫系统发育不成熟、机体抵抗能力差等有关,同时也可反映出脑脊液 EV 通用核酸阳性检出率与特异性 IgM 抗体阳性检出率在年龄分布、发病时间段上有一致性,这与 EVE 发病特点(好发于夏季等)有关。但<3 岁脑

脊液 EV 通用核酸阳性、特异性 IgM 抗体阳性构成比相比其他年龄段无显著差异,这与本研究病例选择有关。

综上,儿童 EVE 主要表现出发热、头痛、呕吐等症状,以夏、秋季为发病高峰季节;ECHO30 为 EVE 脑脊液病毒主要类型,特异性 IgM 抗体检出率较高。由于目前关于 EVE 流行病学调查较少,且本研究为回顾性分析,样本例数较少,关于 EVE 流行病学、病原学研究需日后通过大样本进一步分析。

参考文献

- [1] 刘华,龙振昼,池宏亮,等. 儿童肠道病毒性脑炎 234 例流行病学及临床分析[J]. 热带医学杂志,2014,14(3):324-326.
- [2] 方春艳,邹小杰,袁哲峰,等. 肠道病毒性脑炎的患儿 T 细胞活化亚群和细胞因子的变化[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2016,30(2):171-174.
- [3] 王欣,王丽辉,岳玲,等. 2014-2015 年石家庄地区儿童病毒性脑炎临床流行病学及临床表现[J]. 脑与神经疾病杂志,2016,24(8):480-484.
- [4] 关恒云,王春荣,刘岚铮,等. 2014 年济南市一起聚集性病毒性脑炎的调查及快速病原学鉴定[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(10):769-771.
- [5] NIX WA, OBERSTE MS, PALLANSCH MA. Sensitive, Semiautomated PCR Amplification of VP1 Sequences for Direct Identification of All Enterovirus Serotypes from Original Clinical Specimens[J]. J Clin Microbiol,2006,44(8):2698.
- [6] 于盼辉,王佑,李静洁,等. 2015 年~2016 年石家庄地区儿童病毒性脑炎病原学研究[J]. 病毒学报,2017,33(2):180-184.
- [7] 田茂强,李娟,谢新星,等. 儿童病毒性脑炎 101 例病原学及临床研究[J]. 贵州医药,2017,41(1):73-75.
- [8] 吕华坤,严菊英,缪梓萍,等. 儿童病毒性脑炎 111 例临床特征及病原分析[J]. 浙江预防医学,2015,27(5):486-487.
- [9] TUPPENY M. Viral meningitis and encephalitis. [J]. Crit Care Nurs Clin North Am,2013,25(3):363-380.
- [10] VALASEK MA, REPA JJ. The power of real-time PCR[J]. Adv Physiol Educ,2005,29(3):151-159.
- [11] 孙逸,缪梓萍,严菊英,等. 2015 年浙江省洞头区病毒性脑炎暴发疫情病原学研究[J]. 疾病监测,2017,32(2):141-144.
- [12] 赵剑虹,王海滨,崔树峰,等. 山西省临汾市 ECHO30 病毒所致病毒性脑炎疫情的病原学分析[J]. 国际病毒学杂志,2016,23(3):168-172.
- [13] PAPADAKIS G, CHIBO D, DRUCE J, et al. Detection and genotyping of enteroviruses in cerebrospinal fluid in patients in Victoria, Australia, 2007-2013 [J]. J Med Virol, 2014, 86(9):1609-1613.
- [14] 贾文祥,陈锦英,江丽芳,等. 医学微生物学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:285-294.
- [15] 卢囡囡,李红,赵生仓,等. 青海省高原地区致儿童病毒性脑炎肠道病毒监测结果分析[J]. 中国病原生物学杂志,2017,12(10):931-933,938.

(收稿日期:2018-01-15,修回日期:2018-03-08)