·调查报告与分析·

寨卡病毒感染者 13 例病毒核酸检测结果分析*

陈茂余[1],岑小莉[2],刘鹰航[1],陈阿群[1],冯绮雯[1],韦志楠[1],郑南才[1],王立华[1],梁均和[1],杨治文[2]

摘 要:目的 分析广东省江门市 13 例寨卡病毒感染者生物样品病毒核酸结果。**方法** 采用描述性方法对 2016 年 2—4 月江门市报告的寨卡病毒感染者进行流行病学分析。采用荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)方法检测研究对象的血液、尿液和唾液寨卡病毒核酸。**结果** 2016 年 2—4 月江门市共确诊 10 例寨卡病毒病病例和发现 3 例寨卡病毒隐性感染者,均自委内瑞拉输入。13 例感染者中,男性 6 例,女性 7 例;最小年龄 5 岁,最大年龄 46 岁,中位数是 19 岁,≤14 岁儿童占 46.15%(6/13)。寨卡病毒核酸阳性检出持续时间,血液最短0 d,最长 4 d,中位数 0 d;尿液最短 2 d,最长 32 d,中位数 5.5 d;唾液最短 0 d,最长 10 d,中位数 3.5 d;尿液样品比血液样品病毒核酸阳性持续时间长($P<0.01$);唾液样品比血液样品病毒核酸阳性持续时间长($P<0.05$)。**结论** 寨卡病毒感染者血液、尿液和唾液 3 种生物样品病毒核酸阳性持续时间不一致。

关键词:寨卡病毒;寨卡病毒感染者;检测;流行病学

中图分类号:R 373.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-0580(2017)12-1731-04 DOI:10.11847/zgggws2017-33-12-15

Zika virus nucleic acid detection of biological samples from 13 Chinese infected in a foreign country

CHEN Mao-yu*, CEN Xiao-li, LIU Ying-hang, et al (*Department of Infecious Disease Control and Prevention, Jiangmen Municipal Center for Disease Control and Prevention, Jiangmen, Guangdong Province 529000, China)

Abstract: Objective To analyze the results of Zika virus nucleic acid detection of biological samples from 13 Chinese returning to Jiangmen city after viral infection in a foreign country. **Methods** Medical records were extracted and blood, urine and saliva samples were collected for all Zika virus infected patients reported in Jiangmen city of Guangdong province between February and April 2016. All collected samples were detected for Zika virus nucleic acid with fluorescent quantitative real time reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). **Results** Totally 10 overt and 3 covert Zika virus infections were reported in Jiangmen city during the 3-month period and all the reported cases were Chinese returning to China from Venezuela. Of the 13 cases, 6 were male and 7 were female; the minimum age of the cases was 5 years and the maximum was 46 years, with a median age of 19 years; 46.15% (6) of the cases were children under 14 years old. The positive duration of Zika virus nucleic acid detection ranged 0 – 4 days for blood, 2 – 32 days for urine, and 0 – 4 days for saliva samples, with the medians of 0, 5.5, 3.5 days, respectively; both the positive duration of urine and saliva samples were significantly longer than that of blood ($P<0.01$ and $P<0.05$). **Conclusion** The positive duration of viral nucleic acid is different for blood, urine, and saliva samples from Zika virus infected people.

Key words: Zika virus; Zika virus infected people; detection; epidemiology

寨卡病毒于 1947 年首次在乌干达发现[1],1952 年,乌干达及塔桑尼亚发现人感染寨卡病毒[2],随后仅有该病的零星报告,直至 2007 年,位于南太平洋地区密克罗尼亚联邦雅浦岛发生寨卡病毒暴发流行[3],2013 年法属波利尼西亚发生寨卡病毒暴发[4],2014 年以来,美洲多个国家相继发生寨卡病毒感染病例流行,欧洲、亚洲、大洋洲等国也有输入病例报告。2016 年 2 月初我国报告首例寨卡病毒病输入病例,2 月下旬开始,广东省江门市也陆续报告多例寨卡病毒病输入病例。在寨卡病毒疫情防控过程中,对寨卡病毒感染者的血液、尿液和唾液样品进行跟踪检测。本研究于 2016 年 2—4 月采集寨卡病毒感染者生物样品检测病毒核酸,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 按照《寨卡病毒病诊疗方案(2016 年第 2 版)》[5]中的寨卡病毒病确诊病例和隐性感染者的病例定义,调查 2016 年 2—4 月在广东省江门市出现的寨卡病毒病确诊病例和隐性感染者。

1.2 方法

1.2.1 流行病学调查 对 2016 年 2 月 1 日—4 月 30 日在广东省江门市恩平发生的寨卡病毒病确诊病例和隐性感染者进行流行病学调查;每天采集病例和隐性感染者的血液 5 mL、尿液 20 mL 和唾液标本 1 mL,直至病毒核酸检测结果为阴性。

* **基金项目:** 江门市科技计划项目[江科〔2016〕102 号]

作者单位: 1. 江门市疾病预防控制中心传染病预防控制科,广东 江门 529030; 2. 恩平市疾病预防控制中心

作者简介: 陈茂余(1977 –)男,广东阳江人,副主任医师,硕士,研究方向:传染病预防控制。

数字出版日期:2017 – 2 – 4 10:49

数字出版网址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20170204.1049.004.html

1.2.2　实验室检测　按照《寨卡病毒病诊疗方案(2016 年第 2 版)》[5] 中附件《寨卡病毒实验室检测技术方案》开展寨卡病毒核酸检测,采用荧光定量逆转录聚合酶链反应(quantitative real time reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)方法检测血液、尿液和唾液 3 种生物样品。检测试剂厂家是中山大学达安基因股份有限公司。

1.2.3　核酸阳性持续时间判定　自一种生物样品首次寨卡病毒核酸检出阳性计为首日阳性,至最后一次检测阳性为止,这段时间为此种生物样品核酸阳性持续时间,且最后一次检出阳性之后的连续两天或多天的核酸检测结果均为阴性。同一感染者血液、尿液和唾液 3 种生物样品至少 1 种生物样品首日寨卡病毒核酸检测阳性,而其余某种生物样品在首日检测阴性,次日或连续多日仍为阴性,判定此种生物样品核酸结果为阴性,核酸阳性持续时间为 0 d。感染者某种生物样品有检出核酸阳性结果,但之后无连续至少 2 d 的阴性结果,判定为无连续检测。

1.3　统计分析　采用 Excel 2007 和 SPSS 17.0 软件统计分析数据。数据比较采用完全随机设计多样本比较的秩和检验(Kruskal – Wallis H 检验),两两比较采用扩展 t 检验法,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　流行病学特征(表 1)　2016 年 2—4 月广东省江门市共确诊 10 例寨卡病毒病病例和发现 3 例寨卡病毒隐性感染者。13 例感染者中,2 月报告 5 例,3 月 6 例,4 月 2 例;4 月 9 日至截稿时,无新发病例和感染者报告。13 例感染者均为江门市的县级市恩平市报告,且均自委内瑞拉回国,在国内的现住址中有 6 例居住在市区,7 例居住在农村。13 例感染者中,男性 6 例,女性 7 例;最小年龄 5 岁,最大年龄 46 岁,中位数是 19 岁,≤14 岁儿童占 46.15%(6/13)。53.85%(7/13)为商业服务,30.77%(4/13)为散居儿童,15.38%(2/13)为学生。

表 1　13 例寨卡病毒感染者流行特征

感染者序号	性别	年龄(岁)	职业	发病时间(年 – 月 – 日)	国内居住地点
1	男性	5	散居儿童	2016 – 02 – 24	市区
2	男性	20	商业服务	2016 – 02 – 24	农村
3	女性	7	散居儿童	2016 – 02 – 26	市区
4	女性	37	商业服务	2016 – 02 – 26[a]	市区
5	男性	39	商业服务	2016 – 02 – 28	市区
6	女性	6	散居儿童	2016 – 03 – 04	农村
7	男性	46	商业服务	2016 – 03 – 04	农村
8	男性	18	商业服务	2016 – 03 – 06	农村
9	男性	43	商业服务	2016 – 03 – 10[a]	农村
10	女性	11	学生	2016 – 03 – 23	农村
11	女性	12	学生	2016 – 03 – 28	农村
12	女性	7	散居儿童	2016 – 04 – 04	市区
13	女性	32	商业服务	2016 – 04 – 08[a]	市区

注:a 代表隐性感染者,时间为首次检出核酸阳性日期。

2.2　追踪检测结果

2.2.1　一般情况　在 13 例感染者中,对 13 例感染者的血液样品,10 例感染者的尿液样品,12 例感染者的唾液样品追踪至核酸阴性为止;其中有 9 例感染者的血液、尿液和唾液 3 种生物样品均追踪检测至阴性为止。

2.2.2　核酸阳性持续时间(表 2)　寨卡病毒病感染者生物样品病毒核酸阳性持续时间为:血液最短 0 d,最长 4 d,中位数 0 d;≤1 d 有 10 例,占 76.92%(10/13);2 ~ 4 d 有 3 例,占 23.18%(3/13)。尿液最短 2 d,最长 32 d,中位数 5.5 d;0 ~ 4 d 4 例,占 40.00%(4/10);5 ~ 9 d、10 ~ 14 d、≥20 d 各有 2 例,均占 20.00%(2/10)。唾液最短 0 d,最长10 d,中位数 3.5 d;0 ~ 4 d 7 例,占 58.33%(7/12);5 ~ 9 d 4 例,占 33.33%(4/12);10 ~ 14 d 1 例,占 8.33%(1/12)。经检验,3 组生物样品病毒核酸阳性持续时间长短不一,差异有统计学意义($H_C = 13.80$, $P < 0.01$);尿液样品比血液样品病毒核酸阳性持续时间长,差异有统计学意义($t = 4.54$, $P < 0.01$);唾液样品比血液样品病毒核酸阳性持续时间长,差异有统计学意义($t = 2.81$, $P < 0.05$);尿液样品与唾液样品的病毒核酸阳性持续时间相比,差异无统计学意义($t = 1.83$, $P > 0.05$)。

2.3　生物样品核酸阳性检出情况　13 例感染者中,血液样品检出寨卡病毒核酸阳性有 6 例,占 46.15%(6/13);尿液样品有 13 例,占 100.00%(13/13);唾液样品有 9 例,占 69.23%(9/13)。3 例隐性感染者中,其中 1 例的血液、尿液和唾液样品

中均检出寨卡病毒核酸阳性;另 2 例仅尿液样品检出寨卡病毒核酸阳性。

表 2　寨卡病毒感染者病毒核酸阳性持续时间情况

感染者序号	血液(d)	尿液(d)	唾液(d)
1	1	6	6
2	0	5	4
3	0	32	5
4[a]	4	11	7
5	4	20	10
6	0	2	3
7	1	12	6
8	1	3	-
9[a]	0	-	0
10	0	3	0
11	2	-	2
12	0	3	3
13[a]	0	-	0

注:a 代表隐性感染者;—代表无连续检测;核酸结果阴性标记为 0 d。

2.4　核酸阳性检出时间与发病时间(表 3)　病例血液、尿液和唾液 3 种生物样品首次寨卡病毒核酸检出阳性时间与发病时间间隔,血液和尿液均为:最早发病前 2 d,最迟发病后 6 d;血液中位数是发病后 2 d,尿液中位数是发病后 1.5 d;唾液最早发病前 2 d,最迟发病后 3 d;中位数是发病后 1.5 d。10 例病例中,有 4 例病例的血液、尿液和唾液 3 种生物样品首次寨卡病毒核酸检测均为阳性,其发病时间距离检出时间间隔是:1 例在发病前 2 d 检出,另 3 例分别是发病后 1、2 和 3 d 检出。

表 3　寨卡病毒核酸阳性首次检出时间与发病时间间隔情况

病例序号	血液(d)	尿液(d)	唾液(d)
1	2	2	2
2	—	3	3
3	—	0	0
4	-2	-2	-2
5	—	1	1
6	1	1	1
7	3	3	3
8	6	6	—
9	—	1	—
10	—	2	2

注:-代表该种生物样品寨卡病毒核酸阴性;首次检出时间与发病时间为同一天,时间间隔记为 0 d。

2.5　特殊个案　1 例 39 岁的男性病例,在出现症状前 2 d 血液、尿液和唾液样品均检出寨卡病毒核酸阳性;1 例 12 岁的女性病例,仅尿液样品检出寨卡病毒核酸阳性;1 例 37 岁的女性隐性感染者,血液、尿液和唾液样品均检出寨卡病毒核酸阳性,直至上述 3 种生物样品寨卡病毒核酸转阴性,未出现临床症状。

3　讨　论

世界卫生组织统计显示,2007 年 1 月 1 日—2016 年 3 月 3 日,52 个国家和地区已经相继确认了寨卡病毒在当地传播[6],大部分病例集中于美洲地区,包括巴西、哥伦比亚、委内瑞拉、墨西哥、海地以及巴巴多斯[7]。2016 年 2—4 月江门市报告的 13 例寨卡病毒感染者均是从寨卡病毒病疫区委内瑞拉回国的华侨。因此,现阶段江门市寨卡病毒病防控主要措施是防止输入病例和早期发现输入病例。另外随着气温升高和雨水增多,江门市白纹伊蚊密度增高,加强防蚊、灭蚊、消灭蚊虫孳生地等预防控制措施,防范出现本地病例的发生和流行。有文献报道寨卡病毒感染者中 80% 为亚临床感染[8],本次研究中,13 例感染者有 3 例为隐性感染者,隐性感染比例为 23.07%,证实隐性感染的存在,另外此 3 例隐性感染者均为年龄 >30 岁的成年人,未见有 <20 岁儿童青少年隐性感染情况。由于本次研究个案数较少,因此其隐性感染率与文献报告的数据有较大差别。本研究有 1 例隐性感染者的血液样品检出寨卡病毒核酸阳性,且自首日检出阳性后,连续 4d 阳性,显示隐性感染者作为传染源可能通过伊蚊传播[9]或血液传播[10-12]。卢桂阳等[13]认为:Zika 病毒隐性感染者数量众多,难以识别,且活动不受限制,在 Zika 病毒的传播中有重要的意义。

寨卡病毒病在我国没有发生本地病例和流行的情况下,建议对血液样品寨卡病毒核酸阳性的隐性感染者采取居家隔离观察的措施,直至相隔 24 h 两次血液样品寨卡病毒核酸阴性方可解除居家隔离观察;且隔离期间不能进行献血。有研究显示,在患者中,通过 PCR 方法,Zika 病毒在唾液及血液中的平均检出时间为出现症状后的 3.5 及 3.3 d[14]。本次研究中 12 例感染者唾液阳性持续时间中位数为 3.5 d,与上述研究近似;但血液阳性持续时间与上述研究有差异,除了与本次研究个案数少有关外,也与本次研究有占 53.84% 的个案血液样品寨卡病毒核酸阴性有关。一项对 6 例患者的研究显示,所有患者在症状发作后 10 d 全部尿检阳性,其中 1 例在 30 d 后仍尿检阳性[15]。本次研究 10 例感染者尿检阳性持续时间中位数 5.5 d,比上述研究持续时间短;本次研究也有 1 例尿检阳性持续 32 d。监测到 1 例隐性感染者,其血液、尿液和唾液样品阳性持续时间分别是 4 d、11 d 和 7 d。经统计分析,尿液和唾

液阳性持续时间均比血液长。尿检阳性中位数和上限的天数均比唾液大,但统计学上无差异。13 例感染者中尿检全部阳性,唾液阳性率为 69.23%,血液阳性率为 46.15%;分析 13 例感染者血液和尿液阳性检出的先后顺序,有 5 例是同时检出阳性,有 7 例是尿液阳性,血液阴性,有 1 例是血液检出时间早于尿液;根据上述数据,如需要开展较大规模的寨卡病毒感染情况筛查工作,建议首先采集尿液样品进行检测,如尿检阳性再采集血液样品进行检测,这样既提高工作质量,也提高工作效率,同时也大大减少检测试剂的消耗。但如果筛查工作中发现有类似症状的病例,各种生物样品需同时采集和检测。

本次研究发现 1 例病例发病前 2 d 在其血液、尿液和唾液样品中检出寨卡病毒核酸阳性,显示病例在潜伏期内有可能具有传染性。张硕等[16]的研究提到,寨卡病毒感染的潜伏期尚不十分明确,约为数天至一周;另有文献报道,人感染 Zika 病毒后,约 20% 在经历了 3 ~ 12 d 的潜伏期后出现临床症状[17],本次研究也证实了寨卡病毒潜伏期的存在。

本研究存在的局限性:首先是研究的病例数相对较少,检出寨卡病毒核酸阳性持续时间不具普遍代表性;本次研究属于回顾性现况研究,未能做到发病前或发病当天采样检测,以及每天的持续采样检测,造成分析数据的偏倚。

综上所述,本研究初步展示了寨卡病毒病的流行病学特征,特别在对感染者的检测结果上进行了较详细的分析,表明寨卡病毒的感染具有潜伏期、也有隐性感染的存在,潜伏期和隐性感染有可能存在传染性。感染者的尿液和唾液寨卡病毒核酸阳性持续时间较长,血液持续时间较短,这些对落实寨卡病毒病防控措施提供了一定的数据支持,也为进一步对寨卡病毒的研究起到提示作用。

参考文献

[1] Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus (I). Isolations and serological specificity [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1952, 46(5): 509 – 520.

[2] Dick GWA. Zika virus (Ⅱ). Pathogenicity and physical properties [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1952, 46(5): 521 – 534.

[3] Grard G, Caron M, Mombo IM, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa) – 2007: a new threat from Aedes albopictus [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2014, 8(2): e2681.

[4] Oehler E, Watrin L, Larre P, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French, Polynesia, December 2013 [J]. Euro Surveill, 2014, 19(9): 4 – 6.

[5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 寨卡病毒病诊疗方案(2016 年第 2 版)[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2016.

[6] World Health Organiazation. Zika virus, microcephaly and Guillain-Barré syndrome; situation report [EB/OL]. [2016 – 03 – 04]. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204526/2/zikasitrep_4Mar2016_eng.pdf? ua=1.

[7] Samarasekera U, Triunfol M. Concern over Zika virus grips the world [J]. Lancet, 2016, 387(10018): 52.

[8] Ioos S, Mallet HP, Leparc GI, et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics [J]. Med Mal Infect, 2014, 44(7): 302 – 307.

[9] Waggoner JJ, Pinsky BA. Zika virus: diagnostics for an emerging pandemic threat [J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(4): 860 – 867.

[10] Aubry M, Finke J, Teissier A, et al. Seroprevalence of arboviruses among blood donors in French Polynesia, 2011—2013 [J]. Int J Infect Dis, 2015, 41: 11 – 12.

[11] Musso D, Nhan T, Robin E, et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014 [J]. Euro Surveill, 2014, 19(14): 6 – 8.

[12] Reuters. Brazil reports Zika infection from blood transfusions [EB/OL]. [2016 – 02 – 04]. http://www.reuters.com/article/us-health-zika-brazil-blood-idUSKCN0VD22N.

[13] 卢桂阳, 苏迎盈, 汪宁. 寨卡病毒病若干流行病学问题 [J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(4): 450 – 454.

[14] Musso D, Roche C, Nhan TX, et al. Detection of Zika virus in saliva [J]. J Clin Virol, 2015, 68: 53 – 55.

[15] Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, et al. Detection of Zika virus in urine [J]. Emerg Infect Dis, 2015, 21(1): 84 – 86.

[16] 张硕, 李德新. 寨卡病毒和寨卡病毒病 [J]. 病毒学报, 2016, 32(1): 121 – 127.

[17] Basarab M, Bowman C, Aarons EJ, et al. Zika virus [J]. BMJ, 2016, 352: i1049.

收稿日期: 2016-07-11 (吴少慧编辑 张翠校对)