

· 综述 ·

新型冠状病毒感染研究进展

田国保 董建平 张璐 李明慧

截止2013年2月19日,世界卫生组织向全球发布公告称^[1],目前新型冠状病毒HCoV-EMC/2012感染确诊病例12例,其中死亡病例6例,致死率50%左右,其临床表现类似严重急性呼吸综合征病毒(Severe acute respiratory syndrome-coronavirus, SARS-CoV)感染重症病例,表现为急性呼吸道感染,严重病例可出现急性呼吸窘迫综合征和急性肾功能衰竭。通过病毒培养和核酸序列比对研究,发现HCoV-EMC/2012属冠状病毒,但不同于SARS-CoV,而是一种与β-蝙蝠冠状病毒密切相关的冠状病毒。本文就相关内容作一综述。

一、疫情介绍

1. 首例病例^[2]:患者,男性,60岁,主因“发热、咳嗽、咳痰伴呼吸困难1周”于2012年6月13日入住沙特阿拉伯吉达市一家私立医院,既往无心肺及肾脏等疾病,无吸烟史。查体:T 38.3℃,R 20次/min,P 117次/min,BP 140/80 mm Hg(1 mm Hg = 0.133 kPa),BMI 35.1 kg/m²,辅助检查:血常规:WBC $9.3 \times 10^9/L$,NE 92.5%,PLT $168 \times 10^9/L$,生化检查结果显示肝功能、肾功能均未见异常,胸片示双肺纹理增重,左下肺可见斑片状阴影,左侧肋膈角消失。入院即转入ICU,因病情危重并且病原体不明,给予哌拉西林、左氧氟沙星、米卡芬净联合奥司他韦抗感染治疗。入院后查痰培养示甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌(methicillin sensitive staphylococcus aureus, MSSA),气管镜肺泡灌洗液检查示肺炎克雷伯菌,药敏显示对美洛培南敏感。2012年6月17日停用哌拉西林,改用美洛培南抗感染治疗,患者呼吸困难症状进行性加重,检查HIV阴性,卡氏肺孢子虫阴性,监测血常规示白细胞计数($9.3 \times 10^9/L \sim 22.4 \times 10^9/L$)及中性粒细胞计数($8.6 \times 10^9/L \sim 21.3 \times 10^9/L$)进行性升高,血小板计数($168 \times 10^9/L \sim 69 \times 10^9/L$)进行性下降,吸氧状态下血氧饱和度进行性下降(98.8%~78.1%),生化检查结果显示肝功能指标轻度异常(ALT 20~78 U/L),尿素氮(14.2~123 mg/dl)及肌酐(0.9~7.3 mg/dl)进行性升高,胸片示双肺弥漫阴影,胸部CT示双侧弥漫毛玻璃状阴影,双下肺结节影及少许胸腔积液,伴纵隔多发淋巴结肿大,给予气管插管呼吸机辅助呼吸等治疗,症状持续恶化。患者于2012年6月24日死亡,当日气管抽吸物涂片显示有不动杆菌属细菌,未行尸体解剖。实验室

针对患者痰液、气管抽吸物等标本,行直接免疫荧光、病毒培养、分离及核酸序列分析鉴定,排除(甲型、乙型)流感病毒、副流感病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒、肠道病毒、副黏病毒属、人类巨细胞病毒、人类疱疹病毒(1~3型)感染,最终确诊为一种β-蝙蝠冠状病毒属密切相关的新型冠状病毒。

2. 后续病例:截止2013年2月19日,WHO公布共确诊新型冠状病毒感染病例共12例,其中6例死亡。其中沙特阿拉伯5例,死亡3例^[3];卡塔尔2例,无死亡病例;约旦2例,为回顾性死亡病例确诊病例^[1];英国3例,死亡1例。

二、病原学及致病机制

1. 冠状病毒的种属、结构及一般生物学特性:冠状病毒属于套病毒目、冠状病毒科、冠状病毒属的一类病毒,2012年国际病毒学分类委员会将冠状病毒科分为α、β、γ和δ共4大类,其中β属冠状病毒可分为A、B、C、D 4个谱系,迄今为止认为,冠状病毒科病毒仅感染脊椎动物,多引起人和动物呼吸道、消化道症状,肝脏和神经系统症状也偶有报道。冠状病毒感染具季节性,多在冬春季发病^[4-5]。

冠状病毒外形近似球形,电镜下冠状病毒形似“皇冠”,病毒直径60~200 nm,由核衣壳和包膜构成,前者为碱性磷蛋白,其中央区能够与RNA结合,形成卷曲的核衣壳螺旋,后者包括3种糖蛋白突起,分别为S蛋白、E蛋白、M蛋白,参与病毒的装配及芽生。

冠状病毒为包膜病毒,对理化因子耐受性较差,在体外仅可存活约24 h,常用消毒方法如紫外线、含氯消毒剂、碘伏、0.1%过氧乙酸等都可在短时间内将病毒灭活;该病毒在低温下可冻存数年,但对热敏感,35℃即可使之受到抑制。

目前共发现6种冠状病毒中可感染人类(表1),其中HCoV-EMC/2012为目前发现的第6个可以致人类疾病的冠状病毒,并且为第一个致人类疾病的β冠状病毒属C系的冠状病毒,也是引起此次疫情的新型冠状病毒。

2. HCoV-EMC/2012的结构、生物学特性和致病机制:与其他β属冠状病毒类似,HCoV-EMC/2012为单股正链RNA病毒,全基因组测序分析显示,全长含30 119核苷酸,包含至少10个以上的开放读码框,可以编码多种酶蛋白、S蛋白、E蛋白、M蛋白和N蛋白。需要提出的是,HCoV-EMC/2012不编码血凝素-酯酶糖蛋白。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.04.043

作者单位:100080 北京,北京市海淀区医院感染性疾病科(田国保、董建平);首都医科大学附属北京地坛医院(张璐、李明慧)

通讯作者:董建平, Email: djp1970111@sina.com

表1 导致人类疾病的6种冠状病毒

年份	种	属	所致主要疾病
1965 ^[6]	HCoV-OC43	β属A系	上呼吸道感染/普通感冒
1966 ^[7]	HCoV-229E	α	上呼吸道感染/普通感冒
2003 ^[8]	SARS-CoV	β属B系	SARS
2004 ^[9]	HCoV-NL63	α	急性呼吸道感染/支气管炎
2005 ^[10]	HCoV-HKU1	β属A系	肺炎
2012 ^[11]	HCoV-EMC/2012	β属C系	肺炎、ARDS/MODS

注: SARS: 严重急性呼吸综合征, ARDS/MODS: 急性呼吸窘迫综合征/多器官功能障碍综合征

HCoV-EMC/2012确诊病例之间核苷酸序列比较, 相应PCR片段同源性可高达95%以上。HCoV-EMC/2012与β属的蝙蝠病毒核苷酸序列有大致50%~60%的相似性。系统进化树遗传分析显示HCoV-EMC/2012与褐扁蝠冠状病毒(*tylonychteris bat coronavirus*, BtCoV) HKU4的核苷酸75%相似, 和白边油蝠冠状病毒(*Pipistrellus bat coronavirus*, BtCoV) HKU5的核苷酸77%相似。HCoV-EMC/2012与β冠状病毒属B系的SARS-CoV同一PCR片段核苷酸同源性为70%~80%。

HCoV-EMC/2012与SARS-CoV的生物学特点不同。培养细胞发现, HCoV-EMC/2012能直接感染蝙蝠细胞; 但HCoV-EMC/2012并不能通过SARS-CoV的受体即人血管紧张素转化酶2(human angiotensin-converting 2, hACE2)进入细胞。一般来说, 由于对不同宿主的适应性不同, 人冠状病毒很难在蝙蝠细胞复制。细胞培养发现, HCoV-EMC/2012能感染人群、猪、蝙蝠细胞。这一发现是令人震惊的, 提示HCoV-EMC/2012的受体, 在蝙蝠、猪、人类具有保守性, 可以很容易的越过不同宿主之间的种属屏障传播^[11]。

HCoV-EMC/2012的致病机制。推测, HCoV-EMC/2012可能和SARS-CoV冠状病毒感染后的发生机制有相似之处, 可以致急性呼吸窘迫综合征和急性肾功能衰竭等多器官功能衰竭。首先通过新冠病毒表面的S蛋白与宿主细胞表面的受体结合, HCoV-EMC/2012目前是否具有类似受体尚未知。随后, 在多种细胞因子和化学趋化因子, 如TNF-α、IL-1、IL-6、IL-12、IFN-α、IFN-β等介导下发生一系列级联反应, 发生“细胞因子风暴”导致急性肺损伤(acute lung injury, ALI)或急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS); 部分合并肾功能衰竭, 机理尚不清楚。

总之, 目前对HCoV-EMC/2012的受体、宿主范围、致病机制尚不完全清楚, 需进一步研究以便研究治疗药物及判断预后。

三、流行病学

冠状病毒感染在冬春季急性上呼吸道感染病原学占10%~30%, 亦是普通感冒中居第二位的病因。冠状病毒易感者为婴幼儿、老人或免疫力低下的人群。传播途径主要通过直接接触分泌物或分泌物经气溶胶传播。

HCoV-EMC/2012感染的传染源目前不明, 不排除来自于动物, 如蝙蝠。确诊病例首先出于中东国家, 可能与当地的地理环境、动物-人之间密切程度, 人们的生活习俗等有关。英国3例新确诊病例来自同一家庭, 该家庭中父亲在中东和巴基斯坦旅行时感染病毒, 回到英国感染另外两名家人, 死亡病例为该患者的儿子, 说明人间传播不能除外, 但其周围密切接触者如医生和护士并未发病, 至少证实HCoV-EMC/2012不能二代或持续传播。传播途径, 推测可能主要通过呼吸道飞沫传播。流行病学调查第一例新型冠状病毒, 确诊病例的接触者在内的3400例进行血清学检测, 结果均为阴性, 可能的解释是极少部分人群对HCoV-EMC/2012易感。

四、临床表现

普通冠状病毒感染, 潜伏期2~5 d, 主要表现为呼吸道感染, 临床多表现为流鼻涕、不适等普通感冒症状; 肠道冠状病毒可引起1~2岁婴幼儿的病毒性胃肠炎表, 偶有神经系统症状。

SARS-CoV感染主要临床表现为持续高热、咳嗽、呼吸困难, 严重者可因ALI/ARDS致死, 平均病死率为14%~15%, 而上呼吸道感染症状不明显。

HCoV-EMC/2012感染目前认为潜伏期10 d, 临床起病急, 持续高热, 体温可达39~40℃, 可有畏寒、寒战, 头痛、全身肌肉关节酸痛、乏力、食欲减退等流感样全身症状, 在肺炎基础上, 病变进展迅速, 很快发展为ARDS或多器官功能衰竭(multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 特别是肾功能衰竭, 甚至危及生命, 目前尚无法确定有无轻症患者或隐性感染患者^[1,4-5,12]。

五、辅助检查

1. 血常规: 白细胞总数一般不高, 中性粒细胞比例升高, 淋巴细胞比例明显降低。

2. 血生化检查: 肌酸激酶、天门冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶、乳酸脱氢酶等可能会轻度升高, 部分患者肌酐进行性升高。

3. 影像学检查: 发生肺炎者可为病毒性肺炎影像学改变, 合并ARDS者可表现弥漫片状阴影, 进展迅速。

4. 病原学相关检查: 目前全球范围内主要通过病毒分离培养或病毒核酸RT-PCR(尤其是实时荧光定量

RT-PCR)检测,建议在发病早期,采取多种标本,如咽拭子、鼻拭子、鼻咽或气管抽取物、痰或肺组织,以及血液和粪便进行上述检测。因未取得特异性抗原,病毒抗原检测和抗体检测尚无法进行。

六、诊断及鉴别诊断

1. 流行病学史:在HCoV-EMC/2012感染病例报告或流行地区有旅游或居住史;发病前10 d内与疑似或确诊发病患者有密切接触史。

2. 临床表现:难以用其他病原感染解释的急性呼吸道感染:体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ 、咳嗽;有胸部影像学改变、肾功能改变等。

3. HCoV-EMC/2012病原学检测阳性。

疑似病例:满足条件1+2;确诊病例:满足条件1+2+3。

需鉴别其他呼吸道病毒感染,如(甲型、乙型)流感病毒、副流感病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒、肠道病毒、副黏病毒属、人类巨细胞病毒、人类疱疹病毒(1~3型)感染等。也需与其他原因导致的急性肾功能衰竭鉴别。另需与造成肺、肾等多脏器损害的自身免疫性疾病相鉴别。

七、治疗及预防

1. 治疗:原则上参照SARS,根据病情严重程度评估确定治疗场所:疑似和确诊病例应尽早住院治疗;如果病情进展迅速,则应尽早入ICU治疗,同时,实施有效的隔离和防护措施。

治疗措施主要为密切监测生命体征、一般支持及对症治疗,继发细菌感染时可给予抗菌药物,目前尚无有效的抗HCoV-EMC/2012药物。重症病例,监测患者氧合功能、血常规、尿常规、肝功能、肾功能,予氧疗,每隔1~3 d复查胸片。重视出入量的控制,减轻肺水肿,注意营养支持,保护肾功能,必要时行人工肾。如出现严重低氧血症或胸片进展迅速时,及时予机械通气。

2. 预防:目前以增强体质为主,避免过度劳累及受凉,注意保持空气流通;尚无疫苗进行主动免疫。

参考文献

- 1 World Health Organization. Novel coronavirus infection-update. 2012. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/update_20130219/en/index.html.
- 2 Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*, 2012, 367(19):1814-1820.
- 3 Bermingham A, Chand MA, Brown CS, et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill*, 2012, 17(40):20290.
- 4 贾辅忠, 李兰娟. 感染病学. 南京:江苏科学技术出版社, 2010:361-363.
- 5 侯云德. 急性呼吸道病毒感染的病原学与防治. 北京:中国协和医科大学出版社, 2005:67-115.
- 6 Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1966, 121(1):190-193.
- 7 McIntosh K, Dees JH, Becker WB, et al. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1967, 57(4):933-940.
- 8 Drosten C, Günther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*, 2003, 348(20):1967-1976.
- 9 van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med*, 2004, 10(4):368-373.
- 10 Woo PC, Lau SK, Chu CM, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*, 2005, 79(2):8846-8895.
- 11 Müller MA, Raj VS, Muth D, et al. Human coronavirus EMC does not require the SARS-coronavirus receptor and maintains broad replicative capability in mammalian cell lines. *MBio*, 2012, 3(6):pii: e00515-12.
- 12 中华人民共和国卫生部. 新型冠状病毒感染病例诊疗方案. 2012年第1版. <http://wenku.baidu.com/view/d5bb8525192e45361066f5a1.html>

(收稿日期:2013-02-25)

(本文编辑:孙荣华)

田国保, 董建平, 张璐, 等. 新型冠状病毒感染研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(4): 616-618.