

• 调查报告 •

# 成人发热呼吸道症候群病毒病原学调查分析\*

赵清, 孙滨, 张秀瑜, 吴倩, 黄长武, 卢尧, 汤清霞, 陈维贤<sup>△</sup>

(重庆医科大学附属第二医院检验科 400010)

**摘要:**目的 了解该地区成人发热呼吸道症候群病毒病原谱的构成。方法 利用巢式聚合酶链反应对发热呼吸道症候群成人患者痰标本进行流感病毒(Flu-A、B、C 型)、呼吸道合胞病毒(RSV-A、B 型)、腺病毒(ADV)、副流感病毒(PIV-1、2、3、4 型)、冠状病毒(HCoV)、偏肺病毒(MPV)及博卡病毒(BoV)检测。结果 共收集确诊患者标本 610 例,病毒感阳性率为 8.5%(52/610);不同病毒检出率由高到低依次为 Flu 5.57%(34/610)、RSV 1.48%(9/610)、ADV 1.15%(7/610)、PIV 0.49%(3/610)及 HCoV 0.16%(1/610);检出 2 例混合感染,分别为 Flu-A/ADV 和 PIV-1/HCoV。病毒感染患者以 60 岁以上老年人为主[71.15%(37/52)],其次是 40~60 岁人群[23.08%(12/52)]。病毒感染好发于 7~9 月( $P < 0.05$ );男性、女性病毒感染阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 该地区成人发热呼吸道病毒感染病例的病原体以 Flu 和 RSV 为主。

**关键词:**发热呼吸道症候群; 病原学; 病毒; 巢式 PCR

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)16-1968-02

## Viral etiology analysis of adult febrile respiratory syndrome in certain area\*

Zhao Qing, Sun Bin, Zhang Xiuyu, Wu Qian, Huang Changwu, Lu Yao, Tang Qingxia, Chen Weixian<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract: Objective** To explore the etiology characters of adult febrile respiratory syndrome (AFRS) in certain area. **Methods** Nest-polymerase chain reaction was performed for the detection of influenza virus (Flu-A, B and C), respiratory syncytial virus (RSV)-A and B, adenovirus (ADV), parainfluenza virus (PIV)-1, 2, 3 and 4, human coronavirus (HCoV), metapneumovirus (MPV) and bocavirus (BOV) in sputum specimens from patients with AFRS. **Results** 610 cases of sputum specimens were collected, among which the positive rate of virus was 8.5% (52/610). The detection rates arranged from high to low were Flu 5.57% (34/610), RSV 1.48% (9/610), ADV 1.15% (7/610), PIV 0.49% (3/610) and HCoV 0.16% (1/610). Two cases of combined infection were demonstrated, including Flu-A/ADV and PIV-1/HCoV. The most frequent infected patients were aged people more than 60 years old, accounting for 71.15% (37/52), followed by patients for 40-60 years old, accounting for 23.08% (12/52). Most infected cases were demonstrated between July and September ( $P < 0.05$ ). There was no statistical difference for the positive rate of virus infection between male and female ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The most frequent pathogens might be Flu and RSV in patients with AFRS in this area.

**Key words:** febrile respiratory syndrome; etiology; virus; nest polymerase chain reaction

发热呼吸道症候群(FRS)是一组具有相似临床体征的呼吸系统疾病,临床症状包括发热、咳嗽和寒战等<sup>[1-4]</sup>。细菌及病毒感染均可诱发 FRS,而呼吸道病毒感染约占 50%~55%<sup>[5]</sup>。呼吸道病毒流行具有明显的地区、季节和人群差异,为了解重庆地区成人发热呼吸道症候群(AFRS)的致病病毒谱及流行特点,作者对 610 例确诊的 AFRS 患者痰标本进行了常见呼吸道病毒检测,结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2010 年 6 月至 2011 年 5 月于本院确诊的 AFRS 患者 610 例,其中男 407 例、女 203 例;年龄 18~89 岁,平均 52 岁。所有患者均符合以下诊断标准:(1)急性感染表现(至少符合下列任意 1 项):发热,白细胞升高、降低或分布异常,寒战,体温降低;(2)呼吸道临床表现(至少符合下列任意 1 项):咳嗽,咳痰,气短,听诊呼吸音异常(湿啰音、干啰音、哮鸣

音、浊音),呼吸急促,胸痛;(3)胸部 X 线片提示肺部炎性改变,如片状阴影、实变影等。

**1.2 仪器与试剂** MyCycler 聚合酶链反应(PCR)扩增仪(美国 BIO-RAD 公司)。核酸提取采用 QIAamp MinElute Virus Spin 试剂盒(美国 QIAGEN 公司);逆转录反应采用 SuperScript III 试剂盒(美国 Invitrogen 公司);BoV 检测采用 One Step PrimeScript RT-PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集与处理** 于患者入院当天或次日清晨漱口后采集呼吸道深部痰标本。所有标本经显微镜检查均为合格标本(低倍镜每视野鳞状上皮细胞少于 10 个,高倍镜每视野多核白细胞大于 25 个,或前者与后者比例小于 12.5),经适量胰酶均质化处理后备用。

**1.3.2 病毒检测** (1)引物合成:引物序列参照文献<sup>[6]</sup>,由上

\* 基金项目:国家“十一五”科学技术重大专项基金资助项目(2009ZX10004)。 △ 通讯作者,E-mail:ache11@163.com。

海英俊生物技术有限公司合成。(2)病毒核酸提取:应用核酸提取试剂盒提取核酸,按试剂盒说明书操作。(3)逆转录反应:采用 SuperScript III 试剂盒进行逆转录反应。逆转录体系及反应条件按照试剂盒说明书进行。(4)巢式 PCR 反应:cDNA 合成后被分为 A、B 组,分别进行两轮 PCR;A 组用于检测流感病毒(Flu) A、B 及 C 型,腺病毒(ADV)及呼吸道合胞病毒(RSV) A、B 型;B 组用于检测副流感病毒(PIV)1、2、3、4 型,冠状病毒(HCoV)及偏肺病毒(MPV);两轮 PCR 反应体系见表 1。博卡病毒(BoV)检测采用商品化试剂盒,经逆转录 PCR 后直接检测,按试剂盒说明书操作。

表 1 巢式 PCR 反应体系(μL)

试剂	A1	B1	A2	B2
双蒸水	11.8	11.0	10.6	10.6
10×PCR 缓冲液	2.0	2.0	2.0	2.0
2.5 mM dNTP	1.0	1.0	1.0	1.0
引物	2.8	3.6	4.0	4.0
Taq DNA 聚合酶	0.4	0.4	0.4	0.4
模板	2.0	2.0	2.0	2.0

A1:A 组第 1 轮 PCR;B1:B 组第 1 轮 PCR;A2:A 组第 2 轮 PCR;B2:B 组第 2 轮 PCR。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件进行数据分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 呼吸道病毒检测结果 610 例 AFRS 患者中病毒感染率为 8.52%(52/610),其中单一、双重病毒感染率分别为 8.20%(50/610)、0.33%(2/610)。不同病毒检出率由高到低依次为 Flu 5.57%(34/610)、RSV 1.48%(9/610)、ADV 1.15%(7/610)、PIV 0.49%(3/610)及 HCoV 0.16%(1/610),其中 Flu-A 32 例、Flu-B 1 例、Flu-C 1 例、RSV-A 8 例、RSV-B 1 例、PIV-1 2 例、PIV-4 1 例。Flu-A/ADV、PIV-1/HCoV 混合感染率均为 0.16%(1/610)。未检出 MPV 和 BoV。在所有检出的病毒中,Flu 和 RSV 分别占 62.96%(34/54)和 16.67%(9/54)。

2.2 病毒感染 AFRS 患者年龄分布 不同年龄段 AFRS 患者病毒检出情况见表 2。

表 2 不同年龄段 AFRS 患者病毒检出情况

分组(岁)	n	病毒感染(n)	阳性率(%)	构成比(%)
>60	431	37	8.58* #	71.15
40~60	127	12	9.45#	23.08
<40	52	3	5.77	5.77
合计	610	52	8.52	100.00

\*:  $P > 0.05$ , 与 40~60 岁组比较; #:  $P < 0.05$ , 与小于 40 岁组比较。

2.3 病毒感染 AFRS 患者性别分布 在病毒感染 AFRS 患者中,男、女阳性率分别 7.44%(30/403)和 10.63%(22/207),二者比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 1.78, P > 0.05$ )。

2.4 病毒感染 AFRS 患者不同时间段分布 不同时间段

AFRS 患者病毒检出情况见表 3。

表 3 病毒感染 AFRS 患者不同时间段分布

时间(月)	n	病毒感染(n)	阳性率(%)	构成比(%)
1~3	48	3	6.25	5.77
4~6	71	4	5.63	7.69
7~9	345	34	9.86	65.39
10~12	146	11	7.53	21.15
合计	610	52	8.52	100.00

3 讨 论

近年来发热呼吸道疾病呈现发病率高、传播速度快、感染病原体不断变化等特点,故了解 FRS 病原体对疾病诊治具有十分重要的作用<sup>[5,7]</sup>。大规模流行病学调查有助于了解当地常见病原体及其变迁,掌握病原体变化规律,为疾病的有效控制奠定基础。

本研究首次对重庆地区 AFRS 常见病毒病原体进行了检测与分析。610 例 AFRS 患者病毒检出阳性率为 8.52%(52/610)。本研究中 Flu 检出率最高[5.57%(34/610)], Flu-A、B、C 型均有检出,但以 Flu-A 型为主,占 94.12%(32/34)。国内外类似研究也发现成人呼吸道感染最常见病毒病原体是 Flu<sup>[8-9]</sup>。有研究认为 RSV 是引起成人流感样症状的常见病毒,老年人则是 RSV 感染高危人群<sup>[10-11]</sup>。本研究 RSV 检出率为 1.48%(9/610),且 RSV 感染患者均为 60 岁以上老年人,与文献报道一致<sup>[12]</sup>。本研究中 ADV 检出率为 1.15%(7/610)。ADV 虽是引起军人急性呼吸道感染的主要病毒病原体,但在普通人群急性呼吸道感染病例中的检出率不高。本研究 PIV 检出率仅为 0.49%(3/610),低于其他地区,可能与区域差异、调查对象年龄段不同有关<sup>[13]</sup>。本研究中检出 Flu-A 和 ADV、PIV-1 和 HCoV 多重感染患者各 1 例。Drews 等<sup>[14]</sup>研究认为,多重感染可能与多种因素,如年龄、季节等有关,有肺部基础疾病的患者是多重病毒感染的高发人群。本研究中的 2 例多重感染患者均有肺部基础疾病,说明在临床诊断和治疗过程中应高度重视类似病例。本研究中病毒感染 AFRS 患者主要分布在秋冬两季,秋季发病率最高而夏季发病率最低,推测与重庆的气候特征有关系。

病原学检测对 AFRS 的临床诊治有重要意义,但由于实验室检测存在滞后性,导致在初期只能根据患者临床症状采取经验性治疗,因此,快速、准确检出病原体非常重要。通过本研究仅能大致了解重庆地区常见呼吸道致病病毒,对呼吸道致病病毒的监测和新病原体的研究尚有待进一步深入,从而为 FRS 的诊断、治疗及疗效判断提供更为详细的依据。

参考文献

[1] Sandrock CE. Severe febrile respiratory illnesses as a cause of mass critical care[J]. Respir Care, 2008, 53(1): 40-57.

[2] Srinivasan A, Perl TM. Respiratory protection against influenza [J]. JAMA, 2009, 302(17): 1903-1904.

[3] Vayalunkal JV, Gravel D, Moore D, et al. Surveillance for health-care-acquired febrile respiratory infection in pediatric hospitals participating in the Canadian Nosocomial Infection(下转第 1971 页)

达到 5%~10%，本次检测结果也显示本地区发病率高达 10.88%，G6PD 缺乏症目前尚无根治方法，一旦发病，只能对症治疗。因此，及早筛查、及早采取预防措施，控制诱因，减少该病的发生是很有必要的。

G6PD 缺乏症呈 X 连锁不完全显性遗传，G6PD 基因位于 X 染色体长臂 2 区 8 带 (Xq2.8)<sup>[3]</sup>。男性因只有一条 X 染色体，因此群体中只存在正常及显著缺乏的半合子两类人群，一般 G6PD 定性法即可检出。本次检测结果也显示，男性新生儿 G6PD 缺乏的患儿 G6PD 活性检测均值仅为 236.6 Z9 U/L，远小于 2 500 U/L 判断标准。而女性由于具有两条 X 染色体，根据其 G6PD 突变基因数量的不同分为纯合子、杂合子及正常人群。根据 Lyon 假说，G6PD 女性杂合子实际上是含有 G6PD 缺乏红细胞和正常红细胞的嵌合体，两种细胞系的细胞嵌合数量不同直接影响女性 G6PD 缺乏杂合子的酶活性水平，故其在临床上具有不同的表现度<sup>[4]</sup>。因此，一般定性法常常无法有效检出女性杂合子或检出率不高。本研究采用 G6PD 活性定量测定法，有报道此方法与 G6PD/6PGD 比值法有良好的符合率，具有较高的敏感性和特异性<sup>[5-8]</sup>。本次检测结果也显示，女性 G6PD 缺乏患儿 G6PD 活性范围为 (1 453.85 ± 1 023.16) U/L，符合判断标准。但复查的结果也显示女性杂合子结果判断上尚存在一定的差异，易受一些人为因素的影响<sup>[9-11]</sup>。

对于筛查确诊为 G6PD 缺乏的新生儿临床应密切观察，一旦发病，应及时对症治疗，防止胆红素透过血脑屏障对新生儿脑细胞产生毒性作用而导致核黄疸，造成新生儿智力低下及死亡，确保新生儿的生命质量。在对新生儿高胆红素血症作病因分析时也应考虑是否由 G6PD 缺乏所引起的。新生儿 G6PD 缺乏症患者均应发放 G6PD 防治宣传卡，指导患儿禁用或慎用氧化性药物，叮嘱患儿避免接触诱因，以避免溶血性贫血的

发生。

### 参考文献

- [1] 杜传书. 我国葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症研究 40 年的回顾和展望[J]. 中华血液学杂志, 2000, 21(4): 174.
- [2] 江剑辉, 马燮琴, 宋诚燕, 等. 广州市新生儿 G6PD 缺乏的早期诊断及防治[J]. 中国儿童保健杂志, 2000, 8(5): 299-301.
- [3] Tishkoff SA, Varkonyi R, Cahinhinan N, et al. Haplotype diversity and linkage disequilibrium at human G6PD; recent origin of alleles that confer malarial[J]. Science, 2001, 293(5529): 455-462.
- [4] 顾学范. 新生儿疾病筛查[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 1215.
- [5] 周碧燕, 黄永军, 陈基强, 等. 2 380 例新生儿 G6PD 检测结果分析[J]. 广西医学, 2003, 25(8): 1371-1372.
- [6] 黄立伟, 秦辛玲. 新生儿脐血 2 520 例葡萄糖-6-磷酸脱氢酶筛查结果分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(26): 3287-3288.
- [7] 朱平. 临床分子遗传学[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2002: 250-269.
- [8] Chen EY, A Cheng, A Lee, et al. Sequence of human glucose-6-phosphate dehydrogenase cloned in p lasmids and a yeast artificial chromosome[J]. Genomics, 1991, 10: 792-800.
- [9] 杜传书. 医学遗传学基础[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 112-114.
- [10] 张艳芳, 彭建明, 杨海霞, 等. 定量检测 G6PD 酶活性的可靠性分析[J]. 中国临床实验医学, 2009, 3(6): 86-87.
- [11] 梁栋伟, 区丽群. 生化仪直接测定 G6PD 活性的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(8): 709-710.

(收稿日期: 2012-02-09)

(上接第 1969 页)

Surveillance Program[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009, 30(7): 652-658.

- [4] Jung K, Renukaradhya GJ, Alekseev KP, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus modifies innate immunity and alters disease outcome in pigs subsequently infected with porcine respiratory coronavirus; implications for respiratory viral co-infections[J]. J Gen Virol, 2009, 90(11): 2713-2723.
- [5] Puro V, Fusco FM, Lanini S, et al. Risk management of febrile respiratory illness in emergency departments[J]. New Microbiol, 2008, 31(1): 165-173.
- [6] 卫生部艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治国家科技重大专项实施项目管理办公室. 发热呼吸道症候群监测实施方案[Z]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2009: 5-9.
- [7] Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, et al. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(8): 2940-2947.
- [8] 潘明, 李天舒, 刘李, 等. 成都市发热呼吸道症候群患者病毒感染

调查[J]. 预防医学情报杂志, 2011, 27(11): 861-864.

- [9] 杨冬红, 高占成. 应用多重逆转录 PCR 检测分析北京地区成人发热呼吸道症候群病毒病原谱的研究//中华医学会第七届全国下呼吸道感染学术大会暨第一届多学科抗感染治疗学术研讨会论文集汇编[C]. 北京: 中华医学会, 2011.
- [10] 王嘉祺. 应重视呼吸道病毒感染的防治研究工作[J]. 甘肃医药, 2008, 27(1): 3-4.
- [11] 余云芳, 张瑾, 韩福郎, 等. 宜昌市发热呼吸道症候群病原学调查[J]. 公共卫生与预防医学, 2011, 22(2): 77-78.
- [12] Kajon AE, Dickson LM, Metzgar D, et al. Outbreak of febrile respiratory illness associated with adenovirus 11a infection in a Singapore military training cAMP[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(4): 1438-1441.
- [13] 许军, 王开利, 舒畅, 等. 2010 年哈尔滨市发热呼吸道症候群的病原学研究[J]. 中国公共卫生管理, 2011, 27(4): 420-422.
- [14] Drews AL, Robert LA, Glezen WP, et al. Dual respiratory virus infections[J]. Clin Infect Dis, 1997, 25(6): 1421-1429.

(收稿日期: 2012-02-09)