

• 临床检验研究论著 •

儿童急性呼吸道感染病毒和非典型病原体的检测*

吴泽刚, 李 艳[△], 顾 剑

(武汉大学人民医院检验科, 湖北武汉 430060)

摘要:目的 了解急性呼吸道感染(ARI)患儿呼吸道病毒和非典型病原体感染的情况。方法 收集 17 048 例拟诊断为 ARI 患儿的血清, 采用间接免疫荧光法(IFA)检测 9 种常见的病毒和非典型病原体, 包括肺炎支原体(MP)、乙型流感病毒(FluB)、呼吸道合胞病毒(RSV)、副流感病毒(PIV)、腺病毒(ADV)、甲型流感病毒(FluA)、嗜肺军团菌(LPN)、Q 热立克次体(COX)、肺炎衣原体(CPn)的 IgM 抗体。结果 9 种病原体的总体检出率为 60.24%(10 269/17 048)。其中, MP 的检出率最高, 为 47.78%(8 146/17 048), 其次是 FluB, 检出率为 30.87%(5 262/17 048)。MP 各季节检出率都较高; FluB 主要在夏季和冬春季有小流行; RSV 在冬春季检出率较高; ADV 春季检出率较高; FluA 在春夏季出现了小流行; PIV 和 LPN 季节性不明显。ADV、CPn、FluA、FluB、LPN、MP、PIV、RSV 病原体检出率在各年龄组之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 种病原体混合感染以 MP+FluB 最多, 占 39.58%; 3 种病原体混合感染以 MP+FluB+RSV 多见, 占 13.68%。4 种病原体混合感染, 以 MP+FluB+RSV+PIV 居多, 占 3.84%。其他混合感染模式的阳性例数较少。结论 武汉地区引起儿童 ARI 的病毒和非典型病原体主要是 MP、FluB 和 RSV; 各种病原体检出率具有一定季节性且不同年龄段间有一定差异; 混合感染比较普遍, 主要是 MP+FluB 混合感染。

关键词:急性呼吸道感染; 病原体; 流行病学; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.004

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)18-2432-03

The detection of viral and atypical pathogens in children with acute respiratory infection*

Wu Zegang, Li Yan[△], Gu Jian

(Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: **Objective** To investigate the viral and atypical pathogens in children with acute respiratory infection(ARI). **Methods** A total of 17 048 serum samples were collected from children, who were intended to diagnose as ARI. Indirect immunofluorescence assays were performed to detect IgM antibodies against 9 common pathogens, including mycoplasma pneumonia(MP), influenza virus B(FluB), respiratory syncytial virus(RSV), parainfluenza virus(PIV), adenovirus(ADV), influenza A virus(FluA), legionella pneumophila(LPN), coxiella burnetii(COX), chlamydia pneumonia(CPn). **Results** The total detection rate of the 9 pathogens was 60.24%(10 269/17 048). The detection rate of MP was 47.78%(8 146/17 048) which was the highest, followed by FluB which was 30.87%(5 262/17 048). The detection rate of MP kept at a high level through the whole year; FluB appeared a little popular in the summer, winter and spring; RSV had higher detection rate in winter and spring; ADV had higher detection rate in spring; FluA appeared a little popular in spring and summer; PIV and LPN didn't show any seasonal change. There were significant differences in the detection rates of ADV, CPn, FluA, FluB, LPN, MP, PIV and RSV among different age groups($P < 0.05$). In mixed infection with 2 kinds of pathogens, MP+FluB was the most common pattern which accounted for 39.58% of mixed infection. In mixed infection with 3 kinds of pathogens, MP+FluB+RSV was the most common pattern which accounted for 13.68%. In mixed infection with 4 kinds of pathogens, MP+FluB+RSV+PIV was the most common pattern which accounted for 3.84%. Other mixed infection pattern was rare. **Conclusion** The most common pathogens causing ARI in children of Wuhan were MP, FluB and RSV. The detection rate of each pathogen displayed specific seasonal variations and variations among different age groups. Mixed infections were more common than single infections, and the most common pattern was MP+FluB.

Key words: acute respiratory infections; pathogens; epidemiology; children

据统计 2008 年全球小于 5 岁儿童死亡原因中, 急性呼吸道感染(acute respiratory infection, ARI)占 18%^[1], 发展中国家更为严重。ARI 可由多种病原体引起, 不同的地区和人群的病原体不完全相同。ARI 主要是细菌性的(最常见的是肺炎链球菌), 而病毒感染和非典型的病原体感染, 如肺炎支原体和病毒, 也占相当一部分^[2-3]。特别是在上呼吸道感染中, 肺炎支原体和病毒的感染率甚至比细菌高。本研究通过检测 2010 年 6 月至 2013 年 5 月武汉大学人民医院住院儿科拟诊为 ARI 的 17 048 例患儿血清中 9 种病原体的 IgM 抗体, 旨在了解这些病原体的流行情况, 为 ARI 患儿的经验性用药提供一定的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 6 月至 2013 年 5 月武汉大学人民医院住院儿科拟诊为 ARI 的患儿, 共 17 048 例, 年龄 1 个月至 12 岁, 平均 35 个月, 其中男患儿 10 917 例、女患儿 6 131 例。按照儿童的生长发育以及机体免疫系统发育状况等特点, 将患儿分成 4 组: <1 岁组 2 757 例, 1~<3 岁组 8 025 例, 3~<6 岁组 4 467 例, 6~12 岁组 1 799 例。

1.2 仪器与试剂 漩涡混匀器为美国 Eql 公司产品; 高速离心机为上海之信仪器有限公司产品; 低速离心机为河北白洋离心机厂产品; DKB-501A 型超级恒温水槽为上海精宏实验设备有限公司; EUROStar II 型荧光显微镜为德国欧盟公司产品。呼

* 基金项目: 国家临床重点专科建设项目[财社(2010)305 号]。
[△] 通讯作者, E-mail: yanlif1120@163.com。

作者简介: 吴泽刚, 男, 检验医师, 主要从事临床免疫与微生物学检验的研究。

吸道病原检测试剂盒为西班牙 VIRCELL 公司呼吸道感染病原体 IgM 抗体检测试剂盒;PBS 缓冲液(pH=7.4,实验室自配)。

1.3 方法 血清标本来自于上述纳入研究的患儿,静脉采血 3~4 mL 后,立即将血液标本转送至武汉大学人民医院检验医学检验中心,凝血后 3 000 r/min 离心分离血清(如果没有立即检测则保存在 4 ℃ 冰箱中,隔夜第 2 天检测,标本存放不超过 24 h),采用间接免疫荧光法(IFA)同时检测血清中肺炎支原体(mycoplasma pneumonia,MP)、乙型流感病毒(influenza virus B,FluB)、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus,RSV)、副流感病毒(parainfluenza virus,PIV)、腺病毒(adenovirus,ADV)、甲型流感病毒(fluenza A virus,FluA)、嗜肺军团菌(legionella pneumophila,LPN)、Q 热立克次体(coxiella burnetii,COX)、肺炎衣原体(chamydophila pneumonia,CPn)9 种常见上呼吸道感染病原体的血清 IgM 抗体,严格按照操作说明书操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析,各年龄组间病原体检出率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各病原体的检出情况 9 种病原体的总体检出率为 60.24%(10 269/17 048)。MP 的检出率为 47.78%(8 146/17 048),在常见的 9 种病原体中居首位,其次是 FluB,检出率为 30.87%(5 262/17 048)。其他病原体的检出率从高至低依次为 RSV[13.34%(2 275/17 048)]、PIV[6.15%(1 048/17 048)]、ADV[5.24%(894/17 048)]、FluA[1.47%(251/17 048)]、LPN[1.33%(226/17 048)]、COX[0.30%(51/17 048)]、CPn[0.11%(18/17 048)]。

2.2 各病原体检出率的季节性变化 MP 各季节检出率都较高,2011 年春季更明显;FluB 在 2010 年夏季和 2010~2011、2011~2012 和 2012~2013 年的冬春季有小流行;RSV 在 2010 年冬季和 2011 年春季的检出率较高;ADV 在春季检出率较高;PIV 的季节性不明显,全年的检出率均较低;FluA 在 2010 年夏季、2011 年和 2012 年春季出现了小流行,其他季节检出率都很低;LPN、COX 和 CPn 季节性不明显,全年检出都很低。见附图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.3 不同年龄患者各种病原体的阳性检出率 <1 岁组、1~<3 岁组、3~<6 岁组、6~12 岁组的总检出率分别为 32.61%、56.39%、78.80%、73.65%,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),<1 岁组中的病原体总检出率低于其他组。9 种病原体中 ADV、CPn、FluA、FluB、LPN、MP、PIV、RSV 的检出率在各年龄组间的差异有统计学意义($P<0.05$);FluA、FluB、LPN、MP、PIV 这 5 种病原体在小于 1 组中的检出率低于其他组($P<0.05$);CPn 在 1~<3 岁组中明显低于其他组($P<0.05$);ADV 在 3~<6 岁组中检出率明显高于其他组($P<0.05$)。见图 1。

2.4 混合感染模式 同时检出 2 种或 2 种以上病原体的混合感染患者占 31.48%(5 366/17 048)。2 种病原体混合感染模式以 MP+FluB 混合感染最多,占总混合感染的 39.58%(2 124/5 366),其次是 MP+RSV,占 8.87%(476/5 366)。3 种病原体混合感染模式以 MP+FluB+RSV 最多,占 13.68%(734/5 366),其次是 MP+FluB+PIV,占 6.08%(326/5 366)。4 种病原体混合感染模式以 MP+FluB+RSV+PIV 最多,占 3.84%(206/5 366)。其他混合感染模式的阳性例数较少,总共仅占 1.64%。见表 1。

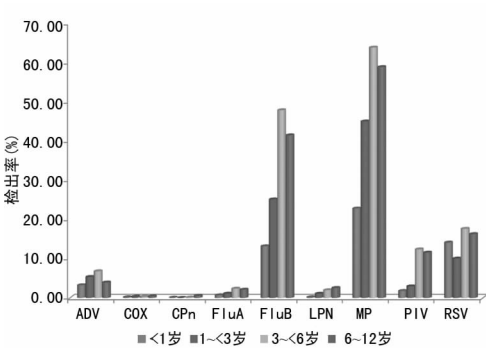


图 1 表示各年龄组呼吸道 9 种病原体的检出率

表 1 混合感染患者 9 种病原体混合模式的分布情况(n=5 366)

混合感染模式	n	构成比(%)
MP+FluB	2 124	39.58
MP+RSV	476	8.87
MP+PIV	294	5.48
MP+ADV	260	4.85
FluB+RSV	147	2.74
FluA+MP	49	0.91
MP+FluB+RSV	734	13.68
MP+FluB+PIV	326	6.08
MP+FluB+ADV	282	5.26
MP+PIV+RSV	100	1.86
FluA+MP+FluB	87	1.62
ADV+FluB+RSV	65	1.21
MP+FluB+RSV+PIV	206	3.84
MP+FluB+RSV+ADV	77	1.43
MP+FluB+RSV+FluA	51	0.95
其他混合感染模式	88	1.64
合计	5 366	100.00

3 讨 论

本研究表明,ARI 的病原体主要是 MP、FluB 和 RSV,其检出率分别是 47.78%、30.87%和 13.34%。17 048 例患儿的总体检出率为 60.24%,低于其他文献报道^[4-5]。这可能与不同病原体的流行病学特点^[6]、地域差异、人群易感性以及方法学因素有关^[5]。

本研究中,MP 全年的检出率都很高,在 2011 年春季更明显,而其他文献如 Bezerra 等^[4]报道 MP 主要流行于夏季;FluB 在夏季和冬春季有小流行,而 Mardy 等^[7]报道 FluB 主要流行于秋季和冬季;RSV 在春季检出率较高,与 Fabbiani 等^[8]报道相似;PIV 的季节性不明显,全年检出率较低,而 Yeolekar 等^[9]报道 PIV 主要流行冬春季;ADV 春季检出率较高,与 Fabbiani 等^[8]的报道一致;FluA 在春夏季出现小流行,与 Chan 等^[10]的报道相似。

各年龄组间病原体总体检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。<1 岁组的病原体总检出率低于其他各组。各年龄组检出率最高的病原体都是 MP,特别在 3~<6 岁组中,高达 63.80%,高于文献^[4]的报道,与 Liu 等^[11]结果相似。一般

情况下,MP 高发于年龄较大的儿童^[6],在婴幼儿中也有一定的发病比例;FluB 也是儿童 ARI 的常见病原体之一,仅次于 MP,远高于文献[12]报道的 0.8%。各年龄组间感染情况也有明显差异,其中 3~<6 岁组的检出率最高,为 47.84%;RSV 检出率在 3~<6 岁年龄组最高,明显低于文献[4]报道的 35%。不同的是,其他文献报道中 RSV 的检出率是最高的,而本研究中排第二位。ADV、COX、PIV 和 FluA 病原体检出率在 3~<6 岁组中较高,CPn 检出率在 6~12 岁组中明显高于其他年龄组。

本研究中,两种病原体混合感染模式以 MP+FluB 和 MP+RSV 多见,而 Peng 等^[13]报道 FluA+FluB 是主要的混合感染;3 种病原体混合感染模式以 MP+FluB+RSV 和 MP+FluB+PIV 较多;4 种病原体混合感染模式以 MP+FluB+RSV+PIV 多见,这可能是由于一种病原体(如 MP)感染后造成气道黏膜细胞损害,使其他病原体更容易入侵,也可能与患儿体质差免疫功能低下,病程长、住院时间长和其他患儿接触,交叉感染机会增加有关。因此,儿童在住院期间应该有相应的隔离措施,避免院内感染。另外,很重要的一点就是混合感染的检出率很大程度上与使用的检测方法和待检测病原体的种类的多少有关。

本研究分析了本院近三年拟诊为 ARI 患儿的呼吸道病原体检测结果,增加了对本地区儿童 ARI 的病原体流行趋势的认识,为 ARI 患儿经验性用药提供了参考依据。

参考文献

[1] Liu L,Johnson HL,Cousens S,et al. Global,regional,and National causes of child mortality:an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000[J]. Lancet,2012,379(9832): 2151-2161.

[2] Ruuskanen O,Lahti E,Jennings LC,et al. Viral pneumonia[J]. Lancet,2011,377(9773):1264-1275.

[3] Kumar S,Wang L,Fan J,et al. Detection of 11 common viral and bacterial pathogens causing community-acquired pneumonia or sepsis in asymptomatic patients by using a multiplex reverse tran-

scription-PCR assay with manual (enzyme hybridization) or automated (electronic microarray) detec[J]. J Clin Microbiol,2008,46 (9):3063-3072.

[4] Bezerra PG,Britto MC,Correia JB,et al. Viral and atypical bacterial detection in acute respiratory infection in children under five years[J]. PLoS One,2011,6(4):18928.

[5] Do AH,van Doorn HR,Nghiem MN,et al. Viral etiologies of acute respiratory infections among hospitalized Vietnamese children in Ho Chi Minh City, 2004—2008[J]. PLoS One,2011,6(3): 2004-2008.

[6] Kim CK,Choi J,Callaway Z,et al. Clinical and epidemiological comparison of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in Seoul,Korea,2003—2008[J]. J Korean Med Sci,2010,25 (3):342-347.

[7] Mardy S,Ly S,Heng S,et al. Influenza activity in Cambodia during 2006—2008[J]. BMC Infect Dis,2009,9(1):168.

[8] Fabbiani M,Terrosi C,Martorelli B,et al. Epidemiological and clinical study of viral respiratory tract infections in children from Italy[J]. J Med Virol,2009,81(4):750-756.

[9] Yeolekar LR,Damle RG,Kamat AN,et al. Respiratory viruses in acute respiratory tract infections in Western India[J]. Indian J Pediatr,2008,75(4):341-345.

[10] Chan PK,Mok HY,Lee TC,et al. Seasonal influenza activity in Hong Kong and its association with meteorological variations[J]. J Med Virol,2009,81(10):1797-1806.

[11] Liu CL,Wang GQ,Zhang B,et al. Mycoplasma pneumoniae pneumonia in hospitalized children diagnosed at acute stage by paired sera[J]. Chin Med J,2010,123(23):3444-3450.

[12] Shibli F,Chazan B,Nitzan O,et al. Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized patients in northern Israel[J]. Isr Med Assoc J,2010,12(8):477-482.

[13] Peng D,Zhao D,Liu J,et al. Multipathogen infections in hospitalized children with acute respiratory infections [J]. Virol J,2009,6 (1):155.

(收稿日期:2014-02-28)

(上接第 2431 页)

参考文献

[1] Vodicka P,Stetina R,Polakova V,et al. Association of DNA repair polymorphisms with DNA repair functional outcomes in healthy human subjects[J]. Carcinogenesis,2007,28(3):657-664.

[2] 胡建莉,陈萍,刘伟,等. 食管鳞癌中 VEGF_(165b)、HIF-1α 的表达及临床意义[J]. 肿瘤防治研究,2010,37(1):9-11.

[3] Wang LD,Zheng S,Zheng ZY,et al. Primary adenocarcinomas of lower esophagus,esophagogastric junction and gastric cardia;in special reference to China[J]. World J Gastroenterol,2003,9(6): 1156-1164.

[4] Moreto M. Diagnosis of esophagogastric tumors[J]. Endoscopy, 2001,33(1):1-7.

[5] Shiloh Y. ATM and related protein kinases:safeguarding genome integrity[J]. Nat Rev Cancer,2003,3(3):155-168.

[6] 刘小群. ATM 与肿瘤的关系研究进展[J]. 中国癌症杂志,2011, 12(12):973-977.

[7] Grabsch H,Dattani M,Barker L,et al. Expression of DNA double-strand break repair proteins ATM and BRCA1 predicts survival in colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res,2006,12(5):1494-1500.

[8] Truman JP,Gueven N,Lavin M,et al. Down-regulation of ATM protein sensitizes human prostate cancer cells to radiation-induced apoptosis[J]. J Biol Chem,2005,280(24):23262-23272.

[9] Otterbein LE,Hedblom A,Harris C,et al. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide modulate DNA repair through ataxia-telangiectasia mutated (ATM) protein[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011,108(35):14491-14496.

[10] Cosentino C,Grieco D,Costanzo V. ATM activates the pentose phosphate pathway promoting anti-oxidant defence and DNA repair[J]. EMBO J,2011,30(3):546-555.

[11] 张梅光,王晓凌,徐世杰,等. 肺癌患者射线诱发的淋巴细胞遗传损伤及 ATM 蛋白表达的研究[J]. 实用肿瘤杂志,2007,22(5): 416-419.

[12] 王秋,折虹. ATM 蛋白在宫颈癌中的表达及临床意义[J]. 宁夏医学杂志,2010,32(3):220-222.

[13] 乔劲鹏. ATM 蛋白在食管鳞癌中的表达意义及其抑制剂 KU-55933 在 ECA-109 细胞中的放射增敏作用[D]. 蚌埠:蚌埠医学院,2012.

(收稿日期:2014-01-28)