

• 论 著 •

呼吸道合胞病毒 RNA 及 IgM 在小儿呼吸道感染诊断中的应用价值*

金 娴, 吴 意[△], 樊春卉, 刘鲜花

(深圳市盐田区人民医院检验科, 广东深圳 518081)

摘 要:目的 探讨呼吸道合胞病毒 RNA(RSV-RNA)及呼吸道合胞病毒 IgM(RSV-IgM)在小儿呼吸道感染诊断中的应用价值。方法 选取 2015 年 9 月至 2017 年 4 月确诊呼吸道合胞病毒感染患儿 56 例,收集其咽部分泌物标本,对 RSV-RNA 进行检测;另抽取患儿空腹静脉血,对 RSV-IgM 进行检测,对两者的阳性检出率及与年龄、发病时间的相关性进行统计学分析。结果 RSV-RNA、RSV-IgM 阳性检出率分别为 89.29%、32.14%,RSV-RNA 的阳性检出率显著高于 RSV-IgM,差异有统计学意义($P<0.05$)。 ≤ 6 个月, >6 个月至 1 岁患儿的 RSV-RNA 阳性检出率均高于 RSV-IgM($P<0.05$);发病时间 ≤ 7 d 的患儿 RSV-RNA 的阳性检出率高于 RSV-IgM($P<0.05$)。结论 在小儿 RSV 感染检测中,检测 RNA 比 IgM 具有更高的准确性,尤其是对年龄 ≤ 1 岁、发病时间较短(≤ 7 d)的患儿,早期诊断具有重要指导作用。

关键词:呼吸道合胞病毒; RNA; IgM

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)19-2697-03

Application value of detection of respiratory syncytial virus RNA and IgM in the diagnosis of children with respiratory infection*

JIN Xian, WU Yi[△], FAN Chunhui, LIU Xianhua

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Yantian District, Shenzhen, Guangdong 518081, China)

Abstract: Objective To explore the application value of respiratory syncytial virus RNA (RSV-RNA) and respiratory syncytial virus IgM (RSV-IgM) antibody in the diagnosis of children with respiratory infection. **Methods** From September 2015 to April 2017, 56 cases of respiratory syncytial virus infection were selected, and the specimens of pharyngeal secretions were collected, and RSV-RNA was detected, in addition, fasting venous blood was taken from children, and the RSV-IgM antibody was detected. The positive rate of detection and correlation with age and time of onset were statistically analyzed. **Results** The positive rates of RSV-RNA and RSV-IgM were 89.29% and 32.14%, respectively. The detection rate of RSV-RNA was significantly higher than that of RSV-IgM, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The two groups, ≤ 6 months and from >6 months to 1 year old, the detection rates of RSV-RNA in children was higher than RSV-IgM ($P<0.05$), and the detection rate of RSV-RNA in children with ≤ 7 days of onset was higher than that of RSV-IgM ($P<0.05$). **Conclusion** The detection of children with RSV infection, which the detection of RNA has higher accuracy than IgM, especially for children ≤ 1 year old, the onset time is shorter (≤ 7 days), plays an important guiding role for early diagnosis.

Key words: respiratory syncytial virus; RNA; IgM

呼吸道合胞病毒(RSV)是引起小儿急性呼吸道疾病的重要病原体^[1],对儿童健康甚至生命安全均有严重危害。近年来,因 RSV 相关性小儿呼吸道感染发病率呈上升趋势^[2],RSV 已成为严重公共卫生问题。迄今为止,对于 RSV 传播尚无有效的预防措施^[3],对 RSV 感染的治疗也无最直接、有效的药物,早期对感染进行明确诊断,可为治疗方案的制订提供有效指导,具有重要临床意义^[4]。目前,用于 RSV 早期诊断的指标比较多,本研究采用实时荧光定量 PCR 法检测 RNA、酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IgM,并对结果进行对比,以期获得更准确的检测指标,为临床的早期诊断提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 9 月至 2017 年 4 月对急性呼吸道感染患儿同时采集咽拭子检测 RSV-RNA,采集静脉血检测 RSV-IgM,其中任何一项为阳性则确诊为 RSV 感染。共纳入 56 例患儿,其中男 32 例,女 24 例。年龄分布: ≤ 6 月 20 例, >6 月至 1 岁 11 例, $>1\sim 2$ 岁 9 例, $>2\sim 5$ 岁 11 例, $>5\sim 14$ 岁

5 例。发病时间: <3 d 18 例, $3\sim 7$ d 32 例, >7 d 6 例,平均发病时间为 (6.82 ± 1.03) d。纳入标准:年龄 ≤ 14 岁;符合疾病诊断标准;未接受抗菌药物治疗。排除标准:重要脏器功能严重不全;合并其他系统感染;病历资料不全。

1.2 仪器与试剂 仪器:美国应用生物系统公司生产的 Vii A 7Dx 实时荧光定量 PCR 扩增仪;深圳雷度公司生产的 RT-6000 酶标仪;冷冻离心机;水浴箱等。试剂:中山大学达安基因股份有限公司生产的 RSV-RNA 检测试剂盒;德国维润赛润研发有限公司生产的 RSV-IgM 检测试剂盒。

1.3 方法 选用中山大学达安基因股份有限公司生产 RSV-RNA 检测试剂盒,应用实时荧光定量 PCR 法对患儿咽拭子标本进行 RSV-RNA 检测;选用德国维润赛润研发有限公司生产的 RSV-IgM 检测试剂盒,应用 ELISA 法对患儿血清 RSV-IgM 进行检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件处理数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料以率(%)表示,计数资料组间比较采用

* 基金项目:广东省深圳市盐田科技局科技计划资助项目(20160102)。

作者简介:金娴,女,主管技师,主要从事病原分子生物学研究。△ 通信作者,E-mail:16429728@qq.com。

χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RSV-RNA、RSV-IgM 阳性检出率比较 RSV 感染患儿 56 例,检出 RSV-RNA 50 例,检出 RSV-IgM 18 例,RSV-RNA、RSV-IgM 的阳性检出率分别为 89.29%、32.14%,RSV-RNA 的阳性检出率显著高于 RSV-IgM,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 RSV-RNA、RSV-IgM 阳性检出率比较						
检测指标	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	检出率(%)	χ^2	<i>P</i>
RSV-RNA	56	50	6	89.29	38.332	0.000
RSV-IgM	56	18	38	32.14		

2.2 RSV-RNA 和 RSV-IgM 的阳性检出率与患儿年龄的相关性 ≤ 6 个月患儿的 RSV-RNA 阳性检出率为 100.00%,

RSV-IgM 阳性检出率为 0.00%; >6 个月至 1 岁患儿的 RSV-RNA 及 RSV-IgM 阳性检出率分别是 90.91%、18.18%,差异有统计学意义($P<0.05$); $>1\sim 2$ 岁、 $>2\sim 5$ 岁、 $>5\sim 14$ 岁患儿的 RSV-RNA 和 RSV-IgM 的阳性检出率分别为 88.89%、66.67%、81.82%和 54.55%、60.00%、80.00%,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.3 RSV-RNA 和 RSV-IgM 的检出率与患儿发病天数的相关性 发病时间 <3 d 组的患儿 RSV-RNA 和 RSV-IgM 的阳性检出率分别为 88.89%、16.67%, $3\sim 7$ d 组 RSV-RNA 和 RSV-IgM 的阳性检出率分别为 93.75%、37.50%,差异均有统计学意义($P<0.05$), >7 d 组 RSV-RNA 和 RSV-IgM 的阳性检出率分别为 66.67%、50.00%,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 2 RSV-RNA 和 RSV-IgM 阳性检出率与年龄的相关性

年龄	<i>n</i>	RNA 阳性(<i>n</i>)	RNA 检出率(%)	IgM 阳性(<i>n</i>)	IgM 检出率(%)	χ^2	<i>P</i>
≤ 6 个月	20	20	100.00	0	0.00	36.10	0.000
>6 个月至 1 岁	11	10	90.91	2	18.18	8.983	0.000
$>1\sim 2$ 岁	9	8	88.89	6	66.67	0.321	0.571
$>2\sim 5$ 岁	11	9	81.82	6	54.55	0.838	0.360
$>5\sim 14$ 岁	5	3	60.00	4	80.00	0.000	1.000

表 3 RSV-RNA 和 RSV-IgM 阳性检出率与发病时间的相关性

发病时间	<i>n</i>	RNA 阳性(<i>n</i>)	RNA 检出率(%)	IgM 阳性(<i>n</i>)	IgM 检出率(%)	χ^2	<i>P</i>
<3 d	18	16	88.89	3	16.67	16.05	0.000
$3\sim 7$ d	32	30	93.75	12	37.50	20.02	0.000
>7 d	6	4	66.67	3	50.00	0.000	1.000

3 讨 论

RSV 属 RNA 病毒的一种,具有较强传染性,可引发肺炎、支气管炎等呼吸系统疾病^[1,5]。其发病是由炎症、宿主受累细胞损伤、局部免疫反应、体液及高反应性等之间相互作用所引发的。有研究显示,合胞病毒肺炎及毛细支气管炎占我国婴幼儿急性呼吸道疾病首位,严重危害小儿健康及生长发育^[2,6]。因此,选择有效的检测指标对 RSV 感染进行早期诊断,对疾病防治具有重要作用。

病毒分离是经典诊断方法,以往被认为是 RSV 感染早期诊断的金标准,但由于该方法所需时间较长,操作繁琐,在临床应用中受限。而病毒核酸检测虽然具有较高灵敏度,但其对实验条件要求严格,易被污染,也存在弊端。目前,临床上常用的检测指标有病毒抗原、IgM 等^[4,6]。不具备 PCR 检测的医院以 RSV-IgM 作为早期快速诊断 RSV 感染的指标。但国内关于 RSV-RNA 与 RSV-IgM 在小儿呼吸道感染诊断中对比的报道较少,为进一步探寻小儿呼吸道感染早期诊断有效方法,本研究对两种指标进行了对比分析。本研究发现,RSV-RNA、RSV-IgM 的阳性检出率分别为 89.29%、32.14%,RSV-RNA 的检出率显著高于 RSV-IgM($P<0.05$),提示在小儿 RSV 感染检测中,RSV-RNA 检测相比于 RSV-IgM 检测可获得更准确的结果。有国内学者指出,实时荧光定量 PCR 检测 RSV-RNA 阳性检出率(38.7%)明显高于血液病毒 IgM 阳性检出率(21.1%)($P<0.01$)^[7]。也有学者研究显示,荧光探针 PCR 法检测 RSV-RNA 具有特异度强、灵敏度高、准确度高等特

点^[8-10]。国外有研究显示,传染病 PCR 的检测较传统技术具有更高的灵敏度^[11],也有其他研究显示,测试试剂灵敏度时要以实时荧光定量 PCR 作为参考的标准^[12],这与本研究结果基本一致。但其中有 6 例患儿没有检测到 RSV-RNA,考虑是由于采样不合格或者是 RNA 提取过程中降解导致。本研究中, ≤ 6 个月、 >6 个月至 1 岁患儿的 RSV-RNA 阳性检出率均高于 RSV-IgM($P<0.05$), ≤ 6 月患儿的 RSV-RNA 阳性检出率为 100.00%,RSV-IgM 的阳性检出率为 0.00%,提示患儿年龄越小,RSV-RNA 检测的优势越明显,RSV-IgM 的阳性检出率随着患儿年龄的增长逐渐增高。这与国内学者报道的年龄 <6 个月的婴儿 RSV-IgM 阳性检出率低^[7,13],与国外学者年龄 <1 岁的急性呼吸道感染患儿呼吸道病毒 IgM 阳性检出率低于 1~3 岁患儿的报道基本一致^[9],这可能是由于婴幼儿免疫系统不成熟,免疫反应较弱而出现假阴性。在 >1 岁的患儿中 RSV-IgM 的阳性检出率与 RSV-RNA 较为吻合,可能是由于免疫系统随着年龄的增长而不断完善,免疫反应也由弱变强,故 RSV-IgM 阳性检出率随着年龄的增长逐渐增高。本研究还发现,RSV-RNA 的阳性检出率跟发病时间无相关性,而 RSV-IgM 的阳性检出率与发病时间具有相关性,发病时间 <3 d 的 RSV-IgM 阳性检出率低于发病时间 $3\sim 7$ d、 >7 d,这可能是由于 IgM 一般在发病 $3\sim 7$ d 出现,并在 $7\sim 14$ d 后达到高峰^[6,10,14],所以发病早期检测不出来,这与国内学者的结论是一致的^[15]。

综上所述,在 RSV 感染的诊断方面,检测 RNA 比 IgM 具

有更高的准确度,尤其是对于年龄 ≤ 1 岁、发病时间较短(≤ 7 d)的患儿。但在不具备 RSV-RNA 检测的医院,以 RSV-IgM 作为 RSV 感染辅助诊断的指标时,要注意患儿的年龄、发病时间及免疫状态的特点,以免漏诊。本研究样本量较少,对于 IgM 的检测只是采用 ELISA 法,可能存在一定的偏倚,结果还需大样本量的研究进一步证实。

参考文献

[1] 张晓艳,崔红,杨爱君,等.新生儿呼吸道合胞病毒下呼吸道感染临床分析[J].中国医刊,2016,51(7):64-67.

[2] 包庆洋,李昌崇,张冰,等.2011—2015 年小儿下呼吸道感染病原学分布及药敏分析[J].中国妇幼保健,2016,31(16):3282-3285.

[3] Robinson J. Preventing respiratory syncytial virus infections[J]. Paediatr Child Health,2011,16(8):487-490.

[4] 许琴,林素香,郑水华.四种呼吸道合胞病毒检测方法的临床应用比较[J].山西医药杂志,2016,45(15):1820-1822.

[5] 朱以军,包云光,王香梅,等.小儿急性下呼吸道感染临床流行病学特征[J].国际流行病学传染病学杂志,2015,42(3):170-173.

[6] 严华杰,盛军,董蔚,等.急性呼吸道感染患儿三种常见呼吸道病毒检测分析[J].山东医药,2015,55(2):37-38.

[7] Tan ZT, Shi L, Lu GX, et al. Detection of respiratory syncytial virus in children with respiratory tract infections by nucleic acid amplification fluorogenic quantitative assay [J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2009, 11(10): 825-828.

[8] 俞松山,叶惠英,韩珊珊.免疫荧光技术与荧光探针 PCR

技术用于检测小儿呼吸道合胞病毒的对比分析[J].实用预防医学,2016,23(6):750-752.

[9] Volejnikova J, Mejstrikova E, Valova T, et al. Minimal residual disease in peripheral blood at day 15 identifies a subgroup of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with superior prognosis[J]. Haematologica, 2011, 96(12):1815-1821.

[10] 吴华. 843 例儿童急性呼吸道感染血清 IgM 测定与分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1): 25-26.

[11] Luchsinger V, Ruiz M, Zunino E, et al. Community-acquired pneumonia in Chile: the clinical relevance in the detection of viruses and atypical bacteria[J]. Thorax, 2013, 68(11):1000-1006.

[12] Chartrand C, Tremblay N, Renaud C, et al. Diagnostic accuracy of rapid antigen detection tests for respiratory syncytial virus infection: systematic review and meta-analysis [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(12): 3738-3749.

[13] 冷红春, 颜云盈. 呼吸道病毒特异性 IgM 抗体检测在儿童 ALRI 诊断中的临床应用价值[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(1): 120-122.

[14] 宋秦伟, 朱汝南, 邓洁, 等. 血清特异性抗体检测在儿童呼吸道感染病毒感染病原诊断中应用的探讨[J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(6): 440-444.

[15] 贺占国, 王曼, 白云, 等. IgM 抗体检测在儿科呼吸道感染性疾病诊断中的应用[J]. 临床误诊误治, 2012, 25(6): 63-65.

(收稿日期:2017-06-18 修回日期:2017-08-12)

(上接第 2696 页)

[4] 韩立中. 2009—2011 年上海地区金黄色葡萄球菌血流感染流行病学及基因多态性分析[J]. 中华内科杂志, 2014, 53(8):648.

[5] 陈柳勤,孙诚,陈晓丽,等. 2007—2011 年血流感染金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(24):4169-4171.

[6] 谢朝云,胡阳,杨忠玲,等. 血流感染患者表皮葡萄球菌与金黄色葡萄球菌的分布与耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(12):1409-1411.

[7] 陈世平,冯吁珠,李彤,等. 金黄色葡萄球菌血流感染的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(20):4565-4568.

[8] 王立新,胡志东. 血流感染患者金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析[J]. 中国全科医学, 2012, 15(4): 454-455.

[9] 张静玲,江永忠,姚璇,等. 某医院患者金黄色葡萄球菌感染的临床分布及耐药性分析[J]. 中国消毒学杂志, 2016, 33(9):874-876.

[10] Moore CL, Lu M, Cheema F, et al. Prediction of failure in vancomycin-treated methicillin-resistant Staphylococcus aureus bloodstream infection: a clinically useful risk strat-

ification tool[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(10):4581-4588.

[11] Lubin AS, Snyderman DR, Ruthazer R, et al. Predicting high vancomycin minimum inhibitory concentration in methicillin-resistant Staphylococcus aureus bloodstream infections[J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(8):997-1002.

[12] 周珊,张蓓,徐修礼,等. 血流感染金黄色葡萄球菌克林霉素耐药与分子流行病学研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(24):3517-3519.

[13] 胡俊庭,白艳,吴博. 血流感染金黄色葡萄球菌耐药表型及耐药基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(22):5381-5383.

[14] Shore A, Rossney AS, Keane CT, et al. Seven novel variants of the staphylococcal chromosomal cassette mec in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from Ireland[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(50): 2070-2083.

[15] 王立新,胡祎明,胡志东,等. 血流感染患者金黄色葡萄球菌 erm 基因检测及流行病学研究[J]. 检验医学, 2013, 28(3):189-193.

(收稿日期:2017-02-14 修回日期:2017-05-08)