

论著·临床研究

7 360 例呼吸道感染儿童病毒抗原七联检的临床结果分析*

柳晓琴^{1,2}, 崔亚利¹, 沈川¹, 甘春玉¹, 段义飞¹, 彭磊文¹, 李文胜^{1△}

(1. 四川大学华西第二医院临床检验科, 四川成都 610041;

2. 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 四川成都 610041)

摘要:**目的** 通过对四川大学华西第二医院就诊的 7 360 例急性呼吸道感染患儿进行呼吸道病毒抗原检测, 分析不同病毒在急性呼吸道感染中的分布情况, 为儿童呼吸道感染的早期诊治提供流行病学依据。**方法** 提取患儿鼻咽拭子, 采用直接免疫荧光法(DFA)检测 7 种呼吸道病毒抗原, 包括流感病毒 A 型(Flu A)、流感病毒 B 型(Flu B)、副流感病毒 1 型(PIV1)、副流感病毒 2 型(PIV2)、副流感病毒 3 型(PIV3)、呼吸道合胞病毒(RSV)和腺病毒(ADV)。**结果** 7 360 例急性呼吸道感染患儿中, 检出呼吸道病毒 783 例, 检出率为 10.64%。其中检出率最高的是 RSV 545 例(7.40%), 其次分别为 PIV3 107 例(1.45%), ADV 62 例(0.84%), Flu B 25 例(0.34%), Flu A 24 例(0.33%), PIV1 18 例(0.24%), 混合型 8 例(0.11%), PIV2 2 例(0.03%)。**结论** 7 项呼吸道病毒检测可以明确引起患儿急性呼吸道感染的病原体, 为临床用药提供合理诊断依据, 对临床药物合理使用具有指导意义。

关键词: 急性呼吸道感染; 呼吸道病毒七联检; 直接免疫荧光

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.013 **中图法分类号:**R446.6

文章编号:1673-4130(2019)11-1333-04

文献标识码:A

Clinical analysis of 7 360 children with respiratory virus infection*

LIU Xiaoqin^{1,2}, CUI Yali¹, SHEN Chuan¹, GAN Chunyu¹, DUAN Yifei¹, PENG Leiwen¹, LI Wensheng^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, West China Second Hospital of Sichuan University,

Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract:**Objective** To analyze the distribution of different viruses in acute respiratory tract infections by detecting respiratory viral antigens in 7 360 children with acute respiratory tract infections in West China Second Hospital of Sichuan University, in order to provide epidemiological basis for early diagnosis and treatment of children's respiratory tract infections. **Methods** Nasopharyngeal swabs were extracted and 7 respiratory viruses were detected by direct immunofluorescence (DFA), including influenza A (Flu A), influenza B (Flu B), parainfluenza type 1 (PIV1), parainfluenza virus type 2 (PIV2), parainfluenza virus type 3 (PIV3), respiratory syncytial virus (RSV) and adenovirus (ADV). **Results** Among 7 360 children in this study, 783 cases of respiratory virus were detected, and the detection rate was 10.64%. The highest detection rate was 545 cases (7.40%) of RSV, followed by 3 107 cases of PIV (1.45%), 62 cases of ADV (0.84%), 25 cases of FluB (0.34%), 24 cases of Flu A (0.33%), 18 cases of PIV1 (0.24%), 8 cases of mixed type (0.11%) and 2 cases of PIV2 (0.03%). **Conclusion** Seven-respiratory-virus test can identify the pathogens causing acute respiratory infection in children, provide a reasonable diagnostic basis for clinical use, and have guiding significance for the rational use of clinical drugs.

Key words: acute respiratory tract infection; seven-respiratory-virus test; direct immunofluorescence

病毒、细菌和非典型病原体是儿童患者 3 大类主要致病源, 病毒感染是引起儿童呼吸道感染的重要原

* 基金项目: 四川省科技厅重点研发项目(2017SZ0122)。

作者简介: 柳晓琴, 女, 主管技师, 主要从事免疫方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 83069961@qq.com。

本文引用格式: 柳晓琴, 崔亚利, 沈川, 等. 7 360 例呼吸道感染儿童病毒抗原七联检的临床结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40 (12): 1333-1336.

因^[1]。呼吸道病毒的检测可以通过抗原或抗体进行检测鉴定,有资料证实,应用直接荧光免疫方法(DFA)对抗原进行早期检测,可以使患者接受治疗的时间降低 2.5~4 d^[2-3]。不同年龄阶段的患儿对病毒的耐受力不同,免疫器官和组织发育阶段不一致,患儿感染后会有不同程度的症状,尤其是处于婴儿阶段,一旦发病可能危及生命,所以早期明确病毒感染亟待解决^[4-5]。

为了解本地区呼吸道病原体感染的病原学构成和流行病学特征,本研究回顾性收集 2016 年 4 月至 2018 年 3 月期间在四川大学华西第二医院就诊的 7 360 例急性呼吸道感染患儿呼吸道病毒抗原的检测结果,以期为临床医生对这类患者进行早期诊断,治疗及合理用药提供可靠的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2016 年 4 月至 2018 年 3 月在四川大学华西第二医院就诊,经临床确诊为急性呼吸道感染、急性喘息性支气管炎、急性扁桃体炎、急性支气管炎、急性肺炎和急性重症肺炎的疾病,年龄为 0~15 岁的患儿。

1.2 标本采集 根据本科的《标本采集标准程序》要求在患儿平躺或头仰起时,用植绒拭子从鼻孔插入鼻腔,到达鼻咽部来回旋转 2~3 次后迅速抽出拭子放入加有 2 mL 生理盐水的七联检专用离心管中,并立即送检。

1.3 试剂与仪器 7 项呼吸道病毒检测试剂盒(免疫荧光法)为美国 Diagnostic Hybrids, Inc. 公司的产品。检测项目包括流感病毒 A 型(Flu A)、流感病毒 B 型(Flu B)、副流感病毒 1 型(PIV1)、副流感病毒 2 型(PIV2)、副流感病毒 3 型(PIV3)、呼吸道合胞病毒(RSV)、腺病毒(ADV)。2016 年 4 月至 2018 年 3 月期间,所使用的批号分别为 7R111715B、7R030916D、085046、092922、105269 和 114347,新批号启用前,均按照 ISO15189 要求做新旧批号标本比对,阴阳性结果均一致。采用奥林巴斯 BX43 LED 荧光显微镜观察结果。

1.4 操作方法

1.4.1 样本处理 将植绒拭子样本在旋涡混匀器上剧烈涡旋混匀约 30 d,见浑浊后去掉植绒拭子,离心 2 000 r/min,10 min,弃去上清液(留 400~500 μL),吸管吹打混匀,形成混浊的细胞悬浮液。

1.4.2 样本制片 每份样本在 8 孔的载玻片上,每孔中分别加入 25 μL 样本悬浮液。在电吹风冷风下风干 10~15 min 至干燥后浸没在冷丙酮中固定 10 min,取出晾干。

1.4.3 样本反应 每份样本的 1 孔到 7 孔分别加 D3

试剂(Flu A、Flu B、PIV1、PIV2、PIV3、RSV、ADV) 25 μL,必须完全覆盖待测样本,将载玻片放在湿盒中置于 37 ℃ 水浴箱,孵育 15~30 min,取出载玻片用 PBS 冲洗 1 遍,后浸没在 PBS 中洗 2 遍。

1.4.4 样本观察 在载玻片中央加 1 滴封闭液,盖上盖玻片,荧光显微镜下观察。

1.4.5 结果判断 荧光显微镜下显示苹果绿荧光的细胞为阳性细胞,而被 Evans 蓝染成红色的细胞为阴性细胞。当放大倍数为 200 倍时,在视野中找到≥2 个阳性细胞,判为标本阳性。阴性对照/阳性对照处理同样本处理流程。合格的样本要求在放大倍数为 200 倍下,每个视野至少有 2 个上皮细胞。阴性结果为至少含有 20 个柱状上皮细胞的样本中无荧光染色。如果样本中上皮细胞数量少于 20 个则为样本不合格,应重新采样再进行检测。

1.5 统计学处理 所有数据采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析处理,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 呼吸道病毒总检出率 7 360 例急性呼吸道感染标本中,783 例标本呼吸道病毒抗原检测结果呈阳性,阳性率为 10.64%(783/7 360),其中 2 项同时有阳性结果的 8 例,以 RSV 合并感染最常见,占总阳性标本的 0.11%;阳性率最高的是 RSV(7.40%),其次为 PIV3(1.45%),ADV(0.84%),Flu B(0.34%),Flu A(0.33%),PIV1(0.24%)和 PIV2(0.03%)。结果见表 1。在 7 360 例患儿检测结果中,按年龄分为 3 组:婴儿组(≤1 岁),幼儿组(1~3 岁),学龄后组(≥3 岁)。不同年龄组患儿呼吸道病毒阳性率见表 2。多组样本间呼吸道七联检用 χ^2 检验,由表 2 结果可知,婴儿组与幼儿组病毒检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=120.89, P<0.001$);幼儿组与学龄后组病毒检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=34.72, P<0.001$);婴儿组与学龄后组病毒检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=280.44, P<0.001$)。

表 1 7 项呼吸道病毒检测结果

病毒	PIV1	PIV2	PIV3	RSV	Flu B	ADV	Flu A
阳性(n)	18	2	107	545	25	62	24
阳性率(%)	0.24	0.03	1.45	7.40	0.34	0.84	0.33

2.2 不同季节患儿呼吸道病毒发病率 此次统计得出,男性患儿 4 288 例,发病患儿阳性率占 11.22%,其中,女性患儿 3 072 例,发病患儿阳性率占 9.83%。男性与女性患儿检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2=7.705, P>0.05$)。按四季发病率统计,春季发病患儿 2 328 例,患儿阳性率占 14.05%;夏季发病患

儿 1 695 例, 患儿阳性率占 4. 72%; 秋季发病患儿 1 449 例, 患儿阳性率占 5. 31%; 冬季发病患儿 1 888 例, 患儿阳性率占 16. 37%。春季与夏季检出率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=105. 933, P<0. 001$); 秋季与

冬季检出率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=114. 824, P<0. 001$); 秋季与冬季检出率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=105. 933, P<0. 001$); 春季与冬季检出率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=29. 851, P<0. 001$)。

表 2 不同年龄组患儿呼吸道病毒检测结果

组别	n	阳性(阳性率)[n(%)]							合计
		PIV1	PIV2	PIV3	RSV	Flu B	ADV	Flu A	
婴儿组	3 835	7(0. 18)	1(0. 03)	84(2. 19)	444(11. 58)	5(0. 16)	8(0. 21)	6(0. 13)	555(14. 17)
幼儿组	2 139	8(0. 37)	1(0. 05)	21(0. 98)	89(4. 16)	8(0. 47)	33(1. 54)	10(0. 37)	170(7. 95)
学龄后组	1 386	3(0. 22)	0(0. 00)	2(0. 14)	12(0. 87)	12(0. 58)	21(1. 52)	8(0. 87)	58(4. 18)

表 3 不同季节患儿呼吸道病毒发病率

季节	n	PIV1 (n)	PIV2 (n)	PIV3 (n)	RSV (n)	Flu B (n)	ADV (n)	Flu A (n)	阳性率 (%)
春季	2 328	4	0	17	244	18	23	21	14. 05
夏季	1 695	8	0	33	26	4	8	1	4. 72
秋季	1 449	3	0	37	23	0	14	0	5. 31
冬季	1 888	3	2	20	262	3	17	2	16. 37

3 讨 论

引起呼吸道感染的病原体种类繁多, 导致呼吸道感染病情复杂, 临床症状多样^[6]。因此, 对于引起呼吸道感染的呼吸道病原体的准确诊断变得十分重要, 应及早干预、诊断与治疗, 以降低其发病率及病死率^[7-8]。这不仅对感染患者的健康恢复有重要的价值, 另一方面, 尽早发现疑似病例, 快速确认病原体, 有利于对病原体流行爆发的控制, 以避免危及更广泛的人群, 也可为流行病学调查、疾病治疗及疫情防治提供强有力的支持^[6, 9]。

急性呼吸道感染中 80% 由呼吸道病毒引起, 研究表明呼吸道病毒七联检是检测小儿呼吸道病毒感染的有效手段^[10-11]。近年来, 有研究表明婴幼儿急性肺炎是我国住院患儿死亡的主要原因之一^[12], 每年因呼吸道感染病死的儿童占患儿死亡人数的 20% 左右, 严重影响着儿童的身体健康^[13-14]。儿童呼吸道的感染与病原体、年龄、饮食、心理及儿童所在的地区差异有关, 其中病原体因素占主导地位。随着科技的发展, 抗菌药物的生产随之增多, 临床上的抗菌药物得到广泛应用, 呼吸道感染有所降低, 但其他病原体感染却有上升之势^[15-16]。钱熊杰等^[17]的研究表明, 儿童急性呼吸道感染中, 上呼吸道感染主要由病毒引起(53. 78%)。

本研究结果显示, 7 360 例急性呼吸道感染患儿标本中, 有 783 例呼吸道病毒检测结果呈阳性, 阳性

率达 10. 64%。阳性率由高到低依次为 RSV、PIV3、ADV、Flu B、Flu A、PIV1、PIV2, 这与 FEARNs 等^[18]报道的结果是一致的。在年龄分组结果中, 婴儿组患儿检出阳性率远高于幼儿组和学龄后组, 这提示临床医生婴儿呼吸道病毒感染的概率高于幼儿和学龄后儿童, 进一步提示这类患儿就诊时可以进行早期呼吸道病原体筛查。春季和冬季 7 项呼吸道病毒感染的检出率远高于夏季和秋季, 这与赖伟兰等^[19]得出的结论一致。本研究结果发现, 急性呼吸道感染情况受年龄和季节的影响较大, 并表现出各年龄段儿童的感染率不同。鉴于近年来 RSV 感染明显增多, 每个地区一年四季均可发病, 常引起严重的呼吸道疾病, 所以在临床上不容忽视^[20]。流感病毒感染发生高峰在北半球一般是从 11 月至来年 4 月, 腺病毒出现在深冬到夏初, RSV 通常是在冬天到早春, 持续 5 个月流行, 副流感病毒爆发会持续 1 年。

通过检测呼吸道病毒抗原可有效发现疫情的暴发流行, 早期进行呼吸道病毒七联检可以及时有效地筛查出患儿所感染病毒种类, 监测患儿病情, 指导临床合理的用药, 为做好婴幼儿的预防及医院储备相关药品等起到一定提示作用, 进而为婴幼儿急性呼吸道感染治疗的相关探索研究提供流行病学依据。但是, 该检测方法存在一定局限性, 如标本采集质量不合格易发生漏检, 且检测结果未经核酸检测验证, 可能出现假阳性。尽管如此, 该方法相较于核酸检测对人员及设备要求均不高, 且成本较低, 可广泛适用于基层医院开展。早期诊断对使用抗病毒药物治疗、缓解流感症状、缩短病程、降低并发症发生率、缩短排毒时间、降低病死率有积极作用, 在流行期间, 预防性使用抗病毒药物可能降低患病率, 节省患者开支和医院资源。

4 结 论

呼吸道病原体的准确检测对呼吸道感染的早期诊断、干预及治疗具有重要的指导意义。急性呼吸道

感染情况受年龄和季节影响大。呼吸道病毒七联检是检测小儿呼吸道病毒感染的有效手段。

参考文献

- [1] 薛辛东. 儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:291.
- [2] FENDRICK A M, MONTO A S, NIGHTENGALE B, et al. The economic burden of non-influenza-related viral respiratory tract infection in the United States[J]. Arch Intern Med, 2003, 163(4):487-494.
- [3] MOESKER F M, VAN KAMPEN J J, ARON G, et al. Diagnostic performance of influenza viruses and RSV rapid antigen detection tests in children in tertiary care[J]. J Clin Virol, 2016, 79(8):12-17.
- [4] CHEN L, TIAN Y, CHEN S, et al. Performance of the Cobas® Influenza A/B assay for rapid pcr-based detection of influenza compared to prodesse ProFlu+ and viral culture[J]. Eur J Microbiol Immunol, 2015, 5(4):236-245.
- [5] SHOJAEI T R, TABATABAEI M, SHAWKY S, et al. A review on emerging diagnostic assay for viral detection: the case of avian influenza virus[J]. Mol Biol Rep, 2015, 42(1):187-199.
- [6] HUANG Y, HUA J, WANG D, et al. Risk factors of respiratory syncytial virus infection among pediatric influenzalike illness and severe acute respiratory infections in Suzhou, China[J]. J Med Virol, 2017, 90(3):397-404.
- [7] KARPPINEN S, TOIVONEN L, SCHUEZ H L, et al. Interference between respiratory syncytial virus and rhinovirus in respiratory tract infections in children[J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(2):208. e1-208. e6.
- [8] KOLAWOLE O, OGUNTOYE M, DAM T, et al. Etiology of respiratory tract infections in the community and clinic in Ilorin, Nigeria[J]. BMC Res Notes, 2017, 10(1):712.
- [9] GIAMBERARDIN H I, HOMSANI S, BRICKS L F, et al. Clinical and epidemiological features of respiratory virus infections in preschool children over two consecutive influenza seasons in southern Brazil[J]. J Med Virol, 2016, 88(8):1325-1333.
- [10] 韩晓华, 刘立云, 敬宏, 等. 小儿肺炎支原体肺炎合并全身炎性反应综合征时炎性相关因素的变化及临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2007, 9(4):347.
- [11] 罗均彪, 儿童呼吸道病毒感染 1288 例七联病毒检测结果临床分析[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(21):3238-3240.
- [12] WANG H, ZHENG Y, DENG J, et al. Prevalence of respiratory viruses among children hospitalized from respiratory infections in Shenzhen, China [J]. Virol J, 2016, 13(1):39.
- [13] 王倩, 杜永刚. 儿童呼吸道病毒感染发病特点及影响因素[J]. 基层医学论坛, 2015, 16(15):2083-2084.
- [14] TAYLORS, LOPEZ P, WECKX L, et al. Respiratory viruses and influenza-like illness: epidemiology and outcomes in children aged 6 months to 10 years in a multi-country population sample[J]. J Infect, 2017, 74(1):29-41.
- [15] 武悦, 张洪珠. 对儿童肺炎支原体特异性抗体的实验室检测及方法学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(2):116.
- [16] 王梅. 小儿急性呼吸道感染的病原学研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2003, 11(2):117-118.
- [17] 钱雄杰, 沈昊. 急性呼吸道感染患儿呼吸道病毒检测结果临床分析[J]. 吉林医学, 2013, 34(19):3808-3809.
- [18] FEARNES R, DEVAL J. New antiviral approaches for respiratory syncytial virus and other mononegaviruses: Inhibiting the RNA polymerase[J]. Antiviral Res, 2016, 134(6):63-76.
- [19] 赖伟兰, 陈亚军. 2162 例婴幼儿急性呼吸道感染病毒抗原的诊断意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 4(14):1119-1121.
- [20] 张拓慧, 赵林清. 人呼吸道合胞病毒的流行病学研究进展[J]. 病毒学报, 2017, 33(6):938-943.

(收稿日期:2018-12-20 修回日期:2019-02-27)

(上接第 1332 页)

- 中的作用[J]. 岭南现代临床外科, 2017, 4(4):400-403.
- [8] XU X J, ZHANG Y L, LIU L, et al. Increased expression of nerve growth factor correlates with visceral hypersensitivity and impaired gut barrier function in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome: a preliminary explorative study[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2017, 45(1):100-114.
- [9] 崔心尧, 王继中. 抑郁症人群肠道微生物群落结构与功能探讨[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 10(10):1145-1147, 1151.
- [10] 高金生, 时志民, 韩转叶, 等. 肝硬化肠黏膜屏障损伤患者血浆 D-乳酸、二胺氧化酶及内毒素的变化[J]. 临床荟萃, 2009, 24(3):219-221.
- [11] 罗科学, 王钦贤, 陈富兴, 等. 长期夜班工作医护人员肠道菌群结构的变化[J]. 中国现代医生, 2017, 28(28):126-129.

(收稿日期:2018-11-14 修回日期:2019-01-25)