

# 909 例儿童急性呼吸道感染病原体 RNA 检测结果分析

赵光华, 李炜焯, 陈展泽, 梁权辉, 朱嫦林

佛山市第一人民医院检验科, 广东 佛山 528000

**【摘要】** 目的 分析我院急性呼吸道患儿病原体感染的检测情况,为临床诊疗及防治提供依据。方法 采集佛山市第一人民医院 2016 年 8 月至 2017 年 9 月儿科收治的 909 例急性呼吸道感染住院患儿咽拭子标本,采用双扩增技术(DAT)技术进行呼吸道合胞病毒(RSV)、副流感病毒(PIV)、腺病毒(ADV)、肺炎支原体(MP)和肺炎衣原体(CP)五种病原体 RNA 检测。结果 909 例标本总阳性率为 38.28%,病原体检出率依次为 RSV 16.61%、MP 11.11%、PIV 8.69%、ADV 3.96%和 CP 0.99%,其中混合感染率为 2.64%;冬季病原体阳性率最高 48.94%,四季间病原体阳性率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );肺炎患儿病原体阳性率最高(43.00%),其次支气管炎(37.40%),不同疾病间阳性率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );不同性别及不同年龄段病原体阳性率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但 RSV 和 PIV 感染率随患儿年龄增长而下降,MP 检出率随患儿年龄增长显著升高。结论 本院儿童急性呼吸道感染病原体以 RSV 为主,MP 和 PIV 次之,存在混合感染,呈现季节性,不同年龄、不同疾病感染病原体有所差异。

**【关键词】** 急性呼吸道感染;流行病学;呼吸道病原体;RNA 检测;儿童

**【中图分类号】** R725.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)06-0744-04

**Detection and analysis of pathogen RNA in 909 children with acute respiratory tract infection.** ZHAO Guang-hua, LI Wei-xuan, CHEN Zhan-ze, LIANG Quan-hui, ZHU Chang-lin. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, Guangdong, CHINA

**【Abstract】 Objective** To analyze the detection of pathogens in children with acute respiratory tract infection in the First People's Hospital of Foshan, so as to provide an important basis for the prevention, diagnosis and treatment. **Methods** Pharyngeal swabs were collected from 909 children with acute respiratory tract infection admitted to the Department of Pediatrics, the First People's Hospital of Foshan from August 2016 to September 2017, and five pathogens RNA of respiratory syncytial virus (RSV), parainfluenza virus (PIV), adenovirus (ADV), Mycoplasma pneumoniae (MP), and Chlamydia pneumoniae (CP) were detected by Dual Amplification Technology (DAT). **Results** The total positive detection rate of 909 specimens was 38.28%; the detection rate of RSV, MP, PIV, ADV, and CP were 16.61%, 11.11%, 8.69%, 3.96%, 0.99%, respectively; the mixed infection rate was 2.64%. The detection rate was the highest in winter (which was 48.94%), and there were statistically significant difference among the four seasons ( $P<0.05$ ). The detection rate of pathogens was the highest in pneumonia (43.00%), followed by bronchitis (37.40%), with statistically significant difference among different diseases ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the positive detection rate between males and females, as well as among different age groups, but the infection rate of RSV and PIV decreased with

通讯作者:李炜焯,E-mail:lwxxuan@fsyy.com

\*\*\*\*\*

vere hyperhomocysteinemia manifesting as moyamoya vasculopathy and Henoch-Schonlein purpura [J]. Neurology, 2019, 92(23): 1120.

[8] 黄鑫,段勇威,鲍腾飞. 武汉地区 3287 例腹泻儿童 A 群轮状病毒感染情况分析[J]. 海南医学, 2018, 29(15): 2115-2117.

[9] 刁连东,汤奋扬,吴疆,等. 中国轮状病毒感染性腹泻免疫预防进展[J]. 中国疫苗和免疫, 2018, 24(4): 492-498.

[10] 乔英琴,莫运波,余洁,等. 5 岁以下儿童轮状病毒腹泻流行病学特征分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2018, 33(6): 453-456.

[11] 王新荣,刘亚丽,汪运鹏,等. 2016 年婴幼儿轮状病毒腹泻感染特征分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(2): 189-191, 195.

[12] ATAEEPOUR M, MONAJEMZADEH M, SADEGHI P, et al. Direct immunofluorescence results of the skin biopsy and frequency of systemic involvement in children with henoch-schonlein purpura [J]. Fetal Pediatr Pathol, 2019, 38(2): 57-58.

[13] 胡莉,王燕. 小儿急性腹泻流行病学的病原学调查[J]. 海南医学院学报, 2017, 22(19): 2339-2342.

[14] 宋文君,曹巧玲. 轮状病毒感染性脓毒症患儿血清 CRP、免疫球蛋白水平变化及其与心肌酶谱的相关性研究[J]. 海南医学, 2015, 26(7): 958-960.

[15] 李瑛. 小儿轮状病毒肠炎流行病学特点及医院感染控制[J]. 现代预防医学, 2016, 41(8): 1506-1507.

[16] 张卫国,唐芳,陈德平,等. 轮状病毒感染性脓毒症患儿血清降钙素原、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 水平变化的意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2018, 27(6): 421-423.

[17] 陈丽君. 小儿轮状病毒肠炎致肠道外损害 96 例临床分析[J]. 苏州大学学报(医学版), 2017, 31(6): 1024-1025.

[18] 张健. 432 例小儿轮状病毒肠炎临床分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 26(4): 640.

[19] 李爱娟,张传飞,庞佩芬,等. A 群轮状病毒患儿肌酸磷酸激酶、超敏 C 反应蛋白等结果的变化[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 20(1): 50-52.

[20] ROMAN C, DIMA B, MUYSHONT L, et al. Indications and efficiency of dapsone in IgA vasculitis (Henoch-Schonlein purpura): case series and a review of the literature [J]. Eur J Pediatr, 2019, 27(14): 1017-1020.

(收稿日期:2019-11-20)

age and the detection rate of MP significantly increased with age. **Conclusion** The pathogens of acute respiratory tract infection in children in the hospital were mainly RSV, followed by MP and PIV, with mixed infection and seasonal appearance. The pathogens of acute respiratory tract infection were different in different ages and diseases.

**【Key words】** Acute respiratory tract infection; Epidemiology; Respiratory pathogens; RNA detection; Children

急性呼吸道感染是儿科常见疾病之一,具有感染力强、传播快、潜伏期短、发病急等特点,威胁儿童健康。研究表明,95%的急性呼吸道疾病由细胞外的病原感染引起,以呼吸道病毒和肺炎支原体等非典型病原体为主<sup>[1]</sup>。在呼吸道感染的临床检测中,主要是基于免疫学方法的抗原或者抗体检测,而免疫学方法灵敏度和特异性不足,且抗体检测窗口期长,易受患儿病程、年龄和免疫状态的影响,出现假阴或假阳性结果<sup>[2]</sup>。近年来,核酸检测技术因其较高的诊断特异敏感性的优点,被逐渐应用于临床早期诊断<sup>[3]</sup>,但目前国内呼吸道病原体检测技术主要基于DNA靶标,无法有效鉴别感染后的携带状态和现症感染,且DNA检测易引发实验室内交叉感染,对检测环境要求较高<sup>[4-7]</sup>。双扩增技术(dual amplification technology, DAT)作为一种新型的分子诊断技术,以病原体特异的RNA为靶标,多生物素分子对待检测病原体RNA分子进行信号放大,实现病原体RNA的快速检测。本研究采用DAT对我院近年来因急性呼吸道感染收治入院的患儿进行呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、副流感病毒1/2/3 (parainfluenza virus, PIV 1/2/3)、腺病毒B/E (adenovirus, ADV B/E)、肺炎支原体(mycoplasma pneumonia, MP)和肺炎衣原体(chlamydia pneumoniae, CP)检测,以了解其病原体感染状况,为临床防治提供依据。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年8月至2017年9月佛山市第一人民医院因急性呼吸道感染住院的患儿909例,其中男性567例,女性342例;患儿年龄0~14岁;上呼吸道感染130例,支气管炎123例,肺炎600例,其他56例。诊断标准参照第八版《诸福棠实用儿科学》<sup>[8]</sup>。

### 1.2 方法

1.2.1 标本采集 患儿入院的当天或次日,由专职医护人员用一次性咽拭子迅速擦拭患者两侧腭弓、咽及扁桃体。将拭子插入装有1 mL 1×PBS缓冲液或生理盐水的采集管中,折断并弃去咽拭子尾部,旋紧管盖,注明标本采集时间并及时处理送检。未检测样本可以在4℃存放72 h。

1.2.2 检测方法 呼吸道病原体检测采用DAT检测咽拭子采集的脱落细胞中的呼吸道病原体RNA。试剂盒为三项呼吸道病毒核酸检测试剂盒(双扩增法)和肺炎支原体/肺炎衣原体核酸检测试剂盒(双扩增法)(购自武汉中帜生物科技股份有限公司),操作

过程严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 应用SPSS22.0统计软件进行数据统计学分析,计数资料用百分比表示,采用 $\chi^2$ 检验进行比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 病原体检出情况 对909例送检标本进行RSV、PIV、ADV、MP和CP 5种病原体RNA检测,阳性标本348例,总阳性率为38.28%。其中RSV阳性率最高,为16.61% (151/909),其次是MP阳性率为11.11% (101/909),PIV、ADV、CP阳性率分别为8.69%、3.96%和0.99%。909例标本中混合感染24例(2.64%, 24/909),其中两种病原体混合感染20例(2.20%, 20/909),三种病原体混合感染4例(0.44%, 4/909);病毒混合感染8例(0.88%, 8/909),病毒和非典型性病原体感染16例(1.76%, 16/909),见表1。

表1 909例呼吸道病原体混合感染情况(n=909)

病原体类型	阳性例数	阳性率(%)
RSV+PIV	5	0.55
PIV+MP	4	0.44
RSV+MP	3	0.33
ADV+MP	3	0.33
RSV+ADV	1	0.11
RSV+CP	1	0.11
ADV+MP	1	0.11
PIV+ADV	1	0.11
PIV+CP	1	0.11
RSV+PIV+ADV	1	0.11
RSV+ADV+CP	1	0.11
ADV+MP+CP	1	0.11
PIV+ADV+MP	1	0.11

2.2 病原体感染与性别的关系 男性患儿病原体检出率为41.98% (238/567),女性患儿病原体检出率为40.35% (138/342),两者比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.17, P > 0.05$ ),见表2。

表2 不同性别呼吸道病原体RNA检出情况比较[例(%)]

病原体类型	例数	RSV	PIV	ADV	MP	CP
男	567	100 (17.64)	48 (8.47)	21 (3.70)	62 (10.93)	7 (1.23)
女	342	51 (14.91)	31 (9.06)	15 (4.39)	39 (11.40)	2 (0.58)
$\chi^2$ 值		1.14	0.1	0.26	0.05	0.92
P值		0.29	0.76	0.61	0.83	0.34

2.3 病原体感染与年龄的关系 将送检标本按年龄大小分为0~<1岁、1~<3岁、3~<6岁、≥6岁四个年龄组,阳性率分别为41.83% (146/349)、45.09% (124/

275)、36.76% (75/204) 和 38.27% (31/81), 不同年龄组间比较差异无统计学意义( $\chi^2=1.05, P>0.05$ ), 但 RSV、PIV、ADV 和 MP 四种病原体的阳性率在不同年龄组间比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。RSV 和 PIV 感染率随患儿年龄增长而下降, 0~<1 岁组检出率最高, 分别为 24.07% 和 11.17%。ADV 在 3~<6 岁组检出率最高(7.35%), 在 0~<1 岁组最低(0.86%)。MP 检出率随患儿年龄增长显著升高, 6 岁以上儿童检出率达 30.86%, 见表 3。

表 3 不同年龄呼吸道病原体 RNA 检出情况比较[例(%)]

病原体类型	例数	RSV	PIV	ADV	MP	CP
0~<1 岁	349	84 (24.07)	39 (11.17)	3 (0.86)	16 (4.58)	4 (1.15)
1~<3 岁	275	46 (16.73)	27 (9.82)	16 (5.82)	32 (11.64)	3 (1.09)
3~<6 岁	204	18 (8.82)	13 (6.37)	15 (7.35)	28 (13.73)	1 (0.49)
≥6 岁	81	3 (3.70)	0 (0)	2 (2.47)	25 (30.86)	1 (1.23)
$\chi^2$ 值		32.69	12.25	17.96	48.54	0.68
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.88

2.4 病原体感染与季节的关系 春(3、4、5月)、夏(6、7、8月)、秋(9、10、11月)和冬(12、1、2月)四季五种病原体检出率逐渐升高, 分别为 31.84% (57/179)、33.51% (63/188)、43.02% (111/258) 和 51.06% (145/284), 四季间病原体检出率比较差异有统计学意义( $\chi^2=25.13, P<0.05$ )。RSV 四季间的检出率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 其中秋冬季节检出率明显高于春夏季节, 其中冬季检出率最高(29.58%); ADV 四季间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 其中夏季和冬季高于春季和秋季。PIV、MP 和 CP 四季间的检出率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 见表 4。

表 4 不同季节呼吸道病原体 RNA 检出情况比较[例(%)]

病原体类型	例数	RSV	PIV	ADV	MP	CP
春季	179	16 (8.94)	22 (12.29)	3 (1.68)	12 (6.70)	4 (2.23)
夏季	188	13 (6.91)	15 (7.98)	13 (6.91)	20 (10.64)	2 (1.06)
秋季	258	38 (14.73)	25 (9.69)	7 (2.71)	39 (15.12)	2 (0.78)
冬季	284	84 (29.58)	17 (5.99)	13 (4.58)	30 (10.56)	1 (0.35)
$\chi^2$ 值		55.5	5.99	8.11	7.84	4.14
P 值		<0.05	0.11	<0.05	0.05	0.25

2.5 病原体感染与疾病的关系 909 例患儿中, 肺炎患儿高达 66.01% (600/909), 上呼吸道感染患儿和支气管炎患儿相当, 分别为 14.30% (130/909) 和 13.53% (123/909)。五种病原体在肺炎患儿中检出率最高, 为 43.00% (258/600), 其次为支气管炎 39.84% (49/123), 均高于上呼吸道感染 25.38% (33/130) 的检出率, 在发热待查等其他疑似呼吸道感染的患儿当中五种病原体的检出率占 23.21% (13/56)。五种病原体在不同疾病中的检出率比较差异有统计学意义( $\chi^2=22.70, P<0.05$ ), 见表 5。

表 5 不同疾病呼吸道病原体 RNA 检出情况比较[例(%)]

病原体类型	例数	RSV	PIV	ADV	MP	CP
上感	130	6 (4.62)	9 (6.92)	11 (8.46)	7 (5.38)	0 (0)
支气管炎	123	18 (14.63)	14 (11.38)	4 (3.25)	11 (8.94)	2 (1.63)
肺炎	600	126 (21.00)	51 (8.50)	19 (3.17)	79 (13.17)	6 (1.00)
其他	56	1 (1.79)	5 (8.93)	2 (3.57)	4 (7.14)	1 (1.79)
$\chi^2$ 值		31.08	1.67	8.1	8.36	2.17
P 值		<0.05	0.64	<0.05	<0.05	0.54

### 3 讨论

急性呼吸道感染是儿童常见病、多发病。造成呼吸道感染的病原体种类繁多, 常见的有病毒、细菌以及 MP、CP 等非典型病原体。不同病原体感染后患儿临床症状相似, 随着抗菌药物广泛应用其占比亦会出现不同变化, 因此, 应用呼吸道病原学鉴别诊断技术辅助临床诊治, 避免抗生素滥用显得尤为重要。

本研究应用 DAT 新型 RNA 多联检技术对常见的病原体进行检测, 分析 2016 年 8 月至 2017 年 9 月因急性呼吸道感染在佛山市第一人民医院儿科就诊入院的 909 例 0~14 岁儿童病原体感染情况。其中病毒以 RSV 检出率最高, 达 16.61%, 这与相关的研究<sup>[9-12]</sup>结果相一致, 但 RSV 检出率有所差别, 分析可能跟地区、气候等不同有一定相关性。非典型病原体以 MP 感染为主<sup>[13-15]</sup>, 检出率为 11.11%, 与以往抗体检测报道结果接近, 但 MP 抗体检出率显著高于 MP RNA。本研究中检测的 MP RNA 是病原体繁殖过程中的转录 RNA, 病原体死亡之后随之降解, 因此 RNA 阳性可提示现症感染, 而 MP 抗体产生后可在人体内存在 1~3 个月以上<sup>[16]</sup>, 既往感染亦可为阳性。因此, MP 抗体检出率较 MP RNA 高可能与此有一定相关性。

本研究中 RSV 和 PIV 感染率随患儿年龄增长而下降, 0~<1 岁组检出率最高, RSV 为 24.07%、PIV 为 11.17%, 与文献报道儿童急性呼吸道感染病毒感染率随年龄增长而降低的结论一致<sup>[10]</sup>。MP 检出率随患儿年龄增长显著升高<sup>[10, 13]</sup>, 6 岁以上儿童检出率达 30.86%, 与尹向飞等<sup>[17]</sup>的研究在趋势和阳性率均表现类同, 推测因为学龄儿童集中在人口密度相对较高的学校, 为交叉感染和局部暴发流行提供了机会。

本研究中五种病原体在冬季检出率最高, 达 51.06%。呼吸道病毒以 RSV 感染为主, RSV 秋冬季节检出率明显高于春夏季节, 这与以往报道相一致<sup>[10, 12]</sup>。MP 感染无明显季节性, 而以往报道显示患儿 MP 感染春冬两季感染率显著高于夏秋两季, 推测地域不同导致气候不同, 从而使呼吸道病原体感染率及感染高峰期不同<sup>[18-19]</sup>。

本研究中肺炎患儿的五种病原体检出率最高 (43.00%), 其次为支气管肺炎 (39.84%), 这与李云等<sup>[20]</sup>



研究结果相一致,肺炎和支气管炎五种病原体检出率明显高于上呼吸道感染(25.38%)。孙云<sup>[21]</sup>研究结果也显示,儿童下呼吸道感染中病毒感染居多,RSV为主要病毒病原;非典型病原体中以MP感染为主。因此可以看出,病毒及非典型性病原在下呼吸道感染中的重要性,提示临床要重视下呼吸道感染患儿的病毒和非典型性病原体检测,以加强合理用药,避免抗菌药物的滥用。

综上所述,基于DAT可针对临床常见的呼吸道病原体RNA进行早期、多重鉴别诊断,同时阳性结果可提示现症感染,与既往感染相区分,不仅为临床诊疗提供可靠依据,还可避免抗菌药物的滥用。本研究对佛山地区住院儿童常见呼吸道感染病原体谱进行梳理剖析,为今后病原体监测、预防及流行病学研究提供参考数据。由于本研究具有季节性,检测的病原体也不足,如鼻病毒等常见病毒未作检测,可在后面的研究中进一步纳入,为日后临床诊断提供更多病原体参考依据。

#### 参考文献

- [1] LIU WK, LIU Q, CHEN DH, et al. Epidemiology of acute respiratory infections in children in Guangzhou: a three-year study [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96674.
- [2] SAWATWONG P, CHITTAPANITCH M, HALL H, et al. Serology as an adjunct to polymerase chain reaction assays for surveillance of acute respiratory virus infections [J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(3): 445-446.
- [3] BUSSON L, BARTIAUX M, BRAHIM S, et al. Prospective evaluation of diagnostic tools for respiratory viruses in children and adults [J]. J Virol Methods, 2019, 266: 1-6.
- [4] 贺尔娜,蔡挺,张顺. NASBA技术在致病菌检测中的应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33(4): 310-314.
- [5] 周航宇. 等温扩增技术在儿童肺炎中四种常见呼吸道病毒检测中的临床应用与评价[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2017.
- [6] 李文桂,陈雅棠. 环介导等温扩增技术用于消化道和呼吸道病毒检测的研究进展[J]. 重庆医学, 2014, 43(20): 2662-2665.
- [7] NILSSON AC, BJRKMAN P, PERSSON K. Polymerase chain reaction is superior to serology for the diagnosis of acute Mycoplasma pneumoniae infection and reveals a high rate of persistent infection [J]. BMC Microbiol, 2008, 8: 93.
- [8] 江载芳,申昆玲,沈颖. 诸福棠实用儿科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 165-166.
- [9] O'BRIEN KL, BAGGETT HC, BROOKS WA, et al. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study [J]. Lancet, 2019, 394(10200): 757-779.
- [10] 李权恒,高文杰,李金英,等. 5150例急性下呼吸道感染儿童呼吸道病毒检测结果分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(1): 51-54.
- [11] 周丹,王宇清. 2013-2015年苏州地区儿童呼吸道鼻病毒感染的流行病学特点与气候因素的相关性研究[J]. 儿科药学杂志, 2018, 24(8): 8-11.
- [12] 吴迪,胡宇芳,刘琼,等. 呼吸道感染患儿咽拭子病毒检测分析[J]. 中国感染控制杂志, 2015, 14(3): 166-169.
- [13] MARCOS PJ, RESTREPO MI, ANZUETO A. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization [J]. New Eng J Med, 2015, 372(9): 835.
- [14] 裴雅琴. 急性呼吸道感染患儿248例病原体的检测结果及流行病学特点分析[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(4): 719-721.
- [15] 赖科峰,连距飞,陈柳青,等. 广州地区12359例急性呼吸道感染儿童呼吸道9项病原体检测结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(13): 2996-2999.
- [16] SPUESENS EB, FRAAIJ PL, VISSER EG, et al. Carriage of mycoplasma pneumoniae in the upper respiratory tract of symptomatic and asymptomatic children [J]. PLoS Med, 2013, 10(5): e1001444.
- [17] 尹向飞,连建谦,洪求义,等. 小儿肺炎支原体抗体检测结果分析[J]. 福建医药杂志, 2014, 36(3): 85-88.
- [18] 吴俊英,张晓群,吴芝兰. 门诊患儿肺炎支原体感染的监测分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(11): 2826-2828.
- [19] 章建伟,王卓英,钟永兴. 3788例0~5岁婴幼儿急性呼吸道肺炎支原体感染分析[J]. 中华全科医学, 2015, 13(2): 175-177.
- [20] 李云,李雪梅,王澜,等. 645例急性呼吸道感染病毒病原检测分析[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2017, 37(5): 50-54.
- [21] 孙云. 银川地区儿童急性下呼吸道感染病原学研究[J]. 宁夏医学杂志, 2018, 40(2): 148-150.

(收稿日期:2019-08-12)