

· 论 著 ·

深圳地区 2011 ~ 2012 年急性上呼吸道感染鼻病毒检测分析

余光清, 黄运美, 荏静, 雷蕾, 张震文

摘要: 目的 了解深圳地区急性上呼吸道感染患者中的鼻病毒感染状况及流行特征。方法 采用实时荧光定量 PCR 法, 对采集深圳市宝安区人民医院 635 份咽拭子样本进行鼻病毒检测。结果 2011 ~ 2012 年急性上呼吸道感染患者鼻病毒的阳性率为 18.27% (116/635), HRV 感染主要集中在 7 岁以下儿童, 占 64.66% (75/116), 其中幼儿检出率最高, 其次婴儿和学龄前儿童。HRV 主要在春、夏、秋季检出, 冬季检出较少。结论 鼻病毒是深圳地区急性上呼吸道感染患者的主要病原体, 随着季节和年龄的不同而具有一定的流行规律。

关键词: 急性上呼吸道感染; 鼻病毒; 荧光定量 PCR

中图分类号: R373.1 文献标识码: A 文章编号: 1009-9727(2013)5-575-03

Detection and analysis of rhinovirus in acute upper respiratory tract infections in Shenzhen area from 2011 to 2012. YU Guang-qing, HUANG Yun-mei, CHI Jing et al. (*Bao'an District Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518101, Guangdong P. R. China*)

Abstract: Objective To investigate the epidemiological features of the human rhinovirus (HRV) in acute upper respiratory tract infections in Shenzhen. Methods Rhinovirus was detected in 635 clinical swabs by real-time fluorescent quantitative PCR. Results The positive rate of HRV was 18.27% (116/635), most cases (64.66%) were under 7 years old, the detection rate of human rhinovirus in young child was higher, followed by infants and preschool child. The infection rate of human rhinovirus in Spring, Summer and Autumn was significantly higher than that in Winter. Conclusions Human rhinovirus is one of the most important pathogens for acute upper respiratory tract infection in Shenzhen area, showing seasonal features and mainly infect children under 7 years old.

Key words: Acute upper respiratory tract infections; Human rhinovirus; Fluorescent quantitative PCR;

病毒是引起急性上呼吸道感染的重要病原微生物之一^[1], 但引起上呼吸道感染的病毒种类繁多, 临床表现又缺乏特异性, 临床上往往难以作出病原学诊断, 这给呼吸道传染病的预防控制工作带来一定的困难。以往的病原学监测工作中发现, 鼻病毒是深圳地区急性上呼吸道感染的最常见病原体^[2]。人鼻病毒(human rhinovirus, HRV)属于小核糖核酸病毒科肠道病毒属, 是小核糖核酸病毒家族 9 个种属之一。人鼻病毒可引起急、慢性呼吸道感染, 严重时会引起哮喘、慢性阻塞性肺炎等临床疾病^[3]。HRV 感染后常表现为感冒症状, 大约有 10% ~ 20% 的成年人感冒是由 HRV 感染引起, 而婴幼儿感冒有 15% ~ 30% 是由 HRV 致病^[4]。本研究对 2011 和 2012 年宝安区人民医院就诊的急性上呼吸道感染患者的标本进行了 HRV 检测, 以明确 HRV 在本地区的流行特点及临床特征。

1 材料与方法

1.1 材料 标本来源为收集 2011 年 1 月 ~ 2012 年

12 月在深圳市宝安区人民医院门诊就诊的急性上呼吸道感染患者的咽拭子, 每周采集 5 ~ 10 名患者, 咽拭子放入含 5ml 采样液的采样管中, 4℃ 保存, 48h 之内送到深圳市宝安区疾病预防控制中心微生物实验室进行 HRV 和其他病毒检测。试剂与仪器中核酸提取试剂购自 Roche 公司的 MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit; RT-PCR 试剂购自大连宝生物工程股份有限公司 One Step Prime Script® RT-PCR Kit; 鼻病毒检测的引物的探针均由深圳市疾病预防控制中心惠赠。核酸提取用 MagNA Pure LC 2.0 全自动核酸提取仪, PCR 扩增用仪器为 Roche 公司 LightCycler 480 荧光定量 PCR 仪。

1.2 方法 HRV 检测采取每份样本取 200 μl, 选择程序 Total NA Variable Elution Volume, 洗脱体积设为 100 μl, 按 MagNA Pure LC 2.0 全自动核酸提取仪操作说明进行总核酸提取。然后进行 HRV 的 PCR 扩增, Ct 值小于等于 35.0 判为阳性。

基金项目 深圳市宝安区科技计划项目 (No.2010642)

作者单位 深圳市宝安区疾病预防控制中心 广东 深圳 518101

作者简介 余光清 (1970~), 男, 博士研究生, 主管技师, 主要从事病毒性传染病的检测和应用研究。

1.3 统计学分析 所有数据运用 SPSS 13.0 for Windows 统计软件处理, 率或构成比的比较采用 χ^2 检验 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HRV 检出率 635 例急性上呼吸道感染患者共检测出 HRV RNA 阳性 116 份, 阳性率为 18.27%。其中男性 HRV 检出率为 20.56%(74/360), 女性检出率为 15.27%(42/275), 二者之间差异有统计学意义 ($\chi^2=2.914, P < 0.05$)。

2.2 HRV 感染的年龄分布 HRV 感染者中年龄最小为 4 月, 最大为 45 岁, 中位年龄为 4 岁 5 月。HRV 感染主要集中在 7 岁以下儿童, 占 64.66%(75/116), 各年龄组间 HRV 检出情况见表 1, 其中幼儿检出率最高, 其次婴儿和学龄前儿童, 各年龄组间 HRV 检出率差异有统计学意义 ($\chi^2=2.914, P < 0.05$)。

表 1 不同年龄组的 HRV 检出情况

Table 1 The results of detection of human rhinovirus in different ages

年龄(岁) Age(year)	样本数 No. case	HRV 阳性数 HRV positive number	阳性率 Positive ratio(%)
0~	144	29	20.14
3~	153	46	30.07
7~	68	13	19.12
14~	45	4	8.89
20~	104	16	15.38
30~	77	6	7.79
40~	44	2	4.55
合计 Total	635	116	18.27

2.3 HRV 感染的时间分布 急性上呼吸道感染患者中 1 月份未检出 HRV, 2、3 月份检出相对较低, 4~12 月份检出率维持在 17.39%和 26.32%之间。各季节的 HRV 检出情况见表 2, 不同季节的检出率差异有统计学意义 ($\chi^2=11.028, P < 0.05$)。

表 2 不同季节的 HRV 检出情况

Table 2 The results of detection of human rhinovirus in different seasons

季节 Season	样本数 No. case	HRV 阳性数 HRV positive number	阳性率 Positive ratio(%)
春季 Spring(3~5 月 Month)	157	27	17.20
夏季 Summer(6~8 月 Month)	166	36	21.69
秋季 Autumn(9~11 月 Month)	181	41	22.65
冬季 Winter(12~2 月 Month)	131	12	9.16
合计 Total	635	116	18.27

2.4 HRV 感染的临床特征 116 例 HRV 感染者中 9.48%表现为低热, 50.00%为中度发热, 40.52%为高热。鼻病毒感染者中有 45.69%出现咳嗽, 18.10%出

现全身酸痛, 均低于 HRV 阴性患者(见表 3)。

表 3 鼻病毒感染患者的临床特点

Table 3 Clinical feature of patients of human rhinovirus infection

症状 Symptom	HRV 阳性病例 No. positive HRV positive(%)		HRV 阴性病例 No. negative HRV negative(%)		χ^2	P
	No. positive	HRV positive(%)	No. negative	HRV negative(%)		
发热 Fever					1.799	>0.05
≤38	11	(9.48)	43	(8.29)		
38.1-39.0	58	(50.00)	295	(56.84)		
≥39.1	47	(40.52)	181	(34.87)	6.200	<0.05
咳嗽 Cough	53	(45.69)	303	(58.38)		
咽痛 Pharyngalgia	53	(45.69)	275	(52.99)		
全身酸痛 Muscular stiffness	21	(18.10)	182	(35.07)	29.097	<0.05

2.5 与其他病毒混合感染情况 116 例 HRV 感染者中 19 例合并其他呼吸道病毒感染, 混合感染率为 16.38% 其中包括流感病毒 8 例, 腺病毒 4 例, 副流感病毒 3 例, 冠状病毒 OC43 1 例, 呼吸道合胞病毒 1 例, 肠道病毒 1 例, 还有 1 例同时合并感染腺病毒和冠状病毒 OC43。

3 讨论

国内对儿童急性呼吸道感染病例的 HRV 的检测及分析较多, 而对 HRV 在整个人群中感染情况的了解较少。本研究通过对 2011~2012 年深圳市宝安区人民医院门诊就诊的急性上呼吸道感染患者的标本进行 HRV 检测, 结果显示宝安区 HRV 检出率为 18.27%, 与国内外大多文献报道相似^[5-7], 说明 HRV 是目前急性上呼吸道感染的主要病原之一。

本资料显示, HRV 感染主要集中在 7 岁以下儿童, 占 64.66%(75/116), 不同年龄中 HRV 检出率呈现两个峰, 一个是在幼儿中检出率最高, 其次是婴儿和学龄前儿童; 另一个峰出现在 20~30 岁成人中。儿童中 HRV 的检出情况, 与王涛等^[8]报道的急性下呼吸道感染住院儿童的 HRV 检出情况相符, 与于新芬等^[9]报道的门诊流感样病例中 HRV 在 1 岁以下病例中阳性率最高有差别。国外研究显示 HRV 在 6 个月内住院婴儿检出率最高, 6 个月以上患儿 HRV 检出率逐渐下降, 2 岁后迅速减少, 与本资料也不尽相同^[8], 这提示急性上呼吸道感染的病原谱可能与各地的地理位置、环境因素及社会经济状况等因素有关, 加强本地监测尤为重要。

通常认为, HRV 感染全年四季均可发生, 以春秋季节为主。本研究结果则以春、夏、秋季检出较多, 冬季检出较少, 与王涛等^[8]报道的急性下呼吸道感染住院儿童的 HRV 检出率在 11 月份最高, 1-2 月最低相符。这是否与深圳的气候特点有关, 尚需更大样本的

观察证实。

HRV 感染被认为是婴儿呼吸道感染的主要病原,也是诱发婴幼儿喘息最常见的病因之一,可以引起毛细支气管炎、喘息性支气管炎、支气管哮喘等多种喘息性疾病^[4]。本资料分析发现 HRV 感染和其他病原引起的急性上呼吸道感染在临床症状方面特征不明显,发热以中、高热为主,全身症状(如全身酸痛)出现较少,局部呼吸道症状中咳嗽、咽痛也缺乏特异性。同时 HRV 感染中往往出现多种病毒的混合感染,这也给临床的诊断和治疗带来了一定的困难,也有报道显示鼻病毒在呼吸道感染病例的重症化中可能起到一定的作用,只有不断加强鼻病毒的病原学监测,及时掌握其变化规律,才能为呼吸道传染病的预防和控制工作中提供病原学依据。

参考文献:

[1] J son DJ ,Lemanske RF . The role of respiratory virus infections in childhood asthma inception [J]. Immunol Allergy Clin North Am , 2010 ,30(4) 513-522.
 [2] Yu GQ ,Huang YM ,Chi J et al . Viral etiology investigation on influenza-like illnesses in Shenzhen in 2011 [J]. Clin J Heal Lab Tech 2012 ,22(10) 2419-2422.(in Chinese)
 (余光清,黄运美,莊静,等.深圳地区 2011 年流感样病例的病毒病原学调查[J].中国卫生检验杂志,2012,22(10) 2419-2422.)
 [3] Leigh R ,Oyelusi W ,Wiehler S et al . Human rhinovirus infection enhances airway epithelial cell production of growth factors involved

in airway remodeling [J]. J Allergy Clin Immunol 2008 ,121(5) : 1238-1245.

[4] Wang HL ,Xu WB ,Kong XH . Progress in human rhinovirus [J]. Med Recap 2010 ,16(13) 2032-2034.
 (王慧玲,许文波,孔晓慧.鼻病毒感染研究进展[J].医学综述,2010,16(13) 2032-2034.)
 [5] Wang T ,Zhang B ,Xiao NG et al . Comparative analysis of epidemiology and clinical characteristic on respiratory syncytial virus and human rhinovirus in hospitalized children with acute lower respiratory infections [J]. J Hunan Normal Univ (Med Sci) 2012 9 (2) 28-32. (in Chinese)
 (王涛,张兵,肖霓光,等.RSV 与 HRV 在 ALRTI 住院儿童中的流行状况和临床特征比较[J].湖南师范大学学报(医学版),2012,9(2) 28-32.)
 [6] Yu XF ,Pan JC ,Kou Y et al . Dection and analysis on rhinovirus in child with severe influenza A (H1N1/2009)-like infection and influenza-like illness [J]. Chin J Zoon 2012 ,28(3) 278-282. (in Chinese)
 (于新芬,潘劲草,寇宇,等.婴幼儿疑似甲型 H1N1 重症病例及门诊流感样病例中鼻病毒的检测分析 [J].中国人兽共患病学报,2012,28(3) 278-282.)
 [7] Ning Jing. Clinical characteristics of rhinovirus infection in infants with bronchiolitis [J]. J Appl Clin Pediatr 2011 ,26 (16) :1271-1272. (in Chinese)
 (宁静.婴儿毛细支气管炎鼻病毒感染的临床特征[J].实用儿科临床杂志,2011,26(16) :1271-1272.)
 [8] Louie JK ,Roy -Burman A ,Guardia -Labar L et al . Rhinovirus associated with severe lower respiratory tract infections in children [J]. Pediatr Infect Dis J 2009 ,28(4) 337-339.

收稿日期 2013-01-31 编辑 符式刚

(上接第 556 页)

养管在第 2d 未发现血清标本对细胞产生明显干扰作用,培养 7d 后 Real-time PCR 结果呈强阳性反应,但血清接种量比前述两种方法多而 CT 值又比它们大;大于 100 μl 接种量培养管的细胞第 2d 就因血清毒性作用使单层细胞几乎被破坏。结果证明,直接接种法虽然在低体积接种量也可以分离病毒,但原始血清的毒性作用会降低细胞对病毒的分离效率,甚至导致细胞发生明显的非特异性病变。

综上所述,3 种方法都能成功分离登革 1 型病毒,但采取方法降低血清对细胞的干扰作用可以有效提高 C6/36 细胞系对血清中的登革病毒的分离效率。

参考文献:

[1] Bao XW ,Huang Y ,Li YJ , et al . Advances in laboratory diagnosis of dengue virus [J]. Chin J health lab technol 2008 ,18(11) 2436-8. (In Chinese)
 (鲍晓伟,黄勇,李乙江,等.登革热病毒的实验室诊断研究进展

[J].中国卫生检验杂志,2008,18(11) 2436-8.)

[2] Oliveira De Paula S ,Malta Lima D ,Clotteau M , et al . Improved detection of dengue-1 virus from IgM-positive serum samples using C6/36 cell cultures in association with RT-PCR [J]. Intervirolog , 2003 ,46(4) 227-31.
 [3] Roche RR ,Alvarez M ,Guzman MG et al . Comparison of rapid centrifugation assay with conventional tissue culture method for isolation of dengue 2 virus in C6/36-HT cells[J]. J Clin Microbiol , 2000 ,38(9) 3508-10.
 [4] Jarman RG ,Nisalak A ,Anderson KB et al . Factors influencing dengue virus isolation by C6/36 cell culture and mosquito inoculation of nested PCR-positive clinical samples [J]. Am J Trop Med Hyg 2011 ,84(2) 218-23.
 [5] Singh KR ,SD Paul ,Isolation of Dengue viruses in Aedes albopictus cell cultures[J]. Bull World Health Organ ,1969 ,40(6) 982-3.
 [6] TeshRB A method for the isolation and identification of dengue viruses using mosquito cell cultures [J]. Am J Trop Med Hyg , 1979 ,28(6) :1053-9.

收稿日期 2013-02-24 编辑 符式刚