

论著·临床研究

南京地区急性呼吸道感染儿童支原体、衣原体和常见呼吸道病毒病原学分析

陈倩¹ 施圣云¹ 胡正¹ 张其华¹ 曹新²

(1. 南京医科大学附属南京儿童医院儿科研究所, 江苏 南京 210008

2. 南京医科大学生物技术系, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的 了解南京地区急性呼吸道感染(acute respiratory infection, ARI)儿童除细菌外的其他病原微生物感染情况,指导临床诊断和治疗。方法 应用荧光定量PCR法检测肺炎支原体(MP)和沙眼衣原体(CT),直接免疫荧光法检测呼吸道合胞病毒(RSV)、腺病毒(ADV)、甲型和乙型流感病毒(IVA和IVB)、副流感病毒1、2、3型(PIV-1、2、3)、人偏肺病毒(hMPV)。结果 1592例标本中,MP和CT阳性率分别为25.7%、2.4%;总呼吸道病毒阳性率为40.9%,其中RSV最常见,占阳性病毒株的61.3%,其次为PIV-3、hMPV,分别为6.7%、4.9%。病原体的混合感染率为6.7%,混合感染主要发生在1岁以内婴儿,有68例,占混合感染的63.6%。结论 病毒感染是南京地区婴幼儿ARI的主要原因,RSV是首要病毒病原,MP也是常见的ARI病原体,1岁以内婴儿混合感染率高。

[中国当代儿科杂志,2010,12(6):450-454]

[关键词] 急性呼吸道感染;肺炎支原体;病毒;儿童

[中图分类号] R725.6; R446.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)06-0450-05

Detection of *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis* and common respiratory viruses in children with acute respiratory infection in Nanjing

CHEN Qian, SHI Sheng-Yun, HU Zheng, ZHANG Qi-Hua, CAO Xin. Institute of Pediatrics, Nanjing Children's Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China (Cao X, Email: caoxin@njmu.edu.cn)

Abstract: Objective To investigate the nonbacterial pathogens in children with acute respiratory infection (ARI) in Nanjing. **Methods** The presence of *Mycoplasma pneumoniae* (MP) and *Chlamydia trachomatis* (CT) was determined by quantitative PCR in the nasopharyngeal samples from 1592 hospitalized children with ARI. Common respiratory viruses, including respiratory syncytial virus (RSV), adenovirus (ADV), influenza virus types A and B (IVA and IVB), parainfluenza virus types 1, 2, 3 (PIV-1, 2, 3) and human metapneumovirus (hMPV), were detected using direct immunofluorescence assay. **Results** MP and CT were detected in 25.7% and 2.4% of the 1592 samples respectively. The overall positive rate of respiratory viruses was 40.9%. Among the viruses, the top detected virus was RSV (61.3%), followed by PIV-3 (6.7%) and hMPV (4.9%). Mixed infection among MP, CT and viruses was observed in 107 cases (6.7%). The infants under 1 year old were susceptible to mix-infection (68/107, 63.6%). **Conclusions** Respiratory virus is the main pathogen responsible for ARI in children from Nanjing. RSV is the most commonly identified virus. MP is also the frequently identified pathogen for ARI in children. Mixed infection is common in infants under 1 year old.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12(6):450-454]

Key words: Acute respiratory infection; *Mycoplasma pneumoniae*; Virus; Child

急性呼吸道感染(acute respiratory infection, ARI)是儿科常见病、多发病,发病率在儿童各类疾病中占首位。ARI的病原体除了常规易分离培养的细菌类病原微生物外,还有许多常规不易分离培养的病原微生物,它们生长周期长,培养阳性率低,影

响了儿科医生对患儿的诊治。这些常规不易分离培养的病原微生物有肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、腺病毒(adenovirus, ADV)、甲型和乙型流感

[收稿日期]2009-12-14; [修回日期]2010-01-18

[作者简介]陈倩,女,硕士研究生,主管技师。

[通信作者]曹新,教授。

病毒(influenza virus type A and type B, IVA 和 IVB)、副流感病毒 1、2 和 3 型(parainfluenza virus type 1、2、3, PIV-1、2、3)、以及近年发现的人偏肺病毒(human metapneumovirus, hMPV)等。为了解南京地区 ARI 患儿除细菌外的其他病原微生物感染情况,本研究收集了 1 592 例 ARI 住院患儿鼻咽分泌物,进行 MP、CT、RSV、ADV、IVA、IVB、PIV-1、PIV-2、PIV-3 和 hMPV 的联合检测,并对结果进行分析。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2008 年 9 月至 2009 年 8 月本院收治的 1 592 例 ARI 住院患儿,其中上呼吸道感染 24 例(1.5%),下呼吸道感染 1 568 例(98.5%);男性 1 027 例,女性 565 例。诊断标准参照《实用儿科学》(第 7 版)^[1]。患儿年龄为出生后 4 h 至 14 岁,共分为 4 组:新生儿组(出生~)137 例,婴儿组(28 d~)757 例,幼儿组(1 岁~)391 例,儿童组(3~14 岁)307 例。季节:春季(3~5 月)350 例,夏季(6~8 月)351 例,秋季(9~11 月)414 例,冬季(12~2 月)477 例。研究对象检测前 3 d 均未用过红霉素等大环内酯类抗生素及抗病毒药物。

1.2 方法

1.2.1 呼吸道标本的采集 采用负压吸痰器吸取鼻咽分泌物,无菌吸痰管从单个鼻孔插入 7~8 cm 达鼻咽部,将导管连接于吸引泵,通过负压吸引足够的分泌物,用 2 mL 无菌生理盐水冲洗导管,采集两份标本立即送检。1 份用于 PCR 实验,1 份用于直接免疫荧光实验。

1.2.2 支原体、衣原体检测 采用荧光定量 PCR 法检测 MP、CT。用旋涡混合器将鼻咽分泌物打散,振荡至无可见的块状物;取 1.0 mL 置离心管,12 000 转/min 离心 5 min,去上清;沉淀中加入 50 μ L DNA 提取液充分混匀,置 100 $^{\circ}$ C 金属浴 10 min;12 000 转/min 离心 5 min,上清作为 PCR 反应的模板。扩增条件为 93 $^{\circ}$ C 2 min,93 $^{\circ}$ C 45 s,55 $^{\circ}$ C 1 min,10 个循环;93 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 45 s,30 个循环。PCR 反应试剂为中山大学达安基因股份有限公司 MP 核酸定量检测试剂盒和 CT 核酸定量检测试剂盒。仪器为美国 BIO-RAD 公司 iCycler IQ 全自动荧光定量 PCR 分析仪。结果判定按照使用说明书。

1.2.3 病毒抗原检测 采用直接免疫荧光法检测 RSV、ADV、IVA、IVB、PIV-1、PIV-2、PIV-3 和 hMPV 共 8 种病毒。用 5 mL PBS 和鼻咽分泌物振

荡后 1 000 转/min 离心 15 min;弃上清后沉淀加 0.5 mL PBS 调成云雾状制成细胞涂片;用丙酮固定涂片再加病毒特异荧光抗体染色 30 min;洗涤后在荧光显微镜下观察胞浆和胞核上的特异荧光。试剂为美国 Diagnostic Hybrids, Inc. 公司呼吸道病毒检测试剂盒,仪器为日本 NIKON ECLIPSE 50i 荧光显微镜。结果判定按照使用说明书。

1.2.4 统计学方法 多个样本间的阳性率比较采用 R * C 表的卡方检验,两个样本间的阳性率比较采用四格表的卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。数据统计由 STATA 软件进行处理。

2 结果

2.1 病原体的检测结果

1 592 例 ARI 患儿鼻咽分泌物标本,检测出 MP 阳性 409 例,阳性率为 25.7%;CT 阳性 39 例,阳性率为 2.4%;呼吸道病毒阳性 651 例,阳性率为 40.9%。呼吸道病毒中 RSV 最常见,阳性率为 25.1%,占病毒阳性数的 61.3%。其他病毒阳性率依次为 PIV-3 6.7%,hMPV 4.9%,ADV 1.8%,IVA 1.3%,PIV-1 0.6%,IVB 0.4%,PIV-2 0.2%。见表 1。

2.2 各年龄组支原体、衣原体和病毒阳性率

随着年龄的增加,MP 的阳性率逐渐增高,而 CT 和呼吸道病毒的阳性率逐渐降低。MP、CT 和呼吸道病毒的阳性率在不同年龄组间差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 混合感染情况

支原体、衣原体和病毒混合感染共 107 例,混合感染率为 6.7%。混合感染类型分别是:MP + CT 为 6 例,MP + 病毒为 61 例,CT + 病毒为 12 例,病毒之间混合感染 20 例,MP + CT + 1 种病毒或 MP + 2 种病毒的 3 种病原体混合感染 8 例,病毒主要是 RSV。混合感染主要发生在婴儿组,有 68 例,占混合感染的 63.6%,呈现年龄越小病毒感染率及混合感染率越高。

2.4 呼吸道病原体的流行情况

2.4.1 MP 的流行情况 MP 一年四季都能检测到,不同季节的阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$),夏季阳性率高,冬季低(表 1)。MP 在各年龄组中的阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$),随着年龄的增加,阳性率逐渐增加。但新生儿组和婴儿组比,MP 阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。各月份阳性率见图 1。

表1 不同季节支原体、衣原体和各种病毒的阳性率 [例(%)]

病原种类	春季(3~5月) (n=350)	夏季(6~8月) (n=351)	秋季(9~11月) (n=414)	冬季(12~2月) (n=477)	χ^2 值	P 值
MP	84(24.0)	126(35.9)	111(26.8)	88(18.4)	33.1	<0.01
CT	5(1.4)	7(2.0)	12(2.9)	15(3.1)	5.5	>0.05
RSV	109(31.1)	2(0.6)	96(23.2)	192(40.3)	178.4	<0.01
ADV	9(2.6)	8(2.3)	5(1.2)	7(1.5)	2.7	>0.05
IVA	3(0.9)	4(1.1)	2(0.5)	12(2.5)	8.1	<0.01
IVB	2(0.6)	0(0)	1(0.2)	3(0.6)	2.7	>0.05
PIV-1	0(0)	6(1.7)	3(0.7)	0(0)	13.1	<0.01
PIV-2	0(0)	2(0.6)	1(0.2)	0(0)	4.3	>0.05
PIV-3	24(6.9)	33(9.4)	20(4.8)	29(6.1)	6.8	>0.05
hMPV	14(4.0)	7(2.0)	19(4.6)	38(8.0)	16.7	<0.01

表2 不同年龄组支原体、衣原体和病毒阳性率 [例(%)]

病原种类	新生儿组(n=137)	婴儿组(n=757)	幼儿组(n=391)	儿童组(n=307)	χ^2 值	P 值
MP	28(20.4)	121(16.0)	128(32.7)	132(43.0)	97.7	<0.01
CT	9(6.6)	28(3.7)	2(0.5)	0(0)	187.3	<0.01
呼吸道病毒	78(56.9)	365(48.2)	149(38.1)	59(19.2)	92.3	<0.01

2.4.2 RSV 的流行情况 RSV 的流行季节性明显,不同季节的阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$),冬春季流行,夏季阳性率很低(表1)。从月份上看,从12月份到次年的3月(冬季)为流行的高峰期。RSV 在各年龄组中的阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$),随着年龄的增加,阳性率逐渐降低(表3)。各月份阳性率见图1。

2.4.3 CT、ADV 和 PIV-3 的流行情况 CT、ADV 和 PIV-3 的四季阳性率差异均无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。CT、ADV 和 PIV-3 在各月份阳性率见图2。图2中可看到,PIV-3 在6月份有一个小高峰,夏季阳性率较高。CT、ADV 在12个月中无明显流行高峰。CT 和 PIV-3 在各年龄组中的阳性率差异均有统计学意义($P < 0.01$)。CT 主要在新生儿组中阳性率较高,幼儿组和儿童组中少见。PIV-3 主要在婴儿组和幼儿组中检出较高。ADV 在各年龄组中的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2和表3)。

2.4.4 hMPV 的流行情况 hMPV 四季的阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$),主要在冬季流行,春、夏、秋三季的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。hMPV 各月份的阳性率如图2所示,流行高峰主要在12月份。hMPV 在各年龄组的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.4.5 IVA、IVB、PIV-1 和 PIV-2 的流行情况 在 IVA、IVB、PIV-1 和 PIV-2 的阳性率很低,IVA 相对常见。IVA 在冬季阳性率高于其他三季,四个季节的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。PIV-1

和 PIV-2 在冬季和春季均无1例阳性,仅在夏季和秋季检测到(表1)。IVA、IVB、PIV-1 和 PIV-2 在各年龄组中的阳性率差异均无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

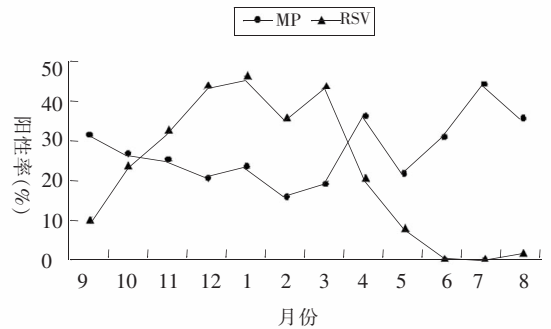


图1 ARI 患儿 MP、RSV 各月份阳性率

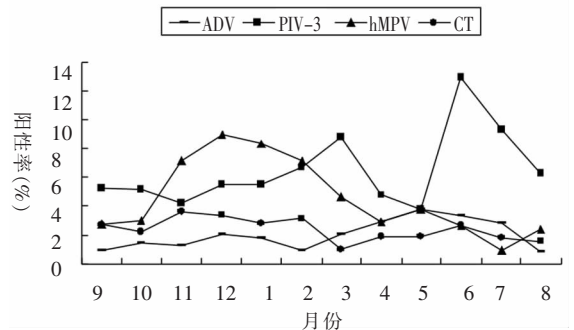


图2 ARI 患儿 CT、ADV、PIV-3 和 hMPV 各月份阳性率

表3 不同年龄组各种病毒的阳性率 [例(%)]

病原种类	新生儿组(n=137)	婴儿组(n=757)	幼儿组(n=391)	儿童组(n=307)	χ^2 值	P 值
RSV	61(44.5)	235(31.0)	77(19.7)	26(8.5)	93.1	<0.01
ADV	2(1.5)	12(1.6)	9(2.3)	6(2.0)	0.9	>0.05
IVA	1(0.7)	10(1.3)	7(1.8)	3(1.0)	1.3	>0.05
IVB	0(0)	1(0.1)	3(0.8)	2(0.7)	3.9	>0.05
PIV-1	0(0)	5(0.7)	3(0.8)	1(0.3)	1.5	>0.05
PIV-2	0(0)	1(0.1)	1(0.3)	1(0.3)	0.8	>0.05
PIV-3	4(2.9)	65(8.6)	27(6.9)	10(3.3)	13.4	<0.01
hMPV	10(7.3)	36(4.8)	22(5.6)	10(3.3)	3.9	>0.05

3 讨论

ARI 严重危害儿童健康,传统观点认为,经济发达国家感染病原以病毒为主,发展中国家以细菌为主;目前研究认为,在我国大城市 ARI 感染病原与发达国家相似。文献报告2岁以下病毒性肺炎可达90%,学龄期儿童约占40%^[2]。MP 则是儿童社区获得性肺炎的重要病原,在儿童呼吸道感染中占30%以上,因此对 ARI 患儿进行多种病原学分析,对临床诊断治疗具有重要意义。迄今为止,ARI 患儿支原体、衣原体和多种呼吸道病毒的联合检测较少。

本研究结果显示,病毒感染是南京地区婴幼儿 ARI 的主要病原(约40.9%),与国内其他地区的相关研究相比,本研究增加了 hMPV 的检测,hMPV 的阳性率为4.9%,如果不考虑 hMPV 的阳性率,则南京地区的病毒感染阳性率(36%),与上海地区(24.2%)、天津地区(31.6%)、重庆地区(32.6%)及杭州地区(34.3%)相似^[3-6],低于深圳地区(57.2%)、温州地区(58.2%)和北京地区(77.6%)^[7-9]。在发达国家,儿童呼吸道感染中 RSV 感染占28.5%~64.7%^[10-11]。本研究显示,RSV 阳性率为25.1%,占首位,然后依次为 PIV-3, hMPV, ADV, IVA, PIV-1, IVB, PIV-2。从病毒谱的排列构成来看,南京地区与江浙沪地区的上海、温州和西南地区的重庆报道基本一致^[3,5,8],而与北方地区的北京、天津和沿海地区的深圳稍有差别。北京地区报道第一位为 RSV,第二位为鼻病毒(RV)^[9];天津地区报道第一位为 ADV,第二位为 RSV^[4];深圳地区报道第一位为 IVA,第二位为 RSV^[7]。混合感染中南京地区也以 RSV 为主,合并 MP 或另外一种病毒,与其他地区报道一致,天津地区的混合感染则以 IVA 合并 IVB 为主^[4]。可见,南京地区儿童 ARI 的病毒病原体中,以 RSV 为主,其他地区常见的流感病毒和 ADV 在南京地区不是主要病原,仅散发流

行,呼吸道病毒病原谱存在地区差异。

从表1和表3各季节和各年龄段来看,都是 RSV 占首位,RSV 阳性率和病毒总阳性率随年龄的增长逐渐下降,与其他地区无明显差异^[5,8-9],因此,整个婴幼儿期是病毒防治的重点。另外,排列第一的 RSV 在冬春季流行的地区差异不大,排列第二位的 PIV-3 的流行季节地区差异较大,南京地区为夏季流行,与温州地区一致^[8],重庆地区和深圳地区均为春季流行^[5,7],上海和北京地区则无明显季节特点^[3,9]。

MP 也是常见的 ARI 病原体,本研究中 MP 的阳性率为25.7%,提示临床在诊断儿童呼吸道感染时应注意 MP 的感染。值得注意的是,新生儿组的阳性率也有20.4%。分析原因可能是,荧光定量 PCR 技术的应用使得 PCR 灵敏度提高,且不受“患儿年龄小,MP 抗体不易检出”等因素影响,使婴幼儿 MP 肺炎占同年龄肺炎的百分率呈增高趋势。MP 肺炎主要经飞沫感染,大多发生于夏末秋初,但一年中任何时间都可发生^[12],与本研究的检测结果基本一致,夏秋季的阳性率高于冬春季。CT 感染在西方发达国家较常见,近年来国内作为呼吸道感染的病原体而引起关注。宫颈 CT 阳性者占2%~47%,23%~70%婴儿可被感染,其中3%~30%可发生 CT 肺炎。本研究结果显示,新生儿较其他年龄段患儿易感 CT,这可能与 CT 母婴垂直传播有关。

hMPV 自2001年被发现以来,已被世界各国公认为一种易导致儿童呼吸道感染的病毒,它的发现者 van den Hoogen 等^[13]认为它能解释约10.0%不明原因的呼吸道感染。本研究结果显示,hMPV 的阳性率4.9%,高于 ADV、流感病毒和副流感病毒,证明 hMPV 也是南京地区儿童 ARI 的重要病原体之一,提示临床在常见7种呼吸道病毒阴性时应充分考虑 hMPV 的感染,并加强对 hMPV 的检测。

综上所述,本研究对南京地区 ARI 患儿进行支原体、衣原体和常见病毒的联合检测,对本地区住院的 ARI 患儿病原学的流行特点有了一定的认识,为

临床诊断和治疗及防止抗生素的滥用提供了可靠依据;并为今后长期的病原监测和相关疾病的研究、疫苗的开发奠定了基础。

[参 考 文 献]

[1] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:1167-1175.
[2] Juvén T, Mertsola J, Waris M, Leinonen M, Meurman O, Roivainen M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2000, 19(4):293-298.
[3] 曾玫, 王晓红, 俞惠, 朱启镛. 上海地区儿童急性呼吸道感染病毒感染的流行特征[J]. *中华传染病杂志*, 2008, 26(9):527-532.
[4] 孙丽霞, 黄敬孚, 张华. 天津地区小儿下呼吸道感染病毒病原谱的探讨[J]. *中国现代医学杂志*, 2004, 14(24):129-130.
[5] 罗蓉, 黄英, 罗晓菊, 刘恩梅. 重庆儿童急性呼吸道感染 1731 例病毒病原学分析[J]. *重庆医科大学学报*, 2007, 32(12):1279-1281.
[6] 汪天林, 陈志敏, 汤宏峰, 唐兰芳, 邹朝春. 小儿肺炎的病毒性病原学研究[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2005, 34(6):566-573.

[7] 邱岸花, 陆长东, 陆学东, 何爱兰, 黄烈. 深圳市小儿急性呼吸道感染现状及病毒病原学调查[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(22):180-181.
[8] 陈小芳, 董琳, 李孟荣, 张正霞, 李昌崇. 温州地区婴幼儿急性下呼吸道感染病原学分析[J]. *临床儿科杂志*, 2005, 23(7):454-456.
[9] 刘春艳, 谢正德, Gonzalez R, 任丽丽, 孔晓慧, 胡英惠, 等. 儿童急性下呼吸道感染病毒病原学研究[J]. *中国实用儿科杂志*, 2009, 24(4):270-273.
[10] Manoha C, Espinosa S, Aho SL, Huet F, Pothier P. Epidemiological and clinical features of hMPV, RSV and RVs infections in young children[J]. *J Clin Virol*, 2007, 38(3):221-226.
[11] Teeratakulpisarn J, Ekalaksananan T, Pientong C, Limwattananon C. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus detection in young children with acute bronchiolitis[J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2007, 25(2-3):139-145.
[12] 陆德源. 医学微生物学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:168-169.
[13] van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease[J]. *Nat Med*, 2001, 7(6):719-724.

(本文编辑:黄 榕)

· 消息 ·

2010 年全军第十一届儿科专业学术会议征文通知

中国人民解放军医学科学技术委员会儿科学专业委员会拟定于 2010 年 8 月在兰州举办全军第十一届儿科专业学术会议暨第四次全国儿科热点会议。欢迎军内外从事小儿内科、内儿科、妇儿科、小儿外科专业的各级临床医师及护理人员、预防医学工作者、实验室研究及相关人员踊跃投稿参加学术会议。

一、征文范围:小儿内、外科所有专业临床、保健、实验室以及军事儿科学方面各种形式的论文。

二、征文要求:(1)文章未在国内外杂志上公开发表,全文 4500 字以内及摘要 800 字以内的打印稿一份,需同时附电子版(Word 格式),写明作者姓名、单位、邮编、联系电话,加盖单位公章。

三、来稿请寄:兰州市七里河区滨河南路 333 号兰州军区总医院儿科收。邮编 730050。在信封上请注明“会议征文”字样,联系人:戴永利(手机:13099147678)。电子版请寄:zmt0702@163.com;guolinmei9999@sina.com;guolinmei9999@163.com

四、注意事项:(1)请作者自留底稿;(2)截稿日期:2010 年 6 月 26 日

五、会议确切时间以第二轮会议通知为准。

全军医学科学委员会儿科专业委员会

2010 年 1 月 22 日