

西安地区呼吸道疾病病毒病原谱分析

张蕾¹, 许晶¹, 史伟¹, 王丽¹, 马萍¹, 徐芝¹, 郑媛¹,

邓慧玲², 夏静³, 刘洋⁴, 薛威⁵, 王敬军¹, 余鹏博¹

1. 陕西省疾病预防控制中心病毒室, 陕西 西安 710054; 2. 西安市儿童医院感染科, 陕西 西安 710003;

3. 解放军第 323 医院感控科, 陕西 西安 710000; 4. 陕西省人民医院, 陕西 西安 710068;

5. 西安交通大学医学院公共卫生学院, 陕西 西安 710061

摘要:目的 分析陕西省西安地区呼吸道疾病病毒病原谱分布情况。方法 收集西安市 6 家医院的呼吸道感染病例 971 例, 采集咽拭子标本进行 16 种型别呼吸道病毒核酸检测。结果 971 份标本的检出率为 32.65% (317/971), 检出 16 种病毒。多种呼吸道病毒在冬季高发, 各人群检出率 ($\chi^2 = 31.566$)、各年龄组检出率 ($\chi^2 = 25.312$) 均存在统计学差异 ($P < 0.05$), 主要集中在 15 岁以下散居儿童。住院病例检出率 (41.52%) 与门诊病例 (27.82%) 有统计学差异 ($\chi^2 = 18.906$, $P < 0.05$), 两者的混合感染比例也存在统计学差异 ($\chi^2 = 10.718$, $P < 0.05$)。上呼吸道感染以腺病毒居多, 下呼吸道感染以呼吸道合胞病毒居多。结论 西安地区的呼吸道病毒性疾病有 16 种型别被检出, 冬春季高发, 流感病毒、呼吸道合胞病毒和腺病毒所占比例较高, 儿童为呼吸道病毒感染的高发人群, 混合感染多为小年龄组的住院病例。

关键词: 呼吸道疾病; 病原谱; 西安

中图分类号: R183.3

文献标志码: A

文章编号: 1003-8507(2015)06-1099-05

Viral Pathogen Spectrum Analysis of Respiratory Tract Diseases in Xi'an Area

ZHANG Lei*, XU Jing, SHI Wei, WANG Li, MA Ping, XU Yi, ZHENG Yuan, DENG Hui-ling,

XIA Jing, LIU Yang, XUE Wei, WANG Jin-jun, YU Peng-bo

*Center for Disease Control and Prevention of Shanxi, Xi'an, Shanxi 710054, China

Abstract: **Objective** This study aimed to analyze the viral pathogen spectrum of respiratory tract diseases in Xi'an, Shaanxi Province. **Methods** 971 cases of respiratory infections were collected from six hospitals in Xi'an from 2009 to 2013. ABT 9+7 Respiratory Multiple PCR kit was used to detect specific nucleotide segments of 16 respiratory viruses. **Results** All samples were tested, and 32.65% was positive (317/971). 16 types of virus were detected. Most viruses were prevalent in winter. Positive rate varied among cohort ($\chi^2=31.566$) and between age groups ($\chi^2=25.312$), and the age group with the most types of respiratory viruses was the group of <15 years old, especially among scattered children. The positive rate was higher among hospitalized cases (41.52%) than outpatient cases (27.82%, $\chi^2=18.906$). The rate of co-infection between hospitalized cases and outpatients also significantly different ($\chi^2=10.718$, $P < 0.05$). Adenovirus (ADV) was detected mainly in upper respiratory infections and respiratory syncytial virus (RSV) was tested mainly from lower respiratory infections. **Conclusion** We detected 16 types of respiratory viruses. Influenza virus (IFV), RSV and ADV were the main pathogens leading to respiratory infections in Xi'an. Children were the susceptible population for respiratory diseases. Co-infections occurred mainly in hospitalized patients of young age.

Keywords: Respiratory diseases; Virus; Pathogen spectrum; Xi'an

呼吸道感染性疾病是常见的急性传染病, 引起呼吸道感染的病原种类繁多, 且各年龄人群均可感染, 流行范围广。为了解西安地区呼吸道疾病的流行情况, 本研究对 2009-2013 年监测的 971 份呼吸道标本进行了 16 种病毒的核酸检测, 其中包括呼吸道合胞病毒 A/B (Respiratory Syncytial Virus,

RSVA/B)、流感病毒 A/B/SWH1N1 (Influenza Virus, IFV A/B/SWH1N1)、副流感病毒 1/2/3 (Parainfluenza virus, PIV / /)、腺病毒 (Adenovirus, ADV)、人偏肺病毒 (Human metapneumovirus, hMPV)、冠状病毒 OC43/229E/HKU1/NL63 (Coronavirus, CoV-OC43/229E/HKU1/NL63)、人鼻病毒 (Human Rhinovirus, HRV)、人博卡病毒 (Human bocavirus, HBov), 了解这些病毒在西安地区的流行分布情况。

1 对象和方法

1.1 研究病例定义 具有急性上呼吸道感染 (发

基金项目: “十二五”国家科技重大专项“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治” (2013ZX10004202-001-002)

作者简介: 张蕾 (1980-), 女, 硕士, 主管医师, 研究方向: 呼吸道病毒实验室监测

通讯作者: 余鹏博, E-mail: sxdcy@126.com

热 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ，伴有乏力、头痛、咳嗽、咽喉疼痛、全身酸痛等症状)或肺炎症状(发热、咳嗽，常伴有气促、呼吸增快，并伴有特征性胸部影像学改变)的门诊及住院病例。

1.2 研究病例选择 采取定群随机选择病例方法，收集 2009 年 1 月 -2013 年 12 月西安市儿童医院、陕西省人民医院、陕西省第四医院、解放军 323 医院、解放军 451 医院、西安交通大学第一附属医院等 6 家医院的病例 1 029 例，剔除资料缺失及有明显逻辑错误的标本后，共调查 971 例，包括 629 例门诊病例和 342 例住院病例。其中男性 587 人，女性 384 人 (1.51 : 1)。为保证采样在时间和人群的均衡性，在疾病流行季节内，每家医院各周保证采集 3~5 份样品。

1.3 信息调查及标本采集 对患者进行呼吸道个案的流行病学调查。采集门诊及住院病例的咽拭子标本共 971 份。采集咽拭子标本，标本采集后放置 4°C 条件保存，并于 48 h 内及时送实验室进行核酸检测。

1.4 实验方法

1.4.1 实验设备及试剂 使用天隆核酸提取仪进行核酸提取，配套试剂为天隆核酸提取试剂盒 (Ex-RNA/DNA 病毒 2.0)。核酸片段扩增使用北京卓诚惠生生物科技有限公司生产的 ABT 9+7 呼吸道病毒多重 PCR 快速检测试剂盒。QIAxcel 全自动核酸电泳系统的 QIAxcel DNA High Resolution Kit 预制胶卡夹对 PCR 产物进行电泳。并匹配使用 QX Alignment Marker 15 bp/600 bp 和 QX DNA Size Marker 25 bp ~ 500 bp v2.0。

1.4.2 病毒核酸提取 在 200 μl 咽拭子样本中加入 10 μl 蛋白酶 K 和 4 μl Carrier RNA，放入仪器进行提取。由于本研究同时检测的 16 种呼吸道病毒既有 RNA 病毒也有 DNA 病毒，因此最后得到的核酸产物既有 RNA 也有 DNA。

1.4.3 反转录及 PCR 扩增 对提取产物进行反转录及 PCR 扩增，总反应体系 25 μl ，反应条件： 50°C 30 min， 95°C 15 min，(95°C 30 s， 55°C 30 s， 72°C 30 s) 10 个循环，(95°C 30 s， 65°C 30 s， 72°C 30 s) 10 个循环，(95°C 30 s， 48°C 30 s， 72°C 30 s) 30 个循环， 72°C 10 min，PCR 产物放置 4°C 保存待检测。

1.4.4 结果分析与判定 选用 QIAxcel 中的 OM800 方法进行检测。电泳结束后，根据扩增片段大小判断结果。

1.5 统计学处理 利用 Excel 2010 创建数据库，使用 SPSS20.0 对计数资料进行 χ^2 检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检出病毒谱 971 份咽拭子标本中共检出阳性标本 317 份，检出率 32.65%。检测发现 16 种型别的呼吸道病毒，由于存在多种病毒混合感染情况，共得到 341 个阳性结果 (2 重感染 21 例，3 重 1 例)。按照阳性结果所占比例从高到低依次为 IFV 34.60% (118/341)，RSV 25.22% (86/341)，ADV 18.48% (63/341)，PIV 10.85% (37/341)，CoV 3.52% (12/341)，hMPV 2.93% (10/341)，HBoV 2.35% (8/341)，HRV 2.05% (7/341)。

2.2 人群感染谱 各人群核酸检出率从高到低依次为散居儿童 40.68% (120/295)，学生 32.13% (98/305)，其他人员 27.13% (51/188)，幼托儿童 26.23% (48/183)。检出率在各人群中存在统计学差异 ($\chi^2 = 31.566$ ， $P < 0.05$)，散居儿童检出率明显高于其他各人群。散居儿童中，RSV 占核酸检测阳性标本的 43.33% (52/120)，其次为 ADV 16.67% (20/120)。学生中主要检出 IFV 59 例 (60.20%)，ADV 22 例 (22.45%)。幼托儿童感染也以 IFV 居多 (33.33%)。见表 1。

2.3 年龄感染谱 1 岁以下年龄组的检出率为 48.39% (63/131)，1~3 岁检出率为 34.39% (54/157)，3~6 岁检出率为 26.22% (48/183)，6~18 岁检出率为 32.79% (80/244)，18~60 岁检出率为 31.13% (66/212)，>60 岁检出率为 13.64% (6/44)。1 岁以下年龄组与其他各年龄组检出率均有统计学差异 ($P < 0.05$)。见表 2。

1 岁以下年龄组 RSV 的检出率 (30.59%) 较高，与其他病原检出率相比存在统计学差异 ($P < 0.05$)。1~3 岁以 RSV (9.55%) 和 ADV (8.28%) 检出较多，3~6 岁检出 IFV (8.74%) 和 RSV (6.01%) 居多，6~18 岁多为 IFV (22.13%) 和 ADV (4.10%)，18~60 岁主要为 IFV (14.15%) 和 RSV (10.85%)，60 岁以上只有 IFV 和 PIV。各年龄组之间检出率存在统计学差异 ($\chi^2 = 25.312$ ， $P < 0.05$)。

2.4 性别感染谱 587 例男性患者中检测出阳性病例 202 例 (34.41%)，384 例女性患者中检测出阳性病例 115 例 (29.95%)，两者检出率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。男性各年龄段之间检出率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 27.788$ ， $P < 0.05$)，女性各年龄段之间检出率也有统计学差异 ($\chi^2 = 5.687$ ， $P < 0.05$)。男性检出率从高至低依次是 IFV 65 例 (11.07%)，RSV 47 例 (8.00%)，ADV 43 例 (7.33%)，混合感染 17 例 (2.90%)，PIV 15 例 (2.56%)，COV 8 例 (1.36%)，HRV 4 例 (0.68%)，hMPV 2 例 (0.34%)，HBoV 1 例 (0.17%)。女性检出率从高至低为 IFV 48 例 (12.50%)，RSV 25 例 (6.51%)，PIV 和 ADV 各 13 例 (3.39%)，混合感染 6 例 (1.56%)，hMPV 5 例 (1.30%)，COV 3 例

(0.78%)，HBoV 2 例(0.52%)。见表 2。

表 1 人群感染谱 (%)

病原	散居儿童 (n=295)	学生 (n=305)	幼托儿童 (n=183)	其他 (n=188)	合计
FLUA	9 (3.05)	17 (5.57)	12 (6.56)	25 (13.3)	63
FLUB	1 (0.34)	42 (13.77)	4 (2.19)	3 (1.6)	50
RSVA	35 (11.86)	3 (0.98)	9 (4.92)	5 (2.66)	52
RSVB	17 (5.76)	1 (0.33)	2 (1.09)	0	20
PIV1	0	0	1 (0.55)	1 (0.53)	2
PIV2	9 (3.05)	3 (0.98)	3 (1.64)	4 (2.13)	19
PIV3	3 (1.02)	2 (0.66)	0	2 (1.06)	7
ADV	20 (6.78)	22 (7.21)	6 (3.28)	8 (4.26)	56
HMPV	3 (1.02)	0	3 (1.64)	1 (0.53)	7
COV-229E	1 (0.34)	0	0	1 (0.53)	2
COV-NL63	3 (1.02)	1 (0.33)	2 (1.09)	1 (0.53)	7
COV-OC43	0	1 (0.33)	0	0	1
COV-HKU1	0	1 (0.33)	0	0	1
HBOV	4 (1.36)	0	0	0	4
HRV	1 (0.34)	1 (0.33)	2 (1.09)	0	4
混合感染	14 (4.75)	4 (1.31)	4 (2.19)	0	22
合计	120 (40.68)	98 (32.13)	48 (26.23)	51 (27.13)	317

表 2 性别年龄感染谱

病原	男 (n=587)						合计
	<1 (n=85)	1~3 (n=92)	3~6 (n=104)	6~18 (n=136)	18~60 (n=137)	>60 (n=33)	
FLU	3	4	6	31	20	1	65
RSV	26	8	8	2	3	0	47
PIV	4	3	3	0	3	2	15
ADV	4	6	5	7	21	0	43
hMPV	0	0	1	0	1	0	2
COV	3	1	0	3	1	0	8
HBOV	0	1	0	0	0	0	1
HRV	1	0	2	1	0	0	4
混合	5	6	2	4	0	0	17
合计	46	29	27	48	49	3	202
构成比 (%)	22.77	14.36	13.37	23.76	24.26	1.49	63.72

病原	女 (n=384)						合计
	<1 (n=46)	1~3 (n=65)	3~6 (n=79)	6~18 (n=108)	18~60 (n=75)	>60 (n=11)	
FLU	1	2	10	23	10	2	48
RSV	11	7	3	2	2	0	25
PIV	0	5	1	4	2	1	13
ADV	0	7	1	3	2	0	13
hMPV	1	2	2	0	0	0	5
COV	0	0	2	0	1	0	3
HBOV	2	0	0	0	0	0	2
HRV	0	0	0	0	0	0	0
混合	2	2	2	0	0	0	6
合计	17	25	21	32	17	3	115
构成比 (%)	14.78	21.74	18.26	27.83	14.78	2.61	36.28

2.5 季节感染谱 根据图 1 显示，呼吸道病毒在西安地区冬季 11 月至次年 1 月都为高发期，春季 3 月

及秋季 9 月有两次小高峰，夏季检出较少。西安地区主要流行病原为 IFV、RSV、ADV 和 PIV。IFV 在

各个季节均有检出，但冬春季高发，RSV、PIV、hMPV、CoV、HBoV 和 HRV 均集中在冬季，ADV 除了在冬季高发以外，夏季也可检出。

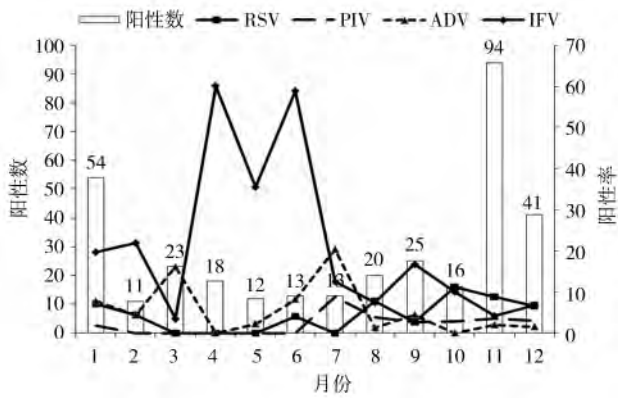


图 1 呼吸道病原季节分布

2.6 门诊住院病例感染谱 住院病例检出率 41.52% (142/342)，明显高于门诊病例检出率 27.82% (175/629)，两者差异有统计学意义 ($\chi^2 = 18.906$, $P < 0.05$)。住院病例中 RSV 比例最高，达 42.96% (61/142)，明显高于门诊病例 (6.29%)。其次为 IFV 和 PIV，均为 12.68% (18/142)。门诊病例以 IFV (54.29%) 居多，其次为 ADV (26.86%)。见表 3。

2.7 混合感染谱 研究发现混合感染 22 例，多为 10 岁以下儿童，男性 16 例，女性 6 例。14 例为散

居儿童 (检出率 3.39%，14/295)，4 例为学生 (0.66%，2/305)，4 例为幼托儿童 (2.19%，4/183)，三者检出率之间存在统计学差异 ($\chi^2 = 6.817$, $P < 0.05$)。混合感染中，RSV 伴其他病毒感染 12 例 (54.55%，12/22)，其次为 PIV 伴病毒感染 7 例 (31.82%，7/22)，ADV 伴病毒感染 6 例 (27.27%，6/22)，HBoV 4 例 (18.19%，4/22)。混合感染中住院病例 15 例，门诊病例 7 例，两者存在统计学差异 ($\chi^2 = 10.718$, $P < 0.05$)。住院的混合感染病例中 9 例为 RSV 伴其他病毒感染 (1 例为 RSVA+RSVB)。门诊病例中 ADV 伴其他病毒感染较多，共 5 例，见表 4。

表 3 门诊住院病例感染谱 (%)

病原	门诊病例 (n=629)	住院病例 (n=342)	χ^2 值	P 值
IFV	95 (15.1)	18 (5.26)	20.861	<0.05
RSV	11 (1.75)	61 (17.84)	83.518	<0.05
PIV	10 (1.59)	18 (5.26)	10.764	<0.05
ADV	47 (7.47)	9 (2.63)	9.552	<0.05
hMPV	1 (0.16)	6 (1.75)	Fisher	<0.05
CoV	2 (0.32)	9 (2.63)	Fisher	<0.05
HBoV	0 (0.00)	4 (1.17)	Fisher	<0.05
HRV	2 (0.32)	2 (0.58)	Fisher	>0.05
混合感染	7 (1.11)	15 (4.39)	10.718	<0.05
合计	175 (27.82)	142 (41.52)	18.906	<0.05

表 4 混合感染谱

病理类型	感染类型	例数	年龄	性别	职业
住院病例	RSVA+PIV3	2	3 个月	男	散居儿童
	RSVA+IFV	1	7 个月	女	散居儿童
	RSVA+HBoV	1	3 岁	女	幼托儿童
	RSVA+HCoV-NL63	1	3 岁	男	幼托儿童
	RSVA+PIV2	1	2 岁	男	散居儿童
	RSVB+PIV2	1	1 岁	男	散居儿童
	RSVA+IFV+PIV3	1	9 个月	男	散居儿童
	RSVA+RSVB	1	1 个月	男	散居儿童
	IFV+hMPV	1	11 岁	男	学生
	hMPV+HRV	2	5 个月	男	散居儿童
	HBoV+IFV	1	8 岁	男	学生
	HBoV+ADV	1	1 岁	女	散居儿童
	PIV2+3	1	6 岁	男	学生
	ADV+RSVB	2	11 个月	女	散居儿童
门诊病例	ADV+RSVA	1	1 岁	男	散居儿童
	ADV+PIV3	1	1 岁	女	散居儿童
	ADV+HRV	1	2 岁	男	散居儿童
	RSVA+IFV	1	3 岁	男	幼托儿童
	PIV2+HBoV	1	6 岁	男	学生
		1	3 岁	女	幼托儿童

2.8 不同临床诊断感染谱 971 例患者中有 172 例诊断为肺炎病例, 检出阳性 49 个; 支气管肺炎 49 例, 检出阳性 33 个; 诊断为上呼吸道感染的有 150 例, 检出阳性 26 个。不同临床诊断的阳性结果存在统计学差异 ($\chi^2 = 24.03, P < 0.05$)。各种病毒均可引起下呼吸道感染, 以 RSV 所占比例最高。上呼吸道感染中, 则以 ADV 感染居多, 占 45.00% (9/20), 见表 5。

表 5 不同临床诊断感染谱

病原	肺炎 (n=172)	支气管肺炎 (n=49)	上呼吸道感染 (n=150)	合计
RSV	15 (8.72)	16 (32.65)	2 (1.33)	33
IFV	7 (4.07)	3 (6.12)	5 (3.33)	15
PIV	11 (6.40)	5 (10.20)	7 (4.67)	23
ADV	2 (1.16)	0	9 (6.00)	11
hMPV	2 (1.16)	4 (8.16)	0	6
CoV	6 (3.49)	0	0	6
HBoV	2 (1.16)	4 (8.16)	1 (0.67)	7
HRV	4 (2.33)	1 (2.04)	2 (1.33)	7
合计	49 (28.49)	33 (67.35)	26 (17.33)	108

3 讨论

呼吸道病毒检测方法主要有血清学抗体检测、病毒分离鉴定、免疫荧光抗原检测、PCR 核酸检测等。本研究采用 9+7 呼吸道病毒多重 PCR 技术检测咽拭子标本, 发现病毒核酸阳性检出率为 32.65%, 低于刘英茹^[1]的血清学检测结果, 也低于兰州^[2]、天津^[3]、济南^[4]和太原^[5]等地的病毒核酸检出率, 但高于昆明地区^[6]。检测结果的差异可能与实验方法、试剂敏感性、标本采集等因素有关。

西安地区呼吸道病毒感染全年均有发生, 在每年 3 月及 9 月各有一次小高峰, 冬季为各类病原的高发期。主要流行病原为 RSV、IFV、ADV 和 PIV, 冬春季以 RSV、IFV 和 PIV 居多, 夏季 ADV 检出较多。流行趋势和流行病原与之前西安地区的研究结果^[1]基本一致。

感染谱在门诊病例和住院病例中存在明显差异。门诊病例以 IFV 和 ADV 为主, 两者所占比例达到 81%。住院病例则以 RSV 为主, 比例达 42%。住院病例明显高于门诊病例检出率, 且住院病例的混合感染情况也明显高于门诊病例。

儿童为混合感染的主要人群。本研究中的混合感染多以 10 岁以下儿童为主, 且住院病例占大部分, 可能与婴幼儿免疫功能不健全, 病毒感染后住

院较多, 机体病毒感染干扰反应机制差有关。住院的混合感染病例中, 以 RSV 合并其他病毒感染居多^[7]。混合感染中住院病例多于门诊病例的情况, 结合住院病例的病原分布以 RSV 为主, 而门诊病例以 IFV 为主, 提示 RSV 可能存在院内感染^[8]。此外, 研究还发现 HRV 和 HBoV 也较易出现合并其他病毒感染的情况。

西安地区引起上呼吸道感染的主要为 ADV, 引起下呼吸道感染的则为 RSV。RSV 主要侵犯低年龄组的婴幼儿^[9,10]。本研究中 RSV 为引起下呼吸道感染的主要病原, 多集中在 0~5 岁年龄组, 以散居儿童检出率最高^[11], 且阳性病例多诊断为肺炎或支气管肺炎^[12]。

参考文献

- [1] 刘英茹, 程玮, 汪辉. 西安市 3366 例急性呼吸道感染病毒病原学分析[J]. 广西医学, 2007, 29 (11): 1698-1699.
- [2] 于德山, 李红育, 姜中毅, 等. 兰州地区严重急性呼吸道感染住院病例病原谱研究 [J]. 中国病毒病杂志, 2012, 2 (1): 42-46.
- [3] 邹明, 郭丽茹, 苏旭, 等. 天津市儿童急性上呼吸道感染病毒病原学分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8 (10): 924-926, 930.
- [4] 李忠, 刘侗, 张圣洋, 等. 济南地区儿童急性呼吸道感染病原谱分析[J]. 中国公共卫生, 2014, 30 (4): 520-523.
- [5] 任斌知, 张杰敏, 郭支喜, 等. 太原地区急性呼吸道感染病毒病原谱研究[J]. 中国药物与临床, 2012, 12 (6): 708-711.
- [6] 李娟, 向以斌, 曹艺会, 等. 昆明地区急性呼吸道感染病毒病原谱分析 [J]. 昆明医科大学学报, 2013, 34 (10): 73-75, 95.
- [7] Val Blanco del Alfredo, Jos é Mar í a Eiros Bouza, Agust í n M?, et al. Respiratory syncytial virus infection: a decade of contributions [J]. Le Infezioni in Medicina, 2012 (3): 169-175.
- [8] 赵扬. 2008-2009 年兰州地区儿童急性呼吸道感染病毒病原学研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2010: 1-26.
- [9] Parrott RH, Hyun WK, Arrobio JO, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection [J]. American Journal of Epidemiology, 1973, 98 (4): 289-300.
- [10] 曹韵, 张梦妍, 廖虹瑜, 等. 592 例呼吸道感染住院患儿呼吸道合胞病毒感染研究 [J]. 现代预防医学, 2013, 40 (7): 1249-1251.
- [11] 陈翊, 朱冰, 连广琬, 等. 2009-2010 年广州地区儿童呼吸道合胞病毒感染分析 [J]. 广东医学, 2011, 32 (10): 1297-1300.
- [12] 钱渊. 呼吸道合胞病毒感染的免疫 [J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 15 (8): 458-460.

收稿日期: 2014-09-30