

粤东地区2008—2010年急性呼吸道感染住院儿童中人鼻病毒检出及临床分析

封金花 林广裕 陆学东 林创兴 陈派镇 周晓华 蔡晓莹 梁庆斌 马廉

【摘要】 目的 了解2008—2010年粤东地区急性呼吸道感染住院儿童人鼻病毒(HRV)的检出情况、流行规律和感染特点。方法 应用PCR和RT-PCR技术对2008年10月至2010年9月汕头大学第二附属医院儿科住院的部分急性呼吸道感染患儿咽拭子,进行HRV、呼吸道合胞病毒(RSV)等常见10种呼吸道病毒核酸检测,并收集HRV和RSV阳性患者资料。结果 1335例呼吸道感染住院患儿咽拭子阳性率最高的是流感病毒A型(IVA)(25.1%),其次是RSV(15.1%),HRV(9.3%)。HRV感染几乎常年都有发生,2009年检出高峰在夏季,2010年为秋季。单纯HRV感染和混合其他病毒感染的患儿临床症状、体征、胸片、白细胞计数、急性反应蛋白和住院天数的差异无统计学意义。单纯HRV和单纯RSV感染患儿临床症状与体征相似,喘息和咳嗽在RSV感染的患儿中更为多见,单纯RSV感染患儿诊断为毛细支气管炎(25例,28.4%)高于单纯HRV感染(6例,10.7%),差异有统计学意义($\chi^2=0.281, P=0.596$)。结论 HRV是粤东地区急性呼吸道感染较为常见的病原,流行季节随年份的不同略有差异,婴幼儿普遍易感。HRV感染患儿所致毛细支气管炎、咳嗽和喘息均较RSV少,但HRV和哮喘急性发作密切相关。

【关键词】 鼻病毒;急性呼吸道感染;婴幼儿;流行特征

Detection and clinical features of human rhinovirus in hospitalized children with acute respiratory tract infection in eastern areas of Guangdong province FENG Jin-hua^{1,2}, LIN Guang-yu¹, LU Xue-dong³, LIN Chuang-xing¹, CHEN Pai-zhen¹, ZHOU Xiao-hua¹, CAI Xiao-ying¹, LIANG Qing-bin¹, MA Lian¹. 1 Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, China; 2 Zhengzhou Children's Hospital; 3 Shenzhen Fourth People's Hospital Clinical Laboratory

Corresponding authors: LIN Guang-yu, Email: du0077@hotmail.com; LU Xue-dong, Email: luxuedong2004@163.com

This work was supported by a grant from the Science and Technology Program of Guangdong Province (No. 2009B080701076).

【Abstract】 Objective To investigate the prevalence and clinical features of human rhinovirus (HRV) infection in hospitalized children with acute respiratory (ARI) in eastern areas of Guangdong province from 2008 to 2010. **Methods** From Oct. 2008 through Sep. 2010, nasopharyngeal aspirates were collected prospectively, from hospitalized children with acute lower respiratory tract infection at the Second Hospital, affiliated to the Shantou University Medical College. Multiplex PCR was applied to detect ten kinds of viruses including HRV, RSV in the hospitalized children with respiratory tract infection. Clinical data on HRV-positive cases or RSV-positive cases were collected and analyzed. **Results** Among all the 1335 specimens, 124 were confirmed as HRV-positive cases (9.3%), with IVA-positive rate as the highest (25.1%), followed by RSV-positive rate (15.1%). HRV infection occurred sporadically around the year, with the highest HRV-positive rate seen in spring 2009 and autumn in 2010. Symptoms, signs, chest X-ray, leukocyte count and CRP count did not differ between patients with co-infection or single HRV infection. Clinical symptoms or signs were similar between those with single HRV infection or single RSV infection in children, but the single RSV infected children were more frequently seen with wheeze and cough. 28.4% of the single RSV infected children had bronchiolitis while 10.7% of single HRV infected children were seen ($\chi^2=0.281, P=0.596$).

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.10.019

基金项目:广东省科技计划项目(2009B080701076)

作者单位:515041 广东省汕头大学医学院第二附属医院儿科(封金花、林广裕、林创兴、陈派镇、周晓华、蔡晓莹、梁庆斌、马廉);郑州市儿童医院(封金花);深圳市第四人民医院检验科(陆学东)

通信作者:林广裕, Email: du0077@hotmail.com; 陆学东, Email: luxuedong2004@163.com

Conclusion HRV was a relatively common cause for acute respiratory infections in the eastern areas of Guangdong province. The highest HRV-positive rate was slightly different in different years. Infants and young children were generally susceptible to rhinovirus infection. Bronchiolitis, wheeze and cough associated with HRV infection happened less than those caused by RSV.

【Key words】 Rhinovirus; Acute respiratory infection; Children; Epidemic characteristics

人鼻病毒(HRV)是常见的上呼吸道感染病原,2岁以下儿童多有感染^[1]。近年研究表明HRV也可引起儿童下呼吸道感染,包括细支气管炎、肺炎和哮喘急性发作。免疫力低下或慢性阻塞性肺疾病成年患者多可引起下呼吸道感染^[2-4]。本研究应用RT-PCR技术对汕头大学医学院第二附属医院急性呼吸道感染住院儿童的咽拭子进行HRV病毒核酸检测,同时检测包括呼吸道合胞病毒(RSV)在内的常见10种呼吸道病毒,分析粤东地区住院儿童HRV感染的临床特征,为制订有效的预防和治疗策略提供依据。

材料与方法

1. 研究对象:选取2008年10月至2010年9月汕头大学医学院第二附属医院呼吸道感染住院患儿,共1335例。本研究获得医院伦理委员会同意,且患儿家属签字知情同意。临床疾病诊断标准参照诸福棠《实用儿科学》第7版中的上呼吸道感染。纳入标准:发热($\geq 38.0\text{ }^{\circ}\text{C}$),流涕、打喷嚏、咽喉部不适等上呼吸道急性炎症表现者,病程 $< 5\text{ d}$;排除标准:必须排除非感染性病因(如过敏等)所致的上呼吸道急性炎症。下呼吸道感染纳入标准:患者出现咳嗽、痰粘稠,或肺部出现细湿啰音,并X线显示肺部有炎性浸润性病变;排除标准:排除非感染性原因如肺栓塞、心力衰竭、肺水肿、肺癌等所致下呼吸道胸片的改变。对未用抗病毒药物治疗者采集咽拭子。

2. 研究方法:

(1)标本收集及处理:患儿入院2h内,采用无菌聚酯纤维塑料柄拭子采集双侧后咽和扁桃体部位分泌物,采集后立即将咽拭子装入含有2ml病毒运输培养液的无菌小瓶中,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待检。病毒DNA/RNA提取试剂盒(Axyprep Body Fluid Viral DNA/RNA Miniprep Kit)购于美国Axygen公司,严格按照说明书操作,提取所得的DNA/RNA $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。应用PCR技术进行HRV、RSV、腺病毒(ADV)、流感病毒A型(IVA)、流感病毒B型(IVB)、副流感病毒1型(PIV1)、副流感病毒3型(PIV3)、人偏肺病毒(HMPV)、人博卡病毒(HBoV)和WU多瘤病毒(WUPyV)10种常见呼吸道病毒检测。引物设计参照文献[5]。引物由上海生工生物

公司合成,引物序列及多重检测组见参考文献[5]。

以IVA、IVB、PIV1、PIV3、RSV、HRV、ADV、HBoV为各一组,HMPV和WUPyV为单独检出,应用美国Fermentas公司生产的2×PCR Master Mix进行常规PCR扩增,检测DNA病毒;应用德国QiaGen公司生产的One step RT-PCR Kit进行RT-PCR扩增,检测RNA病毒。扩增条件分别为:①多重PCR: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 s; $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 s; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 min; 40个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min。②多重RT-PCR: $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min; $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 s; $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 min; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 s; 40个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min。扩增产物以10 g/L琼脂糖凝胶电泳,在紫外线透照灯下观察结果。

(2)临床资料采集:根据病历记录获取HRV感染患儿的一般情况及临床检测指标。

3. 统计学分析:应用SPSS 13.0软件进行数据处理和分析。正态分布计量资料采用两个独立样本 u 检验;组间率的比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 病毒检测:1335例标本中,病毒检测阳性1065例(79.8%)。其中HRV 124例(9.3%),RSV 202例(15.1%),IVA 335例(25.1%),HBoV 110例(8.2%),PIV3 85例(6.4%),PIV1 60例(4.5%),WUPyV 46例(3.4%),ADV 44例(3.3%),HMPV 43例(3.2%)和IVB 19例(1.4%)。HRV感染阳性患儿中,单纯HRV感染56例(45.2%),合并其他病毒感染68例(54.8%),双重感染合并的病毒是IVA 28例、HBoV 11例,RSV 4例,PIV1 4例,ADV 2例、WUPyV 1例,多重病毒感染18例。

2. HRV感染性别和年龄分析:124份阳性标本中,其中男性79例(63.7%),女性45例(36.3%),男女比例1.8:1。HRV阳性组和全部标本组的性别和年龄差异无统计学意义,见表1。

3. HRV感染季节分布:HRV阳性检出率冬季较低,2009年夏季和2010年秋季较高(图1)。

4. 单纯HRV感染和合并其他病毒感染患儿临床资料分析:单纯HRV感染患儿和合并其他病毒感染患儿在临床症状、实验室检测指标和临床诊断方

表 1 1335 例 HRV 感染患儿性别和年龄分布

项目	总例数 (n=1335)	HRV 阳性例数 (n=124)	χ^2 值	P 值
性别			0.281	0.596
男	882	79		
女	453	45		
月龄				
≤24	910	93	2.467	0.116
24~	316	23	1.669	0.196
60~	47	5	0.003	0.957
84~	62	3	1.849	0.351

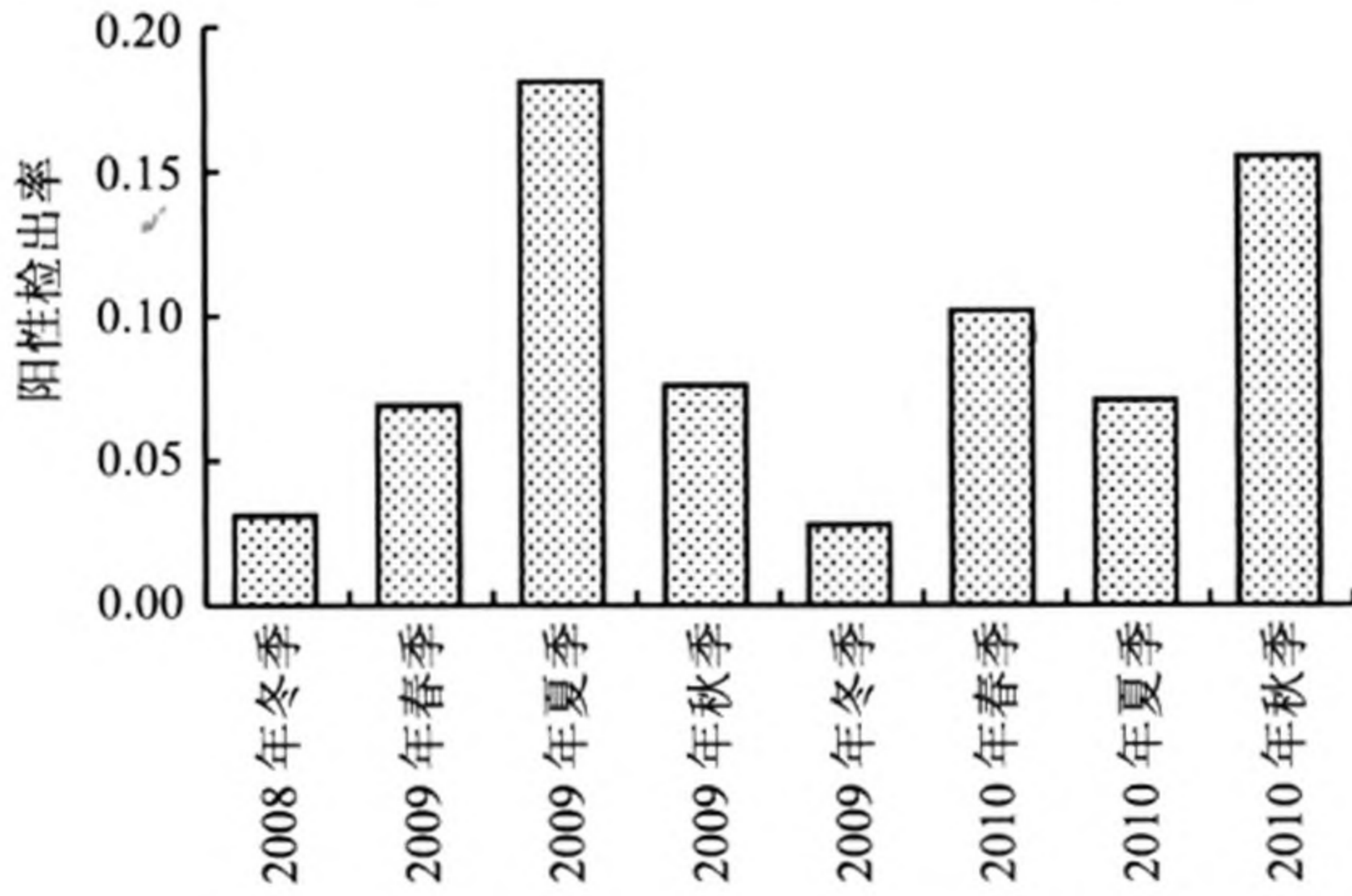


图 1 2008 年 10 月至 2010 年 9 月粤东地区 HRV 感染季节分布

面差异均无统计学意义(表 2)。

5. 单纯 HRV 感染患儿和单纯 RSV 感染患儿临床资料分析:与单纯 HRV 感染患儿相比,单纯感染 RSV 患儿喘息、咳嗽多见,胸片发生异常率高,但差

表 2 单纯 HRV 感染和单纯 HRV 合并其他病毒感染患儿临床资料分析

项目	单纯感染 (n=56)	合并感染 (n=68)	χ^2 值	P 值
临床症状				
发热	27(48.2)	29(42.6)	0.384	0.535
咳嗽	49(87.5)	60(88.2)	0.016	0.901
气促	11(19.6)	7(10.3)	2.163	0.141
喘息	21(37.5)	21(30.9)	0.600	0.438
流涕	7(12.5)	17(25.0)	3.074	0.080
临床检测指标				
白细胞计数 $>(10 \times 10^9/L)$	29(51.8)	41(60.3)	0.904	0.342
CRP $>8 \text{ mg/L}$	15(26.8)	24(35.2)	1.031	0.310
胸片异常	27(48.2)	42(61.8)	2.285	0.131
临床诊断				
上呼吸道感染	8(14.3)	8(11.8)	0.174	0.677
支气管炎	2(3.6)	2(2.9)	-	1.000
支气管肺炎	16(28.6)	29(42.6)	2.632	0.105
毛细支气管炎	6(10.7)	8(11.7)	0.034	0.854
喘息性肺炎	21(37.5)	17(25.0)	2.258	0.133
哮喘急性发作	2(3.6)	2(2.9)	0.098	0.754
其他	1(1.8)	1(1.5)	0.334	0.564

注:括号外数据为例数,括号内数据为百分比(%)

异均无统计学意义。住院时间和临床诊断为毛细支气管炎差异有统计学意义($t=1.742, P=0.041; \chi^2=6.343, P=0.012$),见表 3。

表 3 单纯 HRV 感染和单纯 RSV 感染患儿临床资料分析

项目	单纯 HRV 感染 (n=56)	单纯 RSV 感染 (n=88)	χ^2 值	P 值
临床症状				
发热	27(48.2)	32(36.4)	1.987	0.159
咳嗽	49(87.5)	85(96.6)	-	0.047
气促	11(19.6)	16(18.2)	0.048	0.827
喘息	21(37.5)	40(45.5)	0.887	0.346
流涕	7(12.5)	12(13.6)	0.039	0.844
临床检测指标				
白细胞计数 $>(10 \times 10^9/L)$	12.31 ± 6.35	10.37 ± 15.52	0.393	0.347
CRP (mg/L)	12.75 ± 6.84	9.63 ± 12.90	0.404	0.342
胸片异常	27(48.2)	48(54.5)	0.550	0.459
住院天数	4.11 ± 6.89	5.78 ± 2.50	1.742	0.041
临床诊断				
上呼吸道感染	8(14.3)	8(9.1)	0.395	0.334
支气管炎	2(3.6)	4(4.5)	-	1.000
支气管肺炎	16(28.6)	18(20.5)	1.250	0.264
毛细支气管炎	6(10.7)	25(28.4)	6.343	0.012
喘息性肺炎	21(37.5)	27(30.7)	0.716	0.398
哮喘急性发作	2(3.6)	2(2.3)	-	0.642
其他	1(1.8)	4(4.5)	-	0.649

注:括号外数据为例数,括号内数据为患病率(%)

讨 论

HRV 是病毒性呼吸道感染最常见的病原体之一。HRV 感染患儿临床症状不典型,包括流感样症状、咽炎、喉炎等,可使患有先天性支气管发育异常等基础疾病的婴幼儿有重症倾向^[6]。由于临床 HRV 病原学诊断困难,使得 HRV 在儿童急性呼吸道感染中的作用被低估。本研究收集 2008 年 10 月至 2010 年 9 月的 1335 份标本,检测呼吸道 10 种病毒,阳性率最高的是 IVA (25.1%),其次是 RSV (15.1%) 和 HRV (9.3%),提示研究时期粤东以 IVA 流行为主。124 例 HRV 阳性,阳性率 9.3%,低于北京 (14.5%)、香港 (35.4%) 地区和西班牙 (25.0%)^[7-9],可能是本研究对象仅限住院患者,症状相对较重,而 HRV 感染引起的普通上呼吸道感染多在门诊或社区医院治疗相关。其次,不同地域和气候对 HRV 的流行也可能有影响。

HRV 人群普遍易感,尤以 2 岁以下婴幼儿为主。Blomqvist 等^[1]用血清学方法对 2 月龄至 2 岁婴幼儿进行检测,发现 90% 以上 2 岁以内儿童至少有过 1 次 HRV 感染。广州地区研究显示 ≤3 岁组和 3~6 岁组 HRV 感染阳性率差异无统计学意义,提示

广州地区各年龄组儿童均易感HRV^[10],与本次研究结果一致。

HRV导致的呼吸道感染可常年发生,感染高峰集中在春、秋季,且随地区及气候变化^[11]。本研究HRV无明显季节流行规律,且随年份不同感染高峰季节也不同,可能受各地当年的气候及生活习惯影响。

本研究显示HRV合并其他病毒感染达54.8%。有研究者认为混合病毒感染可加重疾病严重性,或者影响疾病的自然病程^[12],病毒间可能存在协同作用,而另一些研究则认为单纯病毒感染和混合感染的临床特征及诊断无区别^[13],其他病毒仅是一种亚临床感染,而在本研究中单纯HRV感染和HRV合并其他病毒感染的临床资料差异无统计学意义。Calvo等^[9]研究显示单纯RSV感染患儿有较多毛细支气管炎的临床诊断,和本研究均提示RSV是毛细支气管的重要病原。尽管HRV所致婴幼儿毛细支气管炎较RSV少且轻,但可能增加儿童时期哮喘急性发作的危险性^[14-16]。HRV所致的哮喘急性发作占病毒所引起的哮喘急性发作的65%^[17],HRV在哮喘急性发作中的重要性尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Blomqvist S, Roivainen M, Puhakka T, et al. Virological and serological analysis of rhinovirus infections during the first two years of life in a cohort of children. *J Med Virol*, 2002, 66(2): 263-268.
- [2] Kaiser L, Aubert JD, Pache JC, et al. Chronic rhinoviral infection in lung transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(12): 1392-1399.
- [3] Miller EK, Lu X, Erdman DD, et al. Rhinovirus-associated hospitalizations in young children. *J Infect Dis*, 2007, 195(6): 773-781.
- [4] Turner RB. Rhinovirus: more than just a common cold virus. *J Infect Dis*, 2007, 195(6): 765-766.
- [5] Huang L, Zeng FS, Wang Q, et al. Detection for respiratory viruses in children with multiplex PCR. *Chin J Microbiol Immunol*, 2009, 29(7): 664-667. (in Chinese)
黄烈,曾凡胜,王琼,等.多重PCR检测儿童呼吸道感染常见病毒. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2009, 29(7): 664-667.
- [6] Varkey JB, Varkey B. Viral infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med*, 2008, 14(2): 89-94.
- [7] Zhao LQ, Qian Y, Zhu RN, et al. Study on the status of human rhinovirus infections in infants in and young children with acute respiratory infections in Beijing, from 2002 to 2006. *Chin J Epidemiol*, 2007, 28(7): 683-685. (in Chinese)
赵林清,钱渊,朱汝南,等.北京地区2002—2006年急性呼吸道感染儿童中鼻病毒感染的研究. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(7): 683-685.
- [8] Cheuk DK, Tang IW, Chan KH, et al. Rhinovirus infection in hospitalized children in Hong Kong: a prospective study. *Pediatr Infect Dis J*, 2007, 26(11): 995-1000.
- [9] Calvo C, García-García ML, Blanco C, et al. Role of rhinovirus in hospitalized infants with respiratory tract infections in Spain. *Pediatr Infect Dis J*, 2007, 26(10): 904-908.
- [10] Jiang WH, Chen Y, Zhang YY, et al. Clinical studies of the relationship between human rhinovirus with children's acute respiratory infections in Guangzhou. *CJCHC*, 2008, 16(4): 418-422. (in Chinese)
江文辉,陈羿,张莹莹,等.广州地区儿童急性呼吸道鼻病毒感染的临床研究. *中国儿童保健杂志*, 2008, 16(4): 418-422.
- [11] Monto AS. The seasonality of rhinovirus infections and its implications for clinical recognition. *Clin Ther*, 2002, 24(12): 1987-1997.
- [12] Papadopoulos NG, Moustaki M, Tsolia M, et al. Association of rhinovirus infection with increased disease severity in acute bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 1285-1289.
- [13] Coiras MT, Aguilar JC, García ML, et al. Simultaneous detection of four teen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays. *J Med Virol*, 2004, 72(3): 484-495.
- [14] Kotaniemi-Syrjanen A, Vainionpaa R, Reijonen TM, et al. Rhinovirus-induced wheezing in infancy—the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(1): 66-71.
- [15] Reijonen TM, Kotaniemi-Syrjanen A, Korhonen K, et al. Predictors of asthma three years after hospital admission for wheezing in infancy. *Pediatrics*, 2000, 106(6): 1406-1412.
- [16] Lemanske RF Jr, Jackson DJ, Gangnon RE, et al. Rhinovirus illnesses during infancy predict subsequent childhood wheezing. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 116(3): 571-577.
- [17] Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ*, 1995, 310(6989): 1225-1229.

(收稿日期:2012-05-07)

(本文编辑:卢亮平)