

· 临床研究 ·

2017—2018年南京市发热伴呼吸道症候群病原学结果分析

何敏¹,王雅倩¹,石利民¹,董晓庆¹,李卓²,杜雪飞^{1*}¹南京市疾病预防控制中心微生物检验科,江苏 南京 210003;²南京医科大学附属儿童医院呼吸科,江苏 南京 210008

[摘要] 目的:了解2017—2018年南京地区发热伴呼吸道症候群(febrile respiratory syndrome,FRS)的病原谱构成及优势病原流行特点。方法:于南京市鼓楼医院和南京医科大学附属儿童医院收集FRS门诊患者咽拭子标本,采用实时荧光定量PCR方法对可疑标本进行11种常见呼吸道病原的核酸检测,分析南京地区FRS的病原构成、季节变化规律、易感人群。结果:共收检标本206例,阳性检出率为68.93%(142/206)。11种病原均有检出,病原谱前3位是肺炎链球菌(74/206)、流感嗜血杆菌(53/206)、人流感病毒(30/206)。不同的病原体表现出各自的季节性。混合感染66例,最常见为肺炎链球菌合并其他病原感染。儿童发病率高于成人,为易感人群。结论:南京市FRS病原谱构成复杂,肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、人流感病毒是优势病原;不同季节的呼吸道病原谱不一致。今后需对FRS进行持续的监测和进一步深入研究。

[关键词] 发热呼吸道症候群;病原谱;流行特征

[中图分类号] R183.3

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2019)10-1468-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20191012

发热伴呼吸道症候群(febrile respiratory syndrome,FRS)是人群最常见的疾病,多表现为发热伴急性呼吸道感染症状(鼻炎、咽炎、喉炎、气管炎及支气管炎),部分病例发展成肺炎,是全球发病和死亡的常见病因^[1-2]。引起FRS的病原体复杂,常见流感病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、偏肺病毒、腺病毒、冠状病毒等;支原体、细菌等也可以引起呼吸道感染,如肺炎支原体、流感嗜血杆菌、百日咳鲍特菌等。这些病原体感染的临床症状相似,仅根据症状无法对疾病进行准确诊断^[3-4]。因此,对南京市发热伴急性呼吸道感染的门诊病例进行呼吸道感染的多病原检测,了解南京市急性呼吸道感染的病原谱特征及主要病原的季节变化规律,对病原体的及时防治有现实意义。

1 对象和方法

1.1 对象

2017年1月—2018年12月,于南京市鼓楼医院、南京医科大学附属儿童医院采集疑似FRS的成人和儿童门诊患者咽拭子标本。FRS患者入选标准为:发病3 d内,出现发热伴咳嗽、支气管炎和支气

管肺炎等上呼吸道感染症状,听诊呼吸音异常,且尚未使用抗菌药物者。标本放入转运培养液中,4℃保存,冷藏运送至实验室,24 h内进行核酸检测,不能及时进行检测的标本置于-70℃超低温冰箱保存待检。

1.2 方法

根据核酸提取试剂盒Rneasy Mini kit(QIAGEN公司,德国)说明书进行核酸提取,具体包括样本裂解、核酸吸附、核酸纯化和核酸洗脱。提取的核酸,吸取至1.5 mL EP管。

采用实时荧光定量PCR法核酸测试剂盒(广州达安基因公司),具体包括:甲/乙型流感病毒(influenza a/b virus,FLU)、副流感3型(human parainfluenza virus type 3,HPIV-3)病毒、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus,RSV)、腺病毒(adenovirus,ADV)、人鼻病毒(human rhinovirus,HRV)、人偏肺病毒(human partial lung virus,HMPV)、人博卡病毒(human bocavirus,HBov)、人单纯疱疹病毒(herpes simplex virus,HSV)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*,SP)、B型流感嗜血杆菌(*Hemophilus influenzae* type b,HIB)、肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*,MP)。根据PCR试剂盒说明书配制反应体系。分别将待测样本核酸、阴性对照、阳性对照各5 μL加入PCR反应管中,盖紧管盖,离心数秒,放入荧光

[基金项目] 南京市卫计委医学科技发展项目(YKK16176)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:hy3934320@qq.com

定量PCR扩增仪(ABI公司,美国)。依据说明书设定参数,50℃ 15 min,95℃ 15 min;94℃ 15 s→55℃ 45 s(收集荧光),40个循环。运行仪器开始检测。检测完成后依据说明书判定结果。待测标本有扩增曲线且 $C_T \leq 38$ 判为阳性;待测标本无扩增曲线或 $C_T > 38$ 判为阴性。阴性对照无扩增曲线;阳性对照有扩增曲线且 $C_T \leq 32$ 。

1.3 统计学方法

用Excel 2007进行数据整理,用SPSS13.0对数据进行分析。率的比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 荧光定量PCR检测结果

选取每周采集的第1份疑似FRS标本,开展常见11种呼吸道病原的检测。206例FRS标本中核酸阳性142例,阳性率为68.93%(142/206)。单一病原感染76例,占阳性总数的53.52%(76/142)。其中,单一细菌感染38例,包括SP 26例和HIB 12例;单一病毒感染34例,包括FLU 12例,HSV 8例,HRV 7例,ADV 4例,HPIV-3 2例和RSV 1例,HMPV和HBoV未检出(表1)。混合感染共66例,病原谱较为复杂,11种呼吸道病原体都有检出。具体包括43例2种病原的混合感染,19例3种病原混合感染以及4例4种病原混合感染。混合感染模式表现为:细菌合并病毒感染46例,占比69.70%;细菌间混合感染12例,占比18.18%;病毒间混合感染3例,占比4.55%;支原体参与的混合感染5例,占比7.58%。混合感染中,SP(48/66)、HIB(41/66)、FLU(18/66)、HRV(16/66)、HSV(8/66)、ADV(8/66)等病原较为常见。其中,SP合并HIB的双重或多重感染最为常见,共27例,占混合感染的40.91%(表2)。

2.2 病原流行特征

2.2.1 不同时间FRS的病原检出情况

检测数据显示,南京市FRS病原感染阳性率全年分布相对稳定。优势病原中,SP全年均有发病,夏秋季(43/74)略高于冬春季(31/74);HIB全年均有发生,无明显的季节性;FLU的发病主要集中在冬春季,占比73.33%(22/30),以12月—次年2月检出率最高;HRV冬季发病略高于其他季节。其他呼吸道病原的季节性表现为:HSV在8—9月出现1个小的流行高峰,MP、RSV和HMPV主要出现在冬春季,HPIV-3和HBoV出现在夏秋季,ADV冬季未有发生。各呼吸道病原的季节和时间分布具体见图1。

表1 2017—2018年南京市发热伴呼吸道症候群11种病原检测构成情况

呼吸道病原	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)
FLU	12	5.83	8.45
HPIV-3	2	0.97	1.41
RSV	1	0.49	0.70
ADV	4	1.94	2.82
HRV	7	3.40	4.93
HMPV	0	0.00	0.00
HBoV	0	0.00	0.00
HSV	8	3.88	5.63
SP	26	12.62	18.31
HIB	12	5.83	8.45
MP	4	1.94	2.82
混合感染	66	32.04	46.48
合计	142	68.93	100.00

表2 2017—2018年南京市发热伴呼吸道症候群11种病原混合感染情况 (n)

呼吸道病原	双重感染	三重感染	四重感染	合计
FLU	10	7	1	18
HPIV-3	4	2	0	6
RSV	2	1	1	4
ADV	2	5	1	8
HRV	7	8	1	16
Hmpv	0	0	2	2
HBOV	1	1	1	3
HSV	4	3	1	8
SP	27	17	4	48
HIB	25	13	3	41
MP	5	0	1	6

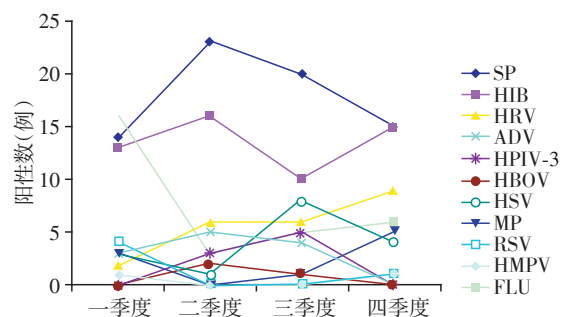


图1 2017—2018年南京市发热伴呼吸道症候群11种病原的季节分布

2.2.2 不同人群FRS的病原检出情况

不同年龄组各病原阳性率存在一定差异。15岁以下儿童的病原检出率为83.50%(86/103),15岁以上为54.37%(56/103),差异有统计学意义($P < 0.05$)。性别方面,总体来看,男性病原检出率为

65.31%(64/98),女性72.22%(78/108),差异无统计学意义($P=0.284$)。值得注意的是,15岁以下年龄组中女性病原检出率为91.67%,明显高于男性病原检出率76.38%,差异有统计学意义($P=0.037$,表3)。

病原方面,MP在成人中的发病率略高于儿童,FLU和HSV在成人和儿童中的发病率相仿,其他HPIV-3、RSV、ADV、HRV、HMPV、HBoV、SP、HIB等病原在儿童中的检出率均高于成人,其中ADV、SP

和HIB的发生率组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。值得注意的是,RSV、HMPV和HBoV仅在15岁以下儿童中检测到,而在15岁以上的年龄组中未检测到(表4)。

3 讨论

急性呼吸道感染是人类最常见的感染性疾病之一,也是造成寿命损失的主要原因和主要的疾病

表3 2017—2018年南京市发热伴呼吸道症候群病例的年龄和性别分布

年龄	疑似例数			阳性例数			阳性率(%)		
	男性	女性	合计	男性	女性	合计	男性	女性	合计
< 15岁	55	48	103	42	44	86	76.36	91.67	83.50
≥ 15岁	43	60	103	22	34	56	51.16	56.67	54.37
合计	98	108	206	64	78	142	65.31	72.22	68.93

表4 不同年龄组人群主要病原检出率差异

年龄	FLU	HPIV-3	RSV	ADV	HRV	HMPV	HBoV	HSV	SP	HIB	MP
< 15岁($n=103$)	14.56	4.85	4.85	10.68	13.59	1.94	2.91	7.77	48.54	33.98	3.88
≥ 15岁($n=103$)	14.56	2.91	0.00	0.97	8.74	0.00	0.00	7.77	23.30	17.47	4.85
<i>P</i> 值	1.00	0.47	0.45*	<0.01*	0.27	0.16*	0.08*	1.00	<0.01	0.01	0.73

*:Fisher确切概率法。

负担^[5]。2003年SARS后,我国先后建立了住院严重急性呼吸道感染病例哨点监测、流感样病例监测和发热呼吸道症候群监测等呼吸道疾病监测系统。由于各地地理位置、季节气候、经济水平存在差异,呼吸道病原体的流行程度因地而异^[6]。本研究分析了2017—2018年南京市FRS门诊病例中常见呼吸道病原的流行情况。研究结果显示,南京市FRS门诊病例总阳性率68.93%,远高于其他省市相关报道阳性率^[6-7]。这可能与本研究采取的单重荧光定量PCR法检测相关,对常见的11种呼吸道病原的特异性基因分别检测,虽工作量大,但引物、探针之间不存在相互拮抗,检测结果更加灵敏和准确。

南京地区FRS优势病原由SP、HIB、FLU、HRV构成。SP和HIB全年均发生,而FLU和HRV表现为明显的季节性。FLU作为一种重要的呼吸道病原体,具有传染力强、人群普遍易感的特点,曾引起人类历史上多次大流行。纵观全国FBS调查研究^[7-9],FLU是各地发热呼吸道症候群的主要病毒性病原体。南京市表现为12月—次年3月和8—9月2个流行高峰,这与中国南方片区的流感流行规律一致,与北方一个流行高峰略有不同^[8]。呼吸道感染疾病的防治是一个全球性问题。目前,对于FLU、HPIV等感染,疫苗接种和药物治疗是相对有效的防

治措施;但对于另一部分病原如RSV、HRV、ADV等,尚缺乏特异性药物且尚无安全有效的疫苗,应注意在人群密集场所加强消毒措施,对患者及时隔离治疗,可有效预防呼吸道各病原的流行,避免高危人群的感染^[10]。相关部门应重点针对目前南京地区优势病原,根据病原的流行特征,特别是对于季节性明显的病原,在疾病流行前期积极开展健康教育和广泛宣传,普及防治知识,提高广大民众的防病意识。

南京地区FRS病原在儿童中检出率为83.50%,远高于成人54.37%;常见感染中,FLU、HRV和HSV的发病率在儿童和成人间大致相当,但ADV和RSV仅在儿童中发生。儿童由于自身抵抗力和所处的生活、学习环境特点,患呼吸道感染的风险更高。本次研究还发现15岁以下人群中,女性FRS发生率明显高于男性,可能的原因是女生平时较少参加体育锻炼,身体抵抗力较弱,易遭受病原体的入侵。对儿童这个群体而言,安全用药也是一个社会问题。因此,建议儿童及易感人群积极主动接种疫苗进行预防,降低儿童发病率和用药风险。

与既往报道的南京地区呼吸道监测数据相比^[11],近年来南京地区FRS呈现出一个新的特点——混合感染率显著增高,且存在多种混合感染模式,包

括病毒和细菌间、多种病毒间、多种细菌间混合感染。由于多重病原体感染人体,可能形成复杂的致病机制,增加了病毒变异的风险,因此更应重视混合感染的问题^[12]。不同于云南省呼吸道混合感染情况以MP合并其他病原为主^[12],武汉市以ADV合并感染多见^[13],南京市主要是SP合并其他病原感染,提示一直以来FRS感染优先考虑病毒感染的同时,也要重视SP感染,针对相似临床表现的病例应加强病原的全面监测与检测,以便采取合理治疗措施。本次监测中,HMPV、HBoV等病毒有少量检出,由于对这些呼吸道病毒的监测时间不长,阳性样本数较少,因此,对它们在南京地区的流行规律还有待进一步研究。

通过对南京市常见呼吸道病原的研究,初步揭示了近两年南京市FRS的病原谱及各病原流行特征。接下来,需进一步完善和深入监测工作,提高南京市呼吸道病原监测能力,为临床诊疗和防控策略的制定提供帮助和依据。

【参考文献】

- [1] Sandrock CE. Severe febrile respiratory illnesses as a cause of mass critical care[J]. *Respir Care*, 2008, 53(1): 40-53
- [2] 董晓春,李琳,李佳萌,等. 天津市发热呼吸道症候群不同类型样本的病毒病原特征分析[J]. *华南预防医学*, 2013, 39(3): 43-46
- [3] 杨玫,孟蕾,牛丽霞,等. 2010—2015年甘肃省发热呼吸道症候群病原体监测结果[J]. *中华疾病控制杂志*, 2018, 22(9): 42-45
- [4] 孙海波,于伟,王璐璐,等. 辽宁省发热伴呼吸道症候群病原谱及流行特征[J]. *中国公共卫生*, 2017, 33(6):

997-1000

- [5] Guo RN, Zheng HZ, Li JS, et al. A population-based study on incidence and economic burden of influenza-like illness in South China, 2007[J]. *Public Health*, 2011, 125(6): 389-395
- [6] 李翔,方斌,叶国军,等. 武汉市2012—2015年发热呼吸道症候群监测病例病毒检测结果分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2018, 22(8): 833-836
- [7] 王昕,房师松,彭博,等. 深圳市流感样病例感染常见呼吸道病毒的流行特征分析[J]. *国际病毒学杂志*, 2015, 22(3): 165-169
- [8] 向星宇,张红,高立冬,等. 湖南省2012—2014年发热呼吸道症候群哨点监测结果及分析[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(12): 1419-1423
- [9] 李璐,王玉月,史伟峰,等. 常州地区儿童呼吸道感染病原体的流行病学分析[J]. *临床检验杂志*, 2013, 31(3): 233-234
- [10] Cebeý-Lopez M, Herberg J, Pardo-Seco J, et al. Viral co-infections in pediatric patients hospitalized with lower tract acute respiratory infections[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0136526
- [11] 陈小琴,冯东举,姚堃. 340例儿童急性呼吸道感染常见病毒病原的检测[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2010, 30(12): 1756-1759
- [12] 黄正洪,曹研. 呼吸道混合感染病因分析在临床诊治中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(8): 1012-1013
- [13] 占建波,方斌,杨红梅,等. 2015年湖北省武汉市发热呼吸道症候群病原谱研究[J]. *实用预防医学*, 2017, 24(8): 922-924

【收稿日期】 2019-06-19

(上接第1458页)

- [18] 刘金荣,白璐月,唐奇,等. 全人源抗Trop-2 IgG的制备及对卵巢癌细胞生物特性的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(3): 280-286
- [19] 黄华艺. TROP2与肿瘤的关系及其作为肿瘤治疗靶点的价值[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(12): 860-863
- [20] 崔倪,李明,倪劲松,等. 过表达TROP2对细胞增殖及迁移能力的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(6): 879-882
- [21] 于群,苗庆芳. 抗肿瘤药物靶点Trop2研究进展[J]. *中国医药生物技术*, 2018, 13(4): 353-357
- [22] 屈中玉,陶海云,李印,等. CTLA-4及VEGFR2在乳腺癌中的表达与病理分级的相关性[J]. *临床心身疾病杂志*, 2017, 23(4): 1-4
- [23] Liu J, Agarwal S. Mechanical signals activate vascular en-

dothelial growth factor receptor-2 to upregulate endothelial cell proliferation during inflammation[J]. *J Immunol*, 2010, 185(2): 1215-1221

- [24] Masson-Gadais B, Houle F, Laferriere J, et al. Integrin alphavbeta3, requirement for VEGFR2-mediated activation of SAPK2/p38 and for Hsp90-dependent phosphorylation of focal adhesion kinase in endothelial cells activated by VEGF[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2003, 8(1): 37-52
- [25] Chen SH, Murphy DA, Lassoued W, et al. Activated STAT3 is a mediator and biomarker of VEGF endothelial activation[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(12): 1994-2003
- [26] Markman B, Dienstmann R, Tabernero J. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway - beyond rapalogs[J]. *Oncotarget*, 2010, 1(7): 530-543

【收稿日期】 2019-07-16