

· 论 著 ·

2005年苏州地区呼吸道感染儿童中流感病毒的检测与分析

张学兰¹ 季正华¹ 丁云芳¹ 朱宏¹ 季伟¹ 严永东¹ 潘浩²

1.苏州大学附属儿童医院(江苏苏州 215003); 2.江苏省疾病预防控制中心(江苏南京 210009)

摘要: 目的 对2005年苏州地区呼吸道感染儿童中流感病毒进行流行季节的监测和分析。方法 用直接免疫荧光法(DFA)结合胶体金免疫技术对患儿鼻咽分泌物进行流感病毒A、B型抗原检测(DFA 同时也检测呼吸道合胞病毒RSV等病毒抗原);用一步法逆转录聚合酶链(RT-PCR)反应对上述两法同时检出流感病毒A型者标本进行亚型鉴定;同时对确诊流感患儿血清用酶联免疫吸附法(ELISA)进行肺炎支原体(MP)抗体滴度测定。结果 746例标本共检出流感病毒58株,其中A型47株(H₁亚型28株、H₃亚型19株),B型11株(1株为A与B混合),总阳性检出率7.77%,与2001年(16.75%)比较,差异有统计学意义(P<0.01);流感病毒与RSV等混合感染率为18.97%、与MP混合感染率为27.59%;2005年流感病毒检出率女童高于男童(P<0.05),高发年龄集中于3~7岁。结论 2005年苏州地区儿童流感发病较稳定,10月份后优势株由H₃亚型转为H₁亚型;流感病毒易出现与MP、RSV混合感染现象;2005年苏州地区流感儿童发病以3岁以上女童占明显优势,与往年无明显性别差异。

[临床儿科杂志,2007,25(7):551-553]

关键词: 流感病毒A型; 流感病毒B型; 儿童; 发病率; 呼吸道感染

中图分类号: R725 文献标志码: A 文章编码: 1000-3606(2007)07-551-03

Detection and analysis of influenza virus in children with respiratory tract infections in Suzhou in 2005
ZHANG Xue-lan¹, JI Zheng-hua¹, DING Yun-fang¹, ZHU Hong¹, JI Wei¹, YAN Yong-dong¹, PAN Hao² (1.Children's Hospital Affiliated to Soochow University, Suzhou 215003, Jiangsu, China; 2.Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, Jiangsu, China)

Abstract: Objectives To detect and analyze the incidence of influenza virus in children with respiratory tract infections in Suzhou in 2005. Methods Influenza virus A and B (and other respiratory viruses including respiratory syncytial virus) in nasopharyngeal secretions were detected by direct immunofluorescence assay (DFA) and colloidal gold assay. The subtypes of influenza A were classified by one step RT-PCR. ELISA was used to detect the titer of mycoplasma pneumonia antibody (MP-IgM) in children with confirmed influenza infection. Results Totally 58 influenza virus strains were isolated from 746 specimens. Forty-seven cases were classified as subtype A (H₁ 28 cases, H₃ 19 cases) and 11 cases were of subtype B (one case was mixed subtype A and B). The total prevalence of influenza infection was 7.77%, which was significantly different when compared to 16.75% in 2001 (P<0.01). The mixed infection rates of influenza virus with RSV and MP were 18.97% and 27.59%, respectively. The prevalence of influenza infection was higher in girls than in boys (P<0.05). Age between 3~7 years old had a higher prevalence. Conclusions The prevalence of influenza infection was at steady level in Suzhou in 2005. The main subtype changed from H₃ to H₁ after October. Influenza and RSV or MP coinfections were common. The prevalence of influenza infection in Suzhou in 2005 was higher in girls above 3 years old. Such significant difference between genders was not detected in the former years.

(J Clin Pediatr, 2007, 25(7): 551-553)

Key words: influenza A virus; influenza B virus; children; morbidity; respiratory tract infections

流感病毒是一种引起急性呼吸道疾病的病毒,对人类致病主要是甲型和乙型(A型和B型)。流感病毒具有高度传染性,而儿童是流感病毒最重要的传染源,其发病率高于成人。我们对2005年苏州地区因急性上、下呼吸道感染住院儿童进行

流行季节(1~4月,10~12月)的流感病毒监测及分析,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 样本收集 采集2005年1~4月、10~12月

通讯作者:季伟 电子信箱:szdxjw@163.com

因急性呼吸道感染住院的苏州地区儿童鼻咽分泌物标本 746 份(年龄为出生后 3 d 至 15 周岁)。鼻咽分泌物通过一次性采样器经鼻腔插入 7 ~ 8 cm 达咽后部负压吸取而得, 新鲜制成脱落细胞涂片, 剩余标本 4 冰箱保存。

1.2 病毒抗原检测 采用直接免疫荧光法(DFA, Chem icon 呼吸道病毒诊断试剂盒 Chem icon Intemat-ion Inc. Tem ecula, CA USA)对流感等 7 种呼吸道常见病毒进行检测, 按说明书操作, 以每片不少于 5 只阳性包涵体细胞为阳性, 同时排除非特异性染色; 上法检出阳性后即用同一标本进行胶体金免疫法测定(BD 公司流感病毒 A、B 型抗原检测试剂盒, 日本), 操作按说明书进行。

1.3 病毒 RNA 提取及 RT-PCR 反应 监测点疾控中心对采集的流感 A 型阳性标本(经上述两法鉴定)当天用 MDCK 细胞(国家流感中心提供)进行分离及增量, 方法见文献[1]。取培养液进行 RNA 提取(Q IAGEN 公司的 Rneasy M inikit), 操作按说明书。RT-PCR: Q IAGEN One Step RT-PCR 试剂盒, 操作均按说明书进行。用 A 和 B 的通用引物筛选阳性株, 按 H₁ 和 H₃ 的分型引物分型(引物由上海生工生物技术有限公司合成)。

1.4 流感患儿 MP 血清学测定 用 ELISA (德国公司 V irion /serion 试剂盒)对确诊流感患儿血清进行 MP-IgM、MP-IgG 滴度测定, 操作按说明书进行, 以 IgM 滴度超出参考上限为阳性。

1.5 统计学处理 用 SPSS10.0 软件及 χ^2 检验。

2 结果

2.1 病原学监测 746 份 2005 年苏州地区呼吸道感染儿童鼻咽分泌物标本中共检出流感病毒 58 株, 其中 A 型 47 株, B 型 11 株, 总阳性检出率 7.77%。流感病毒检出率最高月份为 3 月份(11.89%), 最低为 10 月份(1.69%), 7 个月平均检出率 7.77%, 较 2001 年(全国流感流行年)同地区全年检出率(16.76%)下降了 2.16 倍(2002 ~ 2004 年由于缺乏流感正确监测的数据而未能进行比较); 2005 年 3 月份 B 型株占 41.18%, 较 2001 年 3 月份的 36.54% 略有上升, 其余月份均为 A 型株明显优势, 与 2001 年情况相同。2005 年 1 ~ 4 月份 H₃ 亚型 14 株、H₁ 亚型 3 株, 10 ~ 12 月份 H₃ 亚型 5 株、H₁ 亚型 25 株(2001 年未进行亚型鉴定); 2005 年流行季节流感病毒与 RSV 等其他病毒混合感染率 18.97% (表 1), 其中年龄 < 2 岁者

占 90% (主要集中在冬季), 与 2001 年流感流行年的混合感染率(29.16%)类似; 同时流感病毒与 MP 混合感染率高达 27.59% (表 1, 2001 年未开展 MP 测定无法比较)。

表 1 2005 年流感儿童混合感染情况(n=58)

项 目	A 型件				B 型与 RSV 合 计	合 计
	MP	RSV	B 型	副流感		
阳性例数	16	9	1	1	2	29
百分比(%)	27.59	15.52	1.72	1.72	3.45	50.00

2.2 临床资料 2005 年苏州地区呼吸道感染住院儿童中因流感病毒致肺炎者 86.21%, 致上呼吸道感染 6.90%, 哮喘合并流感感染 5.17%, 其他 1.72%, 比例与 2001 年相仿。2005 年住院流感儿童年龄性别分布见表 2。表中 < 6 个月婴幼儿感染率较低, 但与 ~12 个月组差异无统计学意义($\chi^2 = 2.524, P > 0.05$), < 3 岁组与 3 岁组发病率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 15.316, P < 0.01$); 3 岁女童发病率较高($\chi^2 = 4.682, P < 0.05$), 2005 年流感发病总体性别差异有统计学意义($\chi^2 = 6.947, P < 0.05$); 而 2001 年差异无统计学意义(男性 17.41%, 女性 15.66%, $\chi^2 = 1.550, P > 0.05$)。

表 2 2005 年儿童流感发病率性别、年龄比较

年龄 (月)	男			女		
	检测 例数	阳性 例数	阳性率(%)	检测 例数	阳性 例数	阳性率(%)
< 6	168	6	3.57	100	3	3.00
~ 12	145	9	6.21	55	4	7.27
~ 24	74	3	4.05	32	5	15.63
~ 36	39	5	12.82	29	5	17.24
> 36	53	5	9.43	51	13	25.49
合计	479	28	5.85	267	30	11.24

3 讨论

2005 年苏州地区儿童流感发病处于相对稳定状态, 10 月份后优势株由 H₃ 亚型转为 H₁ 亚型, 该趋势与文献^[2]报道一致, 与 2005 年北京地区 1 ~ 8 月份以 H₃ 亚型占优势^[3]也相符。苏州地区儿童急性呼吸道感染中存在较高百分比的混合感染, 与文献^[4]报道一致, 其中以流感病毒 A 型与 MP、RSV 混合感染比例最高, 季节集中于冬季, 以 < 2 岁婴幼儿为主。该情况表明: 流感病毒与 MP、RSV 具有一定的相容性和亲和性; 低年龄婴幼儿细胞免疫功能低下, 易罹患各种混合感染。提

示临床治疗时应综合考虑。苏州地区流感流行年、平稳年均以A型占优势,且流感病毒A型感染住院儿童中以下呼吸道感染占绝对优势,其比例超过了文献报道的A型流行时,流感性肺炎发生率可达5%~38%^[6],估计与我们的病例来源均为住院儿童有关,这与杭州地区报道一致^[6]。但文献报道北京地区儿童89.3%的流感检出率来自门诊急性上呼吸道感染患儿^[7],说明流感病毒致急性上、下呼吸道感染检出比例与病例来源有关,加强对门诊相关患儿的监测有利于全面掌握流感流行病学资料。

2005年3月份苏州地区儿童流感病毒B型检出率较2001年同期有所上升,总体仍以流感病毒A型为主,但2006年该地区3月份B型株占了绝对优势(93.75%),以致部分中小学幼儿园出现了局部暴发的疫情,此情况印证了近几年来我国无论南方、北方B型流感活动都逐渐增强,有向世界范围扩散的趋势^[8,9]。且我们的监测资料显示该B型株与MP混合感染率达26.67%(4/15例),提示治疗时应予综合考虑。2005年苏州地区儿童流感高发月份为3月份,但2001年流感流行年其活跃期为冬季(11月~翌年1月),同时夏季也有一检出峰;杭州地区儿童2001~2004年流感流行在冬季与夏季^[6];北京地区2005年8月份H₃亚型阳性率达14.2%^[9]。这些资料均表明温带地区流感流行已出现新的特点:夏季有低水平的流行,随后是每年的冬春季高峰^[10]。为此2006年我们进行了1~8月份连续监测,发现在3、7~8月份均有流感检出峰。充分证实对流感全年连续监测很有必要,流感的流行气候不是其决定因素。2005年苏州地区呼吸道感染住院儿童中流感病毒检出率以3岁以上女性占优势,其年龄分布与文献^[7,11]基本相符,高发年龄集中在3~7岁,至于性别差异未见报道,且我们2001年的资料也未显示差异,所以本地区儿童流感发病率是否存在性别差异仅1年的资料是偏面的,还需长期连续监测才能下结论。

本研究所用的流感病毒抗原快速检测是采用直接免疫荧光法与快速免疫胶体金法,两者阳性

符合率95%以上,特异性、敏感性高,操作简便,均可作为流感快速诊断方法,为流感的监测提供便捷。

参考文献:

- [1] 郭元吉,程小雯.流行性感病毒及其实验技术[M].北京:中国三峡出版社,1997:71-75.
- [2] 徐翠玲,向妮娟,张烨,等.2004~2005年中国A(H1N1)亚型流感病毒抗原性及基因特性研究[J].中华实验和临床病毒学杂志,2006,20(2):27-29.
- [3] 朱汝南,钱渊,王芳,等.2001~2005年北京地区婴幼儿甲型流感病毒感染的研究[J].中华儿科杂志,2006,44(7):518-522.
- [4] Kobashi Y, Sunagawa T, Asaoka N, et al. Viral infection related to the appearance of acute bacterial respiratory tract infections [J]. Kansenshogaku Zasshi, 2000, 74(1): 949-953 [Japanese].
- [5] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: influenza activity United States, 2003-2004 season [J]. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report, 2003, 52(49): 1197-1202.
- [6] 汪天林,汤宏峰,陈志敏,等.杭州市2001~2004年20363例住院儿童肺炎患者中流感病毒感染的调查[J].中华流行病学杂志,2006,27(2):122.
- [7] 朱汝南,邓洁,王芳,等.2000年秋冬至2002年夏北京地区急性呼吸道感染病毒病原学研究[J].临床儿科杂志,2003,21(1):25-28.
- [8] 吴少慧,于伟,张眉眉,等.辽宁省1999~2005年度流感病原学监测[J].中华流行病学杂志,2006,27(3):238-239.
- [9] Shaw MW, Xu X, Li Y, et al. Reappearance and global spread of variants of influenza B/Victoria/2/87 lineage viruses in the 2000~2001 and 2001~2002 seasons [J]. Virology, 2002, 303(1): 1-8.
- [10] Nguyen-Van-Tam JS, Hampson AW. The epidemiology and clinical impact of pandemic influenza [J]. Vaccine, 2003, 21(16): 1762-1768.
- [11] 丁韵珍,苏犁云,孙家娥,等.2000~2002年上海地区小儿呼吸道病毒感染病原学研究[J].临床儿科杂志,2004,2(4):220-221.

(收稿日期:2006-09-28)