

急性喉炎患儿非细菌病原学分析

张新星¹ 顾文婧¹ 陈正荣¹ 严永东¹ 王宇清¹ 黄莉¹ 王美娟¹ 董贺婷¹ 邵雪君² 季伟¹
苏州大学附属儿童医院 1. 呼吸科, 2. 检验科 (江苏苏州 215003)

摘要: **目的** 了解儿童急性喉炎的非细菌病原学特点。**方法** 收集2006年1月至2015年12月连续10年间因急性喉炎住院治疗的325例患儿的病史资料及痰标本,进行多病原联合检测并结合病史资料进行分析。直接免疫荧光法检测7种常见呼吸道病毒,荧光定量PCR法检测肺炎支原体(MP)、肺炎衣原体(CP)及博卡病毒(HBoV),RT-PCR法检测鼻病毒(HRV)及偏肺病毒(hMPV),入院24h内及治疗7~10d采集静脉血,ELISA法检测血清特异性MP抗体IgG、IgM。**结果** 325例急性喉炎患儿非细菌病原学检出率为46.2%(150/325)。检出病毒76例(23.4%),MP 99例(30.5%)。1~3岁组患儿病毒检出率明显高于<1岁及>3岁组患儿($\chi^2=9.527, P=0.009$)。随着年龄的增加,MP检出率逐渐升高($\chi^2=10.132, P=0.006$)。0~3岁组RSV及hBoV检出率较高。冬春季病毒检出率明显高于夏秋季($\chi^2=5.064, P=0.024$)。冬、春、夏、秋季MP检出率分别为13.1%、25.0%、38.2%、44.9%,MP检出率逐渐升高($\chi^2=4.438, P=0.035$)。RSV冬季检出率高,hBoV夏季检出率较高。**结论** 急性喉炎主要发生于<3岁儿童,不同年龄及季节的病原检出不同。病毒是小年龄组的主要病原,大年龄组则以MP较为多见。

关键词: 急性喉炎; 病原学; 年龄; 季节; 儿童

Analysis of the non-bacteria pathogens of acute laryngitis in children ZHANG Xinxing¹, GU Wenjing¹, CHEN Zhengrong¹, YAN Yongdong¹, WANG Yuqing¹, HUANG Li¹, WANG Meijuan¹, DONG Heting¹, SHAO Xuejun², JI Wei¹
(1. Department of Respiratory; 2. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215003, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To explore the non-bacteria pathogens of acute laryngitis in children. **Methods** The clinical data and sputum sample were collected from 325 patients hospitalized due to acute laryngitis in consecutive 10 years from January 2006 to December 2015. The multiple non-bacteria pathogens were detected and analyzed with clinical data. Seven types of respiratory viruses were detected by direct immunofluorescence. *Mycoplasma pneumoniae* (MP), *Chlamydia pneumoniae* (CP), and Boca virus (HBoV) were detected by fluorescence quantitative PCR. The rhinovirus (HRV) and human metapneumovirus (hMPV) were detected by RT-PCR. Venous blood was collected within 24 h after hospitalization and 7-10 d after treatment. The MP antibody of IgG and IgM were detected by ELISA. **Results** The detection rate of non-bacteria pathogens was 46.2% in 325 children with acute laryngitis (150/325), including 76 cases (23.4%) of virus and 99 cases (30.5%) of MP. Virus detection rate in 1-3 year old children was obviously higher than in 0-1 year old children and over 3 years old children ($\chi^2=9.527, P=0.009$). With the increase of age, the detection rate of MP increased gradually ($\chi^2=10.132, P=0.006$). The detection rates of RSV and hBoV were higher in under 3-year-old children. The detection rates of virus in winter and spring were significantly higher than those in summer and autumn ($\chi^2=5.064, P=0.024$). The detection rates of MP in winter, spring, summer, and autumn was 13.1%, 25.0%, 38.2%, and 44.9% respectively, and the MP detection rates were increased gradually over seasons ($\chi^2=4.438, P=0.035$). The detection rate of RSV was higher in winter, and hBoV was higher in summer. **Conclusion** Acute laryngitis mainly occurred in children under 3-years-old children, and the detected non-bacteria pathogens were different among different ages and seasons. Virus was the major pathogens in young children, while MP was more common in older children.

Key words: acute laryngitis; etiology; age; season; child

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 81570016); 国家青年自然科学基金项目 (No. 81401296)

通信作者: 季伟 电子信箱: szdxjiwei@163.com

急性喉炎是儿科较为常见的呼吸系统疾病之一,起病急、进展快,易发生喉梗阻,若不及时救治可能危及生命^[1]。儿童急性喉炎是由病毒或细菌感染引起的咽喉部位的黏膜发生弥漫性炎症,在婴幼儿中最为常见^[2]。既往研究认为引起儿童急性喉炎的病因有多种,最常见病毒病原为副流感病毒1型,其他有副流感病毒2及3型、流感病毒A及B型、腺病毒、呼吸道合胞病毒等^[3]。近年来儿童呼吸道感染性疾病的病原谱不断地变化,而有关儿童急性喉炎的病原学却鲜有报道。本研究对10年间住院治疗的325例急性喉炎患儿的临床资料进行回顾性总结,分析不同年龄及不同季节急性喉炎患儿的病原学构成,为更好地合理治疗提供病原学参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2006年1月至2015年12月期间入住苏州大学附属儿童医院呼吸科的325例急性喉炎患儿作为研究对象。研究对象入选标准:①年龄1个月~10岁;②符合急性喉炎诊断标准^[4],即临床表现均有犬吠样咳嗽、声嘶、喉鸣、吸气性呼吸困难等;③排除先天性喉喘鸣、支气管异物等所致的喉喘鸣患儿。

研究对象按年龄分为<1岁组、1~3岁组、3岁组;按发病季节分为春季、夏季、秋季、冬季。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 入院24 h内用一次性吸痰管送入患儿鼻腔7~8 cm,负压吸取痰液1~2 mL,送检。入院24 h内及治疗7~10 d病情好转时采集静脉血1~2 mL,30 min内送检。

1.2.2 常见呼吸道病毒检测 采用直接免疫荧光法检测呼吸道7种常见病毒,即呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV),腺病毒(adenovirus, ADV),流感病毒A、B型(influenza virus type A and B, IV-A和IV-B),副流感病毒1、2、3型(parainfluenza virus type 1~3, PIV 1~3)。检测试剂盒均购自美国Chemieon公司,按说明书进行操作,按阳性标准判断结果。荧光显微镜购自德国莱卡公司。

1.2.3 鼻病毒、人偏肺病毒、博卡病毒及非典型病原体检测 ①DNA和RNA的提取,痰液中加入4倍体积的生理盐水,4℃冰箱过夜,吸取1 mL置离心管中,12 000 r/min(离心半径8 cm)离心5 min,去上清,沉淀物分为2等份,1份加入50 μL DNA提取液充分混匀,1份加入50 μL RNA提取液充分混匀,均100℃恒温处理10 min后,12 000 r/min(离心半径8 cm)离心5 min。②核酸扩增:应用RT-PCR

检测鼻病毒(human rhinovirus, HRV)、人偏肺病毒(human metapneumovirus, hMPV),荧光定量PCR检测博卡病毒(human bocavirus, HBoV)及肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP),PCR检测肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*, CP)。③结果判定:取10 μL RT-PCR产物用质量分数为1.5%的琼脂糖凝胶电泳,紫外灯观察,106 bp荧光片段为HRV阳性,213 bp荧光片段为hMPV阳性,528 bp荧光片段为CP阳性。HBoV及MP阳性根据荧光曲线结果判定,结果以Ct值显示,反应结束电脑自动分析结果。④序列测定:选取2份PCR阳性扩增产物经凝胶纯化回收后进行核苷酸序列测定,测序反应由上海生工生物工程技术服务有限公司完成。

1.2.4 血清MP特异性抗体检测 2006年1月至2010年7月采用ELISA法,取患儿外周血1~2 mL,常规离心,取血清10 μL, IgM、IgG分别以1:100和1:20稀释,充分混匀,加入抗原包被的微孔板中,37℃温育60 min,加酶标山羊抗人IgG抗体,再加入底物磷酸对硝基苯酯,温育后加入终止液,于酶标仪450 nm波长处测吸光度(A)450值。借助标准曲线计算各待检血清样品中IgM或IgG抗体的绝对含量。单份血清结果判定: IgM>13 U/mL或IgM>13 U/mL和IgG>10 U/mL表示急性感染;双份血清结果判定:第二份血清IgG和/或IgM升高1.5倍或明显升高则为急性感染^[5]。试剂盒购自德国Virion-Serion公司。2010年8月至2015年12月采用半定量法检测,取患儿外周血1~2 mL,常规离心,取血清10 μL,用样本缓冲液1:100稀释,充分混匀后加入抗原包被的微孔板上的微量孔中,同样把标准血清和对照血清各100 μL加入微量孔中。室温(18℃~25℃)温育30 min,缓冲液洗3遍,加100 μL过氧化物酶标记的抗人IgM(羊)抗体。室温温育30 min,弃微孔板内液体,洗3遍后,滴加100 μL色原/底物液,避光温育15 min。以与加色原/底物液相同的速度和顺序滴加100 μL终止液。酶标仪450 nm波长处测A450值。计算样本A和标准品A的比值,半定量判断MP IgM结果。比值>1.1为阳性,0.8~1.1为可疑,<0.8为阴性。出院时复查血清MP IgM较入院第一次检测血清MP-IgM值升高1.5倍或以上,诊断为MP急性感染^[6]。试剂盒购自德国欧蒙医学实验诊断股份有限公司。

1.3 统计学分析

采用SPSS 18.0软件包,各组阳性率比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;非正态分布计量资料以中位数和四分位数间距表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

325例入组患儿中男235例(72.3%),女90例(27.7%);中位年龄1.25(0.75~2.33)岁(1个月~10岁)。住院期间经过雾化吸入布地奈德混悬液、口服泼尼松和/或静脉滴注甲泼尼龙、控制感染及对症支持治疗后,患儿均好转出院。平均住院天数为(7.15±2.52)d(3~19d)

325例患儿中,<1岁110例(33.8%),男81例,女29例;1~3岁153例(47.1%),男106例,女47例;3岁62例(19.1%),男48例,女14例,各年龄段患儿性别构成比差异无统计学意义($\chi^2=1.606, P=0.448$)。

按气象学划分春、夏、秋、冬四季,春季76例(23.4%),平均年龄(2.06±1.86)岁,男54例、女22例;夏季76例(23.4%),平均年龄(1.51±1.20)岁,男60例、女16例;秋季89例(27.4%),平均年龄(1.84±1.52)岁,男61例、女28例;冬季84例(25.8%),平均年龄(1.67±1.40)岁,男60例、女24例,各季节患儿年龄和性别构成比差异无统计学意义(P 均>0.05)。

2.2 病原总体检出情况

325例急性喉炎患儿中,150例检出非细菌病原,检出率为46.2%(150/325)。76例检出病毒,检出率23.4%,其中RSV检出33例(10.2%),hBoV 11例(3.4%),Pinf 3 10例(3.1%),hMPV 9例(2.8%),Pinf 17例(2.2%),IV-A 6例(1.8%),HRV 2例(0.6%),ADV 1例(0.3%),IV-B 1例(0.3%),Pinf 2 1例(0.3%)。99例检出MP,检出率30.5%。

2.3 不同年龄组比较

<1岁组、1~3岁组、3岁组三组患儿病毒检出率分别为19.1%、30.7%、12.9%,三组差异有统计学意义($\chi^2=9.527, P=0.009$);其中1~3岁组患儿病毒检出率高于<1岁组,也明显高于3岁组患儿病毒检出率

(P 均<0.05),而<1岁组与3岁组差异无统计学意义($P>0.05$)。

MP检出率随着年龄的增加逐渐升高,各组间差异有统计学意义($\chi^2=10.132, P=0.006$)。

<3岁组RSV及hBoV检出率较高,Pinf 3在各年龄组中检出率基本相同,hMPV在1~3岁组检出率相对较高,而Pinf 1和IV-A均在1~3岁组检出率较高,见表1。

2.4 不同季节比较

春夏秋冬四季病毒检出率分别为27.6%、21.1%、15.7%、29.8%,四季病毒检出率无明显统计学差异($\chi^2=5.813, P>0.05$)。冬春季急性喉炎患儿病毒检出率为28.8%(46/160例),明显高于夏秋季的病毒检出率18.2%(30/165例)($\chi^2=5.064, P=0.024$);冬季病毒检出率明显高于秋季($\chi^2=4.873, P=0.027$)。

MP呈现明显季节性,夏秋季MP检出率为41.8%(69/165例),明显高于冬春季的MP检出率18.8%(30/160例)($\chi^2=20.407, P<0.001$);随着季节交替,冬季、春季、夏季、秋季急性喉炎患儿MP检出率分别为13.1%、25.0%、38.2%、44.9%,MP检出率逐渐升高,差异有统计学意义($\chi^2=4.438, P=0.035$)。夏季、秋季MP检出率均高于冬季(P 均<0.001),秋季MP检出率高于春季($P<0.01$),

RSV为急性喉炎患儿冬春季节主要的病毒病原,特别是在冬季,检出率达22.6%。hBoV主要在夏季检出率较高,而Pinf 3除冬季外均有检出。此外,Pinf 1共检出7例,其中5例均在春季检出,而检出的6例IV-A中4例均在冬季,见表2。

3 讨论

近年来小儿急性喉炎等感染性疾病的发病率呈不断上升的趋势。儿童喉炎由病毒或细菌感染引起,

表1 不同年龄急性喉炎患儿常见病毒及非典型病原检出情况比较

[n(%)]

年 龄	总病毒	病 毒						MP
		RSV	hBoV	Pinf 3	hMPV	Pinf 1	IV-A	
<1岁(110例)	21(19.1)	11(10.0)	5(4.5)	3(2.7)	2(1.8)	0(0)	1(0.9)	22(20.0)
1~3岁(153例)	47(30.7)	18(11.8)	6(3.9)	5(3.2)	6(3.9)	6(3.9)	5(3.2)	51(33.3)
3岁(62例)	8(12.9)	4(6.5)	0(0)	2(3.2)	1(1.6)	1(1.6)	0(0)	26(41.9)

表2 不同季节急性喉炎患儿常见病毒及非典型病原检出情况比较

[n(%)]

季 节	总病毒	病 毒						MP
		RSV	hBoV	Pinf 3	hMPV	Pinf 1	IV-A	
春(76例)	21(27.6)	6(7.9)	3(3.9)	3(3.9)	3(3.9)	5(6.6)	1(1.3)	19(25.0)
夏(76例)	16(21.1)	2(2.6)	5(6.6)	4(5.3)	2(2.6)	1(1.3)	1(1.3)	29(38.2)
秋(89例)	14(15.7)	6(6.7)	2(2.2)	3(3.4)	1(1.1)	1(1.1)	0(0)	40(44.9)
冬(84例)	25(29.8)	19(22.6)	1(1.2)	0(0)	3(3.6)	0(0)	4(4.8)	11(13.1)

病毒感染较常见,但很容易继发细菌感染^[7]。一方面,儿童喉腔相对狭小,喉软骨柔软,黏膜淋巴及腺体组织丰富,黏膜下组织较松弛,与成人相比,儿童咽喉部位在感染后容易导致黏膜充血,喉腔狭窄甚至阻塞,容易发生水肿和痉挛,进而引起呼吸困难;另一方面,儿童咳嗽能力相对较弱,容易导致呼吸道分泌物不能及时排出,且儿童神经敏感,受到刺激后也容易引起喉痉挛、喉梗阻;此外,儿童对感染的抵抗力及免疫力较低,喉部感染后炎症反应较重也是喉炎多发的重要原因之一。

本研究中,患儿MP检出率高达30.5%,是引起儿童急性喉炎的首要病原,与既往文献报道病毒为小儿急性喉炎的重要病原存在差异^[3]。究其原因,可能与本地区呼吸道MP感染处于较高水平有一定关系^[8]。本研究中病毒检出率为23.4%,为引起儿童急性喉炎的第二位病原,尤其是RSV,其检出率高达10.2%,在其发病高峰季节的检出率更高达22.6%,为急性喉炎患儿中检出率最高的病毒,这与本课题组既往研究本地区RSV感染好发于冬春季节相一致^[9]。其余检出率较高的病毒有hBoV、Pinf 3、hMPV、Pinf 1、IV-A等,除hBoV、hMPV为新近发现的病毒外,与既往儿童急性喉炎常见病毒基本一致。

既往报道儿童急性喉炎多发生于冬春季节,以婴幼儿多见^[10]。本研究中婴幼儿比例高达80.9%,与既往研究相一致。儿童喉部呈漏斗形,与成人相比相对较长,其喉部有丰富的血管及淋巴组织,发生感染时易发生炎性肿胀。本研究显示,3岁以下急性喉炎患儿的病毒检出率较高,尤其是RSV与hBoV最明显,幼儿病毒检出率最高。而MP则随着年龄的增大逐渐升高,3岁以上急性喉炎患儿中MP检出高达41.9%,这与病原体在不同年龄组中的流行有一定的相关性^[8, 11]。既往研究报道呼吸道感染中病毒、MP、细菌感染均具有明显的季节性^[12]。研究显示,RSV主要流行于冬季,IV在秋冬季高发,PIV在春季高发而hBoV在夏季发病率高,MP常年均流行,夏秋季检出率最高^[8, 13, 14]。本研究显示,儿童急性喉炎病毒在冬春季检出较高,冬季RSV检出高达22.6%,当然冬春季Pinf 1、IV-A感染也需要警惕,而MP则夏秋季较高,这与本地区MP流行状况相一致^[18]。

综上所述,急性喉炎主要发生于<3岁儿童,不同年龄及季节的病原检出不同。病毒是小年龄组的主要病原,而大年龄组则以MP较为多见。因此,在急性喉炎治疗中,开展病原学检查尤为重要,在使用激素治

疗的同时,根据不同季节和不同年龄选择是否使用抗生素治疗,对小儿急性喉炎的治疗及合理使用抗生素均非常重要。

参考文献:

- [1] 卜行宽. 加强小儿耳鼻咽喉科学的学科建设 [J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2004, 39(11): 641-642.
- [2] 王岚, 沈道江, 戴耀华. 普米克令舒雾化吸入治疗小儿急性感染性喉炎的疗效观察 [J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(3): 114-115.
- [3] 薛辛东. 儿科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [4] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 [M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [5] Medjo B, Atanaskovic-Markovic M, Radic S, et al. *Mycoplasma pneumoniae* as a causative agent of community-acquired pneumonia in children: clinical features and laboratory diagnosis [J]. *Ital J Pediatr*, 2014, 40(1): 104.
- [6] Liu FC, Chen PY, Huang F, et al. Rapid diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children by polymerase chain reaction [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2007, 40(6): 507-512.
- [7] 杨丽, 薛梅, 徐凤玲. 对雾化治疗小儿喉炎的困惑 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 50(5): 427-428.
- [8] 张新星, 季伟, 顾文婧, 等. 2005年至2014年苏州地区儿童呼吸道肺炎支原体感染流行病学分析 [J]. 中华传染病杂志, 2015, 33(10): 594-598.
- [9] 季伟, 陈正荣, 郭红波, 等. 苏州童医院住院儿童呼吸道病毒的流行特点及与气候因素的相关性研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(3): 205-210.
- [10] 赵明德. 布地奈德雾化吸入治疗小儿轻度急性感染性喉炎的临床疗效观察 [J]. 儿科药学杂志, 2012, 18(7): 26-28.
- [11] Munywoki PK, Koech DC, Agoti CN, et al. Influence of age, severity of infection, and co-infection on the duration of respiratory syncytial virus (RSV) shedding [J]. *Epidemiol Infect*, 2015, 143(4): 804-812.
- [12] 王宇清, 季伟, 陈正荣, 等. 急性呼吸道感染 8 172 例住院患儿病原学分析 [J]. 中国实用儿科杂志, 2012, 27(11): 834-839.
- [13] Feng L, Li Z, Zhao S, et al. Viral etiologies of hospitalized acute lower respiratory infection patients in China, 2009-2013 [J]. *PloS One*, 2014, 9(6): e99419.
- [14] 季伟, 陈正荣, 周卫芳, 等. 2005—2011年苏州地区急性呼吸道感染住院儿童病原学研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2013, 47(6): 497-503.

(收稿日期: 2016-02-17)

(本文编辑: 梁 华)