

呼吸道常见病毒六联检测结果分析

杨建芬

作者单位: 674100 云南丽江, 丽江市人民医院检验科

通信作者: 杨建芬, Email: 31449548@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2025.03.003

【摘要】 目的 回顾并分析某医院呼吸道常见病毒六联检测结果, 讨论呼吸道感染的流行分布情况, 为临床提供诊断和治疗依据。方法 收集丽江市人民医院 2023 年 11 月—2025 年 3 月接收的 11 531 份病毒六联检测咽拭子标本, 采用 PCR-荧光探针法对甲型流感病毒 (INFA)、乙型流感病毒 (INFB)、呼吸道合胞病毒 (RSV)、腺病毒 (ADV)、人鼻病毒 (HRV)、肺炎支原体 (MP) 6 种病原体进行定性检测; 比较不同种类病原体的检出率, 以及不同季度和不同年龄组的检出率。结果 11 531 份送检呼吸道咽拭子标本中检出阳性样本 4 685 份, 阳性检出率为 40.63%; 其中检出单种病毒感染 3 805 份, 占阳性样本的 81.22%; 两种病毒混合感染 781 份, 占阳性样本的 16.67%; 3 种病毒混合感染 97 份, 占阳性样本的 2.07%; 4 种病毒混合感染 2 份, 占阳性样本的 0.04%。11 531 份送检呼吸道咽拭子标本中检出 1 233 份 INFA、518 份 IFNB、1 390 份 RSV、830 份 ADV、1 628 份 HRV 以及 1 275 份 MP。RSV、HRV、MP 在第 4 季度的检出率最高, 分别为 20.59%、20.66%、18.44%; INFA、INFB 在第 1 季度的检出率最高, 分别为 9.99%、18.08%。RSV、HRV 在 < 1 岁婴幼儿中的检出率最高, 分别为 22.45%、19.33%; INFA 在 > 60 岁老年人中的检出率最高, 为 21.31%; MP 在 7~18 岁青少年中的检出率最高, 为 21.08%。结论 对呼吸道感染患者应尽早实施病原体检测, 能为临床诊治呼吸道疾病提供有效参考依据, 值得进一步推广及应用。

【关键词】 呼吸道病毒六联检测; PCR-荧光探针法; 甲型流感病毒; 肺炎支原体

Results analysis on joint detection of six kinds of common respiratory viruses

Yang Jianfen. Department of Clinical Laboratory, Lijiang People's Hospital, Lijiang 674100, Yunnan, China

Corresponding author: Yang Jianfen, Email: 31449548@qq.com

【Abstract】 **Objective** To review and analyze the results of joint detection of six kinds of common respiratory viruses in a hospital, discuss the prevalence and distribution of respiratory infections, and provide diagnostic and treatment basis for clinical practice. **Methods** The 11 531 samples of throat swab for joint detection of six kinds of common respiratory viruses in Lijiang People's Hospital from November 2023 to March 2025 were collected, and PCR-fluorescent probe method was used to qualitatively detect six kinds of viruses, such as influenza A virus (INFA), influenza B virus (INFB), respiratory syncytial virus (RSV), adenovirus (ADV), human rhinovirus (HRV) and *Mycoplasma pneumoniae* (MP). The detection rates of different viruses, as well as the detection rates in different quarters and age groups were compared. **Results** Out of samples of 11 531 respiratory and pharyngeal swab submitted for testing, 4 685 samples were positive, with a positive rate of 42.74%. Among them, 3 805 cases of single virus infection were detected, accounting for 81.22% of positive samples; 781 cases were co-infected with two kinds of viruses, accounting for 16.67% of positive samples; 97 samples were infected with a mixture of three kinds of viruses, accounting for 2.07% of positive samples; two samples were infected with a mixture of four kinds of viruses, accounting for 0.04% of positive samples. There were 1 233 cases of INFA, 518 cases of IFNB, 1 390 cases of RSV, 830 cases of ADV, 1 628 cases of HRV and 1 275 cases of MP detected in 11 531 samples sent for testing. RSV, HRV and MP had the highest detection rates in the fourth quarter, which were 20.59%, 20.66% and 18.44%, respectively. The detection rates of INFA and INFB were the highest in the first quarter, which were 9.99% and 18.08%, respectively. RSV and HRV had the highest detection rates in infants and young children under 1 year old, which were 22.45% and 19.33%, respectively. The detection rate of INFA was the highest among elderly people over 60 years old, which was 21.31%. MP had the highest detection rate among adolescents aged 7-18 years old, which was 21.08%. **Conclusion** Pathogen testing should be conducted as early as possible for patients with respiratory infections, which could provide effective reference for clinical diagnosis and treatment of respiratory diseases and is worth further promotion and application.

【Key words】 Joint detection of six kinds of common respiratory viruses; PCR-fluorescent probe method; Influenza A virus; *Mycoplasma pneumoniae*

病毒性呼吸道感染具有发病急、感染性强、潜伏期短、传播快等特点^[1],发病率较高,在春冬季节容易流行,主要表现为发热、头痛、咽喉肿痛、咳嗽等,老年人和儿童等免疫力低下人群为高发人群^[2-5]。但多数呼吸道感染性疾病的症状比较相似,临床需通过检测病原体加以鉴别。病毒感染是引起呼吸道感染的主要因素,有研究显示,大部分呼吸道感染主要由人体外非细菌性病原体引起,其中病毒为主要的病原体,具有流行病学特征和病原体感染特征^[6-7],严重危害人类健康。本研究将 11 531 例呼吸道感染病毒感染患者作为研究对象,采用 PCR- 荧光探针法检测甲型流感病毒 (influenza A virus, INFA)、乙型流感病毒 (influenza B virus, INFB)、呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV)、腺病毒 (adenovirus, ADV)、人鼻病毒 (human rhinovirus, HRV)、肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*, MP) 6 种病原体,分析感染情况及不同季节和年龄人群的感染变化趋势,为临床诊治及合理用药提供参考,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 选择 2023 年 11 月—2025 年 3 月在本院住院及门诊收治的 11 531 例呼吸道感染患者作为研究对象,采用 PCR- 荧光探针法定性检测 INFA、INFB、RSV、ADV、HRV、MP。纳入标准:诊断为急性上呼吸道感染。排除标准:① 患精神疾病或有精神病家族史;② 患有其他严重疾病。本研究为回顾性研究,符合医学伦理学标准,已通过本院医学伦理委员会审核批准(审批号:20250402)。

1.2 试剂与仪器 咽拭子采样管和呼吸道感染病毒检测试剂盒均由圣湘生物科技股份有限公司生产;Libex96 核酸提取仪、Gentier 96E 核酸扩增仪以及配套核酸提取或纯化试剂均由西安天隆科技有限公司生产。

1.3 标本采集 由经培训的临床医生进行采样操作,使用无菌咽拭子采集患者双侧扁桃体及咽后壁分泌物,采样后将拭子放

入病毒保存液中送检。

1.4 检测方法 本研究采用 PCR- 荧光探针法进行检测,分离标本病毒,观察病原体种类及临床特征。其中 INFA、INFB、RSV 和 HRV 检测 RNA, ADV 和 MP 检测 DNA。本试剂盒利用针对待检测病原体核酸保守区设计的特异性引物和特异荧光探针,配以 PCR 反应液等组分,在荧光定量 PCR 仪上,应用多重实时荧光 PCR 检测技术,通过荧光信号的变化实现对样本中呼吸道病原体核酸的检测。各项检测操作均严格根据标准操作规程进行。

1.5 质量控制 每次检测均需同步进行阴性和阳性对照试验,阴性和阳性对照均使用试剂盒提供的阴性和阳性质控品,只有在阴性和阳性对照试验正确时才可发出报告。

1.6 阳性结果判读 根据临床研究实验数据绘制受试者工作特征曲线 (receiver operator characteristic curve, ROC 曲线),有明显 S 型扩增曲线,且循环阈值 (cycle threshold, CT) ≤ 40,判定为阳性;无扩增曲线或 CT 值 > 40,判定为阴性。

1.7 统计学分析 应用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计数资料以例 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 呼吸道病毒阳性标本检出情况 6 种病原体在不同月份的检出率见表 1。共送检标本 11 531 份,

表 1 不同月份送检标本中不同呼吸道病原体的阳性检出率比较

时间	标本数 (份)	阳性检出率 (%)					
		INFA	INFB	RSV	ADV	HRV	MP
2023.11	906	28.48 (258)	7.51 (68)	16.89 (153)	17.11 (155)	3.86 (35)	13.58 (123)
2023.12	659	39.45 (260)	5.77 (38)	10.17 (67)	14.87 (98)	17.91 (118)	11.68 (77)
2024.01	581	17.56 (102)	14.80 (86)	13.94 (81)	6.20 (36)	9.81 (57)	5.16 (30)
2024.02	530	4.34 (23)	22.83 (121)	12.45 (66)	7.36 (39)	11.51 (61)	10.38 (55)
2024.03	570	7.54 (43)	17.02 (97)	9.82 (56)	8.25 (47)	12.63 (72)	2.28 (13)
2024.04	570	3.86 (22)	7.19 (41)	6.67 (38)	6.14 (35)	15.09 (86)	1.75 (10)
2024.05	456	4.82 (22)	8.99 (41)	8.33 (38)	7.68 (35)	18.86 (86)	2.19 (10)
2024.06	463	0.43 (2)	0.65 (3)	1.94 (9)	8.86 (41)	17.93 (83)	5.18 (24)
2024.07	611	0.82 (5)	1.15 (7)	5.24 (32)	3.60 (22)	19.48 (119)	14.57 (89)
2024.08	537	1.30 (7)	0.00 (0)	7.82 (42)	6.52 (35)	12.85 (69)	16.95 (91)
2024.09	590	1.19 (7)	0.34 (2)	12.71 (75)	4.92 (29)	21.53 (127)	21.36 (126)
2024.01	768	0.91 (7)	0.26 (2)	24.61 (189)	7.94 (61)	31.25 (240)	20.44 (157)
2024.11	873	1.83 (16)	0.23 (2)	26.58 (232)	7.67 (67)	22.79 (199)	24.97 (218)
2024.12	1 190	21.51 (256)	0.00 (0)	13.61 (162)	4.87 (58)	12.27 (146)	12.35 (147)
2025.01	1 012	8.99 (91)	0.49 (5)	5.63 (57)	2.87 (29)	4.15 (42)	4.35 (44)
2025.02	774	11.76 (91)	0.65 (5)	7.36 (57)	3.75 (29)	5.43 (42)	5.68 (44)
2025.03	441	4.76 (21)	0.00 (0)	8.16 (36)	3.17 (14)	10.43 (46)	3.85 (17)
合计	11 531	10.69 (1 233)	4.49 (518)	12.05 (1 390)	7.20 (830)	14.12 (1 628)	11.06 (1 275)

注: INFA 为甲型流感病毒, INFB 为乙型流感病毒, RSV 为呼吸道合胞病毒, ADV 为腺病毒, HRV 为人鼻病毒, MP 为肺炎支原体

其中检出阳性标本 4 685 份,阳性检出率为 40.63%。在所有阳性标本中包括 1 233 份 INFA(检出率为 10.69%),518 份 INFB(检出率为 4.50%),1 390 份 RSV(检出率为 12.05%),830 份 ADV(检出率为 7.20%),1 628 份 HRV(检出率为 14.12%)以及 1 275 份 MP(检出率为 11.05%)。在 4 685 例阳性样本中,单一病原体感染 3 805 例,两种病原体混合感染 781 例,3 种病原体混合感染 97 例,4 种病原体混合感染 2 例。见表 2。

表 2 送检标本多种病原体检出分布

病原体	例数(例)	占比(%)
单一病原体	3 805	81.22
两种病原体	781	16.67
三种病原体	97	2.07
四种病原体	2	0.04
合计	4 685	100.00

2.2 不同季度呼吸道病原体阳性检出率比较 统计 2024 年各季度的呼吸道病原体阳性检出率,结果见表 3。其中 2024 年第一季度和第四季度均为呼吸道感染的高发期,而第二季度和第三季度检出率则处于较低水平。

表 3 2024 年各季度不同呼吸道感染病原体阳性检出率比较

时间	标本数(份)	阳性检出率[%(份)]		
		INFA	INFB	RSV
第一季度	1 681	9.99(168)	18.08(304)	12.08(203)
第二季度	1 489	3.09(46)	5.71(85)	5.71(85)
第三季度	1 738	1.09(19)	0.52(9)	8.57(149)
第四季度	2 831	9.86(279)	0.14(4)	20.59(583)

时间	标本数(份)	阳性检出率[%(份)]		
		ADV	HRV	MP
第一季度	1 681	7.26(122)	11.30(190)	5.83(98)
第二季度	1 489	7.45(111)	17.13(255)	2.96(44)
第三季度	1 738	4.95(86)	18.12(315)	17.61(306)
第四季度	2 831	6.57(186)	20.66(585)	18.44(522)

注:INFA 为甲型流感病毒,INFB 为乙型流感病毒,RSV 为呼吸道合胞病毒,ADV 为腺病毒,HRV 为人鼻病毒,MP 为肺炎支原体

2.3 不同年龄组呼吸道病原体阳性检出率比较 各年龄组呼吸道病原体阳性检出率见表 4。结果显示,阳性标本在所有年龄组均有分布,但以 1~6 岁组的感染人数最多,其次为 >60 岁组和 <1 岁组,提示免疫功能尚未成熟或已减退的人群更易患呼吸道感染。7~18 岁组及 18~60 岁组的感染人数较少,但 MP 感染以 1~6 岁组及 7~18 岁组为主,该年龄段人群多处于小学、中学等集体环境,学习、住宿时人员密集且相互接触频繁,增加了病原体传播的机

会(MP 主要通过呼吸道飞沫传播)。另外,青少年群体日常活动量较大,社交范围较广,出入公共场所较多,暴露于病原体的概率更高。

表 4 各年龄组不同呼吸道感染病原体阳性检出率比较

年龄	标本数(份)	阳性检出率[%(份)]		
		INFA	INFB	RSV
<1 岁	1 987	4.73(94)	2.82(56)	22.45(446)
1~6 岁	4 995	8.59(429)	3.84(192)	13.59(679)
7~18 岁	1 684	8.08(136)	3.27(55)	3.27(55)
19~60 岁	1 476	15.92(235)	4.47(66)	3.93(58)
>60 岁	1 389	21.31(296)	3.67(51)	6.91(96)

年龄	标本数(份)	阳性检出率[%(份)]		
		ADV	HRV	MP
<1 岁	1 987	4.63(92)	19.33(384)	4.23(84)
1~6 岁	4 995	9.87(493)	18.36(917)	11.91(595)
7~18 岁	1 684	6.00(101)	9.62(162)	21.08(355)
19~60 岁	1 476	4.07(60)	9.35(138)	9.49(140)
>60 岁	1 389	2.66(37)	11.09(154)	6.26(87)

注:INFA 为甲型流感病毒,INFB 为乙型流感病毒,RSV 为呼吸道合胞病毒,ADV 为腺病毒,HRV 为人鼻病毒,MP 为肺炎支原体

3 讨论

呼吸道病毒感染是全球公共卫生领域面临的重大挑战,其流行病学特征受到宿主免疫状态、环境变化及病原体变异等多种因素的共同影响^[8-10]。呼吸道病原体的感染对象几乎覆盖所有年龄层,但其中尤以婴幼儿、老年人及慢性基础疾病患者等免疫功能低下群体最为易感。有研究指出,儿童和老年人是呼吸道感染的主要发病人群,病毒是最常见的致病因素之一^[11]。急性呼吸道感染具有传播速度快、感染率高、容易造成季节性或区域性暴发流行的特征,不同地区的主要病毒谱构成亦存在差异^[12]。因此,临床治疗需基于明确的病原学诊断结果,以便进行靶向干预,避免盲目使用抗菌药物,延误病情或引发耐药性问题。

本研究显示,呼吸道病原体阳性样本在各季度均有分布,主要是由于冬季和春季天气干燥、气温低,符合呼吸道病毒“冷季高发”的流行规律^[13-16]。这种趋势与季节特点密切相关:一四季度气温较低且起伏较大,人体呼吸道黏膜易受刺激,抵抗力下降,更易感染病毒。冬春季人们多在室内活动,门窗关闭导致空气流通差,病毒更易通过飞沫等方式传播。夏秋季气温较高,空气湿润,不仅人体呼吸道黏膜状态相对稳定,且户外活动增多,空气流通较好,病毒传播受到一定抑制,从而使检出率降低。有研究表明,寒冷干燥的环境有利于病毒在空气中的稳

定与传播,同时冬春季人群户外活动减少,室内通风不畅,进一步增加了病毒传播风险^[17]。

本研究显示,呼吸道病原体阳性样本在各年龄段人群中均有分布,其中以年龄≤6岁婴幼儿及>60岁老年人等免疫力低下人群为主。6岁以下婴幼儿及>60岁老年人对呼吸道病毒最易感,这与婴幼儿的免疫系统尚未成熟及老年人免疫力降低,易发生感染性疾病有关^[18]。因此,婴幼儿、儿童及老年人是病毒感染的重点防治人群。

为提升呼吸道感染的病原体检测效率,本研究采用 PCR-荧光探针技术对 6 种常见病原体(INFA、INFB、RSV、ADV、HRV、MP)进行联合检测,PCR-荧光探针技术具有敏感度和特异度高、操作简便、检测周期短等优势,可在 2~4 h 内完成结果判读,显著优于传统培养方法^[19]。其快速、定量、高通量的特性对呼吸道病毒感染的早期识别、精准诊治以及公共卫生应急响应具有重要意义,并且对合理使用抗菌药物的决策过程也具有指导意义。常规诊疗中使用六联 PCR-荧光探针技术并结合本地流行趋势建立动态监测体系,以优化防控策略、提高救治效率。对呼吸道疾病患者应早期进行病原体检测,能够更有效地实现呼吸道传染病的早期发现、及时隔离,从而为临床诊治呼吸道疾病提供有效依据,分析感染情况及变化趋势,为临床诊治及合理用药提供参考。

利益冲突 作者声明不存在利益冲突

参考文献

- GAO Y, ZHU J, ZHAI J, et al. Cellular vesicles-based "all-in-one" vaccine platform triggers mucosal immunity against respiratory viruses [J]. *Nano Today*, 2024, 59: 102473.
- LI X, KONG M, SU X, et al. An outbreak of acute respiratory disease in China caused by human adenovirus type B55 in a physical training facility [J]. *Int J Infect Dis*, 2014, 28: 117-122. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.06.019.
- REN G L, WANG X F, XU J, et al. Comparison of acute pneumonia caused by SARS-COV-2 and other respiratory viruses in children: a retrospective multi-center cohort study during COVID-19 outbreak [J]. *Mil Med Res*, 2021, 8 (1): 13. DOI: 10.1186/s40779-021-00306-7.
- GREEN W D, BECK M A. Obesity impairs the adaptive immune response to influenza virus [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2017, 14 (Supplement_5): S406-S409. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201706-447AW.
- MAITREYI R S, BROOR S, KABRA S K, et al. Rapid detection of respiratory viruses by centrifugation enhanced cultures from children with acute lower respiratory tract infections [J]. *J Clin Virol*, 2000, 16 (1): 41-47. DOI: 10.1016/s1386-6532(99)00075-x.
- 王维, 林书祥, 李胜英, 等. 天津地区儿童急性呼吸道感染病毒病原检测分析 [J]. *天津医药*, 2012, 40 (6): 625-627. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9896.2012.06.032.
- 张华娟. 急性呼吸道感染患儿病原学及血 IL-10 水平变化的研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2014.
- PRUNER K B, PEPPER M. Local memory CD4 T cell niches in respiratory viral infection [J]. *J Exp Med*, 2021, 218 (8): e20201733. DOI: 10.1084/jem.20201733.
- MORIYAMA M, HUGENTOBLE W J, IWASAKI A. Seasonality of respiratory viral infections [J]. *Annu Rev Virol*, 2020, 7 (1): 83-101. DOI: 10.1146/annurev-virology-012420-022445.
- WARDZYNSKA A, PAWELCZYK M, RYWANNIAK J, et al. Circulating microRNAs and T-cell cytokine expression are associated with the characteristics of asthma exacerbation [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2020, 12 (1): 125-136. DOI: 10.4168/aaair.2020.12.1.125.
- WILLIAMS B G, GOUWS E, BOSCHI-PINTO C, et al. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections [J]. *Lancet Infect Dis*, 2002, 2 (1): 25-32. DOI: 10.1016/s1473-3099(01)00170-0.
- 阴睿媛, 徐家丽, 刘欣, 等. 569 例呼吸道感染住院儿童 7 种常见呼吸道病毒病原学分析 [J]. *中国微生态学杂志*, 2017, 29 (6): 684-688. DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201706016.
- SANCHEZ-GONZALEZ L, QUANDELACY T M, JOHANSSON M, et al. Viral etiology and seasonal trends of pediatric acute febrile illness in southern Puerto Rico: a seven-year review [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (2): e0247481. DOI: 10.1371/journal.pone.0247481.
- THONGPAN I, VONGPUNSAWAD S, POOVORAWAN Y. Respiratory syncytial virus infection trend is associated with meteorological factors [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 10931. DOI: 10.1038/s41598-020-67969-5.
- CHEN Z, ZHU Y, WANG Y, et al. Association of meteorological factors with childhood viral acute respiratory infections in subtropical China: an analysis over 11 years [J]. *Arch Virol*, 2014, 159 (4): 631-639. DOI: 10.1007/s00705-013-1863-8.
- CHEN Y, LENG K, LU Y, et al. E Epidemiological features and time-series analysis of influenza incidence in urban and rural areas of Shenyang, China, 2010-2018 [J]. *Epidemiol Infect*, 2020, 148: e29. DOI: 10.1017/S0950268820000151.
- LOWEN A C, STEEL J. Roles of humidity and temperature in shaping influenza seasonality [J]. *J Virol*, 2014, 88 (14): 7692-7695. DOI: 10.1128/JVI.03544-13.
- KIM J H, KIM H Y, LEE M, et al. Respiratory syncytial virus outbreak without influenza in the second year of the coronavirus disease 2019 pandemic: a national sentinel surveillance in Korea, 2021-2022 Season [J]. *J Korean Med Sci*, 2022, 37 (34): e258. DOI: 10.3346/jkms.2022.37.e258.
- ZHU Y, HUANG X, XIE X, et al. Propidium monoazide pretreatment on a 3D-printed microfluidic device for efficient PCR determination of live versus dead microbial cells [J]. *Environ Sci (Camb)*, 2018, 4 (7): 956-964. DOI: 10.1039/c8ew00058a.

(收稿日期: 2025-04-07)

(本文编辑: 郜文)