

## 病例选择和标本保存对流感病毒分离率的影响

胡青坡 宋海红

**摘要:**目的 研究流感病毒分离率的影响因素。方法 收集周浦医院 2008 年采集的流感样病例咽拭子标本的相关资料,进行 logistic 回归分析。结果 2008 年周浦医院流感样病例病毒分离率为 53.27%。经 logistic 回归分析,发病季节和接种时间是流感病毒分离率的影响因素,咳嗽或咽痛、送样时间(48 小时之内)对流感病毒分离率影响在统计学上无意义。结论 样品收集 48 小时内进行检测,一季度和三季度是流感病毒活跃期,尽量多采集样本。有无咳嗽或咽痛在统计学上无意义。加强流感病例发病特点及我国 ILI 评估的研究。

**关键词** 流感 病毒分离率 影响因素 logistic 回归分析

中图分类号:R373.1+3 文献标识码:B 文章编号:1009-9727(2012)3-338-03

Effect of case selection and preservation of specimen on the isolation of influenza virus. HU Qing-po, SONG Hai-hong. (Pudong New Area Shanghai Municipal Centre for Disease Control and Prevention Shanghai 201300 P. R. China)

**Abstract** Objective To investigate the factors influencing the isolation of influenza virus. Methods The data and throat swab specimens of influenza-like cases in Zhoupu Hospital in 2008 were collected and analyzed with Logistic regression analysis. Results The isolation rate of influenza-like illness is 53.27% in Zhoupu Hospital of Shanghai in 2008. By Logistic regression analysis, cough or throat pain and sample delivery (in 48h) were not the influencing factors on the isolation rate of influenza virus. Conclusion The samples be assayed within 48 hours after collection for improving the positive rate of influenza virus isolation. With and without cough or throat pain are not factors statistically associated with the isolation of influenza virus.

**Key words** : Influenza virus; Isolation rate; Influence factors; Logistic regression analysis

流感是至今尚无法完全加以控制的一种病毒性急性呼吸道传染病,同时也是国际上第一个实现全球监测的传染病。流感病毒抗原漂移性强,易变异,易引起全球性的大流行。流感病原学监测是及时发现流感大流行株的基础,也是每年确定流感流行株、推荐疫苗组份、及早发现变异株、对流感疫情预测和预警的基础<sup>[1]</sup>。流感样病例病毒标本的采集、运输和保存是流感病原学监测工作中最基础、最关键的环节,也是影响流感病毒分离率最重要的因素之一。

1988 年以来,大多数流感病毒的新变种首发于我国。许多流感专家推测下次流感大流行首发地最大可能在我国<sup>[2]</sup>。因此,我国政府非常重视流感的监测工作。2005 年 10 月,在全国建立了国家级及非国家级流感监测哨点医院共 239 家,上海市周浦医院为国家级监测医院,在流感监测工作中做了大量的工作。2008 年中国南方片网络流感监测网络实验室采样阳性率约为 10.41%<sup>[3]</sup>,周浦医院采样 193 例,阳性 104 例,采样阳性率为 53.27%,远远高于同期平均水平。

### 1 材料与方法

1.1 材料来源 从 2008 年 1 月 1 日~12 月 31 日上海市周浦医院采集的流感样病例咽拭子标本。流感样病例:体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ,伴咳嗽或咽痛之一者,缺乏其它实验室确定诊断依据,并未服用抗流感病毒药物者<sup>[4]</sup>。

1.2 标本的保存和运输 用无菌聚酯拭子采集咽拭子标本放入无菌采样管,采集后立即在  $4^{\circ}\text{C}$  冷藏条件下运送,24h 之内不能送检需冷冻保存。

1.3 标本检测 收到样品后,置实验室零下  $70^{\circ}\text{C}$  低温冰箱保存,对送检的每份鼻咽拭子标本接种 MDCK 细胞 379 胞或鸡胚进行流感病毒培养。出现细胞病变者用豚鼠血球进行血凝素测定,血凝滴度 $\geq 1:8$  时为阳性。未出现病变者盲传二代,仍未出现病变及血凝者判为阴性。

1.4 统计学处理 数据的输入、核对用 EXCEL 统计分析处理用 SPSS13.0 软件。对体温因素方差齐性检验方法。对其他影响因素用非条件 logistic 回归分析进行单因素、多因素逐步回归分析,用比值比(OR)及 95%的可信区间(CI)等,显著性检验采用最大似然比检验方法。有关指标赋值如下:性别:女=0,男=1,年

基金项目 浦东新区卫生系统重点学科建设(No.PWZxk2010-09)

作者单位 上海市浦东新区疾病预防控制中心,上海 201300

作者简介 胡青坡(1981~),男,医师,在读硕士研究生,研究方向:传染病的预防控制。

龄 :15~=A 25~=B 60~=C ;发病季节 流行季节 =1 ,非流行季节 =2 ;发病天数 0~=1 ,1~=2 2~=3 ;咳嗽或咽痛 :无 =0 ,有 =1 ;送检时间 :<24h=1 24~48h=2 ;接种时间 :<48h=1 ≥ 48h=2。

2 结果

2008 年 1 月 1 日~12 月 31 日期间 ,周浦医院共采集流感样病例咽拭子标本 207 份 ,共有 193 份样本符合要求 ,分离到毒株 104 株 ,流感病毒培养阳性率

分离率为 53.27%。其中甲型 H1N1 74 株 ,甲型 H3N2 16 株 ,乙型 Victoria8 株 ,乙型 Yamagata6 株。采用 SPSS13.0 软件对有关因素进行单因素 logistic 回归分析 选出有统计学意义的指标再进行多因素逐步回归分析 确定流感病毒分离率的影响因素。

单因素分析 将发病季度分为流行季节和非流行季节 将发病天数分为 1d 以内、2d 以内、3d 以内 将症状分为有咳嗽咽痛和无咳嗽咽痛两组 ;将送检时间分为

表 1 经单因素 logistic 回归分析影响流感病毒分离率的因素  
Table 1 Logistic regression analysis of influence factors of virus isolation rate

因素 Factor	B	S.E	χ <sup>2</sup> 值	OR 值(95%CI)	P 值
性别 Sex	0.133	0.290	0.210	1.142(0.647~2.017)	0.647
年龄 Age	- 0.279	0.248	1.270	0.756(0.465~1.229)	0.260
发病季节 Seasonal incidence	- 2.149	0.373	33.167	0.117(0.056~0.242)	0.000
咳嗽或咽痛 cough or throat pain	0.343	0.398	0.741	1.409(0.645~3.076)	0.389
发病天数 1Sick days 1	0.533	0.450	1.404	1.705(0.705~4.118)	0.236
发病天数 2Sick days 2	0.545	0.459	1.413	1.725(0.702~4.236)	0.235
送检时间 Sample delivery	- 2.414	0.766	9.944	0.089(0.020~0.401)	0.002
接种时间 Inoculated time	- 0.863	0.408	4.463	0.422(0.189~0.940)	0.035

24h 以内和 48h 以内两组 将接种时间分为 48h 以内和大于 48h 两组 将这些因素进行单因素回归分析 发病季节、标本送检时间和标本接种时间具有统计学意义。详见表 1。

多因素回归分析 为进一步分析各因素之间的相互

作用 根据单因素分析结果 筛选出差异有显著性的因素进入分析的研究变量 ,将变量同时引入非条件 logistic 逐步回归分析模型 结果显示发病季度和接种天数进入方程 ,方程有统计学意义 结果见表 2。

表 2 多因素非条件 Logistic 回归分析结果  
Table 2 Results of multiple factors Logistic regression analysis

因素 Factor	B	S.E	χ <sup>2</sup> 值	OR 值(95%CI)	P 值
发病季节 Seasonal incidence	- 1.880	0.393	22.940	0.153(0.071~0.329)	0.000
送检时间 Sample delivery	- 1.650	0.886	3.470	0.192(0.034~1.090)	0.063
接种时间 Inoculated time	- 0.992	0.473	4.395	0.371(0.147~0.937)	0.036

3 讨论

影响流感病毒分离率的影响因素很多 ,国内外的研究主要集中在不同的检测方法对流感病毒分离率的影响。本次研究主要为标本的选择、送检和保存条件对病毒分离率的影响。经单因素 logistic 回归分析 ,发病季度、送检时间、接种时间是影响流感病毒分离率的因素。再进一步多因素回归分析 发病季度和接种时间最终进入模型。

有无咳嗽咽痛、发病天数在单因素分析和多因素分析时均未进入模型 ,即这两个因素对流感病毒分离率无影响。流感病毒引起的临床症状是复杂和非特异性的 ,相当多的临床症状可能和流感病毒感染有关 ,因此世界范围内流感监测体系内的流感样病例的定义均有差异<sup>[5 6]</sup>。有文献报道仅西欧地区就存在 21 个流感监测系统使用不同的 ILI 定义<sup>[6]</sup>。本次研究中有无咽痛咳嗽对流感病毒分离率无影响 ,与 ILI 定义不相

符。我国目前的 ILI 定义与 WHO/ 美国 CDC 的 ILI 定义基本一致<sup>[5]</sup> ,但目前关于 ILI 定义的评估资料相当少。提示我们以后要加强流感病例发病特点和我国 ILI 评估的研究。在病例选择过程中 ,将虽无咽痛和咳嗽 ,但其它症状明显或化验室支持的相关病例也纳入采样。

流感流行季节阳性率明显高于非流行季节 ,OR 为 22.940 ,即流感流行季节的病毒分离阳性率是非流行季节的 22.940 倍 ,且差异有显著性。这与流行性感 冒在上海浦东新区的流行特点有关 ,浦东新区流行季节主要为冬春季(上年 12 月~次年 4 月)小高峰及夏秋季(7~9 月)大高峰<sup>[7]</sup>。

在单因素分析中 ,送检时间为影响流感病毒分离率的影响因素 ,但经多因素逐步回归分析后 ,不再成为影响因素。进一步分析后发现 ,各季度的送样时间不一致是引起送检时间在单因素回归分(下转第 344 页)

- study[J]. Scand J Infect Dis 2004 36(2) :144.
- [3] Yu BX ,Yang Q ,Yu WJ. Distribution and drug resistance of *Acinetobacter baumannii* in a period of 5 years [J]. J Shanghai Prev Med 2006 ,18 (8) 366.(In Chinese)  
(俞碧霞 杨青 干文君. 鲍曼不动杆菌 5 年间菌株分布及耐药性变迁[J]. 上海预防医学杂志 2006 ,18(8) 366.)
- [4] Yang EY ,Wang LF ,Tan GL et al. Characteristic and drug resistance of 82 *Acinetobacter baumannii* strains [J]. J Western Med 2009 21 (4) 581.(In Chinese)  
(杨恩芸 王龙飞 谭光林 等. 82 株鲍曼不动杆菌感染特征及耐药性分析[J]. 西部医学 2009 21(4) 581.)
- [5] Li S. Drug resistance of 152 *Acinetobacter baumannii* strains [J]. Chin J Hosp Inf 2007 6(3) :195.(In Chinese)  
(李松. 152 株鲍曼不动杆菌耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2007 6(3) :195.)
- [6] Liu D ,Chen P ,Chen W. Risk factors of nosocomial infection of *Acinetobacter baumannii* and genotyping [J]. Chin J Epidemiol , 2003 24(2) :140.(In Chinese)  
(刘丁 陈萍 陈伟. 鲍曼不动杆菌医院感染的危险因素及基因分型研究[J]. 中华流行病学杂志 2003 24(2) :140.)
- [7] Rafailidis PI ,Ioannidou EN ,Falagas ME. Ampicillin/sulbactam : current status in severe bacterial infections[J]. Drugs 2007 67(13) : 1829.(12) 762-764.(In Chinese)  
(李响新 周铁丽 朱丽青 等. 鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性变迁[J]. 中国抗生素杂志 2007.32(12) 762-764.)
- [8] Joly-Guillou M L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter* [J]. Clin Microbiol Infect 2005 ,11(11) 868-873.
- [9] Perez F ,Hujer AM ,Hujer BK et al. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Antimicrob Agents Chemother , 2007 51(10) 3471-3484.
- [10] Wang H ,Guo P ,Sun H et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp from Chinese hospital [J]. Antimicrob Agents Chemother 2007 51(11) 4022-4028.

收稿日期 2011-10-17 编辑 邢翀

(上接第 339 页)

析中成为影响因素的原因。

接种时间最终进入模型,  $OR=0.371$ ,  $95\%CI: 0.147\sim 0.937$ , 即 48h 后检测的阳性率是收样 48h 内检测阳性率的 0.371 倍, 提示我们在工作中应尽量在收样后 48h 之内检测。根据方案<sup>[4]</sup>要求, 未在 48h 内检测的标本存放于零下 70℃ 冰箱内保存, 但两者依旧差距明显, 原因还需进一步的研究。

本研究发现了一些现象和规律, 但也存在某些问题和不足。如由于条件所限, 本研究仅选取了上海市近郊一家二级综合医院的成人流感样病例作为研究对象, 对其他地区人群的代表意义有待商榷。

流感流行季节为流感病毒活跃期, 提高采样数, 可以明显增加流感病毒阳性标本, 提高流感病毒分离阳性率。实验室在收到样品后, 要尽量在 48h 内进行病毒分离鉴定, 减少反复冻融。

有无咳嗽和咽痛不是影响流感病毒分离率的因素, 在采样时可以将虽无咳嗽咽痛但其它流感症状明显的病例纳入采样对象, 以提高病毒分离阳性率。我国目前关于 ILI 定义与 WHO/ 美国 CDC 的 ILI 定义基本一致<sup>[5]</sup>, 但相关的评估资料相当少。本次研究中有无咽痛咳嗽不会影响流感病毒分离率, 提示我们以后要加强 ILI 评估的研究。

此为初步结果, 有待进一步研究, 若能纳入更多的影响因素, 更大样本, 更广的地域范围, 将能更进一步的明确影响流感病毒分离率的因素, 以采取针对性措施提高流感病毒分离率。

参考文献:

- [1] Guo YJ ,Cheng XW. Influenza virus and experimental technology[M]. Beijing :China's three gorges press ,1997.(In Chinese)  
(郭元吉 程小雯. 流行性感冒病毒及其实验技术[M]. 北京:中国三峡出版社, 1997.)
- [2] Guo YJ ,Dong ZY ,Zhang SL et al. Since the 1968 influenza A in our country population activity profiles[J]. Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology ,1993 7(3) 237.(In Chinese)  
(郭元吉 董震英 张莎林 等. 1968 年以来流行性感冒在我国人群中活动的概况[J]. 中华实验和临床病毒学杂志 1993 7(3) 237.)
- [3] Twelfth in China in the period of influenza and Human Avian Influenza Surveillance Weekly [EB]. ICDC China CDC.2009 (In Chinese)  
(第十二期中国流感和人禽流感监测周报 [EB], 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所.2009)
- [4] National influenza / avian influenza surveillance program (2005 ~ 2010) , China CDC.2005(In Chinese)  
(全国流感/人禽流感监测实施方案(2005~2010).中国疾病预防控制中心 2005.)
- [5] Thursky K ,Cordova SP ,Smith D ,et al. Working towards a simple case definition for influenza surveillance [J]. J Clin Virol 2003 , 27(2) :170-179.
- [6] Aguilera JF ,Paget WJ ,Mosnier A ,et al. Heterogeneous case definitions used for the surveillance of influenza in Europe [J]. Eur J Epidemiol 2003 ,18(8) :751-754.
- [7] Ma P ,Zhang AH. Epidemiological analysis for influenza surveillance in Pudong New Area from 2008 to 2010 [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine 2011 23(6) 262-264.(In Chinese)  
(马平 张爱华. 上海市浦东新区 2008-2010 年流感监测点疫情分析[J]. 上海预防医学 2011 23(6) 262-264.)

收稿日期 2011-11-03 编辑 吴中菲