

儿童血清25(OH)D水平与其流感病毒感染之间的相关性

吴碧涛,任艳,蒋文强

绵阳市中心医院检验科,四川 绵阳 621000

【摘要】 目的 探讨 ≤ 12 岁儿童流感病毒感染与其血清25-羟基维生素D[25(OH)D]水平之间的相关性。方法 回顾性分析2019年1月1日至3月31日于绵阳市中心医院门诊和住院诊治的741例儿童的临床及实验室检查资料。所有患儿均行流感病毒抗原筛查,并于筛查前后一周内检测血清25(OH)D水平。采用固相免疫层析法(胶体金法)检测患儿鼻咽拭子样本中的甲型和乙型流感病毒抗原,高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)检测患儿血清中25(OH)D水平,采用Spearman相关检验分析儿童血清25(OH)D水平与其流感病毒感染之间的相关性。结果 741份样本中共检出流感病毒感染阳性样本263份,阳性率为35.49%,男性与女性患儿阳性率分别为37.75%、32.73%,差异无统计学意义($P>0.05$);0~1岁组、1~3岁组、3~6岁组和 >6 ~12岁组患儿的流感病毒感染阳性率分别为26.92%、39.13%、46.09%和42.25%,差异有显著统计学意义($P<0.01$);流感病毒感染阳性组与阴性组患儿的血清25(OH)D水平分别为 (27.32 ± 9.01) ng/mL及 (28.40 ± 10.95) ng/mL,差异无统计学意义($P>0.05$);血清25(OH)D缺乏组、不足组及适宜组患儿的流感病毒感染阳性率分别为33.33%、40.40%与31.60%,差异无统计学意义($P>0.05$);经Spearman相关分析,患儿流感病毒感染与其血清25(OH)D水平之间无相关性($R=0.039$, $P=0.287$)。结论 儿童流感病毒感染与其血清25(OH)D水平无明显相关性。

【关键词】 血清25-羟基维生素D;流感;儿童;感染;免疫

【中图分类号】 R725.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2020)02—0214—03

Correlation between serum 25(OH)D levels and influenza virus infection in children. WU Bi-tao, REN Yan, JIANG Wen-Qiang. Department of Clinical Laboratory, Mianyang Central Hospital, Mianyang 621000, Sichuan, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between influenza virus infection and serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels in children ≤ 12 years old. **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical and laboratory data of 741 children treated at the Outpatient or Inpatient Department of Mianyang Central Hospital from January 1 to March 31, 2019. All children were screened for influenza virus antigens, and serum 25(OH)D levels were measured within one week before or after screening. Solid phase immunochromatography (colloidal gold method) was used to detect influenza A and B virus antigens in nasopharyngeal swab samples of children, and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS / MS) was used to detect the serum levels of 25(OH)D in children. Spearman correlation test was used to analyze the correlation between serum 25(OH)D levels and influenza virus infection in children. **Results** A total of 263 positive samples were detected among 741 samples of influenza virus infection, with a positive rate of 35.49%. There was no statistically significant difference between the positive rates of male and female children (37.75% vs 32.73%, $P>0.05$). There were statistically significant differences ($P<0.01$) among the positive rates of influenza virus infection in children aged 0-1 years group (26.92%), 1-3 years group (39.13%), 3-6 years group (46.09%), and >6 to 12 years group (42.25%). The mean levels of serum 25(OH)D was (27.32 ± 9.01) ng/mL in children with influenza virus infection-positive group and (28.40 ± 10.95) ng/mL in infection-negative group, respectively, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). The positive rates of influenza virus infection in children with serum 25(OH)D deficiency group, inadequate group, and appropriate group were 33.33%, 40.40%, and 31.60%, respectively, and the differences were not statistically different ($P>0.05$). Spearman correlation analysis showed no correlation between influenza virus infection and serum levels of 25(OH)D in children ($R=0.039$, $P=0.287$).

Conclusion There is no significant correlation between influenza virus infection and serum 25(OH)D levels in children.

【Key words】 Serum 25(OH)D; Influenza; Children; Infection; Immunity

流感是由流感病毒感染引起的急性呼吸道疾病,是人类面临的主要公共卫生健康问题之一,可引起暴发流行。流感具有高度的传染性,19~20世纪曾造成致命的流行病,并导致全球数百人死亡^[1]。尽管所有年龄段都可能因流感发生严重疾病,但儿童不成比例

地承担着流感病毒感染的高风险,儿童的流感感染率始终最高^[2-3]。全球每年约有87 000名5岁以下儿童因流感住院^[4]。NAIR等^[5]的荟萃分析估计,每年有28 000~111 500例5岁以下儿童的死亡可归因于流感相关原因。研究发现,维生素D除参与钙磷代谢、维

通讯作者:吴碧涛, E-mail: 547849696@qq.com

持骨矿盐平衡外,还具有广泛的骨骼外效应,尤其是其对免疫系统的作用越来越受到重视。维生素 D 可通过促进抗菌肽的表达,影响细胞因子分泌等调节免疫系统的功能^[6],通过对免疫系统的调节进而对感染性疾病产生影响。本文拟探讨 0~12 岁儿童流感病毒感染与其血清 25(OH)D 水平之间的关系。

1 材料与方法

1.1 样本来源 回顾性分析 2019 年 1 月 1 日至 3 月 31 日于绵阳市中心医院门诊和住院诊治的 741 例儿童(≤ 12 岁)的临床及实验室检查资料。所有患儿均行流感病毒抗原筛查,并于筛查前后一周内做血清 25(OH)D 水平检测。

1.2 试剂和仪器 甲型/乙型流感病毒抗原检测试剂盒(胶体金法)由 Princeton Biomeditech Corporation 提供;25(OH)D 检测试剂盒由山东济南英盛生物技术有限公司提供,检测仪器为 API3200 MD™LC/MS/MS System。

1.3 检测方法

1.3.1 流感病毒抗原检测 通过化学试剂提取样本中病毒抗原,再用固相免疫层析法检测甲型和乙型流感病毒抗原。收集的鼻咽拭子样本放置于装有提取液的提取孔中 1 min,裂解病毒并释放出抗原,将测试板竖直并轻拍,再平放测试板,使提取液孔中的提取液与染料垫上胶体金标记的冻干抗体结合,并在虹吸作用下沿着检测膜移动,10~15 min 内读取结果,在第 15 min 确认阴性结果。

1.3.2 血清 25(OH)D 检测 按照现行静脉血采集方法空腹采血 2 mL,将血液注入促凝管中,3 000 r/min 离心 15 min,取上清 800 μ L~1.5 mL 离心管中,并加入 8 μ L 保护剂,充分混匀后冷冻(-20°C 或以下)保存,由专业人员采用高效液相色谱串联质谱法集中检测血清 25(OH)D,严格按照试剂说明书及仪器 SOP 操作。参照 2018 年中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会《维生素 D 及其类似物的临床应用共识》^[7],血清 25(OH)D < 20 ng/mL 定义为缺乏,20~30 ng/mL 定义为不足, ≥ 30 ng/mL 定义为适宜。

1.4 实验分组 按年龄将患儿分为 0~1 岁组、1~3 岁组、3~6 岁组及 6~12 岁组;按性别不同划分为男性组与女性组;按患儿血清 25(OH)D 水平不同分为 25(OH)D 缺乏组、不足组、适宜组;按流感病毒抗原检测结果分为阳性与阴性组。

1.5 统计学方法 采用 SPSS19.0 软件进行统计学处理。经 Q-Q 概率图分析显示,计量资料呈正态分布,以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组均数比较采用 student *t* 检验;计数资料以百分率(%)表示,率的比较采用 χ^2 检验。儿童流感病毒感染与其血清 25(OH)D 水平的相关性采用 Spearman 相关检验。以 $P<0.05$ 为差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别及年龄儿童流感病毒感染情况 共计检测咽拭子样本 741 份,其中,流感病毒感染阳性样本 263 例(包括 Flu A 阳性 197 例及 Flu B 阳性 66 例),阳性率为 35.49%。男性患儿共 408 例,其中阳性样本 154 例,阳性率为 37.75%;女性患儿共 333 例,其中阳性样本 109 例,阳性率为 32.73%。经 χ^2 检验,男性与女性患儿流感病毒感染阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=2.01, P=0.16$)。对年龄进行分层分析后发现:0~1 岁组 312 例患儿,流感病毒感染阳性 84 例,阳性率为 26.92%;1~3 岁组 230 例患儿,流感病毒感染阳性 90 例,阳性率为 39.13%;>3~6 岁组 128 例患儿,流感病毒感染阳性 59 例,阳性率为 46.09%;>6~12 岁组 71 例患儿,流感病毒感染阳性 30 例,阳性率为 42.25%。经 χ^2 检验,各年龄组患儿流感病毒感染阳性率比较差异有显著统计学意义($\chi^2=19.04, P<0.01$),其中,3~6 岁组患儿流感病毒感染阳性率最高,而 0~1 岁组患儿流感病毒感染阳性率最低。

2.2 流感病毒感染阳性与阴性组间血清 25(OH)D 水平比较 流感病毒感染阴性组血清 25(OH)D 平均水平为(28.40 \pm 10.95) ng/mL,感染阳性组血清 25(OH)D 平均水平为(27.32 \pm 9.01) ng/mL,差异无统计学意义($t=1.36, P=0.18$)。

2.3 不同 25(OH)D 水平组间流感病毒感染情况比较 血清 25(OH)D 水平缺乏组 156 例患儿,流感病毒感染阳性 52 例,阳性率为 33.33%;25(OH)D 不足组 295 例患儿,流感病毒感染阳性 120 例,阳性率为 40.40%;25(OH)D 适宜组 288 例患儿,流感病毒感染阳性 91 例,阳性率为 31.60%。各组患儿感染阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=5.36, P=0.07$)。

2.4 儿童流感病毒感染与其血清 25(OH)D 水平的相关性 采用 Spearman 相关检验,结果显示患儿流感病毒感染与其血清 25(OH)D 水平之间无相关性($R=0.039, P=0.287$)。

3 讨论

儿童是流感的高发人群及重症病例的高危人群,是流感流行的前哨^[1],对儿童进行流感监测显得尤为重要。流感的确诊需要相对特异的病原学检测,如病毒培养、免疫荧光检测、核酸检测、血清学检测和抗原快速检测等。本研究采用胶体金法对流感病毒抗原进行检测,该方法简便快速、适合临床筛查。在 741 份样本中共检出流感病毒感染阳性样本 263 份,阳性率为 35.49%,男性组与女性组患儿流感病毒感染阳性率差异无统计学意义,这与李翠珍等^[8]的报道一致。不同年龄组患儿流感病毒感染阳性率差异有统计学意义,阳性率最高的为 3~6 岁组,最低的为 0~1 岁组。其

原因可能为:对于3~6岁阶段的儿童,其免疫力尚未健全,并且活动范围广、共用被病毒污染的用具的机会多^[9];而对0~1岁组患儿,大多通过母乳从母体处获得保护性免疫,且多无群体生活,感染的机会相对减少,故该年龄段婴幼儿流感病毒感染阳性率最低,这也与彭质斌等^[10]报道的<6月龄是流感病毒感染的保护性因素的结论相吻合。

维生素D(VitD)是一种常见的脂溶性类固醇激素。循环中VitD首先在肝脏被羟化为25-羟基维生素D。因其含量丰富、半衰期长、性质稳定,25(OH)D常被用作评价体内VitD营养状态的指标。本研究采用的高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS),具有较高的特异性及灵敏度,被认为是目前检测血清25(OH)D的“金标准”方法。维生素D除经典的骨骼系统作用外,还与自身免疫性疾病、感染性疾病、心血管疾病、神经精神疾病甚至肿瘤等密切相关^[11],并参与多种免疫介导的炎症反应过程^[12]。有研究称儿童期哮喘、毛细支气管炎、肺结核等的发病均与维生素D相关,妊娠期补充维生素D可减少儿童呼吸道感染的发生^[13]。张晓丹等^[6]认为维生素D缺乏的人群更易发生感染,而补充维生素D具有一定的辅助抗感染作用,主要包括急性呼吸道感染、皮肤软组织感染及败血症、细菌性阴道炎等,维生素D可能通过促进抗菌肽的产生,上调维生素D受体的mRNA表达,影响免疫调节,影响细菌细胞膜通透性来发挥辅助抗感染作用^[6]。在本研究中,流感病毒感染阳性组与阴性组患儿血清25(OH)D水平差异并无统计学意义,同时,血清25(OH)D缺乏组、不足组以及适宜组患儿的流感病毒感染阳性率差异也无统计学意义,提示儿童流感病毒感染与其血清25(OH)D水平之间可能并无相关性。回顾文献后发现,2016年一项囊括了来自高、中、低等收入国家的3 198名5岁内儿童的大型临床试验表明^[14]:未找到补充维生素D后儿童肺炎或腹泻的感染发生率有所下降的相关证据。在一项动物实验中,GUI等^[15]的研究显示1,25(OH)2D治疗H9N2感染小鼠时对固有免疫产生负性调控,尤其是在疾病的晚期阶段。2017年,AGLIPAY等^[16]的研究发现在1~5岁健康儿童中,每日补充高剂量维生素D与常规剂量补充相比,并未减少儿童患上呼吸道感染的风险,其发现不支持给予儿童高剂量维生素D补充剂以预防病毒性上呼吸道感染的观点。

由此可见,儿童血清维生素D水平与其流感病毒感染的关系尚存争议和疑问,基于维生素D作用的广谱性,不排除维生素D在预防或治疗流感中发挥积极

作用的可能性。我们的研究发现儿童血清25(OH)D水平与其流感病毒感染无明显相关性,其可能原因有:所选样本的数量、研究地域、季节、人种等方面存在局限和偏倚。因此,今后尚需针对更广泛儿童群体的研究,进一步探讨儿童血清维生素D水平与其流感病毒感染之间的关系。

参考文献

- [1] KONDRICH J, ROSENTHAL M. Influenza in children [J]. *Curr Opin Pediatr*, 2017, 29(3): 297-302.
- [2] RUF BR, KNUF M. The burden of seasonal and pandemic influenza in infants and children [J]. *Eur J Pediatr*, 2014, 173(3): 265-276.
- [3] FRAAIJ PL, HEIKKINEN T. Seasonal influenza: the burden of disease in children [J]. *Vaccine*, 2011, 29(43): 7524-7528.
- [4] LAFOND KE, NAIR H, RASOOLY MH, et al. Global role and burden of influenza in pediatric respiratory hospitalizations, 1982-2012: a systematic analysis [J]. *PLoS Med*, 2016, 13(3): e1001977.
- [5] NAIR H, BROOKS WA, KATZ M, et al. Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet*, 2011, 378(9807): 1917-1930.
- [6] 张晓丹, 赵贝, 李光慧, 等. 维生素D缺乏与感染发生的相关性及其机制研究进展[J]. *中国药房*, 2018, 29(5): 710-714.
- [7] 夏维波, 章振林, 林华, 等. 维生素D及其类似物临床应用共识[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018, 11(1): 1-19.
- [8] 李翠珍, 骆玲飞, 闫红静, 等. 2013-2016年上海市闵行区流感监测结果分析[J]. *复旦学报(医学版)*, 2017, 44(5): 685-692.
- [9] 赵秋芬, 穆攀, 李念. 应用快速胶体金法检测儿童甲型流感病毒[J]. *中国医药指南*, 2016, 14(24): 122-123.
- [10] 彭质斌, 许军, 余昭. 中国10省(市)2009-2014年15岁以下儿童流感确诊住院病例严重急性呼吸道感染临床特征及其危险因素分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(3): 210-214.
- [11] REJNMARK L, BISLEV LS, CASHMAN KD, et al. Non-skeletal health effects of vitamin D supplementation: a systematic review on findings from meta-analyses summarizing trial data [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0180512.
- [12] LEE MD, LIN CH, LEI WT, et al. Does Vitamin D Deficiency Affect the Immunogenic Responses to Influenza Vaccination? A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Nutrients*, 2018, 10(4): 1-12.
- [13] 邓开琴, 卢宏柱. 维生素D缺乏与儿童疾病研究进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(23): 4302-4304.
- [14] YAKOUB MY, SALAM RA, KHAN FR, et al. Vitamin D supplementation for preventing infections in children under five years of age [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 11: CD008824.
- [15] GUI B, CHEN Q, HU C, et al. Effects of calcitriol (1,25-dihydroxy-vitamin D3) on the inflammatory response induced by H9N2 influenza virus infection in human lung A549 epithelial cells and in mice [J]. *Virology*, 2017, 14: 10-20.
- [16] AGLIPAY M, BIRKEN CS, PARKIN PC, et al. Effect of high-dose vs standard-dose wintertime vitamin D supplementation on viral upper respiratory tract infections in young healthy children [J]. *JAMA*, 2017, 318(3): 245-254.

(收稿日期:2019-06-15)