

· 临床经验 ·

2745 例腹泻儿童轮状病毒感染分析

杨学磊¹ 何建华² 杨学彤³

(1. 新疆维吾尔自治区人民医院,新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 乌鲁木齐市第一人民医院,新疆 乌鲁木齐 830002;
3. 塔里木油田石化分公司,新疆 库尔勒 841000)

[中图分类号] R442.2 [文献标识码] D [文章编号] 1008-8830(2011)03-0255-03

轮状病毒(Rotavirus)是引起儿童腹泻的主要病原体,几乎所有儿童在5岁前都感染过轮状病毒^[1]。为了解乌鲁木齐地区腹泻儿童轮状病毒感染情况,更好地监测和防治轮状病毒腹泻,本研究对2006年在乌鲁木齐市第一人民医院(儿童医院)就诊的2745例腹泻儿童进行轮状病毒检测,并进行了轮状病毒G基因型分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2006年4~12月乌鲁木齐市第一人民医院(儿童医院)门诊或住院≤5岁腹泻婴幼儿大便标本2745例。这些腹泻患儿24 h内解稀便≥3次,伴或不伴呕吐和(或)发热,有或无轻中度脱水,病程不超过14 d。其中,住院573例,门诊2172例;男1680例,女1065例,男女比例为1.58:1;汉族2524例,维吾尔、回、哈、俄、蒙、满等民族221例。标本经检测轮状病毒后置-20℃保存备用。

1.2 轮状病毒检测

采用卫生部兰州生物制品研究所生产的快速一步法轮状病毒抗原检测试剂盒直接检测粪便标本中轮状病毒抗原。按说明书操作。

1.3 轮状病毒RNA提取

取200 μL 10%稀释的轮状病毒抗原阳性粪便标本,采用Geneaid Viral Nucleic Acid Extration kit II试剂盒提取轮状病毒RNA。按说明书操作。

1.4 逆转录-多重聚合酶链反应(RT-PCR)

提取的轮状病毒RNA 95℃变性3 min,用TaKaRa One Step RNA PCR kit 试剂盒(货号DRR055A)进行RT-PCR,扩增轮状病毒VP7基因进

行G基因型分析,所用引物参照Couvea设计^[2]并略做修改。具体步骤为:50℃ 30 min进行逆转录,接着95℃ 2 min灭活逆转录酶,激活Taq DNA聚合酶进行35个循环的扩增(94℃ 30 s, 50℃ 30 s, 72℃, 1 min),最后72℃延伸10 min。扩增设阴阳性对照。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,溴乙锭染色,紫外灯观察,根据型特异性片段大小判断基因型。

1.5 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件进行统计学分析,数据以构成比表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 轮状病毒感染情况

2745例样本中,轮状病毒阳性1055例,阳性率为38.43%。门诊腹泻患儿2172例,阳性806例,阳性率37.11%;住院腹泻患儿573例,阳性249例,阳性率为43.45%。住院患儿轮状病毒阳性率显著高于门诊患儿($\chi^2=7.719, P=0.005$)。

2745例腹泻标本中,男性患儿轮状病毒阳性率39.23%(659/1680),女性患儿阳性率37.18%(396/1065),男女患儿阳性率差异无统计学意义($\chi^2=1.150, P=0.284$)。汉族轮状病毒阳性率为38.03%(960/2524),维吾尔等其他民族患儿阳性率为42.98%(95/221),汉族与其他民族患儿阳性率差异无统计学意义($\chi^2=2.106, P=0.147$)。

2.2 轮状病毒腹泻患儿年龄分布

月龄12~23月患儿轮状病毒感染率最高,达43.29%,其次为6~11月患儿,感染率达40.19%。轮状病毒阳性患儿中24月以内占94.50%,为轮状

[收稿日期]2010-07-28;[修回日期]2010-11-20
[基金项目]国家自然科学基金(30760232);益普生腹泻研究基金(IDF-2007-12)
[作者简介]杨学磊,女,硕士,副研究员。

病毒感染的主要对象。6 月以下患儿感染率达 34.91%,占轮状病毒阳性患儿的 22.37%。见表 1。

表 1 各年龄组腹泻患儿轮状病毒检出率

年龄组(月龄)	检测标本数	病毒阳性标本数	检出率(%)
<6	676	236	34.91
6~	1187	477	40.19
12~	656	284	43.29
24~	132	37	28.03
36~	39	11	28.21
48~60	55	10	18.18

2.3 轮状病毒检出率与季节的关系

8~10 月轮状病毒腹泻检出率较高,分别为 41.19% (278/675)、38.86% (246/633) 和 38.86% (143/368),其次为 7 月 32.88% (121/368)、5 月 30.53% (40/131) 和 11 月 29.78% (53/178),12 月最低,为 22.68% (22/97)。4 月和 6 月轮状病毒检出率虽偏高,分别为 55.65% (64/115) 和 48.89% (88/180),但腹泻例数较少。

2.4 轮状病毒阳性毒株 G 基因型流行情况

利用基于改进的型特异性引物(可检测 G14、G9)的多重 RT-PCR 方法对 100 份轮状病毒阳性标本进行了 G 基因型(G 型)分型。共检测到 4 种 G 型(G1、G2、G3、G9),其中 G1 型(57%)为最流行毒株,其次为 G3 型(20%)、G9 型(9%)和 G2 型(6%),混合感染占 5%,不能分型者占 2%。

3 讨论

以往研究表明轮状病毒是儿童腹泻最常见的病毒致病原,住院腹泻患儿中位检出率 46% (16%~61%),门诊腹泻患儿中位检出率 29% (15%~35%),稍低于住院^[3]。本研究中 79.1% 为门诊患儿,轮状病毒阳性率为 38.43%,而住院患儿阳性率(43.45%)显著高于门诊患儿(37.11%)。此结果与上述研究报道基本一致。其中总检出率与广州地区同年检出率(38.2%)相同^[4],略高于南京的报道(36.9%)^[5]。本研究结果显示轮状病毒阳性率无性别与族别差异,提示轮状病毒感染与生活环境、经济条件关系不大。

轮状病毒感染在大部分国家全年都可发生,但流行高峰一般在寒冷的秋冬季。我国每年的 10 月至次年的 2 月是高发季节^[3,4]。不同地区、不同年份高发季节略有所不同,随气候变化略向前后推移,南

北地区流行高峰一般相差 1~2 月。如广西柳州轮状病毒流行季节为 12 月至次年 1 月;云南昆明为 10~12 月;四川、广州和吉林为 11 月至次年 2 月;上海和苏州为 11 月至次年 1 月;兰州为 11 月;新疆石河子为 10~12 月等^[3]。本研究发现乌鲁木齐地区 8~10 月轮状病毒腹泻检出率较高,是否为高发季节,有待本地全年监测资料证实。

众所周知 6~24 月儿童轮状病毒感染的发病率最高^[3-7]。本研究结果与此相似,12~23 月患儿轮状病毒感染率最高,达 43.29%,其次为 6~11 月患儿(40.19%)。轮状病毒阳性患儿中 24 月以内占 94.50%,为轮状病毒感染的主要对象。这主要是因为 6~24 月婴幼儿母传抗体逐渐消失,自身免疫力相对较弱,加上活动接触环境范围增大所致。6 月以下患儿轮状病毒感染率达 34.91%,较方肇寅等^[8]报道(12%)增加,可能与人工喂养与混合喂养婴儿增加有关。

至今已报道轮状病毒有 16 个 G 基因型,其中 G1、G2、G3、G4 和 G9 是人类感染轮状病毒最常见的 5 种优势基因型,且随时间和地域的不同而变化^[3,9-12]。在我国流行的轮状病毒长期以来以 G1~G3 型毒株为主,其中 G1 型是最主要的流行株,2001 年以后 G3 型在国内广泛流行,代替 G1 型成为流行优势株^[3,11]。2006 年国内报道的轮状病毒最主要流行株仍为 G3 型^[6,7,12-14],如长春地区:G3 型 64.8%,G1 型 5.6%,未分型 14.8%^[13];武汉地区:G3 型 68.7%,G1 型 14.9%,未能分型 8.95%^[14],河北:G3 型 63.9%,G1 型 7.2%,G2 型 2.4%,G9 型占 2.4%,未分型 24.1%^[7];成都地区:G3 型 32%,G1 型 28%,G2 型 20%^[6]。本研究结果显示,2006 年乌鲁木齐地区 G1 型(57%)为最主要流行株,其次为 G3 型(20%)、G9 型(9%)和 G2 型(6%),混合感染占 5%,不能分型占 2%。这与上述国内研究报道的 G3 型占主导截然不同,未能分型毒株所占比例低(可能与改进经典分型引物有关),G9 型流行比例较仅有 G9 型检出的河北高,可见轮状病毒主要流行基因型有地域差异。

目前 WHO 已将轮状病毒感染纳入全球腹泻病控制和免疫规划,持续监测本地轮状病毒感染情况和流行特点意义重大,为有效轮状病毒疫苗在本地区的开发、应用和评估提供流行病学背景资料。

[参 考 文 献]

[1] Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI.

Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children [J]. Emerg Infect Dis, 2003, 9(5):565-572.

[2] Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B, et al. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens[J]. J Clin Microbiol, 1990, 28(2): 276-282.

[3] 张丽杰, 方安. 中国婴幼儿轮状病毒腹泻的流行病学和疾病负担研究进展[J]. 中国计划免疫, 2007, 13(2): 186-191.

[4] 尹应先, 肖密丝, 欧志英, 朱冰. 2005-2007 年广州地区腹泻儿童感染轮状病毒情况分析[J]. 热带医学杂志, 2009, 9(7): 757-759.

[5] 李梅. 南京儿童医院腹泻患儿轮状病毒感染情况[J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(19): 1463-1464.

[6] 廖雪春, 谢晓丽, 周更生, 任敏, 袁珩, 祝小平, 等. 2006 年儿童病毒性腹泻监测结果分析[J]. 预防医学情报杂志, 2009, 25(4): 255-257.

[7] 于秋丽, 刘京生. 河北省 2006 年婴幼儿腹泻轮状病毒的基因分析研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(12): 2270-2272.

[8] 方肇寅, 张丽杰, 章青. 中国轮状病毒腹泻的流行病学和疾病负担估计[J]. 中国计划免疫, 2005, 11(S): 11-14.

[9] Honma S, Chizhikov V, Santos N, Tatsumi M, Timenetsky Mdo C, Linhares AC, et al. Development and validation of DNA microarray for genotyping group A rotavirus VP4 (P[4], P[6], P[8], P[9], P[14]) and VP7 (G1 to G6, G8 to G10, and G12) genes[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(8): 2641-2648.

[10] Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine[J]. Rev Med Virol 2005, 15(1): 29-56.

[11] 张春芳, 贾立英. 亚洲地区轮状病毒感染的流行病学概况[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(1): 79-82.

[12] Duan ZJ, Liu N, Yang SH, Zhang J, Sun LW, Tang JY, et al. Hospital-Based Surveillance of Rotavirus Diarrhea in the People's Republic of China, August 2003-July 2007 [J]. J Infect Dis, 2009, 200 (Suppl 1): S167-173.

[13] 王承训, 孙利炜, 刘愉, 赵艳玲, 邓琳菲, 方肇寅. 长春地区儿童轮状病毒性胃肠炎的研究[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(36): 5144-5145.

[14] 汪洋, 白萱, 余晖, 孙红, 杨继红. 2006 年武汉地区 A 组轮状病毒 VP7 基因型初步研究[J]. 黄冈师范学院学报, 2006, 26(6): 69-72.

(本文编辑:王庆红)

· 消息 ·

2011 年《中国当代儿科杂志》征订、征稿启事

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊,北京大学图书馆中文核心期刊和国际权威检索机构美国 MEDLINE、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊。同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、专家讲座、综述等栏目。本刊也发表国外专家来稿,附有详细的中文摘要。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为月刊,每月 15 日出版,向国内外公开发行。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价 12 元,全年 144 元。邮发代号:国内 42-188;国外 3856(BM)。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。

向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统,免收审稿费。审稿周期 4~6 周。欲浏览本刊或投稿,请登录本刊网站。网站提供免费全文下载。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008
电话:0731-84327402 传真:0731-84327922 Email: ddek7402@163.com
网址: [http:// www. cjcp. org](http://www.cjcp.org)

• 257 •