

·论著·

东莞市2012年病毒性腹泻监测结果分析

李艳芬*,黎景全,袁达康,黄勇,陈永迪,杨华可

东莞市疾病预防控制中心检验科,广东 东莞 523129

摘要:目的 分析东莞市病毒性腹泻中轮状病毒和诺如病毒的感染情况。方法 收集2012年1月至2012年12月东莞市人民医院、高埗医院、寮步医院腹泻门诊病人粪便标本,采用ELISA法检测轮状病毒,采用Realtime RT-PCR方法检测诺如病毒。结果 检测粪便样品共831份,轮状病毒和诺如病毒的检出率分别为15.64%和17.57%。轮状病毒感染有明显的季节特征,秋冬季为发病高峰;诺如病毒感染则无特殊的季节特征,阳性样品以GⅡ型为主。0~3岁年龄组患者的感染率显著高于3岁以上年龄组患者。结论 病毒性腹泻全年均可发生,冬季的感染率较高。各年龄组男女性人群都可感染。应加强对病毒性腹泻,尤其是婴幼儿病毒性腹泻的监测。

关键词: 病毒性腹泻;轮状病毒;诺如病毒**中图分类号:** R442.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-9727(2014)1-51-04

Surveillance of viral diarrhea in Dongguan in 2012

LI Yan-fen, LI Jing-quan, YUAN Da-kang, et al.

*Laboratory Department of Dongguan Municipal Center for Disease Control and Prevention, Dongguan 523129, Guangdong, P.R. China**Corresponding author: LI Yan-fen, E-mail: wsunfen@163.com*

Abstract: **Objective** To understand the prevalence of rotavirus and norovirus infection among infectious viral diarrhea in Dongguan city. **Methods** The feces samples were collected from infectious diarrhea patients in Dongguan People's Hospital, Gaobu Hospital and Liaobu Hospital. Rotavirus was detected by ELISA, norovirus was detected by realtime RT-PCR. **Results** Totally 831 samples were detected and the positive rates of norovirus and rotavirus were 17.57% and 15.64%. Rotavirus infection had obvious seasonality, with peak in autumn and winter; Norovirus had no obvious seasonality, and the Genogroup Ⅱ was predominant in this study. The infection rates in age group of 0~3 years were significantly higher than those in age groups of >3 years. **Conclusion** Viral diarrhea could occur all the year round, and the infection rate in winter is higher. People in all age group could be infected. It is necessary to strengthen the surveillance of viral diarrhea, especially in infants and young children.

Key words: Viral diarrhea; Rotavirus; Norovirus

腹泻是影响全世界最广泛人群的一种疾病,在发达国家和发展中国家均有流行。引起腹泻的20多种微生物包括细菌、寄生虫和病毒,其中病毒已被认为是最重要的一类腹泻病原^[1]。病毒性腹泻给患者和社会造成沉重的疾病负担和经济损失,婴幼儿病毒性腹泻后果尤为严重,据世界卫生组织的统计,全世界每年有1.3亿婴幼儿患轮状病毒腹泻,造成87.3万人死亡^[2]。鉴于病毒性腹泻人群普遍易感的特点,为了解诺如病毒和轮状病毒在人群中的感染情况,东莞市疾病预防控制中心从2012年开始对这两种病毒开展监测工作。

轮状病毒(Rotavirus, RV)属于呼肠病毒科轮状病毒属,轮状病毒是婴幼儿严重腹泻最常见的原因,也可以引起成人腹泻,发病高峰在秋季,故又名“秋季腹泻”。诺如病毒(Norovirus, NV)属杯状病毒科诺沃克病毒属,是一组世界范围内引起流行性胃肠炎(即非

菌性胃肠炎)的重要病原,与食物、水源等的污染造成的急性胃肠炎暴发密切相关。儿童感染呕吐多于腹泻,而成年人腹泻较为多见^[3]。诺如病毒根据诺如病毒基因组RNA聚合酶(RdRp)和衣壳蛋白基因核苷酸序列的差异,可分成5个组(Genogroup G),其中GI、GⅡ、GIV可感染人类,GI和GⅡ是感染人的主要遗传组。对这两种最常见的病毒性腹泻的主要病原进行全面监测,将有助于了解东莞市病毒性腹泻的病原构成特点及其变化趋势,为东莞市病毒性腹泻的预防控制提供科学依据。现将东莞市2012年病毒性腹泻的监测结果分析报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源 收集2012年1~12月东莞市人民医院、高埗医院、寮步医院感染性腹泻样品831份,其中男性486例,女性345例。男女性别比例为1.41:1,

作者简介:李艳芬(1983~),女,硕士,主管技师,主要从事微生物检验工作。

*通讯作者:李艳芬, E-mail: wsunfen@163.com

患者年龄0~92岁。标本采集后于冷藏条件下送至实验室,置-20℃冰箱保存待检。

1.1.2 主要仪器 MagNA Pure LC 1.0全自动核酸分离和纯化系统(美国Roche公司),7 500 Real Time PCR system(美国ABI公司),3K18高速冷冻离心机(SIGMA)。

1.1.3 主要试剂与引物 MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit(Roche公司),QuantiTect Probe RT-PCR Kit(德国QIAGEN),RID ASCREEN Rotavirus(德国R-biopharm AG).引物、探针(表1)由广东省疾病预防控制中心提供。

1.2 方法

1.2.1 制备10%的粪便悬液 取绿豆大小的粪便,或100μL水样便,加到1mL标本处理液中制成10%悬液,震荡3次,每次10s。然后静置10min,再以8 000r/min离心5min或3 000r/min离心30min,吸取上清进行下一步实验。

1.2.2 病毒核酸提取 使用Roche公司的MagNA Pure LC 1.0全自动核酸分离和纯化系统从10%的粪便悬液中提取病毒RNA,提取的病毒核酸置-80℃保存备用。

1.2.3 轮状病毒检测 轮状病毒抗原用德国R-biopharm AG的A组轮状病毒ELISA试剂检测,按试剂说明书进行操作。

1.2.4 诺如病毒检测与分型 用Realtime PCR方法同时检测诺如病毒(GI)和诺如病毒(GII)。

1.3 统计学分析 用SPSS18.0进行统计学分析,见表1。

表1 PCR所用的引物、探针
Table 1 Primer and probe for PCR

病毒名称 Virus	引物/探针 Primer/Probe	序列 Sequence
诺如病毒(GI) Norovirus (GI)	NLVG1-F	CCYTGGATGCGNTTYCATGA
	NLVG1-R	CTTAGACGCCATCATCATTYAC
诺如病毒(GII) Norovirus(GII)	NLVG1-P	(FAM)-AGATYGGGATCYCTGTCCA-(TAMRA)
	NLVG2-F	CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG
诺如病毒(GII) Norovirus(GII)	NLVG2-R	TCGACGCCATCTTCATTACACA
	NLVG2-P	(FAM)-TGGGAGGGCGATCGCAATCT-(TAMRA)

2 结果

2.1 病毒的检出情况 831份粪便样品总检测阳性率为33.21%(276/831)其中轮状病毒阳性率为15.64%(130/831),诺如病毒阳性率为17.57%(146/831)。诺如病毒阳性样品中GI型占1.08%(9/831);GII型占16.73%(139/831),其中有2份为GI型和GII

型混合感染,混合感染率为0.24%(2/831)。阳性标本中有12份为轮状病毒与诺如病毒GII型混合感染,混合感染率为1.44%(12/831)。

2.2 阳性样品的性别构成情况 所检测的831份标本中,男性患者486份,女性患者345份。男性和女性的轮状病毒IgM阳性检出率分别为17.08%(83/486)和13.62%(47/345),差异无统计学意义($\chi^2=1.825, P=0.177$)。男性和女性诺如病毒核酸阳性检出率分别为18.11%(88/486)和16.81%(58/345),差异无统计学意义($\chi^2=0.234, P=0.629$)。

2.3 不同年龄组病毒性腹泻的检测情况 病毒性腹泻在各个年龄组均有分布,由表2可见,0~3岁年龄组患者的标本数及阳性数均显著高于其他年龄组。经统计学检验,提示0~3岁年龄组患者的总体检出率(38.29%,175/457)与3岁以上年龄组患者的总体检出率(27.01%,101/374)相比差异有统计学意义($\chi^2=11.814, P=0.001$),可见0~3岁年龄组婴幼儿是病毒性腹泻感染的重点人群,见表2。

另外,在14例双重感染中,0~3岁年龄组有9例(64.29%),15~25岁年龄组1例(7.14%),25~年龄组4例(28.57%)。因此,0~3岁年龄组婴幼儿更容易发生双重感染。

2.4 不同月份病毒性腹泻的检测情况 不同月份病毒性腹泻病原的总体检测情况,见图1。

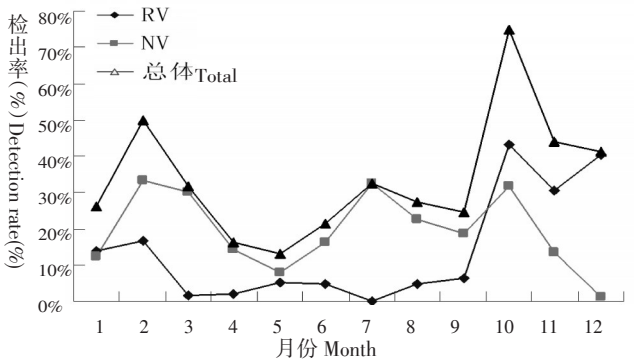


图1 东莞市2012年病毒性腹泻病原各月份检出阳性率
Fig. 1 Monthly detection rates of pathogens of viral diarrhea in Dongguan in 2012

由图1可见,病毒性腹泻在全年各月均可发生,全年阳性率为33.21%(276/831)。从时间分布上看,4月和5月的阳性率略低,分别为16.33%(8/49)和13.16%(10/76)。10月的阳性率最高,达到75%(33/44),2月,11月和12月的阳性率也为较高水平,分别为50.0%(18/36),44.03%(59/134)和41.24%(40/97)。从全年的阳性率来看,基本符合广东省病毒性腹泻秋冬季节呈现更高阳性率的规律。

2.5 不同月份轮状病毒的检测情况 除7月份没有

表2 东莞市2012年病毒性腹泻监测不同年龄组患者粪便标本检测结果

Table 2 Detection results of stool samples collected from patients in different age groups in Dongguan, 2012

年龄组 Age group	标本数 No. sample	病原类型 Viral type				合计 Total		构成比 (%) Proportion (%)
		RV		NV		阳性数 No.positive	检出率 (%) Rate (%)	
		阳性数 No.positive	检出率 (%)Rate (%)	阳性数 No.positive	检出率 (%)Rate (%)			
0~	457	93	20.35	82	17.94	175	38.29	63.41
3~	24	3	12.50	6	25.00	9	37.50	3.26
5~	38	6	15.79	3	7.89	9	23.68	3.26
15~	85	6	7.06	16	18.82	22	25.88	7.97
25~	227	22	9.69	39	17.18	61	26.87	22.10
合计 Total	831	130	15.64	146	17.57	276 ⁽¹⁾	33.21	100.00

注: (1) 因为存在双重感染, 所以合计数并不等于感染人数的和。Note: the data shown in this table including mixed infection.

检出轮状病毒其他月份均有检出。轮状病毒阳性率1月为14.04%(8/57), 2月为16.67%(6/36), 3~9月阳性率为低水平, 介于0(0/65)~6.15%(4/65)之间, 10月起阳性率显著升高, 为43.18%(19/44), 是全年的最高水平。11月、12月阳性率持续高企, 可见轮状病毒呈明显的秋冬季高发状态。

2.6 不同月份诺如病毒的检测情况 诺如病毒与轮状病毒相比, 并未呈现出某个季节明显高发的情况, 各月阳性率的变化幅度也远少于轮状病毒的变化。诺如病毒阳性率最低为12月(1.03% 1/97), 其次为5月(7.89% 6/76); 阳性率最高为2月(33.33% 12/36), 其次为7月(32.31% 21/65)。

3 讨论

目前, 病毒已经成为感染性腹泻的重要病因, 东莞市对病毒性腹泻的研究开展得比较晚, 2012年才开展对诺如病毒和轮状病毒的每月监测, 监测的人群为各年龄组人群。831份样品中, 诺如病毒和轮状病毒的检测阳性率分别为17.57%和15.64%, 说明诺如病毒是东莞市病毒性感染腹泻的最主要病原体。这与国内报道的顺序不大一致^[14], 原因可能是由于轮状病毒疫苗的成功研制和逐步推广, 使诺如病毒逐渐成为引起病毒性感染腹泻的最主要病因。

长期以来, 在全球范围内诺如病毒G II组的流行率明显超过GI组^[5]。本研究146份诺如阳性样品中, G II组阳性139份, GI组阳性9份, 其中2份为GI和G II组双重感染, 这与国内外报道的情况基本一致。

本研究结果显示各年龄组人群均是病毒性腹泻的易感人群, 但3岁以下年龄组的感染率和发生双重感染的情况均显著高于其他年龄组患者。因此有必要加强儿童主动免疫水平以及加强环境与饮食卫生, 以控制腹泻病的发生。成年人感染腹泻病毒虽然一般不会造成严重后果, 但成年人感染有可能成为一个隐性感染源, 其危害也不容忽视。因此有必要继续对成年人腹泻进行监测研究。

本研究中, 东莞市轮状病毒感染有明显的季节特征, 秋冬季为高发季节。轮状病毒主要通过粪-口途径传播, 也有报道称轮状病毒还可经气溶胶传播^[6]。秋冬季节气温低而且干燥, 人们更倾向室内活动, 密闭的环境有利于轮状病毒以气溶胶的形式传播, 这可能是轮状病毒在秋冬季形成发病高峰的一个重要因素。我市诺如病毒全年均有发生, 无特殊的季节分布特征。可见诺如病毒和轮状病毒感染的季节模式存在差别, 其具体的作用机制有待深入研究。

腹泻病毒都有复杂的型别, 在不同地区不同时间腹泻病毒流行型别有较大差异。同时病毒核酸的快速变异会降低现有疫苗的预防效果, 因此在了解病毒性腹泻病原构成的基础上更应该深入研究相关阳性样品的病原型别。研究表明^[7], 目前全球诺如病毒主要流行的亚型是GII 4, 不同诺如病毒亚型间还可能发生基因重组。轮状病毒则可根据其结构蛋白VP4和VP7的差异组成26个不同的P血清型和15个不同的G血清型。世界上多数国家的研究结果表明, 95%的RV分离株属于G1~G4型, 分别占54%, 18%, 12%, 11%^[8]。黎景全^[9]等曾对东莞市22例轮状病毒ELISA阳性样品进行分型研究, 表明东莞市轮状病毒以G1型为主, 其次为G3型。P型以P8为主, 其次P6。

目前东莞市对腹泻病毒监测的工作是起步阶段, 本次监测未能提供诺如病毒和轮状病毒基因型的构成情况, 这是本研究需要改善的。因此, 日后应加强对病毒性腹泻病原型别的分析和研究, 为东莞市病毒性腹泻的预防控制提供更全面的信息。

参考文献

- [1] 张海龙, 李苑, 张克春, 等. 2010年广东省深圳市病毒性腹泻监测结果分析[J]. 疾病监测, 2012, 27(1): 4-7.
- [2] 邓莉. 儿童病毒性胃肠炎[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(10): 727-730.
- [3] Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, et al. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children[J]. Emerg Infect Dis,

(下转第68页)