

· 论 著 ·

北京地区婴幼儿急性腹泻病例 5 种腹泻 相关病毒感染状况

吉彦莉,王永全,杨青俊,崔海洋,靳博,曹玮,刘潇潇

北京市西城区疾病预防控制中心,北京 100120

摘要: **目的** 了解北京地区婴幼儿急性腹泻病例 5 种腹泻相关病毒的感染状况。**方法** 采集北京地区哨点医院 2016 年 1 ~ 12 月 <60 月龄急性腹泻患儿便标本,用实时荧光 PCR 对 A 组轮状病毒、诺如病毒、肠道腺病毒、星状病毒进行检测;同时用巢式 PCR 检测人博卡病毒。**结果** 共采集 354 份粪便标本,A 组轮状病毒检出率 13.84%,诺如病毒检出率 10.45%,肠道腺病毒检出率 4.52%,星状病毒检出率 3.95%,人博卡病毒检出率 7.34%。混合感染 18 例,占 5.08%。轮状病毒感染高峰为冬季,诺如病毒的发病高峰为春季,其他病毒感染无明显季节特征。2 岁以内患儿 5 种病毒的检出率分别为 81.63%、78.38%、81.25%、71.43%、84.62%。**结论** 北京地区急性腹泻患儿 5 种腹泻相关病毒检出率从高到低依次为:A 组轮状病毒、诺如病毒、人博卡病毒、肠道腺病毒、星状病毒;2 岁以内患儿是病毒性腹泻的高发人群。

关键词: 病毒性腹泻;轮状病毒;诺如病毒;肠道腺病毒;星状病毒;人博卡病毒

中图分类号: R725.7 文献标志码: A 文章编号: 1006-2483(2017)05-0042-04

Investigation on the infection status of the five diarrhea-related viruses among acute infantile diarrheacases in Beijing

JI Yanli, WANG Yongquan, YANG Qingjun, CUI Haiyang, JIN Bo, CAO Wei, LIU Xiaoxiao

Xicheng Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100120, China

Abstract: **Objective** To investigate the infection status of the five diarrhea-related viruses among the acute infantile diarrhea cases in Beijing. **Methods** Stool samples of infantile diarrhea cases of under 60 months old were collected from sentinel hospitals of Beijing from January to December, 2016, and tested for group A rotavirus, norovirus, enteric adenovirus and astrovirus by real-time PCR. In addition, the stool samples were also tested for human bocavirus by nested-PCR. **Results** Among the 354 stool samples, the detection rates of group A rotavirus, norovirus, enteric adenovirus, astrovirus and human bocavirus were 13.84%, 10.45%, 4.52%, 3.95%, and 7.34%, respectively. Mix-infection was found in 18 cases, accounted for 5.08%. The peak incidence of rotavirus was in Winter, the peak incidence of norovirus was in Spring, while the other viruses had no obvious seasonal peak feature. The detection rates of the 5 viruses among cases under 2 years old were 81.63%, 78.38%, 81.25%, 71.43%, and 84.62%, respectively. **Conclusions**

The detection rates of the 5 viruses among acute infantile diarrhea cases in Beijing was in turn: group A rotavirus, norovirus, human bocavirus, adenovirus and astrovirus. Infants under 2 years old were the high-risk group of viral-diarrhea.

Keywords: Viral-diarrhea; Rotavirus; Norovirus; Adenovirus; Astrovirus; Human bocavirus

急性感染性腹泻是全球儿童常见病,是造成 5 岁以下儿童死亡的第 2 大原因^[1]。据世界卫生组织统计,全球每年有 150 万儿童死于此病。我国感染性腹泻的发病率一直位居肠道传染病的首位,是最为常见的丙类传染病^[2,3],发病率和病死率高,疾病负担严重。目前已知的引起腹泻的主要病原包括细菌、病毒、寄生虫等。国内外学者对不同地区

婴幼儿急性腹泻的病原构成进行了研究,结果发现,病毒已成为引起婴幼儿急性腹泻的主要原因^[4]。

婴幼儿急性腹泻的常见病毒包括:轮状病毒(Rotavirus, RV)、诺如病毒(Norovirus, NV)、肠道腺病毒(Adenovirus, AdV)和星状病毒(Astrovirus, AstV)。人博卡病毒(Human Bocavirus, HBoV)是

基金项目:北京市西城区卫计委青年科技人才培养项目(XWKK2016-17)

第一作者简介:吉彦莉,硕士,主管检验师,主要从事病原生物学检测和研究工作

2005 年瑞典科学家发现的一种细小病毒^[5], 多项研究证明了其腹泻相关性^[6-8]。作为一种新发病毒, 目前, 急性腹泻患儿博卡病毒感染状况相关研究在我国尚不多见。为了解北京地区婴幼儿腹泻病例人博卡病毒, 及其他 4 种常见腹泻病毒感染状况, 对 2016 年 1~12 月采集的急性腹泻患儿便标本进行了相关病毒检测研究。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2016 年 1~12 月, 每月采集哨点医院(北大医院、北京市儿童医院)门诊就诊患儿便标本。监测对象为年龄 <60 月龄, 以呕吐或腹泻等消化道症状为主诉就诊的门诊病例(初诊病例), 要求病例为发病 3d 以内的病例。同时收集患儿临床资料。

1.2 标本前处理 将粪便标本与磷酸盐缓冲液混合制备成 10.00% 粪便悬液, 充分震荡混匀, 8 000rpm 离心 5 min, 取上清液用于腹泻病毒检测。

1.3 病毒检测 取 200 μ L 粪便悬液, 按 QIAamp © MinElute Virus Spin Kit(Quiagen) 说明书提取病毒核酸。

用轮状病毒 A/诺如病毒 GI/诺如病毒 GII 三重实时荧光 PCR 检测试剂盒(卓诚惠生)对 A 组轮状病毒、诺如病毒进行检测。用札如病毒/腺病毒/星状病毒三重实时荧光 PCR 检测试剂盒(卓诚惠生)对肠道腺病毒、星状病毒进行检测。

用巢式 PCR 扩增博卡病毒 VP1 片段, 引物(表 1)。一轮 PCR 条件为: 94 $^{\circ}$ C 10min; 94 $^{\circ}$ C 30s, 58 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 1min, 10 个循环(每个循环退火温度下降 0.5 $^{\circ}$ C); 94 $^{\circ}$ C 30s, 54 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 1min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10min。二轮 PCR 条件为: 94 $^{\circ}$ C 10min; 94 $^{\circ}$ C

30s, 61 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 45s, 10 个循环(每个循环退火温度下降 0.5 $^{\circ}$ C); 94 $^{\circ}$ C 30s, 59 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 45s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7min。PCR 产物用 QIAxcel Advanced 全自动实时毛细管电泳系统(QIAGEN)进行检测, 目的片段条带为 567bp。PCR 阳性产物送由北京诺赛基因组研究中心有限公司进行目的片段的切胶纯化回收, 并用 3730 测序仪进行序列测定(表 1)。

表 1 博卡病毒 VP1 区扩增引物序列

引物名称	引物序列(5' -3')	产物大小(bp)
第一轮		
HBov - VP - F1	CGCCGTGGCTCCTGCTCT	612
HBov - VP - R1	TGTTGCCATCACAAAAGATGTG	
第二轮		
HBov - VP - F2	GGTCCTGCTCTAGGAAATAAAGAG	576
HBov - VP - R2	CCTGCTGTAGTCTGTTGTATGT	

1.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 腹泻患儿基本情况 共收集符合纳入标准的粪便标本 354 份, 其中男性患儿 197 例, 女性 157 例, 男女性别比为 1.25:1。患儿最大月龄 58 月, 最小 0 月, 月龄中位数 12 月。

2.2 病毒性腹泻阳性检出情况 354 份便标本中, 轮状病毒检出 49 例, 检出率 13.84%; 诺如病毒检出 37 例, 检出率 10.45%; 肠道腺病毒检出 16 例, 检出率 4.52%; 星状病毒检出 14 例, 检出率 3.95%; 人博卡病毒检出 26 例, 检出率 7.34%。不同病毒检出率差异有统计学意义($\chi^2 = 33.12, P < 0.05$), 轮状病毒检出率最高(图 1)。

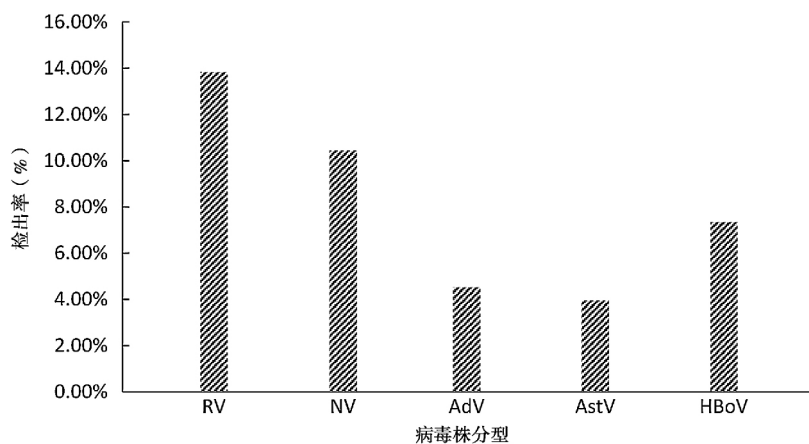


图 1 5 种腹泻相关病毒检出率

2.3 轮状病毒感染状况 2016 年共检测腹泻患儿便 354 例, 检出轮状病毒 49 例, 检出率 13.84%。男

女比例为 1.72:1(31/18)。经卡方检验, 检出率性别差异无统计学意义($\chi^2 = 1.34, P > 0.05$)。不同月龄

组 RV 检出率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 15.26, P < 0.05$)。其中 13 ~ 24 月龄患儿阳性率最高, 为 22.45% (表 3), 7 ~ 24 月龄患儿轮状病毒阳性检出数占总检出的 73.50%, 2 岁以内患儿占 81.63%。不同季节 RV 检出率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 75.50, P < 0.05$), 冬季检出率最高, 为 42.50% (表 2)。轮状病毒混合感染 13 例, 混合感染率为 26.53%。

2.4 诺如病毒感染状况 354 例急性腹泻患儿便标本, 检出诺如病毒 37 例, 阳性率为 10.45%。男女比例为 0.76:1 (16/21)。检出率性别差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.58, P > 0.05$)。不同月龄组 RV 检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 4.68, P > 0.05$)。阳性患儿主要为 2 岁以内, 占 78.38% (表 3)。不同季节诺如病毒检出率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.43, P < 0.05$), 春季检出率最高, 为 19.28%。诺如病毒混合感染 7 例, 混合感染率为 18.92%。

2.5 肠道腺病毒感染状况 354 例急性腹泻患儿便标本, 检出肠道腺病毒 16 例, 阳性率 4.52%。其中, 男性 10 例, 女性 6 例, 男女比例为 1.67:1。性别检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.32, P > 0.05$)。各月龄段检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 4.75, P > 0.05$)。2 岁以内患儿占 81.25%。不同季节检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 6.29, P > 0.05$)。腺病毒混合感染 3 例, 混合感染率 18.75%。

2.6 星状病毒感染状况 354 例急性腹泻患儿便标本, 检出星状病毒 14 例, 阳性率 3.95%。其中,

男性 5 例, 女性 9 例, 男女比例为 0.56:1。性别检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.34, P > 0.05$)。各月龄段检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 5.37, P > 0.05$), 多数患儿为 2 岁以下, 占 71.43%。不同季节检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 4.13, P > 0.05$)。星状病毒混合感染 6 例, 混合感染率 42.86%。

2.7 人博卡病毒感染状况 354 例急性腹泻患儿便标本, 26 例检出人博卡病毒, 阳性率 7.34%。其中, 男性 14 例, 女性 12 例, 男女比例为 1.17:1。性别检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.04, P > 0.05$)。不同月龄组 RV 检出率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.04, P > 0.05$), 84.62% 的阳性病例为 2 岁以下患儿。季节分布差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.48, P > 0.05$)。博卡病毒混合感染 10 例, 混合感染率 38.46%, 与其他 4 种腹泻病毒均能发生混合感染, 其中, 有 6 例为与轮状病毒混合感染。

2.8 混合感染 354 例急性腹泻患儿便标本, 检出混合感染病例 18 例, 阳性率为 5.08%。混合感染患儿年龄最大为 48 个月, 最小为 6 个月, 83.33% 的混合感染患儿年龄 < 2 岁。2 种病毒混合感染 16 例, 3 种病毒混合感染 2 例。其中, RV + HBoV 混合感染 5 例; RV + NV、RV + AstV、NV + HBoV 混合感染各 2 例; RV + AstV + HBoV、RV + NV + AstV、AdV + HBoV、AstV + HBoV、NV + AdV、NV + AstV、RV + AdV 混合感染各 1 例。5 种病毒混合感染率从高到低依次为: AstV > HBoV > RV > NV > AdV。

表 2 2016 年北京地区急性腹泻患儿中 5 种病毒各季节检出情况

季节(月)	检测例数	RV		NV		AdV		AstV		HBoV	
		阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)
春(3~5)	83	10	12.05	16	19.28	1	1.20	5	6.02	4	4.82
夏(6~8)	106	3	2.83	7	6.60	9	8.49	3	2.83	11	10.38
秋(9~11)	85	2	2.35	8	9.41	3	3.53	1	1.18	5	5.88
冬(12~2)	80	34	42.50	6	7.50	3	3.75	5	6.25	6	7.50

表 3 2016 年北京地区急性腹泻患儿各月龄组 5 种病毒检出情况

月龄(月)	检测例数	RV		NV		AdV		AstV		HBoV	
		阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)
0~6	103	4	3.88	6	5.83	3	2.91	2	1.94	5	4.85
7~12	88	14	15.91	13	14.77	2	2.27	2	2.27	8	9.09
13~24	98	22	22.45	10	10.20	8	8.16	6	6.12	9	9.18
25~36	34	5	14.71	5	14.71	1	2.94	1	2.94	2	5.88
37~60	31	4	12.90	3	9.68	2	6.45	3	9.68	2	6.45
合计	354	49	13.84	37	10.45	16	4.52	14	3.95	26	7.34

2 讨论

A 组轮状病毒、诺如病毒、肠道腺病毒和星状病

毒是引起婴幼儿腹泻最常见的 4 种病毒, 也是目前病毒性腹泻常规监测项目。其中, A 组轮状病毒是 5 岁以下儿童急性水样腹泻最为常见的病原体^[9]。

腹泻患儿轮状病毒的检出率为 13.84%。不同地区,轮状病毒的检出率表现出一定的差异性。在我国,轮状病毒在南部和中部地区的检出率高于北部和东部地区^[10]。可能与各地区温度、湿度差异大,人群免疫状态不同等因素有关。轮状病毒各月龄组检出率差异有统计学意义($P < 0.05$),7~24 月龄患儿 A 组轮状病毒占总检出的 73.50%,明显高于其他月龄组,提示 7~24 月龄儿童是轮状病毒感染的高危人群^[11]。此研究发现,2016 年北京地区轮状病毒腹泻高峰出现在冬季,表现出明显的季节流行特征。

作为引起婴幼儿腹泻的第二常见病原体,诺如病毒在北京地区的流行呈现出春季高发特点,与河北等地监测结果基本一致^[12]。诺如病毒在我国呈现明显的季节流行特征,不同气候带地区的流行高峰存在差异。

4 种病毒的高发年龄均为 2 岁以内,提示该年龄段婴幼儿是腹泻疫苗接种的重点人群。2 岁以上儿童随着感染后获得性免疫的建立,病毒性腹泻的比例逐渐降低。

人博卡病毒作为一种新发病毒,由于其与肠道和呼吸道疾病的相关性而越来越引起各国学者的关注。北京地区 5 岁以下腹泻患儿博卡病毒检出率为 7.34%,与上海、重庆等地结果相近^[13,14]。大多数阳性患儿年龄 < 2 岁,无明显季节特点。HBoV 与其他腹泻病毒的混合感染率为 38.46%,且 60% 是与轮状病毒混合感染。Arthur 等的研究表明 HBoV 与轮状病毒混合感染常导致病情加重^[15]。博卡病毒作为一种非常规监测的腹泻病毒,其检出率仅次于轮状病毒和诺如病毒,有必要对其进行持续深入研究。

此研究初步阐述了北京地区婴幼儿急性腹泻病例五种腹泻相关病毒的感染状况和分布特征,为相关疫苗的研究及病毒性腹泻的防治提供基础数据。

参考文献

- [1] Monroe SS. Control and Prevention of Viral Gastroenteritis [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(8): 1347-1348.
- [2] 张进梅. 2011—2014 年北京市房山区 5 岁及以下儿童传染病

发病情况分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2015, 26(6): 116-118.

- [3] 冯冰,甘华芬,王文勇,等. 武汉市江汉区 2005—2014 年法定丙类传染病疫情分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2015, 26(5): 44-47.
- [4] Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, et al. 2008 Estimate of Worldwide Rotavirus-Associated Mortality in Children Younger than 5 Years Before the Introduction of Universal Rotavirus Vaccination Programs: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(2): 136-141.
- [5] Allander T, Tammi MT, Eriksson M, et al. Cloning of a Human Parvovirus by Molecular Screening of Respiratory Tract Samples [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(36): 12891-12896.
- [6] Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP, et al. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children [J]. PLoS Pathog, 2009, 5(4): 39.
- [7] Kapoor A, Simmonds P, Slikas E, et al. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections [J]. J Infect Dis, 2010, 201(11): 1633-1643.
- [8] CHENG WX, JIN Y, DUANG ZJ, et al. Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study [J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(2): 161-167.
- [9] WANG YH, Kobayashi ND, ZHOU DJ, et al. Molecular epidemiologic analysis of group A rotaviruses in adults and children with diarrhea in Wuhan city, China, 2000 - 2006 [J]. Arch Virol, 2007, 152(4): 669-685.
- [10] 耿启彬,赖圣杰,余建兴,等. 中国 26 省(直辖市、自治区) 2011—2014 年 5 岁以下儿童腹泻病例轮状病毒流行特征分析 [J]. 疾病监测, 2016, 31(6): 463-470.
- [11] 姚海燕,刘建华. 黄石市 2007—2008 年轮状病毒腹泻流行特征分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2010, 21(2): 71-72.
- [12] 于秋丽,刘莹莹,苏通,等. 2014—2015 年河北省 5 岁以下婴幼儿病毒性腹泻病原学监测及流行特征分析 [J]. 国际病毒学杂志, 2016, 23(5): 291-296.
- [13] 赵进,黄豆豆,李思思,等. 重庆地区儿童急性腹泻相关博卡病毒的基因类型及其流行特征调查 [J]. 武警医学, 2014, 25(8): 797-799.
- [14] WANG Y, Gonzalez R, ZHOU H, et al. Detection of human bocavirus 3 in China [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(6): 799-805.
- [15] Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP, et al. A Novel Bocavirus Associated with Acute Gastroenteritis in Australian Children [J]. Plos Pathog, 2009, 5(4): 39.

(收稿日期: 2017-07-20)

(本文编辑: 吴海平)