

昆明市儿童医院 1998~2001 年轮状病毒 哨点监测分析

张丽杰 杜曾庆 章青 康宏宇 郑丽舒 刘晓梅 谢华萍 杨红雁
王艳春 Ivanoff B Glass RI Bresee JS Jiang X Kilgore PE 方肇寅

【摘要】 目的 了解昆明市轮状病毒腹泻的流行状况。方法 以昆明市儿童医院为哨点监测, 监测对象为 5 岁以下腹泻住院患儿, 收集患儿的临床资料和粪便标本进行轮状病毒的检测和分型。病毒检测用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 和酶联免疫吸附试验 (ELISA), 毒株分型用 ELISA 和/或反转录-聚合酶链反应 (RT-PCR)。结果 3 年监测中共收集 466 份腹泻患儿的粪便标本, 轮状病毒的检出率为 52.8% (246/466)。轮状病毒感染 97% 发生于 2 岁以下儿童。感染有明显的季节性, 10~12 月份是流行季节。对 204 份轮状病毒阳性标本进行 G 分型, G1 型为流行优势株, 占 47.5%, 其次为 G2 型 (17.6%)、G3 型 (15.7%)、G9 型 (4.9%) 和 G4 型 (1.0%)。P 基因型以 P[4]P[8] 和 P[6] 型为常见。最常见的 P-G 组合型是 P[4]G2, 占 34.1% (14/41), 其次是 P[8]G1 和 P[6]G9, 分别占 29.3% (12/41) 和 12.2% (5/41), 还有其他 7 种不常见的 P-G 组合的毒株类型。结论 轮状病毒是昆明地区儿童腹泻住院的主要病原, 毒株呈现型的多样性, 应该开发和应用轮状病毒疫苗预防控制其流行。

【关键词】 轮状病毒; 腹泻; 哨点医院; 监测; 流行病学

Rotavirus surveillance data from Kunming Children's Hospital, 1998-2001 ZHANG Li-jie*, DU Zeng-qing, ZHANG Qing, KANG Hong-Yu, ZHENG Li-shu, LIU Xiao-mei, XIE Hua-ping, YANG Hong-yan, WANG Yan-chun, Ivanoff B, Glass RI, Bresee JS, Jiang X, Kilgore PE, FANG Zhao-yin. *National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100052, China

Corresponding author: FANG Zhao-yin. Email: fangzhyn@263.net

【Abstract】 Objective To study the epidemiological status on rotavirus diarrhea in Kunming to improve the rotavirus vaccine immunization program. **Methods** A hospital-based sentinel surveillance program for rotavirus was set up among children less than 5 years old with acute diarrhea in Kunming Children's Hospital. Clinical information and fecal specimens were collected and rotavirus were detected by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and/or enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Positive specimens were further serotyped or genotyped by ELISA and/or RT-PCR. **Results** During the three years of surveillance, 466 specimens were collected. Rotavirus were detected on 246 (52.8%) specimens. 97% of the rotavirus diarrhea cases occurred among children less than 2 years old. There was a peak of admissions for rotavirus diarrhea cases between October and December which accounted for 48% of all the rotavirus hospitalizations each year. Among 204 specimens with G serotyping, the predominant strain was serotype G1 (47.5%) followed by G2 (17.6%), G3 (15.7%), G9 (4.9%) and G4 (1.0%). Mixed infection (2.5%) were rare and 22 specimens (10.8%) remained non-typeable. P genotyping showed P[4], P[8] and P[6] were the most common strains, accounting for 29.3%, 27.6% and 13.8% respectively. P[4]G2 was the most common strain which accounted for 34.1% (14/41) followed by P[8]G1 (29.3%) and P[6]G9 (12.2%). Another 7 uncommon P-G combinations were also identified. **Conclusion** Rotavirus was the major cause of acute diarrhea in Kunming. An effective rotavirus vaccine for prevention and control of rotavirus diarrhea should be developed.

【Key words】 Rotavirus; Diarrhea; Sentinel hospital; Surveillance; Epidemiology

基金项目: 世界卫生组织课题基金资助项目 (V27/181/123); 美国 NIH 课题基金资助项目 (R03TW01192); 国家 863 计划基金资助项目 (2001AA212171)

作者单位: 100052 北京 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所 (张丽杰、章青、郑丽舒、谢华萍、方肇寅); 昆明市儿童医院 (杜曾庆、康宏宇、刘晓梅、杨红雁、王艳春); Department of Vaccines and Biologicals, WHO, Geneva, Switzerland (Ivanoff B); Viral Gastroenteritis Section, CDC, Atlanta, GA, USA (Glass RI, Bresee JS); Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH, USA (Jiang X); International Vaccine Institute, Seoul, Korea (Kilgore PE)

通讯作者: 方肇寅 Email: fangzhyn@263.net

轮状病毒腹泻在发达国家和发展中国家都有较高的发病率^[1,2],说明卫生条件的改善不能降低其患病率,所以开发研制疫苗成为预防控制轮状病毒腹泻的重要措施,为此必须首先了解轮状病毒腹泻的流行规律。为研究我国轮状病毒腹泻的流行状况和规律,在世界卫生组织的支持下,对北京、河北卢龙县、长春和昆明四个地区开展了以医院为基础的轮状病毒哨点监测。现将昆明市儿童医院 1998 年 5 月至 2001 年 4 月 3 年期间监测的轮状病毒流行状况总结分析,为我国轮状病毒疫苗的开发和应用提供科学依据。

材料与方 法

1. 监测对象和内容:哨点医院昆明市儿童医院是一所省级儿科综合医院,共有病床 300 张。病例来源主要为昆明市及郊区县。监测对象为该医院 5 岁以下腹泻住院患儿。监测内容包括患儿姓名、性别、年龄、发病日期、临床症状、住院天数、治疗结果等。由指定的医生填写统一的“腹泻病人情况调查表”。腹泻是指具有异常次数的水样便或不成型的稀便(与正常大便相比)。住院是指入院治疗时间至少 24 h。

2. 粪便标本的收集、保存与检测:腹泻粪便标本在患儿就诊时由专人收集,及时冻存于 -20°C ,然后送中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所检测。轮状病毒检测采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)(1999 年之前的标本用此方法检测)和酶联免疫吸附试验(ELISA)(1999 年以后的标本用此方法检测)。毒株的 G 分型首先用 ELISA 方法,不能确定血清型的标本和混合感染的标本再用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR),P 分型直接用 RT-PCR 方法^[3,4]。

3. 统计学分析:用 Epi Info 6.0 软件进行数据录入和分析。

结 果

3 年监测期内共有 3912 例 5 岁以下腹泻患儿住院,占该年龄组住院儿童的 32.4%(3912/12 090)。共收集急性腹泻住院的患儿粪便标本 466 份,其中男性 292 例(62.7%),女性 174 例(37.3%)。共检出 246 份轮状病毒阳性粪便标本,总检出率为 52.8%(246/466),在男性患儿中的检出率为 53.8%(157/292),女性患儿中检出率为 51.4%

(89/174),两者差异无统计学意义($P>0.05$)。

1. 轮状病毒腹泻的性别和年龄分布:在 246 例轮状病毒腹泻患儿中,男性 157 例,女性 89 例,男女构成为 1.76:1。患儿年龄构成为:12~17 月龄(30.0%)、6~8 月龄(24.2%)、9~11 月龄(22.7%)、3~5 月龄(15.1%)、18~23 月龄(3.7%),其余各年龄组所占比例均不超过 1.3%。3~23 月龄的患儿占总数的 95.7%,24~59 月龄的患儿占 3.0%。

2. 轮状病毒腹泻的季节分布:图 1 为 3 年总的轮状病毒腹泻的季节分布。10、11 和 12 月份是轮状病毒腹泻的主要流行季节,其他月份也都有一定数量的轮状病毒阳性病例。10~12 月份的轮状病毒腹泻患儿占全年的 48%。

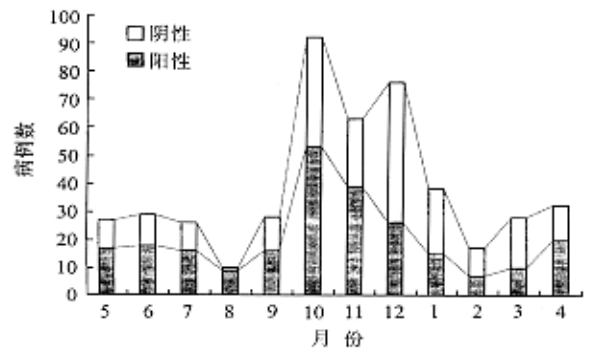


图 1 1998 年 5 月至 2001 年 4 月昆明地区轮状病毒腹泻月份分布

3. 轮状病毒腹泻死亡情况:3 年监测期内共有 27 例 5 岁以下儿童死亡,其中 13 例是腹泻死亡,有 9 例是发生在轮状病毒腹泻流行季节,另外 4 例发生在 3 和 6 月份。腹泻死亡患儿除 1 例为 4 岁外,其余 8 例平均年龄为 9 月龄(6~12 月龄)。

4. 轮状病毒 G 血清型分布:在 246 份轮状病毒阳性的粪便标本中随机对 204 份进行 G 分型,其中有 82 份用 RT-PCR 方法做了分型。G1 型为流行优势株,占 47.5%(97/204),其次为 G2 型(17.6%)、G3 型(15.7%)、G9 型(4.9%)和 G4 型(1.0%)。5 份混合型,占 2.5%,还有 22 份标本未能分型,占 10.8%。5 份混合型为 G1+G3、G1+G4、G3+G9 型各 1 份,G1+G2 型 2 份(表 1)。

5. 轮状病毒 P 基因型分布:从有 G 分型结果的标本中随机抽取 58 份进行 P 分型,发现 4 种 P 型(P[4]、P[8]、P[6]和 P[9]),其中最常见的是 P[4]型,占 29.3%(17/58),其次是 P[8]型,占 27.6%(16/58),P[6]型占 13.8%(8/58),还有 1 株

为 P[9] 型, 占 1.7%。另外有 16 份标本(27.6%) 不能用现有的引物分出 P 型。

表 1 1998 年 5 月至 2001 年 4 月昆明市儿童医院
轮状病毒 G 血清型分布

G 血清型	1998 年 5 月至 1999 年 4 月	1999 年 5 月至 2000 年 4 月	2000 年 5 月至 2001 年 4 月	合计
G1	19(70.4)	69(64.5)	9(12.9)	97(47.5)
G2	0(0.0)	24(22.4)	12(17.1)	36(17.6)
G3	2(7.4)	4(3.7)	26(37.1)	32(15.7)
G4	1(3.7)	1(0.9)	0(0.0)	2(1.0)
G9	2(7.4)	4(3.7)	4(5.7)	10(4.9)
未能分型	1(3.7)	4(3.7)	17(24.3)	22(10.8)
混合型	2(7.4)	1(0.9)	2(2.9)	5(2.5)
合计	27(100.0)	107(100.0)	70(100.0)	204(100.0)

注: 括号外数据为病例数, 括号内数据为构成比(%)

6. 轮状病毒 G 血清型和 P 基因型的组合关系: 在 G 分型和 P 分型都有分型结果的 41 份粪便标本中, 最常见的组合是 P[4]G2, 占 34.1%(14/41), 其次是 P[8]G1 占 29.3%(12/41), P[6]G9 占 12.2%(5/41)。其他 7 种不常见的 P-G 组合的毒株类型有 P[6]G1(4.9%)、P[8]G3(4.9%)、P[8]G9(4.9%)、P[4]G1(2.4%)、P[4]G3(2.4%)、P[6]G3(2.4%) 和 P[9]G1(2.4%) 等。

讨 论

轮状病毒是引起婴幼儿腹泻的重要病原, 在世界范围内轮状病毒大约占 5 岁以下儿童腹泻相关住院的 20%~70%^[5], 本研究结果表明昆明市儿童医院轮状病毒腹泻占 5 岁以下腹泻住院的 52.8%, 说明在本地区轮状病毒是引起腹泻住院的主要原因。该结果与北京、长春和河北三个监测点医院中相应的比例 31.6%、52.9% 和 48.5% 相近。在轮状病毒感染的患儿中, 97.0% 发生于 2 岁以下儿童, 主要为 3~17 月龄的患儿, 这与国外报道的发展中国家的儿童到 2 岁时几乎 95% 都感染过轮状病毒相一致^[6]。昆明地区 5 岁以下儿童感染轮状病毒的中位年龄是 9~11 月龄, 比发达国家儿童感染轮状病毒的中位年龄 12~18 月龄提早一些^[7], 这可能与发达国家和发展中国家儿童的卫生习惯不同有关。

从轮状病毒腹泻的月份分布图可以看出轮状病毒腹泻具有明显的季节性, 这与世界上温带地区欧美国家的轮状病毒流行具有季节性相似^[8], 但具体流行月份会有一些不同, 昆明的流行高峰在秋冬季的 10~12 月份, 国内类似研究的结果显示北京地区为 11、12 月份, 长春地区为 12 和 1 月份, 昆明地区

的流行季节提早 1~2 个月, 可能是各地的温度和湿度不同所致, 国外曾有学者提出过低温和相对的湿度是导致轮状病毒腹泻具有季节性的原因的假设, 还有待于进一步研究^[8]。

对轮状病毒 G 血清型的检测可以看出, 昆明地区的流行优势株仍然是 G1 型(47.5%), 而对北京和长春市两个哨点医院监测结果为 G1 型占 62%^[9], 中国 10 个地区监测结果 G1 型占 72.7%^[10], 虽然在昆明地区 G1 型所占比例 1998~2001 年有逐年减少的趋势(3 年依次为 70.4%、64.5% 和 12.9%, 趋势 $\chi^2 = 42.1, P < 0.05$), 但目前 G1 型在中国仍然是优势流行株。世界范围内最主要的流行株是 G1~G4, 昆明地区 G1~G4 型共占 81.9%, 与世界上多数国家类似^[11]。除了常见的这四种型以外, 昆明地区还发现有 G9 型, 占 4.9%, 同期在河北省和兰州市也发现 G9 型(<1%), 但长春等地区没有^[9,10], 说明 G9 型在昆明比其他地区明显多, 这可能与同期相邻的越南和马来西亚轮状病毒流行优势株为 G9 型有关。此外, 未能分型的比例为 10.8%, 比北京和长春等地的比例高^[9], 且在昆明市有逐年增加的趋势(3 年所占比例依次为 3.70%、3.74% 和 24.29%, 趋势 $\chi^2 = 15.2, P < 0.05$)。

从 P 分型的结果看, 世界范围内主要流行 P[8] 和 P[4], 但在昆明地区的检测结果 P[8] 和 P[4] 只占 56.9%, 而 P[6] 型却达到 13.8%, 同期我国 10 个地区的监测结果中 P[6] 型为 9.5%^[10], 说明虽然 P[6] 型在世界范围内比例较低(4.9%), 但在中国尤其是昆明地区却是一种较为常见的毒株。

从 G-P 型组合看, 世界范围内常见的 4 种流行毒株 P[8]G1、P[8]G3、P[8]G4 和 P[4]G2 在昆明地区有 3 种, 分别为 P[4]G2、P[8]G1 和 P[8]G3, 共占 68.3%, 检测还发现 7 种不常见的毒株占 31.7%, 包括 P[6]G9(12.2%)、P[6]G1(4.9%)、P[8]G9(4.9%)、P[4]G1(2.4%)、P[4]G3(2.4%)、P[6]G3(2.4%) 和 P[9]G1(2.4%), 提示昆明地区的轮状病毒流行毒株呈现超常多样性。

本研究的不足之处为腹泻住院患儿的标本收集率偏低, 虽然在一定程度上可能影响监测的全貌, 但基本上反映了该地区轮状病毒腹泻的流行状况, 为开发和应用轮状病毒疫苗提供了流行病学背景资料。

参 考 文 献

- 1 Djuretic T, Ramsay M, Gay N, et al. An estimate of the proportion of diarrhea disease episodes seen by general practitioners attributable to rotavirus in children under 5 y of age in England and Wales. *Acta Paediatric*, 1999, 426(suppl):38-41.
- 2 Roger IG, Paul EK, Robert CH, et al. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis*, 1996, 174(suppl 1): s5-s11.
- 3 方肇寅, 邓水生, 王长安, 等. 成人流行性腹泻病原基因组的电泳分析. *中国医学科学院学报*, 1985, 7:93-96.
- 4 方肇寅, 齐锦, 杨辉, 等. 我国 1998~1999 年流行的婴幼儿腹泻轮状病毒的分型研究. *病毒学报*, 2001, 17:17-23.
- 5 Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, et al. Global seasonality of rotavirus infection. *Bull WHO*, 1999, 68:171-177.
- 6 Joseph SB, Roger IG, Ivanoff B, et al. Current status and future priorities for rotavirus vaccine developing, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine*, 1999, 17:2207-

2222.

- 7 Bresee JS, Glass RI, Parashar UD, et al. Disease states and vaccines: rotavirus. In: Bloom BR, Lambert PH eds. *The Vaccine Book*. Academic Press, New York, 2002. 225-243.
- 8 Koopmans M, Brown D. Seasonality and diversity of group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatric*, 1999, 426(suppl):14-19.
- 9 Fang ZY, Yang H, Zhang J, et al. Child rotavirus infection in association with acute gastroenteritis in two Chinese sentinel hospitals. *Pediatrics International* 2000, 42:401-405.
- 10 Fang ZY, Yang H, Qi J, et al. Diversity of rotavirus strains among children with acute diarrhea in China: 1998-2000 surveillance study. *J Clin Microbiol*, 2002, 40:1875-1878.
- 11 Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, et al. Review of G and P typing results from a global collection of rotavirus strains: implications for vaccine development. *J Infect Dis*, 1999, 174(suppl): s30-s36.

(收稿日期 2003-08-14)

(本文编辑:张林东)

· 疾病控制 ·

10 例 SARS 患者中肺炎支原体、肺炎衣原体感染的调查

孙红妹 赵汉青 刘哲伟 高星 罗会英 郭敏 陈秋菊 梁青 肖宗慧 张霆

SARS 是由变异的冠状病毒感染所致,肺部可出现片状阴影,而这些症状恰恰与肺炎支原体(Mp)、肺炎衣原体(Cp)感染有类似之处,为 SARS 的确诊带来困难。我们对 10 例临床确诊 SARS 患者进行了 Mp 和 Cp 检测,进一步探讨支原体、衣原体感染与 SARS 的关系。

1. 对象与方法 SARS 确诊患者(病例组)为 2003 年 5 月在地坛医院就诊,有流行病学接触史、有发热、咳嗽症状、X 线检查肺部有不同程度改变等,符合 SARS 临床诊断标准的患者 10 例。发热门诊的医学观察患者(发热组)为 2003 年 5 月在朝阳区第二医院发热门诊就诊,并被留院进行医学观察的患者 63 例。其中有发热患者 58 例,体温 37.2~39.6℃,发热持续 1~4 天(至病例采集之日),患者均无明显阵发性剧咳。对 46 例患者进行胸部 X 线检查,11 例有肺部阴影,阴影分布不同,以右肺、右下肺居多;其余胸片显示肺纹理增粗或未见异常表现。80% 患者 WBC < 10 × 10⁹/L,其中 75% 淋巴细胞分类 < 20%。正常人群(对照组)为同期健康人 23 名,患者标本用无菌压舌板在口腔内两侧的黏膜用力刮数下,将标本离心后待检测。用套式 PCR(nPCR)方法对病例组和对照组标本进行 Mp 和 Cp 核酸检测,检测试剂盒购自江苏省无

锡市克隆技术研究所。靶基因分别为 Mp 和 Cp 的 16S rRNA 基因。Mp 和 Cp 阳性 PCR 扩增终产物大小分别为 275 bp 和 417 bp。同时设阳性、阴性对照。

2. 结果与结论 三组 Mp、Cp 核酸检测结果见表 1。非典型肺炎主要由 Mp、Cp 和军团菌引起的肺炎。这类疾病的临床表现与 SARS 极为相似。我们主要研究 Mp 和 Cp 在 SARS 中的鉴别诊断。严重的支原体、衣原体肺炎病例不多见,但可发生于任何年龄。表现为暴发性、进展性,病情发展迅速,肺部病变广泛,短时间内导致严重缺氧及呼吸困难,有病例发展为急性呼吸窘迫综合征。综上所述,支原体、衣原体感染不会因 SARS 的流行而隐退,这些病例会混杂在疑似 SARS 的发热医学观察病例中,不但增加了 SARS 疑似病例,影响了临床诊治,而且大大增加了患者的恐惧心理。因此,在 SARS 流行期对 Mp、Cp 的排除有很重要的意义。

表 1 病例组和对照组 Mp、Cp nPCR 检测结果比较

对象	例数	Mp		Cp		合计	
		阳性例数	阳性率(%)	阳性例数	阳性率(%)	阳性例数	阳性率(%)
病例组	10	3	30.00	1	10.00	4	40.00
发热组	63	4	6.35	3	4.76	7	11.11
对照组	23	0	0.00	0	0.00	0	0.00

(收稿日期 2003-06-12)

(本文编辑:尹廉)

基金项目 北京市自然科学基金资助项目(7012011)

作者单位:100020 北京,首都儿科研究所(孙红妹、赵汉青、刘哲伟、肖宗慧、张霆);北京市疾病预防控制中心(高星、罗会英);朝阳区第二医院(郭敏、陈秋菊、梁青)