

2010–2014 年卢龙县 5 岁以下婴幼儿 腹泻星状病毒流行特征分析

于秋丽, 刘莹莹, 赵文娜, 谢赞, 苏通, 齐顺祥

河北省疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050021

摘要: **目的** 研究卢龙县婴幼儿腹泻患者星状病毒流行病学特点和基因型别。 **方法** 收集 2010–2014 年卢龙县儿童医院及妇幼保健院 5 岁以下腹泻住院患儿粪便标本, 采用 RT-PCR 法检测星状病毒, 并对部分 PCR 阳性标本进行测序鉴定基因型。 **结果** 1 880 份粪便标本检测出星状病毒阳性标本 47 份, 检出率为 2.5%, 年龄分布为 0~47 月龄, 87.2% 感染者的年龄在 24 月龄以下; 发病以冬季多见, 2–5 月阳性检出率较高, 在 4.23%~5.61% 之间, 部分核酸阳性标本经序列分析鉴定为 *HastV-1*。 **结论** 星状病毒是卢龙县婴幼儿腹泻的重要病原, 呈现明显的寒冷季节高发的流行趋势, *HastV-1* 为该地区的流行毒株。

关键词: 星状病毒; 病毒性腹泻; 基因型别

中图分类号: R723.11 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2017)01-0052-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.01.015

Epidemiological characteristics of astrovirus induced diarrhea in children under 5 years old in Lulong County, 2010–2014

YU Qiu-li, LIU Ying-ying, ZHAO Wen-na, XIE Yun, SU Tong, QI Shun-xiang

Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang, Hebei 050021, China

Corresponding author: QI Shun-xiang, E-mail: hbc999@126.com

Abstract: **Objective** To study the epidemiological features and genotypes of human astrovirus (*HastV*) in young children with diarrhea in Lulong County. **Methods** Fecal specimens were collected from children with diarrhea under 5 years of age hospitalized in the Children's Hospital of Lulong County and Maternal and Child Health Hospital of Lulong County from 2010 to 2014. *HastV* was tested by RT-PCR, some PCR-positive samples were sequenced, and then the genotypes were identified. **Results** *HastV* was detected in 47 of 1,880 specimens, with the detection rate of 2.5%. The age of the inflicted children ranged from 0 to 47 months, and 87.2% of the children were younger than 24 months. Most of the cases occurred in winter, the positive detection rates were found to be higher from February to May (4.23%–5.61%). Some PCR amplicons sequenced were identified to be *HastV-1*. **Conclusions** *HastV* is an important etiologic agent contributing to diarrhea in young children in Lulong County in 2010–2014. An obvious trend of high prevalence in the cold season is present, and *HastV-1* is the local prevalent strain.

Key words: Astrovirus; Viral diarrhea; Genotype

基金项目: 河北科技计划项目 (No. 14277761D)

作者简介: 于秋丽, 女, 本科学历, 主任技师, 主要从事肠道病毒性疾病的防控工作。

通信作者: 齐顺祥, E-mail: hbc999@126.com。

- [8] Tutino GE, Tam WH, Yang X, et al. Diabetes and pregnancy: perspectives from Asia [J]. *Diabet Med*, 2014, 31(3): 302–318.
- [9] Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia [J]. *Semin Perinatol*, 2012, 36(1): 56–59.
- [10] Bilodeau JF. Review: maternal and placental antioxidant response to preeclampsia – impact on vasoactive eicosanoids [J]. *Placenta*, 2014, 35(suppl): S32–38.
- [11] Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Yeo L, et al. Preeclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology [J]. *Nat Rev Nephrol*,

2014, 10(8): 466–480.

- [12] Zhang H, Ackermann AM, Gusarova GA, et al. The FoxM1 transcription factor is required to maintain pancreatic beta-cell mass [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(8): 1853–1866.
- [13] Zhang H, Zhang J, Pope CF, et al. Gestational diabetes mellitus resulting from impaired beta-cell compensation in the absence of FoxM1, a novel downstream effector of placental lactogen [J]. *Diabetes*, 2010, 59(1): 143–152.

收稿日期: 2016-06-30

人星状病毒(human astrovirus, HstV)是引起婴幼儿腹泻的重要病原之一,于 1975 年由 Appleton 和 Higgins 使用电镜检测急性胃肠炎患儿粪便标本时被首次发现,之后在世界各地都检测 HstV。HstV 为无包膜单股正链 RNA 病毒,目前通过对 ORF1a 以及 ORF2 的部分基因序列进行分析,HstV 可被划分为 2 个基因组(genogroupA、genogroupB)和 8 个基因型(HstV1-HstV8)^[1],近几年随着 RT-PCR 技术的日益应用,HstV 引起的腹泻病例检出率显著提高,国内外研究已表明 HstV 感染在世界范围内广泛存在,在腹泻患儿粪便中的检出率为 0.6%~26%^[2],是婴幼儿病毒性腹泻中仅次于轮状病毒或杯状病毒的重要病原体之一。河北省卢龙县是一个半山区农业县,全县共有人口 41.5 万,小于 5 岁儿童占 6.2%,本文对 2010-2014 年卢龙县儿童医院及妇幼保健院 5 岁以下住院患儿腹泻标本进行星状病毒检测及流行特征分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2010 年 1 月-2014 年 12 月间卢龙县医院和妇幼保健院腹泻样本共 1 880 例,-20℃保存。采集标本的同时进行流行病学调查,填写调查表。

1.2 腹泻诊断标准 每日排便 3 次或 3 次以上,且大便性状有改变,呈稀便、水样便、黏脓便或脓血便。

1.3 星状病毒核酸的提取 用磷酸盐缓冲液将粪便标本稀释成 10%的悬浊液,取 200 μl 提取病毒核酸,具体方法参照 Maxwell 16 viral Total Nucleic Acid 产品说明书,提取的总 RNA 溶于 50 μl RNase-free distilled water 中(试剂盒提供)。

1.4 星状病毒核酸扩增 采用随机引物将 RNA 逆转录为 cDNAs,HstV 检测用上游引物 Mon269 的序列为:CAACTCA GGAAACA GGGTGT,下游引物 Mon270 的序列为:TCA GA TGCA TTGTCA TTGGT^[1],扩增片段大小为 449 bp。引物由上海生工生物科技有限公司合成。PCR 采用 Qiagen 公司的 One step RNA PCR kit,按说明书操作。

1.5 测序及同源性分析 PCR 产物送上海生工生物科技有限公司经纯化回收后进行测序,引物为上下游引物,双向测通后进行序列拼接。将标本序列输入 GenBank,用 BLAST 软件进行比对,应用 Clustal X 进行序列分析。

1.6 统计学分析 计数资料采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 不同年份星状病毒核酸检出情况 2010-2014 年共采集腹泻住院儿童粪便标本 1 880 例,星状病毒核酸检测阳性 47 例,阳性检出率为 2.5%,不同年份的阳性率不同,2010、2011、2012、2013 和 2014 年分别为 1.45%、2.59%、1.78%、3.75%和 3.13%,各年份星状病毒阳性检出率差异无统计学意义($\chi^2=5.701, P>0.05$),见表 1。

表 1 2010-2014 年星状病毒核酸的检出率

年份	检测数	阳性数	阳性率(%)
2010	414	6	1.45
2011	347	9	2.59
2012	394	7	1.78
2013	373	14	3.75
2014	352	11	3.13
合计	1 880	47	2.50

2.2 不同月份星状病毒感染的分布情况 47 例星状病毒感染病例主要出现在每年的 11 月至次年的 5 月份,2-5 月阳性检出率较高,在 4.23%~5.61%之间,呈现一个明显的寒冷季节高发的流行趋势,6-11 月份为低发季节,基本没病例出现,但在 2013 年全年均有病例发生。见图 1。

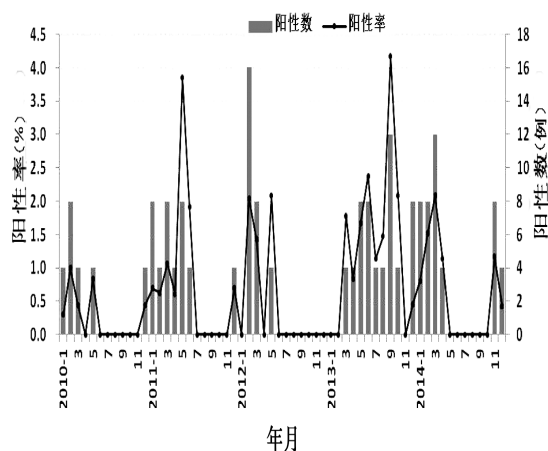


图 1 2010-2014 年星状病毒感染的季节分布

2.3 星状病毒感染的性别年龄分布 47 例 HstV 阳性病例中,男女患儿人数分别为 29 和 18 例,性别比为 1.61:1,性别比检出率为 2.52% (29/1 153) 和 2.48% (18/727);年龄分布为(0~47)月龄,平均年龄为(17.20±7.69)月龄,87.2%感染者的年龄在 24 月龄以下;年龄组检出率在 3 岁内呈逐渐上升趋势,24~35 月龄组达到高峰(4.13%),48~59 月龄组降低;HstV 检出率在卢龙县男女患儿中差异无统计学意义($\chi^2=0.003, P>0.05$);在不同年龄组患儿中 HstV 阳性率差异无统计学意义($\chi^2=10.70, P>0.05$)。各年

龄组患儿的 HAsV 检测结果见表 2。

表 2 2010-2014 年星状病毒感染的年龄分布

年龄(月)	检测数	阳性数	阳性率(%)
0~	41	1	2.44
3~	218	1	0.46
6~	354	8	2.26
9~	367	7	1.91
12~	547	18	3.29
18~	168	6	3.57
24~	121	5	4.13
36~	41	1	2.44
48~59	23	0	0.00
合计	1 880	47	2.50

2.4 序列分析结果 将 10 份 PCR 阳性产物纯化后测序,将序列进行编辑,带入 GenBank 中,应用 Blast 功能进行序列在线比对分析。结果显示,2010-2014 年河北卢龙流行的星状病毒为 HAsV 1 型 genogroupA。

3 讨论

HAsV 是引起病毒性腹泻的重要病原之一,既可引起散发性腹泻,也可以引起暴发性腹泻^[3],在全球范围内广泛存在。本研究对河北卢龙县 2010-2014 年的 1 880 例腹泻住院儿童粪便标本进行检测,检出星状病毒核酸阳性 47 例,平均阳性率为 2.5%,各年份的阳性检出率在 1.45%~3.75% 之间,低于本地区 2006-2007 年的阳性检出率^[4],略高于湖南报道^[5]的 2009-2010 年星状病毒的阳性检出率(0.79%),同样高于深圳市 2010-2012 年星状病毒的检出率^[6],与林谦等^[7]报道的 2009-2010 年南京儿童医院 5 岁以下病毒性腹泻患者星状病毒阳性检出率相比较无明显差异。说明不同时间、不同地区星状病毒的感染率都有所不同,可能是遗传免疫背景的不同而影响腹泻病毒的感染和传播。

我国感染则与轮状病毒相似,主要集中在 10 月份至次年的 3 月份^[8]。本研究经过连续四年的监测表明,星状病毒感染病例主要出现在每年的 12 月至次年的 5 月份,呈现一个明显寒冷季节高发的流行趋势,6-11 月份为低发季节,基本没病例出现,与本地区轮状病毒的流行季节相似,较全国的 HAsV 流行季节退后 1~2 个月,可能与卢龙县的地理位置有关。另外,在 2013 年全年均有病例发生,是否与当地出现腹泻暴发疫情有关,有待进一步调查。

本研究显示星状病毒感染 87.2% 的患儿年龄小于 24 月龄,与叶新华等^[9]报道的兰州地区 HAsV 腹

泻患儿的年龄构成相似,Mitchell DK 等^[10]对星状病毒的血清学研究结果证实 3 月龄以下婴儿血清中的 HAsV-1 的抗体阳性率为 67%,至 6~8 月龄时降至 7%,但由于后天获得性感染等原因,5 岁儿童血清中 HAsV-1 抗体阳性率可高达 90% 以上。本研究中患儿年龄分布特征与上述血清学研究的结论一致。

通过对星状病毒的 ORF1a 以及 ORF2 的部分基因序列进行分析,可被划分为 2 个基因组 (genogroupA、genogroupB) 和 8 个基因型 (HAsV1-HAsV8),基因型与相应的血清型相关性良好^[11]。本研究对部分阳性标本进行序列分析被证实为 HAsV-1,说明卢龙县的流行毒株为 1 型,这与 HAsV-1 为我国当前第一优势毒株的现况一致。

本研究初步阐明了 2010-2014 年卢龙县婴幼儿腹泻星状病毒流行病学特点,基因分型的测序鉴定例数较少,要全面掌握本地区基因分型特征,有待进一步研究探讨。

参考文献

[1] Silva PA, Santos RA, Costa PS, et al. The circulation of human astrovirus genotypes in the Central West Region of Brazil[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2009, 104(4):655-658.

[2] Jiang BM, Monroe SS, Koonin EV, et al. RNA sequence of astrovirus: distinctive genomic organization and a putative retrovirus-like ribosomal frameshifting signal that directs the viral replicase synthesis[J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1993, 90:10539-10543.

[3] Chu DK, Chin AW, Smith GJ, et al. Detection of novel astroviruses in urban brown rats and previously known astroviruses in humans[J]. J Gen Virol, 2010, 91(10):2457-2462.

[4] 朱琳,段招军,祁红梅,等. 河北卢龙县婴幼儿星状病毒腹泻分子流行病学研究[J].现代预防医学,2010,37(18):3415-3418.

[5] 李俊华,周帅锋,刘运芝,等. 2009-2010 年湖南省哨点医院婴幼儿病毒性腹泻病原学研究[J]. 实用预防医学,2012,19(3):337-340.

[6] 裴林夕,陈小婷,董时广,等. 深圳市 2010-2012 年病毒性腹泻监测结果分析[J].实用预防医学,2014,21(6):698-699.

[7] 林谦,金玉,周进苏,等. 2009 至 2010 年南京儿童医院 5 岁以下儿童病毒性腹泻分子流行病学特点[J].中国循证儿科杂志,2012,7(1):31-36.

[8] Herrmann JE, Taylor D N, Echeverria P, et al. Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children[J]. N Engl J Med, 1991, 324(25):1757-1760.

[9] 叶新华,金玉,方肇寅,等.兰州地区 2004-2005 年度婴幼儿病毒性腹泻的病原学研究[J]. 中华流行病学杂志,2006,27(2):117-121.

[10] Mitchell DK, Matson DO, Cubitt WD, et al. Prevalence of antibodies to astrovirus types 1 and 3 in children and adolescents in Norfolk, Virginia[J]. Pediatric Infect Dis J,1999, 18(3):249-254.

[11] Walter JE, Mitchell DK. Astrovirus infection in children[J].Curr Opin Infect Dis, 2003, 16(3): 247-253.