·论著·

2012—2017 年山东省 5 岁以下儿童病毒性腹泻病原监测结果分析

林琳[1,2] 傅忠燕[2] 李金松[1] 韩扬[2] 刘晓林[2] 张文强[2] 李静欣[1] 段招军[1] 侯云德[1]

[1]中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所, 北京 100052; [2]山东省疾病预防控制中心 山东大学预防医学研究院 山东省传染病预防控制重点实验室, 济南 250014

林琳和傅忠燕对本文有同等贡献

通信作者: 段招军, Email: zhaojund@126.com, 电话: 010-63539776; 侯云德, Email: houyd20022003@aliyun.com, 电话: 010-58900898

【摘要】 目的 分析山东省 5 岁以下儿童病毒性腹泻病原谱和流行病学特点, 为病毒性腹泻防控提供参考依据。**方法** 收集 2012—2017 年在山东省哨点医院就诊的所有 5 岁以下腹泻患儿发病 3 日内粪便标本共 1 017 份, 轮状病毒使用 ELISA 筛检, ELISA 阳性标本使用 RT-PCR 方法进行轮状病毒 G/P 分型; 诺如病毒(GI 和 GII)、札如病毒、星状病毒检测采用 RT-PCR 筛检, 肠道腺病毒采用 PCR 方法检测。**结果** 1 017 份粪便标本中, 病毒总阳性率为 51.62%(525/1017), 检出至少含有 1 种病毒核酸 421 份、混合病毒感染 104 份, 混合感染占全部感染的 10.23%(104/1017)。轮状病毒、杯状病毒、肠道腺病毒和星状病毒阳性检出率分别为 34.22%(348/1017)、16.91%(172/1017)、2.56%(26/1017)、9.64%(98/1017)。腹泻病毒总检出率和轮状病毒检出率在 12~17 月龄最高, 分别为 51.72%(105/203)和 20.20%(41/203), 2 岁及以下患儿腹泻病毒阳性率为 49.36%(502/1017), 2 岁以上患儿腹泻病原阳性率 2.26%(23/1017)。病毒性腹泻高峰为每年 11 月份至次年 4 月份。轮状病毒 G 基因型以 G9 为优势型(82.76%), P 基因型以 P[8]型为主(80.46%), G/P 组合以 G9P[8]为主(83.87%)。杯状病毒中诺如病毒感染为主(87.21%)。**结论** 2012—2017 年山东省 5 岁以下儿童病毒性腹泻以轮状病毒为主, 其次为诺如病毒, 发病率处于全国的中等程度, 秋冬季为流行季节。

【关键词】 病毒性腹泻; 儿童; 轮状病毒; 人诺如病毒

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.05.004

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX10713002)

Analysis of surveillance results of viral diarrhea among children under 5 years of age in Shandong province from 2012 to 2017

Lin Lin[1,2], *Fu Zhongyan*[2], *Li Jinsong*[1], *Han Yang*[2], *Liu Xiaolin*[2], *Zhang Wenqiang*[2], *Li Jingxin*[2], *Duan Zhaojun*[1], *Hou Yunde*[1]

[1]*National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing* 100052, *China*; [2]*Shandong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Academy of Preventive Medicine of Shandong University, Shandong Provincial Key Laboratory of Infectious Disease Control and Prevention, Jinan* 250014, *China*

Linlin and Fu Zhongyan contributed equally to the article

Corresponding author: Duan Zhaojun, Email: zhaojund@126.com, 0086-10-63539776; *Hou Yunde, Email: houyd20022003@aliyun.com, Tel*: 0086-10-58900898

【Abstract】 Objective To analyze the epidemiological characteristics and pathogen types of viral diarrhea in children under 5 years of age in Shandong province, and provide reference for the prevention and control of viral diarrhea. **Methods** A total of 1 017 fecal samples were collected from all children aged 5 years and younger with diarrhea who were admitted to the sentinel hospital of Shandong province from 2012 to 2017 within 3 days. Rotavirus antigen was detected by using an ELISA method . Rotavirus G/P typing was performed by RT-PCR; Norovirus (GI and GII), Sapovirus, and Astrovirus were detected by multiplex RT-PCR, and adenovirus was detected by PCR. **Results** In the 1 017 fecal specimens, the overall positive rate

was 51.62% (525/1017), and viral nucleic acids were detected in at least 421 samples, and mixed virus infection was found in 104 sampes. The mixed infection accounted for 10.23% (104/1017) of all infections. The positive detection rates of Rotavirus, Calicivirus, Adenovirus and Astrovirus were 34.22% (348/1017), 16.91% (172/1017), 2.56% (26/1017), and 9.64% (98/1017)). The total detection rate of diarrhea virus and the detection rate of Rotavirus were the highest at 12 to 17 months of age, which was 51.72% (105/203) and 20.20% (41/203), respectively. The positive rate of diarrhea in children aged 2 years and younger was 49.36% (502/1017), which was much higher than the positive rate of diarrhea in children over 2 years old (2.26% (23/1017)). The peak of viral diarrhea was found to occur between November and April of the following year. The genotype of rotavirus was dominated by G9 (82.76%), the P genotype was dominated by P[8] (80.46%), and the G/P combination was dominated by G9P[8] (83.87%). Norovirus was the main infection in the Calicivirus (87.21%). **Conclusions** From 2012 to 2017, viral diarrhea in children under 5 years of age in Shandong Province was mainly caused by Rotavirus infection, followed by Norovirus. The overall prevalence of viral diarrhea in Shandong was moderate in China, and autumn and winter were the main epidemic season for viral diarrhea.

【**Key words**】 Viral diarrhea; Children; Rotavirus; Human Norovirus

Fund program: China Mega-Project for Infectious Disease(2018ZX10713002)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.05.004

病毒性腹泻又称为病毒性胃肠炎,是一组由单种或多种病毒共同引起的急性肠道传染病,该病起病急,以恶心、呕吐、腹痛、腹泻等为常见临床表现,腹泻以水样便或稀便为主,也可有发热及全身不适等症状。常见与病毒性腹泻有关的病毒种类包括轮状病毒(rotavirus, RV)、人杯状病毒(human caliciviruses, HuCV)、人星状病毒(human astrovirus, HAstV)和肠道腺病毒(adenovirus, AdV),杯状病毒又包括诺如病毒(norovirus, NoV)和札如病毒(sapovirus, SV)。其中 5 岁以下儿童中 RV 发病率较为多见; NoV 人群普遍易感,且易引起暴发流行[1]。

根据《全国病毒性腹泻监测方案》的要求,山东省自 2012 年开始,对山东省<5 岁儿童的病毒性腹泻病例开展监测工作。本研究收集山东省哨点医院 2012 年至 2017 年的腹泻患儿粪便标本,并进行致腹泻病原学检测,以掌握病毒性腹泻病原分布现况及流行特点,为病毒性腹泻的防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2012—2017 年在山东省某三甲儿童医院就诊的所有 5 岁以下因腹泻入院的患儿发病 3 日内粪便标本,共 1 017 份,保存于-80 ℃待检测。《全国病毒性腹泻监测方案》中将病毒性腹泻疑似病例定义为:每日排便 3 次或 3 次以上,且大便性状有改变(呈稀便、水样便等),大便常规镜检白细胞数少于 15 个,未见红细胞,或病例表现为腹泻未达到 3 次/日,但伴有大便性状改变和呕吐症状,或以呕吐为主要症状。

1.2 重要试剂 Qiagen 一步法 RT-PCR 试剂盒; Promega PCR master mix 试剂盒: ProSpect™ Rotavirus Kit, OXOID)核酸提取采用 Qiagen 公司 MinElute 试剂盒,反转录使用 TaKaRa 反转录试剂盒,PCR 反应试剂盒为 Promega PCR master mix。

1.3 病毒检测方法 腹泻粪便标本中,RV 使用 ELISA 方法检测抗原,针对 ELISA 阳性标本,进行 RV G/P 分型检测,使用 RT-PCR 分型。NoV(GI 和 GII)、SV、HAstV 检测采用 RT-PCR 检测方法,肠道腺病毒采用 PCR 方法检测。以 PCR 产物电泳或测序判断是否为阳性。

1.4 数据分析 使用 Epidata 软件建立数据库,采用双录入的方式进行原始数据录入,用 SPSS19.0 软件对数据统计分析,$P<0.05$ 判定为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 2012 年 1 月至 2017 年 12 月,山东省采集并检测 5 岁以下腹泻住院儿童共计 1 017 例,其中患儿男性 691 例,女性 326 例,男女性别比为 2.12∶1。患儿年龄中位数为 8 月龄(4~13 月龄)。

2.2 腹泻病原检出情况 1 017 份标本中,总阳性率为 51.62% (525/1017)。男性患儿阳性率为 52.82% (365/691),女性患儿阳性率为 49.08% (160/326)。腹泻病原阳性率在男女患儿中差异无统计学意义($\chi^2 = 1.242$, $P>0.05$)。RV、HuCV、AdV、HAstV 阳性检出率分别为 34.22% (348/1017)、16.91% (172/1017)、2.56% (26/1017)、

9.64%(98/1017)。其中,525 份阳性标本中,单一腹泻病毒感染 421 份,混合病毒感染 104 份,混合感染率为 10.23%(104/1017)。其中 2 种病毒混合感染 90 份,3 种病毒混合感染 13 份,4 种病毒混合感染 1 份。104 份混合感染标本中,以 RV 混合其他病毒为主,其中 RV 合并 HuCV 感染和 RV 合并 HAstV 感染最多,分别占全部混合感染的 34.62%(36/104)和 27.88%(29/104),上述 2 种混合感染检出率分别为 3.54%(36/1017)和 2.85%(29/1017),详见表 1。

表 1　2012—2017 年山东省病毒性腹泻感染情况

Tab.1　Infection state of virus or viruses causing diarrhea in Shandong, 2012-2017

感染病毒	病毒种类	阳性数	阳性率(%)
单一病毒	轮状病毒	265	26.06
	人杯状病毒	107	10.52
	肠道腺病毒	11	1.08
	人星状病毒	38	3.74
2 种病毒混合	轮状病毒+人杯状病毒	36	3.54
	轮状病毒+肠道腺病毒	6	0.59
	轮状病毒+人星状病毒	29	2.85
	人杯状病毒+肠道腺病毒	2	0.20
	人杯状病毒+人星状病毒	15	1.47
	肠道腺病毒+人星状病毒	2	0.20
3 种病毒混合	轮状病毒+人杯状病毒+肠道腺病毒	0	0.00
	轮状病毒+人杯状病毒+人星状病毒	9	0.88
	轮状病毒+肠道腺病毒+人星状病毒	2	0.20
	人杯状病毒+肠道腺病毒+人星状病毒	2	0.20
4 种病毒混合	轮状病毒+人杯状病毒+肠道腺病毒+人星状病毒	1	0.10
合计		525	51.62

2.3　年龄分布　4 种病毒在各个月龄均有检出,各月龄组总阳性率、RV 阳性率、HuCV 阳性率差异具有统计学意义($\chi_{总}^2=75.713$, $P<0.05$; $\chi_{RV}^2=75.713$, $P<0.05$; $\chi_{HuCV}^2=16.667$, $P<0.05$)。AdV 和 HAstV 各月龄组检出率差异无统计学意义。2 岁及以下患儿腹泻病原阳性率为 49.36%(502/1017),大于 2 岁以上患儿腹泻病原阳性率 2.26%(23/1017)。9~17 月龄的患儿病毒总检出率最高,为 66.58%(247/371)。12~17 月龄患儿的 RV 阳性率与 HuCV 阳性率均高于其他月龄段,分别为 51.72%(105/203)和 20.20%(41/203),见图 1。

2.4　时间分布　因 2016 年 1 月之前部分月份的数据有缺失,所以本文只统计 2016 年 1 月至 2017 年 12 月的连续时间分布。病毒性腹泻发病高峰多出现在每年的 11 月份至次年 4 月份,阳性检出率从每年的 12 月份开始升高,高峰月份阳性检出率大于 50%。RV、HuCV 全年均有发病,RV 与病毒性腹泻的季节分布相似,HuCV 在全年各个月份均有不同程度发生,呈多峰分布,见图 2。AdV 和 HAstV 病例数太少,无法观察季节分布。

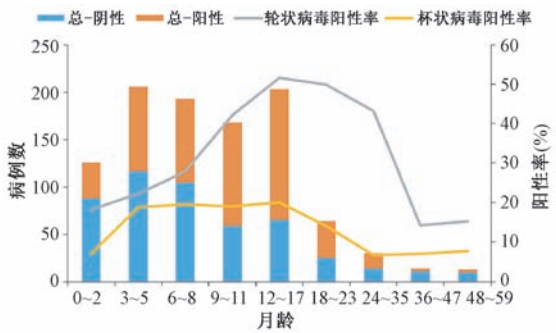

图 1　2012—2017 年山东省 5 岁以下儿童轮状病毒和杯状病毒阳性率月龄分布

Fig.1　Distribution of rotavirus and calicivirus positive rates in children under 5 years of age in Shandong province from 2012 to 2017

图 2　2016—2017 年山东省病毒性腹泻 4 种病原检出率时间分布

Fig.2　Time distribution of detection rates of four pathogens of viral diarrhea in Shandong province from 2016 to 2017

2.5　RV 和 HuCV 基因分型　对 348 份 RV 阳性患儿进行了 GP 分型。其中,G 基因型以 G9 为优势型,占 82.76%(288/348),其次为 G2 型、G3 型和 G4 型,分别为 7.76%(27/348)、4.6%(16/348)和 0.29%(1/348)。G 混合型比例为 2.59%(9/348),G 未分型比例为 1.72%(6/348),见图 3。P 基因型以 P[8]型为主,占 80.46%(280/348),P[4]型占 11.21%(39/348),P 混合型占 3.16%(11/348),P 未分型为 5.17%(18/348),见图 4。G/P 组合以 G9P[8]为主,占 83.87%(260/310),其次为 G2P[4],占 8.39%(26/310),见表 2。

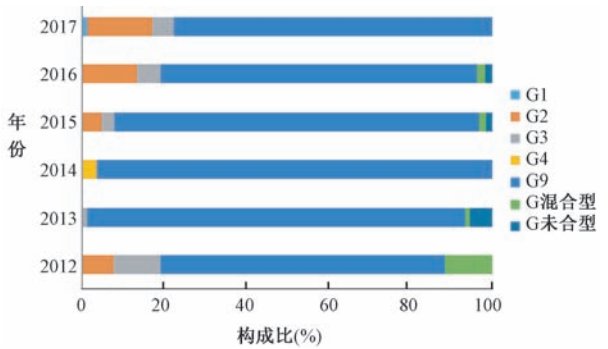

图 3 2012—2017 年轮状病毒 G 分型各基因组构成比

Fig.3 Rotavirus G typing genomic composition ratio from 2012 to 2017

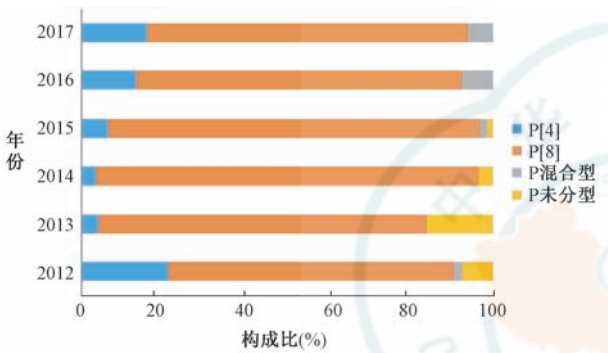

图 4 2012—2017 年轮状病毒 P 分型各基因组构成比

Fig.4 Rotavirus P typing genomic composition ratio from 2012 to 2017

表 2 2012—2017 年山东省轮状病毒 G/P 基因组合

Tab.2 Rotavirus G/P gene combination in Shandong province from 2012 to 2017

G/P	P[4]	P[8]	合计
G1	0	1	1
G2	26	0	26
G3	4	12	16
G4	0	1	1
G9	6	260	266
合计	36	274	310

172 例 HuCV 阳性患儿中单独 NoV 检出率为 87.21%(150/172),单独 SV 检出率为 12.21%(21/172)。其中 1 例为 NoV 和 SV 混合感染。

3 讨论

病毒性腹泻发病率占感染性腹泻的 75% 以上[2],可由多种病毒感染导致,在婴幼儿中发病率高,且主要感染 5 岁以下儿童,特别是 2 岁以下的婴幼儿,是许多发展中国家导致婴幼儿死亡的主要原因之一[3]。本文对 2012—2017 年山东省 5 岁以下腹泻患病儿童进行了 RV、HuCV、AdV 和 HAstV 的调查检测,结果显示,病毒性腹泻的阳性率为 51.62%,低于 2013—2017 年河北省卢龙县(66.71%)[4] 和 2011 年兰州地区(60%)[5] 的监测结果,高于 2011—2015 年北京市东城区(36.0%)[6] 和 2010 年广东省深圳市的监测结果(46.92%)[7],与 2013 年北京地区的监测结果基本一致(52.7%)[8],提示随着卫生习惯的改善以及抗生素的广泛应用,导致儿童腹泻的常见病原体中细菌因素正逐步减少,病毒性腹泻在全国范围内仍是危害 5 岁以下儿童健康的主要病因。

RV 和 HuCV 在患儿中的阳性检出率最高,且混合病毒感染的病例中也以 RV 混合其他病毒为主,如 RV 合并 HuCV、RV 合并 HAstV 感染分别占全部混合感染的 34.62% 和 27.88%,HuCV 感染中又以 NoV 感染为主,这与国内外多数地区的报道一致[9-11]。混合感染易导致患儿病程延长,临床症状加重以及各类并发症的发生,疾病负担不容忽视。山东省主要以 2 岁以下患儿为主,远大于 2 岁以上患儿腹泻病原阳性率。9~17 月龄的患儿病毒总检出率最高,12~17 月龄患儿的 RV 阳性率与 HuCV 阳性率与其他月龄段相比均最高,低于同期广州地区的发病率[7],高于苏州、杭州等地的发病率[12-14],与北京等地基本一致[8],分析原因可能为 2 岁以下患儿肠道的免疫屏障尚未发育成熟,尤其是肠黏膜屏障功能差,且不稳定,抵御病原侵入的能力弱,易发生感染性腹泻,目前世界卫生组织建议婴幼儿 6 周龄后应尽早接种 RV 疫苗。

RV 根据抗原性不同,分为 A~J 共 10 个组,感染人的有 A、B、C 和 H 组,其中 A 组 RV 是导致婴幼儿腹泻的主要病原体。山东省的 RV、HuCV 和混合感染检出率及年龄分布与北京、苏州、深圳等地报道一致[7-8, 12]。季节分析显示 RV 全年均可发病,但高发时间以秋冬季节为主,阳性检出率从每年的 12 月份开始升高,高峰月份阳性检出率大于 50%。秋冬季因天气寒冷,人们更倾向于室内活动,人口密集和封闭的环境有助于 RV 的传播[15]。

HuCV 是第 2 常见的引起病毒性腹泻的病原体,尤其是 HuCV 中的 Nov,传染性强,少量病毒即可通过粪-口途径传播,人群普遍易感,易引起暴发。山东省 HuCV 尤其是 NoV 的检出率高于杭州等地的报道结果[14],因此应当充分重视 NoV 感染的监测与检测,在流行季节做好 NoV 的宣传教育及疫情监督控制,以免引起大范围的暴发与流行。山东省混合感染多发生于 2 岁及 2 岁以下的婴幼儿,流行

与季节无关,全年均可发病,与国内其他报道一致[4-5, 8, 13-14]。

本研究缺陷:因监测数据中缺乏详尽的患儿临床表现等资料,所以无法比较各类混合感染的临床症状是否存在差异,有待于进一步的研究。

综上所述,2012—2017 年山东省 5 岁以下儿童病毒性腹泻以 RV 为主,其次为 NoV,发病率处于全国的中等程度,仍需进一步加强本省的病毒性腹泻监测,为疫苗的开发及病毒性腹泻的有效防控提供依据。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明　林琳:论文撰写、实验操作、数据整理分析;傅忠燕:实验操作、数据收集、分析解释数据;李金松:酝酿和设计实验、分析解释数据;韩扬、刘晓林、张文强:实验操作、数据收集;李静欣:数据统计分析;段招军、侯云德:研究设计、指导、论文修改、经费支持

参考文献

[1] 郭静, 刘云, 孙梅, 等. 儿童诺如病毒感染临床特征分析[J]. 临床军医杂志, 2019, 47(2): 161-163. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2019.02.17.

[2] Jin Y, Cheng WX, Yang XM, et al. Viral agents associated with acute gastroenteritis in children hospitalized with diarrhea in Lanzhou, China[J]. J Clin Virol, 2009, 44(3): 238-241. DOI: 0.1016/j.jcv.2008.12.010.

[3] 张静, 常昭瑞, 孙军玲, 等. 我国诺如病毒感染性腹泻流行现状及防制措施建议[J]. 疾病监测, 2014, 29(7): 516-521. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2014.07.004.

[4] 赵文娜, 刘莹莹, 于秋丽, 等. 2013—2017 年河北省卢龙县监测点 5 岁以下儿童病毒性腹泻流行特征分析[J]. 疾病监测, 2019, 34(2): 132-136. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2019.02.010.

[5] 罗璇, 金玉, 李宇宁, 等. 兰州地区 5 岁以下婴幼儿病毒性腹泻的分子流行病学研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(1): 36-38. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2011.01.013.

[6] 周莹, 祁亮, 梁俊荣, 等. 北京市东城区 5 岁以下婴幼儿病毒性腹泻病原学研究[J]. 国际病毒学杂志, 2017, 24(2): 119-122. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2017.02.012.

[7] 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. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2012.1.003.

[8] 严寒秋, 李伟红, 高志勇, 等. 2011 年北京地区婴幼儿病毒性腹泻病原学研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(10): 919-921.

[9] Wasihun AG, Dejene TA, Teferi M, et al. Risk factors for diarrhoea and malnutrition among children under the age of 5 years in the Tigray Region of Northern Ethiopia[J]. PLoS One, 2018, 13(11): e207743. DOI: 10.1371/journal.pone.0207743.

[10] Huang Z, Jiang FX, Li J, et al. Prevalence and risk factors of anemia among children aged 6-23 months in Huaihua, Hunan province[J]. BMC Public Health, 2018, 18(1): 1267. DOI: 10.1186/s12889-018-6207-x.

[11] Acacio S, Mandomando I, Nhampossa T, et al. Risk factors for death among children 0-59 months of age with moderate-to-severe diarrhea in Manhica district, southern Mozambique[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 322. DOI: 10.1186/s12879-019-3948-9.

[12] 金蓉, 武庆斌, 刘成. 2012—2014 年苏州儿童医院 5 岁以下儿童病毒性腹泻流行病学特点[J]. 中国社区医师, 2016, 32(30): 179-180. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2016.30.112.

[13] 杭惠, 刘成. 2014—2015 年苏州市 5 岁以下儿童病毒性腹泻病原学分析[J]. 现代预防医学, 2017, 44(5): 815-818.

[14] 金赛燕, 林洁, 徐秀娟, 等. 杭州地区 2010—2011 年急性腹泻患儿病原诺如病毒基因型及分子特征研究[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(11): 924-926.

[15] Morral-puigmaL C, Martinez-solanas E, Villanueva M, et al. Weather and gastrointestinal disease in Spain: A retrospective time series regression study[J]. Environ Int, 2018, 121(Pt 1): 649-657. DOI: 10.1016/j.envint.2018.10.003.

(收稿日期:2019-05-19)

(本文编辑:唐浏英)