

病毒感染性腹泻患者肛拭样品中诺如病毒分析研究

郑 磊,余 玮,顾丽萍

摘要:目的 了解本地区病毒感染性腹泻患者诺如病毒感染情况,进一步探索诺如病毒流行规律和流行因素,为制订防控对策提供依据。**方法** 从2008年3月至2010年2月由嘉定区中心医院采集病毒感染性腹泻患者肛拭样品共572份,采用实时荧光逆转录聚合酶链反应法(Real-Time RT-PCR)检测病毒核酸。**结果** 572份病毒感染性腹泻患者肛拭样品中RT-PCR检测核酸阳性53例,阳性率为9.27%。**结论** 嘉定区病毒性感染腹泻中有近10%的患者由诺如病毒感染引起,冬季可能为流行高峰,65岁以上为重点人群。

关键词: 诺如病毒; 病毒感染性腹泻; 逆转录聚合酶链反应法

中图分类号:R373.2

文献标识码:B

文章编号:1002-2694(2013)06-0636-03

Detection of noroviruses from viral infectious diarrhea patients in Jiading, Shanghai

ZHENG Lei, YU Wei, GU Li-ping

(Jiading Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 201800, China)

ABSTRACT: The purpose of this study was to investigate prevalence of norovirus infection in patients with viral infectious diarrhea, analyze factors associated with norovirus epidemic, and facilitate control and prevention of norovirus infection in Jiading, Shanghai. A total of 572 anal swabs from patients with viral infectious diarrhea were collected at the Center Hospital in Jiading, March 2008 to February 2010, and detected for norovirus RNA by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Fifty-three (9.27%) specimens were positive for norovirus RNA. It was indicated by intensive analysis that norovirus infection occurred in the winter, and that population group of the elderly (aged 65+ years) was more susceptible.

KEY WORDS: norovirus; virus infectious diarrhea; RT-PCR

自1968年诺如病毒在美国诺瓦克市发现后,越来越多的研究证实诺如病毒是急性胃肠炎爆发疫情最主要的病原,也是成人、儿童非菌性腹泻主要的病原体^[1-2]。早年采用电镜等检测技术,缺乏简易、经济的检测手段,灵敏度低导致检出率较低,临幊上尚难与其他病毒性腹泻相鉴别,其所造成的疾病负担并未引起人们足够重视^[3]。1992年后开始发展并使用高灵敏度的RT-PCR方法检测诺如病毒,检出率有了大幅提高^[4]。为分析上海嘉定地区诺如病毒的感染状况,以进一步探索本地区诺如病毒流行规律和流行因素,为制订防控对策提供依据,本研究通过对从2008年3月开始到2010年2月由嘉定区中心医院采集的572例感染性腹泻患者粪便肛拭标本进行诺如病毒核酸实时荧光定量检测,分析该人群诺如病毒感染状况及特征。

1 材料与方法

1.1 肛拭样本收集对象 病毒感染性腹泻患者,病毒感染性腹泻定义为大便次数≥3次/天,呈水样、蛋花样或稀糊样便,排除常见细菌、寄生虫等感染。

1.2 肛拭样本来源和收集方法 本研究以上海市嘉定区中心医院为主要病毒感染性腹泻样本来源,医生根据病毒感染性腹泻定义诊断腹泻患者,如果符合就采集患者粪便,采用肛拭涂抹法收集,同时对患者进行资料收集。采集的样本-20℃冻存,由专人运送到区疾病预防控制中心实验室,由实验室人员进行检测。

1.3 样本检验 参照标准WS/T230-2002《临床诊断中聚合酶链反应(PCR)技术的应用》,具体方法为:冻存的粪便肛拭标本溶解后,按照中山大学达安基因股份有限公司提供的模板提取说明书提取标本模板。取5 μL RNA提取液以中山大学达安基因股份有限公司的诺如病毒实时荧光RT-PCR检测试剂盒检测病毒RNA。核酸扩增使用上海宏石PCR

扩增仪。

1.4 检测质量控制 根据标准 WS/T230-2002 要求,每次检测均设立阴性对照、阳性对照,样本中每隔 10 例设立一个平行对照。

2 结果

2.1 肛拭样本中诺如病毒总的检出情况 从 2008 年 3 月至 2010 年 2 月共检测 572 份病毒感染性腹泻患者粪便肛拭标本,其中阳性 53 例,阳性率 9.27%。

2.2 不同年份肛拭样本中诺如病毒检出情况

2008 年 3 月到 2009 年 2 月检测标本 427 例,阳性 17 例,检出率为 3.98%;2009 年 3 月到 2010 年 2 月检测标本 145 例,阳性 36 例,检出率为 24.83%。可以看出,2009 年病毒感染性腹泻中诺如病毒感染是其中的一个重要因素($\chi^2 = 55.951, P < 0.001$)。不同年份肛拭样本中诺如病毒检出情况见表 1。

表 1 不同年份肛拭样本中诺如病毒检出情况

Tab. 1 NoV test results of different years

年份 (Year)	采集标本数 (No. samples)	RT-PCR		阳性率(%) (Positive rate)
		阳性数 (No. positive samples)	诺如病毒 阳性数 (No. positive samples)	
2008.3-2009.2	427	17	3.98	
2009.3-2010.2	145	36	24.83	
Total	572	53	9.27	

2.3 不同年龄肛拭样本中诺如病毒检出情况 各个年龄组均可感染诺如病毒,感染者年龄最小为 10 岁,最大为 89 岁,其中 65 岁以上年龄组患者诺如病毒检出率为 21.05% ($\chi^2 = 12.189, P = 0.016$)。不同年龄肛拭样本中诺如病毒检出情况见表 2。

2.4 不同性别肛拭样本中诺如病毒检出情况 男性患者 294 例,诺如病毒检测阳性为 22 例,阳性率为 7.48%;女性患者 278 例,诺如病毒检测阳性为 31 例,阳性率为 11.15%,两者诺如病毒检出率差异无统计学意义($\chi^2 = 2.287, P = 0.130$)。不同性别肛拭样本中诺如病毒检出情况见表 3。

2.5 不同季节肛拭样本中诺如病毒检出情况 根据两年的诺如病毒检出情况进行分析,各个季节有明显差异,诺如病毒感染冬季最高($\chi^2 = 38.676, P < 0.001$)。2 年中各个季节肛拭样本中诺如病毒检出情况见表 4。

表 2 不同年龄肛拭样本中诺如病毒检出情况

Tab. 2 NoV test results of different age subgroups

年龄(岁) (Age subgroup)	采集标本数 (No. samples)	RT-PCR	
		诺如病毒 阳性数 (No. positive samples)	阳性率(%) (Positive rate)
0~	1	0	0
6~	19	1	5.26
18~	352	32	9.09
46~	143	8	5.59
≥65	57	12	21.05

表 3 不同性别肛拭样本中诺如病毒检出情况

Tab. 3 NoV test results of different gender subgroups

性别 (Gender subgroup)	采集标本数 (No. samples)	RT-PCR	
		诺如病毒 阳性数 (No. positive samples)	阳性率(%) (Positive rate)
男性 Male	294	22	7.48
女性 Female	278	31	11.15

表 4 2008—2009 年各个季节肛拭样本中诺如病毒检出情况

Tab. 4 NoV test results in different seasons in 2008 and 2009

季节 (Season)	采集标本数 (No. samples)	RT-PCR	
		诺如病毒 阳性数 (No. positive samples)	阳性率(%) (Positive rate)
春季 Spring	147	4	2.72
夏季 Summer	144	6	4.17
秋季 Autumn	139	12	8.63
冬季 Winter	142	31	21.83

3 讨论

3.1 从肛拭样本中诺如病毒总的检出情况看,2008 年到 2009 年检测的 572 份病毒感染性腹泻患者粪便肛拭标本中诺如病毒阳性 53 例,阳性率 9.27%,说明这 2 年嘉定区有近 10% 的病毒感染性腹泻是由诺如病毒引起。

3.2 从不同年份肛拭样本中诺如病毒检出情况可以看出,2008年诺如病毒阳性率为3.98%,而2009年为24.83%。说明2009年诺如病毒感染是嘉定区病毒感染性腹泻的重要原因之一,平均每4例就有1例是诺如病毒引起的。

3.3 从不同年龄肛拭样本中诺如病毒检出情况看出,各个年龄段均可感染诺如病毒,本地区以65岁以上老年人居多。由于此次收集送检的5岁以下病毒感染性患者肛拭样本较少,本地区5岁以下病毒感染性患者感染情况有待进一步分析。

3.4 从2年中不同季节肛拭样本诺如病毒检出情况显示,诺如病毒感染以冬季的1—2月份为高峰,这与诺如病毒的流行规律相符合,其他季节感染相对较低,但也有散发病例。

近些年诺如病毒在全球连续引起暴发流行,随着感染诺如病毒的人数逐渐增多,我国主要城市也都先后有大量报道,厦门地区病毒性腹泻诺如病毒检出率为38.08%^[5],深圳地区为27.05%^[6],嘉定地区诺如病毒感染较这2个城市稍低,造成这种差异的具体原因及影响因素有待进一步研究。

参考文献:

[1]Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis[J]. J Virol, 1972, 10(5): 1075-1081.

[2]Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, et al. Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States[J]. J Infect Dis, 2002, 186(1): 1-7. DOI: 10.1086/341085

[3]Xu YF, Tong YG, Ru ZT, et al. The general study on Norovirus infectious at home and abroad[J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(5): 949-951. (in Chinese)

徐友富,童贻刚,茹志涛,等.诺如病毒感染国内外研究概况[J].中国卫生检验杂志,2008,18(5):949-951.

[4]Liao GD, Chen JT, Li H, et al. The study on detecting Norovirus by Real-Time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)[J]. Int J Lab Med, 2011, 32(1): 91-92. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.043 (in Chinese)

廖国东,陈家图,李晖,等.应用实时荧光RT-PCR技术检测诺如病毒感染[J].国际检验医学杂志,2011,32(1):91-92. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.043

[5]Zheng HN, Li L, Chen JJ, et al. Study on Norovirus infection status among patients with virus diarrhea in Xiamen[J]. Chin J Zoonoses, 2010, 26(3): 259-262. (in Chinese)

郑惠能,李莉,陈娟娟,等.厦门地区病毒性腹泻诺如病毒感染状况[J].中国人兽共患病学报,2010,26(3):259-262.

[6]He YQ, Feng B, Zhang HL, et al. Molecular epidemiology of Noroviruses in Shenzhen in 2006[J]. Chin J Epidemiol, 2009, 30(11): 1214-1215. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.11.033 (in Chinese)

何雅青,冯斌,张海龙,等.深圳地区2006年诺如病毒分子流行病学研究[J].中华流行病学杂志,2009,30(11):1214-1215. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.11.033

收稿日期:2012-08-17;修回日期:2013-02-02

《中国人兽共患病学报》书写规范

1. 计量单位 按GB 3100~3102—93《量和单位》中的规定执行,具体可参照最新版《法定计量单位在医学上的应用》(人民军医出版社)一书。组合单位符号中表示相除的斜线多于1条时应采用负数幂的形式表示,如ng/kg/d应改为ng·kg⁻¹·d⁻¹的形式;组合单位中斜线和负数幂不可混用,如前例不宜采用ng/kg·min⁻¹的形式。量的符号一律用斜体字,如吸光度(旧称光密度)的符号为A,“A”为斜体字。

2. 数字 执行GB/T 15835—1995《关于出版物上数字用法的规定》。公历世纪、年代、年、月、日、时刻和计数、计量均用阿拉伯数字。小数点前或后超过3位数字时,每3位数字一组,组间空1/4个汉字空,如“1,234.567,8”应写成“1 234.567 8”。但序数词和年份、页数、部队番号、仪表型号、标准号不分节。百分数的范围和偏差,前一个数字的百分符号不能省略,如10%~90%不能写成10~90%,45.6%±0.4%不能写成45.6±0.4%。附带尺寸单位的数值相乘,按下列方式书写:4 cm×5 cm×6 cm,而不能写成4×5×6 cm³。

3. 统计学符号与统计学术语 按GB/T 3358.1—1994,GB/T 3358.2—1993,GB/T 3358.3—1993的有关规定书写,如概率用英文大写P(P值前应给出具体检验值,如t值、χ²值、q值等)。对P值小于或等于检验水准(一般为0.05)的情况,一律描述为“差异有统计学意义”,而不能描述为“差异有显著性”,余此类推。