维普资讯 http://www.cqvip.com

191-196

6753(2)

第10卷第3期 中国病毒学 Vol. 10, No. 3
1995年9月 VIROLOGICA SINICA Sep., 1995

少数民族新生儿及婴幼儿中人轮状病毒分子流行病学研究*

李春英[1] 高 进[2]** 张秀英[1] 张忠哲[3] 吴秉仁[1]

[1](内蒙古自治区卫生防疫站，呼和浩特 010020)
[2](内蒙古医学院附属医院，呼和浩特 010050)
[3](内蒙古呼盟莫力达瓦达斡尔族自治旗卫生防疫站，内蒙莫旗 162850)

R373.25

提要 用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术，对内蒙古自治区三个不同地理位置的少数民族自治旗及一个城市汉族对照区秋冬季采集的新生儿胎便及婴幼儿急性腹泻便进行轮状病毒RNA基因组特点分析。共检测胎便标本146份，腹泻便标本116份。结果表明：几个少数民族地区流行的轮状病毒均以A组第Ⅱ亚组为主，并在一个地区有多种差异电泳型存在。新生儿胎便中可检出轮状病毒并显示了特征性A组轮状病毒RNA基因型。胎便中轮状病毒检出率高的地区，腹泻便检出率也相应高，轮状病毒的检出率与民族、地理位置无明显关系，而与当地的卫生条件及地形有关。阳性标本使用A组单克隆抗体酶标免疫试剂进一步证实。

关键词 轮状病毒，RNA基因组，新生儿，婴幼儿，粪便

分子流行病学；

轮状病毒是婴幼儿急性胃肠炎的主要病原体，呈散发或暴发式流行，并有明显季节性[1]。根据病毒外壳特异性抗原可将其分为A、B、C、D、E、F和G组[2]。A组主要引起婴幼儿腹泻，并有亚组抗原特异性及型特异性之分。HRV的RNA电泳迁移率与亚组特异性有一定相互关系，根据第10、11基因片段在凝胶中迁移速度的快慢，分为长型和短型。现已证实A组HRV第Ⅰ亚组属短型，第Ⅱ亚组属长型。此外，在每一亚组内还存在着多种差异电泳型[3]。近几年来，有A组HRV在医院婴儿室新生儿中引起腹泻流行及无症状感染的报告以及在新生的小牛、小猪中检测到A组HRV的报告[4-7]。本文报道了对我区几个少数民族集中居住区新生儿胎便及腹泻便的轮状病毒优势组，优势亚型的研究结果以及胎便、腹泻便中阳性检出率的对应关系。

材料与方法

1 病毒标本 1992年11月—1993年3月从内蒙古自治区3个不同地理位置的少数民族集中居住区达茂旗(蒙古族)、莫力达瓦旗(达斡尔族)、鄂温克旗(鄂温克族)和汉族集中居住区(呼和浩特市)医院产科婴儿室，收集1—3日龄健康新生儿胎便(出生后第一次大便)，临床记录无腹泻症状，胎便为深绿色粘糊状，以及儿科收

本文于1994年6月10日收到，11月27日修回
* 卫生部青年科学基金资助课题
** 参加本工作的还有内蒙古呼盟鄂温克族自治旗卫生防疫站苏代，内蒙古乌盟达茂旗人民医院赵保证，内蒙古呼盟盟卫生防疫站韩勇，马海云。

维普资讯 http://www.cqvip.com

集的婴幼儿(6—30月)急性腹泻便,置-30℃冰箱保存。

2 核酸电泳 主要参照 Herring[8]的方法进行,核酸经10倍浓缩后注胶电泳。

3 酶联免疫试验(ELISA) 酶标记抗A组轮状病毒内壳蛋白 VP_6 单克隆抗体,由浙江医科大学提供,操作及结果判定按试剂盒说明进行。

结 果

1 不同民族居住区HRV检出率及亚组分布

采用PAGE方法对1992年11月至1993年3月病毒性腹泻流行高峰期不同民族居住区收集的婴幼儿急性腹泻便样品和胎便样品进行了HRV检测。达茂旗急性腹泻便的阳性率为71.4%(20/28),胎便的阳性率为19.4%(7/36);莫力达瓦旗急性腹泻便的阳性率为50%(15/30),胎便的阳性率为0(0/30);鄂温克旗急性腹泻便的阳性率为62.5%(15/24),胎便的阳性率为3.3%(1/30);呼和浩特市地区急性腹泻便的阳性率为44.1%(15/34),胎便的阳性率为8.0%(4/50)(见表1)。HRV核酸电泳型与标准株WaRNA及DS-iRNA迁移图形比较,达茂旗阳性样品85.2%(23/27)属第Ⅱ亚组HRV(即长RNA电泳型);莫力达瓦旗和鄂温克旗100%为第Ⅱ亚组(15/15,16/16);呼和浩特市地区78.9%(15/19)属于第Ⅱ亚组。属于第Ⅰ亚组电泳型的阳性样品在达茂旗和呼和浩特市地区各占14.8%和21.1%(4/27,4/19),并且均为婴幼儿急性腹泻便样品。胎便中除莫力达瓦旗没有检出HRV外,其他地区检出的阳性样品均属第Ⅱ亚组HRV(见图1)。

图1 新生儿胎便中轮状病毒RNA基因组图型

A—E:达茂旗(蒙古族居住区)分离株

F:鄂温克旗(鄂温克族居住区)分离株

G:呼和浩特市(汉族居住区)分离株

Fig. 1 Electrophoretic patterns of HRV RNA genomes from newborn meconium

维普资讯 http://www.cqvip.com

A—E：Isolates from Damao Banner (Mongolian populated area)

F：An isolate from Ewenke Banner (Ewenke populated area)

G：An isolate from Huhhot City (Common Chinese populated area)

表1　不同民族居住区HRV检出率及亚组分布

Table 1　HRV subgroup distribution in different minority areas

地区 Area	检测数 No. of samples		阳性数 Positive number				合计(%) Total
			第Ⅰ亚组(%) Subgroup Ⅰ		第Ⅱ亚组(%) Subgroup Ⅱ		
	腹泻便 Diarrhea	胎便 Meconium	腹泻便 Diarrhea	胎便 Meconium	腹泻便 Diarrhea	胎便 Meconium	
达茂旗 Damao Banner	28	36	4(14.3)	0	16(57.17 (19.4)	27(35.0)	
莫力达瓦旗 Mulidawa Banner	30	30	0	0	15(50.0)	0	15(19.5)
鄂温克旗 Ewenke Banner	24	30	0	0	15(62.5)	1(3.3)	16(20.8)
呼和浩特市 Huhhot City	34	50	4(11.7)	0	11(32.4)	4(8.0)	19(24.7)
合计 Total	116	146	8	0	57	12	77(100)

2　不同民族居住地区HRV电泳差异型的区别

将不同民族居住区的阳性样品在同一条件下电泳。比较不同毒株同一基因片段电泳迁移率的差别。以Espejo[9]的分型标准，达茂旗以第2差异电泳型为主，占74.1%(20/27)。鄂温克旗、莫力达瓦旗和呼和浩特市地区则以第1差异电泳型为主，其检出率分别为81.3%，73.3%，73.3%。不同民族居住区优势电泳差异型的检出结果见表2。

表2　不同民族居住区HRV的RNA电泳差异型分析

Table 2　RNA electrophoretic subtypes of HRV from different ethnic minorities

电泳差异型 Subtype	达茂旗 Damao Banner		鄂温克旗 Ewenke Banner		莫力达瓦旗 Mulidawa Banner		呼和浩特市 Huhhot City		合计 Total
	腹泻便(%) Diarrhea	胎便(%) Meconium	腹泻便(%) Diarr.	胎便(%) Meco.	腹泻便(%) Diarr.	胎便(%) Meco.	腹泻便(%) Diarr.	胎便(%) Meco.	
差异型1 Subtype 1	4(20.0)	3(42.9)	12(80.0)	1(100)	11(73.3)	0	11(73.3)	3(75.0)	45(58.4)
差异型2 Subtype 2	16(80.0)	4(57.1)	3(20.0)	0(0)	4(26.7)	0	4(26.7)	1(25.0)	32(41.6)
合计 Total	20	7	15	1	15	0	15	4	77(100)

3　酶标法和PAGE法检测HRV的比较

维普资讯 http://www.cqvip.com

采用酶标记抗A组轮状病毒内壳蛋白VP_6单克隆抗体对所有收集的样品进行了检测。腹泻便的检出率为51.7%，胎便的检出率为15.1%，与PAGE的检出率56.0%、8.2%基本一致($P>0.05$，见表3)。

表3 不同民族居住地区轮状病毒的PAGE及ELISA结果比较

Table 3 Comparison of HRV from different ethnic minorities by PAGE and ELISA

地区 Area	检测数 No. of samples		阳性数 Positive number					
			ELISA(%)		PAGE(%)		ELISA+PAGE(%)	
	腹泻便 Diarrhea	胎便 Meconium	腹泻便 Diarr	胎便 Meco.	腹泻便 Diarr	胎便 Meco.	腹泻便 Diarr	胎便 Meco.
达茂旗 Damao Banner	28	36	16(57.1)	11(30.5)	20(71.4)	7(19.4)	21(75.0)	11(30.5)
莫力达瓦旗 Mulidawa Banner	30	30	14(46.7)	5(16.7)	15(50.0)	0	15(50.0)	5(16.7)
鄂温克旗 Ewenke Banner	24	30	15(62.5)	2(6.6)	15(62.5)	1(3.3)	16(66.7)	3(10.0)
呼和浩特市 Huhhot City	34	50	15(44.1)	4(8.0)	15(44.1)	4(8.0)	17(50.0)	5(10.0)
合 计 Total	116	146	60(51.7)	22(15.1)	65(56.0)	12(8.2)	69(59.5)	24(16.4)

X^2达茂旗与呼和浩特市为5.81，$P<0.05$(胎便)

X^2 5.81 for Damao Banner and Huhhot City，$P<0.05$(meconium)

X^2达茂旗与呼和浩特市为4.04，$P<0.05$(腹泻便)

X^2 4.04 for Damao Banner and Huhhot City，$P<0.05$(diarrhea)

从表3也可看出，只有达茂旗与呼和浩特市之间腹泻便、胎便阳性率有显著差异($P<0.05$)，其它地区间均无显著性差异($P>0.05$)。

讨 论

检测结果表明，新生儿胎便中可检测出轮状病毒，并显示了特征性A组轮状病毒RNA基因型。四个地区HRV流行的优势型均为第Ⅱ亚组。呼和浩特市和达茂旗在地理位置上相距较近(约170km)，两地区同时伴有第Ⅰ亚组HRV的感染，但其流行的优势电泳差异型却不同。而与呼和浩特市相距较远的东部区莫旗及鄂旗(约2470km)均没有检出第Ⅰ亚组HRV，但其流行的优势电泳差异型却与呼和浩特市相同。腹泻便中阳性检出率高的地区，胎便中也相对应较高，其优势电泳差异型也一致。

三个少数民族居住区的阳性检出率与对照区相比，唯有达茂旗腹泻便、胎便同时与对照区有明显差异。从流行病学调查结果来看，这一现象的出现与民族、地理位置没有显著关系，而与当地的卫生条件有关。达茂旗镇四面环山，污水排放困难，卫生条件明显劣于其它几个地区，居住区内垃圾及人畜粪便随处可见，可能是这一地区HRV流行广泛、感染率高的原因。

有些作者[5,10]认为ELISA试剂盒如用于腹泻症状的新生儿粪便的轮状病毒检测，则结果

维普资讯 http://www.cqvip.com

准确可靠。若检测无症状感染的样品，则假阳性较多，甚至可达66%[11]，因而提出须用其它方法验证或用改良的ELISA法。我们使用了酶标记抗A组轮状病毒内壳蛋白VP_6单克隆抗体，对腹泻样品的检测结果与PAGE法的结果基本一致（表3），而对胎便的检测结果为6.6%—30.5%，也远低于国内外报道的新生儿无症状感染的检测结果[5,10]。现已证实轮状病毒第6基因片段编码内壳蛋白为血清亚组特异性抗原决定簇[12]。用其制备单克隆抗体，使试剂的特异性增加，减少了假阳性。据Tavares[13]和Blokhina[14]对出生后24小时内的新生儿胎便的检测结果及对产房所做的流行病学调查，表明胎便的阳性检出率为2、11%，进一步的调查排除了分娩产式及分娩后产妇腹泻与新生儿腹泻之间的关系，提示产妇、新生儿、医护人员可作为传染源而形成HRV在产房内的传播。本研究不同地区新生儿胎便HRV的PAGE检测阳性率为0—19.4%，推测其感染主要来源于产妇或婴儿室的污染环境。

参 考 文 献

1 Griffiths F H, Steele A D, Alexander J J. The molecular epidemiology of rotavirus-associated gastro-enteritis in the transkei, Southern Africa. Ann Trop Paediatr, 1992; 12(3): 259—264

2 黄祯祥主编. 医学病毒学基础及实验技术. 第一版. 北京：科学出版社，1990：616

3 Yap K L, Wang Y H, Khor C W, *et al*. Rotavirus electropherotypes in Malaysian children. Can J Microbiol, 1992; 38(9): 996—999

4 Kunz J, Stongo R, Schams M. *et al*. An outbreak of rotavirus infections in newborns—new aspects? J Perinal Med, 1990; 18(5): 357—362

5 白植生、吴婷灵、宋小冬、等. 新生儿轮状病毒无症状感染的研究. 中华微生物和免疫学杂志，1990; 10(1): 57—60

6 Lucchelli A, Lance S E, Bartlett P B, *et al*. Prevalence of bovine group A rotavirus shedding among dairy calves in Ohio. Am J Vet Res, 1992; 53(2): 169—174

7 Alpers D, Sanders R C, Hampson D J. Rotavirus excretion by village pigs in Papua New Guinea, Aust Vet J, 1991; 68(2): 65—67

8 Herring A Z, Inglis N F, Ojeh C K, *et al*. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. J Clin Microbiol, 1982; 16(3): 473—477

9 Espejo R T, Avendano L F, Munoz O. *et al*. Comparison of human rotaviruses isolated in Mexico City and in Sartiago. Chili by electrophoretic migration of their double-stranded ribonucleic acid genome segments. Infect Immun, 1980; 30: 342—348

10 Coulson B S. An improved enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of rotavirus in faeces of neonates J. Virol Methods, 1984; 8: 165

11 Giaquinto C, Evaluation of ELISA test for rotavirus diagnosis in neonates. J Pediatr, 1986; 109: 565

12 Giuseppe Gerna, Johannes Forster, Maurizio Parea. *et al*. Nosocomial outbreak of neonatal gastroenteritis caused by a new serotype 4, subtype 4B human rotavirus. J Med. Virol, 1990; 31: 175—182

13 Tavares-Junior-P-de A. Rotavirus in newborns less than 24 hours of age. Rev Paul Med, 1990; 108(1): 26—28

14 Blokhina T A, Riabtseva V A, Avakova A A. *et al*. Rotavirus infection in a maternity house based on virological and serological study data. Vopr-Virusol. 1991; 36(6): 483—486

维普资讯 http://www.cqvip.com

Study on Molecular Epidemiology of Rotaviruses among Newborns and Infants of Ethnic Minorities

Li Chunying Gao Jin Zhang Xiuying *et al*

(*Inner Mongolia Health and Anti-epidemic Station, Huhhot* 010020)

This paper reports that the HRV detection results from different ethnic minorities in Inner Mongolia, China, 146 meconium and 116 acute diarrhea samples were collected from hospitalized newborns and infants during winter diarrhea period in 1993 and were examined by PAGE and McAb VP_6 ELISA. The results showed that different ethnic minority areas had the same predominant electropherotype, but different subtypes. HRV detected in newborn meconium had clear genotypes of HRV group A and all belong to subgroup Ⅱ (long electropherotype). High HRV positive rate was found in certain area, but there was no correlations between either ethnic races or geographical locations. According to epidemic investigation, local environmental hygiene level was the main infection factor of the disease. This conclusion was further confirmed by McAb VP_6 ELISA.

Key words HRV, Newborn, Infant, stool, RNA genotype