

# 昆明市 2014—2015 年轮状病毒分子流行病学特征

张顺先 艾琳 周晓农 杨景晖

200025 上海, 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室 世界卫生组织热带病合作中心 国家级热带病国际联合研究中心(张顺先、艾琳、周晓农); 650032 昆明, 云南省第一人民医院 昆明理工大学附属昆华医院(杨景晖)

张顺先、艾琳对本文同等贡献

通信作者: 杨景晖, Email: yangjh1029@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2017.02.008

**【摘要】 目的** 分析 2014 年 7 月到 2015 年 6 月云南省昆明市全年龄组腹泻人群 A 组轮状病毒的感染状况及病原学特征, 为 A 组轮状病毒感染的监测、防控及暴发病例的调查及疫苗研发提供基础数据和 method 学参考。**方法** 采集云南省 4 个监测哨点医院全年龄组腹泻人群的粪便样本 1 121 份、非腹泻人群的粪便 319 份。提取样本 RNA, 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)鉴定 A 组轮状病毒阳性, 对于阳性样本, 进一步进行半巢式多重 RT-PCR 法进行 G/P 基因分型。**结果** 1 121 份腹泻样本共检出 A 组轮状病毒 244 份, 总阳性率 21.8%。G 基因分型: G9(66.4%,  $n=156$ )是最主要的基因型, 其次是 G3(18.7%,  $n=44$ )、G1(8.9%,  $n=21$ )和 G8(1.7%,  $n=4$ ), P 基因分型: P[8](92.8%,  $n=218$ )是最主要的基因型, 其次是 P[4](4.7%,  $n=11$ )。在 G/P 基因型方面, G9P[8](57.0%,  $n=134$ )是最主要基因型, 其次是 G3P[8](18.3%,  $n=43$ )和 G1P[8](8.9%,  $n=21$ )。轮状病毒流行有明显的季节分布特征( $\chi^2=46.3, P<0.001$ ), 流行高峰为冬季(31.2%); G9P[8]( $\chi^2=27.3, P<0.001$ )、G3P[8]( $\chi^2=10.2, P<0.042$ )和 G1P[8]( $\chi^2=8.2, P<0.039$ )的流行也都有明显的季节趋势, 也都集中在冬季。<5 岁人群中, 阳性率在腹泻病例中高于非腹泻病例的基因型有 G9P[8](14.9%, 2.9%,  $\chi^2=18.1, P<0.001$ )和 G3P[8](4.4%, 0.5%,  $\chi^2=5.6, P<0.018$ )。**结论** 云南省腹泻人群中存在较高的 A 组轮状病毒感染率, 病原体可分为多种基因型别, G9P[8]为优势型别。

**【主题词】** A 组轮状病毒; 基因型; 昆明市

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2016YFC1202000); 云南省卫生科技计划项目(2016NS237)

**Rotavirus A pathogen surveillance and gene typing analysis in Kunming city of Yunnan province from July 2014 to June 2015** Zhang Shunxian, Ai Lin, Zhou Xiaonong, Yang Jinghui

National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention. Key Laboratory for Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, People's Republic of China; WHO Collaborating Center for Tropical Diseases, National Center for International Research on Tropical Diseases, Shanghai 200025, China (Zhang SX, Ai L, Zhou XN); The first People's Hospital of Yunnan Province, Kunhua Hospital Affiliated to Kunming University of Science and Technology, Kunming 650032 China (Yang JH) Zhang Shunxian and Ai Lin are the first authors who contributed equally to the article Corresponding author: Yang Jinghui, Email: yangjh1029@163.com

**【Abstract】 Objective** To analyze the infectious status and etiological characteristics of rotavirus A (RVA) from children less than five years old in the Kunming city of Yunnan province from July 2014 to June 2015, to provide basic data and methodological references for the disease surveillance, and controlling outbreak cases investigations as well as vaccine research and development. **Methods** Stool samples were collected from 1 121 diarrhea cases and 319 healthy controls in four sentinel hospitals and transported to laboratory. Two-step reverse transcriptional polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the presence of RVA in each stool specimen. Suspicious positive specimens of gel electrophoresis was further

sequenced to make definite diagnosis of RVA infection. Each RVA positive stool specimen was confirmed with sequencing which was conducted the semi-nested multiplex RT-PCR to detect six G genotypes and six P genotypes. **Results** Total 244 samples from the 1 212 diarrhea patients were detected positive for RVA and the total positive rate was 21.8%. G typing of group A rotavirus mainly showed G9(66.4%,  $n=156$ ), G3(18.7%,  $n=44$ ), G1(8.9%,  $n=21$ ) and G8(1.7%,  $n=4$ ). P typing mainly showed P[8](92.8%,  $n=218$ ) and P[4](4.7%,  $n=11$ ); G/P combination genotypes were composed mainly of G9P[8](57.0%,  $n=134$ ), G3P[8](18.3%,  $n=43$ ) and G1P[8](8.9%,  $n=21$ ). The detection rate of RVA in diarrhea patients had obvious seasonal distribution ( $\chi^2=46.3$ ,  $P<0.001$ ), with the prevalent peak in winter (31.2%), and the seasonal distribution of G9P[8]( $\chi^2=27.3$ ,  $P<0.001$ ), G1P[8]( $\chi^2=8.2$ ,  $P<0.039$ ) and G3P[8]( $\chi^2=10.2$ ,  $P<0.042$ ) had strong seasonal pattern with a peak in winter equally. In the subjects under five years, the detection rate of G9P[8](14.9%, 2.9%,  $\chi^2=18.1$ ,  $P<0.001$ ) and G3P[8](4.4%, 0.5%,  $\chi^2=5.6$ ,  $P<0.018$ ) from diarrhea cases were higher than that of in healthy controls, respectively. **Conclusion** There existed rather high infection rate of RVA in acute diarrhea cases in Yunnan province, which can be divided into a variety of genotypes, G9P[8] was the dominant genotype.

**【Key words】** Group A rotavirus; Genotype; Kunming city

**Fund programs:** National Key Research and Development Project (No. 2016YFC1202000); Yunnan Provincial Health Science and Technology Program (2016NS237)

人感染 A 组轮状病毒是一种双链 RNA 病毒, 呼肠孤病毒科轮状病毒属, 是引起 <5 岁以下儿童腹泻的主要病原体之一, 其通过感染小肠黏膜上皮细胞, 造成细胞损伤, 引起渗透性腹泻病。A 组轮状病毒在每年的秋冬季流行, 感染途径为粪—口途径<sup>[1]</sup>, 临床表现为急性胃肠炎, 可导致呕吐、发热、腹泻、脱水甚至死亡等严重并发症<sup>[2]</sup>。我国 <5 岁门诊腹泻儿童中轮状病毒检出率约 25.2%, 住院腹泻儿童中为 29.7%~41.3%<sup>[3,4]</sup>。

目前根据轮状病毒的主要外壳蛋白 VP7 和 VP4 中和抗原性的差异, 迄今为止至少发现 26 个 G 型和 35 个 P 型<sup>[5,6]</sup>, 但轮状病毒 G/P 基因型随时间而不断变化。1980—2011 年我国 <5 岁腹泻儿童中 G3 占有所有 G 分型的 39.3%, P[8] 占有所有 P 分型的 56.2%, G3P[8] 占 G/P 基因型 32.1%<sup>[7]</sup>; 而 2012 年以后 G9 逐步成为主要的 G 分型<sup>[7]</sup>。轮状病毒 G/P 基因型的不断变化, 在一定程度上增加了轮状病毒腹泻防治的难度。

为此, 本研究尝试揭示云南省昆明市轮状病毒的流行程度及基因型分布特征, 为轮状病毒疫苗的引进和推广提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 样本来源** 选取昆明市 4 家医院为研究现场, 分别为云南省第一人民医院、昆明医科大学第一附属医院、昆明市儿童医院和昆明市普吉社区医院, 从这 4 个医院门诊就诊的患者中选择腹泻病例和非腹泻研究对象。

年 6 月 30 日期间, 在上述 4 家哨点医院门诊就诊的患者中在过去 24 h 内腹泻的次数  $\geq 3$  次、粪便形态异常(水样便, 血样便, 粘液样便和蛋花样便等)且在过去 2 周内没有出现腹泻症状的患者定义为腹泻病例。

非腹泻研究对象的纳入标准: 2014 年 7 月 1 日至 2015 年 6 月 30 日期间, 在上述医院门诊就诊的患者中在过去 24 h 内排便次数 <3 次、粪便形态正常、未患有其他消化道疾病或症状且过去 2 周内没有发生腹泻症状的研究对象定义为非腹泻人群。

**1.2 样本采集与保存** 在 2014 年 7 月 1 日到 2015 年 6 月 30 日期间, 从这 4 个医院无菌采集腹泻病例和非腹泻人群粪便样本, 固体便每份取 5~10 g, 水样便或稀便每份取 5~10 ml, 采集的标本放入螺口采样管并将样本置于 -70℃ 保存。

**1.3 仪器与试剂** 病毒核酸提取试剂盒购自中国台湾 Geneaid 公司(Viral Nucleic Acid Extraction Kit II), SuperScript III 逆转录酶(Superscript III, Invitrogen, carlsbad, CA)购自美国 Invitrogen 公司, 随机引物(Prmegan, Madison, WI)、dNTP MIX、GoTaq DNA 聚合酶购自美国 Promega 公司, 引物由上海生工公司合成, 核酸电泳及凝胶成像系统和 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司。

**1.4 病毒核酸检测和分析** 将冻存的粪便样本自然解冻, 取 0.1 g 固体粪便标本或 0.1 ml 液体粪便, 加入 0.9 ml 生理盐水至 1.5 ml EP 管中, 混匀, 制成 10% 的便悬液, 8 000 rpm 离心 5 min, 取上清待检。

采用试剂盒提取病毒 RNA(操作步骤严格按照

腹泻病例的纳入标准: 2014 年 7 月 1 日至 2015

说明书)。根据文献[8],采用两步法的逆转录聚合酶联反应 RT-PCR 的方法来确定 RVA 阳性:通过 Superscript III 逆转录试剂盒和随机引物合成 cDNA,反应条件为:42℃ 90 min,99℃ 5 min。然后使用 VP6 引物<sup>[8]</sup>确定 RVA 阳性,反应条为 94℃ 5 min;94℃ 1 min,42℃ 1 min,72℃ 1 min(40 个循环);72℃,10 min,扩增产物为 379 bp,取 10 μl PCR 扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳(140 V,30 min)。对疑似阳性的产物进行测序,以确定是否为阳性。

对于确定的阳性样本,提取产物参照世界卫生组织(WHO)轮状病毒参比实验室提供的 A 组轮状病毒 G(病毒外壳蛋白 VP4)/P(病毒外壳蛋白 VP7)基因分型引物序列及试验方案进行,其中 G 分型包括 G1/G2/G3/G4/G8/G9/G10/G11 8 条引物,P 分型包括 P[4]/P[6]/P[8]/P[9]/P[10]/P[11] 6 条引物<sup>[9-11]</sup>。取 10 μl PCR 扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳(140 V,30 min)。根据特异性核酸条带大小和数目组合判断 A 组轮状病毒基因类别。

**1.5 统计学方法** 使用 SPSS19.0 软件(SPSS19.0, IBM)进行数据分析,分类资料的构成比、OR 值及 95% 可信区间(CIs)计算使用卡方检验或者 Fisher 检验法;连续性数据根据数据特征选择 *t* 检验、方差分析或 K-W 秩和检验,判断标准为 *P* < 0.05。

**1.6 伦理学** 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所伦理审查委员会对本研究进行了伦理审查(书面函审),并同意开展此研究。

2 结果

**2.1 轮状病毒腹泻病例特征** 轮状病毒阳性的腹

泻病例年龄中位数为 0.92 岁,轮状病毒阴性的腹泻病例年龄中位数为 1.33 岁,轮状病毒阳性的腹泻病例的年龄小于轮状病毒阴性的腹泻病例的年龄( $\chi^2 = 5.67, P < 0.001$ )。轮状病毒阳性者的腹泻次数高于轮状病毒阴性者的次数(8,5, $\chi^2 = 10.6, P < 0.012$ )。发热在轮状病毒阳性者中高于轮状病毒阴性者( $\chi^2 = 30.2, P < 0.001$ ),呕吐在轮状病毒阳性者中高于轮状病毒阴性者( $\chi^2 = 63.8, P < 0.001$ ),水样便在轮状病毒阳性者中高于轮状病毒阴性者( $\chi^2 = 97.7, P < 0.001$ )(表 1)。

2.2 轮状病毒基因型分布特征

**2.2.1 腹泻病例和非腹泻病例轮状病毒基因型构成:**在腹泻病例中检出 244 株轮状病毒,有 9(3.9%)株没有完全的 G/P 分型,其中 8 株有 G 分型而没有做出 P 分型,1 株有 P 分型而未能做出 G 分型。235 株轮状病毒同时做出 G 分型和 P 分型,这 235 株轮状病毒共 30 种基因分型,包括 6 个 G 分型和 5 个 P 分型。在 235 株轮状病毒的 G 分型中,G9(66.4%,*n* = 156)是最主要的基因型,其次是 G3(18.7%,*n* = 44)、G1(8.9%,*n* = 21)、G8(1.7%,*n* = 4)、G4(1.7%,*n* = 4)和 G2(1.0%,*n* = 2);在 235 株轮状病毒的 P 分型中,P[8](92.8%,*n* = 218)是最主要的基因型,其次是 P[4](4.7%,*n* = 11)、P[9](2.1%,*n* = 5)、P[6](1.0%,*n* = 1)。G9、G3 和 G1 基因型占总 G 分型的 90.0% 以上,P[8]和 P[4]占总 P 分型的 95% 以上。在 G/P 基因型方面,G9P[8](57.0%,*n* = 134)是最主要基因型,其次是 G3P[8](18.3%,*n* = 43)和 G1P[8](8.9%,*n* = 21);G9P[8]、G3P[8]和 G1P[8]这 3

表 1 腹泻病例中轮状病毒阳性者的特征分布

临床症状 Clinical manifestations	轮状病毒阳性	轮状病毒阴性	$\chi^2$	<i>P</i>
	Patients infected with RVA	Patients infected without RVA		
	<i>n</i> = 244 <i>n</i> (%)	<i>n</i> = 877 <i>n</i> (%)		
年龄(年,中位数) <sup>a</sup> Age(year, medium) <sup>a</sup>	0.92	1.33	5.67	<0.001
腹泻次数(≥3/d) <sup>a</sup>	8	5	10.6	<0.012
Diarrhea frequency(≥3 episodes per day) <sup>a</sup>				
发热(>37.5℃) <sup>b</sup> Fever(>37.5℃) <sup>b</sup>	55(22.5)	83(9.5)	30.2	<0.001
呕吐 <sup>b</sup> Vomiting <sup>b</sup>	104(42.6)	159(18.1)	63.8	<0.001
脱水 <sup>b</sup> Dehydration <sup>b</sup>	41(16.8)	23(2.6)	71.3	<0.001
水样便 <sup>b</sup> Watery stool <sup>b</sup>	179(73.4)	331(37.1)	97.7	<0.001
黏液样便 <sup>b</sup> Mucus stool <sup>b</sup>	58(23.2)	482(55.0)	74.4	<0.001
其他类型粪便 <sup>b</sup> Other stool <sup>b</sup>	4(1.6)	71(8.1)	9.31	<0.002

注:<sup>a</sup>秩和检验,<sup>b</sup>卡方检验  
Note:<sup>a</sup>Rank-sum test between two data groups;<sup>b</sup>Chi-square tests between two data groups

种基因型占有所有基因型的 84.2%。

在非腹泻人群中共检出 12 株轮状病毒,这 12 株轮状病毒均做出 G 分型和 P 分型。G 分型有 3 种基因型,G9(58.7%, $n=7$ )是最主要的基因型,其次是 G1(25.0%, $n=3$ )和 G3(16.7%, $n=2$ );P 分型有 2 种基因型,P[8](91.7%, $n=11$ )是最主要的基因型,其次是 P[6](8.3%, $n=1$ )。这 12 株轮状病毒有 3 种 G/P 基因型组合,G9P[8](50.0%, $n=6$ )是最主要基因型,其次是 G1P[8](25.0%, $n=3$ )和 G3P[8](16.7%, $n=2$ )。

2.2.2 腹泻病例轮状病毒基因型年龄分布特征:将 1 121 名腹泻病例分成 5 个年龄组(<1 岁、1~2 岁、2~5 岁、5~65 岁和≥65 岁),其中<1 岁的腹泻病例有 718 名、1~2 岁有 73 名、2~5 岁有 59 名、5~65 岁有 244 名、≥65 岁有 27 名。RVA 在不同年龄组腹泻病例中阳性率有差异(202/718,11/73,9/59,18/244,4/27; $\chi^2=50.9,P<0.001$ ),其中<1 岁腹泻儿童中阳性率最高(28.1%)。G9P[8]基因型在不同年龄组腹泻病例中有差异(118/718,5/73,5/59,6/244,1/27; $\chi^2=48.4,P<0.001$ ),而 G3P[8]、G1P[8]和 G3G1P[8]的流行在不同年龄段腹泻病例中没有差异(表 2)。

2.2.3 腹泻病例轮状病毒及基因型性别分布特征:全年龄组腹泻人群中,RVA 阳性率在男性腹泻病例和女性腹泻病例中没有差异(21.6%, $n=121$ ;21.9%, $n=123$ ; $\chi^2=0.01,P=0.922$ )。其中 G9P[8]的阳性率在男性腹泻病例和女性腹泻病例中也没有差异(11.4%, $n=64$ ;12.5%, $n=70$ ; $\chi^2=0.270,P=0.603$ ),其他基因型的阳性率在男性和女性腹泻病例中也都没有差异。

2.2.4 腹泻病例轮状病毒基因型季节分布特征:

根据昆明市气候特征,我们把 2—4 月定义为春季、5—7 月为夏季、8—10 月为秋季、11 月到次年 1 月为冬季,分别收集到腹泻病例 267 例、200 例、260 例和 394 例。腹泻病例中 RVA 的阳性率有明显的季节趋势(45/267,19/200,52/260,126/394, $\chi^2=46.3,P<0.001$ ),流行高峰为冬季(31.2%),低谷为夏季(9.5%)。G9P[8]基因型的阳性率也有明显的季节趋势(26/267,6/200,34/260,68/394, $\chi^2=27.3,P<0.001$ ),流行高峰为冬季(17.3%)。G1P[8]基因型也有明显的季节分布趋势(9/267,7/200,4/260,23/394, $\chi^2=8.22,P<0.039$ ),流行高峰是冬季(5.8%)。G3P[8]基因型也有明显的季节趋势(5/267,0/200,4/260,12/394, $\chi^2=10.2,P<0.042$ ),流行高峰也是冬季(3.0%)(图 1)。

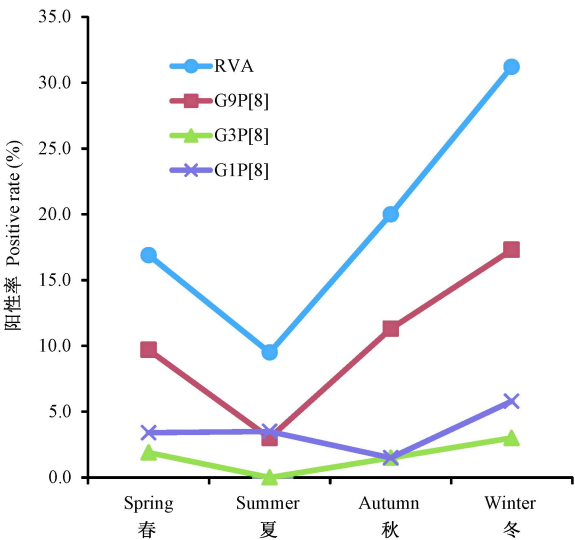


图 1 腹泻病例中 RVA 及主要基因型季节分布特征  
Fig. 1 The seasonal distribution of RVA and main G/P genotypes in diarrheal patients

表 2 腹泻人群中轮状病毒及基因型年龄分布特征

Tab. 2 Age distribution of RVA and G/P genotypes in diarrheal patients

G/P 基因型 G/P genotypes	<1 岁	1~2 岁	2~5 岁	5~65 岁	≥65 岁	$c^2$	$P$
	<1 year	1~2 years	2~5 years	5~65 years	≥65 years		
	$n=718$	$n=73$	$n=59$	$n=244$	$n=27$		
	$n(\%)$	$n(\%)$	$n(\%)$	$n(\%)$	$n(\%)$		
G9P[8]	118(16.4)	5(6.8)	4(6.8)	6(2.5)	1(3.7)	48.4	<0.001
G3P[8]	35(4.9)	1(1.4)	1(1.7)	6(2.5)	0(0.0)	4.51	0.294
G1P[8]	13(1.8)	0(0.0)	2(3.4)	5(2.0)	3(1.7)	3.23	0.412
G3G1P[8]	7(1.0)	2(2.7)	1(1.7)	1(0.4)	0(0.0)	4	0.323
G/P Untyped	7(1.0)	2(2.7)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	5.38	0.191
Uncommon G/P	22(3.1)	1(1.4)	1(1.7)	0(0.0)	0(0.0)	9.88	<0.006
Total RVA	202(28.1)	11(15.1)	9(15.3)	18(7.4)	4(14.8)	50.9	<0.001

Notes: Uncommon G/P genotypes: G9P[6], G9P[4], G8P[9], G4P[8], G4P[6], G3P[9], G2P[8], G2P[4] and G1P[4]

**2.3 轮状病毒及基因型在腹泻人群和非腹泻人群中的比较** 在全年龄组人群中,RVA 的阳性率在腹泻病例中高于非腹泻人群 (21.8% ,3.76% , $\chi^2 = 55.1, P < 0.001$ )。阳性率在腹泻病例中高于非腹泻病例的基因型有:G9P[8] (12.0% ,1.9% , $\chi^2 = 28.7, P < 0.001$ ) 和 G3P[8] (3.8% ,0.6% , $\chi^2 = 8.45, P < 0.004$ );阳性率在腹泻病例中和非腹泻病例中没有差异的基因型有:G1P[8] (1.9% ,0.9% , $\chi^2 = 1.32, P = 0.251$ ) 及其他基因型 (表 3)。

<5 岁人群中,RVA 的阳性率在腹泻病例中高于非腹泻人群 (26.1% ,5.89% , $\chi^2 = 33.0, P < 0.001$ )。阳性率在腹泻病例中高于非腹泻病例的基因型有:G9P[8] (14.9% ,2.9% , $\chi^2 = 18.1, P < 0.001$ ) 和 G3P[8] (4.4% ,0.5% , $\chi^2 = 5.6, P < 0.018$ )。其他基因型的阳性率在腹泻病例和非腹

泻研究对象中没有差异 (表 3)。≥5 岁人群中,RVA 的阳性率在腹泻病例中高于非腹泻人群 (8.1% ,1.3% , $\chi^2 = 8.19, P < 0.008$ )。而各基因型的阳性率在腹泻病例和非腹泻病例中没有差异 (表 3)。

3 讨论

轮状病毒是 < 5 岁儿童腹泻最重要的病原体<sup>[3]</sup>,迄今为止轮状病毒引起的儿童腹泻依旧是我国重要的公共卫生问题之一<sup>[7]</sup>。本研究发现轮状病毒流行高峰是冬季,这与我国轮状病毒流行特征相符<sup>[1]</sup>。同时,本研究发现轮状病毒更易感染 < 1 岁婴幼儿,这可能与婴幼儿胃肠道发育不完善和免疫力相对较弱有关<sup>[1]</sup>。

本研究发现 G9 (66.4%) 和 G3 (18.7%) 是 G

表 3 轮状病毒基因型在不同年龄段腹泻和非腹泻人群中阳性率比较

Tab.3 The positive rate of RVA and genotypes in diarrhea cases and healthy controls with different age groups					
年龄组	基因型	腹泻病例	非腹泻人群	$\chi^2$	P
Age group	Genotypes	Diarrhea casesn (%)	Healthy subjectsn (%)		
全年龄组人群 All age group	G9P[8]	134 (12.0)	6 (1.9)	28.7	<0.001
腹泻病例 (n = 1 121) Diarrhea cases (n = 1121)	G3P[8]	43 (3.8)	2 (0.6)	8.45	<0.004
非腹泻人群 (n = 319) Controls (n = 319)	G1P[8]	21 (1.9)	3 (0.9)	1.32	0.251
轮状病毒阳性的腹泻病例 (n = 244)	G1G3P[8]	11 (1.0)	0 (0.0)	—	0.136
Diarrhea cases infected with RVA (n = 244)					
轮状病毒阳性的非腹泻人群 (n = 12)	G/P Untyped	9 (0.8)	0 (0.0)	—	0.221
Controls infected with RVA (n = 12)					
	Uncommon G/P	24 (2.14)	1 (0.3)	4.86	<0.027
	Total RVA	244 (21.8)	12 (3.76)	55.1	<0.001
<5 岁人群 <5 year subjects	G9P[8]	127 (14.9)	5 (2.9)	18.1	<0.001
腹泻病例 (n = 850)					
Diarrhea cases (n = 850)	G3P[8]	37 (4.4)	1 (0.6)	5.60	<0.018
非腹泻人群 (n = 170) Controls (n = 170)	G1P[8]	15 (1.8)	3 (1.8)	—	1.00
轮状病毒阳性的腹泻病例 (n = 222)	G1G3P[8]	10 (1.2)	0 (0.0)	—	1.00
Diarrhea cases infected with RVA (n = 222)					
轮状病毒阳性的非腹泻人群 (n = 10)	G/P Untyped	9 (1.1)	0 (0.0)	—	1.00
Controls infected with RVA (n = 10)					
	Uncommon G/P	24 (2.8)	1 (0.6)	—	0.103
	Total RVA	222 (26.1)	10 (5.89)	33.0	<0.001
≥5 岁以上人群					
≥5 years subjects	G9P[8]	7 (2.6)	1 (0.7)	—	0.269
腹泻病例 (n = 271) Diarrhea cases (n = 271)	G3P[8]	6 (2.2)	1 (0.7)	—	0.432
非腹泻人群 (n = 149) Controls (n = 149)	G1P[8]	6 (2.2)	0 (0.0)	—	0.094
轮状病毒阳性的腹泻病例 (n = 22)	G1G3P[8]	1 (0.4)	0 (0.0)	—	1.00
Diarrhea cases infected with RVA (n = 22)					
轮状病毒阳性的非腹泻人群 (n = 2)	G-P Untyped	0 (0.0)	0 (0.0)	—	—
Controls infected with RVA (n = 2)					
	Uncommon G/P	0 (0.0)	0 (0.0)	—	—
	Total RVA	22 (8.1)	2 (1.3)	8.19	<0.008

注:“—”:Fisher 检验法或无法计算  
Notes: Uncommon G/P genotypes: G9P[6], G9P[4], G8P[9], G4P[8], G4P[6], G3P[9], G2P[8], G2P[4] and G1P[4]

分型的两种最重要的基因型,这与我国近年来病毒性腹泻监测的结果相似<sup>[7]</sup>。轮状病毒的 G 分型随时间不断变化,2000 年以前 G1 是最主要的 G 分型(G1 占有 G 分型的 70% 以上);2000—2010 年 G1 下降到 20%,而 G3 却成为最重要的 G 分型;2012 年以后 G9 取代 G3 而成为有些地区的优势基因型,这可能与轮状病毒基因型的自然变异有关<sup>[7]</sup>。国外研究表明轮状病毒疫苗的应用也可改变 G 分型的自然流行规律,如比利时在轮状病毒疫苗使用之前,G1 和 G4 是最重要的 G 分型,但在疫苗推广使用之后,G1 和 G4 快速下降而 G9 迅速上升<sup>[12]</sup>。在我国,无论 G 亚型怎么变动,G1、G2、G3 和 G9 亚型之和占整个 G 分型的 85% 以上,这与一项东南亚地区的研究结果一致(在泰国,G1、G2、G3 和 G9 之和占 G 分型的 94.8%)<sup>[13]</sup>。

本研究对 9 株轮状病毒没有进行完全的基因分型,这可能与轮状病毒的分型引物有关,本研究中轮状病毒的分型引物只包括轮状病毒中最重要的几个分型,没有包括一些在腹泻人群中阳性率较低的基因型的引物;同时也有可能是轮状病毒在流行过程中出现了新的基因型,这提示我们在以后的轮状病毒监测工作中要不断提高分型技术和技能<sup>[7]</sup>、应运新的分型技术(如基因测序技术),以便尽可能分出全部的基因型,为轮状病毒的预防和控制提供科学参考。

近年来我国轮状病毒的流行程度并没有降低<sup>[4]</sup>。在前疫苗时代,轮状病毒流行程度和基因分型是引进轮状病毒疫苗最关键的参考指标。轮状病毒 G/P 分型在不断变动,这提示我们对轮状病毒基因型的持续监测可以帮助我们选择有效的轮状病毒疫苗。从 2006 年以后,两种安全有效的轮状病毒疫苗(Rotarix<sup>TM</sup>, GSKBiologicals; RotaTeq<sup>TM</sup>, Merck)在 40 多个国家或地区推广使用,但我国目前并没有引进<sup>[2,5,6]</sup>。Rotarix<sup>TM</sup> 疫苗包括 G1P1A [8] 成分,RotaTeq<sup>TM</sup> 疫苗包括 G1、G2、G3 和 G4 以及 P1A [8] 成分。尽管这两种疫苗都没有包含 G9 亚型,但这两种疫苗在 G9 流行程度较低国家或地区对 G9 有一定的预防效果,但当 G9 成为绝对优势亚型时,这两种疫苗是否有效需要进一步严谨的科学验证,因

此,在我国需要谨慎评估这两种疫苗的预防效果。

#### 4 参考文献

- [1] 赵嘉咏,申晓靖,张白帆,等. 河南省 2012—2015 年儿童 A 组轮状病毒病原学监测及基因型别分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2016,30(5):430-433. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2016.05.004.
- [2] 刘娜,马智超,李苑,等. 深圳某接种点国产轮状病毒疫苗使用现况分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2015,29(2):151-153. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2015.02.019.
- [3] Kawai K, O'Brien M A, Goveia M G, et al. Burden of rotavirus gastroenteritis and distribution of rotavirus strains in Asia: a systematic review[J]. Vaccine, 2012,30(7):1244-1254. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.12.092.
- [4] Yu J, Jing H, Lai S, et al. Etiology of diarrhea among children under the age five in China: Results from a five-year surveillance [J]. J Infect, 2015, 71(1):19-27. doi: 10.1016/j.jinf.2015.03.001.
- [5] 孙晓曼,郭妮君,李丹地,等. 轮状病毒疫苗株 VP8 核心区蛋白的表达和纯化[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2015, 29(6):543-546. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2015.06.019.
- [6] 李丹地,孔翔羽,马鑫,等. 我国人罕见 G9P[6]基因型 A 组轮状病毒 LL51695 株 VP7、VP4、VP6 和 NSP4 编码基因的分子特征[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2015,29(1):59-61. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2015.01.020.
- [7] Liu N, Xu Z, Li D, et al. Update on the disease burden and circulating strains of rotavirus in China: a systematic review and meta-analysis[J]. Vaccine, 2014, 32(35):4369-4375. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.06.018.
- [8] Zhang S, Yin J, Yang J, et al. Epidemiology and genetic diversity of group A rotavirus in acute diarrhea patients in pre-vaccination era in southwest China[J]. J Med Virol, 2017,89(1):71-78. doi: 10.1002/jmv.24606.
- [9] Simmonds M K, Armah G, Asmah R, et al. New oligonucleotide primers for P-typing of rotavirus strains: strategies for typing previously untypeable strains[J]. J Clin Virol, 2008,42(4):368-373. doi: 10.1016/j.jcv.2008.02.011.
- [10] Gouvea V, Glass R I, Woods P, et al. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens[J]. J Clin Microbiol, 1990,28(2):276-282.
- [11] Iturriza-Gomara M, Kang G, Gray J. Rotavirus genotyping: keeping up with an evolving population of human rotaviruses[J]. J Clin Virol, 2004,31(4):259-265.
- [12] Zeller M, Rahman M, Heylen E, et al. Rotavirus incidence and genotype distribution before and after national rotavirus vaccine introduction in Belgium[J]. Vaccine, 2010,28(47):7507-7513. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.09.004.
- [13] Jiraphongsa C, Bresee J S, Pongsuwan Y, et al. Epidemiology and burden of rotavirus diarrhea in Thailand: results of sentinel surveillance[J]. J Infect Dis, 2005,192(Suppl 1):S87-S93.

(收稿日期:2017-01-03)

(本文编辑:陈培莉)