

4160 例婴幼儿腹泻轮状病毒感染情况分析

李方去 刘彩霞 蒋伟燕

摘要 目的 分析温州市 6 岁以下婴幼儿腹泻轮状病毒的感染情况。**方法** 利用胶体金法检测标本中 A 群轮状病毒抗原,用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行核酸分型。**结果** 2007~2009 年轮状病毒检测的阳性率分别为 46.1%、42.7%、30.0%,在 6 个月~2 岁腹泻患儿中检出率最高,最高达 40%。每年的 2 月、5 月和 10~11 月是感染的高峰期。引起婴幼儿腹泻的轮状病毒以长型为主,占 94.4%,其中长型以 L1 型为主。**结论** 轮状病毒是引起春秋季节 6 个月~2 岁婴幼儿腹泻的主要病原体。轮状病毒不同电泳型引起的临床症状差异明显。

关键词 婴幼儿腹泻 轮状病毒 PAGE 技术 分型

Analysis on the Characteristics of Infections Caused by Rotavirus Among 4160 Infants with Diarrhea. Li Fangqu, Liu Caixia, Jiang Weiyan. The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To investigate the prevalence of infections caused by rotavirus among infants with diarrhea aged less than 6 years old in Wenzhou, China. **Methods** Colloidal gold test was used to detect the group A antigen of rotavirus. The genotypes of rotavirus were determined by polyacrylamide gel electrophoresis. **Results** The positive rates of rotavirus in 2007, 2008 and 2009 were 46.1%, 42.7% and 30.0%, respectively. The prevalence of rotavirus among infants with diarrhea aged from 6 months to 2 years was high to 40%. The peak of infection caused by rotavirus occurred in February, May, October and November of every year. Long type of rotavirus isolates causing infantile diarrhea accounted for 94.4%, in which the type L1 was the most prevalent type. **Conclusion** Rotavirus is the major pathogen causing infantile diarrhea of the patients aged from 6 months to 2 years in spring and autumn. Different electrophoresis types of rotavirus can cause different clinical symptoms.

Key words Infantile diarrhea; Rotavirus; PAGE; Type

轮状病毒(RV)感染是波及全球的一种常见疾病,常发生在婴幼儿,也可感染成人,主要引起轮状病毒肠炎。自从 1973 年 RV 在人体被检测出来后,它已被证明是造成婴幼儿腹泻性疾病的主要原因,资料表明,39% 的住院儿童腹泻都是由轮状病毒感染引起^[1],在我国也有近 50%~60% 的秋冬季婴幼儿腹泻是由轮状病毒引起的^[2]。为了进一步了解温州地区婴幼儿轮状病毒性腹泻的分子流行病学现状,我们对近 3 年间的 6 岁以下腹泻患儿粪便标本进行轮状病毒检测分析,结果如下。

对象与方法

1. 标本来源:2007 年 1 月~2009 年 12 月间在温州医学院附属第二医院肠道门诊和住院部 6 岁以下腹泻患儿的粪便。
2. 检测方法和试剂:(1)胶体金法:试剂盒购自北京万泰生物药业有限公司。取 100mg 标本至样本稀释液,混匀后滴 2~3 滴至测试卡,5~10 分钟后判断结果。(2)聚丙烯酰胺凝

胶电泳(PAGE)法:取胶体金检测阳性粪便标本每年各 30 例,按参考文献[2]方法提取病毒的 RNA,然后进行 PAGE 电泳,硝酸银染色后观察。根据轮状病毒的特征性核酸条带进行分型,RNA 电泳模式为“4-2-3-2”,以最后两条 RNA 分开定义为长型,不能分开定义为短型。

结 果

1. 轮状病毒感染患儿的年龄分布:3 年中 4160 例受检患儿轮状病毒感染的检出率分别为 46.1% (658/1427), 42.7% (651/1524), 30.0% (362/1209)。患儿中男性 1166 例,女性 505 例,2 岁以下患儿占 98%。各年龄组阳性检出率见表 1。经 χ^2 检验,各年龄组之间阳性检出率均有显著性差异($\chi^2 = 12.11$, $P < 0.05$, 0.5~2 岁婴幼儿阳性检出率高于其他年龄段)。

表 1 不同年龄组 A 群轮状病毒的阳性检出率

年龄(岁)	总数(n)	阳性数(n)	阳性率(%)
0~0.5	1344	515	38.3
0.5~2	2735	1136	41.5
0~6	81	20	24.7
合计	4160	1671	40.2

基金项目:温州市科技局项目(Y20070134)

作者单位:325027 温州医学院第二附属医院检验科

通讯作者:刘彩霞,电子信箱:wzcaixia1978@163.com

2. 轮状病毒感染的季节分布:2007 ~ 2009 年轮状病毒阳性检出率的季节分布见表 2,每年的 2 月、5 月、10 ~ 11 月是检出的高峰期。

表 2 2007 年 ~ 2009 年轮状病毒检出率的季节分布

月份	检出率(阳性数/总数)		
	2007 年	2008 年	2009 年
1	20/55	20/54	14/47
2	21/45	21/39	22/58
3	29/65	21/49	16/39
4	27/64	23/59	17/44
5	45/92	35/85	39/91
6	41/109	23/78	49/131
7	51/121	66/183	30/120
8	65/170	63/196	38/165
9	92/191	82/175	24/131
10	123/232	116/222	33/110
11	90/179	99/202	48/152
12	54/104	82/182	32/121

3. 轮状病毒的 PAGE 凝胶电泳型与临床症状:轮状病毒核酸电泳图谱均呈典型 A 组轮状病毒反应模式,其 11 个 RNA 片段电泳带均呈 4、2、3、2 分布。按照 RNA 11 个片段在 PAGE 凝胶内移动的特点可进一步将电泳型分 5 种亚型^[3]:S、L1、L2、L3、L4。90 例腹泻患儿粪便 RNA 阳性标本中检出长型 85 例(占 94.4%),短型 5 例(占 5.6%)。部分病毒 PAGE 电泳图和各亚型检出率见图 1,本次检测的病毒型别 L1 型最多,S 最少。A 群轮状病毒各电泳型的分布:L1、L2、L3、L4、S 型电泳分布百分比依次为 0.4%、0.233%、0.2%、0.111%、0.056%。

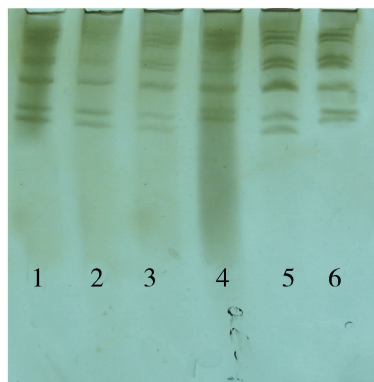


图 1 部分聚丙烯酰胺凝胶电泳图形

查阅分型的 90 例患儿的临床资料发现:被 HRV 长型感染的患儿一般临床症状较重,80% 出现发热、呕吐、腹泻(大便呈黄色蛋花汤样或水样)、代谢性酸

中毒等。而 HRV 短型感染的患儿一般临床症状较轻,轻度腹泻(大便黄软),无代谢性酸中毒,偶有发热。

讨 论

2007 ~ 2009 年本地区轮状病毒感染的检出率分别为 46.1% (658/1427), 42.7% (651/1524), 30.0% (362/1209)。2007 年和 2008 年检出率与河北省 2006 年 47.6% 的检出率相近^[4],较河南 2005 ~ 2006 年报告的 51.97% 结果低^[5],2009 年的检出率与上海 2001 ~ 2005 年 26.2% 的检出结果相近^[6]。2007 ~ 2008 年 10 ~ 12 月份的检出率为 52.2%, 53.0%, 与 1996 年包其郁等^[7]报道的 10 ~ 12 月轮状病毒检出率 60.4% 结果相近,但与本地区 2009 年 10 ~ 12 月份的检出率 27.4% 比较差别较大。这说明病原的感染存在地区差异,相同地区在不同年份感染率也有差异。近 3 年检出率呈逐年下降趋势,2009 年下半年检出率的下降尤为明显,可能与人们生活水平的提高以及对卫生防护知识的认识有非常密切的关系,也可能与全国甲型流感病毒预防知识深入宣传有关,因为两者的传播方式类似。

本地区近 3 年轮状病毒检出率在 2 月、5 月、10 ~ 11 月均出现波峰,2007 年高峰季节婴幼儿腹泻轮状病毒检出率最高可达 56.7%。不同年龄段轮状病毒的检出率显著不同,本地区在 0.5 ~ 2 岁婴幼儿中检出率最高,达 41.5%;6 个月以下的婴幼儿检出率为 38.3%,可能是母体抗体对轮状病毒感染有一定的保护作用。2 岁以下儿童是感染的高危人群,也是疫苗接种的主要对象。

A 群轮状病毒的基因组由 11 个(大小为 0.66 ~ 3.72kb)不连续的双股 RNA 节段组成。经 PAGE、银染后其电泳图谱呈典型 A 组轮状病毒反应模式,其中长型占 94.4%,短型占 5.6%,提示本地区 2007 ~ 2009 年流行的 A 群轮状病毒以长型为主,这与国内相关报道的相似,而与包其郁等^[7]报道的温州 1996 年长型占 63.0% 有差异,这说明不同年份引起婴幼儿腹泻的轮状病毒电泳型构成不同。

本次研究还把轮状病毒的 PAGE 凝胶电泳分型与临床症状联系,发现轮状病毒电泳分型的长型患儿较短型患儿临床症状一般较重,但由于电泳型仅仅反映病毒 RNA 基因组差异和变异,具体研究还不详,且本次调查轮状病毒短型患儿人数较少,在这方面还有待进一步研究。

参考文献

- 1 Parashar UD, Gibson CJ, Bresse JS, *et al.* Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12: 304 - 306
- 2 黄平. 轮状病毒感染的研究现状 [J]. 中国热带医学, 2004, 4 (4): 678 - 680
- 3 Luz CR, Mascarenhas JD, Gabbay YB. Rotavirus serotypes and electrophoretotypes identified among hospitalised children in São Luís, Maranhão, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2005, 47 (5): 287 - 293
- 4 于秋丽, 刘京生, 韩占英, 等. 河北省 2006 年婴幼儿腹泻轮状病毒

- 的基因分型研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17 (12): 2270 - 2272
- 5 王建阳, 沈晓晴, 李梦磊, 等. 河南省婴幼儿轮状病毒腹泻病原研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23 (5): 46 - 48
- 6 徐锦, 孙家娥, 丁韵珍, 等. 2001 至 2005 年上海市 1450 份住院患儿 A 组轮状病毒分子流行病学研究 [J]. 中国循证儿科杂志, 2007, 2 (2): 102 - 107
- 7 包其郁, 陈韶, 朱丽丹, 等. 2462 例婴幼儿急性腹泻轮状病毒感染情况调查 [J]. 温州医学院学报, 2002, 32 (1): 5 - 6

(收稿: 2010 - 07 - 13)

siRNA 靶向慢病毒对人喉癌 Hep - 2 细胞系 FAK 基因的沉默效应

徐 炜 顾栋桦 陈英武 平金良 姚根有

摘 要 **目的** 探讨 siRNA 靶向慢病毒对人喉癌 Hep - 2 细胞系 FAK 基因的沉默效应, 以期探索喉鳞癌基因治疗的新途径。**方法** Western Blot 检测人喉鳞状细胞癌细胞系 Hep - 2 中的 FAK 蛋白表达水平。用 FAK - RNAi 慢病毒转染 Hep - 2 细胞, 同时监测转染效率。半定量 RT - PCR 检测 FAK 基因被 FAK - siRNA 沉默后 mRNA 的表达水平。Western - blotting 检测 FAK 基因被 FAK - siRNA 沉默后蛋白质的表达水平。采用荧光 PI 染色检测凋亡细胞数目, MTT 法检测细胞体外增生能力。**结果** Western blot 结果显示 Hep - 2 细胞中 FAK 的 3 个蛋白片段表达量较高。多次重复 western blot 检测转染前后 Hep - 2 细胞的 FAK 基因蛋白表达发现, FAK - RNAi 慢病毒对目的基因在 Hep2 细胞中具有显著 knockdown 作用。使用 RT - PCR 技术检测 FAK - siRNA 干扰 Hep - 2 细胞系前后 FAK mRNA 的表达发现, FAK - RNAi 慢病毒对目的基因, 在 mRNA 水平有明显 knockdown 作用。PI 染料染色后, 可见 FAK - RNAi 组 30% ~ 35% 的肿瘤细胞凋亡。MTT Assay 结果显示, FAK - siRNA 慢病毒转染 Hep2 细胞后, Hep2 细胞活力明显下降。**结论** 经用慢病毒载体介导的 FAK - siRNA 在喉鳞癌细胞中可获得高效转染, 并能产生特异性的基因沉默效应。

关键词 喉肿瘤 RNA 干扰 黏着斑激酶 基因沉默

Silencing Effect of siRNA on FAK Geng of Human Laryngeal Carcinoma Hep - 2 Cell Line. Xu Wei, Gu Donghua, Chen Yingwu, *et al.* Department of Pathology, Huzhou Central Hospital, Zhejiang 313000, China

Abstract Objective To investigate the inhibitory effect of gene silencing mediated by FAK - siRNA for laryngeal carcinoma hep - 2 cell line, and try to look for a new approach of gene therapy of laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) by synthesizing and filtrating effective FAK - siRNA *in vitro*. **Methods** The level of FAK protein expression in Hep - 2 cells was analyzed with the Western Blot technique. FAK - siRNA lentivirus were transfected into Hep - 2 cells. Efficiency of transfection was detected by counting cells. Semi - quantitative analysis of the level of FAK - mRNA expression was performed using RT - PCR. The level of FAK protein expression was analyzed with Western Blot. Cell proliferation viability was tested by MTT assay. **Results** Western blotting results showed overexpression of three protein fragments of FAK in the Hep - 2 cells. The content of protein and mRNA of FAK in the FAK - siRNA lentivirus transfected Hep - 2 cells was obviously reduced compared with blank control cells. PI staining in the FAK - siRNA lentivirus transfected cell showed 30% ~ 35% of apoptotic cells in Hep - 2 cells. Comparing with the parental Hep2 cells, the transfected cells exhibited a slower growth rate. **Conclusion** Eligible FAK - siRNAs synthesized *in vitro* mediated with lentiviral vector can be highly effectively transfected into LSCC

基金项目: 湖州市科技计划资助项目 (2008GS07)

作者单位: 313000 浙江省湖州市中心医院病理科 (徐炜、顾栋桦、平金良); 五官科 (陈英武); 310058 杭州, 浙江大学医学院形态中心 (姚根有)

通讯作者: 顾栋桦, 电子信箱: huzhou_xuwei@126.com