

论著·临床研究

2018—2019 年上海市普陀区 16 起聚集性呕吐腹泻疫情中
诺如病毒的流行与分析*闫浩, 顾文超, 吴婷婷, 李勇, 张玉, 唐海丰[△]

(上海市普陀区疾病预防控制中心, 上海 200333)

[摘要] 目的 了解上海市普陀区 16 起聚集性呕吐腹泻疫情中诺如病毒的基因分型和流行特征, 为辖区和全市诺如病毒引起的聚集性呕吐腹泻疫情的处置与防控提供技术支撑和数据参考。方法 收集 2018—2019 年上海市普陀区 16 起聚集性呕吐腹泻疫情所涉及人群的肛拭标本 136 份。采用实时荧光聚合酶链反应方法检测诺如病毒核酸, 典型病例阳性标本采用实时荧光聚合酶链反应扩增聚合酶-衣壳蛋白连接区并进行测序, 通过生物信息工具进行基因分型和构建进化树。结果 136 份标本中诺如病毒 G II 组核酸阳性 62 份 (45.59%), G I 组核酸阳性 0 份。42 份诺如病毒测序成功, 通过序列比对分析获得 4 种基因型别。16 起聚集性呕吐腹泻疫情中 9 起疫情是 G II. P16-G II. 2 型 (56.25%), 2 起疫情是 G II. P7-G II. 6 型 (12.50%), 2 起疫情是 G II. P12-G II. 3 型 (12.50%), 3 起疫情是 G II. Pe-G II. 4 型 (18.75%)。结论 诺如病毒是引起 2018—2019 年上海市普陀区聚集性呕吐腹泻疫情的重要病原体, 以 G II 组为主, 有多种基因型别, 其中 G II. P16-G II. 2 型为主要流行株。

[关键词] 诺如病毒; 聚集性呕吐腹泻疫情; 基因分型; 流行分析

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.16.008

中图分类号: R373.9; R181.3+2

文章编号: 1009-5519(2024)16-2735-05

文献标识码: A

Prevalence and analysis of norovirus in 16 clusters of vomiting and diarrhea outbreaks in Putuo District of Shanghai from 2018 to 2019*

YAN Hao, GU Wenchao, WU Tingting, LI Yong, ZHANG Yu, TANG Haifeng[△]

(Shanghai Putuo District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200333, China)

[Abstract] **Objective** To understand the genotyping and epidemiological characteristics of norovirus in 16 clusters of vomiting and diarrhea in Putuo District of Shanghai, and to provide technical support and data reference for the treatment and prevention of clusters of vomiting and diarrhea caused by norovirus in the district and the whole city. **Methods** A total of 136 anal swab samples were collected from people involved in 16 clusters of vomiting and diarrhea outbreaks in Putuo District of Shanghai from 2018 to 2019. The nucleic acid of norovirus was detected by real-time fluorescence polymerase chain reaction. The polymerase-capsid protein link region was amplified by real-time fluorescence polymerase chain reaction and sequenced in the positive samples of typical cases. Genotyping and phylogenetic tree were constructed by bioinformatics tools. **Results** Among the 136 specimens, 62 (45.59%) were positive for norovirus G II nucleic acid, and zero was positive for norovirus G I nucleic acid. 42 noroviruses were successfully sequenced, and four genotypes were obtained by sequence alignment analysis. Among the 16 clusters of vomiting and diarrhea outbreaks, nine were G II. P16-G II. 2 (56.25%), two were G II. P7-G II. 6 (12.50%), two were G II. P12-G II. 3 (12.50%), and three were G II. Pe-G II. 4 (18.75%). **Conclusion** Norovirus is an important pathogen causing clustered vomiting and diarrhea in Putuo District of Shanghai from 2018 to 2019. It is mainly G II group and has a variety of genotypes, among which G II. P16-G II. 2 is the main epidemic strain.

[Key words] Norovirus; Cluster vomiting and diarrhea outbreaks; Genotyping; Prevalence analysis

诺如病毒是引起全球急性病毒性肠胃炎暴发流行的最常见病因, 每年约 1.25 亿例食源性疾病由诺如病毒引起^[1]。诺如病毒引发的公共卫生问题对医疗保健和生产造成极大的损失, 预估每年超过 60

亿美元^[2]。其感染率呈逐年上升趋势, 已成为危害人类健康的公共卫生问题^[3]。诺如病毒具有低感染剂量、高传染性、对外界因素不敏感等特点^[4]。人群普遍易感, 尤其在托幼机构、学校、医院、养老院等密闭

* 基金项目: 上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划项目 (GWVI-3)。

作者简介: 闫浩 (1994—), 本科, 检验技师, 主要从事微生物检验工作。 [△] 通信作者, E-mail: etang800128@163.com。

场所更易发生诺如病毒的感染^[5-6]。由于诺如病毒频繁的基因重组和抗原漂移,使其呈现高度多变性,每隔几年就会出现新的变异株,引起急性肠胃炎的流行^[7]。诺如病毒是一种线性单链正向 RNA 病毒,属杯状病毒科,基因组全长约 7.7 kb,包含 3 个开放读码框(ORF),即 ORF1、ORF2 和 ORF3^[8-9]。根据 ORF1、ORF2 链接区基因的重组可对诺如病毒进行基因分型,进行分子流行病学检测和疫情溯源。本研究对 2018—2019 年上海市普陀区 16 起聚集性呕吐腹泻疫情病例标本进行了诺如病毒检测和流行病学分析,并进行了基因测序,以了解疫情诺如病毒基因特征,旨在为辖区和全市诺如病毒引起的聚集性呕吐腹泻疫情的处置与防控及病原学研究提供技术支持和数据参考。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2018—2019 年上海市普陀区 16 起聚集性呕吐腹泻疫情所涉及人群的肛拭标本 136 份。冷藏运送至上海市普陀区疾病预防控制中心,阳性标本用无菌冻存管分装保藏于-80℃冰箱。

1.2 方法

1.2.1 病毒 RNA 提取 将含有肛拭标本的病毒采样管于漩涡振荡器振荡混匀后吸取 200 μL 液体,使用全自动核酸提纯系统(QIAcube, QIAGEN Sample & Assay Technologies)提纯病毒 RNA,获得 RNA 洗脱液 50 μL。

1.2.2 病毒核酸检测 采用实时荧光聚合酶链反应(PCR)方法进行诺如病毒核酸检测。检测仪器为实时荧光定量 PCR 仪(ABI 7500, Thermo Fisher Scientific),试剂为诺如病毒 G I /G II 型核酸检测试剂盒(江苏硕世生物科技有限公司的商品化试剂盒)。

1.2.3 序列扩增测定 将实时荧光 PCR 结果阳性且扩增循环数小于或等于 25 的标本进行普通实时荧光 PCR 扩增,反应体系参照试剂盒说明书(诺维赞 HiScript® II One Step 实时荧光 PCR Kit)配制,引物选择 MON431/G2SKR。扩增产物送上海伯杰生物科技服务公司进行纯化和测序。

1.2.4 基因序列分析 将测序所得序列采用 SeqMan 软件进行拼接整理,将整理好的序列上传到诺如病毒在线分型网站(<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>)和 NCBI 网站进行病毒基因型的分析。使用 MegAlign 进行序列比对和同源性分析。应用 MEGA 6.06 软件(Kimura 2 参数模型,邻接法,1 000 次 bootstrap 检验)进行遗传进化分析。

1.3 统计学处理 应用 Microsoft Office Excel 2019 软件进行数据整理,应用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疫情概述 16 起聚集性呕吐腹泻疫情主要集中在托幼机构、学校这些密闭场所。其中托幼机构 6

起,学校 10 起。疫情暴发流行集中于 9~11 月份。共采集 136 人份肛拭标本,其中男 67 人(59.26%),女 69 人(60.74%);年龄 3~65 岁。主要临床表现为呕吐、腹泻、发热等。136 份肛拭标本经诺如病毒核酸检测阳性 62 例,其中诺如病毒 G I 组核酸阳性 0 份,诺如病毒 G II 组核酸阳性 62 份,检测阳性率为 45.59%(62/136)。

2.2 诺如病毒阳性与阴性病例基本特征比较 男性病例诺如病毒阳性率(62.69%)高于女性(28.99%)。各年龄组均有诺如病毒检出,其中 6~18 岁检出率最高(68.97%),成人组(>18 岁)检出率最低(6.98%)。学生病例中诺如病毒检出率最高(63.44%)。不同性别、年龄、职业病例诺如病毒阳性检出率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。2018 年阳性检出率与 2019 年比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 诺如病毒阳性与阴性病例基本特征比较

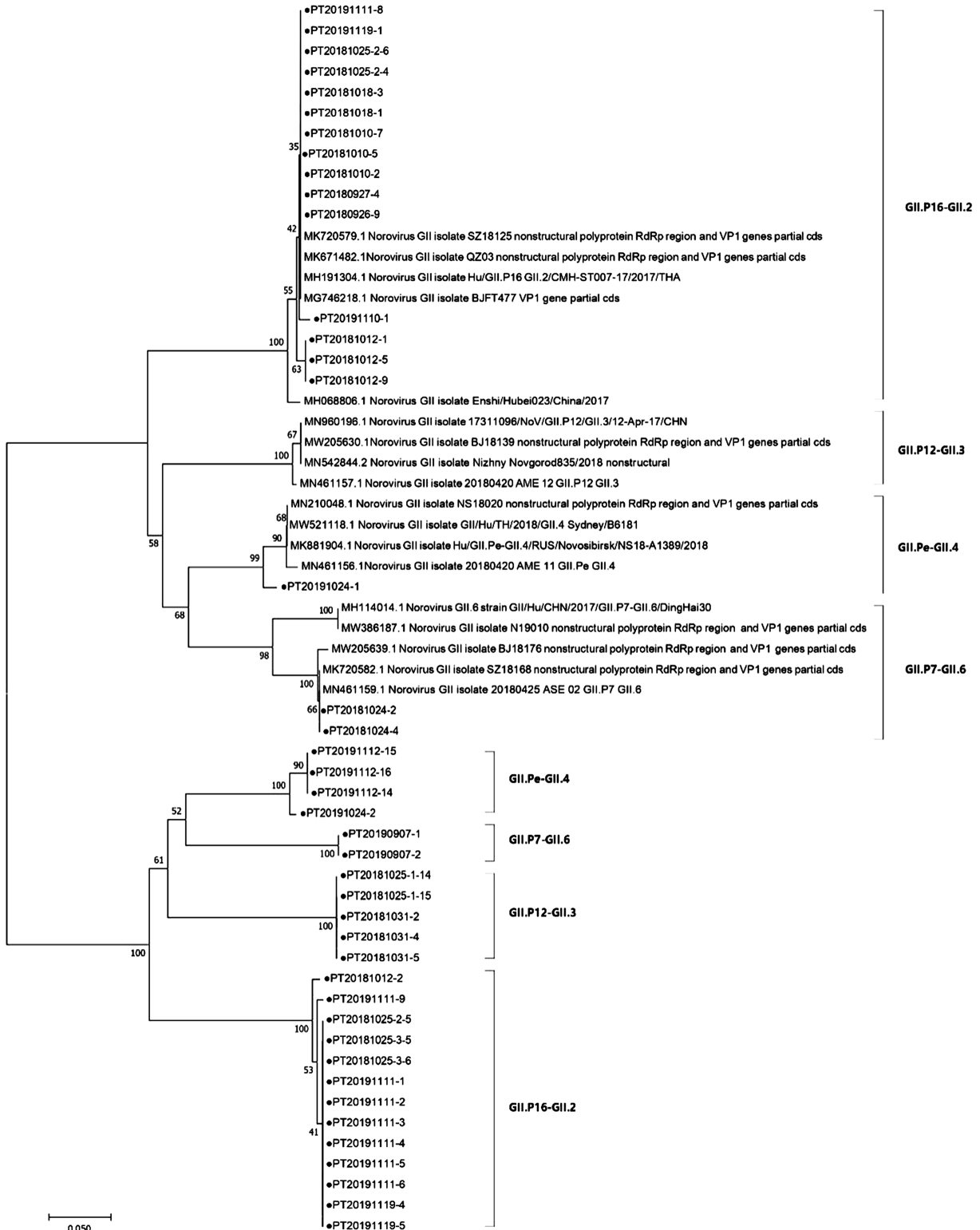
| 特征 | n | 诺如病毒阳性[n(%)] | χ^2 | P |
|-------|----|--------------|----------|--------|
| 性别 | | | 15.564 | <0.001 |
| 男 | 67 | 42(62.69) | | |
| 女 | 69 | 20(28.99) | | |
| 年龄(岁) | | | 39.689 | <0.001 |
| <6 | 35 | 19(54.29) | | |
| 6~18 | 58 | 40(68.97) | | |
| >18 | 43 | 3(6.98) | | |
| 职业 | | | 37.966 | <0.001 |
| 学生 | 93 | 59(63.44) | | |
| 教师 | 19 | 2(10.53) | | |
| 其他 | 24 | 1(4.17) | | |
| 年份 | | | 1.006 | 0.316 |
| 2018 | 66 | 33(50.00) | | |
| 2019 | 70 | 29(41.43) | | |

2.3 诺如病毒基因型分布 62 份标本诺如病毒 G II 组核酸阳性中测序成功 42 份,其中 2018 年 23 份,2019 年 19 份,通过 BLAST 搜索比对及序列同源性比对分析获得 4 种诺如病毒 G II 组的基因型别。2018 年共有 3 种基因型,主要型别为 G II. P16-G II. 2 型[69.57%(16/23)],其余为 G II. P12-G II. 3 型[21.74%(5/23)]和 G II. P7-G II. 6 型[8.70%(2/23)];2019 年共有 3 种基因型,主要型别为 G II. P16-G II. 2 型[63.16%(12/19)],其余为 G II. Pe-G II. 4 型[26.31%(5/19)]和 G II. P7-G II. 6 型[10.53%(2/19)]。16 起聚集性呕吐腹泻疫情中 9 起疫情是 G II. P16-G II. 2 型(56.25%),2 起疫情是 G II. P7-G II. 6 型(12.50%),2 起疫情是 G II. P12-G II. 3 型(12.50%),3 起疫情是 G II. Pe-G II. 4 型(18.75%)。

2.4 诺如病毒的同源性和遗传进化分析 4 条 G II. P7-G II. 6 型序列间核苷酸相似性为 90.9%~100.0%;5 条 G II. P12-G II. 3 型序列间核苷酸相似性为 99.4%~100.0%;28 条 G II. P16-G II. 2 型序列间核苷酸相似性为 29.7%~100.0%;5 条 G II. Pe-G II. 4 型序列间核苷酸相似性为 95.9%~

100.0%。G II 组聚合酶-衣壳蛋白连接区核苷酸序列的系统发生进化树见图 1。G II.P16-G II.2 型序列与参考序列对比分析有 11 条序列与参考序列在同一分支上,核苷酸相似性差异最小的是深圳的 MK720579.1(99.1%~100.0%),差异最大的是北京的 MG746218.1(59.6%~100.0%);4 条 G II.P16-G II.2 型序列最近的参考序列是湖北的 MH068806.

1(97.3%~99.1%)。1 条 G II.Pe-G II.4 型序列与 4 条参考序列分属不同分支,其核苷酸相似性为 97.1%~97.9%。2 条 G II.P7-G II.6 型序列与 MK720582.1、MN461159.1 在一条进化分支上,核苷酸相似性为 97.2%~99.4%。剩余序列分属不同的基因型,且在同一进化枝上。



注: • 为上海市普陀区聚集性呕吐腹泻疫情 G II 组诺如病毒阳性样品编号。

图 1 G II 组诺如病毒聚合酶-衣壳蛋白连接区核苷酸序列系统进化树

3 讨 论

诺如病毒是引起托幼机构、学校和养老院等场所聚集性呕吐腹泻疫情的主要病原体^[10],极易在人群中引起大规模的传播。本研究结果显示,2018—2019 年上海市普陀区发生的 16 起聚集性呕吐腹泻疫情诺如病毒检测阳性率较高(45.59%),远超过 2016—2019 年上海市儿童感染性腹泻哨点监测病例的诺如病毒阳性率(11.23%)^[11]和 2013—2018 年上海市监测点医院诺如病毒阳性率(19.28%)^[12],表明该地区诺如病毒是造成聚集性呕吐腹泻疫情的主要原因之一。本研究检测出的病原体均为诺如病毒 G II 组,检出率为 45.59%(62/136),与国内外研究结果相符^[12-14],表明诺如病毒 G II 组是引发上海市普陀区聚集性呕吐腹泻疫情的优势病原体和基因组。

本研究核苷酸序列比对和同源分析结果显示,上海市普陀区聚集性呕吐腹泻疫情中诺如病毒基因组型别多样。其中 28 份标本为诺如病毒 G II. P16-G II. 2 型感染。G II. P16-G II. 2 型首次出现于 2006—2007 年,并在 2016—2017 年引起法国、德国、中国、美国等地区诺如病毒的大范围暴发流行^[15-16]。2018—2019 年上海市普陀区发生的 16 起聚集性呕吐腹泻疫情中主要是由 G II. P16-G II. 2 型引起,占 56.25%(9/16),与同期北京部分地区的流行情况一致^[16-18],提示该基因型较易在人群中流行,引起诺如病毒的暴发流行。部分研究表明,G II. P16 聚合酶区影响聚合酶功能和病毒传播的位点发生碱基突变,进而增强了病毒复制和传播的能力,提高了病毒对外界环境的适应能力^[19]。因此,开展常规监测以研究该重组病毒是很有必要的。

由于诺如病毒频繁的基因重组和抗原漂移,其呈现高度多变性,每隔几年就会出现新的变异株,引起急性胃肠炎的流行^[7-8]。自 2002 年以来,G II. 4 型病毒是世界范围内最常见的基因型,曾造成世界范围内 6 次大流行^[20],其中 G II. Pe-G II. 4 型自 2012 年后成为国内外优势菌株^[21],且是 2012—2017 年引起上海地区儿童呕吐腹泻的主要基因型^[22]。以往监测数据显示,2012 年以来上海及江苏连续检测到 G II. P12-G II. 3 型诺如病毒,表明 G II. P12-G II. 3 型可能会继续变异从而保持其在人群中的优势菌株地位^[22-23]。G II. P7-G II. 6 型已经在亚洲传播了至少 20 年^[24],近年来,该基因型在中国频繁出现^[25]。提示其有可能引起人群中诺如病毒的流行。

诺如病毒频繁的变异导致新的毒株生成,从而改变了病毒的适应性和感染力,进而导致急性胃肠炎的暴发流行。目前,针对诺如病毒并没有特异性治疗药物和预防性疫苗^[7]。因此,对症治疗和卫生管理是防控诺如病毒传播的主要手段,尤其是对儿童和老人这类特殊人群更需要加强个人卫生管理。通过对 2018—2019 年上海市普陀区 16 起聚集性呕吐腹泻疫情病例标本进行诺如病毒检测和流行病学分析,并进行基因测序了解疫情诺如病毒基因特征,及时发现流

行株和重组变异株,为辖区和全市诺如病毒引起的聚集性呕吐腹泻疫情的处置与防控及病原学研究提供技术支撑和数据参考,提高诺如病毒及重组诺如病毒鉴定水平,以求更好地预防控制呕吐腹泻疫情的暴发流行。

参考文献

- [1] KIRK M D, PIRES S M, BLACK R E, et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 food-borne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis[J]. *PLoS Med*, 2015, 12(12): e1001921.
- [2] BARTSCH S M, LOPMAN B A, OZAWA S, et al. Global economic burden of norovirus gastroenteritis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0151219.
- [3] 苏怡, 刘旭东, 仲伟麒, 等. 对一起诺如病毒感染疫情的流行病学调查分析[J]. *生物信息学*, 2022, 20(2): 136-140.
- [4] MANUEL C S, MOORE M D, JAYKUS L A. Predicting human norovirus infectivity—Recent advances and continued challenges [J]. *Food Microbiol*, 2018, 76: 337-345.
- [5] 吴晓芳, 纪蕾, 刘光涛, 等. 2018 年湖州市 8 起腹泻聚集疫情中诺如病毒的感染与流行[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2020, 34(1): 38-42.
- [6] 王璇, 雍玮, 杜雪飞, 等. 2014—2017 年南京地区胃肠炎暴发中诺如病毒分子流行病学特征[J]. *病毒学报*, 2018, 34(4): 483-490.
- [7] 侯亚楠, 李启明. 诺如病毒及其疫苗研究进展[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2019, 39(8): 628-632.
- [8] 周弘璐, 谭明, 汪萱怡. 诺如病毒的致病机制及诊断[J]. *微生物与感染*, 2019, 14(5): 303-309.
- [9] ROBILOTTI E, DERESINSKI S, PINSKY B A. Norovirus[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(1): 134-164.
- [10] HALL A J, WIKSWO M E, MANIKONDA K, et al. Acute gastroenteritis surveillance through the national outbreak reporting system, united states[J]. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19(8): 1305-1309.
- [11] 林声, 宫霄欢, 肖文佳, 等. 2016—2021 年上海市儿童感染性腹泻哨点监测分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2023, 44(2): 243-249.
- [12] 林声, 潘浩, 肖文佳, 等. 上海市 2013—2018 年成年人诺如病毒引发感染性腹泻的流行特征研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2019, 40(8): 883-888.
- [13] GAO Z, LIU B, YAN H, et al. Norovirus outbreaks in Beijing, China, from 2014 to 2017[J].

- J Infect, 2019, 79(2):159-166.
- [14] DEGIUSEPPE J I, BARCLAY L, GOMES K A, et al. Molecular epidemiology of norovirus outbreaks in Argentina, 2013—2018[J]. J Med Virol, 2020, 92(8):1330-1333.
- [15] NIENDORF S, JACOBSEN S, FABER M, et al. Steep rise in norovirus cases and emergence of a new recombinant strain G II. P16-G II. 2, Germany, winter 2016[J]. Euro Surveill, 2017, 22(4):30447.
- [16] 赵香菊, 吕秋艳, 张博文, 等. 2020 年北京市门头沟区急性胃肠炎病例诺如病毒分子流行病学特征分析[J]. 首都公共卫生, 2022, 16(1):37-40.
- [17] 刘海涛, 曹殿起, 张博文, 等. 北京市门头沟区 2018—2020 年急性胃肠炎患者诺如病毒基因型分析[J]. 临床荟萃, 2021, 36(8):691-695.
- [18] 李伟红, 高志勇, 严寒秋, 等. 2016—2019 年北京市 G II. 2[P16]型诺如病毒全长基因组系统进化分析[J]. 国际病毒学杂志, 2020, 27(2):97-98.
- [19] AO Y, CONG X, JIN M, et al. Genetic Analysis of reemerging G II. P16-G II. 2 noroviruses in 2016—2017 in China[J]. J Infect Dis, 2018, 218(1):133-143.
- [20] 沈玲羽, 姜博, 严寒秋, 等. 诺如病毒基因分型研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(11):1927-1932.
- [21] KENDRA J A, TOHMA K, FORD-SILTZ L A, et al. Antigenic cartography reveals complexities of genetic determinants that Lead to antigenic differences among pandemic G II. 4 noroviruses[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(11):e2015874118.
- [22] LU L, ZHONG H, XU M, et al. Genetic diversity and epidemiology of Genogroup II noroviruses in children with acute sporadic gastroenteritis in Shanghai, China, 2012—2017[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1):736-739.
- [23] FU J, AI J, BAO C, et al. Evolution of the G II. 3[P12] norovirus from 2010 to 2019 in Jiangsu, China[J]. Gut Pathog, 2021, 13(1):34-37.
- [24] CAI H, YU Y, JIN M, et al. Cloning, sequencing and characterization of the genome of a recombinant norovirus of the rare genotype G II. P7/G II. 6 in China[J]. Arch Virol, 2017, 162(7):2053-2059.
- [25] DONG X, QIN M, WANG Z E, et al. Should we pay attention to recombinant norovirus strain G II. P7/G II. 6[J]. J Infect Public Health, 2019, 12(3):403-409.
- (收稿日期:2024-02-20 修回日期:2024-03-17)
-
- (上接第 2734 页)
- [8] GRABOWSKI G, PACANA M J, CHEN E. Keloid and hypertrophic scar formation, prevention, and management: standard review of abnormal scarring in orthopaedic surgery[J]. J Am Acad Orthop Surg, 2020, 28(10):e408-414.
- [9] WU M, GU J Y, DUAN R, et al. Scar-centered dilation in the treatment of large keloids[J]. World J Clin Cases, 2022, 10(18):6032-6038.
- [10] TÉOT L, FLUIERARU S, HERLIN C. Suture edge tension control technologies for scar improvement [M]. Berlin: Springer, 2020: 497-502.
- [11] RAN X, LIU Y, ZHU S, et al. Principle and clinical application of keloid core excision technique[J]. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2023, 37(12):1569-1577.
- [12] HOSSEINI M, BROWN J, KHOSROTEHRA NI K, et al. Skin biomechanics: a potential therapeutic intervention target to reduce scarring [J]. Burns Trauma, 2022, 10:tkac036.
- [13] ZHANG X, DIAO J S, GUO S Z, et al. Wedge-shaped excision and modified vertical mattress suture fully buried in a multilayered and tensioned wound closure[J]. Aesthetic Plast Surg, 2009, 33(3):457-460.
- [14] LIU Z, TANG Z, HAO X, et al. Modified buried vertical mattress suture versus buried intradermal suture: a prospective split-scar study [J]. Dermatol Surg, 2021, 47(3):75-80.
- [15] CHEN J, ZHANG Y X. Clinical effect of Zhang's super tension-relieving suture for high-tension wound closure [J]. Zhonghua Shao Shang Za Zhi, 2020, 36(5):339-345.
- [16] WANG Y F, YANG Y T, CHEN Z A, et al. The running barbed tension-offloading suture: An updated technique update on tension wound closure[J]. Asian J Surg, 2023, 46(9):3773-3776.
- [17] LIU H, LIN M H, JIANG L L, et al. A modified suture technique to improve scar appearance in wounds under high tension [J]. Ann Plast Surg, 2023, 91(6):763-770.
- (收稿日期:2024-01-19 修回日期:2024-03-27)