

## · 现场流行病学调查热点报告 ·

## 一起食源性诺如病毒 G II.4/Sydney\_2012 变异株感染暴发的调查

蔡文锋 谢华萍 刘于飞 袁俊 肖新才 丁鹏 陈纯 张笃 陈建东  
马晓薇 耿进妹 林东明 练桂雄 杨智聪

**【摘要】** 目的 调查广州市某高校急性胃肠炎病例的感染来源、传播途径和危险因素。方法 按照病例定义开展病例搜索,采用描述性流行病学和病例对照研究进行分析;样本采用 RT-PCR 检测诺如病毒核酸,阳性标本分析基因核苷酸序列并进行同源性分析。结果 2013 年 1 月 8—21 日该校共发生诺如病毒感染性腹泻 141 例,罹患率为 8.5‰(141/16 600);8—9 日为发病高峰;病例无班级和宿舍聚集性;病例对照调查显示 A 餐厅为早期病例的感染场所( $OR=3.46$ ,  $95\%CI:1.07 \sim 11.16$ ),1 月 7 日的午餐是可疑餐次( $OR=4.34$ ,  $95\%CI:1.18 \sim 17.37$ ),可疑食物是手撕鸡套餐( $OR=17.82$ ,  $95\%CI:4.46 \sim 78.17$ );采集病例和厨工肛拭子、剩余食物及环境涂抹样等 266 份,诺如病毒 RT-PCR 检测阳性 21 份(17 例),病例阳性率为 42.8%(9/21),A 餐厅厨工阳性率为 29.6%(8/27),经基因测序为 G II.4/Sydney\_2012 变异株,学生、教职工病例与厨工同源性为 100%。结论 该次疫情为诺如病毒 G II.4/Sydney\_2012 变异株感染引起的急性胃肠炎暴发,其原因是携带病毒厨工污染食物所致,以食源性传播途径为主。

**【关键词】** 诺如病毒;急性胃肠炎;暴发;流行病学

**An epidemiological investigation on a food-borne outbreak of norovirus caused by Sydney 2012 G II.4 strain** CAI Wen-feng<sup>1</sup>, XIE Hua-ping<sup>1</sup>, LIU Yu-fei<sup>1</sup>, YUAN Jun<sup>1</sup>, XIAO Xin-cai<sup>1</sup>, DING Peng<sup>1</sup>, CHEN Chun<sup>1</sup>, ZHANG Du<sup>2</sup>, CHEN Jian-dong<sup>1</sup>, MA Xiao-wei<sup>1</sup>, GENG Jin-mei<sup>1</sup>, LIN Dong-ming<sup>3</sup>, LIAN Gui-xiong<sup>3</sup>, YANG Zhi-cong<sup>1</sup>. 1 Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China; 2 Conghua Center for Disease Control and Prevention; 3 Panyu District Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou

Corresponding authors: LIU Yu-fei, Email:gzliuyufei@hotmail.com; XIAO Xin-cai, Email:biotin2001@163.com

This work was supported by grants from the National Science and Technology Major Project of China (No. 2012ZX10004213-005) and Medical Science and Technology Research Projects of Guangzhou Municipality (No. 201102A212006).

**【Abstract】 Objective** To identify the source of infection, route of transmission and risk factors related to a cluster of acute gastroenteritis cases in a university of Guangzhou. **Methods** Cases were identified according to the definition. Descriptive epidemiological approaches and case-control study designs were employed in the analysis. All the samples were tested for norovirus by RT-PCR. Positive samples were subjected to both nucleotide sequence and homology analysis. **Results** A total of 141 cases related to norovirus gastroenteritis were identified in January 8 to 21, 2013, with the attack rate as 8.5‰ (141/16 600). The peak in morbidity was seen on January 8 to 9. No clustering was found in different classes or dormitories. Results from the case-control study revealed that early cases were infected in Restaurant A ( $OR=3.46$ ,  $95\%CI:1.07-11.16$ ) and the cold shredded chicken set meal ( $OR=17.82$ ,  $95\%CI:4.46-78.17$ ) served at lunch ( $OR=4.34$ ,  $95\%CI:1.18-17.37$ ) on January 7 was under suspicion. A total of 266 samples, including rectal swabs from the patients and kitchen workers, leftover food and environmental swabs, were collected. Twenty-one samples (collected from 17 persons) were positive for norovirus by RT-PCR. About 29.6% (8/27) of

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.08.012

基金项目:国家科技重大专项(2012ZX10004213-005);广州市医药卫生科技重点项目(201102A212006)

作者单位:510440 广州市疾病预防控制中心(蔡文锋、谢华萍、刘于飞、袁俊、肖新才、丁鹏、陈纯、陈建东、马晓薇、耿进妹、杨智聪);广东省从化市疾病预防控制中心(张笃);广州市番禺区疾病预防控制中心(林东明、练桂雄)

蔡文锋、谢华萍同为第一作者

通信作者:刘于飞, Email:gzliuyufei@hotmail.com;肖新才, Email:biotin2001@163.com

the kitchen workers in the Restaurant A were tested positive for the virus. The pathogen was identified as the new norovirus genotype II.4 variant, termed Sydney 2012. The virus strains isolated from the patients among student and staff and the kitchen workers were 100% identical in their nucleotide sequence. **Conclusion** This was the first reported acute gastroenteritis outbreak caused by the new norovirus genotype II.4 variant, Sydney 2012, which showed that the food was contaminated by the asymptomatic kitchen workers who carried the virus.

**【Key words】** Norovirus; Acute gastroenteritis; Outbreak; Epidemiology

2013 年 1 月广州市某大学发生一起以呕吐、腹泻等主要症状的暴发疫情。经流行病学调查和病原学检测,确认为一起诺如病毒 G II.4/Sydney\_2012 变异株引起的急性胃肠炎暴发。Sydney\_2012 变异株是 2012 年 3 月在澳大利亚首次出现并被命名,并在美国、英国、法国、新西兰和日本等多国蔓延,成为 2012 年冬季的“优势毒株”,在我国尚未有文献报道。为探明疫情的感染来源、传播途径和危险因素,开展本次调查。

### 对象与方法

1. 流行病学调查:本次调查病例定义为自 2013 年 1 月 1 日以来,该校具有呕吐或者腹泻(每日排便  $\geq 3$  次,且有性状改变)症状之一的学生及教职员工。调查通过查阅该校驻地医院门诊日志、校门诊部日志和教务部门进行病例搜索;使用统一的感染性腹泻个案流行病学调查表,内容包括病例基本情况、临床特征及流行病学接触史等。对病例进食的 A 餐厅进行卫生学调查和食品可疑加工环节调查。

2. 病例对照研究:随机选择早期(1 月 8—9 日)发病病例作为病例组(若同宿舍内出现 2 名以上病例则只纳入首例病例),随机选取病例同宿舍或同班级 2 名无任何症状的同学作为对照组。使用统一的问卷开展面对面访谈或电话调查。

3. 实验室检测:采集食堂剩余食物、环境样品及病例、厨工肛拭子标本,进行病毒学检测和食物中毒常规致病菌检测。采用酶标方法检测诺如病毒、星状病毒、轮状病毒和腺病毒抗原,用荧光 PCR 及 RT-PCR 方法检测轮状病毒和诺如病毒核酸;采用 PCR 和细菌培养检测食物中毒常规致病菌(沙门菌、志贺菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌、蜡样芽孢杆菌、变形杆菌、致泻大肠埃希菌)。

(1) 病毒 RNA 提取及核酸检测:选用 QIAGEN Viral RNA Mini Kit 试剂盒提取病毒核酸;使用达安生物科技有限公司的 A 组轮状病毒、诺如病毒(G I 和 G II 型)、札如病毒、肠道腺病毒及星状病毒荧光 PCR 核酸检测试剂盒,采用实时荧光 PCR 检测病毒核酸。以上均按说明书操作。

(2) 诺如病毒基因序列扩增和测定分析:荧光 PCR 检测诺如病毒阳性标本,采用混合引物 289 (289H: 5' -TGA CGA TTT CAT CAT CAC CAT C-3', 289I: 5' -TGA CGA TTT CAT CAT CCC CGT A-3') 和混合引物 290 (290H: 5' -GAT TAC TCC AGG TGG GAC TCC AC-3', 290I: 5' -GAT TAC TCC AGG TGG GAC TCA AC-3', 290J: 5' -GAT TAC TCC AGG TGG GAT TCA AC-3'; 290K: 5' -GAT TAC TCC AGG TGG GAT TCC AC-3'), 用于反转录和 PCR。诺如病毒的 PCR 扩增产物为 319 bp。选用 Invitrogen SuperScript III One-Step RT-PCR with Platinum Taq 试剂盒进行基因扩增。反应体系及反应条件:2  $\times$  Reaction Mix 25  $\mu$ l, SS III/Platinum Taq 2  $\mu$ l, 混合引物 289 (20  $\mu$ mol/L) 各 1  $\mu$ l, 混合引物 290 (20  $\mu$ mol/L) 各 1  $\mu$ l, RNA 7.5  $\mu$ l, 加去离子水至 50  $\mu$ l。50  $^{\circ}$ C 反转录 30 min, 再 94  $^{\circ}$ C 预变性 2 min 后, 94  $^{\circ}$ C 30 s, 55  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 扩增 30 个循环, 72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min。测序由上海英潍捷基公司完成。核苷酸序列同源性分析用 DNASTar 软件中的 MegAlign 程序, 进化树构建使用 Mega 4.0 软件, Kimura 双校正模型和邻接法(neighbor-joining), bootstrap 值为 1000。

4. 统计学分析:调查资料采用 Excel 软件建立数据库, SPSS 13.0 软件分析数据。

### 结 果

1. 基本情况:该校为广州市大学城 10 所高校之一,共有 16 个院系 56 个专业,学生 16 600 人。学校分教学区和生活区,共设 5 个师生食堂和 3 个餐厅。校内设有一个门诊部,学生多数在该门诊部就诊,部分到大学城医院就诊。

2. 流行病学特征:

(1) 流行概况和临床表现:共发生 141 例,罹患率为 8.5%,无住院和死亡病例。此外,还发现 8 名感染者,均为 A 餐厅厨工,自述无发病。主要症状为腹泻 86.5% (122/141)、呕吐 56.7% (80/141)、腹痛 56.7% (80/141)、发热 28.4% (40/141),一般持续 2~3 d,个别 >5 d。所有病例临床症状均较轻,呈自限性,无重症病例。其中 15 例检查血常规,12 例白细

胞计数和中性粒细胞计数轻度升高,13 例淋巴细胞计数下降。

(2)首发病例调查:首发病例 19 岁女性。该病例发病前 3 d 均在学 1 食堂进食早餐,午、晚餐在 A 餐厅,食用过手撕鸡、云吞、白切鸡等食品。1 月 8 日出现恶心、呕吐、腹泻(4 次/日)症状,并伴有发热。9 日前往大学城医院就诊,医生给予胃肠炎对症治疗。

(3)时间分布:首例发病时间为 1 月 8 日,末例为 19 日,疫情共持续 12 d。发病时间曲线呈 2 个峰并逐步趋缓,发病主要集中在 1 月 8—9 日(共 64 例)。

(4)空间分布:16 个学院均有病例,其中物理科学与工程技术学院(42.11%)、护理学院(25.64%)和公共卫生学院(22.56%)罹患率明显高于其他学院,差异有统计学意义( $\chi^2=34.91, P<0.05$ );4 个宿舍园区均有病例,主要集中于 2 个宿舍园区(分别为 9.89%和 8.74%),差异有统计学意义( $\chi^2=11.31, P<0.05$ )。

(5)人群分布:年龄 18~42 岁,平均 20 岁;除 1 例医务人员和 2 例教师外,其余病例均为学生;男生罹患率为 7.8%(70/8995),女生罹患率为 8.9%(68/7605),二者间的差异无统计学意义( $\chi^2=0.69, P>0.05$ )。

### 3. 相关因素调查:

(1)卫生学调查:该校 5 个食堂为学生提供三餐和夜宵,另 3 个餐厅(A、B 和 C 餐厅)提供中晚餐。A 餐厅位于教学区内,主要为教职员工就餐,其他饭堂和餐厅均位于生活区。在期末临考阶段 A 餐厅学生就餐明显增多(日均提供 2000 多份套餐)。该餐厅共 27 名员工均自述近期未出现吐泻症状。厨工进入餐厅无更衣洗手设施、制度,并与就餐者共用卫生间。餐厅烧腊部由 2 人负责烧味套餐(包括手撕鸡等)。其中手撕鸡(凉菜)销量较大约 350 份套餐。现场观察发现,厨工制作该菜品时口罩佩戴不规范,手撕过程仅戴一只手套。生活用水使用统一市政自来水供水,饮用水使用大桶装水,供应范围包括学生宿舍、教学楼及办公室。

(2)病例对照研究:共纳入病例组 52 名和对照组 67 名。结果显示,病例组在 A 餐厅就餐的比例是对照组的 3.46 倍,曾在 A 餐厅就餐是患病的危险因素( $OR=3.46, 95\%CI: 1.07 \sim 11.16$ ),1 月 7 日中午在 A 餐厅进食能显著增加发病风险( $OR=4.34, 95\%CI: 1.18 \sim 17.37$ ),见表 1、2;而食用过手撕鸡套餐的发病风险是未食用者的 17.82 倍( $OR=17.82, 95\%CI: 4.46 \sim 78.17$ )。

4. 实验室检测:266 份样品经实时荧光定量

表 1 不同就餐地点暴露情况的病例对照研究

就餐地点	病例组 (n=52)	对照组 (n=67)	暴露率(%)		OR 值(95%CI)
			病例组	对照组	
学 1 食堂	10	24	19	36	0.43(0.17~1.08)
学 2 食堂	13	23	25	34	0.64(0.26~1.53)
学 3 食堂	4	9	7.7	13	0.54(0.13~2.08)
学 4 食堂	6	10	12	15	0.74(0.22~2.45)
B、C 餐厅	9	24	17	36	0.49(0.18~1.29)
A 餐厅	48	52	92	72	3.46(1.07~11.16)

表 2 学生在 A 餐厅不同就餐时间暴露情况的病例对照研究

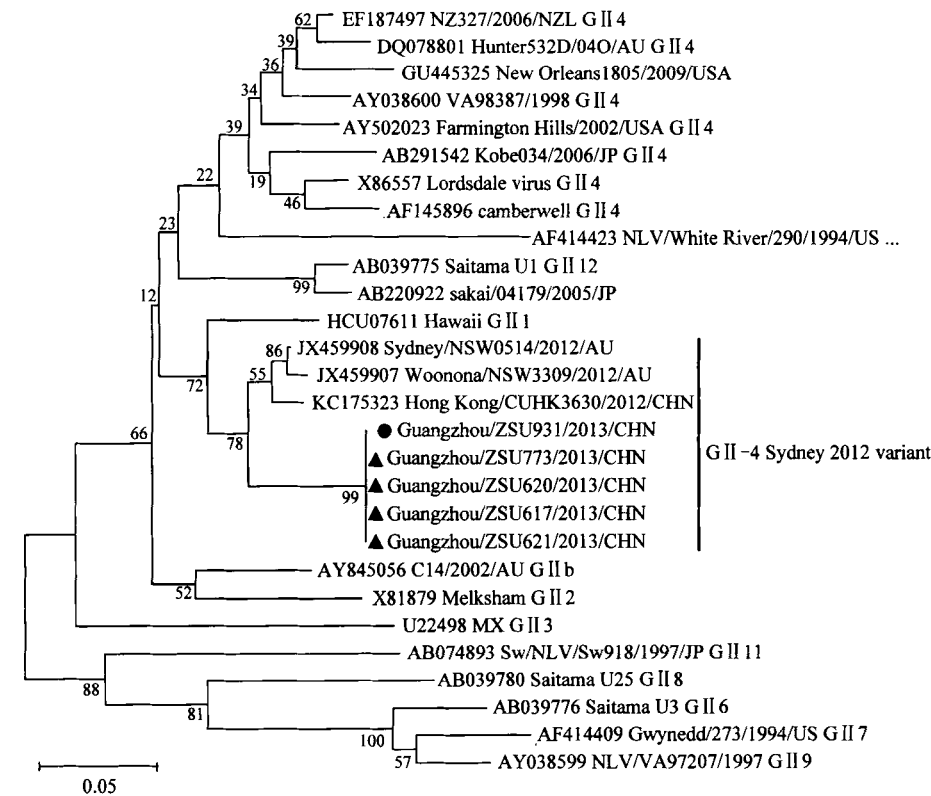
就餐日期	病例组 (n=52)	对照组 (n=67)	暴露率(%)		OR 值(95%CI)
			病例组	对照组	
6 日午餐	12	21	23.08	31.34	2.14(0.50~9.82)
6 日晚餐	5	17	9.62	25.37	1.10(0.20~6.17)
7 日午餐	39	32	71.15	47.76	4.34(1.18~17.37)
7 日晚餐	15	24	28.85	35.82	2.34(0.57~10.31)
8 日午餐	24	34	46.15	50.75	2.65(0.70~10.86)
8 日晚餐	21	29	40.38	43.28	2.72(0.70~11.38)
未在此就餐	4	15	7.69	22.39	-

PCR 及 RT-PCR 检测(部分病例同时检测肛拭子和呕吐物标本),有 21 份标本诺如病毒核酸阳性。其中 9 名病例包括学生、教师和校医,诺如病毒核酸阳性率为 42.8%(9/21);A 餐厅厨工检测样品诺如病毒核酸阳性率为 29.6%(8/27);样本中未检测出食物中毒常规致病菌及其他病毒。对核酸阳性标本进行诺如病毒多聚酶区部分基因 RT-PCR 扩增,获得多聚酶区部分基因序列 5 份(分别来自 3 名病例及 1 名厨工),核苷酸同源率为 100%。开展种系发生树分析,5 份标本属于诺如病毒 G II.4/Sydney\_2012 变异株,与近期世界范围内流行的优势株 Sydney\_2012 变异株在进化距离上最相近(图 1)。

## 讨 论

调查结果显示本次疫情是由诺如病毒 G II.4/Sydney\_2012 变异株引起的急性胃肠炎暴发,其原因是携带病毒厨工在食品制作中直接或间接污染食物而导致,早期通过食源性传播,中后期出现人际间密切接触等途径传播。

诺如病毒容易通过吸入含病毒的雾滴、人间密切接触、环境污染物等途径传播。疾病暴发时,最初病例往往是通过粪-口途径,随后通过与病例密切接触、空气和污染物等途径传播<sup>[1-5]</sup>。在诺如病毒各基因亚型中,G II.4 是全球流行较广的毒株<sup>[6]</sup>,而 G II.4/Sydney\_2012 是 2012 年在澳大利亚首次出现并成为同年冬季的“优势毒株”<sup>[7-11]</sup>。临床症状主要为呕吐、腹泻,部分病例可出现发热、头痛和腹痛等;人群中



注：● 厨工样本；▲ 病例样本；其中 Guangzhou/ZSU620/2013/CHN 与 Guangzhou/ZSU621/2013/CHN 为同一病例的不同标本

图 1 5 株诺如病毒 RNA 多聚酶区核苷酸序列 (nt 4591 ~ 4864) 种系发生树

无免疫,新变异株可轻易造成暴发和流行。美国疾病预防控制中心分析的数据发现,2012年9—12月诺如病毒感染病例的53%(141/266)是由新毒株所致,其中51%是通过人-人传播,20%是通过食源性传播<sup>[12]</sup>。2012年7—12月中旬,英国确诊感染新毒株而患胃肠炎的人数达到3538例,比2011年同期增加83%<sup>[13]</sup>。2013年1月日本有31个县报告G II.4/Sydney\_2012感染的腹泻病例<sup>[11]</sup>。苏格兰在2012年11月发生10起诺如病毒暴发中有9起是由G II.4/Sydney\_2012引起<sup>[14]</sup>。2012年8月我国广东省也陆续出现数起Sydney\_2012变异株引起的诺如病毒暴发疫情。

2009—2010年美国的食源性疾病暴发中,有42%是由诺如病毒引起,而53%的食源性诺如病毒暴发的污染源来自被病毒感染的厨工<sup>[3,15]</sup>。本文报道的疫情发病时间曲线呈2个峰并逐步趋缓,校内各院系均有病例,男女生罹患率差别不大,且均使用市政自来水,可以判断疫情初期为点源暴露模式,以食源性传播为主,后期出现接触传播。病例对照结果显示1月7日在A餐厅进食手撕鸡套餐是该起暴发的危险因素。根据早期病例可推断潜伏期最短为19 h,最长60 h,平均36.73 h,与诺如病毒潜伏期一

致。A餐厅厨工诺如病毒核酸阳性率较高(29.6%),且与病例的诺如病毒基因序列同源性为100%,可推断疫情暴发原因是病毒携带者(厨工)在制作食品中直接或间接污染食物而导致。经A餐厅全面消毒清洗及将该名厨工调离岗位等措施后,病例数逐渐减少,控制措施明显,并支持食源性传播的原因。

(感谢广东省疾病预防控制中心邓小玲所长和黄琼、孙立梅副所长给予的帮助)

参 考 文 献

- [1] Jin Q. Medical molecular virology. Beijing: Scientific Publishing, 2001:565-578. (in Chinese) 金奇. 医学分子病毒学. 北京: 科学出版社, 2001: 565-578.
- [2] Liang JZ, Situ RR, Chen YC, et al. Epidemiological analysis of an outbreak of norovirus diarrhea. J Trop Med, 2008, 9(8): 971-973. (in Chinese) 梁坚忠, 司徒荣阮, 陈缘超, 等. 一起诺如病毒感染性腹泻暴发疫情流行病学调查. 热带医学杂志, 2008, 9(8): 971-973.
- [3] Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. Emerg Infect Dis, 2011, 17:7-15.
- [4] Hamano M, Kuzuya M, Fujii R, et al. Epidemiology of acute gastroenteritis outbreaks caused by noroviruses in Okayama, Japan. J Med Virol, 2005, 77(2): 282-289.
- [5] Kong ZF, Cao PY, Huang ML, et al. Investigation of an outbreak of norovirus diarrhea. Dis Surveill, 2007, 22(6): 422. (in Chinese) 孔志芳, 曹品元, 黄美林, 等. 一起诺瓦克病毒引起感染性腹泻爆发疫情调查分析. 疾病监测, 2007, 22(6): 422.
- [6] CDC. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. MMWR, 2011, 60(No. RR-3).
- [7] White PA, Eden JS, Hansman GS. Molecular epidemiology of noroviruses and sapoviruses and their role in Australian outbreaks of acute gastroenteritis. Microbiol Aust, 2012, 33(2): 70-73.
- [8] van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. Euro Surveill, 2013, 18(1): 8-9.
- [9] Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Virologische weekstaten. Bilthoven: RIVM, 2012.
- [10] Health Protection Agency (HPA). Update on seasonal norovirus activity. London: HPA, 2012.
- [11] National Institute of Infectious Diseases (NIID). Flash report of norovirus in Japan. Tokyo: NIID, 2012.
- [12] Yen C, Wikswow ME, Lopman BA, et al. Impact of an emergent norovirus variant in 2009 on norovirus outbreak activity in the United States. Clin Infect Dis, 2011, 53: 568-571.
- [13] Vega E, Barclay L, Gregoricus N, et al. Novel surveillance network for norovirus gastroenteritis outbreaks, United States. Emerg Infect Dis, 2011, 17(8): 1389-1395.
- [14] McAllister G, Holmes A, Garcia L, et al. Molecular epidemiology of norovirus in Edinburgh health care facilities, Scotland 2007-2011. Epidemiol Infect, 2012, 140(12): 2273-2281.
- [15] CDC. Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2009-2010. MMWR, 2013, 62: 3: 41-55.

(收稿日期: 2013-02-26)

(本文编辑: 张林东)