

· 诺如病毒腹泻 ·

北京市某些医院内腹泻暴发与诺如病毒的相关性研究

贾立平 钱渊 张又 陈冬梅 高燕 徐潜

【摘要】 目的 确定 2006 年 11-12 月北京市某些医院内发生的住院患者腹泻爆发性流行的病原及其分子生物学特点。方法 首先检测腹泻标本中轮状病毒抗原并用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行轮状病毒核酸检测,然后用逆转录-聚合酶链反应进行诺如病毒核酸检测,对检测阳性标本进行诺如病毒 VP1 全基因的扩增;并对其中一例进行全基因克隆、测序和分析。另外对来自不同医院的 2 份阳性标本中的 VP1 的 5' 端部分序列进行测序分析。结果 30 份腹泻患者粪便标本中共有 17 份检测为诺如病毒阳性,总阳性率为 56.7%,每一家医院送检标本的阳性率都在 42.9% 以上。对其中一份标本的诺如病毒 VP1 全基因序列测定和分析显示为 G II-4 型诺如病毒。另 2 份标本中的部分序列测定显示与全基因序列高度保守,只有 1 个核苷酸的差异,因此也提示为 G II-4 型诺如病毒。结论 诺如病毒是北京地区医院内腹泻暴发的重要病原,此次暴发极可能是由 G II-4 型诺如病毒引起。

【关键词】 诺如病毒; 医院内感染; 逆转录-聚合酶链反应; 序列分析

Norovirus associated outbreaks of acute gastroenteritis in hospitals in Beijing in late 2006 JIA Li-ping*, QIAN Yuan, ZHANG You, CHEN Dong-mei, GAO Yan, XU Qian. *Beijing Municipal Laboratory of Infection and Immunity, Laboratory of Virology, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China

Corresponding author: QIAN Yuan, Email: yqianbjc@263.net

【Abstract】 Objective To identify the etiological agent of acute gastroenteritis outbreaks occurred in 6 hospitals in Beijing from November to the end of 2006 and to characterize the virus on molecular biology. **Methods** Rota-strip was used to detect rotavirus antigen and PAGE for rotavirus RNA in stool specimens collected from patients with gastroenteritis at the first stage. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed to detect Norovirus in stool specimens. Full length of Norovirus VP1 genes were amplified from Norovirus positive samples by RT-PCR and sequenced after the gene was cloned into vector pUCm-T. The sequences of partial VP1 gene at the 5' end of full-length gene were obtained from 2 of the Norovirus positive samples to analyze the relationship of these viruses at molecular level. **Results** Norovirus was detected in 17 of the 30 stool specimens with an overall positive rate of 56.7%. Positive rates were all above 42.9% in specimens collected from each of the hospital. Sequence analysis on one of the full-length of VP1 amplified by RT-PCR from one of the positive specimens NV8-Beijing indicated that it belonged to G II-4 genotype. This strain shared 94.8% and 95.2% identities over the complete major capsid gene to Lanzhou strain form Lanzhou China and Farmington Hill strain from USA which belonged to G II-4 genotype, but only 91.1% identity to the CR2905 from Beijing China identified from specimen collected in late 2004. The sequences of 5' end of VP1 genes amplified from other two samples collected from different hospitals showed only one nucleotide mutation compared to NV8-Beijing in the correspondence part, indicating that these two strains also belonged to G II-4 genotype. **Conclusion** Norovirus was the etiological agent causing outbreaks of acute gastroenteritis in hospitals in Beijing and the strain with G II-4 genotype which was closer to the Lanzhou and Farmington strains than Beijing strains identified in 2004.

【Key words】 Norovirus; Hospital acquired infectious diarrhea; Reverse transcription-polymerase chain reaction; Sequence analysis

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270067)

作者单位:100020 北京,首都儿科研究所病毒研究室 北京市感染与免疫中心实验室(贾立平、钱渊、张又、陈冬梅);北京大学人民医院感染科(高燕);中日友好医院感染科(徐潜)

通讯作者:钱渊,Email:yqianbjc@263.net

诺如病毒 (Norovirus) 原名诺瓦克样病毒 (Norwalk-like virus), 在人类急性非细菌性胃肠炎的爆发性流行中占有主要地位, 常在医院、餐馆、学校、托儿所、孤老院、军队、家庭及其他人群中引起暴发^[1,2]。2006 年 11 月上、中旬在北京地区一些医院住院患者中相继暴发腹泻, 患者多为机体抵抗力低下老年患者或手术后患者^[3,4]。本研究应用抗原检测、聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)、逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR)、基因克隆和测序, 对这些医院收集的腹泻患者的粪便标本进行了病原学检测和分析。

材料与方 法

1. 标本来源: 北京地区 6 家医院收集的 30 名院内感染腹泻住院患者的粪便标本^[4]。取标本日期为 2006 年 11 月 21 日至 12 月 31 日。

2. 实验方法:

(1) 轮状病毒检测: ①轮状病毒抗原检测: 所用试剂盒为比利时 BioConcept 公司生产的 Rota-strip。按说明书进行操作。②轮状病毒基因检测: 粪便标本中病毒 RNA 的提取采用 Trizol 提取 RNA。③PAGE: 采用垂直板不连续 PAGE, 上部浓缩胶和下部分离胶的浓度分别为 3% 和 10%, 每个样品槽加核酸样品液 10 μl, 恒流, 室温下电泳 1-2 h, 电泳液为 Tris-甘氨酸缓冲液。电泳完毕, 取下胶片浸于 0.1% 硝酸银溶液中摇床振摇 30 min, 去离子水洗 3-4 遍, 加入显色液, 振荡显色 10-20 min, 至条带清晰可辨后用终止液终止显影并读取结果。用以往已证实为轮状病毒阳性的儿科腹泻患儿的粪便标本作为阳性对照同时进行电泳和染色。

(2) 诺如病毒核酸检测: ①病毒核酸的提取: 将 1:1 稀释的粪便标本上清用 Invitrogen 公司的 Trizol RNA Kit 进行核酸提取, 所提 RNA 用 20 μl DEPC 处理的灭菌 ddH₂O 溶解, 然后立即进行逆转录反应。②逆转录合成 cDNA: 取 5.0 μl 病毒 RNA 为模板, 随机引物 2.0 μl, dNTP 500 μm, ddH₂O (DEPC 预处理) 5.0 μl, 混匀后 65℃ 5 min, 冰上 1 min; 再加入 5×buffer 5 μl, DTT (0.1 mmol/L) 2.0 μl, RNasin 0.2 μl, 置于 37℃ 2 min; 加 MLV 0.4 μl (200 U/μl), 置于 25℃ 10 min, 37℃ 90 min, 70℃ 15 min 后, 立即进行聚合酶链反应。③引物设计: 根据从 GenBank 中下载的 G I 及 G II 组诺如病毒 VP1 的 3' 及 5' 末端保守区域及本研究室前期工作中确定的

诺如病毒北京地方株 VP1 全基因序列设计了 3 对引物^[5] (表 1), 可分别扩增 VP1 全基因或部分基因片段。引物由赛百盛科技有限公司合成。④PCR 扩增目的基因: PCR 反应: 25 μl 反应体系包括 cDNA 5.0 μl, 10× buffer 2.5 μl, dNTP (100 mmol/L) 0.5 μl, 引物 (5' 末端) 2.0 μl, 引物 (3' 末端) 2.0 μl, Taq DNA 聚合酶 0.5 μl, 补 ddH₂O 到 25 μl; 引物 P301/NLV2 (扩增 VP1 全基因) 反应条件: 94℃ 3 min, 45 个循环 (94℃ 1 min, 42℃ 1 min, 72℃ 150 s), 72℃ 7 min, 4℃ 保存; 引物 P301/NLVP2、P301/NLVP3 (扩增部分 VP1 基因片段); PCR 反应条件: 94℃ 3 min, 30 个循环 (94℃ 1 min, 49℃ 1 min, 72℃ 1 min), 72℃ 7 min, 4℃ 保存。Trizol 和逆转录酶 M-MLV 为 Invitrogen 公司产品; Taq 酶为天为时代科技有限公司产品。扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 用于本研究的引物

| 引物名称 | 引物序列 (5'~3') | 引物极性 | 扩增片段 |
|-------|---|------|-----------|
| P301 | ATC GCG GAT CCC GGG TGA ATG AAG ATG GCG TC | 5' | |
| NLV2 | ATC GGA TCC GAA AGC TCC AGC CAT TAT | 3' | 约 1620 bp |
| NLVP2 | CCT GCC CAA CCA TTM TAC AT | 3' | 约 300 bp |
| NLVP3 | GAC ATC CAC GAT GAC ATG TGG | 3' | 约 400 bp |

(3) VP1 基因克隆: 从 6 家医院共选取了 11 份诺如病毒阳性标本进行 VP1 全基因扩增, 产物经琼脂糖凝胶电泳后纯化, 与 pUCm-T 载体进行连接。连接产物转化大肠埃希菌 DH5α 感受态细胞, 挑取阳性克隆进行全基因的核苷酸序列测定。DNA 凝胶纯化回收试剂盒为天为时代科技有限公司产品, pUCm-T 载体为上海生工生物工程有限公司产品。

(4) 序列测定及分析: 从不同医院检测到的阳性标本中选取扩增产物直接进行核苷酸序列测定。VP1 全基因的测定用上述阳性克隆进行。序列测定由奥科生物有限公司完成。将测序结果与 GenBank 中的诺如病毒 VP1 全基因序列对比, 应用生物学软件 DNASTar 分析核苷酸同源性, 并绘制进化树。用于序列分析的诺如病毒参考株来自本课题组前期确定的北京地区散发的儿科就诊腹泻患儿标本中检测到的诺如病毒和 GenBank 中收入的其他国家 (地区) 的毒株。参考毒株的名称、基因型别及 GenBank 序列号见表 2。

表2 序列分析所用毒株的相关信息

| 基因型别 | 毒株名称 | GenBank 序列号 |
|---------|-----------------|-------------|
| G I -1 | NV-USA93 | M87661 |
| G I -2 | SOV-GBR93 | L07418 |
| G I -3 | DSV-USA93 | U04469 |
| G I -4 | Chiba-JPN00 | AB042808 |
| G I -5 | Musgrove-GBR | AJ277614 |
| G II -1 | Hawaii-USA94 | U07611 |
| G II -2 | SMV1-USA | AY134748 |
| G II -3 | Toronto-CAN93 | X81879 |
| G II -3 | CR2987 | DQ419909 |
| G II -4 | Bristol-GBR93 | X76716 |
| G II -4 | VA98387-USA | AY038600 |
| G II -4 | CBW94-AUS | AF145896 |
| G II -4 | Camberwell | U46500 |
| G II -4 | Farmington Hill | AY502023 |
| G II -4 | Grimsby | AJ004864 |
| G II -4 | Burwash Landing | AF414425 |
| G II -4 | CR2905 | DQ419907 |
| G II -4 | CR2932 | DQ419908 |
| G II -4 | Lsdale-GBR | X86557 |
| G II -4 | Lanzhou | DQ364459 |

结 果

1. 轮状病毒检测:用于本研究的 30 份腹泻患者粪便标本中,对最先收到的 13 份标本进行轮状病毒抗原和核酸检测,结果全部为阴性。

2. 诺如病毒核酸检测:应用引物 P301/NLVP2 和 P301/NLVP3 用 RT-PCR 进行诺如病毒核酸检测,共有 17 份标本扩增到诺如病毒核酸,总的阳性率为 56.7% (17/30),各家医院送检标本中均有阳性结果(表 3)。17 份标本均扩增得到了 300 bp 的基因片段,其中有 1 份标本同时扩增得到了 400 bp 的基因片段。

表3 2006 年 11-12 月北京市 6 家医院送检标本诺如病毒检测结果

| 医院 | 送检标本 | | |
|----|------|------|---------|
| | 份数 | 阳性份数 | 阳性率 (%) |
| A | 7 | 3 | 42.9 |
| B | 6 | 4 | 66.7 |
| C | 2 | 2 | 100.0 |
| D | 7 | 3 | 42.9 |
| E | 2 | 2 | 100.0 |
| F | 6 | 3 | 50.0 |
| 合计 | 30 | 17 | 56.7 |

3. 粪便标本中诺如病毒 VP1 全基因的扩增和克隆:本研究对来自不同医院的 11 份诺如病毒阳性标本进行 VP1 全基因扩增,有来自 3 家医院的 6 份标本扩增得到 VP1 全基因序列,表现为 PCR 扩增产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳显示为 1600 bp 左右的条带,但是 PCR 产物的含量较低。目前已将其中的 1 株 NV8-Beijing(来自于 B 医院的成人腹泻标本)

与 pUCm-T 载体进行连接,进行 T-A 克隆并测定核苷酸序列。

4. 阳性标本中诺如病毒 VP1 全基因的序列分析:测序结果显示 NV8-Beijing VP1 全基因序列全长 1623 bp,含有单一的读码框架,编码一个含 540 个氨基酸的蛋白。将 NV8-Beijing VP1 全基因序列与 GenBank 中的诺如病毒 VP1 全基因序列进行比较,可以看出 NV8-Beijing 与 G II 组的诺如病毒核苷酸同源性在 61.4%~93.8% 之间,与 G II -4 型的诺如病毒株氨基酸同源性高于 80% (表 3)。图 1 为 NV8-Beijing 与诺如病毒北京地方株 (CR2905、CR2932) 及 GenBank 收入的 G I、G II 组诺如病毒 VP1 全基因的系统进化树分析。从图 1 中可以看出,NV8-Beijing 与诺如病毒 G II -4 型成一簇。因此认为 NV8-Beijing 属于诺如病毒 G II -4 型。值得注意的是虽然同为 G II -4 型,NV8-Beijing 与 2004 年北京诺如病毒的核苷酸和氨基酸同源性仅为 91.4% 和 91.1%,而与 2002 年美国的病毒株 Farmington Hill 的同源性却分别达到 92.8% 和 95.2%,与 2002 年中国兰州毒株的同源性达到 93.8% 和 94.8%。

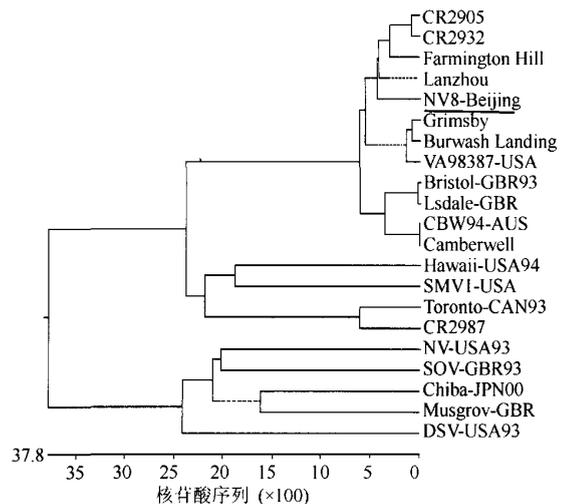


图1 诺如病毒 G I、G II 组 VP1 全基因的系统进化树分析

图 2 为 NV8-Beijing 与 G II -4 型其他毒株的氨基酸序列的比较,可见 NV8 VP1 变异较大的部位位于第 293~396 个氨基酸之间,此部分为参与组成该蛋白 P2 结构域。

5. 阳性标本中诺如病毒 VP1 部分基因片段的序列分析:从 A 医院和 C 医院的阳性标本中扩增得到的 2 例 VP1 部分基因片段(5' 约 270 bp)的核苷酸序列与 NV8-Beijing 的相应序列各有 1 个核苷酸的不同,高度提示这两株诺如病毒也属 G II -4 型。

表4 NV8-Beijing 与 G I、G II 组诺如病毒 VP1 序列同源性比较

| 标本名称 | NV8-Beijing | NV-USA93 | SOV-GBR93 | DSV-USA93 | Chiba-Jan00 | Musgrove-GBR | Hawaii-USA93 | SMV1-USA | Toronto-CAN93 | Bristol-GBR93 | Farmington Hill | CR2905 | Lanzhou |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|---------------|---------------|-----------------|-------------|---------|
| NV8-Beijing | | 35.2 | 39.5 | 39.9 | 40.3 | 41.1 | 59.1 | 56.9 | 58.4 | 87.0 | 92.8 | 91.4 | 93.8 |
| NV-USA93 | 39.0 | | 58.9 | 56.8 | 59.3 | 55.2 | 40.0 | 39.4 | 40.0 | 36.7 | 34.8 | 32.9 | 35.5 |
| SOV-GBR93 | 39.2 | 68.0 | | 57.9 | 64.3 | 62.9 | 39.2 | 35.9 | 36.6 | 37.2 | 39.1 | 37.5 | 39.0 |
| DSV-USA93 | 40.3 | 65.7 | 65.3 | | 57.1 | 56.7 | 42.3 | 38.3 | 40.6 | 39.2 | 37.2 | 38.1 | 39.2 |
| Chiba-Jan00 | 39.0 | 70.2 | 74.3 | 63.9 | | 68.0 | 40.0 | 39.0 | 38.2 | 39.7 | 40.0 | 39.3 | 40.1 |
| Musgrove-GBR | 41.8 | 66.9 | 72.6 | 64.7 | 78.7 | | 40.1 | 40.6 | 37.7 | 40.6 | 40.5 | 39.6 | 41.3 |
| Hawaii-USA93 | 63.4 | 43.9 | 40.9 | 42.4 | 41.2 | 43.1 | | 65.9 | 62.4 | 57.4 | 56.8 | 57.0 | 57.8 |
| SMV1-USA | 62.5 | 43.7 | 38.7 | 42.0 | 40.1 | 42.7 | 75.7 | | 57.7 | 54.0 | 54.8 | 55.0 | 56.7 |
| Toronto-CAN93 | 65.6 | 43.7 | 37.8 | 41.1 | 39.3 | 40.8 | 71.8 | 67.6 | | 59.9 | 58.2 | 58.6 | 58.3 |
| Bristol-GBR93 | 91.7 | 40.9 | 39.3 | 40.0 | 40.0 | 42.6 | 63.4 | 62.0 | 65.7 | | 88.4 | 87.1 | 89.0 |
| Farmington Hill | 95.2 | 40.9 | 39.6 | 39.7 | 39.4 | 42.1 | 62.9 | 62.1 | 64.7 | 92.8 | | 93.3 | 95.6 |
| CR2905 | 91.1 | 38.0 | 36.5 | 38.7 | 36.5 | 39.3 | 60.4 | 60.0 | 62.4 | 87.0 | 90.6 | | 93.3 |
| Lanzhou | 94.8 | 40.1 | 39.0 | 39.9 | 39.0 | 42.1 | 63.2 | 62.5 | 65.6 | 93.7 | 97.2 | 91.7 | |

注:黑体字为氨基酸同源性(%),白体字为核苷酸同源性(%)

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|---|-----|---|----|----|---|
| NV8_Beijing | MKMASNDANP | SDGSAANLVP | EVNNEVMALE | PVVGAAIAAP | VAGQQNVDP | WIRNNFVQAP | GGEFTVSPRN | APGEILWSAP | | | | | | |
| CR2905 | S | T | | | | SS | D | | | | | | | |
| Farmington Hills | | T | | | | | | | | | | | | |
| Grimsby | | T | | | | | | | | | | | | |
| VA98387-USA | S | T | | | | | | | | | | | | |
| lanzhou | SS | T | | | | | | | | | | | | |
| NV8_Beijing | LGPDLNPYLS | HLARMYNGYA | GGFEVQVILA | GNAFTAGKII | FAAVPPNFPT | EGLSPSQVTM | FPHIIVDVRQ | LEPVLIPLPD | | | | | | |
| CR2905 | | | | | A | | G | | | | | | | |
| Farmington Hills | | | | | | | | | | | | | | |
| Grimsby | | | | | | A | | | | | | | | |
| VA98387-USA | | | | | V | | | | | | | | | |
| lanzhou | | | | | | | | | | | | | | |
| NV8_Beijing | VRNRFYHYNQ | SNDSTIKLIA | MLYTPLRANN | AGEDVFTVSG | RVLTRPSPDF | DFIFLVPPTV | ESRTKPFPTVP | ILTVEEMTNS | | | | | | |
| CR2905 | | | | D | | | | | | | | | | |
| Farmington Hills | | L | P | | | | | | | | | | | |
| Grimsby | | | | D | | | | S | | | | | | |
| VA98387-USA | | | | D | | | | S | | | | | | |
| lanzhou | | P | | D | | | | | | | | | | |
| NV8_Beijing | RFPIPLEKLF | TGPGSAFVVG | PQNGRCTTDG | VLLGTTQLSP | VNIGTFRGDV | THIAGSRNYT | MNLASLNWNN | YDPTEEIPAP | | | | | | |
| CR2905 | | NOS | RV | AVPLSSN | -HKMQ | | P | T | T | R | | Q | | |
| Farmington Hills | | | | | | | TH | | Q | | | | | |
| Grimsby | | Y | | S | | X | | A | | HD | | Q | | |
| VA98387-USA | | Y | | S | | | | A | | HD | | Q | | |
| lanzhou | | | | S | | | | | | THD | | Q | | |
| NV8_Beijing | LGTPDFVGKI | QGVLTQTTKG | DGSTRGHKAT | VYTGSAFPTP | KLGSVQFSTD | TENDFETHQN | TKFTPVGVIQ | DGSTTHRNEP | | | | | | |
| CR2905 | | M | | S | VD | A | D | G | R | | S | | | |
| Farmington Hills | R | M | R | | S | DVH | I | N | G | | V | NG | Q | |
| Grimsby | | M | RE | A | S | VH | I | YT | N | Q | G | X | NN | Q |
| VA98387-USA | | M | RE | A | S | TVH | | YT | N | Q | G | X | NN | Q |
| lanzhou | | | R | | S | VH | | T | N | G | | V | NS | Q |
| NV8_Beijing | QQWVLPSSYG | RNVHNVHLAL | AVAPTFGQEQ | LLFFRSTMPG | CSGYPNMDLD | GLLPQEWVQH | FYQEAAPQS | DVALLRFVNP | | | | | | |
| CR2905 | D | T | P | | | | | S | | | | | | |
| Farmington Hills | | TG | P | | | N | | | | | | | | |
| Grimsby | N | TG | P | | | N | | | | | | | | |
| VA98387-USA | N | TG | P | | | N | | | | | | | | |
| lanzhou | N | TG | P | | | N | | | | | | | | |
| NV8_Beijing | DTGRVLFECK | LHKSGYVTVA | HTGGHDLVIP | PNGYFRFDSW | VNQFYTLAPM | GNGTGRRRAL | | | | | | | | |
| CR2905 | | A | | | | A | | | | | | | | |
| Farmington Hills | | | | | | | | | | | | | | |
| Grimsby | | Y | P | | X | A | | | | | | | | |
| VA98387-USA | | | P | | | A | | | | | | | | |
| lanzhou | | | | | | A | | | | | | | | |

标线部分为诺如病毒 VP1 P1 结构域,阴影部分为诺如病毒 VP2 结构域

图2 NV8-Beijing VP1 氨基酸序列分析

讨 论

医院内感染是指无明确潜伏期并在住院48 h后出现,一般是由细菌、真菌或病毒引起的感染。用于

本研究的粪便标本均来自非腹泻入院诊断的住院患者,因此考虑为医院内感染。本研究对最先收集到的标本进行轮状病毒的检测,是由于当时考虑到三种可能①时值轮状病毒的流行季节,儿科因腹泻而

住院患儿的轮状病毒检测阳性率达 70%~80%，而上述医院发生腹泻的病例多为老年人和心脏术后机体抵抗力低下的患者，也许原本在成人为隐性感染的轮状病毒会引起这些免疫力相对低下的人群发生有症状感染；或者②一些非典型的轮状病毒会在成人中引起腹泻暴发^[6]；③由人类杯状病毒（主要是诺如病毒）所致。

经抗原和核酸检测排除了轮状病毒感染后，应用 RT-PCR 对粪便标本进行诺如病毒的检测，总阳性率达到 56.7%，各医院送检标本的阳性率均在 42.9% 以上，提示本次各医院的腹泻暴发与诺如病毒高度相关。由于该病毒基因的变异较大，且国内诺如病毒基因序列方面的资料还不是很多，所以在引物设计方面还不可能很全面。另外 RT-PCR 的阳性检出率还受标本中病毒滴度的影响。研究资料显示用同一引物检测不同毒株的诺如病毒，检测到的病毒数量有着 10~1000 倍的差异^[7]。分析本研究中诺如病毒检测结果为阴性的标本多来自腹泻症状处于恢复期的患者，而阳性标本多来自急性期患者。另有一份标本是患者的盐水灌肠取样，用 RT-PCR 方法检测为阴性，而酶免疫分析试剂盒检测此份标本为诺如病毒阳性，可能是由于盐水稀释使病毒 RNA 降解造成结果的差异。因此在诺如病毒的检测方面需要收集更多更广泛的资料，不断改进和优化检测方法以提高该病毒的检出率。

对 NV8-Beijing 进行的 VP1 全基因序列分析的结果显示，该毒株为诺如病毒 G II-4 型。文献资料显示近年来由诺如病毒引起的急性胃肠炎的暴发以 G II-4 型为主并具有高度的变异性^[8,9]，本研究初步结果提示北京地区的此次医院内腹泻暴发是由 G II-4 型诺如病毒引起，并极可能是同一株病毒在北京不同医院内传播。从氨基酸的同源性分析结果可以看到，该毒株与美国毒株 Farmington 及中国兰州毒株同源性较高，而与北京地方株 CR2905 相比变异性相对较大，北京地方株 CR2905 为 2004 年 11 月份散发的儿童腹泻标本^[5]，北京地区儿童与成人诺如病毒是否存在差别，以及北京地区的毒株与其他地区是否存在变异，我们正在做进一步的研究。从氨基酸序列的比较分析，该毒株氨基酸变异较大

的部位位于组成蛋白的 P2 结构域处。P2 结构域在免疫识别及细胞间相互作用中起重要作用^[10]，是否由于病毒 VP1 在该区域发生变异，使得北京地区人群的免疫系统无法识别而导致腹泻的暴发，有待于对更多毒株的基因做全面分析。

本研究运用 RT-PCR 确定了北京地区此次住院患者中的腹泻暴发为诺如病毒感染引起。该病毒有较强的抵御外界条件的能力，且传播途径较广、传播速度快，而此次医院内感染多为机体抵抗力低下的老年人和手术后患者，早期进行病原诊断，及时控制感染对于阻断医院内感染具有重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. *N Engl J Med*, 1991, 325(4):252-264.
- [2] Green KY, Chanock RM, Kapikan AZ, Knipe DM, Howley PM. *Fields virology*. vol. 1. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa., 2001: 841-874.
- [3] 钱渊, 张又, 贾立平, 等. 近来北京市某些医院院内感染性腹泻与 Noro 病毒相关. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(1):9.
- [4] 陈美芳, 高燕, 贾立平, 等. 北京市某医院院内感染 Noro 病毒胃肠炎的调查. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(2):141-143.
- [5] 贾立平, 钱渊, 张又, 等. 北京地区 Noro 病毒主要衣壳蛋白编码基因的序列分析. *中华微生物与免疫学杂志*, 2007, 待发表.
- [6] 钱渊, 张又. 在北京暴发流行的成人腹泻粪便中发现非 A 组轮状病毒. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1994, 8:75.
- [7] Guyader F, Estes MK, Hardy ME, et al. Evaluation of a degenerate primer for the PCR detection of human caliciviruses. *Arch Virol*, 1996, 141(11):2225-2235.
- [8] Bon F, Ambert-Balay K, Giraudon H, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses detected in sporadic and outbreak cases of gastroenteritis in France from December 1998 to February 2004. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(9):4659-4664.
- [9] Ben L, Harry V, Evelyn K, et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet*, 2004, 363:682-688.
- [10] Yoda T, Terano Y, Suzuki Y, et al. Characterization of monoclonal antibodies generated against Norwalk virus G II capsid protein expressed in *Escherichia coli*. *Microbiol Immunol*, 2000, 44:905-914.

(收稿日期:2007-01-10)

(本文编辑:张林东)