

· 北京地区病毒学监测 ·

北京地区诺如病毒感染的流行病学调查

吴疆 高志勇 刘桂荣 刘园 李洁 罗明 吴晓娜 贾蕾 窦相峰 严寒秋

【摘要】 目的 调查北京地区诺如病毒感染的流行情况。**方法** 对暴发疫情的急性胃肠炎患者和散发诺如病毒阳性患者全部进行现场问卷式调查,并采集患者粪便标本,应用 ELISA 和 RT-PCR 方法检测诺如病毒,选择阳性 PCR 产物进行克隆测序。**结果** 2006 年 11 月至 2007 年 3 月,北京市共计报告急性诺如病毒胃肠炎暴发疫情 8 起,经现场流行病学调查全部确认为院内感染暴发。在报告的 409 例急性散发病毒性胃肠炎病例中,共检出诺如病毒阳性患者 158 例,检出率 38.63%。其中 40~44 岁年龄组检出率最高,为 55.00%,55~59 岁年龄组检出率最低,为 21.74%。阳性患者中年龄最大者 91 岁,最小者仅 6 个月,平均年龄为 40 岁。男性患者 84 例,女性 74 例。序列分析结果显示,北京地区诺如病毒流行株与 2006 年荷兰和日本的诺如病毒流行株最为接近,为 G II/4 型变异株。**结论** 诺如病毒是 2006-2007 年北京地区冬季病毒性腹泻的一个重要病原体,北京地区诺如病毒流行株与 2006 年荷兰和日本的诺如病毒流行株属同一类 G II/4 型变异株。

【关键词】 诺如病毒;急性胃肠炎;流行病学

Study on the epidemiologic characteristics of norovirus infection in Beijing WU Jiang, GAO Zhi-yong, LIU Gui-rong, LIU Yuan, LI Jie, LUO Ming, WU Xiao-na, JIA Lei, DOU Xiang-feng, YAN Han-qiu. Beijing Municipal Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China

【Abstract】 Objective To investigate the epidemiological characteristics of norovirus infection in Beijing. **Methods** Both outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis were studied through questionnaires while the stools of patients were collected. Noroviruses were detected by ELISA or RT-PCR, and PCR products were cloned and sequenced. **Results** Eight outbreaks were reported between November 2006 and March 2007, which were confirmed as nosocomial infections. A total of 158 positive cases were detected among 409 sporadic cases of acute virus gastroenteritis with a positive rate of 38.63%. The highest positive rate (55.00%) was found in group aged from 40 to 44, while the lowest positive rate (21.74%) fell into groups aged from 55 to 59. The positive cases aged from 6 months to 91 years with the mean age of 40 years old including 84 males and 74 females. Data from sequence analysis showed that norovirus epidemic strains belonged to the G II/4 variants in Beijing, which were almost identical to the variants causing epidemics both in the Netherlands and in Japan. **Conclusion** Norovirus was important, causing virus-borne diarrhea between 2006 and 2007 in Beijing, and the epidemic strains were consistent with those isolated from both the Netherlands and Japan in 2006.

【Key words】 Norovirus; Acute viral gastroenteritis; Epidemiology

诺如病毒是 1972 年首先由美国科学家 Kapikian,通过对 4 年前(1968 年)美国诺瓦克地区一所学校胃肠炎暴发疫情中患者的粪便标本进行检测而发现,并在当时以发现地命名为诺瓦克病毒^[1]。此后研究者不断从腹泻患者粪便标本中检测到一组形态接近,核苷酸同源性较高,但抗原性具有一定差异的病毒,这些病毒先是被称为小圆结构病毒(small round structural virus),后称为诺瓦克样病毒(Norwalk-like virus),直至 2002 年 8 月第八届国际病毒命名委员会正式命名为 Norovirus^[2]。我国

虽未对此有正式译名,但大部分业内专家已经意见一致将其译为诺如病毒。诺如病毒感染全年均可发生,冬季高发,常在医院、餐馆、学校、托儿所、孤儿院、养老院、军队、游轮、家庭及其他人群中引起暴发。随着检测技术的发展,诺如病毒被认为是引起非细菌性病毒性胃肠炎暴发疫情的最主要病原^[3,4]。目前欧美等发达国家对诺如病毒有完善的监测系统,我国关于诺如病毒的研究还较为薄弱,仅对部分地区的婴幼儿腹泻进行了监测,本文就北京地区 2006 年 11 月至 2007 年 3 月诺如病毒流行状况作一简要分析,为今后诺如病毒感染的防控提供依据。

材料与方 法

1. 研究对象:

(1) 暴发疫情: 2006 年 11 月至 2007 年 3 月, 北京市各区县疾病预防控制中心(CDC)报告的病例数超过 3 例、有流行病学相关性的集体腹泻认定为急性胃肠炎暴发疫情。

(2) 散发病例: 2007 年 1-3 月北京市疾病监测信息报告管理系统报告的其他感染性腹泻病例中, 凡符合以下三个条件中后两项或全部者可入选监测对象: ① 流行病学资料中有不洁饮食(水)和/或与腹泻患者、腹泻动物、带菌动物接触史; ② 临床表现腹泻、大便每日 ≥ 3 次, 粪便的性状异常, 可为稀便、水样便, 亦可为黏液便、脓血便及血便, 可伴有恶心、呕吐、食欲不振、发热、腹痛及全身不适等; ③ 粪便常规检查为稀便、水样便、黏液便、血便或脓血便, 镜检可有多量红、白细胞, 亦可有少量或无细胞。

2. 标本采集: 要求采集发病 3 日内患者的粪便标本。每份至少 5 ml, 不得用肛拭子采集, 必须无菌操作。无菌采便盒由北京市 CDC 统一配发, 无菌采便盒外面包裹一层可开启的塑料袋。标本采集后要求立即送往北京市 CDC, 运送过程中标本需放在车载冰箱或冰盒内低温运送。不能立即运送的要在 -20°C 冰冻保存, 保存和运输中避免反复冻融。

3. ELISA 检测: 使用 DAKO 公司的诺如病毒 ELISA 试剂盒对粪便标本进行检测。检测方法: 加 0.1 g 固体粪便标本或 0.1 ml 液体粪便标本于 1 ml 样品稀释液, 置于漩涡振荡器混匀, 室温静置 10 min, 室温下 ≥ 5000 r/min 离心 5 min。取出微量反应板, 每孔加 100 μl 10% 粪便悬液以及阴性对照、阳性对照。加 100 μl 酶结合物, 用枪头轻柔混匀, $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ 静置 60 min ± 5 min。每孔加 350 μl 洗液, 洗 5 次, 在卫生纸上拍干。加入 100 μl 底物液, $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min。加 100 μl 终止液, 充分混匀。读取 A_{450} 值, 打印输出或记录值。

4. 分子生物学检测: 使用 ELISA 检测中处理过的粪便标本进行核酸提取, 采用美国 QIAGEN 公司病毒核酸提取试剂盒, 操作按试剂盒说明书进行。采用 P289/P290 引物进行 RT-PCR, PCR 产物送公司进行克隆测序, 测序结果提交 GenBank 进行 Blast。

5. 阳性病例调查方法: 对诺如病毒检测阳性病例, 由经过统一培训的北京市各区县 CDC 流行病学

调查员, 使用统一的调查表记录临床症状、实验室常规检查结果、流行病学特征等。

结 果

1. 暴发疫情调查: 2006 年 10 月至 2007 年 3 月, 全市累计报告集体腹泻疫情 8 起, 经调查, 这 8 起疫情全部发生在住院患者中, 共涉及医院 8 所, 其中有 6 所为三级甲等医院, 1 所二级医院, 1 所专科医院。这 8 起疫情共发现患者 94 例, 其中男性 63 例, 女性 31 例; 年龄分布如表 1 所示, 除 5 名儿童外(年龄分布 5 月龄至 5 岁), 其他多为体弱且有糖尿病、高血压等基础性疾病的老年人。病例在医院内部的分布较为分散, 最少涉及到 2 个病区, 最多涉及 6 个病区。均为非感染性疾病区, 其中以心内科最多, 共有 8 个病区。在所有 94 例患者中, 有 47 例进行了诺如病毒相关抗原检测, 结果检出阳性标本 27 份, 检出率 57.45%。

表 1 北京市诺如病毒暴发疫情中 94 例患者的年龄分布

年龄组(岁)	病例数	构成比(%)
<10	5	5.32
10~	0	0.00
20~	22	23.40
>50	67	71.28
合计	94	100.00

2. 感染性腹泻患者中诺如病毒监测: 2007 年 1-3 月, 北京市各级各类医疗机构共计报告疑似诺如病毒感染者 409 例, 全部病例均进行了诺如病毒相关抗原检测。结果共检出阳性病例 158 例, 检出率 38.63%, 其中 15 岁以下年龄组检出率 41.18%, 15~59 岁组检出率 38.27%, 60 岁以上老年人检出率 38.27% (表 2)。在所有阳性病例中男性 84 例, 女性 74 例, 男女性别间差异无统计学意义; 患者中年龄最小的 6 个月, 最大的 91 岁, 平均年龄 40 岁, 且 15 岁以上的患者在所有阳性病例中占多数 (86.71%, 137/158), 4 岁以下婴幼儿患者较少 (7.59%, 12/158)。

3. 临床表现特征: 在 158 例诺如病毒检测阳性的患者中, 体温 $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ 的有 29 例, 占全部病例的 18.35%, 体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ 的有 16 例, 占全部病例的 10.13%; 粪便性状为水样便的 98 例, 占全部病例的 62.02%, 黏液便或稀便的有 36 例, 占 22.78%, 其余粪便性状正常; 腹泻每日 > 10 次的 18 例, 占 11.39%, $6\sim 10$ 次的 40 例, 占 25.32%, ≤ 5 次 100 例, 占 63.29%; 出现恶心、呕吐的患者有 60 例, 占

39.97%；粪便镜检可见白细胞有 53 例患者，占 33.54%，其中白细胞计数最多的 15 个/HP；镜检可见红细胞的有 23 例，占 14.56%；有 62.50% 的患者自述有恶心、呕吐。

表2 北京地区 409 例疑似诺如病毒感染者
分年龄组检出率

年龄组(岁)	检测份数	阳性份数	检出率(%)
0~	15	5	33.33
1~	15	7	46.67
5~	10	4	40.00
10~	11	5	45.45
15~	20	10	50.00
20~	52	15	28.85
25~	48	17	35.42
30~	34	13	38.24
35~	27	12	44.44
40~	20	11	55.00
45~	20	8	40.00
50~	33	15	45.45
55~	23	5	21.74
60~	81	31	38.27
合计	409	158	38.63

4. 病原变异监测:为了解北京地区人群中诺如病毒流行株与美欧日等地区的变异情况,北京市 CDC 对 4 份典型病例的样本进行了序列分析。GenBank 上 Blast 结果显示,北京地区诺如病毒的流行株与荷兰 2006 年流行的诺如病毒 G II/4 型变异株序列(于 2006 年 12 月 19 日提交到 GenBank,序列号为 EF126965、EF126966)最为接近,核苷酸同源率为 97.8%~98.5%,与日本提交的诺如病毒株(2006 年 11 月引起神户多起暴发疫情,于 2007 年 3 月 2 日提交到 GenBank,序列号为 AB291542) 同源性次之,为 95.2%~95.9%,而日本的病毒株与荷兰株的同源率为 96.7%。

5. 传播因素调查:158 例诺如病毒阳性患者的流行病学调查显示,有 68 例患者能够提供确切的传播因素,这些因素 100%均与不洁饮食有关,其中有 21 例(30.88%)明确在发病前食用了海水产品,10 例(14.71%)吃了不洁水果,10 例(14.71%)吃了凉拌菜,其余与食用其他不洁食品有关。

讨 论

诺如病毒属杯状病毒科(Caliciviridae)诺如病毒属。直径约为 26~35 nm,无包膜,表面粗糙,球形,呈二十面体对称,单股正链 RNA 病毒。诺如病毒易发生变异,存在众多的型别。根据衣壳基因序列的分子生物学特征,诺如病毒可分为 5 个基因组:

G I、G II、G III、G IV 和 G V,其中 G I、G II、G IV 组感染人,G I 组也可感染猪,G III 和 G V 组分别感染牛和鼠^[3]。最近的研究进一步把诺如病毒分为 29 个基因型,其中 G I 组有 8 个,G II 组有 17 个,G III 组有 2 个,G IV 和 G V 组各 1 个。G II/4 型是传播最广的基因型,自 1993 年以来,引起了世界上绝大多数的胃肠炎暴发疫情^[5]。

1995 年方肇寅等^[6]从河南省腹泻患儿标本中首次在国内检测到诺如病毒。靖宇等^[7,8]在北京和太原地区不同人群中进行的血清抗体水平调查显示,诺如病毒 IgG 抗体总检出率在 90%左右,表明我国诺如病毒的感染十分普遍。此后,我国北京、长春、河北、广州等地区报告的腹泻患儿人杯状病毒阳性率分别为 24.9%、16.0%、31.6%、12.35%,2007 年方肇寅等收集我国 13 个地区 1999-2005 年 4426 份轮状病毒阴性粪便标本进行人杯状病毒检测,结果表明阳性率为 19%(8.3%~38.6%),这些研究结果同时显示我国流行的诺如病毒以 G II/4 型为主^[9-13]。由于受条件的限制,我国仅对部分地区婴幼儿腹泻进行了人杯状病毒的监测工作。本研究所有阳性病例中,15 岁以上的患者在所有阳性病例中占多数(86.71%,137/158),4 岁以下婴幼儿患者较少(7.59%,12/158),说明诺如病毒感染主要发生在 15 岁以上人群。而我国以前的相关研究主要集中在婴幼儿腹泻方面,15 岁以上腹泻患者中诺如病毒感染的情况缺乏相关的资料和数据。

诺如病毒感染所需剂量很低(<10 个拷贝)^[14],除了食源性和水源性暴发外,接触等方式也是常见的传播途径。有资料显示,由于食用污染食品而导致感染的比例约占 37%左右,其次为接触传播占 20%,贝类和水源污染分别占 10%和 6%;最容易实现的传播场所是老年公寓和医院,约占 43%,其次是餐馆,占 26%,学校和度假村各占 11%^[15]。本研究 68 例能够提供确切传播因素的患者中,有 21 例(30.88%)明确在发病前食用了海水产品,10 例(14.71%)吃了不洁水果,10 例(14.71%)吃了凉拌菜,其余患者也均与食用其他不洁食品有关。而本次研究中所有的诺如病毒暴发疫情均发生在医院,贾立平等^[16]也报告北京市 2006 年 11-12 月某些医院发生了诺如病毒的院内感染,这些结果表明,在北京地区因食用被诺如病毒污染的水产品和医院内感染是诺如病毒传播的主要途径。

在本次监测中我们还发现了另外一个现象,即

大部分患者的临床表现都较轻,除较少部分患者出现高热(体温 $>38^{\circ}\text{C}$)和严重腹泻(每日大便次数 >10 次),一般情况下不发热或低热,部分患者甚至大便正常。但调查也显示有 62.5% 的患者恶心、呕吐现象较为严重。这提示我们在今后的诺如病毒监测工作中,指示病例的定义不能完全参照法定传染病(除霍乱、伤寒、痢疾引起的其他感染性腹泻)的定义。而以急性胃肠炎的定义监测会更加准确。实际上国外也将诺如病毒引发的疾病定义为“病毒性胃肠炎”。

诺如病毒新变异株的出现常是新一轮诺如病毒活跃期的预警,而现代社会的交通手段发达,人员及物品往来愈加频繁,诺如病毒的传播速度加快,可涉及到更多的地区。2006 年新出现的诺如病毒 G II/4 型变异株在全球连续引起急性胃肠炎的暴发和流行,继欧洲、澳大利亚和北美洲地区之后,日本也暴发了 25 年来最严重的诺如病毒急性胃肠炎疫情,并迅速蔓延至日本全国。据推算,日本至少近 304 万余人感染,数人死亡,其中 195 万名患者是在 12 月 10 日前 1 个月内发病^[17]。序列分析结果显示,本研究获得的 4 株病毒组内核苷酸的同源性为 98.5%~99.6%,与荷兰 2006 年流行的诺如病毒 G II/4 型变异株最为接近,同源性为 97.8%~98.5%,与日本提交的诺如病毒株(GenBank 序列号 AB291542)同源性次之,为 95.2%~95.9%,2006 年 11 月该毒株曾引起了日本神户的多次胃肠炎暴发疫情。结果表明 2007 年初北京市诺如病毒的流行株与荷兰和日本近期流行的毒株属同一类 G II/4 型变异株,有共同的起源。北京市诺如病毒流行株与日本的毒株相似,虽然没有引起与日本同样严重的疫情,但也必须引起各级疾控部门的高度重视。加强疫情监测,及时发现诺如病毒的变异株。

需要指出的是,当日本等国出现诺如病毒流行时,我国大部分省市 CDC 都未及时做出反应,部分原因是我国各级 CDC,也包括临床医疗机构对于诺如病毒的流行认识不足,甚至误把诺如病毒流行认为是“胃肠型流感”流行。由于诺如病毒容易发生变异,人群普遍易感,可以迅速造成大范围,甚至全球流行,因而部分欧美国家都把诺如病毒引发的疾病比喻为“胃肠型流感”,其用意只是形容诺如病毒与流感病毒的流行比较相似,但绝非指诺如病毒就是流感的一种,因此今后如何加强人员培训,提高专业人员对诺如病毒的认识显得尤为迫切,特别是我国

目前面临北京举办 2008 年奥运会、上海 2010 年要举办世博会等重大国际活动。一旦出现诺如病毒的流行很容易造成全国性大流行,虽然绝大多数诺如病毒感染者的预后良好,但就如同流感流行一样,一旦流行必将给我国政治、经济等各个方面带来巨大冲击,因此我国今后必须逐步建立诺如病毒的监测体系,防范可能出现的诺如病毒大流行。

参 考 文 献

- [1] Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol*, 1972, 10(5): 1075-1081.
- [2] Mayo MA. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. *Arch Virol*, 2002, 147(8): 1655-1656.
- [3] Estes MK, Prasad BV, Atmar RL. Noroviruses everywhere: has something changed? *Curr Opin Infect Dis*, 2006, 19(5): 467-474.
- [4] Blanton LH, Adams SM, Beard RS, et al. Molecular and epidemiologic trends of caliciviruses associated with outbreaks of acute gastroenteritis in the United States, 2000 - 2004. *J Infect Dis*, 2006, 193(3): 413-421.
- [5] Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, et al. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology*, 2006, 346(2): 312-323.
- [6] 方肇寅, 温乐英, 晋圣谨, 等. 在我国腹泻患儿中发现诺瓦克样病毒感染. *病毒学报*, 1995, 11(3): 215-219.
- [7] 靖宇, 钱渊, 王洛平. 北京地区人群诺瓦克样病毒血清抗体水平调查. *病毒学报*, 1998, 14(4): 322-328.
- [8] 靖宇, 钱渊, 吴立平, 等. 太原市部分人群诺瓦克样病毒血清抗体水平的调查. *中华儿科杂志*, 1999, 37(9): 559-561.
- [9] 陈冬梅, 张义, 钱渊, 等. 北京地区婴幼儿人类杯状病毒感染状况及型别分析. *中华儿科杂志*, 2002, 40(7): 398-401.
- [10] 谢华萍, 方肇寅, 王光, 等. 长春市儿童医院 1998 - 2001 年婴幼儿杯状病毒腹泻流行病学研究. *病毒学报*, 2002, 18(4): 332-336.
- [11] 吕红霞, 方肇寅, 谢华萍, 等. 河北省卢龙县 1999 - 2001 年婴幼儿杯状病毒腹泻流行病学研究. *中华流行病学杂志*, 2003, 24(12): 1118-1121.
- [12] 詹惠春, 聂军, 刘翼, 等. 广州儿童秋冬季腹泻中人类杯状病毒感染的分子流行病学研究. *南方医科大学学报*, 2006, 26: 967-970.
- [13] 方肇寅, 谢华萍, 吕红霞, 等. 1999 - 2005 年我国婴幼儿人杯状病毒腹泻研究. *病毒学报*, 2007, 23(1): 9-15.
- [14] Hutson AM, Atmar RL, Estes MK. Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends Microbiol*, 2004, 12: 279-287.
- [15] Glass RI, Noel J, Ando T, et al. The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis*, 2000, 181 Suppl 2: S254-261.
- [16] 贾立平, 钱渊, 张义, 等. 北京市某些医院内腹泻暴发与诺如病毒的相关性研究. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(3): 213-217.
- [17] 日本诺如病毒感染性腹泻疫情信息. available at <http://www.chinacdc.net.cn/n272442/n272530/n273736/n273781/n3346251/n3346252/15689.html>.

(收稿日期: 2007-04-05)

(本文编辑: 张林东)