

一起旅行团诺如病毒混合感染疫情的病原鉴定分析

叶规格

厦门市同安区疾病预防控制中心，福建厦门，361100；

摘要：目的：对 2023 年一起两个广东来厦旅行团游客中发生的急性胃肠炎疫情进行诺如病毒检测及分型。方法：将送检的 10 份可能病例肛拭子标本采用实时荧光定量 PCR 法进行诺如病毒 G I、G II 型核酸检测，对诺如病毒阳性标本进行扩增和测序，对聚合酶区和衣壳区序列进行分型，最终确定基因型。结果 10 份肛拭子标本检出 3 份 G I、G II 型阳性，3 份 G I 型阳性，4 份 G II 型阳性。阳性标本成功测序的有 6 份（其中 1 份是混合感染），基因型分别为 G I. 4[P4]（4 份），G II. 3[P12]（2 份）和 G II. 17[P17]（1 份）。结论：该起两个广东来厦旅行团游客中发生的急性胃肠炎疫情是三种诺如病毒基因型 G I. 4[P4]、G II. 3[P12]和 G II. 17[P17]混合感染事件，推测感染可能发生在广东到漳州旅行期间。

关键词：诺如病毒；急性胃肠炎；基因分型；旅行团

DOI: 10.69979/3029-2808.24.3.063

诺如病毒(norovirus, NoV)是引起急性胃肠炎暴发的常见病原体，是全球性公共卫生问题之一^[1]。全球 50% 的胃肠炎暴发由诺如病毒引起^[2]，我国是诺如病毒流行的主要国家之一，诺如病毒引起的流行事件每年都有，对个人健康和社会经济造成了严重的负担^[3]。全球诺如病毒基因组已知有 10 个(GI~GX)，我国当前最常见的诺如病毒为 G II、G I 型^[4-5]。诺如病毒基因变异快，传染性强，传播能力快，常可通过人传人或经污染的食品或水在医院、学校、餐馆等聚集性的场所中引起急性胃肠炎的暴发，近年来在旅行团常发^[6]。2023 年 3 月广东某旅行社组织的广东-厦门游的游客中发生了以腹泻、呕吐等不适症状为主诉的急性胃肠炎疫情。经流行病学调查和实验室检测证实该疫情是 G II、G I 型诺如病毒混合感染引起。本研究主要对引起本次疫情的诺如病毒进行鉴定分析。

1 材料和方法

1.1 标本

本次疫情的可能病例定义：2023 年 3 月 2 日-3 月 5 日，两个广东来厦旅行团的 66 名游客中，24h 内排便≥3 次并伴有大便性状改变，和/或 24h 内呕吐≥2 次者。根据上述标准在 66 名游客中确定 12 例可能病例。肛拭子标本经核酸检测为诺如病毒阳性的可能病例定为确诊病例。本次疫情共采集到 10 例可能病例的肛拭子标本进行诺如病毒核酸检测。

1.2 仪器和试剂

SMPE-960 全自动核酸提取仪（江苏硕世）；CFX96 Touch PCR 仪（美国伯乐）。核酸提取试剂（江苏硕世，批号：T202211237）；诺如病毒 G I /G II 型核酸检测试剂（江苏硕世，批号：20220803）。

1.3 方法

1.3.1 病毒核酸的提取和检测

标本病毒核酸检测过程中使用的核酸提取试剂和核酸检测试剂均为江苏硕世公司生产，严格按照试剂说明书操作，采用相应的核酸提取仪和荧光定量 PCR 仪进行标本核酸提取检测。

1.3.2 诺如病毒核酸序列扩增及分析

对诺如病毒核酸检测阳性且 Ct 值<30 的标本用 QIAGEN One Step RT- PCR Kit 试剂盒扩增聚合酶区和衣壳区，使用的引物序列及反应条件参考文献所述。G I 和 G II 型阳性扩增的目的片段长度分别为 543 和 557 bp。将扩增的产物送至上海美吉生物医药科技有限公司进行基因测序并返还序列，对聚合酶区和衣壳区序列进行分型，确定标本毒株基因型。

2 结果

2.1 疫情概况

两旅行团（A 旅行团和 B 旅行团）为广东某旅行社组织的潮汕-厦门 5 日游团。共有团员 66 人，其中 A 旅行团 35 人，B 旅行团 31 人，均来自广东，年龄介于 45-60

岁,于2023年3月2日广东顺德出发,3月5日下午15时抵达厦门。两个旅行团的行程安排一致,行程涉及广东潮汕、福建龙岩、漳州、厦门。旅游期间早中晚餐和居住宾馆均由旅行社统一组织。游客既往体健均无基础疾病。首发病例于3月4日3:00左右发病,末例报告病例发病时间为3月5日凌晨3时。发病时间中位数为3月4日22-23时。共搜索发现12例可能病例。12人中的9人为A旅行团的成员,另外3人为B旅行团的成员(一人不配合未能联系上)。总罹患率为18.18%(12/66)。病例的主要症状为腹泻、腹痛、呕吐、恶心和发热,见表1。

表1 11名患者临床表现

临床表现	人数	占比(%)
腹泻	7	63.6
腹痛	7	63.6
呕吐	6	54.5
恶心	6	54.5
发热	2	18.2

2.2 诺如病毒核酸检测结果

送检的10份可能病例的肛拭子标本中N03、N08、N09检出GⅠ、GⅡ型,N01、N02、N07检出GⅠ型,N04、N05、N06、N10检出GⅡ型,核酸结果可见是明显的混合感染,详见表2。

表2 标本核酸检测结果

标本编号	检测结果	标本来源
N01	GⅠ	发病游客1
N02	GⅠ	发病游客2
N03	GⅠ、GⅡ	发病游客3
N04	GⅡ	发病游客4
N05	GⅡ	发病游客5
N06	GⅡ	发病游客6
N07	GⅠ	发病游客7
N08	GⅠ、GⅡ	发病游客8
N09	GⅠ、GⅡ	发病游客9
N10	GⅡ	发病游客10

2.3 诺如病毒基因分型结果

10份阳性标本有6份测序成功,标本编号分别为N01、N03、N04、N08、N09和N10。使用Norovirus Typing Tool Version 2.0在线分析软件比对后发现标本N01、N03、N08和N09检出的GⅠ型为GⅠ.4[P4]基因型;标本N04和N10检出的GⅡ型为GⅡ.3[P12]基因型,而标本N09检出的GⅡ型为GⅡ.17[P17]基因型。通过BlastN搜索各基因型相似序列,下载相似度>90%且尽量覆盖不同地区及不同年份的毒株序列作为参考序列,并用MEGA11软件与本研究中属同一基因组且序列片段大小接近目标产物的所有序列进行多重比对和进化树构建。

GⅠ组、GⅡ组均用邻接法,步长检验为1000进行进化树构建。利用blastn中的采用局部对比算法进行序列相似性分析,具体见图1、图2和图3。系统发育树分析结果显示:GⅠ.4[P4]的四个标本毒株与2020年日本OQ880476.1序列接近,同属于一个进化分支;GⅡ.3[P12]的两个标本毒株与2022年江苏OQ930713.1序列接近,同属于一个进化分支;GⅡ.17[P17]的标本毒株与2016年澳大利亚MG585784.1序列接近,同属于一个进化分支。

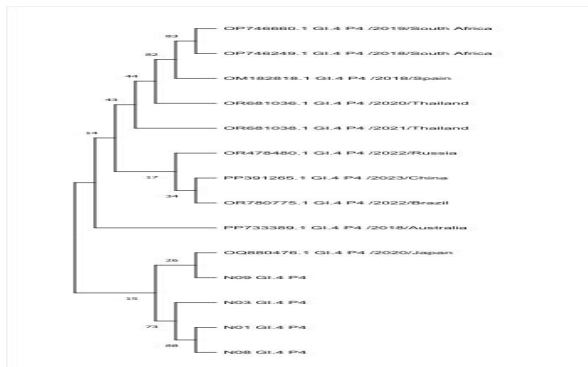


图1 GⅠ组 GⅠ.4[P4]基因型系统进化树

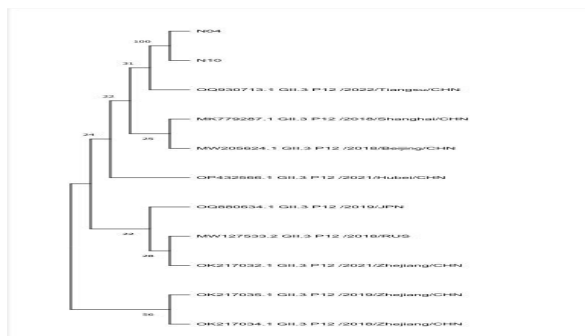


图2 GⅡ组 GⅡ.3[P12]基因型系统进化树

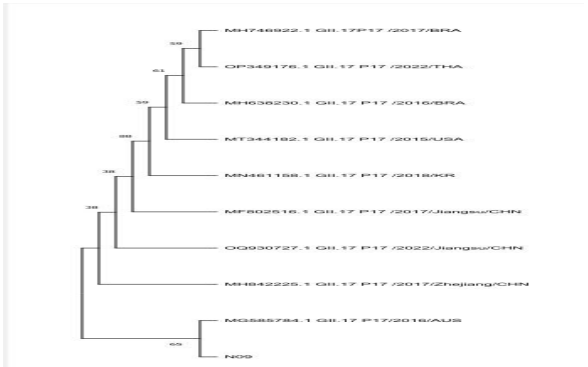


图3 GⅡ组 GⅡ.17[P17]基因型系统进化树

3 讨论

厦门市的诺如病毒急性胃肠炎事件屡见不鲜,尤其是同安区。但厦门市混合感染事件相对较少,2018-2022年仅发现3起^[7]。本研究的诺如病毒胃肠炎事件是另一

起发生在厦门的混合感染。此次疫情是由诺如病毒的 3 种基因型 G I . 4 [P4]、G II . 3 [P12] 和 G II . 17 [P17] 混合感染所致, 是历来监测基因型别最多的。3 种基因型还不是近年来厦门地区流行的主要型别, 而且由于两个旅行团的首发病例是 3 月 4 日 (在漳州) 且大部分病例在漳州已有症状, 同时结合诺如病毒的潜伏期推测感染来源来自广东到漳州旅行期间, 不清楚具体感染原因。

我国诺如病毒的流行株主要是 G II 型, 其中 G II . 3 [P12] 和 G II . 17 [P17] 还是我国大部分暴发事件的主要基因型^[8]。G I 型也是我国的主要流行株, 但 G I . 4 [P4] 基因型在我国却相对少见, 2020—2021 年安徽省急性胃肠炎疫情中 145 份阳性标本仅有 2 株^[9]。本研究是厦门本地首次在同一起诺如病毒疫情中检出 3 种不同型别的诺如病毒。系统进化树显示, 本起三个基因型最相似参考序列全部来源于近几年的不同的国家/地区, 说明本起疫情的诺如病毒基因型大都是近几年的流行株, 由此也说明病毒的暴发和病毒跨区域传播密切相关。提示在后续工作中应加强诺如病毒暴发疫情监测, 及时对疫情毒株进行精准的系统进化分析和分子流行病学调查, 减少和避免诺如病毒发生大规模的流行甚至暴发的可能性。

随着人民生活水平的提高, 外出旅游需求不断增强, 促进旅游业快速发展的同时也造成旅行团的传染病疫情不断增多。本研究的疫情是宣布新冠乙类乙管后第二个月发生的旅行团事件, 人群的区域性流动已逐步恢复, 人员的防护措施相对减弱, 从而加速了病毒的传播, 导致病毒型别较多。建议相关管理部门应对旅行社开展食源性疾病的防控健康教育和培训, 加强餐饮业的监管, 加强疾病监测工作, 同时引导旅行者养成良好的卫生习惯, 多管齐下预防诺如病毒感染事件发生。

参考文献

[1] 张静, 常昭瑞, 孙军玲等. 我国诺如病毒感染性腹泻流行现状及防控措施建议[J]. 疾病监测, 2014, 29 (07):

516—521.

[2] 来时明, 占炳东, 赵士光, 一起大学校园内食源性诺如病毒感染性腹泻暴发调查[J], 中国卫生检验杂志, 2014, 24 (19): 2887—2888.

[3] Lemes LG, Correa TS, Fiaccadori FS, et al. Prospective study on Norovirus infection among allogeneic stem cell transplant recipients: prolonged viral excretion and viral RNA in the blood [J], Clin Virol, 2014, 61 (3): 329—333.

[4] 吴琴锋, 杨一明, 万雨佳等. 2018—2020 年漯河市诺如病毒感染性腹泻聚集性疫情流行病学特征分析 [J]. 医学动物防制, 2022, 38 (5): 456—459.

[5] Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, Chan MC, Green K, Martella V, Wang Q, White PA, Katayama K, Venema H, Koopmans MPG, Vinjé J. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. J Gen Virol. 2019 Oct; 100 (10): 1393—1406. doi: 10.1099/jgv.0.001318. Erratum in: J Gen Virol. 2020 Aug; 101 (8): 893. PMID: 31483239; PMCID: PMC7011714.

[6] 黄春梅, 邓瑶, 李冬梅等. 某市一起诺如病毒引起多个旅游团暴发感染性腹泻的调查 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37 (5): 719—720.

[7] 张建梅, 徐雪荣, 陈泽辉等. 厦门市 2018—2022 年诺如病毒分子分型研究 [J]. 海峡预防医学杂志, 2023, 29 (5): 65—68.

[8] 朱曦, 孔翔羽, 章青等. 2016—2019 年我国诺如病毒暴发疫情的分子流行病学分析 [J]. 疾病监测, 2021, 36 (8): 774—779.

[9] 史永林, 傅荔艳, 金晶等. 2020—2021 年安徽省急性胃肠炎疫情中 GI 组诺如病毒基因型多样性分析 [J]. 国际病毒学杂志, 2022, 29 (2): 103—108.

第一作者简介/通信作者: 叶规格, 1986.02, 福建厦门, 男, 本科, 主管技师。研究方向: 微生物检验。