

2015–2016年河北省腹泻散发病例中诺如病毒感染的流行病学特征分析

张淑红¹, 白雪¹, 蒋瑞萍², 陈凤阳³, 时晨⁴, 何旭鑫⁵, 董晓枫⁶, 申志新^{1*}

(1. 河北省疾病预防控制中心, 石家庄 050021; 2. 石家庄市疾病预防控制中心, 石家庄 050011;
3. 邢台市疾病预防控制中心, 邢台 054000; 4. 秦皇岛市疾病预防控制中心, 秦皇岛 066000;
5. 承德市疾病预防控制中心, 承德 067000; 6. 沧州市疾病预防控制中心, 沧州 061001)

摘要: **目的** 了解2015–2016年河北省腹泻散发病例中诺如病毒感染的流行病学特征。**方法** 收集2015年9月~2016年12月河北省部分医院肠道门诊腹泻病例便样本及流行病学相关资料, 采用RT-PCR方法检测诺如病毒并进行数据分析。**结果** 在1240样本中, 诺如病毒阳性58份, 阳性率为4.68%; 诺如病毒阳性率存在地域差异, 邢台地区阳性率最高为10.08%; 全年均有散发病例但在冬春季出现明显的发病高峰; 基因型以GII型为主(4.28%), GI型阳性率0.40%; 易感人群为婴幼儿(0~6岁)和老年组(66~), 其感染不存在性别差异。**结论** 诺如病毒是河北省散发感染性腹泻的重要病原, 应加强对诺如病毒的监测, 并进一步研究其变异, 为诺如病毒感染的预防和控制提供科学的依据。

关键词: 诺如病毒; 腹泻; 流行病学

Analysis on the epidemiological characteristics of norovirus diarrhea in Hebei province in 2015–2016

ZHANG Shu-Hong¹, BAI Xue¹, JIANG Rui-Ping², CHEN Feng-Yang³, SHI Chen⁴,
HE Xu-Xin⁵, DONG Xiao-Feng⁶, SHEN Zhi-Xin^{1*}

(1. Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China; 2. Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050011, China; 3. Xingtai Center for Disease Control and Prevention, Xingtai 054000, China; 4. Qinhuangdao Center for Disease Control and Prevention, Qinhuangdao 066000, China; 5. Chengde Center for Disease Control and Prevention, Chengde 067000, China; 6. Cangzhou Center for Disease Control and Prevention, Cangzhou 061001, China)

ABSTRACT: Objective To understand the epidemiological characteristics of norovirus infection in sporadic diarrhea cases in Hebei province in 2015–2016. **Methods** The diarrhea stool samples and epidemiological related data from September 2015 to December 2016 in the intestinal clinic were collected, and norovirus was detected and classified by RT-PCR. **Results** A total of 58 (4.68%) positive specimens were detected among 1240 sporadic cases of acute diarrhea; the positive rate of norovirus varied by region, and the highest positive rate of Xingtai was 10.08%. There were sporadic cases throughout the year, but there were obvious peak in winter and spring. The genotype was mainly GI type

基金项目: 河北省科技支撑计划项目(15277778D)

Fund: Supported by the Hebei Science and Technology Program (15277778D)

*通讯作者: 申志新, 主任技师, 主要研究方向为微生物学检验。E-mail: 648355188@qq.com

*Corresponding author: SHEN Zhi-Xin, Chief Technician, Hebei Provincial Center Control and Prevention, No.97, Huai'an East Road, Shijiazhuang 050021, China. E-mail: 648355188@qq.com

(4.28%), GI type positive rate was 0.40%. The susceptible population was infants (0~6) and the elderly group (66~), and there was no difference infection in gender. **Conclusion** Norovirus is an important pathogen of infections diarrhea in Hebei province. The monitoring of norovirus should be strengthened, and its variation should be further studied to provide a scientific basis for the prevention and control of norovirus infection.

KEY WORDS: norovirus; acute diarrhea; epidemiology

1 引言

诺如病毒(norovirus, NV)属于人类杯状病毒, 诺如病毒存在多种传播途径, 感染剂量低, 且变异速度快, 各年龄段人群均易被感染, 常在医院、学校、军队等人群密集单位暴发和流行。在全球范围, 诺如病毒是引起人类非细菌性急性胃肠炎的最主要的病因, 引起广泛关注和研究^[1]。国内 27 省市 2009~2013 年门诊腹泻病例诺如病毒监测资料显示, 在 6~23 月龄儿童和 45 岁以上人群的检出率最高, 分别为 13.7%和 12.4%, 秋、冬季检出率较高, 主要型别为 GII型^[2]。国内有关诺如病毒的研究主要集中在免疫力低下的婴幼儿、老年人以及集中暴发的感染人群, 对全年龄段散发诺如病毒腹泻的报道较少。本研究对河北省 6 个地市医院肠道门诊 2015 年 9 月~2016 年 12 月就诊的全年龄段散发腹泻患者粪便样本进行了诺如病毒检测, 并对其主要流行病学资料进行了分析, 以了解河北省腹泻散发病例中诺如病毒感染的主要特征及趋势, 为预防及控制该病毒引起的疾病提供科学依据。

2 材料与方 法

2.1 标本采集及数量

按河北省的地域划分, 选择 6 个地区(石家庄、邢台、沧州、秦皇岛、承德和廊坊), 每个地区随机选择 2 个三甲级医院肠道门诊进行腹泻便标本采集, 标本符合病例定义(24 h 内腹泻次数 3 次或以上、且大便性状有改变)。时间从 2015 年 9 月至 2016 年 12 月, 共采集腹泻便样本 1240 份。

2.2 仪器和试剂

CFX96 荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司); 天隆核酸自动提取仪、病毒 RNA/DNA 提取试剂盒(磁珠法)(西安天隆科技公司); 蛋白酶 K(美国 Sigma 公司); RNA U1 trasense One-step Quantitative RT-PCR System(美国 Life Technologies 公司); 引物和探针序列参照 ISO/TS15216-2 《食品中甲肝病毒和诺如病毒 real-time RT-PCR 检测方法》^[3], 由华大基因公司合成; 阳性对照采用已知诺如病毒阳性样品。

2.3 实验方法

2.3.1 样本处理

水样便或粘液便经 1 mL 磷酸盐缓冲液(phosphate

buffer saline, PBS)混悬后取 1 mL, 8000 r/min 离心 5 min, 取上清作为粗提样本。然后, 按核酸提取试剂盒说明进行核酸提取, 样本体积为 200 μ L, 提取后得到总核酸体积为 60 μ L, 提取后的 RNA 于-80 $^{\circ}$ C 保存。

2.3.2 实验室检测

诺如病毒核酸检测应用一步法荧光定量(RT-PCR), 分别检测 GI 型和 GII型, 按试剂盒说明配制反应体系, 扩增条件为 55 $^{\circ}$ C 30 min; 95 $^{\circ}$ C 15 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 65 $^{\circ}$ C 30 s(检测荧光), 45 个循环。结果判定 Ct 值 ≤ 36 时, 判断结果为阳性。

2.4 统计学分析

用 Excel 软件进行数据统计, 计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 全省腹泻病例诺如病毒检测结果

全省共采集 1240 份腹泻便样本, 诺如病毒检测阳性样本 58 份, 阳性率 4.68%。各地区阳性率不同, 其中邢台阳性率(10.08%)高于其他地区, 差异有统计学意义($\chi^2=8.63$, $P < 0.01$)。沧州地区阳性率(5.81%)稍高于平均水平, 但与其他地区的阳性率无统计学差异($\chi^2=0.51$, $P > 0.05$)。石家庄、承德、秦皇岛和廊坊阳性率均低于全省平均水平, 分别为 4.42%、4.29%、3.33%和 2.68%。全省腹泻便诺如病毒阳性以 GII 为主, 共 53 份, 阳性率 4.28%, 各地区均有检出。GI 型 5 份, 阳性率 0.40% (见表 1)。

3.2 诺如病毒阳性患者的年龄分布

将所有患者划分为 5 个年龄组: 婴幼儿(0~)、少年(7~)、青年(18~)、中年(41~)和老年(66~)。5 个年龄组诺如病毒阳性率分别为 6.65%、4.00%、2.06%、4.14%和 5.97%, 婴幼儿和老年组诺如病毒阳性率高于其他年龄组, 差异有统计学意义($\chi^2=9.67$, $P < 0.01$) (见表 2)。

3.3 诺如病毒阳性样本的时间分布

除 7 月份样本诺如病毒为阴性, 其他月份均有检出。各个月份阳性率差别较大, 2 月份和 11 月份为两个高峰, 5、6 和 7 月为非流行期。1、2、3、10 和 11 月样本的阳性率高于年度其他月份, 差异有统计学意义($\chi^2=25.77$, $P < 0.01$), 上述 5 个月份的阳性率之间差异无统计学意义($\chi^2=2.27$, $P > 0.05$) (见图 1)。

表 1 河北省腹泻便诺如病毒检测结果
Table 1 The detection results of norovirus in diarrhea stool in Hebei province

地区	GI+GII		GI		GII	
	样本份数	阳性率/%	阳性数	阳性率/%	阳性数	阳性率/%
石家庄	452	4.42	2	0.44	18	3.98
邢台	119	10.08	1	0.84	11	9.24
沧州	155	5.81	0	—	9	5.81
秦皇岛	150	3.33	0	—	5	3.33
承德	140	4.29	2	1.43	4	2.86
廊坊	224	2.68	0	—	6	2.68
合计	1240	4.68	5	0.40	53	4.28

表 2 河北省诺如病毒阳性患者的年龄分布
Table 2 Age distribution of norovirus positive patients in Hebei province

年龄组(岁)	GI+GII		GI		GII	
	样本份数	阳性率/%	阳性数	阳性率/%	阳性数	阳性率/%
婴幼儿(0~)	541	6.65	1	0.18	35	6.47
少年(7~)	75	4.00	0	—	3	4.00
青年(18~)	388	2.06	2	0.52	6	1.55
中年(41~)	169	4.14	2	1.18	5	2.96
老年(66~)	67	5.97	0	—	4	5.97
合计	1240	4.68	5	0.40	53	4.28

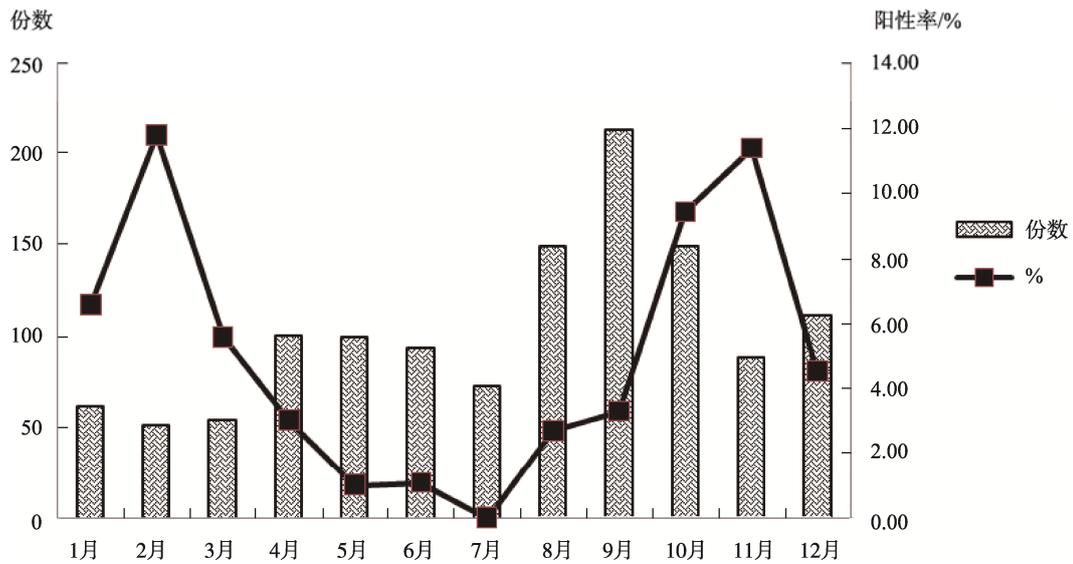


图 1 不同时间诺如病毒的阳性率
Fig.1 Positive rate of norovirus in different time

3.4 诺如病毒阳性样本的性别分布

1240份腹泻病例中,男性患者696份,女性患者544份,检出率分别为4.02%(28/696)和5.51%(30/544)。在性别分组中,诺如病毒检出率的差异无统计学意义($\chi^2=1.52$, $P > 0.05$)。

4 结论与讨论

诺如病毒是目前国内外流行性非细菌性腹泻的首要病原,具有感染剂量低、变异快、传播途径广泛等特点。据报道,发达国家42%~90%的非细菌性腹泻暴发疫情是由诺如病毒引起的^[4]。我国曾有大量胃肠炎暴发的报道均与该病毒有关^[5,6],河北省近年来也有中小学诺如病毒腹泻的暴发和报道^[7],但散发病例的研究报道较少。

本研究对河北省部分医院肠道门诊散发腹泻病例进行了为期16个月的连续监测,结果显示诺如病毒感染总体阳性率为4.68%,低于国内其他地区^[8-10],且不同地区的阳性率也存在差别,提示诺如病毒的流行存在地域差异。本研究也存在一定的局限性,如本研究采用的数据是河北省部分肠道门诊腹泻常规监测数据,存在不就诊或未进入监测系统的病例,故本研究诺如病毒阳性率会低于其实际感染水平。

资料显示诺如病毒胃肠炎的暴发具有明显的季节性规律,与温度和湿度呈负相关^[11,12],河北省诺如病毒腹泻的流行有明显的季节高峰,以1~3月和10~11月即冬春季节为高峰,其中2月和11月最高;12月份阳性率位于平均水平,其余月份显著低于平均水平,7月份未检出诺如病毒。

上述散发腹泻病例中诺如病毒阳性率在地域及时间分布方面与同期相关高风险食品-贝类水产品中污染率并不一致,贝类水产品中诺如病毒的污染状况也存在地域差异,沿海城市秦皇岛样品污染率高于内陆城市,时间以夏季6~7月份最高,12月至次年1月污染率最低^[13],而本次散发腹泻病例诺如病毒阳性率则以内陆的邢台地区为最高,沿海城市秦皇岛接近最低;高发季节则以冬春季节最高,6~7月份最低,病例与食品中阳性率的差别显示诺如病毒的流行应存在除食品外的其他更重要的传播方式,如被污染的手、呕吐物或粪便污染的物体表面,或者通过呕吐物细小飞沫污染,流行期不排除空气传播等。

另外,河北省诺如病毒腹泻检测结果显示高危人群为免疫力相对较低的婴幼儿和老年人群,同时其感染不存在性别间的差异,与国内外多数报道一致^[5,8]。

综上,诺如病毒感染是河北省腹泻散发病例的重要病原,其感染具有明显的季节特征和人群特征,同时存在一定的地域差异,因此应加强大众的健康宣教,养成良好的卫生习惯。同时扩大监测范围,研究其流行传播途径,

尤其是对诺如病毒进行更为深入的分子生物学的研究,了解河北省诺如病毒的优势毒株及流行规律,为预防和控制诺如病毒腹泻疫情提供更为科学的数据。

参考文献

- [1] Hall AJ, Vinje J, Lopman B. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines [J]. *MMWR Recomm Rep*, 2011, 60(3): 1-18.
- [2] 余建兴,王鑫,廖巧红,等. 中国27省(市、自治区)2009-2013年门诊腹泻病例诺如病毒流行特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(3): 199-204.
Yu JX, Wang X, Liao QH, *et al.* Analysis of epidemiology characteristics of norovirus among diarrheal outpatients in 27 provinces in China, 2009-2013 [J]. *Chin J Epidemiol*, 2015, 36(3): 199-204.
- [3] ISO/TS 15216-2 Microbiology of food and animal feed-Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in food using real-time RT-PCR-part 2: Method for qualitative detection [S].
- [4] Cannon JL, Papafragkou E, Park GW, *et al.* Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: A comparison of murine norovirus and feline calicivirus [J]. *J Food Prot*, 2006, 69(11): 2761-2765.
- [5] 郭汝宁,郑慧贞,李剑森,等. 2006-2007年广东省诺如病毒胃肠炎暴发的流行病学分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2008, 42(8): 607-608.
Guo RN, Zheng HZ, Li JS, *et al.* Analysis of norovirus diarrhea outbreak in Guangdong, 2006-2007 [J]. *Chin J Prevent Med*, 2008, 42(8): 607-608.
- [6] 李海,莫兆军,杨进业,等. 广西壮族自治区2006-2007年诺如病毒腹泻暴发疫情特征分析[J]. *华南预防医学*, 2008, 34(5): 6-9.
Li H, Mo ZJ, Yang JY, *et al.* Epidemiological characteristics of norovirus diarrhea outbreak in Guangxi, 2006-2007 [J]. *South China J Prev Med*, 2008, 34(5): 6-9.
- [7] 孙印旗,陈素良,李军,等. 2008年某中学诺如病毒引起感染性腹泻暴发疫情分析[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(15): 2930-2932.
Sun YQ, Chen SL, Li J, *et al.* Epidemiological analysis of outbreak of norovirus diarrhea in a middle school in 2008 [J]. *Mod Prevent Med*, 2011, 38(15): 2930-2932.
- [8] 刘靛,刘纯成,杨鹏飞,等. 淮南市2013-2014年诺如病毒感染流行病学分析[J]. *江苏预防医学*, 2015, 26(5): 76-77.
Liu L, Liu CC, Yang PF, *et al.* Analysis of norovirus infection in Huaiian, 2013-2014 [J]. *Jiangsu J Prevent Med*, 2015, 26(5): 76-77.
- [9] 张海龙,杨洪,阳帆,等. 2008年深圳市感染性病毒性腹泻中诺如病毒的感染分析[J]. *疾病监测*, 2009, 24(12): 918-923.
Zhang HL, Yang H, Yang F, *et al.* Norovirus infection among diarrhea cases in Shenzhen, 2008 [J]. *Dis Surveillance*, 2009, 24(12): 918-923.
- [10] 张静,常昭瑞,张军玲,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(7): 516-521.
Zhang J, Chang ZR, Zhang JL, *et al.* Infections diarrhea epidemics caused by norovirus and its control strategy in China [J]. *Dis Surveillance*, 2014, 29(7): 516-521.
- [11] Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, *et al.* Norovirus illness is a global

problem: Emergence and spread of norovirus GII 4 variants, 2001–2007 [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(5): 802–812.

[12] Lopman B, Armstrong B, Atchison C, *et al*. Host, weather and virological factors drive norovirus epidemiology: Time-series analysis of laboratory surveillance data in England and Wales [J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): 6671.

[13] 白雪, 张淑红, 时晨, 等. 2015-2016 年河北省贝类水产品中诺如病毒污染状况研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 15(9): 4152–4157.

Bai X, Zhang SH, Shi C, *et al*. Investigation on norovirus contamination of shellfish in Hebei province in 2015-2016 [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 15(9): 4152–4157.

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



张淑红, 副主任技师, 主要研究方向为微生物学检验。

E-mail: zhangsh855@163.com



申志新, 主任技师, 主要研究方向为微生物学检验。

E-mail: 648355188@qq.com