

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240723004

2019—2023 年上海市临港地区市售牡蛎中 人源诺如病毒污染的调查研究

徐佳乐¹, 赵璐¹, 贾添慧¹, 董蕾¹, 王永杰^{1,2,3}, 喻勇新^{1,2*}

[1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 农业农村部水产品质量安全贮藏保鲜风险评估实验室(上海), 上海 201306; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋生物学与生物技术功能实验室, 青岛 266237]

摘要: **目的** 检测 2019—2023 年上海市临港地区市售牡蛎中人源诺如病毒(norovirus, NoV)的污染状况, 并分析病毒基因型分布特点。**方法** 本研究自 2019 年 10 月至 2023 年 4 月从上海市水产市场随机采集 545 份牡蛎样本, 利用巢式逆转录聚合酶链式反应方法对样本中的 NoV 进行检测分析。**结果** 牡蛎中 NoV 污染的总阳性率为 4.04% (22/545); 共检出 5 种基因型病毒: *GI.3* ($n=5$), *GI.4* ($n=3$), *GII.17* ($n=3$), *GII.3* ($n=9$), *GII.4* ($n=4$), 其中有 4 只牡蛎样本存在 GI 和 GII 型 NoV 混合污染的现象。基因型丰度上, 2019 年检出以 GI 型病毒为主, 主要是 *GI.3*; 2020 年至 2022 年检出以 GII 型病毒为主, 主要是 *GII.3* 和 *GII.4*; 2023 年上半年检出 GI、GII 型病毒, GII 型偏多。季节上, 每年的秋冬季牡蛎中 NoV 的检出率最高, 与人群中 NoV 的季节性暴发规律相吻合。**结论** 自新冠疫情暴发以来, 上海市临港地区市售牡蛎中 NoV 检出率大幅下降, 阳性检出率和基因类群变化与国外研究结果趋势一致。该研究结果不仅填补了国内在新冠疫情期间对牡蛎中 NoV 监测的数据空缺, 而且为牡蛎的食用安全评估提供科学依据。

关键词: 诺如病毒; 牡蛎; 污染; 基因型; 风险防控

Investigation of human norovirus contamination in commercially sold oysters from the Lingang Area of Shanghai from 2019 to 2023

XU Jia-Le¹, ZHAO Lu¹, JIA Tian-Hui¹, DONG Lei¹,
WANG Yong-Jie^{1,2,3}, YU Yong-Xin^{1,2*}

[1. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation (Shanghai), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 3. Marine Biology and Biotechnology Laboratory, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China]

ABSTRACT: Objective To assess the contamination of human norovirus (NoV) in oysters sold in the Lingang

基金项目: 上海市科学技术委员会 2022 年度“创新行动计划”农业领域项目(22N31900700)、国家自然科学基金项目(31601570)、上海市食品安全风险专题评估项目(2024)

Fund: Supported by the Shanghai Municipal Science and Technology Commission “Innovation Action Plan” Agriculture Field Project (22N31900700), the National Natural Science Foundation of China Project (31601570), and the Shanghai Food Safety Risk Assessment Project (2024)

*通信作者: 喻勇新, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 主要研究方向为诺如病毒在环境及食品中的传播机制及其风险溯源与风险评估。
E-mail: yxyu@shou.edu.cn

*Corresponding author: YU Yong-Xin, Ph.D, Senior Engineer, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China. E-mail: yxyu@shou.edu.cn

Area of Shanghai from 2019 to 2023 and to analyze the distribution characteristics of the virus genotypes.

Methods In this study, a total of 545 oyster samples were randomly collected from Shanghai seafood markets from October 2019 to April 2023. A nested reverse transcription polymerase chain reaction (nested RT-PCR) method combined with sequencing was used to detect and analyze the presence of NoV in the samples. **Results** The overall positive rate of NoV contamination in oysters was 4.04% (22 out of 545). A total of 5 genotypes of the virus were identified: *GI.3* ($n=5$), *GI.4* ($n=3$), *GII.17* ($n=3$), *GII.3* ($n=9$), and *GII.4* ($n=4$). Mixed contamination with both NoV GI and NoV GII was observed in 4 oyster samples. In terms of genotype prevalence, GI type viruses were predominant in 2019, and the specific genotype was *GI.3*. From 2020 to 2022, GII type viruses were predominant, the main genotypes were *GII.3* and *GII.4*. In the first half of 2023, both GI and GII type viruses were detected, with a higher prevalence of GII types. Seasonally, the detection rate of NoV in oysters was highest during the autumn and winter months each year, coinciding with the seasonal outbreak patterns of NoV in human populations. **Conclusion** Since the outbreak of the COVID-19 pandemic, there has been a significant decrease in the detection rate of NoV in oysters sold in the Lingang Area of Shanghai. The trends of detection rates in positive and changes in genotype clusters are consistent with research findings from abroad. The findings of this study not only fill the domestic data gap in monitoring NoV in oysters during the COVID-19 pandemic but also provide a scientific basis for the safety assessment of oyster consumption.

KEY WORDS: norovirus; oysters; contamination; genotypes; pidemiological trends

0 引言

诺如病毒(norovirus, NoV)是一种无包膜、单链正义 RNA 病毒,直径约 27~35 nm,基因组长度为 7500~7700 nt,由于其病毒粒子在极端环境下显示出较好的稳定性,使用常规方法难以彻底有效地灭活该病毒^[1]。目前可以根据病毒衣壳蛋白(capsid)氨基酸序列的不同,将其分为 GI~GX 等 10 个基因类群(genogroup),GI、GII、GIV、GVIII、GIX 等可以感染人类,其中 GI 和 GII 群是最常见的人源 NoV 的基因类群^[2]。根据序列的差异,GI、GII 等基因类群进一步细分为更为多样的基因型,截止到 2019 年,国际杯状病毒工作组将其至少分为 49 个 C 型基因型(capsid type, C-type),60 个 P 型基因型(polymerase type, P-type)^[3]。NoV 主要通过粪-口途径传播及人与人之间的直接传播,媒介为受污染的水、食物、呕吐物等^[4]。生食牡蛎等贝类海产品和部分蔬果常与人 NoV 疾病暴发有关^[5-9]。

近年来,由牡蛎中 NoV 污染引起的食品安全事件层出不穷,牡蛎作为一种常见的滤食性贝类,可以大量富集水体中的病毒颗粒,被认为是 NoV 在环境中主要的传播载体^[10]。前期研究发现,牡蛎中的 NoV 具有高度的基因多样性,不同的基因型可能对宿主的感染性、致病性和传播能力有所差异。因此,通过研究牡蛎中 NoV 的基因型多样性,可以揭示其遗传特征和传播规律^[11-12],为疫情的预防和控制提供科学依据^[13]。2000 年到 2010 年期间,全球共发生 36 起急性胃肠炎疫情大流行,其中 22 起都与食用受污染的牡蛎有关^[14-18]。

新冠疫情期间,国外对 NoV 相关疫情的研究相对较少。KEAVENEY 等^[19]发现爱尔兰牡蛎产区的 NoV 阳性率由 94.3% (2018—2019 年冬季)、96.6% (2019—2020 年冬季)显著下降到 63.2% (2020—2021 年冬季),浓度也显著降低至定量限以下。在疫情前,FARKAS 等^[20]在牡蛎中 NoV 的检测率和浓度较高;在 2020 年 8 月—2021 年 4 月疫情期间,虽然在夏季和春季也检测到了 NoV,但这些病毒的浓度偏低。NoV 每年国内外研究者投入大量的时间精力监测牡蛎中 NoV 的污染情况^[21-26],在严格防控 NoV 疫情的暴发做出了巨大的贡献。即使在新冠疫情影响下,不少国外研究者也持续进行监测。但由于我国受疫情严重影响,对该段时间内牡蛎中 NoV 的污染情况研究涉及较少。

本研究通过巢式逆转录聚合酶链式反应(nested reverse transcription polymerase chain reaction, nested RT-PCR)方法,对 2019 年 10 月至 2023 年 4 月期间在上海地区采集的 545 份牡蛎样本,进行人源 NoV (GI、GII 型)的持续检测。本研究的监测数据揭示新冠疫情暴发期间上海市临港地区市售牡蛎中 NoV 的污染状况,为牡蛎中 NoV 的风险防控及食用安全评估提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料

牡蛎是从上海南汇新城镇海鲜市场小马海鲜店随机购买,每两周采集一次,每次购买 10 只。选择新鲜、闭口的牡蛎,用碎冰运输到实验室。解剖采集的每只牡蛎消化

腺组织平均分成 4 份等份, 每份 50~100 mg, 添加 RNA 样本稳定剂之后冻存于-80 °C 冰箱。

1.1.2 主要试剂

动物组织总 RNA 提取试剂盒(货号: GK3016, 上海捷瑞生物工程有限公司); 一步反转录试剂盒(货号: AG11706)、RNA 样品稳定剂(货号: AG21015)(艾科瑞生物科技有限公司); RNA 酶抑制剂(美国赛默飞世尔科技公司)【; 2×Taq Master Mix(近岸蛋白质科技股份有限公司); 琼脂糖、PCR 产物回收试剂盒(货号: DP209)、5-溴-4-氯-3-吲哚-β-D-半乳糖苷(5-bromo-4-chloro-3-indole-β-D-galactoside, X-gal)、异丙基-β-D-硫代吡喃半乳糖苷(isopropyl β-D-thiogalac-toside, IPTG)、氨苄青霉素[天根生化科技(北京)有限公司]; 50×TAE buffer、T 载体 PCR 产物快速连接试剂盒(货号: B522214)、Top10 感受态细胞、GI、GII 型 NoV 的巢式 RT-PCR 通用型引物(序列见表 1)[生工生物工程(上海)股份有限公司]; LB 固体和液体培养基(源叶生物科技有限公司); 氯仿、无水乙醇(东羿化工有限公司); Goldview 核酸染料(10,000×)[翌圣生物科技(上海)股份有限公司]。

1.1.3 主要仪器

AC2-4S1-CN 生物安全柜、ACB-4A1 超净工作台(新加坡艺思高科技有限公司); FastPre-24MP 组织均质器(美国 MP Biomedicals 公司); 5382000074 恒温混匀金属浴、5702R 台式低温离心机(艾本德中国有限公司); PowerPac™ Basic 电泳仪、Universal Hood II 凝胶成像系统和凝胶成像分析仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司]; ES-YM25 漩涡振荡仪[翌圣生物科技(上海)股份有限公司]; Mini-7ks 小型台式离心机(杭州佑宁仪器有限公司); SLFPTAD 多功能酶标仪(美国伯腾有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 牡蛎样品的总 RNA 提取

取一管上述 1.1.1 中牡蛎消化腺组织, 用 MP 组织均质器打成匀浆, 参照动物组织总 RNA 提取试剂盒说明书中的步骤提取牡蛎消化腺的总 RNA, 得到的溶液即为 RNA 样本, 可即刻使用或存储于-80 °C 冰箱中待用。

1.2.2 巢式 RT-PCR 反应

巢式 RT-PCR 分为 RT-PCR(第一轮 PCR)和 PCR(第二轮 PCR)。RT-PCR 根据一步反转录试剂盒的说明书制成 25 μL 的反应体系, 包括: 1 μL 的一步法酶混合物, 12.5 μL 的 2×一步法反应液, 1 μL 的 10 μmol/L 正向引物, 1 μL 的 10 μmol/L 反向引物, 1 μL 模板, 8.5 μL 的 ddH₂O。RT-PCR 反应程序: 55 °C 反转录 35 min; 95 °C 预变性 2 min; 95 °C 变性 30 s; 60 °C 退火 30 s; 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环。

将 RT-PCR 反应的产物稀释 10 倍作为第二轮 PCR 的模板。第二轮 PCR 反应体系共 25 μL, 包括: 12.5 μL 的 2×Taq Master Mix, 1 μL 的 10 μmol/L 正向引物, 1 μL 的 10 μmol/L 反向引物, 1 μL 的模板, 9.5 μL 的 ddH₂O。反应程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s; 60 °C 退火保持 30 s; 72 °C 延伸 1 min; 35 个循环。两轮 PCR 扩增后的产物-用 2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测 (GI: 168 bp; GII: 344 bp)。

1.2.3 Sanger 测序

通过电泳鉴定为阳性 PCR 的产物, 送至生物技术公司(生工生物工程股份有限公司)进行 Sanger 测序。若测序结果为双峰或者杂峰, 则需要按照 PCR 产物回收试剂盒说明书进行 PCR 产物回收, 按照 T 载体连接试剂盒说明书进行连接转化实验, 培养单克隆菌液, 再次送去测序。

表 1 巢式 RT-PCR 的引物组合^[27-29]
Table 1 Primers combination used in the nested RT-PCR^[27-29]

方法	基因型	引物	引物核酸序列(5'-3')	位点
RT-PCR	GI	COGIF	GGYTGGATGCGNTTYCATGA	5291 ^a
		GISKR	CCAACCCARCCATTRTACA	5671 ^a
	GII	COG2F	CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG	4989 ^b
		NG2OR	CCNGCATRVCCRTTRTACAT	5372 ^b
PCR	GI	NGIOF	TGATGGCGTCTAAGGACG	5362 ^a
		NGIOR	TGAHTATCCAGGGGTCAAT	5511 ^a
	GII	NG2OF	GGAGGGCGATCGCAATCT	5036 ^b
		NG2OR	CCNGCATRVCCRTTRTACAT	5372 ^b

注: ^a 为引物 5'端在序列 M87661 的位置; ^b 为引物 5'端在序列 X86557 的位置。简并引物中的混合碱基: R 表示 A 或 G; B 表示 C 或 G 或 T; N 表示 A 或 G 或 C 或 T; Y 表示 C 或 T; H 表示 A 或 C 或 T; V 表示 A 或 G 或 C。

1.2.4 克隆测序

将纯化的 PCR 产物按照 PCR 产物回收试剂盒的说明书进行纯化, 根据 T 载体 PCR 产物连接试剂盒说明书将纯化好的 DNA 溶液与 pUCm-T 载体进行 TA 载体连接, 16 °C 连接 14.5 h。取 5 μL 连接液加入到 Top10 感受态细胞中, 轻弹混匀, 冰浴中静置 30 min, 42 °C 金属浴热激 90 s, 冰浴 5 min。向管内加入 900 μL 的 37 °C 预热的 LB 液体培养基(不含 Amp), 37 °C 金属浴孵育 45 min。吹打混匀, 4000 r/min 离心 3 min, 弃 750 μL 上清液, 将剩余培养基液体吹打混匀。将转化好的细胞涂布在含有 100 g/mL 氨苄抗生素的培养基上, 过夜培养。通过蓝白斑筛, 挑取平板上的白色菌落, 白色菌落为阳性克隆, 并进行菌落 PCR 验证。菌落 PCR 反应体系为: 12.5 μL 的 2×Taq Master Mix, 1 μL 的 10 μmol/L *M13*-20 引物, 1 μL 的 10 μmol/L *M13*-26 引物, 10.5 μL 的 ddH₂O, 蘸取菌落, 吹打混匀。反应程序为: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 1 min, 52 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 60 s, 循环数为 30 个。PCR 扩增后的产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测(GI: 168 bp; GII: 344 bp), 若出现阳性条带送至生物技术公司进行 Sanger 测序。

1.3 数据处理

将 Sanger 测序得到的结果, 先在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)通过 BLAST 检索验证序列。随后, 利用在线诺如病毒基因分型工具(<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>)确定 NoV 序列基因型。

2 结果与分析

2.1 时间分布

在 2019 年 10 月到 2023 年 4 月内, 一共进行 28 个月的采样。为了反映单只牡蛎中 NoV 的污染情况, 每次采样均是单只牡蛎作为一组进行检测, 统计结果如表 2。在 2019 年 10 月至 2023 年 4 月期间, 共采集了 545 份牡蛎样品, 其中 22 只检出 NoV 阳性, 总体阳性率为 4.04%。

根据气象部门的季节划分, 春季为 3 月至 5 月, 夏季为 6 月至 8 月, 秋季为 9 月至 11 月, 冬季则为 12 月至次年 2 月。时间分布分析(见图 1)显示, 2019 至 2020 年的阳性率峰值在 10 月达到 12.0%, 2020 至 2021 年的峰值在 1 月达到 20.0%, 而 2021 至 2022 年的峰值再次出现在 2021 年 5 月和 2022 年 10 月为 10.0%, 2022 至 2023 年的峰值出现在 3 月为 30.0%。除此之外, 其他月份的阳性检出率均低于 10.0%。从季节分布来看, 春夏季 NoV 的阳性检出率基本上为 0.0%, 而冬季检出率最高, 这一发现与 NoV 的季节性暴发特征相一致。此结果与杨明树等^[28]通过季节性自回归差分移动平均(autoregressive integrated moving average, ARIMA)模型分析所得出的结论相符, 同时也与刘志婷等^[29]在研究广东省牡蛎中 NoV 污染情况时得到的观察一致。

表 2 牡蛎采集信息表				
Table 2 Oyster harvesting information sheet				
次数	日期	总采样量/只	阳性率/%	基因型
1	2019.10	20	15.0	<i>GI.3</i> (n=3)
2	2019.11	20	0	/
3	2019.12	20	0	/
4	2020.01	20	0	/
5	2020.09	10	0	/
6	2020.10	20	5.0	<i>GII.NA</i> (n=1)
7	2020.11	40	7.5	<i>GII.3</i> (n=2); <i>GI.NA</i> (n=1)
8	2020.12	30	0	/
9	2021.01	20	20.0	<i>GII.3</i> (n=4)
10	2021.03	20	0	/
11	2021.04	20	0	/
12	2021.05	20	10.0	<i>GII.NA</i> (n=1); <i>GI.NA</i> & <i>GII.NA</i> (n=1)
13	2021.06	20	0	/
14	2021.07	25	8.0	<i>GII.3</i> (n=2)
15	2021.08	20	0	/
16	2021.09	20	0	/
17	2021.10	20	0	/
18	2021.11	20	0	/
19	2021.12	20	0	/
20	2022.02	20	0	/
21	2022.03	20	0	/
22	2022.09	20	0	/
23	2022.10	20	10.0	<i>GII.4</i> (n=2)
24	2022.11	20	0	/
25	2022.12	20	5.0	<i>GII.3</i> (n=1)
26	2023.2	10	0	/
27	2023.3	10	30.0	<i>GI.3</i> (n=2); <i>GI.4</i> (n=3); <i>GII.17</i> (n=2); <i>GII.2</i> (n=1); <i>GII.4</i> (n=2)
28	2023.4	20	5.0	<i>GII.17</i> (n=1)

注: *GI.NA* 为 GI 型 NoV 未确定的基因型, *GII.NA* 为 GII 型 NoV 未确定的基因型。/ 为无相关数据。

2.2 基因型分布

从 2019 年 10 月至 2023 年 4 月期间, 从 22 份阳性牡蛎样品中分离得到了 NoV 的序列。利用 Norovirus Typing Tool 结合系统发育分析对已获得的 NoV 序列进行分型, 结果如图 2 所示: GI 型占比 36.36% (8/22)、GII 型占比 81.82% (18/22); 在 GI 型中, *GI.3* 占比最多(22.7%), 其次是 *GI.4* (13.6%); 在 GII 型中, *GII.3* 占比最多(40.9%), 其次是 *GII.4* (18.2%)、*GII.17* (13.6%)、*GII.NA* (13.6%)。由图 3 NoV 基因型分布图可知, 在 2019 年检出以 GI 型为主, 但是 2020 年至 2023 年检出以 GII 型为主, GII 型成为牡蛎中的优势基因型, 并且基因型逐渐丰富起来。而 GII 型由于基因型高度变异性具有较强的侵染能力, 一直是 NoV 疫情暴发的主要“凶手”, 值得引起人们的注意。

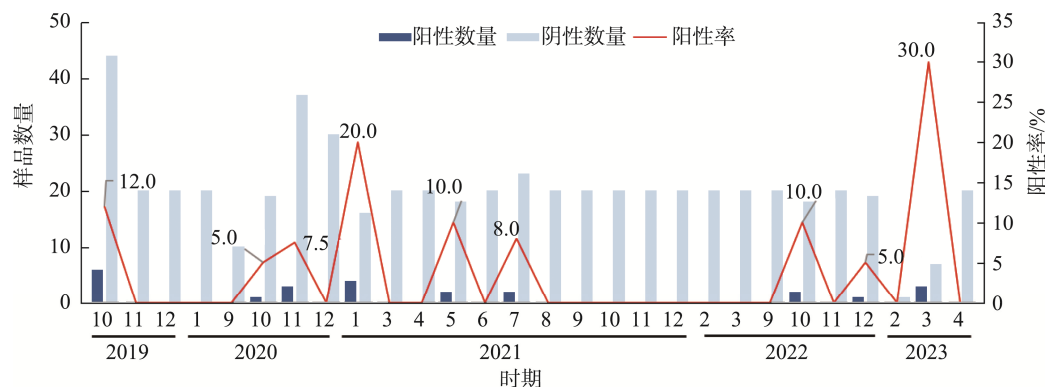
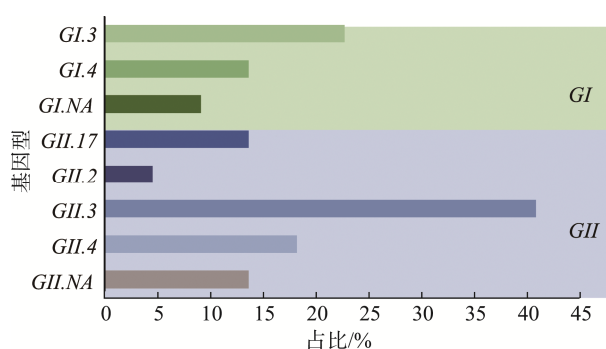


图 1 2019—2023 年牡蛎中 NoV 阳性率分布

Fig.1 Distribution of norovirus positive rates in oysters from 2019 to 2023



注：图中有 4 只牡蛎存在 GI 和 GII NoV 混合污染。*GI.NA* 为 GI 型 NoV 未确定的基因型，*GI.NA* 为 GII 型 NoV 未确定的基因型，下同。

图 2 牡蛎中检出的 NoV 基因类和基因型百分比

Fig.2 Percentage of norovirus genogroup and genotypes detected in oysters

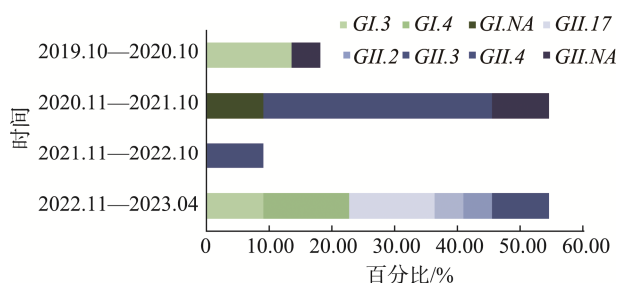


图 3 2019 年 10 月—2023 年 4 月 NoV 基因型的相对丰度

Fig.3 Percentage of total norovirus genotypes from October 2014 to April 2023

2.3 多基因型混合污染

本研究中，共有 22 只 NoV 阳性牡蛎检出，出现了 4 只多基因型混合污染的情况，占比 18.18%。2021 年 5 月有 1 只为 GI 和 GII 的混合污染，由于获得的测序序列太短，但并没有获得具体的基因型分型。2023 年 3 月有 3 只牡蛎均是 GI 和 GII 型混合感染，第 1 只牡蛎中 NoV 基因型有：*GI.4*、*GI.17*、*GI.4*，第 2 只牡蛎中 NoV 基因型有：*GI.3*、*GI.4*、*GI.17*，第 3 只牡蛎中 NoV 基因型有：*GI.3*、*GI.4*、

GI.2、*GI.4*，该批次检测阳性牡蛎中 NoV 混合基因型多达 4 种。牡蛎的多基因型混合感染可能是 NoV 重组毒株的来源之一。

3 讨论与结论

3.1 新冠疫情影响 NoV 检出

2017 年 10 月—2019 年 10 月，贾添慧等^[27]检测牡蛎中 NoV 阳性率为 22.1% (140/633)，连续两年冬季阳性率峰值为 50% (2018 年的 1 月)、61% (2018 年 11 月)、50% (2018 年 12 月) 和 30% (2019 年 2 月)，而其他月份的阳性检出率通常都在 10% 及以下。新冠疫情来临之后，牡蛎中 NoV 阳性率降低至 4.04% (22/545)，冬季阳性率峰值最高才 20% (2021 年 1 月)，而其他月份阳性检出率通常都在 10% 及以下；直至 2023 年 10 月新冠疫情进入防护阶段，牡蛎中 NoV 阳性率逐渐上升。由此看来，新冠疫情的确影响牡蛎中阳性 NoV 的检出率，分析其中原因：2019 年 12 月—2020 年 10 月年全国进入严格防控阶段，封锁、限制社交活动和关闭非必要的商业和服务，减少了人与人之间的接触，再加上人们提高了个人卫生意识和对病毒的防范意识，几乎阻断了 NoV 的传播。虽然在防控阶段还检测到少许阳性牡蛎，但与往年数据相比，NoV 阳性率和浓度显著降低。

2021 年以后，随着新冠病毒疫苗接种率的提高和有效治疗方法的出现，疫情得到有效控制，人类活动开始逐渐增多，但是由于局部地区疫情频发，又进入管控阶段，部分地区 NoV 的传播得到有效的控制。当进入 2022 年 9 月新冠疫情防护阶段，公共场所和社交聚会的增多导致病毒人与人之间的直接或间接接触传播的机会增加，“报复性”消费和旅游业的“复兴”提高了人们对水产品的生食频率，对食品安全的监管可能相对松懈，导致食物链中病毒传播的风险增加。此外，水域环境的变化也可能对牡蛎中病毒的富集有所影响，比如，污水排放或者自然降雨、洪水可能会导致污染物和病毒通过地表径流进入水体，增加了牡蛎中病毒检出的可能性。

3.2 流行趋势分析

根据近 3 年内 NoV 基因型丰度的数据分析, 牡蛎中主要流行的 NoV 株型为 *GI.3*、*GII.3* 和 *GII.4*^[12]。MANS 等^[30]在研究中低收入国家 NoV 的流行情况、流行病学特征及基因型多样性后发现, 在全球范围内暴发的 NoV 引起的胃肠炎疫情中, 超过 85% 是由 *GII.4* 型变异株引发的, 其次为 *GII.3* 和 *GII.6*, 而在 GI 型中, *GI.3* 是最常见的流行株。其他研究也证实了在中国^[31], 主导的 NoV 基因型为 *GII.4*, 其次是 *GII.3*。从 2015 年 1 月至 2019 年 6 月, 我国台湾地区疾控中心共报告了 351 只 GI 型 NoV 集群性阳性案例, 其中 *GI.3* 型的发病率最高, 达到 36.8%。尽管这 3 年间的阳性检出率相对较低, 牡蛎中检测到的基因型却恰好是流行的基因型。牡蛎的繁殖过程受到人类活动的显著影响, 因此, 在 NoV 疫情再次暴发时, 这些流行基因型依然占据主要地位, 这要求采取特定措施, 以降低食源性病毒感染的风险。

综上所述, 本研究从 2019 年 10 月至 2023 年 4 月采用巢式 RT-PCR 的方法, 对上海市市售牡蛎进行连续 4 年的 NoV 筛查工作, 在检测的 545 只牡蛎样品中, NoV 阳性检出率为 4.04%, 共检出 5 种基因型: *GI.3* ($n=5$)、*GI.4* ($n=3$)、*GII.17* ($n=3$)、*GII.3* ($n=9$)、*GII.4* ($n=4$)。其中, 有 4 只牡蛎受 GI 和 II 型混合污染。本研究检测结果, 为新冠疫情期间牡蛎中 NoV 的风险防控和食用安全评估提供了有力的数据支持。

参考文献

- [1] AUSAR SF, FOUBERT TR, HUDSON MH, *et al.* Conformational stability and disassembly of Norwalk virus-like particles. Effect of pH and temperature [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(28): 19478–19488.
- [2] AO Y, WANG J, LING H, *et al.* Norovirus GII.P16/GII.2-associated gastroenteritis, China, 2016 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23(7): 1172–1175.
- [3] CHHABRA P, DE GRAAF M, PARRA GI, *et al.* Updated classification of norovirus genogroups and genotypes [J]. *J Gen Virol*, 2019, 100(10): 1393–406.
- [4] ROBILOTTI E, DERESINSKI S, PINSKY BA. Norovirus [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(1): 134–164.
- [5] REXIN D, KAAS L, LANGLET J, *et al.* Droplet digital PCR for precise quantification of human norovirus in shellfish associated with gastroenteritis illness [J]. *J Food Prot*, 2024, 87(11): 100363.
- [6] MANGERI L, RIGHI F, BENEVENIA R, *et al.* Monitoring and genotyping of norovirus in bivalve molluscan shellfish from Northern Italian Seas (2018–2020) [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2024, 21(1): 27–35.
- [7] LOUTREUL J, CAZEAUX C, LEVERT D, *et al.* Prevalence of human noroviruses in frozen marketed shellfish, red fruits and fresh vegetables [J]. *Food Environ Virol*, 2014, 6(3): 157–68.
- [8] TRUDEL-FERLAND M, COLLARD M, GOULET-BEAULIEU V, *et al.* Evaluation of a new automated viral RNA extraction platform for hepatitis A virus and human norovirus in testing of berries, lettuce, and oysters [J]. *Int J Food Microbiol*, 2024, 416: 110664.
- [9] TANG M, LIAO N, TIAN P, *et al.* Use of bentonite-coated activated carbon for improving the sensitivity of RT-qPCR detection of norovirus from vegetables and fruits: The ISO 15216-1:2017 standard method extension [J]. *Food Microbiol*, 2023, 110: 104165.
- [10] 张萌, 龙逸芳, 孙立梅. 2013—2017 年三种基因型诺如病毒感染暴发疫情的流行病学特征分析; 2018 新发传染病研究热点研讨会, 中国广东广州, F, 2018 [C].
ZHANG M, LONG YF, SUN LM. Analysis of Epidemiological Characteristics of Outbreaks of Norovirus Infections with Three Genotypes from 2013 to 2017. Proceedings of the 2018 Symposium on Emerging Infectious Disease Research Hotspots, Guangzhou, Guangdong, China, F, 2018 [C].
- [11] MA J, CHEN Q, YUAN F, *et al.* Prevalence and genotype distribution of norovirus in Ningxia Hui Autonomous Region, China, from 2011 to 2022 [J]. *Virol J*, 2024, 21(1): 232.
- [12] SON E, KIM Y H. Surge of acute gastroenteritis outbreaks due to rising norovirus GII.4 transmission in Seoul childcare centers and kindergartens in 2022 compared to 2019–2021 [J]. *Arch Virol*, 2024, 169(10): 209.
- [13] WHITE PA. Evolution of norovirus [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(8): 741–745.
- [14] TUAN ZC, HIDAYAH MS, CHAI LC, *et al.* The scenario of norovirus contamination in food and food handlers [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2010, 20(2): 229–237.
- [15] HAMANO M, KUZUYA M, FUJII R, *et al.* Epidemiology of acute gastroenteritis outbreaks caused by Noroviruses in Okayama, Japan [J]. *J Med Virol*, 2005, 77(2): 282–289.
- [16] PRATO R, LOPALCO PL, CHIRONNA M, *et al.* Norovirus gastroenteritis general outbreak associated with raw shellfish consumption in south Italy [J]. *BMC Infect Dis*, 2004, 4: 37.
- [17] FURUTA T, AKIYAMA M, KATO Y, *et al.* A food poisoning outbreak caused by purple Washington clam contaminated with norovirus (Norwalk-like virus) and hepatitis A virus [J]. *Kansenshogaku Zasshi*, 2003, 77(2): 89–94.
- [18] BERG DE, KOHN MA, FARLEY TA, *et al.* Multi-state outbreaks of acute gastroenteritis traced to fecal-contaminated oysters harvested in Louisiana [J]. *J Infect Dis*, 2000, 181: S381–S386.
- [19] KEAVENEY S, RUPNIK A, FITZPATRICK A, *et al.* Impact of COVID-19 nonpharmaceutical interventions on the extent of norovirus contamination in oyster production areas in Ireland during winter 2020 to 2021 [J]. *J Food Prot*, 2022, 85(10): 1397–403.
- [20] FARKAS K, MANNION F, SORBY R, *et al.* Assessment of wastewater derived pollution using viral monitoring in two estuaries [J]. *Mar Pollut Bull*, 2024, 200: 116081.
- [21] GUARINES KM, MENDES RPG, CORDEIRO MT, *et al.* Absence of norovirus contamination in shellfish harvested and commercialized in the Northeast coast of Brazil [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2020, 53(11): e9529.
- [22] CAMPOS CJA, GOBLICK G, LEE R, *et al.* Determining the zone of impact of norovirus contamination in shellfish production areas through microbiological monitoring and hydrographic analysis [J]. *Water Res*, 2017, 124: 556–565.
- [23] CAMPOS CJA, KERSHAW S, MORGAN OC, *et al.* Risk factors for norovirus contamination of shellfish water catchments in England and

- Wales [J]. *Int J Food Microbiol*, 2017, 241: 318–324.
- [24] PAVONI E, CONSOLI M, SUFFREDINI E, *et al.* Noroviruses in seafood: A 9-year monitoring in Italy [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2013, 10(6): 533–539.
- [25] ZHOU H, WANG S, VON SEIDLEIN L, *et al.* The epidemiology of norovirus gastroenteritis in China: Disease burden and distribution of genotypes [J]. *Front Med*, 2020, 14(1): 1–7.
- [26] JIA T, YU Y, WANG Y. A recombinase polymerase amplification-based lateral flow strip assay for rapid detection of genogroup II noroviruses in the field [J]. *Arch Virol*, 2020, 165(12): 2767–2776.
- [27] 贾添慧, 董蕾, 王永杰, 等. 牡蛎中 GII 型诺如病毒巢式 RT-PCR 检测方法的优化与评价[J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(2): 239–246.
- JIA TH, DONG L, WANG YJ, *et al.* Optimization and evaluation of a nested RT-PCR detection method for GII genotype norovirus in oysters [J]. *J Shanghai Ocean Univ*, 2021, 30(2): 239–246.
- [28] 杨明树, 董蕾, 贾添慧, 等. 季节性自回归差分移动平均模型在牡蛎中诺如病毒检出率预测上的应用[J]. *中国食品卫生杂志*, 2021, 33(4): 430–444.
- YANG MS, DONG L, JIA TH, *et al.* Application of seasonal autoregressive integrated moving average model in predicting the detection rate of norovirus in oysters [J]. *Chin J Food Hyg*, 2021, 33(4): 430–434.
- [29] 刘志婷, 周少君, 王建, 等. 2011—2017 年广东省牡蛎中诺如病毒污染状况分析 [J]. *华南预防医学*, 2019, 45(2): 194–197.
- LIU ZT, ZHOU SJ, WANG J, *et al.* Analysis of norovirus contamination in oysters from Guangdong Province, 2011—2017 [J]. *South China J Prev Med*, 2019, 45(2): 194–197.
- [30] MANS J. Norovirus infections and disease in lower-middle and low-income countries, 1997—2018 [J]. *Viruses*, 2019. DOI: 10.3390/v11040341
- [31] CHIU SC, HSU JK, HU SC, *et al.* Molecular epidemiology of GI.3 norovirus outbreaks from acute gastroenteritis surveillance system in Taiwan, 2015–2019 [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 4707538.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)

作者简介



徐佳乐, 硕士研究生, 主要研究方向为食源性病毒。

E-mail: 22502295538@qq.com



喻勇新, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 主要研究方向为诺如病毒在环境及食品中的传播机制及其风险溯源与风险评估。

E-mail: yxyu@shou.edu.cn