

DOI:10.13350/j.cjpb.250415

• 调查研究 •

## 2020年济宁市诺如病毒病原学特征分析\*

陈春梅<sup>1</sup>, 赵剑<sup>2</sup>, 于颖慧<sup>3</sup>, 吴长静<sup>2\*\*</sup>, 焦伯延<sup>2\*\*</sup>(1. 济宁市任城区疾病预防控制中心检验科, 山东济宁 272000; 2. 济宁市疾病预防控制中心微生物检验科;  
3. 济宁市疾病预防控制中心传染病防治科)

**【摘要】** 目的 了解2020年济宁市诺如病毒流行情况和基因型特征,为诺如病毒的监测和防控提供参考数据。方法 2020年1-12月按照《山东省病毒性腹泻监测工作方案》要求,济宁市各县市区采集病毒性腹泻病例粪便标本,实时荧光定量聚合酶链式反应法检测诺如病毒,诺如病毒检测阳性标本的核酸通过反转录聚合酶链式反应扩增,并对扩增产物进行测序和分析。结果 共采集腹泻标本512例,诺如病毒阳性率为12.89%(66/512),其中以诺如病毒GII型为主,占比为90.91%(60/66)。6~15岁年龄组诺如病毒阳性率最低为3.75%(3/80)。2020年济宁市流行的诺如病毒包含10种基因型,其中以GII.4[P31]和GII.4[P16]基因型为主。在VP1和RdRp基因进化树上,同一基因型的诺如病毒均可分为多个进化簇。结论 诺如病毒是引起腹泻的主要病原体之一,济宁市2020年主要流行GII.4[P31]和GII.4[P16]基因型诺如病毒。此外,应加强诺如病毒监测力度并开展基因特征分析。

**【关键词】** 诺如病毒;基因型;腹泻**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2025)04-0486-04

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Apr.;20(04):486-489.]

## Pathogenic characteristics of norovirus in Jining City in 2020

CHEN Chunmei<sup>1</sup>, ZHAO Jian<sup>2</sup>, WU Changjing<sup>2</sup>, JIAO Boyan<sup>2</sup> (1. Department of Laboratory, Rencheng Center for Disease Control and Prevention, Jining 272000, Shandong, China; 2. Department of Laboratory, Jining Center for Disease Control and Prevention; 3. Department of Infectious Disease Control, Jining Center for Disease Control and Prevention)

**【Abstract】** **Objective** To analyze the epidemiological characteristics and genotypic characteristics of Norovirus in Jining City in 2020, and provide reference data for the monitoring and prevention and control of Norovirus. **Methods** Fecal samples of viral diarrhea cases were collected from Jining City according to the procedures and methods in Shandong Province Monitoring Manual of Viral Diarrhea from January to December 2020. Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect Norovirus. The positive samples were amplified by reverse transcription polymerase chain reaction, sequenced and analyzed. **Results** A total of 512 samples were collected. The positive detection rates of Norovirus was 12.89%(66/512). The type of Norovirus was mainly GII, accounting for 90.91%(60/66). The lowest positive rate was 3.75%(3/80) in 6-15 years group. Norovirus was divided into 10 genotypes in Jining City In 2020. The most prevalent genotypes were GII.4[P31] and GII.4[P16]. On the VP1 and RdRp gene evolution trees, the same genotype of Norovirus were divided into multiple evolutionary clusters. **Conclusions** Norovirus is one of the main pathogens causing diarrhea. The GII.4[P31] and GII.4[P16] genotypes were the most prevalent genotypes of Norovirus in Jining City in 2020. In addition, it was necessary to strength the surveillance of Norovirus and conduct genetic analysis research.

**【Keywords】** norovirus; genotypes; diarrhea

\*\*\* 诺如病毒是引起人类腹泻的主要病原体之一,是引起成年人腹泻的最主要病原体,是引起5岁以下儿童腹泻的第二大病原体<sup>[1-4]</sup>。诺如病毒感染者的临床症状包括呕吐、腹泻、恶心、发热、甚至死亡,严重威胁人类生命健康。全球每年约7亿人因诺如病毒感染导致腹泻,每年引起21万人死亡,诺如病毒感染是全球面临的重要公共卫生问题之一<sup>[5-6]</sup>。根据诺如病毒的VP1基因和RdRp基因序列,诺如病毒分为G基因型和P基因型,目前至少可以分为49个G基因型和60

个P基因型,其中感染人的主要是GI和GII等型别<sup>[7-8]</sup>。为掌握济宁市诺如病毒流行情况和基因型特

**【基金项目】** 济宁市重点研发计划项目(No. 2023YXNS130)**【通信作者】** 吴长静, E-mail: 823954558@qq.com

焦伯延, E-mail: j198319831983@126.com

**【作者简介】** 陈春梅(1978-),女,山东济宁人,本科,副主任技师,研究方向:微生物检验。E-mail: 1489027936@qq.com

点,本研究对2020年济宁市腹泻病例粪便标本开展诺如病毒检测,分析诺如病毒流行特征和基因特征,为诺如病毒防控提供实验室数据。

## 材料和方法

### 1 仪器与试剂

GeneRotex 96 全自动核酸提取仪和 GENTIER 96 实时荧光定量 PCR 仪均购自西安天隆科技有限公司;生物安全柜购自上海力申科学仪器有限公司;qEx-DNA/RNA 病毒核酸提取试剂(T138)购自西安天隆科技有限公司;RV-A 和 NV GI, NV GII 三重核酸检测试剂盒(A2593)购自北京卓诚惠生生物科技股份有限公司。

### 2 标本来源

按照《山东省病毒性腹泻监测工作方案》要求,2020年济宁市每个县市区每月采集3~5份腹泻病例标本,送至济宁市疾病预防控制中心实验室进行检测。

### 3 诺如病毒实验室检测

利用全自动核酸提取仪进行核酸提取,利用商品化实时荧光定量 PCR 检测试剂盒进行诺如病毒 GI 型和 GII 型检测。

### 4 基因测序和分析

对诺如病毒 GI 型和 GII 型阳性样本核酸进行 VP1 区和 RdRp 区扩增,扩增引物详见表 1。扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行核苷酸序列测定。利用 Norovirus Typing Tool Version 2.0 软件对序列进行基因型分析。利用 MEGA 7.0.14 软件进行序列比对后,进行相似性分析并构建 VP1 和 RdRp 基因进化树。

表 1 诺如病毒基因型扩增引物

Table 1 Amplification primers for Norovirus genotyping

诺如病毒	引物名称	引物序列
GI 型	Mon432	5'-TGGACICGYGGICCYAAYCA-3'
	G1SKR	5'-CCAACCCARCCATTRTACA-3'
GII 型	Mon431	5'-TGGACIAGRGGICCYAAYCA-3'
	G2SKR	5'-CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT-3'

### 5 统计学分析

利用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,利用  $\chi^2$  检验进行组间比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结果

### 1 诺如病毒核酸检测结果

2020年济宁市共检测病毒性腹泻标本512份,诺如病毒阳性66份,阳性率为12.89%。其中诺如病毒GI型阳性6份,阳性率为1.17%,占比9.09%,诺如病毒GII型阳性60份,阳性率11.72%,占比为90.91%。

其中,男性诺如病毒阳性率为12.62%(39/309),女性为13.30%(27/203),不同性别间诺如病毒阳性率差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.05, P = 0.82$ )。不同年龄组间, $\leq 1$ 岁年龄组、1~5岁、16~60岁和 $\geq 61$ 岁年龄组诺如病毒阳性率较高,分别为17.21%(21/122)、11.43%(8/70)、14.37%(24/167)和13.70%(10/73);而6~15岁年龄组诺如病毒阳性率最低为3.75%(3/80)。 $\leq 1$ 岁、16~60岁和 $\geq 61$ 岁年龄组诺如病毒阳性率均高于6~15岁年龄组( $\chi^2 = 8.365, P < 0.01; \chi^2 = 6.267, P < 0.05; \chi^2 = 4.859, P < 0.05$ )。

### 2 诺如病毒基因型分布

对66份诺如病毒阳性标本G分型和P分型,成功分型40份,其中分型GI型3株,GII型37株。40株诺如病毒分为10种不同的基因型,其中GII.4[P31]和GII.4[P16]基因型占比最高,分别为37.50%(15/40)和22.50%(9/40);其次是GII.6[P7]和GII.2[P16]基因型,占比分别为15.00%(6/40)和10.00%(4/40);而GI.3[P10]、GI.3[P13]、GI.4[P10]、GIX.1[GII.P15]、GII.3[P12]、GII.4[P7]基因型均仅检出1株,结果说明2020年在济宁市至少流行10种不同基因型的诺如病毒,其中主要流行的是GII.4[P31]和GII.4[P16]基因型。

### 3 诺如病毒 VP1 基因进化树分析

利用济宁市40株诺如病毒VP1基因构建进化树。进化树分析结果与G基因型分析结果一致。在进化树上,3株GI型诺如病毒VP1基因位于同一进化分支;37株GII型诺如病毒VP1基因位于另一进化分支,4株GII.2基因型位于同一进化小支,1株GII.3基因型和1株GIX.1基因型均单独成簇,24株GII.4基因型位于同一进化小支,7株GII.6基因型位于同一进化小支。位于同一进化小枝的15株GII.4[P31]基因型分为6个进化簇;位于同一进化小枝9株GII.4[P16]基因型分为6个进化簇,位于同一进化小枝6株GII.6[P7]基因型分为4个进化簇,位于同一进化小枝4株GII.2[P16]基因型分为4个进化簇。见图1。

### 4 诺如病毒 VP1 基因相似性分析

济宁市40株诺如病毒VP1基因之间相似性为64.71%~100%,平均遗传距离为0.18。37株诺如病毒GII型VP1基因之间相似性为68.49%~100%,平均遗传距离为0.16。4株GII.2基因型VP1基因之间相似性为96.93%~99.32%,平均遗传距离为0.02。24株GII.4基因型VP1基因之间相似性为92.15%~100%,平均遗传距离为0.03。7株GII.6基因型VP1基因之间相似性为98.98%~100%,平均遗传距离为0.005。见图2。

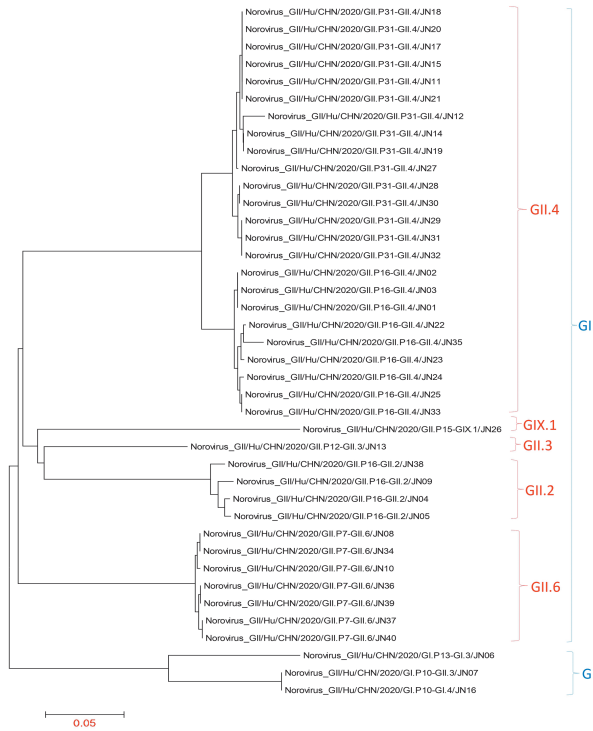


图 1 诺如病毒 VP1 基因进化树分析  
Fig. 1 Phylogenetic trees based on VP1 nucleotide sequences of Norovirus

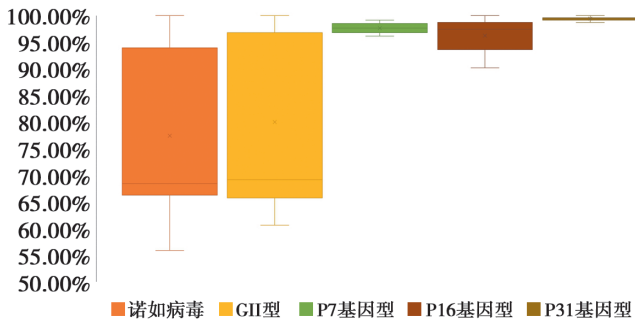


图 2 诺如病毒 VP1 基因相似性分析  
Fig. 2 Similarity analysis of VP1 gene of Norovirus

### 5 诺如病毒 RdRp 基因进化树分析

利用济宁市 40 株诺如病毒 RdRp 基因构建进化树。进化树分析结果与 P 基因型分析结果一致。在进化树上, 3 株 GI 型诺如病毒 RdRp 基因位于同一进化分支; 37 株 GII 型诺如病毒 RdRp 基因位于另一进化分支, 7 株 P7 基因型位于同一进化小支, 1 株 P12 基因型和 1 株 P15 基因型均单独成簇, 13 株 P16 基因型位于同一进化小支, 15 株 P31 基因型位于同一进化小支。位于同一进化小枝 15 株 GII. 4[P31] 基因型分为 2 个进化簇; 位于同一进化小枝 9 株 GII. 4[P16] 基因型分为 2 个进化簇, 位于同一进化小枝 6 株 GII. 6 [P7] 基因型分为 2 个进化簇, 位于同一进化小枝 4 株 GII. 2[P16] 基因型分为 2 个进化簇。见图 3。

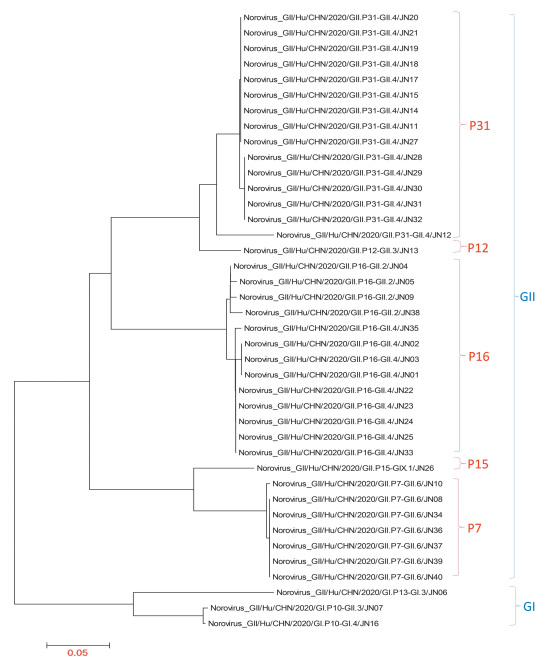


图 3 诺如病毒 RdRp 基因进化树分析  
Fig. 3 Phylogenetic trees based on RdRp nucleotide sequences of Norovirus

### 6 诺如病毒 RdRp 基因相似性分析

济宁市 40 株诺如病毒 RdRp 基因之间相似性为 58.13%~100%, 平均遗传距离为 0.19。37 株诺如病毒 GII 型 RdRp 基因之间相似性为 69.77%~100%, 平均遗传距离为 0.16。7 株 P7 基因型 RdRp 基因之间相似性为 99.52%~100%, 平均遗传距离为 0.001。13 株 P16 基因型 RdRp 基因之间相似性为 97.57%~100%, 平均遗传距离为 0.01。15 株 P31 基因型 RdRp 基因之间相似性为 94.69%~100%, 平均遗传距离为 0.01。见图 4。

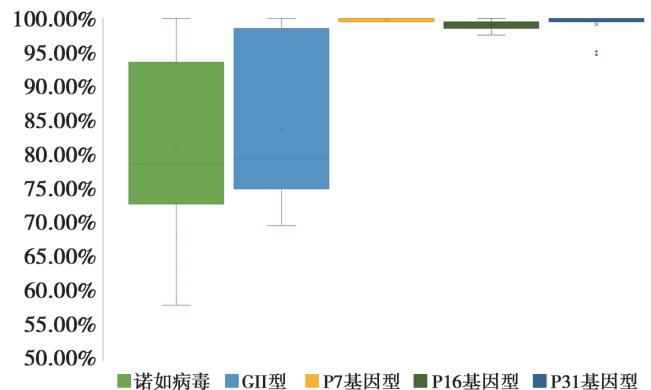


图 4 诺如病毒 RdRp 基因相似性分析  
Fig. 4 Similarity analysis of RdRp gene of Norovirus

### 讨论

诺如病毒在全球普遍流行, 是引起腹泻的主要病原体<sup>[9]</sup>。然而, 不同国家不同地区诺如病毒流行特征不同, 2020 年济宁市腹泻病例中诺如病毒阳性率为

12.89%(66/512), 低于北京市、上海市、深圳市和乌鲁木齐市等地区的阳性率<sup>[10-13]</sup>, 高于江苏省和菏泽市的阳性率<sup>[14-15]</sup>。我国主要流行的是诺如病毒 GII 型和 GII 型, 2020 年诺如病毒 GII 型和 GII 型在济宁市均有流行, 但以诺如病毒 GII 为主, 监测结果与北京市、上海市、乌鲁木齐市和菏泽市一致<sup>[10-11, 13, 15]</sup>。

不同性别间诺如病毒阳性率检出率差异无统计学意义, 进一步说明诺如病毒感染无性别差异。不同地区不同年龄组诺如病毒阳性率差异很大, 揭阳市 60 岁以上人群中未检出诺如病毒<sup>[16]</sup>, 而深圳市 60~69 岁人群诺如病毒阳性率为 33.33%<sup>[12]</sup>。在济宁市各年龄组均有诺如病毒检出, 说明诺如病毒人群普遍易感, 济宁市 ≤1 岁年龄组诺如病毒阳性率最高, 与乌鲁木齐市检测结果相近<sup>[13]</sup>; 而济宁市 6~15 岁年龄组诺如病毒阳性率最低, 与深圳市检测结果相近<sup>[12]</sup>, 研究说明不同年龄组之间诺如病毒的易感性可能存在差异。

2016-2019 年中国主要流行的是 GII. 2[P16]基因型诺如病毒, 而 GII. 3[P12]、GII. 17[P17]、GII. 6[P7]和 GII. 4[P31]等基因型诺如病毒均有不同程度的流行<sup>[17]</sup>。本研究完成济宁市 2020 年 40 株诺如病毒分型, 济宁市流行 10 种基因型诺如病毒, 结果说明在济宁市流行的诺如病毒基因型复杂多样。其中 GII. 4[P31]和 GII. 4[P16]是主要流行的基因型, 占比高达 37.50%和 22.50%, 而广州市 2020 年诺如病毒 GII. 2[P16]基因型占比高达 86.11%, 而 GII. 4[P31]和 GII. 4[P16]占比仅为 3.70%和 0.93%<sup>[18]</sup>, 结果说明, 因气候、地理、环境等因素影响, 在我国南方和北方同一时间诺如病毒流行的基因型可能差距较大。

2019 年对诺如病毒的分型进行了更新, GII. 15[P15]基因型更名为 GIX. 1[GII. P15]基因型<sup>[19]</sup>, 2019 年山东省首次检出 GIX. 1[GII. P15]基因型<sup>[20]</sup>, 本研究在 2020 年济宁市的诺如病毒中也发现 GIX. 1[GII. P15]基因型。

进化树分析结果与基因分型结果一致, 在 VP1 基因进化树上, 济宁市同一基因型的 GII. 4[P31]、GII. 4[P16]、GII. 6[P7]和 GII. 2[P16]的 VP1 基因均可以分为多个进化簇, 说明同一基因型的诺如病毒 VP1 进化变异复杂多样。在 RdRp 基因进化树上, 济宁市同一基因型的 GII. 4[P31]、GII. 4[P16]、GII. 6[P7]和 GII. 2[P16]的 RdRp 基因均分为 2 个进化簇, 说明同一基因型的诺如病毒 RdRp 基因进化变异多样性少于 VP1 基因。VP1 基因和 RdRp 基因相似性分析得到相同结果, 同一基因型的 RdRp 基因相似性更高, 平均遗传距离更低。

综上所述, 诺如病毒是引起腹泻的重要病原体, 人群普遍易感, 且诺如病毒基因型复杂多样, 应当提升实

验室的检验检测能力, 加强对诺如病毒的监测和基因型别的鉴定, 为诺如病毒的防控提供依据。

#### 【参考文献】

- [1] Lin SC, Bai GH, Lin PC, et al. Molecular and genetics-based systems for tracing the evolution and exploring the mechanisms of human norovirus infections[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 9093.
- [2] Zhang Q, Zhu S, Zhang X, et al. Recent insights into reverse genetics of norovirus[J]. *Virus Res*, 2023, 325: 199046.
- [3] 杨振兴, 陈威. 婴幼儿病毒性腹泻病原研究进展及其国内流行现状[J]. *应用预防医学*, 2022, 28(5): 496-501.
- [4] 李金松. 我国病毒性腹泻防控的策略、现状与挑战[J]. *热带病与寄生虫学*, 2023, 21(2): 61-64, 87.
- [5] 朱曦, 靳森, 段招军. 诺如病毒流行病学及疾病负担研究进展[J]. *疾病监测*, 2021, 36(8): 769-773.
- [6] 赵秀昌, 黄泽英. 我国诺如病毒流行及疾病负担研究进展[J]. *内科*, 2023, 18(3): 262-265.
- [7] 沈玲羽, 姜博, 严寒秋, 等. 诺如病毒基因分型研究进展[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(11): 1927-1932.
- [8] Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, et al. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes[J]. *J Gen Virol*, 2019, 100(10): 1393-1406.
- [9] Yu F, Jiang B, Guo X, et al. Norovirus outbreaks in China, 2000-2018: A systematic review[J]. *Rev Med Virol*, 2022, 32(6): e2382.
- [10] 韩思媛, 钟磊, 杜申君, 等. 2012-2019 年北京市海淀区某哨点医院病毒性腹泻监测结果分析[J]. *首都公共卫生*, 2022, 16(3): 169-172.
- [11] 方辉, 张红梅, 徐智寅, 等. 2014-2020 年上海市闵行区病毒性腹泻流行特征[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(8): 1163-1166.
- [12] 王文祥, 连宪强, 范秋华, 等. 2016-2021 年深圳市大鹏新区病毒性腹泻监测结果分析[J]. *应用预防医学*, 2022, 28(3): 289-291.
- [13] 沙比热木·托合塔木, 再克也木·迪力木拉提, 聂骄阳, 等. 2018-2020 年乌鲁木齐市婴幼儿病毒性腹泻监测及病原学分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2022, 34(4): 420-425.
- [14] 陈强, 戚宇华, 冷红英, 等. 2018-2019 年江苏省病毒性腹泻病原谱构成及流行特征分析[J]. *疾病监测*, 2022, 37(8): 1059-1062.
- [15] 刘冬, 李晓寒, 郭玉滨, 等. 菏泽市 2018-2021 年病毒性腹泻病原学监测结果及流行特征分析[J]. *医学动物防制*, 2023, 39(7): 625-628.
- [16] 黄晓平, 方琪, 俞憬, 等. 2017-2020 年揭阳市病毒性腹泻的病原学监测结果分析[J]. *热带医学杂志*, 2021, 21(7): 945-948.
- [17] 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特征分析[J]. *疾病监测*, 2021, 36(8): 774-779.
- [18] 刘静雯, 曾庆, 耿进妹, 等. 2017-2021 年广州市病毒性腹泻病原学特征分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2023, 39(9): 872-878.
- [19] Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, et al. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes[J]. *J Gen Virol*, 2019, 100(10): 1393-1406.
- [20] 傅忠燕, 刘莉, 孔翔羽, 等. 诺如病毒 GIX. 1[GII. P15]型山东株 SD20191568 全基因组序列特征分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(12): 1365-1369.