

网络出版时间:2024-02-01 16:04:46 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240201.1116.023

◇预防医学研究◇

2020—2022 年海南省诺如病毒胃肠炎暴发疫情 分子流行特征分析

曾云婷^{1*}, 陈海云^{1*}, 李丹丹¹, 杨艳辉², 靳 淼², 黄 琼³, 崔 蕾¹, 潘正帆¹, 任莉娜¹, 遇晓杰¹

摘要 目的 了解海南省 2020—2022 年诺如病毒暴发疫情分子流行特征及诺如病毒流行株基因组进化情况。方法 收集 2020 年 1 月至 2022 年 12 月诺如病毒暴发信息及标本,应用实时荧光反转录聚合酶链式反应对样本进行诺如病毒检测,阳性样本通过 RT-PCR 扩增、测序和序列分析;对其中 8 株诺如病毒毒株进行基因组扩增和序列分析。结果 2020 年 1 月至 2022 年 12 月,共报告胃肠炎暴发 39 起,通过检测确定诺如病毒引起的暴发共 25 起,主要发生在托幼机构和学校(20/25,80%)。诺如病毒暴发主要集中在海口周围县(东北部),包括定安(5 起)、文昌(4 起)、澄迈(4 起)和临高(3 起);其次集中在中西部,包括白沙(2 起)、乐东(2 起)和东方(3 起);东南部万宁 1 起。2~17 岁诺如病毒阳性构成比男性高于女性,大于 55 岁年龄组诺如病毒阳性构成比女性高于男性,18~40 岁阳性检出性别与职业相关。根据 RT-PCR 分型及测序,13 起诺如病毒暴发获得分型结果,均为 GⅡ组诺如病毒,检出 4 种基因型,GⅡ.2[P16]为主要流行株,占 60%(9/13),其他 3 种基因型为 GⅡ.4 Sydney[P31](15.4%,2/13)和 GⅡ.4 Sydney[P16](7.7%,1/13)和 GⅡ.3[P12](7.7%,1/13)。进一步对 8 株诺如病毒基因组分析,仍与先前毒株处于同一份分支,且均出现一定数量氨基酸变异。结论 诺如病毒是引起海南地区胃肠炎暴发的主要病原,GⅡ.2[P16]为主要流行株。持续开展及加强该项监测为海南地区诺如病毒暴发疫情的防控提供科学依据。

关键词 诺如病毒;暴发监测;基因型;基因组分析

中图分类号 R 183.4

2023-10-17 接收

基金项目:广东省重点领域研发计划项目(编号:2019B111103001)

作者单位:¹ 海南省疾病预防控制中心,海口 570203

² 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所,北京 100052

³ 广东省疾病预防控制中心,广州 511430

作者简介:曾云婷,女,主管技师;

任莉娜,女,主任技师,责任作者,E-mail: cimigo2004@163.com

遇晓杰,女,主任医师,责任作者,E-mail: yxjie2008@sina.com

* 对本文具有同等贡献

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)02-0336-08
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.02.025

诺如病毒(*norovirus*, NoV)单股正链 RNA 病毒,属于杯状病毒科(Caliciviridae)诺如病毒属(*Norovirus*),全长约 7.7 kb。NoV 基因组包括 3 个开放读码框(open reading frames, ORFs)。ORF1 编码包括 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RdRp)在内的非结构蛋白;ORF2 编码主要结构蛋白(VP1);ORF3 编码次要结构蛋白(VP2)^[1]。根据 VP1 氨基酸序列的差异,NoV 可分 10 个基因组(genogroup, GI-GX),其中 GI、GII、GIV、GVIII 和 GIX 是感染人的基因组,引起人急性胃肠炎(acute gastroenteritis, AGE)的主要基因组为 GI 和 GII。

NoV 是引起世界人 AGE 暴发流行的最重要病原,感染所有年龄组^[2-3]。据估计,NoV 感染占全球 AGE 病例的 18%;所有胃肠炎暴发中,50% 由诺如病毒引起^[4]。该研究首次对海南地区开展 2020 至 2022 年 AGE 暴发 NoV 的 3 年连续监测并确定其分子流行特征,为海南省 NoV 暴发的预防和控制提供科学依据并完善数据资料,为下一步开展海南省病毒性腹泻网络监测工作打下基础。

1 材料与方法

1.1 海南省胃肠炎暴发监测 《诺如病毒感染暴发调查和预防控制技术指南(2015 版)》指出,NoV 暴发定义为 3 d 内同一场所发生 3 例及以上急性胃肠炎病例,其中至少 2 例 NoV 实验室诊断病例;AGE 定义为 24 h 内出现 3 次及以上大便和/或 2 次呕吐。2020 年 1 月至 2022 年 12 月,海南省疾控中心收到 8 个市/县疾控中心(定安县、文昌市、澄迈县、临高县、白沙县、乐东县、东方市和万宁市)报送的胃肠炎暴发中采集的肛拭子标本及相关流行病学、临床信息。海南省疾病预防控制中心对标本进行 NoV 检测和基因分型。

1.2 病毒核糖核酸的提取 肛拭子样品加入 2 ml 磷酸缓冲液,漩涡振荡混匀,取 200 μl 上清液,使用

西安天隆 qEx-DNA/RNA 病毒核酸提取试剂盒进行初筛,用罗氏公司提供的 High Pure Viral RNA Kit 进行待测序样品的提取核酸。

1.3 NoV 检测和分型 采用实时荧光诺如病毒检测试剂盒(江苏硕世生物科技股份有限公司)对样本进行分型检测,选择 CT 值 ≤ 30 的阳性样本用另一实时荧光诺如检测试剂盒(深圳生科原生物有限公司)进行复检,以备扩增测序待用。待测序样本采用分型 RT-PCR 扩增,对聚合酶(ORF1)和衣壳区(ORF2)基因片段同时进行分型,使用一步法 RT-PCR 试剂盒 OneStep RT-PCR kit(德国凯杰公司,货号 210212),引物 MON432 和 G1SKR 对 GI 组 NoV 分型,MON431 和 G2SKR 对 GII 组 NoV 分型(ref)。反应条件:42 ℃、30 min;95 ℃、15 min;40 个循环包括 95 ℃、1 min、50 ℃、1 min 和 72 ℃、1 min;72 ℃、10 min。

1.4 基因组扩增 real-time RT-PCR 检测阳性但 CT 值高于 30 以上的样品因其病毒载量较低测序很难成功等原因,故成功获得了 13 起暴发的测序和分型。根据全国流行的情况,G II.2[P16]4 株、G II.3[P12]2 株和 G II.4 Sydney[P31]为主要的流行株,对这 3 种基因型 8 株毒株进行扩增,其方法和引物序列如文献所示^[5]。

1.5 测序和序列分析 RT-PCR 产物送北京天一辉远生物科技有限公司。使用 ABI 3730XL 测序。测序结果应用 DNASTar V7.10 进行序列拼接,应用 MEGA 5.0 软件进行比对和系统进化分析。

1.6 关键氨基酸位点分析 利用 MAFFT 软件进行多序列比对对齐;利用 MEGA 5.0 软件将核苷酸序列翻译成氨基酸序列,并对关键位点进行比对分析;利用 WebLogo 3 工具将关键氨基酸位点分析结果可视化,每个氨基酸的字体大小与每个位置的保守百分比成比例。底部数字表示氨基酸位置,以不同颜色表示活性位点(紫色)、预测的抗体结合位点(红色)和 HBGA 结合位点(绿色)。氨基酸根据其化学性质而具有颜色:极性氨基酸(G、S、T、Y、C)显示为绿色,中性(Q、N)显示为紫色,碱性(K、R、H)显示为蓝色,酸性(D、E)显示为红色,疏水性(A、V、L、I、P、W、F、M)氨基酸显示为黑色。

1.7 统计学处理 利用 Excel 2019 整理数据、绘制图表,用 Arc GIS 软件进行地图绘制,采用描述性统计学方法对疫情数据进行分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流行病学情况 2020 – 2022 年海南省共收集胃肠炎暴发 39 起,根据 real-time RT-PCR 检测结果,按照监测暴发定义来自中国疾控中心发布的《诺如病毒感染暴发调查和预防控制技术指南(2015 版)》,确认 NoV 暴发 25 起(64.1%,25/39),其中 GI、GII、GI/GII 混合引起的暴发数分别为 3 起、21 起和 1 起。NoV 暴发数最多出现在 2021 年 2 月(4 起),其次是 2020 年 7 月和 9 月(各 3 起)(图 1)。根据场所分布,NoV 暴发主要集中在托幼机构和学校(幼儿园 15 起、小学 3 起、中学 2 起),占 80.0%;居民区 2 起,餐点、建筑工地和养老院各 1 起。根据地理分布(图 2),NoV 暴发主要集中在海口周围县(东北部),包括定安(5 起)、文昌(4 起)、澄迈(4 起)和临高(3 起);其次集中在中西部,包括白沙(2 起)、乐东(2 起)和东方(3 起);东南部万宁 1 起。

在 25 起 NoV 引起的胃肠炎疫情中,共计检出 NoV 阳性样本 119 例,其中 GI 9 例、GII 110 例,2 ~ 6 岁 NoV 阳性 76 例(含 GI 2 例),男性构成比 65.79%(50/76),女性 34.21%(26/76),其阳性构成比男性高于女性,经 χ^2 检验, $P < 0.05$;7 ~ 17 岁阳性 14 例,男性构成比 71.43%(10/14),女性 28.57%(4/14),其阳性构成比男性高于女性,经 χ^2 检验, $P < 0.05$;18 ~ 40 岁阳性 13 例,男性 5 例(建筑工地),女性 8 例(其中 7 例在幼儿园,1 例在居民区),与职业有关联;55 岁及以上人群阳性 16 例(含 GI 7 例),男性构成比 18.75%(3/16),女性 71.25%(13/16),其阳性构成比女性高于男性,经 χ^2 检验, $P < 0.05$ 。

2.2 基因型与流行病学特征 根据 RT-PCR 分型及测序,13 起诺如病毒暴发获得分型结果,均为 G II 组诺如病毒,检出 4 种基因型,G II.2[P16]为主要流行株,占 60%(9/13),其他 3 种基因型为 G II.4 Sydney[P31](15.4%,2/13)和 G II.4 Sydney[P16](7.7%,1/13)和 G II.3[P12](7.7%,1/13)。G II.2[P16]集中在 2020 年 8 月至 2021 年 2 月,9 月检出最多,为 3 起。G II.4 Sydney[P31]在 2021 年 2 月和 2022 年 2 月检出各一起。G II.4 Sydney[P16]和 G II.3[P12]分别在 2021 年 6 月和 2022 年 3 月检出(图 1)。9 起 G II.2[P16]引起的暴发中,7 起发生在幼儿园,中学和建筑工地各 1 起;年龄主要集中在 2 ~ 6 岁(14/21),7 ~ 17 岁 3

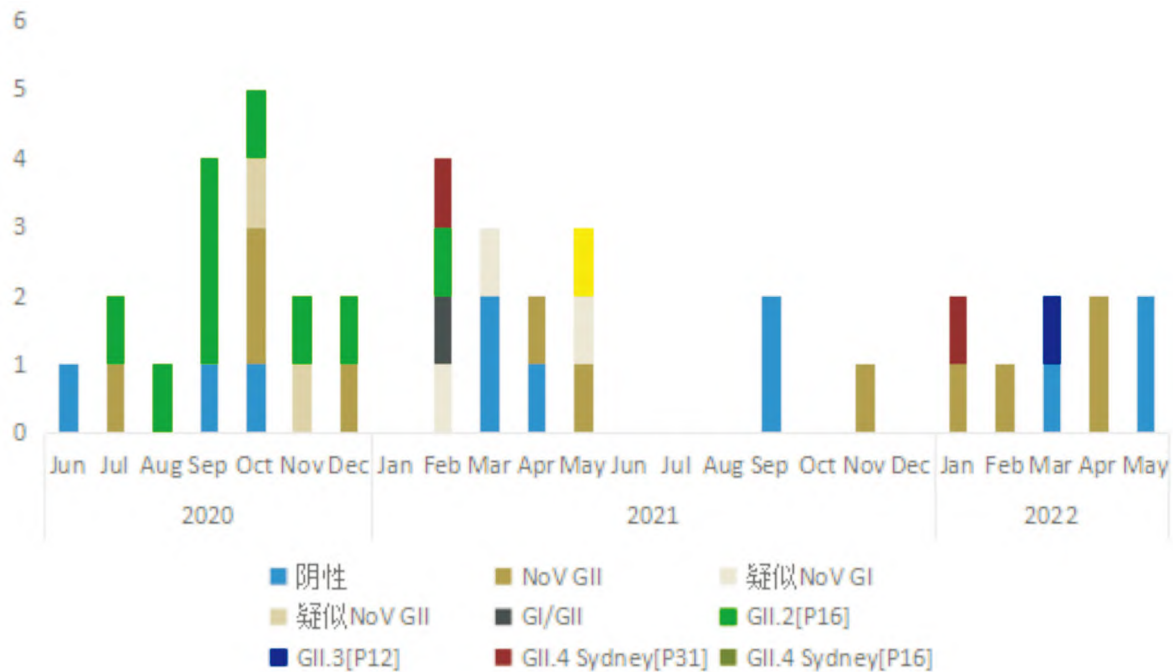


图1 2020-2022年海南省NoV胃肠炎暴发时间分布图



图2 2020-2022年海南省NoV胃肠炎爆发地区分布图

人,18~40岁4人。他基因型引起的暴发均发生在幼儿园,年龄均集中在2~6岁。

2.3 基因组进化分析 本研究获得8株诺如病毒基因组序列,包括G II.2[P16]4株、G II.3[P12]2株和G II.4 Sydney[P31]2株,除2株G II.3[P12]毒株来自同一起暴发外,其他均来自于不同起暴发。

G II.2衣壳区主要分为3个亚群,包括Cluster I(2008~2012)、Cluster II(2016~2012)和Cluster III(2016~2022),本研究4株G II.2[P16](2020年3株和2022年1株)与Cluster III划分为1个亚群(图3)。Reemerging G II. P16亚群进一步可以分为4个亚群Cluster I-IV,本研究分离的4株G II.2.[P16]在RdRp区与Cluster III划分为同一亚群(图4)。

GII. P31 RdRp区序列主要分为3个群。根据

RdRp区系统进化分析,本研究获得的2株G II.4 Sydney[P31]属于Cluster III(图4)。VPI也相应分为3个群(Cluster I-III),本研究获得的2株G II.4 Sydney[P31]属于Cluster III(图3)。

GII.3[P12]在衣壳区属于4个群,包括Cluster I(2008~2012)、Cluster II(2015~2016)、Cluster III(2020~2022)和Cluster III(2022),本研究获得的2株G II.3[P12]属于Cluster IV(图3)。GII.3[P12]在聚合酶区分为3个群(Cluster),本研究获得的2株GII.3[P12]属于Cluster III(2016~2022)(图4)。

2.4 基因组氨基酸位点分析

2.4.1 G II.3[P12] 本研究分别收集了72条G II.3 VP1和112条G II. P12 RdRp序列进行氨基酸位点变化比较。RdRp区有8个独特的氨基酸取代,其中氨基酸位点S4A(11.6%)、K76A(43.7%)和V91I(10.7%)取代频率较高,其他氨基酸均比较保守(图5A)。VP1区存在27个氨基酸取代。9个在NS结构区,其中T9A(40.2%)、D30E(40.2%)、V179I(47.2%)和D209G(45.8%)替代频率较高(图5B、C);5个在P1区,包括T228S(23.6%)、A476S(22.2%)、T478S(15.2%)、N510S(9.7%)和I547V(45.8%)(图5B);15个在P2区,其中V289T(22.2%)、A368S(47.2%)、G385D(40.2%)、H404N(26.3%)、A406S(19.4%)和S417A(22.2%)替代频率较高(图5C)。

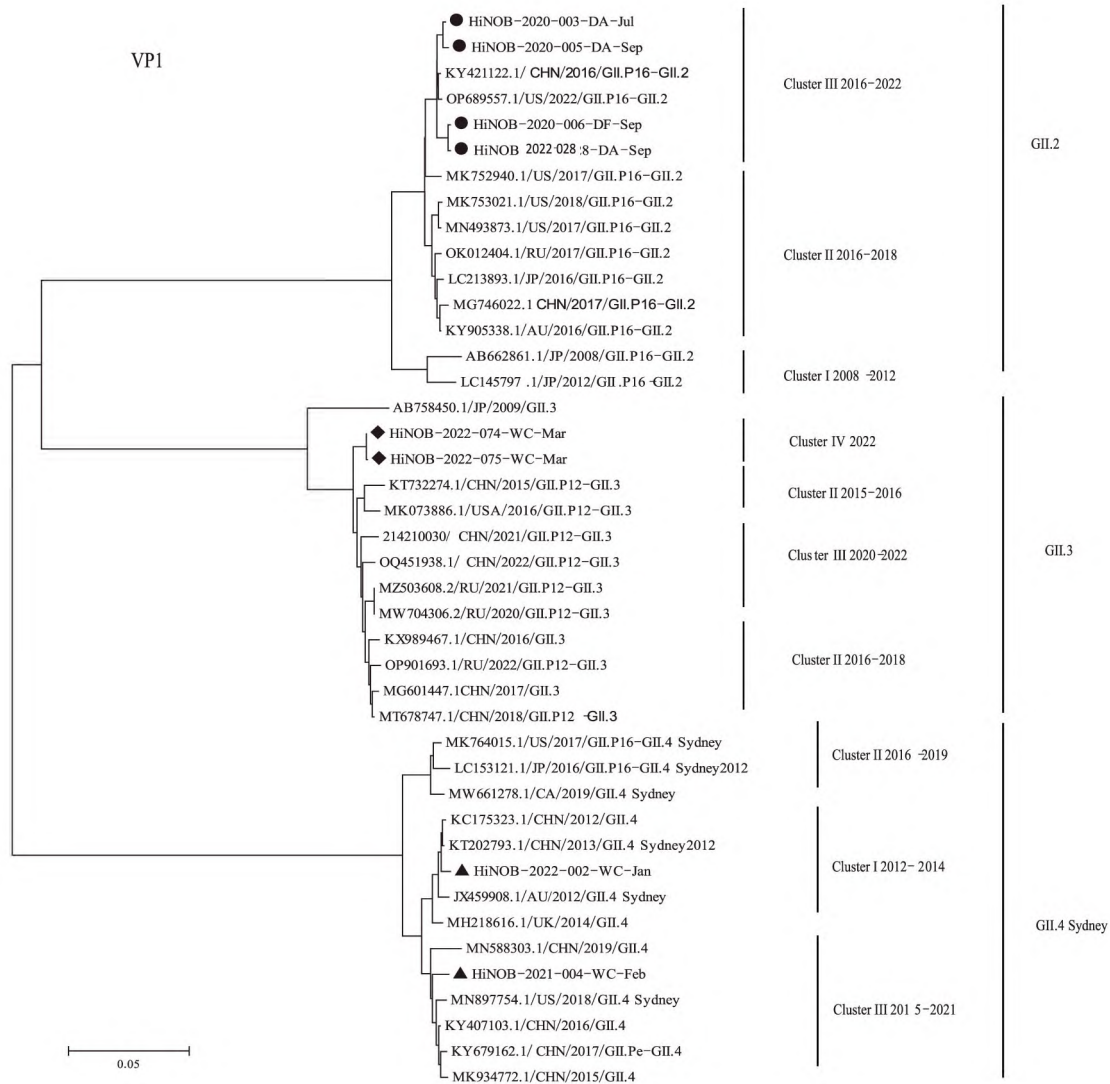


图3 2020-2022年海南省8株NoV毒株VP1区进化树

2.4.2 GII.2[P16] 本研究收集了91条GII.2VP1序列和112条GII.P16 RdRp序列进行氨基酸位点变异情况分析。结果表明,VP1区,P2亚区的G354A位氨基酸(23%);HBGAs结合位点I附近的V256I(28.5%)、I373V(8.7%)和N386S(6.5%);抗原表位D附近的T399V(5.4%)以及N区/S区的A7S1位氨基酸(23%)和N78S(14.2%)替换率较高(图5D)。GII.P16 RdRp区的氨基酸位点变化趋于保守,变异的位点主要分布在H123T(12.3%)、V125A(14.4%)和A360T(10.1%)(图5E)。

2.4.3 GII.4 Sydney[P31] 抗原表位分析显示,GII.4 Sydney[P31]的氨基酸变化主要分布在A表位,分别为H297R(39%)、N372D(45.9%)、N373H

(47.1%)。其他表位也存在变化,分别为B表位的M333V(43.6%);D表位的G393S(29.8%);E表位的P414H(29.8%)和H表位的S309N(39%)(图5F、G)。GII.4 Sydney[P31]在RdRp区氨基酸趋于保守,变异位点主要有15个,其中V179I(38%)、V274I(30%)和K357R(28.5%)替代率较高(图5H)。

3 讨论

根据先前的研究,我国NoV暴发报告主要集中在东南沿海地区^[6]。我国东南沿海地区冬季温度、相对湿度有助于诺如病毒的流行。其次,报告疫情最多的省份,广东、浙江、江苏和福建等省份,其高人口密度,也影响了NoV流行的强度。海南同属我国

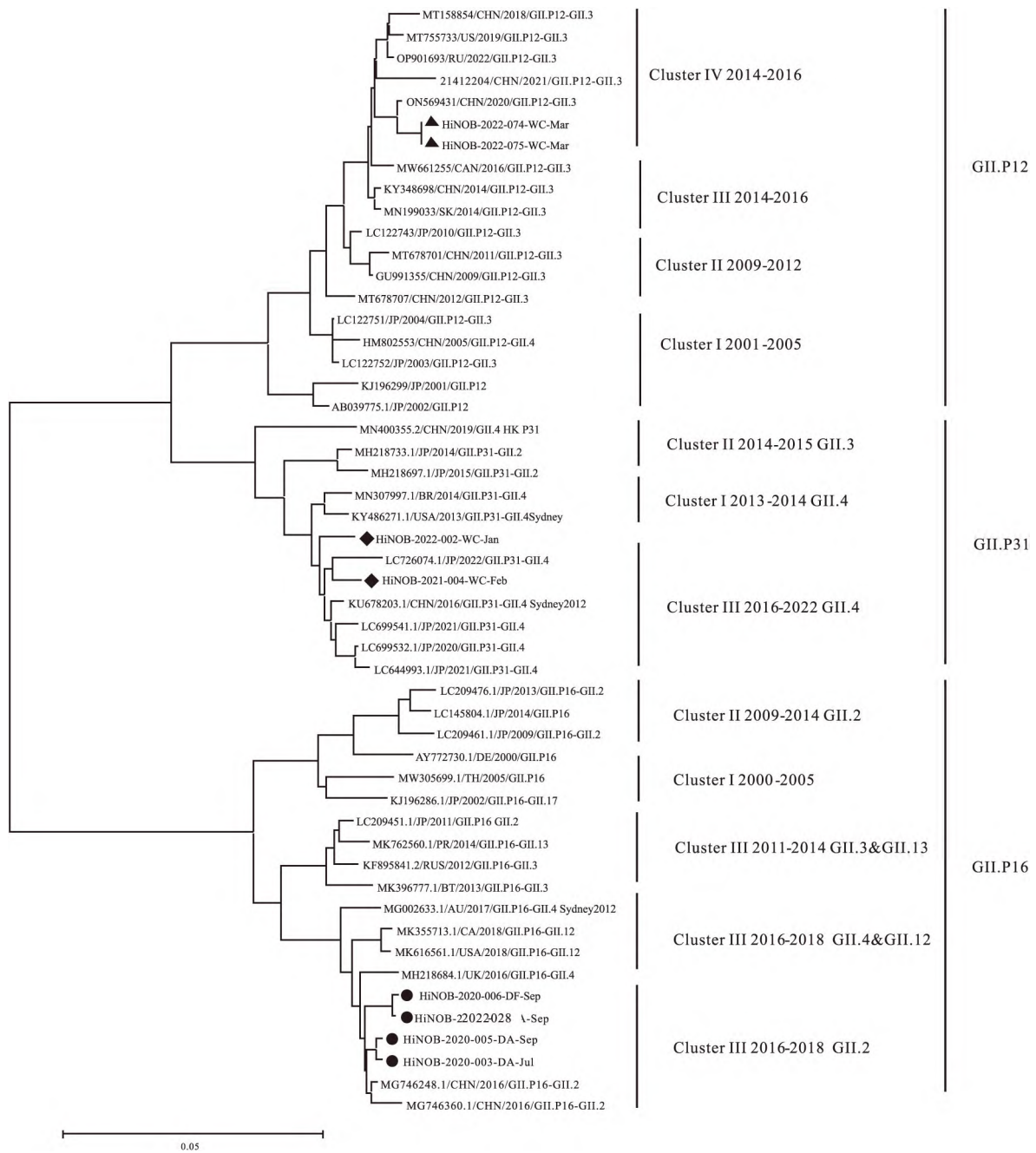


图4 2020-2022年海南省8株NoV毒株RdRP区进化树

沿海省份,本研究填补了海南 NoV 暴发监测的空白。与北半球其他国家的研究类似,我国 NoV 暴发的高峰主要发生在 10 月至次年 3 月^[7]。本研究与先前报道相一致,暴发主要集中在 10 至次年 3 月。

根据本研究,海南省 NoV 暴发主要发生在学校和托幼机构,在我国其他地区也观察到了类似的结果^[8]。但在西方国家 NoV 暴发报告主要来自医疗机构,如长期护理机构和医院^[9]。我国对老年人的护理主要由家庭成员提供,老年人去长期护理机构并不是普遍现象;相反,西方国家长期护理机构很普

遍。其次,我国和其他西方国家在监测系统的敏感性和覆盖面方面存在重大差异。在美国,除长期护理机构外,其他机构的疫情报告没有法律规定,因此这些机构的疫情报告不足^[10]。而我国有完善的学校和托幼机构传染病报告体系,因此,大部分 NoV 暴发报告来自学校和托幼机构。相对于其他暴发场所如养老院、医院、餐馆等报告少,可能是由于暴发收集的偏差所致。本研究也报告了来自餐点、建筑工地和养老院等场所,提示这些暴发场所也值得关注。

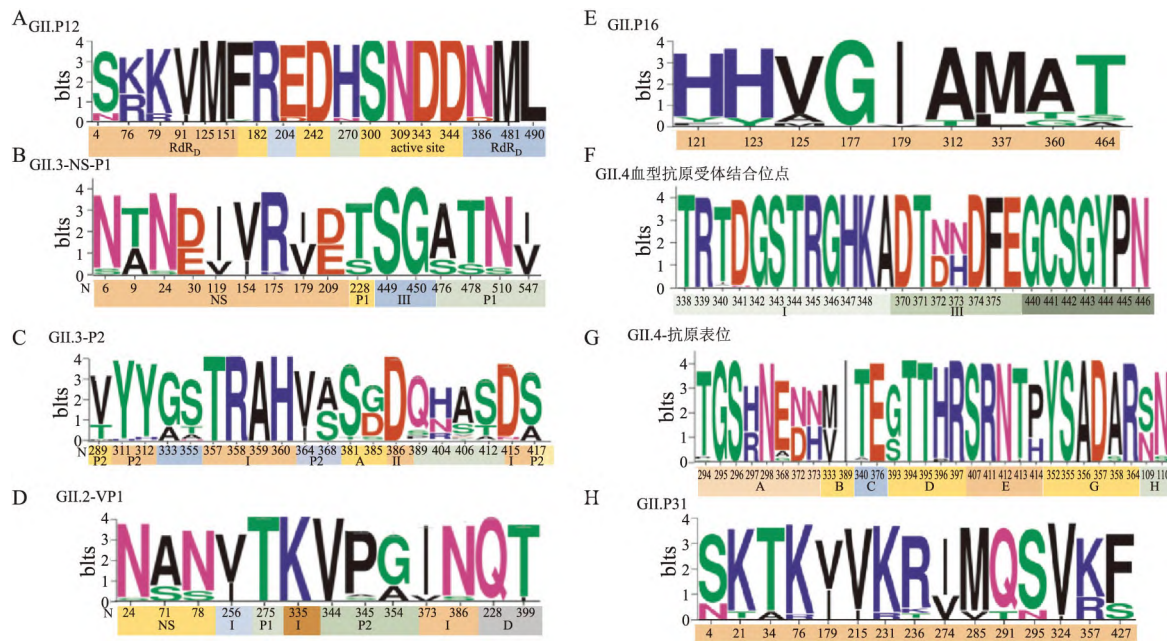


图5 2020-2022年海南省8株诺如病毒毒株基因点位分析图

A: G II. 3 [P12] RdRp 区氨基酸位点分析图; B: G II. 3 [P12] P1 区氨基酸位点分析图; C: G II. 3 [P12] P2 区氨基酸位点分析图; D: G II. 2 [P16] VP1 区氨基酸位点分析图; E: G II. 2 [P16] RdRp 区氨基酸位点分析图; F、G: G II. 4 Sydeny [P31] 抗原表位分析图; H: G II. 4 Sydeny [P31] RdRp 区氨基酸位点分析图

本研究根据不同年龄组及性别进行 NoV 阳性构成比的比较, 2~17 岁年龄段与大于 55 岁年龄段的阳性构成比存在性别差异, 前者男性高于女性, 后者女性高于男性, 可能不同年龄段不同性别行为特征不同, 导致在爆发地点的活动范围有所差异而引起的阳性构成比存在性别差异, 也可能是爆发场所的群体基础性别存在差异所致。18~40 岁年龄段, 因爆发场所不同, 职业群体存在性别差异, 导致 NoV 阳性检出率不同, 托幼机构职业群体多为女性, 建筑工地则多为男性, 由于本次研究获得这一年龄段阳性数据有限, 有待于进一步研究论证。

本研究与国内其他报道一致, 引起海南省 NoV 暴发的基因型是 4 种最为常见的基因型, 包括 G II. 2 [P16]、G II. 4 Sydney [P31]、G II. 4 Sydney [P16] 和 G II. 3 [P12]。G II. 4 基因型自 1995 年以来, 一直是导致全球流行的基因型。G II. 4 基因型每隔几年就有新的变异株出现, 引起全球新一轮 NoV 胃肠炎暴发流行。G II. 4 Sydney [P31] 基因型自 2012 年出现以来一直是全球流行优势株^[11-12]。根据美国 NoV 暴发监测, 2015 年至 2016 年, G II. 4 Sydney 变异株聚合酶基因型从 [P31] 转变为 [P16], 之后, 欧美国家暴发流行优势株为 G II. 4 Sydney [P16]^[5]。而我国处于 G II. 4 Sydney [P31] 和 G II. 4 Sydney [P16] 共流行的状态, 海南与我国其他地区报道一

致^[13]。G II. 4 基因型主导全球流行的同时, 也出现其他基因型造成区域性流行。在 2016 年, 新的重组株 G II. 2 [P16] 基因型在我国和亚洲国家出现并引起暴发急剧增加^[14-15], 但在欧美国家的暴发中不超过 20%^[5]。这可能与种族易感性有关, 也可能是因为 NoV 在中国的暴发多发生在学校, 而在北美、欧洲和澳大利亚的暴发多发生在医疗机构, 包括老年人的长期护理机构^[9]。在本研究中也检测到了 G II. 3 基因型引起的暴发。G II. 3 型 NoV 是检测到的第二常见基因型, 与引起所有年龄段人群 AGE 的 G II. 4 型 NoV 不同, G II. 3 基因型主要导致 5 岁以下儿童的 AGE, 提示可能具有持续的终身保护^[16]。

根据基因组进化分析, 引起海南 NoV 暴发的主要流行株 G II. [P16] 与引起我国 16/17 年暴发增加的 G II. 2 [P16] 仍然同属一簇, 提示 G II. 2 [P16] 自 16 年出现以来, 仍然处于主导地位。根据氨基酸变异位点分析, 氨基酸变异变化不大。目前, RdRp 区功能研究尚不清楚, 还需要更进一步的研究探明不同结构蛋白区域突变的表型, 以更好理解它们与传播性和大流行影响的联系。

本研究开展的时间正值新冠肺炎疫情流行和防控期间, 根据研究报道, 非药物干预措施, 限制社交距离和采取个人防护措施都通过减少与病原体的接触有效遏制了疾病的传播, 如 NoV^[17]。但有研究预

测,若解除接触限制,NoV引起的爆发疫情可能会回升至新冠肺炎疫情前的水平甚至有可能超过原先水平^[18]。海南省将通过NoV爆发持续监测以不断完善相关的研究数据,及时了解本省NoV暴发的分子流行病学特征及流行株基因组变异规律,对今后海南省NoV疫情防控策略的加强与调整提供科学依据。

参考文献

- [1] Robilotti E, Deresinski S, Pinsky B A. Norovirus[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(1):134-64.
- [2] de Graaf M, van Beek J, Koopmans M P. Human norovirus transmission and evolution in a changing world[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(7): 421-33
- [3] Zhou H L, Zhen S S, Wang J X, et al. Burden of acute gastroenteritis caused by norovirus in China: a systematic review[J]. *J Infect*, 2017, 75(3): 216-24.
- [4] Wang X, Wei Z, Guo J, et al. Norovirus activity and genotypes in sporadic acute diarrhea in children in shanghai during 2014-2018[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2019, 38(11): 1085-9.
- [5] Cannon J L, Barclay L, Collins N R, et al. Genetic and epidemiologic trends of norovirus outbreaks in the united states from 2013 to 2016 demonstrated emergence of novel GII.4 recombinant viruses[J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(7): 2208-21.
- [6] Zhai M Y, Ran L, Wang J, et al. Epidemiological characteristics and spatiotemporal distribution patterns of human Norovirus outbreaks in China, 2012-2018[J]. *Biomed Environ Sci*, 2023, 36(1): 76-85.
- [7] Ahmed S M, Lopman B A, Levy K. A systematic review and meta-analysis of the global seasonality of norovirus[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e75922.
- [8] Jin M, Wu S, Kong X, et al. Norovirus outbreak surveillance, China, 2016-2018[J]. *Emerg Infect Dis*, 2020, 26(3): 437-45.
- [9] Lee L E, Cebelinski E A, Fuller C, et al. Sapovirus outbreaks in long-term care facilities, Oregon and Minnesota, USA, 2002-2009[J]. *Emerg Infect Dis* 2012, 18(5): 873-6.
- [10] Barclay L, Park G W, Vega E, et al. Infection control for norovirus[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(8): 731-40.
- [11] Zhu X, He Y, Wei X, et al. Molecular epidemiological characteristics of gastroenteritis outbreaks caused by Norovirus GII.4 Sydney [P31] strains - China, October 2016-December 2020[J]. *China CDC Wkly*, 2021, 3(53): 1127-32.
- [12] Leshem E, Wikswo M, Barclay L, et al. Effects and clinical significance of GII.4 Sydney norovirus, United States, 2012-2013[J]. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19(8): 1231-8.
- [13] Ao Y, Lu L, Xu J. Emergence of GII.4 Sydney[P16]-like Norovirus-associated gastroenteritis, China, 2020-2022[J]. *Emerg Infect Dis*, 2023, 29(9): 1837-41.
- [14] Lu J, Fang L, Sun L, et al. Association of GII. P16-GII. 2 recombinant norovirus strain with increased norovirus outbreaks, Guangdong, China, 2016[J]. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23(7): 1188-90.
- [15] Sakon N, Komano J, Tessmer H L, et al. High transmissibility of norovirus among infants and school children during the 2016/17 season in Osaka, Japan[J]. *Euro Surveill*, 2018, 23(6): 18-29.
- [16] Fu J, Ai J, Bao C, et al. Evolution of the GII.3[P12] Norovirus from 2010 to 2019 in Jiangsu, China[J]. *Gut Pathog*, 2021, 13(1): 34.
- [17] Wang L P, Han J Y, Zhou S X, et al. The changing pattern of enteric pathogen infections in China during the COVID-19 pandemic: a nation-wide observational study [J]. *Lancet Reg Health West Pac*, 2021, 16(10): 268.
- [18] O'Reilly K M, Sandman F, Allen D, et al. Predicted norovirus resurgence in 2021-2022 due to the relaxation of nonpharmaceutical interventions associated with COVID-19 restrictions in England: amathematical modeling study[J]. *BMC Med*, 2021, 19(1): 299.

The molecular epidemiological characteristics of the gastroenteritis outbreaks caused by norovirus in Hainan Province, 2020-2022

Zeng Yunting¹, Chen Haiyun¹, Li Dandan¹, Yang Yanhui², Jin Miao²,

Huang Qiong³, Cui Lei¹, Pan Zhengfan¹, Ren Lina¹, Yu Xiaojie¹

(¹Hainan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Haikou 570203;

²National Institute For Viral Disease Control and Prevention, China CDC, Beijing 100052;

³Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 511430)

Abstract Objective To understand the molecular epidemiological characteristics of *Norovirus* outbreaks and the genome evolution of *Norovirus* epidemic strains in Hainan Province from 2020 to 2022. **Methods** The information and samples have been collected from the *norovirus* outbreaks from 2020 to 2022. *Norovirus* was detected by using the real-time PCR in these samples, then the detected sequences were amplified and analyzed. The *Norovirus* sequences of 8 strains had been amplified and analyzed. **Results** From 2020 to 2022, 39 gastroenteritis outbreaks were reported, and 25 outbreaks caused by *Norovirus* which mainly occurred in childcare institutions and schools (20/25, 80%). The *Norovirus* outbreaks were mainly concentrated in counties around Haikou (northeast), which

including Ding'an (5 cases), Wenchang (4 cases), Chengmai (4 cases), and Lingao (3 cases); following by western regions which included Baisha (2 cases), Ledong (2 cases), and Dongfang (3 cases). 1 case was in Wanning in the southeast. Among individuals aged 2–17, the positive proportion of *Norovirus* in males was higher than that in females. Among individuals aged over 55, the proportion of *Norovirus* positive in females was higher than that in males. The gender of positive samples among individuals aged 18–40 was related to their profession. According to RT-PCR typing and sequencing, GII group *Norovirus* were classified in 13 outbreaks. There were 4 genotypes detected. GII.2 [P16] was the main epidemic strain with 60% (9/13), and the other three genotypes were GII.4 Sydney [P31] (15.4%, 2/13) GII.4 Sydney [P16] (7.7%, 1/13) and GII.3 [P12] (7.7%, 1/13). Further genic analysis of 8 *Norovirus* strains showed that all of them were still in the same branch as the previous strain, and all exhibited a certain amount of amino acid variation. **Conclusion** *Norovirus* is the main pathogen of gastroenteritis outbreaks in Hainan province, and the main epidemic strain is GII.2 [P16]. It is necessary to continue to strengthen the monitoring that provides scientific evidence for the prevention and control of *norovirus* outbreaks in Hainan region.

Key words *Norovirus*; outbreak monitoring; genotype; genomic analysis

(上接第 335 页)

Exploring the mechanism of traditional Chinese medicine indirubin derivative E804 inhibiting the proliferation and migration of lung cancer A549 cells based on the Nrf2-HO-1/GPX4 pathway

Yuan Yujun¹, Cao Huahua², Zhao Min³, Luo Yuhui¹, Zhang Sumei⁴

(¹Clinical Laboratory, The Affiliated Hospital of Jiujiang University, Jiujiang 332000; ²Clinical Laboratory, The Traditional Chinese Medicine of Jiujiang, Jiujiang 332000; ³Pathology, The People's Hospital of Nanchang, Nanchang 330000; ⁴Dept of Molecular Biology and Biochemistry, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract **Objective** To investigate the effects of indirubin derivative E804 on proliferation and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells, and to elucidate the possible mechanism of Nrf2-HO-1/GPX4 pathway. **Methods** Lung cancer A549 cells were used as the cell model. The proliferation and migration of different specific inhibitors (Nec-1, CQ, Z-VAD, DFO, Fer-1 and Lip-1) in 0, 10 $\mu\text{mol/L}$ E804 and 10 $\mu\text{mol/L}$ E804 + groups were observed by MTT and cell scratch assay. The contents of reactive oxygen species (ROS) were detected by DCFH-DA fluorescence probe method, the contents of Fe^{2+} were detected by colorimetric method, the contents of reduced glutathione (GSH) were detected by spectrophotometry, and the contents of malondialdehyde (MDA) were detected by micromethod. The expression levels of SLC7A11, Transferrin, GPX4, SLC40A1, Nrf2 and HO-1 were detected by Western blot in cells of 0, 2.5, 5 and 10 $\mu\text{mol/L}$ E804 groups. **Results** Compared with the control group (0 $\mu\text{mol/L}$ E804), 2.5, 5 and 10 $\mu\text{mol/L}$ E804 significantly increased intracellular ROS, Fe^{2+} and MDA levels, and decreased intracellular GSH content ($P < 0.01$). Meanwhile, the expression levels of SLC7A11, GPX4, SLC40A1, Nrf2 and HO-1 significantly decreased ($P < 0.01$), and the expression level of Transferrin increased ($P < 0.05$). Compared with the 10 $\mu\text{mol/L}$ E804 group alone, the apoptosis inhibitor (Z-VAD) group and the ferroptosis inhibitor (DFO, Fer-1 and Lip-1) group could significantly reverse the inhibition of proliferation and migration of A549 cells by 10 $\mu\text{mol/L}$ E804 ($P < 0.01$). **Conclusion** E804 can induce ferroptosis and inhibit the proliferation and migration of A549 cells, which may be related to the inhibition of Nrf2-HO-1/GPX4 pathway.

Key words non-small cell lung cancer; Chinese medicine indirubin derivatives; ferroptosis; Nrf2-HO-1/GPX4 pathway