

· 综述 ·

Norwalk 和 Norwalk-like 病毒胃肠炎

张春芳 综述 金玉 审校

(兰州医学院第一附属医院儿科,甘肃 兰州 730000)

[中图分类号] R373 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2002)02-0158-03

诺瓦克病毒(Norwalk virus, NV)和诺瓦克样病毒(Norwalk-like viruses, NLVs)是引起人类急性病毒性胃肠炎(即无菌性胃肠炎)的重要病原,既往由于缺乏检测手段及 NV 不能在组织中培养,限制了其临床的深入研究,近年来随着分子生物学技术的发展,已成功地用重组杆状病毒系统表达 NV 结构蛋白,这种纯化的结构蛋白在体外形成的病毒颗粒与天然病毒的抗原性极为相似,使对 NV 的研究取得了新的突破。已证实 NV 在婴幼儿及大龄儿童中均有很高的感染率。本文就 NV 概况、流行病学特点、免疫学、分子生物学特征、临床表现及检测方法等最新进展进行综述。

1 概况

NV 是一种直径 27 nm 的小圆状结构病毒(SRSV),1968 年在美国 Norwalk 镇发生了一次胃肠炎暴发流行,后来在这些病人的粪便中首次发现了 NV,因此得名。此后,世界各地陆续又报道了多种性状类似的病毒,如美国的 NV, snow mountain (SMV), Hawaii virus(HV)等,英国的 Taunton virus, Southampton virus(SV)等,日本的 SRSV1-SRSV9-Japan 等,这些病毒的共同特点是:是急性无菌性胃肠炎的病原,形态微小,直径 23~24 nm,圆形,无包膜;Cscl 梯度离心测得浮力密度为 1.36~1.41 g/cm³,尚不能实验室培养。故统称为 NLVs 或小圆状结构病毒(small round-structured viruses, SRSVs),现归属于杯状病毒科(calicivirus)。NV 是这类病毒的原型代表株。

2 流行病学特点

NV 和 NLVs 的患者、隐性感染者及健康携带者

均可为传染源。主要传播途径为粪-口传播,原发场所所有学校、家庭、旅游区、医院、食堂、军队等,食用被病毒污染的食物如牡蛎、冰、鸡蛋、色拉及水等最常引起暴发性胃肠炎流行。据报道 1987 年到 1992 年间在日本 Kyushu 地区暴发的急性非细菌性胃肠炎中,有 4 次被证实与生食牡蛎密切相关^[1]。Schwab 等^[2]用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)的方法证实,NV 可以在贝类生物体内累积,且用消灭大肠杆菌的方法不能净化。此外,人-人接触传播、空气传播亦是 NV 和 NLVs 传播的途径,后者可由患者周围的人吸入含病毒的尘埃(患者排出的呕吐物在空气中蒸发)而传播。最近在荷兰等地的研究还发现,NLVs 感染者粪便中的 NLVs 和其周围供奶农场中牛粪便中的杯状样病毒密切相关,其氨基酸序列有约 75% 等同,提示动物亦可能为人类感染 NV 的传染源^[3,4]。

与轮状病毒相比,NV 多侵袭成年人和较大年龄儿童,具有症状较轻、自限性、易引起暴发流行和无明显季节性等特点,而轮状病毒多侵袭婴幼儿,毒力较强,发病有较明显的季节性(秋冬季),一般不造成暴发流行。1990 年 1 月至 1991 年 5 月,海湾战争中美国“沙漠风暴”行动中驻中东的 883 支部队中 61% 的人出现过至少 1 次急性胃肠炎流行。使用诺瓦克抗原对不同症状的人进行抽样检测,近期感染阳性率分别为:无症状者 3.0%,有症状者 9.5%,其中单纯呕吐者 23.5%,既呕吐又腹泻者 12.0%,单纯腹泻者 6.5%^[5]。但是,随着 NV 检测手段的不断改进,对 NV 感染的流行病学调查亦越来越深入,在美国等发达国家,NV 不但是造成急性胃肠炎暴发的首要病原,而且是儿童和成人散发病例的常见病因,在美国 NV 胃肠炎已占到 42%。1994 年 Judy 等^[7]对 154 例芬兰婴幼儿为期两年的调查结果显示,49% 的患儿至少有过 1 次 NV 感染的血清学反应,73%

[收稿日期] 2001-10-19; [修回日期] 2001-12-10
[作者简介] 张春芳(1973-)女,硕士,住院医师。

的患儿在 23 月龄前血中可检测到 NVIgG,而且 4~14 个月的婴幼儿中,NV 的感染率明显高于轮状病毒。在日本,冬季儿童病毒性胃肠炎的病原体主要是 SRSV 和轮状病毒,近年来,流行病学调查也显示 SRSV 的感染率已超过轮状病毒^[8]。表明在发病年龄上,NV 也是发达国家婴幼儿常见的感染病原之一。

3 免疫学特点

血清抗体检测研究表明,发达国家和发展中国家儿童感染 NV 而获得相应抗体的水平不一致,而成人普遍有较高的 NV 抗体水平,提示 NV 感染的普遍性。总体看来,NV 在发展中国家如孟加拉国、菲律宾、厄瓜多尔的人群感染率高于发达国家(如美国、英国等),感染年龄也较小。对血清不同种类的抗体及同种抗体不同亚型的研究显示:在儿童中,IgG 检出率高于 IgA,而在成人无差异;IgG₁ 在各年龄组中存在最为普遍,IgG₄ 次之,且仅见于成人组;IgG₃、IgG₂ 检出率依次降低,IgG₃ 可作为近期感染的标志。Tala^[9]对 135 例 4 岁以下巴西婴幼儿进行 NVLs 血清流行病学调查,用 ELISA 法测得 71% 病例 NLVs IgG 阳性,血清阳转率的高峰期在 13~24 月龄。自 1995 年我国方肇寅等^[10]首次报道 NV 感染后,国内相关研究也不断深入,1998 年靖宇等^[11]对北京地区人群 NLVs 血清抗体水平进行了调查,结果显示两种血清型的 NLVs 病毒(Norwalk, Mexico)在北京地区都相当普遍,重组 rNV(recombinant Norwalk Virus, rNV)和重组 rMX(recombinant Mexico Virus, rMX)特异性 IgG 抗体的总检出率分别达 88.8% 和 90.6%,二者抗体阳性率在人群中的分布也很相近;2 个月以内的婴幼儿抗体阳性率均高于 90%,这种抗体多为母传抗体;7~11 个月时抗体阳性率降至最低,随后迅速升高,1 岁时超过 65%,3 岁时超过 80%,8~9 岁时超过 98%。虽然和其他发展中国家一样 NV 的感染率较高,初次感染年龄较小,但我国尚未见 NV 胃肠炎暴发流行的报告,其相应抗体的增高可能与少量多次的接触保持了人群高抗体阳性率有关。NV 抗体没有明显的保护作用,尤其是长期免疫作用,感染前阴性和阳性的志愿者感染后发病情况无明显差异,而发病患者血清反应明显强于不发病者。

4 分子生物学特征

NV 为单链正股 RNA 病毒,其基因组序列全长为 7 624 个核苷酸[不包括长约 110 个碱基的 poly

(A)尾],碱基组成为:A 占 27.6%,T 占 24.4%,G 占 23.4%,C+G 占 48%^[12],包括 3 个开放读码框架(open reading frames, ORFs),ORF1 编码具有 RNA 多聚酶性质的非结构蛋白前体,ORF2 编码一种相对分子量(M_r)约为 58 000 的衣壳蛋白,这种蛋白可在体外自行组装成空壳状病毒颗粒,其外形和大小与天然病毒相似,有抗原性。此蛋白经胰蛋白酶裂解为 M_r 约为 32 000 和 30 000 的两个片段,其中 M_r 约为 32 000 的片段是病毒蛋白衣壳表面主要的抗原决定簇,ORF3 编码一种 M_r 约为 23 000 的蛋白质,是一种微小结构蛋白,与 NV 病毒颗粒和病毒颗粒的重组有关^[13]。

NVLs 成员庞杂,目前尚无系统的分类和命名,因此其同源性分析尤为重要。目前除公认的 NV, SMV, HV 等几种血清型外,在日本、英国等地也有不同的血清型。核酸序列测定表明,世界不同地区、不同时间流行的 NV 基因组 ORF1 的 RNA 多聚酶区相对保守,核苷酸、氨基酸序列等同率一般高于 60%,有的高达 90%,甚至 100%,而其他区域变异相对较多。目前, NV 还被分为 NV(I)和 MX(II)两个基因组^[14,15],前者包括 NV, Southampon virus(SV), Shield virus(DSV)等;后者包括 MX, HV, SMV, Toroto virus(TV), Bristol virus(BV)等。不同地区不同时间流行的基因型有所不同,如 1999 年在意大利流行的 SRSVs 主要是 Southampon virus(SV)和 Lordsdale virus(LV),分别属 I 和 II 基因组,其中 LV 更占优势(91.2%);在东英格兰主要是 grimshy-like virus(98%),属 II 型基因组^[6]。我国北京、太原两地的分子流行病学调查显示两地都存在至少两种血清型(NV, MX)的普遍感染^[11,16]。NV 的这种分子流行病学特点对于 NV 疫苗研究和预防 NV 胃肠炎暴发流行具有重要意义。

5 临床表现和治疗

各种 NLVs 胃肠炎临床表现与轮状病毒相似,主要症状为发热、恶心、呕吐、腹部痉挛性疼痛及腹泻,亦可伴随头痛、肌痛、咽痛等症状。儿童一般呕吐多见,而年长者腹泻症状更严重。Nakamura 等^[17]报道,在日本暴发的 1 次 644 例成人 NLVs 胃肠炎中,有 15 人出现眼睛不适,应予注意。散发的 NV 胃肠炎,由于症状较轻,一般不需住院治疗,常和其他非细菌性胃肠炎一样门诊对症处理即可。NV 更易引起暴发性流行,起病突然,大便为稀水便或水样便,无粘液脓血,24 h 内 4~8 次,持续 12~60 h,一般 48 h。病情多呈自限。对儿童及病情较重者,需住院补液、对症治疗,不需抗菌素,预后较好。

6 实验室诊断

6.1 免疫电镜法(IEM)

NV 被发现后很长一段时间内 ,电镜(EM)一直是检测的主要手段 ,具有直接、可靠的优点。IEM 同样可检测出恢复期患者血清中的病毒 ,但 IEM 的灵敏度较低 ,限制了它的使用 ,且价格昂贵 ,技术要求高。因此 ,IEM 不适于大规模流行病学调查。

6.2 放免(RIA)和生物素-亲和素法(RIA 法)

检测抗原与 IEM 法相比在灵敏度上没有明显差异 ,但用 RIA 法能检测出急性期和恢复期之间抗体升高 4 倍以上 ,对流行病学调查更有意义。RIA 法实验时间需 6 d ,同时还需要放射性同位素标记。美国疾病与控制中心(CDC)建立的生物素-亲和素免疫法 ,简化了实验方法 ,且灵敏度与 RIA 相当 ,成为检测 NV 抗原和抗体的标准方法。

6.3 酶链免疫法(ELISA)

此法特异性强 ,灵敏度高 ,诊断迅速 ,且较经济 ,是目前可广泛应用的检测方法。由于 NV 培养还未成功 ,原来用作试剂的病毒抗原数量受到限制 ,现在 ,用分子生物学技术已经可以人工重组 NV 的衣壳蛋白 ,ELISA 的发展不再受粪便标本中病毒数量的影响了。

6.4 杂交技术和逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)

RT-PCR 除了能更准确、灵敏地检测标本中的 NV ,尤其是低浓度的 NV 感染外 ,最大的优点在于可以进一步对病毒进行血清型和基因型的研究 ,不会受到获得分型单克隆抗体的限制 ,对流性病学研究具有重要意义。

7 预防

NV 的疫苗研制已取得重大进展。用重组杆状病毒表达的 NV 的病毒样颗粒作为疫苗 ,免疫小鼠和志愿者 ,均产生血清抗体 IgG ,在粪便中能检测到 IgA^[18]。应用转基因植物(烟叶、西红柿或土豆)表达 NV 样颗粒 ,志愿者食用可食部分后 ,亦能检测针对 NV 的 IgG 和 sIgA ,提示这种转基因植物可作为口服疫苗的候选物^[19]。现阶段 ,加强水源、食物的管理 ,切断粪-口途径仍为预防 NV 胃肠炎暴发流行的有效措施。

1992 in Kyushu , Japan : four outbreaks associated with oyster consumption [J]. Eur J Epidemiol , 1999 , 15(2) : 175 – 180 .

[2] Schwab KJ , Neil FH , Estes MK , et al . Distribution of Norwalk virus with shellfish following bioaccumulation and subquent depuration by detection using RT-PCR [J]. J Ford Prot , 1998 61(12) : 1674 – 1680 .

[3] Koopmana M , Vinje J , de Wit M , et al . Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in the Netherlands [J]. J Infect Dis , 2000 , 188(Suppl 2) : S262 – 269 .

[4] Dastjerdi AM , Gree J . The bovine Newbury agentically more closely related to human SRSVs than to animal caliciviruses [J]. Virology , 1999 , 254(1) : 1 – 5 .

[5] Kenneth C , Hyams . Norwalk virus infection among Desert Storm Troops [J]. J Infect Dis , 1993 , 167(4) : 986 – 987 .

[6] Maguire AJ , Green J , Brown DW , et al . Molecular epidemiology of outbreaks of gastroenteritis associated with small round-structured viruses in East Anglia , United Kindom , during the 1996-1997 season [J]. J Clin Microbiol , 1999 , 37(1) : 81 – 89 .

[7] Judy FL , Jose V , Timo V , et al . Detection of Norwalk virus or Norwalk-like virus infection in finish infants and young children [J]. J Infect Dis , 1994 , 169(6) : 1364 – 1367 .

[8] Inouye S , Yamashita K , Yamadera S , et al . Surveillance of viral gastroenteritis in Japan : pediatric cases and outbreak incidents [J]. J Infect Dis 2000 , 181(Suppl 2) : S270 – 274 .

[9] Tala AH , More CL , Lima AA , et al . Seroprevalence and seroincidence of Norwalk-like virus infection among Brazilian infants and children [J]. J Med Virol , 2000 , 61(1) : 117 – 124 .

[10] 方肇寅 ,温乐英 ,晋圣谨 ,等 . 在我国腹泻儿童中发现诺瓦克样病毒感染 [J]. 病毒学报 , 1995 , 11(3) : 215 – 219 .

[11] 靖宇 ,钱渊 ,王洛平 . 北京地区人群诺瓦克病毒血清抗体水平调查 [J]. 病毒学报 , 1998 , 14(4) : 322 – 327 .

[12] Jiang X , Wang M , Wang K , et al . Sequence and genomic organization of Norwalk virus [J]. Virology , 1993 , 195(1) : 51 – 61 .

[13] Glass PJ , Waite LJ , Ball JM , et al . Norwalk virus open reading from 3 encodes a minor structural protein [J]. J Virol , 2000 , 74(14) : 6581 – 6591 .

[14] Jiang X , Maston DO , Cubitt WD , et al . Genetic and antigenetic diversity of human caliciviruses (HuCVs) using RT-PCR and ELISAs [J]. Virol Gastroenteritis Arch Virol , 1996 , 12(Suppl) : 251 – 262 .

[15] Berke T , Golding B , Jiang X , et al . A phylogenetic analysis of caliciviruses [J]. J Med Virol , 1997 , 52(4) : 419 – 424 .

[16] 靖宇 ,钱渊 ,吴立平 ,等 . 太原部分人群诺瓦克样病毒血清抗体水平的调查 [J]. 中华儿科杂志 , 1999 , 37(9) : 559 – 561 .

[17] Nakamura N , Sugieda M , Miyamoto H . Clinical analysis on an outbreak of SRSV-gastroenteritis with 644 patients emerged in Shizuoka prefecture [J]. Kansenshogaku Zasshi , 1999 , 73(4) : 356 – 360 .

[18] Ball JM , Estes MK , Hardy ME , et al . Recombinant Norwalk virus-like particles as an oral vaccine [J]. Arch Virol , 1996 , 12(Suppl) : 243 – 249 .

[19] Tacket CO , Mason HS , Losonsky G , et al . Human immune responses to a novel virus vaccine delivered in transgenic potatoes [J]. J Med Dis , 2000 , 182(1) : 302 – 305 .

(本文编辑 : 俞燕)

[参 考 文 献]

[1] Ostu R . Outbreak of gastroenteritis caused by SRSVs from 1987 to