调查研究
Investigation

上海市贝类水产品诺如病毒污染状况及基因分型

吴立梦[a]，滕峥[b]，崔晓青[b]，王葳[b]，狄弘玮[b]，匡小舟[b]，任宏[c]，刘弘[d]，袁政安[e]，张曦[b]，林庆能[b]

上海市疾病预防控制中心 a.科研管理处 b.病原生物检定所 c.结核病艾滋病防治所 d.健康危害因素监测控制所 e.党委办公室，上海 200336

摘要：

[背景] 诺如病毒（NoV）是影响食品卫生与安全的重要污染物。贝类可富集环境水体中的病毒，是重要的食源性病原体传播载体。

[目的] 了解NoV在上海市贝类水产品中的污染状况，并对阳性株进行鉴定分型，为预防食源性疾病的发生，制定防控措施提供参考依据。

[方法] 采用实时荧光逆转录聚合酶链式反应法对2017—2019年上海地区采集的580份贝类水产品中NoV进行检测，用逆转录巢式聚合酶链式反应法对部分阳性样本病毒衣壳蛋白（VP）1区扩增片段进行分型分析。

[结果] 580份贝类样品中NoV检出率为8.97%，其中NoV GI型检出率为2.24%（13/580），NoV GII型检出率为5.86%（34/580），NoV GI和GII混合型检出率为0.86%（5/580）。四个季节的贝类水产品中NoV检出率的差异有统计学意义（χ^2=8.132，P=0.043），冬春季较高；不同种类贝类水产品NoV检出率差异有统计学意义（χ^2=14.152，P=0.049），以蚌科、牡蛎科为高。VP1区部分核酸序列分子系统进化分析显示，贝类水产品中可检测到NoV GII.2、3c、13、17共4个NoV GII型的基因亚型存在。1株GII.2型与参考株X81879同源性为88.8%；2株GII.3c型之间同源性为91.6%，与参考株AB385626同源性为87.1%~92.0%；1株GII.13型与参考株AY113106同源性为93.6%；1株GII.17型与参考株LC037415同源性为98.6%，与2014年发现的江苏南京株KU757049和上海株KT380915同源性分别为97.8%和97.4%。

[结论] 上海地区贝类水产品中存在NoV污染，且污染具有季节特点，以冬春季污染较严重；其基因型以GII型为主。

关键词：贝类水产品；诺如病毒；基因分型

Norovirus contamination and genotypes in shellfish in Shanghai WU Limeng[a], TENG Zheng[b], CUI Xiaoqing[b], WANG Wei[b], DI Hongwei[b], KUANG Xiaozhou[b], REN Hong[c], LIU Hong[d], YUAN Zheng'an[e], ZHANG Xi[b], LIN Qingneng[b] (a.Research Management Office b.Department of Microbiology c.Department of AIDS and TB d.Division of Health Risk Factors Monitoring and Control e.Party Affairs Office, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract:

[Background] Norovirus (NoV) is a major cause of foodborne diseases. Shellfish as an important vector can bioconcentrate viruses from the environment.

[Objective] This study investigates NoV contamination in retail shellfish in Shanghai and genotypes of positive strains, aiming to provide evidence to prevent foodborne diseases and make relevant preventive measures.

[Methods] Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used for screening NoV in 580 shellfish samples collected from Shanghai markets from 2017 to 2019. Reverse transcription nested polymerase chain reaction (RT-Nest-PCR) was used for amplification of partial viral protein 1 (VP1) fragments and genotyping.

[Results] Among a total of 580 shellfish samples, the positive rate of NoV was 8.97%. GII was the main genotypes (5.86%, 34/580), followed by GI (2.24%, 13/580) and GI+GII dural infection (0.86%, 5/580). The positive rates of NoV in shellfish samples were different among different

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21121

基金项目
"十三五"国家重大传染病预防控制项目（2017ZX10103009-3）

作者简介
并列第一作者。
吴立梦（1982—），女，博士，副主任技师；
E-mail：wulimeng@scdc.sh.cn
滕峥（1971—），女，大学本科，主任技师；
E-mail：tengzheng@scdc.sh.cn

通信作者
林庆能，E-mail：linqingneng@scdc.sh.cn

伦理审批 不需要
利益冲突 无申报
收稿日期 2021-03-29
录用日期 2021-06-17

文章编号 2095-9982(2021)08-0888-06
中图分类号 R155.5
文献标志码 A

▸引用
吴立梦，滕峥，崔晓青，等.上海市贝类水产品诺如病毒污染状况及基因分型[J].环境与职业医学，2021，38（8）：888-893.

▸本文链接
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21121

Funding
This study was funded.

Correspondence to
LIN Qingneng, E-mail: linqingneng@scdc.sh.cn

Ethics approval Not required
Competing interests None declared
Received 2021-03-29
Accepted 2021-06-17

▸To cite
WU Limeng, TENG Zheng, CUI Xiaoqing, et al. Norovirus contamination and genotypes in shellfish in Shanghai[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(8): 888-893.

▸Link to this article
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21121

seasons (χ^2=8.132, P=0.043), higher in winter and spring. The positive rates in different shellfishes were also different (χ^2=14.152, P=0.049), higher in Unionidae and Ostreidae. The phylogenetic analysis results for the partial VP1 showed that GII.2, 3c, 13, and 17 were positive in the shellfish samples. The identity of nucleotide sequences between one GII.2 strain and the reference X81879 was 88.8%; between two GII.3c strains, 91.6% identity, and between the two GII.3c strains and the reference AB385626, 87.1%-92.0% identity; between one GII.13 strain and the reference AY113106, 93.6% identity; between one G11.7 strain with the reference LC037415, Nanjing GII.17 strain KU757049, and Shanghai GII.17 strain (KT380915), the identities were 98.6%, 97.8%, and 97.4%, respectively.

[Conclusion] NoV contamination is prevalent in retail shellfish in Shanghai, and displays seasonality with a winter/spring peak. NoV GII remain the predominant genotype.

Keywords: shellfish; norovirus; genotype

食源性病毒是影响食品安全的重要污染物，至少有八类病毒可导致人类疾病[1]，包括：杯状病毒科的诺如病毒（norovirus，NoV）和札如病毒（sapovirus，SaV），呼肠孤病毒科的轮状病毒A组（rotavirus group A，RVA），腺病毒科的肠道腺病毒（human enteric adenoviruses，HAdV），星状病毒科的人星状病毒（human astrovirus，HAstV）、爱知病毒（aichivirus，AiV），肝炎病毒科的甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV）、戊型肝炎病毒（hepatitis E virus，HEV）等。

NoV和SaV同属于杯状病毒科，是一类无包膜单正链RNA病毒。两者在基因组成、临床症状、传播途径方面相似，除了人际传播，还可通过被病毒污染的食品和水传播。NoV依据病毒衣壳蛋白（viral protein，VP）1区氨基酸序列可分为6个基因型（GI~GVI基因型）和超过40种基因亚型[2]，其中NoV GI、NoV GII和部分NoV GIV基因型可感染人类。SaV依据VP1区全长序列可分为5个基因型（GI~GV基因型），还有9个基因型待分类认定（GVI~GXIV基因型）[3]。

贝类属于滤食性动物，其消化组织对环境水体中病毒有蓄积和富集的作用，是重要的食源性病原体传播载体。污染可由收获、加工、包装、配送、销售、烹饪等过程的任一环节操作不当引起[4-6]。国外曾报道食用受NoV污染的牡蛎而引起病毒胃肠炎暴发疫情[7-8]。双壳贝类中HAV暴发案例也屡有报道[9-10]。贝类中NoV高检出率已经成为贝类食品安全的主要隐患，也成为近年来国际食品贸易的重点监控因素。目前，食源性病毒检测主要依赖于分子生物学方法，如：国际标准化组织制定的ISO/TS 15216-1《食品中甲肝病毒和诺如病毒real-time RT-PCR检测方法》。我国于2016年12月23日发布GB 4789.42—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 诺如病毒检验》，该标准适用于贝类、生食蔬菜、胡萝卜、瓜、坚果等硬质表面食品和草莓、西红柿、葡萄等软质水果中NoV核酸的检测，但针对食品中其他胃肠道病毒的检测标准还没有发布。

上海地区虽然不是贝类水产品的主要产区，但却是重要的消费地区。本研究按照国标GB 4789.42—2016方法对2017—2019年上海地区常见市售贝类水产品中NoV进行检测，同时采用实时荧光逆转录聚合酶链式反应法（real-time reverse transcription PCR，real-time RT-PCR）和实时荧光聚合酶链式反应法（real-time PCR）对可导致食源性疾病的病毒（如RVA、SaV、HAstV、HAdV、HAV、HEV）进行核酸检测，结合采样季节、贝类品种等因素，初步获得贝类水产品中食源性病毒污染水平数据。同时采用逆转录巢式PCR（RT-Nest-PCR）方法对部分NoV核酸阳性样本扩增片段进行测序和基因分型，为食源性病毒疾病分子溯源方法建立提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 贝类样品来源 2017—2019年，以分层随机的方法选取上海市8个行政区的农贸市场、批发市场、超市以及餐饮店至少一家，于每年3月（春）、6月（夏）、8月或9月（秋）、11月或12月（冬）采集其中的零售贝类水产品（鲜活待加工贝类水产品），共12次；除了2017年3月份采集贝类数量为30份，其余季节均采集50份，2017年、2018年、2019年分别采集贝类水产品180份、200份和200份，共采集580份贝类样本。贝类品种以蛤蜊类为主（285份），占采样总数量的49.1%；其余为蛏类88份、牡蛎32份、扇贝52份、蚌类33份、螺类30份、贻贝51份、蛆类9份，每份采集约500 g。同一农贸市场、批发市场、超市不同摊位采集不同种类的贝类，尽量覆盖各区食品供应主渠道。已知产地来源前三位分别是浙江、江苏、辽宁。

1.1.2 主要仪器 实时荧光定量PCR仪（LIGHTCYCLER 480，美国ROCHE），振荡器（MAXQ6000型，美国THERMO），高速台式离心机（SORVALL Stratos型，美国THERMO），PCR仪（7900型，美国APPLIED BIOSYSTEMS），高通量DNA电泳仪（英国CLEAVERSCIENTIFIC），凝胶成像系统（CHEMIS DOC XRS+型，美国BIORAD）。

1.1.3 试剂 病毒核酸抽提试剂盒QIAamp Viral RNA Mini kit（德国QIAGEN），RNA Ultrasense One-step Quantitative qRT-PCR System（美国Life Technologies），门果病毒提取控制试剂盒（法国CeeramTooLs），SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase（美国Invitrogen），PrimeSTAR® HS（Premix）（中国TAKARA），轮状病毒（A组）核酸检测试剂盒、札如病毒核酸检测试剂盒、肠道腺病毒核酸检测试剂盒（中国硕世生物科技股份有限公司），人星状病毒核酸测定试剂盒、甲型肝炎病毒核酸测定试剂盒、戊型肝炎病毒核酸测定试剂盒（中国上海之江生物科技股份有限公司）；实验过程中所用到的生化试剂购自上海国药集团，引物和探针由中国生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理 贝类样本前处理参照GB 4789.42—2016方法。简要步骤如下：使用无菌剪刀和镊子打开贝类（大型贝类如牡蛎科、扇贝科、蚌科等取3~5个一份；小型贝类如蛤蜊科、蛏科、螺科取15~20个一份），取出贝类软体组织中的消化腺，置于干净无菌培养皿中剪碎混匀，收集约5 g，研磨至均质后取2 g消化腺放入50 mL离心管中，加入10 μL过程控制对照（门果病毒）液。加入20 g·L^{-1}蛋白酶K溶液10 μL和磷酸盐缓冲液2 mL，37 ℃，320次·min^{-1}，振荡60 min。将试管放入水浴中，60℃，15 min。室温5 000×*g*，5 min离心，取上清液直接进行后续核酸提取或保存于-80℃冰箱中待用。

1.2.2 病毒提取和核酸抽提 病毒核酸提取采用QIAamp Viral RNA Mini kit试剂盒进行抽提，取140 μL样品上清液按试剂盒说明书步骤抽提核酸，100 μL洗脱液洗脱。

1.2.3 real-time RT-PCR和real-time PCR 采用一步法real-time RT-PCR法，分别检测NoV GI型和NoV GII型核酸，引物和探针见表1。反应体系按照试剂盒说明书配制。反应条件如下：55℃，反转录1 h，1个循环；95℃，预变性5 min，1个循环；扩增（45个循环）：95℃变性15 s，60℃退火1 min，65℃延伸1 min。荧光检测点设定为60℃。RVA、SaV、HAstV、HAV、HEV病毒检测参照real-time RT-PCR试剂盒说明书操作，而HAdV病毒检测参照real-time PCR试剂盒说明书操作。研究以病毒性腹泻病和病毒性肝炎监测中获得NoV、RVA、SaV、HAstV、HAdV阳性粪便标本和HAV、HEV阳性血清为阳性对照，磷酸盐缓冲液为阴性对照，按照与贝类检测样本相同方法提取核酸，以去离子水为空白对照。每个样本处理时都会加入过程控制对照（门果病毒），每批次PCR实验均会设置空白对照、阴性对照和阳性对照以保证实验数据有效可信。当该批次的空白对照、阴性对照*Ct*值大于40，阳性对照*Ct*值小于30时，该批次实验数据有效。阳性样本判定标准为：当*Ct*值小于35，判定为阳性；*Ct*值大于40，判定为阴性；*Ct*值在35~40之间的标本重复实验，重复实验的*Ct*值仍在35~40之间时判定为阳性[11]。

表1 NoV引物和探针

Table 1 Primers and probes for NoV detection

方法	病毒名称	序列（5′-3′）
real-time RT-PCR	诺如病毒GI	正向GG1F：CGCTGGATGCGNTTCCAT 反向GG1R：CCTTAGACGCCATCATCATTTAC 探针FAM-TGGACAGGAGAYCGCRATCT-TAMRA
	诺如病毒GII	正向GG2F：ATGTTCAGRTGGATGAGRTTCTCWGA 反向GG2R：TCGACGCCATCTTCATTCACA 探针FAM-AGCACGTGGGAGGGCGATGG-TAMRA
RT-nest-PCR	诺如病毒GI[12]	第一轮 正向COG1F：CGYTGGATGCGNTTYCATGA 反向G1SKR：CCAACCCARCCATTRTACA 第二轮 正向G1SKF：CTGCCCGAATTYGTAAATGA 反向G1SKR：CCAACCCARCCATTRTACA
	诺如病毒GII[12]	第一轮 正向COG2F：CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG 反向G2SKR：CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT 第二轮 正向G2SKF：CNTGGGAGGGCGATCGCAA 反向G2SKR：CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT

1.2.4 RT-nest-PCR 选取部分Real-time RT-PCR法检测NoV阳性样本，参照文献采用RT-nest-PCR法分别扩增VP1区基因片段。引物序列见表1。扩增体系配置和反应条件如下。第一轮扩增体系（50 μL）：2×Reaction Mix 25 μL，第一轮上下游引物（10 μmol·L^{-1}）各1 μL，SuperScript™ III RT/Platinum™ Taq Mix 2 μL，Autoclaved distilled water 16 μL，模板5 μL。第一轮反应条件：50℃逆转录30 min，94℃预变性2 min；94℃变性15 s，58℃退火30 s，68℃延伸30 s，共30个循

环；68℃延伸5 min，-80℃保存备用。第二轮扩增体系（50 μL）：PrimeSTAR HS（Premix）25 μL，第二轮上下游引物（10 μmol.L^{-1}）各2 μL，Autoclaved distilled water 16 μL，模板5 μL。第二轮反应条件：98℃预变性2 min；98℃变性10 s，55℃退火15 s，72℃延伸30 s，共35个循环；72℃延伸5 min。

1.2.5 病毒基因测序和分子系统进化分析 取5 μL PCR扩增产物于1%琼脂糖凝胶电泳分析，根据电泳条带强弱分别送生工生物工程（上海）股份有限公司直接测序或构建克隆后测序。测序获得VP1区部分核苷酸序列用Bioedit7.0.9.0和ClustalW软件进行序列编辑和比对。从GenBank下载NoV GII型各基因亚型参考株序列，用MEGA 6.06软件构建系统进化树，数据模型使用邻接法（neighbor-joining，NJ）构建进化树，确信限度用Bootstrap评价进化树可靠性，检验重复次数为1 000次。通过系统进化树分析贝类水产品中NoV序列与各参考株序列间亲缘关系，确定属于何种基因亚型。

1.3 统计学分析

应用EXCEL 2010进行贝类水产品检测结果数据的录入汇总，采用SPSS 19.0软件对贝类水产品中NoV检出情况进行统计学分析，采用卡方检验对不同季节、不同种类贝类水产品中NoV检出率进行比较，检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 上海地区贝类水产品NoV检出情况

580份贝类水产品中有52份检出NoV，检出率为8.97%。其中NoV GI型检出率为2.24%（13/580），NoV GII型检出率为5.86%（34/580），NoV GI和GII混合型检出率为0.86%（5/580），NoV GI型每月检出数量和频次均小于NoV GII型。NoV GII型几乎每个采样月都有单独检出。

2.2 不同季节NoV检出情况

2017—2019年四个季节NoV检出率分别为13.08%、6.80%、6.66%和16.00%（见表2），四个季节的贝类水产品中NoV检出率的差异有统计学意义（χ^2=8.132，P=0.043）。

2.3 不同贝类水产品NoV检出情况

本次研究共检测蛤蜊、扇贝、贻贝、牡蛎、蛏、蚌、螺、蚶科八大类贝类水产品，NoV检出率最高品种是蚌科，为21.21%，其他依次为：牡蛎科、蚶科、蛤蜊科、螺科、贻贝科、扇贝科和蛏科。不同贝类水产品NoV检出率差异有统计学意义（χ^2=14.152，P=0.049）。见表3。

表2 不同季节贝类水产品中NoV检出情况

Table 2 NoV detection results in shellfish in different seasons

季节	样本量	NoV		GI型		GII型		GI+GII型	
		阳性数	检出率*/%	阳性数	检出率/%	阳性数	检出率/%	阳性数	检出率/%
春季	130	17	13.08	5	3.85	9	6.92	3	2.31
夏季	250	17	6.80	3	1.20	12	4.80	2	0.80
秋季	150	10	6.66	4	2.67	6	4.00	0	0.00
冬季	50	8	16.00	1	2.00	7	14.00	0	0.00
合计	580	52	8.97	13	2.24	34	5.86	5	0.86

[注] *：χ^2=8.132，P=0.043。

表3 不同贝类品种类水产品中NoV检出情况

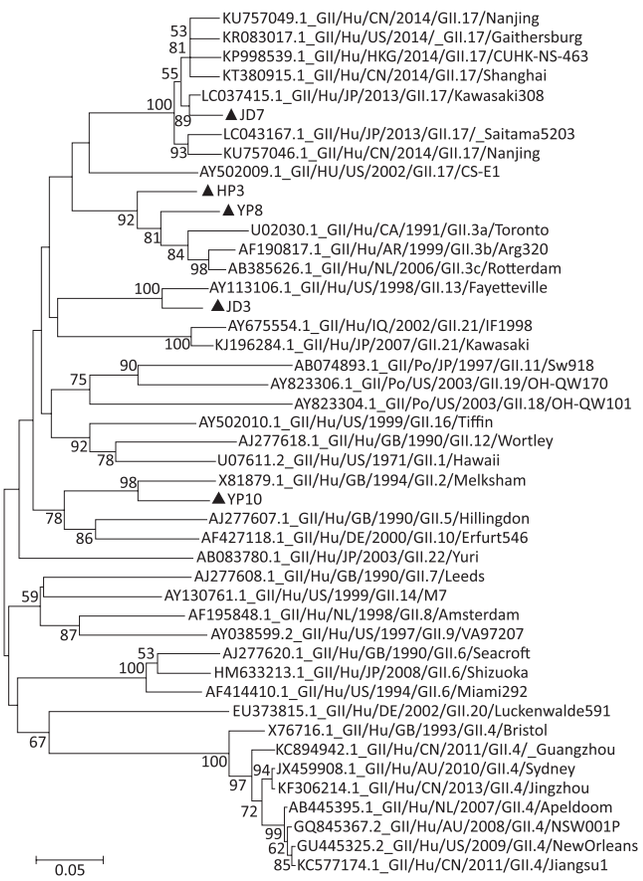
Table 3 NoV detection results in different kinds of shellfishes

品种	样品数	检出数				检出率*/%
		GI型	GII型	GI+GII型	小计	
蚌科	33	1	6	0	7	21.21
牡蛎科	32	0	2	3	5	15.63
蚶科	9	1	0	0	1	11.11
蛤蜊科	285	9	19	1	29	10.18
螺科	30	0	2	0	2	6.67
贻贝科	51	1	1	1	3	5.88
扇贝科	52	0	2	0	2	3.85
蛏科	88	1	2	0	3	3.41
合计	580	13	34	5	52	8.97

[注] *：χ^2=14.152，P=0.049。

2.4 NoV基因分型情况

研究成功获得5株来源于贝类水产品阳性样本的VP1区部分核酸序列，将Genbank中检索到的NoV GII型各亚型参考序列与贝类水中的核酸序列共同构建分子系统进化树，以此确定与参考株间亲缘关系，图1结果显示：YP10株与GII.2型参考株X81879聚在同一分支上，同源性为88.8%，属于GII.2亚型。HP3、YP8两株间同源性为91.6%，与GII.3c亚型参考株AB385626聚在同一分支上，同源性为87.1%~92.0%，属于GII.3c亚型。JD3株与GII.13型参考株AY113106聚在同一分支上，同源性为93.6%，属于GII.13型。JD7株与GII.17型LC037415聚在同一分支上，同源性为98.6%，属于GII.17型。同时，JD7株与2014年发现的江苏南京株KU757049和上海株KT380915同源性分别为97.8%和97.4%。



[注] ▲表示研究中发现的序列；比例尺表示每个位点的核苷酸取代；分支长度表示序列之间的遗传距离；数字表示 Bootstrap 法评价进化树可靠度。

图 1 NoV 毒株 VP1 区部分基因进化分析图

Figure 1 Phylogenetic analysis of NoV strains based on partial VP1 region

3 讨论

近几年，国内关于贝类水产品中食源性病毒研究以 NoV 监测为主，病毒污染率在 2.46%~17.20% 之间[13-18]，影响因素包括贝类种类、采样地域、季节、前处理方法等。上海市地处亚热带沿海地区，居民有生食或食用半熟贝类水产品的习惯，本次调查显示，上海地区 2017—2019 年常见贝类水产品中多有 NoV 检出，总检出率为 8.97%，低于广东省 17.20%[13] 及江苏省 15.22%[14]，与北京市 8.4%[15] 近似，略高于河北省 6.08%[16]、浙江省 2.46%~7.76%[17] 和甘肃省 4.17%[18]，且一年四季均有检出，NoV 型别 GI、GII 和 GI+GII 均有检出，以 GII 为最多。冬春季 NoV 的检出率高于夏秋季，不同季节贝类水产品中 NoV 的感染率的变化可能与贝类自然生长的规律相关。在采集的蛤蜊、扇贝、贻贝、牡蛎、蛏、蚌、螺、蚶科八大类贝类中，蚌科的 NoV 污染率最高。作为淡水环境中体型较大的食用经济贝类，监测河蚌中病毒除了有食品卫生学意义，还可作为环境水体中肠道病毒污染指示物。根据梅婧[19] 的研究，利用河蚌的“病毒生物富集器”特性可进行淡水水体病毒监测，但其富集病毒种类与贝壳重量及贝龄的关系还有待进一步明确。

分子系统进化结果显示，上海市贝类水产品中可检测到 GII.2、3、13、17 共 4 个基因亚型同时存在。2016—2018 年上海 NoV 感染散发病例分析占前 6 位的 GII 型的亚型分别是 GII.4、17、2、3、6、13 型[20]。由此可见，上海地区感染 NoV 人群和高风险食品中都流行相同病毒基因亚型。GII.17 型在 2014—2015 年引起全球大流行，本研究发现的 JD7 株与 2014 年发现的上海株 KT380915 同源性为 97.4%，说明该毒株与 KT380915 亲缘关系很近，可能该毒株已在人群和环境中形成传播循环，通过感染病人粪便或呕吐物随生活污水排入外环境，继而污染贝类水产品养殖、生产、流通环节，最终再一次感染人类。

本研究通过连续 36 个月对上海市贝类水产品中的 NoV 污染状况进行监测，从分子水平上分析 NoV 的基因型别，初步了解了上海市贝类水产品中 NoV 污染与人群疾病暴发的关系。上海市贝类水产品中检测出多种可以引起人类疾病的病毒病原体序列，有必要开展相应的监测，并进一步分析病毒生物活性。

但本研究也存在一定局限性，如：贝类采样种类不平衡，采样时间间隔太长，研究时限太短等。研究团队后续将针对以上不足，同时应用病毒宏基因组学和数字 PCR 等新兴技术[21]，进一步研究食源性病毒在水产养殖、流通、食品加工等各环节的环境分布、传播和变化规律。

参考文献

[1] BACHOFEN C. Selected viruses detected on and in our food [J]. Curr Clin Microbiol Rep, 2018, 5 (2): 143-153.

[2] ROBILOTTI E, DERESINSKI S, PINSKY B A. Norovirus [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28 (1): 134-164.

[3] OKA T, WANG Q, KATAYAMA K, et al. Comprehensive review of human sapoviruses [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28 (1): 32-53.

[4] KAAS L, OGORZALY L, LECELLIER G, et al. Detection of human enteric viruses in french polynesian wastewaters, environmental waters and giant clams [J]. Food Environ Virol, 2019, 11 (1): 52-64.

[5] TOROK V，HODGSON K，MCLEOD C，et al. National survey of foodborne viruses in Australian oysters at production [J]. Food Microbiol，2018，69：196-203.

[6] NIEUWENHUIJSE D F，KOOPMANS M P. Metagenomic sequencing for surveillance of food and waterborne viral diseases [J]. Front Microbiol，2017，8：230.

[7] RASMUSSEN L D，SCHULTZ A C，UHRBRAND K，et al. Molecular evidence of oysters as vehicle of norovirus GII.P17-GII.17 [J]. Emerg Infect Dis，2016，22 (11)：2024-2025.

[8] MOROZOV V，HANISCH F G，WEGNER K M，et al. Pandemic GII.4 Sydney and epidemic GII.17 Kawasaki308 noroviruses display distinct specificities for Histo-Blood Group antigens leading to different transmission vector dynamics in pacific oysters [J]. Front Microbiol，2018，9：2826.

[9] 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.

[10] FUSCO G，ANASTASIO A，KINGSLEY D H，et al. Detection of hepatitis A virus and other enteric viruses in shellfish collected in the gulf of Naples，Italy [J]. Int J Environ Res Public Health，2019，16 (14)：2588.

[11] 江涛，韩春卉，张宏元，等. 北京市市售牡蛎中诺如病毒核酸检测及定量分析 [J]. 中国食品卫生杂志，2017，29 (2)：126-130.
JIANG T，HAN C H，ZHANG H Y，et al. The detection of *Noroviruses* in oysters sold in Beijing by using *Taqman*-based one-step reverse transcription-polymerase chain reaction assays and quantitative analysis [J]. Chin J Food Hyg，2017，29 (2)：126-130.

[12] OZAWA H，KUMAZAKI M，UEKI S，et al. Detection and genetic analysis of noroviruses and sapoviruses in sea snail [J]. Food Environ Virol，2015，7 (4)：325-332.

[13] 寇晓霞，吴爱武，范宏英. 广东省市售牡蛎中诺如病毒污染调查 [J]. 现代预防医学，2018，45 (24)：4439-4442.
KOU X X，WU A W，FAN H Y. Survey on *Norovirus* contamination in commercial oysters in Guangdong province [J]. Mod Prev Med，2018，45 (24)：4439-4442.

[14] 倪云龙，郑东宇，江涛，等. 2015—2016年江苏地区双壳贝类海产品中诺如病毒携带状况 [J]. 江苏预防医学，2017，28 (4)：395-397，402.
NI Y L，ZHENG D Y，JIANG T，et al. Norovirus prevalence survey in bivalves mollusks in Jiangsu province from 2015 to 2016 [J]. Jiangsu J Prev Med，2017，28 (4)：395-397，402.

[15] 骆海朋，高飞，于海瑶，等. 北京市市售贝类、蔬菜、浆果、即食海产品中诺如病毒污染状况检测及检测方法探析 [J]. 中国食品卫生杂志，2017，29 (2)：218-222.
LUO H P，GAO F，YU H Y，et al. Survey on the contamination of *Norovirus* in shellfish，vegetable，fruit and ready-to-eat seafood from markets in Beijing [J]. Chin J Food Hyg，2017，29 (2)：218-222

[16] 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，2018，9 (15)：4152-4157.
BAI X，ZHANG S H，SHI C，et al. Investigation on *Norovirus* contamination of shellfish in Hebei province in 2015—2016 [J]. J Food Saf Qual，2018，9 (15)：4152-4157.

[17] 高见，龚黎明，陈寅，等. 贝类中诺如病毒污染状况调查 [J]. 浙江预防医学，2013，25 (9)：59-61.
GAO J，GONG L M，CHEN Y，et al. Investigation on the contamination of norovirus in shellfish [J]. Zhejiang J Prev Med，2013，25 (9)：59-61.

[18] 李羽翡，张德荣，刘煜，等. 甘肃省兰州地区贝类海鲜、蔬菜水果中诺如病毒污染监测分析 [J]. 中国食物与营养，2018，24 (7)：34-37.
LI Y F，ZHANG D R，LIU Y，et al. Detection and result analysis of Norovirus contamination in shellfish，vegetable and fruit in Lanzhou area of Gansu province [J]. Food Nutr China，2018，24 (7)：34-37.

[19] 梅婧. 河蚌作为水体人类肠道病毒污染指示物的研究 [D]. 武汉：华中科技大学，2011.
MEI J. The research about using mussel as the indicator of water pollution by human enterovirus [D]. Wuhan：Huazhong University of Science and Technology，2011.

[20] KUANG X，TENG Z，ZHANG X. Genotypic prevalence of norovirus GII in gastroenteritis outpatients in Shanghai from 2016 to 2018 [J]. Gut Pathog，2019，11 (1)：40.

[21] 王宏，李慧莹，李利利，等. 应用宏基因组测序对贝类中病毒谱的初步分析 [J]. 国际病毒学杂志，2020，27 (2)：107-111.
WANG H，LI H Y，LI L L，et al. Preliminary analysis of the virus spectrum in shellfish using metagenomic sequencing [J]. Int J Virol，2020，27 (2)：107-111.

（**英文编辑**：汪源；**责任编辑**：丁瑾瑜）