

柯萨奇B组病毒的血清学监测

上海市卫生防疫站 施耦笙 张士生 丁晓光 张美英

柯萨奇病毒(Coxsackie Virus)B组与人类疾病关系密切。迄今为止,已知可引起无菌性脑膜炎、流行性肌痛或胸痛、心肌炎、心包炎、呼吸道疾病等,与糖尿病的发病也有关。上海地区也已从流行性胸痛患者分离到CoxB₆病毒^[1],从猝死病例的心肌中分离到CoxB₅病毒^[2],以及从心肌炎患者中分离到CoxB₃、B₅病毒。因此,很有必要关注这组病毒在人群中的传播情况,以便采取预防对策。本次调查考虑到这组病毒型别多,工作量太大,故我们仅测定了与疾病关系最为密切的三个型病毒的中和抗体。

材料和方法

一、血清标本来源:采自上海长宁区加丰纱厂托儿所、姚家角幼儿园、古北小学、长宁区工读学校的健康人群,年龄为1~47岁。

二、器材和试剂

1. 试验板: 4 × 10孔圆底聚苯乙烯板(以下简称微量板)用清洁液浸泡后,再用自来水和去离子水冲洗,晾干,试验前置紫外灯下消毒1小时。

2. 滴管: 装上截去尖头的16号兽用针头的玻璃滴管垂直滴下,每滴量为0.025毫升。

3. 涤纶胶带: 5厘米宽,上海制笔三厂生产。

4. 微型振荡器。

5. 消毒过的1号试管: 稀释病毒、血清用。

6. 培养在100毫升方瓶内的形成单层的Hela细胞: 培养4~6天。

7. 营养液: 青、链霉素溶液(每毫升含青霉素1万单位、链霉素1万微克)2%,小牛血清10%,1640(日本产)和0.5%水解乳蛋白汉克

斯液(LH)各44%,再加5.6%碳酸氢钠3%左右,使pH约为7.5。

8. LH: 稀释病毒、血清用。用时每100毫升加5.6%碳酸氢钠1毫升。

9. CoxB₃、₄、₅病毒标准株: 中国医学科学院医学生物研究所1971年从丹麦引进。我室接种Hela细胞传代。用前测定三次TCD₅₀,各次滴定结果之差不得超过0.5log,计算三次结果的平均值。正式试验用100TCD₅₀病毒。

三、试验方法: 采用微量中和试验,操作步骤如下:

1. 血清经56℃水浴灭能30'后,用LH自1:5~1:1280作四倍递增稀释,用微量滴管将稀释好的血清自高稀释度到低稀释度滴入微量孔内,每一稀释度血清滴6个孔,每孔1滴(即0.025毫升)。

2. 将CoxB₃、₄、₅病毒液稀释为0.025毫升含100TCD₅₀,然后滴入孔中,每孔1滴,第一行加CoxB₃病毒,第二行加CoxB₄病毒,第三行加CoxB₅病毒。

3. 将微量板放在微量振荡器上振摇,使血清与病毒充分混匀。

4. 将选好的Hela细胞瓶用消化液(每100毫升含EDTA 0.02克、胰蛋白酶0.01克)将细胞消化下来,用营养液制成细胞悬液(每瓶可制成悬液12~15毫升)然后将细胞悬液滴入孔内。每孔2滴。

5. 贴上胶带: 封得要严密,以防漏气。

6. 将微量板放在微型振荡器上振摇。

7. 置36.5~37℃恒温箱培养。

8. 每批试验设细胞对照与100TCD₅₀病毒对照。

9. 第5和第7天在倒置显微镜下观察细胞

病变。

10.能抑制病变的血清最高稀释度为中和抗体效价。

结 果

健康人群CoxB₃、₄、₅病毒中和抗体阳性率以CoxB₄最高,为92.02%;其次是CoxB₃,为62.57%;以CoxB₅最低为29.45%。经显著性测验, $\chi^2=134.70$, $P<0.01$ 。故三个型别CoxB组病毒中和抗体阳性率有非常显著的差别。

具有高滴度(1:80以上)中和抗体者,CoxB₄占调查总数的78.52%,CoxB₃为28.83%,而CoxB₅仅有3.68%(表1、2、3)。

4~8岁组具有二个型以上抗体者反较1~3组为低。前者为58.87%,后者为62.96%,以后随年龄增长,具有二个型以上抗体人数增多,从65.71~82.86%(表4)。

表1 健康人群CoxB₃病毒中和抗体水平

年龄组(岁)	检测例数	<1:5 人数(%)	1:5~1:20 人数(%)	1:80~1:320 人数(%)	≥1:1280 人数(%)
1~	27	8 29.63	7 25.93	11 40.74	1 3.70
4~	31	13 41.94	7 22.58	9 29.03	2 6.45
9~	35	12 34.29	13 37.14	10 28.57	0
14~	35	10 28.57	15 42.86	10 28.57	0
19~	35	18 51.43	13 37.14	4 11.42	0
合计	163	61 37.42	55 33.74	44 26.99	3 1.84

三个型病毒中和抗体几何平均滴度有明显差别。其中CoxB₄中和抗体为102.8,而CoxB₃和CoxB₅都比较低,分别为14.19和3.96(表5)。

从不同年龄健康人群抗体水平来看,其中CoxB₃病毒中和抗体以1~3岁年龄组为最高,以后随年龄增长而降低。反之,CoxB₄病毒中和

抗体以1~3岁组为最低,3岁以上年龄组抗体几何平均滴度颇高,在97.52~121.3之间。CoxB₅病毒中和抗体除19岁~年龄组稍偏高外,其它各年龄组基本相同,为2.59~3.49。

表2 健康人群CoxB₄病毒中和抗体水平

年龄组(岁)	检测例数	<1:5 人数(%)	1:5~1:20 人数(%)	1:80~1:320 人数(%)	≥1:1280 人数(%)
1~	27	6 22.22	4 14.81	16 59.29	1 3.70
4~	31	6 19.35	2 6.45	17 54.84	6 19.35
9~	35	0	5 14.29	24 68.57	6 17.14
14~	35	0	7 20.00	26 74.29	2 5.71
19~	35	1 2.86	4 11.43	24 68.57	6 17.14
合计	163	13 7.98	22 13.50	107 65.64	21 12.88

表3 健康人群CoxB₅病毒中和抗体水平

年龄组(岁)	检测例数	<1:5 人数(%)	1:5~1:20 人数(%)	1:80~1:320 人数(%)	≥1:1280 人数(%)
1~	27	22 81.48	4 14.81	1 3.70	0
4~	31	29 93.53	2 6.45	0	0
9~	35	28 80.00	6 17.14	1 2.86	0
14~	35	27 77.14	6 17.14	2 5.71	0
19~	35	9 25.71	24 68.57	2 5.71	0
合计	163	115 70.55	42 25.77	6 3.68	0

讨 论

Iwabu等^[4]调查了262名儿童血清中CoxB组病毒中和抗体滴度。以CoxB₁、₃、₅、₆型病毒中和抗体阴性占优势。6岁儿童有二个型以上的抗体。这与我们本次调查结果以CoxB₃、₅

型病毒中和抗体阴性率高、抗体滴度低，以及8岁以上的人群中有65.76%以上有二个型以上的抗体是相一致的。

表4 健康人群血清中Cox病毒中和抗体情况

年龄组(岁)	调查人数	无抗体人数(%)	一个型抗体人数(%)	二个型抗体人数(%)	三个型抗体人数(%)
1~	27	3 11.11	7 25.93	13 48.15	4 14.81
4~	31	4 11.90	10 32.26	16 51.61	1 3.26
9~	35	0	12 34.29	16 45.71	7 20.00
14~	35	0	9 25.71	19 54.29	7 20.00
19~	35	1 2.86	5 14.29	15 42.86	14 40.00
合计	163	8 4.79	43 26.38	79 48.47	33 20.25

表5 健康人群CoxB_{3,4,5}血清中和抗体几何平均滴度

型别	年 龄 组					合计
	1~3	4~8	9~13	14~18	19~	
CoxB ₃	21.22	19.55	14.01	12.94	6.34	14.19
CoxB ₄	43.11	116.9	163.1	97.52	121.3	102.8
CoxB ₅	3.4	2.59	3.36	3.43	8.54	3.96

从本次调查结果来看，CoxB₄病毒以往在人群中已有过比较广泛的传播。所以不同年龄的人群都已具有比较高的抗体滴度。但健康人群中CoxB₃和B₅中和抗体滴度低具有高抗体滴度者少，尤其是B₅抗体滴度低，如果该两型病毒一旦侵入容易导致疾病。因此，今后在考虑特异性预防制备疫苗方面，应该首先考虑这两型病毒。事实上，近几年来我们已从某些病人分

离到该两型病毒，并证实是病原。因此，我们认为，应将制备Cox B组病毒疫苗提到议事日程上来，呼吁有关部门考虑这一问题。

摘 要

本文报道应用微量中和试验检测163例健康人群的柯萨奇病毒B组3、4、5型的中和抗体水平。中和抗体阳性率以B₄为最高(92.02%)，B₃次高(62.57%)，B₅最低(29.45%)。B₃中和抗体几何平均滴度为4.19，B₄为102.8，B₅为3.96。B₃中和抗体滴度以1~3岁组最高，以后随年龄增长而降低。B₄中和抗体滴度除19~45岁组略高外，其余各组抗体滴度很低。

ABSTRACT

This paper reported the levels of neutralizing antibody to Coxsackie virus B₃, B₄, and B₅ examined by microneutralization test in 163 healthy persons. The positivity of neutralizing antibody to Coxsackie virus B₄ was the highest (92.02%), the next was Coxsackie virus B₃ (62.57%), and the lowest was Coxsackie virus B₅ (29.45%). The GMT of neutralizing antibody to Coxsackie virus B₃ was 4.19, Coxsackie virus B₄ was 102.8 and Coxsackie virus B₅ was 3.96. The titers of neutralizing antibody to Coxsackie virus B₃ was found to be the highest in the age-group of 1~3 years old and decreased with the increase of age. The titer of neutralizing antibody to Coxsackie virus B₄ was the lowest in the age-group of 1~3 years old and was very high in the other age-groups. The titers of neutralizing antibody to Coxsackie virus B₅ were very low in all age-groups except the age-group of 19~45 years old.

参 考 文 献

1. 施耦笙等：微生物学报，19：104，1979。
2. 何丽芳等：上海第一医学院学报，6：329，1979。
3. 施耦笙等：上海医学，3：17，1980。
4. Iwabu M：东京医科大学杂志，33：329，1975。