

延吉市成人腹泻爆发流行的病原学研究

延边医学院 李玉雨 郑承勋 尹正日 金青松
延吉市卫生防疫站 李宪 吴昌柱 金东周

提要 1986年5月延边地区4个县市腹泻爆发流行,发病涉及各年龄组,但以青壮年人为主。取22名患者粪便经细菌培养,未发现致病菌,而有50% (11/22)的粪便标本在电镜下观察到52~68 nm左右的轮状病毒颗粒,85.7% (6/7)的粪便标本成人轮状病毒ELISA检测呈阳性,59% (13/22)的粪便标本病毒核酸聚丙烯酰胺凝胶电泳检测阳性,病毒核酸图象呈现轮状病毒特有的11条核酸带。因此,可以确定这次流行性腹泻爆发流行的病原是成人腹泻轮状病毒,发现成人轮状病毒,在吉林省是首次。

关键词 成人轮状病毒 腹泻 爆发

1986年5月延边地区4个县市发生了以青壮年为主的腹泻爆发流行。为了查清病原,我们收集22例成人腹泻病人的粪便标本进行细菌、病毒鉴定,电镜观察和核酸电泳分析,现将结果报道如下。

材料和方法

一、粪便标本和血清:1986年5月,在延吉市爆发流行腹泻时,取22例成人腹泻病人的粪便,并从10例恢复期病人采集血清。粪便标本和血清均保存在-20℃。

二、电镜观察:将粪便标本加入到等量的0.1M PBS缓冲液(pH7.2)内,以3500 rpm离心30分钟,取上清液滴到2%琼脂胶上。琼脂底层铺上5或6层滤纸,将带有支持膜的铜网,膜面朝下浮于琼脂胶上的液滴上。待液体渗入凝胶,接近液滴消失时,取出铜网,用1.5%磷钨酸负染,直接在电镜下观察。

另一方面,恢复期患者血清按1:10稀释,取等量血清稀释液加到粪便悬液中,37℃作用1小时,4℃过夜,同直接电镜法一样吸附浓缩后进行负染镜检。

三、酶联免疫吸附试验:用江西生物药品制造厂生产的成人轮状病毒ELISA药盒(由中国预防医学科学院病毒研究所研制),按使用说明检测粪便中的轮状病毒抗原。

另外又用兰州生物制品研究所研制的婴幼儿轮状病毒ELISA药盒,检测粪便中的轮状病毒抗原。

四、聚丙烯酰胺凝胶电泳:本实验用Herring等的方法^[1]并稍加改进进行核酸电泳。将粪便标本0.3g加入到0.05M PBS缓冲液(pH7.2)0.3ml内,超声处理(20 KHZ)1分钟,在3000rpm离心15分钟,取上清液进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。电泳以中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所提供的轮状病毒Wa株和本实验室已证实的小儿轮状病毒作为对照。

五、细菌学检查:将粪便标本同时做志贺氏菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、弯曲菌、耶尔森氏菌、致病性大肠杆菌等致病菌按常规方法进行培养。

结 果

一、电镜观察:直接电镜观察发现,22

例粪便标本中有散在的轮状病毒颗粒(图1)。免疫电镜观察发现11例标本中有轮状病毒核心样结构和轮状病毒颗粒(图2,3)核心样结构直径52nm左右,病毒颗粒直径为68nm左右。病毒颗粒大量聚集,有空心和实心两种。有的病毒颗粒比较完整,有的部分降

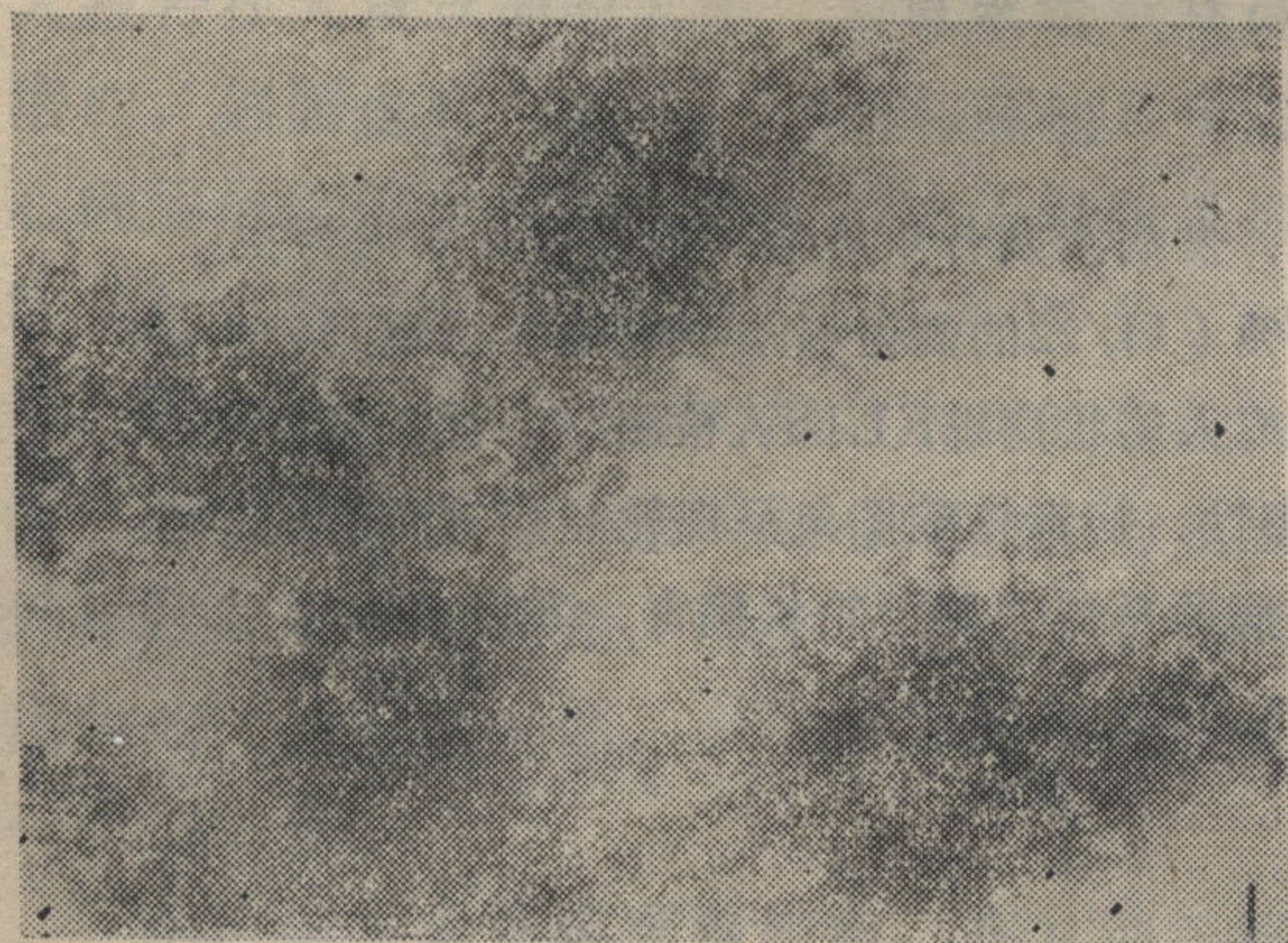


图1 直接电镜所见成人轮状病毒×120000



图2(×105000)、3(×80000) 免疫电镜所见成人轮状病毒的聚集,分空心 and 实心两种,降解后的核心结构与比较完整的成人轮状病毒同时存在

解,还有的只剩下核心结构,在同一视野可见不同降解阶段的病毒颗粒。但在病毒颗粒间看不到明显的抗体桥。

二、酶联免疫吸附试验:检测7例粪便标本,其中6例在成人轮状病毒 ELISA 试验中阳性(阳性率85.7%)。全部病例的标本在婴幼儿轮状病毒 ELISA 试验中均呈阴性。

三、核酸电泳分析:用病毒核酸聚丙烯酰胺凝胶电泳法分析22例标本,其中13例得到具有轮状病毒RNA 11个基因片段的电泳图谱,阳性率为59.0%。这次病毒核酸基因片段特点是第一区第3,4片段较接近,第4,5片段相隔稍远,第二区第5,6片段相接近,第三区第7,8,9片段明显分开。这个图谱不同于轮状病毒 Wa株的图谱,也不同于本地婴幼儿腹泻轮状病毒的图谱。

四、细菌学检查:22份病人粪便标本未检出志贺氏菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、弯曲菌、耶尔森氏菌及致病性大肠杆菌等致病菌。

讨 论

传染性腹泻是常见多发的传染病,据文献报道轮状病毒为2岁以内婴幼儿严重腹泻的主要病原[2~4]。2岁至15岁的儿童中轮状病毒腹泻的发病率明显下降;成人则多以不显性或亚临床感染形式存在,但也有爆发性流行的报道[5~7]。1986年5月延边地区3个县1个市爆发流行成人腹泻,有明显的传染性,呈爆发流行,而且临床症状十分严重,颇似霍乱。50%的病人粪便上清液中见到轮状病毒颗粒及其降解形态,此与国内文献报道相符[5,7]。59%腹泻病例粪便中病毒核酸聚丙烯酰胺凝胶电泳上呈现出轮状病毒特有的11条区带的核酸电泳图型,主要特点在于第三区核酸片段(即7,8,9片段)明显分开,与国内报道相符[5,6]。22例病人粪便标本经按常规方法鉴定致病性细菌,未检

出志贺氏菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、弯曲菌、耶尔森氏菌、致病性大肠杆菌等。22例病人粪便标本使用婴幼儿轮状病毒 ELISA 试剂盒检测均呈阴性，但使用成人轮状病毒 ELISA 检测则呈阳性。

一般认为，轮状病毒主要侵犯婴幼儿，且为婴幼儿腹泻的主要病原。但是延吉市较大规模流行中，主要集中于青壮年人。我们从这次流行株核酸电泳分析来看，其11条核酸带的分布和图象均与 Wa 株和与延吉市婴幼儿腹泻病例中轮状病毒核酸图象不同，但与国内洪涛等报道的轮状病毒 RNA 基因组电泳图谱相似。综上所述，这种轮状病毒可以认为是一种成人轮状病毒。

Etiological investigation of An Epidemic Adult Acute Diarrhea Outbreak in Yangi.
Li Yuyu, et al., Yanbian Medical College, Yangi Jilin

In May 1986 an epidemic acute diarrhea outbreak occurred in Yanbian area. It was prevalent one city and three counties. Although all age groups were infected, but the adults were mainly infected.

In 22 fecal samples no bacterial pathogen was isolated. It was found that there were 52-68 nm sized Rotavirus particles in 50% (11/22) fecal samples by using the electronic microscopy. Positive reaction by Adult Rotavi-

rus (ADRV) ELISA kit was found in 85.7% (6/7) of fecal samples, and 59% (13/22) were found to be ADRV type by direct detection of viral nucleic acid. Based on the above data, the etiological agent of the epidemic acute diarrhea occurred in Yanbian area was identified to be ADRV.

Key words Adult rotavirus Diarrhea Outbreak

参 考 文 献

1. Alan JH et al. Rapid diagnosis of Rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. *Journal of Clinical Microbiology* 1982; 1 (3) : 473.
2. 李晓眠, 等. 天津市秋季婴幼儿病毒性胃肠炎的四年研究. *天津医药* 1986; 14 (2) : 77.
3. 白植生. 病毒性腹泻. *微生物学免疫学译刊* 1985; 1 : 1.
4. 池上信子, 他. ロタウイルス感染症の分子疫学. *临床と微生物* 1986; 13 (6) : 471.
5. 洪涛等. 在爆发流行的成人无菌性腹泻中发现新轮状病毒. *中华微生物学和免疫学杂志* 1984; 4 (1) : 1.
6. 孟庆海等. 自流行性成人腹泻粪便中发现一种新轮状病毒. *中华流行病学杂志* 1984; (2) : 65.
7. 张家驹, 等. 从成人流注性腹泻粪便中检出新轮状病毒. *中华预防医学杂志* 1986; 20 (2) : 69.

(承蒙中国预防医学科学院病毒研究所洪涛教授和赵同兴、王长安, 天津医学院任中原教授, 李晓眠副教授, 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所纪绍忠副研究员、杨凤蓉同志协助, 延边医学院院长姜顺求研究员审阅, 在此一并致谢)

布病系列诊断制剂介绍

中国预防医学科学院流研所布病室(WHO布病培训研究合作中心)为促进布病的防制和研究, 特提供以下制品: 虎红抗原(RBPT)、试管凝集抗原、补体结合抗原、酶联抗原、酶标结合物、抗球蛋白血清、冻干补体、溶血素、绵羊红血球(预订)、因子血清(A、M、R)、五大群噬菌体(Tb、Wb、Fi、Bk、R、R/O、R/C)。特别提供犬种菌虎红抗原(R-RBPT)、犬种菌试管凝集和补体结合抗原。

按时付货, 保证质量, 价格合理。如有不合格产品, 可退换, 并负责邮寄, 如需量较多或另需要其它有关布病制剂可提前联系。联系人: 北京昌平流字5号, 崔春槐。电话: 444267, 电报挂号: 9083