

一次婴儿毛细支气管炎肺炎爆发 流行中病毒学和血清学观察

南京医学院 姚堃 周瑶玺 吴筱玲
泗洪县人民医院 马毓苓 齐娅贤

提要 1985年12月至1986年2月江苏省泗洪县爆发流行小儿毛细支气管炎肺炎。12月份收住的例数占住院总例数的32%。发病最小年龄为28天，最大年龄为1岁半。6个月之内的占71.5%。从8份急性患儿的鼻咽洗液中分离出6株病毒，经鉴定为呼吸道合胞病毒。8例采得急性期和恢复期双份血清，恢复期中抗体效价较急性期升高8~64倍。

关键词 毛细支气管炎肺炎 呼吸道合胞病毒 中和抗体

呼吸道合胞病毒 (Respiratory Syncytial Virus RSV) 主要引起婴儿毛细支气管炎肺炎。潜伏期3~6天，病毒从呼吸道排出，并出现临床症状。可从鼻咽和中耳分泌物中分离到病毒。流行期间既进行病毒分离和鉴定又做血清学动态观察，这方面的研究，国内不多。本文对江苏省泗洪县1985年冬~1986年春一次婴儿毛细支气管炎肺炎爆发流行进行了病毒学和血清学观察，结果报告如下：

材料和方法

一、病例选择和标本采集：选择急性发病一周内，有呼气性喘鸣为特征的呼吸困难，发热37~38℃，X光胸片检查见斑点状到小叶性肺部病变，确诊为“毛细支气管炎肺炎”的患儿，取鼻咽洗液（标本液为0.25%乳蛋白水解物Eagle氏液，加2%小牛血清），采用床边接种和采样后于6小时内送到实验室接种于人胚肾细胞。

二、病毒分离和鉴定：将患儿鼻咽洗液标本以2000转/分离心30分钟，取上清接种人胚肾细胞单层，每份标本接种6管，每管接种0.2ml，维持液0.8ml（0.25%乳蛋白水解物和等量Eagle氏液、加2%灭活小牛血清、

谷氨酰胺200μg/ml、青霉素200μ/ml、链霉素200μg/ml、庆大霉素40μg/ml），37℃静止培养。标本接种后24小时换液一次，以后每天观察一次，连续观察二周。出现细胞病变的再连续传代，细胞稳定传代后，作感染力滴定。阳性标本加50%甘油于-70℃冰箱速冻保存。第一代不出现病变的，盲传两次仍不出现病变时作为病毒分离阴性。RSV标准血清由中国预防医学科学院病毒学研究所提供，1:10用于定性中和试验，中和反应阳性者判为RSV阳性，RSV标准血清的中和效价为1:160。

三、血清学试验：取已作病毒分离的8例患儿急性期和恢复期双份血清作中和试验。并取同时期住院的临床诊断为毛细支气管炎肺炎患儿恢复期单份血清15份，用新分离到的经鉴定的病毒株（陈株）做中和试验。陈株的优点是病变快而典型，因此血清中和抗体滴定试验选用陈株。

1.病毒抗原：本次从婴儿毛细支气管炎肺炎鼻咽洗液中分离到的RSV（陈株），中和试验中病毒浓度为100TCID₅₀/ml。

2.血清中和抗体检测：1/5~1/640稀释的血清与等量病毒混合，37℃水浴中作用2小时，取出接种于人胚肾细胞管，每份接种4管细胞，

每管0.1ml加维持液0.9ml, 37℃孵育, 观察7天, 以不出现细胞病变的血清最高稀释度为中和抗体的效价。

结 果

一、病毒分离结果: 8份标本采用床边接种和6小时内实验室接种, 阳性标本都在第5天到10天出现细胞变圆、折光增强、细胞突起, 形成融合巨细胞, 融合区呈毛玻璃状, 结果见表1。

表1 8例婴儿毛细支气管炎标本病毒分离结果

患儿序号	年龄	标本采集于发病后天数	原代病变天数		传代病变天数		血吸附
			床边接种	6小时内接种	2代	3代	
1	42天	5	5	7	6	3	—
2	40天	5	10	10	6	3	—
3	30天	8	—	—	—	—	—
4	2个月	6	5	5	3	3	—
5	2个月	6	7	8	3	3	—
6	30天	6	ND	9	5	3	—
7	6个月	7	5	5	3	3	—
8	2个月	8	—	—	—	—	—

ND 表示未做

表2

8例患儿病毒分离和急性期及恢复期血清中和抗体滴定结果

患儿序号	病毒分离结果	急性期血清		恢复期早期血清		恢复期后期血清	
		采血时间(天)*	效价	采血时间(天)*	效价	采血时间(天)*	效价
1	+	5	<10	20	80	50	320
2	+	5	<10	ND		48	320
3	-	8	<10	ND		ND	
4	+	6	<10	23	80	50	320
5	+	6	<10	23	160	44	640
6	+	6	<10	20	80	44	320
7	+	7	<10	ND		50	320
8	-	8	<10	ND		ND	

+ 病毒分离阳性; - 病毒分离阴性; ND 未检查; * 指发病后的天数

同时期住院诊断为毛细支气管炎而未作病毒分离的患儿, 恢复后期单份血清15份与本次分离到的毒株作中和试验, 抗体有8倍以上增高的占80%。说明当时流行的是同一病原。因此从病毒学和血清学结果分析与文献^[1]报道的

二、6份阳性标本稳定传至第3代作生物学试验和理化试验的结果: 6株完全一样。即经pH3.0处理1小时和20%乙醚4℃处理过夜后病毒活性全消失, 鸡胚上不生长、0.2%豚鼠血球吸附和血凝均为阴性。当细胞单层出现50~75%病变时, 取出作HE染色, 均见到典型的嗜酸性胞浆内包涵体, 细胞核被挤在一边。

三、8例做病毒分离的患儿急性期和恢复期双份血清中和试验结果: 见表2。同时期住院诊断为毛细支气管炎患儿恢复期血清15份与本次分离到的陈株中和效价<1:20的3例; 1:80的3例; 1:160 3例; 1:320 4例; 1:640 2例; 抗体有8倍以上增高的占80%。

讨 论

江苏省泗洪县于1985年冬至1986年春爆发流行婴儿毛细支气管炎, 大多数表现为喘憋型。年龄在6个月之内的占71.5%。在急诊住院的患儿中采集了8份标本, 分离到6株病毒。经生物学鉴定和理化试验检查符合呼吸道合胞病毒。8例采急性期血清中和试验效价<10, 恢复期早期80~160, 恢复期后期320~640。

RSV特点完全一致。RSV主要侵犯婴幼儿, 病毒主要局限于呼吸道, Goklik报道^[2]RSV常引起家庭内传播, 多见于较大儿童在外面感染后, 再传给婴幼儿。进行病毒分离的8例患儿中有2例都有母亲先“感冒”, 三天后婴儿

开始发病的历史。呼吸道合胞病毒对成人主要引起普通感冒^[3]。6个月之内的婴幼儿发病严重的主要原因是缺乏细胞免疫功能和局部抗体。用RSV死疫苗免疫和自然感染RSV的小鼠作模型^[1]，结果证明自然感染中机体恢复要靠杀伤性T细胞，而接种死疫苗后主要产生IgG型抗体，这种抗体易和病毒抗原形成免疫复合物，导致严重的Arthus现象。推测在人也有相似的情况，6个月之内的婴儿有来自母体的IgG抗体，在RSV感染中母亲的这种抗体可能不是保护因子。近有资料证明在喘憋型患儿中，特异性IgE很快能在鼻咽分泌物中存在，IgE滴度高低与疾病严重性和缺氧程度有关。本次发病大多数为喘憋型，可能和IgE有一定关系。

从病毒分离阳性率来看，8份标本中分离到6株，这结果提示选择病例非常重要，采集标本用0.25%乳蛋白水解物Eagle氏液加2%牛血清，对短期保存病毒可能也是重要的因素。其次在细胞维持液中加200μg/ml谷氨酰胺能促进病毒的增殖和融合体形成。选用人肾细胞单层以刚刚长满为宜。

Virologic and Serologic Observations in an Outbreak of Infantile Bronchiolopneumonitis Yao Kun, et al., Nanjing Medical College

From December 1985 to February 1986 in Si Hong County, Jiang Su Province an outbreak of bronchiolopneumonitis occurred. In December the number of admitted infant cases with bron-

chiolopneumonitis was 32% of total hospitalized cases. The youngest infant was 28 days in age and the oldest was one and half years. 71.5% percent occurred in children less than six months in aeg.

From nasopharyngeal washing of acute cases were isolated 6 strains of viruses. The result of identification of them revealed that they were respiratory syncytial virus. 8 pairs of serum sample were collected from acute and convalescent periods for neutralizing antibody titrations. The result showed that specific neutralizing antibody titers increased 8~64 fold in comparison between the acute and the convalescent.

Key Words Bronchiolopneumonitis
Respiratory syncytial virus
Neutralizing antibody

参 考 文 献

1. Cate TR. Respiratory Tract Infections in "Rothschild, H. (ED): Virology in Medicine" Oxford University Press. New York 1986; pp 111~132.
2. Wilfert (M. Paramyxoviruses In "Joklik WK. (ED): Virology" Appleton-Century-Crofts/ Norwalk, Connecticut 1985; pp251~261
3. Kimball AM, et al. Isolation of respiratory syncytial and influenza viruses from the sputum of patients hospitalized with pneumonia. J Infect Dis 1983; 147(2): 181.
4. San Goaquin VH, et al. Role of chlamydia trachomatis in upper respiratory tract infections in children. J Infect Dis 1986; 154(1): 193.

出 版 预 告

由李之桂、范明远主编的《感染症免疫诊断技术》，系微生物学技术丛书之一。科学出版社将于1989年12月出版发行。内容包括：一、感染症变化及诊断技术发展的基本知识；二、各细菌、病毒、真菌、立克次体及衣原体等感染症的免疫诊断方法和评价；三、免疫诊断技术概要及各类方法（包括百多种方法的目录以供查阅），本书可供卫生防疫、医疗检验、微生物及免疫学专业科技人员参考。32开本，全书约45万字。订购者请预付款8元/册（书出后多退少补），一律邮局汇款：（1）邮政编码102206，北京昌平流字五号匡平平收或（2）邮政编码630038重庆第三军医大学微生物教研室余国泉收。预订者可保证供应。