

# 环境水中脊髓灰质炎病毒二年循环动态研究

徐凌云<sup>1</sup> 赵文彬<sup>2</sup> 刁连东<sup>1</sup> 吴桃林<sup>2</sup> 张学年<sup>2</sup> 周克捷<sup>2</sup> 王理兴<sup>2</sup>

**摘要** 1993~1995年作者在连云港市选近三年曾有脊髓灰质炎病例的乡(镇),采用氯化钠-三氯化铝沉淀法对河塘污水中脊髓灰质炎病毒(PV)循环动态进行研究。发现:在连续二年的各个季节采集的水样中均能分离到致Hep-2细胞病变的病毒(57.95%),经鉴定:21株为PV(23.86%),其中PV I 18株、PV II 1株、PV III 2株,另30株(34.09%)为非脊灰肠道病毒(NPEV)。鉴于我国目前脊灰流行毒株主要为PV I,经RT-PCR试验,所分离的PV I均为疫苗(Sabin)相关株,初步表明调查地区的外环境的PV已被疫苗相关株所取代。

**关键词** 脊髓灰质炎病毒 疫苗株

**A Study of the Cyclic Development of Poliomyelitic Virus in Pond Foul Water during A Two-Year Span** Xu Ling-yun, Zhao Wen-bin, Diao Lian-dong, et al. Public Health and Preventative Station of Jiangsu Province, Nanjing 210009

**Abstract** A study on polio virus in pond foul water of town and counties in Lian Yun Gang city which had a reported case of polio. Foul water was examined by 1% NaCl-AlCl<sub>3</sub> precipitated method quarterly during 1993-1995, to observe the cyclic development of the virus. Results showed that the isolation rate of polio virus was 57.95% with 21 strains of 18 PV I, 1 PV II and 2 PV III and 30 strains of NPEV (34.09%). In view of PV I as main epidemic strain in our country, and related strains to sabin was confirmed using RT-PCR. The above data suggested that polio virus in the pond water had been replaced by relative strains of sabin.

**Key words** Polio virus Strain of sabin

为了解外环境中脊髓灰质炎(以下简称脊灰)病毒野毒株循环情况,我们于1993年在连云港市农村选择近3年曾有确诊脊灰病例的乡(镇),连续2年定点监测河塘污水中脊灰病毒野毒株循环和非脊灰肠道病毒的季节消长动态,结果报告如下。

## 材料和方法

一、监测水点:在连云港市的东海、赣榆两县各选择一个1989年以来曾有确诊脊灰病例报告的乡(镇),患者居所附近分布的5~7个村民生活用水的污水河塘作为临测水点。从1993年10月~1995年8月,按春

夏秋冬四季分别于4、8、10、12月,在每个水点采集上层水样10L。

二、材料: Hep-2 传代细胞; 实验用病毒为脊灰 I 型 Brunhilde 株, 滴度为 10<sup>6</sup>/ml; 脊灰 I ~ III 型诊断血清由卫生部中国药品生物制品检定所供给。

### 三、方法:

1. 水中病毒浓缩方法: 选用 NaCl-AlCl<sub>3</sub> 沉淀(下称沉淀法)。将水样用 1N HCl 调 pH 至 3.5~4.5, 按每升水样加 NaCl (1%) 和 AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O (0.001mol/L) 混匀, 室温静置过夜(夏季放 4℃ 冷库) 3000r/min 20 分钟, 用甘氨酸缓冲液吹打沉渣 5 分钟, 使病毒洗脱, 再 1500r/min 10 分钟, 取上清 8ml, 用 1N HCl 调 pH 至 7.2, 加抗生素和小牛血清各 1ml, 置 -30℃ 冰箱待检。

1 江苏省卫生防疫站 南京 210009

2 连云港市卫生防疫站

2. 模拟标本的制备: 取 10000ml 河水煮沸置冷, 取 8000ml 加 Brunhilde I 型病毒 0.1ml (最终浓度约  $1 \times 10^4/1000\text{ml}$ ), 混匀, 分装 4 瓶, 用沉淀法浓集病毒, 浓缩体积为 8ml, 并计算病毒回收率。

3. I 型 Brunhilde 病毒滴度对照: 取 2 支试管, 每支试管加 8ml 未经煮沸的河水和  $10^6$  的 I 型 Brunhilde 株 0.025ml, 相当于 2000ml 河水中所加病毒的  $1 \frac{1}{4}$  量。

4. 病毒培养及滴定: 用 Hep-2 细胞培养分离病毒, 水样标本采用细胞瓶接触法, 病毒滴度测定用常规方法 (4 管/每个稀释度)。

5. 结果断定: 凡接种标本的 Hep-2 细胞瓶 (管) 细胞出现退行性病变卅~卅, 即收获置  $-30^\circ\text{C}$  保存, 无病变者育传二代, 分离的病毒株用脊灰 I ~ III 型诊断血清作中和试验定型, 凡未被脊灰诊断血清定型者, 均定为 NPEV。

6. 病毒回收率计算方法:

$$\text{病毒回收率} = \frac{\text{某浓集法病毒滴度}}{\text{病毒对照滴度} \times \frac{8000}{10000}} \times 100\%$$

7. RT-PCR 试验: 定型为 PV I 的毒株, 检定 Sabin I 特异的 PCR (SI/PCR) 和 PV I 野毒株特异的 PCR (WI/PCR) 按文献<sup>[1]</sup>进行。

## 结 果

一、沉淀法的病毒回收率: 模拟标本经二次实验, 病毒平均滴度, 病毒对照、沉淀法分别为  $10^{4.0}$ 、 $10^{3.67}$ , 代入公式计算沉淀法的病毒回收率为 58.46%。

二、不同季节环境污水病毒分离情况:

1. 从表 1 可见在各季节采集的污水中均能分离到致 Hep-2 细胞病变的病毒。

2. 从表 2 可见以秋季的病毒分离率较高, 有季节性差异。

3. 经血清学鉴定, 其中 18 株为 PV I, 1 株为 PV II, 2 株为 PV III, 另有 30 株病毒不被脊灰 3 个型诊断血清所中和, 暂定为 NPEV。

表 1 不同季节环境污水中病毒分离结果

|        | 季节 | 水点数 | 阳性数 | PV |    |       | NPEV |    |
|--------|----|-----|-----|----|----|-------|------|----|
|        |    |     |     | I  | II | III 计 |      |    |
| 1993 年 | 秋  | 10  | 9   | 8  | —  | —     | 8    | 1  |
|        | 冬  | 10  | 4   | 1  | —  | —     | 1    | 3  |
| 1994 年 | 春  | 12  | 9   | 3  | —  | 1     | 4    | 5  |
|        | 夏  | 12  | 6   | 1  | —  | —     | 1    | 5  |
|        | 秋  | 11  | 9   | 1  | —  | —     | 1    | 8  |
| 1995 年 | 冬  | 11  | 5   | 2  | —  | —     | 2    | 3  |
|        | 春  | 11  | 5   | 2  | —  | —     | 2    | 3  |
|        | 夏  | 11  | 4   | —  | 1  | 1     | 2    | 2  |
| 合计     |    | 88  | 51  | 18 | 1  | 2     | 21   | 30 |

表 2 不同季节病毒分离率的比较

| 季节 | 水点数 | 阳性数 | 阳性率 (%) |
|----|-----|-----|---------|
| 春  | 23  | 14  | 60.87   |
| 夏  | 23  | 10  | 43.48   |
| 秋  | 21  | 18  | 85.71   |
| 冬  | 21  | 9   | 42.87   |
| 合计 | 88  | 51  | 57.95   |

$$\chi^2 = 10.66, P < 0.05$$

4. 在 PV 与 NPEV 分离的构成方面, 1993 年秋冬季以 PV 为多 ( $\chi^2 = 10.63, P < 0.01$ ), 1994 年秋冬季以 NPEV 为多 ( $\chi^2 = 4.11, P < 0.05$ )。

5. 经统计学处理比较, 东海、赣榆两县监测水点的病毒检出率均无显著差异。病毒分离率分别为 56.3%、60.0% ( $\chi^2 = 0.13, P > 0.1$ ), PV 分离率分别为 22.9%、25.0% ( $\chi^2 = 0.052, P > 0.1$ ); NPEV 分离率分别为 33.3%、35.0% ( $\chi^2 = 0.027, P > 0.1$ )。表明两个监测水点病毒污染状况基本相同。

三、RT-PCR 试验结果: 将鉴定为 PV I 的病毒送中国预防医学科学院病毒学研究所肠道病毒室用 Sabin I 和野毒 WI 株, 对特异引物 RT-PCR 方法检测结果 Sabin I / PCR 全部阳性, WI / PCR 阴性, 表明所分离的 PV I 均为 PV 病毒 I 型疫苗相关株。

### 讨 论

在外环境中有无脊灰野毒株的传播，是制订消灭脊灰策略的主要依据，也是验证消灭脊灰的重要指标之一。在人群抵抗力大量增长的情况下，即使在人肠道分离脊灰野毒株已有困难，还能从污水和土壤里分离到脊灰病毒。因此，为了彻底消灭脊灰，还应注意消除外界环境中的脊灰病原体。

从二年的监测结果看，共分离到 PV21 株 (23.9%)、NPEV 30 株 (34.1%)，表明河塘污水中的病毒污染还是比较严重的。鉴于目前我国引起脊灰的病毒主要是 PV I 型<sup>[2]</sup>，我们从污水中分离的 PV 亦主要是 PV I 型 (85.7%)，经特异的 RT-PCR 法对病毒

基因组分子水平检测，所分离的 PV I 均为 PV I 型疫苗 (Sabin I) 相关株，此结果似乎说明调查地区经多年广泛常规免疫和强化免疫，易感人群服用活疫苗，疫苗株病毒通过肠道复制，随粪便大量排出体外，使外环境中的 PV 已被疫苗相关株所取代。

(RT-PCR 实验承中国预防医学科学院病毒学研究所方肇寅教授指导，特此致谢)

### 参 考 文 献

- 1 方肇寅. PCR 方法检测我国脊髓灰质炎病毒 I 型野毒株的研究. 病毒学报, 1994, 10: 51.
- 2 张礼壁. 1989 年我国脊髓灰质炎流行情况的初步分析. 中国疾病监测, 1990, 5: 82.

(收稿: 1996-01-05 修回: 1996-03-28)

## 儿童合胞病毒与腺病毒感染的临床流行病学分析

钱新宏 樊世斌 焦西英 张国成 李佐华 许东亮 成胜权

为了探讨呼吸道合胞病毒 (Rsv) 与腺病毒 (Adv) 在西安地区小儿急性呼吸道感染 (ARI) 中的流行病学特征及其与临床的关系，用免疫荧光法对 1990~1996 年 (每年 11 月~次年 3 月) 我科治疗的 370 例 ARI 患儿进行了鼻咽分泌物 (NPS) 中 Rsv、Adv 抗原检测，结果报告如下。

一、临床资料: 370 例患儿中男 242 例，女 128 例，男女之比为 1.89:1；年龄 <1 岁 131 例，1~3 岁 149 例，>3 岁 90 例。上呼吸道感染 (上感) 120 例，下呼吸道感染 (下感) 250 例。

二、结果: 370 例 (份) NPS 同时检测 Rsv、Adv 抗原，阳性 187 例 (50.5%)，其中 Rsv 阳性 145 例 (39.2%)，Adv 阳性 51 例 (13.8%)，二者均阳性 9 例 (2.4%)。

1. 按年龄分组进行比较: ①Rsv 阳性检出率，

<1 岁组明显高于其他两组 ( $P < 0.01$ )；②Adv 检出率，1~3 岁组高于其他组 ( $P < 0.05$ )。

2. 按上感与下感分组比较: ①Rsv 检出率，下感组高于上感组，差异非常显著 ( $\chi^2 = 6.88, P < 0.01$ )；②Adv 检出率，上感组明显高于下感组 ( $\chi^2 = 8.33, P < 0.01$ )；③下感组 Rsv 检出率明显高于 Adv ( $\chi^2 = 71.60, P < 0.01$ )，而上感组二者无显著差异 ( $\chi^2 = 1.41, P > 0.05$ )。

3. 按临床上分为喘鸣组与非喘鸣组比较: 喘鸣组 Rsv 检出率明显高于非喘鸣组 ( $\chi^2 = 11.48, P < 0.01$ )，而 Adv 检出率两组无差异。

三、讨论: 本研究表明，Rsv、Adv 是西安地区冬春季小儿 ARI 的重要病原，以 Rsv 为主。Adv 主要引起上感，以 1~3 岁感染率较高；Rsv 与下感关系更为密切，且 1 岁以内婴儿为其易感儿。Adv 感染与喘鸣无相关性，而 Rsv 感染与喘鸣关系密切。

(收稿: 1996-04-12 修回: 1996-05-09)

作者单位: 第四军医大学西京医院儿科 西安 710032