

从腹泻病人粪便中检出冠状病毒的报告

吉林省卫生防疫站 黄永年 王丽娜 骆洪钧
东丰县卫生防疫站 聂爱光 李岩
指导者 郭存三

1984年3~4月,吉林省东丰县和平乡田家街屯发生一起腹泻病的爆发流行。我们在这批腹泻病人的粪便中发现了冠状病毒。现报告如下:

流行病学特点

疫区位于吉林省东丰县、海龙县和辽宁省清原县的交界处。1984年初春以后,腹泻病在这一地区均有不同程度的流行。二月下旬,田家街屯村民蔡某到东丰县横道河乡办事,当时该地恰有腹泻病流行,返家后于3月1日出现腹泻。3月10日和20日其妻与子先后发病,接着在其亲属和邻居中相继出现病人,到4月中旬流行达高峰。

病人的主要临床表现是:腹泻、腹痛、肠鸣、恶心和呕吐。一般状况良好。仅极少数病人有低热,部分病人有咽赤。粪便为水样或稀糊状,每日排便次数在3~10次。

疫区内有居民423人,其中男207人,女216人。发生病人56名。年龄分布从11个月到76岁,主要集中在21~40岁,占病人总数的57.1%(32/56)。56名病人中男34名,女22名,经统计学计算差异不显著($\chi^2 = 3.19558, P > 0.05$)。

从3月1日出现第1例病人,到4月29日最后1例发病,作出的发病日期曲线是渐升渐降型,与水型爆发者不同。

从患者家庭住址的分布情况看,无一定规律性,而且多数居民均食用自家的手压井水。

有15名患者可以查明潜伏期,最短者1天,最长者10天。平均潜伏期为4.729天。

全村共92户,有26户发病。其中每户1名病人者12户;2名病人4户;3名病人8户;4名病人1户;5名以上病人1户。病人的分布不符合二项式分布,即各户发病机率不等。说明本批病人的分布有家庭聚集性($\chi^2 = 609.167, P < 0.001$)。

这批病人的家庭续发率为29.6%,与全村的平均发病率13.2%比较,有显著差异($\chi^2 = 7.3377, P < 0.01$)。以上结果说明,这次爆发是由于生活接触所造成。

材料与方 法

一、材料来源:在疫区内采取发病1~3天以内的患者粪便,共计10份。同时采取疫区内健康人粪便20份。便样放液氮内送回实验室,冻存于-70℃冰箱备用。另外在疫区内采集双份血清10份,健康人血清20份。轮状病毒抗血清和猪类冠状病毒抗血清分别由长春市儿童医院和中国人民解放军兽医大学馈赠,成人腹泻轮状病毒抗血清系本实验室制备。

二、电镜样品的制备:

1.直接电镜样品:将病人粪便溶化后,以TGL-2型离心机离心15分钟(5000转/分),取上清滴醚、负染。

2.免疫电镜样品:取经超离心提取的病毒液与患者恢复期血清,二者均作适当稀释后,以1:1混合,放4℃冰箱过夜。次晨取出放37℃水浴30分钟,然后以TGL-2型离心机离心15分钟(15000转/分)。弃1/2量上清,下层液吹打数次,滴醚、负染。

整个实验过程中均使用JEM-7型电镜。

三、补体结合实验:

1. 抗原的制备: 取电镜观察阳性的患者粪便, 以GL-2型高速冷冻离心机离心50分钟(8000转/分), 取上清以MSE-50型超速离心机35000转/分, 2~4℃, 离心90分钟, 弃上清。沉淀用Tris-HCl缓冲液洗下, 再以上述条件离心15分钟, 弃沉淀。取上清作蔗糖梯度离心。然后分层取样, 作电镜观察。见50%蔗糖与30%蔗糖之间的提取液中含病毒量最多(图1, 见插图第1页)。以此提取液作抗原用。

2. 微量补体结合试验: 将已灭活的待检血清和抗原液适当稀释后, 每孔加抗原、待检血清、2单位补体各25微升, 1%致敏羊血球50微升。同时设好各种对照组。

四、细菌学检查: 按常规方法进行。

结 果

一、直接电镜观察: 在所有10份病人粪便的上清液中, 都可以看到散在分布的病毒颗粒(图2, 见插图第1页)。病毒颗粒大小不一, 最小的直径约60毫微米, 最大的一颗直径达

413毫微米。形态为圆形或椭圆形, 周围可见呈放射状排列的冠。核心部位质地不甚均匀。

在提取后的电镜样品中, 可以看到形状多样、大小不一的冠状病毒。冠状病毒的冠可以明显看到分为两层, 考虑系完整的病毒颗粒; 部分病毒的核心部位可以看到质地致密的团块样物质, 考虑是半崩溃的病毒^[1]。

在10份病人粪便中未见到冠状病毒以外的其他病毒。在20份正常人粪便中未见病毒样颗粒。

二、免疫电镜观察: 可以看到病毒被凝集成团(图3, 见插图第1页)。在各个病毒颗粒之间, 距离大致相等, 抗体桥依稀可辨。颗粒表面粗糙, 可能是由于抗体附着所致。颗粒之间排列比较规律, 与非免疫电镜下所见的散在分布迥然不同。

用病人急性期血清及正常人血清与病毒悬液作免疫电镜均未见病毒被凝集。

三、补体结合试验: 10份患者双份血清中有9份看到了补体结合抗体效价有4倍或4倍以上的增长(附表), 其余被检血清为阴性。

四、细菌学检查: 10份患者粪便及20份正

附表

10份患者双份血清补体结合试验结果

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
急性期	1:16	1:128	1:32	1:64	0	1:32	1:128	1:64	1:64	1:32
恢复期	1:128	1:128	1:128	1:512	1:256	1:256	1:1024	1:2048	1:2048	1:128
倍数	8		4	8		8	8	32	16	4

常人粪便均未查到志贺氏菌、耶尔森氏菌、空肠弯曲菌、沙门氏菌及各种能引起腹泻的大肠菌。

讨 论

近年来许多作者报告在患有胃肠炎的成人和儿童粪便中看到了冠状病毒。但由于在一些正常人的粪便中也可以看到冠状病毒^[2], 所以有些人对于冠状病毒引起人类, 尤其是成人的腹泻病一直持怀疑态度。最近Giuseppe等^[3]研究了人的肠道冠状病毒与人冠状病毒OC43

株之间的关系, 及其在病毒性胃肠炎中可能的作用, 提出人类肠道冠状病毒的感染可能与一些急性胃肠炎有关。

本次腹泻病爆发中所出现的56名患者, 其发病方式及临床表现相似, 均在同一短时期内发生, 符合一次流行性肠道感染。本文的流行病学调查结果证明了这一结论。

虽然冠状病毒有时在正常人粪便中也可以查到, 但本文的免疫电镜和补体结合实验结果却证明, 这批病人确实受冠状病毒的感染, 并排除由于其他常见病原体引起腹泻病的可能。

摘 要

1984年春,吉林省东丰县田家街屯发生了一起腹泻病的爆发流行。流行病学调查结果表明,这是一起由于接触传染引起的流行性腹泻病。在疫区采集的10份患者粪便均查到了冠状病毒样颗粒;而20份对照样品未查到病毒样颗粒。9/10的患者双份血清的补体结合抗体效价有4倍或4倍以上的增长;而20份对照样品为阴性。这些结果说明,冠状病毒是引起这次疫情爆发的病原体。

A Finding of Coronavirus Particles in Feces of patients with Diarrhea Huang Yongnian, et al., The Anti-Epidemic Disease and Sanitation Station of Jilin Province, Changchun

An outbreak of epidemic diarrhea occurred during March-April period in 1984 at a village of Dongfeng County of Jilin Province. 10 fecal samples as well as 10 paired sera from clinical cases were collected and other 20 fecal samples as well as 20 serum samples from healthy individuals in the village were used as controls. Coro-

navirus-like particles were seen in all the fecal samples collected from acute cases using electron microscopy but not in control samples. The coronavirus-like particles were aggregated by convalescent-phase sera in immune electron microscopy. The micro complement fixation test using specific extracted antigen was carried out. 9 out of 10 paired sera from the patients showed 4-fold or more increase titre while sera from healthy controls were negative.

参 考 文 献

1. Cul EO, Egglestone SI. Corona viruses in human. In: Tyrrell DAJ, Kapikian AZ, eds. In virus infection of the gastrointestinal tract. New York, 1982: 179-193.
2. Roger DS, et al. Coronavirus-like particles in aboriginals and non-aboriginals in Western Australia. Aust Med J 1978; 1: 307.
3. Giuseppe G, et al. Human enteric coronavirns; Antigenic relatedness to human coronavirus OC 43 and possible etiologic role in viral gastroenteritis. J Inf Dis 1985; 151(5): 796.

(此项工作得到中国人民解放军兽医大学杨盛华、武银莲、贾补年、朱维正同志,长春市儿童医院刘长青同志,东丰县医院李印堂、李华、李凤琴、池海青、王淑霞等同志的大力支持,谨此致谢)

由致病性大肠菌(O₁₂₇:B₈)引起新生儿腹泻爆发流行的菌落不相容性研究

福建省立医院 吴开宇 林师敬 石小羽

为了探索1984年冬我院新生儿室所发生的由致病性大肠菌(O₁₂₇:B₈)引起新生儿腹泻爆发流行时从患儿分离株与有关标本或非流行期所分离的同血清型菌株之间的关系;特进行交叉不相容性实验。

一、方法:将上述菌株(19株)先检查动力,然后将菌株成对地对侧穿刺接种于含0.3%琼脂的半固体营养琼脂平板上,经37°C 3~4天孵育后,记录结果。皿上两株扩散的生长物完全并合者为“0”,两株生长物近交界处的密度增高且呈轻度“聚束”状者为“1”,两株扩散生长物之间无生长清晰区<1mm者为“2”,>1~10mm者为“3”,>10mm者为“4”。

二、结果与分析:流行期患儿分离株(10株)对新

生儿室用的乳嘴和台布所分离同血清型的菌株间交叉不相容性反应;除个别呈“1”类型外,绝大多数呈“0”类型,但对流行前三个月或1980、1983年从患儿所分离的同血清型菌株交叉实验结果,大多呈“2”或“3”类型,没有发现第“4”类型反应。上述结果可证明:①这次新生儿室爆发流行的腹泻是由同一种病原菌所引起的,它与新生儿室用的乳嘴关系密切。台布的O₁₂₇:B₈菌可能是患儿污物污染的。②这次流行株与非流行期或往年的同血清型的大肠杆菌菌株在抗原结构上可能并非完全一致。

本法操作简便,无需特殊培养基或试剂,是流行病学调查、分析有关标本中所分离同血清型大肠杆菌之间相互关系的一个有益的辅助方法。

从腹泻病人粪便中检出冠状病毒的报告

(正文见25页)

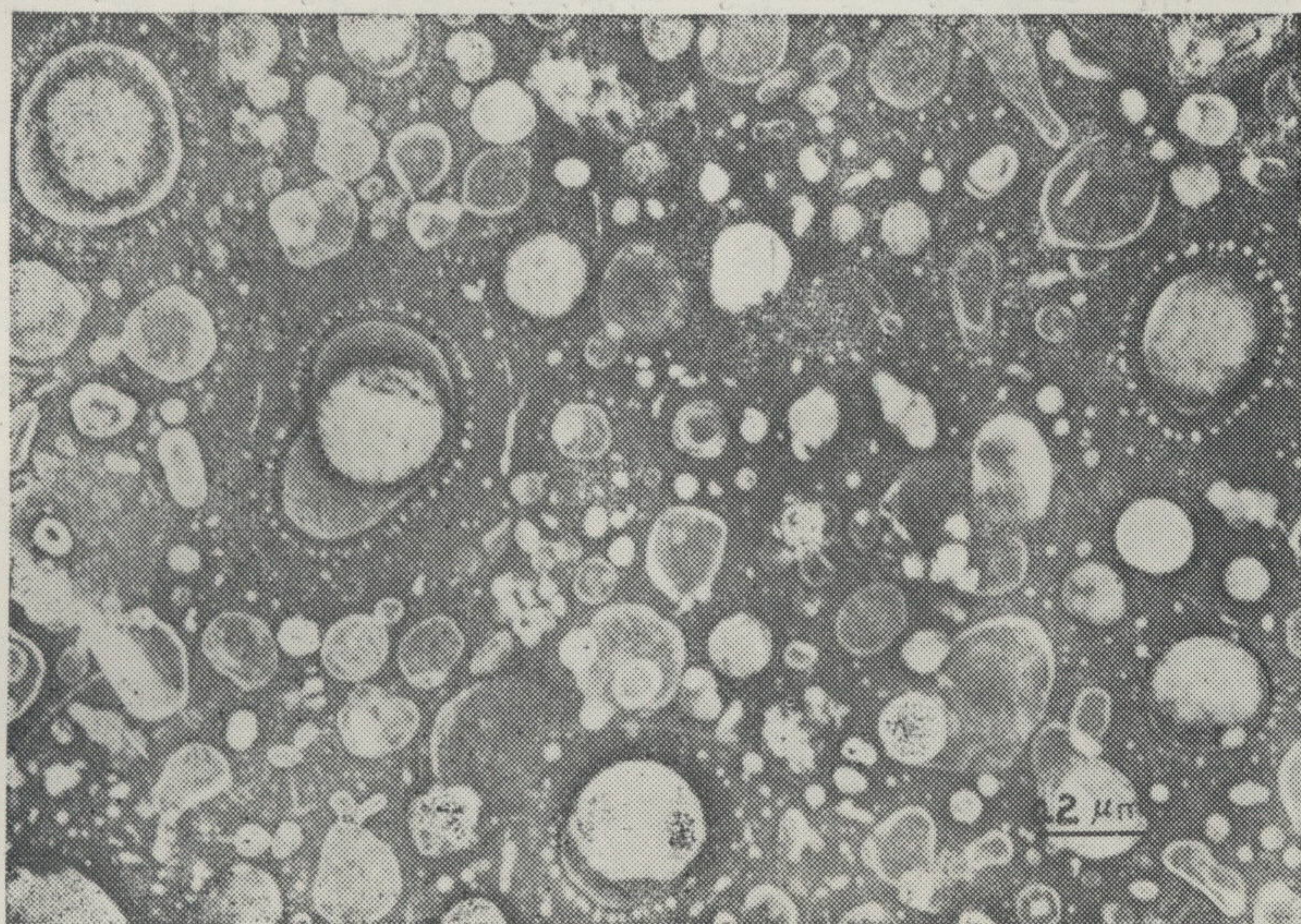


图1 经超离心提取的冠状病毒样颗粒

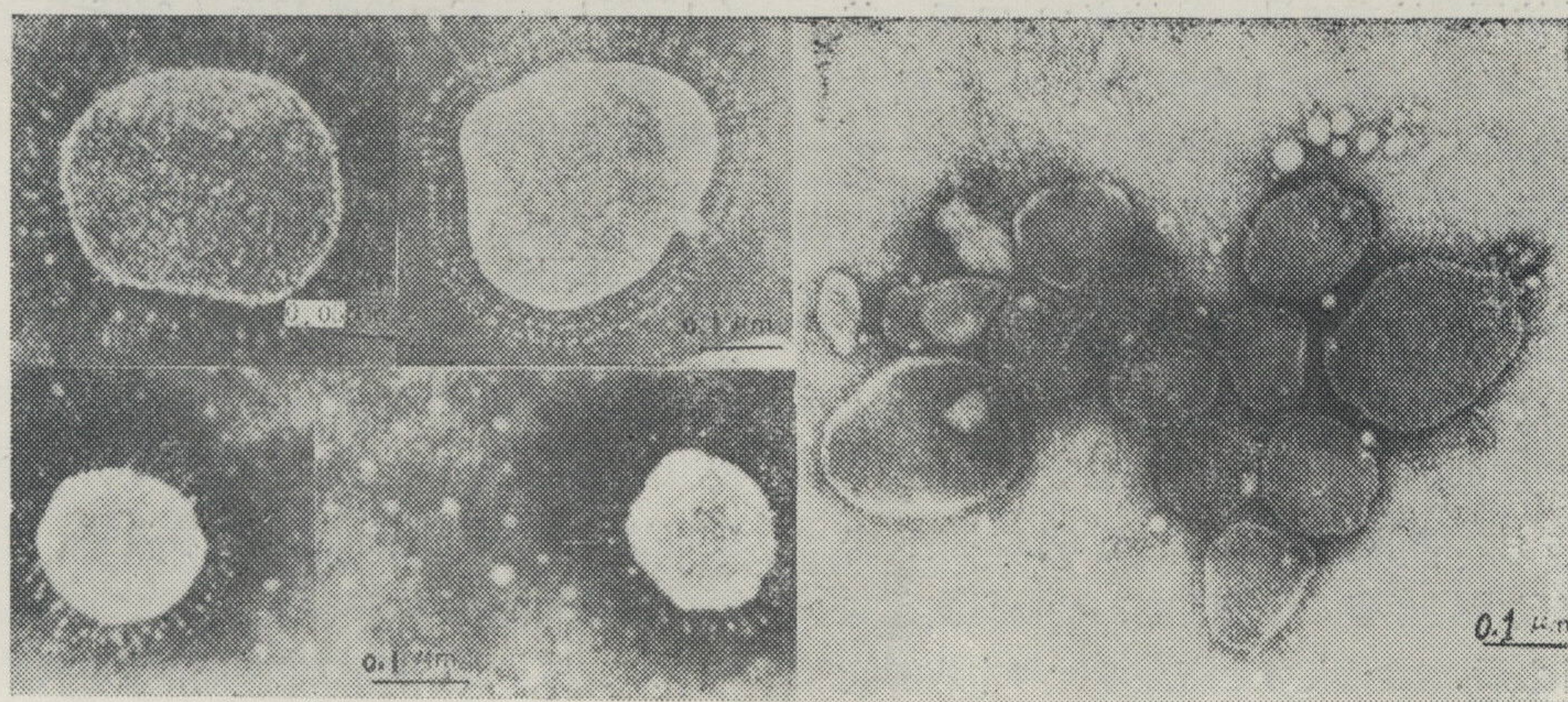


图2 粪便样品中的冠状病毒样颗粒

图3 被恢复期血清凝集的冠状病毒样颗粒