

胶州湾菲律宾蛤仔甲型肝炎病毒污染 调查及对策研究

逢增昌 孙克诚 张爱华 王金亮 姜珍霞 杨宇 孙小林 史英辉 马章亮

摘要 为查明胶州湾菲律宾蛤受 HAV 污染情况,于1991.7~1992.8月间,在湾内设6个监测点,每月定时、定点采集标本共75份。经核酸斑点杂交试验, HAV 分离及 PCR 法检测 HAV 前体 RNA, 结果表明:胶州湾的一定海域,一定时间的菲律宾蛤有 HAV 污染迹象,但已失去生物活性。同时流行病学调查证实,菲律宾蛤不是青岛市区甲型肝炎(甲肝)发病和流行的直接原因。但鉴于市民生活污水直接排入胶州湾内,必须加强市区生活污水治理和对市民食用海产品的饮食卫生教育。

关键词 菲律宾蛤仔 甲型肝炎病毒

Study on the Contamination of Ruditapes Philippinarum by HAV in Jiaozhou Bay and Its Countermeasures Pang Zeng-chang, Sun Ke-cheng, Zhang Ai-hua, et al. Qingdao Municipal Hygiene and Epidemic Prevention Station, Shandong Province, 266001

Six surveillance spots were set up in Jiaozhou Bay to examine the contamination of Ruditapes Philippinarum (R. P) by HAV. Specimens were collected regularly every month. Seventy-five specimens were collected in July 1991-Aug 1992. The precursor RNA of HAV was detected by methods of PCR, RNA dot-blot hybridization and HAV isolation. It showed that R. P. had been contaminated by HAV in some areas of the bay at times, but the virus was in a state of inactivity. Epidemiologic investigation in the same period proved that R. P. was not the direct cause of HA epidemic in Qingdao. However, the domestic sewage is directly drained into the Jiao Zhou Bay so the control of the city sewage drainage system must be enforced and health education serve for people in taking sea food and drink should be strengthened.

Key words Ruditapes Philippinarum HAV

胶州湾盛产的菲律宾蛤仔(Ruditapes Philippinarum 又称蛤仔)是青岛市的重要资源^[1]和市民喜爱的食物。目前研究证实贝类软体动物是传播病毒性肝类的重要媒介之一^[2~7,10,11],尤其在1988年,毛蚶引起上海甲型肝炎的爆发流行,震惊全国,青岛市民对胶州湾蛤仔是否受到 HAV 污染及能否销售食用和继续开发利用,已成为重要的研究课题。为查明情况,于1991~1993年对胶州湾的菲律宾蛤仔受 HAV 污染的情况进行了调查研究,现报告如下。

材料与方 法

一、选点和采样:根据胶州湾受市区多个生活污水排泄口和6条河道排污口的污水、潮汐回旋情况,在盛产蛤仔的湾东和湾北部距海岸约200~300m 设立6个监测点。各点之间相距约500m。自1991年7月起,每月上旬派专人乘专船到上述监测点,向捕捞作业人员随机采集蛤仔各约1.5kg,带回实验室-70℃冰箱冻存待检。

二、标本处理：称取冻存蛤仔750g（约400只），洗净外壳，化冻后剖检，取蛤腮放平皿中，2000r/min 10 min，弃上清，取压缩腮组织在乳钵中研成糊状，加0.01M PBS—0.4M NaCl (pH7.4) 溶液稀释成30%匀浆，经3000r/min 30min 弃沉渣，再经15000r/min 30min 离心分离，取上清，经两次加等量氯仿，振荡5min，3000r/min 30min 后吸取水溶液部分即为粗提样品。

三、病毒分离：以2BS 细胞，按参考文献〔8〕分别对每份标本进行病毒分离。

四、核酸斑点杂交试验：将6个监测点的标本粗提样品，按1~3月，4~6月，7~9月，10~12月进行合并，由专人在中国预防医学科学院病毒研究所肝炎室，按文献〔8〕进行检测。

五、PCR 检测 HAV 前体 RNA^{〔9〕}：将核酸斑点杂交阳性点的粗提液和蛤仔，同时送中国预防医学科学院环境卫生与卫生工程研

究所检测并提供结果。

结 果

一、核酸斑点杂交试验：共检测标本24组，其中东大洋第三季度，大港外第一季度标本弱阳性（见表1）。结果表明：菲律宾蛤仔有受到 HAV 污染的迹象。

表1 各监测点不同时间标本核酸斑点杂交检测

	1991		1992		对照	
	三季度	四季度	一季度	二季度	阳性	阴性
大港外	-	-	+	-	+	-
四方	-	-	-	-	+	-
沧口	-	-	-	-	+	-
东大洋	+	-	-	-	+	-
西大洋	-	-	-	-	+	-
河口	-	-	-	-	+	-

二、HAV 分离：共采集标本75份，经粗提取样品接种后，均为阴性（见表2）。表明本次调查未检出 HAV。

表2 75份菲律宾蛤仔 HAV 分离情况

	大港外	四方	沧口	东大洋	西大洋	河口	合计
接种份数	13	13	13	12	12	12	75
阳性份数	0	0	0	0	0	0	0
%	0	0	0	0	0	0	0

三、HAV 前体 RNA 检测：核酸斑点杂交试验阳性点的蛤仔及其粗提样本，经 PCR 检测均为阴性。证明用目前最敏感的检测方法，仍未发现有生物活性的甲肝病毒。

讨 论

一、样品的代表性和检测方法的科学性：根据蛤仔的分布，捕捞区及湾东海域有多处生活污水排泄口等特点，我们在胶州湾蛤仔的主产海区—湾东部和北部设立6个监测点进行了为时一年的定时、定点、定量标本采集，所采标本，基本反映了全湾的蛤仔情况。

目前检测贝类污染的甲肝病毒，多采用病毒分离和核酸斑点杂交试验。由于前者影

响因素较多，分离率不高；后者虽敏感性高，但不能判定 HAV 是否具有生物活性。本次调查，既采用上述两种方法，又采用了能表明 HAV 是否具有生物活性的检测前体 RNA 的 PCR 法^{〔9〕}，检测结果有更高的科学性和可信性。

二、胶州湾贝类的 HAV 污染分析：本次调查，经核酸斑点杂交试验，首次经分子生物学证实：胶州湾的蛤仔确实一定时间、一定海域内有 HAV 污染的迹象，存在一定的潜在危险性。充分表明，青岛市区的居民生活污水，未经处理直接排入海内，不仅直接影响对排泄口附近海域，而且随着每日两次的潮汐回旋等原因，使污染物扩散，在较大范

围内对蛤仔造成污染,应引起人们的重视。一旦污染持续、严重,蛤仔将会成为甲型肝炎传播媒介。贝类软体动物,在其呼吸、摄食过程中,每小时可滤水4~15升,能将各种颗粒物质截留于腮、消化腺^[3~6]。在人工饲养条件下,蛤和毛蚶还能浓缩 HAV1000倍和15倍^[11]。HAV 排出宿主体外,既可被水生生物吸附、浓集,同时,吸附、浓集 HAV 颗粒的水生生物,在清洁的外环境中,也可逐渐将 HAV 清除体外^[10],使其不具传播作用。在宿主体外的 HAV 颗粒,也可逐渐降解,失去生物活性,使其不具感染力。

本次调查,经逐份标本进行病毒分离和用 PCR 法检测 HAV 的前体 RNA,结果全为阴性。说明上述受污染蛤仔的 HAV 已无生物活性,不具有感染的能力。从此结果看,可能不是引起青岛市甲肝流行的主要原因。

三、贝类与甲肝发病的流行病学分析:我市一年四季均有蛤仔捕捞、销售,但因其生长繁殖具有夏秋季增长显著,春季次之,冬季增长甚微的特点^[1],故捕捞、销售量以4~6月、9~11月最多(7、8月封海、禁捕),冬春季节售量甚少。而青岛市城区人群以甲肝为主的肝炎发病,6~7年出现一次流行,每年3~5月形成发病高峰^[12]。故从时间上看,二者并无因果关系。另外,流行病学调查证实,我市甲肝高发年限,病人仍是散在分布,而极少出现爆发点,并在发病原因调查中证实^[12],病人食蛤与发病亦无显著差异,也不支持食用蛤仔与甲肝发病相关。青岛市甲肝的发病周期性,主要为易感人群的积累。

结 语

1. 胶州湾的菲律宾蛤仔受到 HAV 污染首次得到证实,蛤仔引起甲肝爆发流行的潜在危险性不容忽视,具有重要的流行病学意义,应引起有关部门的高度重视。必须加强对居民生活污水的治理,尽力消除污染源。

2. 本次调查证实,胶州湾贝类的 HAV

污染不是青岛市甲肝流行的直接原因,可以解除市民食蛤引起甲肝的“恐肝”心理,也可继续开发利用。并可在教育群众讲究食蛤卫生的前提下,放开蛤仔供应。

3. 菲律宾蛤仔受 HAV 污染,是受居民生活污水的影响,其规律有待深入广泛调查,必须进行长期监测研究,提供全面的科学结论。

(本调查承中国预防医学科学院病毒学研究所刘崇柏教授、汪元教授,环境卫生与卫生工程研究所吴联熙教授、冀玲教授指导和帮助;青岛市水产局渔政处大力支持,一并致谢)

参 考 文 献

- 1 刘瑞玉主编. 胶州湾生态学和生物资源. 第一版. 北京: 科学出版社, 1992.
- 2 庄辉. 从全国病毒性肝炎防治学术研讨会看我国病毒性肝炎研究进展. 中国公共卫生, 1991, 7 (1): 504.
- 3 康来仪. 贝类水生动物与人类疾病的关系. 中国公共卫生, 1990, 6 (8): 369.
- 4 Philip A. M, Charles T. C, Benjamin L. P. O yste-associated Hepatitis: Lessons from the Louisiana experience. Am. j. epidem, 1976, 103 (2): 181.
- 5 Ricardo E, Gert G, Volker HM, et al. Accumulation and persistence of Hepatitis A virus in mussels. J. med. virology, 1992, 37: 174.
- 6 Alfonso M, Maria GR, Owen NG, et al. Recurrent epidemic hepatitis A associated with consumption of raw shellfish. Probably controlled through public health measures. Am. J. epidem, 1989, 130: 540.
- 7 Goh KT, Chan L, Ding JL, et al. An epidemic of Cockles-associated hepatitis A in Singapore, Bull WHO, 1984, 64: 893.
- 8 汪元,等. 从启东毛蚶繁殖海域淤泥中分离出一株甲肝病毒. 实验和临床病毒学杂志, 1989, 3 (1): 72.
- 9 吴联熙. 以检测前体 RNA 的 PCR 方法做环境样品甲肝病毒诊断简介. 疾病监测, 1993, 8 (5): 134.
- 10 邱华士, 袁谓, 黄世华, 等. 泥蚶引起甲型肝炎爆发流行的调查报告. 中华预防医学杂志, 1979, 13 (4): 229.
- 11 康来仪. 上海地区1988年春甲型肝炎爆发流行病学调查. 中华传染病杂志, 1989, 7 (4): 26.
- 12 孙克诚, 范庆涛, 姜珍霞. 青岛市城区病毒性肝炎发病特点及防治对策. 中国公共卫生, 传染病防治专辑 1993. 60.

(收稿: 1994-02-25 修回: 1994-06-03)