

北京市 2001 - 2003 年 3141 例儿科急性 呼吸道感染中副流感病毒的研究

王芳 赵林清 邓洁 朱汝南 钱渊

【摘要】 目的 探讨应用传代狗肾细胞(MDCK 细胞)进行副流感病毒(PIV)的分离,了解近年来北京地区儿科急性呼吸道感染中 PIV 的感染状况。方法 收集 2001 年 1 月至 2003 年 12 月急性呼吸道感染患儿的临床标本 3141 例,应用微量细胞培养法比较 MDCK 细胞与传代猴肾细胞(Vero 细胞)用于分离 PIV 的敏感性;所有标本接种于 MDCK 细胞,结合血凝试验及间接免疫荧光法进行 PIV 检测。结果 Vero 细胞 PIV 分离阳性的标本在 MDCK 细胞中也得到阳性结果;3141 例标本中 PIV 阳性 94 例(3.0%)。1191 例上呼吸道感染患儿标本中 PIV1 35 例(2.9%),PIV3 11 例(0.9%);1634 例下呼吸道感染患儿标本中 PIV1 15 例(0.9%),PIV3 24 例(1.5%);207 例支气管哮喘患儿标本中 PIV 阳性 3 例(1.4%);38 例发热患儿中 PIV 阳性 1 例;71 例其他标本中 PIV 阳性 5 例。结论 利用 MDCK 细胞可进行 PIV 的分离;北京地区儿科急性呼吸道感染中 PIV 感染是原因之一。

【关键词】 副流感病毒;急性呼吸道感染;儿科

Parainfluenza virus infections in pediatric patients with acute respiratory infections in Beijing during 2001 - 2003 WANG Fang, ZHAO Lin-qing, DENG Jie, ZHU Ru-nan, QIAN Yuan. Laboratory of virology, Beijing Municipal Laboratory of Infection and Immunity, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China

Corresponding author: QIAN Yuan

【Abstract】 **Objective** To understand the relationship of parainfluenza virus (PIV) and acute respiratory infections in infants and young children in Beijing, occurred in recent years. **Methods** 3141 throat swab/nasopharyngeal aspirate specimens were collected from infants and young children with acute respiratory tract infections in Beijing from Jan 2001 to Dec 2003. All of these 3141 specimens were inoculated into MDCK cells for influenza virus and PIV isolation, since PIV had been isolated in MDCK cells in this laboratory from preliminary studies. Out of 3141 specimens, 702 were inoculated into MDCK as well as Vero cells to compare the sensitivity on virus isolation of these cell lines by micro plate method. Growth of PIV in cell culture were identified by haemoagglutination test and indirect immunofluorescent assay. **Results** The PIV positive cases in Vero cells were also positive in MDCK cells, indicating that the sensitivity for PIV isolation in MDCK was equal to Vero cells. Out of these 3141 specimens, 94 (3.0%) were PIV positive, including 35 (35/1191, 2.9%) of PIV1, 11 (11/1191, 0.9%) of PIV3 in upper respiratory tract infections; 15 (15/1634, 0.9%) of PIV1, 24 (24/1634, 1.5%) of PIV3 in lower respiratory tract infections; 3 (3/207, 1.4%) of PIV in asthma; 1 (1/38) of PIV in patients with fever; 5 (5/71) of PIV in others. Data indicated that among upper respiratory tract infections caused by PIV, PIV1 was more commonly seen than PIV3. **Conclusion** MDCK cells could be used for PIV isolation from clinical samples while PIV was one of the important pathogenic viruses causing acute respiratory tract infections in infants and young children in Beijing for the recent years.

【Key words】 Parainfluenza virus; Acute respiratory infections; Pediatrics

副流感病毒(parainfluenza virus, PIV)感染的明确诊断依赖于实验室的病毒分离[常用原代或传代猴肾细胞(Vero 细胞)]及免疫荧光实验。我们在

应用传代狗肾细胞(MDCK 细胞)进行流感病毒分离过程中发现应用该细胞也能分离到 PIV,因此,本研究首先应用微量细胞培养法比较 MDCK 细胞与 Vero 细胞在 PIV 分离过程中的敏感性,然后结合血凝试验(HA)以及间接免疫荧光(IFA)等方法进行北京地区婴幼儿急性呼吸道感染中 PIV 感染状况

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(JS96004)
作者单位:100020 北京,首都儿科研究所病毒研究室 北京市
感染与免疫中心实验室
通讯作者:钱渊

的研究。

材料与与方法

1. 标本收集及处理: 3141 份急性呼吸道感染患儿咽拭子及鼻咽分泌物标本于 2001 年 1 月份至 2003 年 12 月份从本所附属儿童医院门诊、病房收集(咽拭子标本 1223 份, 鼻咽分泌物标本 1918 份)。患儿的年龄从生后 10 天到 13 岁。3141 份标本中包括上呼吸道感染(急性咽炎、喉炎、扁桃体炎及气管炎)患儿标本 1191 份、下呼吸道感染(急性支气管炎、毛细支气管炎、肺炎)患儿标本 1634 份、支气管哮喘患儿标本 207 份、发热患儿标本 38 份、其他(临床诊断为病毒性脑炎、抽搐待查等)患儿标本 71 份。标本上清液参照文献分离病毒^[1]。

2. MDCK 细胞分离 PIV 的敏感性检测: 以 Vero 细胞作为对照, 按照文献进行 MDCK 细胞分离 PIV 的敏感性检测^[2]: 将 Vero 细胞或 MDCK 细胞传代于微量细胞培养板, 待细胞生长到单层后, 将所收集的 702 份标本上清分别接种于微量细胞培养板, 观察细胞病变, 于第 3-14 天间断进行 HA。

3. PIV 的分离: 将标本接种于单层 MDCK 细胞中, 观察细胞病变, 于第 3-14 天用 0.75% 的豚鼠红血球进行 HA。

4. 间接免疫荧光法 (IFA) 鉴定副流感病毒: HA 阳性标本进一步用 IFA 进行鉴定。IFA 试剂盒为 Respiratory panel 1 viral screening and identification IFA kit (美国 Chemicon 公司产品), 按试剂盒操作说明进行。

结果

1. MDCK 细胞分离 PIV 的敏感性检测: 在 702 份标本中, 经 Vero 细胞病毒分离显示 HA 阳性的 10 例标本经 MDCK 细胞分离培养后均显示 HA 阳性, IFA 鉴定其中的 3 例为 PIV1、7 例为 PIV3。2 份标本在 MDCK 细胞上比在 Vero 细胞上出现 HA 阳性需要时间短; 2 份标本在 Vero 细胞上比在 MDCK 细胞上出现 HA 阳性需要时间短(表 1)。

2. 病毒分离及 IFA 鉴定: 3141 例标本 MDCK 细胞病毒分离及 IFA 鉴定结果见表 2。分别对上、下呼吸道感染患儿标本中的 PIV1 和 PIV3 阳性检出率进行 χ^2 四格表检验, 结果显示在上、下呼吸道感染标本中 PIV1 阳性检出率差异有统计学意义 ($P < 0.005$), PIV3 阳性检出率差异无统计学意义

($P > 0.05$)。

表1 MDCK 细胞与 Vero 细胞病毒分离敏感性比较

阳性标本编号	标本种类	MDCK 细胞中出现 HA 阳性时间	Vero 细胞中出现 HA 阳性时间
S80	咽拭子	第 5 天弱阳性, 第 8 天卅	第 5 天弱阳性, 第 8 天卅
S89	咽拭子	第 9 天卅	第 9 天卅
S93	咽拭子	第 9 天卅	第 9 天卅
S114	咽拭子	第 5 天卅, 第 8 天卅	第 5 天弱阳性, 第 8 天卅
S611	鼻咽洗液	第 4 天卅	第 4 天弱阳性
S634	鼻咽洗液	第 6 天+	第 6 天+
S675	咽拭子	第 6 天+	第 6 天+
S681	鼻咽洗液	第 9 天+	第 6 天+
S697	鼻咽洗液	第 8 天+	第 8 天+
S701	鼻咽洗液	第 5 天-, 第 8 天卅	第 5 天弱阳性, 第 8 天卅

3. PIV 的年度及月份分布: 2001-2003 年 PIV 检出率分别为 2.6%、1.5%、4%, 各年度不同月份的 PIV 检出率无明显的规律性(图 1); 不同年度 PIV 亚型分布见图 2, 在 2001 年以 PIV3 为主, 而 2003 年以 PIV1 为主。

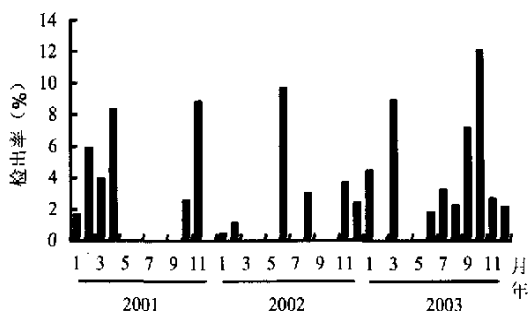


图1 PIV 阳性检出率 (%)

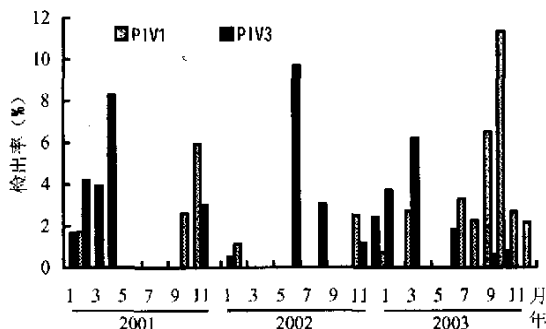


图2 PIV1、PIV3 阳性检出率 (%)

讨论

分离 PIV 以原代猴肾细胞最为敏感。一些传代细胞系, 如 Vero、LLC-MK2 等细胞也被广泛应用于 PIV 的分离^[3,4]。我们在应用 MDCK 细胞进行流感病毒分离过程中发现部分标本 HA 阳性, 但血

凝抑制试验排除了流感病毒,进一步应用 IFA 确定为 PIV。针对 MDCK 细胞能够分离 PIV,本文应用微量细胞培养法对 MDCK 细胞及 Vero 细胞分离 PIV 的敏感性进行了比较,结果提示用 Vero 细胞分离 PIV 阳性的标本在 MDCK 细胞中也得到阳性结果。因此应用 MDCK 细胞可达到同时分离流感病毒和 PIV 的目的,既省时、省力、节省耗材,又因减少操作步骤而降低了污染的机会。

PIV 感染可引起多种呼吸道疾病,是婴幼儿期间重要的呼吸道感染病毒病原。PIV1 是引起儿童上呼吸道感染如喉炎等的主要原因之一,而严重的肺炎及支气管炎等类疾病主要与 PIV3 有关^[5]。本研究中的所有标本均应用 MDCK 细胞进行了 PIV 的分离,PIV 阳性率为 3.0%。比较上呼吸道与下呼吸道感染临床标本中 PIV1 分离阳性率可以看出,上呼吸道感染患者标本中 PIV1 阳性率明显高于下呼吸道感染患者标本阳性率(2.9%:0.9%),两者差异有统计学意义,说明引起儿童上呼吸道感染的主要病原是 PIV1。PIV3 阳性率在上呼吸道感染与下呼吸道感染临床标本中差异无统计学意义,但仍能看出下呼吸道感染患者中 PIV3 阳性率高于上呼吸道感染(1.5%:0.9%)。

国外文献报道 PIV1 感染主要出现在秋季中期,PIV3 感染缺乏明显的季节性^[6]。本研究对 PIV

感染进行季节性分析,结果显示:2001 年 1 月至 2003 年 12 月不同年度各月份 PIV 检测阳性率无明显规律性。本研究结果提示北京地区 2001 年 PIV 感染以 PIV3 为主,尤其在 4 月份 PIV3 检出阳性率达到 8.3%;而 2003 年 PIV 感染以 PIV1 为主,在 10 月份 PIV1 检出阳性率达到 11.3%。

本次研究显示,可以利用 MDCK 细胞进行临床标本 PIV 分离;通过对北京地区儿科急性呼吸道感染中 PIV 感染状况的研究,可为儿童急性呼吸道感染的防治提供科学依据。

参 考 文 献

- 1 黄祯祥,主编. 医学病毒学基础及实验技术. 北京:科学出版社, 1990. 701-702
- 2 Numazaki Y, Oshima T, Tanka A, et al. A microplate method for isolation of viruses from infants and children with acute respiratory infections. *Microbiol Immunol*, 1987, 31: 1085-1095.
- 3 Moriuchi H, Oshima T, Nishimura H, et al. Human malignant melanoma cell line (HMV-II) for isolation of influenza C and parainfluenza viruses. *J Clin Microbiol*, 1990, 28: 1147-1150.
- 4 Frank AL, Couch RB, Griffis CA, et al. Comparison of different tissue cultures for isolation and quantitation of influenza and parainfluenza viruses. *J Clin Microbiol*, 1979, 10: 32-36.
- 5 Denny FW, Murphy TF, Clyde WA, et al. Group: an 11-year study in a pediatric practice. *Pediatrics*, 1983, 71: 871-876.
- 6 Monto AS. Occurrence of respiratory virus: time, place and person. *Pediatr Infect Dis J*, 2004, 23: s58-s64.

(收稿日期:2005-02-05)

(本文编辑:孙强正)

· 疾病控制 ·

一起山茱萸叶毛引起接触性皮炎的报告

吴建霖

2005 年 8 月 2-4 日贵州省安顺市普定县城关镇地坝村大兴寨和三岔村猴子箐两村民组 27 个村民,因接触山茱萸的叶毛后出现以皮肤暴露部位为重的急性炎症反应。本次发病村民均有与山茱萸叶毛直接接触史,接触后 20 分钟至 2 小时内相继发病,起病较急,最初剧烈瘙痒,继而出现以皮肤暴露处为重的全身性红色斑疹、丘疹、荨麻疹(边界清楚,直径 < 0.5 cm),患者均无头痛、头昏、咳嗽、恶心、腹痛或腹泻等症状,体温正常。经及时给予患者扑尔敏、地塞米松和维丁胶性钙治疗后,症状消失,部分患者脱离接触山茱萸后不经治疗病情也可自愈,不接触者不发病。

山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.) 生长于向阳山坡灌丛中、溪旁或阴湿沟畔,植株高 4~7 m,多年生落叶小乔木或灌木。嫩枝绿色,老枝黑褐色,叶柄长 1~

2.5 cm;单叶对生,卵形至长椭圆形,长 5~10 cm,宽 3~5 cm,先端渐尖,基部楔形,全缘,上面疏生平贴毛,近光滑,偶被极细毛,背面被白色伏毛,较密,脉腋有黄褐色毛丛,侧脉 6~8 对,弧形平行排列。背面毛从显微镜下两型,壁粗糙,具疣,头尖细。一种为茸毛,基部粗 19~22 μm,在离基部 80~202 μm 处长出分叉,短的 162~486 μm,长的 453~702 μm,弯曲,黄褐色,成熟后无色;另一种为细长梭形毛,粗 30~35 μm,长 280~670 μm,中间黄褐色,成熟后无色。山茱萸为药用植物,其果实供药用。经鉴定,证实本次发病是由山茱萸的叶毛直接接触皮肤后引起的接触性皮炎。为防止类似事件的再次发生,需要引起人们的高度重视。

(刘美华主任医师、张良治副主任医师等对本次调查给予指导与帮助,谨此致谢)

(收稿日期:2005-09-15)

(本文编辑:张林东)