

济南地区腺病毒感染的病原学研究*

尚守礼** 丛树梅 彭永范**

(济南市传染病医院, 济南)

济南市自 1958 年以来, 每年冬、春季不断有婴幼儿肺炎的流行。其病情重, 病死率高, 用抗菌素治疗无效, 在临床上怀疑为腺病毒感染。为了证实其病原体, 我院于 1962 年 12 月至 1963 年 2 月先后从济南市的四个兄弟医院儿科及我院病房疑腺病毒感染或肺炎之患者, 采取咽拭子标本, 进行了病毒分离与鉴定, 初步结果报告如下:

(一) 材 料

1. 标本采集 用棉拭子擦患者咽部后立即投入含有 5 毫升 Hanks 液的无菌试管中, 接种前充分震荡, 除去棉拭子, 然后离心沉淀, 取上清液, 加

青链霉素, 放 4℃ 冰箱内作用 2 小时后接种组织培养。

2. 营养液 用 0.5% 乳蛋白水解物 Hanks 液, 并含有 20% 的小牛血清或羊血清 (维持液为 2%), 以 3% NaHCO_3 调整 pH 7.2—7.4 之间。

* 本文鉴定部分承中国医学科学院儿科研究所大力协助完成; 又本文承山东医学院传染病与流行病学教研组副主任王洁民热情指导与审阅, 特此一并志谢。

** 山东医学院传染病与流行病学教研组。
本文 1964 年 11 月 14 日收到。

3. 红血球 取自恒河猴血, 用磷酸缓冲盐水洗 3 次, 用时配成 1% 的红血球悬液。

4. 标准免疫血清 由北京中国医学科学院儿科研究所赠给。

5. 血凝素 将新分离出来之病毒, 种于人胚肾组织, 待细胞发生病变“++++”后收集离心沉淀, 1,500 转/分, 15 分钟, 取上清液为血凝素。

(二) 方 法

1. 组织培养 用人胚肾单层细胞培养, 按 Горбуновой^[1] 介绍的方法制备。

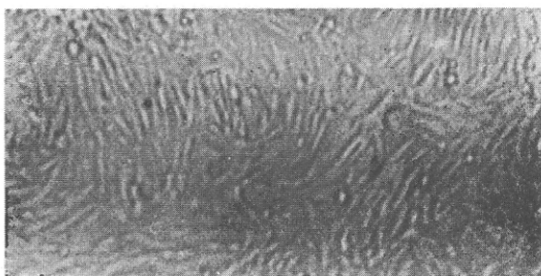
2. 病毒分离 选培养管, 接种前除去旧液, 每管接种标本 0.2 毫升, 作用 30 分钟后, 加维持液 0.8 毫升, 放 37℃ 恒温箱培养, 隔日观察细胞病变, 如出现病变“++++”或脱落, 则搜集冰冻保存, 以备传代, 无病变者则观察 10—14 天收集盲目传代三次, 阴性者则抛弃。阳性均作无菌检查。

3. 血凝及血凝抑制试验 用 pH 7.4 磷酸缓冲液稀释血凝素, 由 1:2 开始作两倍稀释, 每个稀释度每管 0.4 毫升, 然后加 1% 红血球悬液 0.2 毫升, 充分振荡后, 放 37℃ 静置一小时看结果, 根据血凝滴度分别以“+”“++”“+++”“++++”示之, 并以血凝“++”为最高稀释度——为一个血凝单位。血凝抑制试验则用 4 个血凝单位与免疫血清进行, 如试验管血凝被抑制, 而对照管未被抑制, 则为血凝抑制试验阳性。

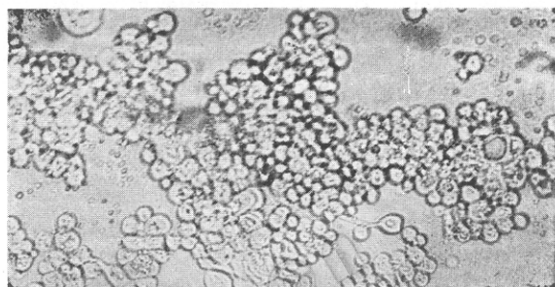
(三) 试验结果与鉴定

1. 59 份标本中获得 30 份阳性。病毒在人胚肾组织培养上传代甚稳定, 病变发生亦很规律, 开始边缘细、变圆、变形和胀大, 继而退化成堆, 葡萄状 (如图 1A, B), 最后全部脱落。病毒滴度为 10^{-3} — 10^{-4} 。

2. 选择 1963 年“38”(7 型代表株) 及“133”(3 型代表株) 进行研究: 1) 接种 10—11 天鸡胚绒毛尿囊膜及尿囊腔两个途径感染, 传三代, 每代经 48—72 小时, 取尿囊液作鸡红血球凝集试验, 结果均为阴性, 未发现有病变和死亡; 2) 接种 3 天以内乳鼠和 18—20 天小白鼠, 经脑内、皮下、腹腔 3 个途径感染, 观察 14 天, 传二代, 未发现有临床症状和死亡; 3) 作乙醚抵抗力试验, 将病毒悬液内加入 20% 乙醚, 放 4℃ 冰箱内作用 18 小时后,



A. 正常人胚肾单层细胞



B. 感染 1963 年“38”(7 型) 株腺病毒后 48 小时引起的细胞病变

图 1 人胚肾单层细胞 ($\times 100$ 倍)

表 1 30 株病毒鉴定结果

腺病毒型	3 型	7 型	未定型	其 他
例 数	5	13	7	5

再将乙醚蒸发掉, 然后接种组织培养, 细胞仍然发生病变; 4) 血凝及血凝抑制试验结果是 30 株病毒对鸡、豚鼠、大白鼠和人的“O”型血球均不发生凝集。而其中有 24 株与恒河猴血球发生凝集, 其滴度由 1:2—1:128 以上。用 3、7 型免疫血清作血凝抑制试验结果, 有 13 株被 7 型血清抑制, 5 株被 3 型血清抑制; 其余 12 株作补体结合试验, 有 7 株阳性, 5 株阴性。鉴定结果见表 1。

(四) 病毒分离与临床的关系

由表 2 可以看出腺病毒感染与年龄的关系, 4 岁以后, 病毒分离出来的阳性数很少, 30 例中只有 3 例 (占 10%), 其余 27 例均为 4 岁以下的婴幼儿 (占 90%), 说明腺病毒肺炎主要在 4 岁以下的婴幼儿中流行。由表 3 可以看出麻疹后继发细菌与病毒混合感染者, 病情重 (5 例中 4 例有心力衰竭), 病死率高 (5 例中 3 例死亡)。尤其腺病毒与金黄色葡萄球菌混合感染时预后更差。

表 2 病毒分离阳性数与年龄的关系

年 龄	3 个月内	3 个月	6 个月	1 岁	2 岁	3 岁	4 岁	5 岁	6 岁以上
阳 性 数	4	3	5	8	2	5	1	1	1

表 3 5 例麻疹后继发细菌与病毒混合感染所致肺炎之预后

例数	姓 名	性 别	年 龄	诊 断	细 菌 培 养	病毒分离	预后
1	赵××	男	1 岁	麻疹后并发肺炎。	草绿色链球菌, 卡他球菌。	未定型	痊愈
2	鲁××	女	1 岁	麻疹后并发肺炎, 心力衰竭。	金黄色葡萄球菌。	3 型	死亡
3	李××	女	3 岁	麻疹后并发肺炎, 心力衰竭。	金黄色葡萄球菌, 大肠杆菌。	未定型	死亡
4	衣××	男	11 个月	麻疹后并发重型肺炎, 心力衰竭, 中毒性肾炎。	金黄色葡萄球菌, 大肠杆菌。	未定型	死亡
5	于××	男	15 个月	麻疹后并发肺炎, 心力衰竭。	金黄色葡萄球菌, 白色葡萄球菌。	7 型	痊愈

(五) 讨 论

呼吸道感染是儿科常见的疾病, 其中病毒性感染并非少见, 但因病原学诊断较为困难, 故过去未被重视, 近几年来由于广泛采用组织培养, 技术又有提高, 发现了许多新的呼吸道病毒, 如腺病毒就是其中之一。据国外报导^[2,3] 已分离出来的腺病毒有 28 型 (不包括猴腺病毒在内)。并且提出用血凝抑制试验鉴定腺病毒, 具有型的特异性, 其方法比中和试验简便, 易推广。

目前国内学者认为, 研究 3、4、7 型腺病毒最有临床意义, 因为 3、4、7 型腺病毒可能是婴幼儿肺炎重要之病原体, 病情重, 病死率高, 尚无特效药物治疗。

据国外报导婴幼儿肺炎主要是 3 型腺病毒所致, 其次为 7 型。苏联 Дрейзин^[2] 报导 19 例婴幼儿肺炎中, 分离出腺病毒 3 型 14 株, 7 型 2 株, 其他 3 例病人恢复期血清中含 7a 型中和抗体。而我们从 59 份标本中分离出 30 株病毒, 其中 7 型 13 株, 3 型 5 株, 主要为 7 型, 其次为 3 型, 与苏联报导相反, 但与国内 (北京、长春等地) 报导一

致, 这可能与地区不同有关。

利用初代人胚肾单层细胞培养和血凝抑制试验, 分离与鉴定腺病毒, 方法较为简便, 临床实验室可以进行, 对临床病原学诊断有一定帮助。我们从 5 例麻疹后肺炎患者可以看出: 他们不但有细菌感染, 而且还有病毒的合并感染, 特别是腺病毒与金黄色葡萄球菌的混合感染, 使临床症状加重, 病死率增高, 除 1 例系非致病菌外, 其余 4 例均有心力衰竭的表现, 并有 3 例死亡。关于金黄色葡萄球菌与腺病毒的共存关系, 有待今后进一步研究和探讨。

参 考 文 献

- [1] Горбуновой, А. С., Соколова, М. И.: *Руководство по лабораторной диагностике гриппа, парагриппозных и аденовирусных заболеваний*, 117, Москва, Медгиз, 1960.
- [2] Дрейзин, Р. С., Жданов, В. М.: *Аденовирусные инфекции*, 129—146, Москва, Медгиз, 1962.
- [3] Rosen, L. A.: *Am. J. Hyg.*, **71**: 120—128, 1960.