

新发现的呼吸道感染病毒——人冠状病毒

朱 关 福

一、什么是冠状病毒

1965 年 Tyrrell 等将未查出病毒的冻存感冒病人标本作人体感染试验,发现有不耐乙醚的病毒存在;将标本接种人胚气管器官进行培养,经人体试验及干扰试验也证明有病毒繁殖。1966 年 Hamre 等又报道从患轻型上呼吸道感染的标本中,用人胚肾细胞分出 5

株病毒,这些病毒引起的细胞病变和已知呼吸道感染病毒所引起的不同;分出病毒的病人双份血清显示中和抗体呈 4 倍以上上升,这些结果说明从病人标本中分出了与疾病有关的新病毒。用电子显微镜检查这些病毒培养液,发现有特殊的病毒颗粒;这些颗粒大多呈圆形,直径 80—120 毫微米,颗粒四周具有排列均匀的圆端花瓣状突起,使整个外观如日冕 (Solar corona),

这在负染色标本中易于见到,在超薄切片中可见到胞浆内包涵体。这些新病毒译名为冠状病毒(Coronavirus)。

二、冠状病毒能引起什么疾病

在已报道的人冠状病毒中仅有1株从无症状感染者(双份血清出现抗体上升)分出,有1株来自支气管炎患者,4株来自流感样病人,2株从肺炎病婴分出,其它各株都获自感冒或轻型上呼吸道感染患者。将冠状病毒作人鼻腔接种可使大部分人发生感冒,但未出现明显下呼吸道症状。血清流行病学调查也证明冠状病毒与呼吸道疾病有关。一般认为冠状病毒与上呼吸道感染关系密切,但已发现患哮喘幼儿、细支气管炎婴儿及一些肺炎病人有冠状病毒感染,在婴儿肺炎中冠状病毒感染的地位仅次于呼吸道合胞病毒及副流感病毒3型。已发现冠状病毒与慢性支气管炎急性发作有关,冠状病毒已从支气管炎病人标本中分离出,而这病毒的再感染很常见,是否与形成慢性支气管炎有关,需予注意。

冠状病毒是从形态学命名的一组病毒,在动物中已发现除呼吸道外,它还能使肾、生殖道、肝、肠、脑、唾液腺等许多脏器发生病变。最近在研究婴儿腹泻病原工作中认为有可能存在肠道冠状病毒。冠状病毒在有些方面与动物的白血病毒相似,所以有人怀疑冠状病毒是否与人肿瘤有关。

三、如何查出冠状病毒感染

目前一般认为冠状病毒的分离比较困难,至1974年底国外报道的仅有40株,其中用人胚肾或肠细胞培养分离出23株,用人胚气管器官培养分离出17株。应用器官培养分离冠状病毒,因缺乏简便识别病毒生长指标,是比较困难的。应用细胞培养分离,只要采取标本及时,培养条件合适,经细致观察,即可分离出冠状病毒。我国自1971年普遍开展感冒病毒检查工作以来,已先后在北京、昆明两地,用人胚肾细胞从轻型上呼吸道感染患者标本中分离出冠状病毒12余株。从冠状病毒人体试验的结果证实,当病人出现症状时,排毒达高峰,因此需采取病初标本用作病毒分离。分离标本可用人胚肾或人胚肠细胞,冠状病毒在人胚肾细胞引起的细胞病变主要表现为细胞拉开,逐渐出现小堆散在的小圆细胞,很少波及整个细胞单层,这种细胞病变有时与细胞非特异性变化较难区别。如细胞病变不明显,可用副流感病毒1、3型,ECHO病毒11型或Semliki森林脑炎病毒作干扰试验以检出病毒,其中以副流感病毒1型的仙台病毒最为可取。将培养物作旋转变培养,温度保持在 $33\pm 1^{\circ}\text{C}$,维持液保持中性,并加入30毫克分子 MgCl_2 。为提高病毒检出率,细胞培养阴性标本需再接种人胚气管或鼻粘膜器官培养。器官

培养中冠状病毒主要靠电子显微镜检出,也可用干扰试验间接检出。有些用器官培养分离出的病毒株可以适应于人胚肺或猴肾细胞。冠状病毒在细胞培养中生长,待开始出现细胞病变时病毒繁殖量及抗原量已达高峰,至细胞病变严重时,病毒及抗原量已明显下降。鉴定冠状病毒可用电子显微镜检查典型形态结构,如病毒量少不易找到病毒颗粒时,可采用免疫血清作电子显微镜检查,这是利用特异性免疫血清或病人恢复期血清,将存在的病毒颗粒堆集在一起,以利于观察。此外,理化试验可作参考。血清学鉴定,目前主要用中和试验。

由于冠状病毒分离较难,目前检出冠状病毒感染主要靠血清学检查。应用较多的是补体结合试验及血凝抑制试验。人冠状病毒的补体结合试验有交叉反应。冠状病毒感染后补体结合抗体上升是一时性的(一般维持2—3月,不超过1年),因此检查补体结合抗体可作为调查当前流行情况的指标。目前冠状病毒补体结合试验结果还不恒定,可能要影响实验诊断准确性。冠状病毒OC38及OC43株能凝集鼠及鸡红血细胞,凝集后不会自行游离。鼠红血细胞比鸡的要敏感,但前者常出现非特异性凝集,且不易下沉,所以不如使用鸡红血细胞方便。利用这特性可作血凝抑制试验检查这两株病毒的抗体,试验中所用抗原必须冻存,血清不需用霍乱滤液处理,只要 56°C 灭活就行。OC43株病毒的细胞培养能使鼠红血细胞吸附,这种血细胞吸附现象比细胞病变出现要早,由于它的作用原理与粘液病毒引起的不同,因之称为假血细胞吸附反应。大多数冠状病毒没有血凝作用,Kaye等将229E株病毒抗原致敏鞣酸处理的羊红血细胞,然后用以检查病人血清中的抗体。这种被动血凝试验的敏感性超过补体结合试验,他们认为是一种可用于血清流行病学的简便快速方法。间接免疫荧光法也已试用于冠状病毒检查,它显示出型特异性。

四、冠状病毒感染的流行情况

目前主要是用229E及OC43株病毒抗原作血清学检查来了解冠状病毒感染流行情况。从已得到的结果看,在冬季的上呼吸道病流行时冠状病毒感染平均占10—24%。冠状病毒感染在世界上相当普遍,在我国也是常见的。在冠状病毒感染流行时,很少分离出鼻病毒及粘液病毒。冠状病毒感染经过2—3年间隔会出现较大的流行,在高流行年感染率增加,病毒易于分离出,抗体上升也增加。冠状病毒在人群中也引起隐性感染,也能排出病毒,对传播感染可能起一定作用。呼吸道混合感染比较多见,在冠状病毒感染中也有这种现象,由于病毒分离及抗体增高的结果不是同时获得,因此还不能确定都与病原有关。冠状病毒感染在人群中整年存在,通过人传人的散布已可肯定,这

类病毒传播迅速。冠状病毒在动物中也广为存在,已在猪、鸡、狗、猫、马等动物中较易地分离出,有些病毒株能引起高发病率,甚至高死亡率,如猪传染性胃肠炎及脑脊髓炎,所以在经济上有一定的危害性。动物不能作为储存宿主,将病毒传给人,目前还难以肯定。一般认为各种动物冠状病毒具有明显的种特异性,人冠状病毒中仅有 OC38 及 OC43 株能适应至乳鼠。但已发现鼠肝炎病毒虽是引起啮齿类动物感染的冠状病毒,与人冠状病毒有密切抗原关系。虽然尚未查出禽流感病毒与人冠状病毒的抗原相关性,但已发现密切接触禽类的人常具有冠状病毒抗体。这些现象有待进行深入研究。

五、冠状病毒感染的防治

现有从细胞培养分离出的各株冠状病毒经中和试验证明都是同型,但由于冠状病毒分离不易,对已分离

出的冠状病毒又缺乏简便定型方法,所以人冠状病毒有多少血清型尚不清楚。当自然或人工感染冠状病毒后,即使出现症状,也不一定有抗体上升,如果出现抗体,滴度也不高。这是由于冠状病毒抗原性弱,还是由于局部感染不能引起强烈血流抗体反应,现在还不清楚。有些人群中已有高滴度冠状病毒抗体,但仍能出现抗体抗 4 倍以上上升,说明血流抗体不能阻止再感染。已知在猪冠状病毒感染中分泌 IgA 抗体起直接保护作用,但不知防止人冠状病毒感染是否也需依靠局部抗体。由于病毒流行型别及感染后机体反应规律都不够清楚,目前还不能用疫苗进行预防。但从病毒感染流行有周期性特点看来,人群感染后会出现免疫保护,又从病毒分离的结果看,病毒型别也不会很多,所以采用疫苗进行预防是有可能的。现已发现冠状病毒在实验室中能被氮杂尿嘧啶及病毒唑抑制,但尚未用于临床。