

1981年夏季北京地区儿童上呼吸道感染病毒病因的研究

刘征利 李洪海

(中医研究院西苑医院、北京)

1981年7—9月(8月为高峰期)北京地区各医院儿科门诊上呼吸道感染高烧患儿剧增。发病年龄范围较广,从婴儿到14岁儿童,热型较高,中毒症状较重,咽结膜充血明显。

为探讨该次流行性上呼吸道感染的病毒病因,给临床提供科学的诊断依据,以便采取有效的防治措施。我们于8月14—23日从儿科门诊采到56例患儿的咽拭子标本,进行病毒分离,并对其中44例进行了双份血清的血清学检查,其结果如下。

材料和方法

一、标本的采集和保存

1. 咽拭子标本: 将急性期患儿咽拭子放在装有0.5%水解乳蛋白 Hank's 液(简称水解乳蛋白液)的试管中。离心后取上清液, -30℃冻存。

2. 双份血清标本: 采集咽拭子的同时, 采集患儿急性期血清(S₁)。待发病后3、4周, 再采集恢复期血清(S₂)。均-30℃冻存。

二、细胞培养与病毒传代

1. 人胚肾细胞培养: 按常规法进行。生长液为含有10%小牛血清的水解乳蛋白液, 加入青霉素(100u/ml)和链霉素(100μg/ml)按1%量加入。37℃静置培养。待细胞长成单层时

接种标本。

2. 接种传代: 用原代人胚肾细胞, 呈梭形(图版 I-1), 维持液为199综合培养液并加入各1%量的青霉素、链霉素和卡那霉素。吸取0.2ml标本液接种于细胞管中。每份标本接种3—4管。37℃静置培养。逐日观察细胞病变情况。若细胞变圆、肿胀、聚集成葡萄状, 似腺病毒典型病变^[1,2](图版 I-2)。待病变达卅一卅时收获、冻存、待毒株鉴定。观察7—10天仍无病变出现的标本, 盲传3—4代。每代阴性标本均作血球吸附试验^[3]。

三、腺病毒毒株鉴定^[4,5]

将分离出来的似腺病毒病变之阳性标本冻化2—3次。再在人胚肾细胞管中传代, 待病变达卅一卅时收获。再经2—3次冻化后, 取离心上清液。以此第二代阳性标本稀释成10⁻², 用作中和试验的抗原。

将标准3、7、11型腺病毒免疫血清(医科院病毒研究所提供)按1:10稀释, 经56℃30分钟灭活, 分别与24份第二代稀释成10⁻²的阳性标本作中和试验。同时作病毒对照、各型血清对照及正常细胞对照。

本试验用猴血球及流感血凝素由中国医学科学院儿科研究所供给, 特致谢。

四、患儿双份血清的抗体测定

(一) 腺病毒血凝抑制试验^[4]

1. 以 3、7、11 型腺病毒标准株及人胚肾细胞制备 4 个单位的 3、7、11 型腺病毒血凝素。

2. 敏感恒河猴红细胞 (医科院儿科研究所提供)。

3. 患儿双份血清经 56℃ 30 分钟灭活, 用 10% 猴血球处理, 4℃ 过夜。

4. 按常规微量法进行血凝抑制试验。

(二) 流感病毒血凝抑制试验^[4,6]

1. 流感甲₁ 儿_BmK₃、甲₃HK₂mK₁、BW₄ 型病毒血凝素 (中国医学科学院儿科研究所提供)。

2. 患儿双份血清按常规法经霍乱滤液处理, 37℃ 过夜, 56℃ 30 分钟灭活。

3. 按常规微量法进行血凝抑制试验。

(三) 恢复期血清

恢复期血清为急性期血清, 血凝抑制抗体滴度的 4 倍或 4 倍以上者为阳性。

试验结果

一、腺病毒分离

在 56 份标本中腺病毒阳性者 24 例, 阳性率为 42.86%。其中 3 型 (12/24) 占 50%, 7 型 (11/24) 占 45.83%, 非 3、7、11 型 (1/24) 占 4.17%。

二、腺病毒双份血清血凝抑制试验

在 44 份双份血清中腺病毒血凝抑制抗体滴度 4 倍或 4 倍以上者 22 例, 阳性率为 50%。其中 3 型 (10/22) 占 45.45%, 7 型 (10/22) 占 45.45%, 3、7 混合型 (2/22) 占 9.09%。

表 1 44 份双份血清血凝抑制试验与腺病毒分离结果的比较

腺病毒分离 \ 血凝抑制试验	阳性	阴性	合计
	阳性	22	
阴性	0	20	20
合计	22	22	44

$X^2=33.08, P<0.001$

三、双份血清血凝抑制试验与腺病毒分离结果的比较 (见表 1)

从表 1 结果看, 阳性符合率为 91.67%, 阴性符合率为 90.90%, 总符合率为 91.30%。

四、流感病毒双份血清血凝抑制试验

在 44 份双份血清中, 流感甲₁ 型血凝抑制抗体滴度, 恢复期为急性期 4 倍或 4 倍以上者有 16 例, 阳性率为 36.36%, 16 例中有 3 例患儿同时患腺病毒和流感病毒。

腺病毒和流感病毒的双份血清学阳性病例有 38 例, 血清学总阳性率为 86.36%。

五、标本病变结果

在 56 份标本中, 除 14 份未发生病变和 24 例感染腺病毒外, 有 18 例似感染流感病毒, 出现了细胞病变^[7]: 先呈蝌蚪状, 继而圆形颗粒增多, 最后病变细胞脱落残留少许正常细胞 (图版 I-3, 4, 5)。作血球吸附试验为阳性 (图版 I-6)。

讨 论

1. 从上述病毒分离和血清学试验结果, 提示了这次流行的上呼吸道感染病毒的病因可能与 3、7 型腺病毒和甲₁ 型流感病毒有关。

2. 56 例患儿中男女的比例为 35:21。年龄分布 3 岁以下的 14 例, 4 岁以上的 42 例。其中 8—12 岁的男孩最多。这可能与该年龄组的男孩活动量大、活动范围广、接触传染源机会多有关。

3. 56 例中有 3/4 病例呈现稽留高热, 咽结膜明显充血, 高热期末梢血相白细胞总数偏低, 临床诊断与病毒分离和血清学试验结果基本相符。

4. 试验中看到在 12 例 3 型腺病毒病历中, 10 例有游泳史。3 型腺病毒除呼吸道传染外, 还可以从污染的水和玩具等途径感染^[8]。这就提示我们夏季游泳卫生要加强预防和检测措施, 以减少和杜绝 3 型腺病毒的发生和流行。通过对这次流行的调查和临床治疗, 给临床提供了科学的诊断依据, 并证明了用中药治疗的效果是非常显著的。

参 考 文 献

- [1] 赵锦铭等: 微生物学通报, 6(5): 26, 1979。
- [2] 丘福禧等: 微生物学报, 17(2): 143, 1977。
- [3] 医科院流行病研究所: 常见病毒病实验技术, 科学出版社, 北京, 第 198, 236 页, 1978。
- [4] 医科院儿科研究所: 微生物学报, 19(3): 327, 1979。
- [5] 宋玉杰等: 白求恩医科大学学报, 6(3): 21, 1980。
- [6] 川名村治: 小兒呼吸のウイルス学の血清免疫学研究, ウイルス, 24(3): 38, 1974。
- [7] 陶三菊等: 微生物学报, 11(3): 319, 1965。
- [8] 金向涛等: 中华儿科杂志, 12(5): 283, 1963。