

由7型腺病毒引起的急性咽结合膜热的暴发流行

洪涛 周荷美* 叶薇薇 赵同兴 周静仪 王杰**

(中国预防医学中心病毒学研究所、北京)

急性咽结合膜热 (Acute pharyngo conjunctival Fever) 是病毒引起的眼结合膜和咽炎的急性传染病和综合症。早年的病原学研究表明腺病毒 3、7、8和14型为该病的主要病因^[1,2,3]。近年又发现肠道病毒70型 (小RNA病毒) 可引起急性出血性结合膜炎^[4,5,6]。

本文报导我们对1984年8月在北京市朝阳区小学生中急性咽结合膜热暴发流行进行病原学研究的成果。我们从这次累及四千多人的流行中, 分离鉴定出14株7型腺病毒, 并通过临床和血清学研究, 确定了所分离的7型腺病毒为本次流行的病因。

材料和方法

一、材料

1. 病毒分离标本取自10例住院患儿, 共20份标本, 10份咽拭子分别编号为T₁、T₂、T₃、T₄、T₅、T₆、T₇、T₈、T₉、T₁₀, 10份眼结膜拭子分别为E₁、E₂、E₃、E₄、E₅、E₆、E₇、E₈、E₉、E₁₀。
2. 血清标本取自以10例患儿, 其中10份急性期血清、5份恢复期血清。
3. 分离病毒用原代人胚肾单层细胞和次代人胚肾单层细胞, 培养细胞用Eagles液 (培养基含10%小牛血清、1%谷氨酰胺、1%青链霉素, 2%碳酸氢钠)。
4. 鉴定病毒用抗3型腺病毒及7型腺病毒的兔免疫血清, 免疫血清由病毒所毒种室提供。
5. 测定中和抗体采自患儿病变材料中新分离出的病毒, 病毒用量为100TCLD₅₀/0.1ml。

二、方法

1. 按常规方法处理病人标本, 接种已长成单层的细胞管, 每日观察细胞病变, 当90%以上的细胞出现病变时收获, 有病变及无病变标本均传代培养三次, 盲传三代仍无细胞病变者确定为阴性。
2. 将有细胞病变的培养瓶刮取其细胞, 按常规电镜超薄切片技术操作处理^[7], 超薄切片在JEM-100B电镜下观察和照像。
3. 用3型腺病毒和7型腺病毒的免疫血清与新分离病毒作中和试验鉴定病毒。
4. 用从患儿标本中分离出的病毒与患儿双份血清作中和试验, 测定双份血清中中和抗体的滴度及其增长情况。

*徐州医学院 **北京市朝阳区防站疫

本文1985年8月21日收到

结 果

1. 病毒分离：标本接种后第四天细胞开始出现病变，表现为细胞变圆、胀大，颗粒增多，聚集成葡萄串状，病变逐日扩大，维持液pH继续变酸，传至第三代时，病变在48小时内出现。从20份标本中分离出14株病毒，10份咽拭子病毒检查阳性率为100%，其中有4例患儿两种标本同时分离出病毒（表1）。

表1：20份标本病毒分离结果
Table 1 Result of virus isolation from the 20 samples

标本号	咽 拭 子										眼 结 膜 拭 子									
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
CPE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+

注：+表示有CPE -表示无CPE

2. 电镜超薄切片观察：细胞出现明显病变、线粒体肿大、嵴消失、内质网扩大，聚合核糖核蛋白体增多、细胞核明显增大、核染色质趋向边缘，核内病毒颗粒呈假晶体状排列，同时出现典型的核内包涵体（图1）。

3. 用抗3型腺病毒和7型腺病毒的家兔免疫血清分别与新分离出的病毒作中和试验，14株病毒均被7型腺病毒免疫血清中和、均未被3型腺病毒的免疫血清中和，从而确定所分离出的14株病毒，均属7型腺病毒（表2）。

表2：分离出的14株病毒中和试验鉴定结果
Table 2 Identification of the 14 isolates by means of Neutralization test

CPE	标本号	咽 拭 子										眼 结 膜 拭 子			
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	E ₂	E ₇	E ₈	E ₁₀
Ad	3型免疫血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ad	7型免疫血清	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：+ 表示有细胞病变（CPE） - 表示无细胞病变

4. 双份血清中和抗体滴定结果，10份急性期血清（1：5倍稀释）对相应的新分离的7型腺病毒中和抗体滴度<1：5，5份恢复期血清中和抗体滴度高达1：640至1：1280（表3），从而确定了该病毒是本次疾病暴发流行的病原。

表 3：5 例患儿双份血清中和抗体滴定结果

Table 3 Titration of neutralization antibodies from paired sera collected from 5 cases

病 人	双份血清	血 清 稀 释 倍 数									病毒 对照	中和抗体 效 价	
		1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280			
1	急性期 恢复期	+++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	+	++++	< 1:5 1:460
2	急性期 恢复期	+++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	++	++++	< 1:5 1:640
3	急性期 恢复期	+++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	++	++++	< 1:5 1:640
4	急性期 恢复期	+++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	-	++++	< 1:5 ≥ 1:1280
5	急性期 恢复期	+++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-	++	++++	< 1:5 1:640

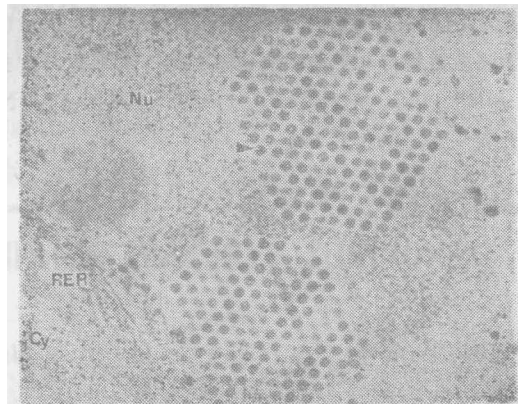


图1 人胚肾细胞内腺病毒假晶体电镜超薄切片观察箭头-腺病毒颗粒呈假晶体排列

Fig.1 Thin section electron microscopy showing typical paracrystalline of adenoviruses appeared in nuclei of monolayer cultured human embryo kidney cells

讨 论

由病毒引起的咽结合膜和急性出血性结膜炎在世界文献中不断有报道，前者从腺病毒3型和7型为多见，后者主要病原为新肠道病毒70型和柯萨奇 A24 型 (CA 24)，也有腺病毒4型，11型和19型引起结膜下出血为特征的眼病，因此，对病原的确定实验室诊断是主要的。

这次腺病毒感染症状表现为高热、头痛、咽痛、轻微流涕、眼结膜严重充血，并伴有恶心呕吐，临床症状符合急性咽结合膜热的诊断。鉴于80%以上患儿有游泳史而无类似疾病的接触史，考虑到本次流行与游泳池水污染有关，是一次严重的水源传染。

我们从10例患者的20份标本中分离出14株病毒，电镜超薄切片观察呈典型的腺病毒形

态,血清学鉴定均属7型腺病毒,7型腺病毒还有亚型之分,本次流行的7型腺病毒属哪一亚型,有待进一步鉴定。

从双份血清中和抗体滴定的结果分析,急性期血清1:5倍稀释未测出对7型腺病毒的中和抗体,恢复期血清效价超过4倍增长,确定了该病毒是本次疾病暴发流行的病原。

这次暴发流行持续三周左右,波及面广,累及数千余人,危害很大,鉴于国内也曾有报道累及百余人的由水源传播的咽结合膜热的流行^[9],所以应引起重视,我们对这次暴发流行作了病原学和血清学检查,确定了病因,这对卫生防疫部门制定卫生防疫措施,加强游泳池的卫生监督,提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] Huebner, K. T. et al., 1958, *Annu. Rev. Microbiol.* 12:49-76.
- [2] Vander. Ween, J. 1963, *Am Rev. Resp. Dis.* 88:167-180.
- [3] Patricia, E. Taglor., 1977. "Adenoviruses: Diagnosis of Infections" Chapter 4 of "Comparative Diagnosis of Viral Diseases Human and C. Karstak, PP. 89-199, Academic Press.
- [4] Pa1, S. R. Szucs, G. and Melnick, J. L. 1983, *Intervirology* 20:19-22.
- [5] Pa1, S. R. et al., 1983, *Bull. WHO.* 61(3):485-490.
- [6] Pa1, S. R., 1984, *Virus Information Exchange Newsletter* 1(3):39.
- [7] 洪涛: 1980, 《生物医学超微结构与电子显微镜技术》第二章超薄切片技术。
- [8] Margnerite, Yin-Murphy., 1984 *Virus Information Change Newsletter* 1(2):19.
- [9] 彭展文等: 1982, *中华儿科杂志* 20(4):248.

OUTBREAK OF ACUTE PHARYNGOCONJUNCTIVAL FEVER CAUSED BY ADENOVIRUS TYPE 7 IN BEIJING

Hung Tao

(Institute of Virology, China National Centre for Preventive Medicine, Beijing)

An outbreak of acute pharyngo conjunctival fever occurred in a district of Beijing China, in August of 1984. Over 4,000 Pre-school and school children (aged 6 to 13) were affected, and over 80% of the Patients had a history of swimming. Clinically, the illness was characterized by high fever (39.5-41°C), pharyngitis, conjunctivitis, headache often associated with vomiting. 20 samples (10 eye secretions and 10 throat swabs) from 10 patients with typical clinical signs of the illness were collected for virus isolation. 14 strains of adenovirus were isolated by means of monolayer cultures of human embryonic kidney cells. Of the 14 isolates, 10 were from throat (positive rate 100%) and 4 were from eye secretions (40%). The virus showed a typical morphology of adenovirus in thin section electron microscopy and all 14 isolates were identified to be adenovirus type 7 by neutralization test. Therefore, the adenovirus 7 was incriminated to be causative agent of the large scale outbreak of acute pharyngo conjunctival fever via water transmission as all paired sera showed more than 4-fold rise of neutralization antibody exclusively for adenovirus type 7.