

## 武汉地区小儿心肌炎病毒病因初探

董继华 田慕贞\*

(湖北省医学科学院病毒研究所, 武汉)

### 提 要

本文介绍武汉地区小儿病毒性心肌炎病原调查结果。33例小儿急性心肌炎患者,取其粪便、咽拭子或心肌组织进行病毒分离,并采集患者急性与恢复期血清,用微量中和试验检测对Coxsackie B组6个型病毒的抗体增长情况。结果从26例分离出7株病毒,同时伴有对同型毒株双份抗体四倍或四倍以上增长者4例。1例为Coxsackie B<sub>3</sub>, 3例为腺病毒。对22例双份血清抗体检测结果:有13例分别对Coxsackie B组2、4、3型抗体有4倍以上增长,阳性率为59%。表明Coxsackie B组病毒为武汉地区小儿病毒性心肌炎重要病因。但腺病毒在病毒性心肌炎中的病原作用亦不容忽视。

临床诊断为病毒性心肌炎的病例不断增加<sup>[1]</sup>,但往往因缺乏病毒病因调查作为确诊的依据,影响了对该疾病的防治与发病机理的深入研究。因此对病毒病因的调查是本病研究的基础。但各地区因受环境、季节、气候等条件影响,其病因是否有异同,值得探讨。我们对武汉地区小儿急性病毒性心肌炎病毒病因进行了调查,现将结果报道如下:

### 材 料 与 方 法

#### 一、研究对象

从1979年~1980年,根据九省(市)小儿心肌炎协作组制定的小儿病毒性心肌炎临床诊断标准<sup>[2]</sup>,收集武汉地区临床诊断疑为病毒性心肌炎患儿的粪便,咽拭子及尸检心肌组织进行病毒分离,并采集急性与恢复期血清进行对Coxsackie B组6个型病毒中和抗体检测。

#### 二、病毒分离

将患者咽拭、粪便或心肌经常规处理后,接种原代人胚肾细胞,每管接种标本液0.2ml,维持液0.8ml(2%小牛血清的199培养液),36℃培养10天,观察细胞病变,若阴性,再盲传1代。病毒鉴定用全套肠道病毒诊断血清,包括26个血清型。(由中国医学科学院医学生物学研究所提供)腺病毒诊断血清(本室自制)。肠道病毒鉴定用中和试验<sup>[3]</sup>。腺病毒鉴定用补体结合试验<sup>[3]</sup>。

#### 三、双份血清抗体测定

用微量组织培养技术进行中和试验,方法参考中国医科院医学生物学研究所及朱关

\* 现在同济医科大学协和医院临床病毒研究室

本稿1986年2月19日收到

福的方法<sup>(4)</sup>。

1. 病毒抗原: Coxsackie B 组1~6型病毒(中国医学科学院生物研究所提供)。及本实验室由心肌炎患者粪便中分离出的 Coxsackie B<sub>3</sub> 病毒。实验用 100 TCID<sub>50</sub>/0.1ml。

2. 双份血清从1:5开始进行2倍稀释至1:320。

3. 培养板: 4×10孔聚苯乙烯平底微量板(上海科学器材公司出品)。

4. 组织培养除 Coxsackie B<sub>4</sub> 用 Vero 细胞外, 余均用 Hep-2 细胞。

5. 中和试验: 每份标本同时做双份试验, 以便进行核对。将1:5稀释后的血清56℃灭活30分钟, 作2倍稀释后滴入孔内, 每孔0.025ml, 然后加入含100个TCID<sub>50</sub>/0.1ml的病毒量0.025ml, 在37℃湿盒中作用1小时后, 加入细胞悬液0.05ml(含5000个细胞), 置于5%二氧化碳培养箱, 37℃培养, 第7天最终判定结果。以完全中和的血清最高稀释度为中和抗体的终点滴度。

6. 二氧化碳培养器: 应用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 定量生成 CO<sub>2</sub> 通过管道输入密封培养器中作为代用二氧化碳培养器。

## 结果与讨论

对33例小儿急性心肌炎病毒病因调查结果见表1。

表1 病毒分离及抗体测定阳性结果  
Table 1 Results of virus isolation and antibody assay

例号	年龄	标本	病毒分离	抗体测定效价		抗体四倍增长 阳转病毒型
				急性期	恢复期	
1	2岁	大便	+ECHO <sub>3</sub> 型	...	...	
2	2.5岁	大便	+Coxsackie B <sub>3</sub> 型	1:20	1:160	Coxsackie B <sub>3</sub> 型
3	1.5岁	大便	-	1:5	1:40	Coxsackie B <sub>2</sub> 型
4	1岁	大便	+腺病毒	1:5	1:80	腺病毒(自身分出)
6	11个月	大便	-	1:10	1:160	Coxsackie B <sub>4</sub> 型
7	1.5岁	大便	-	1:5	1:20	Coxsackie B <sub>2</sub> 型
9	4岁	大便	+腺病毒	1:5	1:40	腺病毒(自身分出)
13	2岁	大便	-	1:5	1:40	Coxsackie B <sub>4</sub> 型
14	13岁	大便	-	1:20	1:80	Coxsackie B <sub>2</sub> 型
18	0.5岁	大便	-	1:10	1:40	Coxsackie B <sub>3</sub> 型
21	5岁	大便	+肠道病毒(未定型)	...	...	
22	9岁	大便	-	1:5	1:40	Coxsackie B <sub>2</sub> 型
25	10岁	...	...	1:10	1:160	Coxsackie B <sub>4</sub> 型
26	9岁	咽拭子	+腺病毒	1:5	1:20	腺病毒(自身分出)
28	2岁	大便	+肠道病毒(未定型)	...	...	
30	10岁	...	...	1:5	1:40	Coxsackie B <sub>2</sub> 型
31	8岁	...	...	1:5	1:40	Coxsackie B <sub>2</sub> 型
33	10岁	大便	-	1:5	1:40	Coxsackie B <sub>4</sub> 型
36	4.5岁	...	...	1:10	1:80	Coxsackie B <sub>3</sub> 型

注: +, 表示病毒分离阳性。...表示未检查。

-, 表示病毒分离阴性。

病毒分离阴性和抗体测定阴性病例未列出。

从表 1 可得出以下几项结果:

1. 小儿急性心肌炎病例年龄分布及与病毒感染关系: 所收集到的心肌炎标本共 33 例, 其年龄分布为 3—11 个月的婴儿 5 例, 未分离出病毒, 但双份血对 Coxsackie B 组抗体有 4 倍以上增长者 2 例占 40%。1~5 岁 14 例, 其中 6 例分离出病毒占 43%。同时伴有双份抗体 4 倍以上增长者 3 例, 对 Coxsackie B 组抗体增长者 5 例占 57%。6~10 岁 11 例, 1 例分出病毒伴有双份抗体 4 倍以上增长, 5 例对 Coxsackie B 组抗体增长占 45%。11~13 岁 3 例未分出病毒, 1 例对 Coxsackie B 组抗体增长占 33%。由此可见: 小儿病毒性心肌炎感染者年龄分布在 1~10 岁, 尤以 1~5 岁病毒分离率及对 Coxsackie B 组抗体增长率均高。

2. 分离出的病毒与心肌炎疾病的关系: 从 26 例标本中共分离出 7 株病毒, 仅 1 例腺病毒由咽拭子分离出外, 余均从粪便中分离到。其中 4 株为肠道病毒, Coxsackie B<sub>3</sub>, ECHO<sub>3</sub> 及二株未定型。另二株为腺病毒。除有 3 例分离出肠道病毒但缺双份血清外, 余 4 例患者的双份血清对其所分离出病毒均有抗体四倍增长, 1 例为 Coxsackie B<sub>3</sub>, 3 例为腺病毒, 由此可以较明确认为是该心肌炎疾病的病因(中度相关)。

表 2. 13 例 Coxsackie B 组病毒抗体阳性型别分布  
Table 2. The distribution of the types of Coxsackie B Virus in 13 patients with positive antibody

型 别	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>6</sub>
			标准株地方株			
例 数	0	6	1 3	4	0	0
%	0	46	23	31	0	0

注: Cox B<sub>3</sub> 中标准株 1 例 4 倍增高者, 同时对地方株也增高, 仅算 1 例, 故共 3 例。

3. Coxsackie B 组病毒与心肌炎的关系: 从我们测定 22 例心肌炎患者双份血清抗体的结果, 有 13 例中和抗体有增长。对各型抗体增长分布情况见表 2。其中以对 Coxsackie B<sub>2</sub> 阳性最多, 其次为 B<sub>4</sub>, B<sub>3</sub>。对 Coxsackie B<sub>3</sub> 抗体测定, 我们同时加用了武汉地区株(由心肌炎患者分离出), 结果 3 例对地方株抗体阳性, 其中仅 1 例对标准株阳性。表明地方株的抗原性与标准株各有不同, 检测抗体宜选用地方株为好。

对散发性急性心肌炎病毒病因研究, 文献报道不多, 根据我们的结果, 结合近年来北京<sup>[5]</sup>上海<sup>[6][7]</sup>哈尔滨<sup>[8]</sup>等地的结果分析, 可以看出不论用双份血清中和抗体效价 4 倍以上增长或病毒分离伴有同型抗体增长, 都说明 Coxsackie B 组病毒在各地心肌炎的病原中占有首要地位。但 Coxsackie B 组各型分布, 各地仍略有不同。武汉地区以 2、4、3 型为主, 未见 1、5、6 型。上海虽以 2、4 型为主, 可是有 5、6 型。但各地均以 2、4、3 型为主。1、5、6 型少见。国外报道, 不仅 Coxsackie B 组病毒与心肌炎疾病密切相关, 而且对心肌梗塞患者调查<sup>[9]</sup>也表明可能与 Coxsackie B 组病毒有关。

因此 Coxsackie B 组病毒与心脏疾病的关系, 有必要更进一步深入研究。

从我们以及各地结果也看出, 除 Coxsackie B 组病毒外, 腺病毒不仅较多从心肌炎患者分离出而伴有相应抗体的增长, 因此可见, 在我国腺病毒与心肌炎的关系亦不容忽视。

### 参 考 文 献

- [1] 九省(市)小儿心肌炎协作组, 1987, 中华儿科杂志20(1):23。
- [2] 九省(市)小儿心肌炎协作组, 1979, 中华儿科杂志 16(2):125。
- [3] 中国医学科学院流行病学防治研究所, 1978, 《常见病毒实验技术》: 239—243, 236—237, 科学出版社。
- [4] 朱英福等, 1981, 中华医学检验杂志 4(1):6。
- [5] 赵锦铭等, 1984, 中华儿科杂志 3:167。
- [6] 施福盛等, 1980, 上海医学 3(1):17。
- [7] 何丽芳等, 1979, 上海医学 3(6):31。
- [8] 姜岩等, 1984, 临床儿科杂志 2(3):164。
- [9] Nikoskelainen J., 1983, Acta Med. Scand. 214(1):20。

## PRELIMINARY STUDIES ON THE VIRUS ETIOLOGY OF CHILDREN'S ACUTE MYOCARDITIS IN WUHAN

Dong Ji-han Tian Mu-zhen

(Virology Institute, Hubei Academy of Medical Sciences, Wuhan)

This study was carried out from 1979-1980. Throat and feces samples for viral isolation were taken from acute children's myocarditis patients and antibodies to Coxsackie B<sub>1-6</sub> viruses were measured by a microneutralization test.

Seven strains were isolated. They were 3 Adenoviruses, 1 Coxsackie B<sub>3</sub> virus, 1 Echo virus and 2 enteroviruses. Moderate order associations were present for four patients because 3 Adenoviruses and Coxsackie B<sub>3</sub> virus were isolated from the feces and four fold increase in type specific neutralizing antibodies were demonstrated. Thirteen 59% of 22 patients showed a four fold, or higher antibody increase in paired serum samples against Coxsackie B<sub>2-4</sub> viruses.

These findings agree with some previous studies suggesting that the Coxsackie B group and Adenovirus may in some cases play the causal role in myocarditis.