

## 长春地区引起婴幼儿肺炎的3、7型腺病毒分子流行病学研究

傅文永 梁东 郑永臣 刘为民 许忠 郭惠君

(白求恩医科大学第一临床医院儿科, 长春 130021)

袁同福

(长春市凯旋药厂研究所, 长春 130071)

### 提 要

本文对长春地区1976年—1988年引起小儿肺炎的135株3、7型腺病毒核酸进行了限制性内切酶图谱分析, 结果表明: 75株7型腺病毒经BamHI、HclI、BglI、XbaI、SmaI、HindIII分析后表现为二个基因组型—7b和7d。其中60株7b(80%), 流行于1976—1988年; 15株7d(20%)自1982年出现逐年增加, 到1987—1988年的5株都是7d。60株3型腺病毒被BglII、BamHI分析后表现为三个基因组型, 我们用3I、3II、3III代表它们, 其中56株3I(93.3%)流行于1976—1988年; 3II、3III散在分布。

通过临床资料整理, 发现该地区3、7型腺病毒的不同基因组型在毒力致病性上存在着差别。

**关键词:** 腺病毒 基因组型 限制性内切酶 分子流行病学

腺病毒3型(Ad3)和7型(Ad7)是引起小儿肺炎的重要病原<sup>[1]</sup>。尤其在我国北方冬季感染流行广, 毒情严重, 病死率高<sup>[2]</sup>。为深入了解其发生、发展规律, 为其防治提供可靠的依据, 我们对本地区连续十二年的135株Ad3和Ad7进行分子流行病学研究。

### 材料与方 法

1. **病毒株:** 选自1976—1988年分离自腺病毒肺炎患儿的咽拭子标本, Ad3 60株, Ad7 75株。这些毒株均经中和试验确定血清型别。将Ad3或Ad7标本接种于原代人胚肾细胞静止培养, 病变明显时再接种HeLa细胞增殖, 细胞病变III—IV时收获, 置40℃冰箱待用。

2. **病毒DNA的抽提:** 采用改良的聚乙二醇法——我们将提取λ噬菌体DNA的方法加以改进, 总结出一个从感染细胞中提取病毒DNA的方法, 基本步骤如下: ①Ad3或Ad7感染细胞反复冻融; ②室温2000r/m, 10分钟; ③上清液加聚乙二醇和氯化钠; ④室温3000r/m, 30分钟; ⑤沉淀的病毒颗粒经蛋白酶、RNA酶处理; ⑥有机溶剂抽提; ⑦DNA悬液加无水乙醇, -70℃1小时; ⑧16000r/m, 10分钟; ⑨TE液悬浮病毒DNA。

本文于1989年2月10日收到

3. 病毒DNA限制性酶切电泳: 限制性内切酶Bgl II、Bgl I、Bcl I、BamH I、Sma I、Xba I、Hind III均购于华美生物工程公司。酶反应条件按厂家说明书进行。常规制备琼脂糖凝胶, 被酶解的病毒DNA点样于凝胶电泳,  $\lambda$ DNA的Hind III片段做标准对照, 电压4 V/cm, 时间4—5小时, 用溴化乙锭染色凝胶, 在短波紫外线灯下观察, 照像记录结果。

## 结 果

基因组型的确定及分布, 75株Ad7的DNA在Bgl I、Bcl I、Sma I、Hind III、Xba I的酶谱上没有被区别。但经BamH I消化后表现为二个基因组型, 见图1。左数第五孔图谱代表一个基因组型, 其余的代表另一个, 把它们和Wadell鉴定的7b、7d图谱比较<sup>(3)</sup>, 前者同7d一致, 后者符合7b。这两个基因组型年代分布见图2。

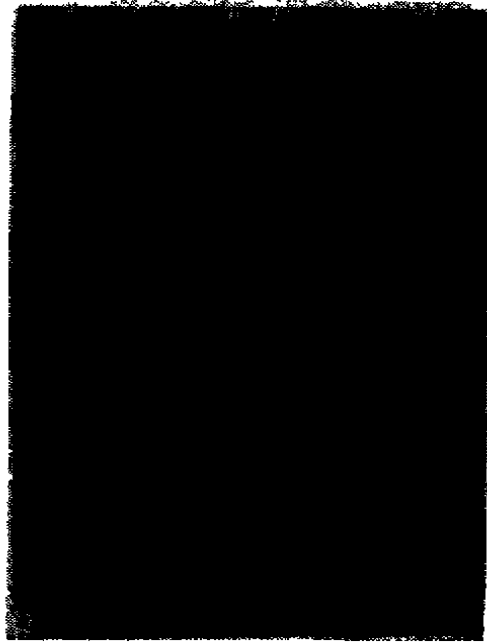


图1 75株Ad7经BamH I区分为二个基因组型, 第5孔是7d, 余皆7b  
Fig 1. Two genome types identified after digestion from 75 Ad7 strains with BamH I

60株Ad3 DNA经Bgl II消化后出现三个基因组型见图3中3 I、3 II、3 III。而它们不能被BamH I所区别(图4)。把这三个基因组型同Wadell早年用BamH I区别Ad3为Sp、3a<sup>(3)</sup>以及Donnell用Bgl II、BamH I等酶区别Ad3为3GB、3a—3e比较<sup>(4)</sup>。在BamH I图谱上, 这三个基因组型同Wadell所指的3a一致。与Donnell的六个基因组型中的3a、3c、3e一致, 与3GB、3b、3d不同。但在Bgl II图谱上本地区这三个基因组型同Donnell鉴定的6个基因组型相似, 但都不相同。这三个基因组型的年代分布情况见图2。

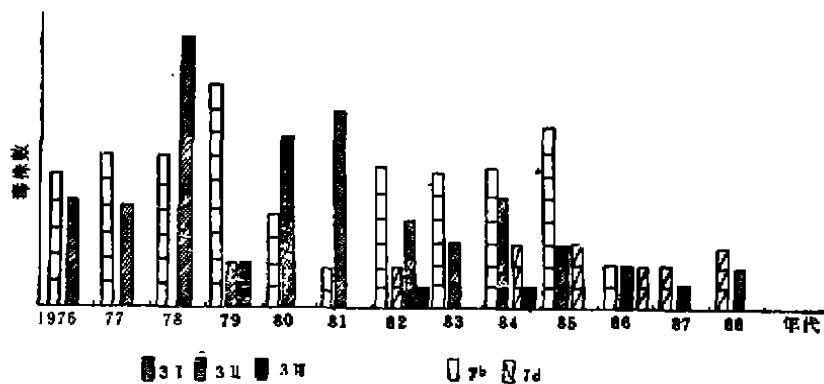


图2 - Ad3, Ad7基因组型年代分布

Fig 2. BamHI digestion patterns for 7b and 7d identified by Wadell

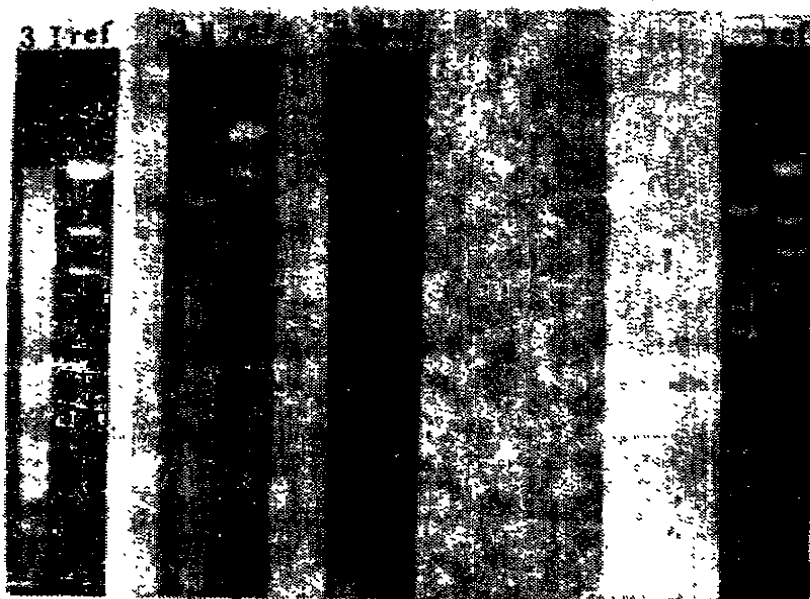


图3 60株Ad3DNA经BglII消化后表现为3个基因组型—3I、3II、3III

Fig 3. Three genome types discovered after digestion from 60 Ad3 strains with BglII, respectively

图4 60株Ad3DNA经BamHI消化后的图谱特点

Fig 4. BamHI digestion patterns for the three genome types of Ad3

### 讨 论

通过对1976—1988年间引起肺炎的Ad3和Ad7 DNA的限制性内切酶分析表明,本地区这些年间引起肺炎的Ad7的二个基因组型——7b和7d流行。它们的分布特点是在75株Ad7中,60株是7b(88%),流行于1976—1988年间;15株是7d(12%),自1982年出现,逐年增加,至1987—1988年所分离的5株都是7d。这说明这些年间7b是该地区流

行的优势基因组型, 7d自7b之后, 在八十年代开始出现, 从和7b混合流行到单独存在, 似乎有取代7b的趋势, 很可能成为流行的优势基因组型。这与Wadell所报道的流行优势基因组型有转移现象的观点有一致性<sup>[4]</sup>。60株Ad3经内切酶 BgI II 和 BamH I 分析后显示本地区引起肺炎的Ad3有三个基因组型的存在, 我们用3 I、3 II、3 III 代表它们。在60株Ad3中, 56株(93.3%)是3 I, 分布于十二年, 说明它是流行的优势基因组型, 3 II、3 III 仅4株, 散在分布, 在核酸图谱上同3 I 差别微小, 很可能是3 I 的变异株。把这三个基因组型同Donnell等人在英国伦敦地区结膜炎、咽结膜热流行中鉴定的Ad3的6个基因组型(3GB, 3a—3e)的核酸图谱比较, 发现它们之间很相似, 但都不尽相同, 存在着差别的原因很可能与地理区域不同有关, 也可能与标本来源于不同疾病有关, 这与Wadell报道的不同基因组型存在着地理分布的差别, 存在着毒力、致病力不同的提法相符合<sup>[4]</sup>。Wadell用BamH I 对世界一些地区的Ad3株进行分析发现了3P和3a, 并报道了3a在中国、日本、北美流行, 本地区发现的3个基因组型在BamH I 图谱上同Wadell所指的3a一致, 只是在BgI II 图谱上又有了新的发现, 很可能3 I、3 II、3 III 就是Wadell指的3a。

通过对二十年来住院腺病毒肺炎的发病率和死亡率明显下降, 轻症患者较多, 这除可能与环境因素营养状态医疗水平提高有关外, 更可能与基因组型的转移有关, 总结临床资料, 我们发现重症病人多为7b, 7d、3 I 所致病人多属轻症, 进一步大量细致的调查工作正在进行。

#### 参 考 文 献

- (1) 付文永, 1985, 中华医学杂志 65(10): 580—583.
- (2) Chin-Shien T, 1980, Chin Med 80: 331—339.
- (3) 付文永等 1989, 中华医学杂志 65(5): 289.
- (4) Wadell G et al., 1984, Curr Top Microbiol Immunol 110: 191—220.
- (5) B.O Donnell, et al., 1986, J. Med Virol 18: 213—227.

## Molecular Epidemic Study for Adenovirus type 3 and 7 Causing Children Pneumonia in the Areas of Changchun

Fu Wen-yong Liang Dong Zheng Yong-cheng Liu Wei-min Xu Zhong

Guo Hui-jun Wu Yu-mei Leng Li

(The First Teaching Hospital, Bethune University of the Medical Science,  
Changchun 130021)

Yuan Tong-fu

(Changchun Kai-xuan Pharmaceutical Factory, Changchun 130071)

This paper reports the DNA restriction endonuclease analysis of 102 strains adenovirus 3 (Ad3) and 7(Ad) causing infant pneumonia from 1976 to 1986 in the areas of Changchun. The results showed that 2 genomes of 56 strains Ad7, 7b and 7d were identified by using restriction endonuclease BamHI, BclI, XbaI, SmaI and HindIII. Among them 60 strains were 7b and 15 were 7d which occurred from 1982 and tended to increase with time. 3 genomes of 60 strains Ad3 were identified by using BamHI and BglII, we named them by 3 I, 3 II and 3 III. Among above 56 strains, 42 were 3 I spreading over last 12 years. 3 II and 3 III appeared sparsely over these years.

By the clinical data, we found the differences in the pathogenicity and virulence among the different genomes in this areas.

**Key Words:** Adenovirus Genome Molecular epidemiology  
Restriction endonuclease