

# 自流行性成人腹泻粪便中发现 一种新轮状病毒

黑龙江省卫生防疫站病毒研究室

孟庆海 李中原 刘学礼 李志仁 李秀文 张静 张春柱  
刘仲玉 辛梓楠 齐岫岚 李滨香

腹泻病在世界范围内广泛流行, WHO把这组疾病作为全球重点控制疾病<sup>[1]</sup>。急性病毒性腹泻就是其中的重要部分, 直到七十年代初, 发现了人类轮状病毒和诺瓦克(Norwalk)病毒, 才揭开了现代病毒性腹泻病原学研究的序幕<sup>[2]</sup>。

从1982年3月份开始<sup>[3]</sup>, 在我省局部地区发生了流行性成人腹泻, 其主要表现为起病急, 以腹泻为主, 水样便, 日便次少则3~5次, 多则20次以上。部分病人伴有呕吐, 腹泻前多有肠鸣、腹痛等。病程一般3~5日, 无病死者。经常规细菌学和病毒学检验, 未检出已报告过的致腹泻的细菌和病毒<sup>[4,5]</sup>, 但发现一种新轮状病毒。报告如下。

## 材料与方法

**病人粪便标本:** 于病区收集典型病人的腹泻便, 及时送回实验室检验或冻存于-40℃冰箱。

**病人血液标本:** 采取发病早期和恢复期血清, 冻存于-40℃冰箱待用。

**轮状病毒ELISA诊断盒:** 为中丹举办腹泻病检测讲习班赠送。

呼肠病毒毒种系由中国医学科学院流行病学研究所赠送, 由本室制备免疫血清。

**粪便处理:** 取粪使用0.05M pH7.5 Tris-HCl缓冲液(或PBS)制成20~50%悬液, 3000rpm离心30分钟, 取上清液用作负染色标本, 取沉淀物作超薄切片标本, 供电镜检查。

**负染色和超薄切片标本制备:** 基本参照文献<sup>[6,7]</sup>进行。免疫电镜实验为取二滴粪便上清液加1滴对应血清(稀释度为1:20~1:50), 37℃作用1小时, 4℃过夜, 翌日取混合物吸附于载有Formvar膜铜网, 作负染色。

上述两种标本, 均用本室的JEM-100CX型电镜观察与拍摄照片。

## 结 果

**1. 新轮状病毒的形态:** 从1982和1983年我省病区中的12个病点采取了209例病人腹泻便。在电镜检查中未发现40nm以下的类Norwalk病毒样颗粒及其凝集团、腺病毒等。而发现了一种新轮状病毒。在腹泻便中主要见有两种形态:

**52nm颗粒:** 主要见于粪便上清液之负染色标本中(见图1(1), (2)), 呈圆形, 椭圆形, 有的似六角形。直径大小介于44~57nm, 平均约为52nm。其构造是外面有一层蛋壳样外壳。根据壳内电子致密物质多少可分为实心 and 空心两种颗粒: 实心颗粒壳内电子致密物质有的呈条形、斑块状, 有的呈圆形旋转状, 带有中空样结构; 空心颗粒则电子致密物质较少, 多靠近壳膜处。

**70nm颗粒:** 主要见于粪便沉渣之超薄切片标本中。见照片2A.B。颗粒直径大小约70nm, 结构清楚, 可见核心与外壳两部分, 核心直径约44nm。外壳上附有壳粒, 约20~22

粒，呈辐射状排列，壳粒长约15nm。

### 2. 两种颗粒的检出率:

这两种颗粒的检出率如表1和2所示

表1 52nm颗粒在病人中检出结果

年份	采集标本 病区数	病人数	检出例数	检出率(%)
1982	6	101	31	30.7
1983	6	108	104	96.3

表1中，第一年阳性较低，可能与我们最初识别这种颗粒的能力和对标本的保存和处理有关。平行作了20名健康人对照检查结果阴性。1979~1982年我们曾对271例婴幼儿腹泻便电镜检查亦未发现过这种52nm的颗粒。

取44例病人粪便沉渣作了超薄切片检查，结果如表2所示。

表2 70nm颗粒在病人中检出结果

年份	采集标本 病区数	病人数	检出例数	检出率(%)
1982	2	15	13	86.7
1983	3	29	25	86.2

同时作12例健康人固形便的沉渣超薄切片检查，全为阴性。从表2结果可以初步看出，70nm病毒颗粒，在两年的病人中检出率可高达86.4%。

### 3. 两种颗粒间的关系的观察:

选取部分病人粪便标本，反复提取和详细观察，结果见图3A、B、C、3A是从粪渣中的再提取液所见之52nm颗粒之凝集团(IEM)。在少数病人粪便上清液中，经仔细检索，查见图3B、3C之颗粒。我们把它们称为中间型颗粒，它的核心大小结构与52nm颗粒相同，外壳上或多或少的壳粒与70nm颗粒相同，在图3C上其与52nm颗粒凝集在一起。因此，70nm颗粒是该病毒的成熟型完整病毒颗粒，52nm颗粒是完全失去壳粒的该病毒的核心(Core)，见图4。

4. 肠道脱落细胞中所见到的病毒颗粒: 照片5A、B、C是粪渣超薄切片标本中所见肠道脱落细胞之碎片。5A为类似的病毒毒浆(Viro-

plasma)，含大量成熟型病毒颗粒与病毒形成有关的基质。5B为病毒浆之局部放大。5C为细胞浆中之空泡，其中包含大量病毒颗粒。这些结果为本病属于感染性腹泻之依据。

5. 血清学结果: 该病毒从大小和形态来看，与轮状病毒和呼肠病毒很相似，用抗普通轮状病毒血清和三个型呼肠病毒血清与这种病毒颗粒作免疫电镜试验，结果均阴性。而用本病的恢复期患者血清做IEM为阳性(见图1(1),(2),图3A,B,C)。进一步以轮状病毒ELISA药盒测定10份轮状病毒阳性婴儿腹泻便和40份流行性成人腹泻便，结果10份轮状病毒阳性婴儿腹泻便ELISA试验均阳性，而40份流行性成人腹泻便均阴性。该病毒与普通经典轮状病毒和三个型呼肠病毒在血清学上是不同的，因而称新轮状病毒。

## 讨 论

1972年Kapikian氏等报告Norwalk病毒致成人腹泻以来，相继从美国报告有Hawaii因子、Montgomery County(M.C)Taunoy因子等，从英国报告了Wollan、Ditchling、Cockle因子等，从澳大利亚报告了Paramata因子等，Coul EO氏等<sup>[7]</sup>把这些病毒或因子统称为小圆病毒(Small round viruses)，并作了初步分类。在日本报告了音更因子和札幌因子等<sup>[8,9]</sup>，最近Doline氏等<sup>[10]</sup>又报告了雪山因子，所有上述病毒或因子的大小都在40nm以下。本次在成人流行性腹泻所见的病毒颗粒，从其大小和形态结构与上述各病毒或因子完全不同。其形态学与轮状病毒和呼肠病毒很相似，但其降解的核心颗粒和血清学结果是不同的。

我们过去对呼肠病毒的研究中曾见到过完整病毒颗粒有脱壳粒现象(见图4)，Guid Bac-car氏等<sup>[11]</sup>从叶蝉分离到一种类呼肠病毒，在其免疫电镜研究中也报告了脱壳粒后的核心照片，但本次所见脱壳粒现象是更为明显。脱壳粒后的核心(52nm颗粒)几乎成为腹泻便

上清液中常见的病毒形态。

关于本病毒的病原学作用,根据①不同年份,不同病区中的流行性成人腹泻特异地伴有该病毒,检出率很高。②部分病人恢复期血清与该病毒的核心可呈免疫电镜阳性,③该病毒可感染肠道细胞并形成病毒浆(Viroplasma)和存在于细胞浆之空泡中,为感染性腹泻提供依据。因此我们认为,这种新轮状病毒可能是引起流行性成人腹泻的病原。

### 摘 要

1982年3月和两年来的冬、春季,于黑龙江省局部地区成人流行性腹泻粪便中发现一种新轮状病毒。该病毒形态学特点是有两种颗粒:一种病毒颗粒平均直径为52nm,主要见于粪便悬液之上清液中,检出率为64.6%;另一种病毒颗粒平均直径为70nm,于病人粪便沉渣之超薄切片中发现,检出率为86.4%。经电镜下进一步研究证明,70nm颗粒为本病毒的成熟型完整病毒,52nm颗粒为前者[脱掉壳粒的核心(Core)。虽然从形态大小上与经典轮状病毒、呼肠病毒很相似,但血清学上与之不同,故称为新轮状病毒。

### ABSTRACT

There were several outbreaks of epidemic diarrhoea in adult occurring from march 1982 for two years in some areas of Heilong-Jiang province. A

kind of Rotavirus-like virus particles was found by EM and IEM. This virus particles presented two forms in morphology. The average diameter of one form was 52nm. It was detected in the supernatant fluid of stool samples in 64.6% of the cases by negative staining (Fig 1 and 3 IEM). The average diameter of the other form was about 70nm which was found in the pellet by ultrathin sections in 86.4% of the cases. The 70nm particle is the mature and complete virus particle while the 52nm particle is the core without capsomers. This virus is different from ordinary rotavirus and reovirus by IEM and ELISA. We designate this virus temporarily as new rotavirus

(本文图1~5见插图第1, 2页)

### 参 考 文 献

1. WHO/CDD/81: Program Control of Diarrhoeal Diseases
2. Blacklao NR et al: New Eng J Med, 304: 397, 1981
3. 黑龙江省卫生防疫站等: 婴幼儿腹泻与成人流行性腹泻资料选编, 1983, 4
4. Stoll BJ et al: Br Med J, 258: 1185, 1982
5. WHO Scientific Working Group: Bull WHO, 58 (2): 185, 1980
6. 张哲夫: 电子显微学报, 1(1): 70, 1980
7. 胥爱源等: 中国医学科学院学报, 3(1): 40, 1981
8. Carl EO et al: J Med Virol, 9: 257, 1982
9. 石田名香雄等: ウィルス, 31(2): 167, 1981
10. Doline R et al: J Infect Dis, 146(2): 184, 1982
11. Guid Baccar et al: Virology, 100(2): 300, 1980

## 流脑提纯菌苗大面积普种后一年的 免疫学、流行病学效果观察

贵州省黔南州卫生防疫站

邓治铭 陈元安

在估计可能发生流脑流行的独山、平塘、三都和罗甸四个毗邻县中,选择6个月至15岁的儿童接种A群流脑提纯菌苗(卫生部生物制品研究所售品,8024-1)。于免疫后6、8、24和48小时对690名接种者观察了全身和局部反应,其中全身反应分别为27.2%、6.8%和0.6%,于免后6小时出现了1例强反应(0.14%);局部中反应分别为0、38.4%和17.2%,于免

后24小时出现1例强反应。免后1、3、6和12个月的血凝抗体几何平均滴度较免前分别增长30.82、20.57、10.26和7.64倍;而抗体的阳转率又分别为96.5%、100.0%、100.0%和98.5%。在接种的10,289人中,仅发生流脑2例,而对照的10,320人中,发病24例,因此该菌苗的保护率为91.6%。

# 自流行性成人腹泻粪便中发现一种新轮状病毒

(正文见65页)



图 1 病人粪便中发现的52nm病毒颗粒(1)实心颗粒(2)空心颗粒



图 2 病人粪便中发现的70nm病毒颗粒(超薄切片)

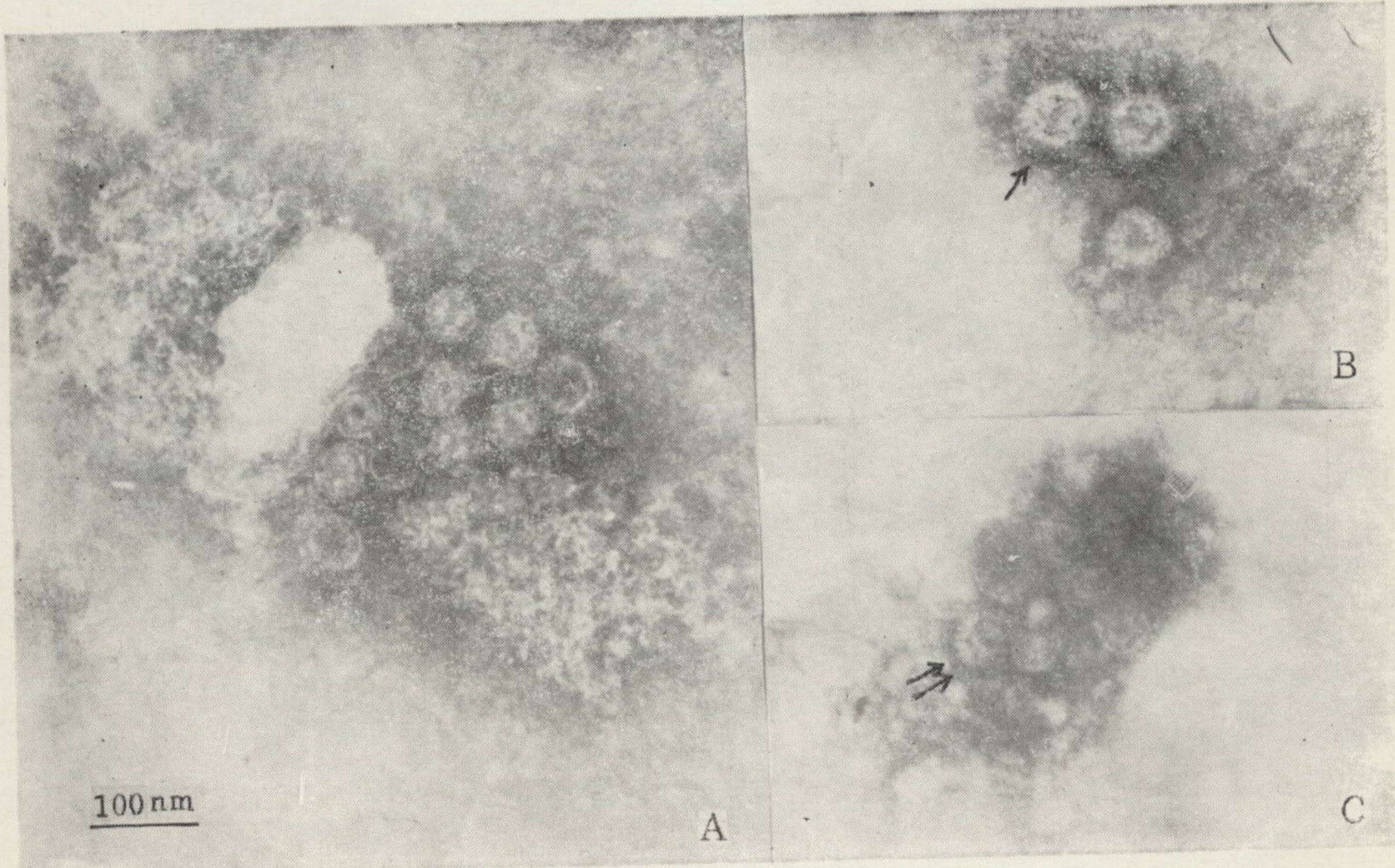


图3 A.为从病人粪渣中再次提取出之52nm颗粒之凝集团(IEM) B.为病人粪便上清液中具有壳粒之70nm颗粒(↑) C.为病人粪便上清液中具有壳粒之70nm颗粒(↑↑)与52nm颗粒凝集在一起(IEM)

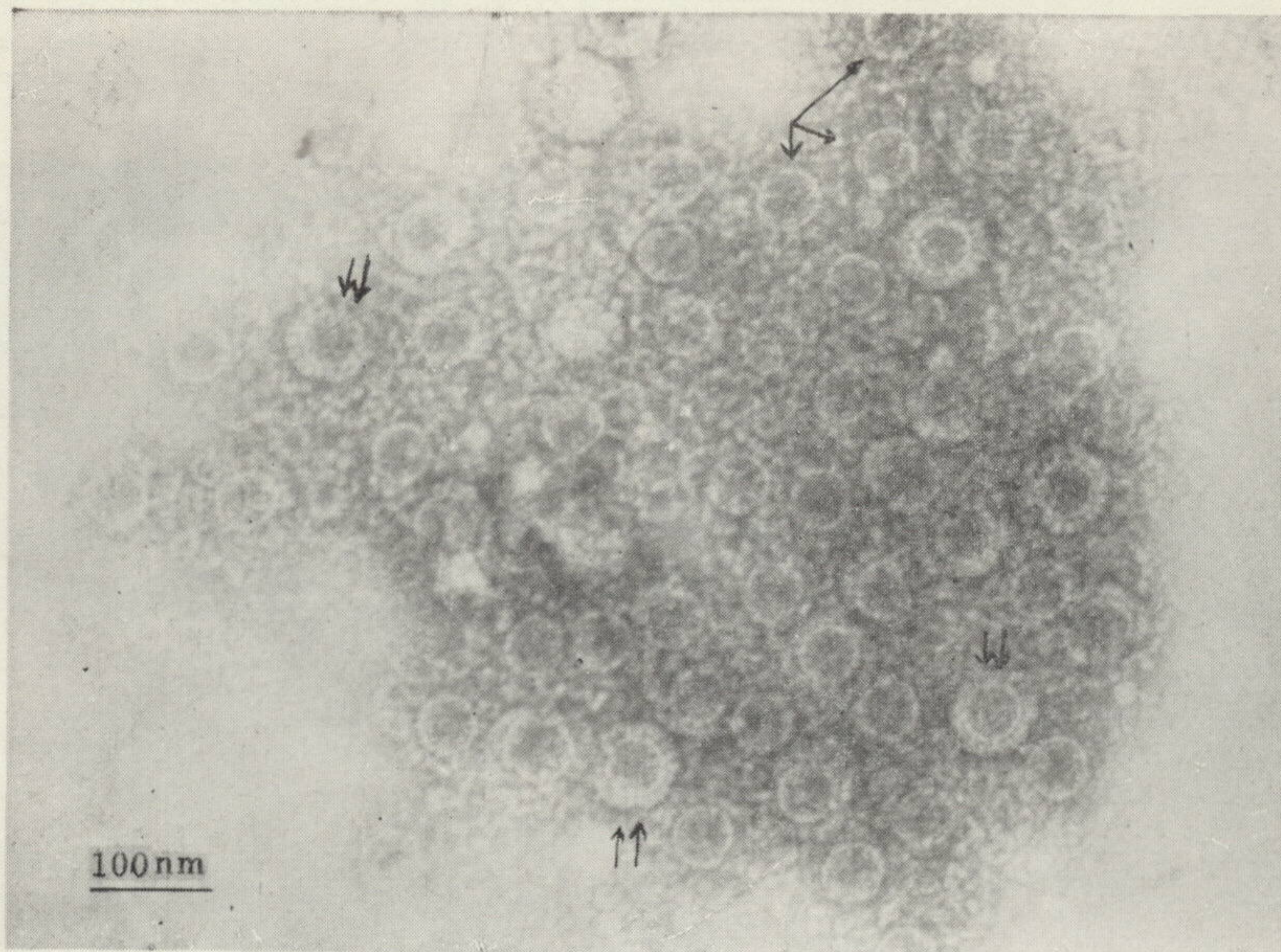


图 4 类呼肠病毒IEM中之脱壳粒现象：脱掉壳粒之核心(↑)，部分脱壳粒之呼肠病毒(↑↑)

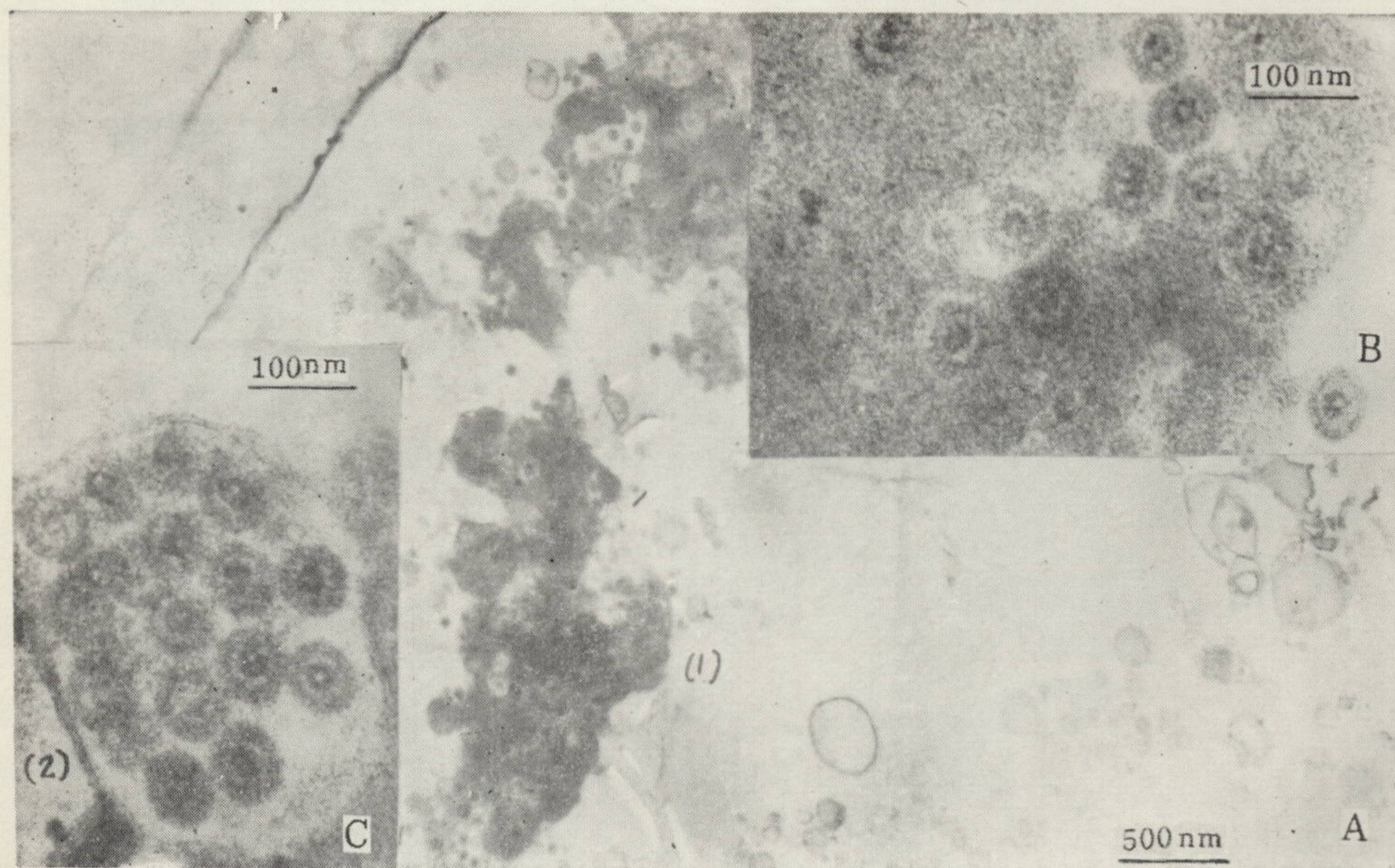


图 5 A.B.C.病人粪便沉淀物的超薄切片所见(1) Viroplasma (2) 空泡中之病毒颗粒团