

参 考 文 献

[1] Mattheus. K. M., *Anal. Lett.*, 16 (A8), 633

(1983).

[2] 上海化学试剂采购供应站编, 试剂手册, 440 页, 上海科技出版社, 1963 年.

对游泳池池水污染病毒的检测

刘 征 利 李 洪 海

(中医研究院西苑医院)

1983 年夏季, 北京地区的中小學生中, 暴发一种以高烧(体温 39—40°C)、眼红、咽扁桃体红肿为主要症状的流行性“咽结膜热”^[1,2], 来势凶猛, 传播迅速。经统计, 病儿 98% 有游泳史。

关于游泳池池水被感染性病毒所污染, 造成一些因游泳传染而致的传染性疾病流行与蔓延, 在国内外虽然早就有过报告^[3,4,5], 但从未从游泳池的水中分离出病毒^[3], 我们从当时游泳池的水中成功地分离出了腺病毒。

一、水体环境

水样取自于 1983 年 8 月中旬发病率较高的海淀区某游泳池。当时该游泳池的环境情况如表 1 所示(取样日期为 1983 年 8 月 19 日)。

二、材料和方法

1. 标本采集与保存

采集深水池、浅水池与幼儿池水样各一份, 每份 15ml, 分别注入到盛有 1ml 青、链霉素混合液的无菌试管中(浓度为青霉素 10000 u/ml, 链霉素为 10mg/ml), -30°C 冻存。

2. 细胞培养与接种传代

(1) 人胚肾细胞培养 按实验室常规方法进行培养。生长液为含有 10% 小牛血清

的水解乳蛋白 Hank's 液。加入 1% 量的青、链霉素混合液, 37°C 静置培养待接种。

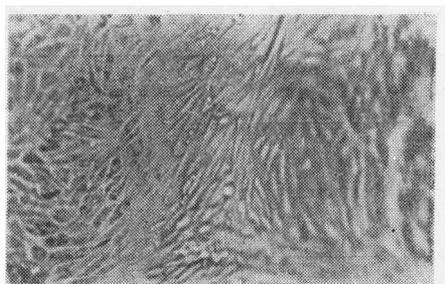


图 1 正常人胚肾细胞

(2) 接种传代 采用原代人胚肾细胞(呈梭形排列, 如图 1 所示)。维持液为含有 2% 小牛血清的乳 Hank's 液, 并加入含量各为 5% 的青、链霉素与卡那霉素, 浓度同前。将细胞管中的生长液排除, 吸取水标本液 2ml, 接种于细胞管中。每份水标本接种 4—5 管, 放入 37°C 温箱内静置吸附 3 小时。然后将水标本液吸出, 再用 Hank's 液反复冲洗细胞管 5—6 次。最后加入维持液 1ml。经 37°C 静置培养, 逐日观察细胞病变。若细胞变圆、肿胀、聚成葡萄状, 似腺病毒典型病变(图 2), 待病变达 +++—++++ 时收获并冻存, 以备毒株鉴定。对于那些经 10—14 天观察仍无病变出现的细胞标本, 盲传 4—5 代。

(3) 水标本病变出现时间与代数关系如表 2 所示, 深水池标本第一代于第四天出现病变, 第八天病变达++++; 浅水池标本第二

表 1 取样时水体环境

项目	情况	池别		
		深水池 (m ³)	浅水池 (m ³)	幼儿池 (m ³)
1	游泳池容积	50×30×(1.8—2.2)	50×30×(1.3—1.55)	20×5×0.7
2	池 壁	水泥面 (附有深绿色藓苔)	同前	水泥面
3	池水颜色	碧绿色	蓝绿色	蓝绿色
4	池水透明度	混浊	混浊	较混
5	池水温度	24℃	25℃	21℃
6	池水 pH 值	6	6	6
7	换水后天数	7 天	6 天	5 天
8	换水方法	7—10 天全水换	同前	5—7 天全水换
9	每天游泳人次	1000 余人次	1500 余人次	500 余人次
10	开放时间	早 7.00—晚 10.00	同前	同前
11	消毒方法	清水冲洗池底, 注水, 加硫酸铜 2 天后加漂白粉.	同前	同前

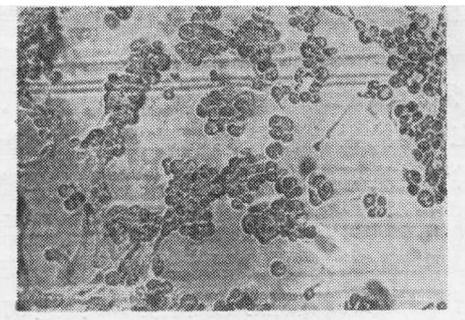


图 2 感染腺病毒的人胚肾细胞

代于第六天出现可疑病变, 但观察到第十四天时, 病变仍无进展。然而第三代接种后, 第三天便开始出现病变, 第五天病变达++++; 幼儿池水标本第一、二代均未见病变出现, 第三代接种后第五天出现可疑病变, 但观察到第十二天病变仍无进展。然而第四代接种后第二天便开始出现病变, 第四天病变达++++。

3. 毒株鉴定

(1) 应用电子显微镜鉴定 将冻存的阳性水标本冻化三次, 在人胚肾细胞上进行传代(复苏与增毒), 待病变率出现+++—++++时收获。然后制成电镜标本进行观测*。

(2) 应用直接免疫荧光法鉴定 将似腺病毒三份阳性水标本分别接种在盛有盖玻片的细胞管中(细胞培养及病毒接种传代方法同前), 待病变开始出现及病变达+++—++++时分别取出盖玻片, 用冷丙酮固定 10min, 经蒸馏水冲洗, 自然干燥后待染色。每份标本制备 4 片。同时制备未接种病毒的盖玻片(培养方法同前)作对照。再将 3、7 型腺病毒

* 电镜标本的制备与观测系由中国医学科学院病毒研究所协助完成。

免疫荧光血清*分别滴加在盖玻片上,经37℃湿结合 45 分钟,用蒸馏水冲洗并自然干燥后,在暗室中用荧光显微镜观察。

(3) 应用中和试验法鉴定 将似腺病毒阳性标本冻化三次,在人胚肾细胞管中传代,待病变达+++—++++时收获。再经三次冻化,取离心上清液。将此第二代阳性标本上清液稀释成 10^{-2} 作为中和试验用抗原。再将 3、7、11 型腺病毒标准血清** 按 1:10 稀释,经 56℃, 30min 灭活,分别与三份阳性水标本第二代 10^{-2} 抗原作中和试验。同时作病毒、各型血清及正常细胞对照。

三、试验结果

1. 电子显微镜观察结果 电镜观察结果照片如图 3 所示。从照片中可见,病毒在细胞核内复制装配。病毒晶体以及与病毒装配有关的电子致密的基质清晰可见。病毒有衣壳和病毒核心,无囊膜,直径约为 70—80 m μ 。

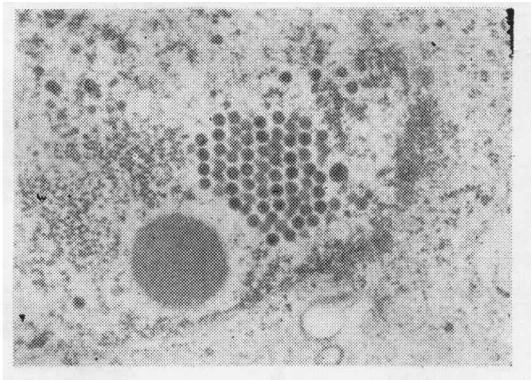


图 3 腺病毒典型结构形态的电镜照片

2. 免疫荧光检查结果 凡+病变和++++病变之盖玻片,经荧光显微镜观察,细胞核均发出特异荧光亮核,这就是荧光阳性细胞(如图 4、图 5 所示)。未接种病毒之盖玻片细胞染色,细胞无特异荧光亮核,为荧光阴性细胞(如图 6 所示)。免疫荧光染色结果证实,水标本病毒分离结果为 3、7 型腺病毒。



图 4 感染腺病毒(+)的人胚肾细胞行 3、7 型腺病毒免疫荧光染色阳性细胞照片

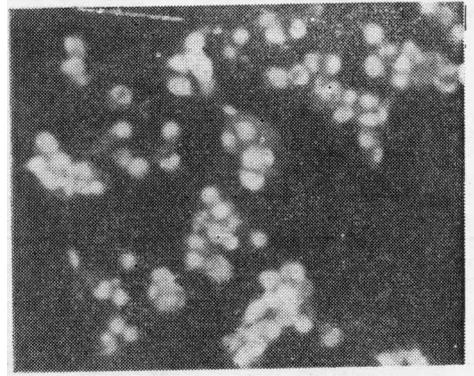


图 5 感染腺病毒(+++)人胚肾细胞 3、7 型腺病毒免疫荧光染色阳性细胞照片

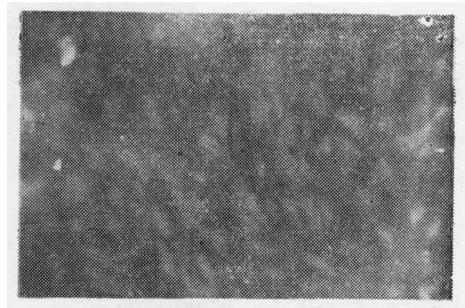


图 6 未感染腺病毒人胚肾细胞,免疫荧光染色阴性细胞照片

3. 中和试验鉴定结果 对深水池、浅水池和幼儿池的三份水标本,经不同代数(第一代、第三代、第四代)培养,均分离出腺病毒。此中和试验结果证实为 3 型腺病毒。

* 所采用的 3、7 型腺病毒免疫荧光血清系长春生物制品研究所提供。

** 所采用的 3、7、11 型腺病毒标准血清系由中国医学科学院病毒研究所提供。

四、结论

1. 人类腺病毒分成许多类型,可在空气、水等介质中稳定存活。它们能够侵犯人们的呼吸道、胃肠道以及眼结膜等器官,造成分布广泛而普遍的腺病毒感染的流行。

因游泳而致的“咽结膜热”的流行,虽然早在二十年代就有德国、美国等国家的研究者作过报道,但直到五十年代采用了腺病毒这一名称后,才确定系腺病毒感染所致。尽管如此,从游泳池池水中却从未分离出病毒^[3,6,7]。国内也未见有人作过报道。

2. 我们在 1983 年 8 月份,北京地区儿童咽结膜热的流行高峰时期,从发病率较高地区的游泳池池水中分离出腺病毒,并查明该次流行系由 3 型腺病毒感染所致。为了进一步证实,我们又对曾在该游泳池游泳后被感染致病的患儿,取其咽拭子、结膜拭子及双份血清,分别进行病毒分离和血清学试验,结果查明也是 3 型腺病毒为主的感染所致^[1]。两者一致,从而完全证实,被污染了的游泳池池水就是该次儿童中流行的咽结膜热的主要传染源。

3. 一般情况下监测水中病毒,要经过病

毒浓缩、分离培养、鉴定等三个步骤^[8]。其浓缩的目的在于提高被污染水中病毒的分离率。我们在咽结膜热爆发流行的时期及时地采集游泳池池水标本,并在没有经过浓缩的情况下,直接进行病毒分离,均出现了阳性结果。这就充分表明了当时游泳池池水被腺病毒污染之严重。

4. 由上所述,提示我们,一定要切实注意夏季游泳卫生,严格对游泳池池水进行消毒和检疫工作。发现有流行病患者后,除对患者要及时进行治疗与适当隔离外,还要对被污染了的游泳池进行彻底的消毒工作,以杜绝流行性疾病的传染蔓延。

参 考 文 献

- [1] 刘征利等,微生物学通报,12(3),123(1985).
- [2] 刘征利等,中西医结合杂志,5(8),472(1985).
- [3] 阿·斯·伊文斯著,张安玉等译,人类病毒性传染病,61—64,人民卫生出版社,1984.
- [4] 彭展文等,中华儿科杂志,20(4),248(1982).
- [5] 刘征利等,微生物学通报,10(6),257(1983).
- [6] F. Fenner, *Medical Virology*, 121—125, Academic Press New York and London, 1970.
- [7] 艾·贾维茨等著,邓瑞麟等译,医学微生物学,581,人民卫生出版社,1983.
- [8] 张楚瑜等,环境科学,4(2),54(1983).

微 型 电 导 检 测 器

庞 世 瑄

(中国科学院环境化学所)

在环境监测与环境化学分析中,愈来愈多地采用离子色谱。最方便的是利用微型电导检测器来测量被分离柱分离开的各种离子浓度。目前已能检测出近百种无机阴、阳离子,几十种有机离子,而且,可同时快速测定多种离子。

所谓微型电导检测器是指电导池是微型

的,其池体积仅约 $10^{-1}\mu\text{l}$ — $10\mu\text{l}$,其电极及电极间距都很小。电导池的微型化带来了一些特殊的测量问题^[1]。

微型池电极其溶液-界面双电层电容较小,即使用较高频率交流供电(1 kHz—10 kHz),其容抗也较大,不能忽略不计,因此这个电导测量体系不能等效为一个纯电阻,