

新疆出血热病毒特性的研究

I 新疆出血热与克里米亚-刚果出血热病毒之间血清学关系的研究

中国医学科学院流行病学微生物学研究所

严玉辰 张玉琴 孔令雄 陈化新 高守一

1965年新疆南疆发生出血热的流行,自治区防疫站于1966年首次从病人血液和牧场蜱类分离出病毒^[1],1968年卫生部工作组进一步从羊、蜱和病人血液分离到病毒,并确定1966年和1968年所分离的病毒株为新疆出血热(XHF)病原体。当时从流行病学和临床上来看,认为本病可能与苏联中亚出血热为同一病毒引起的蜱传出血热^[2],但对病毒分类鉴定以及与克里米亚出血热中亚病毒株的关系需要进一步研究^[3]。

1968年Chumakov等用小鼠乳鼠分离和传代克里米亚出血热病毒^[4]。1969年Casals用补体结合(CF)和琼脂凝胶扩散试验证实刚果出血热与克里米亚出血热病毒在血清学上一致^[5]。1970年Chumakov用上述Casals方法的同时用中和试验方法,证实苏联克里米亚出血热中亚病毒株(乌兹别克)和刚果出血热病毒株在血清学上和病毒抗原性上是一致的^[6]。1968和1973年Murphy等的电子显微镜观察证明,刚果出血热病毒和克里米亚出血热病毒属于布尼亚病毒科(*Bunyaviridae*)^[7,8]。1977年Donets等研究了克里米亚和刚果出血热病毒的物理化学性质和形态发生学,证实二种病毒的一致性,属于布尼亚病毒科病毒^[9]。1979年Hoogstraal称此病毒为克里米亚-刚果出血热(CC HF)病毒^[10]。本文报道XHF和CCHF病毒之间的血清学关系。

材料与方法

一、病毒株: BA68037、BA68038株为

1968年自XHF病人血液分离。试验用23代乳鼠脑病毒,小鼠乳鼠脑内感染毒力为6.0~6.5 LD₅₀/0.02毫升。HY-68013和C-68031为从亚洲明眼蜱(*Hyalomma asiaticum*)和绵羊血液分离,病毒滴度为5.5~6.0 LD₅₀/0.02毫升。试验用18代鼠脑病毒。

二、免疫血清: CCHF免疫血清系R.E. Shope教授赠的k2/61病毒株小鼠免疫腹水(MIAF),CF试验滴度为1:32~1:64冻干制品。XHF病毒BA68037和BA68038株豚鼠免疫血清,为1973年制备,CF抗体滴度为1:128~1:256。BA68037、BA68038病人恢复期血清,分别于病后90和91天采取,1968年冷冻干燥保存。

三、CF抗原: 为蔗糖-丙酮抗原。

四、间接荧光抗体试验(IFAT)用抗原的制备: 用10%鼠脑病毒感染VeroE₆株细胞,于感染后第4日,将细胞消化分瓶培养72小时,再用鼠脑病毒感染一次,于感染后48~72小时,再将细胞消化分散,滴在有10孔的载玻片上,于CO₂培养箱内(CO₂的流量为5%)培养16~24小时,取出用PBS(pH7.2)洗三次,室内吹风干燥后,用无水冷丙酮固定5~7分钟,用PBS洗三次,再用蒸馏水洗二次,干燥后放-70°C冰箱内保存备用。

五、荧光抗体结合物: 马抗人IgG荧光血清为上海生物制品研究所出品;兔抗小鼠IgG荧光血清为北京卫生部生物制品研究所出品。

六、IFAT: 该试验的具体方法与步骤参见文献11。

结 果

一、CF试验：用4株不同来源的XHF病毒抗原与CCHF病毒小鼠免疫腹水的CF试验表明，抗体滴度为1:64~1:128(表1)，略高于免疫腹水原效价(1:32~1:64)。从表1可见，4株不同来源的XHF病毒均与CCHF病毒有非常密切的血清学关系。

表1 4株XHF病毒与CCHF病毒免疫血清的CF试验

抗 原	CCHF MIAF	正常小鼠腹水
BA68037	128/64*	0/16*
BA68038	128/64	0/16
HY-68013	128/64	0/16
C-68031	64/64	0/16

*CF抗体滴度/试验用抗原稀释，下同。

为了进一步说明XHF病毒与CCHF病毒之间血清学关系，我们对CCHF病毒免疫腹水和XHF病毒BA68037与BA68038株豚鼠免疫血清，作了抗体滴度比较测定(表2)，证明二种病毒免疫血清CF抗体滴度基本相同。同时利用1968年冷冻干燥保存的XHF病人恢复期血清(BA68037第90病日，BA68038第91病日)所作的CF试验，也证明与CCHF病毒免疫血清抗体滴度一致(表3)。

表2 XHF病毒免疫血清与CCHF病毒免疫血清的CF抗体滴度比较

抗 原	血清			对照	
	CCHF MIAF	XHF病毒豚鼠血清 BA68037	BA68038	正常小 鼠腹水	正常豚 鼠血清
BA68037	128/64	256/64	128/64	0/8	0/8
BA68038	128/64	256/64	256/64	0/8	0/8
HY-68013	64/64	128/64	128/64	0/8	0/8
C-68031	64/64	128/64	128/64	0/8	0/8

上述CF试验结果表明，我国XHF病毒免疫血清、病人恢复期血清、CCHF病毒免疫血清，三者抗体滴度上基本相同。4株XHF病毒与CCHF免疫血清具有非常密切的血清学

关系，说明在抗原性上是一致的。

表3 XHF病人恢复期血清与CCHF免疫血清的CF抗体滴度比较

抗原	血清			对照	
	CCHF MIAF	XHF病人恢复期血清 BA68037	BA68038	正常小 鼠腹水	正常人 血清
BA68037	64/64	128/64	128/64	0/8	0/8
BA68038	64/64	128/64	256/64	0/8	0/8
HY-68013	64/64	128/64	128/64	0/8	0/8
C-68031	64/64	128/64	128/64	0/8	0/8

二、IFAT结果：为了进一步证明XHF病毒与CCHF病毒免疫血清之间的关系，我们应用IFAT和4株XHF病毒的VeroE₆细胞抗原，对CCHF免疫血清和XHF病人恢复期血清作了抗体的测试。结果CCHF、MIAF和XHF病人恢复期血清的抗体滴度也基本相同(表4)。

表4 CCHF病毒MIAF与XHF病人恢复期血清荧光抗体滴度比较

抗原	血清			对照	
	CCHF MIAF	XHF病人恢复期血清 BA68037	BA68038	正常人* 血清	EHF病人* 恢复期血清
BA68037	1280	5120	5120	-	-
BA68038	1280	5120	5120	-	-
HY-68013	1280	5120	5120	-	-
C-68031	1280	5120	5120	-	-

注：第1孔血清为1:20稀释，第2、3、4、5孔分别为1:80、1:320、1:1280、1:5120
*为10份血清混合

讨 论

CCHF是世界上比较广泛存在的蜱传病毒性传染病，病死率很高，例如1979年9月至1981年2月在伊朗发生63例，死亡41例(65%)^[12]。除中国、苏联、刚果分离出病毒外，截至1981年，分离到病毒的国家有：保加利亚、伊拉克、都拜、巴基斯坦、乌干达和扎伊尔。血清流行病学证实的有：保加利亚、伊朗、埃及、希腊、印度、南斯拉夫^[12]以及土耳其、阿富汗、匈牙利、尼日利亚^[10]。在这些国家中，不论人群或动物都存在CCHF抗体。虽然媒介

蜱的种类不同,但多属于荒漠蜱种传播。

我们用CCHF病毒MIAF抗体检测4株不同来源的XHF病毒抗原的CF试验结果相同,说明4株病毒是同种病毒。用XHF病毒免疫血清和病人恢复期血清与CCHF MIAF进行CF试验比较,证明三者的CF抗体滴度基本相同。滴度上的差异,可能是CCHF病毒抗体为免疫小鼠腹水所致。一般说来,MIAF均稍低于动物免疫血清的抗体滴度。通过IFAT进一步证明了XHF病毒与CCHF病毒之间的一致关系,即XHF病毒与CCHF病毒为同种病毒。

用二次感染VeroE₆细胞的方法,可使100%的细胞带有XHF病毒抗原。因此,IFAT较CF敏感多倍,而且快速准确,是一种比较理想的血清学诊断和血清流行病学调查方法。

纵观上述试验结果,均证明XHF病毒与CCHF病毒之间具有非常密切的血清学关系,可以认为XHF与CCHF是同种病毒引起的,而且与上述各国的CCHF同是蜱传的急性传染病。CCHF病毒已归属布尼亚病毒科(Bunyaviridae)内罗病毒属(Nairovirus)^[13]。

摘 要

用CF和IFAT证实XHF病毒与CCHF病毒免疫血清的一致性,可以认为XHF和CCHF是同种病毒引起的蜱传急性传染病。

ABSTRACT

An outbreak of Xinjiang Haemorrhagic Fever (XHE) resembling Crimean-Congo Haemorrhagic Fever (CCHF) occurred in 1955. Several strains of XHF virus were first isolated from the samples of patients, sheep and ticks, *Hyalomma asiaticum* in 1966 and 1968. Results of the complement fixation test and indirect fluorescent antibody technique revealed that XHF virus strains were serologically closely related to or identical with CCHF virus mouse immune ascitic fluid.

参 考 文 献

1. 新疆维吾尔自治区卫生防疫站: 新疆出血热资料汇编(内部资料), 1975。
2. 中国医学科学院流行病学微生物学研究所等: 流行病防治研究(2): 71, 1973。
3. Gao Shouyi: The isolation of causative agent of viral haemorrhagic fevers in China. Meeting on Research in Viral Haemorrhagic Fever of the Eastern Mediterranean, South-East Asian & Western Pacific Regions, New Delhi, 10-14 March 1980.
4. Chumakov MP et al: Vop Virusol, 13: 337, 1968.
5. Casals J: Proc Soc Exp Biol Med, 131: 233, 1969.
6. Chumakov MP et al: Acta Virologica, 14: 82, 1970.
7. Murphy F A et al: J Virol, 11: 1315, 1968.
8. Murphy F A et al: Intervirology, 1: 297, 1973.
9. Donets M A et al: Intervirology, 8: 294, 1977.
10. Hoogstraal H: J Med Entomol, 15: 307, 1979.
11. 严玉辰等: 中国医学科学院学报, 4(1): 67, 1982。
12. Tantawi H H et al: Int J Zoon, 8: 115, 1981.
13. Bishop DHL et al: Intervirology, 14: 125, 1980.

(美国海军第三医学研究所H. Hoogstraal博士提供有关资料和耶鲁大学医学院虫媒病毒研究所 R. E. Shope 教授惠赠CCHF病毒免疫血清, 特此一并致谢)

全国流行病学讲习班简介

中华人民共和国卫生部与世界卫生组织联合举办的全国流行病学讲习班, 于1982年9月13日至30日在成都四川医学院举行。学员主要为全国部分院校的流行病学教师及少数科研及卫生防疫机构的科研人员、医师等共60余人。主讲教师有世界卫生组织西太平洋区传染科顾问瑞斯博士(A. C. Reyes)、世界卫生组织总部热带病研究官员马洛博士(R. Morrow)、日本流行病学家重村逸造博士、英国流行病学家史密斯博士, 此外还有我国流行病学家苏德隆教

授、何观清教授、盖宝璜教授等。讲授内容主要为流行病学原理和方法及流行病学的进展。对于近代用流行病学方法取得重要成就的疾病, 如痛痛病(镉中毒)、孕妇风疹、非洲淋巴肉瘤、分支杆菌感染溃疡(Mycobacterium ulcer infection), 肺癌等均作了讲授, 学员们也交流了科研成果。学员普遍认为此次讲习班收获很大, 有助于教学和科研工作。对远道而来的外国专家的辛勤劳动表示感谢。并希望类似的讲习班不断举办。 (山西医学院 姚凤一)