

福建北部山区肾综合征出血热血清流行病学调查

李贤凤¹ 黄春发⁴ 洪朝长¹ 潘亮¹ 袁高林² 林开领³
翁文忠³ 肖树生³ 黄正京⁴ 李燕婷⁴ 陈化新⁵

福建北部山区是我国肾综合征出血热(HFRS)疫区的东南边缘地带,也是国内黑线姬鼠分布区的东南边缘地带^[1,2]。该省自1972年发现本病以来,历年病例均发生于黑线姬鼠分布区范围之内,认为该鼠为本病主要的宿主动物,而周宁县城关是病例发生较多的一个山区城镇,患者多无野外接触史,临床症状较轻。为查明是否尚有其它宿主动物以及本病疫源地类型等问题,我们开展了血清流行病学调查,选周宁县城关镇及其附近农村疫区为调查点,以疫区之南无黑线姬鼠的咸村非疫区为对照点,用间接荧光抗体技术(IFAT)对家、野鼠类657只和本病恢复期病人及健康人群血清进行了检测。结果从城镇室内褐家鼠、野外黑线姬鼠宁波亚种肺中查出病毒抗原,从恢复期病人检出该病抗体。并调查与描述了本病自然疫源地的地理景观以及对城镇和农村病例作了比较研究。

材料和方法

一、家、野鼠和人群IFAT检测:

1.鼠肺来源:1982年在本病流行初期(11月上旬)及流行高峰期(12月下旬)于周宁县疫区(城关镇及附近农村)与非疫区(咸村)用鼠笼捕鼠,解剖取肺脏,编号放入小塑料袋内,置-196℃液氮灌冷存。

2.血清来源:本病病人双份血清由黑龙江省、吉林省延边地区、河南省新野县,单份恢复期血清由福建省周宁县及其它省,正常人血清和乙脑病人血清由沈阳市等卫生防疫站提供。抗呼肠孤病毒免疫血清和类环状病毒免疫

血清由中国预防医学中心流行病学微生物学研究所制备。马抗人IgG荧光血清由上海生物制品研研所生产。

3.鼠肺抗原制备法和IFAT及排除试验:见文献^[3]。

二、城镇与农村病例的调查:按照1981年全国《流行性出血热诊断与分型》进行个案调查与核实,按城镇病例与农村病例分别统计流行病学与临床资料加以比较,并抽取部分恢复期患者血清作IFAT检测。

结果

一、自然疫源地地理景观的调查:周宁县位于福建东北部鹫峰山脉分布的山区,地势从西北向东南倾斜,山峦重叠,最高海拔1500米,地势复杂,高山深谷小盆地相间。年降雨量2055毫升,为全省气温最低、雨量最多的山区气候。植被除水稻、白薯外,以灌木草丛为主。土壤为山区黄壤。黑线姬鼠密度由北向南递减以至消失。根据地理景观和黑线姬鼠分布可将城关镇和咸村作为该县不同的代表区,城关海拔895米,咸村为95米,年平均气温城关14.4℃,咸村22.4℃。城关自然疫源地属于山区小盆地型。

二、家野鼠密度、种类、构成比的调查:在周宁县疫区、非疫区共计捕获家、野鼠类657

1 福建省流行病研究所
2 福建省宁德地区卫生防疫站
3 福建省周宁县卫生防疫站
4 上海市卫生防疫站
5 中国预防医学中心流研所

只。鼠密度城镇室内为31%，城镇野外为24.36%，咸村室内为7.05%。城镇室内以褐家鼠为优势

种(84.80%)，城镇野外黑线姬鼠占37.25%，褐家鼠占5.32%，黄胸鼠占7.1%，说明家鼠有内外交窜现象(附表)。

附表 家野鼠密度、种类、构成比的调查

地区	捕鼠数 (只)	鼠密度 (%)	褐家鼠		黑线姬鼠		黄毛鼠		黄胸鼠		其它	
			数	%	数	%	数	%	数	%	数	%
疫区 城镇野外	451	24.36	24	5.32	168	37.25	220	48.78	32	7.1	7	1.55
区 城镇室内	125	31.00	106	84.80					16	12.80	3	2.4
非疫区 咸村室内	81	7.05	24	29.62			4	4.94	37	45.68	16	19.75

三、鼠肺抗原检测:

1. 检出率及其与人间流行期的关系: 用IFAT检测上述全部鼠的肺脏冷冻切片, 结果发现城镇室内褐家鼠106只中有5只阳性(4.72%), 城镇野外黑线姬鼠168只中有10只阳性(5.95%), $u=1.32$, $P<0.05$, 无显著性差异。无黑线姬鼠的咸村非疫区室内检查81只鼠类, 均为阴性。在人间流行初期(11月上旬)检查73只黑线姬鼠, 阳性6只, 阳性率为8.22%; 在流行高峰期(12月下旬)检查95只, 阳性4只, 阳性率为4.2%。

2. 两种鼠肺抗原的特异性试验: 以黑龙江省、吉林省延边地区、河南省新野县疫区该病人双份血清, 检测周宁县黑线姬鼠和褐家鼠肺抗原, 抗体滴度有明显动态变化, 升高4~256倍以上。从山东、浙江、辽宁、四川及福建省疫区病人恢复期血清检测这两种鼠肺抗原, 抗体滴度多为1:1280~1:5120。以正常人和乙脑病人血清作对照均为阴性。用呼肠孤病毒I型免疫血清和类环状病毒免疫血清作IF排除试验, 结果这两种鼠肺均未被阻断。

四、恢复期病人及健康人群血清检查: 用周宁县本病阳性的褐家鼠、黑线姬鼠肺抗原片与该县城关及其附近农村疫区恢复期病人血清21份, 疫区健康人群血清118份, 非疫区(咸村)健康人群54份作IFAT检查, 结果恢复期病人血清阳性19份, 阳性率90.48%, 疫区、非疫区健康人群血清均为阴性。19份阳性血清

中, 发病时间距今已8年的有2人, 9年的1人, 说明抗体保持较久。

五、周宁县城镇与农村病例的比较:

1. 流行情况比较: 共随机调查81个病例, 其中城镇30例, 农村51例。其发病率城镇为30/10万(男22/10万、女8/10万), 农村为6.75/10万(男5.7/10万、女1.05/10万), 城镇高于农村4.4倍。人群中男与女之比为1:1, 但本病男女之比城镇为2.75:1, 农村为5.42:1, 农村男性病例高于城镇1.97倍。城镇患者年龄多在20~59岁, 农村多在10~49岁。城镇病例多发生于无野外作业的人员中(76.67%), 而农村病例主要发生于有野外作业的农民中。

2. 临床型别比较: 周宁县城镇30例病人, 轻和中型较多(73.34%), 农村51例, 重和危重型较多(62.74%), $P<0.05$ 。城乡81例中, 病前无野外接触史者31例, 轻、中型较多(77.42%), 有野外接触史者50例, 重、危重型较多(66%), $P<0.01$ 。城镇病例30例中, 病前无野外接触史者23例, 轻、中型较多(86.95%), 有野外接触史者7例, 重、危重型较多(71.42%), $P<0.05$ 。城镇病例多数症状较轻, 发热不高, 以皮下粘膜充血、点状出血及胃肠症状为主, 肾损害轻、病程短。

讨 论

一、关于宿主动物(传染源): 周宁县城关

镇室内优势种褐家鼠带该病病毒抗原的阳性率为4.72%，野外黑线姬鼠带该病病毒抗原的阳性率为5.95%，其它鼠均为阴性。褐家鼠占室内鼠的85.48%，与人群共居，关系密切，而且城镇及无野外接触史的病例症状较轻，说明该城镇病例以褐家鼠为主要传染源，即多属于褐家鼠型出血热。这与河南、山西及日本等发生的症状较轻的流行性出血热类似^[7,9]。表明以褐家鼠为传染源的临床症状较轻。这可能由于病毒通过褐家鼠反复传代后引起毒力降低所致。而该地农村或野外感染的病例，症状较重，且与带该病毒的黑线姬鼠密切接触，说明该地农村或野外感染的病例以黑线姬鼠为主要传染源，即主要为黑线姬鼠型出血热。无黑线姬鼠的咸村对照区室内褐家鼠未查到阳性，而野外有黑线姬鼠的城关镇室内褐家鼠查到阳性，而且褐家鼠常有内外交窜。表明该城镇的褐家鼠可能是从黑线姬鼠获得感染后而长期适应下来的继发性宿主动物。

二、关于自然疫源地类型：福建于东经117°以东的北纬26°50′线，为国内黑线姬鼠从北向南递减分布的终止线。该线以北，如周宁（北纬27°10′）宿主动物野外为黑线姬鼠（阳性率5.95%），室内为褐家鼠（阳性率4.72%），属于家野鼠混合型疫源地，病例在野外感染者多为重症，在室内感染者多为轻症。该线附近，黑线姬鼠密度甚低，宿主动物主要为褐家鼠，属于家鼠型疫源地。该线以南，无黑线姬鼠分布，尚未发现病例。从该线南北调查并用地理流行病学分析，更可证明黑线姬鼠为原发的宿主动物，它可传播给褐家鼠。使农村型出血热向城市传播或扩散到其它非疫区，这会造成对人群的巨大威胁，应引起足够的重视。

三、鼠间流行与人间流行的关系：该病在周宁县人间流行初期（11月上旬），黑线姬鼠带病毒率为8.22%，而流行高峰期（12月下旬）其带毒率降至4.21%。这与Lee等^[4]报告南朝鲜黑线姬鼠带毒率在人间流行高峰期（11月）为11.66%，流行前期（9月）为36.62%有类似之

处。表明鼠间流行高峰之后便出现人间流行的高峰。

四、人群的抗体水平：检查周宁县本病病人恢复期血清21例，阳性19例（90.48%），疫区、非疫区健康人群血清均为阴性。阳性中病后8年的2人、9年的1人。WHO会议报告本病抗体维持最长达36年^[5]。说明病人血清抗体保持较久。而该地区健康人群未发现隐性感染，与李钟铎等报告^[6,8]相符，表明其抗体水平较低，对本病普遍易感，必须注意个人防护。

摘 要

用IFAT检查周宁县657只鼠肺，城镇室内褐家鼠的HFRS病毒抗原的阳性率为4.72%，野外黑线姬鼠宁波亚种为5.95%。褐家鼠有外窜。城镇病例主要传染源为褐家鼠，多属于褐家鼠型出血热，农村或野外感染的病例主要传染源为黑线姬鼠，主要属于黑线姬鼠型出血热。褐家鼠型出血热症状比黑线姬鼠型出血热的症状轻。黑线姬鼠流行高峰之后出现人间流行高峰。福建北部山区是我国黑线姬鼠型出血热自然疫源地带的东南边缘部分，自然疫源地多属于山区小盆地型。周宁县除野外有黑线姬鼠型自然疫源地外，室内尚有褐家鼠型疫源地。恢复期病人血清检查21份，阳性率为90.48%，抗体维持较久，经9年仍有查出者，健康人群检查172份未发现隐性感染。

ABSTRACT

By means of IFAT, a total of 657 rodents were examined for carrying HFRS-antigen in Zhoulin town. The positive rate of HFRS-antigen in *R. norvegicus* was 4.72% and in *A. agrarius ninpoensis* 5.95%. *R. norvegicus* also appeared in the field. The main reservoir host in town was *R. norvegicus* and in rural area *A. agrarius ninpoensis*. The patients in town mostly belong to HFRS of *R. norvegicus* type and those in rural area of *A. agrarius* type. The former was milder than the latter in symptoms. Prevalent peak of HFRS in *A. agrarius* was followed by that in human. The northern mountains in Fujian Province were the south-east marginal area of HFRS natural foci of *A. agrarius* type in China. The natural foci mostly belonged to the small basin type of mountains. Zhoulin county had the foci of *R. norvegicus* type in houses besides the natural foci of *A. agrarius* in wild. Twenty-

one cases of convalescence sera of the patients with HFRS were examined in Zhoulin. The results indicated a positivity rate of 90.48%. The antibodies kept on for a long time and in one case it was maintained to 9 Years. 172 healthy human sera from both the endemic and non-endemic areas were examined, no Latent infection was found.

参 考 文 献

1. 陈化新: 流行性出血热流行病学几个问题基本情况, 内部

资料, 1981

2. 李贤凤等: 中华预防医学杂志, 15(2): 100, 1981
3. 陈化新: 中华流行病学杂志, 3(4): 193, 1982
4. Lee H W et al: J Infect Dis, 137(3): 298, 1978
5. 高守一: 中华流行病学杂志, 2(4): 284, 1981
6. 李钟铎等: 中华预防医学杂志, 14(3): 137, 1980
7. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 3(4): 197, 1982
8. Brammer—Korvenkontio M et al: J Infect Dis, 14: 313, 1980
9. Chumakov M P et al: Lancet, 2: 690, 1980

应用ELISA法检测钩体病患者血清中IgG、IgM抗体

侯林浦¹ 郭长生³ 李雪英² 王枢群³

用ELISA检测钩端螺旋体病(简称钩体病)患者血清抗体与常规显凝、血凝比较,有方法简便、敏感特异的优点。我们曾用改进的快速法缩短了ELISA中包被和孵育时间。为了进一步提高方法的敏感性,我们旨在除去血清中IgG的竞争包被抗原的作用,而比较了用SpA吸收IgG或用抗体沉淀IgG以及用PEG分段等方法,结果看出在用ELISA检测钩体病患者血清抗体时将常规应用的标记过氧化物酶的抗人IgM一种结合物改用酶标记的抗人IgM和抗人IgG两种结合物。可以提高检测钩体病患者血清抗体的敏感性,现将结果报告如下:

一、材料:

1. 抗原: 黄疸出血群沃尔登型钩端螺旋体 70091 株超声波裂解抗原。包被抗原浓度按蛋白量计算为 60 μ g/ml。

2. 待检血清: 8份钩体病人混合血清和8份钩体病人血清,系湖南省卫生防疫站黄端雯医生所赠。均从1:100稀释度开始对倍稀释,进行检测。

3. 阴性血清: 72份健康献血员混合血清。

4. 结合物: 用Wilson氏改进的过碘酸盐法制备的马抗人IgM和马抗人IgG辣根菜过氧化物酶结合物。工作滴度为1:1600。

5. 固相载体、包被液和洗涤液: 均按文献(中华医学检验杂志, 4(1): 30, 1981)。

6. 稀释液: pH7.4的PBS内含0.05% Tween20和4%分子量为6000的聚乙二醇。

7. 底物系统: H₂O₂-OT (21.2mg正联甲苯胺溶于1ml二甲基甲酰胺中,加0.2M pH3.7的醋酸盐缓冲液至100ml。最后加入H₂O₂液50 μ l。

二、方法:

1. ELISA快速法: 用0.05M pH9.6碳酸盐缓冲液稀释抗原,每孔用0.2ml包被,于37°C经5~10分钟后甩去抗原,用洗涤液洗3次,每次30秒,加入待测血清,放37°C孵育5~10分钟后甩去并洗3次,然后加入结合物于37°C孵育5~10分钟,甩去液体并洗3次,加入底物于室温孵育5分钟后于波长650nm测OD值,以72份健康献血员混合血清作阴性对照(1:100, 1:200, 1:400三个稀释度)。待测血清标本OD值超过阴性标本OD值2.1倍者判为阳性。

2. 聚乙二醇分段法: 待检血清作1:10稀释后加等体积的14%PEG(分子量为6000),混匀后于4°C过夜,经8000rpm离心15分钟后去上清用7%的PEG溶液悬浮沉淀后再离心去上清,最后将沉淀溶于与血清原量相同的稀释液中,稀释成1:100后作对倍稀释进行ELISA快速法检测。

3. 免疫沉淀IgG法: 将马抗人IgG血清作1:400稀释后与待检血清等量混合于37°C孵育30分钟后,离心取上清,按要求稀释进行ELISA快速法检测。

4. SpA吸收IgG法: 将130 μ l 10%的SpA菌悬液10,000rpm离心10分钟后去上清,加入400 μ l 1:100稀释的待检血清,搅匀后于37°C作用半小时,再离心,取上清,作对倍稀释后进行ELISA快速法检测。

5. 双结合物法: 此法是将ELISA快速法中只用马抗人IgM结合物改为使用马抗人IgM及马抗人IgG两种结合物,其加入方法可以是分别加入(即先加入

(转332页)

1 中日友好医院(北京)

2 山西省雁北地区卫生防疫站

3 中国预防医学中心流行病学微生物学研究所