

血凝抑制试验用于肾综合征出血热病人血清分型的研究

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所

严玉辰 贾克丽 刘国敏 刘俊 陈化新 王媛

由于近来在河南省一些城市和广州市发生肾综合征出血热(HFRS)的流行,特别是太原市发生爆发流行,对褐家鼠作为HFRS传染源作了深入研究,发现我国广大黑线姬鼠流行区内的褐家鼠携带HFRS病毒,而且带毒率往往高于黑线姬鼠。因此,除了褐家鼠型HFRS流行区外,黑线姬鼠流行区内也存在褐家鼠型HFRS,即混合型。这给防制措施和临床实践均带来一定困难。因此寻找一种可行的HFRS病毒和病人血清的分型方法实属必须。

本研究证实,血凝抑制试验方法不仅可用于HFRS病毒的分型,也可用于HFRS病人血清学分型,这将为执行以灭鼠为主的预防措施提供科学依据。

材料和方法

1.血凝抗原:从黑线姬鼠病毒株提出的血凝素(A-血凝抗原),从褐家鼠病毒株提出的血凝素(R-血凝抗原),两株病毒的鼠脑内毒力均在 $LgLD_{50}=8.5$ 。血凝素效价为640~2560。

2.血凝素提取方法及抑制试验方法:见文献(安徽医学院学报,20卷2期4页,1985)。

3.病人血清:褐家鼠型病人血清来源于太原、锦西地区,黑线姬鼠型病人血清来源于西安、河南和贵州,上述血清共260份。双盲考核病人血清来自山东、江西、黑龙江、内蒙共170份。上述血清均为早期和住院病人。

结 果

黑线姬鼠疫区和褐家鼠疫区HFRS病人血

清各10份,分别用A-血凝素和R-血凝素进行HI抗体测定和比较,结果表明,来自黑线姬鼠疫区病人血清同A-血凝素反应HI抗体滴度比同R-血凝素反应的HI抗体滴度高4~8倍($P < 0.01$)。而来自褐家鼠疫区的病人血清同R-血凝素反应的HI抗体滴度比同A-血凝素反应的HI抗体滴度高2倍或者相等($P > 0.05$),没有显著性差异(表1)。

表1 不同传染源的HFRS病人血清HI抗体滴度(1:)

地区	血清编码	血凝抗原		
		A-血凝素	R-血凝素	
贵州	3	320	10	
	5	160	10	
	6	80	10	
	8	160	10	
	11	160	10	
	12	80	20	
	16	160	10	
	17	320	20	
	21	80	10	
	22	40	10	
	锦州*	5	10	20
		6	10	20
8		10	20	
15		20	20	
17		10	40	
18		20	40	
23		20	80	
26		20	40	
28		20	40	
42		10	20	

* 3病日以内病人血清。

以上结果说明褐家鼠感染的病人血清中抗A-和R-血凝抗原抗体相同或相近。

山西太原为褐家鼠疫区，用两种血凝抗原测定42例住院病人血清HI抗体，只有一例病人为野鼠感染，A-血凝抗原比R-测出HI抗体高8倍。其余41例中，A=R 18例，A<R 2倍为14例，二者为78.05%，A<R 4倍为8例，A<R 8倍1例，二者为21.95%(表2)，表明褐家鼠病毒分型比较复杂，可能存在二个血清

型，即78.05%病人为一个血清型，21.95%为一个型。

73例西安市郊住院病人血清HI抗体测定表明，该地区HFERS的主要传染源为黑线姬鼠。73例中黑线姬鼠病人占98.6%，褐家鼠感染的病人仅有1.4%。在72例黑线姬鼠感染病人血清HI抗体滴度分别为：A>R 2倍者为13.89%，A>R 4~32倍者占86.11%(表3)。

表 2 山西太原住院病人血清分型

病人血清不同稀释倍数(1:)的阳性数											总计
A-血凝抗原					R-血凝抗原						
20	40	80	160	320	20	40	80	160	320	640	
10	-	-	-	-	4	4	1	1	-	-	10
-	13	-	-	-	-	5	5	3	-	-	13
-	-	12	-	-	-	-	5	4	3	-	12
-	-	-	7	-	①*	-	-	4	1	1	7
10	13	12	7		5	9	11	12	4	1	42

* 为野鼠感染的病人，-为阴性，下同。

表 3 西安市住院病人血清分型

血清份数	病人血清不同稀释倍数(1:)的阳性数											总计
	R-血凝抗原					A-血凝抗原						
	<10	10	20	40	80	20	40	80	160	320	640	
26	26	-	-	-	-	10	9	5	2	-	-	26
12	-	12	-	-	-	-	2	7	3	-	-	12
22	-	-	22	-	-	-	-	8	8	5	1	22
12	-	-	-	12	-	①*	-	-	4	5	2	12
1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1
73	26	12	22	12	1	11	11	20	17	10	4	73

* 为家鼠感染的病人

1985年在河南商邱地区发生爆发流行，共发生2400余例HFERS病人，采用灭褐家鼠方法以预防流行。但是我们用HI试验检测125例住院病人血清证明，其中仅13例病人为褐家鼠感染，占被检血清总数10.4%，而黑线姬鼠感染的病例占89.6%，A>R 2倍者为34.82%，A>R 4倍以上有73例，为65.18%(表4)。

为了检验方法的准确性，将来自黑线姬鼠

疫区的山东、四川、江西、黑龙江以及褐家鼠疫区的山西、锦州地区的170份病人血清混合编码，进行双盲考核，由试验者判断患者是野鼠型或家鼠型HFERS，结果表明，野鼠型HFERS病例的双盲符合率为96.24%，褐家鼠型病人符合率为83.78%。应该指出，上述血清均在冰箱内保存多年，并反复使用。

表 4

河南商邱地区住院病人血清分型

病人血清不同稀释倍数(1:)的阳性数												总 计
A-血凝抗原						R-血凝抗原						
10	20	40	80	160	320	10	20	40	80	160	320	
1	-	-	-	-	-	①*	-	-	-	-	-	1
-	21	-	-	-	-	13	⑦	①	-	-	-	21
-	-	34	-	-	-	17	13	②	②	-	-	34
-	-	-	42	-	-	7	29	6	-	-	-	42
-	-	-	-	18	-	1	9	7	1	-	-	18
-	-	-	-	-	9	2	4	2	1	-	-	9
1	21	32	42	18	9	41	62	18	4			125

* 表内数字外圆括号表示为褐家鼠病例。

讨 论

本研究的目的是利用血清学方法来区分HFRS病人,以达到正确指导灭鼠的预防目的。

应用HI试验对来自单一疫区的共 20 份病人血清的检测结果表明,黑线姬鼠HFRS 疫区(贵州)的患者血清中抗黑线姬鼠毒株的HI 抗体滴度很高,而对褐家鼠毒株的HI 抗体滴度则很低,二者差别具有高度显著性。家鼠型疫区的患者血清对家鼠病毒株显示较高的HI 抗体效价(虽然用的是早期病人血清),对黑线姬鼠病毒株比前者低 2 倍,二者无明显差异(表 1)。说明黑线姬鼠感染的病人血清中缺少抗褐家鼠病毒的HI 抗体。因此可以认为,HI 方法可用于HFRS 患者血清分型。

关于判定标准,在严格掌握HI 试验使用血凝抗原单位的条件下,在A-和R-血凝抗原测被检血清HI 抗体相等,或R>A, 均可判定为褐家鼠病人。而A>R 4 倍,或少数 2 倍者,可定为黑线姬鼠感染病人这种判定标准已为不同来源毒株的免疫血清 HI 试验所证实。

纵观全部试验结果,我国出血热病毒至少有两种血清型。野鼠(黑线姬鼠、大林姬鼠、仓鼠等)为一种血清型,褐家鼠为一血清型,这可能是由于HFRS 病毒在自然界发生宿主交替时,血凝抗原决定簇发生变异所致。褐家鼠HFRS 病毒较为复杂,病人血清分型也较为复

杂,可能存在中间型,这可能是由血凝抗原决定簇发生改变的程度所决定,有待于按临床表现轻重程度,分别分离褐家鼠感染的病人病毒,来比较研究毒株间的差别来解决之。

准确的对病人进行血清学分型,对预防本病具有重要实际意义和经济效益。HI 试验已用于HFRSV 疫苗免疫人群抗体的检测。

摘 要

在HFRS 病毒血清分型的研究中,我们用血凝抑制试验方法成功地将HFRS 病毒分为两个血清型,家鼠型和野鼠型。用此法能准确区分HFRS 病人的血清型。共检测 260 例住院病人血清血凝抑制抗体,其中 52 例为褐家鼠疫区病人血清,可分率达 98.39%。203 例黑线姬鼠感染的病人血清,可分率达 100%。170 份血清编码双盲考核,野鼠型HFRS 病人符合率达 96.24%。家鼠型达 83.78%。

ABSTRACT

The trials of differentiating serotypes of HFRS patients to detect the source of viral infection by neutralization test had been shown to be fail in China. However, this aim can be achieved by hemagglutination inhibition assay (HIA) as shown in this paper. It was found that different titer could be detect among those patients suffering from HFRS of *R. norvegicus* (R-H) origin or *A. agrarius* (A-H) origin. The latter (A-H) gave 4-8 times higher titer than the former (R-H). On the other hand, the HIA can detect little difference using immune sera. It is obvious that in China the HFRS infection among patients can be classified into two serotypes by HIA.