

狗作为肾综合征出血热宿主动物的研究

南京军区军事医学研究所

张云 张炳根 赵学忠 沈建中 邓小昭 奚蕊 吴光华

提要 1985~1986年,我们从安徽、江苏两个HFRS疫区共收集狗肺86份,用IFAT检出HFRS抗原阳性7份,阳性率为8.1%,并从HFRS抗原阳性的狗肺组织中分离出两株HFRS病毒。调查中还发现养狗户的HFRS发病率非常显著高于未养狗户,与狗经常接触的健康人群HFRS的隐性感染也显著高于未与狗接触者。通过本次调查证明狗可作为HFRS的宿主动物,提示在HFRS疫区,狗的HFRS流行病学意义必须引起高度重视。

关键词 肾综合征出血热 狗 宿主动物

随着肾综合征出血热(HFRS)流行病学研究不断深入,其宿主动物亦不断被检出。国内学者已先后从啮齿目、食虫目、食肉目和兔形目等三十多种动物中发现携带HFRS抗原(病毒)[1~4]。在食肉目中仅从猫[3]和黄鼬[4]中分离到HFRS病毒。我们于1985年12月和1986年12月,在野鼠型HFRS疫区安徽省霍邱县和江苏省东海县,对狗与HFRS的关系进行了调查,结果从狗肺中检出HFRS抗原并分离出两株HFRSV,现将结果报告如下。

材料与方 法

一、标本来源:1985年12月和1986年12月,在安徽省霍邱县和江苏省东海县(均为HFRS地方性疫区)收购市售新鲜狗肺,编号置液氮罐中保存,带回实验室冰冻切片,用间接免疫荧光法(IFAT)检测HFRS抗原,方法见文献[5]。

二、HFRS病毒分离:将HFRS抗原阳性的狗肺组织剪成黄豆大小,用199液洗涤三次,以10%小牛血清199培养液研磨成10%悬液-30℃冻融三次,3000rpm离心30分钟,取上清液经 $\phi 0.45\mu$ 微孔滤膜(上海医学工业研究所产)过滤,取滤液1ml分别接种已形成单层的Vero-E₆细胞和A-549细胞。按常规方法分离HFRSV[6]。

三、HFRS病毒鉴定:

1.血清学及免疫荧光阻断试验的材料包括不同疫区的HFRS患者血清(荧光效价均 $> 1:1280$),HFRS患者双份血清(急性期荧光效价均 $> 1:40\sim 80$,恢复期荧光效价均 $> 1:640\sim 1280$),HFRS单克隆荧光抗体(25-1)(中国预防医学科学院病毒学研究所制),兔抗呼肠孤I型、II型免疫血清(由中国人民解放军302医院惠赠),正常人血清及兔抗陈株免疫血清(效价 $1:320$)(安徽省医科所倪大石主任惠赠),羊抗人、羊抗兔IgG荧光抗体(购自上海生物制品研究所)。

2.中和试验及病毒感染滴度测定方法见文献[6]。

3.用KHF76/118株(安徽省医科所倪大石主任惠赠)感染细胞制片作对照染色比较。

四、狗与EHF感染关系调查:

1.发病数:根据1981年全国HFRS防治工作会议上制定的诊断标准并经血清学证实。

2.养狗与HFRS发病关系:在江苏省东海县李埝乡调查35个自然村的居民,了解1983年12月~1986年12月养狗与HFRS发病的关系。

3.有和无与狗接触史的两组健康人群的HFRS隐性感染调查。

结 果

一、狗肺HFRS抗原检测:两个地区共收

集狗肺86份,用IFAT检测阳性7份,阳性率为8.1%,荧光强度均在“++”以上。经双盲法反复检查三次结果一致。

二、狗肺HFRSV分离:取HFRS抗原阳性的狗肺3份(编号为D₁、D₂、D₄)分别研磨,将滤液分别接种已成单层的Vero-E₆和A-549细胞,结果从接种的两种细胞中分离出两株HFRSV。D₁株传至第二代时两种细胞均有20%被感染,随着传代次数的增加,感染细胞亦增多,至第四代时有90%的细胞感染,在感染细胞浆中呈现点状的荧光图象。D₄株第二代时在A-549细胞中仅有5~10%细胞感染,在Vero-E₆细胞中未见细胞感染,第三代时两种细胞同时出现感染细胞。在被感染的细胞浆中亦呈现点状荧光图象。D₂经盲传三代IFAT检测仍为阴性。

三、狗肺感染的第四代细胞病毒鉴定:

1.血清学及免疫荧光阻断试验:①用来自不同疫区的患者双份血清8份,HFRS患者恢复期血清15份,HFRS单克隆荧光抗体染色,结果均为阳性。②用兔抗呼肠孤病毒I、II型免疫血清和正常人血清50份染色,结果均为阴性。③用不同种血清作荧光阻断试验,HFRS免疫血清用1:10时荧光可达完全阻断,其它非HFRS血清无此作用。

2 HFRSV感染滴度试验:取感染第四代细胞(Vero-E₆)的冻融液用199液稀释成10⁻¹~10⁻⁵,各接种上述两种细胞,2周后作点片用IFAT检测10⁻⁴以前各浓度均为阳性。

3.中和试验:取感染第4代细胞(Vero-E₆)的冻融上清液与HFRS病人第20病日血清(荧光效价1:1280)各1ml等量混合接种上述两种细胞培养,2周后作点片经IFAT检测结果为阴性,而对照组(用199液)为阳性。

4.KHF76/118株对照染色比较:D₁、D₄株和76/118株的感染细胞制片与不同来源血清作对照染色比较结果完全一致(附表)。

四、流行病学调查:

1.养狗与HFRS发病关系:对东海县李埝

附表 不同来源血清对三株HFRSV的间接免疫荧光染色检测结果

血 清	KHF76/118	D ₁	D ₄
HFRS病人恢复期血清10份	+	+	+
HFRS免疫血清(陈株)	+	+	+
HFRS单克隆荧光抗体(25-1)	+	+	+
正常人血清10份	-	-	-
抗呼肠 I、II型血清	-	-	-

乡35个自然村1983年12月~1986年12月HFRS的发病情况进行调查。全乡共计1136户,5028人,其中养狗的有224户,986人(2958人·年),发病19人,发病率为642.33/10万;而未养狗的912户,4042人(12126人·年);发病21人,发病率为173.18/10万。两者相差非常显著(z=4.44,P<0.001),暴露于养狗组HFRS发病的相对危险性(RR)值为3.71。

2.有和无狗接触史的两组健康人群隐性感染的调查:对东海县李埝乡1983年12月以来经常与狗接触(喂狗、玩狗、猎人等)和无接触史的两组人群进行血清中HFRS特异性抗体检查,以血清滴度≥1:20者为阳性。结果有与狗经常接触史的人群隐性感染率为13.18%(12/91),无与狗接触史的人群隐性感染率为4.86%(9/185),差异显著(χ²=6.01 P=0.0143)。

讨 论

1983年Desmyter等[7]用IFAT从6只狗中查出5只狗有汉坦病毒抗体可疑阳性,但滴度较低。本研究首次从狗肺中检出HFRS抗原,而且从HFRS抗原阳性的狗肺组织中分离出两株HFRSV,国内外尚未见报道。本研究结果表明狗可能作为HFRS的宿主动物。

狗作为HFRS的宿主动物,其数量多,分布广,活动范围大,与人接触密切,尤其我国农村部分家庭有养狗看门习惯。本次调查中还发现养狗户的HFRS发病率非常显著高于未养狗户(z=4.44,P<0.001),其HFRS发病的RR值为3.71,与狗经常接触的健康人群HFRS隐性感染率也显著高于未接触者,进一步提示养狗与HFRS的感染有一定关系。通过本次调查

研究提示在HFRS疫区,狗在HFRS流行病学中的意义必须引起高度重视。

Study of Dog as the Animal Reservoir of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome

Zhang Yun et al., Nanjing Military Medical Institute, Nanjing

From 1985-1986, 86 pieces of dog's lung tissue collected from endemic areas of HFRS in Anhui and Jiangsu Provinces were tested for HFRS antigen by IFAT, 7 were found to be positive, the positivity rate was 8.1%. Two strains of virus of HFRS were isolated from HFRS antigen-positive lung tissue. It was found in epidemiological survey that HFRS incidence rate in families raising dogs was significantly higher than that of control families without dogs and in apparent HFRS infection rate in healthy people who had frequent contact with dogs was significantly higher than that in people who had no contact with dogs. Evidence from these investigations shows that dog may serve as an reservoir of HFRS virus and much attention must be paid to dogs in the control of HFRS.

Key words Hemorrhagic fever with renal syndrome Dog Reservoir

参 考 文 献

1. 宋干,等.从轻型出血热疫区的褐家鼠分离到与流行性出血热有关的病原因子.微生物学报 1982; 22(4): 373.
2. 汤一苇,等.从食虫目鼯鼠中分离到流行性出血热病毒.中华微生物学和免疫学杂志 1985; 5(2): 76.
3. 罗兆庄,等.从安徽疫区家猫中分离的流行性出血热病毒的鉴定.中华微生物学和免疫学杂志 1985; 5(2): 79.
4. 姜克俭.中国流行性出血热流行病学进展.流行性出血热专题委员会扩大会议资料, 1985年.
5. Lee HW, et al. Isolation of the etiologic agent of Korean Hemorrhagic Fever. J Infect Dis 1978; 137(3): 298.
6. 张云,等.革螨自然感染流行性出血热病毒的调查研究.江苏医药 1985; 11(6): 2.
7. Desmyter J, et al. Laboratory rat associated outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome due to Hantaanlike Virus in Belgium. Lancet 1983; I: 1445.

(本研究承安徽医科大学吴系科教授指导,谨此致谢)

一起间日疟局部爆发流行调查

裴速建¹ 石江² 邓承忠³ 徐大海³

钟祥县长寿区位于东经112.6°,北纬31.4°。全区有二乡一镇计19个村,24004人。1970年曾发生疟疾爆发流行,后经连续几年的抗疟工作,发病率已控制在0.5%左右。1986年又引起局部爆发流行。

本次调查了19个村的47个村民小组,共计1316户,6932人。1984、1985年疟史病人分别为245(3.53%)和555人(8.00%)。1986年1~8月疟疾病人为802人,发病率11.57%,其中连续2年发病的有283人,占35.29%。两乡一镇的发病率分别为丘陵地带的汤泉乡19.47%,接近平原地带的长寿镇6.66%,中间地带的板桥乡10.54%。在19个村中,疟疾发病率超过3%的有16个村,占84.21%,村最高发病率为24.33%。按当地近三年来的疟疾发病按月分布计算,1~8月发病数占全年的53.51%,估算全年发病率为21.62%,比1985年增长1.70倍,比1984年增长5.12倍。1984、

1985年各月发病人数呈明显季节消长,流行季节是6~10月,其发病数分别占全年的93.67%和85.26%,6月份开始病人数明显增多,10月为发病高峰。汤泉乡镜检站1986年4~8月血检发热病人599人,阳性78人,阳性率13.02%。均为间日疟。采汤泉乡居民血357人份,发现间日疟阳性42人,原虫率11.76%。6月份在汤泉乡人房捕按蚊101只,产卵75只,其中雷氏按蚊1只(1.33%);8月份捕按蚊207只,产卵126只,其中雷氏按蚊83只(65.87%)。据调查分析这次局部爆发流行的主要原因是抗疟措施不力,未很好管理传染源。

(本项工作承蒙湖北省药检专科学校黄森琪副研究员、湖北省医学科学院寄研所徐博钊所长指导,谨此致谢)

- 1 湖北省医学科学院寄生虫病防治研究所
- 2 荆州地区卫生防疫站
- 3 钟祥县卫生防疫站