

## · 现场调查 ·

## 巴楚县 2001 年新疆出血热疫情的血清学证实

韩磊 唐青 赵秀芹 西条政幸 陶晓霞

**【摘要】** 目的 以血清流行病学方法调查新疆出血热(XHF)病人、易感人群和主要宿主动物中疾病的感染情况。方法 分别收集 2001 年 4~6 月新疆巴楚县临床诊断为 XHF 的病人血清、易感人群血清和主要宿主动物的血清,用研制的诊断试剂以酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 XHF 特异性 IgG 和 IgM 抗体;用抗原捕获 ELISA 检测 XHF 病毒抗原。结果 病人血清 IgG 抗体阳性率为 39.62%(21/53),IgM 抗体阳性率为 20.75%(11/53),抗原捕获 ELISA 有 1 份血清为 XHF 抗原阳性;易感人群血清 IgG 抗体阳性率为 21.05%(4/19),IgM 抗体检测和抗原捕获 ELISA 全部为阴性;羊血清 IgG 抗体阳性率为 70%(56/80)。结论 血清流行病学研究证实该次疫情确系 XHF,流行地区人畜均有较高水平的隐性感染。

**【关键词】** 新疆出血热;流行病学;血清;克里米亚-刚果出血热

**Serologic studies of Xinjiang hemorrhagic fever in Bachu county, 2001** HAN Lei\*, TANG Qing, ZHAO Xiuqin, Masayuki Saijo, TAO Xiaoxia. \*Institute for Infectious Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the situation of Xinjiang hemorrhagic fever(XHF) in patients who have been diagnosed as XHF by clinical methods and to predict the condition in people who were liable to infection and in the host-animals. **Methods** Sera collected from XHF patients and some peasants under the risk of contracting the disease, followed by checking the specific antibody against XHF with IgG-ELISA and IgM capture ELISA, and XHF viral antigen with antigen capture ELISA. In addition, 80 sheep/goats serums were collected from two places where there were more XHF cases and specific IgG antibody against XHF checked by ELISA method. **Results** Positive rate of IgG and IgM antibodies were 39.62%(21/53) and 20.75%(11/53) respectively in the serums of patients; one patient's serum showed XHFV antigen positive by antigen capture ELISA. IgG antibody positive rate for peasants' sera was 21.05%(4/19), but IgM antibody detection showed negative for all sera. In sera from 80 sheep and goats, 70%(56/80) showed IgG positive. **Conclusion** Results showed that XHF broke out in Bachu county from April to June 2001 while recessive infection of the disease remained serious.

**【Key words】** Xinjiang hemorrhagic fever; Sero-epidemiology; Crimean-Congo hemorrhagic fever

新疆出血热(Xinjiang hemorrhagic fever, XHF)是发生在新疆地区的一种死亡率很高的蜱传病毒性出血热,国际上称为克里米亚-刚果出血热(Crimean-Congo hemorrhagic fever, CCHF)<sup>[1]</sup>。该病主要分布于非洲、中东、东南欧和亚洲的干旱地区,主要见于无树的大平原、半沙漠地带及丘陵地区,多种蜱,尤其是璃眼蜱属是该病的重要传播媒介;人的感染是因为蜱的叮咬、密切接触病人或感染动物所致。本病的发生具有明显的地方性和季节性,在新疆,病人主要出现在3月下旬到6月中旬,

4~5 月份为发病高峰期<sup>[2]</sup>。新疆巴楚县从 1964 年到 2001 年共报告 209 例病人,死亡 40 例,死亡率 19.14%。2001 年是本病流行最严重的一年,仅巴楚县就发现患者 51 例,死亡 3 例。我们通过杆状病毒表达 XHF 病毒 S 基因,再用表达的蛋白作为抗原建立诊断方法,对病人血清标本进行检测,以验证 XHF 疫情<sup>[1,3]</sup>;同时对流行地区进行 XHF 的血清流行病学调查,了解 XHF 病毒(XHFV)在易感人群和主要宿主动物中的隐性感染情况<sup>[4-6]</sup>。

## 材料与方

基金项目 国家自然科学基金资助项目(39870680)

作者单位:102206 北京,中国疾病预防控制中心传染病预防控制所出血热二部(韩磊、唐青、赵秀芹、陶晓霞);日本国立感染症研究中心(西条政幸)

## 一、材料

## 1. 血清标本:

(1)病人血清:为巴楚县医院 2001 年 4~6 月份

临床诊断为 XHF 的 51 例病人, 共计 53 份血清。分别采自巴楚县红海乡 XHF 病人 49 份、毛拉乡 1 份、阿拉根乡 3 份。

(2) 易感人群血清: 采自 2001 年没有发现 XHF 病例的克拉克勤农场的牧羊人共计 19 份。

(3) 主要宿主动物羊的血清: 采自红海乡、克拉克勤农场各 40 份, 共计 80 份。

## 2. 主要诊断试剂:

(1) XHF 病毒核蛋白抗原(XHFV-NP): 用大肠埃希菌内转座子介导的从细菌(bacteria)到杆状病毒(baculovirus)的表达策略(Bac to Bac), 将 XHF 病毒 S 基因插入杆状病毒载体中, 得到对脊椎动物没有感染性的重组杆状病毒, 用重组病毒转染昆虫细胞 Sf9, 回收感染细胞上清, 再用可纯化含有组氨酸尾蛋白的试剂盒 His Bind Kit (Novagen) 纯化细胞上清制得。

(2) 抗 XHFV 核蛋白单克隆抗体: 用上述 XHFV-NP 免疫 BALB/C 鼠, 用 50% PEG(4000) 作为融合剂, 经两次克隆、筛选后得到单抗细胞株, 再用小鼠 IgG 单抗纯化试剂盒 Mab Trap™ Kits (Amersham Pharmacia Biotech) 纯化单抗细胞培养上清制得。

## 二、方法

1. 用 ELISA 方法进行 IgG 抗体检测: 用纯化的 XHFV-NP 包被酶标板, 洗板、封闭后, 血清样品经 56℃ 灭活 30 min 后, 用封闭液做 100、400、1 600、6 400 倍系列稀释后分别加样, 每个样品同时设一个与之对应的阴性抗原对照, 检测时每孔的 A 值减去与它对应的阴性对照孔的 A 值以消除本底; 其他操作按常规步骤进行。

2. IgM 捕获 ELISA: 将抗人  $\mu$  链特异性抗体按说明书稀释后包被酶标板, 4℃ 过夜, 洗板、封闭后依次加不同稀释度经灭活处理的血清样品、纯化抗原、XHF 单抗、酶标二抗及底物, 酶标仪 410 nm 测 A 值。

3. 抗原捕获 ELISA: 用抗-XHFV 核蛋白单克隆抗体包被酶标板、封闭, 血清标本用 1% Triton X-100 处理后分别做 1:8、16、32、64、128 系列稀释、加样, 然后依次加入 1:500 稀释的抗-XHF-NP 抗体、酶标二抗及底物, 用酶标仪 410 nm 测 A 值; 其他操作同前。

## 结 果

1. 病人血清检测结果: 51 例病人的 53 份血清

IgG 抗体阳性率为 39.62%, IgM 阳性率是 20.75%; 抗原捕获 ELISA 有 1 份血清显示阳性(表 1); 其中 1 例病人采疾病发展不同阶段的 3 份血清, 检测结果见表 2。

表1 XHF 病人、易感人群特异性抗体、XHFV 抗原检测结果比较

	病人血清	易感人群血清
IgG 阳性率(%)	39.62(21/53)	21.05(4/19)
IgM 阳性率(%)	20.75(11/53)	0
XHFV 抗原阳性	1/53	0

注: 分子为阳性份数, 分母为检测份数

表2 同一 XHF 病人 3 份血清检测结果比较

	XHF 发病天数		
	4	6	12
IgG	-	+(1:400)	+(1:1 600)
IgM	-	+(1:200)	+(1:400)
XHFV 抗原	+	-	-

2. 易感人群血清检测结果: 19 份血清 IgG 抗体阳性率为 21.05%; IgM 抗体检测和抗原捕获 ELISA 都为阴性。

3. 宿主动物血清检测: 80 份羊血清中有 56 份显示阳性, 从红海乡采的 40 份羊血清和从克拉克勤农场采的 40 份羊血清 IgG 抗体阳性率均为 70%(56/80), 但未检测 XHFV 抗原和特异性 IgM 抗体。

4. XHF 病人临床表现: 51 例临床诊断为 XHF 的病人中, 发热 32 例, 有出血症状 15 例, 有头痛或肌肉、关节、腰、背及咽喉痛的 31 例, 有与 XHF 病人密切接触者 17 例。

## 讨 论

本次调查的 51 例临床诊断为 XHF 的病人中, 特异性 IgG 抗体阳性率为 39.62%, IgM 抗体阳性率达到 20.75%, 且从 1 例病人血清中检测到了 XHFV 抗原; 从表 2 显示的同一病人在疾病发展的不同阶段机体免疫应答的情况可看出: 在不同病程, 该病人血清中 XHFV 抗原从有到无, 而特异性 XHF 抗体(IgG、IgM)则从无到有, 滴度从低到高并有明显增加。这两项实验结果可以证实本次疫情确系新疆出血热。

从表 1 还可发现, 在易感人群中 XHF 特异性 IgG 抗体阳性率达到 21.05%, IgM 抗体检测全部为阴性, 说明在易感人群中存在着 XHF 的隐性感染; 同时羊血清 IgG 抗体阳性率高达 70%, 其中采自红

海乡的 40 份羊血清和采自克拉克勤农场的 40 份羊血清 IgG 抗体阳性率为 70% , 虽然克拉克勤农场 2001 年没发现病人, 但该地区羊群的 IgG 抗体阳性率却高达 70% , 说明在 XHFV 的主要宿主动物中同样存在着 XHF 的隐性感染, 也说明宿主动物羊被带毒蜱叮咬的现象普遍存在。

本次调查从病人血清中检测到了 XHF 抗体, 但其 IgG 和 IgM 抗体滴度并不是特别高, 与临床诊断结果有一些差异。由于血清标本在采集、处理、检测时条件一致, 方法相同, 所以标本之间因实验操作导致的差别不大, 那么造成病人血清中抗体滴度没有象临床诊断所预期的那样高的原因就可能是临床诊断中误把非 XHF 病人诊断为 XHF ; 当然并不排除检测时的个别非特异性反应。这一结果提示临床诊断和实验室诊断结合应用可以提高诊断中的特异性。

发热是 XHF 最典型的临床症状, 有 62.75% 的病人有发热, 29.41% 的病人有出血, 显示了 XHF 与普通的病毒性疾病不同的典型临床表现。有近 1/3 的病人曾经有过同 XHF 病人的密切接触, 说明除蜱的叮咬外, 与病人的密切接触也是 XHF 传播的一个重要途径。

经本次调查, 我们发现特殊的生态环境和特有的生产状况、生活习惯是该地区持续流行 XHF 的重要前提。巴楚县地处南疆, 干旱少雨, 地面植被以灌木为主, 还有当地特有的耐旱植物——胡杨和红柳, 这些自然条件非常适合璃眼蜱的生长繁殖。在疫区内野生动物减少, 蜱的血源动物改为以家畜为主, 农业和牧业是当地的主要产业, 而且农牧民习惯在住

所旁边建畜舍, 外出放牧的人有在野外树下休息的习惯, 这些都提供了蜱叮咬的条件, 从而形成了 XHF 的自然疫源地。近几年巴楚县 XHF 病例数呈现增加的趋势, 死亡率逐年降低, 这可能是由于巴楚县最近几年持续的干旱更加适于 XHFV 的传播媒介(亚东璃眼蜱)的生长繁殖, 同时由于干旱和牧草稀少, 牧民们只能增加放牧时间并在野外休息, 这样无论牧民还是羊群被蜱叮咬的机会均增多, 从而导致该地区 2001 年 XHF 病例数增加。另外, 由于当地防疫部门提高了对该病的重视程度与宣传力度, 农牧民一旦发现有相关症状就会马上到医院, 早期诊断、早期治疗, 因而死亡率得以降低。

#### 参 考 文 献

- 1 唐青, Prehaud C, Bouloy M, 等. 新疆出血热 S 基因片段测序和序列分析. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19:461-465.
- 2 马本江, 唐青. 克里米亚-刚果出血热流行病学. 国外医学流行病学传染病学分册, 1999, 26:149-151.
- 3 Marriott AC, Polyzoni T, Antoniadis A, et al. Detection of human antibodies to CCHFV using expressed viral nucleocapsid protein. Am J Trop Med Hyg, 1994, 50:676-681.
- 4 Tomanovic S, Obradovic M, Gligic A. Serologic diagnosis of CCHF in Kosovo and Metohia. J Med Entomol, 1996, 33:848-851.
- 5 Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, et al. Serodiagnosis of CCHF. H Gen Virol, 1994, 75:2157-2161.
- 6 Burt FJ, Swanepoel R, Braack LE. Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibody to CCHFV in the serum of livestock and wild vertebrates. Am J Trop Med Hyg, 1993, 48:576-580.

(收稿日期 2001-07-18)

(本文编辑 张林东)

## · 出版信息 ·

### 《伤害预防与控制》出版

《伤害预防与控制》是由暨南大学医学院王声 教授和广东省卫生厅黄庆道教授主编的一本关于伤害流行病学方面的专著。该书共分 7 篇, 合计 36.2 万字, 是我国第一部伤害流行病学方面的专著。该书从伤害的预防与控制的目的出发, 以建国 50 年来社会重大伤害的记录资料为背景, 大量现场调查研究结果为依据, 阐述了我国的伤害现状、流行特征、危险因素及其所造成的疾病负担; 系统地介绍伤害的研究内容和研究方法, 伤害监测、控制决策和预防措施; 分别报道交通伤害、青少年伤害、老人跌倒、火灾和烧伤等方面的研究成果, 并提供一些调查问卷, 供大家参考应用。本书是疾病预防与控制工作的实用手册, 医学专业的研究生和本科教育的补充教材和卫生管理部门决策的依据, 也是全科医学教育和社区卫生服务工作的参考。本书为大 16 开本, 共 332 页, 定价 30 元(含邮费)。地址: 广州暨南大学医学院伤害预防与控制中心, 邮编: 510632, 电话: (020) 85220831, E-mail: epijnu@263.net, 联系人: 荆春霞。