

鼠类携带有肾综合征出血热病毒抗原 检测及血清流行病学调查

李泽林¹ 于湘春¹ 金炳默¹ 文相杰¹ 南光日¹ 金炳华²
宋光燮³ 董必君⁴ 张玉琴⁴ 张桂云⁴ 陈化新⁴

吉林省延吉县太阳公社位于延吉市西北部,周围环山,山脚下形成较低洼的平原,中间从北至南有一条河流穿过,主要是水稻产区,共有12,000余人口,自1970年发生肾综合征出血热(HFRS)以来,每年均有病例出现。

至目前止共发病128例,死亡13例。历年发病、死亡人数及发病率见表1。

由表1可见,1973年发病率高达2.65/10万,1973年以后发病率在0.27~0.75/10万之间。近年来又有上升趋势(表1)。

表1

太阳公社历年HFRS发病、死亡数及发病率(/10万)

年 份	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981
发 病 数	1	16	17	35	10	10	7	3	9	6	6	8
死 亡 数	1	1	2	2	2	1	2	0	0	0	0	2
发 病 率	0.07	1.17	1.31	2.65	0.75	0.73	0.53	0.27	0.70	0.49	0.50	0.67

为查明本地区的传染源,于1981年11月中旬捕鼠剖取鼠肺标本,用间接荧光抗体方法(IFAT)检查了516只鼠类标本:其中褐家鼠227只,小家鼠98只,黑线姬鼠149只,巢鼠25只,东方田鼠1只和食虫目的普通鼯鼠1只。结果只在5只黑线姬鼠东北亚种(*Apodemus agrarius mantohuticus*)肺中查出HFRS病毒抗原,阳性率为3.3%。为了摸清本病患者病后抗体持续时间,对本公社历年HFRS病人血清做了抗体水平测定。为探讨当地健康人群是否存在隐性感染,又抽查了本公社部分健康人做HFRS抗体检查。

病人急性期和恢复期血清由各该省、地区、县卫生防疫站提供;3.北京健康人血清,由首都医院提供;4.太阳公社各年龄组男女健康人血清;5.太阳公社历年HFRS病人血清。

三、鼠肺冷冻切片的制备, HFRS抗原阳性鼠肺的筛选和IFAT: 见参考文献[1]。

四、HFRS抗原: 七省HFRS病人双份血清抗体滴度检查,使用太阳公社黑线姬鼠肺抗原(448号);太阳公社HFRS病人历年抗体水平情况测定,使用HFRS A9株第11代A-549细胞抗原[2];太阳公社健康人群血清HFRS抗体检查,使用和龙县大林姬鼠肺抗原[3]。

材料和方法

结 果

一、鼠肺来源: 1981年11月中旬流行性出血热流行期间,在太阳公社的13个大队的田野及场院中用鼠夹等方法捕获,并及时送公社卫生院解剖室剖取鼠肺放入液氮罐中保存。

一、HFRS传染源调查结果: 在516只啮齿类和食虫类肺冷冻切片中,仅在5只黑线姬鼠肺中免疫荧光阳性(占3.3%),在其鼠肺肺泡的上皮细胞质内出现较多的荧光颗粒(附图,

二、血清来源: 1.山东省齐河县典型HFRS病人恢复期血清; 2.黑龙江省、吉林省延边地区、陕西省、河南省开封地区、山东省及临沂地区、江西省、四川省达县等地HFRS

1 吉林省延边朝鲜族自治州卫生防疫站

2 吉林省延吉县卫生防疫站

3 吉林省延吉县太阳公社卫生院

4 中国医学科学院流行病学微生物学研究所

见插图第7页)。

为了进一步证实黑线姬鼠肺抗原的特异性,用国内本病重点疫区的35例HFRS病人双份血清对黑线姬鼠肺抗原做了验证,其结果见表2。

表2 用HFRS病人双份血清检测黑线姬鼠肺抗原特异性

血清编号	黑龙江	吉林	陕西	山东	河南	江西	四川
1	20 (320)	<20 (320)	20 (320)	1280 (5120)	320 (5120)	<20 (5120)	80 (5120)
2	<20 (320)	<20 (20)	<20 (5120)	<20 (320)	320 (320)	<20 (20)	5120 (5120)
3	80 (80)	<20 (20)	1280 (1280)	20 (320)	<20 (320)	1280 (1280)	80 (5120)
4	<20 (1280)	<20 (1280)	<20 (<20)	20 (5120)	1280 (1280)	1280 (1280)	320 (1280)
5	<20 (320)	20 (80)	5120 (5120)	<20 (320)	1280 (1280)	320 (5120)	<20 (320)

注:表内括号外数字为第一份血清滴度,括号内数字为第二份血清滴度。

从表2可见,除陕西1例双份血清阴性(均<20)外,其余34份恢复期血清均为阳性。而且,急性期与恢复期血清HFRS抗体滴度有明显差异,恢复期血清抗体滴度呈4倍或4倍以上增高者为22例,占阳性血清总数的64.7%,其中4倍增高者3例,16倍增高者12例,64倍增高者4例,256倍增高者3例。其余不足4倍增高者3例也有滴度差别;9例没有滴度差别,但荧光颗粒亮度不同,第二份血清比第一份血清荧光亮度强而清晰。

二、太阳公社历年HFRS病人血清抗体水平测定结果:见表3。

表3 HFRS A9株A-549细胞抗原检测历年本病患者抗体结果

发病年份	检测例数	抗体滴度
1970	1	>1:320
1973	3	1:80~1:320
1974	1	1:40
1975	3	<1:20~>1:320
1977	2	1:80
1978	3	1:20~>1:320
1979	4	<1:20~>1:320
1981	3	1:80~>1:320

从表3可见,本病发病11年后患者血清中HFRS抗体仍然存在,而且抗体滴度保持较高水平(>1:320)。病后8年之内的19名患者中间除2例未查出抗体外,其余17例抗体滴度在1:20~>1:320范围之内。

三、太阳公社健康人群HFRS抗体检查结果:健康人男性99名,女性72名,在各年龄组的171人中,自31~40岁年龄组内,有男、女各一名检出阳性,其抗体滴度均为1:320,两人都否认本病病史。

讨 论

吉林省延吉县太阳公社HFRS疫区,在1970年以前没有本病病例记载,但当地医生提供,早在日本侵占中国期间,本地曾有过本病流行。从历年病例登记分布情况看,属于散发型,说明本地HFRS传染源不是在家内,而是在野外。从这次传染源调查结果也证实,以家栖为主的褐家鼠检查227只均阴性,野栖的黑线姬鼠149只中有5只自然携带HFRS病毒抗原,但从其阳性率较低这一点,与发病率较低和高度散发相一致。但值得注意的是本地东方田鼠在野外局部地区也有栖息;褐家鼠在野外的数量也不少。一旦传染源数量增多时,这两种鼠也可能带毒。东方田鼠和褐家鼠携带本病病毒抗原在国内一些疫区已被证实[4]。

从本公社历年HFRS病人血清抗体水平测定结果看,有两例患者未查出HFRS抗体,其余患者血清抗体维持时间较长,抗体水平较高,说明此病免疫时间持久,这一点与二次患病极少相一致。

从本公社不同年龄组健康人群血清检查结果发现171人中有两人血清里查出HFRS抗体,阳性率为1.17%,与国外报道一致[5],看来此病存在隐性感染问题。

摘 要

1981年11月在吉林省延吉县太阳公社的田野里扑获褐家鼠227只,小家鼠98只,黑线姬鼠149只,巢鼠

25只, 东方田鼠1只和普通鼯鼠1只。在这516只兽肺冰冻切片中, 用IFAT发现5只黑线姬鼠(东北亚种)自然携带HFRS病毒抗原。

在太阳公社本病病后11年的患者血清中仍然存在较高滴度($>1:320$)HFRS抗体。

太阳公社健康人群171份血清中查出两人存在HFRS抗体。

ABSTRACT

In Nov. 1981, 227 heads of *Rattus norvegicus*, 98 of *Mus musculus* 149 of *Apodemus agrarius*, 25 of *Microtus minutus* and one of *Microtus fortis* were captured in Taiyang Commune, Yianji County, Jilin Province. Their lung samples were made frozen-thin

sections and tested with IFAT. The results showed that five of *A. agrarius mantohuticus* carried HFRS-antigen. Furthermore, 172 samples of sera from the same commune were tested for HFRS-antibody. Antibody with titre higher than $1:320$ was found in one person who had suffered from HFRS 11 years before. The results of 171 samples of sera from healthy persons were in the great majority i.e. 169/171 negative.

参 考 文 献

1. 陈化新等: 中华流行病学杂志, 3(4): 193, 1982.
2. 严玉辰等: 中国医学科学院学报, 4(2): 67, 1982.
3. 李泽林等: 中华流行病学杂志, 4(4): 205, 1983.
4. 严玉辰等: 中华流行病学杂志, 3(4): 197, 1982.
5. Lee HW et al: J Inf Dis 137(3): 298, 1978.

几种用于ELISA的酶标记抗体制备方法和稀释液比较

侯林浦¹ 李之桂¹ 李爱芳¹ 郭长生¹ 禹惠兰¹ 毛富荣²

酶联免疫吸附试验法(ELISA)由于具有敏感、特异、简便、便宜、易于自动化操作、不需贵重仪器、适于现场及大量标本的检测等特点, 因此在流行病学调查中是一项非常有用的技术。制备良好的结合物和选择适合的稀释液可以降低非特异性反应, 提高ELISA方法的敏感性。为此我们用以下四种方法制备了过氧化物酶兔抗人IgG结合物: ①按1974年Nakane等报告的过碘酸盐法, 简称原法。②按1981年骆加理等报告的方法, 简称快速法。③按1978年Wilson等报告的方法, 简称Wilson法。④我们对Wilson法稍作改进, 即首先将5mg的辣根过氧化物酶溶于pH9.6 0.05M碳酸盐缓冲液1.25ml中, 加入25%戊二醛0.1ml, 37°C放2小时。再加入0.1M过碘酸钠0.25ml室温下30分钟, 用pH4.4, 1mM醋酸盐缓冲液透析过夜后加入0.2M pH9.5碳酸盐缓冲液25μl, 并与1ml抗体合并室温搅拌2~3小时。然后加入4mg/ml的硼氢化钠0.125ml, 于4°C放2小时。再用等体积饱和硫酸铵沉淀纯化。这方法简称“改进法”。

用上述四种方法制备的结合物, 所用酶量、抗体量相同, 并使所得结合物体积相同, 为比较结合物质量, 重复三次试验。将四种方法制备的结合物均作1:25, 600稀释进行检测。阳性标本检测值减去阴性值后用“改进法”制备的结合物OD值为0.44, Wilson

法为0.35, 原法为0.25, 快速法为0.18。测定四种方法制备的结合物的比值(403mμOD/280mμOD)和酶结合率, “改进法”制备的结合物其比值为0.3, 酶结合率为76.9%, Wilson法的比值为0.28, 结合率为71.2%, 原法比值为0.25, 酶结合率为52.3%, 快速法比值为0.13, 酶结合率为27.8%, 通过质量比较可以看出我们的改进法制备的用于ELISA的酶标抗体较好。

我们用间接法检测钩体病人血清中IgM抗体比较了以下四种稀释液: ①常规应用的含0.05% Tween 20的pH7.4的磷酸盐缓冲液(PBST)。②在上述PBST中加入4%的分子量为6,000的聚乙二醇。③在常规用的PBS.T中加入0.5M NaCl。④在常规应用的PBS.T中加入0.01%的NaN₃。

以常规用的PBS.T为标准与其它三种稀释液进行了比较, 结果显示在稀释液中加入聚乙二醇后阳性及阴性标本的OD值均有提高, 因而不能提高阳/阴比值。加入NaN₃后阳性及阴性标本OD值均有下降, 也不能提高阳/阴比值。而加入NaCl后的OD值阳性标本虽有下降, 但阴性标本下降更明显, 因而提高了阳/阴比值, 故可提高敏感性。

- 1 中国医学科学院流行病学微生物学研究所
- 2 云南省德宏州(芒市)卫生防疫站

用Vero E-6细胞从病人血中分离有肾综合征出血热病毒的研究

李钟铎 等

正文见198页

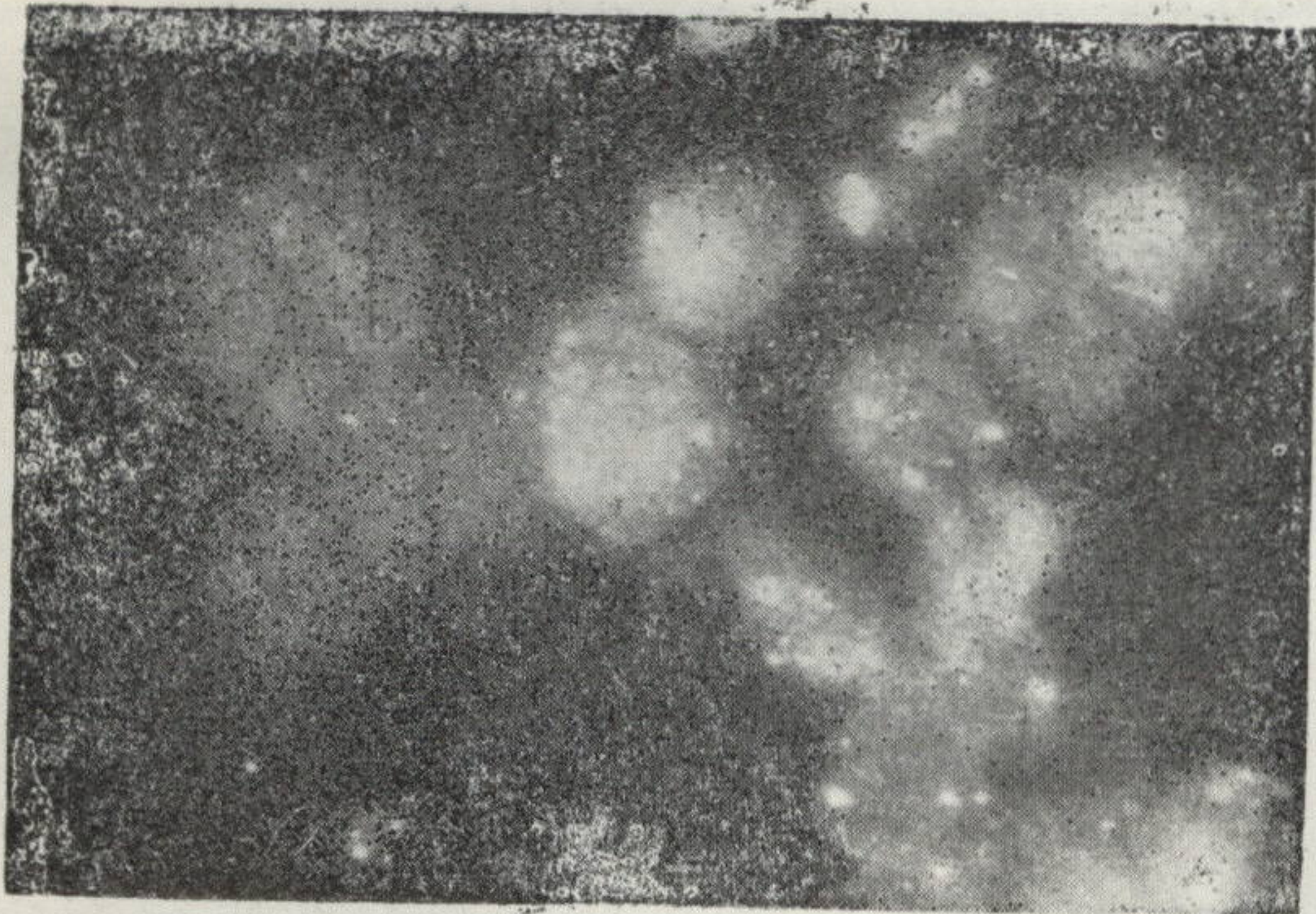


图1 感染H8278株病毒的Vero E-6细胞浆内颗粒荧光

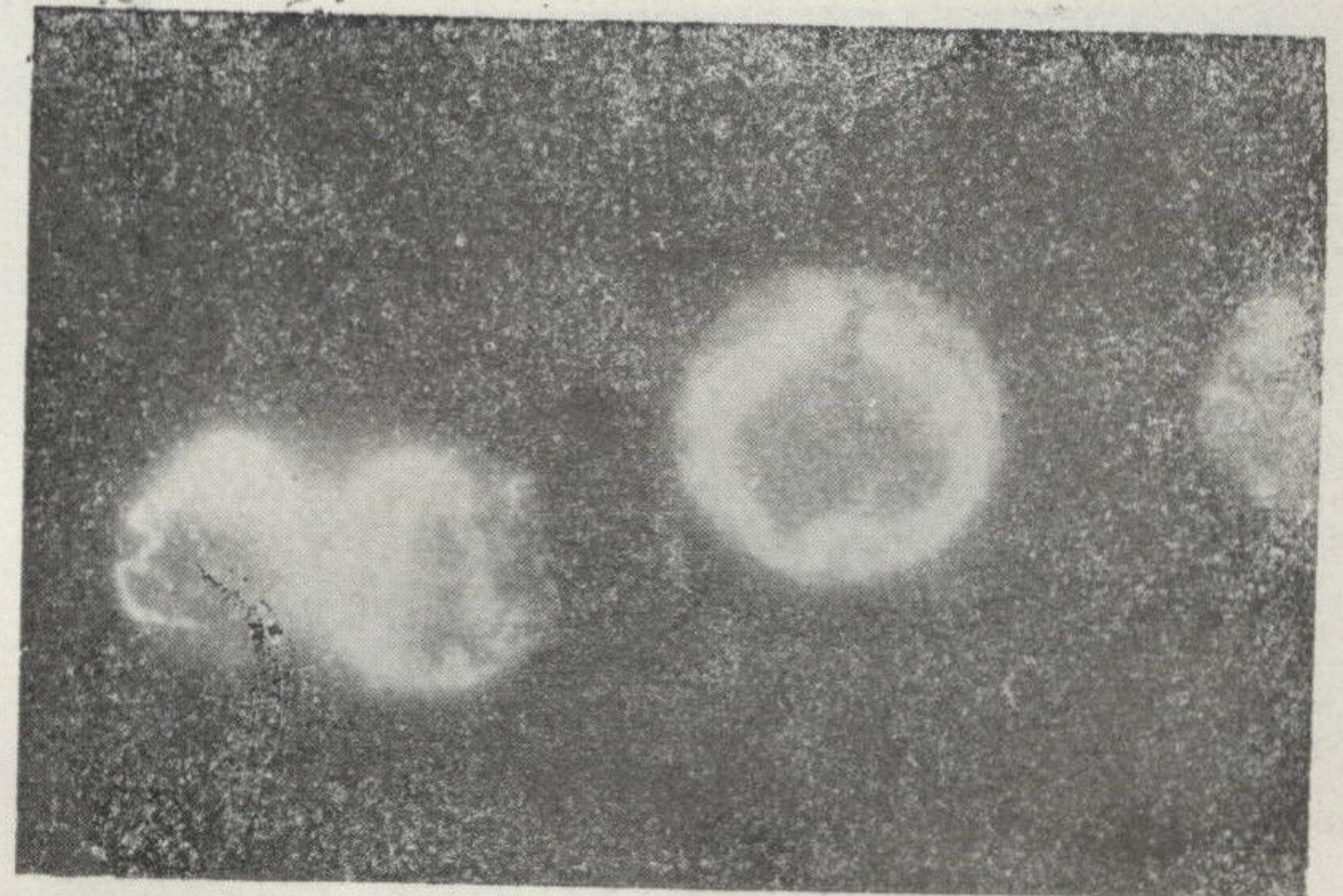
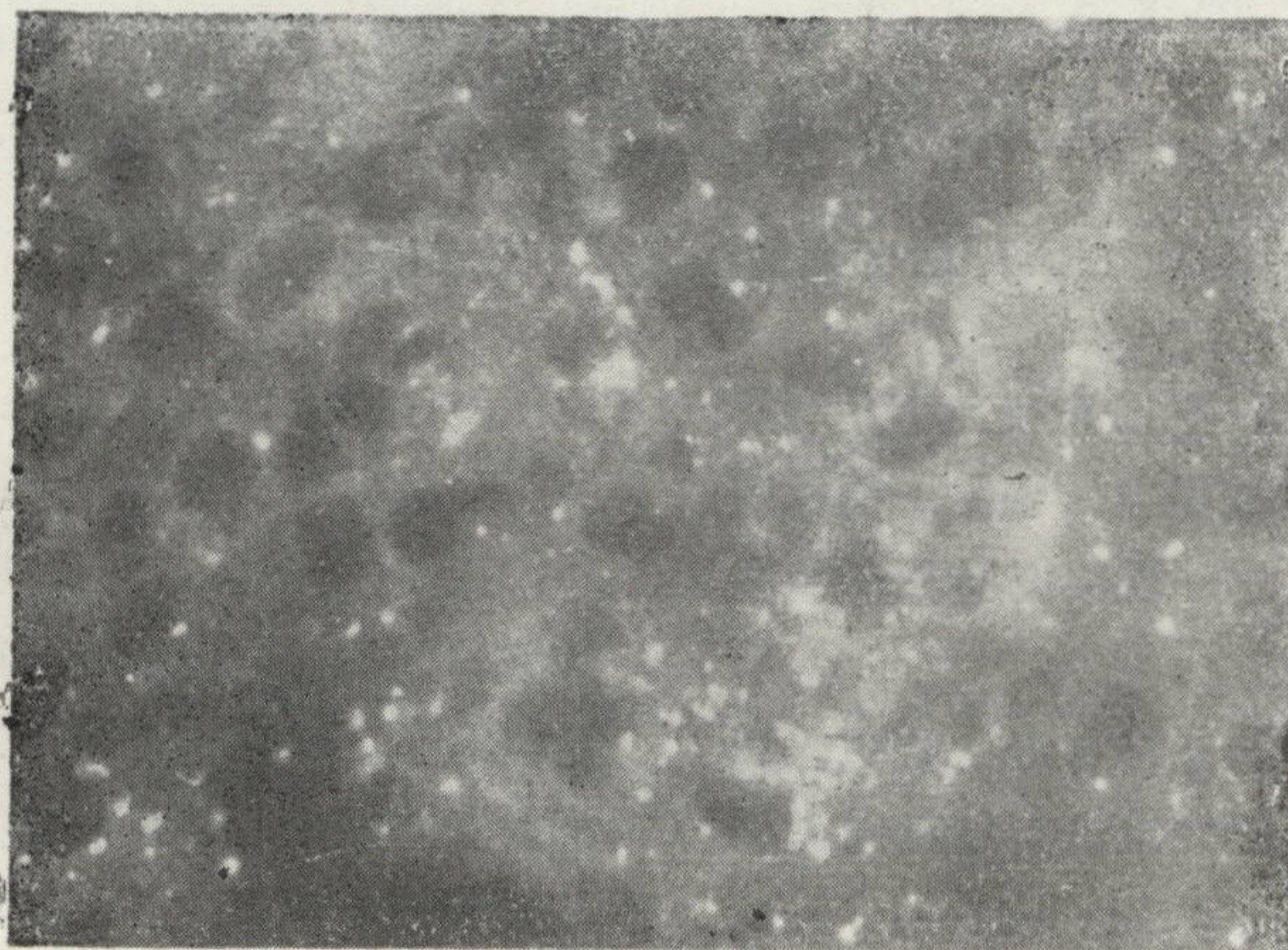


图2 感染H8205株病毒的Vero E-6细胞浆内多形态片状荧光

鼠类携带有肾综合征出血热病毒抗原检测及血清流行病学调查

李泽林等

正文见202页



附图 黑线姬鼠肺泡上皮细胞质内HFRS病毒抗原显示的荧光颗粒 480×