

新疆出血热病毒抗原性的初步分析

新疆维吾尔自治区卫生防疫站 冯崇慧

1966年我站在南疆巴楚县的阿克沙克马拉勒地区从出血热患者的血液以及当地荒漠牧场采集的亚洲璃眼蜱(*Hyalomma asiaticum*)中分离到多株病毒,经鉴定与乙型脑炎和森林脑炎病毒无抗原关系,为一种新的虫媒病毒,定名为“巴楚出血热病毒”,后改为新疆出血热病毒(*Xinjiang Haemorrhagic Fever Virus XJHFV*)。1968年中央卫生部派来工作组进一步证实了上述结论^[1,2]。以后在不同年

份,不同地区的出血热病人以及疫区健康绵羊,硬蜱和野生动物中又分离到多株病毒。为了弄清这些毒株间抗原性是否有差异,我们根据现有的试验条件选择八株出血热病毒进行了抗原性的比较。现将初步的试验结果简要报道如下。

材料和方法

一、毒株:共八株列于表1。

表1 八株新疆出血热病毒的分离情况

毒株名称	分离年份	标本来源	地点	乳鼠脑内传代次数	说明
BA66019	1966年	病人血液	巴 楚	40代以上	典型患者,高烧40°C以上,鼻衄尿血便血等,病后第七天死亡为新疆出血热病毒原型株 ⁽¹⁾
BA66063	1966年	硬蜱 <i>H. asiaticum</i> 成虫50只	巴 楚	10代以上	
BA68045	1968年	硬蜱 <i>H. asiaticum</i> 成虫	巴 楚	8代以上	
BA68031	1968年	疫区健康绵羊血液	巴 楚	10代以上	
A73017	1973年	病人血液	阿 瓦 提	10代以上	院内感染的第三代轻型病人,妊娠6个月,病人痊愈
Ha75001	1975年	病人血液	阿克苏农 垦三团	14代以上	高烧、腹痛、腹泻、上消化道出血,病人死亡
BA79002	1979年	病人血液	巴楚农垦50团	5代以上	轻型患者,痊愈
BA79121	1979年	野生动物大耳跳鼠肝、脾混合材料	巴楚农垦50团	5代以上	

二、免疫血清的制备:10%病毒悬液加等量福氏完全佐剂,通过淋巴结内途径免疫家兔^[3],待补结合价达1:512以上时放血。血清分离后保存于-20°C备用。

三、豚鼠交叉免疫试验:试验共分两批,第一批免疫用毒株为Ha75001、BA68045、BA68031株,第二批免疫毒株为BA66019、BA66063、A73017、Ha75001株。

免疫方法:第一次每个毒株免疫6~8只豚鼠,每只脑内注射0.1毫升10%病毒悬液(稀释液为5%灭活豚鼠血清磷酸缓冲液pH7.4)同时腹腔注射1.5毫升;于第一次免疫后间隔3

~4周再进行第二次交叉免疫即将每个毒株的6~8只豚鼠分成3~4组,每组2只豚鼠,用同一批内的第一次免疫毒株(本株)和异株交叉攻击,每只豚鼠腹腔注射1.0毫升病毒悬液,于末次注射后7~10天放血,用补体结合试验测定对本株及异株的抗体滴度^[4]。

四、交叉反向间接血凝试验:用不同来源的出血热病毒BA66019、BA66063、A73017、Ha75001株制备的高价免疫家兔血清,按本室常规法提取免疫球蛋白IgG,然后选择适当的浓度致敏血球^[5],作交叉反向间接血凝试验,并计算其抗原比^[6]。试验时先将血清灭活,然

后用新鲜羊血球吸收，每份血清各稀释4列，每列加入一种含8个血凝单位的抗原，混匀后放37°C结合半小时，再加入相应IgG致敏的血球，再次混匀放37°C温箱1小时后观察结果。以最高血清稀释度出现完全抑制为滴定终点，即该血清的抗体效价。

五、琼脂糖双向免疫扩散：试验用琼脂糖，上海东海制药厂制(批号770722)，缓冲液〔7〕为0.001M Tris，含0.02M EDTA, 0.15M NaCl, 2% PEG(分子量6000)并加0.1%NaN₃，用此液配制0.8%琼脂糖后铺板，每板(2.5×7.5厘米)加4毫升，待琼脂糖凝固后打孔。周围孔径4毫米，中央孔径3毫米，孔距为5~6毫米。中央孔加抗血清。四周孔加抗原，加样后将玻板移置湿盒内放37°C扩散，3~7天后观察结果，然后滴加5%甘油缓冲液，待干燥后用氨基黑染色。

抗原的制备：选择发病典型的乳鼠按Clarke及Casals氏方法〔8〕制备蔗糖丙酮抗原，制成的干粉末按每脑加入0.4毫升磷酸缓冲盐水pH7.2，于4°C浸泡过夜，次日低速离心，取上清液用于试验。

结果及讨论

一、不同来源毒株间的交叉攻击试验：第一批包括人(Ha75001)、羊(BA68031)、蜱(BA68045)三种不同来源的毒株之间的交叉比较，其结果见表2；第二批包括四株不同年份从不同类型的出血热患者分离的毒株和蜱株之间的抗原性比较，其结果见表3。

毒株间的交叉攻击试验中，如果两个毒株之间的抗原性一致，则在第二次攻击时，产生继发性免疫应答，抗体的滴度将很快上升，并在补结试验中，呈现对本株和异株的抗体滴度基本一致；如果第二次攻击时，毒株间的抗原性不完全相同或完全不同，则不产生高度继发性免疫应答，对异株的抗体滴度将会很低。在我们的两批六个毒株的交叉攻击试验中，第二次的抗体滴度对本株与异株均基本一致(表2，

3)，这表明六个毒株之间的抗原性没有明显的差异。

表2 三种不同来源毒株间的交叉攻击补结试验

攻击株	免疫毒株					
	Ha75001		BA68045		BA68031	
	本株	异株	本株	异株	本株	异株
Ha75001	>512*	/	512	512	256	256
	>512	/	128	128	>512	>512
BA68045	256	256	>512	—	512	512
	512	512	>512	—	—	—
BA68031	512	512	>512	512	256	/
	—	—	/	/	128	/

注：*血清稀释度的倒数，每毒株免疫豚鼠2只

二、既往出血热病人的血清(于1979年4~5月间采集)试验结果：以不同的出血热毒株包括人、羊、蜱株所做的补结和反向间接血抑试验的结果见表4。

从表4的结果表明，同一个病人的血清，用不同的出血热抗原所做的补结或反向间接血抑试验，各个毒株间的滴度基本一致，这反映了各个毒株在抗原性上具有密切相关关系。

三、交叉反向间接血抑试验：以BA66019、Ha75001、A73017及BA66063株的家兔高价免疫血清提取的免疫球蛋白IgG分别致敏血球，然后进行交叉反向间接血抑试验，结果见表5，并根据朱既明氏〔6〕等创用的抗原比来表示毒株间的抗原关系，其结果见表6。计算毒株间抗原比的公式如下：

按朱氏的标准，当两株病毒的抗原性不能区别时，其抗原比常在1.5/1~1/1.5之间，凡抗原比在2/1~1/2之间者均认为无明显差别。抗原比的分子越大，则两株病毒间的抗原性差异越显著。从表6结果表明，这四个毒株间的抗原性无明显差别。

四、琼脂双向扩散试验：在试验中特异性的沉淀线大约在24~48小时后出现，沉淀线清晰而明确。这种特异性的沉淀线在抗原与抗血清浓度比例合适时呈单一沉淀线，且各个不同

表 3

四株不同年份分离的毒株间交叉攻击试验补结滴度

攻击株	免 疫 毒 株							
	BA66019		Ha75001		BA66063		A79017	
	本株	异株	本株	异株	本株	异株	本株	异株
BA66019	512*	—	512	512	256	128	256	256
	—	—	512	512	256	256	256	256
Ha75001	256	256	1024	—	64	64	128	128
	128	128	512	—	512	1024	512	512
BA66063	512	512	128	128	64	—	512	512
	512	512	256	128	512	—	512	256
A73017	512	512	512	512	512	512	128	128
	512	512	1024	512	128	128	512	512

注：*同表 2 注

表 4

既往出血热患者血清与不同毒株的补结和反向血抑滴度

标本号	补 结 滴 度			反向间接血抑滴度			患病年份	患病地点
	75001	68031	68045	75001	73017	66063		
B-001	4	4	4	ND	ND	ND	1974	巴楚50团4连
B-002	32	32	33	32	32	32	1976	"
B-003	32	16	32	32	32	32	1977	"
B-005	16	16	16	16	32	32	1976	"
B-006	8	8	8	ND	ND	ND	1974	50团3连
B-009	16	8	8	ND	ND	ND	1976	50团二队
B-010	ND	ND	ND	16	16	16		"
B-011	—	—	—	4	ND	ND		50团18连
B-012	64	64	32	128	256	128	1976	50团18连
B-013	32	32	32	16	32	64	1978	" 13连
B-014	16	8	16	64	64	64	1977	"
B-015	16	16	16	16	32	16	1976	50团16连
B-018	16	16	16	16	16	16	1973	50团卫生队
B-020	64	64	64	ND	ND	ND	1974	阿克苏柯坪县
B-021	4	4	4	ND	ND	ND	1974	"
B-022	—	—	—	16	ND	ND	1974	"
B-025	4	4	4	16	32	32	1974	"
邢××	—	—	—	8	ND	ND	1972	阿克苏阿瓦提
丁××	512	ND	ND	1024	1024	1024	1979	巴音郭楞州32团
羊79-39	8	4	4	128	128	128		巴楚地区
羊79-26	8	8	8	128	128	128		"
野 兔	8	8	8	ND	ND	ND		巴楚50团

注：“—”血清 1 : 4 稀释阴性 ND—未做试验

来源的毒株间(包括不同类型的患者、蜱、羊、野生动物分离到的毒株)的沉淀线均能互相融合, 没见到部分或完全交叉沉淀线。抗原比R公式:

$$R = \sqrt{r_1 \times r_2}$$

$$= \sqrt{\frac{\text{血清 I 对毒株 II 的效价}}{\text{血清 I 对毒株 I 的效价}} \times \frac{\text{血清 II 对毒株 I 的效价}}{\text{血清 II 对毒株 II 的效价}}}$$

表 5 四个毒株的交叉反向间接血抑滴度

病毒抗原	疫 血 清			
	BA66019	Ha75001	A73017	BA66063
BA66019	64	32	128	64
Ha75001	512	128	512	256
A73017	256	128	256	64
BA66063	256	256	512	256

表 6 四个毒株间的抗原比

试验抗原	免 疫 血 清			
	BA66019	Ha75001	A73017	BA66063
BA66019	1	1.41	1.41	1
Ha75001		1	1.41	1.41
A73017			1	1.41
BA66063				1

摘 要

新疆出血热分布在塔里木河流域的广大地区,从各种不同临床类型的病人,不同地区的蜱、绵羊以及野生动物(大耳跳鼠)中分离到多株病毒。这些毒株在抗原性上无差别是本病流行病学、病原学和免疫学上的一个有意义的问题。本文通过豚鼠交叉免疫攻击试验、交叉反向间接血抑试验、双向免疫扩散试验和恢复期病人血清对不同毒株抗原的补结和间接血抑试验等四种试验所得到的结果,初步表明这些毒株在抗

原性上是一致的。

ABSTRACT

Xinjiang hemorrhagic fever spreads widely throughout the valley of Talimu River. Many strains of this virus have been isolated from patients with clinical various types, the ticks, sheep and wild mammals (*Euchoreutes naso Sclater*) from different localities in the affected area. It was thought that the homogeneity or heterogeneity of their antigens was closely linked to epidemiology, etiology and immunology of the disease. The author carried out immunity challenge test on guinea pigs, cross reverse indirect HAI test, double immunodiffusion test CFT and indirect HAI test with the sera of convalescents. The preliminary results indicated that these were homogeneity of the virus strains tested.

参 考 文 献

1. 新疆维吾尔自治区卫生防疫站: 新疆出血热资料汇编, P1 P80, 内部资料, 卫生防疫站, 1975。
2. 中国医学科学院流研所等: 流行病防治研究(2): 71, 1973。
3. 冯崇慧等: 新疆出血热病毒反向间接血凝和血凝抑制试验, 内部资料, 1977。
4. 吴皎如等: 福建省乙型脑炎病毒的鉴定, 科学技术研究报告0174号, 1964。
5. 冯崇慧等: 流行病防治研究, (3): 187, 1978。
6. 邵惠训: 生物制品通讯, 8(3): 134, 1979。
7. 河南省生物制品研究所: 乙型肝炎抗原检验, 58页, 1978。
8. Clarke DH et al: Am J Trop Med Hyg, 7: 561, 1958。

上高县首次华支睾吸虫病的调查

江西省宜春地区寄生虫病防治研究所

易明华 孔良石 黄方银

江西省上高县血吸虫病防治站

泮宗岳 彭迪飞 李得来

我区于1980年12月至1981年6月,在上高县首次发现有华支睾吸虫病的流行,共调查71户,粪检271人,阳性8例分布在6户中,感染率2.95%。男7例女1例,儿童6例。人群进行华支睾吸虫抗原皮试结果,阳性105人,阳性率14.3%。解剖家犬52头,感染率42.3%,家猫3只,水鸭2只,感染率皆100%。家鼠、野鼠、猪均未检出。共收集到纹绍螺950只,未查到华支睾吸虫尾蚴,正进一步观察。共查10种鱼(麦穗

鱼、斗鱼、刺秋、鳊鱼、侧鱼、鲢鱼、餐条鱼、华鳊鱼、石鲮鱼、乌鱼)345尾,其中前8种共164尾查见华支睾吸虫囊蚴,感染率47.5%。

以华支睾吸虫囊蚴人工喂饲家兔4只,鸡2只,鸭2只,经35~37天后解剖发现:家兔粪检找到华支睾吸虫卵,其中2只查到成虫16与13条。鸡、鸭均100%查到成虫与虫卵。