

流行性出血热患者病后血清中 特异性抗体持续时间的调查

安徽省卫生防疫站

李世清 罗兆庄 王以良

安徽省医科所

倪大石 沈宏开 余荣汉

蒋豫图等利用来自美国陆军传染病研究所的朝鲜出血热(KHF)细胞抗原片检测了我国流行性出血热(EHF)患者血清中抗体持续时间,发现在病后16年的血清中还能检出KHF特异性抗体^[1]。由于我国出血热病毒分离已成功,并已适应于A-549细胞及Vero-E₆细胞^[2,3,4],因此有可能应用我国自行制备的EHF病毒细胞抗原片来作血清流行病学调查,促进本病的防治研究。

本文报道利用我国分离的EHF病毒适应A-549细胞后,制备的点片(Spotslide)抗原和间接荧光抗体技术(IFAT),对我省历年来的EHF患者,进行血清中EHF特异性抗体持续时间的追溯性调查,结果表明有些患者病后20年,血清中特异性抗体仍可保持1:320的滴度,但总的看来,抗体滴度随时间延长而逐渐下降,在较长时间内可维持低滴度水平。

材料和方法

一、血清来源:

血清来自我省沿淮流域EHF疫区,经临床确诊的病例,病后半年至22年各年份采集一定量血清标本(66~68年因疫情不详而空缺)共123份。

二、A-549人肺癌传代细胞抗原片:

系用A₁LP₇点片抗原,具体制作方法,参见文献^[4],在全部调查中所用抗原片,均为同一批制作。

三、荧光抗体:

羊抗人IgG冻干荧光抗体诊断血清由上海生物制品研究所生产,特异染色单位1:100,

批号82-1-1,染色时使用8个染色单位。

四、方法:

用0.01M pH7.6PBS将待检血清稀释成1:20,并经56℃30分钟灭活,定量(15微升)滴加在抗原片上,置37℃湿盒中结合45分钟, PBS洗二次吹干,再加荧光素结合物(其中最终浓度含有1:60000伊文思兰)置37℃湿盒中30分钟,取出后用PBS洗二次蒸馏水洗一次吹干,用甘油0.01M pH9.0缓冲液(9:1)封片。用荧光显微镜检查(Leitz orthoplan落射光系统),在胞浆内含有黄绿色特异荧光颗粒者为阳性。当每视野中有50%以上A-549细胞的胞浆中含有荧光颗粒亮度较强者血清进行稀释检查。

结 果

一、病后不同时间血清中特异性抗体的检出率:

调查123份血清,阳性64份,阳性率52.03%,其中以病后半至1年阳性率最高为78.57%,其次是2~4年,76.00%,病后20~22年阳性率最低为31.82%(表1)。

二、病后不同时间血清特异性抗体滴度的变化:

在123份血清中,特异抗体的几何平均滴度为6.89,其中半至1年的几何平均滴度最高,为25.66,其次是2~4年,为18.96,5年以后有明显下降,并隐定于3.05~5.63。用5~7年(5.63)与2~4年(18.96)进行显著性测定 $t=3.041$ $P<0.01$,两者差异非常显著。用5~7年(5.63)与20~22年(3.44)进行显著性测定

表 1 EHF病后不同时间血清特异性抗体检查情况

病后时间 (年)	检查数	阳性数	阳性率 (%)
半~1	14	11	78.57
2~4	25	19	76.00
5~7	24	12	50.00
8~10	18	6	33.33
11~13	8	4	50.00
17~19	12	5	41.67
20~22	22	7	31.82
合 计	123	64	52.03

表 2

EHF病后不同时间血清特异抗体滴度情况

病后时间 (年)	检查数	结 果							几何平均 滴 度
		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	阴性	
半~1	14	6		2		1	2	3	25.66
2~4	25	11	1	2	2	2	1	6	18.96
5~7	24	7	3	1		1		12	5.63
8~10	18	4	1	1				12	3.05
11~13	8	4						4	4.47
17~19	12	4			1			7	4.14
20~22	22	2	3	1		1		15	3.44
合 计	123	38	8	7	3	5	3	59	6.89

讨 论

1.目前在EHF抗原或是血清中 特异抗体的检查普遍采用IFAT,并用动物感染的肺组织冰冻切片和A-549细胞抗原片进行血清特异抗体检查均证明基本一致^[2]。但是黑线姬鼠常伴有呼肠孤病毒或类呼肠孤病毒的感染,因而在检查中应加以排除;再则病毒抗原在肺中的分布以及切片质量等因素,对结果的滴度判断影响较大,可引起人为的差异。组织培养点片抗原细胞感染率高,分布均匀,在荧光显微镜下观察视野清晰,特异性荧光颗粒密集,亮度好,定位明确,重复性较好。因而组织培养点片抗原仍是大量进行血清流行病学调查的较好材料。但是在检查中亦发现个别出现漏检现象,大多由于点片制作过程液体渗出等原因所致。

2.过去根据EHF的流行病学及临床观察

$t=1.174$, $P>0.05$, 两者差异不显著(表2)。

检查5例双份血清(发病后3~20天与2~4年)血清中抗体明显下降(表3)。

表 3 5例双份血清中特异性抗体的测定

血清号	第一份血清		第二份血清	
	病后时间 (天)	结果	病后时间 (年)	结果
143	10	$>1:640$	2	1:20
144	9	1:640	2	1:20
145	30	$>1:640$	3	—
146	11	1:20	3	1:40
147	3	1:20	4	1:20

均认为病后可获得较持久的免疫力,但持续多久,尚缺乏实验数据。近年由于病原分离成功,各地推行了血清学检查,均证明了病后血清中可出现特异性抗体。Lee报道,本病免疫荧光抗体在症状出现第一周就可出现,第二周达高峰,病后可持续存在36年之久^[5],蒋豫图等在我国病后一年以上的血清,其中有一份病后16年仍呈阳性(1:40)^[1]。本次回顾调查了病后半~22年血清抗体变化情况,表明病后血清中特异性抗体可持续较长时间,在病后4年之内有70%以上的病人血清中含有特异抗体,但在5年以后有明显下降,在病后20~22年中尚有31.82%血清检出特异抗体。

3.从血清特异抗体消长情况可见在病后4年之内阳性血清中有40%滴度在1:40以上,高者可大于1:640,5年以后血清滴度明显下降,病后5~22年血清滴度维持在较低水

平。但是亦有的抗体滴度下降较快，持续时间较短，亦有的在病后20年血清抗体滴度仍在1:320。此现象可能由于病原感染情况不同或是机体反应差异所致。我们曾检查五例双份血清（当时是中、重型患者），有的二年之内抗体就明显下降或消失。

此调查血清中低滴度的阳性者不能排除部分受自然重复感染所致。但是我们调查了淮北疫区健康人群免疫水平仅有4.07%呈阳性，且滴度在1:20^[6]，因而证明了本调查阳性中基本系病后血清特异抗体的继续。

摘 要

本文利用我国分离的EHF病毒适应A-549细胞制作的抗原片，应用IFAT法对EHF患者病后血清中特异性抗体持续时间作了调查。

共调查了123份血清，阳性64份，阳性率52.03%，其中70%以上病人病后4年之内血清中含有特异性抗体，5年以后明显下降，20~22年尚有31.82%，可检出特异性抗体；病后4年之内阳性血清中有40%滴度在1:40以上，高者大于1:640，5年之后滴度明显下降，此后维持在较低的水平。

ABSTRACT

A549 cell culture of EHF causative agent (isolated from China) as EHF antigen was used to detect antibodies of EHF Patients' convalescent sera by indirect FA test. The total positive rate of IF antibodies of sera obtained from different periods of EHF Patients was 52.03% (64/123). More than 70% of sera of EHF Patients who had been attacked before 4 years were found IF antibodies. The titers of 40% of the above sera were 1:40-1:640 and the titers rapidly decreased in the fifth year after infection. However, IF antibodies were detected in 31.82% of EHF Patients who had been attacked 20-22 years ago.

参 考 文 献

1. 蒋豫图等：中华医学杂志，94（4）：221，1981。
2. 严玉辰等：中国医学科学院学报4（2）：67，1982。
3. 宋干等：中国医学科学院学报，4（2）：73，1982。
4. 倪大石等：流行性出血热病原因子在A-549人肺癌传代细胞中的适应研究，待发表。
5. Lee HW: WHO Meeting on Research in Viral Haemorrhagic Fevers, New Delhi, 10-14 March, 1980.
6. 罗兆庄等：流行性出血热防治工作人员血清中特异性抗体的调查，待发表。

（本项工作承蒙颍上、凤台县卫生防疫站协助，特致谢意）

应用痢特灵预防细菌性痢疾两年效果观察

图们市卫生防疫站

崔万吉

我站于1980和1981两年试验性地应用痢特灵预防细菌性痢疾（菌痢），结果如下：

一、实验对象：1980年选择郊区红光公社红卫大队，随机抽查500人，分成实验组和对照组，人数各半；1981年选择与红卫大队条件相似的龙城大队651人为实验组，红卫大队651人为对照组。

二、观察时间：根据几年来经验，定为5月份投药，1980年投药后观察一个半月；1981年观察3个月。

三、服药剂量：1980年为成人早晚各服一片（每

片含量0.1克），小儿略减，连服二天，隔2周再同样服一次，一人共服二次共8片。1981年照同法每人服4次，共16片。

四、实验结果：1980年实验组发病7例，发病率2.8%，对照组发病21例，发病率8.4%；1981年实验组发病14例，发病率2.15%，对照组发病72例，发病率11.06%。

根据两年实验结果，我们初步认为痢特灵可以作为预防菌痢药推广使用。