

# 流行性出血热病毒在宿主动物间传播方式及其流行病学意义的研究

杨占清<sup>1</sup> 孟祥瑞<sup>1</sup> 于晓敏<sup>1</sup> 刘运喜<sup>1</sup> 高学运<sup>1</sup>  
吕自玉<sup>2</sup> 张福波<sup>2</sup> 王锦风<sup>3</sup> 刘景山<sup>4</sup>

**摘要** 应用血清学检测技术在驻地进行了流行性出血热病毒(EHFV)在宿主动物间传播方式及其流行病学意义的研究。结果表明在自然条件下主要宿主间存在水平传播和垂直传播等方式,其中以密切接触传播为主,经破损皮肤感染为主要途径,并且多发生在成年,这对 EHF 疫源地的扩散和演变起着重要作用。而垂直传播对 EHF 疫源地保存与延续具有重要意义。

**关键词** 流行性出血热 传播方式 自然疫源地

**Study on the Mode of Transmission of EHFV among Host Animals and Its Epidemiologic Significance** Yang Zhan-qing, Meng Xiang-rui, Yu Xiao-min, et al. Military Medical Research Institute, Jinan Command, Jinan 250014

**Abstract** In our study, IFA was adopted to detect the epidemic haemorrhagic fever virus (EHFV) antigen and antibody. We studied on the mode of transmission of EHFV in mice and its epidemiologic significance. The results demonstrated that both horizontal and vertical modes of transmission existed in mice under natural circumstances. Horizontal transmission was noticed as the major mode of transmission of EHFV in mice which played an important role in the spread and development of EHF natural foci. Vertical transmission seemed to act merely on the maintenance of EHF natural foci in mice.

**Key words** EHF Mode of transmission EHF natural foci

为了探讨流行性出血热(EHF)自然疫源地的扩散与演变规律,预防和控制人群发病,我们于1988年4月以来,在家、野鼠混合型疫区进行了EHF病毒(EHFV)在宿主动物间传播方式及其流行病学意义的研究,现将结果报告如下。

## 材料与方法

一、标本来源:从临沂地区某部以营区或居民自然村为中心,在1平方公里范围内挖窝鼠,或在室内外捕鼠,无菌取肺组织,置

液氮罐内带回实验室,如遇孕鼠,无菌取胎鼠用PBS反复冲洗3次后,取胎鼠脑组织印片<sup>[1]</sup>,具体制备方法是取一小块脏器组织,用定性滤纸吸去其血液及渗出液,以切面压印于业经60℃预热的载物玻片上,每张玻片压印三个点,自然干燥后,以冷丙酮固定,凉干,作 EHFV 抗原检测;同时用滤纸片采鼠血, -20℃保存作抗体检测。

二、检测方法:肺组织 EHFV 抗原和血清抗体采用间接免疫荧光法(IFA)检测,操作与结果判定按文献<sup>[2]</sup>。抗鼠 IgG 荧光抗体购于军事医学科学院五所;抗人 IgG 荧光抗体系上海生物制品研究所生产; EHF 单克隆荧光抗体由中国预防医学科学院病毒所提供;抗 EHFV 血清为 EHF 恢复期病人血清,

1 济南军区军事医学研究所 济南 250014

2 济南文东医院

3 济南军区总医院

4 解放军 54896 部队卫生队

抗体滴度为 1:1280 (IFA)。EHF 细胞抗原片由本室制备。

三、鼠类分组：按文献<sup>[3,4]</sup>，将其分为幼年和成年组。

四、流行病学调查：现场采集标本的同时收集有关资料整理分析。

## 结 果

一、鼠类组成和自然感染率：本次检测鼠类 5 种计 958 只，其中黑线姬鼠 729 只，占 76.10%，其次褐家鼠占 15.34%。总自然感染率为 22.44%（表 1）。

表 1 鼠类 EHFV 抗原与抗体检测结果

鼠 种	检测只数	构成比 (%)	EHFV 抗原阳性		血清抗体阳性		抗原与抗体双阳性		自然感染率 (%)
			只数	阳性率 (%)	只数	阳性率 (%)	只数	阳性率 (%)	
黑线姬鼠	729	76.10	82	11.25	107	14.68	37	5.07	25.93
大仓鼠	58	6.05	6	10.34	3	5.17	1	1.72	15.52
黑线仓鼠	6	0.63	0	0.00	0	0.00	0.00	0.00	0.00
褐家鼠	147	15.34	5	3.40	10	6.80	3	2.04	18.20
小家鼠	18	1.88	0	0.00	2	11.11	0	0.00	11.11
合 计	958	100.00	93	9.71	122	12.73	41	4.28	22.44

二、成幼鼠 EHFV 抗原与抗体阳性率：在检测的黑线姬鼠、大仓鼠、黑线仓鼠、褐家鼠和小家鼠等 5 种 958 份肺组织和血清标本中，EHFV 抗原阳性率成年鼠 (16.78%，100/596) 明显高于幼年鼠 (9.39%，34/362) ( $\chi^2=10.21$ ,  $P<0.01$ )；血清抗体阳性率成年鼠 (21.81%，130/596) 明显高于幼

年鼠 (9.12%，33/362) ( $\chi^2=25.71$ ,  $P<0.01$ )。

### 三、窝鼠的自然感染特征：

1. 窝内鼠数与感染率：在检测 137 窝鼠中，鼠数量最多 10 只，最少 2 只。窝鼠数的多少与感染率有关，即感染率随着窝鼠数的增多呈上升趋势（表 2）。

表 2 窝内鼠数量与感染率

每窝鼠数 (只)	检测 鼠数	EHFV 抗原		EHF 抗体		感染程度	
		阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	感染数*	感染率 (%)**
2	74	7	9.46	7	9.46	9	12.16
3	57	7	12.28	13	22.81	15	26.32
4	100	14	14.00	14	14.00	25	25.00
5	130	14	10.77	13	10.00	23	17.69
6	66	7	10.61	7	10.61	10	15.15
7	63	5	7.94	9	14.29	11	17.46
8	32	6	18.75	11	34.38	11	34.38
9	27	7	25.93	7	25.93	10	37.04
10	30	4	13.33	5	16.67	8	26.67
合 计	579	71	12.26	86	14.85	122	21.07

\* 感染数 = EHFV 抗原阳性数 + EHF 抗体阳性数 - 两者均阳性鼠数

\*\* 感染率 = 感染数 / 检测数 × 100%

2. 窝鼠 EHFV 感染聚集性：检测 137 窝鼠中，EHFV 抗原与抗体阳性率随鼠窝鼠数

的增多而增高，呈正相关关系，提示窝内鼠的感染存在以窝为单位的聚集现象（表 3）。

表 3 窝鼠 EHFV 抗原与抗体阳性分布

每窝鼠数 (只)	总窝 数	EHFV 抗原阳性窝数					EHF 抗体阳性				
		1	2	3	4*	合计	1	2	3	4**	合计
2	37	5	1	0	0	6	5	1	0	0	6
3	19	3	2	0	0	5	2	4	1	0	7
4	25	2	6	0	0	8	9	1	1	0	11
5	26	2	3	2	0	7	3	2	2	0	7
6	11	2	1	1	0	4	3	2	0	0	5
7	9	2	0	1	0	3	2	2	1	0	5
8	4	2	0	0	1	3	0	2	1	1	4
9	3	0	0	1	1	2	1	1	0	1	4
10	3	1	0	1	0	2	0	1	1	0	2
合计	137	19	13	6	2	40	25	16	7	2	50

\* 1、2、3、4 分别代表每窝的 EHFV 抗原阳性鼠数， $\chi^2=27.80$ ,  $P<0.01$

\*\* 1、2、3、4 分别代表每窝鼠 EHF 抗体阳性鼠数， $\chi^2=21.89$ ,  $P<0.01$

四、孕鼠和胎鼠 EHFV 抗原与抗体阳性率：共检测孕鼠 23 只，胎鼠 149 只。其中黑线姬鼠孕鼠 14 只，胎鼠 77 只；大仓鼠孕鼠 2 只，胎鼠 14 只；褐家鼠孕鼠 6 只，胎鼠 53 只；小家鼠孕鼠 1 只，胎鼠 5 只。结果从 2 只孕鼠肺中检出 EHFV 抗原（黑线姬鼠和大仓鼠各 1 只），孕鼠阳性率为 8.69%。并从其中大仓鼠孕鼠获得 8 只胎鼠中，4 只脑组织印片检出 EHFV 抗原，胎鼠阳性率为 2.68%。取其中 2 份强阳性用 EHF 恢复期病人血清进行阻断试验，证实检出抗原的特异性。

## 讨 论

目前所知，病原体在更迭其宿主时有三种方式：一是水平传播，这是一种常见的传播方式；二是垂直传播；三是“Z 型”传播，就是水平传播与垂直传播交替出现的一种传播方式。掌握病原体的传播方式及其各种特定传播途径的流行过程特征，将有助于对现实的传播途径进行分析和判断。本研究证实当地多鼠种存在 EHFV 自然感染，感染率成

年鼠明显高于幼年鼠。以窝鼠按 EHFV 感染的不同鼠数的鼠窝分布，用二项分布原理进行分析，提示鼠的感染存在以鼠窝为单位的聚集性，感染率随窝内鼠数的增多而升高，并且窝内成年鼠感染仍然高于幼年鼠。表明鼠间 EHFV 感染主要发生在成年鼠，幼鼠较少见。分析其原因可能是幼年鼠在分居之前很少发生损伤，而成年之后，种间和种内相互撕杀、残食，甚至追随交配活动等造成创伤感染所致。皮肤破伤鼠 EHFV 抗原阳性率（24.6%）与抗体阳性率（29.0%）明显高于皮肤无破伤鼠（9.0% 和 8.4%）<sup>[5]</sup>，证实鼠间 EHFV 传播其密切接触传播为主要方式之一，经皮肤破损感染为主要途径，这对疫区 EHF 传播与自然疫源地扩散和演变起着重要作用。

刘江秋等<sup>[6]</sup>首次证实黑线姬鼠和褐家鼠存在垂直传播。本研究证实大仓鼠经垂直传播方式感染胎鼠。大仓鼠广栖于农田、荒地和山坡，成鼠独居，春秋季节活动频繁，冬季出洞较少较近，不冬眠。在丘陵旱地密度高

达 8%~11%，带毒率达 10.20%，可见此鼠是丘陵旱地型自然疫源地的保存与延续的重要宿主之一。至于经胎盘垂直传播并非主要传播方式，但对 EHF 疫源地的保存与延续以及制定有效控制措施等具有重要的理论与实际意义。然而在现场多途径的综合调查研究，以弄清两型 EHF 在鼠间尤其是鼠与人间的传播途径及在不同情况下的主要和次要传播途径尚待进一步研究。

#### 参 考 文 献

1 何亦祥, 李忠义, 任丽源, 等. 热印片法检测脏器中 E

- HFV 抗原. 中华预防医学杂志, 1984, 18: 85.
- 2 张云, 鲍明荣, 沈建中, 等. EHF 疫区鼠、螨带毒调查. 中华流行病学杂志, 1986, 7: 26.
- 3 张洁. 京津地区大仓鼠种群年龄结构的研究. 兽类学报, 1986, 6: 131.
- 4 洪朝长, 袁高林. 褐家鼠种群生态的初步研究. 兽类学报, 1988, 8: 235.
- 5 汪桂清, 杨明瑞, 莫尤美, 等. 鼠间 EHF 经皮肤传播的研究. 中华预防医学杂志, 1992, 26: 151.
- 6 刘江秋, 李忠义, 沈宝军, 等. EHFV 在疫区鼠间垂直传播的首次证实. 病毒学杂志, 1989, 4: 336.

(收稿: 1996-01-03 修回: 1996-03-22)

## 聚合酶链反应检测流感嗜血杆菌的研究

袁 艺 卢 竞 郭章溉

流感嗜血杆菌 (HI) 是小儿呼吸道细菌性感染的主要致病菌之一, 但目前国内尚缺乏早期、快速、敏感和特异的诊断方法, 我们进行了用聚合酶链反应 (PCR) 检测 HI 的研究。为了观察 PCR 的特异性, 在研究中采用了 a、b、c、d、e 和 f 六型的 HI 标准菌株和 30 株 HI 野生菌株, 以及 7 种对照菌株 (金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、嗜肺军团杆菌、脑膜炎双球菌、痢疾杆菌、伤寒杆菌、霍乱弧菌)。在观察了 PCR 特异性的基础上, 检测了 40 例肺炎患儿鼻咽深部分泌物 (其中 30 例同时检测了尿标本)。所用引物为来自编码 HI 外膜蛋白 P<sub>6</sub> 的基因序列, 预期扩增产物 273bp。

研究结果表明, 在蒸馏水及鼻咽深部分泌物中分别用 5 个及 50 个 HI 做模板时即可获得阳性扩增结果; PCR 的特异性试验表明, HI 六型标准菌株及 30 株野生菌株扩增结果均阳性, 而 7 种对照菌扩增结果均阴性; 40 例鼻咽深部分泌物中, 有 20 例 (50%) PCR 阳性, 其中 17 例 (42.5%) 培养也阳

性; 同时检测了 30 例尿标本, 其中 6 例 (20%) 为阳性, 这 6 例病人的鼻咽深部分泌物 PCR 也为阳性。本文结果表明, PCR 检测 HI 有高度敏感性和特异性, 并适用于各血清型 HI 的检出。鼻咽深部分泌物中扩增 HI 的敏感性比蒸馏水中低, 可能与前者存在 PCR 反应抑制物有关。

本研究中所用的改良巧克力培养基的效果较好, 在患儿入院后即早收集标本并做接种培养可提高 HI 培养阳性率。用 PCR 及培养法检测 40 例鼻咽深部分泌物, 两者结果基本相符, PCR 阳性率略高, 表明 PCR 的敏感性可能更高, 但经统计学处理, 两者差异无显著性意义。这可能与样本例数尚少有关。

本研究用 PCR 法从 6 例肺炎患儿尿标本中检测到了 HI。有研究表明, 尿中病原体抗原检出率不低于血液等其他体液标本, 且可经浓缩以提高其敏感性。此外, 尿标本易收集、对患者无损伤, 加之 PCR 方法简便可行, 因此具有良好的应用前景。

(收稿: 1995-09-05 修回: 1996-01-17)