

基孔肯雅病研究进展

方美玉 刘建伟 任瑞文

【关键词】 基孔肯雅热; 流行病学

Progress on the study of Chikungunya disease FANG Mei-yu, LIU Jian-wei, REN Rui-wen. Center for Disease Control and Prevention of Guangzhou Military District, Guangzhou 510507, China

【Key words】 Chikungunya fever; Epidemiology

基孔肯雅病是由基孔肯雅病毒(Chikungunya virus, CHIKV)感染所致。该病主要经蚊虫吸血传播,其主要临床表现为发热、关节剧烈疼痛、皮疹和轻度出血体征,称为“基孔肯雅热”。人群对基孔肯雅热普遍易感,任何年龄均可感染发病,当基孔肯雅热初次暴发时,可使大量人群发病^[1]。

近年来基孔肯雅病在一些国家流行。据不完全统计,加蓬发病 5000 余例,印度洋的 Reunion(法属留尼旺岛)临床病例超过 26 万例,死亡 237 例。印度已累计发病 130 万例。印度洋的几个岛屿:毛里求斯、塞舌尔、马达加斯加、马约特和科摩多相继流行基孔肯雅病。2006 年全球的基孔肯雅热病例数接近 200 万^[2-4]。感染有扩大的趋势,发病率不断升高。已经成为严重的公共卫生问题。随着国际旅游增多,商贸交易频繁,该病有可能传入我国。因为我国存在引起该病传播的主要媒介埃及伊蚊和白纹伊蚊。因此必须高度警惕基孔肯雅病传入。

1. 流行病学:基孔肯雅病最早可追溯到 1779 年在印度尼西亚的流行。根据 David Bylon 当时在雅加达的报道,该病类似于流行性登革热的症状。但该病起病急骤和关节剧烈疼痛,认为很可能是“基孔肯雅热”。根据后来学者的报道,基孔肯雅热往往伴随登革热的流行或者发生登革热样综合征。1953 年 Ross 等在乌干达 1 例发热患者血中分离到 CHIKV,称这株病毒为 CHIK 的 Ross 株,同时也从伊蚊中分离到该病毒。该病患者表现剧烈的关节疼痛,被迫采取弯曲体位,当地的土语形容这种姿势为“基孔肯雅”,故以此命名。自 1950 年以来,该病在亚洲,尤其在东南亚地区均发生过流行。1964-1965 年、1973 和 1983 年在印度也发生过基孔肯雅热的流行。1962-1964 年在泰国,1966-1976 年间在缅甸、越南、泰国和柬埔寨均有流行。印度尼西亚在 1983 年也出现该病的流行,此后于 2001-2003 年再度暴发基孔肯雅热^[5]。据报道,曼谷有 8% 的发热患者是由 CHIKV 感染所致。近年来,在我国已有学者从人血清和猪、鼠等血清中查到 CHIKV 的抗体。在云南、海南、广东地区人群血清调查的抗体阳性率分别为 10.07%~43.78%、3.31%、0.16%。云南流行病防治研究所在西双版纳从“不明热”患者血液、蝙蝠

和蚊虫中分离出 CHIKV,海南省也从蚊虫和蝙蝠中分离到该病毒^[6,7]。

人和猴类是 CHIKV 感染的主要传染源。在城市型疫源地中,患者和隐性感染者是主要传染源,病毒主要以人-蚊-人的方式传播。患者在病后 5 d 内为病毒血症期,传染性很强。此时期可从患者的血液中分离到 CHIKV。在丛林型疫源地中,猴、猩猩等灵长目和野生动物是该病的主要传染源。病毒以灵长目动物-蚊-灵长目动物方式传播。已从多种灵长目动物中分离出 CHIKV 和检测出抗体。1966 年在塞内加尔该病流行时,从非洲绿猴和赤猴中检测出 CHIKV 抗体,其阳性率达 88%。从非洲猕猴、婴猴和狒狒中分离出该病毒。我国云南省也从恒河猴血中检测出病毒抗体。实验表明,用该病毒感染牛、绵羊和马不产生病毒血症。但在云南省从猪、犬、黄胸鼠和臭鼩鼯中检测出抗体,阳性率分别为 4.06%、1.80% 和 18.18%。海南省从野鼠血清中检出 CHIKV 抗体,阳性率为 6.31%。在非洲观察到一些啮齿类、鸟类感染病毒后可产生病毒血症和查出抗体。从 11 种鸟类血清中查出病毒抗体阳性率高达 37.95%。上述结果表明,感染病毒的动物是疫源地内主要贮存宿主和传染源,在病毒的自然循环中起重要作用^[1]。

CHIKV 的传播媒介主要是蚊虫,各地学者已从自然界的多种蚊虫中分离出病毒,人工感染实验也证明 10 余种蚊虫可通过叮咬传播病毒。主要传播媒介是埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)、白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)、非洲伊蚊(*Aedes africana*)、三带喙库蚊(*Culex tritaeniorhynchus*)等蚊虫。

埃及伊蚊是 CHIKV 的主要传播媒介。在坦桑尼亚、塞内加尔、安哥拉、泰国和印度等许多国家,都从自然界捕获的埃及伊蚊中分离到 CHIKV。白纹伊蚊也是主要传播媒介^[8,9],有学者认为白纹伊蚊传播虫媒病毒的能力不及埃及伊蚊,但是有可能经过变异的病毒更适合于在白纹伊蚊体内繁殖,加速了基孔肯雅病传播与流行^[10]。实验证明,白纹伊蚊能感染和传播该病毒,但不同的地理株对病毒的敏感性不同。云南省已从白纹伊蚊中分离到该病毒。非洲伊蚊主要是非洲地区 CHIKV 的主要传播媒介。国外学者已从非洲伊蚊分离到病毒,且发现自然感染率比较高。三带喙库蚊是热带亚热带地区 CHIKV 的主要传播者。泰国曼谷和我国云南省已从三带喙库蚊中分离到 CHIKV。上述 4 种蚊虫是不同地区的主要传播媒介,在我国除非洲伊蚊外,其他 3 种蚊虫都广泛存在,因此必须注意该病毒潜在流行的危险。

基孔肯雅病是一种自然疫源性疾病,它的分布与其传播媒介蚊虫的分布相关。主要分布在非洲、亚洲和美洲热带亚

热带地区。主要流行的地区有乌干达、刚果、津巴布韦、安哥拉、塞内加尔、尼日利亚、印度、泰国、马来西亚、菲律宾、柬埔寨、越南和老挝等。在我国云南省和海南省均从蝙蝠和蚊虫中分离到 CHIKV, 人群抗体调查, 云南省高达 43.78%, 海南和广东省分别为 3.31% 和 0.16%。虽然我国没有暴发或流行的报道, 但 CHIKV 的感染是存在的。

基孔肯雅病流行的季节性与其传播媒介埃及伊蚊和白纹伊蚊等蚊虫的繁殖季节相一致。多发生在气温高雨量多的季节, 主要在 5-10 月份。如 1973 年在印度流行时, 发病高峰主要在 7-10 月份雨季, 旱季较少见。1974 年尼日利亚暴发本病后, 从 6 月份开始流行, 延续至 9 月份开始下降。也有个别地区呈散发病例, 流行季节不明显。

基孔肯雅病最初流行时, 呈暴发和大流行, 后来国外学者观察, 大规模的流行已渐渐消失, 呈散发病例。但近年来由于病毒基因的变异又呈现暴发和大流行^[11-13], 在留尼旺岛的流行是由一种新的病毒变种所引起。目前该病流行的周期性尚难以界定, 有学者报道 6 年流行一次, 也有报道 10~20 年流行一次。基孔肯雅病的流行与生态环境、媒介蚊虫及病毒的变异都有关联^[14, 15]。因此对传播媒介蚊虫的消灭和控制, 做好卫生防病工作, 可以阻止该病的发生与流行。

2. 病原学: CHIKV 属披膜病毒科甲病毒属 (Alphavirus)。根据血清学试验结果甲病毒分为 6 个亚组, 每个亚组含有一个或几个抗原性相近的病毒种。CHIKV 属于西门利克森林病毒亚组 (Semliki forest, SF)。最近, 根据核苷酸序列分析, 甲病毒分为三大组, CHIKV 仍属于 SF 病毒组。

CHIKV 呈球形颗粒, 平均直径 42 nm。它由糖蛋白外壳, 双层类脂膜和含有 RNA 核心的 3 个基本成分组成。病毒基因组为单链正股 RNA, 相对分子质量 (M_r) 为 4.3×10^3 , 沉降系数为 46 s。病毒 RNA 具有感染性, 它的 3' 末端有多聚腺苷酸 (polyA) 尾, 5' 末端有帽子结构。RNA 兼有信使 mRNA 的功能, 具有翻译蛋白的活性。病毒颗粒表面的糖蛋白由 E1、E2 (M_r 约 50 000) 和 E3 (M_r 约 10 000) 蛋白组成。其外膜类脂含量很高。对乙醚和去污剂均十分敏感, 病毒在 56℃ 30 min, 紫外线照射均可完全灭活。

CHIKV 能在 C6/36 细胞、BHK-21、Vero、Hela 细胞和原代地鼠肾细胞中增殖, 可产生典型的细胞病变, 并可产生蚀斑。用上述细胞分离病毒与从乳小白鼠分离病毒同样敏感。

病毒接种 1~4 日龄乳小白鼠很敏感, 潜伏期为 2~4 d, 乳鼠发病后表现拒奶、侧卧、抽搐等脑炎症状致死。病毒可使 1 日龄幼猫、2 日龄大白兔和家兔发病或产生病毒血症。上述的成年动物对病毒不敏感, 但接种病毒后可产生病毒血症及抗体。病毒可感染猴、狒狒和猩猩等灵长目动物。在非洲已从多种灵长目动物中分离出 CHIKV 和检测出抗体。

CHIKV 属甲病毒, 其基因组为单链线形正股 RNA, 长约 12 kb, 其 5' 末端有帽状结构, 3' 末端有多聚腺苷酸序列, 基因组 RNA 单独即可引起完整的复制周期。基因组可分为两个不同的区段, 5' 前端 2/3 部分编码 4 种非结构蛋白, 称为非结构

区; 基因组 3' 末端后 1/3 编码数种结构蛋白, 称为结构区^[16, 17]。靠近基因组 5' 前端 2/3 含有 7600 个核苷酸, 也称 49S RNA。根据蛋白质在基因组的排列顺序称为非结构蛋白 1~4 (nsP1、nsP2、nsP3、nsP4)。基因组 3' 末端后 1/3 部分含有 4100 个核苷酸, 也称为亚基因组 RNA 或 26S mRNA, 编码病毒结构蛋白: 衣壳蛋白 C, 外膜糖蛋白 E1、E2、E3, 另外一个 6 K 蛋白是 E2 蛋白在跨膜序列之后, 含有 33 个氨基酸的信号肽序列。它的主要作用在于其 C 端含有转运 E1 的内部信号。6K 蛋白和 E1 的裂解也是由信号酶完成。

基因组保守序列: 甲病毒基因组核酸序列中具有 4 个完全相同的区域, 称为序列保守区, 一般说来, 在基因组序列愈保守, 在功能上愈重要。目前认为, 甲病毒保守序列在病毒复制过程中发挥启动子的作用, 通过细胞内某种蛋白质结合在这些区域而促进 RNA 的复制。

第一保守区: 基因组 5' 端帽状结构之后 44 个核苷酸, 形成一个带柄的环状结构, 具有启动子功能。第二保守区: 紧接第一保守区, 由 51 个核苷酸组成, 其功能目前尚不清楚; 第三保守区: 在基因组 49S 与 26S mRNA 的接合部, 由 24 个核苷酸组成, 为 26S RNA 的转录启动子; 第四保守区: 在基因组 3' 末端, 其后多为多聚腺苷酸尾, 由 19 个核苷酸组成, 也称为 19 核苷酸保守区。据报道, 以上 4 个保守区序列仅出现在甲病毒或甲病毒样病毒的基因组中, 与其他种属病毒无任何同源性, 因此这些保守序列成为鉴定甲病毒的依据^[18, 19]。

基因组 3' 末端重复序列: 在基因组 3' 末端的核苷酸序列有一般长度在 40~60 碱基的重复序列, 所有的甲病毒都有重复序列, 但其重复序列的长度, 碱基排列的顺序, 重复序列之间的距离以及重复序列距终止密码子的距离都不相同, 但相同病毒不同地理株的病毒却基本一致。因此, 甲病毒基因组的 3' 末端重复序列可作为甲病毒属内鉴定的根据^[1, 20]。

3. 预防措施: 近年来, 在我国云南和海南地区均从蝙蝠和蚊虫中分离到 CHIKV, 并有该病血清抗体调查阳性的报道, 同时我国存在引起该病传播的主要媒介埃及伊蚊和白纹伊蚊。虽然目前我国没有暴发或流行的报道, 但 CHIKV 的感染是存在的。因此必须高度警惕该病的流行和传播。基孔肯雅热的预防主要是控制传染源、传播媒介和提高人群免疫力。由于目前尚无可靠的疫苗和特效的治疗药物, 主要依靠蚊媒控制的办法来预防基孔肯雅热的传播。

在热带亚热带地区, 基孔肯雅热的主要传播媒介为埃及伊蚊和白纹伊蚊。因此其预防措施与登革热相同。主要措施是防蚊、灭蚊, 消灭孳生场所和消灭蚊幼虫。处理无用的容器积水, 清除废弃的积水器物, 如庭园或人居周围的破碎缸罐、陶器及罐头盒等能积水的器物都必须清除。管好使用的储水容器, 这是防止埃及伊蚊孳生的最重要一环。对饮用水缸, 常清洗换水, 合理加盖。堵塞树洞、石穴以防积水。杀灭幼虫可用养鱼灭蚊的方法, 也可采用化学灭幼, 对非饮用储存积水如防火池、防火缸等可用双硫磷、倍硫磷和辛硫磷

等缓释剂处理。对于大量孳生白纹伊蚊的陶器场、废轮胎堆集站和树林等,在积极消灭孳生场所和杀灭幼虫的同时,必要时可采用超低容量喷雾或热烟雾机喷洒以杀灭成蚊。

三带喙库蚊也是 CHIKV 的主要传播者。泰国曼谷和我国云南省已从三带喙库蚊中分离到 CHIKV。三带喙库蚊也是乙脑的主要媒介,因此其预防措施与乙脑相同。重点应搞好环境治理,铲除杂草,清除垃圾,填平污水沟渠等;以消除成虫及幼虫栖息与孳生场所^[21]。

控制传染源非常重要,必须把好国门,加强监测和国境口岸卫生检疫工作,加强流行病学检测,及早发现患者并采取相应的措施,扑灭疫情。目前在我国尚无基孔肯雅病流行的报道,必须防止传染源的传入。尤其东南亚地区基孔肯雅病疫情,警惕华侨和旅游者将病毒带入本地区。

目前其疫苗的研究尚处于实验研究阶段。有 Vero、BHK-21 和鸡胚悬浮培养 CHIKV 而制作的疫苗,其免疫原性均较好,能保护小鼠抵抗同种病毒的攻击。Vero 细胞制作的福尔马林疫苗在易感的志愿者中引起血凝抑制、补体结合和中和抗体反应。Edelman 等^[22]报道应用活的基孔肯雅疫苗(TSI-GSD-218)给 58 名志愿者皮下接种;于接种后 28 d 检测抗体,57 人产生 CHIKV 的中和抗体,阳性率达 98%,接种一年后,仍有 85% 的志愿者抗体阳性。结果表明,这种疫苗有很高的免疫原性和安全性。

2006 年全球的基孔肯雅热病例数接近 200 万。感染有扩大的趋势,发病率不断升高。已经引起严重的公共卫生问题。随着人们对该病的重视和分子病毒学研究突飞猛进,相信不久的将来基孔肯雅病的疫苗能够应用于人群感染的预防^[23,24]。

参 考 文 献

- [1] 方美玉,林立辉,刘建伟.虫媒传染病.北京:军事医学科学出版社,2005:17-233.
- [2] Charrel RN, de Lamballerie X, Raoult D. Chikungunya outbreaks—the globalization of vectorborne diseases. *N Engl J Med*, 2007, 356(8):769-771.
- [3] 励峰,卢洪洲.基孔肯雅热研究进展.国际流行病学传染病学杂志,2007,34(4):240-242.
- [4] Mohan A. Chikungunya fever: clinical manifestations and management. *Indian J Med Res*, 2006, 124(5):471-474.
- [5] Laras K, Sukri NC, Larasati RP, et al. Tracking the re-emergence of epidemic Chikungunya virus in Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2005, 99(2):128-142.
- [6] 方美玉,林立辉.我国热带重要虫媒病毒病的流行病学及综合防治研究.中华流行病学杂志,2003,24(9):839-842.
- [7] 赵春生,白志军,彭翼飞,等.我国南方人鼠虫媒病毒血清流行病学调查.中国公共卫生杂志,2001,17(1):64-66.
- [8] 张云智,张海林,米竹青,等.云南白纹伊蚊感染和传播基孔肯雅病毒的研究.中国媒介生物学及控制杂志,1996,7(2):122-124.
- [9] 张海林,自登云,米竹青,等.云南白纹伊蚊分布特点及与虫媒病毒的关系.中国媒介生物学及控制杂志,2001,12(2):103-105.
- [10] Pages F, Corbel V, Paupy C. *Aedes albopictus*: chronical of a spreading vector. *Med Trop (Mars)*, 2006, 66(3):226-228.
- [11] Mavalankar D, Shastri P, Raman P, et al. Chikungunya epidemic in India: a major public-health disaster. *Lancet Infect Dis*, 2007, 7(3):306-307.
- [12] Hochedez P, Jaureguiberry S, Debruyne M, et al. Chikungunya infection in travelers. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(10):1565-1567.
- [13] Yergolkar PN, Tandale BV, Arankalle VA, et al. Chikungunya outbreak caused by african genotype, India. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(10):1580-1583.
- [14] Schuffenecker I, Iteman I, Michault A, et al. Genome microevolution of Chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *PLoS Med*, 2006, 3(7):e263.
- [15] Parola P, de Lamballerie X, Jourdan J, et al. Novel Chikungunya virus variant in travelers returning from Indian ocean islanes. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(10):1493-1499.
- [16] 金奇.医学分子病毒学.北京:科学出版社,2001:403-428.
- [17] 周国林,梁国栋,李蕾,等.我国分离的甲病毒 YN87448 毒株全部结构区基因核苷酸的序列测定及分析.病毒学报,1999,15(3):205-211.
- [18] Pfeffer M, Proebster B, Kinney RM, et al. Genus-specific detection of Alphaviruses by a semi-nested reverse transcription-polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg*, 1997, 57(6):709-718.
- [19] Pfeffer M, Kinney RM, Kaaden TR, et al. The Alphavirus 3'-nontranslated region: size heterogeneity and arrangement of repeated sequence elements. *Virology*, 1998, 240(1):100-108.
- [20] Hasebe F, Parquet MC, Pandey BD, et al. Combined detection and genotyping of Chikungunya virus by a specific reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Med Virol*, 2002, 67(3):370-374.
- [21] 林立辉,文艺,李萌,等.广东潮州某部登革热、流行性乙型脑炎的监测及综合防治研究.中国媒介生物学及控制杂志,2005,16(2):124-126.
- [22] Edelman R, Tacket CO, Wasserman SS, et al. Phase II safety and immunogenicity study of live Chikungunya virus vaccine TSI-GSD-218. *Am J Trop Med Hyg*, 2000, 62(6):681-685.
- [23] Couderc T, Chretien F, Schilte C, et al. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS Pathog*, 2008, 4(2):e29.
- [24] Laudati F, Zaratti L, Franco E, et al. Chikungunya: a new epidemic for Europe I. s there a new vaccine coming soon? *Ig Sanita Pubbl*, 2007, 63(5):599-600.

(收稿日期:2008-01-10)

(本文编辑:尹廉)