

· 临床论著 ·

吉林省新疆出血热病毒感染的临床研究

张婷 牛俊奇 姜艳芳 王峰

【摘要】 目的 通过检测新疆出血热(XHF)病毒的抗体,了解吉林省是否存在新疆出血热病毒的感染。**方法** 收集吉林大学第一医院传染科出血热病人血清标本(均于入院次日)90份,采用酶联免疫吸附法(ELISA)及间接免疫荧光法(IFA)检测新疆出血热病毒的特异性抗体。**结果** 在90份血清标本中,有12份血清XHF病毒的IgM及IgG抗体检测同为阳性。**结论** 吉林省可能存在新疆出血热病毒的感染,提示其中部分病例可能发生了XHF病毒与汉坦病毒的重叠感染,应重视其防治工作。

【关键词】 新疆出血热;抗体

Clinical study of Xinjiang hemorrhagic fever in Jilin Province ZHANG Ting, NIU Jun-qi, JIANG Yan-fang, WANG Feng. Key Laboratory of Amphixenosis for Ministry of Education, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China
Corresponding author: NIU Jun-qi, Email: junqiniu@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To study whether the Xinjiang hemorrhagic fever (XHF) virus infection exist in Jilin province by detecting its specific antibody. **Methods** The study included 80 male and 10 female patients with fever. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect florescent assay (IFA) were used to detect specific IgM or IgG antibody for diagnosis of XHF. **Results** Among them, 12 positive cases were diagnosed with XHF. **Conclusions** It is possible that there were infection of XHF in Jilin Province. Jilin Province was a possible mixed epidemic area of hantan and XHF viruses.

【Key words】 Hemorrhagic fever; Antibody

新疆出血热(Xinjiang hemorrhagic fever, XHF)是发生在新疆地区的一种病死率很高的蜱传病毒性出血热,国际上则称之为克里米亚-刚果出血热(Crimean-Congo hemorrhagic fever, CCHF)^[1]。新疆出血热主要分布于非洲、中东、东南欧和亚洲的干旱地区,主要见于无树的大平原、半沙漠地带及丘陵地区。多种蜱,尤其是璃眼蜱属是该病的重要传播媒介。在中国,贮存和传播XHF病毒主要是亚洲璃眼蜱和亚东璃眼蜱。其中亚东璃眼硬蜱在吉林地区有大量分布。XHF与硬蜱的活动关系密切,也与蜱的宿主脊椎动物(也是病毒的贮藏宿主)的活动与分

作者单位:130021 长春,吉林大学第一医院传染科人兽共患病教育部重点实验室(张婷 现北京地坛医院工作)

通讯作者:牛俊奇 Email: junqiniu@yahoo.com.cn

布有关^[2]。流行病学分析,该病具有疫源性、散发性、季节性特点。鉴于家畜、鸟类的感染数量增加和范围扩大,疫源地也不断扩大^[3-9]。本文通过对吉林省发热出血病人血清检测 XHF 病毒的抗体,来进一步了解 XHF 病毒在吉林省感染情况。

资料与方法

一、血清

于 2002 年 9 月至 2003 年 10 月间,常规收集吉林大学第一医院传染科出血热患者血清标本(均于入院次日)共 90 份,其中男性 80 例,女性 10 例。年龄 14 ~ 59 岁。分别来自长春市区 25 例、长春市郊区 13 例、九台 10 例、公主岭 8 例、磐石 7 例、农安 7 例、德惠 6 例、伊通 4 例、四平 4 例、乾安 1 例、东风 1 例、白城 1 例、口前 1 例、临江 1 例、靖宇 1 例。

二、抗原

XHF 病毒核蛋白抗原及抗原片均由中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所出血热虫媒病毒室提供。

三、抗体

阳性血清由中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所出血热虫媒病毒室提供。羊抗人 IgM 单克隆抗体、羊抗人 IgG 荧光抗体均由华美公司提供。

四、酶联免疫吸附法检测 XHFV 特异性抗体

ELISA 法:用包被液将纯化的 XHF 病毒核蛋白抗原稀释至 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 包被 48 孔 PVC 微量滴定板, 4℃ 孵育过夜。弃去包被液,洗涤缓冲液洗 5 遍,甩干。将血清用 PBS-T 稀释 100 倍,分别加入反应孔, 0.1 ml/孔。37℃ 水浴 1 h。洗涤缓冲液洗 5 遍,甩干。将 IgM 单克隆抗体用 PBS-T 稀释 100 倍,分别加入反应孔, 0.1 ml/孔。37℃ 水浴 1 h。弃去标记物,洗涤液重复洗 5 次,甩干。加入底物溶液, 0.1 ml/孔。37℃ 避光反应 10 min。加入 4 N 硫酸终止反应。酶标检测仪测定 490 nm 的 A 值(空白对照调零)。待检血清与阴性对照值 $P/N > 2.1$ 判为阳性(阴性抗原对照值小于 0.05 按 0.05 计)(P:阳性抗原孔 A 值;N:阴性抗原孔 A 值)

五、间接免疫荧光法检测 XHFV 特异性抗体

IFA 法:间接免疫荧光法,取抗原片吹干,置于冷丙酮内固定 30 min 后吹干。将阳性、阴性及待检血清用稀释液以 1:20 稀释,分别滴加到斑点内,37℃ 孵育 45 min。用浸泡洗涤 3 次,每次 5 min。吹干后加 IgG 荧光抗体及伊文思兰,再置湿盒 37℃ 30 min,用 PBS 洗 3 次,吹干后镜检。阳性标本判定根据出现特异性的细胞荧光颗粒的多少及荧光亮度的强弱用“+ ~ 3+”表示。阴性用“-”表示。以血清 11:16 稀释“+”以上为阳性。

结 果

一、酶联免疫吸附法检测结果

在检测的 90 份患者血清中 XHFV-IgM 抗体为阳性有 12 份。

二、间接免疫荧光法检测结果

在所检测的 90 份患者血清中 XHFV-IgG 抗体为阳性有 12 份(应用荧光显微镜观察,见图 1),并且与 XHFV-IgM 抗体阳性血清序号相一致。12 份阳性标本中有 5 例(40%)汉坦病毒(HV)IgM 抗体亦为阳性,提示可能发生了 XHFV 与 HV 的重叠感染。

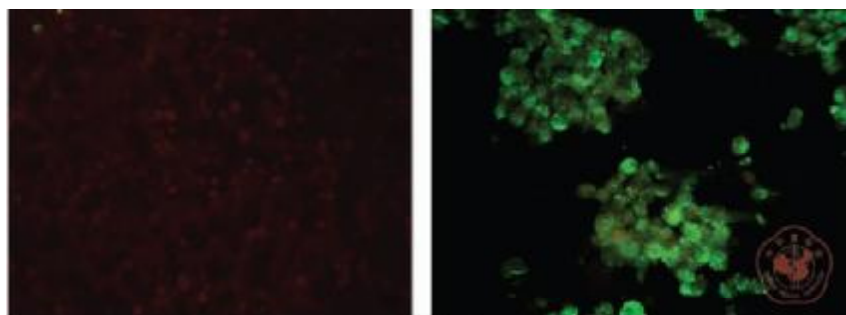


图 1 IFA 法检测病人血清 XHFV 抗体的结果(200 ×)

讨 论

在既往的研究中,关于新疆出血热病毒在吉林省的感染及该病发病、分布情况未见报道。本研究中有 12 份血清 XHFV-IgM、XHFV-IgG 抗体同为阳性。此 12 份病例有以下特点:(1) 12 名患者除长春市 1 例外,其余均为农民;(2) 有 10 例集中在 3 月末至 6 月初发病,其中九台 3 例、长春 3 例、伊通 3 例、德惠 1 例、农安 1 例、公主岭 1 例,长春市 3 例中有 2 例来自周边乡镇,1 例来自市区;(3) 1 例女性,11 例男性,平均年龄 32 岁;(4) 12 份病例均有明显出血倾向,其中有消化道出血占 50%,但无大面积出血或呕血情况,血小板减少者占 91%,其中 4 例血小板低于 $10 \times 10^9/L$,尿潜血阳性 81%;(5) 肝损伤较重,ALT 正常 3 倍以上升高占 72%,ALB 下降达到 63%,均低于正常;(6) 与肾综合征出血热(HFRS)比较,出血表现重,B 超结果显示肾损害相对轻;(7) 病死率为 0。

12 份病例中有 5 例(40%)汉坦病毒(HV)IgM 抗体亦为阳性(吉林大学第一医院检验科报告结果),提示可能发生了 XHFV 与 HV 的重叠感染。XHFV 的生态圈既包括雌性成蜱至幼蜱之间的垂直传播又包括蜱与脊椎动物(野生动物、家畜及鸟类)之间的水平传播,CCHFV 目前已呈世界范围分布^[2,10-13]。在我国 XHF 的自然疫源地主要在西北部,而目前我国正在进行的中西部大开发加速了人员、动物的流动及植被等生态环境的改变,这在很大程度上可能促进 XHFV 的传播。汉坦病毒与新疆出血热病毒宿主繁多,且这些宿主间存在水平与垂直传播,所以感染或寄生相同宿主进而感染人的可能性较大。同时这样小样本高比例的重叠感染率,说明新疆出血热病毒在吉林省的上述地区出现时间已很长。因此我们计划在本省上述发生感染地区,对家畜、鼠类进行带毒情况检测,明确具体的传播途径,相信会有更多发现,为进一步对该病的防治奠定理论基础。

志谢:感谢中国疾病预防控制中心病毒预防研究所杭长寿教授提供 XHF 病毒核蛋白抗原及阳性血清

参 考 文 献

- 1 唐青, Prehaud C, Bouloy M, 等. 新疆出血热 S 基因片段测序和序列分析. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19: 461-465.
- 2 Wilson ML, Gonzalez JP, LeGuanno B, et al. Epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Senegal: temporal and spatial patterns. Arch Virol, 1990, (Suppl 1): 323-340.
- 3 Swanepoel R, Shepherd AJ, Leman PA, et al. Epidemiologic and clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Southern Africa. Am J Trop Med Hyg, 1987, 36: 120-132.
- 4 Schwarz TF, Jager G, Gilch S, et al. Travel-related vector-borne virus infection in Germany. Arch Virol, 1996, (Suppl), 11: 57-65.
- 5 Schwarz TF. Imported vector-and-rodent-borne virus infections-an introduction. Arch Virol, 1996, 11 (Suppl): 3-11.
- 6 Morrill JC, Soliman AK, Imam IZ, et al. Serological evidence of Crimean-Congo haemorrhagic fever viral infection among camels imported into Egypt. J Trop Med Hyg, 1990, 93: 201-204.
- 7 Zeller HG, Gornet JP, Camicas JL. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection in birds: field investigation in Senegal. Res Virol, 1994, 145: 105-109.
- 8 Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, et al. Field and laboratory investigation of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus (Nairovirus, family Bunyaviridae) infection in birds. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1987, 81: 1004-1007.
- 9 Zeller HG, Cornet JP, Camicas JL. Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by West African wild ground-feeding birds to Hyalomma Marginatum Rufipes ticks. Am J Trop Med Hyg, 1994, 50: 676-681.
- 10 Camicas JL, Wilson ML, Cornet JP, et al. Ecology of ticks as potential vectors of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Senegal: epidemiological implications. Arch Virol, 1990, Suppl, 1: 303-322.
- 11 Logan TM, Linthicum KJ, Bailey CL, et al. Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by Hyalomma truncatum Koch. Am J Trop Med Hyg, 1989, 40: 207-212.
- 12 Gordon SW, Linthicum KJ, Moulton JR. Transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in two species of Hyalomma ticks from infected adults to cofeeding immature form. Am J Trop Med Hyg, 1993, 48: 576-580.
- 13 Gonzalez JP, Camicas JL, Cornet JP, et al. Sexual and transovarian transmission of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Hyalomma truncatum ticks. Res Virol, 1992, 143: 23-28.

(收稿日期: 2007-06-28)

(本文编辑: 张维燕)