DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.01.031

从四川地区流行性出血热患者血清中分离病毒及其血清学鉴定

朱德钟 龚式舫 刘启富 胡孟周* 朱元晓 （微生物学教研室）

1978年由Lee等[1]首次分离朝鲜出血热（KHF）病毒成功以后，我国各地流行性出血热（EHF）也相继从患者或宿主动物中分离到EHF病毒[2-7]，为EHF防治研究工作提供了有利条件。四川省为EHF重流行区，宿主动物中已证实有EHF病毒存在[8]，从EHF患者分离病原虽也有消息报告[9]，但未见具体材料。我们于1983年冬从四川南充地区12例EHF患者急性期血清中，以Vero-E6细胞分离到8株病毒，经免疫血清学鉴定为EHF病毒，报告于后。

材料和方法

一、EHF患者双份血清 采自四川南充地区人民医院，经血清学确诊为EHF患者的急性期血清用为病毒分离标本。

二、细胞 Vero-E6细胞系由军科院李钟铎主任惠赠。

三、EHF病毒免疫血清 （一）陕西陈株（陕陈）血清由四医大汪美先教授惠赠；（二）安徽陈株（皖陈）和KHF76-118株血清由安徽省医科所倪大石教授惠赠。

四、呼肠病毒1-3型血清（Reo1-3）由302医院吴慎主任惠赠。

五、健康人及其他病种患者血清 由本校附院传染科和血库供给。

六、EHF病毒抗原片 由军科院李钟铎主任提供HF8205株感染细胞滴片。

七、间接免疫荧光（IFA）检测法 按李氏报导[10]。

八、病毒分离培养和检测法 按李氏[6]报导。

结果和讨论

一、病毒分离

12例EHF患者急性期血清分别接种E6细胞分离到8株病毒（阳性率为66%）。分离阳性结果最早出现于第2代，也有晚至第6代。阳性标本IFA检测可见在E6细胞浆内呈散在颗粒状荧光，这种特异性荧光细胞随传代数递增而增多，某些毒株其荧光颗粒可融合成片状（图1～4）。

二、新分离病毒的血清学鉴定

8株新分离病毒命名为HFN-02，-04，-05，-08，-19，-29，-34及-35。任选其中2株（HFN-02和-34）的第8代病毒感染细胞制成抗原片，以IFA检测法进行下列血清学鉴定：

（一）用HFN-02和-34株病毒检测患者双份血清：结果两例患者的恢复期血清对所分离的病毒均有4倍以上的抗体增高反应，且其抗体滴度与军科HF8205株EHF病毒抗原片检测结果完全相同。

（二）用HFN-02和-34株病毒与军科HF8205株EHF病毒抗原片平行检测其他EHF患者双份血清：结果10例其他EHF患者恢复期血清对上列三株病毒均有4倍以上的抗体增高反应，表明了HFN-02和HFN-34株病毒与军科HF8205株EHF病毒的抗原性一致。

（三）用HFN-02和HFN-34株抗原片检测其他病种患者血清、Reo1-3多价血清以及健康人血清：检测了钩体病（5例）、乙型肝炎（3例）、流感（4例）、Q热（2例）患者血清，Reo 1-3型血清以及健康人血清（23例），结果全部阴性（<1:20）。

（四）HFN-02和-34株病毒与EHF、KHF病毒的抗原关系：结果如表1，表明新分离的病毒与国内各地的EHF毒株以及KHF76/118株在抗原性上相一致。

（五）吸收试验：将HFN-02和-34株病毒感染的和正常的E6细胞刮下，吹散并离

*昆明军区防疫大队进修生

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

表1 新分离病毒与EHF、KHF病毒免疫血清的IFA检测结果

病毒抗原片	EHF免疫血清IFA抗体效价倒数		
	陕陈株	皖陈株	KHF76/118株
HFN-02	320	640	1280
HFN-34	320	640	1280
军科8205	320	640	1280

表2 HFN-02和-34株病毒对EHF免疫血清及患者血清的吸收试验

病毒抗原片	吸收细胞	正常和感染E6细胞吸收后血清IFA抗体效价倒数		
		皖陈株	KHF76/118株	-34患者血清
HFN-02	正常 E6	640	1280	320
	-02感染 E6	40	40	20
HFN-34	正常 E6	640	1280	320
	-34感染 E6	40	40	20

心沉淀后，细胞沉渣中分别加入1:20稀释的皖陈株、KHF76/118株及－34患者血清各1 ml，混匀置4 ℃吸收过夜，并离心沉淀后取上清测定抗体效价。结果如表2所示，两株EHF病毒免疫血清和－34患者血清经正常E6细胞吸收后，并不影响血清中IFA抗体效价，但经HFN－02和－34株感染细胞吸收后，则其IFA抗体效价非常明显下降，进一步证明它们之间抗原的一致性。

综上结果，充分表明新分离的HFN-02和-34等8株病毒为流行性出血热病毒，为我国EHF病毒抗原分析和疫苗选株研究工作提供了有利条件。

（承蒙南充地区人民医院邢光辉院长、四医大汪美先教授、安徽省医科所倪大石教授以及军科院李钟铎主任的帮助，特此一并致谢！）

参考文献

1. Lee HW, et al. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. J Infect Dis 1978; 137:298
2. 宋干，等。流行性出血热病原学研究。中国医学科学院学报 1982; 4(2):73
3. 宋干，等。从轻型出血热疫区的褐家鼠分离到流行性出血热有关的病原因子。微生物学报1982; 22(4):373
4. 李钟铎，等。用Vero-E6细胞从病人血中分离流行性出血热病毒的研究。中华流行病学杂志1983; 4:198
5. 倪大石，等。从病人血清中分离的一株流行性出血热病毒的鉴定。中华医学杂志 1983; 63:65
6. 朱智勇，等。由浙江疫区黑线姬鼠获得的流行性出血热病毒R_2株的初步鉴定。中华微生物学和免疫学杂志 1983; 3(2):73
7. 向近敏，等。流行性出血热患者急性期血清中分离病毒及其理化性和血清学鉴定。湖北医学院学报 1985; 6(1):1
8. 谢运菊，等。四川省流行性出血热病毒的首次分离和鉴定。四川医学 1984; 5(1):2
9. 陈立礼，等。我省首次从长尾𪓟睛、褐家鼠、黄胸鼠以及流行性出血热（EHF）患者血清中分离出EHF病毒。四川医学 1985;6(4):223
10. 李钟铎，等。病毒免疫荧光染色中的细胞滴片技术。中华流行病学杂志 1982; 3(6):3

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

从四川地区流行性出血热患者血清中分离病毒及其血清学鉴定

（正文见第92页）

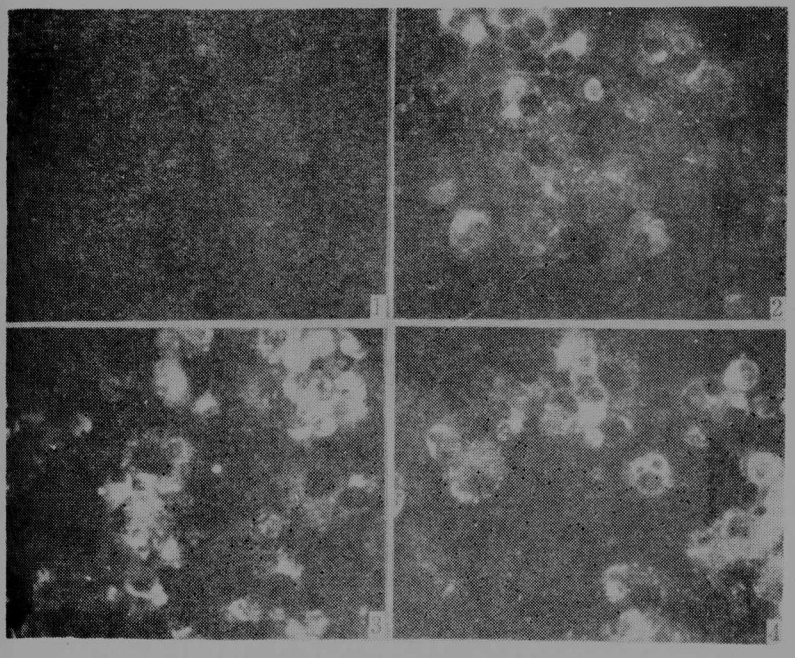


图1　正常E_6细胞与患者恢复期血清(1:80) IFA染色

图2　HFN-02株感染E_6细胞与患者恢复期血清（1:80）IFA染色

图3　HFN-02株感染E_6细胞与皖陈株免疫血清（1:80）IFA染色

图4　HFN-02株感染E_6细胞与汉坦76/118株免疫血清(1:80) IFA染色

原发性心包间皮瘤一例报告

（正文见第103页）

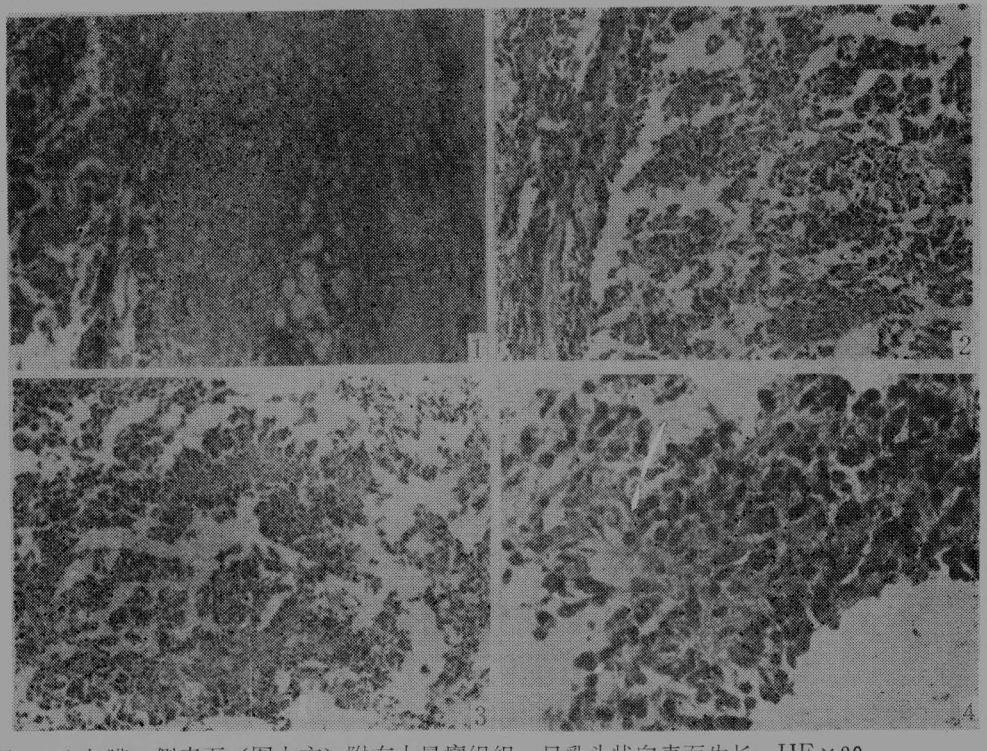


图1　心包膜一侧表面（图上方）附有大量瘤组织，呈乳头状向表面生长。HE×80

图2　图4放大主要显示瘤组织。

图3　显示瘤组织呈乳头状生长，乳头表面为单层或复层瘤细胞，乳头中心含血管之纤维组织。HE×200

图4　瘤组织放大，呈长梭形，短梭形或多形边，胞浆少，边界不清楚，胞核深染。HE×790

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n