

流行性 出血热 防治手册

《流行性出血热防治手册》编写组 编

人 民 卫 生 出 版 社

BU46/03

87
R512.8
16
3

流行性出血热防治手册

《流行性出血热防治手册》编写组 编

宋 干 主 编

宋 干 汪诚信 姜克俭
陈化新 张成文 于丹萍 编写

人 民 卫 生 出 版 社



B 381619

流行性出血热防治手册

《流行性出血热防治手册》编写组 编

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)

北京市卫顺排版厂印刷
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 11%印张 4插页 256千字
1987年7月第1版 1987年7月第1版第1次印刷
印数: 00,001—15,000

ISBN 7-117-00372-3/R·373 定价: 2.45元

统一书号: 14048·5583

前 言

流行性出血热是我国重点防治的疾病之一。近年来疫区扩大，发病数急剧增多，已成为一个全国性的重要的公共卫生问题。本病的危害，不仅表现在病死率较高，威胁着广大劳动人民的生命健康，而且由于它主要发生在野外作业的青壮年，还直接影响我国的农业生产、经济开发、基本建设以及国防施工，严重影响我国的四个现代化建设。近年来，由于发现并证实了家鼠型出血热的存在和流行，它已开始威胁到许多大、中城市、港口及旅游地区，影响我国的国际交往、贸易往来和旅游事业。全国发病数，50年代以百计，60年代以千计，70年代以来已发展为以万计，1985年发病总数已超过10万。全国平均病死率，尽管已从1971年的12.78%下降到目前的3%左右，但个别高的地区，仍在10%以上。在我国，本病已成为除病毒性肝炎外，危害最大的一种病毒性疾病。

本病最早发现在驻扎在我国东北北部的日本侵略军中。据日本军方1941年的报告，在当时100万侵华日军中，发病1万人，病死率高达30%。在当地居民中也有散发病例。建国初期，发现的病例尚少。1955年内蒙古大兴安岭林区和陕西秦岭北坡筑路工人中暴发本病流行后，开始引起重视，被列为法定报告疾病。其后不几年时间，在整个东北及华东、华中、华南、西北和西南广大农业地区，陆续证实有出血热的发病或流行。70年代起，疫区进一步扩大；1981年在河南和山西一些地区证实有家鼠型出血热的流行后，发病地区和发病数

进一步增多。1981年我国分离到出血热病毒，使本病的研究和防治进入一个迅速发展的新时期。本病的病原学、流行病学、发病机理、临床以及有关防治措施的研究取得了一批重要成果，为本病的防治提供了科学依据。但是，从分离到病毒迄今时间不长，有关本病的传播途径、发病机理、疫苗及特效治疗药物等问题，尚待进一步研究解决。

本手册是根据1985年卫生部出血热专题委员会扩大会议的决定，在新修订的“流行性出血热防治方案”的基础上，充实内容，并在总结我国多年防治本病经验的基础上，吸取国内外近年来最新研究成果，进行编写的。重点放在适合基层医疗卫生单位和防治现场应用的预防措施、诊断和治疗方法上；除着重介绍具体的防治措施和技术方法外，对有关本病的基础知识也作了简要介绍。全书内容较新，技术方法较全面、具体，便于实际应用。本书可作为各级卫生防疫人员和临床医务人员工作的指导，也可作为对基层医务人员进行培训的基本教材，并可供各级卫生行政领导开展对本病的防治工作和医学院校进行有关教学的参考。

卫生部防疫司、中国预防医学科学院、卫生部流行性出血热专题委员会及人民卫生出版社的领导对编写本书给予了大力支持和帮助；在编写过程中，国内不少专家提出了宝贵的修改意见；在审改书稿时，安徽省卫生防疫站、徽州地区卫生防疫站的领导和有关同志给予支持和帮助；中国预防医学科学院葛继乾同志，人民卫生出版社韩丽中同志等在本书的编辑、出版的组织工作上做了大量具体工作，谨在此一并致以衷心的感谢！

由于时间较短，编写人员的知识经验有限，缺点和不足之处在所难免。热诚希望使用本书的广大医务人员及有关专

业人员对本书提出批评和建议，以便再版时补充修改，使之更能适应实际工作的需要。

编写组

1987年3月

目 录

第一篇 概论	1
第1章 病原学.....	1
第2章 流行病学.....	22
第3章 病理变化与发病机理.....	34
第4章 临床表现.....	47
第二篇 预防	77
第5章 流行病学调查.....	77
第6章 监测.....	97
第7章 一般性预防措施.....	107
第8章 宿主动物及其防制.....	127
第9章 媒介螨类及其防制.....	171
第三篇 诊断和治疗	177
第10章 临床诊断.....	177
第11章 实验室诊断.....	189
第12章 治疗.....	247
第13章 临床监护.....	289
第14章 出院条件, 劳动力安排及随访.....	303
附录1 流行性出血热防治方案(试行).....	306
附录2 流行性出血热实验室安全制度和操作 规程.....	322
附录3 我国与流行性出血热有关鼠种简易检 索表.....	327
附录4 流行性出血热流行病学调查、监测及	

	资料分析参考用表·····	330
附录 5	流行性出血热临床常用检验正常值·····	349
附录 6	灭鼠药中毒的急救·····	357
附录 7	成人每日水与电解质(钾、钠)出入量·····	361
附录 8	常用溶液电解质含量·····	362
附录 9	英文名词缩写字检索表·····	363

第一篇 概 论

第 1 章 病 原 学

1.1	绪言	2
1.2	生物学性状	2
1.2.1	敏感的细胞培养	2
1.2.2	实验动物模型	3
1.2.3	病毒在宿主体内的定位和靶细胞	4
1.3	免疫学性状	7
1.4	形态学性状和结构	8
1.5	生化性状和结构	11
1.6	单克隆抗体	12
1.7	疫苗研制	13
1.8	实验治疗	15
1.9	实验诊断和研究技术	16
1.9.1	酶免疫试验技术	16
1.9.2	空斑技术	18
1.9.3	中和试验	18
1.9.4	血凝抑制试验 (HI)	19
1.9.5	反向被动血凝 (RPHA) 及反向被动血凝抑制	19
1.10	展望	20

1.1 绪言

流行性出血热 (Epidemic hemorrhagic fever, EHF) 是肾综合征出血热 (Hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS) 的一种。HFRS 是世界卫生组织推荐的统一命名。但它是一种综合名称, 包括发生在亚洲的 EHF (在中国、日本称 EHF), 在朝鲜称朝鲜出血热 (Korean hemorrhagic fever, KHF), 在苏联曾称出血性肾病肾炎 (Hemorrhagic nephrosonephritis, HNN) 及发生在欧洲的流行性肾病 (Nephropathia epidemica, NE)。1976 年李镐汪等分离到 KHF 病毒 (现称 Hantaan 病毒, 汉坦病毒), 1981 年我国分离到类似的 EHF 病毒。这一病原学研究上的重大突破, 促进了本病科研和防治工作的高速度发展。在病原学上, 阐明了本组病毒的基本生物学和理化性状, 找到了一些可供分离培养用的敏感细胞系统和某些实验动物模型, 建立了一些新的特异性病原学和血清学方法。通过国内外广泛的对不同来源 HFRS 病毒株的抗原性比较分析, 已证明本组病毒有 4 种以上抗原性明显不同的血清型 (表 1-1), 并根据对其形态学和生化结构特征的研究结果, 确定它是布尼亚病毒科 (Bunyaviridae) 的一个新属, 称为汉坦病毒属 (Hantavirus)。

1.2 生物学性状

1.2.1 敏感的细胞培养

最先找到的是两种传代细胞: A549 (人肺癌) 及 Vero E₆ (绿猴肾) 细胞。这两种细胞培养都曾成功地用来分离病毒, 而 Vero E₆ 细胞已成为目前分离和培养本组病毒

应用最广的细胞。为了研制疫苗，在我国先后找到几种对 EHF 病毒敏感的正常细胞培养，包括 2BS（人胚肺二倍体细胞）、RL（大白鼠肺原代细胞）、地鼠肾细胞（GHK）、鸡胚成纤维细胞（CEC）及长爪沙鼠肺、肾细胞等。其中大白鼠胚肺（REL）、CEC、GHK 及沙鼠肾细胞曾被用于本病灭活细胞培养疫苗的研制。

1.2.2 实验动物模型

最早用于本病病毒分离和实验研究的是从非疫区捕捉的黑线姬鼠。用连续传代法将 Hantaan 病毒（76~118 株）适应到大白鼠，建立了第一个感染实验动物模型，已在有限的动物实验（实验治疗研究等）中应用。朱智勇等先后找到长爪沙鼠和家兔两种敏感动物，都属短程自限性无症状感染，其潜伏期亦较短（一周左右）。长爪沙鼠接种病毒 4 天后开始在其肺组织查见病毒抗原，5~7 天达高峰，通常于 10~14 天后消失。抗体于接种后 8 天查见，14 天达高峰。长爪沙鼠乳鼠感染后产生一种全身性感染，病毒抗原广泛分布于各种脏器，持续时间达 60 天，抗体产生较晚，部分感染动物产生肢体麻痹而死亡。家兔接种病毒后 4 天出现持续数日的病毒血症，从第 7 天起可从其脾、胰、肠及唾液腺查到病毒抗原，但在其肺、肝、肾组织中仅偶然查到抗原。病毒抗原高峰在第 8~9 天，随抗体出现及增多，病毒抗原急剧减少，约在第 15 天消失。这两种动物都可用于分离病毒。由于其感染过程与人感染后短暂的自限性疾病过程相似，对研究本病的发病机理可能有一定用途。蔡方等报道了第一个致病动物模型，即 2~4 天新生小白鼠。病毒接种后引起全身弥漫性感染，病毒抗原广泛分布于全身各种脏器组织，并可引起

规律性的发病和死亡，已成功地用于病毒的分离；用于繁殖高滴度的病毒，提供诊断抗原及研制疫苗用的毒种材料；并被用于研究不同来源病毒株的毒力及测定研制中疫苗的效力及安全性。姚楚铮等新近报道，采用4周龄金黄地鼠腹腔内1次注射200mg/kg环磷酰胺，48小时后注射病毒悬液，7~9天后动物发病：耸毛、蜷曲、活动减少，反应迟钝，一天内死亡。各脏器病变特点是：血液循环障碍和血管损害引起的血管扩张、充血、出血和浆液渗出，以肾脏和肺脏最严重；实质器官的变性、坏死，在肾、肝、脑组织中极为严重；炎症细胞浸润不明显。由于地鼠受病毒感染后不产生特异的细胞毒T淋巴细胞反应，在抗病毒感染中起作用的是NK细胞和由ADCC介导的K细胞，与人体的免疫特点有相似之处，可能是研究EHF的一种有用的致病动物模型。

为了阐明本病的发病机理，寻求特效治疗药物及研制疫苗，都迫切需要找到一种感染后能产生类似人的EHF发病过程的动物模型。目前多在灵长类中进行研究，尚无肯定结果。国外在14种新、旧世界的灵长类中发现猕猴和黑猩猩于接种HFRS病毒(PHV)后可有规律地出现短暂的蛋白尿，病毒血症，偶见氮质血症。用NE病毒(Hällnäs株)感染2只猕猴，有一只产生了短暂的蛋白尿。在日本，用刚断奶的猕猴脑内接种HFRS病毒后，观察到一些类似人类疾病的病理改变，但亦未观察到临床症状。

1.2.3 病毒在宿主体内的定位和靶细胞

EHF病毒在宿主动物体内的分布，成年动物限于少数脏器，而新生动物则多表现为全身弥漫性感染。与自然宿主

鼠类（黑线姬鼠、褐家鼠等）病毒抗原首先和主要见于肺脏不同，家兔感染后，病毒抗原主要见于脾脏。除朱智勇等发现感染黑线姬鼠脾脏经常能查到 EHF 病毒抗原外，国内外报道多不能从此动物脾脏查见抗原，但大白鼠及长爪沙鼠感染后经常能在其脾脏查到病毒抗原。关于病毒攻击的靶细胞，黑线姬鼠肺组织内病毒抗原见于肺泡上皮细胞的胞浆内。李法卿等曾用直接免疫荧光法在病人急性期血液白细胞及感染动物（黑线姬鼠）血液白细胞内发现 EHF 的相关抗原。近年北京病毒所与沈阳市传染病医院合作，证明应用单克隆抗体免疫荧光结合物检查 EHF 病人早期血液白细胞中特异性抗原，有助于本病的早期诊断。病毒抗原多见于单核细胞及淋巴细胞，颗粒白细胞亦能查见特异性病毒抗原。近年又有人从病人骨髓细胞中查见 EHF 病毒抗原，并分离到病毒。证实本病病毒抗原在患者病程早期存在于血液白细胞，包括巨噬细胞、淋巴细胞及颗粒细胞，还涉及造血系统的骨髓细胞，这对阐明本病的发病机理有重要意义。新生小白鼠脑内接种 EHF 病毒后，引起全身性感染，病毒抗原遍及各脏器组织，原始感染靶细胞为小血管及毛细血管内皮细胞。脑组织的病理改变为出血、神经原退化及坏死，神经胶质细胞增生，单核细胞浸润。肺脏有间质性肺炎及出血，肾有间质性肾炎、肾髓质充血、出血。国内几个实验室的工作，证实了这一研究结果。

李平佑等观察到，大白鼠接种 EHF 病毒后，10~13 天出现病毒血症，10~14 天在其唾液腺及唾液中查见病毒，肺内亦开始查到病毒，但感染后 7~63 天之间从尿及粪便标本中未能查到感染性病毒。断奶鼠肌肉接种病毒后，还能在胰、脾、肝、肾、颌下腺有规律地查到病毒抗原。接种后

21、30、41 及 50 天时，约 2% 肺泡巨噬细胞可查见病毒抗原，21 天时从巨噬细胞查病毒感染滴度为 $10^{5.5} \text{ID}_{50}/\text{ml}$ 。断奶鼠感染后对正常非接种鼠的水平传播见于接种病毒后 35~63 天之间。此与从唾液排出病毒的时间(第 10~14 天)相距较远。

Yanagihara 等报道，Puumala 病毒(Hällnäs 株)在驯化的欧洲棕背鼯的实验感染中的表现，与 Hantaan 病毒在黑线姬鼠中所见相似。感染后 10~14 天出现病毒血症，14~28 天从口咽分泌物及 35~103 天从粪便中查到病毒，但从尿中不能有规律地查到病毒，而且病毒量少。14 天时开始在肺脏上皮及肺泡巨噬细胞中查见病毒抗原，35~50 天时最强，270 天仍能查见。14~270 天时于肝脏枯否氏细胞及内皮细胞中查见抗原，14~63 天时于脾脏巨噬细胞中查见抗原，28~95 天于小肠查见抗原，14~28 天时在唾液腺。21~50 天时于胰腺、查见抗原。而在肾脏、肾上腺及淋巴结则均为阴性。5~8 天乳鼠于感染后 35~270 天时查见相似的病毒分布。脑组织中病毒抗原见于神经原及胶质细胞中。乳鼠感染后同成鼠一样，无症状，亦无组织病变产生。笼内水平传播见于接种病毒后 14~28 天，与从唾液排毒时间吻合。

对 EHF 病毒在病人体内的定位及靶细胞，尚未见到系统的研究报道。用免疫荧光法检查死者脏器组织中的病毒抗原，未发现有规律的阳性结果。苏先狮曾从一尸检肾脏提取并证实有 EHF 病毒抗原。杨为松等报道，在患 EHF 的一孕妇流产死婴肺、肝、肾中查见 EHF 病毒抗原并分离到病毒。张小留等新近报道，应用双桥 PAP 酶染色法对 14 例 EHF 尸检病人各脏器进行病毒抗原的定位研究，

发现每例均能检出病毒抗原的脏器有脑、肝、心、肺、肾、肾上腺和胸腺等，病毒抗原量也较多；部分病例检出病毒抗原的脏器有脾、淋巴结（尤其肺淋巴结）、胰、甲状腺、甲状旁腺、扁桃腺、胃、小肠和骨髓等。阳性病毒抗原颗粒主要见于小血管和毛细血管内皮。有病毒抗原分布的细胞往往发生病变。有病毒抗原分布的小血管和毛细血管在各脏器中极为常见，而有些脏器仅在血管内皮细胞有病毒抗原存在。这表明血管内皮细胞可能为 EHF 病毒感染的原始靶细胞，与在乳小白鼠实验感染观察到的结果一致，应进一步采用高度敏感特异的检查方法研究 EHF 病毒在病人体内的定位及靶细胞，以便为阐明本病的发病机理提供依据。

1.3 免疫学性状

从血清学上已证明，Hantaan 病毒与其它出血热病毒间无血清学关系，与布尼亚病毒科已知 4 个属的病毒亦无血清学联系。根据对不同国家不同宿主来源的 HFRS 病毒株的抗原性分析，亚洲地区的流行性出血热与欧洲地区的流行性肾病患者血清的免疫荧光反应存在有明显的差别，流行性肾病患者血清具有对流行性出血热病毒抗原的部分单向交叉反应，但中和试验和阻断试验无交叉。国外根据空斑减少中和试验的结果，曾将 HFRS 病毒分为四型，即 Hantaan 型，大鼠型、流行性肾病型、草原田鼠型。此外，还有一种血清学反应介乎 Hantaan 型和流行性肾病型之间的中间型。EHF 病毒分属 Hantaan 型（野鼠型）和大鼠型（家鼠型）两个血清型。免疫荧光抗体反应不能区分这两个血清型，但交叉中和交叉阻断试验可查见其间有明显的抗原性差异。宋干等发现，野鼠型疫区患者血清及野鼠型 EHF

病毒 A₀ 株的抗血清可中和 A₀ 株和家鼠型病毒 R₂₂ 株, 但家鼠型疫区患者血清和家鼠型病毒 R₂₂ 株的抗血清对野鼠型病毒 A₀ 株则没有或很少有中和抗体反应。阻断试验和 ELISA 法检查, 亦均证明这两株不同型病毒间存在有明显的抗原性差异。何浩等对不同来源 EHF 病毒以其相应抗血清进行交叉中和试验, 根据其反应结果将各毒株区分为三型: I 型 (野鼠型) 包括 Hantaan 病毒, 76-118 株, 陈株, ALC₉₆ 株, A₃ 株; II 型 (家鼠型) 包括 R₂₂ 株; III 型包括 H₈₂₀₅ 株, L₉₉ 株。I 型抗体对 II 型病毒具有对 I 型病毒相同的中和效价, II 型抗体则对 I 型病毒的中和抗体滴度低于对 II 型病毒的 4 倍, 而 III 型抗体兼有部分对 I 型和 II 型病毒的交叉反应性。日本学者用 IAHA 法证明几株大鼠型病毒抗血清对 Hantaan 病毒 (76-118 株) 抗原有明显的单向交叉反应, 与我国查见的是一种相反方向的单向交叉。

1.4 形态学性状和结构

1976 年分离到 Hantaan 病毒后, 国内外进行多年研究, 未能在特异性免疫荧光颗粒致密的感染组织和培养物内查见 EHF 的病毒形态, 曾一度成为国际上的一个难解之谜, 也曾一度被错认为是呼肠孤病毒或类环状病毒。直至 1982 年, McCormick 等及 White 等用密度梯度超离心法提纯并浓缩感染细胞培养中的病毒, 经负染在电镜下观察到少数类似布尼亚病毒形态的病毒颗粒, 为圆球形或卵圆形、有包膜的颗粒, 平均直径为 92.5~95nm, 但未在感染细胞内查见该病毒的形态。用负染电镜技术对 Hantaan 病毒与布尼亚病毒 4 个属病毒代表株的毒粒进行比较观察, 发现

每属病毒都有其特有的表面结构，而 Hantaan 病毒独具含格子样形态亚单位的表面结构，是以前在其它动物病毒从未描述过的。

1983 年洪涛等对我国首次分离的经典型（野鼠型）及轻型（家鼠型）EHF 病毒株进行研究，发现并从免疫学上证实了我国 EHF 病毒的形态，并在国际上第一次在感染细胞内观察到特异性病毒的形态。8 株不同来源和不同细胞培养繁殖的病毒颗粒的形态特征相同，轻型和经典型 EHF 病毒的形态大小一致。EHF 病毒的形态特征是（图 1-1A）：圆形或卵圆形，由双层膜包裹着比较疏松的颗粒线状的内浆所组成，平均直径为 122nm（78~210nm），较经典的布尼亚病毒为大，其大小波动范围也较大，而其内部的颗粒状结构也较粗大（有时类似砂粒病毒）。病毒在细胞浆内繁殖时，可产生较多的特征性的包涵体（图 1-1B），而包涵体有三种不同的形态：①丝状或丝状颗粒包涵体，分布于感染细胞的胞浆基质中，常靠近细胞核，数量多，可呈圆形、肾形或多形性，系由无数纤细的微管呈晶格状排列而成。包涵体附近的细胞器有明显的变化（溶酶体聚集、线粒体增多和空胞化变性）；②松散颗粒包涵体，体积小，溶合于胞浆基质中，由无数电子致密的小颗粒组成。附近的细胞也有变化（聚合核糖核蛋白体大量增生，在增生和扩大的内质网的内壁上，可见出芽增殖的 EHF 病毒的早期形态；③致密包涵体，体积较大，数量少，多见于细胞外，电子密度大，颗粒细小，并融合成均质状，周围常见大量成熟病毒颗粒和病毒相随颗粒。边缘处可发现一些病毒的雏形。包涵体的出现是本组病毒感染细胞后的一个重要的形态学特征，布尼亚病毒科的其它属的成员在其感染细胞内不产生此种特征性的大量包涵