

中国预防医学科学院年报

ANNUAL REPORT

CHINESE ACADEMY OF PREVENTIVE MEDICINE

川大医学院图书馆
图书

集藏部

1985

中国预防医学科学院

中国预防医学科学院

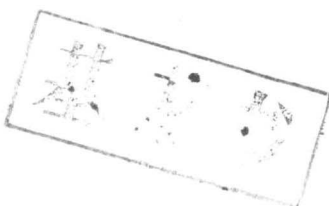
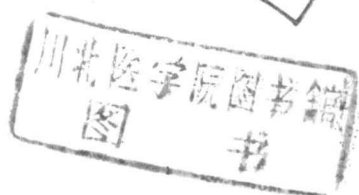
年 报

1985

0179660



A0142982



目 录

第一部分 成果 (共27篇)

血吸虫病治疗药物研究·····	(1)
抗疟新药磷酸咯萘啶·····	(2)
吡喹酮治疗日本血吸虫病合理剂量的探讨·····	(3)
我国抗氯喹恶性疟的地理分布及其抗性程度·····	(4)
伯氏鼠疟原虫对咯萘啶的抗药性研究·····	(5)
黄淮平原疟疾防治对策研究——改良环境减少人蚊接触控制传染源的综合措施 防治疟疾的实验研究·····	(6)
人 α D型基因工程干扰素的研制·····	(7)
新轮状病毒的发现及其与成人流行性腹泻病因学关系的研究·····	(9)
用酶免疫法检测细胞培养病毒的研究·····	(10)
烟草花叶病毒单克隆抗体杂交瘤细胞株的建立·····	(12)
乙型肝炎病毒母婴传播及其疫苗阻断研究·····	(12)
高碑店污水系统病毒污染情况的检测·····	(13)
成人腹泻轮状病毒——ELISA检测方法的建立和应用研究·····	(14)
中国鼠疫自然疫源地的发现与研究·····	(15)
半胱氨酸处理血清诊断布鲁氏菌病的研究·····	(17)
食物中有机氯农药残留及其毒性研究·····	(18)
烯丙基氯 (氯丙烯) 卫生标准及慢性中毒诊断标准的研究·····	(19)
农村自来水工艺系统和净水构筑物的调查与卫生学评价·····	(20)
我国农村自来水用水量调查·····	(20)
粪便无害化卫生标准的研究·····	(21)
KC-8301可吸入颗粒物采样器的研制·····	(22)
锥形空腔式热辐射校正装置及MR-I型辐射热计·····	(24)
动压平衡型等速烟尘测试仪的研究·····	(25)
辐照主副食品人体试食试验·····	(27)
辐照蘑菇人体试食试验·····	(28)
生产性粉尘作业危害程度分级·····	(28)
城市住宅居室容积卫生标准研究·····	(29)

第二部分 论著 (共210篇)

寄生虫学

血吸虫病·····	(31)
疟疾·····	(37)
丝虫病·····	(40)
黑热病与囊虫病等·····	(41)

中间宿主和传播媒介.....	(43)
病毒学	
肿瘤.....	(45)
流行性感冒.....	(50)
肝炎.....	(56)
流行性乙型脑炎.....	(57)
流行性出血热.....	(60)
腹泻.....	(65)
单纯疱疹.....	(68)
麻疹 痘苗病毒 腺病毒.....	(70)
干扰素及其它.....	(71)
流行病学和微生物学	
流行性出血热 登革热.....	(75)
鼠疫.....	(76)
流行性脑脊髓膜炎 布鲁氏菌病.....	(78)
军团菌 弯曲菌.....	(79)
立克次体.....	(81)
杀虫 灭鼠.....	(81)
卫生学	
食品卫生.....	(85)
营养卫生.....	(87)
环境卫生.....	(97)
劳动卫生和职业病.....	(108)
放射医学和防护.....	(117)
第三部分 书文摘要和它 (共110篇)	
寄生虫学.....	(119)
病毒学.....	(120)
流行病学和微生物学.....	(128)
卫生学.....	(133)
书籍和其它.....	(138)

CONTENTS

Part 1. Achievement

Studies on the Chemotherapy of Schistosomiasis.....	(147)
A New Antimalarial Drug Pyronaridine.....	(147)
Optimum and Practical Dosification of Praziquantel in the Treatment of Schistosomiasis Japonica.....	(149)
The Geographical Distribution of Chloroquine Resistant Falci- parum Malaria and the Extent of Resistance in China.....	(149)
Studies on Delaying the Emergence of Resistance to Pyronatidine Phosphate in <i>Plasmodium berghei</i>	(150)
Integrated Approach in Malaria Control Including Environmental Management and the Reduction of Human Mosquito Contact and Human Infection Source in Huang Huai Plain.....	(151)
Preparation of Human Interferon α D (Hu IFN- α D)	(152)
Waterborne Outbreak of Adult Diarrhea in China Caused by A Novel Rotavirus.....	(153)
Studies on Enzyme Immunoassay for Detection of Viruses on Infected Cells.....	(154)
Studies of Monoclonal Antibodies (McAb) Against Tobacco Mosaic Virus (TMV)	(156)
Prevention of Perinatal Transmission of HBsAg of Carrier Mothers to Infants by Using Plasma Derived HBsAg Vaccine.....	(156)
Study of Viruses Comtaminated in Gaobeidian Waste-water System...	(157)
Development of ELISA for Detection of Adult Diarrhea Rotavirus (ADRV)	(158)
Study of the Natural Foci of Plague in China.....	(159)
Study on Treatment Serum with Cysteine for Diagnosis in Brucellosis.....	(159)
Studies on Organochlorine Pesticide Residues in Foods and Their Toxicity.....	(159)
Investigation on the Hygienic standard for Allyl Chloride and the Diagnostic Criteria and Principles of Management of Occupational Chronic Allyl Chloride Poisoniog.....	(161)
Investigation and Sanitary Evaluation for Technological System and Structures for Purifying Water of Drinking Water Supply in Rural Areas.....	(162)
Investigation Tap Water Consumption in Rural Areas of China.....	(162)

Sanitary Standard for the Non-hazardous Treatment of Night Soil.....	(163)
Developing an Inhalable Particles Sampler.....	(163)
Conical Blackbody Calibrotion Device for Determing Rediant Intensity and MR-I Radiometer.....	(164)
The Development of Isokinetic Dust Sampler by Balancing two Diffe- rential Heads of Pitot Tube and Oriffice.....	(164)
A Feeding Trial of Diet Mainly Composed of Irradiated Foods in Hu- man Volunteers.....	(165)
A Feeding Trial of Irradiated Mushroom in Human Volunteers.....	(166)
Classification of Hazard Levels due to Exposure to Industrial Dusts.....	(167)
Study on Sanitary Standard for Room Volume of Dwelling House.....	(167)

Part 2. Treatise

Parasitology.....	(168)
Virology.....	(190)
Epidemiology and Microbiology.....	(230)
Hygienics.....	(240)
Radiological Medicine and Protection.....	(282)

Part 3. Abstract etc

Parasitology.....	(284)
Virology.....	(285)
Epidemiology and Microbiology.....	(293)
Hygienics.....	(297)
Monographs etc.....	(300)

血吸虫病治疗药物研究

寄生虫病研究所 胡玉琴 邵葆若 符 遂 等

治疗日本血吸虫病的酒石酸锑钾曾沿用了半个多世纪。60年代起,我国创造的口服新抗血吸虫药逐步取代了静注的酒石酸锑钾。但是这些药物疗效不够好,毒副反应又较重,因此无一致的公认的首选药。1977年西德杂志刊出吡喹酮(EMBAY8440, Praziquantel)有广谱抗血吸虫作用。我们根据文献上的化学结构式,着手研制这个药物。我们以异噻啉为原料,经Reissert反应、催化氢化、水解、环己甲酰化、氯乙酰化及环合等六步反应,于同年11月底合成了吡喹酮。当年12月的药理试验证实了自制的吡喹酮实验治疗日本血吸虫病效果很好。随即与上海市第六制药厂合作,进行中试的合成研究。在1978年内用“后水解”合成路线制备了kg吡喹酮供实验与临床研究。所谓“后水解”路线乃从异噻啉出发,经Riessert反应与氢化后,即氯乙酰化、环合,然后再水解与环己甲酰化。

我们用自制的吡喹酮进行了一系列的疗效与毒性实验。感染鼠一次灌胃吡喹酮300mg/kg,减虫率达72.3%。感染兔一次灌胃60mg/kg,减虫率94%以上,肌注60mg/kg(溶于PEG400)减虫率高达99.9%。用总剂量60mg/kg的1—2天疗法治疗9只犬,均获治愈,7只寄生虫学治愈。疗效确证后,又用小鼠、兔、犬及正常猴进行毒性实验。小鼠一日三次分服的LD₅₀为 3.15 ± 0.41 g/kg,一次口服的LD₅₀为 2.18 ± 0.34 g/kg。兔静注20mg/kg或肌注60mg/kg无明显反应。犬一次服100mg/kg的超治愈剂量无明显反应。2只正常猴鼻饲34mg/kg tid×1,1只100mg/kg tid×2,其进食与活动均无异常,EKG与SGPT也均无明显变化。组织学检查仅见肝、肾、胃及膀胱有轻度浮肿或炎症。上述种种实验结果证明吡喹酮毒性低,治疗日本血吸虫病疗程短及疗效高。

从1978年7月第1期临床试验至同年12月,共收治慢性血吸虫病634例,其中伴有各种夹杂症者15例。疗法为总剂量45~60mg/kg,疗程1~2天。其中210例作了国产吡喹酮片与西德吡喹酮片的疗效与反应的比较。结果,总剂量60mg/kg的2天疗法治毕6月的粪检阴转率高达99%。国产片的疗效和反应率与西德片无统计学差异。所有受治病人均耐受良好。1979年1月基层单位鉴定会认为吡喹酮治疗日本血吸虫病的疗效远远超过其他抗血吸虫药,而吡喹酮所致的不良反应最轻。

协作单位:上海第六制药厂,上海医科大学附属华山医院,上海第二医科大学附属瑞金医院,浙江省吡喹酮会战组。

[五篇论文刊登于中华医学杂志,60(3):129,133,137,142,146,1980]

(本项研究于1985年获国家科学技术进步二等奖)

抗疟新药磷酸咯萘啶

寄生虫病研究所 郑贤育 刘德全等

60年代初,由于抗氯喹恶性疟的出现,控制恶性疟已成为世界性的棘手问题。因此,寻找与氯喹无交叉抗药性的抗疟新药非常迫切。

根据一些抗疟药结构与疗效的关系,我们合成了一种新化合物,代号7351,定名磷酸咯萘啶(pyronaridine phos-phate),简称咯萘啶(pyronaridine)。

咯萘啶的合成是以 α -氨基吡啶为原料,经过硝化、水解、氯化、甲氧基化及还原反应,制得5-氨基-2-甲氧基吡啶,此中间体与2,4-二氯苯甲酸缩合,生成2-甲氧基-5-(2-羧基-5-氯苯胺基)吡啶,再环合成2-甲氧基-7,10-二氯苯并[b]-1,5-萘啶,继而与对-氨基苯酚缩合后,制得2-甲氧基-7-氯-10(4'-羟基苯胺基)-苯并[b]-1,5-萘啶,再进行Mannich反应,生成的产物与磷酸结合,得磷酸咯萘啶,化学名为2-甲氧基-7-氯-10-[3',5'-双(四氢吡咯-1-甲基)-4'-羟基苯胺基]苯并[b]-1,5-萘啶四磷酸盐。

单剂量的咯萘啶对伯氏鼠疟原虫的ED₅₀口服为 $6.8 \pm 1.4 \text{ mg/kg}$,肌肉注射为 $4.97 \pm 0.65 \text{ mg/kg}$,氯喹分别为 45.6 ± 6.2 及 $30.89 \pm 5.8 \text{ mg/kg}$ 。口服对抗氯喹伯氏原虫的抗性指数为0.99~1.11,说明与氯喹无交叉抗药性。咯萘啶对猪尾猴疟原虫、食蟹猴疟原虫及诺氏猴疟原虫的疗效均不低于氯喹。咯萘啶与磺胺多辛(sulfadoxine)及乙胺嘧啶合并给药时,治疗感染猪尾猴疟原虫,有增效作用。

口服咯萘啶对小鼠急性毒性的LD₅₀为 $1369.0 \pm 239.0 \text{ mg/kg}$,肌肉注射为 $250.6 \pm 33.1 \text{ mg/kg}$;氯喹则分别为 663.4 ± 76.7 和 $89.7 \pm 34.0 \text{ mg/kg}$ 。肌注咯萘啶对兔、狗的急性毒性及口服对狗、猴的急性毒性都明显比氯喹对照组低。口服咯萘啶对大鼠、狗和静脉滴注对兔的亚急性毒性以及静脉注射对麻醉兔和狗的心血管系统的毒性,都明显低于氯喹对照组。咯萘啶仅对TA1537株有突变性;无致畸性;对大鼠的三代生殖及雄性小鼠精细胞均无明显影响;无光毒作用。

咯萘啶对伯氏疟原虫敏感株,首先是破坏滋养体的复合膜和食物泡;对抗氯喹株首先是破坏滋养体的复合膜。这些不可逆的变化,最终导致杀虫。

咯萘啶在实验动物体内吸收较快,用³H-咯萘啶给小鼠灌胃,药物浓度以肝中最高;24小时内放射性物随尿排出约21%,粪中排出约33%。

咯萘啶经本所工作人员试用证明安全后,先在海南岛和云南现场治疗疟疾,以后又与各有关省的医疗卫生单位协作,收治恶性疟及间日疟千余例,包括抗氯喹恶性疟和脑型疟,很快控制症状,全部病例都退热,原虫全部转阴。临床应用的口服总剂量成人一般为 24 mg/kg ,分2天3次或3天4次服用;肌肉注射和静脉滴注总剂量均为 6 mg/kg 分2次给药,间隔6小时。口服对间日疟的平均退热时间和原虫消失时间分别为24及48小时左右;对恶性疟的平均退热时间一般为30余小时,平均原虫转阴时间一般为50余小时;对脑型疟的平均退热和原虫转阴时间分别为46及77小时。静脉途径给药的效果与口服途径相似,肌注比口服疗效略快。治疗后追踪观察1个月,原虫复燃率约为10%。药物副反应轻,主要是胃肠道反应,均可自行

消失。部分病例经血、尿、血压及心电图等检查,未见异常。

咯萘啶与磺胺多辛及乙胺嘧啶等药物合并应用,可以提高治疗恶性疟的效果,减少原虫复燃。

咯萘啶与伯氨喹合并口服,采用短疗程,可以用于根治间日症,效果满意。

[全文刊登于药学报, 14(12):736, 1979;17(2):118, 1982]

(本项研究于1985年6月获国家发明三等奖)

吡喹酮治疗日本血吸虫病合理剂量的探讨

寄生虫病研究所 陈名刚 华湘津 王鸣杰 许隆祺 余长葆
安徽省东至县血吸虫病防治站 蒋寿柏 王梦成 王学贵

吡喹酮治疗血吸虫病国内常用总剂量60mg/kg,疗程一日或二日,其效果甚为满意。总剂量40、45、50mg/kg一日疗法的疗效,据不同作者的报道,分别为90.7%、97.6%和100%,各作者同时与对照组60mg/kg一日疗法或二日疗法作比较,结果无显著差别,表明合理的治疗剂量和疗程尚有待研究。为此,我们采用双盲法,在同一地区平行比较了总剂量60、50、40与30mg/kg,2次分服一日疗程治疗日本血吸虫病的疗效,以期从中得出适宜剂量,供防治工作者参考。

材料和方法

一、治疗对象:400例患者均来自安徽省东至县七里湖管理区(该地属血吸虫病重流行区),其中男性250例,女性150例。年龄6~64岁,内15岁以下儿童85例。农村居民398例,工人2例。除14例为晚期外,余为慢性早期患者。

二、药物:采用上海第十一制药厂1984年出品的吡喹酮,安慰剂外形同吡喹酮,由该厂惠赠。

三、治疗方法:患者均住院治疗。按成人与儿童分层后,再随机分配至总剂量60、50、40与30mg/kg各剂量组。4组人数分别为100、101、100与99例,其中儿童分别为21、22、21与21例。疗程均为一日,分2次于半空腹时服药。全部患者均服相当于总剂量60mg/kg之药片。总剂量不足60mg/kg者采用安慰片补足。

四、观察项目:治前至治毕2天内逐日记录症状。每组11例于治前及治毕次日作心电图观察。治毕6个月用尼龙袋集卵孵化法三送三检进行疗效考核。

结果

一、疗效 治毕6个月复查394人,占受治患者的98.5%。粪检阴性296例,阴转率75.1%。

1.不同剂量组的疗效:第1、2、3、4组粪检阴转率分别为79.8%(79/99)、71.7%(71/99)、78.8%(78/99)与70.1%(68/97)。四组间的疗效无显著性差异($P>0.05$)。

2.不同村庄的疗效:各村间的疗效差别很大。学校机关及燕窝村的疗效分别高达100%

与95%，有4个村的疗效为82.9~92.5%，其余4个村的疗效仅50.0~68.7%。村庄间粪检阴转率不一的原因可能为治疗后经过夏秋易感染季节才进行疗效考核，有的村附近钉螺仍较多，有重复感染机会。将10个村(单位)按螺情分为两组，其中钉螺甚少，重复感染机会较少(但不能排除外出感染)的地区粪检阴转率为87.7%；而生活在钉螺较多的村，重复感染机会较多，其粪检阴转率仅59.2%，两者差异非常显著($P<0.01$)。

3.成人与儿童的疗效：第1、2、3、4组成人患者的粪检阴转率分别为84.6% (66/78)、77.9% (60/77)、83.3% (65/78)与74.0% (57/77)；儿童患者分别为61.9% (13/21)、50% (11/22)、61.9% (13/21)与55% (11/20)。各组成人与儿童的疗效差别非常显著($P<0.01$)。再按上述感染机会的多少分成两组进行比较，较少发生重复感染地区成人粪检阴转率为87.8% (165/188)，儿童为87.5% (28/32)，两者无显著差异；而钉螺较多，易发生重复感染地区成人粪检阴转率为68.0% (83/122)，儿童的仅38.5% (20/52)，差异极为显著($P<0.01$)。

二、药物副作用：400例均按期足量完成治疗。药物副作用以头昏(25~36%)、腹痛(17~22.8%)、恶心(7.9~15%)与腹胀(5.9~11%)为多见，一般不严重。第1、2、3、4组的无反应率分别为43%、43.6%、45%与44.4%，各组间无显著差异。心电图描记44例，除第2组1例治毕出现偶发房性早搏外，余无明显变化。

上述结果表明，吡喹酮总剂量30或40mg/kg一日疗法的疗效并不显著亚于总剂量60mg/kg的疗效。因此，在大规模的治疗时，可考虑用较低的剂量(40mg/kg)，以节省费用，减少反应，并对30mg/kg、2次分服的疗法进一步观察，与其他剂量组作系统比较，积累更多数据，以确定其实用价值。

〔全文刊登于寄生虫学与寄生虫病杂志，3(4):251, 1985〕

(本项研究于1985年7月通过鉴定，建议为卫生部二级成果，已报部待批)

我国抗氯喹恶性疟的地理分布及其抗性程度

寄生虫病研究所 刘德全 邱持平 刘瑞君 任道性

1979~1984年在粤、桂、滇、黔、闽、苏、皖、豫八省(区)协作下，开展了我国恶性疟原虫对氯喹的敏感性调查，调查统一用世界卫生组织标准地段试验的延长法及体外微量测定法进行。体外法所用的涂氯喹测定板、冰冻干燥培养液，均由我所统一制备供应。五年来八省(区)共测定423例。体内法测定结果，海南岛调查4个县，测定90例，各县均发现有抗氯喹病例，有抗性者74例(82.2%)，其中Ⅲ级抗性占35.1%。云南省调查4个县155例，抗性占74.2%，其中位于缅甸边境的瑞丽县测定18例，全部有抗性，Ⅲ级抗性占50%，勐海县50例中49例有抗性，Ⅲ级抗体22.0%，与老挝交界的勐腊县测定50例，抗性48例，Ⅲ级抗性35.4%；滇中新平县37例全部为敏感。广西西部田东县测23例，12例呈Ⅰ级抗性，西南部凌云县14例均为敏感。贵州望谟和荔波二县测18例，均为敏感，三都县13例中2例为Ⅰ级抗性。安徽来安县舒城县测定20例均有抗性。河南淮滨县测定37例，其中3例为Ⅰ级抗性，固始县15例均为敏感。江苏省六合县测定3例，盱眙县5例均对氯喹敏感。福建崇安县测

定2例,1例为I级抗性。体外微量法测定结果,海南岛6个县测定120例,抗性113例(94.2%),云南4个县测定88例,抗性75例(85.2%),广西2个县测定27例、抗性21例(77.8%),贵州3个县测定33例,抗性12例(36.4%),安徽2个县测定22例,全部有抗性,河南9例,3例有抗性,江苏12例,5例有抗性。各省(区)体外法获得的ED₅₀($\times 10^{-6}$ M/L)海南岛为1.2,云南1.1,广西0.7,河南0.6,贵州0.5,安徽0.5,江苏0.5,ED_{99.9}云南为85.7,海南岛29.5,安徽18.6,广西13.8,江苏3.5,贵州3.1,河南2.2。用两种方法平行测定230例,结果基本一致。总的来看体外微量法测定结果中各地抗性病例所占百分率高于体内法,显示体外法较体内法敏感。

上述结果表明我国海南岛和云南省南部有高度抗氯喹恶性疟存在;广西南部、安徽中部的恶性疟已对氯喹产生抗性,但抗性程度低于海南岛与云南;河南,贵州及江苏的恶性疟对氯喹的抗性尚处于初始阶段;福建省因测试病例数太少,不足以说明问题。

〔全文刊登于寄生虫学和寄生虫病杂志,44(2),1986〕

(本项研究于1985年8月通过鉴定,建议为卫生部二级成果,报部待批)

伯氏鼠疟原虫对咯萘啶的抗药性研究

寄生虫病研究所 邵葆若 叶秀玉

许多地区的恶性疟原虫对氯喹等常用抗疟药已出现程度不等的抗性,严重影响了疟疾的控制,因此对新药应采用合理的给药方案以防止或延缓疟原虫对新药产生抗性。

鉴于抗咯萘啶的伯氏疟原虫对氯喹、喹哌、吡咯喹、阿的平等有交叉抗性,对磺胺多辛(SPM')及乙胺嘧啶(PM)敏感,国外已用数药配伍方案保护新抗疟药,因此进行了咯萘啶(PND)、SDM'、PM三药联用延缓疟原虫产生抗药性的观察。

伯氏疟原虫ANKA株每代血传转种时,小鼠分组ig PND 4 mg/kg,SDM' 5 mg/kg及PM1mg/kg。各组的第1代受药物作用后不能全部转阴,红细胞感染率(EIR)分别下降94.5%,56.7%及99.8%。各组转种加药压至第31~34代均出现低度抗药性。如每代转种时小鼠ig三种药的较低剂量(PND 2mg/kg,SDM' 1mg/kg,PM0.5mg/kg),第1代用药后3天原虫血症全部转阴。至第34代,原虫对三药联用的敏感性仍未明显下降,4/5鼠的原虫血症转阴,平均EIR下降99.8%。这表明三种药的低剂量联用能有效地延缓疟原虫出现抗药性。这种联合用药方案值得临床应用。但是,感染伯氏疟原虫的小鼠血传转种时,如每代交替igPND 4 mg/kg及氯喹27mg/kg,并不能延缓抗药性的出现。

郑浩同志参加部分工作

〔四篇论文刊登于药学报,17(8):566,1982

中国药理学报,4(4):269,1983

中国药理学报,6(3):183,1985

中国药理学报,7(5):463,1986〕

(本项研究于1985年10月通过鉴定,建议为卫生部二级成果,报部待批)

黄淮平原疟疾防治对策研究

——改良环境减少人蚊接触控制传染源的综合

措施防治疟疾的实验研究

寄生虫病研究所 刘吟龙 吴开琛 贾家祥 蒋伟康
何菊菊 潘嘉云 罗曼珍 王克安

我国黄淮平原系以中华按蚊为传疟媒介的间日疟流行区,自50年代以来,随着农田水利建设和大规模扩种水稻,生态环境发生了变化,致使中华按蚊密度增加,加之群众缺少防蚊设备,住房矮小无后窗,夏秋人们普遍露宿,大大增加了人蚊接触的机会,传染源得以扩散积累,于1960年和1970年先后两次发生大面积的间日疟暴发流行。经采用全民治疗和预防服药措施(即“两全”措施),疟疾迅速下降。但一旦停止“两全”,疟疾即回升,表明单纯的防治传染源措施,不能从根本上控制疟疾。80年代初,黄淮平原的疟疾仍处在不稳定状态,其病例数占全国病例数的一半以上。因此,寻找从根本上控制黄淮平原疟疾的对策,就成为我国疟疾防治中急待解决的关键课题之一。

我们经过调查研究,根据疟疾传播动力学的原理,认为当地疟疾不稳定的根本原因是中华按蚊的媒介能量明显升高。因此,降低中华按蚊媒介能量,是从根本上控制当地疟疾的关键所在。根据中华按蚊的生态习性、传疟作用和农村经济的具体条件,提出了“改良环境、减少人蚊接触、控制传染源的综合措施”的防治对策。自1980~1985年在一个乡(26,000人)的范围进行了试点。

整个研究分为三个阶段:1980年为预备阶段,收集各项基础材料,采用与前几年相同的防治措施;1981~1982年为降低媒介能量、全面控制传染源阶段,普遍使用蚊帐,牲畜偏诱,住房开后窗,改变露宿习惯,同时采用“两全”措施;1983~1985年为进一步控制疟疾和效果观察阶段,停用“两全”措施,除继续改良环境搞好防蚊外,加强对发热病人的血检和疟疾病人的及时治疗。结果,人群用蚊帐率从1970年的70.0%上升为1985年的93.8%,露宿率则从23.0%下降为4.6%,平均每顶蚊帐受防护人数由3.1人减少为1.7人。1980~1985年,每年血检发热病人的人次占总人口的40.6~69.3%。疟疾病人从发病至就诊血检的时间平均为2天。疟疾发病率1980年为18.08%,1981~1985年依次下降为5.13%、1.53%、0.67%、0.23%和0.045%,5年累计下降了99.8%。其中1983~1985年停用“两全”措施后,疟疾仍持续稳定下降,与1976~1980年间停用“两全”后疟疾的连年回升形成了鲜明对比。有疟疾病人的生产队的百分比由1980和1981年的100%依次下降为89.9%、73.1%、37.8和9.0%。传播季节100天疟疾增长速率(增长倍数)由1980年的29.14倍,依次下降为18.71、14.40、10.40、5.0和2.02倍。人群疟原虫率(每年10月)从1980年的1.84%依次下降为0.99%、0.34%、0.25%、0%和0%。人群疟疾荧光抗体阳性率由1980年的71.5%依次下降为42.6%、20.0%、

19.8%、12.0%和4.5%。昆虫学的评价结果表明,使用蚊帐后中华按蚊的叮人率比不用蚊帐减少50%以上。试点区内中华按蚊人血指数已降至较低水平(0.05以下)。观察表明,当人群用蚊帐率从66.2%上升至86.8%,露宿率从18.4%下降为3.7%时,中华按蚊的人血指数下降84.8%,叮人率下降16.0%,媒介能量则下降87.2%。充分显示了减少人蚊接触对降低中华按蚊媒介能量发生的明显作用。

在试点研究过程中,始终把疟疾防治与农村卫生、新农村建设紧密结合。连续6年冬春改良环境,挖大塘138口(养鱼)填小坑3000多个,平整土地580亩,建沼气池1350个,建自来水(可供6000余人饮用)等,85%的农户建了新住房,改良了环境,提高了健康水平。

在五十年代,世界卫生组织提出了以滞留喷洒为主要措施的“疟疾根除规划”,其灭疟过程是:首先阻断传播,然后清理和治疗遗下的病例,并在限定的时间内根除疟疾。这一策略在以野栖或半家栖蚊种为媒介的地区不能奏效。七十年代初,世界卫生组织补充提出了“疟疾控制规划”把根除的目标改为控制,但主要措施仍是滞留喷洒。我们的对策是针对半家栖的中华按蚊为媒介的间日疟流行区,其灭疟过程是:在疟疾较严重时,以“两全”措施迅速控制,同时加强防蚊,降低媒介能量;当发病率降至1%左右时,继续搞好防蚊,同时加强发热病人管理,进一步控制传染源,以巩固发展已取得的效果,使发病率进一步下降;然后再通过一段时间的监测最终消灭疟疾。可以认为这一实验研究丰富了疟疾防治的理论和实践。

协作单位:江苏省血吸虫病地方防治领导小组办公室,

徐州市卫生局、卫生防疫站,邳县卫生局、卫生防疫站,岱山乡卫生院

〔全文尚未发表〕

(本研究于1985年12月通过鉴定,建议为卫生部一级成果,报部待批)

人 α D型基因工程干扰素的研制

病毒学研究所 侯云德 周建华 张智清 杨新科
中国科学院上海生化所 刘新垣

人干扰素系人细胞的一类诱生性蛋白,具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节活性。近十多年来的临床研究已经表明,干扰素对某些病毒病和恶性肿瘤有明显疗效。然而,天然人干扰素大都用人血白细胞制备,来源困难,价格昂贵,不可能推广使用。本文采用基因工程方法,从干扰素mRNA的高效诱生、cDNA合成、基因克隆及鉴定、cDNA结构测定、高效表达、产品纯化、多肽N端部份序列测定以及实验室小试生产流程,使大肠杆菌发酵生产人 α D型基因工程干扰素获得成功,具备了中试条件。

本研究首先建立了人脐血白细胞——NDV(鸡新城疫病毒)的干扰素高效诱生系统,比当时国际上报道的产量高约4倍;采用非洲鲫鱼卵母细胞(或非洲爪蟾卵母细胞)微量注射法测定干扰素mRNA活性,发现在上述干扰素诱生系统中,干扰素mRNA在诱生后7~9小时达高峰,用寡(dT)纤维素层析提取聚(A)RNA,经5~20%蔗糖密度梯度

纯化干扰素mRNA, 每1.0 μ gRNA可得6,000单位干扰素; 上述部分纯化的干扰素mRNA经逆转录酶合成cDNA, 经碱处理去除mRNA模板后, 再用逆转酶合成第二条链, 用S1核酸酶去除发夹, 用PBR322在Pst1位点处经寡dG—寡dC接连, 建立了cDNA库。经一系列生物筛选确定P8218插入有 α 干扰素基因的全序列, 再用P8218携带 α 干扰素基因为探针再选出一系列干扰素基因阳性质粒。经酶谱分析及部分DNA序列分析证明P8218上携带的人 α 干扰素基因属 α D型其5'端至HaeⅢ的长度为78个核苷酸; 人 α D型干扰素CDNA的全长为0.95Kb。

以P8218为探针进一步证明, 我国人二倍体(HF)细胞染色体DNA中有大约10个 α 干扰素基因拷贝。

然后, 经一系列基因操作, 先使人 α D型干扰素基因置于lac启动子下游, 建成PBV114, 取其1.1kb的HaeⅢ片段插入PKC30的Hpa1切点处; 建成PBV867, 这样人 α D型干扰素基因在PL启动子的控制下, 经过TGATG序列, 直接高效表达非融合的人 α D型干扰素。采用TGATG序列表达非融合蛋白这在国际上是首次。进一步又证明, ATG—TGATG起始方法表达的水平10倍于单一ATG起始方式。PBV867去除nic基因以及不必要的区段, 建成PBV181, 使拷贝数增加3倍, 产量比PBV867提高5倍; 又把SV40DNA HindⅢB片段置于PBV181中PL启动子上游, 建成PBV1, 产量又提高7倍, 每升菌的平均产量为2~5mg, 略高于国际上的同类水平。SV40DNA HindⅢB片段具有原核表达增强作用也是国际上首次发现。大肠杆菌产生的干扰素, 经硫酸铵沉淀、酸处理、CM—22柱层析、干扰素单克隆抗体亲和层析, 可纯化至电泳均质, 经N端头5个氨基酸序列测定证明大肠杆菌生产的干扰素确系完全的人 α D型干扰素。纯化人 α D型干扰素的生物、物理化学性质为: 分子量19,500道尔顿; 等电点pH6.15; 每mg人 α D型干扰素在人细胞上的活性为 1.9×10^7 国际单位; 在MDBK细胞上的活性为 2×10^8 国际单位。PBV867经实验室转化200代, 干扰素产量不变同时, 建立了实验室小试生产(10升以下)的工艺流程。人 α D型基因工程干扰素是我国“六·五”期间最早完成的基因工程项目。

〔成果论文刊登于: 中国医学科学院学报, 6(5):327, 1982

中国医学科学院学报, 6(1):1, 1984

中国医学科学院学报, 6(6):398, 1984

遗传学报, 11(2):147, 1984

科学通报(英文版), 29:842, 1984

微生物学报, 24(3):205, 1984

中华微生物学和免疫学杂志, 5(2):69, 1985

中华微生物学和免疫学杂志, 5(3):133, 1985

病毒学报, 1(3):278, 1985

病毒学报, 1(4):295, 1985〕

(本项研究于1985年9月获卫生部医药卫生甲级成果奖)

新轮状病毒的发现及其与 成人流行性腹泻病因学关系的研究

病毒学研究所	洪涛	陈广牧	王长安	方肇寅	赵同兴
兰州市卫生防疫站	姚恒礼				
黑龙江省卫生防疫站	孟庆海				
锦州市卫生防疫站	张学谦				
青岛生建机械厂医院	刘兆瑞				
阜新市卫生防疫站	梁晓光				
江西省医学科学研究所	邓水生				

近年来我国东北、西北、华东、华南等十多个省市相继暴发流行了一种以成人为主的流行性腹泻。此种传染病来势凶猛、传播迅速, 1982~1983年发病人数达数十万, 严重影响人民的健康, 使工农业生产蒙受重大损失。为了弄清其病因, 本室在有关单位共同协作下, 先后奔赴七个疫区, 在流行病学调查的基础上开展了病因学研究, 发现了一种新的轮状病毒, 确定了这种新轮状病毒与成人流行性腹泻的病因学关系, 为防治本病做出了贡献。

一、新轮状病毒的发现

1. 在95% (101/106) 的病人粪渣切片中电镜观察到典型轮状病毒形态, 其平均直径为70nm±, 本病毒在粪便上清液中往往衣壳破坏, 残留病毒核心呈直径为50nm±的小圆颗粒状。

2. 本病毒不具有普通轮状病毒的组抗原, 与检测普通轮状病毒抗原的ELISA药盒及RPHA药盒呈阴性反应; 以普通轮状病毒为代表抗原进行CF和RPHA抑制试验, 未能测出病人血清中普通轮状病毒抗体有4倍升高。

3. 病毒核酸电泳分析表明, 本病毒的基因组是由11个分节段的双链RNA组成, 其电泳带的分布模式与典型的以及报道过的轮状病毒皆有明显区别, 其7、8、9片段明显分开。

4. 具有独特的流行病学特征, 普通轮状病毒主要感染婴幼儿, 引起散发性秋冬季腹泻, 而本病毒主要侵袭成年人, 造成大规模暴发流行, 季节性不明显, 临床症状比较严重。

根据国际上区别新轮状病毒的标准, 该病毒是一个完全新的轮状病毒。

二、病因学关系的确定

1. 用病人粪便中提纯的轮状病毒作为抗原与病人的双份血清做补体结合试验, 其中47% (21/45) 的病人恢复期血清呈补体结合抗体4倍以上升高, 而24例正常对照血清中只有2例 (10%) 有低滴度的抗体。

2. 免疫电镜实验显示病人粪液中的轮状病毒明显地被恢复期病人血清所凝集, 而不被急性期血清凝集。

3. 细菌学检验结果排除了包括霍乱弧菌、沙门氏菌、痢疾杆菌、空肠弯曲菌及致病性大肠杆菌的病因。

4. 志愿者实验感染证明该新轮状病毒引起同样症状的成人流行性腹泻、患者大便中存在大量同样病毒、5 例中 3 例患者双份血清补体结合抗体呈 4 倍以上升高。确证该新轮状病毒是引起大规模暴发流行的成人腹泻的病因。

鉴于国际上至今尚未发现以侵袭成人为主的腹泻病毒, 因此本发现引起国际病毒界很大重视, 国外同行纷纷来信争相要求协作, 其中轮状病毒命名人 T. H. Flewett 和 M. A. McCrae 两教授的实验室重复了我们的病毒基因组电泳分析结果, 验证了我们的发现。1984 年 9 月第六届国际病毒大会特邀请洪涛教授出席作详细报告, 并将该新轮状病毒命名为成人腹泻轮状病毒 (ADRV)。

目前我们又完成了该成人腹泻轮状病毒在人群和动物中的血清流行病学调查, 提示动物可能是人类暴发流行的贮存宿主。为临床需要研究出多种快速诊断方法, 如免疫电镜、核酸电泳、对流免疫电泳、ELISA 药盒、菌体协同凝集试验等, 以及制备了 ADRV 单克隆抗体。另外与国外协作克隆了病毒基因组, 并从分类学上明确了该成人腹泻轮状病毒为非典型轮状病毒 B 组的一员。进一步的研究仍在继续。

[全文刊登于: 中华微生物学和免疫学杂志, 4 (1): 1, 1984

The Lancet, 8387: 1139, 1984]

(本项研究于 1985 年 12 月获卫生部医药卫生甲级成果奖)

用酶免疫法检测细胞培养病毒的研究

病毒学研究所 张永和 郝文芳 田仲文 葛继乾 王逸民

这一新方法能够直接检出微量细胞培养中的病毒抗原, 省去了常规 ELISA 中浓缩与提纯病毒抗原的繁琐步骤, 代之以将病毒直接接种于感染细胞加以检出的方法。它除了可用于检测抗体外, 还具有常规 ELISA 所做不到的四种新用途:

(1) 病毒新分离株的鉴定; (2) 病毒感染力的滴定; (3) 抗病毒药物的筛选; (4) 基因工程研究中检测真核细胞表达的病毒抗原。本方法一般可用肉眼判定结果, 不需特殊仪器, 具有简便、快速、特异与敏感等优点。

在病毒鉴定方面, 用白纹伊蚊 C6/36 细胞培养从三带喙库蚊分离的 35 株虫媒病毒, 经本法鉴定, 其中 20 株为流行性乙型脑炎病毒。另鉴定从脑炎病死者脑组织分离的病毒一批, 亦全部为本病毒, 同免疫荧光法和蚀斑中和试验的结果完全一致。

经过药品生物制品检定所肖泽帅等在其他十种虫媒病毒的研究证明, 本方法的特异性远高于常规 ELISA: 即本方法用多克隆抗体 (小鼠免疫腹水) 检测, 对三种甲病毒的鉴别具有种特异性, 对七种黄病毒的鉴别具有亚组 (种群) 特异性, 其特异性与蚀斑减少中和试验相当。

本方法还可应用于其他病毒, 包括狂犬病固定毒细胞培养适应株, 单纯疱疹 I 型及呼吸道融合细胞病毒等。特别是狂犬病固定毒的研究与疫苗生产中, 因缺少简便的体外滴定病毒的方法, 目前国内外仍常规沿用鼠脑法进行滴定。已证明本法同鼠脑法滴度一致, 有可能取代鼠脑滴定法。另外, 在滴定乙脑、Murray Valley 脑炎及 Kunjin 三病毒时, 本法同蚀斑法的滴度也是一致的, 这些都表明本方法滴定是准确的。

用本方法作病毒滴定的过程中,特异性酶免疫反应的出现,及到达终点稀释度的时间,均普遍早于细胞病变,而且本方法能够检出不产生明显细胞病变的病毒的滴度,例如狂犬病固定毒。经过本方法研究的几种主要病毒培养条件与特异性酶免疫反应到达终点稀释度时间详见表。

表 1 感染细胞酶免疫法滴定病毒观察结果所需天数

病 毒	细 胞	孵育温度 (°C)	特异性酶免疫反应 到达终点天数
流行性乙型脑炎	C6/36	33	5
Murray河谷脑炎	C6/36	33	5
Kunjin	C6/36	33	5
登革热(1—4型)	C6/36	33	7
Bunyamwera	C6/36	33	3
狂犬病固定毒细胞适应株	BHK-21	33	6
单纯疱疹 I 型	BHK-21	37	3
呼吸道融合细胞病毒	HeLa	33	4

本方法在安全操作方面也具有优点。即用含10%甲醛溶液的PBS固定,常规定为30分钟,如处理延长至8小时更有利于杀灭病毒,仍不减弱特异性反应或产生非特异性反应。

在去除偶然发在的非特异性反应方面,其对策是:免疫血清的非特异性反应,可用白陶土处理血清,细胞的非特异性反应,可用0.05% Tween 20的蒸馏水代替常规应用的0.05% Tween-20 PBS洗板,加以去除。

用于本方法的细胞培养病毒抗原是甚为稳定的。乙脑(感染C6/36细胞)与单纯疱疹 I 型(感染BHK—21细胞)病毒滴定的微量滴定盘,经吹干后加干燥剂密闭保存于28℃,达一个月以上仍不损坏特异性酶免疫反应。并将乙脑病毒感染的C6/36细胞经灭活后在夏季从北京邮寄到广西考验,再作酶免疫反应,效果仍保持同样良好。

经过反复试验,如将试剂与培养盘经过预温,第一抗体与酶标A旦白先后加至感染细胞,分别在37℃下孵育的时间,30分钟已足够;如将常规应用的邻苯二胺底物改为用联邻甲苯胺作底物(显蓝色)10分钟以内已完全显色,操作程序在2小时以内即可完成。与国外快速ELISA法的速度相当,表明操作效率高。我们曾用这一操作步骤,试用于在县一级防疫站鉴定当地新分离的乙脑病毒株,取得满意的结果。

[全文刊登于:广西医学院学报,1(1):5,1984

中华流行病学杂志,5(4):199,1984

Journal of Virological Methods,9(1):45,1984

Trop Med,27(4):261,1985]

(本项研究于1985年12月获卫生部医药卫生乙级成果奖)