

中国预防医学科学院年报

ANNUAL REPORT
CHINESE ACADEMY OF PREVENTIVE MEDICINE



1988

中国预防医学科学院

中国预防医学科学院

年 报

1988

目 录

第一部分 成果

当前我国嗜人按蚊和中华按蚊传疟作用的比较研究	1
PHKI—一种实用、灵活的药物动力学分析软件包	1
七种病媒蚊种对拟除虫菊酯抗性分布及防制对策研究	2
我国乙脑主要传播媒介和主要宿主动物的确定 及其在疫区区划和流行病学监测中的应用	3
中国流行性出血热的研究	5
哺乳动物细胞分泌乙型肝炎病毒表面抗原基因工程疫苗的研制与试用	6
原核高效表达载体的组建及其在研制抗病毒有关活性多肽上的应用	7
新发现的一种传染病—“纸坊病”病毒病因的研究	8
城镇大面积蚊虫综合防治研究	9
球形芽孢杆菌开发研究	10
我国小肠结肠炎耶氏菌病的流行病学和病原学研究	10
中国鼠传疾病地理区划	12
新型生物指示剂的研制及其在消毒监测方面的应用	13
测定鼠疫抗体血清的敏感方法 PHA-SPA 试验及其 应用于鼠疫感染的早期诊断	13
球形芽孢杆菌 BS-10 生物灭蚊幼制剂中试	14
国家科委“星火”计划《农村饮用水快速检测设备》 子项——水质化学快速测定箱	15
国家科委“星火计划”《农村饮用水快速检测设备》子项 一携带式水质细菌快速监测箱	16
个体恒流可吸入颗粒采样器的研制	18
全国生活饮用水水质与水性疾病调查	19
化妆品卫生标准系列化妆品卫生标准系列制订组	21
饮水除氟和含氟废水处理	22
《试点县农村粪便卫生处理背景调查和示范 区建设的研究》科研协作组	22
我国二十六城市大气污染与居民死亡情况调查	24
通风管道（包括烟道）用几种粉尘浓度、粒度分布 测定仪及其标定装置	24
宣威肺癌病因学研究	25
恒温恒流采样器的研制	26
棉农喷洒溴氰菊酯及戊氰菊酯杀虫剂的接触水平和生物监测研究	26
叠氮化合物安全性评价研究	27

第二部分 论著

寄生虫学

血吸虫病	29
钩虫病	42
黑热病 包虫病 其它	44

病毒学

肿瘤	48
流行性感胃	50
肝炎	54
流行性出血热	57
流行性乙型脑炎	59
腹泻	62
风疹 巨细胞病毒 麻疹 纸坊病 艾滋病	63
干扰素及其它	66

流行病学与微生物学

流行性出血热 鼠疫	71
腹泻 弯曲菌	73
布氏杆菌病	76
霍乱 伤寒	79
杀虫 灭鼠	81
疾病监测	86
立克次体及其它	87

卫生学

营养与食品卫生	91
环境卫生	99
劳动卫生与职业病	110

第三部分 书文摘要及其它

寄生虫学	127
病毒学	129
流行病学微生物学	133
环境卫生监测	135
环境卫生与卫生工程	135
劳动卫生与职业病	136
书籍	137
中国预防医学科学院获部级以上奖励的 科技成果项目表	150

CONTENTS

Part 1. Scientific achievements

Comparative Studies on the Role of <i>Anopheles Anthropophagus</i> and <i>Anopheles Sinensis</i> in Malaria Transmission in China	1
Phki—A Practical and Flexible Computer Program Package for Pharmacokinetics	2
Studies on the Distribution of Pyrethroid—Resistance of Seven Mosquito Vectors and its Control Strategy.	3
Ecological and Epidemiological Studies on Japanese Encephalitis	4
Studies on Chinese Epidemic Hemorrhagic Fever (EHF)	6
Development of Genetic Engineering Hepatitis B Vaccine by Using Mammalian Cells	8
Construction of Prokaryotic High Level Expression Vector and Its Application to the Preparation of Antiviral Polypeptides	8
Studies on the Etiology of "ZhiFang" Disease	9
Studies on the Composite Control of Mosquitoes in Vast Areas of Cities and Towns	10
Studies on the Development of <i>Bacillus Sphacricus</i>	10
Epidemiological and Etiological Study on <i>Yersinia</i> <i>Enterocolitica</i> in China	11
Geographical Distribution of Rodent—borne Diseases in China	12
A New Biological Indicator and Its Application in Surveillance of Distribution Efficacy	13
The Sensitivity and Usage for Early Diagnosis of <i>Pha-spa</i> Test in Plague	13
The Medium—scale Production of <i>Bacterial Sphacricus</i> (BS10) as a Biological Mosquito Larvicide	14
Portable Drinking Water Chemical Test Kit	15
Portable Kit for Monitoring of Bacteria in Water	15
Research and Production of Individual Constant—flow Inhalable Particles Sampler	17
Investigation on Drinking Water Quality and Water—borne Disease in China	18
Hygienic Standard System for Cosmetics.	21
Water Defluoridation and Fluoride Waste Treatment	22
Background Investigation of the Night—soil Hygiene Treatment in the Countryside in Selected Counties	23
An Epidemiological Study on the Relationship between Atmospheric Pollution and Mortality Rate of Residents in	

26 Large Cities in China	24
The Development of In-stack Dust Sampler, Cascade Impactor and Vibrating Orifice Monodisperse Aerosol Generator	25
An Etiological Study on Lung Cancer in Xuanwei	26
Development of Sampler of Constant Temperature and Flowrate Sampler OF	27
Exposure Levels and Biological Monitoring of Pyrethroids in Spraymen	27
Investigation on Safety Evaluation of Azide	28
Part 2. Treatise	
Parasitology	29
Virology	53
Epidemiology and Microbiology	80
Nutrition and Food Hygiene	102
Environmental Health and Engineering.	112
Occupational Medicine	126
Part 3. Abstracts and others	
Parasitology	147
Virology	149
Epidemiology and Microbiology.	151
Environmental Health	153
Environmental Health and Engineering.	154
Occupational Medicine	155
Monographs	156
Projects of Scientific Technological Achievement Awarded from 1984-1988 at the Ministry Level and Above.	165

当前我国嗜人按蚊和中华按蚊传疟作用的比较研究

寄生虫病研究所 柳朝藩 钱会霖 顾政诚 潘嘉云 郑香

嗜人按蚊(原称雷氏按蚊嗜人亚种)和中华按蚊为我国传疟媒介,它们同时存在的地区,何者在传疟作用上更为重要,长期以来实际上尚未解决,为此,1982-1987年进行此项研究。选择安徽、广西、四川、广东十个省(自治区)的5个点作系统研究。在滇西南、浙北、川西南地区作单项调查。通过人工感染、昆虫学定量调查、寄生虫学调查和按蚊分布与化学农药使用量关系调查等。获得以下主要结果:嗜人按蚊对恶性疟原虫的敏感性明显高于中华按蚊,前者的卵囊率和子孢子率分别为27.9%和10.9%,后者分别为11.3%和3.0%;二种按蚊自然感染率有明显差异,5个点的嗜人按蚊平均子孢子率为0.58% (105/17984),中华按蚊仅为0.02% (4/17718);从叮人率、人血指数、媒介能量和昆虫学接种率几个主要参数比较,嗜人按蚊的传疟作用比中华按蚊高20倍;人房内嗜人按蚊组成的高低与疟疾流行程度密切相关;并与居民恶性疟发病率和带虫率呈正比;首次发现北纬24度以南地区有嗜人按蚊分布;证实1983年深圳市间日疟暴发流行的主要媒介为嗜人按蚊;目前嗜人按蚊在部分地区的消失或存在,可能与各地单季稻和双季稻化学农药使用量不同有关。从上述结果判断,嗜人按蚊为高效媒介,其传疟作用远比中华按蚊为重要,而且是苏、皖、豫三省传播恶性疟的主要媒介;它的分布南限至少达北纬22度;当前凡有嗜人按蚊存在的地区,当地疟疾均很严重,这对我国疟区分层,分析我国疟疾流行现状,拟订防治对策,都有实际意义。

(全文未发表)

(本研究于1987年10月通过科研成果鉴定,报部传批)

PHKI—一种实用、灵活的药物动力学分析软件包

寄生虫病研究所 冯正
上海市计算技术研究所 江乃雄

PHKI药物动力学分析软件包包括室分析(NOLIPO,NOLIIV)、非室分析(NONCOM)和实验设计(EXDESI)三部分程序,可以任意调用。该软件包以FORTRAN语言编写,于IBM PC/XT微机及其兼容机上运行,可达到大型机程序的功能和精度,信息量丰富,实用性和灵活性强,是一种药物动力学数据处理的有效常规工具。

一、室分析程序(NOLIPO,NOLIIV)

采用改进的高斯-牛顿迭代法进行非线性拟合,并应用Hartley法加快收敛速度。初值由残数法或解方程法求得,并直接进行程序运算。可任意选用四种权重系数处理原始数据。具

有 18 种模型库，并可进行模型的识别。输出丰富的统计参数，格式清晰，同时输出残差对计算值散点图、观察值对计算值相关图及药-时拟合曲线图，可供直观判断，并直接输出所有的药物动力学参数。计算结果与国外常用的大型机计算程序相一致。

二、非室分析程序(NONCOM)

室分析法是药物动力学的经典方法，但它的一个重要缺点是房室模型的假设受到实验设计的很大影响，并常出现同一剂量途径组内，不同个体的模型可能不一致。

非室分析法无需假设模型，方法简便，并可获得主要的动力学参数，近年来发展较快。根据矩分析法理论，可将药物在体内的滞留时间视为随机变量，函数 $f(t)$ (药后时间) 作为随机变量的概率密度函数，药-时曲线是药物分子在体内的滞留时间的概率分布曲线。血药滞留时间一阶原点距即平均滞留时间 MRT ，表示经所有途径清除百分之 63 给药量所需的时间，可根据 AUC (曲线下面积) 求得：

$$MRT = \frac{\int_0^{\infty} t \cdot c dt}{\int_0^{\infty} c dt} = AUC_T / AUC$$

AUC 是非室分析的基础，为此 NONCOM 提出了三种计算 AUC 的方法，以适应不同的情况。在选定方法后，即可获得可能计算出的各项动力学参数，计算结果与国外大型机程序的一致性良好。

三、实验设计程序 (EXDESI) 实验设计与室分析法密切相关，采样点的多少可能影响模型的选择。另一方面，采样点的时间间隔是否恰当也影响计算结果。EXDESI 采用 Dalcinius 提出的最小方差分层技术，以确定采样时间，使达到采样点间的 AUC 平方根相等。由该程序计算出的优化采样时间，可有助于合理地设计实验，提高计算的正确性。

(全文待发表)

(本研究于 1987 年 12 月 29 日通过科研成果鉴定)

七种病媒蚊种对拟除虫菊酯抗性分布及防制对策研究

全国媒介生物学及控制专题委员会蚊类防制专题组

中国科学院上海昆虫研究所

刘维德等

寄生虫病研究所

俞 渊 彭小妹

1、抗性分布情况 1986-87 年，对我国 16 省市约 40 个地区的 7 种病媒蚊类，即中华按蚊、微小按蚊和大劣按蚊、尖音库蚊种团、三带喙库蚊、白纹伊蚊及埃及伊蚊对 5 种拟除虫菊酯的敏感度作了调查。结果：中华按蚊对溴氰菊酯、氯菊酯和速灭菊酯的抗性区占百分之五十以上，高抗性区又占抗性区的 $1/3$ 以上，认为以上 3 种杀虫剂已不适于防制中华按蚊；微小按蚊和大劣按蚊对溴氰菊酯和氯菊酯无抗性区，可以继续使用；尖音库蚊种团对溴氰菊酯和氯菊酯、速灭菊酯、胺菊酯和吡啶菊酯抗性区均在百分之五十以上，但高抗性区仅对溴氰菊酯和速灭菊酯，且各占百分之十三，仍可控制使用于防制该种团蚊种；三带喙库蚊对溴氰菊酯、速灭菊酯和胺菊酯的抗性区在百分之五十以下，可以继续使用；白纹伊蚊对上述 4

种杀虫剂抗性区虽在百分之五十以上，但无高抗性区，可以继续使用；埃及伊蚊对溴氰菊酯抗性区虽在百分之五十以上，但无高抗性区，可以控制使用。

2、抗性发展规律 对7种蚊类用溴氰菊酯、氯菊酯、胺菊酯、速灭菊酯分别选育了18个品系，初步认为，就杀虫剂品种来说，蚊虫对速灭菊酯最容易发生高度抗性，溴氰菊酯次之，氯菊酯和胺菊酯又次之；就蚊种来看，尖音库蚊最容易发生高抗性，其它蚊类大致相仿。

3、换用、轮用、混用杀虫剂防制抗性前景蚊类对敌百虫发生抗性，可以用溴氰菊酯取代。溴氰菊酯抗性的对有机磷无交互作用，可用它取代，但不能用氯菊酯和吡啶菊酯取代。敌百虫与溴氰菊酯轮用是可行的。用增效剂(Pb)和磷酸三苯酯(Tpp)分别与溴氰菊酯混用，前者能显著增效，后者则不起作用。

4、抗击倒因子(Kdr)的检测 用电生理方法，用来检测室内选育或野外群体神经敏感度是可行的。

5、拟除虫菊酯杀虫剂处理蚊类幼虫对繁殖率的影响 该类杀虫剂能使中华按蚊下一代幼虫数减少，不利于抗性品系的选育，但对野外群体抗性发展作用尚待研究。

(未发表)

(本项目于1988年获卫生部、中央爱卫会全国除四害、农村环境卫生科技进步三等奖)

我国乙脑主要传播媒介和主要宿主动物的确定 及其在疫区区划和流行病学监测中的应用

病毒学研究所 王逸民 仁广宏 葛继乾
内蒙古自治区卫生防疫站 周光甫
沈阳市卫生防疫站 冯国新

乙脑是一种严重的病毒性传染病，在亚洲，尤其在中国，对人民的健康和生命威胁很大。虽然在30年代中期日本便确定了本病病原，但至五十年代国际上对本病的主要传播媒介，主要宿主动物及流行规律尚不明确。当1949年我们分离到乙脑病毒后，即开始对乙脑的生态学问题进行了深入系统的研究，于50年代便基本上确定了三带喙库蚊和猪是乙脑病毒自然循环中的主要环节，而后又进行了较深入的调查研究。在此工作基础上，70年代对我国乙脑疫区区划和流行病学监测进行了研究，获得明显进展。本研究主要贡献：

一、确定猪为乙脑的主要扩散宿主。

自50年代初期开始，先后检查了31种哺乳动物和鸟类的血清，其中猪的乙脑抗体阳性率最高。在疫区，屠宰猪和调查用的“哨猪”阳性率可达100%。同时进行动物与蚊类关系调查，仔猪母体抗体消失动态调查和幼猪自然感染动态观察，根据调查研究结果，1956年在国际上最早提出猪为乙脑的主要扩散宿主，以后美国、日本、泰国和印度等国科学家也获得类似结果。目前，猪为乙脑主要宿主动物已获国际公认。

确定三带喙库蚊为乙脑的主要传播媒介。

国内外过去曾有“乙脑可能为多蚊媒性疾病”的看法，涉及的蚊子有将近 20 种。50 年代国内有人提出“黑斑蚊（指仁川伊蚊）为本病的主要媒介”，但我们的调查资料不支持这种看法。根据不同疫区蚊虫相，常见蚊种密度指数及季节消长、蚊嗜血性、常见蚊种对乙脑病毒的敏感性和常见蚊种自然感染率等方面的资料，在国际上我们首先确定三带喙库蚊为乙脑的主要传播媒介。在后来的乙脑疫区区化和流行病学监测中，发现三带喙库蚊的分布与疫区范围呈一致关系；三带喙库蚊的自然感染率高低与乙脑流行强度有密切关系。三带喙库蚊为乙脑主要传播媒介的看法已得到国际公认。

三、在国际上首先开展了乙脑地理学及疫区区划的研究。

继 1974 年我国东北，内蒙出现乙脑较大流行后，我们开展了乙脑地理学和疫区区划研究。通过大范围的三带喙库蚊调查，人畜血清学检查，地理气象资料的搜集和人畜历史发病资料的统计分析，首次发现内蒙分布着高发区、中发区、低发区、隐性感染区和非疫区、疫区的范围与三带喙库蚊的分布基本一致，在宁夏和黑龙江也观察到同样结果。内蒙的高发区和中发区都分布在内蒙古草原的东南部。参考内蒙的经验，另外 11 个省区也基本上明确了各类型疫区的分布状况，为乙脑防治方案的修订提供了依据。

四、发展了乙脑流行病学监测研究。

1975 年以来，先后在沈阳、北京等地连续进行了乙脑流行病学的研究，现已建立了有 13 个省市区参加的乙脑监测网。监测指标包括三带喙库蚊密度指数和季节消长调查、带毒率检查、猪血清抗体检测、蚊生理年龄检查、三带喙库蚊和猪自然感染率 M_{14} 病毒（新发现的一种能干扰乙脑病毒细胞内增殖的环病毒）的调查，以及人发病率调查等。通过长期多点监测，对我国乙脑的流行规律有了一些新认识：1、不同年代乙脑病毒的毒力和抗原性无明显改变；2、自然界乙脑病毒的传播和扩散不受 M_{14} 病毒的干扰影响；3、乙脑流行无明显周期性；4、猪的自然感染和人间乙脑流行主要受流行前期三带喙库蚊数量和带毒率的影响。根据乙脑流行前期三带喙库蚊数量和变动的监测结果，可提早一个月预测当年乙脑的流行强度。我们曾先后较准确地预报了 1982 年沈阳市，1985 年桃源县，1986 年凯里市和 1987 年郑州市较重的乙脑流行，为这些地区的乙脑防治工作，提供了有意义的情报。

本研究共发表有 X 论文和内部科研报告 61 篇（其中英文一篇），先后两次在 WHO 西太区病毒疫苗会议上介绍乙脑监测和疫区区划的经验。

主要论文刊登于	中华医学杂志	4:326, 1955
	中华卫生杂志	6:197, 1958
	昆虫学报	8(4):317, 1958
	中华流行病学杂志	4(5):273, 1983
	中华流行病学杂志	5(3):129, 1984
	中华微生物学杂志和免疫学杂志	5(2):84, 1985
	中华医学杂志	65(11):648, 1985
	疾病监测	1(5):67, 1986
	疾病监测	2(7):103, 1987
	中国人畜共患病杂志	3(5):6, 1987

(本研究获 1988 年卫生部医药卫生科技进步一等奖)

中国流行性出血热的研究

病毒学研究所	宋 干	杭长寿	洪 涛	陈伯权
流行病学和微生物学研究所	严玉辰	陈化新		
黑龙江省卫生防疫站	刘学礼			
江苏省卫生防疫站	袁学昭			
安徽省医科所	倪大石			
陕西省卫生防疫站	姜克俭			

流行病出血热是一种病死率较高的急性传染病。在我国, 每年约有 10 万多人发病, 严重危害人民的健康。本病的病原学研究有 50 余年的历史, 因为长期未分离到 8 病毒, 对其流行环节一直不够清楚, 亦无法进行特异诊断和防治措施的研究。1978 年, 在南朝鲜分离到出血热病毒。1981 年本研究组从我国疫区的黑线姬鼠分离到野鼠型(经典型)出血热病毒, 并从褐家鼠分离到家鼠(轻型)出血热病毒。出血热病毒分离成功, 为开展对其病原, 发病机理, 病毒形态, 宿主动物, 传播途径, 流行病学监测及疫苗等研究创造了条件。其主要成果为:

- 1、应用黑线姬鼠, 人胚肺二倍体细胞(2BS), 人胚肺传代细胞(A₅₄₉), 绿猴肾传代细胞(Vero-E₆), 从我国疫区黑线姬鼠肺首次分离到流行性出血热病毒, 并经研究明确了其理化和生物学性质, 为本病的诊断, 监测和防治提供了重要的依据和手段。

- 2、证明家鼠型出血热在我国的存在和流行。经交叉中和, 阻断和 ELISA 试验证明: 轻型(家鼠型)出血热病毒在抗原性上与经典型(野鼠型)出血热病毒有明显差异, 同时确定褐家鼠为轻型出血热的主要宿主和传染源。

- 3、在感染细胞内观察到出血热病毒颗粒, 证明野鼠型(经典型)和家鼠型(轻型)出血热病毒形态学相同, 与布尼亚病毒相似, 但其大小, 毒粒内部结构和发育方式与布尼亚病毒已知 4 个属有明显区别。因此, 提出了出血热病毒为一组新的布尼亚病毒的观点。

- 4、在国内首次获得了两种类型出血热病毒单克隆抗体, 通过对不同来源的出血热病毒株进行分析, 明确提出两种出血热病毒及不同毒株间抗原决定簇存在差异。单克隆抗体的建立对出血热病毒的型别鉴定, 病人的早期诊断和流行病学调查提供了重要手段, 具有广泛的实用性。

- 5、流行病学和病原学研究证明, 本病宿主动物除黑线姬鼠和褐家鼠这两种主要宿主和传染源外, 大林姬鼠, 黄胸鼠, 东方田鼠和黑线仓鼠等亦可自然携带病毒; 确定了黑线姬鼠和

褐家鼠是我国流行性出血热的主要动物宿主和传染源，大林姬鼠在缺乏黑线姬鼠的林区也可成为主要宿主动物和传染源。这些研究为制定预防本病的策略和措施提供了重要的科学依据。

- (主要论文刊登于)
- | | |
|----------------|-----------------|
| 1.中国医学科学院学报 | 4(2): 73, 1988 |
| 2.中国医学科学院学报 | 4(2): 67, 1983 |
| 3.中华微生物学和免疫杂志 | 3(2): 76, 1983 |
| 4.中华流行病学杂志 | 3(4):204, 1982 |
| 5.微生物学报 | 23(4):373, 1982 |
| 6.中华流行病学杂志 | 3(4):197, 1982 |
| 7.中华微生物学和免疫学杂志 | 4(4):236, 1984 |
| 8.中华微生物学和免疫学杂志 | 3(2): 69, 1983 |
| 9.中华微生物学和免疫学杂志 | 3(6):366, 1983 |
| 10.中国医学科学院学报 | 6(6):429, 1984) |

(本研究于 1988 年获国家自然科学基金三等奖)

哺乳动物细胞分泌乙型肝炎病毒 表面抗原基因工程疫苗的研制与试用

病毒学研究所 任贻方 阮力 阮薇琴 杨安道
梅雅芳 田淑芳 张一鸣 朱既明

乙型肝炎病毒(HBV)感染已成为人类健康的严重威胁。我国 HBV 传播广，带毒率高(百分之 8.83, 一般认为百分之十左右)，急性慢性肝炎患者多，晚期并发肝硬化和肝癌(约占肝癌的百分之 80)病死率高。对乙肝病毒感染尚无特效药物，唯独用疫苗接种可以预防感染。目前使用血源疫苗由于产量不足，难供计划免疫之需，并有污染其它病原体的潜在危险，急需研制基因工程第二代疫苗。在疫苗供应充足的条件下，积极推行新生儿计划免疫，包括母婴阻断以及高危人群接种，据测算也要到下世纪中叶才可使我国人群带毒率降至现有的一半以下。由此可见乙肝基因工程疫苗的研制与积极推广生产是关系到我国人民的体质和子孙后代健康的严峻任务，为国家人民所急需。

使用基因工程技术研制乙肝疫苗，涉及到分子生物学、免疫学病毒学、遗传学、细胞学，生物化学以及多种先进检测技术等多学科多技术领域，是一项具有开拓性及风险性的科研工作，故为各级领导与专家学者所重视。

病毒研究所遗传室在完成 <六五> 乙肝基因工程疫苗研究的良好基础上，<七五> 计划开始，继续承担了这一国家攻关项目。首先对 <六五> 构建的 pSV2HBR2-32 双拷贝乙肝重组 DNA 质粒进行了改造，重新构建成 pSV2DHBR1-32 乙肝重组 DNA 质粒。该质粒含 SV40 早期启动子调控乙肝 S 基因(编码 226 个氨基酸)及 SV40 早期启动子调控二氢叶酸还原

酶(dhfr)基因, 经内切酶酶切鉴定, 其结构与原设计相符。

使用 pSV2DHBR1-32 乙肝重组 DNA 质粒转染中华地鼠卵巢二氢叶酸还原酶缺失(CHO-dhfr)细胞, 经过年余的工作, 从 81 个克隆细胞中选出 7 个高产乙肝表面抗原(HBsAg)的细胞系, 经氨甲喋呤(MTX, Methotrexate)加压提高 HBsAg 产量, 从 7 系高产细胞中率先获得 B-43 克隆细胞系, HBsAg 表达量在转瓶中达到每升 5-7.5 毫克(按 Ab-bott 单位计算)。对 B-43 细胞及其亲代细胞(CHO-dhfr)进行 8 项技术指标的全面检查, 未发现霉菌、细菌、支原体、外源性病毒的污染, 裸鼠试验也未发现致肿瘤性。从细胞水平分析是安全的, 完全符合世界卫生组织(WHO)对传代细胞生产乙肝基因工程疫苗的要求。在此基础上建成了 B-43 母种子及生产种子两级种子细胞库。工程细胞 B-43 多次转瓶培养证明, 一次接种细胞长成片后, 每 2 天收换液 1 次, 细胞最长可维持 120 天以上, 通常只要求维持 60 天, 其间收液 30 次, 细胞未发现有致瘤性, 产量恒定在 5-7.5 毫克/升。故认为 C-28 细胞作为生产 HBsAg 的工程细胞是安全高产遗传性稳定的细胞。

建立三次超离, 一次 Sepharose4B 柱层析的纯化流程, 纯化细胞收液中的 HBsAg 获得良好结果。纯度达到 95% 以上, 其中残留小牛血清量低到每毫升 8.35 毫微克(ng)以下(麻疹、脑炎等常规疫苗标准为每毫升等于或小于 1000 毫微克, 通常含 200-500 毫微克)。残留细胞 DNA 量每毫升小于 31.2 微微克(pg), 完全合乎 WHO 要求的 <100pg 的暂行规定。B-43 产纯化 HBsAg 氨基酸序列分析, 证明此 HBsAg 的 N 末端 24 个(规定要求 15 个)氨基酸完全和编码基因一致。产品达到“结构纯度”, 完全符合 WHO 对使用基因工程技术生产的乙肝疫苗的要求, 属高纯度产品。研究中发现并经深入研究证实 B-43 细胞产 HBsAg 多肽中多一个 GP30 特异性糖蛋白成分(与血源苗比), 于存放后消失。经证明是双糖化的 P23。

疫苗半成品经福尔马林灭活并加入氢氧化铝佐剂制成成品疫苗, 经 5 项技术指标检查安全效力合格, 其中动物免疫原性试验结果高于血源苗 2 倍以上。所产 87-4 批号基因工程疫苗经卫生部药品生物制品检定所复检合格, 经卫生部新药审评委员会专家审评通过, 经卫生部药政管理局审查批准进行人体临床观察, 同时用等量血源疫苗作对照。接种采用 0、1、2 方案(即以第一针注射为 0 月, 以后每月注射 1 次)分 10 μ g 和 20 μ g 两组, 两种疫苗分别接种 84 个和 72 个儿童。基因苗 10 μ g 组 3 针后 1 个月 100% 抗体阳转, 20 μ g 组两针后 100% 阳转。结论是 87-4 批基因苗的免疫原性优于对照血源苗。

综上所述, 工程细胞 B-43 产基因乙肝疫苗是高产、高纯度、安全、高效的第二代乙肝疫苗。从其质量和产量判断均合乎疫苗生产的要求, 是国内使用基因工程技术首次研制并试用成功的乙肝疫苗, 也是具备进入中试条件的第一个基因工程疫苗制品, 达到国际上同类产品的先进水平。

(本项研究于 1988 年 12 月 2 日通过科研成果鉴定)

(未发表)

原核高效表达载体的组建 及其在研制抗病毒有关活性多肽上的应用

病毒学研究所

张智清 侯云德 张德震 金 奇 贾凤兰 金冬雁 徐大模
吴淑华 李玉英 赵小侠 杨新科 段淑敏 姚立红 周 园

采用 DNA 重组技术, 生产在自然界不能或很难得到的多肽产品, 用于医药、农业、食品工业等领域, 是当今在生物领域中新技术革命的一项重要内容。一个外源基因在原核细胞获得高效表达的一个关键问题是要有合适的高效表达载体。目前国内还没有较理想的自己构建的载体, 国外的高效表达载体及表达条件又往往是一些大公司的专利, 因此, 组建我国自己的高效载体, 是开发基因工程多肽药物的一个重要的先决条件。

为此, 我们组建了一个含 PRPL 串联启动子的高效表达载体 (pBV220), 它的主要特点是:

(1) Clts857 抑制子基因与 PL 启动子同在一个载体上, 可以转化任何菌株, 以便选用蛋白酶活性较低的宿主菌, 使表达产物不易降解;

(2) SD 序列后面紧跟多克隆位点, 便于插入带起始 ATG 的外源基因, 表达非融合蛋白, 其产品可供人体使用;

(3) 强的转录终止信号可防止“通读”现象, 有利于质粒-宿主系统的稳定;

(4) 整个质粒仅为 3.66KB, 利于增加拷贝数及容量, 及可以插入较大片断的外源基因;

(5) PR 与启动子串联, 可能有增强作用。

我们应用 PBV220, 成功地表达了人白细胞介素-2, γ 干扰素等外源基因, 质粒 PBV220/IL-2, 是将人 IL-2 的 cDNA 插到 PRPL 启动子下游, 转化大肠杆菌 DH₅ α 后, 采用温度调控, 获得高效表达, 产量达菌体总蛋白的百分之二十以上, 分子量约为 15Kd, 具有与天然人 IL-2 类似的活性, 可维持依赖 IL-2 的细胞毒性 T 细胞系 (CTL) 在体外的长期培养, 并发现它可拮抗肿瘤分泌物的免疫抑制作用。由于表达产物在菌体内形成包涵体, 我们利用这一特点, 先提取包涵体, 再经离子交换和分子筛柱层析, 得到百分之九十五以上纯度的产品。

质粒 PBV220/IFN γ , 是将人 γ 干扰素的 cDNA 插到 PRPL 启动子下游, 同样获得高效表达, 产量达菌体蛋白的百分之二十四, 分子量为 17.5Kd。其活性与天然 γ 干扰素相似, 可被抗 γ 干扰素血清中和, 对 pH2 和 56℃ 处理敏感, 通过动态研究, 选择了最佳诱导条件, 经硫酸铵盐析和单克隆抗体柱层析, 得到 99% 纯度的产品。

高效表达载体 PBV220 的组成为我国生物技术的发展提供了有力工具, 人建 IL-2 和人 γ 干扰素的高效表达已达到国际先进水平, 这为我国大规模生产这两种有希望的抗肿瘤药物奠定了基础。

(有关文章发表在: (1) 病毒学报, 4:97, 1988

(2) 病毒学报, 4:165, 1988)

新发现的一种传染病—“纸坊病”病毒病因的研究

病毒学研究所	张礼璧	江永珍	莫红梅
贵州省卫生防疫站	王睦深		
贵州省沿河县卫生局	李仕宽		
贵州省沿河卫生防疫站	张珍双		

1985年4月至10月在贵州省沿河县纸坊村发生病因不明的流行病，全村1/5村民发病，病死率高达12%，个别家庭全家发病有4户，每户死亡2人，病人多数表现有高热、大汗、心悸，出现游走性痛性肌紧张，伴以疼痛和明显触痛，一般在2-5天内死亡。1986年6月至8月在该县崔家坨又有类似暴发，全村1/10村民发病，病死率高达30%。经及时收集病人粪便、血标本，作病因探讨，两年来分离到病毒9株，经严格鉴定属ECHO病毒。收集的病人双份血清，85年9人中有4人4倍以上升高，其他的中和抗体均高达1:128-1:152（一般认为高于1:80有诊断的参考意义）；1986年7个病人中双份血清有4人中和抗体4倍以上升高，从连续两年中两次流行的流行病学、病毒学和血清学调查中已有理由相信本病由ECHO3病毒所致，经查阅文献未见国际上有类似报导。

新分离的毒株在体外实验中其增殖可被小儿麻痹活疫苗所干扰，为控制流行提供了实验依据。

又调查了北京市成人的ECHO3抗体，44%已有低滴度中和抗体，预测北京市流行类似纸坊病的可能性较小，87年该县已无新病人发现。

（全文刊登于病毒学报 4 (2): 119, 1988 3 (1): 95, 1987）

（本研究于1988年获卫生部三级成果奖）

城镇大面积蚊虫综合防治研究

流行病学微生物学研究所	王美秀	郑海波
广东医药学院	谢苑灵	
山东邹县卫生防病总站	孟宪林	
广东省东莞市卫生局	洪耀坚	

蚊虫叮咬不仅给人带来极大困扰，还传播疾病，在对外开放的旅游和经济开发地区能影响我国的文明建设的声誉，造成经济上直接和间接的巨大损失。因此大面积城镇蚊虫防治的研究迫切需要开展。北方选择山东邹县城区，南方选择广东东莞市桥头镇做为试验点。此项研究是社会科学和自然科学相结合的工作，经两年多的试验取得了显著成效。

- 1、加强了领导：当地党、政领导把灭蚊工作列入议事，保证灭蚊工作顺利开展。
- 2、提高了认识：把灭蚊工作做为两个文明建设的主要内容。
- 3、发动群众与专业队伍相结合，灭蚊经费由个人、集体和地方政府共同筹集解决。
- 4、结合当地实际进行科学研究，贯彻综合性防治措施的原则，以环境治理为主要手段，在掌握蚊虫抗性情况下，合理用药、科学用药。如邹县在环境治理的基础上，全面用BS-10

制剂控制幼虫孳生。

5、结合城镇建设进行环境治理：邹县填平4个污水源，桥头镇填平3个污水塘建成街心公园。明沟改暗渠等，使城镇环境卫生面貌得到明显改善。

6、二年来两个试验点的蚊虫密度明显、快速，持续下降控制到不足为害水平。邹县城内晚间乘凉无蚊叮咬，睡觉可不挂蚊帐。

(未发表)

(此项研究工作于1988年被评为卫生部(委)级科技进步奖二等奖)

球形芽孢杆菌开发研究

中国科学院上海昆虫所 刘维德
山东省卫生防疫站 陈右夫
流行病学微生物学研究所 王美秀

国内外灭蚊常用的化学杀虫剂，由于用量逐年增加，随之而来的抗药性产生、环境污染、人畜中毒等问题日渐严重。在综合防制中，以菌制虫的方法正受到人们的重视。

1979年我国引进苏云金杆菌以色列变种(*Bacillus thuringiensis* var *israelensis* Barjac 简称B.T.I或B.T.H₁₄)。有关单位进行了研制与应用，但B.T.H₁₄持效期较短。

1986年全国开展球形芽孢杆菌开发研究课题。开发的球形芽孢菌菌株有国内分离的Ts-1, B.S-10, 由国外引进的有1593、2362等菌株。开展了对不同菌株的生物学特性的研究，对蚊幼虫的速杀效果和持效，各菌株对蚊虫的杀虫谱，影响毒效的各类因素，用遗传方法培育出高毒菌株。改进发酵工艺，提高制剂效价，并且在现场试用，现已取得一定的社会效益和经济效益。

(未发表)

(本研究于1988年被评为卫生部(委)级科学技术进步奖二等奖)

我国小肠结肠炎耶氏菌病的流行病学和病原学研究

流行病学微生物学研究所 贾明和 肖东楼
福建省卫生防疫站 于恩庶
辽宁省卫生防疫站 赵汉良
江西省卫生防疫站 梅家模
湖南省卫生防疫站 聂约伯

小肠结肠炎耶氏菌病(下称耶虫菌病)是新近发现的一种人兽共患肠道传染病，分布广

泛, 已知世界上有 80 多个国家有本病存在, 我们于 1982 年报道从病人、猪、鼠和鸡分离出耶氏菌。为查明我国耶氏菌病的流行情况, 主要传染源和带菌动物、人群发病率、耶氏菌生态学特征和有效的防治对策等, 由我所组织 26 个防疫站开展全国性的调查。从 1985 年至 1987 年共调查 19 个省区, 14 个地、市、县, 共检查人、动物、食品和环境标本 87, 849 份, 分离出耶氏菌 2505 株, 噬菌体 200 余株, 基本查清了耶氏菌病在我国的分布, 流行程度和主要流行规律, 诊断出 732 名病人, 同时发现两起暴发流行, 在诊断方法和毒力因子测定方面有不少新的创见。我国耶氏菌共有 43 个血清型, 其中 03 和 09 血清型为我国主要致病菌型, 而这两个血清型的菌株均为生物 3 型, 与欧美和日本生物 4 型和生物 2 型迥然不同, 我国 03 血清型菌株比国外同型菌株毒力强, 还能引起猪的腹泻暴发流行, 尚未见国外有此报导, 同时还确定 06, 03, 05 和 010 血清型菌株属国内常见致病血清型, 与国外结果不完全一致。

从门诊腹泻病人检查出耶氏菌的阳性率平均为 0.62%, 个别地区可达 10.47%, 造成平均检出率偏低的原因, 可能与某些省份检验技术不熟练有关。病人的临床症状主要有腹泻、发烧和腹痛三大症状。发病年龄从新生儿到 70 岁以上的老人均可患病, 0-15 岁儿童发病率最高 (75.2%), 一年中春冬两季检出率高于夏秋季节。

两起暴发流行中, 一起发生在兰州市某畜牧场, 由于食用死奶牛肉引起 107 人集体发生腹泻, 由 03 血清型所引起, 这是国内首次报导人群耶氏菌病集团暴发流行。另一起发生在沈阳市某中等专业学校集体就餐的学生中, 由于炊事员带菌污染自制的凉菜, 造成 352 人发生腹泻, 此次由 09 血清型引起, 在国外尚未见该血清型耶氏菌引起集团暴发流行的报导。

我们已经发现猪、牛、羊、鼠、鸡、狗和猫等 33 种家畜家禽可携带耶氏菌, 其中猪、奶牛和鼠类, 不但携带耶氏菌的频率高, 而且携带的耶氏菌血清型与病人的耶氏菌血清型基本一致, 因此上述三种动物为主要储存宿主和传染源。苍蝇和蟑螂体内和体表可携带耶氏菌, 实验室研究表明, 苍蝇体表带菌可达 20 天, 体内带菌可达 41 天, 蟑螂体表带菌可达 10 天, 体内带菌可达 30 天。无论我国南方或北方均能从这两种昆虫分离到有毒力的 03 血清型耶氏菌, 说明它们是耶氏菌很重要的传播媒介。

各种生肉、蔬菜和牛羊奶等均可查出耶氏菌, 生肉检出阳性率为 17.68%, 猪舌头为 18.64% 酱肉为 12.5%, 冻甲鱼为 13.00%, 贝壳类为 32.63%, 大部分蔬菜均可检出耶氏菌, 其中黄瓜检出率为 5.97%, 西红柿为 14.28%, 香菜为 12.5%, 萝卜为 8.33%。生牛奶检出阳性率为 4.59%, 生羊奶为 3.29%。此外, 江河水、污水等均可检出耶氏菌, 以上说明耶氏菌污染范围广, 人类几乎每天都有感染机会。

在病原学方面, 研制出具有高度敏感性和特异性的诊断噬菌体 (J+H), 能裂解已定型的 498 个地方耶氏菌的 97%, 而对 580 株其他肠杆菌的裂解率不到 10%, 故可用作疑似耶氏菌菌株的筛选和出步鉴定, 且符合临床标本检查的快速要求。首次证实耶氏菌含有 Vi 抗原, 全部有毒力的耶氏菌株含有此抗原, 因此可以用血清学方法区分有毒力株和无毒力株。在质粒的研究中, 已查明含有 40-50Mdal 毒力质粒的菌株不一定是毒力菌株, 反之任何有毒力的菌株必含有 40-50Mdal 大小的毒力质粒。

为改进诊断方法, 提高检出率, 合成了一种唑啉头孢菌素钠和新霉素的选择培养基 (CNY), 它对肠道杂菌抑制力较强, 耶氏菌生长在该培养基上, 带有鲜红色特征, 易于识别, 对人工污染的 12 份标本中, 常规用的 SS 培养基未检出一株, 世界通用的 CIN 培养基 (英国