

中国预防医学科学院年报
ANNUAL REPORT
CHINESE ACADEMY OF PREVENTIVE MEDICINE
(1990)



中国预防医学科学院
1992年5月

中国预防医学科学院年报

(1990)

目 录

第一部分 成果

溴乙酰胺在实施化疗地区进行灭螺效果的研究.....	1
单克隆抗体免疫试验检测循环抗原诊断形成血吸虫病的研究.....	2
大山区血吸虫病流行因素和流行规律的研究.....	3
利什曼原虫单克隆抗体诊断盒的研究.....	4
应用核酸打点杂交法和酶联免疫吸附法检测我国 24 省市 16 个不同民族乙肝 感染者 中丁型肝炎病毒(HDV)感染的流行病学特征	5
检测抗乙肝核心 IgM、IgG 抗体和总抗体的新型材料的研制与应用	6
人免疫缺陷病毒血清学诊断免疫酶法的建立及其应用.....	7
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.....	8
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化和流行病学监测中的 应用.....	9
用重组痘苗病毒作载体表达甲型肝炎病毒抗原	10
布鲁氏杆菌非典型菌株及 R 型菌株鉴定分类的研究	10
中国布鲁氏菌病流行病学与防制措施的研究	12
我国部份省区莱姆病的调查	13
我国不同膳食特点地区中、老年人群的营养调查研究.....	13
茶叶防癌作用的研究—茶叶对 N—亚硝基化合物形成及致癌作用的影响	16
椰毒假单胞菌酵米面亚种菌体抗血清研究及应用	17
饮水除砷研究	17
农村饮水除氟技术和设备研究	19
大型水蚤生物测试技术研究及应用	20
高纯瓶装气体的净化	22
溴氰菊酯及氰戊菊酯的监测、中毒诊断及流行病学研究.....	24
丙烯酰胺中毒的诊断及发病机理研究	25

第二部分 论著

寄生虫学

血吸虫病	27
疟疾	39
棘球蚴病与丝虫病	49

黑热病与其它	54
--------------	----

病毒学

肝炎	59
出血热	63
流感	69
腹泻	73
肿瘤	76
艾滋病	81
干扰素及其它	83

流行病学与微生物学

流行性出血热	93
腹泻 痢疾 伤寒 弯曲菌	95
霍乱	100
布氏杆菌病	105
立克次体	109
疾病监测与其它	113

卫生学

营养与食品卫生	120
环境卫生与卫生工程	137
劳动卫生与职业病	156
食品卫生监督检验	169

第三部分 书文摘要及其它

寄生虫学	173
病毒学	180
流行病学与微生物学	184
营养与食品卫生	191
环境卫生与卫生工程	193
劳动卫生与职业病	197
书籍及其它	216

CONTENTS

Part 1. Scientific Achievements

Study on Molluscicidal Effect of Bromoacetamide in an Area under Chemotherapy	1
Study on Detection of Circulating Antigen by Immunological Test with Monoclonal Antibodies for Diagnosing Schistosomiasis	2
Study on the Epidemiological Factors and Intervention Measures of Schistosomiasis Japonica in Mountain Region	3
Studies on Monoclonal Antibodies against <i>L. Donovan</i> and It's Application in Diagnostic Kit	5
Prevalence of HDV Infection in 8277 Persons with HBV Infection of 16 Nationalities of China	6
Research on New Materials of Hepatitis B Core Antigen/Antibodies and Used to Develop Diagnostic ELISA Kits	7
Establishment and Application of Serologic Diagnosis Method of Human Immunodeficiency Virus	8
Construction of a High Level Prokaryotic Expression Vector and Its Application on Antiviral Polypeptide Research	9
The Studies on the Major Transmission Vector and Animal Host of Japanese Encephalitis(JE)	10
Expression of Hepatitis A Virus Proteins by Recombinant Vaccinia Virus	11
A Study on Identification of Atypical and R-phase Strains of <i>Brucella</i>	12
A Study on the Epidemiology & Control of Brucellosis in China	12
Investigation of Lyme Disease in Part Areas of China	13
Comprehensive Nutritional Study on the Middle Aged and Aged Population of Different Dietary Pattern	14
The Effects of Chinese Tea on the Prevention of Cancer Effects on the Formation and Carcinogenicity of N-nitroso Compounds	18
Studies on the O Antiserum Preparation and Application of <i>Pseudomonas cocovenans</i> sub sp. <i>farinofermentans</i> (PCF)	19
Study of Arsenic Removal from Drinking Water	19
Studies on Technology and Equipment of Water Defluoridation for Rural Areas	20
Studies and Application of Water Flea, <i>Daphnia magna</i> Bioassay Technique	21
The Filtration of High-Purity Cylinder Gases in China	22
Investigations on Exposure Levels Diagnosis and Prevalence of Acute Pyrethroids Poisoning in Cotton Growers	23

Investigations on the Diagnosis and Mechanism of Acrylamide Poisoning.	23
---	----

Part 2. Treatises

Parasitology	25
Virology	65
Epidemiology and Microbiology	105
Nutrition and Food Hygiene	136
Environmental Health and Engineering	156
Occupational Medicine	180
Food Hygiene Control and Inspection	197

Part 3. Abstracts and Others

Parasitology	202
Virology	210
Epidemiology and Microbiology	215
Nutrition and Food Hygiene	224
Environmental Health and Engineering	227
Occupational Medicine	232
Monographs	254

溴乙酰胺在实施化疗地区进行灭螺效果的研究

寄生虫病研究所

朱达培

印建业

王 霭

王根法

鲍子平

蔡立群

宋庚明

胡金玉

江西省彭泽县血吸虫病防治站

陈 宇

邬培德

李玉林

刘源长

高水华

陈秀伦

祝先枝

江苏省江都合成兽药厂

张兴荣

陈德祥

溴乙酰胺是我所首先研制成功的对鱼类毒性低的高效杀螺药物,1986年被列为国家“七五”科技攻关专题,对在实施化疗地区使用溴乙酰胺灭螺的防治血吸虫病效果进行考核和评价,并对其杀螺机制和生产工艺进行研究。

江西省彭泽县山丘地区血吸虫病流行较严重的田丰和西峰两个村,自1987年开始采取喷洒溴乙酰胺($1\text{g}/\text{m}^2$)灭螺结合吡喹酮治疗病人($40\text{mg}/\text{kg}$ 体重,一日疗法)、病牛的防治措施,并以条件相仿的桃红村采取单纯化疗作为对照比较。田丰和西峰村经过连续2年防治后,活螺密度由6.43只/框(1框= 0.11m^2)降为0.356只/框,下降94.5%;阳性钉螺密度由0.084只/框降为0.0025只/框,下降97%;活螺框出现率由27.43%降为9.29%,下降66.1%(两年半后上述三项指标分别下降99.5%、99.3%和94.8%);居民粪检阳性率由31.17%降为1.87%,下降94%;3—4周岁儿童的粪检阳性率由4.17%降为0;病人克粪便虫卵均数由26.1降为10.25;病人日排出虫卵总量由226.6万只降为5.3万只;居民环卵沉淀反应试验的阳性率由41.8%降为21.9%,其中环沉率 $\geq 5\%$ 的阳性率由37.5%降为5.4%,下降85.6%;平均环沉率由4.41%降为0.78%;耕牛粪检阳性率由9%降为0.71%,下降92.1%;哨鼠感染率由59.8%降为0.74%,下降98.8%;平均每鼠感染虫数由5.15条降为0.015条,下降99.7%。接近基本消灭血吸虫病的要求。而只采取化疗措施的桃红村,2年后居民粪检阳性率由23.49%降为5.14%,下降78.1%;耕牛粪检阳性率由51%降为39.13%,仅下降23.3%;活螺密度增加2.7%,活螺框出现率增加7.3%,阳性钉螺密度下降27.4%,防治效果明显低于前者。

试点使用溴乙酰胺大而积灭螺过程中,从未发生毒死家鱼事件,使39口鱼塘和1座中型水库的1万多公斤家鱼免受药害,保鱼效益非常显著。而在试点外围使用五氯酚钠灭螺时,因喷药后下大雨,部分药液流入鱼塘,致使4口鱼塘家鱼全部死亡,仅赔偿鱼苗费就支付了600元。

3种杀螺药平行比较灭螺试验和大面积喷洒灭螺效果表明,溴乙酰胺的杀螺作用比五氯酚钠高10倍以上;喷洒灭螺有效剂量低于烟酰胺可湿性粉(灭螺鱼安),其杀螺作用和对鱼类的安全性在国内外居先进之列。该药在内蒙古草原试验表明,对中华双腔吸虫和胰阔盘吸虫的第一中间宿主枝小丽螺(*Ganesella virgo*)也有良好的杀灭作用。

电镜观察和生化测定结果表明,钉螺接触溴乙酰胺后,细胞结构明显改变,尤为明显的是线粒体的混浊肿胀及嵴的断裂,致使位于细胞器中的柠檬酸合成酶和鸟氨酸氨甲酰转移酶的活力降低。又因为呼吸链的酶也在线粒体内,钉螺接触溴乙酰胺后也可引起损伤而耗氧量减少。由于碳水化合物及氮代谢的混乱,致使钉螺受到毒害。氘标记溴乙酰胺示踪显示出

钉螺体内放射性量高于鲤鱼体内数倍,这可以解释溴乙酰胺对鱼类毒性低于钉螺的现象,从理论上阐明了溴乙酰胺的杀螺作用,填补了该杀螺药杀螺机制研究的空白。

在实验室合成溴乙酰胺和中量制备的基础上,同江苏省江都合成兽药厂合作,进一步摸索了合适的中试反应条件、中间体的回收以及三废处理等,完成了溴乙酰胺生产工艺的研究。1990年8月11日通过了生产工艺鉴定。由于采用原料套用和掌握较合适的反应条件,总收率达58%以上,且所用原料全部国产,原料成本由每公斤110元降至26.58元。如列入国家原料供应计划,则成本可以进一步降低。目前该厂已可批量生产。

上述各项研究国内外均未见报道。研究结果表明,溴乙酰胺已可作为杀螺保鱼药物在防治中推广应用,可解决长期存在的药物灭螺与渔业生产的矛盾。将会产生明显的社会效益和经济效益。

[部分刊登于中国血吸虫病防治杂志,2(3):29,1990

中国寄生虫学与寄生虫病杂志,8(1):54,1990

动物学报,35(3):313,1989

动物学杂志,24(3):4,1989]

(本项研究于1990年10月14日通过成果鉴定,11月5日通过国家验收)

单克隆抗体免疫试验检测循环抗原 诊断形成血吸虫病的研究

寄生虫病研究所

严自助

吕再晏

王文

吴纍

采用细胞杂交瘤技术,获得分泌特异性血吸虫肠相关阴极抗原的单克隆抗体和可溶性虫卵糖蛋白抗原单克隆抗体的细胞株。将纯化的单克隆抗体标记过氧化物酶,以硝酸纤维素为载体,建立直接法斑点酶联实验试验(Dot-ELISA),以检测血吸虫循环抗原。

用上述方法检测粪检阳性的急性血吸虫病人血清139份。阳性反应126份,阳性率为90.6%;测定慢性病人血清202份。阳性反应168份,阳性率为83.2%;测定正常人血清100份,未见阳性反应。除个别肺吸虫病人外,对肝吸虫、疟疾和其他非寄生虫感染病人血清未见阳性反应。测定粪便不同排卵数病人血清时,EPG>100组的抗原水平与阳性率高于EPG<100组。30例慢性病人。治疗后一年,84%病人血清循环抗原转为阴性。另几例接近阴性水平。

将有关试剂制成试剂盒后,经36个单位、3万人次应用,结果均较满意。

上述结果表明,血吸虫肠相关阴极抗原单克隆抗体及可溶性虫卵糖蛋白抗原单克隆抗体用于直接法斑点酶联试验检测循环抗原具有较好的敏感性、特异性,在一定程度上能反映感染度和药物治疗效果;还有早期诊断价值。本法用血量少,操作简单,不需特殊仪器。适于

现场大规模应用。检测抗体的免疫试验相比较,本法的优点还在于具有病原学诊断的意义,因此在血防实践中将有广阔的应用前景。

[全文刊登于中国寄生虫学与寄生虫病杂志,8(3):161,1990

中国血吸虫病防治杂志,2(2):39,1990

中国寄生虫病防治杂志,3(1):42,1990

上海免疫学杂志,10(2):113,1990

中国医学科学院学报,12(3):173,1990

中华医学杂志,70(1):44,1990]

(本项研究于1990年6月通过鉴定)

大山区血吸虫病流行因素和流行规律的研究

寄 生 虫 病 研 究 所	张 容	郑 江	谢法仙
	钱 珂	姚邦源	王延安
	吴建忠	谭鸿群	朱 丹
	祝红庆	徐仁发	
四川省医学科学院寄生虫病防治研究所	辜学埂	赵文贤	许发森
	邱东川		
	陈国瑜	韩 跃	文 松
四川省西昌市血吸虫病防治站	李玉祥	李兴加	赵联国
	严洪智		
	苏正明	周旭芬	廖加良
云南省大理州血吸虫病防治研究所	周镇炳	邱宗林	殷关麟
	徐映波	杨 惠	杨文胜
云南省巍山县血吸虫病防治站	姚国辉	毕绍增	段有荣
	杨寿鼎		
	赵吉彬	杨 杰	彭忠慧
	王周祥		
	高怀杰	卜怀忠	姚家仁
云南省卫生厅地方病防治办公室	张显清		

本研究应用系统生态学和流行病学观点和方法,结合卫星图像,阐明了大山区血吸虫病的流行因素和规律。

1、明确了大山区血吸虫病主要流行于宽阔的河谷地带,而中低山、高原和狭窄燥谷没有血吸虫病流行。

2、根据大山区的地貌和血吸虫病流行特点,可分为高原峡谷和高原平坝两种主要类型。

它们不仅在地貌,相对高程有明显差别,而且在传染源分布、钉螺生态、粪便污染和感染方式等方面均有明显不同。由于地貌、高程和水系等关系,使血吸虫病的分布呈分散、孤立状态。

3、阐明了影响大山区血吸虫病流行的生物、自然、社会因素的作用。以概率累积和法,分析了影响血吸虫病流行的 32 个因素中,概率影响度较大的是气温、雨量、传染源数量、阳性螺点数量、生产用水和使用沟水六项因素。以 logistic 多元回归分析,在影响田中钉螺感染的 29 个因素中,优势比值(ROR)较大的有田的地理位置、户主的阳性牛和猪数、户主的犬数、钉螺密度及田距上方沟渠的距离六项因素。以 G 检验发现在生产体制改变为家庭承包制后,病人分布呈明显的家庭聚集性。应用实验流行病学方法,明确了家犬和猪既是传染源,又因吞食含血吸虫卵人粪后所排虫卵难以孵化,而具有清除部分虫卵的作用。同时还对大山区阳性螺的寿命,逸竄量和自愈现象等首次作了系统研究和报告。

根据流行因素和规律,制订了相应的干预措施,结果表明在难以全而灭螺的大山区,人畜化疗的覆盖而不能小于 90%,重点环境钉螺必需认真处理,否则干预效果不满意。首次提出大山区人群患病的基本数学模型,并以此对干预措施的效果进行评价和估计病情发展趋势,为改进干预措施提供了依据。

本研究所采取的干预措施针对性强,效果较好,方法可行,经济上能为大山区接受。

(全文刊登于寄生虫学与寄生虫病杂志,8(1):4,1990; 8(1):60,1990

血吸虫病防治杂志,1(1):62,1989;1(3):60,1989;

1(3):63,1989;1(4):1, 1989,

1(4):60,1989,2(1):24,1990;2(1):41,1990.

International Scientific Conference on Epidemiology 1989,165 Beijing,China.)

(本项研究于 1990 年 10 月已通过鉴定)

利什曼原虫单克隆抗体诊断盒的研究

寄生虫病研究所 瞿靖琦 包慧芳 许永湘 汪俊云 杨月涛 管立人

研制可用于黑热病诊断、流行病学调查、疫情监测与分析的诊断盒,是防治黑热病的关键技术之一。本成果应用淋巴细胞杂交瘤技术,筛选具有实用价值的细胞株,制备了特异性高及多种用途的单克隆抗体,并先后开展了多项工作。

一、在国内首先建立了以小鼠巨噬细胞为供体的体外培养利什曼原虫无鞭毛体的方法,并用抗前鞭毛体单抗测出其相关抗原,为检测黑热病病人体内循环抗原寻找到可靠依据。

二、检测循环抗原以诊断黑热病应用 Dot-ELISA 直接法检测 159 例黑热病患者的血清,阳性率 90.5%;对骨髓穿刺涂片原虫计数的病人血清检测结果表明,循环抗原水平与感染度有一定关系,50 例患者经锑剂治愈后 3 个月—16 年的血清检测结果均呈阴性,而经骨

髓穿刺证实的6例复发患者,则检测结果为阳性反应。麻风、结核病、肺吸虫病、疟疾等患者各50例血清均未见交叉反应,50例正常人血清全为阴性。本法只需耳垂分离2—4 μ l血清,操作简便,从采血至观察结果总共只需5小时,无需特殊设备。且不仅可用于临床诊断,疗效考核,亦为监测流行病学动态提供一个新的手段。

又以酶联免疫吸附试验(EITB),检测黑热病患者、血吸虫病、结核、肺吸虫病、疟疾等寄生虫病患者及正常人血清,证明130、100及25KD为黑热病患者的特异条带。治愈者的血清,以同法检测,不显示任何条带,证明其循环抗原消失,显示了抗杜氏利什曼单克隆抗体识别抗原分子上特异抗原决定簇的针对性。

以上研究采用的单克隆抗体,均以羟基磷灰石柱层吸析纯化,此法具有纯化条件温和,抗体失活少简单易行等优点。纯化的单抗用戊二醛两步法标记过氧化物酶,使成酶标记单克隆抗体HRP—McAb。建立了Dot—ELISA直接法及EITB直接法诊断黑热病患者的循环抗原,并以PEG沉淀血清中的免疫复合物,以达到特异性强,敏感性高,缩短反应时间等优点,本项研究结果经四川华西医科大学验证,四川省寄生虫病防治研究所和甘肃省武都县防疫站使用,均获满意结果,具有推广应用价值和前景。上述方法在国内尚未见有报导。

三、媒介白蛉体内分离物的鉴定:

以抗杜氏利什曼原虫单克隆抗体腹水,用Dot—ELISA间接法,对130只自然感染及人工感染的亚厉山大白蛉体内分离物予以检测,证实为利什曼原虫,这与同时以自然感染白蛉体内分离物接种动物后,3个月均发生内脏利什曼病的结果一致。实验并确定了检测白蛉体内原虫的最宜时间为吸血后10天左右,此法简单易行,敏感性较IFA提高20倍,仅需3小时即可完成,较以动物接种才能确定虫种的传统方法缩短三个月的时间。更有利于现场虫株鉴定工作的开展。

世界卫生组织1990年规定,媒介白蛉的确定,条件之一,是必须通过抗利什曼原虫单克隆抗体的鉴定。由于本研究提供的检测方法和鉴定结果亚厉山大白蛉已被确定为我国新疆吐鲁番黑热病疫区内的传播媒介(见Technical Report Series 793 P137, WHO Expert Committee),为我国填补了空白。

[全文刊登于《寄生虫学与寄生虫病杂志》,4(3):199,1986;8(4):374,1990。

《地方病通报》,5(4):55,1990;5(4):66,1990 中国寄生虫病防治杂志,4(1):29,1991]。

(本项研究于1990年11月通过鉴定,建议为卫生部部级成果,报部待批)

应用核酸打点杂交法和酶联免疫吸附法 检测我国24省市16个不同民族乙肝感染者 中丁型肝炎病毒(HDV)感染的流行病学特征

病毒学研究所

詹美云

汤少华

马虹

易炎杰

张文英

田瑞光

张满苍

刘崇柏

本文应用自己先后建立的酶联免疫吸附法和核酸打点杂交法检测我国 24 省市 16 个不同民族 8277 名乙肝感染者中丁型肝炎抗原(HDAg)抗体(抗-HDV)和 HDV-RNA。其中乙肝病人 4005 份,乙肝表面抗原携带者 4272 份,抗 HDV 抗体阳性率分别为 1.54% 和 0.96%,总阳性率为 1.24%(103/8277),病人和 HBsAg 阳性携带者之间无显著差异。新疆、内蒙、明显比其它省市高。抗原阳性率和 HBsAg 携带者分别为 3.81%(127/3329)和 3.34%(79/2365),总阳性率为 3.62%(206/5694),其中以吉林,广东、广西明显比其它省市高。HDV-RNA 阳性率在病人和携带者中分别为 4.11%(102/2480),和 2.3%(59/2587),总阳性率为 3.2%(161/5067),病人阳性率明显高于携带者,其中以西藏、四川、江苏较高。抗原和 HDV-RNA 阳性率明显高于抗体阳性率。在 16 个不同民族中维吾尔族(12.0%),藏族(9.0%),蒙族(7.4%),明显高于其它民族。

〔未公开发表〕

(本研究获 1990 年中国预防医学院科技成果三等奖)

检测抗乙肝核心 IgM, IgG 抗体和总 抗体的新型原材料的研制与应用

病毒学研究所 詹美云 等

我国是乙型肝炎的高发区,因此乙型肝炎诊断试剂是诊断乙型肝炎感染的重要工具,研究和生产来源丰富特异性的抗原抗体系统对于提高试剂检测的特异性、敏感性和稳定性具有重要的意义。通过检测抗 HBc,抗 HBc IgM 和 IgG 可以区别是近期感染还是远期感染,这对于临床诊断防治和流行病学调查均具有重要的意义。在七五期间我们利用基因重组技术成功地在大肠杆菌中高效表达 HBcAg 其表达的核心抗原蛋白量占菌体总蛋白量的 16%,ELISA 检测滴度 1:80000。超过国内报道的 9%的表达量和国外报道的 1:32000 的最高 ELISA 滴度。表达的核心抗原的蛋白分子量,免疫学特异性,表达的核心抗原颗粒的大小、形态(在免疫电镜观察下)均与国内外报道的结果相符合。本研究所采用的设计也可适用于其他外源基因的改造与修饰。在重组于核心基因 5'端的人工合成寡核苷酸链上设计有不同读码框架的内切酶位点,切下后的核心基因可分别与几种不同功能的强启动子载体重组,并且读码框架均能保持正确,这为进一步研究核心基因的结构与表达的关系,核心抗原与 e 抗原的关系打下了良好的基础。同时可利用该重组质粒以核心抗原作为融合蛋白高效表达其他外源基因。

乙肝病毒核心抗原的高效表达为乙肝诊断试剂的开发提供了充足的材料,由于表达的核心抗原不但产量高,而且抗原特异性好,所以不需经过特殊的纯化便可直接组装 RIA 和

ELISA 诊断试剂盒,用于临床早期诊断和大规模的流行病学、免疫学研究,以及制备单克隆抗体和进行各项实验室研究工作。目前,该高效表达菌已投入批量生产,并得到有关的生物试剂公司和防疫站及各用户单位的一致好评。

在抗体方面继 1987 年先后获得一株稳定分泌抗人 IgM, IgG 的交瘤细胞株 L, 1988 年下半年我 τ 酶噬 II 铜啊 BcAg 免疫 Balb/c 小鼠两次融合共获 8 株稳定分泌抗 HBc 单克隆抗体的杂交瘤细胞系,三株为 IgG₂,三株为 IgG₁,一株 IgM,一株 IgG,其分泌的抗体滴度高,亲和性好,完全可以代替多克隆抗体组装检测 HBc, HBcAg 的诊断用试剂,通过此项研究首次在国内证明在乙型肝炎核心抗原上存在三个不同的抗原表位(决定簇),并分别命名为 α 、 β 和 γ ,这对于研究乙型肝炎 c 基因的结构与功能以及合理组装检测试剂具有重要的理论和应用价值。

通过上述研究我们圆满完成组装检测抗 HBc IgM、IgG 总抗体的原材料生产,并于 1988 年下半年开始推向社会,为国家创造产值十余万元,目前已与上海生研所签订协议,由我们提供原材料共同申请生产检测抗 HBc 总抗体,抗 HBc IgM 抗体,试剂(见协议书),深信以基因工程抗原代替从肝组织提取抗原,用单克隆抗体代替多克隆抗体一定能将诊断试剂推向一个新的水平。

[全文刊登于病毒学报,4(4):312,1988;4(2):167, 1988;6(2):1990

中华实验和临床病毒学杂志,2(1):33,1988;3(4):25,198)

(本研究获 1990 年中国预防医学科学院科技成果三等奖)

人免疫缺陷病毒血清学诊断免疫酶法的建立及其应用

病毒学研究所 王 哲 曾 毅

将免疫酶法(IE)用于人免疫缺陷病毒 I 型(HIV-1)血清学检测,并与间接免疫荧光法(IIF)进行比较。其阳性检出率和重复性与 IIF 法相同,而且敏感性高于 IIF 法。免疫酶法更为简单,实用,且适应性强,可成为取代 IIF 的便于基层应用的 HIV 血清学初步筛选方法。用 HIV-1 免疫酶试剂盒在非洲科特迪瓦进行初步应用,取得良好结果。

[全文刊登于中华流行病学杂志,11(4):243,1990]

(本研究于 1990 年 9 月获得中国预防医学科学院科技成果二等奖)

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表达载体,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 抑制于基因与 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,以利于增加拷贝数及容量,即可以插入较大片段的外源基因;

(5)PR 与 PL 启动子串联,可能有增强作用。

我们应用 pBV220,成功地表达了人细胞介素-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 20% 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 的淋巴毒性 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 95% 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 24%,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 $^{\circ}$ C 处理敏感。通过动态研究,选择了最佳诱生条件。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 的组建为我国生物技术的发展提供了有力工具,人 IL-2 和人 γ 干扰素的高效表达已达到国际先进水平,这为在我国大规模生产这两种有希望的抗肿瘤药物奠定了基础。

(本研究获 1990 年中国预防医学科学院科技成果一等奖)

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 等

一、在国际上首先确定猪为乙脑的主要扩散宿主

根据大量动物血清学调查、动物病毒血症试验、动物与蚊类关系调查、仔猪母体抗体消失动态及幼猪自然感染动态观察等方面的结果,首先确定猪为乙脑的主要扩散宿主。

二、在国际上首先确定三带喙库蚊为乙脑的主要媒介

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、常见蚊种自然感染率等方面的资料,充分证明三带喙库蚊在乙脑病毒传播上的重要作用。在 1955 年猪自然感染现场调查中,我们首次发现吸猪血的绝大多数为三带喙库蚊,因此,在确定猪为乙脑主要扩散宿主的同时,我们在国际上也首先确定三带喙库蚊为本病的主要媒介。

三、在国际上首先开展了乙脑地理学及疫区区划的研究

通过大范围三带喙库蚊调查、人畜血清学调查、地理气象资料的搜集、人畜历史发病资料的统计,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上一致,高发区和中发区都分布在内蒙草原的东南部。

参考内蒙的经验,另 11 个省、市、区也基本上明确了各类型疫区的分布状况,为防治方案的修订提供了依据。

四、乙脑流行病学监测的新发展

1、不同年代乙脑病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未受 M_1 环病毒干扰的影响;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,主要受流行期前三带喙库蚊数量和带毒率的影响;5、在国际上首次取得了利用监测资料提早预测当年乙脑流行的经验,并为灭蚊时间的选定及预防效果的考核提供了依据。

[全文刊登于疾病监测,1(5):67,1986;2(7):103,1987;2(10):150,1987
病毒学报,3(4):326,1987]

(本研究获 1989 年国家自然科学二等奖)

用重组痘苗病毒作载体表达甲型肝炎病毒抗原

病毒学研究所 高峰 刘崇柏 伊 瑶 阮 力 朱既明

含有甲型肝炎病毒基因组全部开放读码框架 cDNA 的重组痘苗病毒,感染 143TK⁻细胞后,成功地表达了甲肝病毒抗原。ELISA 测定其滴度为 1:8。免疫荧光法显示,荧光呈颗粒状分布在胞浆内。Western blot 证实,重组痘苗病毒表达的甲肝病毒抗原有两条特异性带,一条分子量为 29kd,与甲肝病毒抗原 VP2 相对应;另一条分子量为 64kd,可能是未全裂解的甲肝病毒抗原蛋白或聚合物。初步动物免疫实验表明,痘苗病毒表达的甲肝病毒抗原具有较好的免疫原性。

(全文刊登于病毒学报,5(4),303,1989)

(本研究于 1990 年 12 月获卫生部三级成果奖)

布鲁氏菌非典型菌株及 R 型菌株鉴定分类的研究

流行病学微生物学研究所 尚德秋 鲁齐发 武素怀 李元凯
李兰玉 姜淑娟 程尧章 崔春槐

本文报告了用布鲁氏菌常规鉴定法,六大群噬菌体裂解试验和氧化代谢检查对 17 株非典型及 R 型菌株进行综合鉴定分类研究;并建立和采用 4 株布鲁氏菌系列 McAb 和 S 型牛、羊、猪种布鲁氏菌的 OMP 的 SDS—PAGE 图谱用于非典型布鲁氏菌分类之中。

一、对非典型株及 R 型菌株综合鉴定分型:

所谓综合鉴定系指用常规鉴定方法,噬菌体裂解试验和氧化代谢试验。通过对 17 株的非典型和 R 型菌株鉴定分型表明,用一般常规方法是难于对这类菌株鉴定分型的,必须辅以噬菌裂解和氧化代谢试验。例如,85008 号株用常规鉴定方法,既象牛 1 型和牛 4 型,又象羊 3 型和牛 7 型菌。因此,用常规既不能定种,又不能分型。当进一步采用噬菌体裂解和氧化代谢试验后表明,氧化代谢试验是典型牛种布鲁氏菌,六大群噬菌体试验是粗糙牛种菌的特点,再用常规试验检查证明是牛 7 型菌。故该菌为变异深刻的牛 7 型菌。

二、布鲁氏菌系列单克隆(McAb)在鉴定分型中的意义:

用不同种布鲁氏菌免疫 BALB/c 小鼠,取其脾细胞与小鼠骨髓瘤细胞 SP₂/O 进行融合,共选出 4 株不同特异性布鲁氏菌 McAb。4 株布鲁氏菌 McAb 各有其特异性反应谱。如果与

未定种型布鲁氏菌进行反应,出现或不出现反应就可以缩小鉴定范围;再与其他几种鉴定方法结合,就可以对非典型及 R 型菌株作出较准确判定。

三、不同种型布鲁氏菌的 OMP 的 SDS—PAGE 图谱分析:

1、布鲁氏菌 OMP 基本谱带:检查 20 株牛、羊、猪种布鲁氏菌的 OMP 谱带,根据分子量大小分为 5 个区段。第一区段是分子量为 9.7KD 以上。此区段内牛、羊、猪种布氏菌均有分子量相同、谱带数一致,但其强度及粗细都各异的一组谱带。第二区段分子量是 4.2—9.7KD 之间。此区段内只有一组(5 条线)分子量为 4.2KD 左右的谱带极为清晰,虽细而密,但彼此不融合。此外,此区段的其他谱带均着色较浅,朦胧不清。第三区段分子量在 3.1KD~4.2KD 之间。此区段电泳谱带,牛、羊、猪三个种布鲁氏菌各异。第四区段又分为两个类型:第一种类型分子量在 2.7—3.1KD 之间,它是一条宽而长、又弥散的谱带。第二种类型的分子量在 2.2—2.7KD 之间。这是牛、羊、猪种布氏菌所共有。第五区段分子量在 1.4KD 以下。此带亦三个种布鲁氏菌所共有。

2、牛、羊、猪三个种布鲁氏菌的 OMP 谱带的差异:

(1)牛、羊、猪三个种布氏菌 OMP 之一的孔蛋白的差别:在低温条件下,该蛋白对 SDS 具有抗性,呈三聚体的天然状态存在。反映在 SDS—PAGE 图谱上呈分子量大于 9.7KD 以上的一组谱带。牛、羊、猪三个种菌孔蛋白的三聚体谱带分子量相同,谱带数一致,但强度不同。猪种菌孔蛋白谱带粗且深;羊种菌细而浅;牛种菌孔蛋白谱带虽深但带型没有猪种菌宽。

(2)孔蛋白解聚后在鉴定中的意义:孔蛋白经热解聚后则由天然状态解离成亚基。反映在 SDS—PAGE 图谱上的 9.7KD 以上的一组谱带全部消失,代之出现的是在 3.1KD—4.2KD 之间增加一组谱带。这组谱带的分子量约为三聚体的分子量 1/3。牛、羊、猪种菌的这组谱带各具特色。猪种菌孔蛋白亚基呈靠近 4.2KD 的两条谱带。它们多为上宽下窄,个别情况两谱带近似等量。两谱带相距极近。羊种菌孔蛋白的亚基同样出现在 3.1KD~4.2KD 之间。与猪种菌不同的是有的菌株出现两条,有的出现 3 条谱带。除个别菌株外,均不呈上宽下窄现象,而且最下边谱带靠近 3.1KD。牛种菌孔蛋白解聚后的亚基几乎为等量,且为极靠近的两条谱带。

通观未解聚的三聚体谱带强度及解聚后亚基两条谱带间隔位置上的差异,则可明显地分辨出猪、羊、牛种布鲁氏菌的谱带差异。故在布鲁氏菌鉴定分类上有一定意义。

[全文刊登于中华流行病学杂志,11(3),160,1990]

(本研究获 1990 年院级科技进步三等奖)