

中国预防医学科学院 建院十年科技成就与进展

1983——1993



CAPM

中国预防医学科学院 建院十年科技成就与进展

主 编： 陈春明 曾 毅

编 审 组： （按姓氏笔划）

朱既明 汪梅先 陈孝曙 陈昌杰

李玉瑞 周祖杰 钮式如 高守一

戴 寅

责任编辑： 路榴坤 陆德敏 葛继乾

封面设计： 李汝正

目 录

十年的实践	(1)
病毒性肝炎的研究	(4)
流行性出血热、乙型脑炎和登革热的研究	(9)
艾滋病和艾滋病毒的研究	(18)
鼻咽癌早期诊断、前瞻性和病因的研究	(21)
我院病毒病诊断技术发展的十年	(25)
生物技术的应用及有关基础性研究	(31)
流感、流脑、军团病等呼吸道传染病的研究进展	(41)
腹泻病的防治研究进展	(46)
人兽共患病的防治研究	(53)
消毒、灭鼠和媒介控制研究进展	(61)
血吸虫病防治研究进展	(64)
全国人体寄生虫分布调查研究	(69)
疟疾、黑热病、丝虫病防治研究	(73)
寄生虫病免疫诊断研究进展	(81)
抗寄生虫药物的研究进展	(86)
尘肺防治研究进展	(91)
职业中毒的防治研究	(96)
职业性肿瘤的防治研究	(102)
劳动生理及人机工效学研究	(109)
车间空气监测方法研究工作的进展	(114)
生物监测	(118)
环境卫生监测	(122)
饮水与健康	(126)
室内空气污染与健康研究	(133)
土壤卫生与固体废物处理的研究进展	(138)
乡镇企业职业危害控制研究	(141)
卫生测试新仪器研究	(144)
微量元素和营养与疾病	(149)
食源性疾病与食物防癌	(154)
辐照食品卫生安全性及标准的研究	(161)
社会医学	(165)
计划免疫	(172)
疾病监测	(177)
公共营养与营养监测	(181)

食品卫生监督监测	(186)
卫生监督统计信息管理	(193)
卫生标准及诊断标准的研制和管理	(196)
预防医学情报	(201)
计算机系统与卫生信息工程	(205)
卫生防病中的技术指导和干部培训	(210)
我院卫生统计工作的回顾与展望	(215)
中国预防医学科学院研究生教育十年回顾	(219)
同济医科大学简介	(224)

十年的实践

陈 春 明

时光飞逝,中国预防医学科学院建院已经十年了。值此喜庆的日子,回顾走过的路以及大家共同奋斗的历程,过去十年中广大科技人员和职工艰苦创业的情景历历在目,今天的成绩是大家对于预防医学事业热爱和为人民服务的奉献精神的结晶。在此谨以短短的篇幅就十年的实践说明我们在建院方针方面的经验和认识。

中国预防医学科学院的建院方针是:以科研为基础全面完成五项任务;面向实际、面向基层、面向世界、面向未来;建成为预防医学的科学研究中心、技术指导中心和培训中心。简略称之为“五四三建院方针”。这个方针的形成是在改革开放的总方针,特别是科技体制改革的政策,即“经济建设要依靠科学技术,科学技术要面向经济建设”的指导方针的指引下,卫生部领导为我们指明方向,我院广大科技人员和全体职工实践的结果。这一建院方针是科学决策与不断实践的产物。

在我院初建时,郭子衡副部长提出我院在全面完成五项任务:即科学研究、技术指导与培训、监督监测、为制订卫生法规和卫生标准提供科学依据及情报交流中要以科学研究为基础。在我院五年的实践后,何界生副部长又指出我院要坚持四个面向,成为预防医学的科研、技术指导和培训三个中心。部领导为我们指明了方向,通过广大科技人员的努力,我院工作蒸蒸日上,成绩斐然,事实证明了这一建院方针的正确性。1989年由我院领导班子提出并经卫生部党组同意,“五四三”方针正式定为我院的建院方针。它已经取得很好的成绩,必将在我院今后长远的发展中结出更加丰硕的果实,并且将进一步得到丰富和完善。

二

“五四三”建院方针的核心是“以科研为基础全面完成五项任务”,它是实现四个面向和三个中心的根本。科研以防治重点疾病及解决公共卫生的重要问题为主战场,取得了成果,我院才可能在技术指导,解决疑难问题,提高预防保健的服务水平上发挥技术支柱作用,服务于社会。十年来我院取得的重要成果中获得国家级及部(省)级成果奖共计149项,院(厅)级成果60项,还有许多好的成果,虽未获奖,但在防治疾病,促进健康以及科学技术上也作出了较大的贡献。这些成果不仅为我国的预防医学事业提供了决策依据,和为防治对策中提供了有效的手段和措施;而且在预防医学科学发展上作出了重要贡献,有一部分达到了国际水平,为国内外同行所瞩目。

回顾过去,在实施“五四三”建院方针中有以下几点体会:

(1)执行“五四三”方针,在科研上就要紧紧抓住重点疾病及重要卫生问题中的关键,确定研究项目。同时要预测未来的需求,向前多看一步,安排课题,既解决当前急需,又为未来可能出现的问题准备对策。

对于重点疾病中已有有效控制措施的疾病,评价实际控制效果,估计未来可能出现的问题进行研究,如对计划免疫的全国规划执行中组织评价工作,同时就其中以消灭脊髓质炎为

重点,提供了早期快速诊断技术,应用血清及脊髓液的IgM方法于1天半以内报告结果,加速了病例报告和采取措施的进程。如已在大部分病区得到控制的丝虫病进行了七年现场观察,以判定在规定的“基本控制”的标准下,是否有未来出现反复的危险,肯定了标准的安全性,并提出了血中微丝蚴阈值作为控制的指标。对于目前还没有有效预防措施的疾病,则全力开展关键性措施的研究,如乙型肝炎基因工程疫苗已投入生产,加速了对丙型肝炎,戊型肝炎研究及诊断试剂的发展。对已大幅度降低发病率的血吸虫病,抓住难点,除研究大山区的控制外,在循环抗原的检测技术上取得了很好的成绩,血吸虫疫苗的研究也有一定的进展。对于新发生的或原因不明的传染病,则首先将危害严重的疾病的流行现状、病因及危险因素列为研究项目,如艾滋病的病原研究、诊断试剂的研究、流行病学研究等,我们研制的快速蛋白印迹法试剂已在全国推广,在云南边境静脉吸毒人群中进行了艾滋病毒传染情况的流行病学研究及随访。查明莱姆病、军团病在我国流行情况。变质甘蔗中毒的研究从致病的霉菌、毒素化学结构到预防措施的研究为防治这一中毒提出了整套的方案。随着新技术的发展,一些传染病的研究又更加深入,不但在防治上有了更好的方法,而且在科学水平上有了新的提高,如霍乱弧菌的流行株及非流行株问题,在应用分子遗传学进一步证实后,得到了更加广泛的应用和推广。霍乱基因工程疫苗的研究也有突破性的进展。

在卫生问题上,我们将重点放在带有重大经济建设意义并与健康有密切关系的问题上,如为制定食物生产及经济计划提供信息的营养调查和监测;为全国改水规划所需要的、覆盖8亿人口的饮水水质调查等。对在改革中出现的新问题及时研究,提出政策性建议或措施,如污染型的乡镇企业对人体健康环境影响的经济分析,街头食品卫生的调查与试点;对三峡水库未来库边山区人民中存在的氟骨症的研究,阐明了污染途径,提出了改进炉灶及降低燃煤氟的措施,为改善库区人民生活及健康质量和加速经济发展创造条件。

研究工作的布局紧紧扣住了为全国的预防工作服务,为经济建设服务的方向,增加了科研工作的活力,得到了国家科委、卫生部及有关部委的支持,也受到地方卫生部门的欢迎。我院已逐步成为卫生部在预防保健工作中的科技支柱,成为制订卫生政策、规划及执行预防规划以及抗灾防病等重大行动的积极参与者。这支科学家队伍已成为召之即来,来之能战的一支活跃的预防工作的战斗队伍。

(2)考虑到国际预防医学科学的发展前景,针对我院实际情况及过去成功的经验,加强了流行病学的学科建设,并强调实验室与现场结合,坚持科技人员深入现场。主张“钻进去、冒出来”,把现场工作当作研究问题、科学验证及实践的途径和场所,以解决问题为目的,摒弃那种形式主义的“蹲点”,为现场而现场的做法。与此同时,强调实验室及基础研究既是现场工作的基础,又是通过现场使实验室的工作得到不断深化。现场不断为研究提出课题,课题成果又指导了现场实际工作,相得益彰。二者是相辅相成的,而不是对立的。

流行病学工作的深入发展,一方面为我院建立预防医学信息库打下了基础,跟踪社会发展中的各种疾病与卫生问题,如建立了全国疾病监测体系,专病监测网络;推动了营养监测、环境与健康监测、食品卫生监测等。另一方面又使我们对疾病包括传染病与非传染病的一级预防、二级预防方面有不少具有重要的科学价值的贡献,如鼻咽癌的预防、膳食生活方式与死亡率的研究、宣威肺癌病因研究、尘肺调查、氯丙烯的神经毒研究、硒与人体健康研究等都取得了卓越的成果,在防治工作中得以推广应用,取得很好的效果并得到国内及国际同行的赞扬。

(3) 将高、新技术在预防医学中的应用与发展作为开辟预防医学新天地的重要领域,给予了高度重视。。十年来在这方面取得了飞速的发展。在研制多种新型疫苗、干扰素、多肽药物、蛋白工程等方面可以说是硕果累累,为更加有效地防治疾病提供了先进技术,有了很好的前景。病毒基因工程国家重点实验室,以奋斗的精神边建设边工作,在很短时间内建成了实验室,在研究工作中的进展也很大,一直发展较快,曾多次受到国家科委的表彰。这十年来的研究、开发及队伍建设为迎接21世纪的生物技术大发展作了较好的准备。

预防医学科学研究立足于我国重要疾病的防治及主要卫生问题,必须在新技术、高技术上下功夫,只有运用新技术、高技术,才能获得高效的预防措施和手段,面向世界,面向未来,其精髓应在于此。

(4) 科研工作丰富了我院的技术储备,在现场发生了新问题、疑难问题时,才能有较强的解决问题的能力。十年来我们曾有过几十次派科技人员赴现场,对一些原因不明的疾病成功地阐明了病因,指导了防治工作。银耳中毒能在短短一、二个月内搞清,是来自我们从事了十几年的酵米面中毒,对椰毒假单孢菌的深入研究;山东招远发生的“无菌性脑膜炎”流行时,我们证明了这是Echo 2与Echo 29杂交后形成的双重抗原病毒,是由于我们在病毒诊断技术上的新技术应用与发展;霉变甘蔗中毒的病因是节菱孢及其毒素所致,不但在国际上是首次报导,而且在指导预防以及神经损伤的临床治疗等都做了详尽的研究,为这一中毒的控制提出了有效可行的方案。

预防的实践确实是科研课题的源泉,科研工作确实是技术指导的基础,是提高预防工作效率的根本。

(5) 科学研究和技术指导,为我院培养了一支能攻善战的科技骨干队伍,从而为全国预防战线的专业人员培养做出了贡献。十年来我院办培训班293期,培训高、中级人员15000多人,组织讲学团赴十几个省讲学,接收进修人员近千人。研究生培养给青年提供了参与国家及部的重点项目的研究机会,其实践能力、操作技术都受到良好的训练,深得用人单位的好评。1989年后我院又与协和医科大学、北京医科大学联合创办了协和医大协和公共卫生学院,为培养高层次公共卫生管理人才开创了新路,其教学目标,教学方法,教学课程的改革已受到了各方的瞩目。

三

十年来的成绩固然令人振奋,但我们的工作仍有许多不足之处,各学科的发展也不平衡。特别是在建设有中国特色的社会主义的方针及改革开放政策的指引下,今后的十年会有更大的发展,自然在机遇的同时必然也有挑战,我们的任务也将更加艰巨,科技的发展对我们也将提出更高的要求。我们应在坚持五四三建院方针下,不断分析形势,了解和掌握客观上预防医学科研的需求,也就是理解预防医学的实际工作对科学技术的要求;看清国际预防医学各领域的发展及趋势;从中选择重点发展的领域及新技术。不断剖析我们自己,不断研究和发展建院方针,丰富建院方针的实践,使“五四三”得到深化。

在当前科技改革中,科研成果的产品化和商品化给预防医学科学技术发展带来了契机,它必将给我院带来更大的活力。

我相信我院在今后的十年中一定会在科学技术赶上与超过世界水平方面更上一层楼,为人民的健康做出了更大的贡献。

病毒性肝炎的研究

病毒性肝炎是一世界性传染病,对发展中国家危害尤甚。1989年Choo、1990年Reyes分别发表了丙、戊型肝炎的基因序列后,将病毒性肝炎分为甲、乙、丙、丁、戊五个抗原性互不相关的型别。除丁型肝炎外,余四型均有独立致病能力。我国人群甲、乙型肝炎流行率及发病率均高,初步迹象表明戊型肝炎在全国各地均有不同程度的散在流行。中国预防医学科学院病毒学研究所肝炎研究室自70年代初开始,在病毒性肝炎研究方面做了一些有意义的工作。

一 甲型病毒性肝炎

甲型肝炎(HAV)在我国病毒性肝炎急性病例中占首位,发病主要在儿童,随着我国人民物质生活水平的提高,感染率逐渐下降,特别是在城市和南方地区下降较快,易感年龄后移,成年人发病的威胁增加,因而甲型肝炎的临床流行病学和预防也日益受到重视。甲型肝炎病毒1979年用组织培养分离成功,之后研究成果不断丰富,十年来病毒所肝炎室做了下列科研工作:

(1)分离培养了多株我国不同省区的甲肝病毒株,做了组织培养的适应传代,对其生物学特征,繁殖动态,病毒蛋白在体外的合成动态,抗原纯化、单克隆抗体等做了系统研究,建立了良好的甲肝科研基础,并为研制诊断试剂及疫苗创造了条件。1988年上海暴发甲肝流行,通过启东海域甲肝病毒的分离证明毛蚶及海域淤泥中都存在病毒。在此之前实验室工作已证明固相物质对甲肝病毒有较强的吸附能力,因而易被泥沙吸附而较长期的存留于流行区海域。

(2)研制了高价单克隆抗体,建立了各种诊断方法,在分离培养甲肝病毒成功以前,只能从患者粪便中提取抗原,用繁琐的免疫粘连试验做少量的血清学工作。由于获得了适应株,又研制了高价单克隆抗体,使得诊断急性患者的甲肝IgM测定法及确定人群感染率的ELISA竞争抑制法得以建立和广泛应用。此外,还建立了免疫电泳、免疫荧光、核酸杂交等方法。

(3)在我国甲肝是一个以隐性感染为主要形式的疾病,为了了解全国各省人群的感染状况,在未获得人工培养的抗原前,病毒所就用免疫粘连试验首次对2605份不同年龄人群作了血清流行病学调查。了解到甲肝的流行率为71.4%,并证实10岁儿童已达感染率的高峰,证明了我国甲肝的流行状态属于高流行区,南方较北方感染率低。1985年对婴儿肝炎的病因分析中证明,甲肝病毒不是该年龄段肝炎的主要病因,但却是小儿肝炎的主要病因。1980年河北农村暴发甲肝流行后的人群抗体水平调查中观察到,甲肝抗体滴度随年龄增长而下降,但却有持续很高的抗体阳性率,且在一次流行后高年龄组的抗体不出现回忆反应。证明了自然感染的免疫是巩固的,为今后疫苗免疫提供了有价值的资料。

1991年我国部分省市发生特大洪灾,预防医学科学院组织有关科研人员深入现场指导肝炎预防工作,并对1769份灾区急性肝炎患者血清做了病原分析,结果甲肝患者1115例,占完

成分型血清中的80.5% (有384例未能确定何种肝炎)。

(4) 在解决病原诊断、流行病学的一些问题后, 甲肝的预防工作就上升到重要位置。八十年代国际与国内就开始研究灭活疫苗与活疫苗, 特别是活疫苗已在进行中试。然而甲肝病毒繁殖慢, 产量低, 制备比较困难。1987年起我院病毒学研究所就开始利用现代分子生物学技术表达甲肝抗原, 利用大肠杆菌表达甲肝部分结构蛋白虽然有一定的免疫原性, 但所表达的甲肝融合蛋白与人恢复期血清反应不佳, 这与国际报告是一致的。考虑到该病毒抗原的结构依赖性, 决定利用痘苗病毒作载体, 插入甲肝病毒全部读码框架基因来表达甲肝抗原, 并获得了成功。重组病毒表达了全部甲肝结构蛋白成份(VP0、VP1、VP3、PX) 不产生感染性甲肝病毒。重组病毒感染2~3天所产生的抗原与人甲肝IgM与IgG抗体以及单克隆抗体都有很好的反应, 免疫家兔能产生甲肝中和抗体。在卫生部药品专家评审委员会的批准下, 对8名儿童进行了皮肤划痕免疫, 全部成功, 两个月后甲肝抗体EIA滴度达1:4—1:16, 平均1:8, 两年后仍保持阳性, 无一例患甲肝。对照组8名儿童一年内有一例患甲肝, 其余7人甲肝抗体保持阴性。进一步改善这种疫苗, 并研制多价重组疫苗的工作还在进行。基因克隆表达甲肝抗原获1991年卫生部科学进步三等奖。

二 乙型肝炎的研究

自Blumberg 1965年发现澳大利亚抗原以来, 乙型肝炎的病原诊断、流行病学、疫苗预防及临床治疗指征、预后判断等, 均取得了突破性进展。1982年血源性乙肝病毒表面抗原疫苗投产, 1986年重组DNA (酵母表达型) 问世, 用特异性乙型肝炎疫苗在全全球范围内控制乙型肝炎蔓延的时代业已开始。世界卫生组织为此已建议在世界范围内逐步实施乙肝疫苗新生儿免疫。截止日前为止, 已有26个国家和地区正在实施或已经实施了这一计划, 我国1992年一月正式实施了城市至乡村的新生儿乙型肝炎疫苗计划免疫。

十年来病毒所肝炎研究工作除疫苗研制外, 在流行病学, 病原诊断和疫苗应用策略等方面做了十分有价值的工作, 并多次获得卫生部及国家科学技术进步奖励。

(一) 病毒性肝炎的流行病学研究

1980年在卫生部防疫司的领导下, 在病毒所肝炎室的组织与设计下进行了一次除台湾省外的全国性乙型肝炎流行规律的横断面调查, 采集血清标本277 186人, 包括88个大、中、小城市, 121个县的农村居民, 至1993年资料汇集总结完成。调查结果证明: 我国是乙型肝炎的高流行区, 以反向间接血球凝集法(RPHA) 检出人群中HBsAg阳性率8.83%, 农村高于城市, 男高于女, 长江以南大部省市高于长江以北诸省市, 如按城乡人口所占比例(1:4) 标化推算, HBsAg阳性率应为9.76%, 接近10%; 在年龄分布上HBsAg有两个年龄高峰, 以3岁前儿童年龄升高率最快, 年成倍增长, 故以新生儿为重点免疫对象的预防乙型肝炎策略已露端倪。此外, 流行病学调查还推动了全国病毒性肝炎的研究。此工作获卫生部科技成果甲等奖。

全国流行病学调查以后, 紧接着开始了乙型肝炎病毒围产期传播及其阻断方法的研究, 为乙型肝炎疫苗预防做了可行性准备。通过这项工作, 在世界上首次直接证明HBV在第三妊娠期子宫内感染率~5%, 病毒在胎肝细胞内繁殖。此类宫内感染儿用乙型肝炎疫苗无法阻断。围产期传播大部分发生在分娩过程中, 出生后新生儿用HBsAg血症出现高峰在第二、三月, HBsAg阳性母亲所生新生儿在出生后采足跟血, ~10%可检出HBsAg血症, 但绝大部

分均能被疫苗阻断。这表明在暴露后立刻给予疫苗免疫是完全可以阻断感染的。第一针免疫愈早（出生后24-48小时）及所用疫苗剂量越大，阻断效果越好，如伴以高价乙型肝炎免疫球蛋白效果优于高剂量疫苗。实验表明乙型肝炎疫苗有良好的阻断围产期传播的效果，无严重副作用，新生儿免疫应答极佳。当时该工作在国内外均处领先水平，获卫生部甲级科研成果奖及国家科技进步三等奖。

1986年我国血源疫苗已批量生产，国家急需疫苗的使用策略。八五计划中以病毒所肝炎室为主，组织六省市在200万人口中，用各种疫苗接种剂量免疫了~20万新生儿，免疫率占试验区出生婴儿的95%。经综合分析本资料后，得到了成本效益最低，社会效率最好的免疫剂量策略，经多次专家论证为卫生部正式采纳，并于1992年一月在全国城乡逐步纳入计划免疫管理。用此方案成本效率最高。如果全体新生儿都及时得到免疫，经几代人的努力乙型肝炎将不再是我国的最具威胁的疾病，人群HBsAg阳性率将降至~1%。与此同时，在黑龙江，河北，河南的农村，湖南的湘潭市市区，共约20万人群，整群抽样本10484人用RIA法进行了乙肝血清流行病学调查，表明人群HBV感染率为58.14%，HBsAg阳性率为10.03%，在不足三岁的幼儿中HBsAg阳性率已达人群的最高峰（12.5%），3096名HBV易感者年HBV感染率为7.0%，HBsAg阳性率0.68%，新阳转的HBsAg 51%分布在三岁以下婴儿。纵横流行病学资料完全相符，充分的证实新生儿是疫苗免疫的主要对象。在乙型肝炎流行因素的研究中，侧重探索了医源性传播及性传播的作用。关于医源性传播，当严格控制注射器、穿刺针和输液器的消毒后，连续2年每年检测一次HBV指征，2岁以下的婴儿HBsAg的阳转率较实施控制前下降50%以上，效果显著。关于性传播，新婚夫妇的性传播较严重，一方HBsAg阳性，另一方HBV易感者，自婚姻登记时第一次抽血及婚后2年3个月第二次抽血，57对此类夫妇中，易感一方HBsAg 14.64%阳转，52.63%有HBV感染，而双方都是HBV易感者的80对夫妇，HBsAg阳转者只有1.64%，HBV感染仅16.03%，与正常人群HBV易感者年感染率相似，吻合率很好。这证明资料是可靠的。此二项实验填补了国内外空白。当前疫苗的保护效果正在继续观察中，五年已过去，免疫后的新生儿仍呈现良好的保护状态。

（二）乙型肝炎诊断试剂的研制

八十年代初病毒所肝炎室就建立了DNA重组和杂交瘤技术。1987年通过基因重组技术在原核细胞上高效表达特异性强的乙型肝炎核心抗原，并用它免疫获得多株抗-HBc杂交瘤细胞系，这些细胞系均能稳定地分泌高滴度的抗HBc单克隆抗体和既抗HBe又抗HBc的双特异性单克隆抗体。由这些抗原和抗体组装成了检测乙型肝炎抗HBc总抗体，IgM抗体和IgG抗体的EIA试剂。此项研究于1990年获预防医学科学院科技进步三等奖。1988-1989年利用基因工程表达的乙型肝炎核心抗原转化的e抗原免疫，获得14株抗HBe的杂交瘤细胞系。这些细胞系与上述双特异性单克隆配对完全可以取代人血清抗HBe抗体，获得能配对使用的抗HBe单克隆抗体。这在国内属首创且达到国际领先水平。用这些抗HBe单克隆抗体与1990年我室在原核细胞上高效表达的乙型肝炎e抗原组装成无害、无毒、不污染环境的检测乙型肝炎e抗原/抗HBeEIA试剂盒，于1991年获生产文号。1992年获卫生部科技进步二等奖。投放市场以来获得很好的社会和经济效益。

三 丙型肝炎的研究

丙型肝炎病毒属黄病毒科，丙型肝炎病毒属，是正链单链RNA病毒，只有一个开放性读码

框架,能编码3010-3011个氨基酸,是输血后肝炎的主要病原体。HCV的感染容易慢性化,并能引起肝癌。HCV对黑猩猩及人均能致病,起病较缓,有无症状携带状态。其传播途径与乙型肝炎相似,但主要为输血后传播,围产期及性接触传播不如乙型肝炎明显。至今对HCV基因组的功能还不够清楚,第二代诊断试剂包括了C区、NS3及NS4区,但仍无完善、简便的检测HCAg的检测试剂。国外人群中HCV的感染率不高(1-3%)。我国尚无完整资料,初步流行病学资料表明我国人群HCV感染率~3%。在我国散发性急性肝炎病例中HCV~10%,但在献血员中尤其是职业献血员中HCV的感染率高达10%-75%,Choo1989年首先报导了HCV部分基因克隆,相继日本和中国都有了报导,当前世界上已有数十株HCV克隆。由于其碱基序列及衍生出的氨基酸差异可将HCV分为四个亚型,我国与日本以第二亚型为主。1991年病毒所肝炎室与河北省卫生防疫站合作首先克隆了HCV NS4片段,使我国有了自己的克隆,可作为研究HCV的探针及引物。1992年病毒所又首先发表了我国河北省HCV基因的全序列。河北株与日本HCV BK株比较,碱基同源率为91.8%,氨基酸的同源率为94.3%;与美国原型株HCV-1相比碱基同源率为84.9%,氨基酸的同源率为78.6%,变异主要发生在E¹/E₂结构区,NS3、4、5均比较保守。1992年病毒所又在原核细胞上表达了C区及NS3区的C20和C33C段,用于组成当前国际上使用的第二代诊断试剂盒。在C区的合成肽方面亦达世界先进水平(分枝肽),工作正在进行中。这些工作在国内均属领先地位。研究工作正在深入中,预计将有较大进展。

四、戊型肝炎(HEV)的研究

戊型肝炎是1980年在印度北方的一次水源暴发流行中发现的。1990年Reyes发表了缅甸HEV的部分基因序列,1991年Tam发表了缅甸株的基因全序列,至此戊型肝炎基本取得突破。

HEV为32-34nm直径的二十面体,属嵌杯病毒科,线形正链RNA,病毒全基因组碱基为7.5kb。黑猩猩、食蟹猴、绒猴和恒河猴均可实验感染,并可传代。

HEV主要流行于印度次大陆,东南亚和中亚地区,多因带有HEV的粪便污染饮水而引起。1986-1988年我国南疆地区曾有大规模的HEV暴发流行,患者13万,为防止HEV疫情的扩大及预测蔓延趋势,病毒所曾三次派人亲临流行现场提出一些防治的指导性的意见,并做了技术支援。1991年我国江淮地区发生了百年不遇的特大洪水灾害,在安徽、江苏、湖北和四川省水灾区采集了1769例散发性急性肝炎病人的急性期血清,经检查HEV的发病比例平均为14%,以四川省最高,发病年龄段在10-40岁,平均30岁,与乙肝发病年龄相似。1991年病毒所肝炎室曾在新疆HEV患者急性期粪便中首先获得我国HEV三个片段的结构基因克隆,从基因水平上证实了1986-1988年新疆南部地区确为HEV流行。1992年完成了HEV的全基因克隆及核苷酸序列分析(7.4kb)。与缅甸株相比较,有493个核苷酸的差异,同源率为94%。在碱基结构上胸腺嘧啶占24.9%,胞嘧啶占32.1%,鸟嘌呤占25.9%,G+C为58%,故我国的HEV与缅甸株在基因水平上有高度的同源性。现正在用原核细胞表达的HEV多肽研制HEV试剂盒。HEV在我国人群中的流行特征还不清楚。现正在探索中。HEV病毒对理化因子的抵抗力较甲型肝炎弱,预计在我国内地诸省发生暴发流行的可能性不大,但在洪涝灾害区如不加强粪便管理,大流行的潜在危险是存在的。1992年该项研究成果(包括流行病)获卫生部科技进步一等奖,并获得1993年国家科学进步二等奖,在排列名次上北医第一(牵

头单位)，病毒所名列第二。

五 丁型肝炎HDV的研究进展

1977年意大利学者Rizetto发现丁型肝炎病毒，首称 σ 因子，1984年改称 HDV。丁型肝炎是缺陷型负链 RNA病毒，在乙型肝炎病毒感染的情况下，HDV才能引致疾病，并加重乙型肝炎的予后进程。近十年来病毒所进行了以下研究工作，取得了重要的进展。

（一）诊断试剂的研制及应用

1988年在美国CDC的协助下，建立了检测抗HDV和丁型肝炎抗原的EIA检测法，建立了测HDV核酸用的同位素及非同位素斑点杂交法，推向全国，产生了重大的社会效益。

（二）流行病学研究

利用已建立的上述方法完成了我国25省市（直）自治区，HBsAg携带者及各类乙型肝炎病人中HDV流行病学研究，计16个民族，表面抗原携带者血清5044份，病人血清4714份，携带者和病人中抗HDV阳性率分别为1.18%和1.40%，而HDV抗原阳性率分别为3.0%和4.25%；打点杂交HDV RNA阳性率分别为4.0%和2.2%。各种指征在病人及携带者中无显著差异，新疆（8.9%）、内蒙（4.4%）和西藏（4.4%）的抗HDV阳性率明显高于其他省市，而吉林（15%）、广东（10%）、广西（9.7%）、辽宁（9.62%）和西藏（7.5%）的HDAg阳性率显著高于其他省市。HDV RNA维吾尔族（12%）、蒙古族（7.4%）、黎族（13.5%）感染率高于其他民族。此项工作获1990年预防医学科学院科技进步三等奖。

（三）分子生物学研究

1992年用我国的HDV RNA经逆转录PCR技术，获编码HDV抗原的最重要的HDV开放读码框架(ORF5)的全序列克隆（707bp）。经序列分析与美国、意大利、英国、日本和我国台湾省同段基因序列比较，同源性分别为99.1%、91.2%、93.9%、89%和90.6%。有趣的是在1491位点中国大陆株与台湾株为A，而美国和意大利株为T；在1493位点中国大陆株与台湾株为C，而美国株为A，意大利株为T；其意义尚不清楚，正在研究中。

随后，我们利用基因重组技术，首次在国内表达中国四川株丁肝病毒抗原成功，并证明保留N端77个aa仍具有抗原性，但尚失结合病毒RNA的能力。并首次证明丁肝抗原结合RNA的能力不是专一性的，这对于进一步研究病毒的复制机理及诊断试剂的研制均具有重要意义。

（刘崇柏 詹美云 郭可睿）

流行性出血热、乙型脑炎和登革热的研究

流行性出血热Epidemic hemorrhagic fever (EHF, 简称出血热)、流行性乙型脑炎Japanese encephalitis (JE, 简称乙脑)、登革热/登革出血热Dengue fever (DF)/Dengue haemorrhagic fever (DHF)都是对我国人民危害较大的自然疫源性疾病。出血热由鼠类(黑线姬鼠、褐家鼠、大白鼠等)传播,并证明可有螨媒(革螨、恙螨)参与,乙脑和DF/DHF则分别由三带缘库蚊及埃及伊蚊等蚊虫传播。由于三种疾病发现的早晚及研究历史长短不同,需要解决的问题也不尽相同。出血热发现较晚(30年代初),病原解决较迟(国外1976,国内1981),存在问题较多,加上多年来发病急剧增多,危害严重,推动了出血热各方面研究的发展;乙脑的历史较长,50年代曾集中对其病原诊断、流行病学、媒介、宿主、发病机理及疫苗进行研究,面经过普及预防接种及大力灭蚊,已使其发病率降低,近十年来重点对其疫区区划及流行病学监测和减毒活疫苗毒株的特性进行了较深入研究;DF/DHF是流行于热带及亚热带地区危害较大的一种疾病,研究历史较久,1978年输入我国后在广东,广西及海南省沿海地区引起流行,近十年来对其临床诊断,病原分型、流行病学调查和监测进行了研究。

一 出血热的研究

出血热是一种病死率较高的急性传染病,其病原为汉坦属病毒(Hantavirus),属布尼亚病毒科(Bunyaviridae)。汉坦病毒具有世界性分布,但出血热流行主要见于亚洲和欧洲,以我国发病数最多(占世界报告总数的90%以上),受其危害最严重,近十年我国每年发病5-10万,死亡1000-3000例,其疫区仍在不断扩大,增多。本病的病原研究虽有50余年历史,因长期未分离到病毒,对其流行环节一直不够清楚,亦无法进行特异性诊断和预防制剂的研究。1976年南朝鲜首次分离到出血热病毒,称为汉坦病毒(Hantaan virus);1981年我院病毒所和流研所分别与国内有关单位协作,从疫区的黑线姬鼠和褐家鼠分别分离到野鼠型和家鼠型EHF病毒,为开展本病的病原学、流行病学等研究及疫苗研制创造了条件。同时,用新建立的病原学和血清学方法迅速确定了1981年家鼠型出血热在我国河南和山西一些地区的爆发流行,开拓了本病研究和防治的一个新的重要领域。建院以来,在此基础上对本病的病原、实验诊断、宿主动物、传播途径、流行病学监测及疫苗等方面进行了大量的、比较系统深入的研究,先后获得1983年卫生部甲级成果奖2个、1984年卫生部甲级和乙级成果奖各1个,1987年国家自然科学成果三等奖以及1988年中国预防医学科学院科技成果三等奖2个。

(一) 病原学研究

1. 病毒分离及其理化及生物学性状的研究 1981年首次分离到病毒后,应用人胚肺二倍体细胞(2BS)、大白鼠肺原代细胞、人肺癌细胞(A549)、绿猴肾传代细胞(Vero E6)进一步从不同地区和宿主动物分离到许多株EHF病毒。对病毒的一般生物学和理化性状用非疫区黑线姬鼠及细胞培养进行研究,明确了它对脂溶剂(乙醚、氯仿等)、酸、紫外线及一般消毒药(如戊二醛)敏感,加温56°C30分钟可灭活病毒,为对本病的安全防护及病

毒培养提供了科学依据。

2. 抗原性分析 应用交叉中和试验、阻断试验和ELISA等血清学方法,证明家鼠型和野鼠型病毒的抗原性有明显差异,建立了酶斑减少中和试验(EFRNT)和空斑减少中和试验(PRNT),比较检查不同来源EHF病毒株的抗原性,其结果基本一致。发现野鼠型病毒的抗血清能将两型病毒明确区分,而家鼠型病毒抗血清因存在对野鼠型病毒的单向交叉反应,常不能明确区分两型病毒。同时发现L99株(家鼠型)及C4株(野鼠型)病毒与本型及异型病毒株间具有较广谱的交叉反应,为疫苗毒种的选育提供了依据。

3. EHF病毒形态学和形态发生学的研究 1982年病毒所用酶标免疫电镜技术首次在病毒感染细胞内观察到出血热病毒的形态,并进一步深入研究了出血热病毒的形态发生学。

(1)证实出血热病毒具有布尼亚病毒科(Bunyaviridae)的基本特征,但又不完全相同,表现在它比一般布尼亚病毒颗粒大(平均直径为122nm,而非95nm),且大小不一(由90nm到160nm不等),可呈多形性,病毒内部有比较粗大的颗粒丝状结构。

(2)在出血热病毒感染细胞浆内发现多量的包含体(Inclusion bodies),有颗粒状、丝状和混合型,经免疫电镜证明为病毒的核壳蛋白(NP)成分。包含体为汉坦属病毒区别于其它属布尼亚病毒的重要标志。

(3)发现出血热病毒感染细胞表面有独特的病毒抗原层,这在其它布尼亚病毒从未发现过,是出血热病毒感染另一重要标志。

(4)基本搞清了从病毒穿入细胞,在细胞质膜上发芽,在高尔基体糖化及病毒释放的全部过程。

(5)在急性期死亡患者尸体肾小管上皮细胞内观察到和感染细胞培养内所见相同的病毒相关结构,如包含体,感染细胞膜上的病毒抗原层,并发现具有免疫反应性的基底膜抗原的沉积,为本病的免疫病理学研究提供了重要依据。

上述形态学研究处于世界领先地位。

4. 单克隆抗体的研制及应用 病毒在国内首次建立抗出血热病毒的单克隆抗体(McAb),先后用野鼠型出血热病毒A9株及C4株和家鼠型病毒R22株及L99株建立多批分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞共百余株,经鉴定这些单克隆抗体均属抗病毒核壳蛋白的单克隆抗体。利用组特异性McAb A35、A25-i建立了直接免疫荧光法、IgM捕捉ELISA法及致敏羊血球RPHI法三种诊断试剂盒。并用组特异性,两型病毒的型特异性McAb各4-5株分别混合,建立了EHF病毒抗原分型试剂盒。RPHI试剂盒已得到卫生部批准生产文号,可大量生产供应全国。这些试剂盒在全国推广后,在EHF的流行病学监测、血清学诊断,病毒抗原分析、疫苗研制及发病机理等研究中得到广泛应用,对整个EHF研究、防治工作的发展起了重要作用。

在国内首次建立了一批抗EHF病毒糖蛋白Gr(GP-G2)的McAb,并用它初步建立了检测病毒保护性抗原和抗体的ELISA法,用于疫苗的灭活方法比较,病毒增殖动态及疫苗收获,以及灭活疫苗中保护性抗原含量的测定。首次在国内采用蛋白印迹(Western blotting)、放免沉淀(Radio-immunoprecipitation, RIP)和ELISA夹心法,对所建立McAb的病毒蛋白特异性进行鉴定,发现所有抗NP-McAb均能识别经SDS-PAGE变性后的50kD多肽(NP),表明NP上的抗原位点为非构象依赖的顺序位点,而抗G2-McAb在RIP和蛋白

印迹中不能识别经 SDS-PAGE 变性后的多肽。还有一株抗 G2-McAb 不能识别任何病毒多肽,但在 ELISA 夹心法检查中可捕获病毒裂解液中的 G2 抗原,表明 EHFV 糖蛋白上多数抗原决定簇具有构象依赖性,其抗原性相当不稳定。用抗 NP 和抗 G2-McAb 对 EHFV 结构蛋白与功能关系的研究,除证明绝大多数抗 NP-McAb 无中和活性亦无 HI 活性外,还发现一株抗 NP-McAb 具有明显的中和活性和 HI 活性,提出病毒 NP 上可能存在中和与 HA 抗原决定簇的论点,具有重要理论意义。用竞争 ELISA 法对 L99 株与 C4 株病毒纯化 NP 抗原的位点分析,发现 NP 上分别存在有组特异性、型特异性的抗原决定簇,两株病毒的核蛋白上至少有 7 个共同的抗原位点,另有 3 个为野鼠型病毒特异性的及 2 个家鼠型病毒特异性的位点;组特异性位点至少分布在两个独立的区域,而两种型特异性抗原位点则分别适度于一个独立的区域。

先后用 35 株抗 EHFV McAb 对 24 株 EHEV 及用 27 株 McAb 对 23 株 EHFV 进行抗原性分析,并分别确定一批组特异性、野鼠型及家鼠型型特异性 McAb,对 EHF 诊断及分型有重要实用价值。发现家鼠型 EHFV NP 抗原决定簇明显地较野鼠病毒多,两型 EHFV 抗原性存在明显差异,而同型病毒不同毒株间也都存在差异。我国 EHFV 抗原性复杂,不仅存在典型的 Hantaan 型(野鼠型)和 Seoul 型(家鼠型)血清型 EHFV,在各型 EHFV 毒株中又可区分为多个亚型,还发现与所有野鼠型及家鼠型型特异性 McAb 均反应或均不反应的两类未定型。

5. 动物模型的建立 流研所首次用免疫抑制剂处理建立了金黄地鼠 EHF 模型。将 4 周龄地鼠用环磷酸胺处理后,经腹腔、脑内接种 EHF 病毒(A16 株),90% 以上动物在感染后 10 天左右发病死亡。用间接免疫荧光法可在病死动物的肺、肾、脑、肝等组织中查见特异性病毒抗原。病理学检查发现,肺、肾、脑、肝、肾上腺和消化道均有不同程度的血管扩张充血,出血和渗出等病变和实质性器官细胞的变性坏死,但炎症反应不明显。新近又用 6-8 周龄近交系 C57 小鼠或杂交昆明系小鼠,在 -1, 1, 2 和 4 天,分别经腹腔注射环磷酸胺(50mg/L),在 0 天脑内接种病毒悬液 0.03ml,小鼠在感染 14-18 天后全部发病死亡。用间接免疫荧光法在病死动物的一些主要器官中检查到病毒抗原,各主要器官的病理改变与在地鼠所见相似。致病动物模型的建立对研究 EHF 的发病、免疫机理、治疗及疫苗的效果评价有重要意义。地鼠模型已在 EHF 病毒的超微结构、抗病毒药物及特异性转移因子治疗等研究中得到应用。

6. 实验诊断及研究技术的建立和应用 单克隆抗体的研制及应用,分子生物学技术—聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)及非同位素标记(包括 Digoxigenin 及光敏生物素等)技术的建立及应用有重要意义,酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)及 IgM 捕捉 ELISA(IgM antibody capture ELISA, MacELISA)的建立及应用也具有较重要的意义。病毒所在国内成功分离到 EHF 病毒后,较早地建立了检测 EHF 病毒抗原和抗体的 ELISA 法,并于 1984 年在成都与四川省防疫站联合举办培训班向全国推广;以后又建立 MacELISA,后者经过中国预防医学科学院组织的 EHF 早期实验诊断技术的几次会检及推广使用的反馈资料,表明其技术性能良好,已得到卫生部批准的生产文号,并于 1987 年在杭州与浙江省防疫站联合举办培训班向全国推广。多年来两种试剂的试剂盒在全国推广应用,对本病的诊断及有关研究提供了先进技术手段。流研所在国内首次采用从黑线姬鼠病毒株和褐家鼠病毒株分别制出的 A-血凝素抗原及 R-血凝素抗原,建立了对 EHF 病毒抗原及病人血清进行分型的 HI 方法。此法在全国许

多疫区对EHF的分型监测中推广应用,为有针对性地分别对有关的宿主动物开展防灭措施提供了重要的科学依据。

(二) 流行病学和监测的研究

八十年代以前,出血热流行病学长期停留在描述流行病学水平。随着病原学的突破,建立并推广了特异性病原学和血清学方法,使我国出血热的流行病学研究进入一个现场与实验室结合和迅速发展的新阶段。

1. 宿主动物种类组成和传染源的研究 流研所与地方协作,特别是与全国42个出血热监测点的工作相结合,在全国22个省(区、市)88个调查点中,证实14种小哺乳动物携带出血热病毒(包括黑线姬鼠、褐家鼠、大林姬鼠、黄胸鼠、大白鼠、东方田鼠、黑线仓鼠、大足鼠、黄毛鼠、社鼠、小家鼠、高山姬鼠、棕背鼯和四川短尾鼯),结合全国出血热地理流行病学研究及全国42个监测点的长期监测研究,进一步明确了本病的多宿主性及黑线姬鼠和褐家鼠是我国野鼠型和家鼠型出血热的主要宿主动物和传染源,明确了中国存在有野鼠型、家鼠型和混合型三种类型的疫区,以及不同类型疫区出血热预防措施的重点。

2. 流行病学监测的研究 (1)通过浙江天台县试点的协作研究,总结提出了出血热监测的内容、指标和方法;(2)明确了两型出血热的主要流行因素,即主要宿主动物种群构成比高、密度大和带病毒率高;(3)通过人间、鼠间疫情和疫源地(疫区)的监测,结合全国出血热地理流行病学研究及全国42个监测点的工作,进一步明确我国省级疫源地(疫区)的分布,即27个省(区、市)为疫区,28个省(市、区)存在出血热的自然疫源地;(4)通过对健康人群的血清流行病学监测,发现两型疫区人群隐性感染率不同,野鼠型疫区很低(1~4%),而家鼠型疫区明显较高(10~20%或更高),而人群隐性感染率高低与流行强度有密切关系;(5)推广全血滤纸条采血法,酶标SPA组化法及血凝抑制试验(HI),使没有荧光显微镜条件的基层单位,有了可以使用的手段。

3. 家鼠型出血热的监测和控制 与河南省洛阳市及新安县防疫站协作在洛阳地区,与太原市防疫站协作在太原市,对家鼠型出血热进行多年连续监测和控制,查明当地居民区优势鼠种褐家鼠、黄胸鼠和小家鼠均有带毒,而以褐家鼠为主。野外优势鼠种为大仓鼠和长尾仓鼠,黑线姬鼠数量少,而且分布局限。在野鼠中未发现带病毒鼠。经过监测与控制措施相结合,使褐家鼠密度及带病毒率逐年下降,达到有效控制疫情的显著效果。

4. 出血热自然疫源地结构的研究 流研所与地方的协作研究发现:(1)出血热疫源地主要分布在海拔500m以下的平原、丘陵地区、多水带、过度带和丰水带、东部季风区域的温带和亚热带、硅铝质土和富铝质土区域、大部分农业区和部分林区,以及温带动物群分布区,而耐湿性较强的黑线姬鼠、褐家鼠及大林姬鼠等鼠类是疫区昌盛的动物群落,构成了本病的主要宿主和传染源;(2)出血热主要宿主动物在疫源地和疫区内数量分布具有不均衡性、变动性及相对稳定性;(3)出血热的宿主范围很广,但主要宿主动物仅为疫区内的少数优势鼠种。

5. 传播途径的研究 实验研究发现,气溶胶、口饲、滴鼻及划皮均可能使黑线姬鼠和褐家鼠感染,而且两型病毒在两鼠种间可以交互感染。两鼠种接种病毒后短时期内可从其血及唾液中分离到病毒,从受感染褐家鼠的尿、粪中亦可检测到病毒。从有感染黑线姬鼠的鼠巢内的格氏血厉螨、耶氏厉螨、上海真厉螨分离到EHF病毒。从鼠巢内不等单蚤和缓慢细蚤虽然也分离到EHF病毒,但动物实验表明,此病毒不能在其体内增殖。

6. 全国出血热监测的研究 1984年起流研所与全国42个监测点合作连续7年对人间和鼠间EHF疫情进行监测, 总结汇编了《中国流行性出血热监测研究》一书。该研究总结了各个监测点及对全国EHF监测的丰富经验, 比较全面地阐述了中国出血热疫区的演变及两型EHF流行特征的明显差异, 黑线姬鼠与褐家鼠的种群构成、密度、带病率高低是决定EHF疫区和疫情演变的主要因素, 主要宿主带病毒指数(即鼠密度与鼠带病毒率乘积的平方根)是预测EHF疫情发展的有效指标。同时总结了监测与疾病控制相结合、科学灭鼠、大幅度降低监测点所在地区人群EHF发病的防治经验。本研究对今后EHF防治和进一步监测研究有重要的指导意义。

(三) 疫苗研究

随着EHF病毒分离成功, 疫苗研制成为出血热研究的当务之急。迄今国内外已先后研制多种不同类型的出血热灭活疫苗, 并进行了一定数量的人群试用观察, 初步证明了疫苗的安全性及可诱导不同类型的抗体反应, 其中包括我国研制的地鼠肾细胞(GHKC)和沙鼠肾细胞(MGKC)灭活疫苗, 纯化小白鼠乳鼠脑灭活疫苗, 以及南、北朝鲜分别研制的纯化大白鼠乳鼠脑灭活疫苗。北朝鲜的鼠脑疫苗已对120万人群接种, 观察到明显的控制发病的预防效果。随着对汉坦病毒分子结构的阐明, 国内外又先后开展了出血热基因工程疫苗的研究, 并对减毒活疫苗进行探索性研究。

1. 地鼠肾细胞(GHKC)灭活疫苗的研究 病毒所1981年成功分离到两型EHF病毒后, 即开始细胞培养灭活疫苗的基础研究。通过对两型EHF病毒株(A9, R22等)抗原性及免疫原性的比较, 发现两型病毒间存在明显的抗原性差异, 表现为野鼠型病毒的抗血清对家鼠型病毒的单向交叉中和抗体反应。通过寻求对EHF病毒敏感的正常动物细胞培养, 发现大白鼠肺脏及其胚肺细胞对EHF高度敏感。比较了加热($60^{\circ}\text{C} \times 1\text{h}$)及福尔马林灭活病毒的免疫原性。在此基础上, 采用EHF病毒A9株(野鼠型)及大白鼠胚肺细胞培养和福尔马林灭活制备出可在实验动物有效诱导IFA, ELISA及中和抗体应答的灭活疫苗。1984年起, 与长春生物制品研究所(长春所)等单位合作, 改用长春所发现对EHF病毒敏感的金黄地鼠肾细胞(GHKC)研制灭活疫苗。

(1) 疫苗毒株的选育 首先采用McAb反应谱及交叉中和实验等方法筛选出两型EHF病毒的候选株(Candidate strains), 由长春所在乳鼠脑内及GHKC上适应传代, 使之达到高繁殖滴度。两个系统适应株接种GHKC滴定的感染滴度(TCID₅₀/ml), 鼠脑株为 $9.5\log\text{TCID}_{50}$ 以上, GHKC适应株为 $8.5\log\text{TCID}_{50}$ 以上。研究发现尽管鼠脑病毒滴度很高, 接种细胞培养繁殖后病毒滴度较低(一般不超过 $6.5\log\text{TCID}_{50}/\text{ml}$), 而GHKC适应病毒株的滴度已能达到接近鼠脑适应病毒株的滴度, 用此种在生产用细胞基质适应毒株制备的疫苗, 其病毒滴度可达到 $7.5\log\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 或更高。

(2) 灭活方法的选择 病毒所比较研究了BPL、福尔马林、 γ -射线(^{60}Co)及加热($60^{\circ}\text{C} \times 1\text{h}$)灭活EHF病毒对疫苗内病毒NP及G2糖蛋白的影响及其免疫原性, 发现使用BPL(浓度为0.05-0.1%)灭活病毒对病毒的两种结构蛋白无明显影响, 而其它三种方法均可使G2糖蛋白有不同程度破坏; 从接种大白鼠的抗体反应看, γ -射线最好。同时发现, 用0.025%甲醛灭活的病毒免疫动物与用0.05%及0.1%BPL灭活免疫者比较, 虽然HI抗体滴度明显较低, 但用EFRT查出的中和抗体滴度二者无明显差别, 从而明确了福尔马林适合EHF灭活疫苗的研制。长春所通过实验证实了 37°C 灭活可降低福尔马林的使用浓度, 从而减