

# 用微量组织培养技术测定 脊髓灰质炎中和抗体

山西省卫生防疫站 芦天林 陈惟吾 贾芙蓉 苏年英 刘军

在测定脊髓灰质炎(简称“灰质炎”)中和抗体时,以往都采用常规法<sup>[1~3]</sup>,但由于人胚肾难以获得等原因给工作带来困难。近来国内学者将组织培养改为微量法用于病毒学检测<sup>[4]</sup>。1982年我们建立了Hep-2微量组织培养技术,测定人群灰质炎中和抗体,并调查国产灰质炎疫苗应用20余年后人群中中和抗体水平,特别是低年龄组。该病自应用疫苗以来大幅度地降低了发病率和病死率<sup>[5]</sup>,但近年山西个别地区发病有所回升,本试验将给计划免疫提供依据。现将结果报告于后。

## 材料和方法

一、血清标本:150份血标本采自山西翼城县农村婴幼儿及小学生。从耳垂以微量法采血带至实验室,2000转离心20分钟,血清保存于-30℃备用。

二、病毒株:脊髓灰质炎I、II及III型病毒系弱毒株,由卫生部北京生物制品研究所供给。经传代病毒滴度为 $10^{-4}$ ~ $10^{-7}$ 之间,实验用100TCD<sub>50</sub>。

三、组织培养:所用传代HeP-2细胞株,来源于中国医学科学院儿科研究所。

四、实验容器:从病毒滴定到中和试验全部用国产4×10孔聚苯乙烯平底塑料凹孔板,按组织培养的要求特殊处理,用前紫外线消毒两小时。

五、中和试验方法:按微量法进行<sup>[4]</sup>。本实验用固定病毒稀释血清法,待检血清先作1:5稀释,56℃30分钟灭活后作倍比稀释,每孔含不同稀释度的血清0.025毫升,加入含100

TCD<sub>50</sub>病毒0.025毫升,胶纸封口,振荡3分钟,于37℃中和1~1.5小时,再加入细胞悬液0.05毫升(含细胞数1~1.5万),用胶纸封口,于微型振荡器充分振荡3~5分钟,置37℃培养,逐日于倒置显微镜下观察病变。5天判定结果<sup>[4]</sup>,以完全中和的血清最高稀释度为中和抗体的终点滴度。试验中设病毒对照、血清对照、阳性血清对照及细胞对照。

## 结果与讨论

1982年6月在山西翼城县采集婴幼儿及小学生血清标本150份,应用微量细胞组织培养技术检测灰质炎中和抗体(表1)。

结果表明,翼城地区0~15岁人群的灰质炎中和抗体水平较低。I、II、III型中和抗体均阳性者仅22.67%;0~1岁和2~3岁年龄组为0和10.53%。三个型均阴性者为11.33%;0~1岁年龄组高达41.18%。

从单型抗体及其滴度的分布来看,各年龄组的I型抗体阳性率为58.82~89.47%;II型为0~72.50%;III型为0~65.38%;以III型的抗体阳性率最低。各型抗体滴度的分布大多数在1:5~1:20之间,高滴度者甚少;因此几何均值也较低(表2)。

从上述结果看,翼城地区0~15岁人群的免疫水平是低的,一旦野毒传入即可引起灰质炎感染以致流行。造成上述结果的原因,可能与服苗率低,没有全程足量服苗有关;另一方面无冷链设备致使疫苗滴度有所下降,以及与服苗技术有关。

在检测方法上用微量组织培养技术测定灰

表 1 翼城地区脊髓灰质炎中和抗体测定结果

年 龄 组	检 测 人 数	各型中和抗体阳性率																			
		I			II			III			I			II			III			三型皆阴性	
		人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%
0~1	17	10	58.82	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	7	41.18
2~3	19	8	42.11	0	0.00	0	0.00	4	21.05	3	15.78	0	0.00	2	10.53	2	10.53	2	10.53	2	10.53
4~6	22	3	13.64	2	9.09	1	4.55	6	27.27	0	0.00	0	0.00	8	36.36	2	9.09	2	9.09	2	9.09
7~9	26	6	23.07	1	3.85	0	0.00	7	26.92	1	3.85	4	15.38	6	23.08	1	3.85	1	3.85	1	3.85
10~12	40	7	14.50	1	2.50	1	2.50	12	30.00	1	2.50	3	7.50	13	32.50	2	5.00	2	5.00	2	5.00
13~15	26	4	15.38	0	0.00	1	3.85	2	7.69	8	30.77	3	11.54	5	19.23	3	11.54	3	11.54	3	11.54
合 计	150	38	25.33	4	2.67	3	2.00	31	20.67	13	8.66	10	6.67	34	22.67	17	11.33	17	11.33	17	11.33

表 2 翼城儿童脊髓灰质炎中和抗体滴度分布

抗 体 型 别	年 龄	阳 性 数 (标本数)	阳 性 率 (%)	中 和 抗 体 滴 度 分 布								GMT	
				<5	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320		1:640
I	0~1	10(17)	58.82	5	2	2	2	0	0	2	0	2	40.00
	2~3	17(19)	89.47	4	3	3	2	3	4	1	1	0	28.87
	4~6	17(22)	77.27	4	3	3	5	2	1	1	0	2	27.71
	7~9	20(26)	76.92	6	5	4	8	1	0	1	1	0	16.25
	10~12	33(40)	82.50	8	11	11	4	3	3	1	0	0	12.87
	13~15	19(26)	73.07	7	10	5	3	0	1	0	0	0	8.64
II	0~1	0(17)	0.00	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
	2~3	6(19)	31.58	14	1	1	0	1	3	0	0	0	31.74
	4~6	16(22)	72.73	4	1	3	2	4	4	1	0	1	38.30
	7~9	16(26)	61.54	8	4	3	3	5	0	0	1	0	18.34
	10~12	29(40)	72.50	13	8	4	6	8	3	0	0	0	17.33
	13~15	10(26)	38.46	15	3	2	3	0	2	0	0	0	15.16
III	0~1	0(17)	0.00	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
	2~3	5(19)	26.32	14	0	2	2	0	1	0	0	0	20.00
	4~6	9(22)	40.91	12	4	1	3	0	0	1	0	0	12.60
	7~9	11(26)	42.31	15	7	3	1	0	0	0	0	0	6.85
	10~12	18(40)	45.00	22	8	4	3	1	2	0	0	0	11.23
	13~15	17(26)	65.38	9	12	1	4	0	0	0	0	0	7.22

质炎中和抗体，既节省了人力物力又节省了时间，而且在检测中判断正常细胞与病变细胞指标十分清楚，取得良好效果。本技术在基层可以推广应用。

II、III型中和抗体均阳性者为22.67%；各年龄组I型抗体阳性率为58.82~89.47%；II型为0~72.50%；III型为0~65.38%；各型抗体的滴度分布大多数在1:5~1:20之间。同时用微量组织培养技术，设备简便、节省材料和时间、基层易推广应用。

摘 要

ABSTRACT

1982年用微量组织培养技术对山西翼城地区0~15岁的150名儿童进行灰质炎中和抗体测定。结果I、

In 1982, 150 blood samples were collected from

new-born to 15-Year old children at Yi-cheng prefecture, Shanxi province, and the neutralizing antibodies against poliomyelitis virus type I, II and III were detected by a micro-tissue culture technique. It was demonstrated that 22.67% of the sample had the antibodies to all 3 types of polio-virus. The antibody positive conversion rates in different age group were 58.82%~89.47%, 0~72.50% and 0~65.38% for poliovirus type I, II and III, respectively. The serum antibody titer of all 3 types of poliomyelitis in great majority of these children were 1:5~1:20. The micro-tissue culture technique proved a simple and cheaper method used in detection of polio-neutralizing antibodies.

### 参 考 文 献

1. 刘宗芳等: 1959年北京市城区及农村脊髓灰质炎中和抗体调查, 内部资料, 1961
2. 芦天林等: 中华卫生杂志, 9(3):186, 1964
3. 福建省卫生防疫站: 福建省海岛、山区脊髓灰质炎免疫水平调查, 内部资料, 1972
4. 朱关福等: 中华医学检验杂志, 4(1):6, 1981
5. 董德祥: 脊髓灰质炎资料选编, 内部资料, 1979

(临汾地区防疫站、翼城县防疫站协助部分工作, 中国预防医学中心病毒学研究所任贵方副研究员指导, 谨致谢意)

## 国际流行病学协会第十次科学会议简介

国际流行病学协会第十次科学会议于1984年8月9~25日在加拿大温哥华的British Columbia大学召开。

正式学术活动共4天半。学术活动有大会报告、口头论文宣读、展牌展出及专题讨论会等。

全体会议报告共8次。①加拿大Mc Master大学的D.L.Sackett报告“流行病学、临床流行病学及临床研究”。②美国纽约医学院的M.Terris报告“历史”。③美国耶鲁大学的A.S.Evans报告“传染病流行病学”。④英国牛津大学的R.S.Doll报告“作为一种卫生科学的流行病学: 职业卫生”。⑤英国伦敦卫生学校的G.Rose报告“患病的个体及患病的人群”。⑥以色列的希伯来大学的A.M.Davies报告“流行病学及老年化的挑战”。⑦美国加利福尼亚大学的W.Winkelstein报告“作为一种卫生科学的流行病学、环境卫生”。⑧美国Rand社团的R.H.Brook报告“作为一种卫生科学的流行病学、卫生服务研究”。每次大会报告大约1小时, 补充发言或讨

论30分钟。

每天展牌展出约20余幅, 展出时间一天, 展出时作者在展牌前解答问题。口头宣读同时有7~9个会场。会议共收到论文417篇。

专题讨论会有: ①世界卫生组织关于环境研究的手册; ②药物流行病学; ③营养研究; ④教学: 全球流行病学教学规划; ⑤恶性肿瘤流行病学将来的趋势; ⑥矽、矽肺及恶性肿瘤: 流行病学的综合; ⑦空气污染的流行病学的近代发行物; ⑧少数民族; ⑨危险度的估计; ⑩2,000年人人得保健的标准; ⑪教学: McMaster/Newcastle/Pennsylvania 规划; ⑫冠心病的监测; ⑬工艺学估价中对流行病学的需要。此外, 到会代表Last教授临时组织一次关于流行病学词典的专题讨论会。

会议期间召开两次国际流行病学协会会员大会, 改选了下届理事会, 讨论了若干与会务有关提案, 决定1987年在芬兰召开下次国际科学会议。

天津医学院流行病学教研室 耿贇一供稿

## 分泌登革病毒3型单克隆抗体杂交瘤细胞株的建立

中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

李福琛 唐家权 赵必维 田野 杨凤蓉 宋俊棋 丘福禧

登革病毒3型免疫BALB/C鼠, 将鼠脾细胞与NS-1细胞融合, 用间接免疫荧光法测定抗得到的5株分泌登革病毒3型单克隆抗体杂交瘤细胞株。其中4株所分泌的抗体具有严格的型特异性。这些细胞株经连续传代4个月仍能分泌抗体。

一、病毒: 登革病毒1型夏威夷株、2型新几内亚株、3型H<sub>17</sub>株、4型H<sub>11</sub>株、乙脑病毒高株和奇孔根雅病毒。

二、细胞: NS-1小鼠骨髓瘤细胞、小鼠腹腔细胞和C6/36细胞。 (转366页)