

行病学的分析方法,但是大面积地了解证在各种疾病中的分布,报道极少。我们近 10年来已进行两次较大面积的调查,取得许多宝贵的资料,关键是如何运用资料,从中找出规律的东西,使病与证、证与证等关系均有数据可查。曾有专家指出:“在宏观研究方面,连起码的流行病学调查都研究得很少,如春

温、风温、暑温、湿温等所包括的范围、病种、流行的时令、地域、条件等尚缺乏有说服力的调查统计分析资料。”因此,要加速中医学的发展,提高中医学的理论水平,必须要重视流行病学这一学科,并广泛应用于中医学的各个领域。

(收稿:1997-11-21 修回:1997-12-10)

## 杜氏利什曼原虫 L-脯氨酸的运输及其调节

张远富<sup>1</sup> Zilberstein D<sup>2</sup> Salam Mazare<sup>2</sup>

我们研究了利什曼原虫吸收 L-脯氨酸的时间过程以及 pH值、温度、环己胺、叠氮钠(NaN<sub>3</sub>)和 2,4-二硝基酚(2,4-DNP)及其他氨基酸(其中包括 D-脯氨酸),对杜氏利什曼原虫吸收 L-脯氨酸的影响,现将研究结果报道如下。

1. L-脯氨酸吸收的时间过程:杜氏利什曼原虫吸收 L-脯氨酸的量在一定时间限度内是随着时间的延长而增加,前 2min 内呈线性速度增长。在 20min 时,杜氏利什曼原虫原鞭毛体及无鞭毛体体积脯氨酸的量分别为 140及 11nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞。显然,原鞭毛体吸收 L-脯氨酸的速度比无鞭毛体快得多。本实验表明约大 10倍以上。另外,吸收 L-脯氨酸的量与细胞的浓度及实验温度有直接关系。加入反应系统中的细胞量为 10<sup>4</sup>l(反应系统中细胞浓度为 0.5<sup>×</sup>10<sup>7</sup>细胞)时,37℃反应 10min,此时,L-脯氨酸的摄入量为 7.0nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞,在同样的反应温度及反应时间限度内,30℃组 L-脯氨酸摄入量则为 12.3nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞,比 10<sup>4</sup>l组高出近 2倍。摄入量与温度有直接关系,细胞浓度(10<sup>4</sup>l)及反应时间(20min)都相同,只是反应温度不同,则摄入的量有明显差别。37℃组约为 10nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>,而 0℃组约为 5nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞,前者约大于后者 2倍。

2. 最适温度:上面已经提及,L-脯氨酸的摄入量与温度有着直接关系。37℃是无鞭毛体的最适摄入温度。在此温度之前,吸收的量随着温度的增加而增加;在此温度之后,吸收脯氨酸的量随着温度的增加而减少。

3. 最适 pH值:无鞭毛体对 L-脯氨酸吸收的最高值出现在 pH5.0,在此 pH值下,细胞吸收 L-脯氨酸的量为 8nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞。在此 pH值之前,吸收强度随 pH值增加而增加;在此之后,随之而减少。

4. 环己胺的影响:环己胺对 L-脯氨酸的吸收有一定程度的抑制作用。

5. 代谢抑制剂的影响:代谢抑制剂,如叠氮钠及 2,4-二硝基酚、缬氨酸霉素(Valinomycin)及 Nigericin,对 L-脯氨酸的吸收都有抑制作用,而且抑制的强度随着抑制剂浓度的增加而增加。当叠氮钠浓度由 0.2mmol 增至 3mmol 时,无鞭毛体吸收 L-脯氨酸值由 1降至 0.04nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞,降低的幅度为 96%。2,4-二硝基酚浓度由 0.1mmol 增至 1mmol 时,原鞭毛体吸收脯氨酸值由 65降至 10nmol/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞,这表明有 84%的吸收量受到抑制。

6. D-脯氨酸的影响:D-脯氨酸对杜氏利什曼原虫原鞭毛体吸收 L-脯氨酸表现出明显的抑制作用,原虫吸收 L-脯氨酸的量随着 D-脯氨酸浓度的加大而减少。当 D-脯氨酸的浓度增至 10mmol 时,75%的 L-脯氨酸的吸收受到抑制。

7. 其它氨基酸的影响:如上所述 D-脯氨酸对 L-脯氨酸的吸收有很强的抑制作用。其它的氨基酸(L-丙氨酸、L-精氨酸、L-谷氨酸、L-胱氨酸、L-丝氨酸),对 L-脯氨酸的吸收也表现出不同程度的抑制作用。其中的 L-丙氨酸、L-天冬氨酸及 L-丝氨酸表现出强抑制作用。研究结果也同时表明,其它氨基酸对 L-脯氨酸吸收的抑制作用是一种竞争性抑制。杜氏利什曼原虫原鞭毛体吸收 L-脯氨酸的 K<sub>m</sub>值及 V<sub>max</sub>值,分别为 366nmol 和 2.89nmol/min/K<sup>10<sup>8</sup></sup>细胞。当对 L-脯氨酸中加入 5mmol 的 L-丙氨酸、L-胱氨酸

1 中国预防医学科学院 流行病学微生物学研究所 北京昌平 102206

2 以色列理工学院生物学系

酸、L-甘氨酸时,吸收 L-脯氨酸的  $K_m$  值及  $V_{max}$  值,分别为 500 250 250nmol/min 及 1.43 1.69 1.69nmol/min/ $\times 10^6$  细胞。杜氏利什曼原虫原鞭

毛体吸收 L-脯氨酸系统的活化能为 9 108卡/克分子,  $Q_{10}$  (20°C 到 30°C) 是 1.68 卡。

(收稿: 1998-02-05)

## 甲型肝炎疫苗免疫接种若干问题的商榷

陈惠峰

一、甲型肝炎(甲肝)疫苗免疫接种失败因素:该疫苗免疫接种失败所占比例较小,影响却很大,对疫苗生产和使用单位声誉造成不利。其原因有以下几方面。

1. 疫苗的病毒含量偏低。在疫苗早期生产中较突出,资料报道也较多。疫苗所含病毒量低,接种后抗体产生不足以抵御野毒的感染攻击。同样也反映在接种者抗体阳转率上,虽然抗体阳转率问题受到更多因素影响,但疫苗病毒含量实为主要原因。近年来由于主管部门的重视和疫苗生产单位的努力,生产技术有了提高,现规定合格的甲肝疫苗至少应含  $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml 不合格产品禁止供应,疫苗质量有了保证。

2. 冷链保障问题。良好的保存条件是关键。甲肝减毒活疫苗 2~8°C 保存有效期是 3 个月,冻存时为 1 年。但实际使用时各地冻存条件难以保障,造成反复冻融对病毒活性产生影响。在甲肝疫苗管理不善地区,问题更大,缺乏冷链保障是造成免疫接种失败的主要原因。因此,既要强调加强管理,又要从改进生产工艺、延长有效期或改变疫苗剂型着手,这是面临解决的问题。国外已有贮存条件为 2~8°C,有效期为 2 年的甲肝疫苗供应。因此,普通的冻藏条件、较长有效期限的甲肝疫苗将更受欢迎。

3. 检验方法与试剂质量。检验方法与检验所用试剂质量与甲肝疫苗免疫接种的成功与否无直接关系,但是与检测和评价甲肝疫苗免疫效果有关。检验方法不敏感,试剂质量不过关,就会影响甲肝疫苗。国内有多家生产检测甲肝 IgG 抗体的 ELISA 法试剂,多采用竞争 ELISA 法,但缺乏统一质量保证,试剂质量不稳定,重复性差,给准确的判断和评价造成困难。中国药品生物制品检定所采用竞争 ELISA 法改用 40ml 加量,用于检测甲肝疫苗免疫接种后的抗

体反应获得了满意结果,可考虑作为一种现阶段的参比方法。

二、甲肝疫苗的免疫策略:国内甲肝减毒活疫苗(H2减毒株)现已达到一定生产规模。疫苗显示出高度安全性与良好保护效果。国外生产的灭活疫苗贺福立适 TM 已进入中国市场。研究甲肝疫苗免疫策略,制订接种方案,纳入计划免疫管理已为当务之急。

有学者认为,当前还不具备将甲肝疫苗纳入计划免疫接种管理的条件。也有一种学术观点认为低年龄儿童不必接种甲肝疫苗,应让其通过自然感染野毒来达到终身稳固的免疫。对此,实不敢苟同。笔者认为,甲肝疫苗已具备纳入儿童计划免疫的条件,接种起始年龄值得探讨,但不是主要问题,各地可依据流行程度因地制宜实施。据疫情资料分析,浙江省 3 岁以下儿童甲肝发病率极低,5 岁左右儿童甲肝感染率普遍小于 10%~15%。从疫苗接种的统一、便利,有计划实施为出发点,笔者认为可选择 3 岁(入托时)或 6 岁(入学时)为甲肝疫苗的起始接种年龄较易实施。对青少年进行有计划免疫覆盖,逐步扩大覆盖面。对重点行业人群可采取略带强制性的免疫接种措施,对新从业者实行必检制度,凡甲肝 IgG 抗体阴性者,必须接种甲肝疫苗。在大规模接种中,应考虑甲肝抗体筛选问题,不经筛选而普种,乱种是浪费和违背科学宗旨,但人人筛选又显得牵强。笔者在农村设试点,一是采用以 10 岁作为年龄界线,对 10 岁以下者全部接种甲肝疫苗,大于 10 岁先用 ELISA 法检测甲肝 IgG 抗体,阳性者不予接种。二是以当地人群各年龄组甲肝 IgG 抗体阳性率为依据,阳性率小于 20% 的年龄组可不作筛选,全部接种。大于 20% 的年龄组则应先作筛选。

三、国产与进口甲肝疫苗的选择:甲肝疫苗的选择应用现已有充分余地。现以国内毛氏研制的 H2 减毒株与进口苗贺福立适 TM(Havrix TM)作一对