

# 从云南艾滋病病毒(HIV)感染者分离HIV

邵一鸣<sup>1</sup> 曾毅<sup>1</sup> 陈笋<sup>1</sup> 赵全璧<sup>1</sup> 赵尚德<sup>2</sup> 马瑛<sup>2</sup> 贾曼红<sup>2</sup>  
杨文乔<sup>3</sup> 段一娟<sup>3</sup> 段松<sup>4</sup>

**提 要** 从云南人免疫缺损病毒(HIV)感染流行区感染者采血,用外周血单个核细胞(PMCs)共培养方法分离HIV,以逆转录酶测定法(RT)为检测终点。总共从24名无症状HIV抗体阳性者和一名持续性全身性淋巴腺病病人分离到10株HIV。经HIV1p 24 Elisa和HIV1 Pol和Gag基因引物多聚酶链反应(PCR)证实并鉴定所分离株均为HIV1型。与文献报道从同类人群所分离的毒株生物学特性相似,这些毒株仅在PMCs缓慢生长,不致细胞病变。目前正在改变培养条件以提高病毒滴度并对扩增的基因进行分析以寻找我国云南HIV流行株与世界其他地区HIV流行株的差异。

**关键词** 人免疫缺损病毒 病毒分离

作为艾滋病病原的HIV自本世纪七十年代起开始在非洲、北美和西欧等地区流行。至八十年代初这些地区出现大量艾滋病病人时才被人们觉察到,同时HIV也开始侵入世界其他地区<sup>[1]</sup>。我国自1984年开始艾滋病的血清流行病学调查。1985年曾毅等首次发现我国居民被HIV感染,证明HIV已于1983年经血液制品传入我国<sup>[2]</sup>。此后又发现了数例散在的中国HIV感染者。1989年下半年在云南德宏地区吸毒人群中发现了HIV感染的流行,至今感染者已达数百名。病毒分离对病原学和流行病学具有重要意义,也是研究诊断试剂、抗病毒药物及疫苗的基础。1983年Montagnier等分离到世界第一株HIV<sup>[3]</sup>,曾毅等也在1987年分离到我国首株HIV<sup>[4]</sup>,这是从一来华美国艾滋病病人分离到的,至今尚未见到从中国HIV感染者分离到HIV的报道。由于HIV高度变异,在世界不同地区流行的毒株均有差异<sup>[5~8]</sup>。因而分离在我国流行的HIV毒株并研究其变异情况,一方面可以从分子流行病学上找到传入我国云南德宏地区并造成流行的HIV毒株的来源,另一方面也可为发展针对我国流行株的HIV疫苗打下基础。为此我们在云南瑞丽HIV感染流行区开展了分离和鉴定HIV的工作,现将初步结果报告如下。

## 材料和方法

### 一、分离外周血单个核细胞(PMCs):

血库购得静脉血,用Hank液做1:1稀释。在装有1份淋巴细胞分离液的试管或沉淀瓶中,轻轻加入两份稀释血,勿搅乱分层。2500r/min离心20min,吸出介于淋巴细胞分离液和血浆层间的PMCs层,再用Hank氏液洗两遍。用RPMI 1640生长液,含20%胎牛血清(FBS, SIGMA),10%白细胞介素-Ⅱ(IL-2, Boehringer) 2μg/ml polyberen (SIGMA)和2.5μg/ml的植物血凝素P(PHA-P, GIBCO)悬起细胞成 $2 \times 10^6$ /ml,培养于5%CO<sub>2</sub>的37℃孵箱里2~3天,作为HIV分离的靶细胞。

### 二、建立共培养(coculture):

自HIV抗体阳性者抽取5~10ml静脉血。用上述方法分离其中PMCs,将5ml血分得的PMCs与二倍量经PHA-P刺激2~3天的正常人PMCs混合,加入含20%FBS、10%IL-2和2μg/ml polybrene的RPMI1640生长液成 $3 \times 10^6$ /ml,培养于含

1 中国预防医学科学院病毒学研究所

2 云南省卫生防疫站

3 云南省瑞丽县卫生防疫站

4 云南省德宏州卫生防疫站

5% CO<sub>2</sub>的37℃孵箱里，每周换液两次，每周补充一次用PHA-P新刺激的PMCs。

三、检测共培养物中的HIV：在共培养过程中，自第二周始，每周两次用下述方法检测HIV生长情况。每周一次冻存部分培养物上清液于-70℃，直至第10周为止。

1. 观察细胞病变 (CPE)：HIV感染细胞后，若在细胞内大量繁殖可造成以细胞融合，形成多核巨细胞和细胞死亡为主要特点的CPE。

2. 间接免疫荧光法 (IFA) 和免疫酶法 (IEA) 检查HIV抗原：吸出部分培养细胞、涂片、干燥和丙酮固定后用IFA法或IEA法<sup>[4,9]</sup>检查细胞内有无HIV抗原。

3. 逆转录酶测定 (Reverse Transcriptase Assay, RT)：参考文献<sup>[10~12]</sup>简述方法如下，4ml共培养物上悬液4000r/min离心15min沉淀细胞。上清液经超离心45000r/min，25min沉淀病毒。用80μl病毒裂解液悬起沉淀；加20μl入试管后，再加入180μl RT反应混合液(Tris-HCl, pH7.8 50mM, MgCl<sub>2</sub> 10mM, DTT 5mM, polyrAdT 5μg/ml, dATP 80μg/ml 和150μci/ml <sup>3</sup>H-TTP)37℃4小时；每管加入10μl tRNA (2.5mg/ml) 后加3ml10%三氯乙酸 (TCA) 终止反应。用玻璃纤维膜为载体，5% TCA和70%乙醇为洗液，洗去游离的同位素。在液闪仪上测定膜上的CPM值，根据阳性、阴性对照判定结果。

4. HIV1 p24抗原测定：应用ABBOTT公司HIVAG-1试剂盒检测共培养物上清液中的HIV-p24抗原。简述方法如下：在反应盘中加入样品稀释液和共培养物上清液，混匀后每孔加入塑料珠 (HIV1 p24抗体致敏) 一个，在室温 (20~30℃) 放置20小时；去离子水洗涤后与兔抗HIV1血清在40℃孵育4小时；洗涤后与HRP标记羊抗兔IgG在40℃孵育2小时；洗涤后加OPD底物液显色30min，加终止液后测定490nm的光密度值。

5. 多聚酶链反应 (Polymerase Chain

Reaction, PCR)：RT测定阳性的共培养细胞提取全细胞DNA用作PCR模板。引物选用HIV1Gag基因和Env基因中的两段。前者系Biotech公司PCR检测试剂盒中携带的G1和G2<sup>[13]</sup>，其5'-端均标有生物素。后者参照文献<sup>[14]</sup>报道的序列合成，JA17 (5'-3'序列位于HIV1基因2431—2450，下同) 和JA20 (2697—2678) 间片段长度为266bp，JA18；(2481—2500) 和JA19 (2610—2591) 位于JA17和JA20内侧，其扩增片段长度为129bp。扩增反应参照文献<sup>[12~14]</sup>在Perkin Elmer公司PCR热循环机上进行35个循环的反应 (94℃5min；94℃30秒—45℃45秒—72℃60秒×35；72℃10min) 扩增P<sub>o</sub>1基因时先用JA17和JA20扩增一次，取产物的1/10量再用JA18和JA19扩增第二次。

Gag基因扩增产物因其已标记上生物素，先与固定在聚乙烯板上的互补DNA片段杂交后，再与HRP-标记的抗生素反应，加底物显色经测定光密度值来确定结果。P<sub>o</sub>1基因扩增产物经两步PCR后，即可直接在凝胶电泳上根据分子量大小确定是否是HIV1特异性基因。

## 结 果

自建立共培养第二周起，用各种方法检测HIV生长情况。隔日镜下观察细胞形态，始终未见到HIV特有的细胞病变，如大泡样细胞或融合形成的多核巨细胞，仅见到细胞死亡但难与正常培养条件下死亡区分。共培养至第四周11号、13号、23号和29号样品的细胞涂片，经IFA和IEA法可查到与HIV1抗体反应阳性的细胞，至第六周2号、20号和22号也出现抗原阳性细胞。但抗原阳性率均<5%，继续培养中或经5~10ng/ml TPA刺激亦无升高。经RT实验测定冻存的第三至第六周的细胞培养上清液，发现自第四周开始部分样品RT值持续升高并超过5000cpm/ml，至第五或第六周时达到高峰。所有25个HIV抗体阳性的共培养细胞中共有10个出现这种情况(表1)，为RT测定阳性。4个HIV抗体阴性个体均为RT测定阴性。

表1 HIV分离中部分共培养细胞的逆转录酶活性\*

样品号	共培养后不同时间(天)的RT测定值(cpm/ml上清液)				
	20	25	30	35	40
2	1 010	3 741	NT*	5 216	20 930
11	1 541	2 987	10 423	41 562	NT
13	920	3 349	5 784	16 452	8 474
20	841	981	2 672	10 715	7 319
21	552	1 928	NT	5 233	7 522
22	172	4 334	NT	8 486	NT
23	533	4 289	4 170	9 000	10 840
27	851	3 629	5 161	8 675	NT
28	940	1 723	2 932	8 574	8 861
29	1 010	2 082	3 825	37 850	8 815

\*NT=未做(Not tested)

\*阴性对照(正常人PMC培养上清液)值<2000 cpm/ml,样品RT阳性标准为5000cpm/ml并持续升高。

The negtive control (supernatant from PMC culture of normal person) had<2000 cpm/ml.

A sample having a value above 5000 cpm/ml and to rise continuesly was considered positive.

我们进一步用HIV1 p24抗原测定和用HIV1 Gag和Pol基因特异性引物PCR方法来证实并鉴定HIV分离结果。上述RT测定阳性的11号、13号、20号、23号、28号和29号样品共培养细胞上清液p24抗原也为阳性;而RT测定阴性的1号、5号、15号以及10号和12号(来自HIV抗体阴性者)样品p24抗原均为阴性。在PCR实验中用HIV1-Gag特异性引物和HIV1-Pol特异性引物扩增共培养细胞DNA,也得到了与RT测定完全一致的结果(表2、附图)。RT阳性的样品PCR也为阳性,其中2号、11号、13号、20号、23号和29号样品HIV1-Gag和HIV-Pol基因均为阳性;RT阴性的样品均未扩增出HIV1基因序列,其中19号样品和来自无HIV感染的10号和12号样品用Gag和Pol基因引物扩增全为阴性。

HIV分离中各项检测结果总结于表3。根据世界各国实验室在分离HIV过程中用RT测定作为分离终点的惯例衡量<sup>[10, 11, 15~20]</sup>,从

表2 用PCR方法扩增共培养细胞DNA中的HIV基因

待扩增基因*	样品号														
	1	2	3	10	11	12	13	19	20	21	23	28	29		
HIV1-Gag	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+		
HIV1-Pol	NT	+	NT*	-	+	-	+	-	+	NT	+	NT	+		

•NT=未做, Not tested

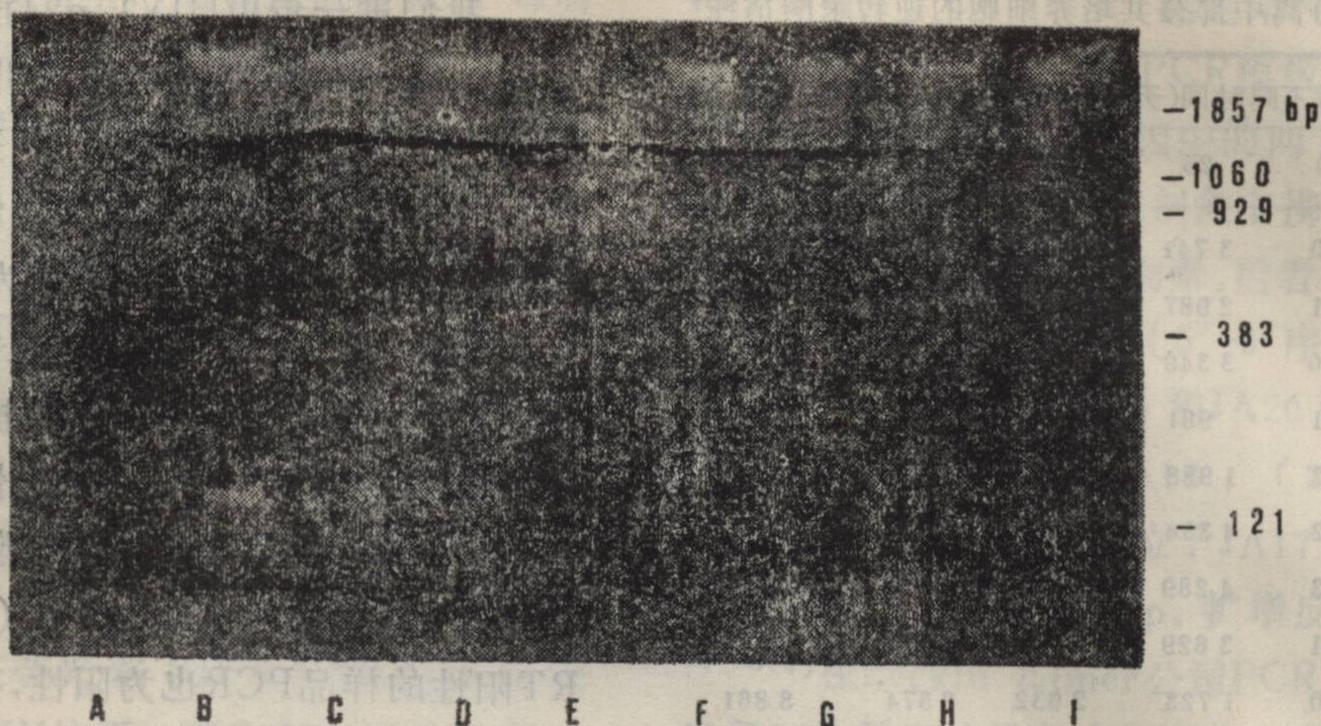
\*见材料与方法及附图注释, HIV1Gag扩增产物的检测按Biotech HIV1DNA 捕获杂交试剂盒说明操作。阴性对照和阴性样品的OD值<0.15 A450; 阳性对照和阳性样品的OD值>0.8 A450。

云南分离HIV的效率为40%, 即从24例健康带病毒者和1例PGL病人分离到10株HIV1。根据血清学实验证明(这25人均均为HIV1抗体阳性, HIV2 抗体阴性<sup>[22]</sup>)和病毒分离检测结果(HIV1 p24抗原阳性, HIV1 Gag和Pol基因特异性引物PCR实验阳性)可确定, 这些毒株均属HIV1。

### 讨论

从HIV感染者分离HIV的效率, 根据病人

感染期的不同有着很大的差异, 从HIV感染之初的无症状潜伏期, 艾滋病相关复合症(ARC)到艾滋病依次为10~40%, 50~70%和80~90%以上<sup>[15, 19, 20]</sup>。这是由HIV这一逆转录病毒特有的复制周期和感染形式决定的。HIV感染细胞后经逆转录酶反转录成cDNA前病毒, 即整合入细胞染色体。此后在很长一个时期(半年~10年)呈潜伏状态不表达, 血液中很少有感染性病毒, 临床为无症状期。当潜伏的前病毒被某些因子激活后, 病毒开始复制,



附图 用PCR方法从共培养细胞DNA中扩增 HIV1Pol基因

样品DNA先用位于HIV1Pol基因目的片段外侧的一对引物JA17和JA20扩增一次,再用内侧引物对JA18和JA19再次扩增,这样产生的预期片段大小为129bp。A, B, C, G, H和I分别为样品2号, 20号, 29号, 10号, 12号和19号, D为阳性对照(用I. V 1-AC感染的CEM细胞); F为阴性对照(CEM细胞); E为DNA分子量标准物(用BstN1酶切的PBR322DNA,胶上可看到5条带)。

产生完整HIV颗粒并感染和杀伤Th细胞,造成免疫系统进行性缺损,血液中有大量感染性病毒,临床上表现为ARC和艾滋病<sup>[1,21]</sup>。所以,从无症状带毒者分离HIV是很困难的,并且不能从血清只能从PMCs中经过长期体外培养以激活其中潜伏的HIV,同时不断补充PHA激活的正常人PMCs以维持HIV的繁殖。

流行病学资料提示我国云南HIV感染的流行尚属早期,我们对部分云南HIV感染者进行了一系列血清学、病原学和免疫学指标的测定,所得数据证明绝大多数云南感染者属无症状带毒者,仅一例属PGL期<sup>[22]</sup>。因而在病毒分离中我们选用了对此类感染者最敏感的PMCs共培养方法<sup>[23]</sup>并以各国通用和WHO推荐的RT测定法作为HIV分离的终点<sup>[15~20,23]</sup>从25例HIV感染者分离到10株HIV1型病毒,分离率40%,与其他欧美实验室从同类人群所获的分离率的上限相当。所获毒株的生物学特性与文献中报道的从同类感染者中分离的毒株一样,均属于生长慢/低滴度类(slow/low)或非细胞病变型的毒株<sup>[20,30]</sup>。这类毒株多只能在

PMCs繁殖,复制率很低,基本不致细胞病变,RT值升高十分缓慢,需一个月左右才能达到高峰。这类毒株与从AIDS或ARC病人分离的生长快/高滴度(Rapid/high)或致细胞病变性HIV毒株完全不一样。后者从血清或PMCs均很易分离到,除PMCs外也很易在传代人T细胞株或单核细胞繁殖,致严重的CPE,可融合成上百个细胞的巨细胞,RT值可在数日或一周内达高峰<sup>[20,30]</sup>。我们曾用MT4细胞从一美国艾滋病病人分离到一株Rapid/high类HIV毒株。造成这种截然不同的两类HIV毒株的原因,目前尚不清楚,有人认为是tat或art(rev)基因的突变造成复制能力的差异<sup>[24]</sup>或是sor(vif)基因的变异,导致形成感染性毒粒的变化<sup>[25,26]</sup>,其他人则认为这是由于毒株对细胞嗜性的不同所造成的<sup>[27,28]</sup>。目前,我们正从这几方面着手研究以提高病毒的滴度。

在表3中HIV1检测结果可以看出RT比IFA/IEA方法更敏感,样品21、27和28号IFA/IEA阴性,RT却为阳性。这与文献中的报道是一致的,Levy等认为只有当RT值>20 000 cpm/ml时才可能用IFA查到抗原阳性细胞<sup>[15]</sup>,而

表3 HIV分离的检测结果小结

样品号	HIV感染分期	HIV检测方法及其结果				
		CPE	IFA/IEA	RT*	P24-Ag <sup>①</sup>	PCR&
1	Asym*	-	-	-	-	-
2	Asym	-	+	+	NT	+
3	Asym	-	-	-	NT	-
4	Asym	-	-	-	NT	NT
5	Asym	-	-	-	-	NT
6	Asym	-	-	-	NT	NT
7	Asym	-	-	-	NT	NT
8	-	-	-	-	NT	NT
9	Asym	-	-	-	NT	NT
10	-	-	-	-	-	-
11	Asym	-	+	+	+	+
12	-*	-	-	-	-	-
13	Asym	-	+	+	+	+
14	Asym	-	-	-	NT	NT
15	Asym	-	-	-	-	NT
16	Asym	-	-	-	NT	NT
17	Asym	-	-	-	NT	NT
18	Asym	-	-	-	NT	NT
19	Asym	-	-	-	NT	-
20	Asym	-	+	+	+	+
21	Asym	-	-	+	NT	+
22	Asym	-	+	+	NT	NT
23	Asym	-	+	+	+	+
24	-	-	-	-	NT	NT
25	Asym	-	-	-	NT	NT
26	Asym	-	-	-	NT	NT
27	Asym	-	-	+	NT	NT
28	Asym	-	-	+	+	+
29	PGL*	-	+	+	+	+
总计	阳性数 检测数	0/29	7/29	10/29	6/10	8/13

\*-: HIV抗体阴性, HIV seronegative; Asym, 无症状抗体阳性, Asymetomatic seropositive; PGL, 持续性全身性淋巴腺病, persistent generalized lymphadenopathy;

NT: 未做, Not tested

\* 见表1注释 See footnote of Tab.1

①根据采用Abbott HIVAG-1试剂盒, OD值重复高于cut off 值的样品, 需再次取样, 若仍重复阳性方确定为阳性。

Abbott HIVAG-1kit was used. For all repeatable reactive specimens, a second independent sample was taken. If it was repeatalely reactive, the sample was classified as positive.

& 样品中HIV1Gag或/和HIV1 Pol基因片段 扩增阳性则定该样品为阳性。The sample from which Gag and/or Pol gene fragment of HIV1 can be amplified, is classified as positive.

RT测定的阳性标准是 $>5\ 000\text{cpm/ml}$ 。对比表1所列的样品RT值, 我们的结果与这一估计很接近。HIV1p24抗原Elisa法被认为是比RT更敏感的检测HIV生长的方法<sup>[29]</sup>, 目前也用于HIV分离的检测。文献中报道更高的HIV分离率(从80%~90%以上的各类HIV感染者分离出HIV), 就是由于以p24抗原 Elisa取代RT<sup>-</sup>作为HIV分离的终点而获得的。由于该试剂价格十分昂贵, 我们只能用其证实 RT<sup>-</sup>阳性的样品是否含HIV, 结果与RT测定是完全一致的(表3)。

由于HIV1毒株高度变异, 这种变异主要是Env基因, 特别是编码外膜蛋白gp120部分的, 而Pol和Gag基因相对保守。我们因而选择了Pol和Gag基因的引物做PCR, 从RT阳性样品中扩增出HIV1特异性基因, 进一步证实了分离到的病毒属HIV1型。目前我们正在用PCR技术扩增所分毒株的其他基因, 特别是gp120基因并进行序列分析, 以搞清我国HIV流行株的来源及其与世界其他地区HIV流行株的差异, 为我国HIV疫苗的研究提供依据。

Isolation of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in Epidemic Area of HIV infection in Yunnan Province Shao Yiming, et al., Institute of Virology, Chineses Academy of Preventive Medicine

Blood were collected from HIV infected persons in epidemic area of HIV infection in Yunnan province for isolation of HIV. The coculture method was used for cultivating the virus and reverse transcriptase assay (RT) was the main method for detection of HIV. Of 25 seropositive, 24 asymptomatic and one PGL, 10

showed positive RT activity ( $>5000$  cpm/ml and with a steadily increase, some to more than 40000 cpm/ml). The results were confirmed by the detection of HIV<sub>1</sub> p24 Ag (ELISA) and HIV<sub>1</sub> POL and GAG gene sequence (PCR). In accordance with the reports from other labs, the viruses isolated from these group of persons infect only PMCs, grew slowly with gradual increase of RT activity and caused no CPE. Efforts are making, at present, to rise the virus titer with better culture system. The amplified gene sequence of the isolates are under investigating.

**Key words** Human immunodeficiency virus  
Virus isolation

This work was partly supported by a grant from World Laboratory. We thank Dr. H. Wolf (Pettenkofer Institute, Germany) and Dr. D. P. Huang (Biotech Res Labs) for providing some of the reagents used in this research.

### 参 考 文 献

1. Global Programme on AIDS. Current and future dimensions of the HIV/AIDS pandemic WHO/GPA/SFI/90.2 rev. 1990; 1.
2. 曾毅, 等. 血友病患者血清中淋巴腺病毒/人T细胞Ⅲ型病毒抗体检测. 病毒学报 1985; 1: 391.
3. F. Barre-Sinoussi, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a Patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983; 220: 868.
4. 曾毅, 等. 我国首次从艾滋病病人分离到艾滋病病毒 (HIV). 中华流行病学杂志 1988; 9(3): 135.
5. S. Benn, et al. Genomic Heterogeneity of AIDS Retroviral. Science, Vol. 1985.
6. B. H. Hahn, et al. Genetic Variation in HTLV-Ⅲ/LAV Over Time in Patients with AIDS or at Risk for AIDS. Science, Vol. 1985.
7. J. A. Levy: The mysteries of HIV: challenges for therapy and prevention. Nature 1988; 333: 519~522.
8. B. A. Castro, et al. HIV heterogeneity and viral pathogenesis. AIDS 1988, 2(suppl 1) S17-S27.
9. 王哲, 等. 人免疫缺陷病毒血清学诊断免疫酶法的建立及其应用. 中华流行病学杂志 1990, 11(4): 243.
10. J. A. Levy, et al. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. Science 1984; 225: 840~2.
11. D. Gallo, et al. Comparative Studies on Use of Fresh and Frozen Peripheral Blood Lymphocyte Specimens for Isolation of Human Immunodeficiency Virus and Effects of Cell Lysis on Isolation Efficiency. Journal of Clinical Microbiology, July 1987; 1291~1294.
12. A. D. Hoffman, et al. Characterization of the AIDS-associated retrovirus reverse transcriptase and optimal Conditions for its detection in virions. Virology 1985; 147: 326.
13. Biotech Res. Labs HIV-1 DNA Capture Hybridization Assay roduct Insert. 1990.
14. J. Albert, et al. Simple, Sensitive, and Specific Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Clinical Specimens by Polymerase Chain Reaction with Nested Primers. Journal of Clinical Microbiology, July 1990; 1560~1564.
15. J. A. Levy, et al. Recovery of AIDS-Associated Retroviruses From Patients with AIDS or AIDS-Related Conditions and from Clinically Healthy Individuals. The Journal of Infectious Diseases 1985.
16. C. B. Wofsy, et al. Isolation of AIDS-Associated Retrovirus from Genital Secretions of Women with Antibodies to the Virus. The Lancet, Mar 8, 1986, 527~529.
17. F. Chiodi, et al. Biological Characterization of Paired Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates from Blood and Cerebrospinal Fluid. Virology 173, 178~187 (1989).
18. T. Folks, et al. Susceptibility of normal lymphocytes to infection with HIV Ⅲ/LAV. The Journal of Immunology 1986.
19. J. Albert, et al. Isolation of Human Immunodeficiency Virus (HIV) From Plasma During Primary HIV Infection. Journal of Medical Virology 23: 67~73 (1987).
20. H. von Briesen, et al. Isolation Frequency and Growth Properties of HIV-Variants: Multiple Simultaneous Variants in a Patient Demonstrated by Molecular Cloning. Journal of Medical Virology 23: 51~66 (1987).
21. J. A. Levy Human Immunodeficiency Viruses and

the Pathogenesis of AIDS. JAMA 1989, 261 (20) P2997~3006.

22. 邵一鸣, 等. (待发表资料).

23. Global Programme on AIDS, WHO. Criteria for the laboratory characterization of HIV Isolates. 1989, WHO/GPA/BMR.

24. J.H.Sodrosk, et al. A second posttranscriptional trans-activator gene required for HIV-1 replication. Nature 321: 412~417.

25. A.G.Fisher, et al. The *src* gene of HIV-1 is required for efficient virus transmission in vitro. Science 1987 237: 888~893.

26. K. Strebel, et al. The HIV "A" (*src*) gene product is essential for virus infectivity. Nature 1987, 328: 728~730 1987.

27. S. Gartner, et al. The role of mononuclear phagocytes in HIV-1/LAV infection. Science 233:

215~219. 1986.

28. Y.Koyanagi, et al. Dual infection of the central nervous system by AIDS viruses with distinct cellular tropisms. Science 1987 236: 819~822.

29. J.B. Jackson, et al. Rapid and Sensitive Vial Culture Method for Human Immunodeficiency Virus Type 1. Journal of Clinical Microbiology. 1988, P. 1416~1418.

30. E.M.Fenyo, et al. Distinct replicative and cytopathic characteristics of human immunodeficiency virus isolates. Journal of Virology, 1988 62(11): 4414~4419.

31 邵一鸣, 等. (待发表资料).

(本研究部分经费由世界实验室资助,并由德国慕尼黑大学Pettenkofer研究所H.Wolff和美国Biotech Res公司黄道培先生提供PCR检测DNA捕获杂交试剂盒,在此一并致谢)  
(1990年10月收稿,1990年12月修回)

## 山东省菏泽地区自然人群免疫状况调查

菏泽地区卫生防疫站

陈仲全 周观涛 刘启林

1988年,我区用于计划免疫的冷链系统全部投入使用。在冷链运转前,对全区十县(市)自然人群的麻疹、白喉、破伤风、百日咳四种疾病的免疫状况进行了抽样调查。现将调查结果报告如下。

**1. 抗体测定:** 麻疹、白喉、破伤风、百日咳四种免疫抗体的测定方法均按全国计划免疫监测标准化会议制订的细则进行。

**2. 结果:** 调查麻疹618人, HI抗体阳性560人, 阳性率为90.61%, GMT 1: 10.95, 阳性人群的 GMT 1: 14.03, 其中HI抗体 > 1: 8者472人, 占被检人数的76.38%; 调查白喉673人, DAT阳性520人, 阳性率为77.27%, GMT 0.050 IU/ml, 阳性人群的 GMT 0.105 IU/ml, 其中DAT > 0.01 IU/ml者459人, 保护率为68.20%; 调查破伤风673人, TAT阳性365人, 阳性率为52.90%; GMT 0.027 IU/ml, 阳性人群的 GMT 0.095 IU/ml, 其中 > 0.01 IU/ml者329人, 保护率为48.89%; 调查百日咳510人, 抗体阳性469人, 阳性率为91.96%, GMT 1: 83.90, 阳性人群的 GMT 1:

123.57, 其中 ≥ 1: 320者103人, 保护率为20.20%。

**3. 分析:** 测定结果表明麻疹、白喉、破伤风、百日咳四种抗体水平以麻疹最高, 白喉次之, 破伤风、百日咳的抗体水平显著低于白喉, 和其他省市报告的结果相一致。四种抗体水平在男女性别之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但在不同地区的人群间抗体水平有着明显的区别 ( $P < 0.01$ ), 这说明不同县(市)间计划免疫工作开展不够平衡。从年龄上看, 在被测的40名两岁以下的幼儿中, 四种抗体水平均较低, 其中13人全部阴性占32.5%, 说明一岁左右的幼儿有三分之一的对象未能及时得到“四苗”的基础免疫, 相反两岁以上的儿童四种抗体均达到较高的水平, 这一现象是和尚未装备冷链的地区不能正常开展接种门诊有关, 因此根据要求12月龄内完成“四苗”基础免疫是有困难的, 故一般这些地区均在12~18月龄内才完成“四苗”基础免疫。自全区冷链系统正常投入运转后各种免疫制品常年供应, 上述现象即可改变, 一岁后的四种抗体也将得到提高。