

流行性感活毒疫苗的选种试验*

张育琴 王桂秋 杨 敏

(卫生部生物制品研究所, 北京)

王植崙 李翰唐 薛鳳举

(中国医学科学院病毒研究所, 北京)

王太江 林南靖

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

关于流感活毒疫苗选种工作, 国外学者如 Стородинцев^[1]、Соколов^[2]、Жданов、Фадеева^[3]、Ритова^[4] 等人均有过报导。我国长春^[5]、上海等地的流感研究工作者也曾作过多方面的探讨, 但用以往的毒种免疫后病毒繁殖与血清抗体增长情况尚不够满意。为了进一步探索这个问题, 在1960年我们采用了数量较多的病毒株在658名志愿者中进行筛选, 本文系将所得结果作一报告。

材料与方 法

一、病毒株 共搜集了17株, 其中包括亚洲甲型14株、乙型2株、丁型1株。

二、疫苗的制备及检定 将病毒稀释成 10^{-3} 接种10—11日龄之鸡胚尿囊腔, 亚洲甲型病毒及丁型病毒在 36°C 培育48小时(乙型培育72小时)后置 4°C 冷却, 收获其尿液, 将无菌且血凝价较高的尿液合并, 加入25%的卵黄及10%的蔗糖溶液作为保护剂。疫苗的检定按照我国“流感活毒疫苗制造及检定试行规程”进行。

三、志愿者的选择 是17—25岁的战士及学生, 免疫前经过体格检查, 并选出抗体低或等于1:10者进行疫苗接种后的病毒分离。

四、疫苗接种方法及接种后反应观察 接种后共观察4天, 接种及观察反应方法见参考文献[6]。

五、病毒生存性的测定 最初我们分别在接种后第2、3、4天采取咽漱液标本进行病毒分离, 后期将采取标本的时间延长到接种后的第7天。以病毒分离阳性率代表疫苗的生存性。

六、免疫原性之测定 以志愿者免疫后抗体滴度增长4倍以上者作为阳性。

试 验 结 果

一、14株亚洲甲型流感病毒接种志愿者结

果 我们将14株亚洲甲型病毒, 作成以卵黄蔗糖为保护剂的液体疫苗进行比较。这些病毒株中包括1株苏联毒种, 1株人胚肺肾组织培养适应后的毒种, 其余12株是由1957—1960年在国内几个城市流感流行期中分离出来的, 曾在鸡胚中传7—9代。14株病毒中I相占10株, II相占4株。病毒接种后的结果见表1。

表1可看出14株病毒可以分成4类: 第1类如沪军58-12-32-3、崔、京科59-5、京科60-1株, 虽反应轻微, 但其生存性及免疫原性都不好。另外, 长57-2人胚肺肾组织培养适应株虽较前4株好些, 但仍不够理想。第2类如京57-2、翟、京科59-7共3株, 其反应性及生存性低但免疫原性较好。第3类如苏96、预防(朱)及京科58-27, 其反应性、生存性及免疫原性都较强。另外2株病毒即京科58-24及科58-28, 前者生存性较差, 后者免疫原性较差, 但似乎仍可归入这一类。上述3类都不适于被选作疫苗毒种。第4类是反应性、生存性及免疫原性都比较理想的, 例如沪防60-1, 共试验了2次, 接种59人, 轻反应者14人, 中反应1人(体温 37.9°C), 病毒分离19份标本中有15份阳性, 其阳性率为79%, 且病毒生存时间较长; 抗体以低或等于1:10的19个人来计算, 增长4倍以上者占52.7%。

二、2株乙型及1株丁型流感病毒志愿者接种后的结果 见表2。

表2可看出, 京科58-26鸡胚8代、10代之生存性及免疫原性比较好, 但反应很强。津防59-1株鸡胚7代及9代, 均不理想。

* 此项工作进行人体观察时, 承有关单位一些同志热忱协助, 特此致谢。另外有中国医学科学院病毒研究所李敬之、焦永真、汪小初及卫生部药品生物制品检定所方珍等同志协助工作, 特此致谢。本文1963年6月11日收到。

表 1 14 株亚洲甲型流感病毒制备的液体活毒疫苗在反应性、生存性及免疫原性方面的比较

| 株 别 | 代数*** | 相别 | 反 应 观 察* | | | | 生 存 性 (病毒分离) | | 免疫原性 (抗体 4 倍以上增长) | |
|---------------|--|----|----------|---------------|---------------|------------|-----------------|------------|----------------------|------------|
| | | | 人数 | 37.2— 37.5 | 37.6— 38.5 | 38.6 以上 | 人数 | 分离率 (%) | 人数 | 增长率 (%) |
| 沪军 58-12-32-3 | E ₈ | I | 21 | 0 | 0 | 0 | 10 | 20 | 8 | 25 |
| 崔 | E ₉ | II | 19 | 4 | 1 | 0 | 10 | 30 | 6 | 16.6 |
| 京科 59-5 | E ₈ | I | 15 | 1 | 0 | 0 | 8 | 12.5 | 7 | 28.5 |
| 京科 60-1 | E ₈ | I | 16 | 2 | 0 | 0 | 10 | 40 | 10 | 20 |
| 长 57-2 | E ₉ K ₄ L ₂ E ₁₀ E ₈ | I | 51 | 3 | 0 | 0 | 20 | 40 | 29 | 38 |
| 京 57-2 | E ₇ | II | 25 | 2 | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 60 |
| 翟 | E ₈ | I | 25 | 0 | 1 | 0 | 9 | 22.2 | 4 | 75 |
| 京科 59-7 | E ₈ | I | 20 | 4 | 0 | 0 | 9 | 33.3 | 7 | 71.4 |
| 苏 96 | EH ₈ E ₈ | I | 47 | 14 | 3 | 1 | 10 | 60 | 19 | 73.6 |
| 预防(朱) | E ₈ | II | 20 | 3 | 1 | 0 | 9 | 55.5 | 7 | 42.8 |
| 预防(朱)** | E ₈ | II | 30 | 11 | 0 | 1 | 11 | 90.9 | 14 | 64.2 |
| 京科 58-24 | E ₈ | II | 20 | 3 | 2 | 1 | 10 | 30 | 7 | 55.5 |
| 京科 58-27 | E ₈ | I | 23 | 4 | 2 | 0 | 8 | 62.5 | 6 | 50 |
| 京科 58-28 | E ₇ | I | 19 | 7 | 1 | 0 | 9 | 55.5 | 9 | 33.3 |
| 沪防 60-1 | E ₈ | I | 16 | 0 | 0 | 0 | 9 | 66.6 | 7 | 42.8 |
| 沪防 60-1** | E ₈ | I | 43 | 14 | 1 | 0 | 10 | 90 | 12 | 66.6 |

* 37.2—37.5℃ 为轻反应; 37.6—38.5℃ 为中反应; 38.6℃ 以上为重反应。 ** 为同株病毒复试结果。

*** E 代表鸡胚, K 代表人胚肾, L 代表人胚肺, H 代表人。右下角的阿拉伯字母代表传代次数。

表 2 2 株乙型及 1 株丁型流感病毒制备的活毒疫苗在反应性、生存性及免疫原性方面的比较

| 株 别 | 代 数 | 反 应 观 察 | | | | 生 存 性 (病毒分离) | | 免疫原性 (抗体增长 4 倍以上) | |
|----------|--|---------|---------------|---------------|------------|-----------------|------------|----------------------|------------|
| | | 人数 | 37.2— 37.5 | 37.6— 38.5 | 38.6 以上 | 人数 | 分离率 (%) | 人数 | 增长率 (%) |
| 京科 58-26 | E ₈ | 49 | 2 | 3 | 1 | 20 | 50 | 39 | 43.6 |
| 京科 58-26 | E ₁₀ | 46 | 2 | 9 | 3 | 13 | 61.5 | 31 | 48.2 |
| 津防 59-1 | E ₇ | 58 | 10 | 3 | 3 | 20 | 65 | 51 | 45.1 |
| 津防 59-1 | E ₉ | 48 | 4 | 1 | 0 | 15 | 20 | 34 | 26.5 |
| Kop | E ₈ L ₈ E ₇ | 47 | 14 | 2 | 1 | 15 | 53.3 | 23 | 39.1 |

丁型病毒株 Kop, 生存性及免疫原性都较好, 但反应性较强。

三、延长病毒分离日期对分离阳性率的影响

在前一个阶段的实验室工作中, 常常发现毒种的生存性与免疫原性有不平行的情况, 故我们将病毒分离日期延长, 由接种第 2 天起至第 7 天止, 这样就发现部分志愿者在接种第 5—7 天才初次出现阳性结果, 尤以第 5 天出现最多, 结果见表 3。

表 3 可看出, 有些病毒株的分离阳性率随分离时间的延长而增加, 例如预防(朱) 2—4 日的

分离率为 30%, 2—5 日为 44.4%, 2—7 日为 55.5%。另外表 3 结果也说明沪防 60-1 株在人的上呼吸道内存活时间较长, 这种情况是制备活毒疫苗比较有利的条件之一。

讨 论 与 小 结

这次我们在亚洲甲型的毒种筛选工作中, 获得了一株适合疫苗生产用的毒种, 即沪防 60-1 株。另外这次所用的病毒株, 大部分是通过鸡胚传代的, 我们发现经鸡胚传代 8 次以后, 其反应性一般的都较小, 与此同时, 其免疫原性也开始变

表 3 不同时间内病毒分离阳性率比较

| 株 名 | 代 数 | 病 毒 分 离 率 | | | |
|----------|----------------|-----------|-------|-------|-------|
| | | 人 数 | 2—4 日 | 2—5 日 | 2—7 日 |
| 京科 58-27 | F ₉ | 8 | 62.5 | 62.5 | 62.5 |
| 京科 58-28 | F ₇ | 9 | 55.5 | 55.5 | 55.5 |
| 预防(朱) | E ₈ | 9 | 30 | 44.4 | 55.5 |
| 预防(朱)* | F ₈ | 11 | 72.7 | 81.8 | 90.9 |
| 沪防 60-1 | E ₈ | 9 | 33.3 | 66.6 | 66.6 |
| 沪防 60-1* | F ₈ | 10 | 80 | 90 | 90 |

* 复试结果。

弱,故进行筛选时代数不宜传的过多。但有些病毒株如京科 58-26 (乙型)通过鸡胚传代 10 次后反应仍然很强,该株在长春生物制品研究所继续传代 18 次后才明显降低了反应,此现象可能与它本身的特性有关。

在病毒生存性的测定实验中,我们建议除加强控制可能影响病毒分离率的各种因素外,可将病毒分离的天数延长至 5 天或 7 天。

参 考 文 献

tional Meeting of Biological Standardization, 463—480, 1957.

- [2] Соколов, М. И., Куликова, К. С.: Ж.М.Э.И., (11): 28, 1959.
- [3] Фадеева, Л. А.: Ж.М.Э.И., (2):47, 1953.
- [4] Ритова, В. В. и Евстигнеева, Н. А.: Вopr. Вирусол., 2:172, 1960.
- [5] 长春生物制品研究所: 全国急性传染病学术资料选编, 中册, 311 页。
- [6] 朱既明、郝成章、童葵塘、岩 波、王鸿飞: 中华医学杂志, 48, 730, 1962。