

抗疱疹免疫球蛋白的制备和治疗树枝状角膜炎的临床应用

马升阳 蒋广亮 郝平然

(河南省人民医院病毒室) (郑州市第三人民医院眼科)

树枝状角膜炎(又称单疱病毒性角膜炎),它是由人1型疱疹病毒感染侵犯角膜而引起的一种眼病,对视力的危害十分严重,往往造成斑翳甚至失明。为了探讨对此病的有效疗法,我们用1型疱疹病毒Sm 44株的兔肾细胞培养物,人工感染家兔角膜(划痕法)。发现没有免疫的正常家兔经人工感染病毒后,病毒沿划痕处生长,引起角膜浸润、水肿、溃疡、分泌物增多等典型炎性病变,继而引起病毒性脑炎角弓反张而死亡。而先用死毒免疫过的家兔,再用人工角膜划痕感染活病毒,虽然局部出现轻度炎性反应,但不出现溃疡,病灶也不扩散,动物也不出现脑炎和死亡。此时动物血清中有高效价的中和抗体,可以经受大剂量的活毒攻击,这种高效价抗体可用于树枝状角膜炎的治疗。现将实验及临床应用情况介绍如下:

抗疱疹免疫球蛋白的制备

一、敏感动物的选择

我们选用的动物有驴、绵羊、鸡、家兔四种。用兔肾细胞培养的疱疹病毒(滴度为 $10^{5.7}-10^{6.0}$),对四种动物进行免疫,除家兔第一次采用60℃5分钟灭活的病毒进行免疫外,其余均用活毒免疫。免疫方法采用快速短程免疫(间日一次),第五次免疫注射后一周,采血测中和抗体。免疫部位,采用背部交感神经节处多点注射,再在四肢和腹部肌肉注射。免疫总剂量:家兔为25毫升(1、3、5、7、9),鸡为25毫升(1、3、5、7、9),绵羊为100毫升(10、20、20、20、30),驴为500毫升(50、100、100、100、150)。

中和抗体测定方法:将完成免疫注射后一周的动物,无菌操作抽血,分离血清,将血清用0.5% HL Han's 无菌溶液(内加2%小牛血清,青霉素、链霉素

各1万单位/100毫升,用碳酸氢钠调pH至7.0)进行倍比稀释,每管加疱疹病毒0.1毫升(500 TCID₅₀),室温作用30分钟,然后接种于兔肾细胞试管中,每个稀释度接种2管,置37℃培养72小时,观察细胞病变,判断结果。

从结果中看出,家兔抗体效价最高,绵羊、驴次之(见表1)。

二、免疫球蛋白的提取与制备

将采得免疫动物的全血分离血清,血清中加入等量的饱和硫酸铵,边加边摇,装入离心管中3000转/离心20分钟,然后倾去上清液,加半饱和硫酸铵洗涤沉淀物,再离心沉淀,如此反复三次,然后将所得的白色沉淀物加少量蒸馏水溶解,加2—3滴氯仿防腐,装入透析袋内,自来水流动透析24小时,用纳氏试剂测铵离子,待铵离子除净为止,加NaCl至0.9%,然后用蔡氏滤菌器除菌过滤,将所得到的无色透明溶液无菌分装至小瓶,进行冷冻干燥,干燥后加塞抽成真空,蜡封,即得抗疱疹免疫球蛋白。这种球蛋白一般较原血清效价高2—3倍,经10批试制,中和抗体效价均保持在1:2000—1:2500。

三、安全试验

本制品是用家兔血清制成,对制品用于病人之前的安全检查是十分重要的。我们将10批制品作无菌试验均为阴性,并用制品连续给3只豚鼠点眼一个月,每天10—20次,均未发现全身和局部出现速发和迟发性过敏反应,后来我们自己用该药点眼试验一周,未发现不良反应。

治疗树枝状角膜炎的临床观察

病例选择共31例典型树枝状角膜炎病人,治疗前均作角膜显微镜荧光染色检查为阳性,角膜知觉减退,病情趋向复发,有不同程度的睫状体充血,自觉症状表现怕光、流泪、眼痛和视力障碍,多有不同程度的高烧史。

给药途径分球结膜下注射及点眼二组。球结膜下注射组共3例,每天注射一次,每次0.2毫升,二例于第三天开始显著好转,第10天治愈,一例于第五天稍有好转,第六天注射后出现球结膜高度水肿痒,当时认

表1 四种动物中和抗体效价

动物种类	动物数	中和抗体效价
驴	1头	1:500
绵羊	2头	1:540 1:640
鸡	2只	1:160 1:120
家兔	15只	按比例15只家兔血清混合,平均效价1:1024

是制品过敏，停止治疗。点眼组共 28 例，23 例治愈（5 例无效）。其中 13 例 7—10 日治愈，3 例 10—15 日治愈，5 例 15—20 日治愈，1 例 30 天治愈，1 例第三十天有明显好转，50 日治愈。其中有 5 例均为严重的树状角膜溃疡，经常反复发作，有一例病程达 16 年之

久，在治疗中除点抗疱疹免疫球蛋白外，又加氯霉素、链霉素、两性霉素乙眼药水及 1% 阿托品眼药水，并进行了抗疱疹免疫球蛋白眼浴，最终皆获得满意的治愈效果，治愈率达 82.1%。点眼组给药每 5—10 分钟点一次，在 28 例用药治疗中未发现过敏反应。