

## 杜氏利什曼原虫无鞭毛体蛋白基因重组质粒的免疫原性研究

李金福<sup>1</sup>, 陈建平<sup>2\*</sup>, 田玉<sup>2</sup>, 杨志伟<sup>2</sup>, 马莹<sup>2</sup>, 胡孝素<sup>2</sup>

**【摘要】** 目的 研究杜氏利什曼原虫无鞭毛体蛋白基因重组质粒 pcDNA3.1-amastin 的免疫原性。方法 将 18 只雌性 BALB/c 小鼠随机分为实验组和对照组, 每组 9 只。两组分别肌肉注射重组质粒 pcDNA3.1-amastin 和空质粒 pcDNA3.1(+) (50 μg/只), 2 周后同法加强免疫 1 次。加强免疫后第 7、14 和 21 天每组各取小鼠 3 只, 内眦采血, 分离血清, 间接 ELISA 法测定血清中抗原特异性抗体水平。随后脱颈处死小鼠, 无菌取脾, 分离脾细胞, 用刀豆球蛋白 A 刺激培养, 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)法检测脾淋巴细胞增殖活性和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)杀伤活性。双抗体夹心 ELISA 法检测脾淋巴细胞培养上清中 γ 干扰素 (IFN-γ)、白细胞介素-2 (IL-2) 和 IL-4 的水平。结果 加强免疫后第 7、14 和 21 天, 实验组均检测到特异性 IgG 抗体, 效价在 1:640 以上, 而对照组未检测到 IgG 抗体 ( $P<0.01$ ); 实验组脾淋巴细胞增殖活性刺激指数分别为  $4.28\pm 0.51$ 、 $5.01\pm 0.60$  和  $4.39\pm 0.50$ , 均高于对照组 ( $P<0.01$ ); 实验组脾淋巴细胞培养上清中 IFN-γ 含量分别为  $(42.06\pm 4.26)$ 、 $(66.02\pm 6.02)$  和  $(58.29\pm 3.75)$  pg/ml, IL-2 含量分别为  $(38.21\pm 5.11)$ 、 $(64.79\pm 8.67)$  和  $(52.69\pm 7.15)$  pg/ml, 均高于对照组 ( $P<0.01$ ), 两组均未检测到 IL-4; 实验组脾淋巴细胞 CTL 杀伤活性分别为  $(42.20\pm 5.96)\%$ 、 $(63.66\pm 5.44)\%$  和  $(52.24\pm 4.56)\%$ , 均高于对照组 ( $P<0.01$ )。结论 杜氏利什曼原虫无鞭毛体蛋白基因重组质粒 pcDNA3.1-amastin 免疫小鼠后可诱导其产生特异的体液免疫应答和 Th1 型细胞免疫应答。

**【关键词】** 杜氏利什曼原虫; 无鞭毛体蛋白; 基因疫苗; 免疫原性

中图分类号: R382.22 文献标识码: A

## Immunogenicity of the Recombinant Plasmid of *Leishmania donovani* Amastin Gene

LI Jin-fu<sup>1</sup>, CHEN Jian-ping<sup>2\*</sup>, TIAN Yu<sup>2</sup>, YANG Zhi-wei<sup>2</sup>, MA Ying<sup>2</sup>, HU Xiao-su<sup>2</sup>

(1 Department of Parasitology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China; 2 Department of Parasitology, School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the immunogenicity of recombinant plasmid pcDNA3.1-amastin with *Leishmania donovani* amastin gene. **Methods** Eighteen female BALB/c mice were randomly divided into experimental group and control group. Mice in experimental group and control group were intramuscularly injected with 50 μg recombinant plasmid pcDNA3.1-amastin and blank plasmid vector pcDNA3.1(+), respectively, and then received equivalent dose of plasmid after 2 weeks. On days 7, 14, and 21 after the second immunization, serum samples were collected from 3 mice each group. The mice were then sacrificed, spleens were removed and splenocytes were collected. Serum antibody level was determined by indirect ELISA. Splenocyte proliferation responses and cytotoxicity of spleen-derived lymphocytes were analyzed by MTT colorimetry after stimulation with ConA. Level of IFN-γ, IL-2 and IL-4 in the splenocyte culture supernatants was determined by double antibody sandwich ELISA. **Results** On days 7, 14, and 21 after the second immunization, specific IgG antibody (more than 1:640) was found in experimental group, but not in the control ( $P<0.01$ ); stimulation index (SI) of spleen cells in experimental group ( $4.28\pm 0.51$ ,  $5.01\pm 0.60$ , and  $4.39\pm 0.50$ ) was higher than that of control group ( $P<0.01$ ); the level of IFN-γ [ $(42.06\pm 4.26)$ ,  $(66.02\pm 6.02)$ , and  $(58.29\pm 3.75)$  pg/ml] and IL-2 [ $(38.21\pm 5.11)$ ,  $(64.79\pm 8.67)$ , and  $(52.69\pm 7.15)$  pg/ml] in splenocyte culture supernatants of experimental group was higher than that of control group ( $P<0.01$ ); IL-4 was not found in the two groups; cytotoxicity of spleen-derived lymphocytes in experimental group [ $(42.20\pm 5.96)\%$ ,  $(63.66\pm 5.44)\%$ , and  $(52.24\pm 4.56)\%$ ] was stronger than that of control ( $P<0.01$ ). **Conclusion** The recombinant plasmid pcDNA3.1-amastin can induce specific humoral and Th1 type cellular immune responses in mice.

**【Key words】** *Leishmania donovani*; Amastin; DNA vaccine; Immunogenicity

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30771883), the Science and Technology Research Fund of Guizhou Province (No. 20082279)

\* Corresponding author, E-mail: jpchen007@163.com

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30771883); 贵州省科学技术基金 (黔科合 J 字 [2008] 2279 号)

作者单位: 1 贵阳医学院寄生虫学教研室, 贵阳 550004; 2 四川大学华西基础医学与法医学院寄生虫学教研室, 成都 610041

\* 通讯作者, E-mail: jpchen007@163.com

利什曼原虫是一种胞内专性寄生原虫,所引起的利什曼病严重危害人类的健康,被 WHO/TDR 列为需要重点防治的 6 种热带病之一。其中,杜氏利什曼原虫引起的内脏利什曼病症状最为严重,威胁患者生命,如不经治疗,死亡率高达 90%以上<sup>[1]</sup>。目前,利什曼病的主要控制措施是使用葡萄糖酸锑钠等药物治疗患者或捕杀病犬以控制传染源,其次是使用驱虫剂或杀虫剂控制传播媒介白蛉。对利什曼病疫苗的研究主要集中在皮肤利什曼病疫苗,尚无能大规模用于临床的利什曼病(尤其是内脏利什曼病)预防接种疫苗。疫苗的缺失,加之药物不良反应明显、治疗费用昂贵和抗药虫株的出现等使得利什曼病的防控形势非常严峻。因此,WHO/TDR 提出,目前针对利什曼病研究的战略重点是新药的开发和有效疫苗候选抗原的发现,以期早日研制出能大规模用于临床的疫苗。近年来的研究<sup>[2-4]</sup>表明,无鞭毛体蛋白(amastin)极有可能成为内脏利什曼病疫苗候选分子。据此,本研究在已构建杜氏利什曼原虫无鞭毛体蛋白基因重组质粒 pcDNA3.1-amastin 可在体外获得稳定表达<sup>[5]</sup>的基础上,以该重组质粒免疫小鼠,研究并评价其免疫原性,为后续的免疫保护性研究以及疫苗的研制提供实验依据。

## 材料与方法

### 1 材料

1.1 质粒、宿主菌、细胞株、杜氏利什曼原虫和实验动物 空质粒 pcDNA3.1 (+)、大肠埃希菌 DH5 $\alpha$  和 NIH3T3 细胞株由本室保存。重组质粒 pcDNA3.1-amastin 由本室构建。稳定转染空质粒 pcDNA3.1 (+) 和重组质粒 pcDNA3.1-amastin 的 NIH3T3 细胞由本室筛选获得并保存。杜氏利什曼原虫(MHOM/CN/90/SC10H2)由本室保存,经 M199 培养液培养至虫体数约  $5 \times 10^9$  个,收集虫体,备用。雌性 BALB/c 小鼠(SPF 级)18 只,16~18 g,6~8 周龄,购自四川大学实验动物中心。

1.2 主要试剂和仪器 小鼠淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限公司, M199 培养基、RPMI 1640 培养基和 DMEM 培养基均购自美国 Invitrogen 公司, 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)、台盼蓝和刀豆球蛋白 A (ConA) 购自美国 Sigma 公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗小鼠 IgG (H+L) 购自北京中杉金桥生物技术有限公司,四甲基联苯胺(TMB)显色试剂购自深圳晶美生物工程有限公司,小鼠细胞因子  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-2(IL-2) 和 IL-4 定量检测试剂盒购自上海森雄科

技实业有限公司,其余试剂均为国产或进口分析纯。酶标仪(Model 560)为美国 BioRad 公司产品。

### 2 方法

2.1 动物分组及免疫 将 18 只 BALB/c 小鼠随机分为实验组和对照组,每组 9 只。每只小鼠股四头肌注射 0.5%利多卡因溶液 50  $\mu$ l, 30 min 后在原注射部位实验组注射重组质粒 pcDNA3.1-amastin, 对照组注射空质粒 pcDNA3.1(+), 剂量为 50  $\mu$ g/只。各组在初次免疫 2 周后同法加强免疫 1 次。于免疫结束后第 7、14 和 21 天, 每组各取小鼠 3 只, 内眦采血, 分离血清, 备用。

2.2 小鼠体内抗原特异性抗体检测 杜氏利什曼原虫经 PBS 洗涤 3 次后, 置 5 ml PBS 内, 超声波细胞破碎仪粉碎虫体, 3 000 $\times$ g 离心 20 min, 上清即为杜氏利什曼原虫全虫蛋白抗原。用包被缓冲液(0.05 mol/L 碳酸盐缓冲液, pH 9.6)稀释杜氏利什曼原虫全虫蛋白抗原至最佳工作浓度(1  $\mu$ g/ml), 包被酶标板, 采用常规间接 ELISA 法测定血清中特异性 IgG 抗体水平。

### 2.3 细胞免疫效应检测

2.3.1 淋巴细胞增殖活性的检测 取血后脱颈处死小鼠, 无菌条件下取脾, 制成细胞悬液。台盼蓝染色, 确定细胞活性 >95%。用 RPMI 1640 完全培养液稀释至  $2.5 \times 10^6$ /ml, 在 96 孔板中每孔接种脾淋巴细胞悬液 100  $\mu$ l, 加入刀豆球蛋白 A (ConA) 至终浓度为 5  $\mu$ g/ml, 设阴性对照, 实验重复 3 次。37  $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 68 h 后, 加入 10  $\mu$ l 5 mg/ml MTT, 继续培养 4 h, 1 000 $\times$ g 离心 5 min。除去细胞培养液, 每孔加 100  $\mu$ l 二甲基亚砷(DMSO), 充分混匀, 37  $^{\circ}$ C 放置 30 min, 待形成的蓝黑色甲臞颗粒完全溶解。酶标仪测定吸光度( $A_{570}$  值), 计算刺激指数(SI)判断淋巴细胞增殖程度。SI=实验孔  $A_{570}$  均值/对照孔  $A_{570}$  均值。

2.3.2 检测 IFN- $\gamma$ 、IL-2 和 IL-4 的含量 取制备好的小鼠脾淋巴细胞悬液, 细胞浓度约  $2.5 \times 10^6$ /ml, 在 96 孔板中每孔接种脾淋巴细胞悬液 100  $\mu$ l, 加入 ConA, 每孔终浓度为 5  $\mu$ g/ml, 设阴性对照, 实验重复 3 次。在 37  $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 72 h, 收集培养液, 11 000 $\times$ g 离心 5 min, 去除颗粒性物质, 收集上清, 按照细胞因子检测试剂盒操作说明以双抗体夹心 ELISA 法检测 IFN- $\gamma$ 、IL-2 和 IL-4 的含量。

2.3.3 细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)杀伤活性检测 以稳定转染空质粒 pcDNA3.1(+)、重组质粒 pcDNA3.1-amastin 的 NIH3T3 细胞作为检测 CTL 杀伤活性的靶细胞。用 RPMI 1640 完全培养液调整脾淋巴细胞和靶细胞的浓度, 使浓度之比为 10:1, 两种细胞各取

50 μl 加至 96 孔板的同一孔中, 并设脾淋巴细胞对照孔 (仅加 100 μl 脾淋巴细胞)、靶细胞对照孔 (仅加 100 μl 靶细胞) 和空白对照孔 (不加任何细胞), 实验重复 3 次。在 37 °C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 20 h 后, 每孔加 5 mg/ml MTT 10 μl, 继续培养 4 h, 1 000×g 离心 5 min。去除培养液, 每孔加入 100 μl DMSO, 充分混匀, 置 37 °C 30 min, 使形成的蓝黑色甲臜颗粒完全溶解。酶标仪测量 A<sub>570</sub> 值。CTL 的杀伤活性 = [1 - (实验孔 A<sub>570</sub> 值 - 对照效应细胞 A<sub>570</sub> 值) / 对照靶细胞 A<sub>570</sub> 值] × 100%。

### 3 统计学分析

采用 SPSS 12.0 软件进行统计学分析。组间差异采用单因素方差分析。

## 结 果

### 1 小鼠体内抗原特异性抗体的滴度

加强免疫后第 7、14 和 21 天, 实验组均检测到特异性 IgG 抗体, 效价在 1:640 以上, 而对照组则未检测到特异性抗体, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

### 2 淋巴细胞增殖活性

加强免疫后第 7、14 和 21 天实验组刺激指数 (SI) 分别为 4.28±0.51、5.01±0.60 和 4.39±0.49, 均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ) (表 1)。

表 1 免疫小鼠脾淋巴细胞增殖活性

Table 1 Proliferative response of spleen-derived lymphocytes from mice vaccinated against *Leishmania donovani*

组别 Group	加强免疫后不同时间的刺激指数 Stimulation index at different time after the 2nd immunization(SI)		
	7 d	14 d	21 d
	实验组 Experimental group	4.28±0.51	5.01±0.60
对照组 Control group	1.98±0.15	2.23±0.20	2.13±0.17

### 3 淋巴细胞培养液中 IFN-γ、IL-2 和 IL-4 含量

加强免疫后第 7、14 和 21 天, 实验组 IFN-γ 含量分别为 (42.06±4.26)、(66.02±6.02) 和 (58.29±3.75) pg/ml, IL-2 含量分别为 (38.21±5.11)、(64.79±8.67) 和 (52.69±7.15) pg/ml, 均高于对照组 ( $P < 0.01$ )。各组均未检测到 IL-4 (表 2)。

### 4 CTL 杀伤活性检测

加强免疫后第 7、14 和 21 天实验组淋巴细胞 CTL 杀伤活性分别为 (42.20±5.96)%、(63.66±5.44)%

和 (52.24±4.56)%, 均高于对照组 ( $P < 0.01$ ) (表 3)。

表 2 免疫小鼠淋巴细胞培养上清中 IFN-γ 和 IL-2 水平  
Table 2 Level of IFN-γ and IL-2 in culture supernatant of spleen-derived lymphocytes from mice vaccinated against *Leishmania donovani*

组别 Group	加强免疫后不同时间细胞因子浓度 Concentration of cytokine at different time after the 2nd immunization (pg/ml)					
	7 d		14 d		21 d	
	IFN-γ	IL-2	IFN-γ	IL-2	IFN-γ	IL-2
实验组 Experimental group	42.06±4.26	38.21±5.11	66.02±6.02	64.79±8.67	58.29±3.75	52.69±7.15
对照组 Control group	12.64±1.42	13.52±1.90	17.30±2.06	18.46±2.98	16.96±2.02	15.51±2.47

表 3 免疫小鼠脾淋巴细胞 CTL 杀伤活性  
Table 3 Cytotoxicity of spleen-derived lymphocytes from mice vaccinated against *Leishmania donovani*

组别 Group	加强免疫后不同时间 CTL 杀伤活性 Specific cytotoxicity of spleen-derived lymphocytes at different time after the 2nd immunization (%)		
	7 d	14 d	21 d
	实验组 Experimental group	42.20±5.96	63.66±5.44
对照组 Control group	7.17±2.13	9.69±1.92	8.15±1.26

## 讨 论

内脏利什曼病患者一般不能自愈。虽然感染后体内抗体可达到高水平, 但病情却持续恶化。此时, 患者的延迟型皮肤过敏反应呈阴性, T 淋巴细胞数量及转化能力均较健康人为低, 表明在发病期其细胞免疫呈抑制状态。敏感宿主受利什曼原虫感染后, >40% CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞凋亡, 导致淋巴因子 IL-2 和 IFN-γ 分泌明显减少。内脏利什曼病患者治愈后, 延迟型皮肤过敏反应又逐渐转为阳性, 且持续多年甚至终生, 说明治愈后特异性的细胞免疫逐步趋于正常。同时, 大量临床资料也说明, 内脏利什曼病患者一经治愈, 一般不会出现再次感染。因此, 从患者细胞免疫功能状态与获得性免疫的一致情况来看, 内脏利什曼病患者的细胞免疫在获得性免疫中起着主导作用。研究表明, 抗原特异性 CD4<sup>+</sup> T 细胞在利什曼病保护性免疫的建立方面起着主要作用。CD4<sup>+</sup> T 细胞中的 Th1 型细胞所释放的细胞因子 IL-1、IL-2、IL-3 和 IFN-γ 等可加强巨噬细胞杀死利什曼原虫, 而 Th2 型细胞所释放的细胞因子则无类似作用。至于利什曼病的抗体, 则是在宿主杀伤利什曼原虫的过程中起到一定的作

用,但对所致疾病并无控制和保护作用<sup>[6]</sup>。因此,选用合适的、能诱导宿主产生强烈的 Th1 型细胞免疫应答的疫苗候选抗原至关重要。

研究表明,无鞭毛体蛋白是一种高度保守的期特异性蛋白,主要表达在利什曼原虫无鞭毛体时期虫体的表面<sup>[2]</sup>。因此,它在利什曼原虫感染宿主后应该有更多的与宿主免疫系统接触的机会,作为抗杜氏利什曼原虫感染疫苗候选抗原是非常理想的。

近年来,几种选用不同候选抗原的内脏利什曼病基因疫苗的出现为内脏利什曼病疫苗的研究提供了一个新的发展方向<sup>[7,8]</sup>,但这些疫苗尚未进行临床试验研究,效果未定。本研究表明,无鞭毛体蛋白基因可明显地诱导小鼠产生针对相应抗原的细胞免疫和体液免疫应答,拥有较强的免疫原性,并且维持时间较长,未检测到 IL-4,倾向于诱导产生 Th1 型细胞免疫,有可能成为一种有效的内脏利什曼病疫苗。各项免疫反应指标的检测结果表明,为下一步进行免疫小鼠抗杜氏利什曼原虫攻击感染提供了实验依据。

#### 参 考 文 献

- [1] Boelaert M, Criel B, Leeuwenburg J, et al. Visceral leishmaniasis control: a public health perspective [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2000, 94(5): 465-471.
- [2] Rochette A, McNicoll F, Girard J, et al. Characterization and developmental gene regulation of a large gene family encoding amastin surface proteins in *Leishmania* spp.[J]. Mol Biochem Parasitol, 2005, 140(2): 205-220.
- [3] Salotra P, Duncan RC, Singh R, et al. Upregulation of surface proteins in *Leishmania donovani* isolated from patients of post kala-azar dermal leishmaniasis[J]. Microbes Infect, 2006, 8(3): 637-644.
- [4] Stober CB, Lange UG, Roberts MT, et al. From genome to vaccines for leishmaniasis: screening 100 novel vaccine candidates against murine *Leishmania major* infection[J]. Vaccine, 2006, 24(14): 2602-2616.
- [5] Li JF, Chen JP, Tian Y, et al. Cloning of amastin gene of *Leishmania donovani* isolates from Sichuan Province of China and its expression in eukaryotic system[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2007, 25(2): 124-128. (in Chinese)  
(李金福, 陈建平, 田玉, 等. 杜氏利什曼原虫四川分离株无鞭毛体蛋白基因的克隆及真核表达[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(2): 124-128.)
- [6] Wu GL. Human Parasitology[M]. 3th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 127. (in Chinese)  
(吴观陵. 人体寄生虫学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 127.)
- [7] Fragaki K, Suffia I, Ferrua B, et al. Immunization with DNA encoding *Leishmania infantum* protein papLe22 decreases the frequency of parasitemic episodes in infected hamsters[J]. Vaccine, 2001, 19(13-14): 1701-1709.
- [8] Bindu S, Poonam T, Shailendra S, et al. Vaccination with DNA encoding ORFF antigen confers protective immunity in mice infected with *Leishmania donovani*[J]. Vaccine, 2003, 21(11-12): 1292-1299.

(收稿日期: 2010-11-17 编辑: 衣凤芸)

文章编号: 1000-7423(2011)-02-0125-02

## 【病例报告】

### 输入性旋毛虫病 3 例

刘阳, 张影, 路富荣

中图分类号: R383.15 文献标识码: D

**病例 1** 男性, 18 岁, 西藏昌都芒康县人。因发热伴恶心、呕吐, 持续腹痛、腹泻 21 d 伴全身肌肉酸痛, 于 2009 年 11 月 30 日在哈尔滨六顺社区医院就诊, 初诊为胃肠型感冒。给予静脉滴注左氧氟沙星(0.2 g/次, 2 次/d)和口服呋喃唑酮片(0.1 g/次, 3 次/d), 治疗 7 d 后症状未见好转, 肌肉酸痛较前加重。于 2009 年 12 月 8 日前往黑龙江省医院就诊。入院查体: 体温 38.7℃, 心律齐, 双肺呼吸音略粗。腹平软, 无压痛, 肝脾未扪及。双下肢非凹陷性浮肿, 全身肌肉压痛明显, 腓肠肌压痛阳性, 肌张力稍高。外周血: 白细胞(WBC) 11.9×10<sup>9</sup>/L, 嗜酸粒细胞(ESC) 30%。血红蛋白(HB) 164 g/L, 血小板(PLT) 391×10<sup>9</sup>/L。血浆白蛋白(ALB) 31.0 g/L。肝功能轻度至中

度异常, 其中碱性磷酸酶(ALP) 172 IU/L, 乳酸脱氢酶(LDH) 349 IU/L, 胆碱酯酶(CHE) 3 100 U/L, 肌酐正常。伴离子紊乱, 其中钾离子 2.16 mmol/L, 钠离子 97 mmol/L, 钙离子 1.98 mmol/L。胸片未见异常, 彩超下肝胆胰脾未见明显异常, 心电图表现大致正常。

**病例 2** 男性, 18 岁, 西藏昌都洛隆县人。持续性腹痛、腹泻 22 d, 咳白色泡沫痰 15 d, 全身肌肉酸胀伴疼痛, 腓肠肌疼痛进行性加重 5 d。自服黄连素片(3 片/次, 3 次/d)和阿莫西林片(2 片/次, 3 次/d) 5 d 后无明显好转。于 2009 年 12 月 8 日至黑龙江省医院就诊。入院查体: 体温 39.8℃, 颜面部轻度浮肿。心律齐, 腹平软, 无压痛, 肝脾未扪及。双下肢非凹陷性浮肿, 全身肌肉压痛明显, 腓肠肌压痛阳性, 肌张力增高。腓肠肌活检旋毛虫阳性。外周血: WBC 14.6×10<sup>9</sup>/L, ESC

作者单位: 黑龙江省医院感染科, 哈尔滨 150036