

蘇聯氯仿補體結合抗原鑑定 1955 年 重慶市流行性乙型腦炎病毒的試用

朱錫華 姬雲堂 錢國安

(重慶軍醫大學微生物學教研室)

1954 年我們^[1]曾從死亡患者腦組織中分出 7 株病毒, 抽取 2 株經系統鑑定分析後, 已確認為流行性乙型腦炎病毒, 同時更以 30 例患者^[2]血清分析了補體結合試驗的結果, 也證實了 54 年在重慶市流行的腦炎係屬於流行性乙型。

故 1955 年在病毒分離與鑑定工作上, 有必要根據上年的基礎加以改進和充實, 俾使科學研究工作得以推進。根據文獻上^[3-4]的記載, 自早期病人血液及脊髓液中有分離出病毒的可能性, 我們也同樣地進行了此項工作, 本年兩項標本^[5]共作了 37 例, 結果俱為陰性。此外在病理解剖後死亡患者腦組織中又分離出兩株病毒。

兩株病毒暫定名為 55₁、55₂, 經用氯仿抗原^[6]作交互補體結合試驗, 結果證明屬於流行性腦炎。本文即是此項研究工作的報告。

材 料 及 方 法

(一) 病毒分離: 方法與 1954 年^[1]的報告同, 本年自 6 月 12 日至 10 月 27 日共由我校病理解剖教研室送來腦組織標本 10 份, 其中 4 例病理解剖所見認為不是流行性腦炎, 故略去不計。餘者 6 例俱認為係流行性腦炎, 且在此 6 份標本中分出兩株病毒。暫定名為 55₁、55₂ 株。

(二) 鑑定: 如前言中提及, 此次鑑定工作是在 1954 年系統鑑定基礎上進行的, 故僅採用了交叉補體結合試驗。

因所用抗原及操作方法, 較以往國內所發表材料中有很大的差別, 故將其方法步驟較為詳細敘述如下:

1. 抗原——所用以製備抗原的病毒為流乙(中山株), 流乙(分₃株)與 55₁及 55₂。製備抗原的方法基本上按 Ильенко 氏^[6]方法並稍加改進, 其詳細操作如下:

(1) 取新鮮的感染及正常鼠腦分別以 2% 正常滅活豚鼠血清(pH 7.0 磷酸鹽緩衝鹽水配製)製成 10% 鼠腦懸液。置 4°C 冰箱中 18—24 小時, 並不時搖動, 以便增加由

組織中游離出的病毒量。

(2) 將腦組織懸液以每分鐘 3,000 轉旋速遠心沉澱 20 分鐘,吸取上清。

(3) 加入等量氣仿,置於 -15°C 冰箱中 2 小時,不時取出振盪,使氣仿與腦組織懸液混合成乳狀。

(4) 以每分鐘 3,000 轉速沉澱 20 分鐘,此時沉澱瓶內乳液明顯的分成 3 層,上層為抗原,呈混濁乳白色;中層為半透明膠樣物;下層為氣仿。用巴斯德吸管吸出上層抗原,以每次試驗所需抗原量分裝於滅菌的青黴素瓶內,用橡皮塞塞好,保存於 -15°C 冰箱中。

此抗原中不加任何防腐劑,亦不需滴定效價,使用前置室溫中融解,當時有絮狀沉澱發生,以每分鐘 3,000 轉旋速遠心沉澱 10 分鐘後取上清使用。

2. 免疫血清——以上述 4 種病毒用豚鼠顱腔內接種製成者,方法與文獻^[1] 同。

3. 補體結合試驗——基本上按 Шубладзе 氏等^[7] 所著書中的方法進行。補體結合試驗中各個成分都增加到 0.2 毫升,全量為 1.0 毫升。

結 果

用上述 4 種病毒分別製成免疫血清及抗原,作交互補體結合反應其結果見表 1:

表 1 交互補體結合試驗的結果

抗 原		免 疫 血 清				
		流乙中山株	流乙分 ₃ 株	55 ₁	55 ₂	陰 性 血 清
流乙中山株	抗 原	1:256	1:512	1:256	1:256	—
	正常鼠腦	1:16	—	—	—	—
流乙分 ₃ 株	抗 原	1:128	1:128	1:64	1:128	—
	正常鼠腦	—	—	—	—	—
55 ₁	抗 原	1:64	1:128	1:32	1:128	—
	正常鼠腦	—	—	—	1:4	—
55 ₂	抗 原	1:256	1:512	1:256	1:512	—
	正常鼠腦	—	—	—	1:4	—

從上述結果可以看出,1955 年分出的 2 株病毒,在交叉補體結合試驗中與流乙中山株及分₃株有極相近的抗原關係。又正常鼠腦抗原與中山株的免疫血清有 1:16 的滴度,但重複時却為陰性。

討 論

根據 1954 年多方面的證明,已經可以確認重慶市所流行的腦炎係屬於流行性乙型。再由本次交互補體結合試驗的結果來看,不僅可以證明 1955 年從屍體解剖腦組織中分出的兩株病毒亦係屬於流行性乙型腦炎病毒。且可以說明 55₁ 及 55₂ 兩株病毒與流乙中山株及 54 年所分離的分₃ 株病毒之抗原性是一致的。這種結果的出現,可以更进一步地證實了重慶市存在流行性乙型腦炎的事實。

這次鑑定所採用的補體結合試驗方法及抗原製法和國內以往發表的材料中所使用的方法有所不同,故有必要提出加以討論。

國內一般病毒學試驗室俱採用 Casals 氏^[8] 醋酐乙醚抗原和 Casals 氏^[9] 微量法補體結合試驗。根據我們的經驗深深地體會到醋酐乙醚抗原的敏感度並不太高,製造過程亦嫌複雜,且對一切條件的要求亦較嚴格。而微量法補體結合試驗,由於量小,準確性上似有一定的缺陷,因此在本次鑑定腦炎病毒工作中我們試用了蘇聯新創的氯仿抗原以及 1.0 毫升補體結合試驗法。

Ильенко 氏^[10] 曾用此法製出蘇聯春夏型腦炎及小白鼠腦脊髓炎的補體結合抗原,在試驗室內證明此抗原的滴度較 Casals 氏(酒精浸漬)抗原及苯浸抗原的滴度高,氏的意見認為用此法所製抗原不僅方法簡便,且無抗補體現象,特異性也很高,在冰凍狀態下保存 6—8 個月仍可使用。在應用方面我們也看到 Ильенко 氏^[11] 的報導,氏曾用此抗原作補體結合試驗來測定蘇聯春夏型及流行性乙型腦炎疫苗的效果,結果證明陽性結果與疫苗的保護力是相符合的,這就更進一步說明了氯仿抗原的實用價值。

由我們這次試驗結果中也可以明確看出氯仿抗原的優越性。特異性及敏感性方面都顯示出它的實際應用價值。在試驗中未採用 Casals 氏抗原及微量法作比較,這是一個缺陷,有待於今後進一步的研究。

結 論

1. 根據蘇聯氯仿抗原及 Шубладзе 氏法補體結合試驗結果,可以確定 55₁ 及 55₂ 兩株病毒係與乙型腦炎病毒同屬一型。
2. 在試驗中可以看出 54 年分₃ 株與 55₁ 55₂ 兩株病毒間抗原性上之一致,可以更進一步說明重慶市流行性腦炎係屬於流行性乙型。
3. 文中着重討論了蘇聯氯仿抗原的優越性。

參 考 文 獻

- [1] 朱錫華等：重慶市流行性乙型腦炎病毒之分離與鑑定，微生物學報 5 (3)：297—301, 1957.
- [2] 姬雲堂等：微生物學報, 5 (3)：302—304, 1957.
- [3] 牛場大藏等：細菌學雜誌 (日本), 504 號, 85 頁, 1941.
- [4] 佐藤壽郎等：細菌學雜誌 (日本), 550 號, 787, 1941.
- [5] 重慶市 1955 年流行性“乙型”腦炎防治與研究工作總結。
- [6] Ильенко В. И.: *Новости Медицины*, вып 38, 56—63, 1953.
- [7] Шубладзе А. К. Гайдаинович С. Я. Краткий курс практической вирусологии, 101—121, 1954.
- [8] Casals J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 70: 339—343, 1949.
- [9] Casals J.: *J. Immunol.*, 56: 337, 1947.
- [10] Ильенко В. И.: Нейровирусные инфекции, 270—284, 1954.
- [11] Ильенко В. И.: Нейровирусные инфекции, 291—294, 1954.

USE OF CHLOROFORM-EXTRACTED COMPLEMENT FIXATION ANTIGEN IN THE IDENTIFICATION OF EPIDEMIC B TYPE ENCEPHALITIS VIRUS

CHU HSI-HUA, CHI YUN-TANG and CHIEN KAO-AN

Department of Bacteriology, Army Medical College, Chungking

By the use of chloroform-extracted antigen and Шубладзе's method of complement fixation test, the 2 strains of virus isolated in 1955 were identified to be the epidemic B type encephalitis. Antigenically, these viruses were found to be closely related to the No. 3 encephalitis virus isolated in 1954. The advantages of the chloroform-extracted antigen were briefly discussed.