

# 流行性腦炎的研究

## II. 應用苯浸抗原檢查北京市人、畜血液中 補體結合抗體的結果

張乃初

(中國協和醫學院細菌免疫學系)

在 1951 年我們報告了腦炎病毒的分離和快速鑑定<sup>[1]</sup>。與此同時我們還應用幾種苯浸腦炎病毒補體結合抗原,檢查了 1950 年疑似腦炎患者的血清,結果不但證實了北京市所流行的腦炎主要為流行性乙型,並且還發現了個別例子對西方馬腦脊髓炎與聖路易型腦炎抗原,呈陽性反應。爲了證實此發現,我們即進一步檢查了非腦炎病人與正常人的血清;同時還調查了家畜中的隱性感染情況。本文的主要部分即是這個調查研究的分析報告。此外我們還觀察了流行性乙型腦炎補體結合抗體在患者血清中持續的時間以及與脊髓液中抗體的關係。

### 實驗材料和方法

(一) 補體結合抗原: 本實驗用以製備抗原的病毒,包括有流行性乙型腦炎(中山株)、聖路易型腦炎(Webster 株)、和西方馬腦脊髓炎(California 株)。抗原的製備係根據 Espana 與 Hammon 二氏的改良苯浸法<sup>[2]</sup>,於 1949 年由作者親自製成,經冰凍真空乾燥後密封保存。應用前先以生理鹽水稀釋,實際應用時爲 4 個抗原單位。

(二) 補體結合試驗方法: 係採用 Casals 氏的微量法<sup>[3]</sup>,即血清、抗原、綿羊血球及溶血素各 0.1 毫升,補體爲 0.2 毫升(兩個法定單位),總量爲 0.6 毫升。血清抗原補體混合液放在 4°C 冰箱過夜,然後放在 37°C 水箱中 20 分鐘;加溶血素系統後,再放入 37°C 水箱中 30 分鐘,記錄結果,滴度在 1:4 或以上者爲陽性,1:2 或以下均算作陰性。

### 實驗結果

(一) 應用幾種苯浸腦炎病毒抗原的補體結合反應: 在 1950 年腦炎流行的季節裏,我們從北京市的中國協和醫院、中央人民醫院以及兒童醫院等處的 89 例疑似腦炎

病人中, 收集了 209 份血清標本, 其中對流行性乙型腦炎抗原呈陽性補體結合反應的為 102 份 (約佔總數的 50%), 其滴度從 1:4 起至 1:1024, 絕大多數的滴度在 1:8 至 1:64 之間; 對聖路易型腦炎抗原呈陽性反應的有 46 份, 其滴度在 1:4 至 1:64; 對西方馬腦脊髓炎抗原呈陽性反應的有 4 份。以病例計, 對流行性乙型腦炎抗原呈陽性反應的有 51 例 (佔疑似腦炎病例總數的 62.9%), 對聖路易型腦炎抗原呈陽性反應的為 23 例, 對西方馬腦脊髓炎抗原為陽性的有 3 例 (表 1)。應該指出的是在 89 例疑似腦炎病人中, 我們收到兩份血清標本的只有 34 例。在這 34 例中對流行性乙型腦炎抗原呈陽

表 1 應用補體結合試驗檢查 3 種流行性腦炎在人類及動物中分佈狀況

組 別	總例數	補 體 結 合 試 驗 陽 性 結 果					
		流 乙 型		聖路易型		西方馬型	
		總數	較其他二型為高者	總數	較其他二型為高者	總數	較其他二型為高者
疑似腦炎患者	89	51	48	23	3	3	2
其他神經系患者	108	15	15	6	2	3	1
疑似斑疹傷寒患者	29	4	4	0	0	0	0
疑似腦炎患者家屬	63	24	24	0	0	0	0
“正常人”	94	2	2	0	0	0	0
家畜	544	76	74	9	2	3	3
總 計	927	172	167	38	7	9	6

性反應的為 25 例 (73.5%); 對聖路易型腦炎抗原呈陽性反應的為 15 例; 除 3 例外, 其餘 11 例的滴度, 均比流行性乙型腦炎的為低; 對西方馬腦脊髓炎抗原呈較高陽性反應的亦有兩例, 其滴度為 1:4 與 1:16。

爲了進一步瞭解人畜中 3 種腦炎的隱性感染情況, 在 1950—1951 年間, 我們還檢查了其他神經系患者 108 例, 疑似斑疹傷寒患者 29 例, 疑似腦炎患者的家屬 63 例, 正常人 94 例; 同時還自屠宰場及殺狗場收集了家畜血清標本 544 份。檢查結果總結於表 1。在 108 例其他神經系患者中, 有 15 例對流行性乙型腦炎抗原呈陽性反應, 對聖路易型腦炎抗原原有 6 例, 對西方馬腦脊髓炎抗原原有 3 例。在疑似斑疹傷寒患者、疑似腦炎患者的家屬以及正常人血清中, 只發現有流行性乙型腦炎補體結合抗體。在 544 份家畜血清中, 對流行性乙型腦炎抗原呈陽性反應的有 76 份, 對聖路易型腦炎抗原原有 9 份, 對西方馬腦脊髓炎抗原的有 3 份。特別應該指出的是在這 3 份對西方馬腦脊髓炎抗原原有反應的, 對流行性乙型腦炎與聖路易型腦炎抗原均無反應。關於 3 種補體結合抗體在家畜中的分佈情況, 詳見於表 2。對西方馬腦脊髓炎抗原原有陽性反應的為綿羊兩份, 牛 1 份, 其滴度為 1:8—1:16。除去 79 份抗補體血清與 57 份雞鴨血清不能結合。

表 2 流行性乙型、聖路易型與西方馬腦脊髓炎在家畜中分佈狀況

家畜種類	總 數	抗補體數	補 體 結 合 試 驗 陽 性 結 果		
			流 乙	聖路易型	西 方 馬
綿羊	90	8	8	2	2
山羊	28	0	1	0	0
豬	116	1	32	3	0
馬	7	0	3	0	0
狗	74	33	10	0	0
牛	92	14	11	2	1
驢	44	13	8	2	0
駱駝	36	10	3	0	0
鷄	32	0	0	0	0
鴨	25	0	0	0	0
總 計	544	79	76	9	3

補體不算外，在 408 份家畜血清中，對流乙腦炎抗原的陽性率為 18.6%。從表 2 的結果來看，以豬的陽性率最高 (27.8%)。在 7 份馬血清中有 3 份為陽性，但因數字太少，難作結語。

(二) 流行性乙型腦炎補體結合抗體在疑似腦炎患者血清中的消長情況：在 89 例疑似腦炎患者中，我們能多次檢查補體結合抗體的並觀察到 1 年以上的只有 1 例 (例 1)，少數病例只觀察到數個月。茲擇 5 例比較有代表性的，以表 3 表示他們補體結合抗體滴度的消長情況。

表 3 流行性乙型腦炎病人血清內補體結合抗體消長範例

病程	補 體 結 合 抗 體 的 滴 度														
病例	第 1 週	第 2 週	第 3 週	第 4 週	第 2 月	第 3 月	第 4 月	第 5 月	第 6 月	第 7 月	第 8 月	第 9 月	第 10 月	第 11 月	第 12 月
例 1	1:2		1:16		1:128	1:1024	1:16				1:16		0		1:32
例 2		1:2	1:32		1:128										
例 3	1:2	1:16	1:16	1:32	1:128	1:32									
例 4		0		1:16	1:512				1:16						
例 6	0				1:512									1:2	

從表 3 中我們可以看出補體結合抗體的滴度，一般在病程的第 2 個月時達到最高峯，從第 3 個月始逐漸下降，在第 2 年腦炎流行季節前差不多完全消失 (例 1、6)。而其中 1 例 (例 1) 經過流行季節後抗體又上升。

有一點值得在此提出的是我們在 1951 年腦炎流行季節裏，曾檢查過 17 例 1950 年患過疑似腦炎患者的血清，結果發現 9 例 (53%) 呈陽性補體結合反應。而這些人在

1951 年取血作檢查時,均無發燒症狀。其陽性反應率顯然要比表 1 中非腦炎患者各組為高。

(三) 疑似腦炎病人血清內與脊髓液內補體結合抗體量的關係: 從 89 例疑似腦炎患者中,同時檢查血清與脊髓液內補體結合抗體的有 24 例,除去 6 例兩者都為陰性不計外,其餘 18 例的結果總結於表 4。

從表 4 的結果中可以看出,除第 14 例兩者的滴度相同外,其餘 17 例血清內的抗體均比脊髓液的為高。它們兩者的比例(脊髓液:血清)從 1:1 起至 1:128。雖然病例不多,但已可初步看出補體結合抗體在脊髓液內出現較晚,同時消失也較快。

## 討 論

根據文獻上的記載<sup>[4-5]</sup>,國內夏秋季所流行的病毒性腦炎主要為流行性乙型腦炎,在東北森林區近又發現有森林腦炎<sup>[8]</sup>,在山東與北京地區的馬羣中亦曾有腦炎流行<sup>[9]</sup>,但其病毒迄未定型。為了調查國內有無其他型腦炎存在,我們在作血清補體結合試驗中應用了 3 種腦炎(流行性乙型腦炎、聖路易型腦炎和西方馬腦脊髓炎)抗原,結果發現了少數人畜的血清,對聖路易型腦炎與西方馬腦脊髓炎抗原有陽性反應。這一血清學的發現是否意味着北京地區有聖路易型腦炎和西方馬腦脊髓炎的存在,是值得考慮的。聖路易型腦炎與流行性乙型腦炎病毒間具有共同抗原性<sup>[10]</sup>,故在流行性乙型腦炎流行區發現有聖路易型腦炎抗體的存在,可以用交叉反應來解釋。黃、王二氏用流行性乙型腦炎病毒京衛研<sub>1</sub>,株經交互自動免疫及中和試驗<sup>[5]</sup>,未查出此株病毒與聖路易型腦炎病毒有共同抗原性。但用補體結合試驗檢查,這兩型病毒間的交叉反應是很明顯的<sup>[1, 10]</sup>;而本報告的結果,也證實了這一點。根據文獻上的報導<sup>[10]</sup>,流行性乙型腦炎與西方馬腦脊髓炎病毒無共同抗原性,因之有西方馬腦脊髓炎補體結合抗體的出現,很可能由於或近似西方馬腦脊髓炎病毒感染所致。對西方馬腦炎抗原反應陽性的 1 例病人,係 1 歲小兒,生於國內。主要症狀為突然高燒,伴有多次嘔吐,嗜睡,右顏面麻痺,腦脊液的細胞數為 230,中性多核形白血球為 80%,糖量正常;血液中的白血球為 13,900。臨床診斷為流行性腦炎。曾企圖取病兒恢復期的血作中和試驗,但未成功。又根據我們從國內某地兩例疑似腦炎死者的腦組織中,分離出兩株病毒;經鑑定後其抗原性也與西方馬腦脊髓炎病毒相近<sup>[11]</sup>。從以上結果中看來,我國有西方馬腦脊髓炎或相近似的腦炎病毒的存在,頗有可能。根據 Longshore 氏等的報導<sup>[12]</sup>,同時同地存在着數種腦炎的可能性是有的。氏等檢查了美國 California 州 2,233 例腦炎病人,發現 585 例為西方馬腦脊髓炎,235 例為聖路易型腦炎,此外有 1,413 例的病原體不能決定。所以應用多種腦炎抗原作血清學的檢查,在臨床診斷上與流行病學調查上都屬必要。

關於流行性乙型腦炎補體結合抗體在病人血清能持續多久的問題,迄未有肯定的

表 4 疑似流乙腦炎病人脊髓液和血清內補體結合抗體滴度的比較

病 人	患病日數	流 乙 腦 炎 補 體 結 合 試 驗 的 結 果		
		脊 髓 液	血 清	脊髓液/血清
1. 蘇 × ×	42	1:16	1:512	1:32
	54	1:8	1:1024	1:128
	82	1:4	1:16	1:4
	112	0	1:16	0:16
2. 常 × ×	20	1:8	1:64	1:8
	33	1:8	1:128	1:16
	40	1:16	1:128	1:8
	58	1:4	1:128	1:32
3. 魏 × ×	20	0	1:16	0:16
	28	1:4	1:128	1:32
4. 曹 × ×	8	0	0	0:0
	35	1:8	1:16	1:2
	51	1:8	1:512	1:64
	六個月	1:4	1:16	1:4
5. 王 × ×	18	1:16	1:32	1:2
6. 鐵 × ×	34	1:8	1:512	1:64
7. 陸 × ×	13	1:2	1:64	1:32
8. 郝 × ×	18	0	1:16	0:16
9. 常 × ×	17	0	1:16	0:16
10. 支 × ×	10	0	0	0:0
	15	0	1:8	0:8
11. 方 × ×	6	0	0	0:0
	15	0	1:4	0:4
12. 張 ×	30	0	1:16	0:16
13. 王 × ×	3	0	1:2	0:2
14. 蘇 × ×	5	1:8	1:8	1:1
15. 劉 × ×	13	0	1:4	0:4
16. 王 × ×	11	0	1:8	0:8
17. 張 × ×	38	0	1:8	0:8
18. 劉 × ×	19	0	1:4	0:4

結論。Hammon 氏認為可以持續 1 年以上<sup>[13]</sup>, Смородинцев 與 Дробышевская 二氏的觀察<sup>[14]</sup>, 則認為病後 1 年末就完全消失。我們的資料雖少, 但所得結果與 Смородинцев 及 Дробышевская 二氏的報導相符合。這一事實在調查流行性乙型腦炎每年的陽性感染率上, 頗有意義。因中和抗體持續時間較久<sup>[15]</sup>, 故其結果只能反映某地區過去幾年內的陽性感染率。流乙腦炎補體結合抗體在病程中第 2 個月達到最高峯, 從第 3 個月後逐漸下降。這一規律性如能獲得證實, 於臨床診斷上採取血清標本作試驗時頗為重要。那就是說第 2 份血清標本最好在病程第 2 個月時採取, 過早或過晚都可能得到假陰性的結果。

關於 1950 年曾患過疑似腦炎的病人, 在 1951 年腦炎流行季節時又出現較高的補體結合反應陽性率, 與日本學者德田正夫氏的報導, 大致相同<sup>[6]</sup>。但其陽性反應的原因是由 1950 年抗體的持續, 還是 1951 年腦炎流行季節裏再度接觸腦炎病毒所致, 尚難肯定。

抗體的產生雖受制於中樞神經系統反射機制的調節, 但其產生的部位一般均認為是網狀內皮系統。從我們檢查的結果中, 血清內的補體結合抗體不但比脊髓液內要高而且出現將早些, 這一點與 Дробышевская 氏的觀察相符合<sup>[7]</sup>。這個事實或可說明補體結合抗體產生的部位不在病毒侵犯的腦組織中, 而脊髓液內的抗體似從血液滲透進去的, 因脊髓液內抗體的多少與血清內抗體的多少有關。兩者抗體比率的懸殊, 還可能與血管腦障壁之滲透性之大小有關。

## 結 語

(一) 在 1950—1951 年間, 我們應用了流行性乙型、聖路易型及西方馬腦脊髓炎苯浸補體結合抗原, 檢查了 89 例疑似腦炎患者、108 例其他神經系病患者、29 例疑似斑疹傷寒患者、63 例疑似腦炎患者的家屬、94 例正常人和 544 頭家畜血清, 結果發現 172 例對流行性乙型腦炎抗原呈陽性補體結合反應, 38 例對聖路易型腦炎和 9 例對西方馬腦脊髓炎抗原呈有意義的反應。這個血清學檢查的事實說明了國內流行的腦炎主要為流行性乙型。關於類似西方馬腦脊髓炎存在的可能性, 作了簡短的討論。

(二) 流行性乙型腦炎的補體結合抗體, 在發病後第二個月達到最高峯, 從第三個月始逐漸下降, 至第一年末完全消失。

(三) 疑似腦炎患者脊髓液內的補體結合抗體一般均比血清內的為低。兩者的比率從 1:1 起至 1:128。

本實驗的技術操作, 係由劉鳳亭同志担任, 特此致謝。

## 參 考 文 獻

- [1] Chang, N. C. and Liu, F. T.: *Chinese Med. J.*, **69**: 355, 1951.
- [2] Espana, C. and Hammon, W. McD.: *J. Immunol.* **59**: 31, 1948.
- [3] Casals, J. and Olitsky, P. K.: *Diagnosis of Viral and Rickettsial infection*, p. 57, 1949.
- [4] Chao, P. H. and Chung, H. L.: *Chinese Med. J.*, **69**: 522, 1951.
- [5] 黃祐祥、王逸民: 中華醫學雜誌, **37**: 280, 1951.
- [6] 德田正夫: *Virus*, **2** (3): 209, 1952.
- [7] Дробышевская, А. И. Нейровирусные инфекции, 212—224, 1954.
- [8] 張鴻源: 私人通訊。
- [9] Okubo, K. *et al.*: *Jap. Med. J.*, **1**: 126, 1948.
- [10] Casals, J.: *J. Exp. Med.*, **79**: 341, 1944.
- [11] 陳鴻珊等: 摘要刊載於 1956 年夏微生物學會年會論文集。
- [12] Longshore, W. A. *et al.*: *Am. J. Hyg.*, **63**: 69, 1956.
- [13] Hammon, W. McD.: *Diagnostic Procedure for Virus and Rickettsial Diseases*, p. 209, 1948.
- [14] Смородинцев, А. А. и Дробышевская, А. И.: Нейровирусные инфекции 180—187, 1954.
- [15] Sabin, A. B.: *J. Am. Med. Assn.*, **133**: 281, 1947.

## STUDIES OF EPIDEMIC ENCEPHALITIS

## II. RESULTS OF COMPLEMENT FIXATION TEST WITH BENZENE-EXTRACTED ENCEPHALITIS ANTIGENS ON HUMAN BEINGS AND DOMESTIC ANIMALS IN PEKING

CHANG NAI-CH'U

*Department of Bacteriology and Immunology, Chinese Union Medical College, Peking*

The complement fixation tests with benzene-extracted antigens of epidemic B type encephalitis, St. Louis encephalitis and Western equine encephalomyelitis were performed upon the sera of 89 cases of suspected encephalitis, 137 cases of non-encephalitis patients, 157 "normal" persons and 544 domestic animals. Of these specimens, the positive reactions ( $\geq 1:4$ ) were 172 for epidemic B type encephalitis, 38 for St. Louis encephalitis and 9 for Western equine encephalomyelitis. The results indicate that the encephalitis in Peking is chiefly of epidemic B type. The possible existence of Western equine encephalomyelitis was briefly discussed.

Serial examinations of blood specimens, taken from 5 encephalitis patients revealed that the specific complement-fixing antibodies had not reached their maximum titers until the second month of the illness. A decrease in titer was commonly seen from the third month on and practically no antibody could be detected at the end of a year.

The complement fixation test, performed simultaneously for a comparative study of the serums and cerebral spinal fluids of encephalitis patients revealed that the specific antibodies were in general higher in the serums.