

黃牛的乙型腦炎病毒毒血症 和隱性感染的調查研究*

吳皎如 吳樹吟

(福建省流行病研究所)

根据文献报导,牛血清有很高的百分率的抗乙型腦炎病毒的抗体,而且病牛死后亦曾分离出乙型腦炎病毒^[1],所以我們很注意牛类在乙型腦炎动物宿主的传染环节中所起的作用,特別注意其毒血症是否存在。1955年我們曾在一個地区作牛血液分离乙型腦炎病毒的实验,結果分离两株病毒,但再注射小白鼠传代时,小白鼠不发病,无从鑑定是否乙型腦炎病毒。牛血清作血清学检查,結果补体結合反应阳性率很高,但中和反应无一阳性,因此我們认为該地区牛类可能初次感染乙型腦炎病毒。本年我們又进行牛血液分离病毒工作,目的在于明确牛类是否在流行性乙型腦炎流行前期有毒血症和牛类对乙型腦炎的隱性感染情况。我們选择一个乙型腦炎流行极严重地区进行此項工作。茲将研究方法和結果报告如下。

材料的采取

牛类来源共由三个地区收集:第一,由屠宰場选择牛类以供抽取血液;此項牛类来源最复杂。共选择牛24头,其来源計八处,每次的牛数亦不一,最多10头,最少一头。第二,由流行性乙型腦炎流行最严重地区,选择牛36头。第三,由一个流行性乙型腦炎流行很輕的地区,仅从8头小牛中抽取血液8头。每头牛皆抽取血液10毫升以上,分装两管,一管用器械法脱离纖維使不凝固,以备接种动物作分离病毒。另一管血使凝固分离血清,作补体結合反应和中和反应。血液抽取后俱保存冰块中,存于冰壶內立即由乡区送至实验室。由抽取血液至分离病毒工作相隔的时间約4—8小时,在血液內我們加入抗生素每毫升青霉素一千单位,鏈霉素500毫微克。

实验方法

1. 分离病毒方法 将牛类血液直接接种于小白鼠乳鼠脑內;血液注射量为0.01毫升至0.03毫升。如小白鼠发病,将鼠脑用无菌手术取出,用pH8.0冷牛肉湯研磨成10%悬液,离心10分钟(每分钟1,000轉)。吸出上清液再接种乳鼠脑內,剂量同上。有三分发病鼠脑每个用消毒剪刀剪成两半,一半亦用pH8.0冷的牛肉湯研磨成10%悬液,离心10分钟,吸出上清液再接种乳鼠脑內。其他一半脑組織,用4%粘液素牛肉湯研磨成10%悬液,离心后将上清液接种乳鼠脑內。我們采用4%粘液素和用普通肉湯研磨的鼠脑悬液作比較,以測定粘液素是否可以提高阳性率。

* 1958年4月25日收到。

2. 血清檢查法 中和試驗採用神經內接種法, 病毒稀釋, 血清不稀釋, 一切手續按照標準方法。補體結合方法, 採用蘇聯伊連科不同劑量補體法。抗原採用哥羅仿抽取法制成抗原, 抗原不稀釋。補體為 1.0 單位、1.5 單位、2 單位, 其他手續與普通方法相同。

實 驗 結 果

68 件牛血液標本接種小白鼠腦內後, 第一代發病有七批。第二代接種動物方法分為兩種: 第一種四批鼠腦以牛肉湯研磨後接種小白鼠腦內, 觀察 21 天全部陰性, 無發病。第二種, 三批鼠腦, 每批鼠腦俱分為兩半, 一半加粘液素牛肉湯, 研磨後接種小白鼠; 另一半加牛肉湯, 研磨接種小白鼠, 亦同樣觀察 21 天。後三批中, 有一批鼠腦用粘液素研磨接種小白鼠後, 經 5 天小白鼠發病, 症狀典型。以病毒學方法鑑定對乙型腦炎免疫血清中和指數為 21000, 補體反應為 1:128。証明了該病毒確定為乙型腦炎病毒。另一半腦組織用牛肉湯研磨接種小白鼠後和其他各批鼠腦一樣, 結果陰性。表 1 中的材料說明各批鼠腦接種第二代小白鼠後的結果。

血清學檢查結果: 補體結合反應陽性率為 15.87%。若以地區而論, 最高陽性率為低疫區, 最低為屠宰場, 詳細結果見表 2。中和反應陽性率為 30.88%, 屠宰場標本陽性率最高, 高疫區次之, 低疫區全部陰性, 詳細結果見表 3。

表 1 第一代發病各批鼠腦接種第二代小白鼠的結果

地 區	牛數	分 離 方 法		第一代發病數	第二代發病數	最 後 結 果
		血液材料	第一代發病的鼠腦			
高疫區	36	直接接種小白鼠腦內	用牛肉湯研磨後接種小白鼠腦內	1	無	(一)
低疫區	8	直接接種小白鼠腦內	每個發病鼠腦分為兩半: 一半用 4% 粘液素牛肉湯研磨, 一半用牛肉湯研磨	3	1	由粘液素牛肉湯研磨的腦組織分離出一株病毒
屠宰場	24	直接接種小白鼠腦內	用牛肉湯研磨後接種于小白鼠腦內	3	無	(一)

表 2 補體結合反應結果

地 區	血清件數	陽性件數	陽性百分率
總 數	63	10	15.87%
屠宰場	23	3	13.04%
高疫區	37	6	16.61%
低疫區	3	1	33.33%

表 3 中 和 反 應 結 果

地 區	血清件數	陽性件數	陽性百分率
總件數	68	18	30.88%
屠宰場	24	14	53.33%
高疫區	36	4	19.44%
低疫區	8	—	—

討 論 和 結 論

根據此次調查結果可以說明, 黃牛可以感染乙型腦炎病毒, 小牛血液中有病毒存在, 但可無症狀, 可能成為乙型腦炎流行期的病源。黃牛為福建農村中常見的家畜, 故在流行病學上亦有一定意義。牛類血清的補體結合反應和中和反應的結果, 與各地區的疫情情況尚吻合。

參 考 文 獻

Sabin, A. B., Ginder, D. R., Matomuto, M. J., J. Am. Hyg. 46: 341, 1947.

SEROLOGICAL STUDY AND VIRUS ISOLATION FOR B TYPE ENCEPHALITIS IN CATTLES

WU, C. J. AND WU, S. N.

Sixty-eight specimens of blood were collected from three sources: 36 from cattles in a highly endemic region, 8 from a low endemic region, while the rest from slaughtered cattles in local abattoirs. Among these, 7 produced signs of encephalitis on first inoculation into white mice. But on second passage, only one, the portion of which brain treated with mucin-broth only could reproduce the disease serially, while that portion of the same brain suspended in broth failed to produce any effect in mice.

The same specimens of blood were examined for antibodies towards B type encephalitis by means of the complement fixation and neutralization tests. Sera from slaughtered cattles showed high percentages of neutralization, namely, 53%, whereas only 13% gave positive complement fixation. Sera from cattles from highly endemic region showed 19% and 16% positives respectively; whereas those from calves in low endemic region only gave positive complement fixation test but negative neutralization. From these, it was concluded that inapparent infection exists among cattles in Fukien Province.