

# 流行性乙型腦炎病毒抗原的粗製試驗

汪美先 徐漢傑 甄桂芳

(第四軍醫大學細菌學系) (西北衛生試驗所)

西安市 1951—1952 年夏秋季流行腦炎期間，作者等曾採取恢復期患者血清，作補體結合試驗<sup>[1,2]</sup>，所用的流行性乙型腦炎病毒抗原，先後都是由中央衛生研究院微生物學系及中國協和醫學院細菌免疫學系製成發給。因為所得份量有限，對於腦炎的調查研究工作，沒有能廣泛展開，因此擬就地試驗自製抗原。但當時又因設備條件困難，既無高速度遠心沉澱器，又無低溫冷凍冰箱，故交互冰凍製作無法作到。為了展開工作，解決實際問題，曾於 1952 年分離病毒後<sup>[3]</sup>，試用醋酮與乙醚浸漬法，粗製正常鼠腦抗原及特異性抗原，經對照試驗鑑定結果，沒有抗補體現象，而具有高度的特異性，可以代替應用。

## 方 法

(一) 抗原製造：依照 Casals 氏醋酮與乙醚浸漬法<sup>[4,5]</sup>

1. 選擇健康 3—4 週小白鼠 20 隻，將腦炎病毒 10% 懸液各注射 0.03 毫升於小白鼠腦內。
2. 待發病垂死前，放血殺死，取腦稱重，置組織研磨器中，加入少量細砂及 20 倍腦重量的醋酮，研碎。
3. 遠心沉澱器每分鐘 1500 轉沉澱 1 分鐘，棄去上清液，再加 20 倍腦重量的醋酮，置於有軟木塞玻璃瓶內，隨時振盪，在室溫放置 20 分鐘。
4. 照上法遠心沉澱，棄去上清液，再加入 20 倍重量的醋酮與乙醚等量的混合液，隨時振盪，在室溫放置 20 分鐘。
5. 照上法遠心沉澱，棄去上清液，繼續照上法，用無水乙醚將沉澱物洗滌 2 次。

6. 於末次無水乙醚洗滌，經遠心沉澱棄去上清液後，用抽氣法使乙醚全部蒸發，而沉澱物成纖細粉末狀。

7. 取沉澱物加入 3 倍腦重量的無菌生理鹽水，放置冰箱一夜。

8. 用每分鐘 3,000 旋轉遠心沉澱器，沉澱 1 小時，加入適量防腐劑（硫柳汞 1:10,000），保存於冰箱中供用。

（二）補體結合試驗：採用 Casals 氏微量法<sup>[5]</sup>

## 結 果

（一）抗原的效價測定：——結果為 1:4。

表 1 “西北腦研<sub>1</sub>”病毒抗原的效價測定

抗原稀釋度	「乙型」腦炎特異性免疫血清稀釋度					
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
1:2	+++	+++	+++	+++	—	—
1:4	+++	+++	+++	+++	—	—
1:8	+++	++	±	—	—	—
1:16	—	—	—	—	—	—
1:32	—	—	—	—	—	—
1:64	—	—	—	—	—	—
免疫血清對照	—		正常血清對照		—	
抗原對照	—		溶血素對照		—	

（二）抗原的敏感性測定：

選用疑似流行性乙型腦炎恢復期患者陽性血清 3 例，陰性血清一例，及“西北腦研<sub>2</sub>”免疫血清，用“西北腦研<sub>1</sub>”粗製抗原及乙型腦炎特異抗原（中國協和醫學院所製），同時作補體結合試驗，結果如下表：

表2 粗製抗原與乙型腦炎敏感性抗原作補體結合試驗的比較

血清檢 驗 號 數	乙型腦炎特異性抗 原十血清(稀釋倍 數)				血清對 照		正常鼠腦抗原十 血清(稀釋倍數)				“西北腦研 <sub>1</sub> ”粗 製抗原十血清				血清對 照		正常鼠腦粗製抗 原十血清										
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:2	1:4	1:2	1:4	1:8	1:16	1:2	1:4	1:8	1:16	1:2	1:4	1:2	1:4	1:8	1:16							
127	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	±	—	—	—	—	—	—	—							
130	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—							
132	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—							
西北腦研 <sub>1</sub> 免疫血清	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—							
陰 性 血 清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
抗 原 對 照	補體 2.0 單位				—		—				—				—		—										
	補體 1.5 單位				—		—				—				—		—										
	補體 1.0 單位				—		—				—				—		—										
	補體 0.5 單位				+++		+++				++				+++		+++										
溶血系統對照							正常							溶血系統對照							正常						
羊血球對照							+++							羊血球對照							+++						

在西安市流行性腦炎病毒分離後，進行相互補體結合試驗鑑別時，也用粗製抗原（西北腦研<sub>1-5</sub>病毒）和特異性抗原（乙型腦炎病毒，中國協和醫學院所製）作對照試驗，同樣得到了一致良好的結果。

表3 粗製抗原與乙型腦炎特異性抗原作相互補體結合試驗的比較

免 疫 血 清	粗 製 抗 原					特 異 性 抗 原	
	西北腦研 <sub>1</sub>	西北腦研 <sub>2</sub>	西北腦研 <sub>3</sub>	西北腦研 <sub>4</sub>	西北腦研 <sub>5</sub>	乙型腦炎	正常鼠腦
西 北 腦 研 <sub>1</sub>	1:64	1:64	1:64	1:64	1:128	1:32	—
西 北 腦 研 <sub>2</sub>	1:32	1:64	1:64	1:32	1:32	1:64	—
西 北 腦 研 <sub>3</sub>	1:32	1:32	1:64	1:32	1:32	1:16	—
西 北 腦 研 <sub>4</sub>	1:32	1:32	1:64	1:32	1:32	1:32	—
西 北 腦 研 <sub>5</sub>	1:64	1:32	1:32	1:32	1:64	1:16	—
乙 型 腦 炎	1:32	1:64	1:64	1:8	1:32	1:16	—

## 討 論

我國發生流行性腦炎的地區，除少數大城市對病原有初步的證實外，大多數地區都尚未予以確定。病原的確定，為今後防治本病及對本病進行各項調查研究的基礎，補體結合試驗是確定腦炎病毒上一種比較簡易而有診斷價值的方法，凡具備華氏梅毒血清試驗條件的醫院，獲得腦炎病毒後就可以進行。用補體結合試驗診斷腦炎，根據宋氏等報告<sup>[6]</sup>具有高度的特異性，雖可能有非特異性反應，但極少見；採取疑似腦炎患者恢復期血清，祇要時間充分（血中產生了陽性補體結合反應所需的足量抗體），差不多所有血清都會是陽性反應。

腦炎抗原的製造，用醋酮與乙醚浸漬法<sup>[4]</sup>據宋氏等<sup>[6]</sup>兩年來的經驗證明，對乙型腦炎的診斷是合乎實際應用條件的。但目前腦炎抗原統一供應尚感困難，各地區設備上還不能都有高速度遠心沉澱器，根據上列試驗的初步結果，改用每分鐘 3,000 轉遠心沉澱器所製的抗原，具有高度敏感性，而沒有抗補體現象，在條件困難而必要自製抗原，本法是可以採用，解決實際問題的。

“西北腦研”病毒粗製抗原與乙型腦炎特異性抗原同時作補體結合試驗，所得結果加以比較（表 2，表 3），“西北腦研”粗製抗原的敏感度似較所試用的特異性抗原略大，這可能是新鮮製成的關係。Sabin 氏<sup>[7]</sup>將沖繩島分離的病毒，新鮮製成抗原與冷凍抗原作補體結合試驗的結果，也認為新鮮抗原的敏感度較大。

## 結 論

（一）依照 Casals 氏醋酮與乙醚浸漬法，將其中 10,000 轉高速度遠心沉澱的步驟，改用每分鐘 3,000 轉的普通沉澱代替，製作了腦炎抗原。

（二）比較粗製抗原與特異性抗原作補體結合試驗的結果，粗製抗原是具有高度敏感性，並且因為是新鮮製作，敏感度似略較高。

（三）在設備條件困難，而需要製造抗原解決實際問題時，粗製抗原是可以代替應用的。

本試驗中，曾由盧璠，于碧雲同志協助進行，特此致謝。

## 參 考 文 獻

- [1] 汪美先、徐漢傑、甄桂芳：中華醫學雜誌，1952，38：1073—1077。
- [2] 汪美先、徐漢傑、甄桂芳：西安市一九五二年流行性腦炎病人血清補體結合試驗。
- [3] 汪美先、徐漢傑、甄桂芳：西安市流行性腦炎病毒的分離與鑑別。
- [4] Casals, J., *Proc. Soc. Exp. Biol and Med.* 1949, 70: 339.
- [5] 中央衛生部防疫處：“流行性乙型腦炎的防治” 健康報社 1952。
- [6] 宋幹、周明光、關世雄、黃禎祥：中華醫學雜誌，1952，38：1033—1037。
- [7] Sabin, A. B., *J. A. M. A.* 1947, 133: 281.

## A MODIFIED ACETONE ETHER EXTRACTED ANTIGEN FOR THE SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF JAPANESE B ENCEPHALITIS

WANG MEI-HSIEN, HSU HAN-CIH

*Department of Bacteriology, Fourth Military Academy of Medicine*

CHANG KUEI-FANG

*Northwest Hygienic Institute*

In view of the necessity of preparing antigens for the diagnosis of encephalitis cases by the complement fixation method where high speed centrifuge is not available, attempt has been made to modify the acetone ether extraction method of Casals by the use of less rapid centrifugation of 3,000 RPM. The authors found that antigens of Japanese B encephalitis virus so prepared yielded comparable results as to sensitivity with those prepared by the conventional method and suggested that where occasion requires, this modified antigen may be used instead.