

# 家兔腦內接種綿羊血球 產生溶血素的研究

張鴻源 俞忠林 畢無邪

產生溶血素的方法一般是用羊血球經靜脈注射。但根據神經論的原理，抗原注射的不同部位，可能使動物產生不同的反應，因此我們試以羊血球，經腦內注射來觀察溶血素產生的結果，並以靜脈注射作為對比。結果確有所不同，茲將試驗結果，在本文中發表，以供同志們參考。

## 實驗材料及方法

1. 試驗動物：選擇體重約兩公斤之健康家兔，經檢查體溫，觀察3日無病變者，用為試驗。并于早晨空腹時經心臟穿刺採血3毫升分離血清，測定正常溶血素價。

2. 綿羊血球：于無菌操作下由綿羊頸靜脈採血，用玻璃球脫去纖維，遠心沉淀1500轉5分鐘，用0.85%鹽水洗滌3次。最後一次沉淀10分鐘除去上清液，加與原血液量相等之鹽水，制成血球抗原。于接種前放于37°C之溫水箱內15分鐘後取出注射。

### 3. 制备溶血素的方法：

(1) 家兔腦內接種法：每次接種量為0.25毫升，注射3次，按其不同間隔期分成下列三組：

第一組每隔1天腦內注射0.25毫升。

第二組每隔2天腦內注射0.25毫升。

第三組每隔4天腦內注射0.25毫升。

(2) 家兔耳靜脈每隔1天注射0.25毫升，注射3次為對照組。

以上各組均用家兔5只由第一次注射日算起，至第10日開始每隔5天即：10, 15, 20, 25日，各于早晨空腹時，經心臟採血一次。分離血清，分裝安瓶注明後保存在-25°C冰箱內，最後在同一條件下測定溶血素的效價。

4. 溶血素效價測定法：將血清按不同濃度稀釋之，各管分注0.1毫升，然後再加

1:50稀釋之补体 0.2 毫升,生理鹽水 0.2 毫升(含 0.01% 硫酸鎂),1% 綿羊血球 0.1 毫升,每管全量为 0.6 毫升。置 37°C 溫水箱中 30 分鐘后判定其溶血素效价。

## 实 驗 結 果

在注射前,全部 20 只家兔的溶血素效价不超过 1:32,平均約 1:6,只有第 3 号 1:16,第 4 及第 15 号 1:32。注射后的結果总结于表 1。

表 1 家兔血清溶血素滴度(稀釋度)的总结

接种途径	免疫方法	编号	試血日 体重(克)	接种前	第一次接种 后10日	接种后15日	接种后20日	接种后25日
腦 内 接 种 法	隔 1 日 1 次	1	1,850	8	8,000	4,000	1,000	1,000
		2	1,800	2	8,000	8,000	2,000	2,000
		3	2,000	16	8,000	6,000	4,000	2,000
		4	1,850	32	6,000	4,000	2,000	1,000
		5	2,150	8	6,000	4,000	1,000	1,000
	隔 2 日 1 次	6	1,950	2	8,000	4,000	1,000	1,000
		7	1,500	4	6,000	3,000	500	500
		8	1,650	2	12,000	4,000	1,000	1,000
		9	1,800	2	10,000	4,000	2,000	2,000
		10	2,300	2	5,000	2,000	1,000	1,000
	隔 4 日 1 次	11	1,700	2	16,000	8,000	1,000	500
		12	1,500	8	10,000	6,000	3,000	1,000
		13	2,250	4	24,000	8,000	1,000	1,000
		14	2,000	2	24,000	8,000	1,000	1,000
		15	2,200	32	16,000	8,000	1,000	1,000
靜 脈 接 种 法	隔 1 日 1 次	16	2,200	8	3,200	1,600	1,000	1,000
		17	2,000	2	800	800	400	400
		18	1,500	8	800	800	400	400
		19	2,300	2	1,600	1,600	800	400
		20	1,700	2	3,200	1,600	1,600	800

## 討 論

Сперанский 氏很早以前已經指出抗原注射的部位和抗体產生有密切的關係。例如 Зельманович 及 Плещитый 二氏報告<sup>[1]</sup>在家兔經各種途徑注射破傷風類毒素之後，經肌肉內注射動物的抗毒素量比皮下注射高一倍，而比靜脈注射高 50 倍。田浩泉試用蜘蛛膜下注射血清抗原，結果也比靜脈注射較高<sup>[2]</sup>。最近 Кладни́цкая 氏<sup>[3]</sup>比較了皮下、靜脈及動脈注射抗原的動物，發現溶血素產生最多的是經動脈接種的。我們在本實驗中，又得到腦內注射抗原的動物，產生較高的溶血素，這樣証明了 Желченков 氏的論調——就是抗原直接刺激腦細胞，也可以影響網狀內皮系來產生抗体。至於這樣注射後，是否通過反射作用或其他作用，尚不能肯定。在這方面 Адо 氏<sup>[4]</sup>及 Острый 氏<sup>[5]</sup>各執一詞，尚沒有統一的想法。但是過去所有實驗結果，無疑間地証明，注射抗原的部位、間隔時間和所產生抗体的量有密切關係。這樣不論在理論上抑或在实际應用上，再進一步的研究，一定會提供更多的有用材料。

## 結 論

1. 以 0.25 毫升之綿羊血球為抗原接種于家兔腦內後溶血素效價高于耳靜脈組四倍以上。

2. 腦內接種法溶血素效價之產生與抗原接種間隔有關，間隔 4 日注射 1 次比間隔 1 日或 2 日的均高 2—3 倍。各組家兔經免疫後其溶血素的效價均以第 10 日為最高。

## 參 考 文 獻

- [1] Зельманович, Р. Я. и Плещитый Д. Ф. 微生物學譯報 1(2):146.
- [2] 田浩泉: 中華醫學雜誌, 外文版 72:336, 1954.
- [3] Кладни́цкая, Э. Я. Ж. М. Э. И. 1955(2):73.
- [4] Адо, А. Д. Ж. М. Э. И. 1955(2):82.
- [5] Острый О. Я. Ж. М. Э. И. 1955(6):105.

## PRODUCTION OF HEMOLYSIN IN RABBITS BY THE INTRACEREBRAL ROUTE

CHANG HUNG-YUAN, YU CHUNG-LING, AND PI WU-SHIEH

In view of the previous reports on the enhancement of antibody production in animals given intracerebral injections of various types of antigens, attempts have been made by present authors to produce in rabbits anti-sheep hemolysin by comparing intracerebral inoculations of the sheep cells at various intervals with that by intravenous inoculations. The amount of antigen given was 0.25 ml, the total number of injections was 3, and the intervals varied from 1 to 4 days. Blood samples were taken 10 days after the first injection, and then every 5 days. The usual method of 100% hemolytic unit was used to measure the antibody response of different groups of animals (5 in each group). It was found that all the animals injected with the antigen by the intracerebral route showed a greater response than those inoculated by the intravenous route, and the interval of 4 days between two intracerebral injections was found to be the optimum. The titre in animals of this group varied from 3-8 times the highest titre of the intravenous group. The significance of these findings is briefly discussed in this paper.