

流行性乙型腦炎鼠腦疫苗人体 免疫效力的研究*

汪美先 甄桂芳 孙紀彰

苏联学者 Смородинцев 氏等首先报告(1940)^[1]制造春夏型腦炎鼠腦蟻醛疫苗成功后,曾应用于人体免疫,証明有良好效果。Смородинцев 氏等并报告(1941)^[2-3]曾以同样方法制成流行性乙型腦炎鼠腦疫苗,在西伯利亚流行地区大量預防接种的結果,接种該疫苗的10,825人中,只發現两个病例,而沒有接种的8,030人中發生59个病例。Sabin 氏报告(1943)^[4]接种流行性乙型腦炎鼠腦蟻醛疫苗可以刺激人体产生中和抗体,并使小白鼠获得防禦末梢感染的能力。Sabin 氏(1947)并曾以不同效价的流行性乙型腦炎疫苗,不同剂量和次数进行人体免疫后抗体产生的研究^[5]。1945—1947年流行性乙型腦炎疫苗才大量应用于人体的預防接种^[6]。

我国于1950年开始流行性乙型腦炎鼠腦疫苗的制造与研究^[7-9],并大量进行人群的預防接种,已获得一些成績与經驗^[9]。但流行性乙型腦炎鼠腦疫苗的效力到底如何?这种免疫力能保持多长时间?还不明了^[10]。因此,我們于1954年7月份开始进行本項研究工作,茲將注射疫苗前与注射疫苗后15日、1个月、3个月、6个月血清中产生中和抗体的消長情况报告如后,以供預防对策上的参考。

材料和方法

(一) 疫苗的預防注射

1. 疫苗:应用中央生物制品研究所制造的鼠腦疫苗,批号为548-3和548-2两种,失效日期1954年11月22日;第二次注射少部份应用上海生物制品所出品的鼠腦疫苗,批号为19-1,失效日期1954年11月24日。

2. 注射对象:共注射967人,其中除34人年龄在12岁以下外,其余933人均为18—30岁的成年人。全部注射对象中,去年注射过的263人,未注射过的704人。

* 1956年5月11日收到。

3. 疫苗的保存：疫苗从領發运输、保藏以及注射过程中都用冰壺保存 (2—10°C)，就是在疫苗抽出后注射期間，也尽量縮短時間，大部都在 5 分鐘內注射完畢。

4. 注射方法和剂量：一律进行皮下注射，剂量及間隔日期按表 1 規定(中央統一規定)执行。

表 1 流行性乙型腦炎鼠腦疫苗注射的剂量与次数

年 龄	1—2	3—5	6—12	13—16	16以上
第 1 次 (毫升)	0.5	1.0	1.0	1.5	2.0
第 2 次 (毫升)	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0
間 隔 (天数)	7—10				
过去已注射者(毫升)	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0

5. 反应檢查：根据疫苗注射反应項目，在注射后 48 小时进行檢查登記，結果如表 2。

表 2 流行性乙型腦炎鼠腦疫苗注射后反应的統計

注射次数	注射 人数	檢 查 人数	反 应 种 类 及 数 字							無反应	
			有 反 应							总 計	总 計
			局 部 紅 腫	淋 巴 腺 腫	全 身 不 适	腹 瀉	濕 疹	其 他	总 計		
第 1 次*	967	967	347	33	74	1	1	2	460	507	
第 2 次	704	704	195	38	75	—	—	—	308	396	

* 第一次注射人数中包括去年注射过的 263 人。

(二) 免疫前和免疫后的采血

1. 采血对象的选择：上述注射对象中按出生地区及曾經居住的地区，选择了 100 人，其中 30 人为去年曾經注射过流行性乙型腦炎疫苗，70 人为从未注射过流行性乙型腦炎疫苗。全部采血对象都是男性，年龄在 18—30 岁之間。

2. 采血的时间及实际采得血液的份数如表 3。

3. 采血方法及注意事項：均按照規定手續进行采血分离血清，冰冻保存于低温冰箱中，供作試驗。

(三) 效力測驗：根据 Olitsky、Casals 二氏^[11-12]的方法进行中和試驗。結果依 Reed-Muench 氏法^[13]分別計算，血清的中和指数在 50 以下者視為陰性，50 以上者視為陽性。

所用流行性乙型腦炎病毒是在本室通过鼠腦多代保存的京衛研₁，其 50% 致死量在

表 3 采血日期及实际采得血液的份数

采血次数	采血日期	間隔日期	采血数	备 注
第 1 次	1954, 6, 24	免疫前 2 日	30 70	去年注射过疫苗 从未注射过疫苗
第 2 次	1954, 7, 11 1954, 7, 20	免疫后 15 日 免疫后 14 日	29 68	去年注射过疫苗 从未注射过疫苗
第 3 次	1954, 8, 5	免疫后 40 日 免疫后 30 日	20 65	去年注射过疫苗 从未注射过疫苗
第 4 次	1954, 10, 5	免疫后 3 个月	19 62	去年注射过疫苗 从未注射过疫苗
第 5 次	1955, 1, 5	免疫后 6 个月	17 60	去年注射过疫苗 从未注射过疫苗

10^{-8} — 10^{-9} 之間。所用小白鼠均是本校动物室自行繁殖, 体重在 6—8 克左右。

結 果

1954 年 7 月—1955 年 4 月, 共檢查了免疫前血清 81 例; 免疫后血清: 第 15 日的 84 例, 一个月的 84 例, 三个月的 81 例, 六个月的 78 例, 共計血清 414 份。

茲將結果列表 4, 5, 6 及圖 1。

表 4 过去从未注射过流行性乙型腦炎疫苗, 也没有該腦炎的病史
67 份血清按生長地及曾經居住地区和時間的統計

中和指数	流行区生長者		非 流 行 区 生 長 者				总 計	百 分 率
	土生土長	曾在非流行区居住	土生土長	曾在流行区居住一年以内者	曾在流行区居住 1—2 年者	曾在流行区居住 2 年以上者		
<50	6	9	4	5	3	0	27	40.3
50—5000	5	6	0	0	0	0	11	16.4
>5000	11	14	0	0	3	1	29	43.3
总 計	22	29	4	5	6	1	67	—

由表 4 可看出, 在流行区生長的 22 例中, 陽性(中和指数 50—5000 及 >5000)占 16 例(72.2%), 在流行区生長, 但曾在非流行区居住过的 29 例中, 陽性占 20 例(68.96%); 而在非流行区生長及仅在流行区居住一年以內的 9 例, 全部陰性, 同上居民曾在流行区居住 1—2 年的 6 例中, 有 3 例为陽性, 曾在流行区居住 2 年以上的 1 例屬陽性。

表5 过去从来没有注射过疫苗者人工免疫前后中和指数的比较

免疫前中和指数	人数	免疫后各期的中和指数				
		中和指数	第 15 天	1 月	3 月	6 月
<50	27	<50	0	0	1	1
		50—5000	15	0	17	25
		>5000	12	27	7	0
50—5000	11	<50	0	0	1	1
		50—5000	5	0	6	7
		>5000	6	11	4	1
>5000	29	<50	0	0	0	0
		50—5000	0	0	10	16
		>5000	29	27	16	9
总 计	67	<50	0	0	2	2
		50—5000	20	0	83	48
		>5000	47	65	27	10

表6 1953年曾经注射过流行性乙型脑炎疫苗,而1954年追加接种免疫前后中和指数的比较

免疫前中和指数	人数	免疫后各期的中和指数				
		中和指数	第 15 天	1 月	3 月	6 月
<50	6	<50	0	0	0	1
		50—5000	1	1	2	4
		>5000	5	5	4	1
50—5000	10	<50	0	0	0	1
		50—5000	4	5	7	4
		>5000	3	4	2	2
>5000	4	<50	0	0	0	0
		50—5000	1	1	1	3
		>5000	3	3	3	1
总 计	20	<50	0	0	0	2
		50—5000	6	7	10	11
		>5000	11	12	9	4

由表5中可以看出,过去沒有注射过流行性乙型腦炎疫苗67例中,在免疫前有27例(40.3%)中和指数小于50,有11例(16.4%)在50—5000之間,有29例(43.3%)大于5000。經流行性乙型腦炎疫苗兩次注射法(第1次2.0毫升,第2次3.0毫升,間隔時間7—10天)。注射完畢后第15日采血作中和試驗,全部陰性27例都轉变为陽性,67例中和指数在50—5000之間計20例(29.8%),大于5000的有47例(70.2%)。注射后第1个月不仅全部陰性轉变为强陽性,而且原来是陽性的(50—5000的11例)也全部轉变为强陽性(大于5000)。注射后第3个月的62例中有2例(3.2%)由强陽性轉为陰性,有33例(53.2%)由强陽性轉为陽性。注射后第6个月,陰性例数(2例,3.3%)沒有改变,而强陽性显著减少(9例,14.7%),而陽性占極大多数(50例,82%)。(圖1)

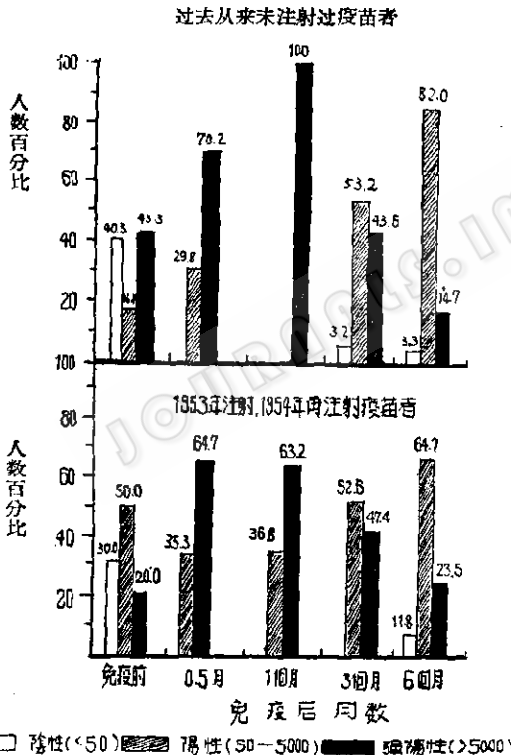


圖1 流行性乙型腦炎鼠腦疫苗人體免疫效力的比較。

由表6也可看出,1953年注射过流行性乙型腦炎疫苗,1954年再接种1次3.0毫升。免疫前20例中,有6例(30%)的中和指数小于50;10例(50%)在50—5000之間;4例(20%)小于5000。免疫后第15日的17例中,全部陰性都轉为陽性,有6例(35.3%)的中和指数在50—5000之間;有11例(64.7%)大于5000。免疫后1个月的结果与第15日基本相同,乃19例中有12例(63.2%)的中和数在50—5000之間;有9例(47.4%)为大于5000。免疫后第3个月的19例中,有10例(52.6%)的中和指数在50—5000之間;有9例(47.4%)为大于5000。免疫后第6个月的17例中,有2例(11.8%)轉为陰性(小于50);有11例(64.7%)

仍为陽性(50—5000);有4例(23.5%)保持强陽性(大于5000)。如圖1。

由圖1也可以看出,免疫前采取血清作中和試驗的结果,过去曾經注射过流行性乙型腦炎的陽性反应(70%)較从未注射过的(59.7%)要稍高,在免疫后第15日及第一个月的结果相同。都全部轉变为陽性(100%);免疫后第3个月从未注射过的63例中有

2例(3.2%)轉变为陰性。仍有60例(96.8%)保持陽性，而曾經注射过的19例仍保持100%的陽性；免疫后第6个月从未注射过的結果与第3个相同，沒有改变，仍有2例(3.3%)陰性，59例(96.7%)陽性；但曾注射过的17例中有2例(11.8%)轉变为陰性；有15例(88.2%)仍保持陽性。

討 論

过去从未注射过流行性乙型腦炎疫苗、也沒有腦炎病史的67例健康人，其免疫前的血清进行中和試驗的結果，按其生長地及曾經居住的地区与時間統計是与我等于1953—1954年进行的西北地区流行性乙型腦炎隐性感染調查的結果相一致^[14]。因此流行性乙型腦炎疫苗注射的对象主要应为10岁以下的兒童，但非流行地区成年居民，旅行或迁居到流行区域，也应及时地进行流行性乙型腦炎疫苗的預防注射。

过去从未注射过流行性乙型腦炎疫苗的67例，經兩次注射免疫后，在第15日全部的血清中都出現較高的流行性乙型腦炎中和抗体，其中原有40.3%陰性的都轉变为陽性。这种特异性中和抗体在免疫后1个月繼續有增高，在免疫后第3个月及第6个月开始略有降低。

1953年曾注射过流行性乙型腦炎疫苗的20例，經1次疫苗注射法追加免疫后，在第15日全部的血清中也都出現較高的流行性乙型腦炎中和抗体，其中原有30%陰性的都轉变为陽性。这种特异性中和抗体在免疫后第1—3个月几仍保持原来的效价，免疫后第6个月中和抗体效价开始降低，有2例(11.8%)轉变为陰性，有88.2%仍保持較高的效价。

由上述試驗結果可以看出，不論过去注射过流行性乙型腦炎疫苗与否，不論是初次免疫(兩次注射法)或追加免疫(1次注射法)，在免疫后第15日血清中即均出現高价的中和抗体，在第1—3个月达到最高峰，其效价能保持6个月。因此說明，流行性乙型腦炎鼠腦疫苗在注射后是有显著产生中和抗体效力的，这种效力可保持至第6个月，而在每年流行季节是应进行追加免疫。

在我等實驗中，过去从未注射过腦炎疫苗，免疫前血清中和試驗均为陰性的27例，免疫后第15日至1个月全部轉变为陽性，在第3—6个月中才有2例恢复为陰性，过去注射过疫苗的6例陰性，再度免疫后第15日至3个月也全部轉变为陽性，至第6个月有2例恢复为陰性，就中和抗体产生的效价及轉为陽性的人数来看，都較过去Sabin氏^[5]和王用楫氏等^[6]報告的結果要高，这可能是与疫苗的質量、注射的次数、剂量、間隔日期及被試驗者的机体狀況有关。由此可看出我国目前所制造的流行性乙型腦炎疫苗的質

量与統一規定的注射方法是合适的。

日本学者 Hayashi 及 Ozawa 氏报告^[13]，在流行地区由 5 月起至流行季节末尾，由于隐性感染的緣故，抗体有自然增高的现象；因此，如需测定一种疫苗真正效力的大小，疫苗試驗就不能在流行季节举行。本实验的疫苗是在流行的季节（7 月）注射，因此应将抗体有自然增高的现象估计在内，但为了結合流行性乙型腦炎疫苗实际应用情况，这样进行实验，仍可看出其一定的效力，而且也符合于实际的自然情况。

最后必须指出测定流行性乙型腦炎疫苗，注射前后血清中中和抗体的消長情况，来观察其人体免疫效力，这只是一种相对的方法，我們不能忘記人体免疫效力的構成与机体的整体性，以及外界环境的情况是有密切关系的。此外虽然根据上述实验，証明我国目前制造的流行性乙型腦炎鼠腦疫苗，用兩次皮下注射的方法，能够刺激机体产生高效价的中和抗体。但关于該疫苗的制造方法的改进，例如大量生产、降低成本、簡化手續，無毒活病毒疫苗等，以及皮內注射法的免疫力等，都急待进一步的加以研究。

总 結

(一) 过去从未注射过流行性乙型腦炎疫苗，也沒有腦炎病史的 67 名健康成年居民的血清，作中和試驗的結果，流行区土生土長 22 名中有 16 名(72.2%)为陽性；而非流行区土生土長及仅在流行区居住 1 年以內的 9 名，全部为陰性；非流行区土生土長，在流行区居住 1—2 年或以上的 7 例中，有 4 例为陽性。

(二) 过去从未注射过流行性乙型腦炎疫苗，也沒有腦炎病史的 67 例，經 2 次皮下注射法(2.0, 3.0 毫升，間隔 7—10 天)免疫后，在第 15 日全部的血清中都出現較高的流行性乙型腦炎中和抗体。

(三) 一年前曾注射过流行性乙型腦炎疫苗的 20 例，追加注射 1 次(3.0 毫升)，在免疫后第 15 日全部血清中都出現較高的流行性乙型腦炎中和抗体。

(四) 不論过去注射过流行性乙型腦炎疫苗与否，不論是初次免疫(2 次)或追加免疫(1 次注射法)。在注射后第 15 日，血清中即都出現高价的特异性中和抗体，在第 1—3 个月血清中，这种中和抗体达最高峯，其效价可以保持 6 个月。

(五) 对本次实验的結果作了分析討論，并对于今后流行性乙型腦炎疫苗的制造研究提供了意見。

志謝：

(一) 由于有关單位的大力支持，順利地进行疫苗注射与免疫前后的 5 次采血工作，本研究方能完成，

(二) 参加本研究工作的技术員有于碧云、張素英、蕭国光及程傳淑諸同志，

参 考 文 献

- [1] Silber, L. A. and Soloviev, V.D.: *Amer. Rev. of Soviet Med.*, 1945-1946, Vol. 3, Supplement 1-74.
- [2] Smorodintseff, A.: *Zharn. Microbiol. Epidemiol. i Immunobiol.*, 1941, 2: 3.
- [3] Smorodintseff, A.: *Arch. f. d. Ges. Virusforsch.*, 1939-40, 1: 549. (2,3, 引自 Warren, J., *Amer. J. of Tropical Med.* 1946, Vol. 26, No. 4:417)
- [4] Sabin, A. B.: *J. A. M. A.*, 1943, 122: 477.
- [5] Sabin, A. B.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 1947, 65: 123-135.
- [6] Sabin, A. B.: *J. A. M. A.*, 1947, 133: 281.
- [7] 王逸民、黄禎祥: 中华医学杂志, 1952, 38: 1062.
- [8] 王用楫等: 微生物学报, 1953, 1: 97.
- [9] 黄禎祥: 流行性乙型脑炎防治资料摘要彙編, 1953, 79.
- [10] 湯飞凡: 中华新医学报, 1950, 1: 5.
- [11] Olitsky, K. and Casals, J.: *J. A. M. A.*, 1947, 134: 1224.
- [12] Casals, J. and Olitsky, K.: *Diag. Vir. Ricket. Inf.* 1st ed., 1940, 57.
- [13] Reed, L. J. and Muench, H., *Amer. J. Hyg.*, 1938, 27: 493.
- [14] 西安脑炎研究组总结报告, 1953, 1954.
- [15] Hayashi, H. and Ozawa, H.: *Abstracts of World Med.*, 1951, 9: 542.

THE EFFECTIVENESS OF EPIDEMIC ENCEPHALITIS VACCINE IN HUMAN TRIALS

WANG MEI-HSIEN, CHENG KUEI-FANG AND SUN CHI-CHANG

Although encephalitis vaccine of various types has been commonly employed in the prophylaxis against the disease since Smorodinzev first successfully employ-ed it against the Russian Spring-Summer virus infection, laboratory evidence of the effectiveness of the vaccine in a large number of inoculated human beings has not been made on the prevention of the disease due to Japanese B type virus. The authors undertook such a study among 100 of 967 vaccinated individuals, among whom 704 were primary vaccinations and all except 34 were young adults, aging between 18-30.

First of all, the reactions of the inoculated were noted. It was found that after the first injection given subcutaneously, 347 of 967 individuals showed local reactions, while 74 showed general reactions. After the second injection, only 195 of 704 showed local reaction, but again 75 showed general reactions. However, none of the latter had been particularly severe in nature.

Serological studies were made by means of the neutralization test on the sera of 100 volunteers, who were bled before the first inoculation and at various times after the completion of the course of vaccination, most of them repeatedly up to 6 months later. These volunteers were divided as to their nativity and whether they were brought up in endemic region. Further, they were divided as to whether they received primary vaccination or only booster dose after previous immunizations. It was found among those not previously inoculated, 27 of 67 showed an absence of neutralizing antibody whereas 29 already showed high titre (most of these were born and brought up in endemic areas). After the course of immunization, all showed average to high neutralization titre which persisted as rule to as late as 6 months. Among those receiving the booster dose, all showed positive neutralization antibody 15 days after vaccination, and the majority also retained these at least up to six months. The significance of these and other findings were discussed in the paper.