

# 廣東地區流行性乙型腦炎 病原的初步探討

(根據 1952—1954 年的工作材料)

嚴詠楷 羅瑞仙 白施恩

(中山醫學院微生物學教研組, 廣州市流行性乙型腦炎研究組)

類似流行性乙型腦炎病例, 在我國古代醫學文獻上早有記載, 稱之為暑瘟, 或名伏暑、暑風、暑厥, 在漢代及其以前的內經、難經、以及張仲景的“傷寒論”中均有所提及<sup>[1]</sup>。20 年來, 國內文獻已有不少報導。Kuttner、諸、黃及 Sabin 等氏<sup>[2-5]</sup> 曾應用血清學的方法加以證實, 1940 年顏氏<sup>[6]</sup>, 1949—1950 年黃、王等氏分別自疑似病死者腦組織中分出本病病毒。解放後由於黨及人民政府對於此種烈性傳染病的重視, 規定為必須報告的法定傳染病之一, 因而引起各地衛生工作人員的極大關注。許多地方都有臨床及病原證實工作的報告, 並經證實流行性乙型腦炎在我國的流行地區相當廣泛。瀋陽、西安、北京、天津、長沙、成都<sup>[7-12]</sup> 等地均有報告。在廣東方面, 早在 1920 年於廣州曾有 1 例報告<sup>[13]</sup> 並歷年以來, 臨床上市均有類似腦炎病例的發現, 1950 年朱氏<sup>[14]</sup> 曾報告臨床病例, 發現日期係在 6—10 月之間, 14 例中有 3 例死亡, 但有關臨床血清診斷及病毒分離方面, 由於當時設備條件所限, 未得加以證實。然而病原的確定, 實為本地區今後防治本病以及對本病進行各項調查研究的基礎。目前診斷流行性乙型腦炎有幾個方法: (1) 採取疑似患者早期及晚期血清進行補體結合試驗或中和試驗。(2) 自疑似病死者腦組織中分離病毒, 從而進行病毒學的鑑定工作。茲將 1952—1954 年三年來對廣東地區流行性腦炎病的檢驗材料 (包括病毒鑑定) 加以分析, 提供於後, 作為本地區流行性腦炎病原的初步商榷。

## 一. 1952—1954 年 3 年間廣東省廣州市流行性乙型腦炎 疑似患者的血清補體結合試驗

### 材料及方法

(一) 血清標本來源, 血清標本係自本省所屬 40 縣、市中各地醫療機構送來。於患者空腹時用無菌技術採取, 分出血清, (間或全血) 備冰藏送至我組。全血送檢者將其血清分出後即與其他血清標本放置  $-18^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存。每病例要求採取 2 次血清標本,

以作早期及晚期的血清標本結果的比較。但多數患者標本係自遠處送來，有時僅得 1 次早期血清，故常不能達到上述要求。然亦有個別病例，於整個病程中連續送檢血清標本達 10 次以上者。

(二) 抗原：係按 Casals 氏方法<sup>[15]</sup>採用 1952 年自中國醫學科學院分得的“京衛研<sub>1</sub>”病毒株製備而成。另用正常鼠腦用同樣方法製備正常抗原，以供對照之用。

每批病毒抗原製出後，均以高度豚鼠免疫血清測定抗原效價<sup>[15]</sup>。在實際上使用之抗原稀釋度一般為 1:4 或 1:8。

(三) 補體：每次試驗均採取豚鼠新鮮血清，以 10% 鷄蛋白鹽水將之稀釋，在滴定補體時，均分別加入擬用的病毒抗原及正常鼠腦抗原，試驗用的補體量為兩個確實單位。

(四) 溶血系統：綿羊血球係按常法將之經生理鹽水沖洗 3 次最後配成 1% 血球懸液，溶血素係按陳氏<sup>[16]</sup>敘述方法製成，試驗時用兩個溶血單位（每 0.1 毫升的含量），血球與溶血素均於補體滴定前一次配好，分別放置，臨用前方將二者取出等量配合，置於 37°C 水浴中 10 分鐘方行應用。

試驗方法：按 Casals 氏微量補體結合試驗法<sup>[17]</sup>進行，試驗中每管液體總量為 0.6 毫升，每例血清除與標準流行性乙型腦炎病毒抗原作用外，另同樣的一排加以正常鼠腦抗原作為對照，每次試驗中，皆包括有陽性及陰性血清對照、抗原抗補體對照、血清抗補體對照、補體及溶血系統對照等。病者的血清稀釋，一般為 1:2 至 1:6，必要時則用更高倍的稀釋。

#### (五) 試驗結果及解釋：

完全不溶血.....以“++++”表示。  
 不完全溶血.....以+++，++，+，±表示。  
 完全溶血者.....以“-”表示。

記錄時以“++”反應之血清稀釋度作為滴度結果。凡 1:2 血清稀釋度的陽性反應結果認作可疑，而高於 1:2 的血清稀釋度的陽性反應，作為陽性結果。

## 結 果

從 1952 年 6 月初旬起至 1954 年 12 月底止，收驗臨床上疑似流行性乙型腦炎病者的血清計有 1,343 份，凡 846 例，其中部分檢材由於發病日期及採血時間記錄較欠週詳，或以病者具有神經症狀而欲進行乙型腦炎補體結合試驗作為鑑別診斷者外，經最後分析，診斷可認為腦炎患者有 434 例，包括血清標本份數為 795 份，作為本文所分析的材料。

1. 全部血清採取時間按病者患病日數分類（見表 1）。由表 1 可見，病者血清補體結合試驗陽性反應出現之時間，遲早各有不同，在病程首 4 天內採取的 107 份血清中，有 11 例呈陽性反應，表示病者在發病後的頭數天中，血清便可呈現有特異性補體結合

表1 採血時間,按病者患病日期分類  
(1952年8月至1954年12月)

| 病程日期  | 陽性反應(1:4 以上) | 可疑反應 (1:2) | 陰 性 反 應 | 總 血 清 數 |
|-------|--------------|------------|---------|---------|
| 0—4   | 11           | 4          | 92      | 107     |
| 5—7   | 4            | 2          | 88      | 94      |
| 8—14  | 46           | 7          | 135     | 188     |
| 15—21 | 51           | 9          | 76      | 136     |
| 22—28 | 34           | 2          | 55      | 91      |
| 29—42 | 43           | 6          | 32      | 81      |
| 43—56 | 16           | 1          | 18      | 35      |
| 57及以上 | 37           | 1          | 25      | 63      |
| 總 計   | 242          | 32         | 521     | 795     |

抗體,此點與宋<sup>[18]</sup>、吳<sup>[11]</sup>及 Дробышевская 等氏<sup>[19]</sup>所指出者相類同,血清中抗體最遲出現者在發病後的 57 日以上尚可察到。一般而論,病後日數愈久,血清呈陽性反應的亦較多。

2. 依病例為標準按患病日數分類:由於實際上,每例疑似腦炎患者極難按照一規定時間取血送檢,同時,若同一病者在整個病程中,多次採血試驗時,則有重複陽性或重複陰性的情況,因而表 1 中的結果,則不足以說明每一患病日數中,病人血清可能陽性反應或陰性反應。因此依病例數為標準,按照取血時患者病程中日數分類。假定一例有兩次以上送檢血清時,其中一次呈陽性者,則按陽性反應血清採取時的患病日數分類;如有兩次以上陽性反應時,採取最先發現陽性反應的血清採取時患病日數分類;如其血清反應數次均為陰性者,則按最末一次血清採取患病日數分類。每例病者之血清標本,取其一份以作代表,結果如表 2 所示。

表 2 疑似腦炎患者的血清補體結合試驗結果(依病例為標準,按患病日數的反應分類)

| 患病日數  | 陽性反應例<br>(1:4 以上) | 可 疑<br>(1:2) | 陰 性 反 應 例 數 |             | 總 病 例 數 |
|-------|-------------------|--------------|-------------|-------------|---------|
|       |                   |              | 僅 1 次 血 者   | 送 血 2 次 以 上 |         |
| 0—4   | 11                | 4            | 52          | 1           | 68      |
| 5—7   | 4                 | 0            | 33          | 3           | 40      |
| 8—14  | 40                | 5            | 42          | 24          | 111     |
| 15—21 | 27                | 9            | 19          | 20          | 75      |
| 22—28 | 20                | 1            | 10          | 21          | 52      |
| 29—42 | 20                | 4            | 7           | 16          | 47      |
| 43—56 | 5                 | 1            | 4           | 8           | 18      |
| 57以上  | 8                 | 2            | 5           | 8           | 23      |
| 總 計   | 135               | 26           | 172         | 101         | 434     |

由表 2 可現出 434 例疑似患者中,有 135 例呈明顯的陽性反應結果。

3. 用累積和法推算不同患病日程病者血清陽性反應的可能數。若將所檢驗之血清，依病例為標準，按累積和法計算<sup>[17]</sup>，分析其反應結果與患病日程的關係，結果如表 3 所示，患者在病癒期，及病後的血清呈現陽性補體結合反應的機會愈高。

表 3 腦炎患者的血清補體結合試驗結果  
(用累積和法推算不同患病期陽性反應例可能數)

| 患病日數  | 假定病例<br>總 數 | 可能陽性例數 |      | 可能陰性例數 |      |
|-------|-------------|--------|------|--------|------|
|       |             | 例 數    | 百分 數 | 例 數    | 百分 數 |
| 0—4   | 112         | 11     | 9.8  | 101    | 90.2 |
| 5—7   | 115         | 15     | 13.1 | 100    | 86.9 |
| 8—14  | 152         | 55     | 36.9 | 97     | 63.1 |
| 15—21 | 155         | 82     | 53.5 | 73     | 47.5 |
| 22—28 | 155         | 102    | 65.8 | 53     | 34.2 |
| 29—42 | 154         | 122    | 79.2 | 32     | 20.8 |
| 43—56 | 143         | 127    | 88.8 | 16     | 11.2 |
| 57以上  | 143         | 135    | 94.4 | 8      | 5.6  |
| 總 計   | 1129        | 649    | 57.5 | 480    | 42.5 |

4. 患者血清補體結合試驗陽性反應轉變情況與病程關係的分析指出：在 60 例多次送檢血清標本的陽性補體結合試驗結果中，一般於發病的第 2—3 週，其血清反應方

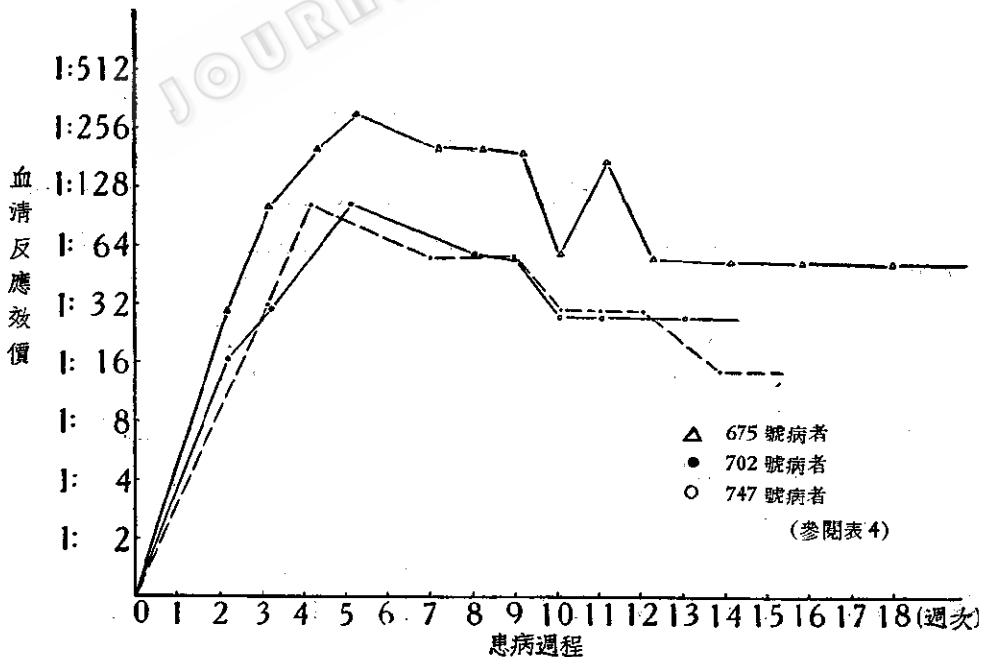


圖 1 3 例腦炎患者曾連續多次送血檢驗其血清補體結合試驗之反應病程與滴度的改變

開始由陰性轉為陽性，其中 3 例患者，在病程及病後連續送檢血清標本作補體結合反應達 10 次以上者，觀察其全部病程血清中出現特異性抗體的滴度比較，在患病第 30—40 日達到最高峯（見圖 1），此後即趨下降。

全部送血 2 次以上的陰性例數中有 50 例其第 2 次採取標本在第 2 至 3 週以後，最遲有在 80 日以上者，結果仍為陰性。

## 二. 1952—1954 年廣東省及廣州市流行性乙型腦炎病毒的分離與鑑定

國內有關流行性乙型腦炎病毒的分離與鑑定工作，解放後黃、沈、汪、吳<sup>[9,7,11]</sup>等氏曾先後有所報導，我們於 1952 至 1954 年的 3 年內，從事於疑似腦炎的病死者腦組織分離病毒的工作計有 69 例，先後分出病毒 4 株\*，並將所分離出的各株病毒進行類型的鑑定，證明皆與流行性乙型腦炎病毒相符合，從分離得的病毒株並結合 3 年來在血清學上對於疑似腦炎患者血清標本進行補體結合檢驗的結果；對廣東省及廣州市流行性腦炎病原類型的確定，取得初步證實，茲將病毒分離和鑑定工作結果報導於後。

## 材料及方法

(一) 標本來源：病死者的腦組織均係由省市各地的醫院採取後，立即置於 50% 中性甘油鹽水中，用冰藏送至我組，腦組織的採取方法在 69 例中藉屍體解剖採取腦組織者 51 例，16 例為延髓池穿刺標本，另 2 例為脊髓液標本，標本於送達我組後當日如未能即時接種小白鼠，則保存於  $-18^{\circ}\text{C}$  冰箱中，其保存時間一般不超過 48 小時，從處理檢材起直到接種動物前標本均保持冰冷。

(二) 對照標準病毒種：係於 1952 年夏自中國醫學科學院所分贈的流行性乙型腦炎病毒“京衛研<sub>1</sub>”株，3 年來此株病毒曾連續在小鼠腦組織中通過傳代。

(三) 實驗動物來源：小白鼠係我處在雙重紗門的嚴格防蚊設備條件下繁殖的，豚鼠及其他應用動物，均自市上購得，並先經隔離飼養，證明健康無病者方行採用。

(四) 病毒分離方法：將病死者腦組織，從 50% 中性甘油鹽水中以無菌術式取出一小塊，用含 10% 滅活豚鼠血清生理鹽水（或 pH 7.4 緩衝鹽水，或 pH 7.4 之肉湯）洗滌 3 次，然後將之研磨並製成 10% 懸液，用每分鐘 2,500 轉沉澱 10 分鐘，取上清液注射 0.03 毫升於 3—4 週齡的健康小白鼠腦內，另用 1 毫升注射腹腔內，每一病例標本接種 3—6 隻小白鼠，同時將檢材接種於細菌培養基中（肉湯及庖肉培養基）作無菌試驗對照，每日觀察被接種之小白鼠 2 次。倘注射 10 日後動物不現病狀者，則將之剖殺，取出腦組織以滅活，無菌的豚鼠血清鹽水將之研磨成 10% 懸液，同樣經 2,500 轉之遠心沉澱 10 分鐘，取上清液再行接種另一組健康小白鼠，再觀察 10 天。每例標本如連續通過

\* 1955 年病毒分離的 67 例中，分出病毒 7 株，暫不列入報告內。

3 次，這樣盲目傳代而小白鼠均不顯任何神經症狀，康健如常者，則為陰性結果。

接種檢材的小白鼠如在觀察期中，具有不正常的表現，例如豎毛，活力減少，旋尾試驗陽性者，則應密切觀察，俟其頻死前剖殺，取腦傳代，並進行各種鑑定。

送檢的標本如為腦脊髓液，則不加任何處理，即行接種動物，方法同上。

#### (五) 病毒類型鑑定：

1. 動物感染範圍試驗：將所分出的病毒分別通過小白鼠傳代，取 10% 鼠腦組織懸液接種下列各種不同動物。

小白鼠腦內注射量為 0.03 毫升；腹腔內注射劑量為 1 毫升。

家兔腦內注射量為 0.1—0.15 毫升。

豚鼠腦內注射量為 0.1—0.15 毫升。

大白鼠腦內注射量為 0.1—0.15 毫升。

鴿子腦內注射量為 0.1 毫升。

雛雞腦內注射量為 0.05 毫升。

動物接種後均觀察兩週，每天觀察兩次。

2. 相互補體結合試驗：將待鑑定之病毒及標準流行性乙型腦炎病毒株按 Casals<sup>[15]</sup> 氏方法分別製備抗原與各病毒株的高價免疫血清進行相互補體結合試驗，補體結合試驗的操作步驟詳前所述。

3. 相互中和試驗：主要根據 Casals<sup>[9]</sup> 氏的方法進行，正常對照血清係採用曾經進行中和試驗得陰性結果的家兔血清；接種動物觀察 2 週按照 Reed 及 Muench<sup>[21]</sup> 氏方法計算 LD<sub>50</sub> 和中和指數。

4. 相互自動免疫試驗：根據 Casals 方法<sup>[9]</sup> 進行，因動物不敷應用，故僅自分離出的 4 株病毒中取出 2 株，用本方法進行類型鑑定。

5. 濾過試驗：將分離出的病毒分別感染小白鼠，取其腦組織用生理鹽水研磨成 10% 懸液，通過蔡氏 E. K. 濾板，取濾液接種於小白鼠腦內，同時進行無菌試驗，以證明並無其他細菌生長。

## 試 驗 結 果

(一) 病毒分離結果：自 1952 年 6 月初旬開始，至 1954 年 12 月底止，69 例標本

表 4 1952—1954 年間疑似“流乙腦炎”病死者之腦組織分離病毒例數

| 年 度    | 1952 年 | 1953 年 | 1954 年 | 總 例 數 |
|--------|--------|--------|--------|-------|
| 病毒分離例數 | 4      | 20     | 45     | 69    |
| 陽性標本數  | 0      | 2      | 2      | 4     |
| 陰性標本數  | 4      | 18     | 43     | 65    |

的分離結果，有 4 例陽性（見表 4、5）此 4 例皆從屍體解剖所得腦組織中分離出。從延髓池穿刺的 16 例標本中均無 1 例陽性者。

茲將此 4 例病毒分離陽性結果的病死者之病歷摘要如下：

第 1 例：譚福華，中山縣人，男性，8 歲，其腦組織標本係由省防疫站代收轉送我組檢驗者，發病日期不詳，腦部組織肉眼觀察為大腦頂葉灰白質有散在性瘀斑狀出血。

第 2 例：鄧英，南海縣人，男性，年 5 歲，主訴為發熱已 10 天，於死前 4 日體溫最高，人事不省，頸強直，神智不佳，昏睡，兩側瞳孔稍大，對光反應遲鈍，咽部充血，於死亡後 5 小時內屍體解剖。取出腦組織送檢。

第 3 例：梁錦，南海縣人，男性，年 7 歲，於 1954 年 6 月 18 日發高熱，昏迷驚厥，頸部強直，於發病後 4 日死亡，在死後 4 小時內進行屍體解剖。

第 4 例：陳喜順，南澳島羊嶼鄉人，男性，7 歲，於 1954 年 7 月 28 日發病，至 31 日死亡，病程中曾作腰椎穿刺，脊髓澄清無混濁，死後當日進行屍體解剖，將腦組織送檢。

上述 4 例病死者腦組織經接種小白鼠後，其結果見表 5 所示。

表 5 疑似流乙腦炎病死者腦組織病毒分離結果的材料統計

| 年 度  | 病 死 者 姓 名 | 病者死亡至標本接種動物的時間 | 取 腦 方 式 | 病 程 (日 數) | 分 離 病 毒 (接 種 小 白 鼠) |               |                     | * 補體結合試驗分離病毒抗原對標準免疫血清 | 結 果 |
|------|-----------|----------------|---------|-----------|---------------------|---------------|---------------------|-----------------------|-----|
|      |           |                |         |           | 接 種 途 徑             | 死 亡 數 / 接 種 數 | 接 種 至 死 亡 時 間 (日 數) |                       |     |
| 1953 | 譚福華       | 72 小時          | 屍體解剖    | 7         | 腦內及腹腔               | 5/5           | 7,7,7,7,7           | 1:32                  | 陽性  |
|      | 鄧 英       | 432 小時         | 屍體解剖    | 4         | 腦內及腹腔               | 3/5           | 7,7,7               | 1:32                  | 陽性  |
| 1954 | 梁 錦       | 7 小時           | 屍體解剖    | 4         | 腦內及腹腔               | 3/5           | 2,6,6               | 1:16                  | 陽性  |
|      | 陳喜順       | 14 天           | 屍體解剖    | 3         | 腦內及腹腔               | 2/3           | 6,7                 | 1:128                 | 陽性  |

註： 1. 檢材均保存於 50% 中性甘油鹽水，置低溫環境。  
2. 分離的病毒製成速成抗原與抗“流乙病毒”的標準免疫血清試驗。

(二) 病毒類型鑑定：

1. 動物感染範圍試驗：結果如表 6 所示被接種的 6 種動物，除小白鼠及雛雞外，其餘在整個觀察期中並未發現任何病變，在小白鼠方面不論腦內或腹腔途徑接種，對所分離出的病毒均甚敏感，譚、鄧兩株病毒接種雛雞腦內後，在各組接種的 4 隻動物中，均引起一隻出現症狀，豎毛、雙翅無力下垂，並有昏睡驚厥現象與王氏<sup>[20]</sup> 觀察者同，頻死前取出腦組織作病理檢查，“發現腦組織血管周圍浸潤，並有神經膠質增生之腦病變”，其病理變化與流行性腦炎相符合，繼將此發病的雛雞腦組織通過小白鼠傳代，亦證明具有病毒的存在。

2. 相互補體結合試驗：結果見表 7 甲、乙，從結果證明所分離出的 4 株病毒與流行性乙型腦炎病毒（京衛研<sub>1</sub> 株）在血清免疫學上有着極密切的關係，並可推斷彼等為同一類型。

表 6 動物感染試驗的結果

| 動物分類<br>病毒株名 | 小 白 鼠            |     | 家 兔  | 豚 鼠  | 大 白 鼠 | 鴿 子  | 雞 鴨  |
|--------------|------------------|-----|------|------|-------|------|------|
|              | 腦 內              | 腹 腔 | (腦內) | (腦內) | (腦內)  | (腦內) | (腦內) |
| 譚 福 華        | 5/5 <sup>+</sup> | 5/5 | 0/2  | 1/2* | 0/2   | 0/2  | 1/4  |
| 鄧 英          | 5/5              | 5/5 | 0/2  | 0/2  | 0/2   | 0/2  | 1/4  |
| 梁 錦          | 5/5              | 5/5 | 0/2  | 0/2  | 0/2   | 0/2  | —    |
| 陳 喜 順        | 5/5              | 5/5 | 0/2  | 0/2  | 0/2   | 0/2  | —    |

+ = 接種動物死亡數/接種數。 \* = 非特异性死亡。

表 7 甲 相互補體結合試驗 (1953 年分出的毒株)

| 抗原分類<br>免疫血清分類          | 病 毒 抗 原 |       |                               | 正常鼠腦抗原 |
|-------------------------|---------|-------|-------------------------------|--------|
|                         | 譚 福 華   | 鄧 英   | 乙型腦炎病毒<br>(京衛研 <sub>1</sub> ) |        |
| +                       |         |       |                               |        |
| 譚 福 華                   | 1:64    | 1:128 | 1:64                          | —      |
| 鄧 英                     | 1:32    | 1:64  | 1:128                         | —      |
| 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> ) | 1:16    | 1:64  | 1:128                         | —      |
| 正 常 血 清                 | —       | —     | —                             | —      |

表 7 乙 (1954 年 分 出 的 毒 株)

| 抗原分類<br>免疫血清分類          | 病 毒 抗 原 |       |                               | 正常鼠腦抗原 |
|-------------------------|---------|-------|-------------------------------|--------|
|                         | 梁 錦     | 陳 喜 順 | 乙型腦炎病毒<br>(京衛研 <sub>1</sub> ) |        |
| 梁 錦                     | 1:32    | 1:128 | 1:32                          | —      |
| 陳 喜 順                   | 1:8     | 1:128 | 1:16                          | —      |
| 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> ) | 1:16    | 1:128 | 1:32                          | —      |
| 正 常 血 清                 | —       | —     | —                             | —      |

3. 相互中和試驗：從 (表 8 甲、乙) 結果證明 4 株病毒的免疫血清對流行性乙型腦炎病毒均有顯著的相互中和作用。

4. 相互自動免疫試驗：譚福華病毒株免疫的小白鼠，對其同株病毒的保護指數為 54,950，對流行性乙型腦炎京衛研<sub>1</sub> 株的保護指數為大於 10,000，用鄧英毒株免疫的小白鼠，對於同株病毒的保護指數為 3162，對京衛研<sub>1</sub> 株病毒為大於 1,000，流乙腦炎京衛研<sub>1</sub> 株免疫小鼠對譚福華株之保護指數為大於 10,000，對鄧英株之保護指數為大於 3162，對其同株病毒則為大於 10,000，以上結果詳表 9。



表8甲 相互中和試驗(全血清+不同稀釋度病毒)

| 病毒名株<br>免疫血清            | 譚 福 華               |       | 鄧 英                 |       | 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> ) |        |
|-------------------------|---------------------|-------|---------------------|-------|-------------------------|--------|
|                         | LD <sub>50</sub>    | 中和指數  | LD <sub>50</sub>    | 中和指數  | LD <sub>50</sub>        | 中和指數   |
| 譚 福 華                   | 10 <sup>-2.55</sup> | 562.3 | —                   | —     | 10 <sup>-3.63</sup>     | 7762   |
| 鄧 英                     | —                   | —     | 10 <sup>-3.3</sup>  | 316.2 | 10 <sup>-3.78</sup>     | 5495   |
| 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> ) | 10 <sup>-2.3</sup>  | 1000  | 10 <sup>-3.78</sup> | 104.7 | 10 <sup>-3.52</sup>     | 10,000 |
| 正 常 血 清                 | 10 <sup>-5.3</sup>  | —     | 10 <sup>-5.3</sup>  | —     | 10 <sup>-7.52</sup>     | —      |

表8乙

| 病毒名株<br>免疫血清            | 梁 錦                 |        | 陳 喜 順              |        | 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> )株 |       |
|-------------------------|---------------------|--------|--------------------|--------|--------------------------|-------|
|                         | LD <sub>50</sub>    | 中和指數   | LD <sub>50</sub>   | 中和指數   | LD <sub>50</sub>         | 中和指數  |
| 梁 錦                     | 10 <sup>-4.67</sup> | >218.0 | —                  | —      | >10 <sup>-5</sup>        | >1000 |
| 陳 喜 順                   | —                   | —      | 10 <sup>-4.5</sup> | >316.0 | >10 <sup>-5</sup>        | >1000 |
| 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> ) | 10 <sup>-4.5</sup>  | >316.0 | 10 <sup>-4.5</sup> | >316.0 | 10 <sup>-4.5</sup>       | >3162 |
| 正 常 血 清                 | >10 <sup>-7</sup>   | —      | >10 <sup>-7</sup>  | —      | 10 <sup>-8</sup>         | —     |

表9 相互自動免疫試驗

| 病毒株號<br>(小白鼠)           | 譚 福 華               |         | 鄧 英                |      | 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> )株 |         |
|-------------------------|---------------------|---------|--------------------|------|--------------------------|---------|
|                         | LD <sub>50</sub>    | 保護指數    | LD <sub>50</sub>   | 保護指數 | LD <sub>50</sub>         | 保護指數    |
| 免 疫 株 號                 | 10 <sup>-2.26</sup> | 54950   | —                  | —    | <10 <sup>-2</sup>        | >10,000 |
| 譚 福 華                   | —                   | —       | <10 <sup>-2</sup>  | 3162 | <10 <sup>-3</sup>        | >1,000  |
| 鄧 英                     | <10 <sup>-3</sup>   | >10,000 | <10 <sup>-3</sup>  | 3162 | <10 <sup>-3</sup>        | >10,000 |
| 乙型腦炎(京衛研 <sub>1</sub> ) | 10 <sup>-7</sup>    | —       | 10 <sup>-5.5</sup> | —    | 10 <sup>-8</sup>         | —       |
| 對 照 組                   | —                   | —       | —                  | —    | —                        | —       |

5. 濾過試驗:從實驗證明,所分出的4株病毒均能通過蔡氏濾器 E. K. 石棉濾板,過濾與未過濾的病毒懸液均能使小白鼠發病死亡\*。

## 討 論

根據3年來我組對於廣東省各地及廣州市疑似流行性乙型腦炎患者血清補體結合試驗結果的分析,在434病例中血清內存有乙型腦炎特異性抗體者佔57.5%,在陽性反應的病例中,半數以上的患者在發病後的第三週其血清中已具有足量可測出的抗體。從3例多次送血標本較典型的例子可看出抗體滴度的消長情況,補體結合抗體在病後

\* 將受感小鼠腦組織取出,製成速成抗原,與標準乙型免疫血清進行補體結合試驗呈明顯的陽性反應。此外取受感小白鼠腦組織行病理切片:發現腦組織小血管內充血,皮內細胞腫脹,並見有圍管性淋巴球,及少量中性多核白血球浸潤,軟腦膜亦有同樣上述細胞浸潤,腦組織膠質細胞增殖及小結形成,並發現軟化灶,及小腦浦金氏 Purkinje 細胞灶化消失,其病理變化與流行性腦炎相符合。

30—40 日常達最高峯，以後漸趨下降。並從累積和法的推算，在發病後 4 日內的血清可能有 9.8% 陽性，5—7 日間有 13.1%，在第 2 週取血者 36.9%，第 3 週採血者 53.5%，第 4 週取血者有 65.8% 的可能陽性反應，此足以說明患病後日數愈多，血清呈陽性補體結合反應的可能性愈高。按宋氏<sup>[18]</sup>應用補體結合試驗，進行流行性乙型腦炎病原的鑑定研究，認為補體結合試驗是具有高度的特異性，根據我們試驗的結果，完全同意這個結論。

在送血兩次以上陰性結果的標本中，有 50 例血液送檢日期包括 2 至 3 週以上的標本，最遲者有 80 日以上，經重覆試驗均為陰性，據此對於廣東地區是否尚具有其他類型的腦炎病毒流行，有待於今後的繼續觀察及研究。

在 172 例單份陰性血清標本中，絕大多數都是在患者發病後的首 4 天內採得的。這類的血清以遠處縣市送檢者佔多數，遠地送檢血清常用專人持送，路上經過數日跋涉方能達到。此外，在這些雙份陰性血清病例中，有個別幾例，兩次採血期間的間隔日數僅在 1—2 天。故對診斷幫助不大。

病毒分離工作方面，從 69 例疑似腦炎病死者的腦組織中，共分出病毒 4 株，均係由屍體解剖採取組織送檢者，16 例延髓池穿刺的標本中，結果均未得陽性，我們推想可能是標本內所含腦組織過少的原故，因多數標本僅係帶血的腦脊髓液而腦組織塊甚少。

分離所得的 4 株病毒的腦組織標本均置放於 50% 中性甘油鹽水中並持續備冰保存，從病人死亡的時間至接種動物時止，最短為 7 小時，最長者（陳喜順毒株）達 14 天。由此看來，只要病死者的腦組織放置於 50% 中性甘油鹽中並保存於冰冷溫度下，病毒分離是可獲至成功的。

新分出 4 株病毒的動物感染範圍試驗，相互中和試驗、相互補體結合試驗、相互自動免疫試驗，以及濾過試驗結果均證明與流行性乙型腦炎病毒相符合。因此，根據病者血清免疫學反應及所分出的腦炎病毒的類型鑑定，證明廣東省市流行性乙型腦炎的確實存在。

## 總 結

1. 根據自 1952—1954 三年間廣東省縣市 434 例疑似流行性乙型腦炎患者的血清補體結合試驗結果分析，證實大多數病例係流行性乙型腦炎。
2. 從 69 例疑似腦炎病死者的腦組織中分得病毒 4 株（1955 年分得病毒 7 株未列入報告內）；經用動物相互自動免疫試驗，以及濾過試驗結果皆證明與流行性乙型腦炎病毒的特性相符合。
3. 從疑似腦炎患者血清補體結合試驗及病死者的腦組織病毒分離的鑑定結果，均證明廣東省廣州市歷年有流行性乙型腦炎的存在。

## 參 考 文 獻

- [1] 引自郭子化, 新中醫藥, 6 (11): 7—8.
- [2] Kuttner, A. G. and Tung, J.: *J. Clin. Invest.*, 15: 525—530, 1936.
- [3] Chu, F. T. et al.: *C. M. J.*, 58: 68—78, 1940.
- [4] Huang, C. H.: *C. M. J.*, 59: 34—44, 1941.
- [5] Sabin, A. B. et al.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 65: 183—187, 1947.
- [6] Yen, C. H.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 46: 609—611, 1941.
- [7] 沈海波、傅兆麟: 東北醫學雜誌, 8: 700—709, 1952.
- [8] 汪美先、徐漢傑、甄桂芳: 微生物學報, 1 (2): 183, 1953.
- [9] 黃禎祥、王逸民: 中華醫學雜誌, 37 (4): 280—286, 1951.
- [10] 鄭武飛、嚴濂、祁敏如: 微生物學報, 3 (1): 1—6, 1955.
- [11] 吳潔如、何方慶、劉秉陽: 微生物學報, 2 (2): 145—151, 153—160, 1954.
- [12] 樊培祿、胡上庸: 中華醫學雜誌, 37 (4): 308—316, 1951.
- [13] Pfister, M. O.: *C. M. J.*, 43: 963—969, 1929.
- [14] 朱師晦等: 中山醫報, 5 (9,10): 184, 1950.
- [15] Casals, J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 7: 339,
- [16] 陳少伯: 實用細菌學檢驗法, p. 113, 1947.
- [17] 宋幹、周明先、沈中: 中華醫學雜誌, 37: 287, 1951.
- [18] 宋幹等: 中華醫學雜誌, 38: 1053—1057, 1952.
- [19] A. И. Дробышевская, 中華衛生學雜誌, 3 (4): 305—309, 1955.
- [20] 王逸民、柳元元、高禎祥: 中華醫學雜誌, 38 (12): 1066—1072, 1952.
- [21] Reed L. T. & Muench H.: *Am. J. Hyg.*, 27: 495, 1938.

## ETIOLOGICAL INVESTIGATION ON EPIDEMIC "B" TYPE ENCEPHALITIS IN KWANGTUNG

YEN, Y. K., LO, J. H. and PAI, S. E.

*Virus Laboratory, Department of Microbiology, Chungshan Medical College*

The first recorded case of suspected virus encephalitis in China was made from Canton by Cadbury as early as 1920. From this same locality, Chu, in 1950, reported 14 clinically suspected cases. Nevertheless, on account of lack of laboratory facilities, diagnoses of all of these had not been supported by laboratory investigations.

From June 1952 to end of December 1954, a total of 1343 specimens of blood serum belonging to 434 clinically suspected encephalitis cases from the whole of Kwangtung were examined. Complement fixation tests were made on sera against the Japanese B encephalitis virus antigen (after Casal's method) which showed that 135 cases were positive. In some cases the positive reaction appeared as early as the 4th day of the disease while others reacted positively as late as the 57th day of the illness. Majority of them reacted positively during the second and third week of the illness. Three illustrative cases were presented which gave the highest titres of positive reaction on the 30th to 40th day of the disease after which the titre began to fall.

Besides, attempts at isolation were made for virus from 69 fatal cases suspected of epidemic encephalitis. From four of these virus was recovered, (and later in 1955, another 7 virus strains were recovered). The virus strains isolated were subjected to tests such as animals susceptibility, cross neutralizations, complement fixation and active immunization tests as well as filtration experiments; all of these proved that the virus isolated were identical with that of Japanese B encephalitis virus.