

1956 年春北京流行性感冒病毒 分離及其抗原分析*

梁 榮 根 湯 飛 凡

(衛生部生物製品研究所,北京)

我國流行性感冒(以下簡稱流感)的病原學研究工作自解放後才有初步的開展^[1-5]。但是關於病毒分離及病人雙份血清檢查的報導還不很多。1956年1月北京有局限性流感的流行,我們曾就病人中採取了標本,進行病毒分離,又由河南醫學院**獲得流感病毒二株(K₄、K₅)一併研究。本文報告這些試驗的結果。

材 料 和 方 法

喉頭洗漱液標本的採取:病人喉頭洗漱液乃用普通肉湯和生理鹽水(1:2)混合製成, pH 7.2—7.4, 用大管(30 mm × 300 mm)盛裝,每管約 12 毫升。如用於兒童其量則減為 8 毫升。病人的標本採集一般在發病後 3 日內進行,採集前先讓病人咳嗽,然後以洗漱液反覆洗漱約一分鐘,嗽畢直接吐入原管中。小兒不能嗽口者,可用滅菌的棉花拭子蘸洗漱液,在管壁上壓除過多的液體,然後左手執滅菌壓舌板壓舌右手以棉花拭子塗喉,盡量深入,抹至扁桃腺後部,抹拭後另取一滅菌棉花拭子如法再塗抹一次。標本取得後,立刻移入水壺中帶回試驗室。

病毒分離的步驟:病毒分離基本係參照 Taylor 和 Chialvo^[6] 雞胚羊膜腔接種法。於病人喉頭洗漱液中加入青霉素及鏈霉素,使其含量各為 2000 單位/毫升。每個標本接種 6—8 個 10—13 日的雞胚。接種前先用蛋殼鋸或電烙器^[7] 在氣室中央開窗,直徑約 1—1½ 厘米,接種時用解剖刀挑開氣室中央的蛋殼,左手取一滅菌小鑷子,鑷子尖碰攏後迅速插入雞胎一側約 3/4 厘米深處,把羊膜夾住並輕輕提起,此時羊膜成一傘狀高出鞘膜約 1/3 厘米,右手迅速將注射針插入羊膜腔中,注入病人喉頭洗液 0.2 毫升,然後將羊膜放回原位,用透明膠紙貼封蛋殼口。接種後雞胚置 35—36°C 溫箱中培養 4 天,每日照視一次,48 小時前死亡之雞胚廢棄,餘存雞胚於第四天收集其羊水,每個雞

* 1957 年 3 月 7 日收到。

** 流感病毒(K₄、K₅)由河南醫學院微生物教研組惠予,就此致謝。此兩株病毒係於 1956 年 3 月在開封分離的。

胚的羊水單獨收集並作無菌試驗及直接血球凝集試驗。無菌試驗用斜面一支。血球凝集試驗以豚鼠血球(1%)及鷄血球(0.5%)同時進行,血凝試驗置 4°C 水箱中,避免擾動,於 1/2、1、2 小時觀察結果。血凝結果陰性或陽性的羊水均須繼續傳代進一步證實病毒之存在與否。傳代時將無菌的羊水合併,陽性者稀釋 10 倍然後傳代,陰性者不稀釋。第二代鷄胚培養 3 天。每份標本最少遞傳兩代,兩代羊水的直接血凝反應呈陰性者判為陰性結果。陽性的羊水對鷄血球的凝集效價恆在 1:10 以上,而且繼續傳代,其鷄胚羊水仍有呈現凝集鷄血球的現象。

血清標本的採取: 採取病人的急性期及恢復期血清(急性期血清於發病後 1—4 天採取,恢復期血清於發病後 15—27 天採取),分別放入滅菌小瓶中,塞上橡皮塞子,置 -40°C 水箱中保存。

血清試驗的進行: 將兩份血清先用霍亂弧菌濾液^[8]處理,除去非特异性抑制素,處理時每 1 份血清加入 4 份霍亂弧菌濾液,置 37°C 水浴中過夜,然後移入 56°C 水浴中加溫 50 分鐘。將血清從 1:10 起二倍稀釋,共作 7 管,每管含血清稀釋液 0.25 毫升,然後加入 0.5% 鷄血球 0.25 毫升,搖盪後,再加入 4 個單位病毒抗原 0.25 毫升,再搖盪,置室溫 45 分鐘觀察結果,以完全抑制之管為血清效價。試驗方法詳見文獻^[9]。試驗中所用的抗原包括:

PR 8 (甲型)	標準病毒株
Lee (乙型)	標準病毒株
54-6 (乙型)	1954 年北京分離*
1233 (丙型)	標準病毒株
FM 1 (亞甲型)	標準病毒株
56-1	1956 年北京新分離病毒

甲型、亞甲型和乙型抗原為感染的尿囊液,丙型乃用感染鷄胚的羊水。均用生理鹽水稀釋 4 倍,置 4°C 水箱中保存待用。

抗原分析方法: 各病毒株間的抗原關係,以朱氏、Andrewes 及 Gledhill 等^[9]所創用的抗原比代表之,二株病毒間的抗原比,係由二株病毒抗原與其免疫血清作交叉抑制試驗結果求得,其公式為 R (抗原比) = $\sqrt{r_1 \times r_2}$ 。兩株病毒抗原性不能區別時抗原比常常在 1.5/1 - 1/1.5 之間,抗原比的分母愈大則兩株間抗原差異愈懸殊。

試驗結果

I. 病毒分離

1956 年 1 月自北京的兩個流行單位的病人採取了喉頭洗漱液標本作病毒分離,其一為城郊×部隊,該處送來洗漱液標本 3 份;另一流行單位是南城×研究所,自該所採

* 流感病毒 54-6 株,係中國醫學科學院微生物系惠予,就此致謝。

取了 8 份洗漱液標本，其中 2 份是採自兒童，每份由同一家的二個患者的標本合併而成。分離結果見表 1。由表 1 可見兩個流行單位的 11 份標本中分離結果呈陽性者 7 份，陽性率為 63%。陽性標本的第一代部份雞胚的羊水凝集雞及豚鼠的紅血球，至第二代則大多數雞胚羊水均呈現血凝現象。

表 1 1956 年北京×部隊及×研究所流感病人的病毒分離結果

單位	患者	年齡	發病日期	採取標本日期	病毒分離			病毒	病毒株名稱
					雞胚傳代				
					第一代	第二代	第三代		
×部隊	寧××	27 歲	1 月 7 日	1 月 9 日	5/6	4/4	4/4	+	56—1
"	楊×	成人	1 月 6 日	1 月 9 日	1/4	4/4	4/4	+	56—2
"	李××	成人	1 月 7 日	1 月 9 日	0/3	0/3		-	
×研究所	曹××	6 歲及 7 歲	1 月 10 日	1 月 11 日	4/9	5/5	4/4	+	56—3
"	孫×	21 歲	1 月 11 日	1 月 12 日	3/3	5/5	4/5	+	56—4
"	袁××	2 歲及 6 歲	1 月 11 日	1 月 14 日	4/5	6/7	3/3	+	56—5
"	劉×	23 歲	1 月 12 日	1 月 14 日	3/4	6/6	4/4	+	56—6
"	陳××	32 歲	1 月 14 日	1 月 16 日	0/5	0/5		-	
"	秦××	23 歲	1 月 14 日	1 月 19 日	2/2	5/6	4/4	+	56—7
"	張×	23 歲	1 月 18 日	1 月 19 日	0/6	0/7		-	
"	褚××	26 歲	1 月 28 日	1 月 29 日	0/5	0/5		-	

註：分子代表陽性雞胚數目，分母代表收穫雞胚數目。陽性者以“+”為代表，陰性則以“-”為代表。

II. 病毒鑑定

1. 補體結合試驗

由於我們沒有丙型的補體結合反應陽性血清，因此祇以甲、乙兩型補體結合反應陽性血清^[10]與五株新分離病毒(56—1、56—2、56—4、56—5 及 56—6)的可溶性抗原作補體結合試驗。可溶性抗原係用感染的雞胚尿囊膜凍化三次製成，抗原自 1:5 起二倍稀釋，血清固定為 4 個單位，試驗中加入正常雞胚尿囊膜為對照，試驗結果如表 2，從表 2 可見甲型血清對各株新分離病毒的抗原呈明顯的陽性反應，而乙型血清則呈陰性反應，證明新分離病毒含有甲型的可溶性抗原成份。

2. 血球凝集抑制試驗

為了進一步了解新分離病毒的型別，又用血凝抑制試驗進行鑑定。除 56—2、56—7 外，其餘新分離的病毒傳遞三代後，連同來自開封的 K₅ 株病毒，即用 PR8、Lee、FM1 及 1233 的雞免

表 2 流感甲型和乙型血清對新分離病毒的可溶性抗原的補體結合試驗結果*

抗 原	血 清	
	甲型(PR 8)	乙型(Lee)
56—1	1:140	<1:5
56—2	1:120	<1:5
56—4	1:40	<1:5
56—5	1:30	<1:5
56—6	1:40	<1:5
正常尿囊膜	<1:5	<1:5

* 表中數字表示抗原稀釋至若干倍數後仍呈現陽性結果。

疫血清和近年來在北京分離的 53—7 或 55—1 株^[4]的雞免疫血清作試驗。從表 3 可以看出亞甲型 FM 1、53—7 或 55—1 的血清對所試驗的 6 株病毒均有顯著的抑制作用，而 PR 8、Lee 及 1233 的血清則沒有或僅有低微的抑制作用。這說明這些新分離病毒的抗原性與甲、乙、丙三型不同，而與亞甲型病毒相似。56—2、56—7 二株沒有進行此項試驗，但是此二株病毒在抗原分析的結果中(表 7)亦同樣觀察到它們能被亞甲型病毒的免疫血清所抑制。試驗結果初步說明在北京及開封分離的病毒均為亞甲型流感病毒。

表 3 流感標準血清對新分離病毒的血凝抑制效價

病 毒	血 清					
	PR 8	Lee	FM 1	1233	53—7	55—1
56—1	<10	<10	80	<10	120	—
56—3	<10	<10	70	<10	—	120
56—4	<10	<20	80	<10	—	140
56—5	15	<10	160	<10	—	160
56—6	15	<10	160	<10	—	160
K _s	<10	<10	60	<10	80	—

3. 病毒的形態

朱氏、Dawson 及 Elford 等^[11]指出新分離病毒的形態與試驗室保存的老的標準病毒株(PR 8、Lee)有顯著的區別，後者在電子顯微鏡下呈球狀顆粒形態，而前者則除顆粒形態外尚具有相當數量的絲狀形態，此種形態亦可用暗視野顯微鏡觀察。取新分離 7 株病毒及 K_s 株的無菌尿囊液用暗視法檢查，發現此 8 株病毒均具有 1—3 微米之絲狀體。此外，進一步用電子顯微鏡觀察新分離病毒 56—1 的形態，其觀察結果將於另文^[12]報告。簡言之：藉紅血球空膜吸附方法將流感病毒吸附於雞紅血球空膜上然後進行觀察，新分離的病毒具有圓形及卵圓形之顆粒狀及絲狀的形態，病毒顆粒的平均大小為 107 毫微米(mμ)，絲狀體一般長 1—2 微米，最長達 5 微米。

根據以上的鑑定結果，證明 1956 年春自北京及開封二地分離的病毒均為亞甲型流感病毒。

III. 標本冷藏與病毒分離

1955 年我們曾將保存在水壺內的喉頭洗滌液標本自東北帶至北京，共經 36 小時，其中一例(55—3)仍能分離出病毒來^[8]。因此今年在分離病毒的同時對這一問題作了進一步的試驗。病人的喉頭洗滌液用原管盛裝，不加任何抑菌劑，用雙層滅菌牛皮紙包紮管口，置 4°C 冰箱中保存，每隔若干時期自大管取出洗滌液按常規方法進行病毒分離。判定結果時為了避免直接血球凝集試驗的假陽性起見，規定病毒分離第二代雞胚的羊水，用雞血球滴定其凝集效價並用亞甲型病毒的血清作血凝抑制試驗。血凝效價

在 1:20 以上且呈現血清特異性抑制者方為陽性。試驗結果見表 4, 表 4 表明所有的 7 份標本均能保存 2 天以上; 6 份能保存 7 天以上, 此 6 份中有 5 份保存 12 天後仍能獲得陽性結果; 標本寧 × × 保存期達 84 天, 此時標本已完, 因此未能繼續。

表 4 流感病人喉頭洗液標本保存於 4°C 冰箱中隔若干天後的病毒分離結果

患 者	病 毒 分 離 結 果 (保 存 天 數)		備 註
	陽 性	陰 性	
寧 × ×	1, 9, 19, 42, 63, 84		標本用完, 不能繼續
楊 ×	1, 9, 19		標本內細菌生長, 未繼續
曹 × × 及 曹 × ×	0, 8, 19		標本用完, 不能繼續
孫 ×	1, 7		標本內細菌生長, 未繼續
袁 × × 及 袁 × ×	2, 12		標本內細菌生長, 未繼續
劉 ×	2	12, 16, 37	
桑 × ×	0, 7, 32	74	

IV. 病人雙份血清血凝抑制試驗

自該兩個流行單位的 10 個病人取得急性期及恢復期血清, 進行了血凝抑制試驗, 結果如表 5。從表 5 可見所有病人的恢復期血清中乙型(Lee, 54—6)、丙型(1233)的抗體均無增長, 但對亞甲型(FM 1)的抗體則增長甚為顯著。10 例病人的血清對 FM 1 抗體增長 4 倍以上的有 7 例, 增長 16 倍以上的有 3 例, 若以恢復期抗體增長 4 倍^[13]者為陽性, 則陽性率達 70%。但是, 這些恢復期血清對新分離病毒 56—1 的抗體增長的僅有 4 例, 增長倍數不及對 FM 1 的顯著。以另一批新製備的 FM 1 和 56—1 抗原與部份病人雙份血清重複試驗, 亦獲得同樣結果。對甲型(PR 8)抗體一般沒有增長, 僅王 × × 一例增長 8 倍, 但此例之 FM 1 抗體增長亦甚高。病人血清學分析的結果進一步證明此次流行是由亞甲型病毒引起的。

表 5 流感患者急性期及恢復期血清的血凝抑制效價

單 位	患 者	病毒分離 結 果	抗				原		
			PR 8	Lee	54—6	FM 1	56—1	1233	
× 部隊	楊 ×	+	10/20	<10/<10	<10/<10	10/40	<10/<10	20/20	
"	寧 × ×	+	<10/<10	<10/<10	<10/<10	<10/80	<10/10	40/40	
"	李 × ×	-	80/80	40/<40	○	40/160	○	80/40	
"	王 × ×	○	40/320	40/20	<10/<10	<10/160	<10/40	40/40	
"	李 棧 ×	○	40/40	40/40	<10/<10	80/80	<10/<10	80/80	
× 研究所	孫 ×	+	40/40	10/<10	20/20	20/320	<10/<10	80/80	
"	劉 ×	+	40/40	<10/<10	<10/<10	10/40	<10/20	20/20	
"	陳 × ×	-	<10/<10	40/40	20/20	<10/320	<10/320	40/40	
"	張 ×	-	40/40	20/20	<10/<10	20/20	<10/<10	40/40	
"	褚 × ×	-	40/40	80/80	<10/<10	160/160	80/80	40/40	

註: 分子代表急性期血清的效價, 分母代表恢復期血清的效價。

“○”表示未做試驗。

V. 1953—1956 分離的亞甲型流感病毒的抗原分析

從 1956 年春北京及開封分離之 9 株病毒中選出 5 株(56—1、56—4、56—5、K₄及 K₅)與甲型、乙型及丙型標準病毒株(PR8、Lee、FM 1 及 1233)進行了比較。爲了說明這些新分離的病毒與近年來北京流行的亞甲型病毒的抗原關係，試驗中加入了 1953、1954 及 1955 年分離的亞甲型病毒各一株(53—7、54—1、55—1)。用上述 12 株病毒製備的雞免疫血清，作交叉抑制試驗。試驗分兩次進行。試驗結果如表 6、表 7 所示。表 8 代表由此二次試驗結果計算出的抗原比例。其抗原關係總結如下：

$$\begin{aligned} PR 8 \approx Lee \approx 1233 \approx FM 1 \approx 53-7 \approx 54-1 = 55-1 = 56-1 = 56-5 \\ = K_4 = K_5 \approx 56-4 \\ 55-1 = 56-4 \end{aligned}$$

≈ 表示各株間抗原性相差很大或全無關係；≈ 表示各株間抗原性相近，但有一定差別；= 表示各株間抗原性一致。

表 6 1956 年春北京分離的流感病毒與標準株間交互血球凝集抑制試驗

血 清	病					毒				
	PR 8	Lee	1233	FM 1	53—7	54—1	55—1	56—1	56—4	
PR 8 (1934)	800							<10	<10	
Lee (1940)		640						<10	8	
1233 (1947)			800					<10	<10	
FM 1 (1947)				640				80	100	
53—7 (1953)					480			120	60	
54—1 (1954)						160		140	60	
55—1 (1955)							2240	2240	2240	
56—1 (1956)	<10	<10	<10	30	320	160	140	320	100	
56—4 (1956)	8	<10	<10	280	200	280	400	400	320	

表 7 北京及開封分離的流感病毒與北京近年來分離的亞甲型病毒間的交互血凝抑制試驗

血 清	病							毒				
	FM 1	53—7	54—1	55—1	56—1	56—2	56—4	56—5	56—6	56—7	K ₄	K ₅
FM 1 (1947)	800	80	30	30	60	70	40	50	50	35	40	40
53—7 (1953)	240	280	60	70	80	80	30	80	80	40	80	80
54—1 (1954)	40	120	160	160	160	120	40	160	160	80	160	160
55—1 (1955)	1920	1920	1280	1920	2240	1280	1280	1920	1920	960	1920	1920
56—1 (1956)	50	240	100	160	320	160	70	320	240	80	240	240
56—4 (1956)	240	160	120	400	480	200	200	400	320	160	320	240
56—5 (1956)	200	160	160	480	800	400	70	800	640	200	640	640
K ₄ (1956)	25	50	50	120	200	120	17	200	160	70	200	160
K ₅ (1956)	60	50	120	240	320	240	20	320	200	100	320	240

根據表 6、表 7 及表 8 的材料，可以綜合下列三點觀察：

(1) 1956 年春自北京分離的流感病毒均屬亞甲型。從表 6 中可以看出新分離病毒與甲型(PR 8)乙型(Lee)及丙型(1233)病毒均無交叉抑制現象,而與亞甲型(FM 1)病毒則有相當程度的交叉抑制關係。這些結果與上述的病毒鑑定結果完全吻合。但是,新分離的病毒與 FM 1 的抗原性亦存在差異,即表現在:FM 1 血清對新分離病毒的血凝抑制效價低;而新分離病毒血清對 FM 1 株的抑制則有兩種情況,一種是大多數新分離病毒(56—1、56—5、K₄及 K₅)的血清對 FM 1 的抑制較低,另一種如 56—4 血清對 FM 1 的抑制則與本病毒相當。

(2) 1956 年春自北京及開封分離的病毒,其抗原性是一致的,如表 8 所示,56—1、56—5、K₄及 K₅的抗原比接近於 1,表明此四株病毒抗原性一致。這一現象可能說明此種類型的流感病毒同時在北京及開封地區傳播着。

表 8 由鷄血清抗原比較試驗結果計算出的各株病毒間的抗原關係

	PR 8	Lee	1233	FM 1	53—7	54—1	55—1	56—1	56—5	K ₄	K ₅	56—4
PR 8	1							$< \frac{1}{50}$				$< \frac{1}{57}$
Lee		1						$< \frac{1}{45}$				$< \frac{1}{50}$
1233			1					$< \frac{1}{50}$				$< \frac{1}{50}$
FM 1				1	$\frac{1}{3.4}$	$\frac{1}{10.4}$	$\frac{1}{5.2}$	$\frac{1}{9.2}$, $\frac{1}{9.2}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{12.8}$	$\frac{1}{9}$	$\frac{1}{2.7}$, $\frac{1}{4.1}$
53—7					1	$\frac{1}{2.5}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2.1}$, $\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4.2}$	$\frac{1}{3.7}$	$\frac{1}{4.1}$	$\frac{1}{3.4}$, $\frac{1}{3.6}$
54—1						1	$\frac{1}{1.2}$	$\frac{1}{1.5}$, $\frac{1}{1.8}$	$\frac{1}{2.2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1.4}$	$\frac{1}{1.7}$, $\frac{1}{2.5}$
55—1							1	$\frac{1}{1.2}$, $\frac{1}{1.5}$	$\frac{1}{1.3}$	$\frac{1}{1.3}$	1	$\frac{1.1}{1}$
56—1								1	$\frac{1}{1.5}$, $\frac{1}{1.1}$	$\frac{1}{1.1}$	1	$\frac{1}{1.6}$, $\frac{1}{1.4}$, $\frac{1}{1.4}$
56—5									1	$\frac{1}{1.1}$	1	$\frac{1}{1.8}$, $\frac{1}{2.3}$
K ₄											1	$\frac{1}{2.7}$
K ₅											1	$\frac{1}{3.2}$
56—4												1

註：一格內有數個數字的是表示由不同次試驗的結果計算出的抗原比,由此可以大概看出可能存在的技術誤差。

(3) 本試驗結果說明北京近年來的亞甲型流感病毒是在漸漸演變着。從抗原分析的結果(見表 8)中可以觀察到這樣逐漸推移演變的現象:新分離病毒與 55—1、54—1、53—7、FM 1 的抗原關係是依年代的距離而漸漸表現出差別,換言之,就是新分離的病毒與 1955 年分離的亞甲型病毒抗原性一致,與 1954 年分離的亞甲型病毒的差異很小,

與 1953 年分離的亞甲型病毒差異較大，而與 1947 年美國分離的亞甲型標準株差異最大。例如 56—5 病毒與 55—1 病毒的抗原比為 $\frac{1}{1.3}$ ，與 54—1 為 $\frac{1}{2.2}$ ，與 53—7 為 $\frac{1}{4.2}$ 而與 FM 1 為 $\frac{1}{8}$ 。此外在 56—1、K₄ 及 K₅ 等株新分離病毒與北京近年來分離的亞甲型病毒的抗原關係亦能觀察到同樣的現象。

討 論

流感病原的實驗室診斷，除直接自病人喉頭洗漱液中分離病毒外，最好有病人的雙份血清試驗加以分析比較^[13]。若單以個別病毒分離結果為依據，很難判斷整個流感流行的真正面貌，而且可能由於實驗室污染而導致錯誤的結論^[14-15]。此次分離的 7 株流感病毒經鑑定均屬亞甲型。病人雙份血清的血凝抑制試驗結果表明 70% 病人的恢復期血清中的亞甲型抗體顯著增長，即說明這些病人曾經感染亞甲型流感病毒。病人的血清學結果與病毒分離及鑑定結果完全吻合，寧××、楊×、孫×及劉×的病毒分離及血清學試驗結果更是最明顯的核對。綜合以上材料，可以說明 1956 年春北京曾有亞甲型病毒所致的流感的流行。

用雞胚分離甲型流感病毒的陽性率，文獻上所載約為 50—75%^[16-17] 左右，此次病毒分離的陽性率為 63%，因有重覆試驗對照，所以結果是可靠的。四年來的病毒分離工作經驗證明用雞胚分離亞甲型病毒是頗有把握的。近年，一些作者建議以組織培養法分離流感病毒^[18-19]，並謂其陽性率更高^[19]。

病人血清的血凝抑制試驗結果除觀察到這些病人感染過流感外，還觀察到病人恢復期血清中一種比較突出的現象，就是對 FM 1 抗體的增長較對新分離病毒(56—1)的抗體更顯著，10 例病人恢復期血清中 FM 1 抗體增加 4 倍以上者有 7 例，而 56—1 的抗體增加 4 倍以上者僅有 3 例，此外在抗體增加倍數方面也對 FM 1 為高。Burnet 氏等^[20]曾於乙型流感的流行中遇到類似的現象；本所聞氏^[21]以上海 1956 年夏季大流行中的流感病人雙份血清作血凝抑制試驗亦觀察到同樣現象。根據 Davenport 等^[22]的說法，認為人們一生初次罹患某一類型流感後，以後再感染流感時，除產生對此次流行的病原相應的抗體外，也同時刺激機體產生對初次感染的某一類型抗體。這種假設似乎是比較滿意的，但還需要更多的試驗加以證實。另外，上述試驗結果指出，流感病人血清的血凝抑制試驗所用之抗原，若以最近新分離的亞甲型病毒株代替標準株 FM 1，則會大大地降低血清學診斷的陽性率。

病人喉頭洗漱液的病毒分離工作最好於取得標本後立即進行，若因材料缺乏或其他原因之影響，亦有將標本保存起來，低溫冰凍(-70°C)保存能獲得滿意結果^[23-24]。但是，目前我國各個實驗室大都缺乏低溫冷藏的設備，而且我國地區遼闊，各地爆發流

行時，地方的衛生防疫部門如何運送洗漱標本確是很值得注意的實際問題。本報告證明陽性洗漱液保存於4°C 冰箱中 7 天後進行病毒分離，6/7 標本仍為陽性結果，其中一例竟能保存至 84 天。此項結果指出以普通冷藏條件(4°C) 保存或運送洗漱標本是能夠獲得比較滿意的結果的。當然，本試驗例數尚不多，其他如乙型丙型的經驗更缺乏，因此 4°C 保存各型流感洗漱標本是否也可獲得同樣良好的結果是值得進一步研究的。

流感病毒是病毒中最易變異的一種^[25-28]，不特由不同年或不同地區分離的同型的病毒株間的抗原性可能存在差異，即在同年同地分離的同型的病毒株，其抗原性往往亦具有或大或小的差異。大流行中分離的抗原性比較一致；而在局部流行灶中分離的病毒之間則有較大的差異^[4,29]，今年從局部流行灶中分離的病毒的抗原分析中亦觀察到同樣的現象。

關於 1956 年春與 1955 年分離的病毒的抗原關係是一個值得注意的問題，它們的抗原關係簡述如下：

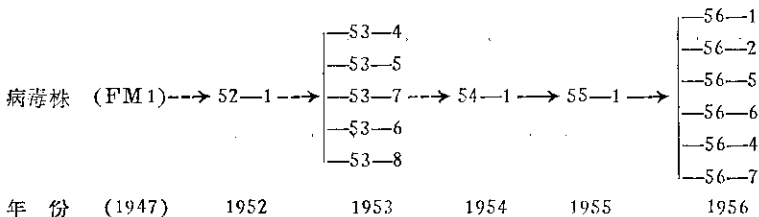
$$55-1 = 56-1 = 56-5 = K_4 = K_5$$

$$55-1 = 56-4$$

$$\text{但是 } 56-1 = 56-4 = K_4 = K_5 \approx 56-4$$

上述的抗原關係表明 1956 年春分離的各株流感病毒的抗原性存在一定的差異，而它們反與 1955 年分離的病毒一致，表面看來，似乎是矛盾的，實際則不然。可以設想，這些病毒可能都是從 1955 年的亞甲型病毒(以 55-1 為代表)演變而來的。流感病毒在人羣中的反覆傳播過程中，由於不同的客觀因素，特別是不同的居民免疫因素^[28,30]的影響下，因而形成在抗原性方面具有一定差別的病毒株是可能的，正因為新分離的病毒是從 1955 年的亞甲型病毒演變而來，所以各株新分離病毒的抗原性反與 55-1 病毒一致，不是沒有道理的。

本報告進一步觀察到北京近年來的亞甲型病毒的抗原性在漸漸演變中，它是隨着年份的增加而變化的，表現在相隔較遠的年代中分離的病毒間差異較大，而在相隔較近的年代中分離的病毒間差異較少甚而沒有差異。五年來，北京亞甲型流感病毒的演變過程可以用下列圖式代表之：



註： --> 抗原性相近，但有一定區別
 —> 抗原性一致

關於北京亞甲型流感病毒的演變過程，由於歷年分離的病毒不多，根據目前材料尚難以

肯定地作出結論。然而，這個假設是值得注意的。亞甲型流感病毒在天然的流行中演變過程的觀察基本符合於朱氏^[23]提出的模式。這些材料，證實了我們以前的觀察^[4]：歷年來分離的病毒間的抗原性是逐漸推移的，但是在一定時期內病毒可能比較穩定地保存其抗原性。

至於新分離的病毒與世界各地流行的病毒的抗原關係，由於缺乏近年來國外分離的病毒株，故無法進行比較。但是，新分離病毒 56—1 株經 Isaccs^[21] 研究，證明此病毒株具有與 A/England/1/53 (Scandinavian 53 病毒) 相同的抗原性。綜合近年來我國分離的亞甲型流感病毒在形態、生物學性狀及抗原性等方面的研究材料，說明這些病毒與世界各地分離的亞甲型病毒的性狀相符。

總 結

1. 1956 年 1 月於北京從局部流行灶的流感病人中分離出 7 株流感病毒經鑑定證明均屬亞甲型流感病毒。
2. 1956 年 3 月於開封分離的兩株流感病毒的抗原性與北京的新分離病毒一致，說明此種類型病毒同時在北京及開封地區廣泛的散播着。
3. 流感病人恢復期血清中的亞甲型抗體顯著增加，但對新分離病毒的抗體增加不如 FM 1 顯著。
4. 大多數陽性洗漱液標本保存於 4°C 水箱中一週後仍能分離出病毒，並對本試驗的實用意義加以討論。
5. 北京近年來亞甲型病毒的抗原性逐漸演變。本文對這些病毒的抗原關係及演變過程加以討論。

參 考 文 獻

- [1] Chang, H. T. (張學德) & Chiang, Y. T. (蔣豫圖): *Chinese Med. J.*, **68**: 185, 1950.
- [2] 沈鼎鴻、陳志潛、黃安華、吳麗君: 中華衛生雜誌, **3**: 366, 1955.
- [3] 朱既明、梁榮根、聞仲權、黃元桐: 中華醫學雜誌, **42**: 1097, 1956.
- [4] 梁榮根、黃元桐、聞仲權、朱既明: 中華醫藥雜誌, **43**: 247, 1957.
- [5] 薛鳳舉、王植齋: 中華醫學雜誌, **42**: 1103, 1956.
- [6] Taylor, R. M. & Chialvo, R. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. N. Y.*, **51**: 328, 1942.
- [7] 黃元桐、聞仲權、崔慶霜、汪富增: 微生物學報, **2**: 101, 1954.
- [8] 黃元桐、朱既明: 微生物學報, **4**: 175, 1956.
- [9] Chu, C. M., Andrewes, C. H. & Gledhill, A. W.: *Bull. World Hlth. Org.*, **3**: 187, 1950.
- [10] 聞仲權、朱既明: 微生物學報, **4**: 167, 1956.
- [11] Chu, C. M., Dawson, I. M. & Elford, W. J.: *Lancet*, **1**: 602, 1949.
- [12] 黃元桐、梁榮根、湯飛凡: 微生物學報, **5**: 217, 1957.
- [13] Hirst, G. K.: *Diagnostic Procedure for Virus & Rickettial Disease* 5th ed. p. 93, 1948.
- [14] 朱既明: 微生物學報, **1**: 17, 1953.
- [15] Finland, M. & Barnes, M. W.: *J. Infect. Dis.*, **97**: 48, 1955.

- [16] Comm. on Acute Resp. Dis., *Am. J. Hyg.*, **48**: 292, 1948.
- [17] Hirst, G. K.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **58**: 155, 1945.
- [18] Фадеева, П. П.: 微生物譯報, **2**: 179, 1955.
- [19] Takemoto, K. K., Lynt, R. K., Rowe, W. P., Huebner, R. J., Bell, J. A., Mellin, G. W. & Davis, D. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **89**: 308, 1955.
- [20] Burnet & Stone, Van Rooyen & Rhodos: *Virus Diseases of Man*, 2nd ed. p. 666, 1948.
- [21] 聞仲權：未發表資料。
- [22] Davenport, F. M., Hennessy, A. V. & Francis, T. Jr., *J. Exp. Med.*, **98**: 641, 1953.
- [23] Hirst, G. K.: *J. Imm.*, **45**: 293, 1942.
- [24] Taylor, R. M. & Parodi, A. S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **49**: 105, 1942.
- [25] Andrewes, C. H.: *Bull. World Hlth. Org.*, **8**: 595, 1953.
- [26] Hilliman, M. R.: *Annual Rev. Microb.*, **8**: 311, 1954.
- [27] Соколов, М. И.: 微生物譯報, **3**: 35, 1956.
- [28] 朱既明：微生物譯報, **3**: 7, 1956.
- [29] Ритова, В. В. и Закстелькая, Л. Я.: 微生物譯報, **2**: 164, 1955.
- [30] Смородинов, А. А.: 微生物譯報, **2**: 156, 1955.
- [31] Isacss, A. 私人通信。

1956 PEKING INFLUENZA EPIDEMIC: VIRUS ISOLATION AND ANTIGENIC ANALYSIS

LIANG YUNG-KEN and TANG FEI-FAN

National Vaccine and Serum Institute, Peking

During an outbreak of influenza in Peking, January 1956, 7 strains of influenza virus out of 11 throat washings of patients were isolated in chick embryos. Most of the specimens had been put away in the refrigerator at 4°C. for 7 days and 1 for 84 days but still yielded positive result. All of the 7 strains recovered were found to be A-prime virus serologically. One strain (56—1) was subjected to antigenic analysis by hemoagglutination-inhibition test against the acute and convalescent sera of 10 patients collected during the epidemic and it was disclosed that there was a definite rise of 56—1 and the standard FM1 antibodies in the convalescent sera but the rise was greater for the latter than the former. The result of hemoagglutination-inhibition with chicken immune sera prepared against PR8, Lee, FM1, 1233, one strain each for the years of 1953, 1954 and 1955 and 4 strains recovered in 1956, revealed that there seemed to be a gradual changing of the strains in the antigenic pattern away from FM1 as the years advanced. One of the virus strains isolated in 1956 was micrographed under an electron microscope with a result that both the corpuscular and filamentous forms were shown. A study of 2 strains of the virus isolated in March 1956 in Kaifeng, Honan, gave rise to identical result as those isolated in Peking.