

1956—1957年南昌市流行性感胃的病原學

戴華生

(江西省衛生防疫站, 南昌)

流行性感胃(以下簡稱流感)的病原學研究,對於預防上具有重要的意義。我國解放後,由於黨和政府重視人民健康,大力開展預防工作,各方面對流感的病原學研究,相繼有所報告。我們由1956年5月間及1957年3—4月間南昌市發生流感流行時開始病毒分離工作,自流感患者中分離出7株病毒。但以缺乏工作經驗,所收集的資料不多。茲將兩年來南昌市流感流行情況及病毒分離鑑定的基本材料報告於後。

流行情況

(1) 1956年5月間南昌市曾有流感限局性流行,我們選擇了某某工廠進行了比較詳細的調查。自5月23日起該廠職工中即有急性上呼吸道病例出現,至6月7日疫勢逐漸上升,同一日中發生病例67人。直至6月21日疫勢下降,流行經過30天。在該廠的患病率為20.2%。

臨床症狀方面:根據初期105例患者統計,多為發病急驟、高熱、頭痛、四肢酸痛、流鼻涕、咳嗽,半數有扁桃體淋巴腺炎,少數有眼結合膜炎。白血球減少(平均3,800—5,000)。病程一般為3—4天,部分病例長達6—7天。癒後一般有身體瀟弱,食慾不振等現象。

(2) 1957年3月以來流感,在南昌市發生廣泛性的大流行。我們選擇了某某學校和1956年曾發生流感的某某工廠進行了調查,其情況如下:

某某學校本年3月28日開始流感流行。全校1,298人中有657人發病,患病率為50.6%。

某某工廠本年3月24日開始僅有患者11例,至4月3日病例數達313例之多。患病率佔全廠職工約50%以上。

臨床症狀方面:根據初期950例患者統計,多數為發病急驟,高熱(平均 39°C),頭暈全身酸痛,無力,流鼻涕,咳嗽,咽痛,咽紅腫,眼結合膜炎,流淚,食慾減退。約有1%有神經症狀,如輕度昏迷、譫妄等。少數有咳血,牙出血,個別的合併有肺炎或腹痛下瀉等,但無死亡者。白血球減少(平均4,500—6,000)。病程經過3—5天,平均4天。癒後健康稍有影響,少數人有身體衰弱,食慾不振及輕度咳嗽。某某工廠1956年曾患流感者去年亦有病例發生,惜無詳細統計數字。

試驗材料與方法

(一)病毒分離:

材料的採取:選擇病程初期的流感患者(1—3天以內),以12毫升鹽水肉湯液(pH 7.4

—7.6), 使患者含嗽後吐回管內。取得材料如不能在當天接種雞胚, 即保存於 -30°C 冰箱中。

病毒分離: 將上述咽喉嗽洗液加入青黴素及鏈黴素(按每個雞胚 200—400 單位計算) 之後, 每例材料接種於曾在 39°C 內孵育 10—14 天的雞胚 4—6 個。接種方法為羊膜腔及尿囊腔接種。每個雞胚注入羊膜腔 0.15 毫升, 注射尿囊腔 0.15 毫升。置 35° — 36°C 孵箱內, 直立孵育 48—72 小時後取出放於 4°C 冰箱中過夜冷卻。分別收獲雞胚的羊水及尿液, 用以進行血球凝集試驗^[1]。呈陽性血凝反應的羊水或尿液一部分冰凍乾燥保存, 另一部分再傳入雞胚尿囊腔中, 2—3 代後即行分型鑑定。如第一代血凝反應陰性時, 則連續盲目傳代至第三代仍為陰性反應者即棄去。

(二) 分型鑑定:

(1) 相互血球凝集抑制試驗:

免疫血清是用流感標準毒種甲型(PR_8), 乙型(Lee), 亞甲型(FM_1)及新分離的 7 株病毒免疫大白鼠而製成。血清按倍比稀釋由 1:10 起, 通常多稀釋至 1:1280 左右。血清量為 0.25 毫升, 病毒量亦為 0.25 毫升, 再加入 0.5% 雞血球 0.25 毫升, 在室溫內 $\frac{1}{2}$ 及 1 小時各觀察結果一次。血凝抑制效價是以血清最高稀釋度管中無血凝現象者為抑制點。

(2) 補體結合試驗:

用新分離病毒的受染雞胚絨毛尿囊膜製備可溶性抗原, 與標準毒種甲型、乙型及亞甲型的豚鼠免疫血清, 用通常方法^[2]進行補體結合試驗。

(3) 中和試驗:

免疫血清如前血凝抑制試驗所述之方法製備。用正常大白鼠血清作為對照。試驗方法, 主要根據 Casals^[2] 氏法。

試 驗 結 果

(一) 病毒分離:

(1) 1956 年 5 月南昌市郊某某工廠發生限局性的流感流行時, 我們在 5 例成年患者咽喉嗽洗液中分離得病毒 1 株。因當時無條件進行初步鑑定, 經傳代三次後即用冰凍乾燥法保存, 迄至 1957 年方一併鑑定。

(2) 1957 年 3—4 月間流感在南昌市發生廣泛性的大流行, 我們從南昌市兩個單位, 採取了 34 份患者咽喉嗽洗液標本, 陸續分離得病毒 6 株(見表 1)。為了便於敘述起見, 病毒命名均按分離年代與先後次序編號, 如 1957 年分離的 57-1, 57-2……等。

(二) 分型鑑定結果:

1. 相互血凝抑制試驗結果: 相互血凝抑制試驗結果詳見表 2。其中 56-1 株的免疫血清能抑制 FM_1 病毒抗原, 效價為 1:640。而 FM_1 的免疫血清亦能抑制 56-1 株病毒抗原。但其效價較低為 1:320。證明 56-1 株病毒屬於亞甲型。另外 1957 年新分離的 6 株病毒(57-1—57-6)的免疫血清對 PR_8 、Lee 及 FM_1 病毒抗原並無血凝抑制作用, 同樣地以上標準流感病毒的免疫血清對六株新分離病毒抗原亦無抑制作用, 但 6 株新分離病毒相互間的血凝抑制效價平均在 1:640 左右。這說明去年新分離 6 株病毒的抗原性質是一致的。以後我們用去年新分離病毒中的 3 株病毒(57-1, 57-4, 57-6)抗原與北京中央生物製品研

究所, 去年所分離的流感病毒張 57-4 株的免疫血清進行血凝抑制試驗, 核對的結果, 其血凝抑制效價均在 1:640 以上。指出去年南昌市新分離病毒屬於同一類型。這裏要說明的是大白鼠血清的非特異性抑制素的情況; 用作免疫的大白鼠在未免疫之前的正常血清, 及每次試驗時用作對照的正常大白鼠血清, 經 56°C 加溫 30 分鐘處理後, 其 1:1 稀釋度並無非特異性的抑制效價。故每次試驗中所用的大白鼠免疫血清亦用加溫方法處理, 除去非特異性抑制素。但張 57-4 株的免疫血清是用霍亂濾液處理除去的。

表 1 1956—1957 年從南昌市流行性感胃患者中分離病毒的結果

病毒編號	地點及單位	發病年月	患者姓名	性別	年齡	臨床診斷	病 毒 分 離			病毒 型別
							採標本時 患者病程 日 數	標本名稱	血凝陽性 時通過鵝 胚代數	
56-1	南昌市郊某某工廠	1956年 5 月	張 某	女	20	流感	1	咽喉嗽洗液	1	亞甲型
57-1	南昌市某某學校	1957年 3 月	彭 某	男	22	流感	1	咽喉嗽洗液	1	甲 型
57-2	南昌市某某學校	1957年 3 月	劉 某	男	19	流感	1	咽喉嗽洗液	2	甲 型
57-3	南昌市某某學校	1957年 4 月	丁 某	男	16	流感	2	咽喉嗽洗液	1	甲 型
57-4	南昌市某某學校	1957年 4 月	劉 某	女	20	流感	2	咽喉嗽洗液	1	甲 型
57-5	南昌市郊某某工廠	1957年 4 月	王 某	女	成人	流感	3	咽喉嗽洗液	1	甲 型
57-6	南昌市郊某某工廠	1957年 4 月	邱 某	女	成人	流感	3	咽喉嗽洗液	1	甲 型

表 2 相 互 血 凝 抑 制 試 驗 結 果

免疫血清 病毒抗原	PR ₀	Lee	FM ₁	56-1	57-1	57-2	57-3	57-4	57-5	57-6	張57-4
PR ₀	1280	20	20	10	20	40	40	20	10	40	—
Lee	20	640	40	10	40	40	40	20	10	40	—
FM ₁	40	10	1280	640	80	40	80	40	20	20	—
56-1	20	10	320	1280	40	20	80	80	40	40	—
57-1	40	10	80	10	640	320	640	640	320	640	640
57-2	20	40	10	20	320	1280	320	320	640	320	—
57-3	80	20	40	20	320	640	640	320	320	320	—
57-4	40	10	80	20	640	320	640	640	640	640	640
57-5	40	20	40	10	320	320	320	640	640	320	—
57-6	80	10	40	20	1280	640	1280	640	640	640	1280

2. 補體結合試驗結果: 以新分離7株病毒的可溶性抗原與含可溶性抗體的標準毒種免疫血清進行補體結合試驗。 結果證明 56-1 株含有亞甲型可溶性抗原, 其抗原效價為 1:32。而去年新分離的 6 株病毒與甲型血清均呈陽性反應, 抗原效價為 1:4—1:16 之間, 而與乙型血清均不結合。這證明 1956 年新分離病毒含有甲型的可溶性抗原成分, 但抗原滴度不高。

此外也曾用去年分離的3株病毒(57-1, 57-4, 57-6)的可溶性抗原與張 57-4 株的免疫血清進行補體結合試驗。核對結果, 其抗原效價均在 1:8 以上。 此點, 進一步說明 1957 年南昌市新分離的 6 株流感病毒與 1957 年 3 月間北京、張家口、洛陽及長春等地分離的甲型病毒是一致的^[3,4]。

3. 中和試驗結果: 爲了進一步確定 7 株新病毒的類型及其抗原性質, 我們曾將新分離病毒的免疫血清與標準毒株甲型、乙型及亞甲型進行中和試驗。結果 56-1 株的免疫血清對亞甲型病毒的中和指數爲 100 而 1957 年分離 5 株病毒的免疫血清對甲型病毒的中和指數均在 100 以上。

(三) 患者血清學試驗結果:

1957 年 3—4 月間南昌市流感流行時, 曾採取 17 例患者初期及恢復期雙份血清, 分別與甲型、乙型、亞甲型、56-1 及 1957 年新分離的兩株病毒(57-1, 57-6)抗原進行血凝抑制試驗。其結果所有 17 個患者的血清對以上 6 株病毒均無抗體增長。

另外又將 6 例患者雙份血清與甲型、乙型及 1957 年新分離的兩株病毒(57-1, 57-6)的尿囊膜可溶性抗原進行補體結合試驗。結果有 4 例患者恢復期血清對甲型及 57-1, 57-6 株的抗體顯著增長($4 \times -32 \times$), 但對乙型抗體沒有增長。

討 論

由以上各種資料, 可以看出 1956 年分離的一株病毒(56-1)屬於亞甲型。而從 1957 年新分離 6 株病毒的可溶性抗原及中和抗體上來識別則仍然屬於甲型, 但病毒本身的抗原性和以往甲型中之原甲型(PR_8)及亞甲型(FM_1)等均有顯著不同。因此在血凝抑制試驗中, 完全看不出新病毒與以前甲型病毒有何關係, 但很明顯的是新分離之 6 株甲型病毒的抗原性是一致的。

從病毒鑑定上, 可以看出不能單用血凝抑制試驗一種方法, 同時亦說明只用原種 PR_8 病毒來鑑定新分離出來的甲型病毒是不太適宜的。故最好用最近流行的毒株來製備抗原或免疫血清用於鑑定上較爲適合^[5]。

另一方面也使我們注意到, 在流感病毒的鑑定方法上, 除了補體結合試驗是有明顯的優越性之外, 中和試驗亦有分型診斷決定性的價值。

在患者血清的血凝抑制試驗方面, 不僅不能顯示與標準甲型有抗體增長證明其型特异性, 即 1957 年流行中分離的新病毒亦不顯現抗體增長。這是否由於用作抗原的新病毒株均屬於 II 相之故, 抑或病毒本身的抗原性弱, 尚需加以研究^[6]。

1957 年南昌市所分離的 6 株新病毒的試驗結果, 與同年 3 月間北京、張家口、洛陽及長春等地所分離的甲型病毒的抗原性大致相同^[3,4]。這不獨說明 1957 年 3—4 月間南昌市流感大流行的病原爲同一新甲型病毒。也可以看到 1957 年 2—3 月以後, 流感在我國各地廣泛流行, 南昌亦爲同一病毒流行的部分。

總 結

(一) 1956 年 5 月於南昌市從限局性流行灶的流感患者中分離出一株流感病毒, 經鑑定證明爲亞甲型流感病毒。

(二) 1957 年 3—4 月間於南昌市流感大流行時分離得 6 株流感病毒其抗原性與北京、張家口、洛陽及長春等地區同時新分離的甲型流感病毒一致。

(三) 關於 7 株病毒的分離與鑑定技術作了簡要的介紹, 並證明流感病毒的鑑定方法上用補體結合試驗和中和試驗較之用血凝抑制試驗具有明顯的優越性。

- 註：(1) 本文承朱既明教授在百忙中兩次來函指導，並委托北京中央生物製品研究所供給標準流感血清，幫助很大，特致謝忱。
- (2) 在工作開始時由南昌市站協助以及本站領導上的支持亦提出謝意。

參 考 文 獻

- [1] Chu, C. M., Gledhill, A. W. and Andrewes, C. H., *Bull. World Hlth. Org.*, **3**: 187, 1950.
- [2] Шубладзе, А. К. Гайдаповия, С. Я.: Краткий курс практической вирусологии: 301—320. 1954.
- [3] 朱既明等：科學通報，1957 年第 12 期，373 頁。
- [4] 梁榮根等：科學通報，1957 年第 13 期，405 頁。
- [5] Woolridge, R. L., Demio, J. L., Whiteside, J. E. and Seal, J. R. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **88**: 430—435, 1955.
- [6] A. Isaacs & C. H. Andrewes, *Brit. Med. J.*, **2**: 921, 1951.

ETIOLOGICAL STUDY OF 1956—57 INFLUENZA EPIDEMICS IN NANCHANG

TAI HUA-SHENG

(Kuangsi Health and Quarantine Station, Nanchang)

During the outbreak of influenza in the municipality of Nanchang in May, 1956, a strain of type A' virus was isolated. On the other hand, during the epidemic in March and April, 1957 in the same city, 6 strains of influenza virus identical to those isolated in the same year from Peking, Changchiakow, Loyang, and Chanchun were found. During the study, it was also found that the complement fixation and neutralization tests showed up the antigenic differences better than the hemagglutination-inhibition test.