

# 简报

## 流行性腮腺炎病毒分离研究的初步报告\*

吴慎 吴士芳

(中国人民解放军第302医院检验科)

我们从流行性腮腺炎成人患者发病后不同时间的唾液中进行了分离病毒,并对鉴定用的抗原及免疫血清制备方法进行了初步研究,兹将结果扼要汇报如下:

### 一、方法

(一) 标准抗原: 已知毒株(Enders 104 代尿囊适应的干燥毒株)由北京卫生部生物制品检定所供给。将病毒用普通肉汤作  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$  稀释后,接种于 7—8 天胚龄的鸡胚尿囊腔内,放在  $34.5-36^{\circ}\text{C}$  孵箱内 5—7 天,将血凝效价达到 1:160 以上的尿囊液或羊水,作为抗原。

(二) 免疫血清: 采用 300—400 克雄性豚鼠 2 只和 1.5 公斤左右的当年出生的雄性莱亨鸡 1 只的免疫血清。

(三) 血凝试验和血凝抑制试验: 参照 Salk 氏法滴定血凝效价。血凝抑制试验方法大致与 Robbins 氏等的改良 Salk 氏法相同。

(四) 补体结合试验: 采用微量操作法<sup>[1]</sup>,总量 0.6 毫升。

(五) 病毒分离及鉴定方法: 标本采自流行性腮腺炎患者唾液,加入 1/3 或 1/2 量的普通肉汤,混合均匀后,以每分钟 3000 转离心沉淀 5—10 分钟,吸取上清,每毫升上清加青霉素 1000 单位及链霉素 1000 微克,放室温 30 分钟(亦可放  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱内 1—2 小时),即可感染鸡胚。隔日采集唾液标本 1 次,对每例患者共采 4 次。所有标本均以鸡胚羊膜腔接种法分离病毒,操作方法开始初期采用孙氏<sup>[1]</sup>介绍的 Taylor 及 Chialvo 两氏法,后来改用了暗室光视鸡胚羊膜腔接种法<sup>[2,3]</sup>,每份标本接种 7—9 天胚龄的鸡胚 8—10 个,接种量为每个鸡胚 0.15 毫升,接种后将鸡胚放入  $34.5-36^{\circ}\text{C}$  孵箱内培育 6—7 天,取出放  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜,

分别收获其尿液和羊水作血凝试验、抑制试验。如血凝为阴性或其滴度低,则继续传代以提高滴度,若第三代仍无血凝出现,则以阴性处理。

### 二、结果和讨论

(一) 标准抗原的保存: 在保存血凝抗原的试验中,我们采用了 3 种不同的防腐剂,即 50% 中性甘油,0.1% 福尔马林,1/10,000 硫柳汞。根据表 1 列举的结果来看,于  $-6-8^{\circ}\text{C}$  保存 1 年左右以后,以 50% 中性甘油为最好,不形成沉淀而且其血凝滴定又稳定。

表 1 三种防腐剂保存对抗原血凝效价的影响

测定时间	50% 中性甘油	0.1% 福尔马林	1/10,000 硫柳汞
1959. 3.19.	1:320	1:320	1:320
1959. 4.18.	1:320	1:320	1:20
1959.12.29.	1:320	1:80	—
1960. 1. 5.	1:320	—	—
1960. 2.15.	1:320	—	—
沉淀物形成	无	有	有

注: 1. 另有两批抗原亦用 50% 中性甘油防腐,其效价亦保持在一年以上。

2. “—”示未做。

(二) 免疫血清效价与制备方法的关系: 为了获得高效价的免疫血清,我们以不同免疫方法在不同种类动物上进行了比较。免疫时单用鼻腔吸入和采用鼻腔吸入与肌肉注射结合两种方法。实验动物为鸡和豚鼠。每只豚鼠鼻腔吸入病毒尿液(血凝效价为 1:320) 0.5 毫升,10 天后又于腿肌注射 50% 病毒羊毛脂(1 克羊毛脂加 9 毫升液体石蜡)乳状液 1 毫升。于鸡胸肌注射 50% 病毒羊

本文 1962 年 6 月 28 日收到。

\* 本文蒙本院黄玉兰主任审改,特此致谢。

表2 鷄与豚鼠血清效价比較

免疫后 天数	試驗方法	免疫血清及其效价		
		鷄	豚鼠3	豚鼠5
10	血凝抑制 补体結合	1:80 <1:2	1:80 <1:2	1:80 <1:2
16	血凝抑制 补体結合	1:320 <1:2	1:640 1:128	1:640 1:128
28	血凝抑制 补体結合	1:320 <1:2	1:1280 1:256	1:1280 1:512
35	血凝抑制 补体結合	1:320 —	1:640 —	1:640 —

注：“—”示为未做。

毛脂乳液2毫升。10天后又于胸肌注射病毒尿液1毫升。于免疫后相隔10、16、28、35天各

采血1次，与分离的血清做血凝抑制試驗和补体結合試驗。試驗前先用1:2或1:10稀释，再以56℃30分或60℃20分灭活。

以不同动物制备的免疫血清于不同時間取血而滴定的結果列于表2。

从表2可看出豚鼠免疫血清比鷄免疫血清效价高，鷄免疫血清只見血凝抑制抗体增高，而未見补体結合抗体升高，其原因需进一步研究。

以吸入和注射結合免疫与单用鼻腔吸入免疫法制备的結果列于表3。看来，用两种結合的方法免疫时，豚鼠血清效价無論血凝抑制抗体或补体結合抗体均比单用吸入法免疫时为高。

(三) 分离病毒与病期的关系：我們自本院住院的19例流行性腮腺炎患者中共采集60份唾液标本，其中22份在发病后2—4天内采集，38份在发病后5—10天内采集。結果从6个病例分离

表3 單用鼻腔吸入法与鼻腔吸入和肌肉注射二者結合法制备免疫血清抗体效价测定之結果

采血日期	鼻腔吸入法				鼻腔吸入与肌肉注射結合法			
	豚鼠 编号	血凝 抑制 試驗 (效价)	补体結合試驗 (效价)		豚鼠 编号	血凝抑 制試驗 (效价)	补体結合試驗 (效价)	
			病毒 抗原	可溶性 抗原			病毒 抗原	可溶性 抗原
免疫前	1	1:40	<1:8	<1:4	4	1:20	<1:8	<1:4
	2	1:40	<1:8	<1:4	6	1:20	<1:8	<1:4
免疫后 第一周	1	1:320	1:8	1:8	4	1:160	—	—
	2	1:160	<1:8	<1:4	6	—	—	—
第二周	1	1:320	<1:8	<1:4	4	1:320	<1:8	<1:4
	2	1:80	<1:8	<1:4	6	1:640	1:128	1:16
第三周	1	1:320	<1:8	<1:4	4	1:640	—	—
	2	1:40	<1:8	<1:4	6	1:1280	1:512	1:64

到10份病毒。其中6份是从发病后2—4天，2份从同一病人发病后分別在第6、第8天所取的唾液中獲得，有5份是在鷄胚第一代出現阳性，另5份是在第二代出現阳性。

从病毒分离結果来看，发病后4天内分离阳性率較高(8/21)，但第6、第8天亦可分离出病毒。因此，其結果与Leymasser, Kilham, 王大江<sup>[4]</sup>等氏的报告相似。

### 参 考 文 献

- [1] 孙望楚：临床檢驗杂志，第6号，17頁，1958。
- [2] 北京协和医院檢驗科：病毒診斷手册，96頁，1960。
- [3] 吳愼：人民軍医，8:51，1960。
- [4] 王大江，孙望楚，方珍，杜叔明：中华医学杂志，1:18，1958。