

1187 1113

042<sub>2</sub>

143384

# 學術資料彙編

1949年 1957年

內部資料·注意保存

大連生物制品研究所

# 前 言

八年以來，由於黨的正確領導和全體工作人員的努力，我所在科學研究工作方面取得了顯著的進展。這本資料彙編就是在這一段時期內學術研究成果的基本總結。

我們編印這本彙編的目的，一方面是爲了對以往的科學研究工作來一次檢閱，藉以明瞭我所研究工作的方向，成績和缺點以及今後的改進方法；另一方面是爲了某些未能發表的資料，生產試驗總結或經驗免遭散失，彙訂成冊，以便於保存。

全編內容主要是論文，一部分是學習蘇聯規程總結，歷史文件、生產技術的改進和重要的合理化建議。在編排形式上，我們採用了按產品性質分類的方法，並且把一部分已經在國內有關雜誌或本所彙刊上刊登過的文章寫成摘要一併列入，從而可以看出全貌。

毫無疑問，這些材料絕大部分是密切結合着生產的，不僅對我所生產起到了指導作用，爲提高生物制品質量，改進生產技術作出了有益的供獻，而且還推動了學術研究工作，在黨的領導、扶植下使學術氣氛得到了不斷的高漲，爲向科學進軍樹立了一個良好的開端。但是，從另一方面來說，在這些論文之中，我們也不難看出，有的水平還不够高，有的論據還不够充分，系統性研究工作較少，和流行病學的結合沒能全面開展，我們除了希望國內專家、同道給予指教外，仍須進一步的努力使我們的研究工作做得更好更多，爲在不太長的時間內趕上或超過國際水平而奮鬥。

大連生物制品研究所  
1957年10月1日

## 目 次

## 一、菌 苗 部 分

1951年由遼東通化某醫院患者分離的一部分沙門氏菌的菌型鑑定	方景燦 周勳	1
1954—1955年由東北地區幾個主要城市收集的沙門氏菌的菌型鑑定(摘要)	方景燦 羅真祖 馬占瑞	4
由乾蛋品中分離的一些沙門氏菌的菌型鑑定	方景燦 車玉翠	5
關於旅大市之 Salmonella "C" 症(摘要)	濱野滿雄	6
大連家蠅的季節分佈對於腸胃傳染病發生相互的關係(摘要)	張宗葆	6
旅大市三年(1953—55)痢疾菌型分佈的報告(摘要)	周惠民 劉春山 施文采 周恩英 蔣競武	7
從鼠體內分離出宋內氏痢疾菌的報告(摘要)	康白 周惠民	8
瀋陽市1954年痢疾菌型分佈的報告(摘要)	周惠民 施文采 周恩英	9
長春市1954—55年痢疾菌型分佈的報告(摘要)	周惠民 蔣競武 施文采 周恩英	9
桿菌痢疾帶菌者調查的初步報告(摘要)	李光祖 李應乾 馬占瑞 周惠民 周恩英 施文采	10
家蠅與紅頭蠅帶菌試驗報告(摘要)	周惠民 張宗葆	11
家兔自然抗體含量和腸系菌苗用菌種抗原性試驗結果的比較試驗	周海清 方景燦	12
關於腸道菌苗菌種的雜質素試驗	方景燦 周海清	15
丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的研究(一)(摘要)	濱野滿雄	21
丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的研究(二)(摘要)	濱野滿雄 趙永林 周勳	24
丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的研究(三)(摘要)	濱野滿雄 孫盛綱 趙永林 周勳	26
傷寒沙門氏菌的菌型及其應用的研究	中村義治	27
不分解乳糖的宋內氏痢疾菌變種(摘要)	周惠民 蔣競武	33
分離痢疾桿菌的一種改良 Leifson 氏培養基	周惠民 劉春山	34
超聲波菌苗的研究		
I. 單價霍亂菌苗之實驗	山內豐紀 崔錦家	37
II. 超聲波作用一定時間的霍亂菌苗之效果	山內豐紀 崔錦家	47
III. 超聲波霍亂上清菌苗之抗原性	山內豐紀 崔錦家	59
IV. 以總氣量窺查超聲波霍亂上清菌苗的抗原性	山內豐紀 崔錦家	65

V. 關於超聲波霍亂上清菌苗檢定結果之判定	山內豐紀 崔錦家 劉樹茂	70
VI. 傷寒、甲、乙型副傷寒及霍亂四種混合菌苗		80
(一) 各單價菌苗的實驗成績	山內豐紀 崔錦家 劉樹茂 閻世德	80
VII. 傷寒、甲、乙型副傷寒及霍亂四種混合菌苗		92
(二) 傷寒與霍亂混合菌苗的實驗成績	山內豐紀 崔錦家 劉樹茂 閻世德	92
VIII. 不同溶媒的超聲波霍亂菌苗的抗原性	山內豐紀 崔錦家 劉樹茂 閻世德	99
本所各種菌苗製造之回顧		104
傷寒、副傷寒甲乙三聯菌苗接種人體和動物後的反應及對動物接種後 免疫效價的測定 (摘要)	應詩敏 馬占瑞 吳金福 李光祖	112
關於用甘油瓊膠培養基製備沙門氏菌屬因子血清用的吸收菌	方景燦 車玉翠	113
關於用馬大量生產沙門氏菌屬診斷血清	濱野滿雄 方景燦 周景中	119
福氏痢疾桿菌因子血清的試製	方景燦 張含余 車玉翠	125
診斷用品實習班技術總結		
1. 痢疾菌蘇聯分類小組試製痢疾菌分型血清總結		129
2. 痢疾菌國際分類小組試製痢疾菌分型血清總結		142
3. 沙門氏菌組試製沙門氏菌因子血清總結		155
4. 傷寒副傷寒及變形桿菌 OX <sub>19</sub> , OX <sub>2</sub> , OX <sub>k</sub> 診斷菌液的健康 人血清凝集試驗		197
5. 痢疾菌在蘇聯分類中各相應菌型的血清學比較試驗初步報告		201
6. 沙門氏菌屬因子血清製備中吸收時間和溫度的比較試驗		207
* * *		
小白鼠和豚鼠對於鼠疫菌免疫力的差異 (摘要)	高橋秀雄 劉宗漢	212
鼠疫活菌苗苗種之保護力試驗	劉宗漢 王樞群 劉樹茂 孫耀東 徐洪太 孫心華	212
鼠疫活菌免疫力動物實驗成績報告 (摘要)	劉宗漢 高橋秀雄	213
乾燥鼠疫活菌苗的保存溫度及時間對活菌數的影響 (摘要)	劉宗漢 劉樹茂 林世德 劉慧瓘 李德有	213
乾燥鼠疫活菌苗保存溫度對活菌數的影響	王樞群 王克仁	214
採用新採種法提高鼠疫活菌數及產量的試驗 (摘要)	劉宗漢 劉依生 劉彩繁	217
提高鼠疫活菌數及產量所用培養基的選擇 (摘要)	劉宗漢 劉依生 劉彩繁	217

鼠疫菌通氣培養初步實驗報告	王樞群 李培誠 王克仁	218
乾燥鼠疫活菌苗應用皮上，皮下接種人體後的反應觀察	馬占瑞 官希珍 劉大剛	226
* * *		
死卡介苗代替結素的應用 (摘要)	李光祖 李應乾 馬占瑞	228
卡介苗皮上試驗 (摘要)	魏文彬 鄭寶雲	229
口服卡介苗使用方法試驗 (摘要)	李光祖 馬占瑞 李應乾	229
* * *		
廣東新會、江門、中山地區鉤端螺旋體病的調查報告	馮第楷 陳炯然 馬占瑞 史鵬遠 劉玉玲 周勳 崔錦家 魏曦	230

## 二、疫苗部分

學習蘇聯斑疹傷寒疫苗法規後生產工作總結		239
地方斑疹傷寒毒種分離及鑑定進行情況		248
皮膜吸虱法研究總結		249
斑疹傷寒疫苗人體反應		250
關於大連地方分離斑疹傷寒毒種的研究工作總結報告		252
大連市鼠型斑疹傷寒立克次氏體“H”株之分離報告	孫盛豪	271
在動物皮膜上飼養及感染人虱	魏 曦 張婉荷	277
關於改變人虱嗜血習性的研究	魏 曦 范明遠	280
消除斑疹傷寒立克次氏體補體結合抗原的抗補體性質的試驗	劉純榮 魏文彬	283
試用 ACTH 提高斑疹傷寒毒種的毒力試驗	劉純榮 魏文彬	286
斑疹傷寒診斷液		
I. 流行性及鼠型斑疹傷寒的立克次氏體“凝集反應”	岡本良三	288
II. 健康人血清的立克次氏體“凝集反應”與外裴氏反應比較試驗	岡本良三 孫盛豪 范明遠 朱文杰 韓秀英	295
III. 斑疹傷寒家兔免疫血清的立克次氏體“凝集反應”	岡本良三 朱文杰 孫盛豪 范明遠 韓秀英	298
IV. 斑疹傷寒流行時期病人及健康者血清的立克次氏體“凝集反應”	岡本良三 范明遠 孫盛豪 朱文杰 韓秀英	300
利用超聲波處理的斑疹傷寒診斷抗原“凝集反應”之初步報告	范明遠 邢文新 崔錦家	304
乾燥斑疹傷寒疫苗的研究 (初步報告)	孫盛豪 朱文杰	309
斑疹傷寒兔肺疫苗	范明遠 魏文彬	313
使用克化蟲種製造斑疹傷寒疫苗的初步報告	魏 曦 范明遠	319

關於斑疹傷寒疫苗效力的研究 (摘要) .....	高子珍 鄧鏡西	321
旅大市 1953 年乙型腦炎流行情況 .....	薛慶樞 李光祖 范明遠 屈書田	322
旅大市流行性乙型腦炎隱性感染之初步調查 .....	王成棟 魏文彬	331
流行性乙型腦炎病毒在豚鼠血中出現時間的觀察 (摘要) .....	王成棟 魏文彬	334
旅大市流行性腦炎病原之判定 (摘要) .....	王成棟 李 劼 司穉東 顧秀甲 魏文彬	334
尖音庫蚊攜帶流行性乙型腦炎病毒越冬試驗 .....	魏文彬 王成棟 張宗葆 孫 鐸	335
由大連市區住宅與牛舍蚊體中分離出流行性乙型腦炎病毒 (摘要) .....	魏文彬 李劼 張宗葆 孫鐸	340
東鄉氏伊蚊及淡色庫蚊感染流行性乙型腦炎病毒試驗 (摘要) .....	魏文彬 王成棟 張宗葆 張瑞平	341
東鄉氏伊蚊感染流行性乙型腦炎病毒試驗 (續報摘要) .....	李劼 魏文彬 張宗葆 孫鐸	342
聖路易腦炎病毒之保存試驗 .....	張婉荷 魏文彬	343
乾燥牛痘苗的大量生產與効價的研究 .....	魏 曦 李福聲 張婉荷	346
嬰兒接種牛痘苗的觀察報告 .....	李應乾 馬占瑞	354

### 三、噬菌體部分

幾種抗生素與痢疾噬菌體配合作用的初步研究 .....		359
(一) 噬菌體在微量抗生素的配合下對再生菌的抑制作用 (摘要) .....	司穉東 于智麗	359
旅大市某工廠使用痢疾噬菌體預防痢疾的效驗調查 .....		360
痢疾噬菌體預防效驗的調查 .....		362
試用痢疾噬菌體預防桿菌痢疾 (摘要) .....	司穉東 李應乾	365
痢疾噬菌體治療桿菌痢疾臨床報告 (摘要) .....	司穉東 李應乾 于智麗 劉祥運 倪大石 施培福 洪加浩 張道生	366
1953—1955 年在旅大地區所分離的 672 株痢疾桿菌對噬菌體裂解的 感受試驗 .....	于智麗 車繼樸	367
痢疾噬菌體成品對自患者分離之痢疾菌的裂解效能 .....	賈鴻舉	371
茶對噬菌體效價影響的初步試驗 .....	徐烈英	376
人糞痢疾噬菌體吸附作用的初步研究 (摘要) .....	司穉東 于智麗	378
口服痢疾噬菌體在人體腸道內存留時間及其由身體排出途徑的觀察 (摘要) .....	司穉東 于智麗	378
口服及注射痢疾噬菌體在小白鼠各臟器之分佈與留存時間的觀察		

.....司稗東 于智麗 陸倩...	379
痢疾噬菌體用於桿菌痢疾細菌學診斷的初步報告(摘要)	
.....司稗東 劉祥運 于智麗 施培福 洪加浩 張道生...	381
利用再生菌作痢疾桿菌噬菌體分型及製造用噬菌體選擇的研究	
各型噬菌體及再生菌分離法(一)(摘要).....鄒雲臣	382
福氏痢疾 2a 型菌噬菌體的裂解試驗(二)(摘要).....鄒雲臣	383
志賀氏痢疾桿菌噬菌體的裂解試驗(三)(摘要).....鄒雲臣	384
宋內氏痢疾桿菌噬菌體的裂解試驗(四).....鄒雲臣	385
福氏痢疾 1 型菌噬菌體的裂解試驗(五).....鄒雲臣	387
什密次痢疾桿菌噬菌體的裂解試驗(六).....鄒雲臣	389
痢疾噬菌體成品在不同溫度保存時效價的變化(初步報告).....賈鴻舉	391
學習蘇聯法規試製多價痢疾噬菌體經驗總結.....王世鸞 徐烈英 車繼棟	394
痢疾傷寒及副傷寒乙噬菌體分離方法的研究(摘要).....司稗東 于智麗	396
* * *	
1953—1955年由東北地區分離的 89 株傷寒桿菌的噬菌體型鑑定	
.....董典順 劉春山	397
* * *	
鼠疫噬菌體的試製(摘要).....劉宗漢 王樞群 王克仁	403
抗鼠疫噬菌體血清的試製.....王樞群 王克仁	404

#### 四、毒素及血清部分篇

一種改良的白喉毒素培養基(摘要).....陳立予 劉士敏	410
關於白喉毒素產生的實驗(摘要).....奧原廣治	411
破傷風產毒中肉渣廢料的應用(摘要).....陳立予 劉士敏	417
制備破傷風毒素培育過程中的產氣現象(摘要).....陳立予 劉士敏	417
大量製造破傷風毒素的研究(摘要).....奧原廣治	418
用兩株破傷風桿菌製成的毒素及類毒素進行比較生物學檢定的報告	
.....劉仁文	419
Lithander 氏簡易迅速白喉馬匹免疫法之試用(摘要).....陳立予	429
白喉抗毒血清製造方法的經驗.....泉二熊一	430
關於用馬匹生產抗毒素在免疫過程中如何決定效價高峰時機進行採	
血的問題(摘要).....王成懷	437
血清乾燥法的研究.....王成懷 李大容 梁作德 李 淦	438
消除血清中熱源質的試驗.....梁作德 李 淦 王成懷	442
白喉標準血清之試製(摘要).....陳廷祚 劉仁文	445
氣性壞疽腐敗菌標準毒素及血清之試製(摘要).....陳廷祚 劉仁文	445
應用輸環沉澱反應測定破傷風抗毒血清效價試驗.....泉二熊一	446

### 五、其 他

致病性兩極染色桿菌之細胞核 (摘要) .....	魏文彬 詹繼曾	454
水生植物對於中華瘧蚊幼蟲繁殖的關係 (摘要) .....	張宗葆	454
1953年大連市區住宅與牛舍蚊種季節分佈調查報告(摘要) .....	張宗葆 孫 鐸	455
大連市區常見蚊種吸血習性及活動時間的觀察 (摘要) .....	張宗葆 孫 鐸 吳金福	456
大連市沙河口區井水調查報告 .....	尙之二	457
鼠仿的精製及鑑定 .....	江 聲 尙之二	461
生物製品中鼠仿含鼠測定法實驗 .....	尙之二 葉義芳	464
乾燥生物製品水份測定——卡氏法及其與烘箱乾燥法測定結果之 比較 .....	尙之二 崔錦家 高春生	472
生物製品 pH 測定 .....	尙之二 崔錦家	481
由烟葉中浸提菸鹼試驗報告 .....	許柏師 尙之二	490
利用肉渣和血塊試製細菌學用蛋白胨的試驗 .....	楊鍾祺 梁作德	492
腸道菌苗脫福馬林方法有關問題的試驗 .....	楊鍾祺	498
遠癆培養基脫色方法的改進 .....	趙搗謙	501
生產痢疾噬菌體用綜合培養基的試驗小結 .....	楊鍾祺 崔錦家	501
培養基中醋酸鉛的含量及蛋白胨的品種對硫化氫產生的影響 .....	趙搗謙	502
亞硫酸鈉瓊脂發生沉澱原因的探討 .....	劉士敏 趙搗謙	504
本所家兔球蟲病發生情況之初步報告 .....	張德培 范明遠	505
培育健康小白鼠鼠群的經驗介紹 .....	張德培	511
防止豚鼠流產的一些經驗 .....	張德培	513
小動物飼料盒的改進 (摘要) .....	徐業修	517
血清分裝裝置介紹 (摘要) .....	李大容	517
蒸餾器進水裝置與出水量的關係 (摘要) .....	劉士敏	518
水氣兩用安甌洗滌器 (摘要) .....	劉士敏	518
溫差電溫度計的試製 (摘要) .....	崔錦家	518



## 1951年由遼東通化某醫院患者分離的 一部份沙門氏菌的菌型鑑定

方景燦 周 勵

1951年無選擇地由通化某醫院收集了兩批菌種，分別由本所董殿順同志和當時在該院工作的葉自僑醫師帶來。這些菌種都是由患者分離的。其來源包括血液，糞便，尿，膽汁，膿液，骨髓等。患者的臨床診斷為傷寒，副傷寒，原因不明的發熱，膽囊炎，局部化膿性病灶以及痢疾等。除其中一部份為福氏痢疾桿菌綠膿桿菌或副大腸菌外，證明為沙門氏菌並已作出菌型鑑定者 93 株。其中可能和醜頭慈，葉自僑二氏（1）報告的沙門氏菌屬感染 177 例有一部分是重複的。在這些菌株中有丙型副傷寒沙門氏菌 39 株。濱野滿雄，趙永林，周勵三氏（2）研究丙型副傷寒沙門氏菌的 vi 抗原所用的菌株即係由此組菌種得來。為了不使這份材料散失和便於供同道參考，茲加以整理提出如下的報告。

### 方 法

菌種收到後先以普通琼膠平皿分離培養，37°C 18—24 小時解育後觀察集落形態，同時選擇單顆集落作純培養，對乙型副傷寒沙門氏菌並進行粘液堤試驗。繼則進行革蘭氏染色鏡檢，並接種以下培養基：半固體琼膠，醋酸鉛琼膠，蛋白胨水以及乳糖，肌醇，葡萄糖，木糖，阿拉伯糖，蔗糖和衛矛醇發酵管，（生化學試驗除脫基質試驗於培養 2 天後進行外其餘均觀察 2 週）以試驗其動力，硫化二硫和靛基質的生成，以及對各種糖類的發酵能力，並用有關的沙門氏菌屬診斷血清和因子血清作玻片凝集試驗，必要時並作試管凝集試驗。根據形態，生化及血清學檢查結果判定菌型，對丙型副傷寒沙門氏菌於 vi 血清反應陰性時並用濱野滿雄氏（3）的葡萄糖琼膠斜面連續傳代數次以檢查其 vi 抗原。

### 結 果

根據形態，生化和血清學鑑定結果，對被試的 93 個菌株作出了菌型診斷，計有傷寒，甲、乙、丙型副傷寒，腸炎和布利丹沙門氏菌六種。其發現頻率見附表。

由本表結果可見發現最多的是丙型副傷寒沙門氏菌，計 39 株，佔菌株總數的 41.9%，其次為腸炎沙門氏菌共 26 株，佔菌株總數的 27.9%，其它 4 種沙門氏菌亦均佔有一定的比率。茲將各型沙門氏菌檢

附表 各型沙門氏菌的發現頻率

型 別	實 數	%
甲型副傷寒沙門氏菌	2	2.2
乙型副傷寒沙門氏菌	8	8.6
丙型副傷寒沙門氏菌	39	41.9
傷寒沙門氏菌	9	9.7
腸炎沙門氏菌	26	27.9
布利丹沙門氏菌	9	9.7
總 計	93	100

查結果簡述如下：

### 1. 甲型副傷寒沙門氏菌：

為革蘭氏陰性桿菌，有動力，分解葡萄糖，阿拉伯糖，蔗糖和衛矛醇，一株產酸產氣。一株(N<sub>12</sub>)僅產酸不產氣，不發酵乳糖，木糖及肌醇，靛基質試驗陰性，硫化二氫生成試驗一株陽性，另一株為陰性。血清學反應正常。

### 2. 乙型副傷寒沙門氏菌：

共有八株。除其中一株不分解肌醇外，其它生化學性狀均一致，發酵葡萄糖，木糖，阿拉伯糖，蔗糖及衛矛醇，在醋酸鉛培養基內產生硫化二氫，靛基質和乳糖發酵試驗陰性，粘液塊試驗六株為陽性，二株未進行試驗。血清反應正常。

### 3. 丙型副傷寒沙門氏菌：

共 39 株，其生化學反應值得提出的是蔗糖發酵試驗有 8 株為陰性，而阿拉伯糖和衛矛醇則全部為陽性，硫化二氫生成試驗除一株(N<sub>1093</sub>)為陰性外，其餘均為陽性，可惜當時對此株陰性的菌株沒有進行覆試，還不能說是不是一個生化學上的變種。血清反應方面值得提出的是 39 個菌株中在普通培養基上與 vi 血清起反應者僅有 8 株。其餘 31 株在通過 0.5% 葡萄糖瓊膠斜面一次，二次或三次以後，由陰性轉為陽性。

### 4. 傷寒沙門氏菌：

共 9 株，均分解葡萄糖及木糖，產酸不產氣，蔗糖發酵試驗 8 株陽性，1 株為陰性，硫化二氫生成試驗 7 株為陽性，2 株為陰性，不分解乳糖，蔗糖，阿拉伯糖及衛矛醇，靛基質試驗陰性。與傷寒 0 與 vi 血清均呈陽性反應者 7 株(VW 型)。僅與 vi 血清起反應與 0 血清無反應者 2 株(V 型)。

### 5. 腸炎沙門氏菌與布利丹沙門氏菌：

腸炎沙門氏菌共 26 株，布利丹沙門氏菌 9 株。這兩個菌種的生化學反應相似，試驗的菌株均分解葡萄糖、蔗糖、木糖和阿拉伯糖；不發酵乳糖和肌醇，靛基質反應陰性，衛矛醇發酵試驗腸炎菌 24 株為晚期(2—12天)陽性，2株為陰性；布利丹沙門氏菌 7 株為晚期(2—12天)陽性，2株為陰性。

血清學檢查結果，這些菌株均與 o 血清起反應，腸炎沙門氏菌僅與 H 血清 m 而布利丹沙門氏菌除 m 外並與 q 血清起反應。

## 討 論

丙型副傷寒沙門氏菌在我國雖然屢經有人報告(4—7)，但未有如在這組菌株中佔有如此高的比率(41.9%)者。一般在我國沙門氏菌感染中總是傷寒佔大多數，其它以甲，乙型副傷寒為多，C 群沙門氏菌中通常也以豬霍亂菌佔多數，而在此組菌株中丙型副傷寒沙門氏菌最多，豬霍亂沙門氏菌一株未見，是一個值得注意的現象。

關於丙型副傷寒和豬霍亂沙門氏菌的鑑別診斷主要靠阿拉伯糖和蔗糖發酵試驗和 vi 抗元的證明。一般文獻記載丙型副傷寒沙門氏菌均發酵蔗糖，對阿拉伯糖的作用各個菌株不一致，新分離的菌種大都有 vi 抗元；而豬霍亂沙門氏菌，對蔗糖和阿拉伯糖的作用均為陰性，無 vi 抗元。這次檢查的 39 個菌株均發酵阿拉伯糖，但有 8 株為蔗糖陰性。與 vi 血清的反應在普通瓊膠培養基上僅有 8 株為陽性，其餘 31 株經用葡萄糖瓊

膠培養基通過後，全部轉為陽性，有助於菌型的鑑別診斷。

腸炎和布利丹沙門氏菌感染國內均曾有人報告(8—11)，兩個菌種的生化反應很相似，鑑別時主要依靠血清反應，前者的主要鞭毛抗原為 g, m; 而後者為 g, m, q。因而前者僅與 m 血清起反應，後者不但與 m 同時與 q 血清起反應，這次就是利用 q 血清把這兩種沙門氏菌區分開的。

## 結 語

本文報告了對收集的 93 株沙門氏菌的鑑定結果，同時對丙型副傷寒與豬霍亂沙門氏菌以及腸炎與布利丹沙門氏菌的鑑別作了簡短的討論。

## 參 考 文 獻

1. 陸頌慈，葉自儂：沙門氏菌屬感染，中華內科雜誌，1954 年第五號，370—379 頁。
2. 濱野滿雄，趙永林，周勳：丙型副傷寒沙門氏菌的 vi 抗原的研究(二)，微生物學報第 3 卷第 2 期，127—135 頁。1955。
3. 濱野滿雄：丙型副傷寒沙門氏菌的研究(一)，微生物學報 3 (2): 111—124, 1955。
4. C. Tenbroeck, C. P. Li and H. Yü, Studies on paratyphoid C bacilli Isolated in China, J. Exp. Med., 53: 307, 1931.
5. 富禮愛，郭成周：上海丙型副傷寒之初步研究，中華醫學雜誌，28:149, 1942。
6. 濱野滿雄：關於旅大地區副傷寒 C 之流行狀況，大連衛生研究所彙刊，第一卷，第二期 14 頁，1951。
7. 桑田波節：長崎醫學會雜誌，第 21 卷，第 9 號，795 頁，1943。
8. F. Fournier and Ma Kōci Tuo, Sporadic salmonella infections in Shanghai during the summer of 1948, C. m. J., 67: 16, 1949.
9. 池芝盛，錢宇平：Systemic salmonella infections in man, C. M. J., 67: 59, 1949.
10. Hwang C. H., Chang H. Cand Lien V. T. Salmonella infection; Study of 17 cases of enteritidis septicemia, C. M. J., 52: 318, 1937.
11. 徐采等：腸炎沙門氏菌傳染，內科學報第 1 卷，第 1 期，1, 1949。

## 1954—1955年由東北地區幾個主要城市 收集的沙門氏菌的菌型鑑定(摘要)

方景燦 羅興祖 馬占瑞

傷寒，副傷寒及其它沙門氏菌病是我國——也是世界各國普遍存在的疾病。爲了瞭解各型沙門氏菌在旅大市和東北地區幾個主要城市流行分布的情況供生物製品和防疫方面的參考，我們於1954—1955年由大連，沈陽，鞍山、長春和哈爾濱的防疫站、傳染病醫院或其它醫院收集了他們由患者，帶菌人以及由食品分離的沙門氏菌，並盡可能的收集了與這些菌株有關的臨床或其它資料。收集的菌種均進行了形態，生化學和血清學檢查並作出了菌型鑑定，結果見表1。在能引起傷寒、副傷寒症狀的菌種中傷寒菌佔第一位，其次爲豬霍亂沙門氏菌（包括孔成道夫變種），再其次爲甲型和乙型副傷寒沙門氏菌。在能引起食物中毒或胃腸炎的菌種中以鼠傷寒沙門氏菌較多，其餘如紐波特沙門氏菌，得比沙門氏菌，雞—雞痢沙門氏菌，鴨沙門氏菌，腸炎沙門氏菌以及病牛沙門氏菌亦均曾發現。由於臨床和有關資料僅得到一部份不能作臨床和流行病學分析。

（全文載於生物製品通訊，第二卷第一期，160—167頁，1957年3月）

表1 東北地區五個城市的沙門氏菌菌型的分佈（1954—1955）

型別	株數		旅大市		鞍山市		瀋陽市		長春市		哈爾濱市		總計	
	實數	%	實數	%	實數	%	實數	%	實數	%	實數	%	實數	%
甲型副傷寒沙門氏菌 ( <i>S. Paratyphi A</i> )	0	0	0	0	6	5.4	9	15	1	2.5	16	4.4		
乙型副傷寒沙門氏菌 ( <i>S. Paratyphi B</i> )	1	0.9	2	5	2	1.8	8	13.3	0	0	13	3.6		
鼠傷寒沙門氏菌 ( <i>S. typhi murium</i> )	2	1.8	0	0	10	9	0	0	0	0	12	3.3		
得比沙門氏菌 ( <i>S. derby</i> )	0	0	0	0	1	0.9	0	0	1	2.5	2	0.6		
豬霍亂沙門氏菌 ( <i>S. cholerae suis</i> )	3	2.7	5	12.5	9	8.1	2	3.3	0	0	19	5.2		
豬霍亂沙門氏菌孔成道夫變種 ( <i>S. cholerae suis var Kunzendorf</i> )	2	1.8	11	27.5	6	5.4	1	1.7	0	0	20	5.5		
紐波特沙門氏菌 ( <i>S. newport</i> )	0	0	0	0	4	3.6	0	0	0	0	4	1.1		
病牛沙門氏菌 ( <i>S. bovis morbillans</i> )	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2.5	1	0.3		
傷寒沙門氏菌 ( <i>S. typhi</i> )	101	91	20	50	72	64.9	40	66.7	37	92.5	270	74.5		
腸炎沙門氏菌 ( <i>S. enteritidis</i> )	1	0.9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.3		
雞—雞痢沙門氏菌 ( <i>S. gallinarum-pullorum</i> )	0	0	2	5	0	0	0	0	0	0	2	0.6		
鴨沙門氏菌 ( <i>S. anatum</i> )	1	0.9	0	0	1	0.9	0	0	0	0	2	0.6		
總計	111	100	40	100	111	100	60	100	40	100	362	100		

## 由乾蛋品中分離的一些沙門氏菌的菌型鑑定

方景燦 車玉琴

天津商品檢驗局送來他們在 1954 年 7—11 月由各種乾蛋品中分離的沙門氏菌 26 株，請求代為作菌型鑑定。我們於收到後作了形態和各種生化學檢查，並以沙門氏菌屬因子血清作了血清學檢查，雙相菌僅查到一个相者並以半固體瓊膠小管內加入適當血清的辦法對另一相作了誘導，通過這些檢查對全部菌種作出了菌型診斷，結果見附表。這些菌種中以湯卜遜氏沙門氏菌為最多（12 株），生化學反應典型，血清學檢查結果均只出現第二相（1.5），經在加有 1,2,3,5 血清的半固體培養基內誘導後始出現了 K 抗原，故均確定為柏林變種。鼠傷寒沙門氏菌亦較多，均為雙相菌與 i 及 2 因子血清凝集。明興沙門氏菌一株開始時僅與第一相血清（d）起反應，另二株僅與第二相血清（2）起反應，經分別加入 d 與 1,2,3,5 血清誘導後，方查到了另一相。奧斯陸沙門氏菌開始時即呈現雙相，一部分集落與 a，一部分集落與 e,p,x 血清凝集。乙型副傷寒沙門氏菌僅查到一株，形態典型，粘液凝試驗陽性，血清學檢查證明為雙相菌，由於本菌對人類可引起副傷寒症因而應特別加以注意。山夫頓堡沙門氏菌亦僅發現一株，形態，生化學和血清學檢查結果都是典型的。蛋產品中發現沙門氏菌類，二次大戰以來許多國家均有報告，近年來我國也開始注意這個問題，1956 年在中央各部所組成的中國蛋品品質改進委員會的領導下有關部門已經展開了對如何解決蛋品中存在沙門氏菌問題的研究工作。鑑定由蛋品中分離出來的菌種是這個工作中不可缺少的一環。

1954 年天津商品檢驗局由各種乾蛋品中分離的沙門氏菌菌型鑑定結果

型	別	株 數	來 源
	湯卜遜氏沙門氏菌柏林變種 ( <i>S. thompson</i> var. <i>berlin</i> )	12	全蛋粉，乾蛋白
	鼠傷寒沙門氏菌 ( <i>S. typhi</i> <i>mu</i> ritum)	7	全蛋粉，乾蛋白、蛋黃粉
	明興沙門氏菌 ( <i>S. mu</i> nchen)	3	1 株為乾蛋白，2 株不詳。
	奧斯陸沙門氏菌 ( <i>S. Oslo</i> )	2	全蛋粉，乾蛋白
	乙型副傷寒沙門氏菌 ( <i>S. paratyphi</i> B)	1	乾蛋白
	山大頓堡沙門氏菌 ( <i>S. senftenberg</i> )	1	全蛋粉
總	計	26	

## 關於旅大市區之 *Salmonella* “C” 症 (摘要)

濱 野 滿 雄

作者於 1942 年 10 月到 1943 年 10 月在旅大地區由 23 名患者中分離出 26 個 *Salmonella* C 群菌，並對分離之菌作了生物學和血清學的檢查。考其臨床症狀有傷寒樣，斑疹傷寒樣，赤痢樣及急性腸胃炎樣等。其中死亡 7 名，治癒 6 名，其餘 10 名豫後不詳。

分離之菌經生物學及血清學檢查結果，其中 19 個為副傷寒 C 菌，7 個是豬霍亂的 *Kunzendorf* 型。

將分離出的數個代表性菌由腹腔注射或經口投予使白鼠感染，結果全部死亡，因此，可見病原性是很大的。

對副傷寒 C 症 10 名患者進行了維達反應。有 2 名陽性達 800—1280 倍以上，有 1 名是 200 倍，經過病日積累而凝集價也隨之微昇者 3 名，其他 4 名為陰性。其中 1 名為 1280 倍陽性反應者，對 vi 菌液僅 20 倍凝集。

(摘自本所彙刊一卷二期)

## 大連家蠅的季節分佈對於腸胃傳染病 發生相互的關係 (摘要)

張 宗 葆

本報告係作者調查的家蠅數字與本市衛生局得來的腸胃傳染病數字，綜合起來分析的。

家蠅在自然環境中的季節分佈以 7—8 月為最高，夏季腸胃傳染病以 8—9 月份為最高。夏季腸胃傳染病須在家蠅達到全盛時期以後才能高至頂峯。這些病也隨着家蠅繁殖日趨下降而下降。

(摘自本所彙刊一卷三期)

## 旅大市三年 (1953—55) 來痢疾菌型 分佈的報告 (摘要)

周惠民 劉春山 施文采 周恩英 蔣競武

爲了解近年來旅大市痢疾菌型流行的情況及爲今後生物制品和防治工作提供參考資料，我們於 1953 年 3 月到 1955 年 12 月收集了痢疾菌株 1,566 株，作了菌型分佈的調查。

供本試驗用的菌株主要是從本市各醫院收集來的，另一部份係直接從患者糞便中分離得來。

所有的菌株均以割綫法接種於遠藤氏瓊膠平板上，經 37°C 培育 18—20 小時後，選擇光滑型的菌落，移植於小管瓊膠斜面上，培育約 20 小時，塗片以革蘭氏染色，鏡檢，如係革蘭氏陰性桿菌，從瓊膠小斜面上沾取培養物少許接種於葡萄糖、乳糖、甘露醇、麥芽糖、蔗糖、衛矛醇，山梨醇、鼠李糖、肌醇、木糖、水楊甙及側金盞花醇等帶有小側管的糖培養基內，於 37° 培育 14 天，每日觀察。宋內氏痢疾菌的乳糖發酵管則觀察至 30 天。

此外，再從斜面培養物上分別接種於胰水管內（檢查凝基質形成）及 Christensen 氏豚瓊膠斜面上（試驗能否分解脲），並以鉗綫穿刺於半固體培養基內作動力檢查。

若與痢疾菌的定義相符，進行血清學特性的檢查，即先以志賀氏，什密次氏，宋內氏及福氏痢疾菌多價混合血清作玻片凝集試驗，陽性的菌株分別以單獨的上列血清作凝集，若陽性反應即可報告結果，但與福氏菌多價血清凝集的菌株，爲了進一步鑑定福氏痢疾菌型，亞型和變種起見，再分別以福氏痢疾菌 I—VI 型特异性血清，S 特异性因子及 3, 4, 6, 7 群因子血清作玻片凝集反應。

根據 1,566 株痢疾菌的檢查結果，三年來在旅大地區流行的痢疾菌型以福氏痢疾菌的比重爲最高計分離出 1,485 株 (94.83%)；次之爲宋內氏痢疾菌計 52 株 (3.32%) 且逐年有上昇趨勢，再次之爲什密次氏痢疾菌計 19 株 (1.21%)；最少爲志賀氏痢疾菌祇 2 株 (0.13%)，其中未能確定的菌株計 8 株 (0.51%) 未檢出鮑愛德氏痢疾菌。

在 1,485 株福氏痢疾菌株中以 1b 和 2a 型爲最多，前者爲 528 株 (35.56%)，後者爲 527 株 (35.49%)，次之爲 3a 型計 231 株 (15.56%)，逐年在上昇，最少係 4 型和 X 變種計各分離出 1 株 (0.07%)，其它如：1a 型 2 株 (0.13%) 2b 型 26 株 (1.75%)，3b 型 10 株 (0.67%) 4a 型 28 株 (1.89%) 4b 型 46 株 (3.09%)，5 型 56 株 (3.77%)，6 型 3 株 (0.2%)，Y 變種 26 株 (1.75%)。

根據福氏痢疾菌 3 型菌株含有群抗原的不同，我們將它分爲二個亞型，即：3a 型 (3:6,7) 及 3b 型 (3:4,6)，此外，還檢出了 1 株不含有群 3 或 6 抗原的福氏菌 4 型 (4:—) 菌株。

痢疾菌的生化反應不恒定，有 1 株志賀氏菌於第 15 天分解蔗糖；52 株宋內氏痢疾

菌中有23%，培養 30 天不分解乳糖；福氏痢疾菌 4a 型菌有 80% 的菌株不分解甘露醇，（觀察 30 天），我們認為痢疾菌對麥芽糖和蔗糖的反應不規則，在分型上無重大意義，痢疾菌屬中祇發現福氏痢疾菌 4b 型能分解木糖，陽性高達80%，因此我們建議可作為與痢疾菌型間鑑別之用。

（摘自生物制品通訊第 2 卷，第 1 期，第 143 頁，1957 年）。

## 從鼠體內分離出宋內氏痢疾菌的報告（摘要）

康白（大連醫學院） 周惠民（本所）

在調查旅大地區鼠類攜帶沙門氏菌的情況時，我們以培養的方法檢查了 193 隻老鼠。無意中我們分離出來了 173, 6, 84 及 126 號 4 株宋內氏痢疾菌。在過去，從鼠體內分離出痢疾菌的報告是很少的（我們祇見到 Башенин 氏轉引 Клодни ций и кац 氏的報告，但未註明原文出書處），因而鼠類在痢疾的傳播中可能起到的作用也尚未予以注意。

我們分離出來的 4 株痢疾菌，都經過菌落形態及生化學特性的檢查，符合於宋內氏痢疾菌的情況，即能迅速分解葡萄糖，麥芽糖，甘露醇及鼠李糖，遲緩分解乳糖（5—11 天）及蔗糖（7—13 天），不分解衛矛醇，山梨醇，肌醇，木糖，水楊甙及側金盞花醇，不形成凝集質，不生長於檸檬酸鈉培養基，不分解尿素沒有動力。在血清學反應上 173 號菌株與宋內氏痢疾菌血清的凝集價，高達血清的原效價（血清原效價為 1:1,600）。並以此菌吸收，能將宋內氏痢疾菌血清內的抗體全部除盡，不再與宋內氏痢疾菌菌株起凝集，因此，鑑定為典型宋內氏痢疾。其餘三株（6, 84 及 126 號）為非典型宋內氏痢疾菌，其菌落均係粗糙型故與宋內氏痢疾菌血清不凝集。

上述 4 株宋內氏痢疾菌都是由溝鼠 (*Rattus novigicus*) 的直腸內容物分離的，我們所得到的老鼠都是死鼠，在死後 6—24 小時進行解剖和接種於培養基上的。

從鼠體中分離出宋內氏痢疾菌，在痢疾的流行病學和防疫措施中可能有重要意義。在理論上，這一事實說明，由於鼠類和痢疾患者的長期共處，使痢疾病原體有可能適應於鼠類的腸管生活，因而鼠類可能成為痢疾的傳染傳播中的因素之一，在實際工作中，特別是在痢疾的流行病學調查時，更有必要考慮老鼠所能起到的作用。

（摘自中華醫學雜誌，第 43 卷，第 9 期，第 730 頁，1957 年）



## 沈陽市 1954 年痢疾菌型分佈的報告(摘要)

周惠民 施文采 周恩英

本文乃就瀋陽市 1954 年收集的痢疾菌 264 株，經過生化反應及血清學特性的檢查結果，定出菌型並加以分析。

根據 264 株痢疾菌的檢查結果；宋內氏痢疾菌 13 株 (4.92%)；什密次氏痢疾菌 6 株 (2.27%)；未能定型菌株 3 株 (1.14%)；福氏痢疾菌 (總計 242 株)：1a 型 1 株 (0.41%)；1b 型 23 株 (9.50%)；2a 型 166 株 (68.6%)；2b 型 5 株 (2.07%)；3 型 18 株 (7.44%)；4a 型 4 株 (1.65%)；4b 型 1 株 (0.41%)；5 型 9 株 (3.72%)；X 變種 3 株 (1.24%)；Y 變種 12 株 (4.96%)。

本試驗未檢出志賀氏痢疾菌，鮑愛德氏痢疾菌及福氏痢疾菌 6 型。

從生化反應得知，有不分解乳糖的宋內氏痢疾菌存在。

(摘自生物製品通訊，第 2 卷，第 1 期，第 154 頁，1957 年)。

## 長春市 1954—55 年痢疾菌型分佈的報告(摘要)

周惠民 蔣競武 施文采 周恩英

本市乃就 1954 年 4 月到 1955 年 12 月從長春市收集的 1,842 株痢疾菌經過了一系列的生化反應及血清學特性的檢查，最後定出了菌型並加以分析。

根據 1,842 株痢疾菌檢查的結果，福氏痢疾菌佔主要地位計分離出 1,679 株；(91.5%)；其次為宋內氏痢疾菌計 135 株 (7.33%)；再次之為什密次氏痢疾菌計 11 株 (0.6%)；最少為志賀氏痢疾菌計 3 株 (0.16%)；未確定的菌株有 14 株 (0.76%)，本試驗未檢出鮑愛德氏痢疾菌。

1,679 株福氏痢疾菌各菌間的相互比例如下：2a 型 921 株 (54.85%) 佔首要地位；3a 型次之為 388 株 (23.11%)；1b 型佔第三位計 231 株 (13.76%)；最少為 4b 型計 6 株 (0.36%)；其它如：1a 型 12 株 (0.71)；2b 型 11 株 (0.66%)；3b 型 14 株 (0.83%)；4a 型 15 株 (0.89%)；5 型 23 株 (1.37%)；X 變種 9 株 (0.54%)；Y 變種 49 株 (2.92%)。未檢出 6 型菌。

從生化反應的結果可以看出有 5% 的宋內氏痢疾菌經 30 天培育不能分解乳糖，有 40% 的福氏痢疾菌 4a 型不分解甘露醇，4a 和 4b 型的部份菌株能分解木糖，凝結質除對什密次氏與志賀氏痢疾菌有鑑別意義外。其它菌株對此試驗無多大價值。

(摘自生物製品通訊，第 2 卷，第 1 期，第 150 頁，1957 年)。

## 桿菌痢疾帶菌者調查的初步報告(摘要)

李光祖 李應乾 馬占瑞  
周惠民 周恩英 施文采

1953—1954年我們曾在大連市進行了帶菌者的調查。

本文調查對象爲：一般正常人，接觸者和康復者。

在 706 名一般正常人中檢出 8 人帶菌，檢出率爲 1.13%；在 915 人接觸者中檢出 51 人帶菌，檢出率爲 5.6%；在 19 名和 148 名康復者中分別檢出 13 名 (68.4%) 和 27 名 (18.2) 帶菌。

據統計，恢復期帶菌者排菌時間絕大部分 (95%) 在出院後三個月內發現，並且有 % 在出院後三個月內擺脫帶菌狀態。

恢復期帶菌者排菌時呈現出間歇性。

帶菌者之菌型分佈與本地區同時期的患者菌型分佈，基本上一致，以福氏菌群最多，在福氏菌中以 2a 和 1b 佔多數。

(全文將刊載於中華衛生雜誌)

## 家蠅與紅頭蠅帶菌試驗報告(摘要)

周惠民 張宗葆

爲了具體了解大連地區的蠅類帶菌的實際情況，我們於一九五〇年七月至九月三個月內，進行了十二次培養試驗，採用家蠅與紅頭蠅爲試驗對象，分腿，吻，與腸管爲培養材料，分別觀察這三部份的帶菌情況。

供培養試驗用的兩種蠅類都是分別從市內各區捕獲，分廁所，垃圾，菜市場與食堂等四類。

每次試驗時以蠅五隻爲一組，將蠅之附節及吻分別置於5毫升生理鹽水內，腸管則置於10毫升的生理食鹽水內，在室溫下放置2小時，然後振盪片刻，用白金耳塗抹在遠藤氏平板上，培育24小時後，選擇無色透明菌落，移植於肉湯管內，翌晨觀察動力，再接種於各種糖類培養基內，檢查發酵情況，並接種渾水管檢查凝基質形成，此外接種瓊膠斜面，次晨將斜面培養物與經50倍稀釋的沙門氏菌混合血清及五倍稀釋的vi血清作玻片凝集試驗，如係陽性反應，再分別以A, B, C, D, E及vi血清作定量凝集試驗。

此外，將裝有附節，吻及腸管的鹽水稀釋至適當濃度，移入滅菌平皿內加上瓊膠培養基作菌數計算。

此試驗共計培養家蠅三十六組，紅頭蠅二十二組，結果在三十六組家蠅中僅有一組帶有大腸桿菌，變形菌，產鹹糞便桿菌，遲發酵乳糖大腸菌，莫根氏菌與付傷寒沙門氏菌等六類，其他各組僅帶有前三類細菌，無後三類菌的發現。

各場所採得的蠅無論腿節，吻部與腸管，其帶菌以大腸菌爲最多，變形菌次之，莫根氏菌及副傷寒沙門氏菌僅一組爲陽性，而且限於廁所內的家蠅。

從各地採得的蠅除廁所的紅頭蠅外，其帶菌種類的百分率與菌數，以腸道的帶菌數爲最高，自萬數至百萬之間。

腿與吻的帶菌與菌數幾乎相等，菌數多爲自千數至十萬之間。

廁所與垃圾的蠅類，其污染程度等高。

菜市，食堂的蠅，其腿節與吻的菌數均較低。

(摘自大連衛生研究所彙刊，第1卷，第3期，第96—99頁，1951年10月)。

## 家兔自然抗體含量和腸系菌苗用菌種抗原性 試驗結果的比較試驗

周海清 方景燦

1955年5—10月全國各個生物制品研究所派人在上海生物制品研究所集中實習了腸道菌苗蘇聯法規。在進行菌種的抗原性試驗時發現一部分家兔血清中含有對傷寒桿菌和乙型副傷寒桿菌不同滴度(1:20—1:160)的自然抗體。試驗的家兔中對霍亂弧菌(小川及稻葉型)及宋內氏痢疾桿菌於血清 1:20 稀釋時均為陰性反應,對甲型副傷寒桿菌全部家兔(59隻)僅有兩隻為1:40,其餘均為陰性反應。實習期間僅用 w 型福氏痢疾桿菌 6株以自然抗體滴度高低不等(1:20—1:640)的家兔作了比較試驗,根據試驗結果,自然抗體的高低對於抗原性試驗的結果似無影響。但因實習時材料不多,且除用 w 型福氏痢疾桿菌外未用其它菌種進行比較試驗,為了對這個問題作進一步的探討我們作了一些比較試驗。茲將試驗方法和結果作如下的報導,並對蘇聯“製造預防腸系傳染病菌種的選擇檢查及保存法規”中的抗原性試驗方法加以討論。

### 實驗方法和結果

#### 一、家兔自然抗體的測定:

選擇體量為 1.5—2.0 公斤的家兔 54 隻自耳靜脈採血 2—3 毫升,分離血清以生理食鹽水由 1:10 倍量稀釋至 1:1280 (每管稀釋血清量均為 0.5 毫升)。試驗用的菌種為傷寒桿菌 H901,乙型副傷寒桿菌 50094, v 型福氏痢疾桿菌 T166, w 型福氏痢疾桿菌 51325, 宋內氏痢疾桿菌 51334。各個菌種均於普通瓊脂培養基上 37°C 培育 18—20 小時後以生理食鹽水作成每毫升含菌 5 億(按蘇聯比濁管)的懸液(活菌),於每管稀釋血清內各加入 0.5 毫升,振盪後置 37°C 解箱 2 小時然後置室溫一夜次日觀察結果,以肉眼明顯、見到凝集反應(+)的最後一管的稀釋度作為自然抗體的滴度,試驗結果見表 I。

表 I 家兔自然抗體測定結果

試驗菌種	家兔隻數	家兔自然抗體測定結果								
		0	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
傷寒桿菌 H901	54	3	7	8	6	15	12	3	0	0
乙型副傷寒桿菌	54	8	10	5	4	8	18	1	0	0
福氏痢疾桿菌 v 型	54	0	1	2	9	10	13	18	0	1
福氏痢疾桿菌 w 型	54	0	1	1	12	17	18	4	0	1
宋內氏痢疾桿菌	54	49	4	1	0	0	0	0	0	0

註: 0=1:20 陰性

由本表結果可見對宋內氏痢疾桿菌大多數家兔均為陰性結果,僅少數家兔有低滴度

的自然抗體，對傷寒及乙型副傷寒桿菌除少數家兔 1:20 為陰性外其餘均含有不等高度的自然抗體，對 v 及 w 型福氏痢疾桿菌的反應均在 1:20 以上，大都在 1:80—1:640 之間，並有一集家兔高達 1:2560。

## 二、抗原性試驗

試驗菌種用傷寒桿菌 50098，v 型福氏痢疾桿菌 T166 及 w 型福氏痢疾桿菌 51325，每個菌種均分別以自然抗體較低 (1:20—1:80) 和自然抗體較高 (1:320—1:640) (並有一隻對 10 型福氏痢疾桿菌為 1:2560) 的家兔各 5 隻作抗原性試驗進行比較。抗原性試驗的方法係按照蘇聯“製造預防腸系傳染病菌苗菌種的選擇檢查及保存法規”進行的，即“用 18—20 小時瓊膠培養物靜脈免疫體重 1500—2000 克之家兔三次，各按 5, 10 及 15 億菌體 (於 0.5 毫升生理食鹽水內)，每次間隔七天。用加熱法殺菌：傷寒菌 56°C，

表 2 抗原性試驗結果

試驗菌種	組別	家兔數	體重(公斤)	自然抗體效價	抗原性試驗效價
傷寒桿菌 50098	I	65	1.55	1:20	1:25,600
		922	1.8	1:20	1:51,200
		1907	1.85	1:40	1:51,200
		633	2.0	1:40	1:51,200
	II	660	2.0	1:320	1:51,200
		892	2.1	1:320	1:25,600
		833	2.0	1:640	1:25,600
		330	1.85	1:320	1:25,600
		1521	1.85	1:640	1:51,200
福氏痢疾桿菌 V 型 T.166	I	591	1.55	1:20	1:25,600
		654	1.9	1:40	1:25,600
		701	1.65	1:80	1:25,600
		670	1.8	1:80	1:25,600
	II	1008	1.75	1:40	1:25,600
		586	2.0	1:640	1:25,600
		610	2.0	1:640	1:25,600
		656	1.97	1:640	1:25,600
		671	1.7	1:640	1:25,600
		807	1.7	1:640	1:12,800
福氏痢疾桿菌 W 型 51325	I	815	1.6	1:80	> 1:51,200
		1069	1.75	1:80	1:12,800
		1914	1.6	1:20	1:51,200
		1918	1.85	1:80	1:25,600
	II	1924	2.0	1:80	1:51,200
		157	1.85	1:640	1:51,200
		689	2.0	1:640	> 1:51,200
		912	1.95	1:640	1:25,600
		931	1.8	1:640	1:51,200
		1922	1.7	1:2560	1:25,600

註：傷寒桿菌第 I 組兔疫苗中家兔死亡一隻，未列入本表。

付傷寒乙、福氏及宋內氏痢疾桿菌 58°C，霍亂 54°C 各一小時。在最後一次免疫後經 10 天自家兔耳靜脈採血做凝集反應測定抗原性”。抗原性試驗結果詳見表 2。由本表結果可見以三個菌種免疫的六組家兔不論是自然抗體較低的和較高的血清凝集價均能達到法規要求（傷寒菌種——1/12800，副傷寒及福氏痢疾菌種——1/6400），而各個菌種兩組家兔的結果也看不出什麼明顯的區別。

## 討 論

1. 蘇聯法規中把抗原性試驗作為選擇和檢查製造預防腸系菌苗用菌種的一個項目是有用的和必要的，根據這些年來我們制備各種的系菌診斷血清的經驗，同型菌株之間刺激產生抗體的作用是有差別的，其中尤其是甲型副傷寒桿菌，什密次氏痢疾桿菌和宋內氏痢疾桿菌。不過蘇聯法規中規定以加溫 54°，56° 或 58°C 一小時的霍亂弧菌，傷寒及副傷寒桿菌免疫動物以活菌測定凝集價是不妥當的，用這樣辦法測定出來的凝集效價實際上是 H 抗體的效價。我們曉得傷寒桿菌和霍亂弧菌的免疫作用主要依靠菌體抗原（包括 O 抗原和 K 抗原），在抗原性試驗中應該檢查傷寒菌 O 抗體和 Vi 抗體產生情況，檢查副傷寒和霍亂弧菌 O 抗體產生的情況，因而應該以 100°C 加溫 30 分鐘的或以酒精處理的菌液測定 O 凝集素的效價，對傷寒菌免疫血清並應用含有豐富 vi 抗原但僅含有少量 O 及 H 抗原的 vi 1 變種測定 vi 凝集素。當然這樣做時，對抗原性試驗時免疫血清凝集效價的要求應該根據實驗結果重新加以規定。

2. 根據集中實習時所作的結果，對甲型副傷寒桿菌，宋內氏痢疾桿菌和霍亂弧菌一般家兔均不含有或僅含有低滴度的自然抗體，在進行抗原性試驗時可選用不含有自然抗體（1:20 陰性）的家兔。對傷寒桿菌，乙型副傷寒桿菌以及 v 型和 w 型福氏痢疾桿菌根據集中實習時和本實驗的結果因不含自然抗體的家兔較少或未發現，且含自然抗體較低和較高的家兔試驗結果無顯著差別故認為含有一般滴度（1:20—1:640）自然抗體的家兔均可使用。此次發現有一隻家兔對 v 型和 w 型福氏痢疾桿菌的自然抗體達 1:25600，抗原性試驗結果雖未看出差別，但因例了太少尚不能做為依據，遇有此類家兔時目前不宜使用。

## 總 結

1. 1.5—2.1 公斤的正常家兔對傷寒及乙型副傷寒桿菌除少數外一般均含有 1:20—1:640 的自然抗體，對 v 型及 W 型福氏痢疾桿菌均有 1:20—1:640 的自然抗體，並有個別家兔達 1:2560。對宋內氏痢疾桿菌一般均為 1:20 陰性，但有少數家兔含有低滴度（1:20—1:40）的自然抗體。

2. 以傷寒桿菌，v 型及 w 型福氏痢疾桿菌作試驗含有較低（1:20—1:80）和較高（1:320—1:640）自然抗體的家兔抗原性試驗結果無顯著區別。

## 關於腸道菌苗菌種的錐黃素試驗

方景燦 周海清

在蘇聯“五聯菌苗之製造及檢定法規”原液製造一段中提到要以錐黃素 (Trypaflavine) 檢查懸液是否為 S 型。1955 年在上海所集中實習蘇聯腸道菌苗製造及檢定法規時對有關菌種均進行了錐黃素試驗，結果發現各株霍亂弧菌及乙型副傷寒菌種不論用玻片法或試管法均呈陽性反應，傷寒菌種玻片法呈陽性反應，試管法僅在凝集鏡下可見到輕微反應，其它菌種（包括副傷寒甲，宋內氏及福氏痢疾）均為陰性反應。所有這些菌種的一般特性（包括形態，生化學，血清學，毒力及免疫力等）均符合法規要求。在腸道菌苗蘇聯法規實習班的總結中建議各所參考有關文獻繼續研究加以解決。

在敘述我們的試驗方法和得到的結果以前首先對有關的文獻作一簡要復習。

Alessandrini 和 Sahatucci 二氏 (1931) 發現副馬爾他熱布魯氏菌 (*Br. paramelitensis*) 能被 0.2% 錐黃素生理鹽水溶液所凝集，而馬爾他熱和流產布魯氏菌則不被凝集。Pampana 氏 (1931, 1933) 證明這是由於副馬爾他熱布魯氏菌粗糙特性所致，並用錐黃素試驗來檢查傷寒副傷寒和痢疾桿菌的粗糙型。Sertic 與 Boulgakov 二氏 (1936) 指出具有第二相鞭毛抗原的光滑型沙門氏菌也能被錐黃素溶液所凝集。Bernstein 與 Lederberg 二氏 (1955) 證實了 Sertic 和 Bougakov 的工作，但指出第一相菌雖不被稀釋度較淡的這種染料所凝集但仍可被較濃的這種染料凝集，所以認為兩個相差別的基本是量方面的而不是本質方面的。Hirsch 氏 (1937) 發現完全光滑的有 vi 抗原的傷寒桿菌能被錐黃素溶液所凝集。對霍亂弧菌 Bhaskaran 氏 (1953) 提到在粗糙型，Millon 氏試驗，錐黃素試驗和粗糙型 O 血清凝集試驗的結果是一致的。

根據腸道菌苗法規集中實習時存在的問題，參照其他學者所做的工作，我們分別對傷寒，乙型副傷寒和霍亂菌種進行了一些比較試驗，茲將試驗方法和結果以及討論事項報告如下：

### 試驗方法和結果

#### 一、傷寒桿菌的錐黃素試驗

根據 Hirsch 氏的報告，腸道菌苗法規集中實習時傷寒桿菌 (v 型) 錐黃素試驗陽性的原因可能是 vi 抗原的關係，為了證實這一點我們用形態，生化學，血清學，毒力及免疫力均符合蘇聯法規要求的 V 型傷寒桿菌 50098，w 型傷寒桿菌 H901 及 O901 及變種 vi 1 和 6S 以 1:250 和 1:500 的錐黃素生理鹽水溶液及蒸餾水溶液同時用玻片法和試管法作了試驗，結果如表 1 所示。由表 1 結果可見傷寒桿菌 50098 錐黃素試驗玻片法均為陽性反應，試管法僅在凝集鏡下可見到微弱凝集。w 型傷寒桿菌 H<sub>901</sub> 及 O901 均為陰性反應。而 vi 1 和 6S 兩個變種亦均為陽性反應。為了進一步比較這些菌種

對錐黃素溶液的反應按定量法以活菌和 100°C 加熱 30 分鐘的菌液作了試驗，結果見表 2。

表 1 各種傷寒桿菌錐黃素凝集試驗結果

試 驗 菌 株	錐黃素生理鹽水溶液				錐黃素蒸餾水溶液			
	1:250		1:500		1:250		1:500	
	玻片法	試管法	玻片法	試管法	玻片法	試管法	玻片法	試管法
傷寒桿菌 50098	+	+	+	+	+	+	+	+
” H901	-	-	-	-	-	-	-	-
” O901	-	-	-	-	-	-	-	-
” vi “P”	+	+	+	+	+	+	+	+
” 6S	+	+	+	+	+	+	+	+

表 2 傷寒活菌與 100°C 加熱菌錐黃素凝集試驗結果

錐黃素稀釋倍數 試驗菌株	活 菌							100°C 加 熱 菌						
	200	400	800	1600	3200	6400	12800	200	400	800	1600	3200	6400	12800
傷寒桿菌 50098	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
” H901	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
” O901	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
” vi “P”	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
” 6S	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

註：+，+ 表示凝集反應強度；+，+ 表示以凝集鏡觀察時凝集反應強度。

由表 2 可見傷寒桿菌 50098 (v 型) 活菌和 100°C 30 分鐘加熱後的錐黃素試驗結果有顯著差別，即在活菌時肉眼觀察看不到凝集反應，而在 100°C 加熱後各管均有明顯的凝集反應。我們又將傷寒桿菌 50098 (v 型) 100°C 加熱 30 分鐘後的懸液以每分鐘三千轉的速度离心分離，取上清液按試管法與 1:250 的錐黃素溶液等量混合作試驗，結果有類似凝集塊的絮狀物出現。傷寒桿菌 O901 於 100°C 加熱後仍為陰性反應，H901 株活菌時為陰性反應，100°C 加熱後在 1:200—1:800 的錐黃素溶液內呈陰性反應，在 1:1600 以上的錐黃素溶液內呈陽性反應。傷寒桿菌 vi1 及 6S 活菌與 100°C 加熱菌均為陽性反應，但 100°C 加熱菌與 1:12800 的錐黃素溶液仍有凝集。總的看來，100°C 加熱後與錐黃素溶液的凝集反應有增強的趨勢。

## 二、乙型副傷寒桿菌的錐黃素試驗

為了證實 Sertic 和 Boulgakov 二氏的工作，我們用乙型副傷寒桿菌雙相株 50094，特異相單相變種 (爪時變種) No.147 和 O 形菌 No.149 按玻片法和試管法作了試驗，結果如表 3。由本表結果可見具有第 2 相抗原的乙型副傷寒桿菌 50094 不論玻片法和試管法均呈陽性反應，而特異相單相變種和 O 形菌均為陰性反應。

Bornstein 和 Lederberg 二氏在用分離的鞭毛作了試驗之後指出本反應的作用點在鞭毛。我們知道鞭毛抗原是畏熱的，為了瞭解加熱對錐黃素反應的影響將乙型副傷寒桿



菌 50094 活菌, 100°C 加熱 30 分鐘的菌液和爪哇變種及 O 形菌的活菌菌液按定量法

表 3 雙相, 特異相及 O 形乙型副傷寒桿菌凝集試驗結果

試驗菌株	生理鹽水溶液		玻片法		試管法	
	1:250	1:500	1:250	1:500	1:250	1:500
乙型副傷寒桿菌 50094	+	+	+	+	+	+
爪哇變種 No.147	-	-	-	-	-	-
O 形 ONo.149	-	-	-	-	-	-

作了試驗結果如表 4。由本表結果可見雙相乙型副傷寒桿菌與錐黃素的反應, 於 100°C 加熱 30 分鐘後即行消失。而乙型副傷寒桿菌爪哇變種 (特異相變種) 及 O 形菌不論與低倍高倍稀釋的錐黃素溶液均無反應。

### 三、霍亂弧菌的錐黃素試驗

根據 Bhaskaran 氏 (1953) 的報告, 錐黃素試驗亦可作為檢查霍亂弧菌是否粗

表 4 乙型副傷寒活菌和 100°C 加熱菌錐黃素凝集試驗結果

試驗菌株	錐黃素稀釋倍數							
	200	400	800	1600	3200	6400	12800	
乙型副傷寒桿菌 50094 (活菌)	+	+	+	-	-	-	-	
" 50094 (100°C 30分)	-	-	-	-	-	-	-	
" 爪哇變種 No.147 (活菌)	-	-	-	-	-	-	-	
" O 形 ONo.149 (活菌)	-	-	-	-	-	-	-	

種的一個項目, 而 1955 年勝道菌苗蘇聯法規集中實習時所使用的其它特性均符合法規要求的霍亂菌種均為錐黃素試驗陽性, 成為實習中的一個問題。為了探討陽性結果是否與菌種粗細有關, 我們選擇實習時使用的小型型和稻葉型霍亂弧菌各一株進行了形態, 生物學, 血清學和毒力檢查證明符合法規要求後以 1:500 錐黃素生理鹽水溶液按玻片法作了試驗均仍為陽性結果。我們希望以通過豚鼠提高毒力的辦法來改變它們的錐黃素試驗結果, 方法是將兩株霍亂菌種分別作豚鼠腹腔通過, 豚鼠死後直接取腹腔液 (1 毫升左右) 繼續通過, 每代並分離膠平皿觀察集落形態, 同時作錐黃素凝集試驗觀察試驗結果有無改變。每通過五代以 200—250 克豚鼠作毒力試驗一次。遇有豚鼠不死時則以瓊膠平皿上的細菌繼續進行通過。稻葉型霍亂弧菌 16147 經 10 代通過後錐黃素試驗轉為陰性, 小川型霍亂弧菌經 30 代通過後轉為陰性。兩個菌種通過豚鼠過程中以及最後經乾燥後歷次毒力試驗和錐黃素試驗結果見表 5 和表 6, 豚鼠通過完了後按定量法作錐黃素試驗結果見表 7。

由表 5, 6 的結果可以看到與錐黃素試驗最後轉為陰性的同時兩個菌種的毒力均較原來提高, 其中小川型霍亂弧菌 16152 的絕對致死量由 12.5 億減少到 3.125 億, 稻葉型霍亂弧菌 16147 的絕對致死量由 25 億減少到 12.5 億。

毒力較高錐黃素試驗陰性和毒力較低錐黃素試驗陽性菌株的免疫力有無區別呢? 為了解答這個問題分別以小川型和稻葉型豚鼠通過前後的菌株作了免疫力比較試驗, 作法是將各個菌株制備菌液 54°C 一小時加熱殺死, 每個菌株免疫 200—250 克豚鼠兩組, 每組 5 只, 皮下免疫三次, 免疫量為 10 億, 10 億, 20 億, 間隔 7 天, 最後一次免疫後 10 天以同一菌種攻擊比較免疫效果, 兩次比較結果見表 8, 表 9。由這兩個表中的結果

表 5 小川型霍亂弧菌 16152 毒力試驗及錐黃素試驗結果

菌種類別	注射劑量	錐黃素 (1:500 生理鹽水溶液) 試驗, 玻片法				
		25億/0.5 毫升	12.5億/0.5 毫升	6.25億/0.5 毫升	3.125億/0.5 毫升	1.5625億/0.5 毫升
原菌種		9%	9%	9%		卅
豚鼠通過 5代		9%	9%	9%		卅
” 10代			9%	9%	9%	卅
” 15代			9%	9%	9%	卅
” 20代			9%	9%	9%	卅
” 25代				9%	9%	卅
” 30代				9%	9%	卅
30代菌種乾燥後				9%	9%	卅

表 6 稻葉型霍亂弧菌 16147 毒力試驗及錐黃素試驗結果

菌種類別	注射劑量	錐黃素 (1:500 鹽水溶液) 試驗, 玻片法				
		50億/0.5 毫升	25億/0.5 毫升	12.5億/0.5 毫升	6.25億/0.5 毫升	3.125億/0.5 毫升
原菌種		9%	9%	9%		卅
豚鼠通過 5代		9%	9%	9%		卅
” 10代			9%	9%	9%	—
10代菌種乾燥後			9%	9%	9%	—

注: 分母表示注射豚鼠數, 分子表示三天內豚鼠死亡數

表 7 霍亂菌種豚鼠通過後錐黃素試驗結果

菌種	錐黃素稀釋倍數	200	400	800	1600	3200	6400	12800
		小川型霍亂弧菌 16152 豚鼠 80代	±	—	—	—	—	—
稻葉型霍亂弧菌 16147 豚鼠 10代	±	—	—	—	—	—	—	—

可以看到以最大感染量免疫力試驗法, 兩株霍亂弧菌豚鼠通過前後的免疫力總的看來無顯著區別。

表 8 霍亂弧菌豚鼠通過前後免疫力試驗結果 (第一次)

免疫用菌種	組別	豚鼠只數	免疫劑量	攻擊劑量	死亡只數	生存只數	生存率
16152 原	1	5	10億, 10億, 20億	25億/0.5 毫升	0	5	100%
	2	5	”	50億/0.5 毫升	0	5	100%
16152 豚鼠 30代	1	5	”	25億/0.5 毫升	0	5	100%
	2	5	”	50億/0.5 毫升	0	5	100%
16147 原	1	5	”	25億/0.5 毫升	0	5	100%
	2	5	”	50億/0.5 毫升	0	5	100%
16147 豚鼠 10代	1	5	”	25億/0.5 毫升	0	5	100%
	2	5	”	50億/0.5 毫升	0	5	100%

## 對 照

菌 號	注 射 菌 量	25億/0.5毫升	12.5億/0.5毫升	6.25億/0.5毫升	3.125億/0.5毫升
16147 (稻葉型)		9%	9%	9%	
16152 (小川型)			9%	9%	9%

注：分母等於注射豚鼠數；分子等於三天內死亡豚鼠數。

表 9 霍亂弧菌豚鼠通過前後免疫力試驗結果 (第二次)

免疫用菌種	組 別	豚鼠只數	免疫菌量	攻擊菌量	死亡只數	生存只數	生存率
16152 原	1	5	10億, 10億, 20億	100億/0.5毫升	3	2	40%
	2	5	"	200億/0.5毫升	5	0	0%
16152 豚鼠30代	1	5	"	100億/0.5毫升	2	3	60%
	2	5	"	200億/0.5毫升	5	0	0%
16147 原	1	5	"	100億/0.5毫升	1	4	80%
	2	5	"	200億/0.5毫升	5	0	0%
16147 豚鼠70代	1	5	"	100億/0.5毫升	3	2	40%
	2	5	"	200億/0.5毫升	5	0	0%

## 對 照

菌 號	注 射 菌 量	50億/0.5毫升	25億/0.5毫升	12.5億/0.5毫升	6.25億/0.5毫升	3.125億/0.5毫升
16147 (稻葉型)		9%	9%	9%		
16152 (小川型)				9%	9%	9%

注：分母等於注射豚鼠數；分子等於三天內死亡豚鼠數

## 討 論

1. 我們對 v 型和 w 型傷寒菌所作的錐黃素凝集試驗與 Hirsch 氏的結果一致，即有 vi 抗原的菌株 50098, vil 和 6S 呈陽性反應，無 vi 抗原的 H901 和 O901 兩株均為陰性反應。就兩種試驗方法看來，玻片法較為敏感，v 型傷寒菌 50098 玻片法為強陽性反應，試管法僅在凝集鏡下能見到凝集。同是有 vi 抗原的菌株，vi<sup>11</sup> 和 6S 兩株在以試管法作試驗時凝集反應遠較 50098 為強，可能由於這兩個菌株不但具有 vi 抗原同時具有粗鏈特性的關係。就活菌和 100°C 加熱的菌液來比較，加熱菌液反應明顯。但有一個問題，即 w 型傷寒菌 H901 在 1/200—1/800 錐黃素溶液內呈陰性反應，在 1/1600—1/12800 錐黃素溶液內呈陽性反應，如果說由於加熱能增加所有菌株懸液的錐黃素凝集性 (Hirsch, 1937)，為何傷寒菌 O901 在 100°C 加熱後，仍然保持陰性反應呢？因而這還是一個值得進一步研究的問題。

總的說來，我們認為如果以錐黃素試驗來檢查 v 型傷寒菌種或原液的粗鏈性是不合適的，尤其是用來檢查以水洗法獲得的傷寒原液時更是不恰當的，由於根據 Hirsch 氏

的工作，v 型傷寒菌懸液內有膠質的瓊膠時能增強和錐黃素溶液的反應。

2. 對雙相，特異相及 O 形乙型副傷寒桿菌進行錐黃素凝集試驗的結果證實了 Sertic 和 Boulgakov 二氏的工作，即雙相乙型副傷寒桿菌能被錐黃素溶液所凝集，而特異相及 O 形乙型副傷寒菌種則否。雙相菌於 100°C 加熱後轉為錐黃素試驗陰性，也說明在活菌時所以呈現陽性反應並非由於菌種本身粗糙而是由於非特異相鞭毛抗原的關係。根據這些結果我們認為以錐黃素試驗檢查雙相乙型副傷寒菌種或菌苗原液的粗糙性也是不合適的。

3. 錐黃素凝集試驗陽性的霍亂菌種經多次豚鼠腹腔通過後不但提高了毒力同時錐黃素試驗轉為陰性，說明與錐黃素溶液凝集不是霍亂弧菌的固有特性，而是 S-R 變異的結果。不過這裡有一個問題，即既然說與錐黃素凝集是 S-R 變異的結果為什麼這些與錐黃素凝集菌種的其它特性均能符合法規要求呢？是否由於錐黃素凝集試驗對霍亂弧菌比較敏感，當粗糙特性在其它方面還沒有表現出來的時候在這方面首先表現出來了呢？是一個值得研究的問題。

如果肯定了錐黃素試驗對選擇霍亂菌種的作用，為什麼試驗陽性和經豚鼠通過後轉為陰性的菌種免疫力試驗結果無顯著區別呢？我們認為可能由於免疫力試驗的“最大感染量法”不够敏感，今後可用“最小免疫量法”作比較試驗以便得出明確的結論。

## 總 結

1. 光滑型的有 Vi 抗原的傷寒菌株以及具有第二相鞭毛抗原的乙型副傷寒菌株能被錐黃素溶液所凝集，因而不能以錐黃素試驗作為檢查傷寒和乙型副傷寒菌種以及有關菌苗原液粗糙性的方法。

2. 錐黃素凝集試驗陽性的兩株霍亂弧菌經多次豚鼠腹腔通過後轉為陰性，錐黃素試驗陰性菌株的免疫力是否較這個試驗陽性的菌株為優尚需進一步研究。

## 參 考 文 獻

1. Alessandrini, A and Sabatucci 1931 Ann. Igiene Xli. 29; 852 (引自 4)
2. Pampana, E. J 1931 Ann. Igiene, Xli, 537; J. Hyg. 33, 462, 1933
3. Sertic, v and Boulgakov, N—A Compt. rend. soc. biol., 122, 35—37; 123, 951—952, 1936 (引自 5)
4. Hirsch, w. J. path. Bact. 44, 327—355, 1937.
5. Bornstein A and Lederberg J.; J. Bact. 69, 142—146, 1955
6. Bhaskaran, K: Ind. J. Med. Res. 41, 143—157, 1953.

## 丙型副傷寒沙門氏菌 vi 抗原的研究一(摘要)

濱野滿雄

作者由各地蒐集了 50 株丙型副傷寒沙門氏菌，並用這些菌株就丙型副傷寒沙門氏菌的 vi 抗原是否像傷寒桿菌那樣為基本抗原，vi 抗原的血清學結構和菌型，以及 vi 抗原對小白鼠的毒力等問題做了研究。本文就是作者對這些問題的研究結果。

### 實驗一，培養基中加糖對抗原的影響

#### 1. 普通瓊膠和葡萄糖瓊膠培養物的 vi 凝集反應

將供試菌株分別接種於普通瓊膠及 0.5% 葡萄糖瓊膠基上，與 vi 因子血清做玻片凝集試驗。葡萄糖瓊膠培養 43 株 (92%) 為陽性反應；普通瓊膠培養隨移種代數不同，有 26 株 (52%) 至 37 株 (74%) 為陽性反應。作者進一步比較了不同含量的葡萄糖瓊膠培養與 vi 凝集反應的結果。將相當於 VW 型的菌株接種於普通瓊膠時，vi 凝集反應為陰性；而接種於 0.2%，0.5% 和 1% 葡萄糖瓊膠時則為陽性。尤其在 0.5% 葡萄糖瓊膠基上為適宜。

#### 2. 各種糖瓊膠基和 vi 凝集反應

所用糖類為木糖，阿拉伯膠糖，葡萄糖，乳糖及糊精，含量為 0.5% 和 1%。用 VII 及 vi 因子血清做定量凝集反應。VW 型菌株除在葡萄糖瓊膠上呈現特異的陽性 vi 凝集反應外，其他糖基培養全為陰性。在木糖基上，有了 3 VW 型菌呈弱陽性反應。

#### 3. 普通瓊膠及葡萄糖瓊膠培養製成菌苗的抗原性比較

##### i. 丙型副傷寒菌苗對傷寒桿菌的自動免疫試驗

用普通瓊膠及葡萄糖瓊膠分別製成福馬林菌苗，後者同時製出 100°C 加熱 1 小時的菌苗。用三種菌苗免疫體重 14 克的小白鼠。用活菌感染後觀察 3 天，按 Reed 和 Muench 氏法計算平均免疫量。結果如下：葡萄糖瓊膠培養福馬林菌苗為 0.0006 毫克；普通瓊膠培養菌苗為 0.02 毫克；葡萄糖瓊膠培養 100°C 加熱菌苗為 0.02 毫克。

ii. 傷寒桿菌 (Watson 株) 與丙型副傷寒沙氏菌 (VW 型) 免疫血清對傷寒桿菌的抗菌性試驗

將不同稀釋度的血清分別注射於小白鼠腹腔，並立刻由腹腔另一側注射傷寒桿菌 Watson 株 (W 型)，觀察 3 天。對照血清係由丙型副傷寒菌 (W 型) 免疫者。平均感染防禦量如下：傷寒 Watson 株免疫血清 0.0025 毫克；葡萄糖瓊膠培養福馬林菌苗免疫血清 0.01 毫克；普通瓊膠培養免疫血清 0.025 毫克；100°C 加熱葡萄糖瓊膠培養免疫血清 0.06 毫克。對照的 W 株免疫血清沒有感染防禦能力。結果證明，葡萄糖瓊膠較普通瓊膠培養菌苗效果為佳。在免疫學方面，vi 抗原和 vi 抗體都是必要的。

## 實驗二, vi 抗原的分析和菌型

供試菌株為 2, 20, 32 和 70 號丙型副傷寒沙門氏菌; 並用傷寒 T<sub>1</sub> (X 型) 和 viI (X 型) 做對照。用這些菌株製成不同的抗原免疫家兔, 測定抗體產生的狀態。結果證明, 2, 20 和 32 號菌株具有共同的 O 抗原, 而 70 號菌株為具有  $\phi$  抗原的 R 型。除 Hirschfeld 株外, 都含有 vi 抗體。

免疫血清吸收後, 凝集試驗結果為: ① Hirschfeld 株 O 血清, 用紐波特沙門氏菌 O 菌液吸收製成的  $\Sigma$  因子血清, 除 70 號菌株和傷寒 T<sub>1</sub> 株陰性外, 與丙型副傷寒 100°C 加熱菌液凝集反應為陽性。② 豬霍亂沙門氏菌 1535 株免疫血清, 用 100°C 加熱本菌菌液吸收製成的 C 因子血清, 除傷寒 T<sub>1</sub> 株外, 呈陽性反應。③ 6 及 32 號及其他福馬林菌液免疫血清 (vi+) 用 Hirschfeld 株 (vi-) 吸收製成的抗 A 血清 (廣義的 vi 血清), 除 W 型菌外, 均呈陽性反應。④ 較上述③抗 A 血清更安定的 T 抗體用 T 抗原吸收後, 只剩餘不安定的狹義 vi 抗體。除 w 型菌株外, 為陽性反應。⑤ 用傷寒及丙型副傷寒 X 型菌 100°C 加熱菌液免疫血清, 分別用各該菌 R 型活菌  $\phi$  和 H 抗原吸收製成的抗 T 血清 (廣義 vi 安定的部分抗體), 凝集試驗結果是: 除 W 型外, 其他各株的福馬林菌液和 100°C 加熱菌液 (32 和 70 號) 均為陽性。⑥ 傷寒菌抗 A 血清, 用丙型副傷寒 70 號福馬林菌液吸收, 傷寒 T<sub>1</sub> 株 100°C 加熱菌液免疫血清, 用 70 號菌株 100°C 加熱菌液吸收, 以及 70 號菌株 100°C 菌液免疫血清, 用 T<sub>1</sub> 株 100°C 菌液吸收製成的血清, 與各該菌液呈陰性反應。未證明有剩餘抗體存在。

## 實驗三, vi 抗原與小白鼠的毒力

用葡萄糖琼膠培養及普通琼膠培養分別腹腔和經口感染體重 12—15 克的小白鼠, 以比較 vi 抗原對小白鼠毒力的關係。結果證明, 兩種培養對小白鼠的毒力完全相同。

同一患者不同來源的菌株 (如血液, 糞便, 尿等), 接種於兩種培養基上, 感染結果表明, vi- 較 vi+ 者毒力低。這表明, 含有 vi 抗原的 S 型菌較缺乏 vi 者毒力大。

不同菌型感染結果為: V 型及 VW 型較 X 及 W 型毒力大。X 型經口感染毒力小, 不能使小白鼠致死。W 型菌雖使小白鼠死亡率提高, 但平均生存日數延長。

## 總 結

1. 50 株丙型副傷寒沙門氏菌檢查結果證明: 普通琼膠培養由於菌株移種代數的不同, vi 凝集反應陽性率為 52—74%; 葡萄糖琼膠培養為 92%。和傷寒桿菌的 vi 抗原一樣, 丙型副傷寒的 vi 抗原為基本抗原。此種培養方法在豬霍亂沙門氏菌的鑑別診斷上, 有很大意義。

2. 0.5—1% 葡萄糖琼膠基對 vi 抗原的發育為最適宜。

3. 各種糖類比較結果, 葡萄糖最好, 木糖較差。

4. 葡萄糖琼膠培養和普通琼膠培養免疫試驗結果證明, 前者對傷寒 V 型菌感染能

力大。

5. 丙型副傷寒沙門氏菌和傷寒桿菌一樣，以 vi 抗原為基礎，可分為 V, VW, W 和 X 型。Felix 氏所謂廣義的 vi 抗原，很明顯是由畏熱性的不安定部分和狹義的 vi 抗原耐熱性安定部分 T 抗原所構成的。

6. vi 抗原不是決定毒力的唯一因子，而是和 O 抗原共同存在時相對的因子。

全文登載於微生物學報 3(2): 111--125, 1955.

## 丙型副傷寒沙門氏菌vi抗原的研究(二)(摘要)

濱野滿雄 趙永林 周勵

丙型副傷寒沙門氏菌的 vi 抗原，在生物製品製備和沙門氏菌鑑別診斷方面，具有很大意義。但是，此種抗原在普通培養基上是不穩定的。在實際工作中有時會遇到一些困難。作者等在檢查由東北地區分離的丙型副傷寒沙門氏菌時，就甘油瓊膠培養基對丙型副傷寒沙門氏菌 vi 抗原的作用和數種理化因素對 vi 抗原的穩定性及其在家兔體內產生 vi 抗體的能力等問題作了一些工作。

供試菌種是 1951 年由東北地區分離的 32 株丙型副傷寒沙門氏菌；並用傷寒及巴勒魯普菌株做對照。

### 一、甘油瓊膠基對 vi 抗原發育的影響

1. 將丙型副傷寒沙門氏菌接種於甘油含量為 0.1—10% 的甘油瓊膠基上，37°C 16—18 小時培養後，製成菌液。用 vi 及 O 血清做凝集試驗。結果證明，2% 甘油瓊膠基對 vi 抗原發育最為良好，以安東氏 vi 染色法染色時，能明顯地見到 vi 抗原。

2. 用 2% 甘油瓊膠培養做玻片凝集試驗證明，所檢查的 32 株丙型副傷寒沙門氏菌的 vi 凝集試驗均為陽性 (100%)；在普通瓊膠培養基上，僅有 9 株為陽性，佔 28%。

3. 用含有 vi、O 及 H 抗原的代表菌株 (1137 號，5 號及 6 號) 與因子血清做定量凝集試驗。甘油瓊膠培養的 vi 凝集價為：1:400—1:800；普通瓊膠培養為陰性。

4. 將 1137 號菌株接種於含有丙型副傷寒沙門氏菌免疫血清的肉湯內，37°C 培養 15 天。然後再接種於甘油瓊膠及普通瓊膠基上，做血清學檢查。發現該菌型已發生變異。普通瓊膠培養為 R 型；而甘油瓊膠培養則已變成 X 型 (O 抗原缺如，而具有 vi 抗原的菌株)。

5. 傷寒沙門氏菌 (V 型及 X 型兩株) 和巴勒魯普菌株的甘油瓊膠培養凝集試驗證明，甘油瓊膠基對上述菌株的 vi 抗原並無增強的作用。

6. 甘油瓊膠及普通瓊膠培養 (1137 號菌株) 免疫家兔結果證明，前者的 vi 凝集價為 1:320；後者為 1:20。可見，甘油瓊膠培養在家兔體內產生 vi 抗體的能力較普通瓊膠培養為佳。

### 二、丙型副傷寒沙門氏菌 vi 抗原的穩定性

1. 培養日數：將 1137 號菌株接種於甘油瓊膠基上，培育於 37°C 溫箱內，每天用因子血清做玻片凝集試驗，以檢查 vi 抗原的穩定性。檢查結果，vi 凝集試驗於 37°C 培養第一天後為陽性；至第四天變為陰性。一星期後，O 凝集試驗仍為陽性。可見，vi 抗原的穩定性較 O 抗原為弱。

2. 加熱及加氯化鈣：

將甘油瓊膠培養製成 1% 福馬林菌液，分別加入氯化鈣，或不加氯化鈣，或於室溫



內保存，並分別加熱處理：37°C1—30天；60°C30分或1小時；100°C1小時。最後分別用血清做凝集試驗。不加氯化鈣的菌液，vi凝集試驗為陰性；加有氯化鈣的菌液，除100°C加熱30分鐘外，vi凝集試驗均為陽性。由此可見，氯化鈣對vi抗原穩定作用。沉澱試驗結果證明，普通瓊膠製備的沉澱原，vi反應為陰性；甘油瓊膠製成的沉澱原，vi反應則為陽性。加有氯化鈣的沉澱原，效價較低。

### 3. 超聲波振動及氯化鈣對vi抗原的穩定性

將甘油瓊膠培養製成二份菌液。一份在超聲波振動前用福馬林處理並加入氯化鈣；另一份於振動後加入0.4%福馬林；對照菌液不做任何處理。然後分別與血清做凝集試驗及沉澱試驗。凝集試驗證明，加入氯化鈣的菌液，雖經超聲波振動30分鐘，vi凝集價仍達1:400。沉澱試驗結果與此不同，加入氯化鈣的菌液較不加氯化鈣的菌液效價低。

### 三、vi抗原對小白鼠毒力的關係

應用甘油瓊膠和普通瓊膠培養對小白鼠進行大量與微量的腹腔及經口感染試驗。結果尚不能完全了解vi抗原對小白鼠毒力的關係。

根據上述結果，作者認為，2%甘油瓊膠基對丙型副傷寒沙門氏菌vi抗原的發育具有良好的作用。不僅產量較大，並且能够使W型菌株變成VW型。這對於菌苗製備和菌型診斷，特別是對鑑別沒有vi抗原的豬霍亂沙門氏菌，是具有一定意義的。

另外，根據vi抗原穩定性試驗結果，作者認為，在製備vi菌苗和vi抗原等製品時，添加氯化鈣是必要的。

至於甘油瓊膠培養(vi抗原)對小白鼠毒力增強意義尚不明確，有待進一步試驗。

(全文登載於微生物學報 3(2): 127—135, 1955.)

## 丙型副傷寒沙門氏菌vi抗原的研究(三)(摘要)

濱野滿雄 孫盛綱 趙永林 周勵

C 群沙門氏菌病中的丙型副傷寒和猪霍亂沙門氏菌病的流行逐漸增多，這已由望月氏和濱野氏的報告所證明。但是，有關丙型副傷寒菌苗的應用和預防接種效果的報告，國內還不多見。本文是作者等關於丙型副傷寒菌苗製備，預防接種和免疫學的試驗結果。

### 一、丙型副傷寒菌的毒力試驗

試驗動物為體重 15 克左右的小白鼠。將第 5 和 1137 號菌株培養物稀釋至每 0.5 毫升含  $10^{-1}$ — $10^{-8}$  毫克濕菌。每隻小白鼠腹腔注射 0.5 毫升。觀察 3—4 周。經口感染系用白金耳授予（每隻小白鼠一金耳斜面培養）。結果證明，菌種毒力很高， $10^{-4}$  毫克濕菌（約 10—20 個細菌）即能殺死小白鼠。經口感染也可使小白鼠致死。

### 二、菌苗的製備和毒性試驗

將 1137 號菌株接種於甘油瓊膠上， $37^{\circ}\text{C}$  培養 16—18 小時後製成福馬林菌苗，鉀明矾菌苗，鉻明矾菌苗和超聲波菌苗。

毒性試驗的方法是將各種菌苗稀釋成不同倍數，0.5 毫升腹腔注射小白鼠。觀察 3 天。結果證明，鉻明矾菌苗毒性最小。

### 三、小白鼠自動免疫試驗

除應用上述菌苗外，增用了五聯菌苗（每毫升含傷寒桿菌 0.1 毫克，甲型和乙型副傷寒桿菌各 0.1 毫克，丙型副傷寒桿菌 0.1 或 0.2 毫克，霍亂弧菌 1.0 毫克）。並用丙型副傷寒菌苗 (vi-), 傷寒 Watson 株菌苗 (vi+) 和 H901 菌苗 (vi-) 做對照。用不同的菌量感染。結果免疫小白鼠較對照者生存數多，且生存日數也長。免疫次數，感染菌量和免疫效果有一定的關係。vi+ 菌苗較 vi- 者為佳。丙型副傷寒菌苗對猪霍亂沙門氏菌感染有防禦力。vi+ 菌苗對傷寒菌感染也有一定的保護力。經口感染試驗也證明了上述結果。

### 四、家兔免疫試驗

用上述不同類型的丙型副傷寒菌苗和五聯菌苗免疫家兔，測定凝集素形成狀態。免疫後凝集素較免疫前顯著增高。但是免疫血清的抗菌性抗體不明顯。

### 五、人體接種試驗

0.5 及 1.0 毫升五聯菌苗兩次皮下注射，引起凝集素的形成。和家兔血清一樣，抗菌性抗體不明顯。一般說來，接種後除輕度紅腫，癢痛等局部反應外，全身反應不嚴重。

如上所述，作者等認為，丙型副傷寒菌苗和含有霍亂弧菌的五聯菌苗在預防丙型副傷寒方面有一定的希望。

## 傷寒沙門氏菌的菌型及其應用的研究

中 村 義 治

爲了制備出的菌苗使其在預防疫病方面達到預期的效果起見，必須選擇出良好的菌種。本報告就是以兩株傷寒沙門氏菌 (Watson Ty) 作爲研究的對象。根據其變異的結果獲得了對小白鼠的毒力強，適合於感染試驗的菌株以及毒力弱，毒性小，而抗性大並有持久性的菌株，初步認爲應用本菌株生產菌苗較爲理想而且能够保證質量。今將各次試驗之結果分別總結於下。

### 菌 株 的 來 源

Watson Ty2 及 Ty14 三株菌種培養於 pH7.2 的普通瓊膠雙碟內以分離集落，檢查其性狀。前二株皆爲粘液型。根據凝集試驗的結果 Watson 株爲 V 型，但對小白鼠的毒性很弱，Ty2 株爲 VW 型。

Watson 株選擇其中毒力強的集落用肉湯行陳舊培養，每隔數日再做分離培養以選擇接近正常的集落。

Ty 14 株用分離培養很難找到正常的集落，因而直接在動物的腹腔內通過 5—7 代，其集落才恢復到原先的性狀。以這樣的集落照上法進行陳舊培養。

上述通過動物之結果；集落的性狀沒有改變，但在陳舊培養中則見到變化。即所謂 Arkwright 氏的光滑型及粗糙型以及其他各型 (Compact 型, mosaic 型)。

所選擇的集落盡量在同一條件下進行。首先把培養 20 小時的集落在一小時內檢查完畢。把選出之集落劃一記號，放置在室溫。次日再行檢查及純培養。主要選擇 S 型的集落。最後，選出 Watson 51 及 Ty 14—48 二株爲代表以進行各項試驗。

### 方 法 及 結 果

#### (一) 分離菌的凝集試驗

選出的菌株以凝集試驗檢查其凝集性。以選擇對 vi 血清呈陽性反應，對 O 血清爲陰性反應的爲主；同時也選出數株作爲對照。然後再行定量凝集反應判定其凝集性。

(結果參閱表 1, 2)

從表 1, 2 很明顯的看出型的變異：Watson 41 變異爲 VW 型，Ty 2—25 失去 vi 抗原變異爲 W 型。另外，陳舊培養菌隨培養時間的延長 H 抗原有所增加 (Ty 2 及 Watson 株)，又從增加逐漸減少以至消失 (Ty 14)。Ty 14—11 及 Ty 14—13 經 100°C 加熱後，對 vi 血清仍然凝集，已獲得耐熱性的 vi 抗原——“T 抗原 (安東)”。表中所示屬於 R 型及 W 與 R 的中間型，還有 X 型都有較高的自然凝集及熱凝集現象。

第 1 表 Watson 株分離菌的凝集試驗及其毒力

實驗號	菌 株		凝 集 試 驗						毒 力		
			0.5% 福馬林菌液			100°C 30' 加熱菌液			LJ 50		
			vi	O	H 鹽水	vi	O	H 鹽水	(毫克)		
1	Watson 原株	原	卅	--	--	--	--	卅	--	--	>0.08
2	Watson 原株 分 離 菌 (平板分離)	No.1	卅	--	--	--	--	卅	--	--	>0.08
		No.2	卅	--	--	--	--	卅	--	--	>0.08
		No.3	卅	--	--	--	--	卅	--	--	>0.08
		No.4	卅	--	--	--	--	卅	--	--	>0.08
		No.5	卅	--	--	--	--	卅	--	--	>0.08
3	Watson 原株 通過動物後 分 離 菌 (平板分離)	No.6	卅	卍	卍	--	--	卅	--	--	>0.04
		No.7	卅	卍	卍	--	--	卅	--	--	>0.04
		No.8	卅	--	卍	--	--	卅	--	--	>0.04
		No.9	卅	--	卍	--	--	卅	--	--	>0.04
		No.10	卅	--	卍	--	--	卅	--	--	第一次<0.04
4	同上 No.10 重復試驗	No.10 No.10									第二次 0.06 第三次 >0.08
5	Watson No.10 株以肉湯培 養後，平板 分 離 菌	No.41	卅	卅	卅	--	--	卅	--	--	
		No.53	卍	卅	卅	--	--	卅	--	--	
		No.51	卅	--	卅	--	--	卅	--	--	第一次÷0.01 第二次÷0.01
		No.51									

※ 二百分之五十致死量。其他為一次試驗的結果

第 2 表 Ty14 及 Ty2 株的凝集試驗及其毒力

實驗號	菌 株		凝 集 試 驗						毒 力		
			0.5% 福馬林菌液			100°C 30' 加熱菌液			LJ 50		
			vi	O	H 鹽水	vi	O	H 鹽水	(毫克)		
6	Ty14 原株	原	卅	--	卍	--	--	卅	--	--	
7	Ty14 株通過 動物後分離菌 (平板分離)	1	卅	--	卅	--	--	卅	--	--	>0.025
		2	卅	--	卅	--	--	卅	--	--	>0.025
		3	卅	--	卅	--	--	卅	--	--	>0.025
		4	卅	--	卅	--	--	卅	--	--	第一次>0.025
8	同上	4									第二次 0.025
		4									第三次 0.036
		4									第四次 0.030
9	Ty14株通過 動物後以肉湯培 養，再行平板 分 離	11	卅	--	卍	--	卍	卅	--	--	
		13	卅	--	卍	--	卍	卅	--	--	
		48	卅	--	卍	--	卍	卅	--	--	0.1
10	Ty2 原株	原	卅	卍	卍	--	--	卅	--	--	
		1	卅	卍	卍	--	--	卅	--	--	
	Ty2 平板分離菌	2	卅	卍	卍	--	--	卅	--	--	
		2	卅	卍	卍	--	--	卅	--	--	
Ty2通過動物 後以肉湯培 養 分 離 菌	25	卍	卅	卅	--	--	卅	--	--		
	26	卍	卅	卅	--	--	卅	--	--		

## (二) 選出菌的毒力試驗

選擇在定量凝集反應認為有代表性者進行毒力試驗。試驗用之菌液為 pH 7.6 的普通瓊膠在 37°C 培育 16 小時，再用 10 位稀釋的肉湯鹽水（肉湯 1：鹽水 9）制成菌液，量為 0.2 毫升。菌液在制備之後一小時內注射完畢。觀察三日內小鼠死亡的情況。

Watson 株過去很長的期間內其毒力均在 0.01—0.04 毫克 (LD<sub>50</sub>)，現在經分離的原株，其毒力則大於 0.08 毫克（見表 1 中之①②(50)）。另外，以原株通過小鼠所分離的 Watson No. 10 株的毒力略強，0.04 毫克能使  $\frac{3}{4}$  的動物死亡。但是毒力不穩。如第二次試驗其 LD<sub>50</sub> 為 0.05 毫克，第三次試驗則大於 0.08 毫克（見表 1 中之③④）。

Watson No. 10 株用肉湯陳舊培養所分離的 Watson 51 株的毒力較強。其 LD<sub>50</sub> 均為 0.01 毫克，並且也穩定（見表 1 中之⑤）。

Ty 14 株通過動物之前後無顯著的差異（第 2 表中之⑦⑧）。而用肉湯行陳舊培養的 Ty 14—48 株則變為毒力弱的菌株（見第 2 表之⑨）。有鑒於此，以 Watson 51 和 Ty 14—48 為代表株進行試驗。

## (三) Ty14—48 及 Watson 51 株的沉澱反應

Ty14—48 及 Watson 51 兩株的集落皆為 S 型。對 vi 血清呈陽性反應，加福馬林的菌液對 O 血清不凝集，而加熱 100°C 之菌液對 O 血清則凝集。所以兩者均為 V 型菌。但是 Ty 14—48 株加熱的菌液對 O 的凝集性較弱（參閱試制菌苗的凝集試驗）。

為了進一步地探討抗原量，沿下述之方法行沉澱反應。

Ty14—48 及 Watson 51 兩菌株在普通瓊膠上 20 小時的培養菌制成每毫升含 100 毫克的鹽水菌液，經 100°C 加熱 30 分鐘之後，放置過夜，經遠心沉澱的上清液即為‘沉澱原’。

血清為即知之抗 A (vi+T 抗體) 及抗 O 的稀釋血清（前者為 5 倍，後者為 10 倍，以 5% 甘油鹽水為稀釋液）。

第 3 表 沉澱反應結果

抗 原	血 清	抗 原 稀 釋 度								
		5	10	20	40	80	160	320	640	1280
Watson 51 100°C30'上清	抗A(vi)1:5 ↓	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	抗O 1:10	+	+	+	+	+	+	±	-	-
Ty14-48 100°C30'上清	抗A(vi)1:5	+	+	+	+	+	+	±	±	-
	抗O 1:10	+	+	±	±	-	-	-	-	-

上述試驗證明 Watson 51 株對抗 A 血清的反應為 160 倍；Ty 14—48 為 640 倍。說明 Ty 14—48 比 Watson 51 株的 vi 抗原含量多。反過來，對抗 O 血清的反應，Watson 51 為 320 倍，而 Ty 14—48 僅為 80 倍。可以肯定：Ty 14—48 比 Watson 51 的 O 抗原含量少。

(四) Ty 14-48 及 Watson 51 株產生凝集素的能力

以 Ty14-48 與 Watson 51 兩菌株比較其抗原性。兩株菌各免疫一只家兔。免疫所用之菌液為 37°C 培養 20 小時的活菌製成每 0.5 毫升中各含有 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 毫克的菌液，耳靜脈內免疫 7 次。第一次間隔三日，餘者均間隔一日。在注射前及注射後的第七日採血進行試驗。血清經 56°C30 分鐘滅能後加入 1: 10,000 的硫柳汞 (Merzonin) 防腐。

凝集反應所用之菌液 (診斷液) 如第四表所示之已知的血清進行試驗。依第 5 表的結果觀察：兩株皆為傷寒沙門氏菌，並且都具有產生凝集素的能力。兩株之間比較起來 Watson 51 比 Ty 14-48 高些。這可能是由於動物各體差異所致。但可以說明兩菌株都具有產生 O 凝集素的能力。也證明 Ty 14-48 並非為缺乏 O 抗原的 X 型菌。另外，Watson 51 所免疫的家兔在免疫過程中顯著的衰弱，而 Ty 14-48 所免疫的家兔體重反而增加。

第 4 表 免疫血清的凝集效價

血清	診斷液															
	Vi			O						OH						
稀釋倍數	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800
抗 A (Vi)	++	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
抗 O	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++
抗 H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
免疫前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
watson 51 活菌免疫	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
免疫前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ty 14-48 活菌免疫	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Watson 51, Ty 14-48 及 Ty 14 原株試製菌苗的結果

(一) 菌苗的製法：以 Watson 51, Ty 14-48, Ty 14-原株等三株菌種各用 pH 7.4 的普通瓊膠在 37°C 培養 18 小時。共菌體按第 5 表之方法處理製成菌苗以供試驗。

第 5 表 試製菌苗的種類

菌苗號	菌株	菌液的處理方法
No. 101	Watson 51	每毫升含 100 毫克菌體的菌液加 2% 福馬林處理
No. 102	Ty 14-48	同上
No. 103	Ty 14-原	同上
No. 101-37	Watson 51	每毫升含 100 毫克菌體的菌液加 5% 福馬林，37°C 放置 30 日
No. 102-37	Ty 14-48	同上
No. 103-37	Ty 14-原	同上

註：其他均按一般製造菌苗的方法處理。



## 討 論

安佐氏在 1928 年所報告的傷寒菌 I、S、X 受體即相當於現在的 H、O、vi 抗原。1934 年 Felix 與 Pitt 氏提倡為傷寒菌的 vi 抗原。從此 vi 抗原在學術上就有實際重要的意義。在 1935 年 Kauffman 氏加以追試，把傷寒菌分為 V、W 型是衆所熟知的。給 vi 抗原的分析開辟了廣闊的道路。vi 抗原在免疫學方面具有重要的意義，同時，vi 抗原又為不耐熱的物質。為了探明這一問題曾有很多學者進行過研究。

在 V 型菌之中 vi 抗原的含量亦有所不同，在試驗中已得到證實。除此之外在菌體內還排列有其它各種抗原因子。所以選擇生產用的菌株也必須注意這一問題。其中重要的是應用毒性弱而免疫力強的菌株為佳。而這種菌株實在不多。一般具有各種抗原，毒力強的菌株其毒性強，抗原性也大。死菌菌苗所用之菌株的毒力愈強，其抗原性也愈大。為此必須採用各種方法增強其毒力。在測定平均免疫量時其毒力愈強，誤差也愈小。故檢定時亦必須用毒力強的菌株。

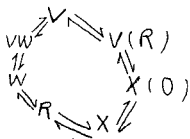
根據以上諸事實著者選擇毒力強的菌株為重點進行試驗。在選擇毒力強的菌株的同時獲得了毒力弱並且也有高度抗原性的菌株。另外，竹內氏也報告過：含有 Vi 抗原的菌株與對小鼠的毒力之間沒有一定的關係。從這裡指出：可能有毒力弱而抗原性大的菌株存在。所以作者用 Ty 14—48 菌株加以試驗。

細菌在試管或在生體內有不同程度的變異，依安東、沃野二氏的假設有下例方面的變異：

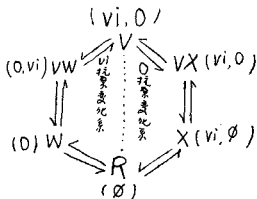
本試驗中的 Ty 14—48 具有 V 和 X 型兩者的性狀，可能為其中間型，故稱為 VX 型菌。

本菌株如果按第一圖的方向順序所表示，則如第二圖所示之型的變異。傷寒菌的抗原變化已經知道是抗原單獨所引起的。可以推測出 VX 型菌為 O 抗原變化過程的產物。

第一圖



第二圖



註：在每個變異的階段可能存在有不同的中間型。



Ty14—48 的集落以 S 型為基礎而含有 vi, O 抗原的正常集落，其平均免疫量小而且具有持久性以及毒性弱等優點適合於生產菌苗之用。但在 O 抗原部分含有 T 或  $\phi$  抗原，可能為一變異菌株。考慮到在生產的菌苗中含有完整的 O 抗原在免疫學上亦有重要的意義。因此尚不能單純用 Ty 14—48 株生產，應與 Watson 51 株共用為上策。今把實驗的結果簡單的概括於下表：

菌 株	試驗 集落性狀	凝集試驗 Vi O II	沉 澱 反 應		免疫性能 Vi O II $\rho$	毒 力 $\Delta L_3 D$	毒 性 $\Delta L_3 D$	平均免疫量(A, I, D)	
			Vi	O				Ty14—原 (感染菌)	Watson51 (感染菌)
Watson—原	S, M	卅 — —				>0.08	8.0	0.016	
Watson—51	S, C	卅 — 卅	100	320	+++ +	$\div 0.01$	3.1	0.0024	0.00043
Ty 14—原	S, M	卅 — +				0.025	4.0	0.0063	
Ty 14—48	S C	卅 — 卅	640	40	+++ +	0.1	8.0	0.0024	0.00016

註：S, M—Smooth mesaic; S, C—Smooth compact;

※ 為有免疫的能力；凝集試驗之 卅, 卅, +, 卅 等為最高凝集的程度。

## 結 論

一、從毒力弱，集落不正常的 Watson 株分得到一株毒力強，而集落完全恢復正常的菌株。這一株菌適合感染試驗之用。

二、從 Ty 14—48 株的集落中選出一株毒力及毒性弱，抗元性高，集落為 S 型的菌株。該株的菌型為 V 及 X 兩者之中間型。故稱為 VX 型菌。

三、作者認為用以上兩菌株生產菌苗最為理想。

## 不分解乳糖的宋內氏痢疾菌變種(摘要)

周 惠 民 蔣 競 武

我們於 1953—55 年期間在東北幾個主要城市內檢出宋內氏痢疾菌共 200 株，其中不分解乳糖的有 21 株 (10.5%)。

這些菌株除於 37°C 培育 30 日不分解乳糖外，其他生化學特性與分解乳糖的典型宋內氏痢疾菌相同。

從 21 株變種中選擇了 a957 一株與乳糖陽性的標準宋內氏痢疾菌株(51334)對照，作了凝集反應及交叉吸收試驗，結果證明彼此抗原結構完全相同。

(全文將刊載於微生物學報)

## 分離痢疾桿菌的一種改良 Leifson 氏培養基

周 惠 民    劉 春 山

分離糞便內痢疾桿菌所採用的培養基，不外下列幾種：一類是選擇性培養基，其中含有乳糖，指示劑和阻止經常存在於糞便內的非病原菌發育的抑制劑，例如：SS 琼膠和 Leifson 氏去氫膽酸鹽檸檬酸鹽琼膠等；另一類是鑑別培養基，其中不加抑制劑，因此，大腸菌和病原菌均可繁殖發育，例如：遠藤氏培養基，曙紅亞甲藍培養基及石蕊牛乳培養基等，但就中以遠藤氏培養基不獨價廉，且因製造簡易，故應用最廣，但根據我們的歷年來的經驗證明，此種培養基是不能令人滿意的，特別是對於檢查後期和痢疾康復者的糞便，往往不能得到陽性的結果。本文所作旨在試用第三號膽鹽以代替 Leifson 氏培養基中的去氫膽酸鈉並與 SS 琼膠及遠藤氏琼膠作了比較試驗。

### 一、改良 Leifson 氏培養基製造法

改良培養基中主要成份為膽鹽，脛，檸檬酸鹽，乳糖及中性紅等。處方為

第三號膽鹽	0.6 克 (Difco)
脛 (Poly)	2.0 克 (日本武田榮養化學株式會社)
檸檬酸鈉	2.6 克 (E.MERCK)
檸檬酸鐵銨	0.2 克 (Howards & Sons LTD.)
乳糖	1.0 克 (日本鹽野義商店)
琼膠粉	3.0 克 (日本武田化學藥品株式會社)
中性紅 1% 水溶液	0.3 毫升 (G. Grubler)
蒸餾水	100 毫升

#### 製 法:

先將膽鹽，脛及檸檬酸鈉放入蒸餾水中，加熱使溶，矯正 pH 7.6，加入瓊膠粉，在 100° 阿納氏滅菌器中，加熱約二小時以使瓊膠溶化。用濾紙或紙漿濾過。再加檸檬酸鐵銨及乳糖，用手搖搗片刻使溶，於 10 磅高壓蒸氣滅菌器內，滅菌 30 分鐘。儲藏冷暗處備用。

使用前先將培養基溶化，待涼至約 60° 時，於 100 毫升的培養基內加入 1% 中性紅水溶液 0.3 毫升，搖勻，傾倒在滅菌的平皿內以待凝固。使用時瓊膠表面及平皿蓋上須不帶有顯著水液，否則培養物將長成一片，不易得到分散的菌落。

第三號膽鹽和檸檬酸鹽對於大腸桿菌均有抑制作用。根據多次試驗結果，檸檬酸鈉用量以 2.6% 為最適宜。過量使用時不獨大腸桿菌將被抑制，即病原菌亦可被阻止生長。中性紅用量必需十分準確，太多亦足以抑制病原菌發育，太少則將影響乳糖發酵，致使發酵乳糖的細菌和非乳糖發酵菌不易區分。Leifson 氏 (1) 認為檸檬酸鐵銨可以減低

中性紅對病原菌的毒性，並提高對大腸菌的毒性，故改良培養基處方內含有此一成份。

培養基於傾倒後為淡棕色。接種培育後，痢疾桿菌菌落為無色透明，大腸菌為紅色不透明的菌落。如大腸桿菌的菌落生長過盛，或當平板在室溫內放置過久，則紅色大腸桿菌菌落即轉變為黃色混濁。乳糖用址雖可增加 (Lawrence 1953) (2) 以使紅色顯著，但因此膽酸鹽發生大量沉澱，難於辨別痢疾菌菌落。如能於 24 小時內觀察菌落，則可免除大腸菌褪色的缺點。變形桿菌形成單獨無色透明的菌落，不易和痢疾桿菌的菌落區別。但因變形桿菌可以分解脲，故當接種在 Christensen(3) 氏脲瓊膠上，約經 6—12 小時後，則可使培養基成為紫色得以區分。葡萄球菌，腸球菌，枯草桿菌，產鹹糞便桿菌在此培養基上不能生長。接種時糞便無需用鹽水稀釋。

## 二、各類細菌試驗方法及其結果

供試菌株為志賀氏痢疾菌 1 株，什密次氏痢疾菌 1 株，福氏痢疾菌 1 株，宋內氏痢疾菌 1 株及甲型，乙型，丙型副傷寒，倫敦及傷寒沙門氏菌各 1 株，以及大腸菌 1 株。

先將大腸菌和供試菌株，分別接種在肉湯管內、在 37° 內培育 24 小時後，以一定量的大腸菌培養物加不同量的供試菌培養物，按表一稀釋：

表一

供試菌株	試管			
	1	2	3	4
24小時大腸菌培養物(毫升)	0.25	0.25	0.25	0.25
24小時供試菌株肉湯培養物(毫升)	0.025	0.05	0.1	0.15

然後，於各試管內加入 2.5 毫升滅菌鹽水，搖勻後，分別自管內吸取 0.5 毫升放入一列空試管中，再加滅菌鹽水 5.5 毫升。搖勻後，取出一鉤圈分別塗抹於 SS 瓊膠和改良培養基上，於 37° 培育 20—24 小時，取出計算菌落。其結果如表二所示：

表二

供試菌株 培養基 菌落數	福氏痢疾菌		什密次氏痢疾菌		志賀氏痢疾菌		宋內氏痢疾菌		甲型副傷寒沙門氏菌		乙型副傷寒沙門氏菌		丙型副傷寒沙門氏菌		傷寒沙門氏菌		倫敦沙門氏菌	
	改良	SS	改良	SS	改良	SS	改良	SS	改良	SS	改良	SS	改良	SS	改良	SS	改良	SS
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	401	211	509	518	445	445	21	15	460	1,836	350	624	13	30	60	130	175	284
2	417	462	848	863	475	671	47	24	560	1,389	280	1,025	18	34	34	203	138	485
3	521	659	1,166	1,245	452	675	30	15	570	2,801	325	1,489	58	58	92	225	195	233
4	547	703	1,635	1,264	615	775	25	54	1,260	4,190	545	1,721	19	19	21	172	215	1,351

附註：由於這膠氏培養基固不具抑制大腸菌的能力，培育後長成一片紅色，無法計取菌落，故未列入表中。

由表二得知改良培養基對於傷寒沙門氏菌的生長頗為不良，同時應用於傷寒患者結果亦不佳，故不能用於傷寒沙門菌的分離。對於福氏和志賀氏痢疾菌及丙型沙門氏菌的生長和 SS 培養基相仿，甲型副傷寒和倫敦沙門氏菌的生長不如 SS 培養基的好，用於

培養什密次氏痢疾菌時，則較 SS 培養基為佳。宋內氏痢疾菌在二種培養基上生長都不好，可能由於菌種粗糙的原故 (Ruys, A.C. 1940)<sup>(4)</sup>。

### 三、實際應用

從 1953 年 3 月開始，我們對於痢疾患者，康復者和健康者的糞便培養共計作 664 次；其中用改良培養基和遠藤氏培養基作痢疾患者和康復者糞便作培養比較的計 93 次（見表三）改良培養基陽性者計 57 次（61.2%），遠藤氏培養基計 8 次（8.6%）；用 SS 培養基作痢疾患者，康復者和健康帶菌者的糞便培養作比較的有 571 次，改良培養基陽性計 65 次（11.3%），SS 培養基陽性者為 70 次（12.27%），此外，我們還用了曙紅亞甲藍和石蕊牛乳培養基進行了比較試驗

但因結果不良，故未加詳分析。

改良培養基和遠藤氏培養基對於痢疾患者和康復者糞便的培養結果

改良培養基和 SS 培養基對於痢疾患者，康復者和健康帶菌者糞便的培養結果

表三

培養基種類 檢總次數	改良		遠藤		改良+遠藤	
	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率
93	57	61.2	8	8.6	28	30.1

我們的結果和 Paulson 氏(1937)<sup>(5)</sup>及 Ruys 氏(1940)<sup>(4)</sup>發表的相仿，即 Leifson 氏去氧膽酸鹽檸檬酸鹽培養基用於腸部疾症患者糞便分離時，較用遠藤氏和曙紅亞甲藍培養基為優。改良培養基對於痢疾患者康復者，亦比遠藤氏培養基為佳，甚至在某些病例中 150 天後仍可得到陽性培養。

最後，我們認為改良培養基可用於分離痢疾患者，康復者和帶菌者的糞便培養。

表四、

培養基種類 檢總次數	改良		SS		改良+SS	
	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率	陽性百分率
571	65	11.3	70	12.3	436	76.3

### 四、結 論

1. 本文介紹了一種簡易的改良 Leifson 氏培養基的製造方法。
2. 改良培養基對大腸菌有顯著的抑制作用，但對病原菌則否。變形桿菌在此培養基上長成單獨無色透明菌落。
3. 改良培養基對於檢查痢疾患者，康復者和帶菌者的糞便培養，它的陽性率幾與 SS 現膠相若，遠較遠藤氏培養基的檢出率為高，改良培養基適用於急性和慢性痢疾患者以每帶菌者的糞便培養。

### 參 考 文 獻

1. Leifson, E.: J. Path. and Bact., 40:581, 1935.
2. Lawrence, J.J.: J. Path. and Bact., 65:258, 1953.
3. Christensen, W.B.: J. Bact., 52: 461, 1946.
4. Ruys, A.C.: Brit. Med.J., i: 606, 1940.
5. Paulson, Moses: Am. J. M. Sc., 193:1, 1937.

# 超聲波菌苗的研究

## I. 單價霍亂菌苗之實驗

山內豐紀 崔錦家

### 前 言

超聲波自從1920年被Langvine應用以來，有好多學者在這方面做了許多工作，如Wood和Loomis在醫學方面做了實驗，他們發現紅血球在超聲波的作用下，可以溶血，證實了超聲波的破壞作用。Williams, Gains及Harrey等曾發表過關於超聲波對細菌方面的報告，說明超聲波對細菌具有破壞作用。以後在各國許多學者利用超聲波，進行過細菌學，免疫學及血清學等研究。近年來超聲波的研究更為驚人，在工業上，軍事上，解決了許多問題，保證了機械設備的質量和國防的安全。在醫學上許多國家利用它來治療疾病，並且收到一定的效果。利用超聲波來研究菌苗，藉以改進質量等工作，在日本有許多學者發表過論文。如矢追氏於1934, 1940年先後研究過兩次有關痘苗問題，他認為精製痘苗及牛痘苗經過超聲波作用，精製痘苗在短的時間內，就可以喪失發痘能力，而牛痘苗可耐過較長的作用時間。渡邊及三橋曾以超聲波研究過傷寒菌苗，食物中毒菌苗及霍亂菌苗等，其實驗結果認為比對照菌苗的抗原性高。柳澤於1938年日本聯合微生物學會發表過“超聲波卡介苗苗”在接種後的反應及陽轉率上，均比一般製法的卡介苗好，他認這是卡介苗製造上的一個改革。

兒玉曾就渡邊的超聲波傷寒菌苗，做過人體接種統計，認為比一般的傷寒菌苗好。作者山內與貴室院在本所座談會上報告過超聲波作用粗製痘苗後，能夠提高發痘力。同時追試矢追的精製痘苗的實驗，亦得到相同的結果。因此著者認為利用超聲波來處理菌苗，是有實際意義的。著者之一在渡邊的指導下，曾試製過超聲波霍亂菌苗，並進行了人體接種，經一系列檢查證明，認為比對照組好，然而遺憾的是注射後副作用較強，此點應加以改進。

本所之超聲波發生機現已修復，為了試驗它的性能，而進行了本實驗，今將結果介紹如下：

### 實驗材料及方法

1. 超聲波發生機：具有兩種波段，即560KC與280KC兩種頻率，當使用時通過波段選擇開關，任意選擇其中之一。本機之最大功率為3000瓦特，其整流部分係通過兩只汞氣整流管球(HV-969×2)，將由變壓器變來的高壓電加以全波整流，並通過濾波器，使其變為直流高壓電，供給振盪管球(UN-161B)使用。振盪回路為哈德萊電路，通過振盪線圈和調諧電容器，在振盪管球和其線圈產生出高頻電流，以此高頻電流感應另外一只線圈，再通至X切法的水晶片，使水晶片發生振動，因為水晶片的厚度不同，其固有波長亦不同，故使用一種高頻電流時，應調換一種厚度不同的水晶片。水晶片能

修產生出聲壓是由於其本身具有電壓效應的結果。發生超聲波的地方是在一個油槽中，由於水晶片在高頻電流下工作時能產生一定的溫度，故本機還附有冷卻裝置，藉以防止被射物體受高溫，在工作中能夠保證不超過 37°C。

2. 供試菌懸液：以本所保存之原型(Inaba)稻葉株，當時對小白鼠之毒力為 0.6~0.8毫克/M.L.D.，於普通琼脂上經過18—20小時培養後，採取菌苔以生理食鹽水稀釋成100毫克/毫升，分注100毫升於特製之超聲波試管中，分別以280KC超聲波作用5分鐘（簡稱超5苗）、10分鐘（簡稱超10苗）、20分鐘（簡稱超20苗）、30分鐘（簡稱超30苗）。在超聲波作用管中溫度不超過37°C，作用後之菌懸液分別裝在滅菌三角瓶中，並加入0.4%福馬林膠箱中放置一夜，經培養試驗證明無活菌及雜菌者，始供實驗使用。對照菌苗為取同一菌懸液，不經超聲波作用，加0.4%福馬林殺菌者（簡稱為對照菌或K）。

3. 理學檢查：檢查各菌苗之沉渣量、混濁度、粘稠度、pH值等。沉渣量用烏洛氏沉澱管放進一定量超聲波作用後之菌懸液，以3,000轉離心機沉10分鐘，檢查其沉渣量。混濁度係藉Richard型比色計測定。粘稠度以Hiss粘度計檢查。通過以上檢查可以了解菌懸液被破壞的程度如何。檢查pH之目的是為了解菌體蛋白是否受氧化作用而變性。

4. 超聲波作用菌懸液之培養試驗及顯微鏡檢查：培養試驗之檢查係取加福馬林前之超聲波作用菌懸液0.5毫升接種於雙碟上，37°C培養24小時，觀察其發育情況及生物學特性變化情況。顯微鏡檢查是取菌體沉渣時之菌體，製成標本以Pfeiffer染色液染色，在顯微鏡下檢查菌體破壞情況。

5. 免疫家兔體內抗體檢查：取體重為2公斤左右之雄性家兔，分5組，每組3隻，分別由耳靜脈免疫各菌苗，第一次0.5毫克、第二次1毫克、第三次2毫克、第四次4毫克，每次間隔為7日。每免疫前先用耳靜脈採血5毫升分離血清，通過凝集反應，補體結合反應及溶菌反應了解免疫動物體內抗體的消長情況。

6. 免疫家兔白血球變動及血像之檢查：家兔在免疫前後由耳靜脈取血製成血片，以甲醇固定後經Giemsa染色，顯微鏡下將白血球分類，每組以平均值表示。白血球變動係以Thomas血球計數器檢查，每份材料計數三次再以平均數表示，每組再以每份材料的平均數加以平均後，作為各組的平均數。檢查時間共分為免疫前，免疫後30分、60分、3小時、5小時、8小時、24小時七次進行。

7. 毒性試驗：共分兩種方法進行；皮下法是以50毫克、25毫克及10毫克三種不同濃度之各菌懸液，使含於0.5毫升中，皮下注射體重13—15克重的小白鼠，每濃度共用4隻。腹腔法係取各菌懸液30毫克及10毫克菌量使懸於0.5毫升鹽水中，腹腔注射13—15克小白鼠，共觀察7日。

8. 保護力試驗：供試動物為小白鼠，共實驗兩次；第一次實驗，皮下注射菌苗三次即0.5毫克，1.0毫克，1.0毫克，每次間隔7日，由第三次注射起第14日，以4.0、8.0、12.0及16.0毫克活菌攻擊，觀察7日計算其LO50。第二次實驗，只皮下免疫一次隔7日及1.0、2.0及3.0毫克之活菌攻擊，觀察其生死情況。

9. 超聲波作用時各條件：所用之屏極電壓為3,100—3,200V，當時之屏極電流為

0.55A., 網極電流為0.1A., 油槽中之油溫最高為30°C.

## 實驗成績

### (一) 超聲波對霍亂菌之影響

1. 超聲波作用菌懸液之培養試驗及生物學性狀之檢查: 將超聲波作用後的菌懸液培養於雙碟後其結果如表1.

表1. 超聲波作用後的菌懸液培養成績

菌懸液	I	II	III
超聲波作用5分	冊	冊	冊
超聲波作用10分	+	+	+
超聲波作用20分	+	+	+
超聲波作用30分	+	+	+
對 照	冊	冊	冊

查其凝集性及形態的變化, 其結果與對照並無任何差別, 證明超聲波作用第一代菌株, 並不能引起變異。

#### 2. 超聲波作用菌懸液顯微鏡檢查結果:

對照菌懸液在顯微鏡下除能看到定型的弧菌外, 還可以看見為數很少的短桿菌。

超聲波作用5分者除能觀察到典型的弧菌外, 有一部分細菌之菌體膨大或變為長桿狀, 並微有極濃染現象, 另外還有一部分菌體已破壞。

超聲波作用10分者菌體膨大狀態的細菌數更多, 有的竟呈球形, 典型的弧菌數顯著減少, 極濃染現象者亦減少, 被破壞的菌體增加。

超聲波作用20分者已幾乎不能看到典型的弧菌, 多數細菌膨成球形有的則原形質分離, 在視野中出現菌體破片。

超聲波作用30分者已完全找不到典型弧菌, 視野中遍佈菌體之破片及棉團似的染色塊, 但也有為數極少的球形菌散在着。

根據以上之檢查結果, 明顯地看出超聲波作用後的菌懸液是與作用時間成正比的在破壞着。作用的初期典型的弧菌變為球狀, 以後則細胞壁破壞原形質潰出。根據顯微鏡檢查及培養試驗的成績著者認為膨大呈桿形球形者仍具有繁殖能力, 但已破裂之菌體會喪失繁殖能力。

3. 超聲波作用菌懸液之菌體沉澱量, 經用烏瀉氏沉澱管測定結果如表2.

由表2明顯的看出隨作用時間的延長, 所測出的沉澱愈少。

4. 超聲波作用菌懸液之混濁度: 經肉眼觀察時, 超聲波作用後的菌懸液較對照有顯著的減低, 如用比濁計測定時, 其結果如表3.

由表2很明顯的可以看出沒有經超聲波作用的對照, 在培養基上發育成菌苔, 作用5分鐘者亦如對照幾乎相同, 作用10分者可以明顯的看出發育不良, 不是菌苔而是小菌落叢。作用20分者發育更不良, 在雙碟上散佈着孤立菌落, 作用30分者其菌落更為稀疏。取作用5分及10分鐘之菌懸液, 做分離培養並檢

表2. 菌體殘渣量成績

菌懸液	沉澱管	刻 度
超聲波作用5分		0.5
超聲波作用10分		0.45
超聲波作用20分		0.4
超聲波作用30分		0.3
對 照		0.6

爲了避免誤差乃將超聲波作用後的菌懸液作10倍稀釋，即將對照稀釋成10倍，相當10毫克/毫升菌體之濃度，將測定結果以木村氏換算法換成菌量藉以比較。根據作者實驗結果，混濁度隨作用時間漸減，作用10分者已減少將近 $\frac{1}{2}$ ，作用30分者約減少 $\frac{2}{3}$ 。混濁度與菌體破壞有關，因爲菌體的原形質遺出，而使混濁度減低。

5. 超聲波作用菌懸液之粘稠度：在試驗當時爲了避免感染，故未取作用後之菌懸液，而用福馬林殺菌後之菌懸液。在粘稠度上也是隨超聲波作用時間的延長而減少。其成績如表4。

表 3. 混濁度試驗成績

菌懸液	比濁計	換算菌量 (毫克)
超聲波作用5分	15.5	6.45
超聲波作用10分	19.2	5.20
超聲波作用20分	23.6	4.23
超聲波作用30分	32.0	3.12
對 照	10.0	10

表 4. 粘稠度試驗成績

菌懸液	粘稠計	刻 度
超聲波作用5分		1.80
超聲波作用10分		1.50
超聲波作用20分		1.50
超聲波作用30分		1.45
對 照		1.80

6. 超聲波作用菌懸液之pH：超聲波對細菌之作用機轉作者<sup>(35)</sup>已曾報告過，具有化學作用和物理作用。化學作用即能使菌體發生氧化，因此，使菌體蛋白變性。物理作用係指超聲波對菌體的破壞作用，目的是將菌體振碎游離出原形質，取其具有抗原性部份，以便製造菌苗。測 pH 之目的就是了解菌懸液是否受到氧化作用，其成績如表5。

表 5. pH 成 績

菌懸液	pH試紙法 (殺菌前)	鎢電極法 (殺菌液)	比色法 殺菌後
超聲波作用5分	6.7	5.3	5.8
超聲波作用10分	6.7	5.3	5.8
超聲波作用20分	6.6	5.2	5.8
超聲波作用30分	6.6	5.2	5.8
對 照	6.8	5.3	5.8

由表5所示，經超聲波作用後未加福馬林者，其pH爲6.7左右，與作用時間關係不大，經福馬林殺菌者pH一般下降，此原因可能是福馬林具有一定酸性而影響懸液之pH下降，但雖作用時間不同，其pH值也無大的差別，電測法（鎢電極測）亦無大差別。根據以上試驗結果證明所使用的超聲波作用條

件，是發揮着物理作用。

(二) 超聲波亂菌苗免疫家兔後白血球變動情況

1. 第一次免疫後白血球

表 6. 第一次免疫後白血球變動情況

之變動

各菌苗免疫家兔後白血球數之變動如表6.及圖1.

根據表6及圖1所示，注射菌苗後一般均表現白血球數下降，特別在注射後60分者表現得最突出，然後隨時間的積累白血球數逐漸上升，以致在

採血時間	菌 苗	對照菌				
		超5菌	超10菌	超20菌	超30菌	
	白血球	%	%	%	%	
注 射	前	100	100	100	100	100
注 射	30分	62.59	90.71	58.69	106.76	75.65
注 射	60分	42.35	67.01	51.92	73.84	39.81
注 射	3時	98.42	74.18	54.69	86.71	139.47
注 射	5時	167.07	150.87	113.67	104.32	204.60
注 射	8時	256.09	192.64	116.23	242.5	250.00
注 射	24時	300.00	206.35	130.33	211.59	248.72
注 射	低	42.35	67.01	51.92	73.84	39.81
注 射	高	300	206.35	130.33	242.50	250.00
注 射	均	154.42	130.29	87.58	137.59	159.54



24小時已超過原來的實數。在本次免疫中變動最小的免疫組為超10苗，其最低%與最高%之平均為87.5%，免疫後白血球數最少時為8,000，最多時為13,033。變動最大的是對照菌苗，其次是超30苗，超20苗及超5苗之次序。

### 2. 第二次免疫後白血球之變動

第一次免疫後間隔7天，進行第二次免疫。其免疫前後白血球的變動情況如表7及圖2。

表 7. 第二次免疫後白血球變動情況

採血時間	菌苗 白血球	對照苗	超5苗	超10苗	超20苗	超30苗
		%	%	%	%	%
注射前		100	100	100	100	100
注射後30分		40.18	40.0	154.03	132.56	81.67
注射後60分		36.44	36.15	117.53	115.12	129.00
注射後3時		161.49	135.12	140.52	190.13	168.70
注射後5時		204.67	197.69	110.42	184.21	131.29
注射後8時		138.31	153.84	134.67	363.82	221.37
注射後24時		128.97	133.38	119.43	244.40	204.58
最低%		36.44	36.15	110.42	115.12	81.67
最高%		204.67	197.69	154.03	363.82	221.37
平均%		133.34	116.36	129.93	205.04	156.10

由表7可以觀查到超5苗，超30苗及對照菌之變動趨勢與第一次免疫後的變動過程相同，但超10苗及超20苗正如第一次免疫後的情況相反，經過注射後白血球數有顯著的增多。在白血球波動過程中變動幅度最小者為超10苗，超20苗之變動幅度最大，超5苗與對照苗相仿。

### 3. 第三次免疫後白血球之變動

第三次免疫後白血球之變動情況如表8及圖3

表 8. 第三次免疫後白血球變動情況

採血時間	菌苗 白血球	對照苗	超5苗	超10苗	超20苗	超30苗
		%	%	%	%	%
注射前		100	100	100	100	100
注射後30分		46.72	35.39	49.36	31.33	34.00
注射後60分		112.70	122.60	58.10	62.75	45.66
注射後3時		127.04	201.13	70.54	80.07	102.66
注射後5時		209.01	266.44	235.04	153.06	112.66
注射後8時		154.09	353.79	313.30	236.23	230.00
注射後24時		246.72	332.05	224.68	190.31	224.66
最低%		46.72	35.39	49.36	31.33	34.00
最高%		246.72	353.79	313.30	236.23	230.00
平均%		149.39	218.56	156.96	125.62	124.94

由表 8 不難看出白血球的變動情況與第一次免疫時之情況相似，在免疫注射後 30 分鐘內白血球急驟下降，以後則隨時間的增長而增多。

根據以上實驗，各種菌苗在注射後一般均在 60 分鐘至 3 小時以前白血球有顯著的下降，然而在第三次注射時却提前在 30 至 60 分間有顯著下降。超 5 苗及超 10 苗在第一次與第二次免疫時變動較其他者為小，但在第三次免疫後却有顯著增加。

### (三) 超聲波攪亂菌苗免疫家兔後血液變動

大單核白血球在第一次與第二次免疫後，其變動比較大，但各菌苗之間出入並不大，第三次免疫後較前兩次免疫後的變動更小。一般在注射後 30 分至 60 分普遍下降以後則上升 5 小時為最高。以後則逐漸下落 24 小時已接近注射前的數值。

嗜伊紅白血球在三次免疫當中各種超聲波菌苗均有顯著下降，第一次免疫後 5 小時已找不到嗜伊紅白血球的存在，雖經 24 小時仍沒有復原。第二次免疫後同樣也迅速下降，注射 60 分後至 50 小時，在視野中找不到該白血球。第三次免疫後其下降時間較第二次免疫推遲一些在 3—8 小時中間，沒發見嗜伊紅白血球。對照菌苗與超聲波菌苗似有不同，三次免疫後均一度上升，再下降，在視野中還可以找到該白血球的存在。

淋巴球在本實驗中各種菌苗均在注射後下降，第一次注射後 8 小時表現為最低，與注射前相差 80%，而第二次注射後在下降時間上稍提前，為注射前 5 小時，注射前後差為 70% 左右。最後一次注射下降最顯著的時間是在 8 小時，而最低最高差為 50% 左右。

嗜鹼性白血球一般在注射後立即上升，在免疫 1 小時至 3 小時達到最高峯，然後下降，在 24 小時將接近免疫前狀態。

### (四) 超聲波攪亂菌苗免疫家兔之抗體產生試驗

#### 1. 補體結合性物質情況

補體結合性物質之消長情況如表 9。

表 9. 補體結合性物質產生成績

菌苗	免疫次數 採血時間	第一次免疫	第二次免疫	第三次免疫	第四次免疫				
		免疫前	第一次免疫後 7 日	第一次免疫後 14 日	第一次免疫後 21 日	第一次免疫後 28 日	第一次免疫後 35 日	第一次免疫後 42 日	第一次免疫後 49 日
對照苗		0	5×	20×	160×	80×	80×	20×	10×
超 5 苗		0	10×	20×	80×	320×	320×	160×	80×
超 10 苗		0	10×	16×	160×	320×	320×	160×	80×
超 20 苗		0	5×	10×	160×	160×	160×	80×	20×
超 30 苗		0	5×	10×	80×	80×	80×	20×	5×

由表 9 可看出超 5 苗，超 10 苗表現得比較突出，在免疫時 35 日達到 320×，而對照之最高效果出現在免疫後 21 日，以後似進入下降階段。超 20 苗僅次於超 10 苗。

#### 2. 溶菌素產生情況。

以 Neisser—Wechsberg 試管內溶菌法檢查如表 10。

表 10. 溶菌素產生情況

採血時間 免疫血清		免 疫 前		第一次免疫後 7 日	第二次免疫後 7 日	第三次免疫後 7 日
		對 照 苗	苗			
對 照 苗		10 × (-)		800 × (卅)	8,000 × (+)	16,000 × (卅)
超 5 苗		10 × (-)		800 × (卅)	8,000 × (卅)	16,000 × (+)
超 10 苗		10 × (-)		800 × (卅)	8,000 × (卅)	16,000 × (卅)
超 20 苗		10 × (-)		800 × (卅)	8,000 × (+)	16,000 × (+)
超 30 苗		10 × (-)		800 × (卅)	8,000 × (+)	16,000 × (+)

免疫前之健康血清沒有霍亂溶菌素存在。由表中可以找出在第一次免疫後 7 天的血清中已有溶菌素產生，雖作 800 倍稀釋超 5 苗及超 10 苗尚能完全溶菌，而對照苗在雙碟上却可看到有較少的菌落生長。第二次免疫後 7 天在 8000 倍的稀釋度上超 5 苗及超 10 苗的免疫血清也能把霍亂菌溶菌，而其他菌苗的免疫血清在此濃度時看不到有溶菌現象。第三次免疫後除超 10 苗在 16,000 倍表現為溶菌外，其他菌苗均不能完全溶菌，但對照苗所免疫的血清菌落較少。僅以本實驗之成績超 10 苗的溶菌素產生得較他菌苗似乎好些。其他菌苗之間出入並不大。

### 3. 凝集素產生情況

各供試菌苗免疫家兔血清，所測得的凝集價如表 11。表內包括對異型菌苗的交叉反應成績。

表 11. 凝集反應成績

採血時間	苗 菌 抗 原	對 照 苗		超 5 苗				超 10 苗				超 20 苗				超 30 苗			
		原 型		異 型		原 型		異 型		原 型		異 型		原 型		異 型			
		O	OH	O	OH	O	OH	O	OH	O	OH	O	OH	O	OH	O	OH		
免 疫 前		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
免 疫 後 7 日		100	200	100	100	100	100	100	400	400	100	100	100	100	100	200	200	100	
免 疫 後 14 日		400	800	400	800	800	400	800	800	1,600	400	800	800	800	400	800	200	400	
免 疫 後 21 日		800	1,600	400	800	800	1,600	400	800	1,600	3,200	800	1,600	800	1,600	400	800	800	
免 疫 後 28 日		800	1,600	400	800	800	1,600	400	800	1,600	3,200	800	1,600	1,600	1,600	700	1,600	1,600	
免 疫 後 35 日		400	800	200	400	400	800	800	1,600	400	800	1,600	400	800	1,600	400	800	1,600	
免 疫 後 42 日		200	400	100	200	200	400	400	400	800	200	400	200	800	200	400	400	800	
免 疫 後 49 日		100	200	100	100	100	100	200	200	400	100	200	100	400	100	100	400	100	

根據表 11 的結果，各苗之間出入並不大，但是超 10 苗的凝集價比較突出一些。○凝集價為 1,600 倍，而 OH 凝集價為 3,200 倍。根據本試驗在間隔 7 日免疫四次的情况下，共凝集價在最後一次注射第 7 日表現得最高。凝集價的上升，並不是與注射的菌量成正比的上升，達到一定凝集價後，雖再免疫也不易再上升。對異型霍亂菌的凝集反應僅為原型菌的一半。

(五) 超聲波霍亂菌苗小白鼠毒性試驗

共分兩種方法進行檢定，其結果如表12。

表 12. 毒性試驗成績

菌 苗	注射途徑		皮 下 注 射				腹 腔 注 射		
	注射量		10 毫克	25 毫克	50 毫克	LD50	10 毫克	20 毫克	LD50
對 照 苗			9/1	9/1	3/1	>50毫克	9/1	9/1	<10毫克
超 5 苗			9/1	9/1	9/1	=50毫克	9/1	9/1	=10毫克
超 10 苗			9/1	9/1	9/1	=50毫克	3/1	9/1	<20毫克
超 20 苗			9/1	3/1	3/1	>50毫克	3/1	3/1	>20毫克
超 30 苗			9/1	9/1	9/1	>50毫克	9/1	9/1	=20毫克

註：分母為供試小白鼠頭數分子為死亡頭數。

皮下注射組的對照苗在劑量50毫克時能致死 $\frac{1}{4}$ ，除超30苗及其餘的超聲波菌苗所致死的小白鼠數均比對照苗多，皮下注射時毒性最小者為超30苗其餘的超聲波菌苗毒性均比對照苗上。

腹腔注射時與皮下注射時表現相反，毒性最大者為對照苗，其次為超5苗，毒性最小者為超20苗。

從以上試驗證明由於注射的部位不同，其結果有很大差別。綜上結果在毒性試驗上各種菌苗之間區別並不大。

(六) 超聲波霍亂菌苗保護力試驗

取各菌苗按0.5毫克、1毫克、1毫克間隔7日免疫3次後待14日以不同量活菌攻擊結果如表13。

表 13. 保護力試驗成績

菌 苗	對 照 苗	超 5 苗	超 10 苗	超 20 苗	超 30 苗	活菌對照
感染量 (毫克)						
4.0	3/1	—	—	—	—	—
8.0	9/1	3/1	9/1	9/1	9/1	—
12.0	9/1	9/1	9/1	9/1	9/1	—
16.0	3/1	9/1	9/1	9/1	9/1	—
0.4	—	—	—	—	—	9/1
0.6	—	—	—	—	—	9/1
0.8	—	—	—	—	—	9/1
結果 LD50	40毫克	12.0—8.0毫克	8.0毫克以下	8.0毫克以下	8.0 毫克	0.6 毫克

註：分母為試驗動物頭數，分子為死亡頭數。

超聲波菌苗在免疫當中由於小白鼠死亡，乃將攻擊量4.0毫克的一組省掉，其餘各組經感染不同劑量的活菌後觀察7日，其結果對照苗在攻擊4.0毫克後死亡率為60%，

攻擊量較大的均使小白鼠死亡，4.0毫克活菌相當6.6最小致死量。超聲波菌苗從本試驗來看似乎比對照菌苗的效力高一倍，一般均能耐過13個最小致死量活菌的攻擊。

## 討論及總結

關於超聲波對霍亂菌的破壞能力船戶<sup>(13)</sup>已有過報告，但與本試驗結果稍有出入，船戶用600KC，功率為200瓦特的超聲波作用20分鐘就可以將霍亂菌完全震碎只剩下菌體破片，而作者所用的超聲波頻率為280KC，同時菌懸液濃度及分裝量均有不同，因此，試驗條件不同其試驗結果也不會一致。超聲波之所以能使菌體發生破裂是由於介質在振動過程中產生空泡現象，而此空泡內成一定真空狀態，所以空泡內部的壓力很小，在空泡周圍的細菌必然要遭到一定的影響，因而在超聲波長時間的作用下，菌體初期變為桿狀繼而膨大最後不堪這瞬間的激烈的膨脹與收縮，而使菌膜破裂，其結果原形質等散佈於介質中，使混濁度大為下降。細菌懸於介質中，因其對光綫有吸收和反射作用，所以用肉眼觀查是較混濁的，然而一旦失去細胞壁則會喪失一部分吸收和反射光綫的能力，故在本試驗中的懸液隨超聲波作用時間的延長其體破壞愈多其混濁度逐漸下降。作者所得的果實頗近似尾崎的試驗成績。

關於粘稠度的結果也稍與船戶<sup>(13)</sup>及波邊<sup>(14)</sup>的報告不同，粘稠度的變化是隨超聲波作用時間成反比，此原因可能是由於菌懸液經超聲波作用後加入了福馬林，因而原形質發生了變化使粘稠度下降。

作者所用的超聲波試管雖係特制，但其上下直徑均相等，當超聲波作用時有部分菌懸液飛濺在管壁，此處的細菌是不易遭到破壞的，所以在培養試驗和顯微鏡檢查時總能遇到完整的典型的弧菌。

原型霍亂菌株經過短時間的超聲波作用後，由其第一代純培養和生物學特性均證明沒有找到變異現象，但每日經超聲波微微作用一次而繼代下去的菌株，就本試驗尚不能討論究竟能否引起變異。

機體注射菌苗後必須或多或少的引起一系列反應，其表現為白血球數目增多，而實際上却並不是直綫上升，而是在注射後在較短的一段時間內白血球顯著下降，此原因可能是機體在正常狀態時白血球保持在一定數目，由於突來的異性物質的刺激，以致白血球立刻去執行防禦任務，因而暫時出現白血球下降現象，以後在體內又補充較大量的白血球，又出現白血球增多現象。

免疫後血液像的變化：由於白血球的種類不同其結果也不一致，淋巴球的變動較其他白血球變動小，因為其他種類白血球如：嗜伊紅性白血球，嗜鹼性白血球，單核白血球等在家兔體內所佔的百分比很小所以在免疫後鏡檢當中時見時隱，因此百分比數亦忽高忽低，故很難以作為衡量菌苗優劣的資料。淋巴球所表現的曲綫是免疫後逐漸下降經過5—8小時後才逐漸上升，超聲波菌苗對照菌苗兩者所表現的形式無甚出入，欲藉血液像的變化來決定菌苗效果如何，是困難的。

免疫家兔血清中凝集素，溶菌素及補體結合性物質的消長情況，均為平行關係。超聲波菌苗免疫血清之凝集價與對照菌苗之間無很大差別，而超10苗之凝集價較其他菌苗免疫血清之凝集價高一倍，超聲波菌苗與其對照菌苗免疫情況相同，即免疫一定量以後效

价達到一定程度則不易再上升。

霍亂菌能够產生豐富的溶菌素，曾被某些人認為注射菌苗後的唯一殺菌性物質，並提出對預防霍亂症有一定價值，就本試驗認為10超苗所產生的溶菌素較其他菌苗稍高，其他超聲波菌苗與對照菌之間的差別也並不懸殊，所以也很難判定各菌苗之優劣。

各超聲波菌苗對小白鼠之毒性，均較對照菌苗弱，但由於注射途徑不同其結果也大不同，皮下注射時一般能够耐過較大劑量，而腹腔注射與皮下注射的結果相反，腹腔注射時耐過劑量較小，此原因可能是腹腔注射時容易被組織器官所吸收因而引起中毒，而皮下注射時雖劑量大並不能迅速擴散到各器官中去，而形成緩慢的連續的吸收，因此，不易中毒。根據本試驗證明所製的菌苗毒性還很強，今後尚須試驗改進。在試驗例中經短時間超聲波作用的超聲波菌苗毒性反而較對照菌苗及其他作用時間較長的超聲波菌的毒性較強一節，作者認為可能是與霍亂菌的內毒素有關，如果經長時間超聲波作用，可能會減去一部分毒性。

保護力試驗結果證明超聲波菌苗的保護能力均比對照菌苗稍強；對照菌苗僅能耐過6個最小致死量，而超聲波菌苗約能耐過13個最小致死量。關於超聲波菌苗為什麼能比完整菌體的對照菌苗的效果高，尚無理論來解釋，根據文獻記載許多學者只介紹到他們所得到的成績是令人滿意的。

#### 綜合上述試驗結果總結如下：

1. 修復後的超聲波發生機仍具有對霍亂弧菌引起一系列變形及破壞的能力。
2. 第一代超聲波作用原型霍亂菌株，尚未發現變異現象。
3. 超聲波作用後菌懸液的粘稠度，混濁度，菌體沉澱量均與超聲波作用時間成反比，pH無甚變化。
4. 超聲波菌苗較對照菌苗的毒性稍低，而其保護力較對照菌苗稍高。

## 超聲波菌苗的研究

### I. 超聲波作用一定時間的霍亂菌苗之效果

山內豐紀 棋 錦 家

#### 一、緒 言

在第一次報告<sup>(28)</sup>中已述及大型超聲波發生裝置修理完成時即檢查此裝置對菌體影響及試驗菌苗的抗原性，為此二目的，作者等以霍亂原型菌稻葉株 (Inaba) 經初步實驗結果，知該裝置的能力較過去低，察其原因，係因振盪真空管本身能率減低之故，所以雖給予規定的電流亦達不到正規的出力，如果再加強電流時，則有損真空管的壽命，為愛護機械起見，只使用其最大能力的 2/3。本實驗即以此 2/3 之能力所得的實驗結果。

本試驗所用的頻率為 560K.C.，超聲波曝射時間根據第一次的實驗結果規定為 15 分鐘，在這種條件下所製得的超聲波霍亂菌液為基礎液，試制兩種菌苗並檢查其効价，藉以得知超聲波菌苗某一部分含有多量的抗原性物質。

關於菌體成分有 Boivin 氏及其他學者的報告。在日本亦有細豆 (Hosoya)，兒玉 (威) (M. Kodama)，黑屋 (Kuroya)，岡本 (啓) (K. Okamoto) 等的報告。

關於菌苗効价問題，須經長期間的統計觀察方能判定其優劣，這是最理想的辦法。雖然已經有些統計材料，仍認為稍有缺欠<sup>(28)</sup>，但在那些材料裡可以很明顯的看出由於實施預防注射而降低了傳染的病的發生率。考查最近幾年間在中國各大城市傳染病發生情況，由於預防注射做的徹底以及其它各種措施，較舊時代減低很多而霍亂已絕跡，這個事實我們不能否認。

根據這些事實可以說菌苗是有一部分功效的，所以製造菌苗工作人員進行生產或研究改善菌苗，也是必然的傾向。在生產工作人員方面最重要的問題是：菌苗注射的對象是人，故菌苗的効价不能單憑動物試驗的結果來決定，還必須根據以往的統計，認為有效的菌苗為對照，以此菌苗同新菌苗作動物試驗比較其優劣，似較妥當。

當然，人的發症與動物試驗的發症 (感染) 程序，多半是不一致的，關於這個問題 Bail<sup>(24)</sup>，(Besredka<sup>(25)</sup>) 認為以動物試驗方法來檢定菌苗，是極不可靠的。然而，Fridberger<sup>(26)</sup> 認為動物試驗不是一種“感染疾病”而很明顯地是一種“注射疾病” (Injection disease) 小林 (R. Kobayashi) 教授<sup>(27)</sup><sup>(28)</sup><sup>(29)</sup> 亦贊成 Fridberger 的說法，同時他報告，決定菌苗効果時，須使用該動物的特有感染病原菌，如按此方法檢定，死菌菌苗無有效果，而活菌菌苗則有高度的保護力。即小林教授主張欲改良菌苗之先，以動物特有病原性細菌作實驗依其結果再應用於改良人用菌苗。但實際由於菌種不同，動物固有疾病與人之傳染病的發症情況是不一致的，小林教授主張試驗死及活傷寒菌苗對人之效果，可以鼠傷寒菌苗依小白鼠作動物試驗所得的結果再類推人傷寒菌苗之効价，Neufeld<sup>(30)</sup> 根據 Fridberger 所謂“注射疾病”的見解，得到兩個明確試驗成績，即

雞對雞螺旋體，小白鼠對鼠傷寒的關係。前者死菌菌苗亦有其效果，後者死菌及活菌菌苗其效果皆不穩定。

由此觀之，關於菌苗之檢定法，諸學者的報告不一致，見解不同，實驗結果亦不同。安東 (Ando) (31)(32) 指出，關於菌苗的改良已有很多學者作了報告，並有相當成就，但尚未得到決定性結論，其原因是沒有好的檢定方法。所以正確的檢定方法是目前改良菌苗最重要的一個關鍵，但至今關於檢定法尚沒有改良和進步的情況下，由於注射菌苗其生體內所產生的某種抗體與人罹患傳染病時在體內所產生的某種抗體相符合時，可按此種抗體產生情況作比較。作者認為這也不能算不合理的，但這時存在一個問題即所謂抗體如不直接呈保護作用的抗體，那就無意義了。雖然是直接呈保護作用的抗體，動物的感染程序及免疫程序，決不能是一致的，關於這點我們在判定以前是須要考慮的。幸而霍亂菌的感染或免疫時，其體內能產生溶菌素這是事實，以溶菌素產生的強弱備動物試驗來檢定菌苗的優劣，是一個較簡便的方法，同時再參照以往文獻中所記述的其它試驗方法來檢查。作者以這些綜合結果來評論試作菌苗的効力。

關於超聲波菌苗的文獻已有10種以上，(6×7×8×9×10×11×12×20×21×37) 都強調其抗原性優越，但都是超聲波全菌液的成績報告，至於超聲波菌液的某一部分含有最多量抗原性物質，我們尚未見有報告，作者特別關於這方面稍作一點實驗，並得到一個結果，今將其報告介紹如下，希給予批評和指正。

## 二、實驗材料及方法

### 1. 實驗材料

與第一次報告大致相同，供試菌株係霍亂原型菌稻葉株，超聲波發生裝置的頻率為560K.C。

霍亂活菌液係本所細菌科菌苗室所制備。即菌種通過動物數代(對小白鼠平均毒力0.072毫克)，將菌接種於瓊脂培養基上，37°C 培育20小時，刮取菌苔，以生理鹽水調制成菌懸液，使1毫升中含菌量約為100毫克，懸液總量為500毫升(濕菌量50克)，該菌液應為革蘭氏陰性之定型弧菌，不得有雜菌。

上述菌液向每一試管(超聲波用試管)內分注100毫升(10克濕菌重)共分注4支，各試管插入油槽時，試管底部固定於油面下深為1厘米處，並固定於水晶片的中心位置上，超聲波曝射時間為15分鐘，二次電壓3000V。當時功率為1650W 其餘100毫升之菌懸液作為對照菌苗，超聲波曝射完畢之菌液例入500毫升之三角瓶內如下記步驟處理之，制成下列各部菌苗。

#### (1) 對照菌苗

活菌液100毫升移入容量200毫升的三角瓶內，混加0.4% 福馬林，充分混勻後於37°放置20小時，再經培養確定無菌發育者。

#### (2) 超聲波菌苗

經超聲波曝射之霍亂菌液400毫升，混加0.4% 福馬林，37° 放置48小時，再經培養證明無活菌即可。

#### (3) 超聲波沉澱菌苗(以下簡稱超沉澱菌苗)



取超聲波菌苗 200 毫升，以離心機（1 分鐘 3000 轉）遠沉 1 小時，所得的沉澱物以生理鹽水洗滌三次，最後一次沉澱物以滅菌食鹽水稀釋成均勻的懸液，全量為 200 毫升，再加入 1/10 液量之 5% 石炭酸鹽水，經培養試驗確定無雜菌後備用。

(4) 超聲波上清菌苗（以下簡稱超上清菌苗）

制作超沉澱菌苗時，取第一次遠沉後之上清，加入 1/10 液量之 5% 石炭酸鹽水，經培養檢查證明無活菌即妥。

上述各菌苗依革蘭氏染色法作成標本，以顯微鏡檢查其結果如下：

- (1) 有定型的霍亂弧菌。
- (2) 幾乎認不出有菌體存在，只有被破壞的菌體破片。
- (3) 有少數膨大型及少數球菌狀菌體及其破片。
- (4) 不見有形物質。

供試動物係本所小動物室繁殖的健康小白鼠（體重 15—17 克）及白色家兔（體重 2000 克左右）。

2. 實驗方法：

(1) 顯色反應：各菌苗以顯色反應來鑑別及比較各菌苗中的蛋白質及其含量。因受試藥的限制反應種類只採用了 Biuret 反應，Millon 反應，Xanthoprotein 反應，Liebermann 反應及 molisch 反應等五種，試藥均為本室作者自製的。

試驗方法是取一定量（1—2 毫升）的各菌苗分注於小試管中，再加入一定量的試藥，觀察其色調程度，藉以判定含蛋白量。

(2) 總氮定量試驗法：為查知蛋白含量測定各菌苗的總氮量，即以 Kjeldahl<sup>(35)</sup> 氮定量法測定。將同一材料於本室測定三次取其平均值為該菌苗的氮量，惟恐試藥不純，又委託本所化學科以 Kjeldahl 氏法再次測定。

(3) 毒性試驗：為檢查各菌苗的副作用程度，使用小白鼠以其生死來判定毒性，取供試菌苗原液（100 毫克/毫升）0.5 毫升（50 毫克），0.4 毫升（40 毫克）0.3 毫升（30 毫克）0.2 毫升（20 毫克）及 0.1 毫升（10 毫克）分別注射於小白鼠腹腔內，注射液量為 0.5 毫升，不足者以鹽水補足之，每種菌液注射 5 只小白鼠，觀察 7 天，以 LD<sub>50</sub> 方法求其平均致死量決定其毒性。

(4) 抗體產生試驗：試驗方法有兩種，即以家兔測其血中抗體產生的試驗以及小白鼠作感染防禦試驗。

血中抗體產生試驗是以 12 只家兔分為 4 組，每組 3 只，將上記 4 種菌苗分別耳靜脈注射，第 1 次注射 0.5 毫升（0.5 毫克），第 2 次注射 1.0 毫升（1.0 毫克），間隔 7 天，在免疫開始前及第一次免疫後在第 7 日，第 14 日，第 21 日及第 28 日共試血 5 次。每次血量為 3—5 毫升，分離血清，各組家兔所得血清取其一定量混合，使其成為多價血清，供檢查抗體用。如採血與免疫注射適逢一日時，則先採血後注射。

血清學方面主要檢查溶菌素，至於凝集素及補體結合性物質的檢查為輔助，溶菌素檢查採用 Neisser—Wechsberg 氏試管內的溶菌試驗。血清稀釋方法分 100 倍，1000 倍，10000 倍及 100000 倍 4 種。關於凝集素及補體結合性物質的檢查方法，與第一次報告所記述者相同，故不重述。

保護力試驗是將各菌苗分別給小白鼠皮下注射 0.5 毫升菌液，其中含菌量為 2.5 毫克，0.5 毫克，0.2 毫克及 0.02 毫克，7 日後再於小白鼠腹腔注射一定量的活菌，觀察 7 日，最後以 Reed 式換算法求出平均免疫量。

### 三、實驗結果

#### 1. 供試菌苗化學的檢查結果

##### (1) 蛋白顯色反應結果：

供試菌苗的蛋白含量，按色調程度依比色方法比較之，可大體在知其含有情況。對照使用蛋白溶液為標準，依各種蛋白顯色反應的濃淡來決定其程度，蛋白液是以雞蛋白 10 毫升加入 200 毫升蒸餾水稀釋均勻後以濾紙濾過，此液大概含有 0.5/dl 克的凝固性蛋白質<sup>(33)</sup>，與作者菌苗所含有之蛋白大體同量，以此蛋白液為對照標準其比色的結果如表 1。

表 1. 蛋白顯色反應結果

反 應 菌 苗	Biu ret	Millon	Xanthoprotein 反應		Leber- maun	molisch
	反 應	氏反應	中和前	中和後	反 應	氏反應
蛋 白 液	藍紫色 ++	紅褐色 ++	淡黃色 ++	橙 色 ++	紅 色 ++	紫紅色 ++
對照菌苗	藍紫色 ++	無 色	深黃色 ++	橙 色 ++	淡紅色 ++	淡紅色 ++
超清菌苗	淡紫紅色 +	紅 色 ++	深黃色 ++	橙 色 ++	淡紅色 ++	淡紫紅色 +
超上清菌	淡藍色 +	無 色	淡黃色 +	淡橙色 +	淡紅色 +	深紅色 ++
超全液菌	藍紫色 ++	紅 色 ++	黃 色 ++	橙 色 ++	淡紅色 ++	紅 色 ++

本法不合理的方面很多，

如用光電比色計測定，其成績更能明確。由 1 表可知對照菌苗及超上清菌苗，Millon 氏反應是陰性，其它反應大都呈陽性，但超上清菌苗一般蛋白反應呈弱陽性，而只有 Molisch 反應較其它菌苗呈強陽性，按一般文獻記載 Biuret 係為一般蛋白反應，其特點是有與肽結合的化合物，Biuret 反應，超上清菌苗亦呈弱陽性，其它三種菌

苗與對照蛋白液相同。

Millon 反應是由於苯基酪氨酸為起因。對照菌苗及超上清菌苗兩者對酪氨酸反應呈陰性，這個事實並非說明對照菌苗中不含有酪氨酸，可能是因為儘從表面發現不出來，超聲波曝射後才能發現，而其沉澱後之上清則發見不出來，就此可以想到酪氨酸是否存在於菌體殘渣中即外膜樣物質中。依 Millon 氏反應百日咳之 S 型菌苗呈陰性，而 R 型則呈陽性，因 R 型欠缺外膜或其稀薄結果所致，關於對照菌苗，我們亦可想像是否亦有此現象<sup>(34)</sup>。

Xanthoprotein 反應是 2-氨基 3-苯基丙酸，酪氨酸等芳香族的氨基酸受硝基的作用而起的反應。各種菌苗皆呈陽性，但對照菌苗及超上清菌苗由於 Millon 氏反應之結果看來係 2-氨基 3-苯基丙酸與色氨酸的某一種反應，又超上清菌苗及超全菌苗係 3 種氨基酸中的某一種的反應，然而根據這次試驗來確定究竟是其中的某一種反應，則是一件很難的事。

Liebermann 氏反應是存在有色氨酸及其它胺基質化合物，而超上清菌苗較他種菌苗呈弱陽性亦可判明。

Molisch 氏反應本來是碳水化合物反應，但很多蛋白中多少都含有一點碳水化合物，尤其是菌體在許多文獻上均有記載，由表的結果看來超上清菌苗較其他三種菌苗呈陽性反應，即超上清菌苗較他三種菌苗的碳水化合物含量多。

(2) 氮定量檢查結果：表 2 內數值是三次測定的平均值。

由表 2 可以看出對照菌苗與超全菌苗的總氮量較多，前者是 0.5334/100 克毫升，後者是 0.5061 克/100 毫升，其程度相仿，換算成蛋白量時，前者是 3.234 克，後者是 3.16 克。超沉澱菌苗及超上清菌苗總氮含量較少：超沉澱菌苗是 0.2892 克/100 毫升（蛋白量為 1.806 克），超上清菌苗是 0.1591 克/100

表 2. Kjeldahl 氏法總氮定量結果

菌 苗	I	II	III	平均	化學科 檢定結果
對照菌苗	0.5302	0.5476	0.5224	0.5334	—
超沉澱菌苗	0.3048	0.2884	0.2744	0.2892	0.230
超上清菌苗	0.1442	0.1648	0.1682	0.1591	0.144
超全菌苗	0.5284	0.4968	0.5012	0.5061	0.344

註：數字表示 克/100 毫升

毫升（蛋白量 0.949 克），即按此成績，超上清菌苗的蛋白量較他三種菌苗甚少。由此可證明超聲波曝射菌液的殘渣部分含蛋白量較多，而上清液中含量較少，此總氮之成績與蛋白顯色反應的結果一致。在蛋白顯色反應結果中超上清菌苗 Molisch 氏反應呈強陽性，其它蛋白反應皆呈弱陽性，關於這一點與氮定量檢查所述完全一致，認為蛋白含量較少。

### (3) 本節實驗成績小結

小括上記兩項生化學的檢查結果：蛋白顯色反應的成績與總氮定量的試驗成績是一致的。未受超聲波曝射的對照菌苗及受超聲波曝射的超全菌苗中的蛋白含量最多，其含蛋白種類有酪氨酸，2-氨基 3-苯基丙酸及色氨酸等。超上清菌苗中少酪氨酸，但是，碳水化合物多於其它三種菌苗。

### 2. 免疫學的試驗成績

各供試菌苗用動物進行免疫學檢查，以小白鼠檢查毒性及感染防禦試驗，用家兔檢查抗體產生能力，各結果詳述如下：

#### (1) 小白鼠毒性試驗結果：

各菌苗對小白鼠之毒性如表 3。

表 3. 各菌苗對小白鼠的毒性

菌 苗	10毫克	20毫克	30毫克	40毫克	50毫克	LD50 (毫克)
對照菌苗	4%	4%	4%	4%	4%	11.4
超沉澱菌苗	4%	4%	4%	4%	4%	26.0
超上清菌苗	4%	4%	4%	4%	4%	20.0
超全菌苗	4%	4%	4%	4%	4%	13.0

註：分母為供試小白鼠隻數，分子為死亡數，觀察 7 天。

每一種菌苗共用小白鼠 25 隻，5 隻為一小組，各小組分別向腹腔注射菌苗 10 毫克，20 毫克，30 毫克，40 毫克及 50 毫克，液量為 0.5 毫升，觀察 7 天，以小白鼠之生死情況來判定其毒性，結果如表 3。依 LD50 求出小白鼠的平均致死量；即對照菌苗組是 11.4 毫克，超沉

澱菌苗組是 26 毫克，超上清菌苗組是 20 毫克，超全菌苗組是 13 毫克。超上清菌苗 1.0 毫

升中含 100 毫克菌體可溶性物質，而超沉澱菌苗 1.0 毫升中含 100 毫克的菌體殘渣，所以與它們表現的成績必然與對照菌苗及超全菌苗有所不同。

由上記成績證明，超沉澱菌苗的毒性最弱，其次為超上清菌苗，超全菌苗與對照菌苗的毒性相差不明顯，但也可以認為超全菌苗的毒性較弱一些。

### (2) 免疫家兔體內抗體產生情況。

體重 2 公斤健康白色家兔 12 隻，每 3 隻為一組，分別注射對照菌苗，超上清菌苗，超沉澱菌苗及超全菌苗，第 1 次耳靜脈注射 0.5 毫克，第 2 次注射 1.0 毫克（按菌體換算），間隔 7 天，經一定日期試血，檢查血中抗體產生情況，其結果如表 4A, B 及 C。檢查抗體時，以溶菌素為主，凝集素及補體結合性物質為輔。

#### i) 溶菌現象 (Neisser—Wechsberg) 氏試管內溶菌試驗

溶菌素之消長如表 4A，本試驗結果以對照菌苗及超全菌苗較第 1 次報告的溶菌素效價高，究其原因，恐係供試霍亂菌株毒力的關係，第 1 次報告中所使用菌株的毒力平均致死量為 0.7—0.8 毫克，而此次平均致死量為 0.072 毫克（對 15 毫克小白鼠）。

表 4. A. 溶菌素檢查結果

菌 苗	試 血 日 期	試 血				
		第一次免疫之前	7 日 後	14 日 後	21 日 後	28 日 後
對 照 菌 苗		100 × (-)	100,000 × (+)	100,000 × (+)	1,000 × (+)	1,000 × (+)
超 沉 澱 菌 苗		100 × (+)	100,000 × (+)	100,000 × (+)	1,000 × (+)	1,000 × (+)
超 上 清 菌 苗		100 × (+)	100,000 × (+)	100,000 × (+)	100,000 × (+)	10,000 × (+)
超 全 菌 苗		100 × (-)	100,000 × (+)	100,000 × (+)	100,000 × (+)	10,000 × (+)

註釋：阿拉伯數字表示血清稀釋倍數。

(+) 表示溶菌現象陽性，(-) 表示溶菌現象陰性。

由表 4A 結果看來，健康血清稀釋 100 倍溶菌現象陽性者有兩組（超沉澱菌苗及超上清菌苗注射之家兔組），陰性者有兩組（對照菌苗及超全菌苗注射組），各菌苗注射家兔後，隔 7 日試血，血清稀釋 10 萬倍溶菌現象亦呈陽性，第 14 天（第 2 次免疫後 7 天）的結果亦同樣，但血清稀釋 100 萬倍時均為陰性。第 21 天對照菌苗免疫家兔組是 1000 倍，超沉澱菌苗免疫家兔組亦是 1000 倍，超上清菌苗及超全菌苗的免疫家兔組血清為 1 萬倍。第 28 天時，對照菌苗及超沉澱菌苗組尚保持 1000 倍，超上清菌苗及超全菌苗呈 1 萬倍，各菌苗的溶菌素產生情況是於免疫後第 14 日溶菌價達最高峯，及至 14 日以後對照菌苗及超沉澱菌苗迅速下降，而超上清菌苗及超全菌苗降低較緩慢。於此結果中引人注意的是對小白鼠毒性極小的超沉澱菌苗，其溶菌素產生能力與對照菌苗相仿。

#### ii) 凝集素之產生情況

以溶菌試驗的同一血清再作凝集反應，各期凝集素消長情況如表 4B。

由表 4B 可知凝集素到達最高峯的時間是免疫後第 14 天前後，超上清菌苗組主反應為 6400 倍，他三組均為 3200 倍，下降期以超沉澱菌苗為最快，對照菌苗，超沉澱菌苗及超上清菌苗三者降低情況皆相仿。副反應於第 1 次報告會已記述，超全菌苗的主副反應程度相同，此乃由於超聲波之曝射對型特异性頗有損害，尤其是 560K. C. 較 280K. C.

表 4. B. 免疫血清凝集價消長情況

採血時間 免疫血清	原型菌 O II 抗原					異型菌 O II 抗原				
	免疫前	7 日	14 日	21 日	28 日	免疫前	7 日	14 日	21 日	28 日
對照菌苗	0	800	3,200	3,200	640×	10	400	1,600	800	100
超沉澱菌苗	10	100	3,200	3,200	320×	10	200	800	800	100
超上清菌苗	0	800	3,200	3,200	1,200×	0	400	3,200	1,600	640
超全液菌苗	0	1,800	6,400	3,200	640×	0	200	1,600	800	400

更甚，而超上清菌苗及其沉澱的超沉澱菌苗，則不見有這種現象，只有兩者合於一起才有這種現象，其原因尚不瞭然，作者正在研究中。

### iii) 補體結果反應檢查結果

用作凝集反應的同一血清，作補體結合反應，其結果如表 4 C。

補體結合反應物質之消長情形同凝集素相似。即第 1 次注射後第 14 日達到最高價，以後便進入下降期，而超上清菌苗免疫群的補體結合價持續期較久。

以上是溶菌素，凝集素及補體結合性物質，經用免疫家兔檢查的結果，得知溶菌素的曲線與補體結合性物質的曲線相類似。試製菌苗及對照菌苗，如用家兔體內抗體產生能力來判定其效果時，特別是溶菌素方面，超上清菌苗及超全菌苗較對照菌苗及超沉澱菌苗為佳。反之超沉澱菌苗亦較他三種菌苗為劣，亦可說明產生抗體的抗原在受超聲波曝射菌液上清中含量較多，沉澱中含量較少。

### (3) 保護力試驗

作者認為目前決定菌苗效價的方法，最重要的是動物保護力試驗。即以小白鼠給予一定的自動免疫，經一定日期後，注射一定量的活菌使其感染，以其生死情況來檢查保護力，其結果如表 5。

如實驗方法項所記述各供試菌苗使用 20 只小白鼠，分為 4 組，每組 5 只，分別由腹腔注射菌苗 0.02 毫克，0.1 毫克，0.5 毫克及 2.5 毫克（以鹽水補充注射量為 0.5 毫升）間隔 7 天，用 18—20 小時新鮮稻葉株懸液感染，注射菌量為 0.75 毫克，觀察 7 天免疫量以 Reed 式 LD50 計算<sup>(36)</sup>，求得各菌苗的保護力。

表 5 的結果，對照菌苗的平均免疫量是 0.5 毫克，超沉澱菌苗大於 2.5 毫克，超上清菌苗是 0.078 毫克，超全菌苗是 0.3 毫克，活菌對照的平均致死量是 0.273 毫克，而感染菌量是 0.75 毫克，大約相當 3A. L. D. 對照菌苗的保護力低，而受超聲波曝射的超全菌苗及超上清菌苗的保護力大，尤其是超上清菌苗效果更顯著，但超沉澱菌苗的保護力低，大量免疫才能賦與免疫性。因與作者為更進一步的來證明這一結果，就超上清菌

表 4. C 補體結合性物質產生情況

採血時間 免疫血清	免疫前	7 日	14 日	21 日	28 日
對照菌苗	4×	80×	160×	80×	80×
超沉澱菌苗	4×	40×	80×	80×	80×
超上清菌苗	4×	160×	160×	160×	160×
超全液菌苗	4×	40×	160×	160×	160×

保 5. 護 力 試 驗 結 果

項 目 商 苗	免 疫		感 染		結 果					
	小白鼠數	量 (毫克)	小白鼠數	量 (毫克)	生 存	死 亡	Reed 式 換 算			LD50 (毫克)
							生	死	生 存 %	
對 照 菌 苗	5	0.03	5	0.75	0	5	0	12	0	0.5
	5	0.1	5	0.75	2	3	2	7	22.3	
	5	0.5	5	0.75	2	3	4	4	50	
	5	2.5	5	0.75	4	1	8	1	88.0	
超 沉 澱 菌 苗	5	0.02	5	0.75	0	5	0	19	0	>2.5
	5	0.1	5	0.75	0	5	0	14	0	
	5	0.5	5	0.75	0	5	0	9	0	
	5	2.5	5	0.75	1	4	1	4	16.3	
超 上 清 菌 苗	5	0.03	5	0.75	2	3	2	7	22.3	0.078
	5	0.1	5	0.75	3	2	5	4	55.6	
	5	0.5	5	0.75	4	1	9	2	81.8	
	5	2.5	5	0.75	4	1	13	1	92.8	
超 全 菌 苗	5	0.02	5	0.75	0	5	0	11	0	0.3
	5	0.1	5	0.75	2	3	2	6	25	
	5	0.5	5	0.75	3	2	5	3	62.2	
	5	2.5	5	0.75	4	1	9	1	90	
活 菌 對 照			5	0.75	0	5	0	9	0	0.273
			5	0.375	1	4	1	4	20	
			5	0.1875	5	0	6	0	100	

苗，反覆作了試驗，其結果如表 6。

表 6 包括兩次的試驗結果，其方法均與第一次試驗相同，此次各小群使用 8 只小白鼠。第 2 次試驗結果；超上清的平均免疫量是 0.036 毫克，對照菌苗是 0.3 毫克，活菌對照的平均致死量是 0.61 毫升，感染菌量是 0.71 毫克，大約為 1.2 A. L. D。

第 3 次試驗結果超上清菌苗的平均免疫為 0.1 毫克，對照菌苗是 0.71 毫克，活菌對照的平均致死量是 0.22 毫克，感染菌量為 0.75 毫克，相當于 3.4 A. L. D。

以上反覆作了三次保護力試驗，根據結果認為超上清菌苗對小白鼠之保護力較對照為強。

#### iv) 本節實驗成績小結

本節供試菌苗的免疫學實驗成績小結如下。對照菌苗；超沉澱菌苗，超上清菌苗及超全菌苗對小白鼠毒性最弱者為超沉澱菌苗，平均致死量為 26 毫克，其次是超上清菌苗，其平均致死量為 20 毫克，再其次是超全菌苗為 13 毫克，對照菌苗為 11.4 克，毒性稍強者是超全菌苗及對照。

各菌苗以 0.5 毫克及 1.0 毫克分兩次間隔 7 天給家兔免疫，注射後第 7 天，第 14 天，[21 天及 28 天] 試血，檢查血中抗體消長的結果；溶菌素在第一次免疫注射後 7 天左右，各家兔組均達 10 萬倍，由第 14 天開始降低，溶菌素的消失情況，可分為兩種即對照及超沉澱菌苗所免疫的家兔消失較早，而超上清菌苗及超全菌苗有持續性。關於凝集素

表 6. 超聲波上清菌苗保護力試驗

次 數	項 目 菌 苗	免 疫		感 染		結 果		式 換 算			1:100 (毫克)
		小白鼠數	量 (毫克)	小白鼠數	量 (毫克)	生 存	死 亡	生	死	生 %	
第 一 次 試 驗	超上清菌苗	8	0.02	8	0.75	1	7	1	10	9.1	0.96
		8	0.1	8	0.75	6	2	7	3	70	
		8	0.5	8	0.75	7	1	14	1	33.3	
		8	2.5	8	0.75	8	0	22	0	100	
	對照菌苗	8	0.02	8	0.75	0	8	0	17	0	0.03
		8	0.1	8	0.75	4	4	4	9	30	
		8	0.5	8	0.75	5	3	9	2	64.3	
		8	2.5	8	0.75	6	2	15	5	88.1	
	活菌對照			8	0.75	2	6	2	10	16.3	0.61
				8	0.375	5	3	7	4	63.5	
				8	0.1875	7	1	14	1	93.2	
	第 三 次 試 驗	超上清菌苗	8	0.02	8	0.75	2	6	2	12	14.2
8			0.1	8	0.75	4	4	6	6	50	
8			0.5	8	0.75	7	1	13	2	86.2	
8			2.5	8	0.75	7	1	20	1	95.2	
對照菌苗		8	0.02	8	0.75	0	8	0	22	0	0.71
		8	0.1	8	0.75	0	8	0	14	0	
		8	0.5	8	0.75	4	4	4	6	40	
		8	2.5	8	0.75	6	2	10	2	83.3	
活菌對照				8	0.75	0	8	0	17	0	0.22
				8	0.375	2	6	2	9	18.1	
				8	0.1875	5	3	7	3	70	

之產生及消失，超上清菌苗的主反應雖較其它菌苗高，但亦無大差別。其消長情況與第一次報告相似，主副反應產生程度是併行的，一般講來，副反應低於主反應，但只有超全菌苗免疫群副反應與主反應最末期相同。關於此點，第一次報告中曾述及與超聲波曝射時間成正比。由上述現象看來似乎失掉型特异性但超上清菌苗及超沉澱菌苗免疫無此種現象。

補體結合性物質的消長曲線與溶菌素的消長曲線很相似，這是很有趣的，一般講來，超沉澱菌苗較他三種菌苗為低。

第一次免疫試驗以 3A. L. D. 攻擊，對照菌苗的平均免疫量是 0.5 毫克，超沉澱菌苗大於 2.5 毫克，超上清菌苗是 0.078 毫克，超全菌苗是 0.3 毫克。單獨用超上清菌苗覆試的結果證明超上清菌苗的抗原性，比其它三種菌苗均佳。

#### 四、本實驗成績的總結及討論。

總結前面各試驗結果如表 7。

就五種蛋白顯色反應看來惟有超上清菌苗的 Biuret 反應，Xanthoprotein 反應，Millon 氏反應及 Liebermann 氏反應均為弱陽性，只是 Moloch 氏反應呈強陽性，與 Kjeldahl

表 7. 試驗成績總結

菌 苗	反 應	生 化 學 檢 查		免 疫 學 檢 查				
		蛋白顯色 反 應	Kjeldahl 定量試驗	對小白鼠 之 毒 性	最 高 溶 價	最 低 凝 集 價	最 高 補 體 結 合 價	對小白鼠 平 均 免 疫 量
對 照 菌 苗	卅	0.533克 dN	11毫克	10萬×	2200×	160×	0.5 毫克	
超 沉 澱 菌 苗	卅	0.280克 dN	26毫克	10萬×	3200×	80×	>2.5毫克	
超 上 清 菌 苗	十	0.159克 dN	20毫克	10萬×	6400×	160×	0.078毫克	
超 全 菌 苗	卅	0.506克 dN	13毫克	10萬×	3200×	160×	0.3 毫克	

氏總氣定量的結果一致，其他三種菌苗與對照蛋白液的結果相似，由此可知超上清菌苗較其它三種菌苗的蛋白含量極少，而碳水化合物最多。

各菌苗經免疫學試驗結果；超沉澱菌苗對小白鼠的毒性很小，平均致死量是 26 毫克，超上清菌苗是 20 克，超全菌苗是 13 毫克，對照菌苗是 11 毫克。

免疫家兔抗體產生消長情況；溶菌素產生持續期間，超上清菌苗與超全菌苗較對照菌苗及超沉澱菌苗為佳，凝集素的產生，超上清菌苗優於其它三種菌苗。補體結合性物質的產生，超上清菌苗，對照菌苗及超全菌苗的情況相同，只有超沉澱菌苗稍劣。保護力試驗，超上清菌苗的平均免疫量為 0.078 毫克，能耐過 3 A. L. D 的活菌量，其次是超全菌苗為 0.3 毫克，再其次為對照菌苗需 0.5 毫克，超沉澱菌苗保護力最小超過 2.5 毫克。

作者以超全菌苗為基礎液所得之超上清菌苗及超沉澱菌苗，根據各種試驗結果認為超上清菌苗中含有的蛋白質較三種菌苗為少，超沉澱菌苗及超上清菌苗，在家兔抗體產生方面相差不多，而在保護力試驗方面則有很大差別。說明超上清菌苗較超沉澱含有大量的保護性物質。換言之，受超聲波曝射之菌液抗原性物質變為可溶性而移行於上清中，又判別家兔血清中抗體產生的強弱與保護力的關係，不是平行的，關於這個事實作者認為今後必須進一步地研究超上清菌苗，以及與超沉澱菌苗生物學的差異、抗原性分析等問題，探求其保護性物質究係 0—1 抗原的某一種東西。

## 總 結

取霍亂菌原型稻葉株菌懸液 100 毫升 (100 毫克/毫升)，以超聲波曝射 15 分鐘，加入 0.4% 福馬林，37° 放置 1 夜後遠心沉澱，取其上清及沉澱制成菌苗，與一般菌苗及超聲波霍亂菌苗作比較，研究其生化學，免疫學及血清學特性，其結果如下：

1. 超聲波上清菌苗蛋白含量少，而超聲波沉澱菌苗蛋白含量較多。
2. 超聲波上清菌苗 molisch 氏反應呈強陽性，而沉澱菌苗呈弱陽性反應。
3. 家兔血中之抗體產生情況，兩者無大差別。
4. 兩者對小白鼠的毒性皆極微弱，超聲波上清菌苗平均致死量為 20 毫克，沉澱菌苗平均致死量為 26 毫克。
5. 超聲波上清菌苗的保護力較對照菌苗為佳，而沉澱菌苗很低。
6. 由於以上各項可以判明超上清菌苗具有全抗原 (all antigen) 的性質。



7. 僅以上六項作為本試驗之總結，但超聲波上清菌苗還存在很多問題，尚賴今後的實驗來證明。

### 參 考 文 獻

1. Langv: Biol. Bull., 47, 362 1920.
2. Loomis and Woos: phil. Meg., 4, 417. 1927.
3. Williams: J. Infec. Disease, 47, 485, 1934.
4. Gains: J. Infec. Disease, 47, 492. 1934.
5. Harvey: Biol. Bull., 59, 306, 1930.
6. 矢追、中原: Jap. Jaun. Experi. Med., 12, 131, 1934.
7. 矢追、荒川、梶原: 實驗醫學, 24, 1265. 1940.
8. 渡邊他共同研究者: 日本微生物學會誌: 32, 1078. 1938.
9. 同 上: 東京醫事新誌; 3100, 2408, 1938.
10. 同 上: 日本微生物誌, 33, 1155, 1939.
11. 柳澤: 日本聯合微生物學會記錄 1942
12. 兒玉外共同研究者: 東京醫事誌, 3170. 1940.
13. 船戶: 日本微生物誌, 32, 546, 565, 641, 665, 758, 1938.
14. 木材: 治療及處方, 10, 5, 1929.
15. 同上: 北海道醫學, 7, 11 1929.
16. 尾崎: 日本微生物誌, 32, 1018. 1938.
17. 同上: 日本微生物誌, 32, 1034, 1938.
18. 同上: 日本微生物誌, 33, 499, 510. 692. 714, 1940.
19. 山內、木材、山內: 日本微生物誌, 34, 38, 1940.
20. 尾崎、沖津: 日本微生物誌, 33, 1052. 1939.
21. 三橋: 東京醫事新誌, 3080, 1160. 1938.
22. 沖津: 日本微生物誌, 33, 1301. 1939
23. Vigourex. ultrasonics, Chompmann and Hall, 1950.
24. Bail: Zeit. f. Hyg., 101, 466, 1924.
25. Besredka: Bull. pasteur, 672, 1913.
26. Friedberger: Zeit. f. Imm. 28.119. 1919,
27. 小林: 診斷大觀, 2, 3, 1933
28. 同上: 日本醫學及健康保險, 1941.
29. 同上: 日本醫學及健康保險, 1942.
30. Neufeld: Zeit. f. Hyg, 101, 466, 1924.
31. 安 東: 日本醫學及健康保險, 1941.
32. 同 上: 日本醫學及健康保險, 1942.
33. 須 藤: 小醫化學實習10版, 1925
34. 劉榮標: 日本醫學及健康保險. 1810. 1941.

35. 須藤: 小醫化學實習10版。161, 1925.
36. Reed and Muench. *Americ. J. Hyg.*, 27. 5(3), 1938.
37. 辻岡: 九州大學醫學部集談會記錄, 1941.
38. 山内: 大連衛生研究所彙刊, 1951第二卷, 第三期。

## 超聲波菌苗的研究

### Ⅰ, 超聲波霍亂上清菌苗之抗原性

山內豐紀 崔錦家

#### 一、緒 言

著者等於前次之報告中曾讀到經超聲波作用的菌液，其遠沉後之上清，較全菌體之超聲波菌苗及一般福馬林菌苗，在毒性及抗原性方面均為優越。本實驗為更具體的討論超聲波霍亂上清菌苗的作用時間與溶媒中的菌體成份的關係，並了解其毒性及抗原性。今將結果報告如下：

#### 二、實驗材料及方法

實驗材料與前兩次之報告大同小異，故不在此詳述，惟使用之超聲波發生裝置之波長為 560K.C.，超聲波作用時之被射試管底位置，距離水晶片 5 厘米。供試菌液係用生理鹽水稀釋成 100 毫克/毫升之菌懸液，菌株為原型稻葉株，試驗方法與前次報告相同，但重點為保護力試驗，其次為菌苗之理化特性檢查。對照菌苗係用同一批菌液，經福馬林外理後而製成者。

#### 三、實驗結果

##### 甲、比濁試驗

霍亂菌液經超聲波作用後其混濁度減少，此點已於前兩次之報告中述及。William 和 Gain 氏等也報告過細胞破壞作用的對數值係隨超聲波作用時間的延長而增加。Funodo 氏亦曾有過相同的報告。

本次實驗用之比濁計為 Duboscq 氏的 nephelo—colorimeter。空白試驗之標準為對照菌苗經遠沉後之上清液，以此同各菌苗之混濁度相比較，如以對照之實測值除以被檢液之實測值為比濁係數時，其結果則如表 1

表 1. 各菌苗混濁度之比較

被檢材料	實測值
對照菌苗	10.00
10' 菌苗	12.30
15' 菌苗	17.80
20' 菌苗	14.00
30' 菌苗	13.51
40' 菌苗	13.50

註釋：表內 10'、15'、20'、30' 及 40' 菌苗，係指經超聲波作用該時間後之上清菌苗而言（下同）。

根據上表可以看出超聲波作用分菌苗上清液的混濁度為最高。以後則隨作用時間的延長而漸減，即混濁度到達一定高度後再逐漸下降。關於這一點，可能與所用之超聲波試管底部之厚度有關。但在本試驗中已盡力選擇厚度均一的超聲波試管，相信不會有多大的出入。由此可見混濁度的減少可能是菌體被破壞的菌體成份溶於溶媒中，但如果繼續用超聲波作用，則可引起部份已溶解的菌體成份變成沉澱性物質，使上清的混濁度降低。

### 乙、氫游子濃度之變化

超聲波作用菌液時，能够產生氧化及破壞現象，實驗時雖盡量避免氧化現象力求其破壞作用，但實驗的結果證明仍微有氧化現象存在。即超聲波菌苗較對照菌苗略呈酸性，但相差不大，在本試驗範圍內並不成問題。超聲波作用時間與氫游子濃度之關係，不是直線上升，而是達到一定的酸性後再上升，此現象與溶媒中所含的游離氨有關，但是，經超聲波作用後游離氨被驅除，而酸度仍較對照菌苗為低，此點恐與游離的菌體成分發生變化有關。

### 丙、粘稠度試驗

霍亂菌液經超聲波作用後在粘稠度方面有降低傾向，關於粘稠度之降低，是否可以說明是霍亂菌的抗原性物質移於溶媒中是值得懷疑的，但在各種試驗之後亦可能發現與粘稠度有關，故做本試驗。

表 2 甲 各菌苗之粘稠度

被檢材料	實測值
對照菌苗	1.801
10' 菌苗	1.700
15' 菌苗	1.300
20' 菌苗	0.619
30' 菌苗	0.619
60' 菌苗	0.619

粘稠度試驗採用 Erma 之 Hiss 粘稠計。上清菌苗之粘稠度較對照菌苗為低，作用20分鐘者最低（見表 2 甲），以後雖延長作用時間，粘稠度亦無變化。由此試驗可以看出游離菌體成分與沉澱性物質之間的關係。同時又可以看出與混濁度有密切關係。通過粘稠度的檢查，可以間接地了解菌體成分溶解的情況。

況。

表 2 乙為以烏瀉氏沉降計測定各菌苗之沉澱物質的結果。由表中可以看到經超聲波作用的菌苗較對照菌苗，在有形物質方面確有減少，其減少程度又與超聲波作用時間有關，即作用15分鐘者為最少，以後隨作用時間的延長而增加。這表示作用15分鐘之菌苗上清中可溶性物質最多，故其混濁度亦稍高，作用20分鐘以上的菌苗，一部分可溶性菌體成分被沉澱，故混濁度較低。

表 2 乙 各菌苗之沉澱量

被檢材料	實測值
對照菌苗	0.83
10' 菌苗	0.62
15' 菌苗	0.38
20' 菌苗	0.42
30' 菌苗	0.57
60' 菌苗	0.64

丁蛋白顯色反應試驗

### 丁蛋白顯色反應試驗

以蛋白顯色反應定性各菌苗中之蛋白質的結果與前次報告相同；即 Biuret 反應，Millon 反應，Molish

反應，Xanthoprotein 反應及 Liebermann 反應等均為陽性。應該指出顯色反應的強弱與超聲波的作用時間成正比。關於這點是否由於菌體蛋白溶入溶媒的結果？Molish 反應却是隨超聲波作用時間的延長其反應漸減弱，此點是否由於菌體蛋白成分在溶媒中大量存在而沖淡了糖的含量，還是糖本身由於超聲波的作用而變性？作者尚無法解釋。

### 戊、血清學試驗

血清學的檢查係用各種菌苗免疫家兔後所獲得的血清進行試驗。

1. 各菌苗之抗體產生情況請見表 3。

表 3 甲為免疫後第 7 日之結果。乙為免疫後 14 日之結果。第 1 次免疫量相當於 0.5 毫克，第 2 次免疫量相當於 1.0 毫克。由本表可以證明超聲波上清菌苗有產生凝集素的能

表 3 甲 免疫後第 7 日各家兔血清凝集反應

免 疫 用 菌 苗	抗 原 稀 釋 倍 數	OH 抗 原										O 抗 原									
		五	一	二	四	八	一六	三二	六四	一二八	二五六	一	二	四	八	一六	三二	六四	一二八	二五六	五二〇
10'	菌苗	十	廿	一十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
15'	菌苗	廿	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20'	菌苗	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
30'	菌苗	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
60'	菌苗	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
對照菌苗	菌苗	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
對照菌苗	上清	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

表 3 乙 第二回免疫後第 7 日各家兔血清凝集反應

免 疫 用 菌 苗	抗 原 稀 釋 倍 數	OH 抗 原										O 抗 原									
		五	一	二	四	八	一六	三二	六四	一二八	二五六	一	二	四	八	一六	三二	六四	一二八	二五六	五二〇
10'	菌苗	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
15'	菌苗	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20'	菌苗	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
30'	菌苗	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
60'	菌苗	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
對照菌苗	菌苗	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
對照菌苗	上清	卅	卅	十	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

力。OH 凝集素之產生是隨作用時間的延長，其上清所產生之凝集効價亦愈高。而 O 凝集素之產生則相反。換言之，OH 抗原在溶媒中之含量與作用時間成正比，但仍不及對照菌苗。然而 O 抗原却相反，本試驗中經超聲波作用 15 分鐘之上清菌苗，菌體抗原含量較多。

2. 試管內溶菌現象 (Neisser—Wechsberg) 結果如表 4。

表 4. 各菌苗免疫血清之溶菌現象

免 疫 菌 苗	血清倍數	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>
		10'	菌苗	100	0	0	100	500
15'	菌苗	200	0	0	50	200	1000	∞
20'	菌苗	200	0	0	100	∞	∞	∞
30'	菌苗	100	0	0	1000	∞	∞	∞
60'	菌苗	100	0	50	200	∞	∞	∞
對照菌苗	菌苗	20	0	20	500	∞	∞	∞
對照菌苗	上清	0	0	500	∞	∞	∞	∞

根據上表認為超聲波作用時間比較短者，其能產生溶菌素之抗原似較多，作用時間較長時反而減少。超聲波作用 15 分鐘之上清菌苗中含該抗原量為最多，如果作用 20 分鐘以上時則減少。除超聲波作用 10 分及 15 分鐘之上清菌苗外，其它菌苗 (20 分, 30 分及 60 分者)

皆與對照菌苗相差無幾。

3. 各菌苗之毒性試驗結果如表 5。

表 5. 各菌苗之毒性試驗

結 果	菌 苗	對照菌苗					
		10' 菌苗	15' 菌苗	20' 菌苗	30' 菌苗	60' 菌苗	
注 射 劑 量	10 毫克	9%	9%	9%	9%	9%	4%
	20 毫克	9%	9%	9%	9%	9%	9%
	40 毫克	9%	4%	9%	9%	9%	9%
LD <sub>50</sub> (毫克)		11.3	25.1	17.9	14.1	11.2	10.0

由表 5 從知對照菌苗之毒性 LD<sub>50</sub> 為 11.2 毫克，經作用 30 分鐘以上之上清菌苗，略等於對照菌苗之毒性。經作用 20 分之上清菌苗較對照菌苗之毒性為低，尤其是作用 10 分鐘之上清菌苗為最低，其次為作用 15 分鐘之上清菌苗 (LD<sub>50</sub> 為 17.9 毫克)。

4. 小白鼠保護力試驗

在本項試驗中採用自動性免疫法及中和法進行感染試驗，其結果如表 6。表 7。表 8 及表 9。第 6、7 兩表係最小免疫量法之測定結果，試驗成績是以 LD<sub>50</sub> 求出其平均免疫量與對照菌苗作比較，第 8 表因例數較少，乃以統計學方法來比較各菌苗與對照菌苗之間在效力上的差別。第 9 表係將各菌苗免疫家兔血清加入一定量活菌後，通過小白鼠測定其中和抗體含量，藉以檢查各菌苗之質量。

表 6 中之免疫量為：0.5

毫克，0.25 毫克，0.125 毫克及 0.0625 毫克菌苗各含於 0.25 毫升鹽水中，給小白鼠進行腹腔注射，於免疫後之第 8 日，以活菌攻擊，觀察其生死情況。

如第 6 表，對照菌苗之平均免疫量為 0.31 毫克，超聲波作用之上清菌苗 10 分鐘者 0.124 毫克，15 分者為 0.25 毫克，20 分者為 0.505 毫克，30 分者為 0.798 毫克，60 分者為 0.5 毫克。在實驗當中死亡之小白鼠，均由心血或脾臟作分離培養，確證為霍亂菌致死者始計其數。

根據實驗結果，因為超聲波作用 10 分之菌苗和 15 分菌苗之保護力較大，其它菌苗均不及對照菌苗，由於上述試驗著者等認為超聲波作用 10 分上清菌苗比較優越，因此又將第二次報告中所介紹的超聲波菌苗樣品同超聲波作用 10 分鐘之上清菌苗進行保護力比較，以實求出超聲波的適當曝射時間。本試驗結果如表 7。另外在本次試驗中對照群中的小白鼠由於鼠傷寒、腸炎等流行病，故死亡之小白鼠要經培養證明確因霍亂菌而致死者方為陽性。

本試驗之結果，對照菌苗平均免疫量為 0.306 毫克，新法超聲波菌苗 (即超聲波作

小白鼠之體重為 12—14 克，分別將 40 毫克，20 毫克及 10 毫克死菌量含於 0.5 毫升生理鹽水中，經腹腔注射後觀察 7 日。注射菌量均按原菌液之菌量表示，其實這種表示方法不够合理，但因此法已沿用下來，故本試驗暫時仍採用之。

表 6. 保護力試驗 其一，活動性免疫

結 果	菌 苗	對照菌苗						活菌對照	
		10' 菌苗	15' 菌苗	20' 菌苗	30' 菌苗	60' 菌苗			
免 疫 量 及 結 果	0.0625	9%	9%	9%	9%	9%	9%	0.125	9%
	0.125	9%	9%	9%	9%	9%	9%	0.25	9%
	0.25	9%	9%	9%	9%	9%	9%	0.5	9%
	0.50	9%	9%	9%	9%	9%	9%	1.0	9%
	LD <sub>50</sub> (毫克)		0.310	0.124	0.25	0.505	0.798	0.5	

表 7. 保護力試驗

結 果	菌 苗				活 菌 對 照	
	對照菌苗	10' 菌苗 (新法)	15' 菌苗 (舊法)	活菌對照	活菌對照	活菌對照
免 疫 量 及 結 果	0.0625	95	95	95	0.125	95
	0.125	95	95	95	0.25	95
	0.25	95	95	95	0.5	95
	0.50	95	95	95	1.0	95
LD 50 (毫克)	0.306	0.136	0.178	0.312		

果如表 8。將各菌苗均按 0.2 毫克腹腔免疫後，經 7 日感染 2A. L. D. 活菌，並觀察其生死情況。根據實驗結果按統計學法計算新法超聲波菌苗與舊法超聲波菌苗之間的差別，前者的危險率為 4.7%，後者的危險率為 1%，以後者較好。但本結果與表 7 有些矛盾，此點可能與試驗動物之個體差有關。

用新法超聲波菌苗及對照菌苗的免疫家兔血清，進行了中和試驗，由 2.5 倍開始作倍倍稀釋到 80 倍，各取 1 毫升，加入 10 A.L.D./毫升活菌，37° 放 1 小時，再給小白鼠腹腔注射 0.4 毫升，觀察 3 天，其結果如表 9。

表 9 甲 10' 菌苗 (新法) 免疫血清

血清量 採血日	L150 (毫升)						
	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	0.0025	0.00125
免疫前	95	95	95				
免疫後第 7 天	95	95	95	95	95	95	0.0283

表 9 乙 對照菌苗免疫血清

血清量 採血日	LD50 (毫升)						
	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	0.0025	0.00125
免疫前	95	95	95				
免疫後第 7 天	95	95	95	95	95	95	0.0336

據第 9 表，對照菌苗第 1 次免疫後第 7 日所得之血清，其不均中和量為 0.0336 毫升，新法超聲波菌苗為 0.0283 毫升，由此可以認為超聲波菌苗的中和力比較好。

#### 四、討論及總結

表 10. 實驗成績之總結

菌 苗	混濁度	粘稠度	溶菌價	凝 集 價		毒性試驗	保護力試驗
				OH	O		
對照菌苗	10.00	1.081	10 <sup>-4</sup>	1600 ×	40 ×	11.2 毫克	0.31 毫克
10' 菌苗	12.30	1.500	10 <sup>-6</sup>	200 ×	160 ×	25.0 毫克	0.124
15' 菌苗	17.80	1.800	10 <sup>-6</sup>	400 ×	320 ×	17.9 毫克	0.25
20' 菌苗	14.00	0.619	10 <sup>-4</sup>	800 ×	80 ×	14.1 毫克	0.505
30' 菌苗	13.51	0.619	10 <sup>-4</sup>	800 ×	80 ×	11.2 毫克	0.798
60' 菌苗	13.50	0.619	10 <sup>-4</sup>	800 ×	80 ×	710 毫克	0.5

用 10 分鐘之上清菌苗，下同) 為 0.136 毫克，舊法超聲波菌苗 (即超聲波作用 15 分鐘之上清菌苗，下同) 為 0.178 毫克，攻擊菌之毒力為 0.312 毫克 (A. L. D.)。攻擊菌量為 0.8 毫克，以此結果比較各菌苗之間的保護力並無懸殊差別。然而新法在超聲波作用時間上是比較短的。嗣後著者等又用另外一種檢定法檢定了兩種製法的菌苗的効力，其結

表 8. 新舊兩電亂菌苗保護力之比較

菌 苗	結 果
10' 菌苗 (新法)	915
15' 菌苗 (舊法)	915
對 照 菌 苗	915
活 菌 對 照	1415
健 康 小 白 鼠	915

綜述各種試驗如表 10。

第 10 表之數據是用 100 毫克/毫升之原型霍亂菌懸液經超聲波作用後檢查的結果。粘稠度是在一定超聲波作用時間下較對照菌苗成直線上升，但是，以後却逐漸下降，本試驗中，作用 15 分鐘的直線上升的比較高，這個事實可

以從粘稠度或者菌體殘渣量上找出，說明在這中間經超聲波抽出的菌體成分最多也最好，以後則由於作用時間的延長會把已抽出的菌體物質變成沉澱性物質。此點與蛋白顯色反應是一致的，著者等認為蛋白物質受到較長時間的超聲波作用後，可能變成凝固性物質。

從血清學及免疫學方面來討論超聲波上清菌苗的抗原性，得出與生化學試驗完全不一致的結果，即超聲波作用15分鐘菌苗的溶菌價較好，然而保護力却較差，著者等認為過去檢查菌苗之抗原性時，常用凝集反應及其它抗體檢查方法檢查，其實這些方法也不一定都能表示出菌苗的質量。超聲波菌苗之凝集反應，在O抗體產生方面較OH抗體產生為明顯，特別是經10分及15分鐘作用之菌苗表現得比較突出。此現象作者等認為超聲波作用時間短時，則鞭毛破破壞得較輕，經過遠沉後，被沉於沉渣中，故OH凝集素產生得較少。如果作用時間較長時，則鞭毛破碎片較小，不易遠沉而懸於溶媒中，故OH凝集價較高。

毒性與超聲波作用時間成正比。

根據以上的實驗結果，可做如下總結

1. 本實驗以 560K. C. 之超聲頻率按不同的時間作用作了霍亂菌懸液，並製成上清菌苗，又進行了該菌苗的生化學，血清學及免疫學檢查。

根據實驗結果認為：

2. 生化、血清及免疫學的試驗結果之所以不一致，是因為作者把抗原性與超聲波作用時間之關係，用保護力試驗來決定的結果。家兔抗體產生試驗與保護力試驗之結果，正如過去所介紹到的，並不見得必須一致。

3. 超聲波上清菌苗較過去的福馬林菌苗，在小白鼠保護力試驗中可以認為在一定的超聲波作用時間下，能夠得到較好的試驗結果。作者等認為超聲波作用10分及15分鐘者比較顯著。

4. 以總菌量為基礎來換算超聲波菌苗之菌量，更能明顯地看出毒性與保護力之間的關係。



## 超聲波菌苗的研究

### IV. 以總氮量窺查超音波霍亂上清菌苗的抗元性

山內豐紀 崔錦家

#### 一、緒 言

作者於前次之報告中曾述及經超聲波作用之霍亂菌液其遠沉後之上清，對家兔及小白鼠的毒性，抗體產生及保護力，均較對照菌苗優越。但是對於“質”的表示方法尚不够妥當，本試驗是以總氮量為基準，來窺查超聲波上清菌苗之抗元性。

#### 二、實驗材料及方法

試驗材料與前次報告相同。超音波上清菌苗依凱達氏法測定總氮量，按北京生物製品檢定所規定的霍亂菌苗之總氮量為標準，將各供試菌苗稀釋成含有一定量的總氮。

本試驗仍用 560K.C. 雙重水晶振盪超聲波發生裝置。

供試菌液之濃度及對照菌苗之裝法等皆與前次報告相合，菌苗用菌種之毒力為 0.3 毫克（對 12 克之小鼠）

菌苗之保護力試驗係以最小免疫量法進行。用 12—13 克之小白鼠，以不同免疫量免疫，經 7 日後，感染定量的活菌，記錄其生存及死亡數，最終以 LD50 計算法計算。死亡之小白鼠須經證明在其心血及脾臟中有感染菌者始計數。

毒性試驗係用體重 15 克之小白鼠，將各菌苗注射一定量於腹腔中判定其生死情況。另外用 300 克之豚鼠，用皮下法注射菌苗，逐日稱其體重，根據體重之變化，以判定菌苗之毒性。

#### 三、試驗結果

表 1. 各供試菌苗之總氮量

被檢材料	總氮量 毫克/毫升	按北京檢定所標準 換算之菌數 (億/毫升)	按北京檢定所標準 換算之菌量 (毫克/毫升)
對照菌苗	0.5432	21,928	10.864
對照菌苗上清	0.0438	1.72	0.786
超聲波上清菌苗(10分)	0.1634	6.776	3.388
超聲波上清菌苗(20分)	0.2080	8.326	4.178
超聲波上清菌苗(30分)	0.3104	12.416	6.208
超聲波上清菌苗(30分)	0.4220	16.916	8.458
超聲波上清菌苗(60分)	0.4463	17.852	8.926

備考：北京生物製品檢定所規定霍亂菌 10 億 = 0.5 毫克 = 0.025 毫克/毫升  
總量本被檢係由原液稀釋 10 倍者。  
被檢材料欄內所注 10 分 15 分……等係指經超聲波作用之時間。

#### 1. 總氮量測定；結果

如表 1。

依表 1 之結果，原液為 100 毫克/毫升，經總氮量換算後，對照菌苗之原液，相當 108.64 毫克/毫升 菌液，其遠沉上清為 8.76 毫克/毫升，超波作用 10 分之上清菌苗為 33.88 毫克/毫升，15 分者為 41.78 毫克/毫升，20 分鐘者為 62.08 毫克/毫升，30

分者為 84.58 毫克/毫升，60 分者為 89.26 毫克/毫升，10 分之菌苗約相當對照之 3.3 倍，15 分約 2.6 倍，20 分為 1.7 倍，30 分為 1.7 倍，30 分為 1.3 倍，60 分為 1.9 倍。以後之實驗，以此差數換算，以求總量之統一。

## II. 毒性試驗

用小白鼠作毒性試驗，注射量為 0.5 毫升，其中含量為 15 毫克、7.5 毫克、3.75 毫克、1.875 毫克。即按對照菌苗約 3.3 倍，上清 10 分者 1.1 倍，15 分者 1.4 倍、20 分者 2.1 倍，30 分者 2.8 倍，60 分者 2.9 倍之比例，以生理鹽水稀釋後再 2 倍稀釋，求得 0.5 毫升中含有上述菌量，其結果如表 2A。

表 2A. 對小白鼠之毒性試驗結果

供試材料	注射量及試驗結果				總生存率 (%)	LD <sub>50</sub> 致死量 (毫克)
	15 毫克	7.5 毫克	3.75 毫克	1.875 毫克		
	$N_1=0.75$ 毫克	$N_2=0.375$ 毫克	$N_3=0.1875$ 毫克	$N_4=0.09375$ 毫克		
對照菌苗	5%	5%	5%	5%	65	7.5
對照菌苗上清液	5%	5%	5%	5%	100	
超聲波上清(10分)	5%	5%	5%	5%	95	>25.2
超聲波上清(15分)	5%	4%	5%	5%	85	15.0
超聲波上清(20分)	5%	5%	5%	5%	75	8.81
超聲波上清(30分)	5%	5%	5%	5%	65	7.784
超聲波上清(60分)	5%	5%	5%	5%	65	8.239

則註：① 對照菌苗上清液為原液量，第一注射量為 8.76 毫克/毫升

②  $N_1$  為動物活存數， $N_2$  為使用動物數。

由表 2A 可知，對照菌苗之 LD<sub>50</sub> 為 7.5 毫克 ( $N_2=0.375$  毫克)，對照菌苗之上清液，含菌量很少，故用原液注射 0.5 毫升，但仍未致死。用超聲波作用 10 分鐘之上清，平均致死量為 25.2 毫克左右，如換算為總量時，相當為 1.26 毫克，15 分鐘之上清菌苗為 15.0 毫克 ( $N_1=0.75$  毫克) 20 分者 8.81 毫克 ( $N_1=0.4405$  毫克)，30 分者為 7.784 毫克 ( $N_1=0.3892$  毫克) 60 分者為 8.239 毫克 ( $N_1=0.41195$  毫克)。由此可見超聲波上清菌苗，經作用 10 分鐘以上者，其毒性隨時間的延長而增強，但到達一定程度後其毒性又減弱，此現象恐係經超聲波作用後，菌體蛋白變質之故。可以認為超聲波上清菌苗之毒性甚弱，特別是作用 10 分者，其毒性佔有普通菌苗的 1/3，而作用 15 分鐘者亦約為普通菌苗毒性之 1/2。

除用小白鼠作毒性試驗外，又檢查了菌苗對豚鼠之毒性，即將各菌苗按本所規定的霍亂菌苗量 (2.0 毫克/毫升， $N_1=0.1$  毫克) 於體重 250—350 克之豚鼠皮下注射 0.5 毫升，每日按規定時間檢查豚鼠的局部反應及體重，其結果如表 2B。

由表 2B 之結果看來，鹽水對照組，10 日增加體重 27 克，而所有菌苗注射組動物之體重，均有減輕。如以鹽水對照組動物最後一天的體重增加數為 0 時，則對照菌苗組動物體重之增減率為 -44，超聲波上清菌苗 10 分鐘者為 -17，15 分者為 -32，20 分鐘及 30 分者均為 -35，60 分者為 -32。由此可以明顯的看出各長菌苗之反應，應以對照菌苗之毒性為最強，超聲波作用 10 分鐘之上清菌苗，其反應最小。

表 2 B. 對豚鼠之毒性試驗結果

供試材料	實驗結果 平均體重(克)	體重增減克數(平均量)										增減率	
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日		增減
對照菌苗	313	+5	-5	-12	-10	-12	-10	-15	-17	17	-17	-17	-44
對照(鹽水)	270	+5	+5	+8	+13	+13	+15	+20	+22	+22	+27	+27	0
超聲波上清(10分)	283	-3	+2	+3	0	+5	+8	+5	+10	+7	+10	+10	-17
超聲波上清(15分)	301	-8	-3	-3	-3	0	0	-3	-5	-2	-5	-5	-32
超聲波上清(20分)	298	-7	-10	-13	-15	-15	-15	-15	-13	-10	-8	-8	-35
超聲波上清(30分)	300	-10	-13	-17	-20	-13	-13	-15	-10	-12	-8	-8	-35
超聲波上清(60分)	300	-8	-28	-40	-33	-28	-18	-20	-12	-12	-5	-5	-32

注：各菌苗均用只豚鼠試驗，各群之結果係以平均值表示。

各菌苗之注射部位，在注射後第 2 日均有高度的腫脹，第三日後消失，其後注射部位始終未形成硬結及囊瘍。

### III. 毒性試驗後豚鼠血清之免疫學試驗。

經毒性試驗後之豚鼠，於注射後之第 14 日，取其心血 5 毫升，分離出血清，各菌苗免疫後之豚鼠血清等量混合（三只豚鼠之血清），製成混合血清，56°C 加溫 30 分鐘使之滅活。

抗原係用製造菌苗時之相應菌株，在普通瓊脂培養基上培養 18 小時後（37°C）製成 2 毫克/毫升之菌懸液，一部份加 1% 福馬林溶液，另一部分 100°C 加熱 30 分鐘後，再加 0.5% 石炭酸，使其成為 OH 及 O 抗原。

#### 1. 凝集素產生情況。

檢查抗體產生情況，先行凝集反應，其結果如表 3。

表 3. 免疫豚鼠血清之凝集反應

免 疫 原	凝 集 原 稀 釋 倍 數	OH-抗 元								O-抗 元							
		100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800
對照菌苗	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
鹽水注射	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
超聲波上清(10分)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
超聲波上清(15分)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
超聲波上清(20分)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
超聲波上清(30分)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
超聲波上清(60分)	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

由表 3 可知，對照菌苗之 OH 抗體為 3200 倍，O 抗體為 400 倍，而超聲波上清菌苗之 OH 抗體產生情況，係隨超聲波作用時間之延長而減低，O 抗體一般的均高於對照菌苗，特別是作用 15 分者，較對照菌苗高 8 倍，由此可見超聲波上清菌苗凝集素之產生情況是 OH 抗體減少，O 抗體增多。

#### 3. 溶菌素產生情況

本試驗是按 Neisser—Wechsberg 氏法進行的，實驗結果如表 4，略同於凝集反應

之結果。

表 4. 溶菌試驗結果

菌	血清稀釋倍數												對照
	103	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	204800	
對 照 菌 苗	0	0	0	0	0	0	20	100	1000	∞	∞	∞	∞
曝 水 注 射	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	0	∞	∞	∞
超聲波上清 (10分)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2000	∞	∞	∞
超聲波上清 (15分)	0	0	0	0	0	0	0	50	400	∞	∞	∞	∞
超聲波上清 (20分)	0	0	0	0	0	0	0	100	200	∞	∞	∞	∞
超聲波上清 (30分)	0	0	0	0	0	0	0	100	500	∞	∞	∞	∞
超聲波上清 (60分)	0	0	0	0	0	0	100	500	2000	∞	∞	∞	∞

註：每一血清稀釋倍數係用付平皿以平均數表示之。

#### 4. 保護力試驗

各菌苗之免疫量為 0.5 毫克, 0.25 毫克, 0.125 毫克及 0.0625 毫克, 以總氮量換算成菌量, 含於 0.5 毫升中, 皮下免疫小白鼠, 免疫後第 8 日由腹腔感染約 2A. L. D. 的活菌, 觀察 4 日, 死亡之小白鼠, 須證明為相應菌致死者方記入, 用 LD<sub>50</sub> 計算結果。

表 5. 保護力試驗結果

菌 苗	免 疫 量 及 死 亡 情 況				總生存率 (%)	LD <sub>50</sub> 免疫量 (毫克)
	0.5 毫克	0.25 毫克	0.125 毫克	0.0625 毫克		
對 照 菌 苗	4%	1%	3%	9%	52.7	0.1650
超聲波上清 (10分)	9%	4%	9%	3%	68.6	0.1111
超聲波上清 (15分)	3%	3%	9%	3%	63.1	0.125
超聲波上清 (20分)	3%	3%	3%	9%	47.1	0.1935
超聲波上清 (30分)	4%	3%	9%	9%	29.2	0.395
超聲波上清 (60分)	3%	3%	3%	9%	27.8	0.323
活 菌 對 照	1.0 毫克	0.5 毫克	0.25 毫克	0.125 毫克		LD 50 (A.L.D)
	9%	3%	9%	4%	40	0.4474

註：成菌量為 0.9 毫克 ÷ 2A.L.D. 分子為菌物生存數, 分母為感染小鼠數

由表 5 可知對照菌苗之 A.L.D 為 0.1650 毫克, 超聲波上清 10 分鐘者 0.1111 毫克, 15 分者為 0.125 毫克, 20 分以下者較對照菌苗為劣。10 分及 15 分者較對照菌苗並未顯優越性。此現象恐係感染用菌毒力低及菌量較小的緣故。

#### 5. 試驗結果之總結、討論及結語

以上各試驗之結果可綜列如表 6。

經超聲波作用後之上清菌苗, 其作用時間在 60 分鐘以內者, 總氮量均較對照菌苗為少, 又可認為總氮量隨超聲波作用時間之延長而增加, 以此現象可以說明超聲波作用時間與菌體破壞之關係; 菌體破壞激烈的時候, 移行於溶媒中的菌體成分最多, 因之總氮量增加, 對小白鼠之毒性亦增強。超聲波作用時間長則出現毒性增強現象, 恐係蛋白質或為變性蛋白有關。用大於小白鼠最大注射量 10 倍之劑量給豚鼠注射時, 各菌苗均有一般地反應, 惟作用 10 分鐘者, 體重減輕較少, 由此可知小白鼠之致死試驗與豚鼠體重之減

表 6

供 試 菌 苗	總 菌 量 (毫克/毫升)	小白鼠毒性試驗 (毫克)	凝 集 素	溶菌試驗	平均免疫量 (毫克)
對 照 菌 苗	0.7432	7.5	OH-3200 O-400	25600	0.1650
超聲波上清菌苗(10分)	0.1634	>25.2	OH-1800 O-1600	51200	0.1111
超聲波上清菌苗(15分)	0.2080	15	OH-800 O-3200	51200	0.1250
超聲波上清菌苗(20分)	0.3014	8.81	OH-400 O-1600	25600	0.1935
超聲波上清菌苗(30分)	0.4229	7.784	OH-400 O-1600	25600	0.2850
超聲波上清菌苗(60分)	0.4463	8.239	OH-400 O-400	25600	0.5250

少，似有關聯。利用作過毒性試驗之豚鼠，於注射後第14日檢查其抗體產生情況；凝集素與溶菌素之產生程度，與過去之試驗相同，作用10分鐘之上清菌苗，其中O抗原含量較多，OH抗原則較少，15分者更明顯。由此可以推想菌液經超聲波作用一定時間後，O抗原增加，以後則與OH抗原一同減少，可能是O或OH抗原經超聲波作用後會起變化。

在免疫力試驗方面，超聲波作用10分及15分鐘之上清，較對照菌苗略為優越，但因感染菌量少又加以毒力較弱等原因，同對照菌苗之間未能看出明顯之差別。

### 結 語

用超聲波作用10分鐘之原型霍亂菌液，經遠沉後之上清，較對照的福馬林菌苗，在毒性、體內抗體產生及保護力各方面均為優越，為了進一步的證實這些問題，今後尚須試驗。

## 超聲波菌苗的研究

### V. 關於超聲波霍亂上清菌苗檢定結果之判定

山內豐紀 崔錦家 劉樹茂

#### 一、緒 言

作者等雖在過去進行過超聲波霍亂菌苗的研究，但在毒性方面仍存有問題；即該菌苗在注射後的反應較一般製法的菌苗為強，推其原因恐係菌苗經超聲波作用後菌體發生蛋白變性之故。作者乃將超聲波曝射後的菌液，用遠沉法除去不溶性沉澱物質製成“上清菌苗”，經多次證明在毒性及抗原性方面似有改進。

本報告擬將過去的試驗結果加以總結，藉以探討超聲波上清菌苗與一般製法菌苗之間，在效果上是否顯示有意義的差別，以作今後開展新試驗的基礎。

#### 二、試驗材料及方法

超聲波霍亂上清菌苗之制備；以 560K.C. 超聲波（最高屏極電壓 3000 伏特）曝射霍亂菌液（200毫克/毫升）200 毫升。曝射時間原型菌為10分，異型菌為20分，然後加福馬林使其最終含量為 0.4%，37°C 孵箱中放置48小時，經培養試驗證明為陰性後，再以3000轉/分 之遠沉機遠沉 1 小時，取上清液為供試材料。

上清菌苗原液濃度的表示法，在試驗初期係以原液菌量來表示，後期則用總氮量來表示，後者較為合理。免疫量係將總氮量換算成菌數或菌量以便同對照菌苗作比較，按北京生物製品檢定所的標準換算，即霍亂菌10億 = N<sub>2</sub>0.025毫克（0.5 毫克菌量）。

供試菌種；初期用本所保存的原型（Inaba 北京株）及異型株（ogawa No.15）後因其在生物學及血清學特性不够典型，故改用東北傳染病防治院的原型（#365）及異型菌（#267）製造菌苗及供動物試驗用。

培養基：使用普瓊脂 pH7.6，培養溫度為 37°C，培養時間為18小時。各菌株在使用前，經常通過小白鼠，或用復歸培養法保持其毒力及光滑型的菌落。

對照菌苗有三種；即用製造超聲波上清菌苗之同一菌液製成的福馬林菌苗，本所出品的霍亂菌苗及用東北傳染病防治院的霍亂原液稀釋成的菌苗。

試驗動物：用體重 9—12克之健康小白鼠，感染後死亡之小白鼠剖驗證明確係因感染菌而致死者方計數，如發現鼠傷寒及腸炎等菌時則應從實驗例中除去。

免疫方法：使注射菌量含於 0.2 毫升中，行皮下注射。

感染方法有兩種：即最小免疫量法及最大感染量法，後者使用黏液蛋白素（mucin），均以 Reed 氏的 LD<sub>50</sub> 換算法，求其平均免疫量或平均耐過量，免疫後 7—8 天進行感染，感染後觀察 4 天。

## 三、試驗結果

## 1. 第一次試驗

各菌苗測定氮量後折算成菌量，以菌量表示之。本次試驗之菌苗為原型菌單獨菌苗，濃度為4毫克/毫升（總氮量0.076毫克/毫升，折合菌量1.52毫克/毫升）其保護力檢定結果如表1。

表1. 第一次試驗結果

菌苗	結 果		免 疫				感 染				結 果				
	小鼠數	標記	日期	免疫量 (毫克)	日期	間隔	小鼠頭數	攻擊量 (毫克)	生存數	死亡數	Reed 式換算				
											生	死	生	死	LD 50 (mg)
超聲波沉澱 菌苗	10	白		0.25			10		4	6	10	6	62.5	0.1768	
	10	頭	14/V	0.125	20/V	7日	8	0.7	4	4	6	10	37.5		
	10	背		9			0		9	2	19	18			
	10	尾		6			2		4	2	23	8			
超聲波上清 菌苗	10	白					0.25				9		5	4	17
	10	頭	14/V	0.125	20/V	7日	8	0.7	2	6	12	10	64.5		
	10	背		9			3		6	10	16	38.5			
	10	尾		10			7		3	7	19	27			
超聲波菌苗 No. 4	10	白					0.25				10		4	6	15
	10	頭	14/V	0.125	20/V	7日	9	0.7	3	6	11	12	47.9		
	10	背		9			4		5	8	17	32			
	10	尾		9			4		5	4	22	15.5			
對 照 防治院霍亂 菌苗	10	白					0.25				10		5	5	12
	10	頭	14/V	0.125	20/V	7日	10	0.7	4	6	7	11	38.9		
	10	背		5			0		5	3	16	15.8			
	10	尾		9			3		6	3	22	12			
活 菌 對 照											5	0.2	1	4	1
							5	0.1	2	3	3	4	42.5		
							5	0.05	4	1	7	7	87.6		
							5	0.025	5	0	12	0	100		

表1所列為試制菌苗與防治院制的霍亂菌苗平均免疫量之比較，其中超聲波沉澱菌苗係菌液除去上清後，將沉澱加鹽水恢復到原量者， $N_0=0.078$ 毫克/毫升，超聲波上清菌苗即剩餘的上清所制者， $N_1=0.076$ 毫克/毫升，超聲波菌苗—No.4 為小量生產時之樣品（含原型及異型菌） $N=0.0568$ 毫克/毫升，防治院的霍亂菌苗（含原型及異型菌） $N_1=0.0712$ 毫克/毫升。

感染菌量為 0.7 毫克，相當於 8A.L.D.。就本試驗而言，超聲波上清菌苗較作對照的一般菌苗略為優越。各菌苗間之有意差可從表 2 看出。其試驗方法是將各菌苗，於體重 12 克之小白鼠皮下注射 0.5 毫升（含菌體 0.1 毫克）；每種菌苗注射 25 只；待第 8 日感染活菌 0.2 毫克（約 2A.L.D.），觀察其結果。

表 2. 各菌苗保護率之比較

供試菌苗	免 疫		感 染			結 果 (死亡日期及數目)					生存率 (%)	
	日期	小白鼠數	量	日期	小白鼠數	量	24/Ⅱ	25/Ⅱ	26/Ⅱ	27/Ⅱ		28/Ⅱ
防治院之菌苗	16/Ⅱ	25	0.1 毫克	23/Ⅱ	21	0.2 毫克	4	6	0	0	0	47.7
超聲波上清菌苗	16/Ⅱ	25	0.1 毫克	23/Ⅱ	23	0.2 毫克	3	4	0	0	0	69.7
菌超聲波沉澱菌苗	16/Ⅱ	25	0.1 毫克	23/Ⅱ	23	0.2 毫克	8	6	0	0	0	38.1
超聲波菌苗 No.4	16/Ⅱ	25	0.1 毫克	23/Ⅱ	20	0.2 毫克	3	1	0	0	0	80.0
活菌對照	16/Ⅱ	25	0.1 毫克	23/Ⅱ	20	0.2 毫克	12	4	0	0	0	20.0

據表 2 看來，鼠量較少的超聲波上清菌苗却比超聲波沉澱菌苗在抗元性上優越得多，超聲波沉澱菌苗及傳染病防治院的霍亂菌苗與活長對照之間找不出有意差。超聲波上清菌苗與超聲波菌苗—No.4 之間均可認為有 5% 危險率以下的有意差，所以此兩種菌苗，較對照菌苗在保護力方面可以認為比較優越。

## 2. 第二次試驗

供試菌苗係由小量生產時取出的一部分樣品（超聲波菌苗 No.3），試驗法與第一次相同，不考慮含鼠量，按原液菌量換算，以平均免疫量及平均感染量法進行試驗。對照菌苗係本所細菌科菌苗室制就的原型及異型菌苗，超聲波菌苗 No.3 的菌量為 4 毫克/毫升，原異兩型等量混合，含鼠量為 0.0675 毫克/毫升，細菌科的菌苗濃度在 4 毫克/毫升以下含鼠量為 0.35 毫克/毫升，另外尚以防治院的菌苗為對照，4 毫克/毫升中含鼠量為 0.228 毫克/毫升，因較超聲波菌苗—No.3 之含鼠量多，故用粘液蛋白質 (mucin) 法，菌量採用超聲波菌苗—No.3 之一半。

免疫方法：分 A、B 兩法，A 法即最小免疫量測定法，免疫量按上述鼠量稀釋，使其在 0.5 毫升中含 1.0 毫克，0.1 毫克，0.01 毫克及 0.001 毫克菌量，於體重 12 克之小白鼠皮下注射，各試驗組之小白鼠為 5 只。B 法係按最大感染量法，使用 5% 粘液蛋白質菌液感染。W.S.X—No.3 菌苗的免疫量，係由 1 毫克/毫升的菌苗稀釋成 0.25 毫克/0.25 毫升，( $N_1=0.0169$  毫克)。對照菌苗；本所菌苗 0.125 毫克/0.25 毫升 ( $N_1=0.05$  毫克) 長春傳染病防治院菌苗 0.125 毫克/0.25 毫升 ( $N_1=0.285$  毫克)，各皮下免疫 40 只小白鼠，第 7 日感染。A 法 Inaba 株約感染 1A.L.D. Ogawa 株約感染 2A.L.D. B 法係取短時間培養菌稀釋成 50X, 500X 及 50000X，並使其懸浮於 5% 粘液蛋白質中，各取 0.5 毫升，注射於免疫小白鼠腹腔中，以後觀察 4 日，記取結果如表 3 之 A 及 B。

由表 3 A 及 B 看來，最小免疫量法測定的結果，超聲波上清菌苗較本所細菌科之霍亂菌苗優越。最大感染量法測定的結果，細菌科的菌苗在保護力絕對值上佔優勢，而長



表 3A 最小免疫量試驗結果

實驗結果	免 疫				感 染				結 果					
	小白鼠 只數	日 期	量 (毫克)	日 期	間 隔	小 鼠 數	量 (毫克)	生 存 數	死 亡 數	Reed		式 換 算		
										生	死	生 存 %	LD 50	
對 照 菌 苗 ( 本 所)	原 型	6/Ⅷ	1.0	13/Ⅷ	8	5	0.65	2	3	8	3	72.8	0.04786 毫克	
			0.1			4		2	2	6	5	54.6		
			0.01			4		3	1	4	6	40.0		
			0.001			5		1	4	1	10	9.0		
	異 型	6/Ⅷ	1.0	13/Ⅷ	8	5	0.65	2	3	4	3	57.2	0.5888 毫克	
			0.1			3		0	3	2	6	25.0		
			0.01			3		1	2	2	8	20.0		
			0.001			5		1	4	1	12	7.7		
	超 聲 波 上 清 菌 苗  No-3	原 型	6/Ⅷ	1.0	13/Ⅷ	8	0.65	3	2	1	9	1	90.0	0.001998 毫克
				0.1				3	1	2	7	3	70.0	
				0.01				3	3	0	6	3	66.6	
				0.001				4	3	1	3	4	42.8	
異 型		6/Ⅷ	1.0	13/Ⅷ	8	0.65	3	2	1	4	1	80.0	0.1778 毫克	
			0.1				3	1	2	2	3	40.0		
			0.01				3	0	3	1	6	14.1		
			0.001				3	1	2	1	8	12.2		
活 菌  對 照	原 型					5	0.125	5	0	12	0	0.5 毫克		
			5			0.25	4	1	7	1				
			5			0.5	3	2	3	3	50			
			5			1.0	0	5	0	8				
	異 型					5	0.125	5	0	10	0	100	0.2828 毫克	
			5			0.25	3	2	5	2	71.6			
			5			0.5	2	3	2	5	28.4			
			5			1.0	0	5	0	10	0			

春傳染病防治院及超聲波上清菌苗則較差。兩種檢定方法所得結果之不同，其第一個原因，係利用粘液蛋白素法尚不夠熟練，以致出現動物死亡不規律的現象，最小免疫量法所感染的菌量有些過少，第二個原因恐與菌體本身的總氮量不定有關，因此即進行了第三次試驗。

### 3. 第三次試驗

本次試驗之菌苗係用 Inaba#356 及 Ogawa#267 製成，對照菌苗仍用本所及長春傳

表 3 B 最大感染量試驗 (U. S. X—No3)

免 疫 用 菌 苗	試驗項目及結果	免		感		染		結		果					
		小鼠數	日期	量 (毫克)	日期	間隔	小鼠數	量 (倍數)	生存數	死亡數	Reed 式換算		LD 50		
											生	死		生存%	
對照菌苗 (本所)	原 型	5	6. Ⅳ	0.5毫克 克/毫升	13. Ⅷ 8 日		5	50×	1	4	1	7	12.5	281.2 ×	
		5					500×	4	1	5	3	62.4			
		5					5000×	3	2	8	2	80			
		5					50000×	3	0	13	0	100			
	異 型	5		0.05毫克 /0.25毫 升 (0.25毫 升皮下注 射)			5	50×	3	2	3	5	37.5	119.9 ×	
		5					500×	4	1	7	3	70			
		5					3000×	4	1	11	2	84.6			
		5					50000×	4	1	15	1	93.6			
對照菌苗 (長春)	原 型	5	6. Ⅳ	0.5毫克/ 毫升 (10處)	13. Ⅷ 8 日		5	50×	5	0	5	6		641.2 ×	
		5					500×	0	5	5	6	45.5			
		5					5000×	4	1	9	1	90			
		5					50000×	5	0	14	0	100			
	異 型	5		N <sub>2</sub> = 0.025毫 克/毫升 (0.25毫 升皮下注 射)			5	50×	4	1	4	8	33.3	345.9 ×	
		5					500×	4	1	8	7	63.2			
		5					5000×	4	1	12	6	66.2			
		5					50000×	0	5	12	5	70.5			
超擊波上清菌苗 (No.3)	原 型	5	6. Ⅳ	1.0毫克 /毫升 (30處)	13. Ⅷ 8 日		4	50×	2	2	2	9	18.1	1172 ×	
		5					500×	3	2	5	7	41.6			
		5					5000×	4	1	9	5	64.2			
		5					50000×	1	4	10	4	71.6			
	異 型	5		N <sub>2</sub> = 0.0169毫 克/0.25 毫升 (0.25毫 升皮下注 射)			5	50×	0	5	0	7	0	250.6 ×	
		5					500×	5	0	5	2	71.4			
		5					5000×	3	2	8	2	80			
		5					50000×	2	0	13	0	100			
活 菌 對 照	原 型	5	6. Ⅳ		13. Ⅷ 8 日		5	500×	1	4	1	8	11.5	3063 ×	
		5					5000×	5	0	6	4	60			
		5					50000×	3	2	9	4	69.2			
		5					500000×	3	2	12	2	85.9			
	異 型	5						5	500×	3	2	3	8	27.3	8892 ×
		5						5000×	1	4	4	6	40		
		5						50000×	4	1	8	2	80		
		5						500000×	4	1	12	1	92.3		

染病防治院之霍亂菌苗。在作保護力試驗以前，先檢定菌苗之毒性，其結果如表 4。

表 4. 超聲波上清菌苗與一般菌苗毒性之比較

項 目 菌 苗	小白鼠 隻 數	注射量 (毫克)	觀察 日數	生存 數	死亡 數	Reed 式 換 算			LD 50 (毫克)	LD 50 N <sub>1</sub>
						生 存	死 亡	生存%		
對 照 (本所菌苗原液)	5	3.125	7	2	3	6	3	66.6	4.849	0.414毫克 (6170)
	5	6.250	7	2	3	4	6	40.0		
	5	12.500	7	2	3	2	9	13.1		
	4	25.000	7	0	4	0	13	0		
	5	50.000	7	0	5	0	18			
對 照 (防治院菌苗原 液)	5	3.125	7	5	0	13	0		12.70	0.7125毫克 (8528)
	5	6.250	7	3	2	8	2			
	5	12.500	7	2	3	5	5	50.0		
	4	25.000	7	2	2	3	7			
	5	50.000	7	1	4	1	11			
超聲波上清菌苗 原液	5	3.125	7	5	0	21	0		40.15	0.699毫克 (8445)
	5	6.250	7	5	0	16	0			
	5	12.500	7	5	0	11	0	100.0		
	5	25.000	7	4	1	6	1	85.7		
	5	50.000	7	2	3	2	4	33.3		
超聲波沉澱菌苗 原 液	5	3.125	7	5	0	24	0		> 50.00	> 0.569毫 > (9818)
	5	6.250	7	5	0	19	0			
	5	12.500	7	5	0	14	0	100.0		
	5	25.000	7	4	1	9	1	90.0		
	5	50.000	7	5	0	5	1	83.3		

各菌苗的平均致死量，從原菌液的菌量來看，超聲波上清菌苗之毒性較小，而從總菌量方面分析，與防治院的菌苗之間，沒有很大差別。只有本所細菌科的菌苗在毒性方面較強。經超聲波照射的菌液，其沉澱物質的毒性甚弱。

繼上述試驗之後，進行了總菌量與保護力方面的試驗；將超聲波上清菌苗，超聲波沉澱菌苗及防治院的菌苗，按總菌量稀釋成相當20毫克的菌量（N<sub>1</sub>=0.1毫克/毫升），各取0.25毫升於小白鼠皮下進行免疫注射，感染時，將 Inaba 菌株，懸浮於5%粘液蛋白素中，以最大感染量法計算其結果（表5）。

各菌苗1毫升中的保護力的絕對值；防治院的菌苗為102.72 LD50，超聲波上清菌苗為308.08 LD50，超聲波沉澱菌苗為12.24 LD50。超聲波上清菌苗按總菌量換算成相當於一般菌苗的菌數，可以認為在保護力方面有所提高，而超聲波沉澱菌苗，幾乎看不出其効力。

表 5. 保護力試驗結果

試驗結果 免 疫 菌 苗	免 疫		感 染				結 果						
	小白鼠 隻 數	日 期	量 (毫克)	日 期	間 隔	小 鼠 隻 數	量 (倍數)	生 存	死 亡	Reed 式 換 算			LD 50
										生	死	生 %	
對照菌苗 (長春防治院)	5	9 月	N <sub>2</sub> =0.1 毫克/毫 升	17 日	8 天	5	5×	1	4	1	13	7.14	350×
	5					50×	2	3	3	9	25		
	5					500×	2	3	5	6	54.5		
	5					5000×	2	3	7	3	70		
超聲波上 清菌苗	5	9 月	0.25 毫升 皮下注射	17 日	8 天	5	5×	0	5	0	10	0	91.4×
	5					50×	4	1	4	5	44.4		
	5					500×	3	2	7	4	63.6		
	5					5000×	3	2	11	3	83.5		
超聲波沉澱 菌 苗	5	9 月	0.25 毫升 皮下注射	17 日	8 天	5	50×	0	5	0	12	0	35.80×
	5					500×	2	3	2	7	22.2		
	5					5000×	3	2	5	4	55.5		
	5					50000×	3	2	8	2	80		
活 菌 菌 對 照 (毒力)	5	9 月	0.25 毫升 皮下注射	17 日	8 天	5	500×	2	3	2	8	20	3020×
	5					5000×	4	1	6	5	54.7		
	5					50000×	2	3	8	4	66.8		
	5					500000×	5	0	13	1	93.0		
	5					5000000×	4	1	17	1	94.6		

根據本次試驗結果，從前超聲波菌苗的毒性之所以弱是含氮量少的關係。如果和一般菌苗的含氮量相同時，兩者之間看不出有很大差別。

作者爲了證明超聲波上清菌苗的效果，又重複實驗，結果如表 6 及表 7。

表 6 係按總鼠量將各菌苗稀釋成含有 2.0 毫克/毫升，菌量，按最小免疫量及最大感染量法檢定的結果。表 6 A 內之感染菌液係用 5% 粘液蛋白素液 10 倍稀釋者，腹腔感染 0.2 毫升。兩種菌苗所免疫的動物如感染 10A. L. D. 時，兩者的平均免疫量均在 0.0625 毫克以下，但從死亡率方面看來，對照菌苗爲 40%，而超聲波上清菌苗却爲 0%，因之可以認爲後者具有一定的優越性。

表 6 B 爲最大感染量法檢定的結果。對照菌苗保護力的絕對值爲 24.68，超聲波上清菌苗爲 40.00，保護力較高。

繼之，又進行了同樣試驗，其結果如表 7。

各菌苗 1 毫升中所含的保護力絕對值，用稻稈株感染，超聲波上清菌苗約爲 30，對照菌苗爲 1.03。用小川株感染，超聲波上清菌苗爲 40，而對照菌苗的絕對值却在小數點以下。超聲波菌苗上清菌苗以最大感染量法測定，亦有較高的抗原性。

表 6. 超聲波上清菌苗之保護力 (A)

實驗 結果 疫苗 菌苗	免 疫			感 染				結 果					
	小白鼠 隻 數	日 期	量 (毫克)	日 期	間 隔	小白鼠 隻 數	量 (倍數)	生 存	死 亡	Need 式 換 算			LD50
										生	死	生%	
對照菌苗 (本所)	5	17/M	0.0625	24/M	8 日	5	10×	3	2	3	2	60	> 0.0625
	5		0.125			4	10×	4	0	7	0	100	
	5		0.25			4	10×	4	0	11	0		
	5		0.5			3	10×	3	0	16	0		
超聲波上 清菌苗	5	17/M	0.0625	24/M	8 日	5	10×	5	0	5	0	100	> 0.0625
	5		0.125			3	10×	3	0	8	0		
	5		0.25			4	10×	4	0	12	0		
	5		0.5			4	10×	4	0	16	0		
活菌對照 (蘇力)				24/M		4	5×	0	4	0	3	0	107.6×
					4	50×	1	3	1	4	25		
					4	500×	4	0	5	0	100		
					4	5000×	4	0	9	0			

表 6. 超聲波上清菌苗之保護力 (B)

實驗 結果 疫苗 菌苗	免 疫			感 染				結 果					
	小白鼠 隻 數	日 期	量 (毫克)	日 期	間 隔	小白鼠 隻 數	量 (倍數)	生 存	死 亡	Need 式 換 算			LD50
										生	死	生%	
對照菌苗 (本所)	5	17/M	2.0毫克/毫 升 (N <sub>2</sub> =0.1毫 克/毫升)	24/M	8 日	4	5×	1	3	1	4	20	37.42×
	5					3	50×	2	1	3	1	75.1	
	5					4	500×	3	0	6	0	100	
	5					5	5000×	4	0	10	0		
超聲波上 清菌苗	5	17/M	0.25毫升 皮下注射	24/M	8 日	4	5×	1	3	1	3	25	10.76×
	5					5	50×	5	0	6	0	100	
	5					5	500×	4	0	10	0		
	5					5	5000×	3	0	13	0		
活菌對照 (蘇力)				24/M		4	5×	0	4	0	7	0	107.6×
					4	50×	1	3	1	3	25		
					4	500×	4	0	5	0	100		
					4	5000×	4	0	9	0			

表 7. 超聲波上清菌苗之保護力

結 免 疫 菌 苗	免 疫			感 染				結 果									
	只 數	日 期	量 (毫克)	日 期	菌 株	間 隔	只 數	量 (倍數)	生 存	死 亡	Reed 式 換 算			LD <sub>50</sub>			
											生	死	生%				
超聲波上 清菌苗	5	17/Ⅲ	N <sub>2</sub> =0.1mg (2mg/ml菌 量)  0.25 毫升皮 下注射 (0.25mg)	24/Ⅲ	原 型  (稻 葉 株)	8	5	5×	2	3	2	5	28.6	14.42×			
	5						50×	4	1	6	2	75.1					
	5						500×	5	0	11	1	91.8					
	5						5000×	5	0	16	1	94.1					
	5						50000×	4	1	20	1	95.2					
野照菌苗	5					8	5	5×	0	5	0	9	0		103.8×		
	5					8	5	50×	2	3	2	4	33.3				
	5					8	5	500×	4	1	6	1	85.8				
	5					8	5	5000×	5	0	11	0	100				
	5					8	5	50000×	5	0	16	0					
活菌對照									4	5×	0	4	0	7	0	107.6×	
									4	50×	1	3	1	3	25		
									4	500×	4	0	5	0	100		
									4	5000×	4	0	9	0			
									4	50000×	4	0	13	0			
超聲波上 清菌苗	5				17/Ⅲ	N <sub>2</sub> =0.1mg (2mg/ml菌 量)  0.25 毫升皮 下注射 (0.25mg)	24/Ⅲ	異 型  (小 川 株)	8	4	5×	2	2	2	3	40	8.164×
	5									50×	4	0	6	1	85.8		
	5	500×	5	0						11	1	91.8					
	5	5000×	5	0						16	1	94.1					
	5	50000×	4	1						20	1	95.2					
野照菌苗	5	8	5	5×					0	5	0	9	0	125.6×			
	5	8	4	50×					2	2	2	4	33.3				
	5	8	5	500×					4	1	6	2	75.4				
	5	8	5	5000×					5	0	11	1	91.8				
	5	8	4	50000×					3	1	14	1	94.3				
活菌對照									4	5×	0	4	0	7	0	81.64×	
									4	50×	2	2	2	3	40		
									4	500×	4	0	6	1	85.8		
									4	5000×	3	1	9	1	90		
									4	50000×	4	0	13	0	100		

超聲波震盪上清菌苗的効价，無論是用最小免疫量法或最大感染量法測定，其結果都比對照菌苗高。但兩種測定方法，究竟那一種好，因各有長短，須取決由今後的多次試驗。

## 總 結

過去超聲波上清菌苗的効力檢定，有些缺點，主要是菌苗菌量問題，為解決此問題，曾以總菌量為基礎換算成菌量後再檢定之。第一次報告中曾提及超聲波上清菌苗的毒性低，是由於其所含的總菌量較對照菌苗少的緣故。由於菌體殘渣或未受超聲波曝射影響的菌體均被除去，其上清中僅有可溶性物質及膠狀的蛋白質，如將上清菌苗按一般菌苗的總菌量稀釋後，在毒性方面恐有增強的可能，但在實際試驗中却與一般菌苗相差無幾，如今後在處理方法上加以考慮，相信毒性還會下降。

上清菌苗的抗元性，隨總菌量的增加而提高，但並不是數學的上升，即抗體產生達到某一程度後，也不會再有更高的効价，由此觀之，過去所規定的濃度雖僅為一般菌苗之半，但也具有一定的保護力。如果勉強增加菌數，却會引起強烈的注射反應。另外由於檢定方法之不同，其結果也各異，關於此點尚不能肯定其原因。但無論何種檢定方法，只要技術熟練且在感染量方面嚴加注意，特別是最小免疫量法，則將會有較滿意的結果。

## 超聲波菌苗的研究

### Ⅶ. 傷寒、甲、乙型副傷寒及霍亂四種混合菌苗

#### (一) 各單價菌苗的實驗成績

山內豐紀 崔錦家 劉樹茂 閻世德

#### 一 緒 論

過去著者曾進行過數次超聲波霍亂菌苗的研究，認為超聲波上清菌苗較普通菌苗以及前試制的超聲波菌苗在感染防禦力方面具有較好的結果，過去的一般菌苗在注射後常使被注射者不快，關於這點生物制品工作一致在努力改進，著者等亦企圖利用現有的設備——超聲波發生機—改進菌苗的質量，而進行過數次超聲波霍亂菌苗的研究。本報告係就傷寒、甲、乙型副傷寒及霍亂等四種混合菌苗的結果作一介紹。

#### 二 實驗材料及方法

1. 實驗方法與過去試制的超聲波霍亂菌苗的實驗相同。即在沒有進行四種混合菌苗的研究前，先試制成各菌的單獨菌苗，並做理化學、免疫學及血清學等檢查，從而由預備實驗當中找出超聲波作用時間與各菌株抗原性之間的關係，再以實驗結果為基礎選擇認為較好的單獨菌苗，經稀釋後制成四種混合菌苗。試驗的重點是動物體內抗體產生實驗與感染防禦實驗。根據過去的經驗將超聲波菌苗的含菌量統由總氮量換算成菌量，故本實驗中的菌量均指已按總氮量換算後的菌量。

2. 理化學檢查法，免疫學及血清學等檢查法，與過去的試驗方法相同，故從略。

實驗材料；供試菌種傷寒為 Watson 51 株 V 型菌，甲型副傷寒菌為 #4 乙型副傷寒菌為 #4 株，以上各菌種均為本所所保存者。在實驗開始以前，先將菌種通過動物 3—4 次，並檢查其生物學及血清學特性，選其 S 型菌株接種在適當的培養基上；含 Vi 抗原的傷寒菌接種於亞硫酸鉀瓊脂培養基上，甲型副傷寒及霍亂菌用普通瓊脂培養基，乙型副傷寒菌用甘油瓊脂培養基。37° 培養 18—20 小時後，刮取菌苔，以鹽水稀釋成 200 毫克/毫升的菌懸液，傷寒菌液按 2% 及 0.5% 之比例加入福馬林及氯化鈣，放於室溫中。甲及乙型副傷寒菌液均加入 2% 福馬林後放於 37° 孵箱中 4—7 日進行殺菌，經培養試驗證明無菌後，再以超聲波曝射。超聲波之頻率為 560 K. C.，屏極電壓 3000V，曝射時間分為 10 分、20 分、30 分、45 分及 60 分五種。霍亂菌苗根據上次報告結果曝射了 10 分鐘，將曝射後各菌液，以 3000 轉/分之遠沉機遠沉 1 小時，取其上清是為超聲波上清菌苗。

供試動物係體重 12—13 克之小白鼠及 2 公斤的健康家兔。



### 三 實 驗 結 果

#### 甲、傷寒單介菌苗的試驗結果

在實驗前，為了解超聲波對 Vi 抗原的影響又進行了預備試驗，即用相當於 20 毫克/毫升的菌液 100 毫升，以 560K.C.3000V 的超聲波按不同時間作用後製成超聲波菌苗(全液)，把各種曝射時間不同的菌苗稀釋成於 0.2 毫升中含有 0.1 毫克，0.01 毫克，0.001 毫克及 0.0001 毫克的菌液，注射於小白鼠腹腔內，7 日後以 0.05 毫克/0.2 毫升 (2 倍 A. L. D.) 活菌感染，觀察該菌苗之保護力試驗結果。

結果如表 1；對照菌苗平均免疫量為 0.00229 毫克，而曝射 5 分的菌苗為 0.0001 毫克以下，曝射 10 分者 0.0001 毫克，曝射 20 分者 0.00513 毫克，25 分者為 0.000317 毫克。據本預備試驗 Vi 抗原在 20 毫克/毫升的濃度下度下雖經超聲波曝射 25 分鐘，但仍較對照菌苗的成績為好，故在 25 分鐘以內不必考慮超聲波對 Vi 抗原的影響。

表 1. 超聲波對 Vi 抗原的影響

檢 查 材 料 注射量 (毫克)	超聲波	超聲波	超聲波	超聲波	對 照	活 菌 對 照	
	作用 5 分	作用 10 分	作用 20 分	作用 25 分		注射量 (毫克)	結 果
1.0	½	¾	½	¾	¾	0.1	9%
	¾	¾	¾	¾	¾	0.05	9%
0.01	¾	¾	¾	¾	¾	0.025	¾
0.001	¾	¾	¾	¾	¾	0.0125	¾
0.0001	¾	¾	¾	¾	¾	0.00625	¾
LD <sub>50</sub>	>0.0001	0.0001	0.00513	0.000317	0.00229	LD <sub>50</sub>	0.025

根據表 1 的結果，進行了正式試驗，將 200 毫克/毫升菌液各按 200 毫升分裝於特制的試管中，經超聲波曝射 10 分、20 分、30 分、45 分及 60 分鐘後，檢查其理化學、血清學及免疫學特性，其結果如下，各表的數據均係三次測定的平均值。

表 2. 氫游子濃度之變化

檢 查 材 料	實 測 值
未經超聲波作用	6.115
超聲波作用 10 分	6.085
超聲波作用 20 分	5.995
超聲波作用 30 分	5.960
超聲波作用 45 分	5.900
超聲波作用 60 分	5.915

表 3. 粘稠度之變化

檢 查 材 料	實 測 值
未經超聲波作用	1.70
超聲波作用 10 分	1.56
超聲波作用 20 分	1.50
超聲波作用 30 分	1.50
超聲波作用 45 分	1.50
超聲波作用 60 分	1.45

表 4. 混濁度之變化

檢 查 材 料	實 測 值
未經超聲波作用	20.0
超聲波作用 10 分	20.0
超聲波作用 20 分	22.6
超聲波作用 30 分	23.4
超聲波作用 45 分	26.2
超聲波作用 60 分	29.1

表 5. 蛋白呈色反應

檢 查 材 料	Biuret	vanthoprotein	Leibermann	Acree-Rosenheim	Millon	Molisch
	反 應	反 應	反 應	反 應	反 應	反 應
未經超聲波作用	卅	卅	—	—	卅	+
超聲波作用 10 分	卅	+	—	—	卅	+
超聲波作用 20 分	卅	+	—	—	卅	+
超聲波作用 30 分	卅	+	—	—	卅	+
超聲波作用 45 分	+	+	—	—	卅	+
超聲波作用 60 分	+	+	—	—	卅	+

全菌液經種種理化學試驗結果，認為大體上與超聲波曝射後的霍亂菌液情況相同。如氫游子濃度的變化，曝射前 pH6.115，但經超聲波曝射後隨時間的延長而降低，然後經過一段時間後又上升。同樣，檢查粘稠度時也認為與 pH 變化趨勢相同，混濁度的情況亦然，但較霍亂菌變化在程度上較低。由於變化程度之不同，推測超聲波對傷寒菌的影響是不大的。此點在蛋白顯色反應上也可以證明。即 Molisch 反應陽性的出現與曝射時間的關係，較霍亂菌的情況為遲。

試製單介菌苗的免疫學及血清學檢查結果如下：

### 1. 試製菌苗的凝集反應試驗

經超聲波曝射後的菌苗對 Vi 血清及 O 血清的凝集反應結果如表 6，雖然血清僅稀釋 10 倍，但 O 凝集反應仍呈陰性。此點不能立即判定 O 凝集反應為陰性，因為存在 Vi 抗原時不易表現出 O 凝集反應，但與對照普通菌液比較時在程度上是有區別的，故判定時應慎重。著者等認為超聲波菌苗與傷寒血清之間的凝集反應，在判斷上是比較困難的。

表 6. 超聲波菌苗之被凝集性

菌苗	Vi-血清							O-血清					
	100x	200x	400x	800x	1600x	3200x	6400x	10x	20x	40x	80x	160x	320x
對照菌苗	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
超 10 菌苗	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
超 20 菌苗	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
超 30 菌苗	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
超 45 菌苗	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
超 60 菌苗	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

如表 6 所示在超聲波曝射 20 分鐘以內者，幾乎不影響 Vi 抗原之凝集性，經曝射 30—40 分鐘者稍受影響，而曝射 60 分鐘者可以看出明顯的影響。由此可見 Vi 抗原並不是不受超聲波的影響，如果曝射時間較久，則會影響 Vi 抗原。

### 2. 試製菌苗對小白鼠的毒性

取體重 12—14 克的健康小白鼠腹腔注射各菌苗，觀察 4 天記取結果。其注射量均以原菌液的菌量換算。對照菌苗之總菌量為 0.048 毫克/毫升，較北京生物製品研究所的菌苗的總菌量 (0.045 毫克/毫升) 稍多一些。所以將 10 毫克菌量 (0.48 毫克/毫升 N<sub>1</sub>) 4 毫克 (0.192 毫克/毫升 N<sub>1</sub>)，1.6 毫克菌量 (0.0768 毫克/毫升 N<sub>2</sub>) 及 0.64 毫克菌量 (0.0297 毫克/毫升 N<sub>2</sub>) 懸於 0.5 毫升生理鹽水中，腹腔注射即可。

由表 7 可知超 10 菌苗的毒性最弱，超 20 菌苗與對照菌苗無很大差別，其餘均較對照菌苗的毒性強。

### 3. 保護力試驗

給體重 12—14 克的小白鼠皮下注射 0.1 毫克，0.01 毫克 0.001 毫克菌量，上記菌量均含於 0.25 毫升鹽水中，於第 8 天腹腔感染一定量活菌 (V 型 Watson 51 株)，感染量為 0.1 毫克 = 4 A. L. D.，觀察 4 日，記取結果 (見表 8)。

表 7. 試製菌苗之毒性試驗結果

菌 苗	小白鼠隻數	注射量 (毫克)	觀察日數 (天)	生 存 數	死 亡 數	Reed 式 換 算			LD <sub>50</sub> (毫克)	LD <sub>50</sub> (N <sub>D</sub> )
						生	死	生 %		
對 照 菌 苗	5	0.04	4	5	0	17	0		10.00	0.48毫克
	5	1.00	"	5	0	12	0	100.0		
	5	4.00	"	4	1	7	1	87.3		
	5	10.00	"	3	2	3	3	50.0		
超 10 菌 苗	5	0.04	"	5	0	19	0		>10.00	>0.48
	5	1.00	"	5	0	14	0	100.0		
	5	4.00	"	4	1	9	1	90.0		
	5	10.00	"	5	0	5	1	83.2		
超 20 菌 苗	5	0.04	"	5	0	17	0		10.00	0.48
	5	1.00	"	5	0	12	0	100.0		
	5	4.00	"	4	1	7	1	87.3		
	5	10.00	"	3	2	3	3	50.0		
超 30 菌 苗	5	0.04	"	0	5	11	5	68.9	4.00	0.192
	5	1.00	"	4	1	11	6	64.8		
	5	4.00	"	4	1	7	7	50.0		
	5	10.00	"	3	2	3	9	16.7		
超 45 菌 苗	5	0.04	"	5	0	13	0	100.0	4.00	0.192
	5	1.00	"	4	1	8	1	88.9		
	5	4.00	"	2	3	4	4	50.0		
	5	10.00	"	2	3	2	7	22.2		
超 60 菌 苗	5	0.04	"	5	0	15	0	100.0	6.44	0.297
	5	1.00	"	4	1	10	1	91.0		
	5	4.00	"	5	0	6	1	85.9		
	5	10.00	"	1	4	1	5	16.6		

表 8. 試製菌苗保護力試驗

菌 苗	免 疫		感 染		結 果					
	小白鼠 隻 數	量 (毫克)	小白鼠 隻 數	量 (毫克)	生 存 數	死 亡 數	Reed 式 換 算			LD50 (毫克)
							生	死	生 %	
對照菌苗	5	0.1	5	0.1	4	1	10	1	91.0	0.002138
	5	0.01	4	(約為4ALD)	3	1	6	2	75.1	
	5	0.001	5	"	2	3	3	5	37.6	
	5	0.0001	5	"	1	4	1	9	10.0	
超 10 苗	5	0.1	5	"	4	1	13	1	92.9	0.0005761
	5	0.01	5	"	4	1	9	2	81.9	
	5	0.001	5	"	3	2	5	4	55.6	
	5	0.0001	4	"	2	2	2	6	25.0	
超 20 苗	5	0.1	4	"	3	1	13	1	92.9	0.0002933
	5	0.01	5	"	4	1	10	2	83.3	
	5	0.001	4	"	3	1	6	3	66.8	
	5	0.0001	5	"	3	2	3	5	37.6	
超 30 苗	5	0.1	5	"	5	0	13	0	60	0.0006365
	5	0.01	5	"	4	1	8	1	88.9	
	5	0.001	4	"	3	1	4	2	66.8	
	5	0.0001	3	"	1	3	1	4	20	
超 45 苗	5	0.1	5	"	4	1	12	1	92.3	0.001
	5	0.01	5	"	3	2	8	3	72.5	
	5	0.001	5	"	3	2	5	5	50	
	5	0.0001	4	"	2	2	2	7	22.2	
超 60 苗	5	0.1	4	"	4	0	12	0	100	0.0005761
	5	0.01	5	"	3	2	8	2	80	
	5	0.001	5	"	3	2	5	4	55.6	
	5	0.0001	5	"	2	3	2	7	22.1	
活菌對照			3	0.0125	3	0	4	0	100	0.02008
			3	0.025	1	2	1	2	33.3	
			3	0.05	0	3	0	5	0	
			3	0.1	0	3	0	8		

根據表 8 可以認為；用著者等試驗的濃度範圍內，超聲波曝射時間不超過 60 分鐘者，其保護力要比對照菌苗大，同時認為曝射時間在 60 分鐘以內者，對 Vi 抗原並無破壞作用。

由於以上事實，認為以超聲波作用的 V 型傷寒菌全菌液，在抗原性上較普通菌苗為佳。並且亦可按霍亂菌苗相同的檢定法檢查菌苗上清中的抗原性。

在試驗以前，先將試製的各菌苗進行總氮量測定。上清菌苗係經超聲波曝射後的全菌液，用 3000 轉/分之遠沉機遠沉 1½ 小時後，取其上清測得濃度如表 9。被檢菌液的濃度是用各菌液經 200 倍稀釋者。

表 9. 試製菌苗的總氮量

菌 苗	種 別	全 液		上 清		按總氮量換算成的菌量
		對 照				
超 聲 波 曝 射 用	10 分	0.048毫克/毫升		0.0008毫克/毫升	±0.191毫克/毫升	
				0.0209 "	±0.464 "	
				0.0227 "	±0.502 "	
				0.0255 "	±0.567 "	
				0.0255 "	±0.367 "	
				0.0241 "	±0.526 "	

如表 9 所示超聲波曝射後的全液，在總氮量上雖認為沒有變化，但是，上清中的含氮量却因曝射時間不同而有差異。即對照菌苗的上清  $N_2$ —0.0086 毫克/毫升，而經超聲波曝射 30—40 分鐘者其含氮量最高，在 60 分者却又趨向下降。此事實說明超聲波與曝射時間有關。在一定的時間內菌體蛋白成膠質狀態懸於溶媒中，故含量較多，但以後隨時間的延長而發生了變化，大量菌體蛋白含於沉澱中。

用上述菌苗進行對小白鼠的毒性試驗，即以原菌液的菌量為基礎決定注射量，再把得到的平均致死量，按總氮量換算成實際菌量。毒性試驗結果如表 10。

表 10. 超聲波上清菌苗的毒性試驗

菌 苗	種 別	小白鼠 隻 數	注射量 (毫克)	生存數	死亡數	Reed 式 換 算			LD <sub>50</sub> (毫克)	LD <sub>50</sub> ( $N_2$ 毫克)
						生	死	生 %		
對 照 菌 苗	全 液	5	20.0	0	5	0	5	0	10.0	10.8
		5	10.0	3	2	3	3	50		
		5	5.0	4	1	7	1	87.3		
		5	2.5	5	0	12	0	100		
超 聲 波 上 清 菌 苗	10 分	5	20.0	3	2	7	3	60	20.0	3.82
		5	10.0	4	1	3	1	87.3		
		3	5.0	3	0	10	0	100		
		5	2.5	5	0	15	0			
超 聲 波 全 液 菌 苗	20 分	5	20.0	5	0	5	0	100	>20.0	>9.28
		4	10.0	4	0	9	0			
		4	5.0	4	0	13	0			
		5	2.5	5	0	18	0			
超 聲 波 上 清 菌 苗	30 分	5	20.0	4	1	4	1	80	>20.0	>9.28
		5	10.0	5	0	9	0	100		
		4	5.0	4	0	13	0			
		5	2.5	5	0	19	0			
超 聲 波 全 液 菌 苗	45 分	5	20.0	4	1	4	1	80	>20.0	>9.28
		5	10.0	5	0	9	0	100		
		5	5.0	5	0	14	0			
		5	2.5	5	0	19	0			
超 聲 波 全 液 菌 苗	60 分	5	20.0	5	0	5	0	100	>20.0	>9.28
		4	10.0	5	0	9	0			
		5	5.0	4	0	14	0			
		5	2.5	5	0	19	0			

超聲波菌苗的毒性從總氮量上看，對照菌苗的毒性較強，相當於 3.82 毫克菌量，此毒性較全菌液的毒性僅相差一點却是很有趣的問題，說明總氮量雖少而毒性較強一點，是否由於在溶媒中含有毒性物質的結果。

傷寒菌的毒性與 Vi 抗原是有一定關係的，是 Vi 抗原生物學特性的一部份，但經超聲波曝射以後的全菌苗較對照菌苗的毒性為弱，是否可解釋為由於游離的 Vi 抗原經超聲波曝射後更易受福馬林影響的結果而使毒性減弱。

超聲波上清菌苗保護力試驗的結果如表 11，是按最小免疫量法進行的，菌量是從總氮量換算成實際菌量，免疫方法，免疫期間，感染菌株及感染方法等，均與前述之全菌液菌苗測定法相同。除以福馬林菌苗作對照外，又加上超 20 分菌苗。

表 11. 上清菌苗保護力試驗結果

菌 苗	實驗 內 容	免 疫		感 染		結 果					LD <sub>50</sub> (毫克)
		小白鼠 只 數	免疫數 (毫克)	小白鼠 只 數	感染量 (毫克)	生 存	死 亡	Reed 式換算			
								生	死	生 %	
對 照 菌 苗	5	0.1	4	0.1	3	1	9	1	90	0.00257	
	5	0.01	4	(SALD)	3	1	6	2	75		
	5	0.001	5	"	2	3	3	5	32.6		
	5	0.0001	5	"	1	4	1	9	10		
超 20 苗	5	0.1	4	"	3	1	14	1	93.3	0.0002427	
	5	0.01	5	"	4	1	11	2	84.6		
	5	0.001	5	"	4	1	7	3	70		
	5	0.0001	5	"	3	2	3	3	37.5		
超 聲 波 上 清 菌 苗	10 分	5	0.1	5	"	5	0	16	0	100	0.0002642
		5	0.01	5	"	4	2	11	2	84.6	
		5	0.001	4	"	3	2	7	4	63.7	
		5	0.0001	5	"	4	2	4	6	40	
	20 分	5	0.1	5	"	5	0	15	0	100	0.0001652
		5	0.01	5	"	5	0	11	0	100	
		5	0.001	5	"	4	1	5	1	55.9	
		5	0.0001	4	"	2	2	2	3	40	
	30 分	5	0.1	4	"	4	0	9	0	100	0.000588
		5	0.01	5	"	5	0	8	0	100	
		5	0.001	5	"	2	2	3	2	60	
		5	0.0001	4	"	1	3	1	5	16.7	
45 分	5	0.1	5	"	5	0	13	0	100	0.0005495	
	5	0.01	5	"	3	2	8	2	80		
	5	0.001	5	"	4	3	5	3	60		
	5	0.0001	4	"	1	1	1	6	14.3		
60 分	5	0.1	5	"	4	1	14	1	93.3	0.0004198	
	5	0.01	5	"	4	1	10	2	83.3		
	5	0.001	5	"	3	2	6	4	60		
	5	0.0001	5	"	3	2	3	6	33.3		
活 菌 對 照			5	0.1	0	5	0	8	0	0.01466	
			5	0.01	2	3	2	3	0		
			5	0.001	5	0	7	0	100		
			5	0.0001	5	0	12	0	100		

由表 11 可見超聲波上清菌苗較福馬林菌苗的保護力大，而超聲波上清菌苗 20 分者最顯著。

傷寒菌根據以上各試驗以總氮量換算成菌量，證明超聲波上清菌苗中含有豐富的 Vi 抗原。著者等又以同樣方法進行了甲型副傷寒超聲波上清菌苗的研究。

## 乙、超聲波甲型副傷寒菌苗的實驗成績。

超聲波曝射後的甲型副傷寒菌苗的 pH 粘稠度、混濁度等變化情況，大體上與 V 型傷寒菌相似，故不贅述，其成績如表 12，甲型副傷寒菌較 V 型傷寒菌對超聲波抵抗力較強，此點在蛋白顯色反應上亦可見到，可能是由於菌體構造上具有一定差別的關係。

表 12. 超聲波作用後的理化學變化

檢 查 材 料	實 驗 項 目			總 菌 量
	pH 的 變 化	粘 稠 度 之 變 化	混 濁 度 之 變 化	
	實 測 值	實 測 值	實 測 值	
未經超聲波作用	6.050	1.70	20.0	菌苗 10 毫克/毫升 N <sub>2</sub> 0.10 <sup>18</sup> 毫克/毫升
超聲波作用 10 分	5.575	1.50	28.7	
超聲波作用 20 分	5.465	1.50	33.4	
超聲波作用 30 分	5.450	1.50	39.5	
超聲波作用 45 分	5.425	1.25	41.6	
超聲波作用 60 分	5.455	1.15	41.6	

關於超聲波曝射後菌液的被凝集性，對小白鼠之毒性，保護力試驗等與傷寒菌液檢查方法相同，其結果如表。表中對於被凝集性的檢查是以 OH 血清檢查的結果。

表 13. 甲型副傷寒抗原的免疫學的血清試驗

抗 原	凝 集 試 驗	毒 性 試 驗	保 護 力 試 驗 (LD <sub>50</sub> )
未經超聲波作用	3200 ×	6.39 毫克	0.006237 毫克
超聲波 30'	3230 ×	>10 毫克	0.002661 毫克
超聲波 試驗 20'	1600 ×	>10 毫克	0.004667 毫克
超聲波 試驗 30'	800 ×	6.69 毫克	0.001807 毫克
超聲波 試驗 45'	400 ×	10 毫克	0.003236 毫克
超聲波 試驗 60'	200 ×	5.46 毫克	0.003451 毫克

表 13 中的毒性試驗及保護力試驗的結果，係以 LD<sub>50</sub> 表示的，其保護力試驗的感染量約 4A. L. D.，由本表可見甲型副傷寒菌，經超聲波曝射初期毒性較小，同時又有豐富的抗原性，以後則逐漸下降，但曝射 30 分鐘時，抗原性又似有提高，但毒性亦有些增大。著者等又將上述各超聲波菌苗速心沉澱製成“超聲波上清菌苗”，檢查了它們的毒性及

表 14. 超聲波上清菌苗對小白鼠之毒性

抗 原	原 菌 量	以總菌量換算之菌量
對照 (未處理的菌液)	6.39 毫克	9.02 毫克
超聲波上清 10'	>20 毫克	>21.63 毫克
超聲波上清 23'	>20 毫克	>19.02 毫克
超聲波上清 30'	>20 毫克	>17.27 毫克
超聲波上清 45'	>20 毫克	>20.39 毫克
超聲波上清 60'	16.81 毫克	>14.52 毫克

保護力。本實驗的各上清菌苗的菌量是以總菌量換算成的，甲型副傷寒菌 0.5 毫克/毫升菌量相當於 0.036 毫克/毫升 N<sub>2</sub> 量，其結果如表 14。

超聲波上清菌苗對小白鼠之毒性較對照福馬林菌苗為弱，特別是 10 分，20 分及 45 分的上清比較突出，所以在注射量上雖用得多一些，但也無妨。

按上清的總菌量換算成相當於 1 毫克/毫升的菌量（即總菌量 0.092 毫克/毫升）做為原液，再稀釋成 10<sup>-1</sup>，10<sup>-2</sup>，10<sup>-3</sup>，取

其容0.5升，皮下注射 12—13 克的小白鼠後，第 8 日用同一菌株的活菌感染，其結果如表15。

表 15. 上清菌苗保護力試驗結果

菌 苗	實 驗 內 容	免 疫 總 量				結 果					
		小白鼠 只 數	量 (毫克)	小白鼠 只 數	量 (毫克)	生 存 數	死 亡 數	Reed 式 換 算			LD <sub>50</sub> (毫克)
								生	死	生 %	
對 照 (福馬林菌苗)		5	1.0	4	0.8	5	0	12	0	50	0.01
		5	0.1	5	(2A.L.D.)	4	1	7	1		
		5	0.01	5	"	3	2	3	3		
		5	0.001	5	"	0	5	0	8		
超 聲 波	10 分	5	1.0	5	"	5	0	13	0	50	0.01
		5	0.1	5	"	3	2	8	2		
		5	0.01	5	"	2	3	5	5		
		5	0.001	4	"	3	2	3	7		
上 清 菌 苗	20 分	5	1.0	5	"	5	0	13	0	100 80 55.4 22.3	0.006874
		5	0.1	4	"	3	2	8	2		
		5	0.01	4	"	3	2	5	4		
		5	0.001	4	"	2	3	2	7		
上 清 菌 苗	30 分	5	1.0	4	"	5	0	14	0	100 81.8 66.7 25	0.003981
		5	0.1	5	"	3	2	9	2		
		5	0.01	5	"	4	1	6	3		
		5	0.001	5	"	2	3	2	6		
上 清 菌 苗	45 分	5	1.0	5	"	5	0	9	0	100 66.6 14.3 0	0.04699
		5	0.1	5	"	3	2	4	2		
		5	0.01	5	"	1	4	1	6		
		5	0.001	5	"	0	5	0	11		
上 清 菌 苗	60 分	5	1.0	5	"	5	0	8	0	50	0.1
		5	0.1	5	"	2	3	3	3		
		5	0.01	5	"	0	5	1	8		
		5	0.001	5	"	1	4	1	12		
活 菌 對 照				5	0.5	0	5	0	11	0	0.1570
			5	0.25	1	4	1	6	14.3		
			5	0.125	3	2	4	2	66.8		
			5	0.0625	5	0	9	0	100		

從表15的結果看來，可以認為超聲波上清菌苗與對照菌苗的保護力沒有大的差別，但經曝射60分鐘的菌液，其保護力有顯著的下降。

### 丙、超聲波乙型副傷寒菌苗的實驗成績。

繼上述試驗之後，又以乙型副傷寒菌製成超聲波乙型副傷寒單獨菌苗，按傷寒，甲型副傷寒菌相同的方法進行實驗，其理化學檢查結果如表16。



表 16. 超聲波作用後的理化學變化

檢 查 材 料	pH 的 變 化		粘 稠 度		混 濁 度		總 氮 量
	實 測 值		實 測 值		實 測 值		
未經超聲波作用	5.825		1.7		20.0		原菌量 10毫克/毫升 總氮量 =0.512毫克/毫升
超聲波作用10分	5.440		1.5		20.9		
超聲波作用20分	5.300		1.3		24.2		
超聲波作用30分	5.285		1.4		26.2		
超聲波作用45分	5.265		1.5		28.4		
超聲波作用60分	5.190		1.7		32.8		

乙型副傷寒菌經超聲波曝射後，在理化學變化上與傷寒及甲型副傷寒菌的變化相似。血清學及免疫學的實驗結果如表17。

表 17. 乙型副傷寒超聲波菌苗免疫學的血清學試驗

抗 原	凝 集 性 試 驗		對小白鼠之毒性	保護力 (LD <sub>50</sub> )
	OHI	O		
未經超聲波作用	12800×(+)	20×(-)	1.6 毫克	0.0001 毫克
超聲波作用10分	800×(+)	20×(-)	1.93 毫克	0.001 毫克
超聲波作用20分	800×(+)	20×(-)	4.0 毫克	0.001 毫克
超聲波作用30分	800×(+)	20×(-)	5.93 毫克	0.0002 毫克
超聲波作用45分	400×(+)	20×(-)	6.33 毫克	0.00018 毫克
超聲波作用60分	200×(-)	20×	2.91 毫克	0.0001 毫克

表中 OH凝集反應的結果與傷寒及甲型副傷寒菌相似，即隨曝射時間的增加其凝集性相反的減少。O凝集反應在20倍時全例均為陰性。

對小白鼠之毒性隨曝射時間的延長而減弱，但繼續延長時其毒性又有增強。此點與甲型副傷寒菌很相似。對小白鼠之保護力在用5A. L. D. 活菌感染時是不如對照菌苗，然而曝射60分者與對照的效果相同。

以上均為超聲波全菌液的結果。著者等又將超聲波全菌液遠沉後取其上清，進行了毒性及保護力試驗，結果見表18及19。

表 18. 乙型副傷寒超聲波上清菌苗之毒性

批 別	原 活 菌 苗 量	以總氮量換算之菌量
對照 (未處理)	1.6 毫克	0.08192 毫克
超聲波作用10分	10 毫克	0.393 毫克
超聲波作用20分	12.56 毫克	0.3270 毫克
超聲波作用30分	12.56 毫克	0.3906 毫克
超聲波作用45分	11.22 毫克	0.4118 毫克
超聲波作用60分	12.57 毫克	0.3909 毫克

表 18 指示，對照菌苗能使小白鼠致死的平均總氮量為0.08192 毫克，而超聲波上清菌苗大約為0.3—0.4 毫克，由此可以看出超聲波上清菌苗對小白鼠的毒性僅為對照菌苗的 $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ 。

各菌苗的保護力試驗結果如下，注射量係以對照菌苗的總氮量為標準，將超聲波乙型副傷寒上清菌苗也稀釋成相同的含氮量進行免疫和感染，注射

途徑，間隔及次數等，皆同於傷寒及甲型副傷寒菌的試驗方法。

表 19. 乙型副傷寒超聲波上清菌苗保護力試驗

菌 苗	實驗內容	免 疫		感 染		結 果					
		小白鼠 只 數	量 (毫克)	小白鼠 只 數	量 (毫克)	生 存	死 亡	Recd 式 換 算			LD <sub>50</sub> (毫克)
								生	死	生 %	
對 照	福馬林菌苗	5	0.1	4	0.003	4	0	16	0		0.0001
		5	0.01	5	(4A.L.D.)	5	0	12	0		
		5	0.001	5	"	4	1	7	1		
		5	0.0001	5	"	3	2	3	3	50	
	超60分	5	0.1	5	"	4	1	15	1		0.0001
		5	0.01	4	"	3	1	11	2		
		5	0.001	5	"	4	1	8	3		
		5	0.0001	5	"	1	1	4	4	50	
超 聲 波 上 清 菌 苗	10 分	5	0.1	5	"	4	1	10	1	91.1	0.002512
		5	0.01	5	"	4	1	6	2	75.1	
		5	0.001	4	"	2	2	2	4	33.3	
		5	0.0001	5	"	0	5	0	9	0	
	20 分	5	0.1	5	"	3	2	8	2	80	0.006637
		5	0.01	5	"	3	2	5	4	55.6	
		5	0.001	5	"	2	3	2	7	22.2	
		5	0.0001	5	"	0	5	0	12	0	
	30 分	5	0.1	5	"	4	1	9	1	90	0.003162
		5	0.01	4	"	2	2	5	3	62.6	
		5	0.001	4	"	2	2	3	5	37.4	
		5	0.0001	5	"	4	1	1	9	10	
45 分	5	0.1	5	"	4	1	10	1	91.1	0.002679	
	5	0.01	5	"	3	2	6	3	66.8		
	5	0.001	5	"	3	2	3	5	37.4		
	5	0.0001	4	"	0	4	0	9	0		
60 分	5	0.1	4	"	3	1	11	1	91.8	0.0006456	
	5	0.01	4	"	3	1	8	2	80		
	5	0.001	5	"	3	2	5	4	55.6		
	5	0.0001	5	"	2	3	2	6	25		
活菌對照			5	0.1	0	5	0	14	0	0.0006825	
			5	0.01	0	5	0	9	0		
			5	0.001	8	2	3	4	42.8		
			5	0.0001	3	2	6	2	75		

根據表 19，在感染量約 5 A. L. D. 的情況下各超聲波乙型副傷寒上清菌苗的保護力均不及對照的福馬林菌苗和超聲波 60 分菌苗，顯然，超聲波乙型副傷寒上清菌苗在毒性上雖較福馬林菌苗弱一些，然而在保護能力上却不及福馬林菌苗，超聲波照射 60 分以內的上清菌苗均認為不佳。

以上傷寒，甲、乙型副傷寒菌試製的超聲波上清菌苗，同一般福馬林菌苗進行了免疫學及血清學等試驗，比較其結果彙總於表 20。

表 20. 甲型副傷寒超聲波上清菌苗的實驗結果

實驗項目		pH	粘稠度	混濁度	凝集性	毒性 (老克)	防護力 (毫克)
傷寒菌苗	福馬林菌苗	6.115	1.70	20.0	vi 800 × O 10 × (-)	10.8	0.32125
	超聲波上清菌苗10分	6.085	1.56	30.9	vi 800 × O 10 × (-)	9.25	0.003325
	超聲波上清菌苗20分	5.995	1.51	32.6	vi 800 × O 10 × (-)	"	0.00205
	超聲波上清菌苗30分	5.999	1.50	33.4	vi 400 × O 10 × (-)	"	0.00735
	" 45 "	5.900	1.50	36.2	vi 400 × O 10 × (-)	"	0.00888
	" 60 "	5.915	1.45	39.1	vi 200 × O 10 × (-)	"	0.005247
甲型副傷寒菌苗	福馬林菌苗	6.050	1.70	20.0	OH 3200 ×	9.02	0.5
	超聲波上清菌苗10分	5.570	1.50	28.7	OH 3200 ×	21.83	0.5
	超聲波上清菌苗20分	5.465	1.51	33.4	OH 1600 ×	79.02	0.08435
	超聲波上清菌苗30分	5.450	1.50	39.5	OH 800 ×	17.27	0.1990
	超聲波上清菌苗45分	5.425	1.25	41.6	OH 400 ×	20.39	0.2349
	超聲波上清菌苗60分	5.435	1.15	41.6	OH 200 ×	14.52	0.1
乙型副傷寒菌苗	福馬林菌苗	5.825	1.70	20.0	OH 400 ×	1.6	0.0025
	超聲波上清菌苗10分	5.440	1.50	20.9	OH 400 ×	1.93	0.0025
	超聲波上清菌苗20分	5.300	1.30	24.2	OH 400 ×	4.0	0.0628
	超聲波上清菌苗30分	5.285	1.40	26.2	OH 200 ×	5.93	0.07875
	超聲波上清菌苗45分	5.265	1.50	28.4	OH 100 ×	6.33	0.08676
	超聲波上清菌苗60分	5.190	1.70	32.8	OH 100 ×	2.91	0.01706

由表 20 中可以看出，傷寒、甲乙二型副傷寒菌經超聲波曝射後的 pH 變化情況大體相同，但副傷寒菌較一般傷寒菌受氧化較強，粘稠度的變化，傷寒與乙型副傷寒菌略相似，但甲型副傷寒菌較前二者較減低。各菌苗的被凝集性與超聲波曝射時間成反比，根據本試驗的結果初步認為各菌苗的凝集性是受超聲波影響的，在觀察超聲波曝射菌液的凝集反應時，判定結果較難，所以不能武斷的認為失去凝集性。

在毒性試驗時，為解決過去以原菌液量為基礎的實驗方法之不合理，乃以各菌苗的總氣量為基礎，經等量注射後，大體上可得出認為一致的結果，對照傷寒菌苗和超聲波傷寒上清菌苗的毒性是沒有多大差別的，甲及乙型副傷寒菌苗較對照菌苗的毒性為低，傷寒菌苗較甲及乙型副傷寒菌苗在毒性減少百分率上較少，關於這點著者認為是否與 vi 抗原受超聲波的影響較小的緣故有關。

本表所表示的保護力是指從實際實驗的結果求出平均免疫量後，再以能耐過 100 A. L. D. 之免疫量作為該菌苗的保護力。超聲波傷寒上清菌苗較對照菌苗為優，特別是曝射 20 分的菌苗較對照菌苗具有 10 倍以上的效力。超聲波曝射 30 分的甲型副傷寒上清菌苗較對照有 2.5 倍的效力，超聲波乙型副傷寒上清菌苗在效力上較對照菌苗為低。

由於以上事實認為傷寒及甲型副傷寒菌製備上清菌苗之可能性很大，而乙型副傷寒菌尚須進一步的研究。

## 超聲波菌苗的研究

### Ⅶ. 傷寒, 甲、乙型副傷寒及霍亂四種混合菌苗

#### (二)、傷寒與霍亂混合菌苗的實驗成績

山內豐紀 崔錦家 劉樹茂 閻世德

#### 一、緒 論

著者等在第六次報告中介紹了利用傷寒, 甲及乙型副傷寒菌制成的單獨超聲波上清菌苗, 根據血清學及免疫學檢查的結果, 認為傷寒上清菌苗及甲型副傷寒上清菌苗較好, 同時認為乙型副傷寒上清菌苗今後尚須加以研究。本實驗根據前記試驗的結果制成傷寒上清與霍亂上清混合菌苗, 探討免疫學及血清學上的効价其實驗結果如下。

#### 二、實驗材料及方法

實驗材料係取第三次報告中介紹的超聲波霍亂上清菌苗及第六次報告中介紹的超聲波曝射20分鐘的傷寒上清菌苗。兩種菌苗的比例均以總氮量換算成菌量後混合, 霍亂原型菌使含相當於15億 ( $N_1=0.0375$  毫克/毫升), 異型菌15億 ( $N_2=0.0375$  毫克/毫升) 及傷寒 Watson 51株 5億 ( $N_3=0.01125$  毫克/毫升) 的菌體成分, 即相當原型菌 0.75 毫克異型菌 0.75 毫克, Watson 51株 0.25 毫克菌量之混合比例, 即於 1 毫升中含有的總氮量為 0.08625 毫克相當於 1.75 毫克菌量之菌苗。

在制備上述菌苗時, 又以同一菌液制就的福馬林菌苗為對照, 此菌苗亦按上法各按總氮量換算成菌量後再混合。

此外還以單价超聲波霍亂上清菌苗及福馬林菌苗作對照, 此單价菌苗的含量與混合菌苗的含菌量相等, 即霍亂菌苗 1.5 毫克 (稻葉株及小川株各 0.75 毫克), 傷寒菌苗相當 0.25 毫克菌量。

實驗方法: 檢查各菌苗的抗體產生試驗, 毒性試驗及保護力試驗。抗體產生試驗本應使用家兔, 但由於供應上有問題故改用豚鼠。免疫方法係經皮下免疫三次, 每次間隔 5 日劑量為: 第一次 0.2 毫升, 第二次 0.5 毫升, 第三次 0.5 毫升, 每組用體重 300—350 克之豚鼠 5 只, 採血時間分免疫前, 免疫後 5 日, 10 日, 15 日及 30 日, 每只豚鼠心臟採血 3 毫升, 分離出血清, 再將每五只豚鼠的血清等量混合, 比較其凝集反應及中和試驗効价。保護力試驗用 12 克的小白鼠, 將各菌苗皮下注射 0.2 毫升, 於第八日感染, 感染量傷寒菌為 10—8 A.L.D., 霍亂菌原、異型株均為 4—2 A.L.D. 毒性實驗係檢查家兔白血球的消長情形。

## 三、實驗結果

## 甲、凝集素產生試驗

凝集素產生試驗結果如表 1。

表 1 甲 凝集素產生試驗

免 疫 清 血	抗 原 血清稀釋 探血日期 倍 數	異 型 菌						異 型 菌							
		一	二	四	八	一 六	三 二	六 四	一	二	四	八	一 六	三 二	六 五
		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
二種混合對照菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5 日	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	免 疫 後 10 日	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	免 疫 後 15 日	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 30 日	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
單價對照菌苗	免 疫 前	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5 日	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	免 疫 後 10 日	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	免 疫 後 15 日	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 30 日	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
二種混合超聲波菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5 日	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	免 疫 後 10 日	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 15 日	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	免 疫 後 30 日	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
單價超聲波菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5 日	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	免 疫 後 10 日	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 15 日	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 30 日	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-

凝集素產生消長情況如表 1 所示。混合菌苗及單價菌苗之間及福馬林菌苗與超聲波菌苗之間，均可認為無大差別，但是，福馬林菌苗 vi 抗體却較超聲波菌苗高 1 倍；與此相反，O 抗體之產生前者為 160 倍，而後者却為 320 倍。霍亂抗原的抗體產生原型與異型之間大致相同，對照的單價菌苗較其它菌苗為低。

表1乙 凝集素產生試驗

抗原	原型菌 (Jaaba)							異型菌 (Ogawa)						
	五	二	二	四	八	一六	三二	五	一	二	四	八	一六	三二
血清凝集倍數	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
採血日期	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
免疫血清														
二種混合對照菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 10日	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 15日	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 30日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
單獨對照菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 10日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 15日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 30日	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
二種混合超聲波菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5日	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	免 疫 後 10日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 15日	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 30日	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
單獨超聲波菌苗	免 疫 前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	免 疫 後 5日	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	免 疫 後 10日	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 15日	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	免 疫 後 30日	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-

乙、毒性試驗 (家兔白血球的消長)

只進行了福馬林菌苗、超聲波菌苗及混合菌苗的試驗，用體重2公斤的家兔每組3隻，免疫量為0.5毫升及1毫升，間隔5日，由耳靜脈注射，於注射後10分，20分，30分，60分，3小時，5小時，8小時及24小時由耳靜脈採血，檢查白血球數的消長情況，藉以了解菌苗的毒性，其結果如表2。表中數值係指各組家兔的平均值。

表2中將注射前的白血球平均數作為100，注射後白血球的變化情況以百分比來表示，對照菌苗第一次注射後的最初階段成不規則的減少，其最高值為188%，雖經48小時亦未恢復原來狀態。超聲波菌苗的白血球減低情況與對照菌苗相同，其最低值為40%，自20分以後逐漸上升，最高值為139%，24小時恢復原狀。此兩種菌苗所構成的消

表 2. 免疫家兔白血球的消長

		採 血 時 間		注 射 前	十 分 鐘 後	二 十 分 鐘 後	三 十 分 鐘 後	六 十 分 鐘 後	三 小 時 後	五 小 時 後	八 小 時 後	二 十 四 小 時 後	四 十 八 小 時 後
對 照 菌 苗	第 一 次 免 疫	混 合	100	72	98	56	42	94	188	168	175	158	
		單 菌	傷 寒	100	64	56	78	102	124	167	124	117	97
			霍 亂	100	40	72	42	38	68	127	176	182	140
	第 二 次 免 疫	混 合	100	64	60	42	18	41	166	184	168	149	
		單 菌	傷 寒	100	52	42	38	140	176	142	138	122	114
			霍 亂	100	32	48	92	126	187	162	150	130	120
超 聲 波 上 清 菌 苗	第 一 次 免 疫	混 合	100	40	71	82	137	139	103	124	93	98	
		單 菌	傷 寒	100	60	48	92	124	173	146	122	98	104
			霍 亂	100	52	68	84	116	142	112	92	108	96
	第 二 次 免 疫	混 合	100	46	53	72	104	132	133	95	97	107	
		單 菌	傷 寒	100	56	42	96	114	134	169	138	120	92
			霍 亂	100	50	68	52	130	161	130	86	98	108

長曲綫與單價菌苗的曲綫沒有多大出入，總的看來超聲波上清菌苗的變動較小。

對照菌苗第二次免疫時曲綫變化幅度較第一次免疫時更大，而超聲波菌苗的變化與第一次免疫時很相近。第一次第二次免疫後白血球之變動與單價之間沒有顯著的差別，同時對照菌苗與超聲波菌苗之間亦無大出入。

### 丙、保護力試驗

取體重 12 克之健康小白鼠 150 隻分為兩組；即分為對照菌苗組與超聲波上清菌苗組。注射量係以總菌量為基礎按原菌量的濃度稀釋成 10 倍，皮下注射 0.25 毫升，即該菌苗中含傷寒菌 0.025 毫克 霍亂菌 0.25 毫克（稻葉及小川株各 0.125 毫克）。免疫後第 8 日將小白鼠又分為若干小組進行感染。以 5% mucin 最大感染量法檢定，其結果如表 3。

根據表 3 可知：（1）兩組傷寒菌的保護力絕對值：對照菌苗組為 2160LD<sub>50</sub>，超聲波上清菌苗組為 4600LD<sub>50</sub>，（2）霍亂原型菌感染時，對照菌苗組為 12.6LD<sub>50</sub>，超聲波對照菌苗組為 132.8LD<sub>50</sub>，（3）霍亂異型菌感染時，對照菌苗組為 560LD<sub>50</sub>，而超聲波上清菌苗組為 180LD<sub>50</sub>。從供試超聲波上清菌苗的効力上來看，傷寒及霍亂原型菌苗較對照菌苗為優，而霍亂異型則較差，故霍亂異型的研究工作今後應加以改進。

### 丁、中和試驗

用毒性試驗時的家兔血清進行中和試驗（抗菌性試驗），本血清係以 0.5 毫升及 1.0 毫升菌苗兩次免疫後的家兔血清，只檢定對傷寒菌的抗菌性，感染菌為 Watson 51

表 3. 保護力試験成績

抗 原	實 驗 內 容 感 染 菌	免 疫		感 染		結 果				LD <sub>50</sub>	
		小 鼠 隻 數	免 疫 量	小 白 鼠 隻 數	感 染 量	生 存	死 亡	Reed氏換算			
								生	死		生%
對 照 苗	傷 寒 菌 Watson 51 株	5	原菌苗10管	3	50×	0	3	0	12		28840×
		5	稀釋後注	4	500×	0	4	0	9	0	
		5	射0.25毫升	4	5000×	1	3	1	5	16.6	
		5	"	4	50000×	2	2	3	2	60	
	霍 亂 菌 (稻葉株) No. 365	5		3	5×	0	3	0	9	0	889.2×
		5		3	50×	1	2	1	6	15.2	
		5		4	500×	2	2	3	4	42.7	
		5	"	4	5000×	2	2	5	2	71.6	
	異 型 霍 亂 菌 No. 267	5		3	5×	0	3	0	7	0	33.87×
		5		4	50×	2	2	2	4	60	
		5		4	500×	3	1	5	2	87.5	
		5	"	4	5000×	3	1	8	1	91.1	
超 聲 波 上 清 菌 苗	傷 寒 菌 Watson 51 株	5		4	50×	1	3	0	13	0	13680×
		5		5	500×	1	4	2	10	16.6	
		5		5	5000×	1	4	3	6	33.3	
		5	"	4	50000×	2	2	5	2	71.5	
	霍 亂 菌 (稻葉株) No. 365	5		3	5×	0	3	0	6	0	84.92×
		5		4	50×	2	2	2	3	40	
		5		4	500×	3	1	5	1	83.2	
		5	"	4	0500×	4	0	9	0	100	
	異 型 霍 亂 菌 (小川株) No. 267	5		3	5×	0	3	0	6	0	106.9×
		5		4	50×	1	3	1	3	25	
		5		4	500×	4	0	5	0	100	
		5	"	4	5000×	4	0	9	0		
活 菌 對 照	傷 寒 菌 Watson 51 株			5	500×	0	5	0	20		156300×
				5	5000×	0	5	0	15		
				5	50000×	0	5	0	20	0	
			"	5	500000×	1	4	1	5	16.6	
	霍 亂 菌 (稻葉株) No. 365			5	5×	0	5	0	12	0	291.2×
				5	50×	0	5	0	7	0	
				5	500×	4	1	4	2	66.8	
			"	5	5000×	4	1	8	1	83.4	
	異 型 霍 亂 菌 (小川株) No. 267			5	5×	0	5	0	12		500×
				5	50×	1	4	1	7		
				5	500×	2	3	3	3	50	
			"	5	5000×	5	0	8	0		



株，其結果如表 4。

表 4 傷寒菌抗菌試驗

菌 苗	小白鼠隻數及血清量			結 果					
	小白鼠 隻 數	感 染 菌 量 (毫克)	血 清 量 (毫升)	生 存	死 亡	Reed 式換算			LD <sub>50</sub>
						生	死	生%	
對 照 菌 苗	5	0.03	0.05	5	0	21			0.003875 毫升
	5	"	0.025	5	0	16	0		
	5	"	0.0125	5		11	0	100	
	5	"	0.00625	4	1	6	1	85.7	
	5	"	0.003125	2	3	2	4	33.3	
	5	"	0.0015625	0	5	0	9		
超 聲 波 上 清 菌 苗	5	0.03	0.05	4	0	27	0		>0.001025 毫升
	5	"	0.025	5	0	23	0		
	5	"	0.0125	5	0	18	0	100	
	5	"	0.00625	1	1	13	1	82.8	
	5	"	0.003125	4	1	9	2	81.8	
	5	"	0.0015625	5	0	5	2	71.5	
活 菌 對 照	5	0.03		1	4	1	6	14.3	0.01597 毫克
	5	0.008		3	2	4	2	66.6	
	5	0.0008		5	0	9	0	100	
	5	0.00008		5	0	14	0		
	5	0.000008		4	0	18	0		

表 4 證明；對照菌苗的免疫血清 0.003875 毫升能中和 2 M. L. D 傷寒菌，並不致死小白鼠，而超聲波上清菌苗免疫家兔血清僅用不到 0.001025 毫升就能中和 2 M. L. D 傷寒菌且使小白鼠活存。對照菌苗免疫家兔血清 1 毫升能中和 516A. L. D.，超聲波上清菌苗免疫家兔血清 1 毫升却能中和 1950A. L. D.，根據以上結果僅以中和 V 型傷寒菌為例，認為上清菌苗沒有喪失 vi 抗原，能使機體產生保護力，但在機體內所產生的保護性物質，在量上較對照菌苗亦無遜色。

#### 戊、實驗總結

著者等試製的超聲波傷寒，霍亂二聯上清菌苗的初步實驗結果如下：

以總氮量為基礎，按中央檢定所採用菌苗濃度的總氮量為標準，製成超聲波傷寒、霍亂上清菌苗，傷寒菌數為 5 億 ( $N_5=0.01125$  毫克)，霍亂菌為 30 億 ( $N_5=0.075$  毫克) 所用之福馬林對照菌苗亦按此比例混合，兩種菌苗的總氮含量均為 0.08625 毫克/毫升。

以上述試製菌苗及對照菌苗，用豚鼠及小白鼠進行了毒性試驗，抗體產生試驗、保

護力試驗及中和試驗（抗菌性試驗）的比較。

二種混合及單獨對照菌苗在豚鼠體內凝集素產生情況；vi 凝集價最高為  $320 \times 0$  凝集價為  $160 \times$  而二種混合超聲波菌苗，在豚鼠體內產生 vi 凝集素的能力較高，單獨超聲波傷寒菌苗則不如混合者，但是，0 凝集價却上升。

二種混合對照菌苗與二種混合超聲波菌苗在霍亂凝集素產生上是相同，但出現時間稍有不同；超聲波者出現晚消失較早。然而，單獨超聲波菌苗較單獨對照菌苗，凝集價表現得又稍高，但出入是不大的。

毒性試驗時，在白血球的變動上超聲波菌苗較小，並且恢復時間也較對照為早。對照菌苗在第一次免疫時，其最高最低之差為 150，而超聲波菌苗為 100，第二次免疫後對照菌苗為 165，超聲波菌苗則為 110，著者等認為用超聲波菌苗免疫動物時，其白血球的變動較小。

保護力：對照菌苗 1 毫升所含的對傷寒菌的保護絕對值為  $2160LD_{50}$ ，霍亂原型菌為  $12.6LD_{50}$ ，對霍亂異型菌為  $560LD_{50}$ ，超聲波菌苗對傷寒菌的保護絕對值為  $4600LD_{50}$ ，對霍亂原型菌為  $132.8LD_{50}$ ，霍亂異型菌為  $180LD_{50}$ 。如果從保護絕對值上來看，認為超聲波菌苗的保護力較對照菌苗之保護力，如傷寒菌時為 2 倍，霍亂原型菌時約為 20 倍，而霍亂異型菌時，其保護力僅為對照菌苗的  $\frac{1}{3}$ 。

免疫血清的抗菌性試驗（傷寒菌中和試驗），對照菌苗免疫血清的  $LD_{50}$  中和力為 0.003875 毫升，超聲波菌苗的  $LD_{50}$  中和力  $> 0.001025$  毫升。對照菌苗的免疫血清，1 毫升所能中和傷寒菌的量為 516 致死量，而超聲菌苗却能中和 1950 致死量，較對照菌苗約高 3.7 倍。

根據以上的實驗結果可總結如下：

1. 傷寒、霍亂二聯超聲波上清菌苗的毒性，抗體產生能力及保護力，除霍亂異型菌外，均較一般福馬林菌苗為佳。
2. 超聲波菌苗免疫的家兔血清中所含對傷寒菌的中和力，較對照菌為強。
3. 在本試驗範圍內，兩種菌苗凝集素的消長，沒有顯著差別，單獨菌苗與混合菌苗之間也無明顯差別。

以上三點由本試驗已判明，認為超聲波傷寒及霍亂菌苗較一般福馬林菌苗具有同樣或稍好的效果。但是，這僅是一次試驗，尚待今後反覆試驗後，才能確認其成績。

## 超聲波菌苗的實驗

### Ⅷ. 不同溶媒的超聲波霍亂菌苗的抗原性

山內豐紀 崔錦家 劉樹茂 閻世德

#### 前 言:

作者等從前試制的超聲波霍亂菌苗是用生理鹽水做溶媒，然後再經過超聲波的曝射，破壞菌膜。本實驗考慮到將鹽水改為蒸餾水，由於滲透壓的關係，更能提高超聲波對霍亂菌的破壞作用，所以用蒸餾水當做溶媒，試制出一批超聲波霍亂菌苗，並比較與鹽水溶媒之間，在抗原性上有那些差別。今將實驗內容介紹如下，希學者們加以指正。

#### 實驗方法:

培養基為 pH7.8 的普通瓊脂，分別接種 #365 (Inaba 株) #267 (Ogawa 株) 後，放於 37°C 解箱中培育 18 小時，刮取菌苔秤其重量，分兩份，分別以滅菌蒸餾水及鹽水按 200 毫克/毫升之濕菌量，制備懸液，取 200 毫升懸液分注於大試管中以 560K. C. 超聲波震碎，時間 Inaba 株及 Ogawa 株均為 30 分。

震碎後加佛馬林使其最終濃度為 0.4%，然後放於 37°C 解箱中處理 48 小時及 7 天，測定總氮含量，制成超聲波上消菌苗超聲波全液菌苗，菌苗濃度按細菌科制之霍亂菌苗之總氮含量為標準，將超聲波菌苗換算成含菌量，從而進行毒性試驗，感染防禦試驗，抗菌試驗及家兔抗體產生試驗。

#### 1. 小白鼠毒性試驗

取體重 14—18 克的小白鼠，腹腔注射相當於 50 毫克、25 毫克、12.5 毫克、6.25 毫克濕菌量的各種菌苗，共觀察 7 天，以 LD50 求出各菌苗之最小致死量。

保護力試驗採用了最小免疫量檢定及最大感染量檢定兩種方法。最小免疫量檢定法是用體重 12 克左右的小白鼠，腹腔注射相當於 0.5 毫克、0.1 毫克、0.02 毫克、0.04 毫克菌量的菌苗，於第八日腹腔感染 G.A.I.D. 活菌（含於 5% 粘液索中），觀察 3 天，以 LD50 計算其最小免疫量。最大感染量測定法，係將菌苗稀釋成相當於 2 毫克/毫升濕菌濃度，再以鹽水稀釋 1 倍，取具 0.5 毫升（注射菌量為 0.5 毫克）注射小白鼠的腹腔內，待第 8 日以懸於 5% 粘液索稀釋的活菌感染，觀察 3 日，以 LD50 計算求出最大感染防禦量，再計算該菌苗的保護力絕對值。

在試驗當時，供試小白鼠中存在着腸炎和鼠傷寒保菌鼠，因而容易錯認為由於感染菌而致死，故以解剖經培養出相應的霍亂菌後，方算為致死，否則應從實驗例數中除去。

抗菌試驗係以各菌苗免疫家兔血清，加入一定量的生菌後，通過小鼠腹腔注射觀察生死情況，藉以測知血清中所含殺菌素的含量。

## 2. 抗體產生試驗

各菌苗按一定量分別免疫 2 隻體重為 2 公斤左右的家兔後，經過一定日期採血，取血清檢查 O 及 OH 抗體的含量，補體結合物質及溶菌素產生情況。

## 實驗成績

### 1. 小白鼠毒性試驗成績

如表 1 所示

由以上結果，證明在 37°C 處理 48 小時的全液菌苗比上清菌苗毒性較低。但在 37°C 處理 7 天的上清菌苗又比處理 48 小時的上清菌苗在毒性上又有此減弱，然而全液菌苗反而有些上升，特別蒸溜水為溶媒的菌苗表現得比較突出，關於這點著者還沒有找到解釋這種現象的理論，尚需通過多次實驗來研究。

一般情況下，佛馬林菌苗對體重 15—16 克的小白鼠的毒性，約在 8—10 毫克左右，在本實驗中除超聲波蒸溜水全液菌苗外，蒸溜水及鹽水溶媒超聲波菌苗的毒性，均表現得較低，特別是經過 37°C 處理 48 小時的全液菌苗更明顯，上清菌苗比佛馬林菌苗也稍低一些。

### 2. 保護力試驗

#### a. 最小免疫量測定法成績。

如表 2 所示

表 2. 最小免疫量試驗成績

菌苗種類	Inaba 感染時 LD50	Ogawa 感染時 LU50
超聲波鹽水上清菌苗	0.1 毫克 (商量)	0.00969 毫克 (商量)
超聲波鹽水全液菌苗	0.1908 毫克 "	0.1 毫克 "
超聲波蒸溜水上清液菌苗	0.02 毫克 "	0.1191 毫克 "
超聲波蒸溜水全液液菌苗	0.02 毫克 "	0.03972 毫克 "
對 照 菌 苗	0.04472 毫克 "	0.006177 毫克 "

是鹽水上清菌苗比其他幾種菌苗稍微好一點而已，但還不及對照菌苗。

37°C 處理 7 天者，其感染結果如下，但因本次試驗所使用的小白鼠體重為 17—18 克，故將感染菌量提高到 10—100 M.L.D.，其結果由於感染量稍大，雖 Inaba 勉強可以看出成績，而 Ogawa 却得不到明顯的成績。

根據以上的成績，認為如果應用體重較大的小白鼠，必須在免疫量之間，再加以適當放寬，否則不能得到明顯的成績。

Inaba 感染時，除對照菌苗外其他菌苗，免疫量在 0.03125 毫克反而不能致死小白鼠，却在免疫量較大的小白鼠中出現大量的死亡。如果勉強按 LD50 比較其生存率時，

表 1. 毒性試驗成績

菌苗種類	37°C 處理 48 小時 LD50	37°C 的處理 7 天的 LD50
超聲波鹽水上清菌苗	11.46 毫克	> 16.85 毫克
超聲波鹽水全液菌苗	32.04 毫克	24.12 毫克
超聲波蒸溜水上清菌苗	> 16.2 毫克	> 19.10 毫克
超聲波蒸溜水全液菌苗	28.08 毫克	10.34 毫克

可排列為蒸溜水全液菌苗、蒸溜水上清菌苗、鹽水上清菌苗、鹽水全液菌苗之順序，而對照菌苗的平均免疫量為 0.09588 毫克，約為供試驗菌苗效價的  $\frac{1}{3}$ 。

Ogawa 感染時，菌苗的生存率均在 50% 以上，說明免疫量需在 0.03125 毫克以下才能測出，如以最小免疫量的生存率來比較，可以排列成：對照菌苗，鹽水上清菌苗，蒸溜水全液菌苗（蒸溜水上清菌苗）及鹽水全液菌苗之順序。

由於以上的實驗結果，著者初步認為在保護力試驗上，蒸溜水為溶媒的超聲波菌苗的效果超過鹽水溶媒的超聲波菌苗（但 Ogawa 尚須再研究）

b, 以 5% 粘液素為稀釋液的最大感染量試驗的成績

37°C 處理 48 小時的菌苗檢定結果如表 3

表 3. 最大感染量試驗成績

(37°C 處理 48 小時)

菌 苗 種 類	Inaba 感染		Ogawa 感染	
	LD50	保護力	LD50	保護力
超聲波 鹽水上清菌苗	42,070 ×	≈ 60	390,800 ×	≈ 80
超聲波 鹽水全液菌苗	544,500 ×	≈ 4.5	15,700 ×	≈ 1,720
超聲波 蒸溜水上清菌苗	92,230 ×	≈ 40	34,510 ×	≈ 784
超聲波 蒸溜水全液菌苗	68,230 ×	≈ 35	1,786 ×	≈ 15,364
對 照 菌 苗	< 8,230 ×	≈ 36	5,164 ×	≈ 3,236

以總量為基礎，將各菌苗均按細菌科制霍亂菌苗的菌量稀釋成 2 毫克/毫升，免疫小白鼠，感染後計算並比較其 1 毫升中所含的保護力絕對值。

對照菌苗 Inaba 感染時，其保護力絕對值為 5336，鹽水上清菌苗為 80 (約  $\frac{1}{65}$ )，鹽水全液菌苗為 1720 (約  $\frac{1}{3}$ )，蒸溜水上清菌苗 784 (約  $\frac{1}{6}$ )，蒸溜水全液菌苗 15364，較對照菌苗優越 3 倍。

根據本檢定法檢定結果，Inaba 感染時鹽水上清菌苗，Ogawa 感染時蒸溜水全液菌苗，均比對照菌苗要好一點。

37°C 處理 7 天的菌苗檢定結果如表 4

比較各菌苗間 1.0 毫升中所含有的絕對保護值時，對照菌苗組 Inaba 感染下其保護力絕對值為 4,000，而鹽水上清菌苗組為 400 ( $\frac{1}{10}$ )，鹽水全液菌苗組及蒸溜水上清菌苗組均約為 840 ( $\frac{1}{5}$ )，蒸溜水全液菌苗組為 240 (約  $\frac{1}{16}$ )，由以上成績可知道供試菌苗的效果是不如對照菌苗的。

對照菌苗組在 Ogawa 感染時，其絕對保護值為 126,984，鹽水上清菌苗組鹽水全液菌苗組、蒸溜水上清菌苗組及混合菌苗組均有 400,000 以上保護力絕對值。故在本試驗中，可以認為供試菌苗組的保護力比對照菌苗組的保護力能高二倍多。

綜上所述，37°C 處理 7 天者，Inaba 感染時全部都表現得不好，而 Ogawa 感染

以總量為基礎，將各菌苗均按細菌科制霍亂菌苗的菌量稀釋成 2 毫克/毫升，免疫小白鼠，感染後計算並比較其 1 毫升中所含的保護力絕對值。

對照菌苗 Inaba 感染時，其保護力絕對值為 5336，鹽水上清菌苗為 80，蒸溜水上清菌苗為 40，同對照菌苗比較時能高 0.1—0.7 倍。蒸溜

表 4. 最大感染量試驗成績

(37°C 處理 7 日)

菌 苗 種 類	Inaba 感染		Ogawa 感染	
	LD50	保護力	LD50	保護力
超聲波 鹽水上清菌苗	1,000 ×	400	300 ×	400,000
超聲波 鹽水全液菌苗	478.6 ×	840	100 ×	400,000
超聲波 蒸溜水上清菌苗	479.7 ×	840	> 100 ×	> 400,000
超聲波 蒸溜水全液菌苗	1671 ×	240	> 100 ×	> 400,000
對 照 菌 苗	100 ×	4,000	315 ×	126,984

時其效果比較好。

### 3. 家兔抗體產生試驗

各菌苗經免疫家兔後取血清，通過凝集反應，補體結合反應，溶菌現象等檢查後認為除 37°C 處理 7 天的超聲波菌苗組 Ogawa 的 O 凝集素較其他菌苗組產生得較高外，各菌苗之間沒有顯著的差別。

抗菌試驗因當時供試的小白鼠有 96% 患腸炎症，以致無法判定成績，故暫停進行試驗，待以後補試。

綜合以上的結果，如以保護力為重點時，認為 37°C 處理 48 小時的蒸餾水溶媒 Inaba 株超聲波菌苗及 37°C 處理 7 天的蒸餾水溶媒 Ogawa 株超聲波菌苗為最佳，將上述的兩種菌苗原液混合後製成超聲波蒸餾水全液菌苗，同超聲波鹽水上清菌苗，細菌科的對照菌苗比較保護力，各菌苗的濃度均以細菌科制的對照菌苗的總氮量為標準  $N_2 = 0.074$  毫克/毫升（相當 2 毫克/毫升菌量）。

小白鼠體重本應用 10—12 克者，但當時因某種原因，而用體重 18 克左右的小白鼠，此小白鼠對霍亂菌的感受性僅為 10—12 克小白鼠的  $\frac{1}{4}$ 。

將各菌苗之二倍稀釋液腹腔注射 0.5 毫升，於免疫後第 10 日感染活菌，觀察生死情況，其結果如表 5。

蒸餾水全液菌苗免疫組在 9—10 A.L.D. 強毒菌 Inaba 及 Ogawa 感染下，Inaba 感染後生存率為 62.4%，Ogawa 感染後生存率為 69.4%。鹽水上清菌苗免疫組 Inaba 感染時生存率為 76.2%，Ogawa 為 57.1% 對照菌苗組勿論 Inaba 或者 Ogawa 感染其生存率均為 30%。

由表 5 可以看出三種菌苗的生存率確有不同，並說明生存率之間在數字上有明顯的差別，如果我們再進一步探討一下供試菌苗的生存率與對照菌苗生存率之間究竟有否差別呢？由統計學證明蒸餾水全液超聲波菌苗 Inaba 感染時  $X^2$  為 3.86，Ogawa 為 5.00。鹽水上清菌苗 Inaba 感染  $X^2$  為 7.31，Ogawa 為 2.06，在 5% 危險率的情況下檢查各菌苗組生存率的差別時，著者等認為蒸餾水全液菌苗不論在 Inaba 或者 Ogawa 感染下，均比對照菌苗具有顯著的差別。鹽水上清菌苗組 Inaba 感染時能夠看出顯著的有意差，但 Ogawa 感染時却找不出有意差。

上清菌苗組 Ogawa 感染的結果低於對照這一點與其他檢定方法的結果是有出入的。

## 討論及總結

著者等試制了鹽水及蒸餾水兩種溶媒不同的超聲波霍亂菌苗，並與細菌科之霍亂菌苗比較其抗原性。試驗主要以保護力試驗為重點。通過最小免疫量檢定法、最大感染量檢定法及統計學的檢查，證明各菌苗的效力。除此而外又通過家兔檢查了抗體產生試驗，比較各菌苗之凝集素、溶菌素、補體結合性物質等產生的情況。

表 5. 三種菌苗保護力比較試驗

菌 苗 種 類	Inaba 感染生存率	Ogawa 感染生存率
超聲波蒸餾水全液菌苗	62.4%	69.4%
超聲波鹽水上清菌苗	76.2%	57.1%
對 照 菌 苗	30.0%	30.0%

其結果證明雖用同一批菌苗由於檢定方法不同也會不同，甲檢定法雖獲得好的結果，如將同樣菌苗按乙檢定方法檢定時，並不一定會得到同樣好的結果，即最小免疫量檢定法與最大感染量檢定法之間的成績並不一致。關於此點過去的許多學者也有此感，著者目前尚無解釋根據，需通過更多的實驗方能討論。

總結本次實驗成績如下：

1. 爲了提高超聲波對菌體的作用，以蒸餾水作溶媒比用鹽水更容易促進破壞作用。

2. 超聲波蒸餾水菌苗似乎較過去的超聲波鹽水菌苗好。

3. 特別是蒸餾水全液菌苗比上清菌苗的效力大

4. Inaba 株在 0.4% 的佛馬林下 37°C 處理 48 小時，Ogawa 株在 37°C 處理 7 天爲最好。

5. 用 37°C 處理 48 小時的 Inaba 超聲波菌懸液與處理 7 天的 Ogawa 菌懸液製成的超聲波蒸餾水全液菌苗比從前試製的超聲波上清菌苗，經保護力試驗證明效果很好。

## 本所各種菌苗製造之回顧

回顧大連衛生研究所菌苗之製法，迄今已變更數次。茲將其經過與努力改良之情形概述如後，至詳細敘述，請參閱所附之文獻。

### 一、傷寒菌苗

鑑於傷寒罹患率與死亡率之大，傷寒菌苗改良之研究，當然為重要之課題。解放前，日人安東洪次曾在本所進行菌苗改良的研究。

1927—1936年間所製之菌苗，係用石炭酸處理製成並未考慮菌型問題。當時僅以對人體之反應大小及參照日本傳染病研究所之菌量，乃決定為每毫升含 0.2 毫克。迄1934年 Felix(1)氏發見vi 抗原以來，認為vi 抗原對傷寒菌苗有重要之意義，Kauffmann(2) 1935年報告以vi 抗原之有無將傷寒菌分為 V.VW,W三型。自此本所乃注意vi 抗原處理方法問題。大野氏(3)1937年曾以 Watson 16號菌株(由Watson 原株分離之傷寒菌，具有多量之vi 抗原，為安定之V 型菌)用 merzonin(4)(與 merthialate 略同之日本製品)在低溫情況下殺菌，證明對vi 抗原毫不損害，當時遂命名為大野傷寒菌苗。

同時大野氏並檢定市售之傷寒菌苗，證明因製品之不同其抗原性亦不同；即以相同之V 型菌所製之菌苗亦可因製法之不同而異。當年所用之檢定法，為小白鼠最小免疫量之測定(即將菌苗稀釋以不同倍數之菌苗免疫而以同量之感染菌行感染試驗)，其結果如第一表所示：

#### 各廠所製菌苗之平均免疫量(毫克)

1937.1.23.安東氏(5)將大野之實驗結果(用Reed氏計算法計算之)換算如下(第一表)：

第一表

菌苗種類	Watson 16號菌	第 次 菌	兩成融合計
KDK	>0.1	>0.1	>0.1
CS	>0.1	>0.1	>0.1
H.B.K	>0.1	0.1—0.001	>0.1
K.K	0.1—0.01	0.1—0.001	0.1—0.01
D.K	0.01—0.01	0.01—0.001	0.023
衛研之菌苗 衛研V 菌苗 (大野法)	0.01—0.001	0.01—0.001	0.04
Watson 16號活菌苗	0.000032	0.0000032	0.00001
16號活菌苗 感染菌平均致死量	0.000002	0.0000025	0.0000004
感染菌量	<0.025	<0.25	
感染菌量	0.1	0.1	

由第一表可知大野菌苗，一方考慮菌型，一方注意製造方法。該菌苗之效力約為1/100000毫克，遠較市售之商品菌苗及大連衛研菌法所製之菌苗效力為佳，並幾與活菌相等。大野氏曾以此菌苗對萬餘名日本人行預防接種，得知其副作用極微，並有實際應用之可能。為表示菌苗中之抗原量起見，乃擬定抗原單位(所謂1 抗原單位為對小白鼠免疫，一週後接種強毒活菌，可防禦一個致死量之菌苗量。普通菌苗1 毫升中須含1 萬單位以上，方稱合格)。

大野氏(6)又以該菌苗試製治療用



馬血清。所得的免疫血清可達 3400 抗菌單位。Lister 研究所製之 Antityphoid globulin (Fe-lix)，其抗菌價僅達 2600 單位，故可證明大野菌苗之優越性。

關於菌苗持久性之問題，大野菌苗雖經室溫保存 3 個月或冰箱保存 4 個月，其感染防禦力及凝集反應上等等性狀，尚無變化。但過此期間後，則漸漸減弱，經室溫放置六個月，仍有 1000 以上之抗原單位。1936—39 年間所製之菌苗即屬此類。其後，經安東及中村 (7) 研究後，乃將製法又加改良，認為大野菌苗於殺菌法上及持久性上仍有若干之缺點，於是改為福馬林處理法，並加入氯化鈣，而成改良之菌苗。

福馬林處理法對 vi 抗原，並無破壞，且可使之安定，是為優點。已由 Felix (8) 1935, Kauffmann (1935) (2) 1936 (9) 竹中 (10) 1938 諸氏所公認。但僅以福馬林處理，在持久性上仍不充分，於是乃添加氯化鈣，由氯化鈣之作用可以長期保持 vi 抗原。自此創製持久性 vi 抗原之菌苗，得以成功 (第二表)。由本法所製之菌苗經 37°C 保存 9 個月後，vi 抗原仍然存在，並未遭受破壞。

第二表，添加氯化鈣對於菌液之持久性 (菌液 155 號)

菌 液		凝 集 反 應 (1941.9.11)		平均免疫量
批 號	添 加 物	抗 vi 血清 24	抗 血 液 592	(1941.9.15)
155-13	0.1% CaCl <sub>2</sub>	++ + + + - -	+ + + + + + +	0.001
155-14	0.2% "	++ + + + ± -	+ + + + + + +	0.0001
155-15	0.5% "	++ + + + ± -	+ + + + + + +	0.0001
155-16	1% "	++ + + + ± -	+ + + + + ± ± -	0.0001
155-17	無	± - - - - -	++ ++ ++ ++ ++	>0.1
新 鮮	菌 液	++ + + + ± -	- - - - - - -	

由第 2 表可知加氯化鈣之菌液 (155-13) 至 (155-16)，vi 之被凝性及平均免疫量遠較未加氯化鈣者為良好。

岸田 (11) 及平野 (12) 二氏於 1941 首先注意氯化鈣對 vi 抗原之關係，認為氯化鈣在殺菌法上有重要之意義。而安東氏則認為氯化鈣對 vi 抗原之持久性關係至大。安東，中村 (5) (13) 1942 對傷害菌苗效力檢定之方法曾作系統的研究，其中包括在試管內試法如凝集反應及動物實驗法如小白鼠及家兔之試驗。今將其結果略述如下：

甲、小白鼠試驗法，操作簡便，其免疫量用 Reed and muench (14) 1938 之 50% 終末點計算法求得，而實驗方法則為平均免疫量之測定法，與 Felix 及其他英美諸家所行之方法即所謂之最大感染防護量測定法 (免疫量一定，感染菌不同量) 比之，用本法可明確測定不同菌型與不同製法之菌苗中之抗原量，是為特點。

由第三表可知 (1) 最大感染防禦量測定之結果，各種菌苗之間雖有差別，但其微小；反之平均免疫量測定，則有顯著之差別。(2) 用 W 型菌作感染試驗時，V 型 X 型及 W 型菌苗間，並無差別，惟以 V 型菌作感染試驗時，V 及 X 型菌苗效力大，W 型菌苗之抗原力甚小。(3) 用 V 型感染菌之平均免疫量比較觀察時，則 V 型，X 型之 100°C 加熱菌苗及放置於 37°C V 型石炭酸菌苗 (vi 凝集反應皆為陰性者) 較大野 V 型 X 型菌苗為劣，但較 W 型菌為佳。

第三表：各種菌型所製之菌苗，其平均免疫量及最大感染防禦量之比較  
(1940.1.27日免疫，2月3日感染)

菌 苗 種 類	觀察反應	Watson 16號菌株 (A.L.D.=0.24 毫克)		T <sub>4</sub> 菌株 (A.L.D.=0.05 毫克)		Watson 7號菌株 (A.L.D.=0.13 毫克)	
		平均免疫量	最大感染防禦量	平均免疫量	最大感染防禦量	平均免疫量	最大感染防禦量
		× 0.2 毫克 = 8 A.L.D.	× 0.1 毫克	× 0.05 毫克 = 8 A.L.D.	× 0.1 毫克	× 0.4 毫克 = 3.3 A.L.D.	× 0.1 毫克
Watson 16 號菌株菌苗 V 型	卅 - 卅	0.0003	0.6 (25 A.L.D.)	0.01	0.4 (8 A.L.D.)	>0.1	0.3 (24 A.L.D.)
T <sub>4</sub> 菌株菌苗 X 型	卅 - 卅	0.00014	0.5 (21 A.L.D.)	>0.1	<0.2 (4 A.L.D.)	>0.1	<0.2 (1.7 A.L.D.)
Watson 17 號菌株菌苗 W 型	- 卅 卅	>0.1	<0.2 (8.3 A.L.D.)	>0.1	0.27 (5 A.L.D.)	>0.1	0.3 (2.4 A.L.D.)
Watson 16 號菌株菌苗 100°C	- 卅 -	0.022	0.3 (12.5 A.L.D.)		<0.2 (4 A.L.D.)		<0.2 (1.7 A.L.D.)
Watson 16 號菌株(石) 37°C	- 卅 卅	0.0185	<0.2 (8.3 A.L.D.)		0.3 (6 A.L.D.)		0.5 (4 A.L.D.)
T <sub>4</sub> 號菌株菌苗 100°C	- - -	0.05	0.2 (8.3 A.L.D.)		<0.2 (4 A.L.D.)		<0.2 (1.7 A.L.D.)

× 感染量 (毫克及平均致死量數)

※ 免疫量

Watson 16, T<sub>4</sub> 及 Watson 17 菌苗皆為大野法

Watson 16 100°C 及 T<sub>4</sub> 100°C 菌苗為 100°C 2 小時加熱 X 型 (含有廣義 vi 抗原, 缺少 0 抗原) 為安東氏 (15)(1941) 所採用之菌型, 相當於 Raass (16) (17) (1940) 之 A 型。

Felix (18) 1941. 等氏應用小白鼠作感染防禦試驗, 認為並不銳敏, 以 V 型菌及 W 型菌所製之菌苗用小白鼠測定並不能區別其間之抗原性云云。此因試驗方法乃為最大感染防護量之測定所致。

最近 Batson (19) 1949, 亦應用小白鼠作傷寒菌苗效力檢定, 由比較實驗得知平均免疫量測定法較以前之最大感染防護量測定法為佳。

乙, 用平均免疫量測定法所檢定之抗原性與家兔之抗菌性抗體 (感染防禦性抗體) 及 vi 凝集素之產生能力與 vi 凝集性等完全平行。即根據小白鼠平均免疫量試驗, 可以綜合代表其結果。

丙、從前對菌苗中之抗原量, 主以菌數或菌量表示之。然其抗原性由處理方法之不同而異, 且由菌體所分離之有效成份作為菌苗時, 亦有其優越性。由此等之關係始提議菌苗中之抗原量應以抗原單位來表示, 其計算例如四表所示。

由第四表可知 W 型菌苗在 2 單位以下, 因此提議以 2 單位為界限, 於 2 單位以下者, 應即認為不合格。

本所曾用以上之檢定法檢定各種製品, 凡以不同之製法所製之菌苗皆可比較, 今將其互相比較者舉例如第五表

如第五表所示為濱野, 中村 (20) 對五種混合菌苗 (破傷風、霍亂、傷寒, 副傷寒甲乙菌苗) 與四種混合菌苗 (霍亂、傷寒、副傷寒甲乙菌苗) 行免疫量之測定, 五種混合菌苗之抗原性優於四種混合菌苗, 得知其抗原有質的不同, 惟以定量之測定法始可證之。

今本所仍按上述之方法製造, 最近中村 (21) 氏於改良菌苗之研究對各菌株之集落進

第四表：各種菌苗之抗原單位

菌 苗		平均免变量	菌苗毫克能 防禦之平均 致死量數	抗 原 單 位	
號 數	性 狀	(A)	(B)	(C)	(D)
各種菌苗 (平均致死量 = 0.024 毫克感染量 = 0.2 毫克 = 8.3A.L.D.)					
138-1	Watson16號菌苗 (V型)	0.0003	26,000	260	4.4
139	T <sub>4</sub> 號菌苗 (X型)	0.00014	57,000	570	4.8
110	Watson17號菌苗 (W型)	< 0.1	< 80	0.8	< 1.9
94	Watson16號菌苗 100°C	0.022	360	3.6	2.6
130-E	Watson16號 (行) 37°C	0.0185	430	4.3	2.6
93-A	T <sub>4</sub> 100°C 菌苗	0.05	160	1.6	2.2
Watson16號菌株菌苗 (平均致死量 = 0.05 毫克 感染量 = 0.2 毫克)					
501-A	冰室 2 年	0.00003	133,000	1330	5.1
501-B	室溫 2 年	0.006	670	6.6	2.8
501-C	冰室 50 日 37°C 2 年	0.01	400	4	2.6
501-D	冰室 2 年 40°C 37 日	0.01	400	4	2.6
501-E	冰室 2 年 2 月	0.00006	67,000	670	4.8
501-F	冰室 2 年 2 月	0.005	800	8	2.9

$$C = \frac{B}{100}$$

※ < 0.05 的計算成 0.05 所以比實際的抗原單位大

D = B 之常用對數

$$B = \frac{0.2 \text{ (感染劑量)}}{0.024 \text{ 或 } 0.05 \text{ (平均致死量)}} \times \frac{1}{A}$$

第五表：五種及四種混合之菌苗之比較檢定例 (感染菌為傷寒菌)。

實 驗 號 (年 月 日)	菌 苗 種 類	致 死 量 數 (A)	平均免变量 (B) (毫克)	菌苗 100 毫克防 禦之致死量數 (C)	抗 原 單 位 (D)
7 (1951.4.11-4.19)	五種混合 No.1	10	0.0017	5882	3.8
	四種混合 No.1-6	10	0.023	435	2.6
11 (1951.6.8--6.15)	五種混合 No.1	6	0.001	6000	3.8
	四種混合 No.1-6	6	0.023	261	2.4

實驗 7 號之 Ty14 平均致死量 = 0.02 毫克

實驗 11 號之 Ty14 平均致死量 = 0.033 毫克

$$\text{實驗 7 號 } A = \frac{0.2}{0.02} = 10$$

$$\text{實驗 11 號 } A = \frac{0.2}{0.033} = 6$$

$$C = A \times \frac{1}{B}$$

D = C 之常用對數  
感染劑量皆為 0.2 毫克

行系統的檢查，已分離到毒性小，抗原性大，且持久性長之菌株。

關於菌苗改良之研究結局為以檢定方法之研究為基礎，與此有關聯者有菌株菌型變異(22)及處理方法等問題，且有培養條件持久性等重要因子介在其中，最理想之菌苗當然不外為對人之毒性小，抗原性大，持久性長，且大量生產上方法容易幾點。至於預防上

真正之效力，則有賴於預防注射之統計的觀察，以及傷寒免疫學的基本的考察，實為有待將來解決之問題。

## 二、副傷寒甲乙菌苗

1927—1936年間曾用石炭酸處理法製造副傷寒甲乙菌苗，其後改用福馬林殺菌法以迄於今。所用之菌量根據對人體之反應及參考日本傳染病研究所使用之菌量定為每毫升中含 0.1 毫克。其間經濱野(23)1942對副傷寒乙菌苗之研究，曾採用菌體煮沸，取其上清即煮沸抗原作為菌苗（每毫升中含 0.5 毫克煮沸沉澱後之上清所謂Koktigen）。因其毒性較少，且抗原性並不減，但在大量生產上，操作麻煩，並考慮製造混合菌苗時，有氟化鈣等影響，乃改為福馬林處理法。

至副傷寒甲菌苗之改良問題，由濱野(24)之研究以各種不同之方法所製之菌苗經檢定比較之結果認為昇汞菌苗最為良好，但實際應用上仍有若干之困難，因而未能實用。

本菌苗之效力檢定法與傷寒菌苗相同，即以凝集反應，小白鼠平均免疫量測定法等。其中以平均免疫量測定法比較簡單，且對副傷寒甲乙兩菌苗就其質的差異可作“定量的測定”，能明確檢出。

取濱野、中村(20)之檢定例時，則如第六表所示用副傷寒甲及副傷寒乙兩菌作感染試驗。檢定四種混合與五種混合菌苗，證明五種混合菌苗較為優良。

第六表：用副傷寒甲及乙菌為感染菌檢定五種混合菌苗及四種混合菌苗例

實驗數(年月日)	菌苗種類	感染菌	致死量數	平均免疫量	菌苗1毫克所能防禦之致死量數	抗原單位
9 1951.6.6—8.13	5種混合No.1	P.A	2.7	0.0045	600	2.8
	4種混合No.1-6		2.7	0.0071	380	2.6
8 1951.5.15—5.22	5種混合No.1	P.B	16	0.00079	20253	4.3
	4種混合No.1-6		16	0.0021	7919	3.9

P.A.....感染量=0.3毫克，平均致死量=0.11毫克

P.B.....感染量=0.04毫克，平均致死量=0.0025毫克

## 三、霍亂菌苗

自1927—1936年為石炭酸處理之菌苗，其後亦改為福馬林菌苗。所含菌量為原型(稻葉株)及異型(小川株)各1毫克混合之，即1毫升中含2毫克。自1947年為將原液減毒之意，乃放置於37°C 孵箱中一週後，取之置於冷暗處保存之。其檢定方法亦取小白鼠平均免疫量測定法，及對O血清之凝集反應與其他菌苗之檢定法相同。其中平均免疫量測定法為經濱野、孫(25)實驗之後，乃自1947採用施行。本法又為濱野、中村(20)所證實者，即菌苗中有不同質的抗原時，可用定量法而測知之。如第七表所示。

由本表可知5種混合菌苗較4種混合菌苗為佳。Griffitts (26) (27) 1942, 1944 等人亦用小白鼠作感染保護力試驗。由最近之報告可以知之，但其方法多為最大感染防護量之測定法是為不同。

第七表：以霍亂菌感染之檢定五種混合菌苗及四種混合菌苗例：

實驗日 (年月日)	菌苗種類	感染菌型	感染菌量(毫克) (致死量數)	平均免疫量 (毫克)	1毫克菌苗所 防之致死量 數	抗原單位
4 1951.3.14—3.21	五種混合No.1	原 型	0.5 (1.6)	0.00086	186	2.3
	四種混合No.1—5	(稻 葉)	"	0.108	15	1.2
10 1951.6.7—6.14	五種混合M	異(小 川)型	0.6 (3.2)	0.019	109	2.2
	四種混合No.1—6	"	"	0.078	42	1.6

原型(稻葉).....平均致死量=0.33毫克

異型(小川).....平均致死量=0.19毫克

如將現今本所各種菌苗(傷寒, 副傷寒甲乙及霍亂)製造時各個要點總括之則如八表。

第八表：菌種之性狀

菌 種	菌 型	號 數	來 源	使用小白鼠(Reed 1.D <sub>50</sub> )		
				毒力(毫克)	毒性(毫克)	平均免疫量 (毫克)
傷 寒 桿 菌	V VX	Watson 31 Ty14—48	由Watson分離 由 Ty14 分離	0.01	3.1	0.000043
				0.1	8.0	0.000016
副傷寒桿菌甲		7		0.1	5.8	0.008
副傷寒桿菌乙		4		0.001	5.0	0.001
霍 亂 菌	原 型 異 型			0.2	16.0	0.05
				0.15	16.0	0.05

第九表為各種菌苗原液之合格標準, 記載各種實驗成績如合乎此標準或越過者為合格。

第九表：菌苗原液合格標準

試驗類別	菌苗種類			
	傷 寒	副 傷 寒 甲	副 傷 寒 乙	霍 亂
培養檢查	無論好氣性或厭氣性培養 5—7 日皆為陰性			
染色鏡檢	不含有革蘭氏陽性菌(但在遺厚的原液塗染色時, 一般對中混入 3—3 個細菌時, 可與其他試驗對照)。			
菌液之濃度	1 毫升 0.5 毫克稀釋之, 相當於菌苗室製混濁汁 No.5—No.6 之濃度			
pH	5.8—7.5 (普通在 7.0 左右)			
	vi, O, H.	PA	PB	原 異
凝集反應	卅卅(卅)~不定	卅	卅	卅+卅 卅+卅
毒性試驗	>3.0 毫克	>3.0 毫克	>3.0 毫克	>5.0 毫克
平均免疫量	<0.01 毫克	<0.1 毫克	<0.01 毫克	<1.0 毫克

※ 在 100°C 30' 加熱之菌, 用於反應時, 所呈現之結果。除此而外須注意, 臭氣, 色度, 自凝現象, 黏液量及其夾雜物等。

第十表為各種菌株之毒力，菌苗之毒性，測定平均免疫量時，稀釋倍數之選擇方法及感染菌量。

第十表：毒力，毒性在測定平均免疫量時稀釋方法及感染量

菌 種	毒 力 (毫 克)	毒 性 (毫 克)	平 均 免 疫 量 (毫 克)	感 染 量 (毫 克)
傷 寒 菌	0.08—0.003 倍稀釋	2—10倍稀釋	$10^{-1}$ — $10^{-3}$ 10倍稀釋	0.1—0.2
副傷寒甲菌	0.8—0.06 倍稀釋	"	1.0—0.0016 5 倍稀釋	0.4—0.5
副傷寒乙菌	0.03—0.00008 5倍稀釋	"	$10^{-1}$ — $10^{-6}$ 10倍稀釋	0.05
霍 亂 菌	0.8—0.05 倍稀釋	"	2.0—0.0032 5 倍稀釋	0.5—0.6

#### 四、百 日 咳 菌 苗

1927--1940年間為石炭酸菌苗，1毫升中含菌量為0.5毫克。1940年以後，則改用福馬林處理法(23)。1946年為減毒起見乃加0.5%福馬林置於37°C 1週後，置於冷暗處。關於菌量之問題 Sauer (29)，1939倡用大量菌苗接種法，因此乃改為1毫升含4毫克。檢定方法除毒性檢查外，並作凝集反應（第一相菌之家兔免疫血清及染色）之檢查。動物效力檢查法很多如經鼻免疫(Ruth(30)1940, Gray(31)1947)，腹腔免疫(Burnet (32) 1937, Kendrick (33) 1947, Proom (34) 1947)，皮下注射法 (Burnet (32) 1937, Powell (35) 1937, Silverthorne (36) 1938, 染谷 (37) 1939, Proom (34) 1947, Gray (31) 1947)。感染方法亦很多如鼻感染 (Burnet (32) 1937, 染谷 (37) 1939, Ruth (30) 1940, Proom (34) 1947, Gray (31) 1947)，腹腔 (Powell (35) 1937, Silverthorne (36) 1938)。腦內接種法 (Kendrick (33) 1947) 等，似仍未一定。

一九五二年菌苗科整理

#### 文 獻

1. Felix, A, and pitt, R. M.; Lancet 1934.2.186.
2. Kauffmann, F.; Z. Hyg. u. Inf., 1935, 116, 617,
3. 大野順之助：第十一次聯合微生物學會記錄 1937, 154,
4. 都築正男：東京醫事新誌，1938, 3105, 2688,
5. 安東洪次、中村義治：細菌學雜誌，1942, 555, 257,
6. 安東洪次，大野順之助，中村義治：細菌學雜誌，1943, 568, 239,
7. 安東洪次，中村義治：細菌學雜誌，1943, 564, 41,
8. Felix, A. and pitt, R. M.: J. Hyg., 1935, 35, 428,
9. Kauffmann, F., Z. Hyg. u. Inf., 1936, 117, 778,
10. 竹中貞雄：京都府立醫大雜誌，1938, 23, 258,
11. Kishida, S.; Kitasato Arch. Exp. med., 1941, 18, 1,
12. 平野憲正：細菌學雜誌，1941, 539, 1,
13. 安東洪次，中村義治：細菌學雜誌，1942, 556, 296,

- 安東洪次中村義治: 細菌學雜誌, 1942, 556, 303,
14. Reed, L. J. and Muench, H.; Amer. J. Hyg. 1938, 27, 493,
  15. 安東洪次; 日本醫學及健康保險, 1941, 3262, 2959,
  16. Räiss, K.; Z. f. Immunforsh., 1940, 97, 281,
  17. Räiss, K.; Z. f. Immunforsh., 1940, 97, 365,
  18. Felix, A; Brit. med. J., 1941, 1, 391,
  19. Batson, H. C.; J. Exp. med 1949, 90, 3;
  20. 濱野滿雄, 中村義治; 五種混合預防液 (破傷風、霍亂、傷寒、副傷寒A,B) 之效力檢定之實驗 (未發表)
  21. 中村義治; 傷寒菌苗用菌株和傷寒菌苗檢定用菌株的選擇 (未發表)
  22. 濱野滿雄; 大連衛生研究所彙刊, 1950, 1—6 月, 28.
  23. 濱野滿雄, 細菌學雜誌, 1942, 560, 498,
  24. 濱野滿雄; 各種副傷寒A 菌苗之檢定比較 (未發表)
  25. 濱野滿雄, 孫盛綱; 用小白鼠檢定霍亂菌苗 (未發表)
  26. Griffiths, J. J.; Public Health Rep., 1942, 57, 19, 707.
  27. Griffiths, J. J.; Public Health Rep., 1944, 59, 42, 1374.
  28. Evans, D. G.; J. Path, Bact., 1946, 51, 49.
  29. Sauer, L. W.; J. A. M. A., 1939, 112, 305.
  30. Ruth, P. D.; Canada. Public Health J. 1940, 31, 370.
  31. Gray, D.F.; J. Path. Bact. 1947, 591—2, 235.
  32. Burnet, F. M. and Timmins, C.; Brit. J. Exp. Path., 1937, 18, 83.
  33. Kendrick, P. L., A. J. P. II., 1947, 37, 803,
  34. Proom, H.; J. Path. Bact.; 1947, 59, 1—2, 165.
  35. Powell, H. M. and Tamieson, W. A.; J. Imm. 1937, 32, 153.
  36. Silverthorne, N.; Canad. Public H., 1938, 89, 29, 233.
  27. 染谷明; 細菌學雜誌, 1939, 517, 155.

## 傷寒副傷寒甲乙三聯菌苗接種人體和動物後的 反應及對動物接種後免疫效價的測定（摘要）

應詩敏 馬占瑞 吳金福 李光祖

本試驗共分兩部分：（1）、菌苗人體反應觀察，了解人體接種不同劑量所引起的反應及接種後24小時內反應的規律性；（2）、以不同劑量按皮內，皮下二法接種家兔後引起的反應以及凝集素產生情況。

根據我們的試驗結果認為：

1. 接種劑量愈大，一般來說所引起的反應也愈大，同時產生的凝集素價亦愈高。因此，減少注射劑量能否控制疾病的流行還須做許多實地流行病學的調查研究，才能得到結論。

2. 皮內接種所出現的全身和局部反應較皮下接種法為小，並且產生的凝集素價在接種後一個月內較皮下為高，但以後很快下降，二、三月後就低於皮下組。由於皮內接種反應小，又能產生相當高的凝集價，同時節省菌苗，因而我們認為有繼續試驗、研究、進一步觀察的必要。

3. 按 H. B. Cepreev 氏材料，全身反應即體溫上升以注射後6—12小時為最高，以後逐漸下降。而我們在人體試驗中以接種後12小時體溫最低，12—20小時升高，這一結果似乎與前者不符。為探究其原因，我們以未接種之對照組同時觀察，發現對照組也在12小時體溫最低。這一最低的時間正是子夜一時。Cepreev 氏所說的接種後10—12小時的反應高峯在我的試驗中可能因中樞神經抑制過程（睡眠）而反應降低。我們認為下午作預防接種比較適宜。

4. 人體和家兔接種後反應的規律基本上是一致的，因此利用家兔來進行菌苗反應的測定是一個值得進一步研究的問題。

（本文曾發表於生物製品通訊第二卷第二期）



# 關於用甘油瓊膠培養基製備沙門氏 菌屬因子血清用的吸收菌

方景燦 車玉琴

## 一、前 言

甘油對結核桿菌和百日咳桿菌的發育有良好作用是衆所週知的。濱野滿雄，趙永林周勵三氏(1)在丙型副傷寒沙門氏菌Vi的抗原的研究中發現丙型副傷寒沙門氏菌的Vi抗原在2%甘油瓊膠培養基上發育良好，在試製菌苗中發現菌體產量方面2%甘油瓊膠培養基較普通瓊膠培養基高出一倍以上。根據這種情況並以傷寒和甲、乙型副傷寒沙門氏菌作了試驗，結果是傷寒和乙型副傷寒沙門氏菌在2%甘油瓊膠培養基上的產量較在普通瓊膠培養基上高出一倍左右，而甲型副傷寒沙門氏菌在兩種培養基上的產量相差不多(2)。考慮到吸收菌的產量和沙門氏菌屬因子血清的成本有密切關係，我們(3)在1952年將傷寒沙門氏菌0901和腸炎沙門氏菌以1%甘油瓊膠和普通瓊膠培養基作了產量和所製吸收菌的吸收效果比較試驗，結果產量方面每公升1%甘油瓊膠培養基傷寒沙門氏菌0901為7.18克，腸炎沙門氏菌為9.6克，每公升普通瓊膠培養基前者為4.2克，後者為5.1克，差別極為明顯。以兩種培養基所製成的傷寒沙門氏菌0901和腸炎沙門氏菌的吸收菌分別來吸收4,12血清製備4因子和吸收9,12:G,P血清製備P因子時，在吸收作用上沒有區別。但因試驗次數過少尚未得到比較肯定的結論。在1953-1956這幾年的生產中曾陸續的使用過甘油瓊膠培養基製備吸收菌，產量較高是肯定的，但未繼續進行吸收效果的比較試驗。1956年末在最近的一批沙門氏菌因子血清生產中大量的使用了1%甘油瓊膠培養基製備吸收菌並就其中七個菌種和普通瓊膠培養基作了產量的比較，結果見表1。由本表結果可見以1%甘油瓊膠培養基製備吸收菌在產量方面除蒙得維多沙門氏菌(S.montevideo)外均較普通瓊膠為高，差別的大小各個菌種不同，少者高出23%，多者高出185%，一般高出65—129%，因而就大多數試驗的菌種看來1%甘油瓊膠培養基確可得到較高的產量。為了今後在有更充足試驗根據的基礎上廣泛使用甘油瓊膠培養基製備沙門氏菌因子血清用的吸收菌，這次我們以3個O和3個OH血清作了普通瓊膠和1%甘油瓊膠培養基製備吸收菌的吸收效果比較試驗。茲將試驗材料，方法，結果以及討論事項報告如下。

## 二、試驗材料方法和結果

吸收試驗用的血清包括乙型副傷寒沙門氏菌(O型)，豬霍亂沙門氏菌和紐波特沙門氏菌的O血清，莫斯科沙門氏菌，湯卜遜氏菌(第一相)和倫敦沙門氏菌(第一相)的OH血清，都是在因子血清製造中剩餘的。

製備吸收菌的1%甘油和普通瓊膠培養基是以相同的原材料在相同的條件下同時製

造的，不同的地方是前者最後按 1% 量加入甘油。

用於吸收 O 血清中的 O 凝集素的吸收菌是用接種器以塗抹法接種，經 37°C 18—24 小時培育後以採菌器刮下用生理鹽水稀釋的；而用於吸收 H 凝集素的吸收菌則是將菌種以生理鹽水洗下作成適當濃度（30—50 億/毫升）的菌液以吸管接種，搖動克氏瓶使佈滿於培養基表面，培育後以適量鹽水洗下然後收集到一起的。用於吸收 O 凝集素的吸收菌 100°C 加熱一小時，用於吸收 H 凝集素的吸收菌加 2% 福馬林殺菌，然後以比濁法（燕聯標準管）測定菌液濃度並進行塗片鏡檢及無菌試驗，檢查雜菌的有無。

兩種培養基的產量比較見表 2，由此表中的結果可以看到 1% 甘油瓊膠培養基的產量均較高，相當於普通瓊膠培養基產量的 134—173%，並有一個菌株（格羅斯出浦沙門氏菌）在 1% 甘油培養基上的產量相當於普通瓊膠培養基的 302%。雖然這次是小量試驗，培養基量較少同時有些乳瓶內的培養基有不同程度的倒塌現象，代表性不夠，但總的趨勢仍是可以看出的。

吸收前將各個血清以免疫菌和用兩種培養基製備的吸收菌作定量凝集試驗，吸收時將菌體與稀釋 5—10 倍的血清混合，置 37°C 孵箱 3 小時然後放置 4—6°C 冰箱一夜，分離血清再與免疫菌及吸收菌作定量凝集試驗，檢查類屬凝集素吸收效果，一次吸收不徹底時按同法繼續進行吸收及檢定。以兩種培養基製備的吸收菌的吸收效果列於表 3 中。從這個表可以看出以普通瓊膠和 1% 甘油瓊膠培養基製備的吸收菌在凝集性和凝集素結合力上雖然在某些地方有微小的差別，但總的看來基本上是一致的。

### 三、討 論

1. 由製造傷寒副傷寒菌苗和制備吸收菌時的一些比較試驗的結果看來，甘油對大多數沙門氏菌是有良好作用的，但菌株之間很不一致，在甘油培養基上發育特別好的如丙型副傷寒沙門氏菌和貝塔氏沙門氏菌，和在普通培養基上沒有多大差別的有甲型副傷寒沙門氏菌和蒙得維多沙門氏菌。這說明一個菌屬內各個菌種之間對營養物質的要求是不同的。由於我們的工作作的比較粗糙，也不全面，只能作為一個初步結果，為了更廣泛的了解甘油對沙門氏菌屬發育的影響，對制備吸收菌常用的菌種還需要一一進行試驗。甘油對腸菌科其他菌屬尤其是正在開展大量工作的痢疾菌屬菌種發育的作用也是需要進行研究的。

2. 為了減低沙門氏菌因子血清的製造成本，除了甘油培養基之外，我們還曾多次使用過培養鼠疫菌後再經高壓滅菌的廢培養基制備吸收菌，結果一般沙門氏菌均可發育，產量可達普通瓊膠培養基的一半或三分之二，用於吸收也是可以收到效果的，缺點是沒有進行過吸收效果的比較試驗，今後進行鼠疫菌苗生產的兄弟所可繼續進行試驗。

### 四、總 結

除了少數例外，以 1% 甘油瓊膠培養基制備沙門氏菌屬有關菌種的吸收菌時，產量均較普通瓊膠培養基為高。根據 1956 年末的結果除了一個例外，其餘均高出 23—185%，根據這次的結果均高出 34—73%，並有一例高出 202%。兩種培養基所制吸收菌的吸收效果基本上沒有差別。在產量上對各個菌株進行更細緻的比較後，可在生產中廣泛使

用。

## 參 考 文 獻

1. 濱野滿雄、趙永林、周勳：微生物學報，第3卷第2期127頁1955年11月。
2. 大連生物製品研究所菌苗室生產經驗。
3. 方景燦、劉靜安，用甘油培養基制備沙門氏菌因子血清用吸收菌的初步報告：未發表。

表 1. 1% 甘油瓊膠和普通瓊膠培養基制備吸收菌時的產量比較

菌 種	培養基種類	培養基量 (公 升)	菌體收穫量 (克)	每公升培養 基收穫量 (克)	1% 甘油瓊膠 單位產量相當 於普通瓊膠的
紐波特沙門氏菌或多黎谷變種	1% 甘油瓊膠	46.2	356	7.49	105%
	普通瓊膠	2.2	10	4.54	
貝塔氏沙門氏菌	1% 甘油瓊膠	8.8	114	12.94	285%
	普通瓊膠	2.2	10	4.54	
豬霍亂沙門氏菌 1350	1% 甘油瓊膠	4.4	40	9.09	207%
	普通瓊膠	6.6	29	4.39	
蒙德維多沙門氏菌	1% 甘油瓊膠	11.0	46	4.18	90%
	普通瓊膠	22.0	102	4.63	
耶柏林沙門氏菌	1% 甘油瓊膠	19.8	186	9.39	229%
	普通瓊膠	2.2	9	4.09	
馬下通沙門氏菌柏林變種	1% 甘油瓊膠	31.9	302	9.46	123%
	普通瓊膠	37.4	287	7.64	
沙門氏菌 24682	1% 甘油瓊膠	1.1	9.5	8.63	190%
	普通瓊膠	2.2	10	4.54	

表 2. 1% 甘油瓊膠和普通瓊膠培養基制備吸收菌時的產量比較

菌 種	培養基種類	培養基量 (毫 升)	菌 液 量 (毫 升)	菌液濃度 (億/毫升)	每毫升培養 基菌體產量 (億)	1% 甘油瓊膠 單位產量相當 於普通瓊膠的
傷寒沙門氏菌 0601	1% 甘油瓊膠	880	48.4	400	24.2	134%
	普通瓊膠	880	48.4	330	18.1	
豬霍亂沙門氏菌 5210	1% 甘油瓊膠	880	70.8	400	32.2	134%
	普通瓊膠	880	52.8	400	24.0	
腸炎沙門氏菌 361	1% 甘油瓊膠	880	88	480	48.0	160%
	普通瓊膠	880	88	300	30.0	
馬下通沙門氏菌 柏林變種 166	1% 甘油瓊膠	880	88	520	52.0	173%
	普通瓊膠	880	88	300	30.0	

續前表

菌 種	培養基種類	培養基量 (毫 升)	菌 液 量 (毫 升)	菌液濃度 (毫/毫升)	每毫升培養 基菌體量 (億)	1% 甘油瓊 脂位點量相當 於普通瓊脂的
泰拉維沙門氏菌 205	1% 甘油瓊膠	660	67	475	48.2	142%
	普通瓊膠	660	67	330	338	
格羅斯出油沙門 氏菌 177	1% 甘油瓊膠	660	66	650	65.0	302%
	普通瓊膠	660	66	215	21.5	
鴨沙門氏菌 245	1% 甘油瓊膠	600	67	500	50.8	156%
	普通瓊膠	660	67	320	32.4	

表 3 普通瓊膠與 1% 甘油瓊膠培養基制菌吸收菌吸收效果的比較

菌 種	原 血 清	吸 收				效 價		
		次 數	菌 名	菌量 (億)	血清量 10 × 升	抗 原	普通培養基	甘油培養基
B群 O	乙型副傷寒 沙門氏菌 O型 (140)	吸 收 前				付寒傷乙沙門氏菌 O型	6400(+)	
						傷寒沙門氏菌 0901 (普)	1600(+)	
						傷寒沙門氏菌 0901 (甘)	1600(+)	
		1	傷寒沙門氏 0901	2000	40	乙型付傷寒沙門氏菌 O型	10240(+)	10240(+)
						傷寒沙門氏菌 0901	80(+)	80(+)
		2	"	950	38	乙型付傷寒沙門氏菌 O型	2560	2560
				傷寒沙門氏菌 0901	80(-)	80(-)		
VI	豬霍亂沙門 氏菌 1350	吸 收 前				豬霍亂沙門氏菌 162 100°	5120(+++)	
						豬霍亂沙門氏菌 163 100° (普)	2560(+++)	
						豬霍亂沙門氏菌 163 100° (甘)	2560(++)	
		1	豬霍亂沙門 氏菌 5210	4000	40	豬霍亂沙門氏菌 162	10240(+++)	10240(+++)
						豬霍亂沙門氏菌 163	2560(+)	1280(+++)
		2	豬霍亂沙門 氏菌 5210	1900	38	豬霍亂沙門氏菌 162	10240(+)	10240(+++)
						豬霍亂沙門氏菌 163	320(+++)	320(+)
		3	豬霍亂沙門 氏菌 5210	3000	[30]	豬霍亂沙門氏菌 162	10240(+)	10240(+++)
						豬霍亂沙門氏菌 163	80(-)	80(-)
		4	豬霍亂沙門 氏菌 5210	2500	25	豬霍亂沙門氏菌 162	1280(+)	1280(+++)
						豬霍亂沙門氏菌 163	20(-)	20(-)
		5	豬霍亂沙門 氏菌 5210	2000	20	豬霍亂沙門氏菌 162	1280(+++)	1280(+++)
				豬霍亂沙門氏菌 163	40(-)	40(-)		

齡前表

擬測血液	原血清	收				效			價	
		次數	菌名	菌量(倍)	血清量 10× 毫升	抗	原	普通培養基	甘油培養基	
I	莫斯科沙門氏菌 187	吸 收 前				莫斯科沙門氏菌 187		12800(++)		
						腸炎沙門氏菌 361 (普)		12800(+)		
						腸炎沙門氏菌 361 (甘)		12800(++)		
		1	腸炎沙門氏菌 361	4000	40	莫斯科沙門氏菌 187	12500(+)	12800(+)		
						腸炎沙門氏菌 361	100(-)	100(-)		
		2	腸炎沙門氏菌 361	3500	35	莫斯科沙門氏菌 187	6400(+)	6400(+)		
腸炎沙門氏菌 361	50(-)					50(-)				
VI	紐波特沙門氏菌 563	吸 收 前				紐波特沙門氏菌 171 100°		2560(++)		
						豬霍亂沙門氏菌 162 100° (普)		320(++)		
						豬霍亂沙門氏菌 162 100° (甘)		160(+++)		
		1	豬霍亂沙門氏菌 162	1600	40	紐波特沙門氏菌 171	5120(+++)	5120(+)		
						豬霍亂沙門氏菌 162	80(-)	80(-)		
		K	湯卜遜沙門氏菌 C30	吸 收 前				湯卜遜沙門氏菌 C30		12800(+++)
				湯卜遜沙門氏菌柏林變種		3200(+)				
				湯卜遜沙門氏菌柏林變種		3200(+)				
1	湯卜遜沙門氏菌柏林變種 166			2000	40	湯卜遜沙門氏菌 C30 165	12800(+)	12800(+)		
						湯卜遜沙門氏菌柏林變種 166	6400(+)	6400(+)		
2	"			3800	38	湯卜遜沙門氏菌 C30 165	12800(+)	12800(+)		
						湯卜遜沙門氏菌柏林變種 166	800(+)	800(+)		
3	"			3600	36	湯卜遜沙門氏菌 C30 165	6480(+++)	18200(+)		
						湯卜遜沙門氏菌柏林變種 166	400(+)	400(+)		
4	"			3200	32	湯卜遜沙門氏菌 C30 165	12800(+)	12800(+)		
						湯卜遜沙門氏菌柏林變種 166	200(+)	200(+)		
5	"			3000	30	湯卜遜沙門氏菌 C30 165	12800(+)	12800(+)		
		湯卜遜沙門氏菌柏林變種 166	100(+)			※				
I.V	倫敦沙門氏菌 315	吸 收 前				倫敦沙門氏菌 315 (普)		12800(+++)		
						倫敦沙門氏菌 100°30° (普)		6400(+++)		
						鴨沙門氏菌 245 (甘)		6400(+)		
		1	鴨沙門氏菌 245	4000	40	倫敦沙門氏菌 315	12800(+)	12800(+)		
						鴨沙門氏菌 245	200(+)	200(+)		

續前表

凝制血清	原血清	收			效			
		次數	菌名	菌重 (微)	血清量 10×升	抗原	普通培養基	甘油培養基
1v	倫敦沙門氏菌 315	2	鴨沙門氏菌 215	875	35	倫敦沙門氏菌 315	12800(+++)	12800(+++)
			湯卜遜沙門氏菌柏林變種	1750		鴨沙門氏菌 245	100(±)	100(±)

※ 未作(+++); (++X+); : 代表終點效價的凝集強度

## 關於用馬大量生產沙門氏菌屬診斷血清

濱野滿雄 方景燦 周景中

### 緒 言

以診斷血清作診斷材料，對傳染病的診斷及預防有重大作用為人所週知者。

近來本所由於各地對診斷血清的大量需要，如仍用家兔為免疫動物，雖試行部分採血，仍感非常困難，乃使用馬免疫動物，試行部分採血，既不犧牲動物，又可得大量血清。今將製造方法，實驗成績及討論事項報告如下：

### 實驗方法及實驗成績

#### 一、馬正常凝集素檢定

根據馬正常凝集素存在的程度，及對各種沙門氏菌抗原的反應選擇免疫馬匹。所用免疫馬為體重 450—500 公斤的日本馬 1133 號，1150 號，1156 號及體重約 280 公斤的蒙古馬 1147 號，共計四匹。免疫前均曾進行破傷風預防注射。檢查正常凝集素，働性及非働性血清均由 10 倍稀釋開始至 1280 倍為止，凝集原為傷寒桿菌 H901 及 ty5 (vi 菌液) 以及甲、乙、丙型副傷寒桿菌福馬林處理的菌液，為參考起見並加用變形桿菌 OX<sub>19</sub> 福馬林菌液。菌液，血清各 0.5 毫升混合並充分振盪後置 37°C 孵箱內作用兩小時，然後取出放室溫一夜，判定其結果（以下記載的凝集反應操作法皆與此同）。其結果，如表一所示。

1. 馬血清之正常凝集素於非働化後減弱或消失，尤以甲型付傷寒及 Vi 抗體為顯著。
2. 各匹馬之血清對各種抗原的凝集價低者 10 倍，最高達 320 倍，其中働性血清對傷寒 H901 菌之凝集價為 160—320 倍。
3. 傷寒菌的主要抗原部分 vi 菌液對血清之反應，在働性血清為 40 倍到 80 倍，非働性血清除 1147 號馬以外其凝集價皆很明顯地降低。
4. O 抗原雖未實驗但根據集狀態推定與以上抗原不致有顯著差異。
5. 為參考而用的變形桿菌 OX<sub>19</sub> 其凝集價一般均較高但較傷寒 H901 稍低。根據第一表的成績，採用對免疫原有相當高凝集價的馬為免疫動物，以對傷寒菌凝集價最高的 1156 號免疫傷寒，以下同樣依對各種沙門氏菌抗原凝集價的高低，以 1150 號馬免疫副傷寒甲，1133 號免疫副傷寒乙和 1147 號免疫副傷寒丙。

第一表 正常凝集素檢定結果

馬號	原菌	血清稀釋	動物血清 (1951. 2. 1)								凝集狀態	凝集價
			10	20	40	80	160	320	640	1280		
1136	tyH901	+	+	+	+	+	+	+	+	+	顆粒	160
	Vi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	p.A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20
	p.B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40
	p.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40
	OX19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	80
1133	tyH901	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	160
	Vi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<10
	p.A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<10
	p.B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20
	p.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40
	OX19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	160
1147	tyH901	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40
	Vi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	80
	p.A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<10
	p.B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	p.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	OX19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40
1150	tyH901	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40
	Vi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20
	p.A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<10
	p.B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20
	p.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20
	OX19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20

各菌對凝集反應均為陰性  
 + + + + + ..... 肉眼觀察凝集反應程度  
 + + + ..... 凝集鏡觀察凝集反應程度。

## 二、免疫方法及部分採血

免疫原為傷寒菌 Watson 株 (V 型菌)，甲型副傷寒桿菌 No. 6，乙型副傷寒桿菌 No. 2 及丙型副傷寒桿菌 No.101 的光滑型福馬林菌液。接種量由 1 毫升生理食鹽水內含菌 0.5 毫克開始，注射途徑為頸靜脈，每週連續注射三次後，休息四日，再注射時，其接種量加倍，最後一次接種量為 60 毫升內含菌 120 毫克，先後共免疫 36 次，注入總菌量為 1525 毫克，免疫期間由 1951 年 2 月 13 日起到 5 月 12 日止共計三個月。

免疫第十一週時，第八次試血，結果如第二表所示，所採血清均已有適當的凝集價，乃於最後一次免疫後第八日實行部分採血，傷寒免疫馬每隔一日，付傷寒甲、乙、丙連續部分採血，傷寒每次採 4,000 毫升三次計 12,000 毫升，得血清 5,890 毫升，副傷寒甲、乙、丙每次各 3,000 毫升，兩次各為 6,000 毫升，所得血清量副傷寒甲為 3,080，副傷寒乙為 3,000 毫升，副傷寒丙為 3,380 毫升。各血清經遠心分離或濾過後，加熱



第二表 各種免疫馬之凝集素產生狀況

試馬次數 年 月 日 (免疫品期數)	動 性						清 血						非 凝 集						凝 集 素					
	傷 寒 (1186)		副傷寒甲 (1150)		副傷寒乙 (1183)		副傷寒丙 (1147)		傷 寒 (1186)		副傷寒甲 (1150)		副傷寒乙 (1183)		副傷寒丙 (1147)		傷 寒 (1186)		副傷寒甲 (1150)		副傷寒乙 (1183)		副傷寒丙 (1147)	
	Vi	O	H	O	H	O	H	O	H	Vi	O	H	O	H	O	H	Vi	O	H	O	H	O	H	O
第1次 (4) (51.3.13)	100	800	1600			800		3200			3200			3200		200	400	1600			3200			1600
第2次 (5) (51.3.20)	400	800	3200	400	3200		1600	3200	3200	800	3200	3200	3200	3200	3200	800	800	3200	400	3200	800	3200	3200	3200
第3次 (6) (51.3.27)	800	800	6400	800	3200		800	3200	3200	800	3200	3200	3200	3200	3200	800	1600	6400	200	6200	400	6400	800	3200
第4次 (7) (51.4.3)	800	200	400	200	3200		200	1600	1600	6400	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200
第5次 (8) (51.4.10)	1600	3200	>12800	800	>12800		>12800	>12800	6400	712800	3200	3200	3200	3200	3200	800	1600	3200	200	6400	3200	>12800	3200	6400
第6次 (9) (51.4.24)	1600	3200	>12800	400	>12800		1600	>12800	1600	6400	3200	3200	3200	3200	3200	800	800	3200	400	>12800	<100	>12800	1600	3200
第7次 (10) (51.5.3)	3200	3200	>12800	800	>12800		3200	>12800	3200	6400	3200	3200	3200	3200	3200	1600	3200	>12800	400	>12800	800	>12800	400	6400
第8次 (11) (51.5.12)	1600	3200	6400	800	>12800		1600	>12800	1600	3200	3200	3200	3200	3200	3200	1600	3200	6400	400	6400	1600	>12800	1600	3200

數字為內眼凝集價，( ) 表示有凝集

56°C30分，使成非働性並加 1/5,000 硫柳汞防腐。

注射免疫原時，除免疫副傷寒丙菌液之馬稍有反應外，其它無異常情況。反應的起因，由於馬的個體、馬種，抑或體重等的關係尚不明瞭。

### 三、各免疫馬之凝集素產生狀況

自免疫第四週終了起，每週在開始注射前，實行試血共八次，檢定抗體產生情形，以決定採血的適當時期。凝集反應之血清由 100 倍起倍量稀釋至 12,800 倍止，凝集原傷寒用 Vi O 及 OH 菌液，副傷寒甲、乙、丙各用其 O 及 OH 抗原，成績已綜述於第二表內。分析第二表所得之結果歸納如下：

1. 對各種沙門氏菌之各種凝集素 (vi, O, H) 隨免疫之經過漸次上升，至免疫第十一週，雖非働化，凝集價亦不下降，血清安定，表示為適於採血之凝集價。
2. 如分別考察各種沙門氏菌抗體產生情況，可知各種沙門氏菌 H 抗體之產生均甚良好，其次為 O 及 vi 抗體。其中副傷寒甲之 O 抗體產生最差。
3. 免疫初期非働化可使凝集價下降，尤以免疫第七週傷寒及副傷寒丙血清最為顯著。如分別考察各種凝集素，可發現 O 及 vi 抗體較 H 抗體不安定。
4. 働性血清於免疫第七週時凝集價較第六週一般下降，其原因可能由於注射量增大而產生陰性期之影響。

### 四、各種免疫馬血清之類屬凝集素檢定

以各種沙門氏菌免疫馬，部分採血後之血清，檢定其特異性。血清非働化後由 100 倍起，倍量稀釋至 12,800 倍。所用凝集原，除免疫原以外尚用其它沙門氏菌液檢查類屬反應之有無，其結果如第三表所示。綜合本表成績可得出下列事實：

1. 各種免疫馬的血清對本免疫原呈高度的反應。

第三表 各種免疫馬血清類屬反應結果

免疫血清	凝集原	部分採血血清 (非働性)								凝集價
		100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	
傷寒	ty (Vi)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	3200
	ty (O)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	3200
	ty (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	>12800
傷寒	p.A (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	200
	p.B (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	400
	p.C (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100
副傷寒甲	p.A (O)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	400
	p.A (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	>12800
	p.B (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	400
	p.C (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100
副傷寒乙	ty (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	800
	p.B (O)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	3200
	p.B (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	>12800
	p.A (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100
副傷寒丙	p.C (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	400
	p.C (O)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	400
	p.A (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	6400
	p.B (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	6400
副傷寒丙	p.A (O)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100
	p.B (O)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100
	p.B (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100
	ty (OH)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	< 100

卅·卅·十……肉眼觀察陽性程度  
卅·卅·十……儀器觀察陽性程度

2. 除副傷寒丙血清外多有 200 倍至 400 倍之類屬反應，副傷寒甲血清對傷寒菌之反應達 800 倍。

## 總 結 及 討 論

一、大量生產診斷血清時應考慮之主要事項為免疫動物的選擇（家兔、山羊、綿羊、驢、馬等）以及適當進行部分採血增加血清的收穫量。已往本所曾作過很多與此有關的技術改良。在所有方法中，合理的大量生產法為用馬作免疫動物，本法不但一次部分採血可得極大量之血清，且可免去用多數家兔免疫之注射，採血等操作上的繁瑣，同時飼養管理方法也較簡易。如果把家兔、山羊及馬三者血清收穫量作一比較，約如下表所示。由此表可見馬血清在量方面的優越性。

	家兔 (2—2.5Kg)	山羊 (20—25Kg)	馬 (500Kg)
全採血清量	45—50 毫升	500 毫升	1000 毫升
一次部分採血清量	15 毫升	100 毫升	2000 毫升

此次本所作沙門氏菌屬診斷血清時，傷寒甲、乙、丙型副傷寒桿菌各用馬一匹免疫，用

部分採血法，生產出傷寒診斷血清 5,890 毫升，副傷寒甲、乙、丙型診斷血清各為 3,980, 3,000 及 3,380 毫升完成了大量生產任務。過去用馬大量生產沙門氏菌屬免疫血清者，有 Jelix<sup>2)</sup> (1938) 及安東、大野、中村<sup>3)</sup> (1943) 等，多屬治療用者，僅 Boecker<sup>1)</sup> (1936) 曾用馬作過傷寒菌 (OH) 診斷血清。

二、關於馬血清的質的問題，Goodner 與 Horsfall<sup>5)</sup> (1937) 在治療血清方面曾將肺炎菌免疫馬血清與免疫家兔血清作比較，認為家兔血清在許多方面較為優越。診斷血清則應從若干不同要求論之。馬血清可能有以下缺點：

1. 產生抗體需要時間長，此次免疫期為三個月，但有時可能需要六個月，如用家兔一個月內即可完成。
2. 由於個體之血清球蛋白不安定，經非働化 ( $56^{\circ}\text{C}$  30分) 後，有時可使凝集價下降或消失。
3. 正常凝集素較多。
4. 易於發現類屬凝集素，因而非特异性反應較多。
5. 持久性可能較差，主要由於血清成分之差異，在馬其凝集素可能係在不穩定的異球蛋白，或非水溶性部分內。

以上各項均為有改善可能之研究問題，其中關於安定性一項認為有法解決<sup>6)</sup>，因而應依據馬血清之性狀，用適當的製法，處理法及使用法可能製出質量優良的血清。

三、根據正常凝集素檢定結果，働性血清之正常抗體最低者 10 倍，最高達 320 倍，其中對傷寒菌最高，其次為對變形桿菌 OX<sub>19</sub>。血清非働化後，則減低或消失。

四、關於免疫馬血清非働化所致之不安定性，安東、大野、中村<sup>3)</sup> 業經論及，據謂此種現象由於在免疫初期免疫球蛋白不安定時所發現。濱野<sup>6)</sup> 更就此點分別用家兔、山羊、綿羊、馬等免疫動物作比較試驗，發現家兔無此種現象。在山羊及馬因個體之差異，經非働化可使抗體價顯著降低或消失，並有帶現象出現。不安定性因抗體之不同而

有差異，其中 vi 及 O 不安定，H 抗體比較安定。本實驗與上述之成績大致相同（見第二表）。此種非動化所致的抗體不安定性，用馬或山羊為免疫動物大量生產時應特別注意，試血清應按備性非動性分別檢定並按凝集價之上升及抗體之安定性，在適當時期實行採血。本試驗抗體的產生狀況大致順利，在免疫第十一週（免疫開始後三個月）遠採血期。副傷寒甲凝集價之上升，此次成績如其它報告<sup>7,8)</sup>亦感困難。

五、診斷血清與治療用血清不同，其必要條件為反應的特異性。在這一點上馬血清比家兔血清有若干缺點。此次成績，免疫馬血清對本免疫原呈高度反應，對其它沙門氏菌種除副傷寒丙血清類屬反應甚低外，多有 200—400 倍呈顆粒狀反應，尤以副傷寒甲血清對傷寒若有 800 倍之反應（見第三表）。傷寒、副傷寒甲乙之間共同凝集素根據 Kauffmann white 抗元表<sup>9)</sup> XII 抗元為其原因，在吸收試驗時如將副傷寒甲血清以傷寒如吸收，則對副傷寒乙之共同凝集素同時亦被吸收可資證明。此等類屬凝集素可用吸收的方法除去，但一般只在類屬反應高達 400 倍以上時行之。如將血清稀釋 100 倍作玻片凝集試驗不起類屬反應，而特異性反應顯著，可不行吸收試驗。依據類屬反應的強度，大量血清需相當大量之吸收菌。

## 結 語

本文為用馬大量生產沙門氏菌屬診斷血清（傷寒、副傷寒甲、乙、丙）的實驗報告，並對有關問題作了討論。

## 參 考 文 獻

- 1) 中島和一，岡本茂雄，中村義治，河井謙一日本醫學及健康保險 1941. 3246. 2101
- 2) Felix A & petrie G. F.: J. Hyg., 1938. 38. 673
- 3) 安東洪次，大野順之助，中村義治：細菌學雜誌 1943. 568. 239
- 4) Boecker, E. Zent. f. Bakt. parasit. u Inf. orig., 1936. 137. 321
- 5) Goodner, K. and Horsfall, F. L.: J. Exp. Med., 1937. 66. 413. 425. 437
- 6) 濱野滿雄：未發表
- 7) Bhatnagar, S. S. Freman, J. F. and Dhilon, g.c., Ind. J. Med. Res., 1937. 24. 597
- 8) Bhatnagar, S. S., Freman, J.F. and Gera, g.c., Ind. J. Med, Res., 1937. 24. 617
- 9) Kauffmann, F.: J.Bact., 1941. 41. 127

## 福氏痢疾桿菌因子血清的試制

方景燦 張舍余 車玉琴

診斷痢疾桿菌，許多國家都按照本國的或國際間的分類制備了有關的凝集血清，而我國一般的實驗室通常則使用志賀氏、福氏，宋內氏及什密次氏痢疾桿菌診斷血清，無法區分福氏痢疾桿菌的血清型，而對我國流行的福氏痢疾菌血清型的瞭解在流行病學和生物制品（痢疾噬菌體，痢疾菌苗）製造上都有重要意義。為了解決福氏痢疾菌的分型問題，我們在1954年進行了福氏痢疾桿菌因子血清的試制。

制福氏痢疾桿菌因子血清時首先要考慮的一個問題是痢疾菌的分類問題，目前我們所知道的主要有兩個分類，一個是國際微生物學會1950年的分類<sup>(1)</sup>，另一個是蘇聯1953年發表的分類<sup>(2)</sup>。[這兩個分類有一些共同的地方，但對種的看法上有着很大的分歧，我們認為蘇聯學者的看法是正確的，是以米丘林的生物科學為基礎的。不過蘇聯分類不分亞型，同時未將x和y變種列入，是否全面還是一個值得研究的問題。由於痢疾菌種在各個國家流行的具體情況不同，各個國家根據其具體流行情況採取本國的分類是合理的。我們應該參考蘇聯的分類原則和我國的具體流行情況作出我國的分類，把我國不流行的菌型從分類表上去掉，把我國特有的菌型增添進去，然後根據這個分類製造診斷血清。但是對痢疾菌型在我國流行分佈的情況沒有進行調查以前，為了給調查研究準備條件必須暫時依照其它分類進行血清製造。我們由於未能得到依蘇聯分類的菌種和血清，僅由衛生部生物制品檢定所獲得依照國際微生物學會分類的菌種一組，着手福氏痢疾桿菌因子血清的試制，已少量試制出一組血清。茲將試制方法與結果及血清使用方法報導如下：

### 一、血清製造

1. 免疫原制備：首先把使用的菌種作形態生化學及血清學檢查證明其血清型正確同時為光滑型菌後，開始制備免疫原。制備免疫抗原用普通瓊膠培養基 pH7.4，接種後培育於 37°C 18—20 小時，用 0.5% 福馬林生理鹽水作成每毫升含 100—300 億個菌的懸液，經無菌試驗及血清學檢定後稀釋成毫升含菌 5 億，10 億及 20 億的懸液分裝於無菌玻瓶內，保存於冰箱備用。

2. 家兔免疫及採血：免疫前選出了一部份家兔採血測定了自然抗體，其結果見表 1。家兔體重要求 2 公斤以上，免疫時由 2.5 億（0.5 毫升內）開始，耳靜脈注射，每隔四天一次，劑量加倍共免疫四次，最後一次免疫後五天試血，效價在 1600 倍以上即行全採血。採血後分離血清；56°C 加溫 30 分鐘，並按 1% 的量加入 1:100 的硫柳汞溶液防腐。

3. 血清的處理和檢定：採得的血清與各型福氏痢疾桿菌作定量凝集反應，檢定其凝集效價和交叉凝集反應，其結果如表 2 所示。然後根據製造目的參照 Boyd 氏<sup>(3)</sup>，

表 1. 家兔正常凝集素測定

家兔號數 血液名稱	6	7	8	9	10	11	12	13	14
*1a (51301)	100	100	100	100	100	100	50	50	50
1b (51310)	100	25	50	100	100	50	50	50	50
2a (51302)	200	250	100	100	100	100	25	25	25
2b (51311)	50	50	25	50	—	—	—	—	—
3 (51303)	50	50	100	50	100	100	25	25	25
4a (51304)	100	100	100	50	100	100	50	50	100
4a (51305)	—	25	50	25	—	—	—	—	—
4b (51312)	—	25	25	25	25	25	—	—	—
5 (51207)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 (51307)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
x (51308)	—	—	—	—	—	25	—	—	—
y (51309)	100	50	50	25	50	25	25	25	—
志賀氏痢疾桿菌	—	—	100	—	—	—	—	—	—
宋內氏痢疾桿菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—
什密次氏痢疾桿菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[註] —: 表示 1:20 凝集反應陰性; 數字為正常凝集素效價

表 2. 各型福氏痢疾菌種與各個菌種免疫血清之試管凝集反應

菌 液	用以下菌種福馬林菌液製備之血清										
	1a (51301)	1b (51310)	2a (51302)	2b (51311)	3 (51303)	4a (51305)	4b (51312)	5 (112)	6 (51307)	x (51308)	y (51309)
1a (51301)	12500	12800	3200	>1600	3200	800	1600	1600	3200	>1600	3200
1b (51310)	6400	51200	6400	>1600	3200	800	1600	800	1600	800	1600
2a (51302)	1600	800	12800	1600	800	1600	400	400	3200	1600	1600
2b (51311)	800	200	3200	>1000	400	0	0	800	0	800	800
3 (51303)	3200	12800	1600	1000	6400	100	1600	1600	1600	1600	1600
4a (51304)	1600	1600	3200	800	3200	6400	1600	1600	800	1600	6400
4a (51305)	400	100	200	100	200	3200	400	800	0	400	800
4b (51312)	200	12800	200	100	1600	3200	1600	400	0	200	800
5 (51207)	400	400	200	1600	1600	200	100	12800	0	1600	1600
6 (51307)	200	0	800	0	100	0	0	0	3200	100	200
x (51308)	400	800	100	>1000	400	0	200	1600	0	1600	1600
y (51309)	1600	1600	3200	1600	1600	400	800	1600	1600	1600	6400

(4); Wheeler 氏 (5), (6) 以及 Madsen 氏 (7) 的抗原分析結果和本實驗中的交叉凝集反應結果以及吸收時的具體情況採用表 3 中所列的菌種進行了多次凝集素吸收試驗, 制出了型因子血清六種, 專屬因子血清一種, 群因子血清四種。定量凝集反應與玻片凝集反應檢定結果如表 3 及表 4 所示。從定量凝集反應檢定結果中可以看出型因子血清均有一定高的的效價, 而群因子血清效價大都較低。型因子血清 I, II 和 IV 處理得還不够徹底尚存有 1:100 的交叉反應, 其中 I 和 IV 血清於一定倍數稀釋後作玻片凝集反應無交叉凝集反應故未繼續進行吸收。II 血清 (2b 菌免疫) 於 10 倍稀釋後與 y 變種尚有微弱的玻片凝集反應, 但如用 y 菌吸收則血清效價喪失殆盡。此外我們制備的兩個 2a 血

表 3. 福氏痢疾桿菌因子血清的製造

血清名稱 免疫用菌種 吸毒用菌種 凝集反應用菌液	型 因 子 血 清						專屬 因子血清	群 因 子 血 清			
	I	II	III	IV	V	VI	S	3	4	6	7
	1a (51301)	2a (51311)	3 (51303)	4a (51305)	5 (112)	6 (51307)	7b (51310)	y (51309)	2a (51302)	4b (51312)	x (51308)
	2a, 4a, 5 y	1a, 1b 3, 4a, x	1b, 4b y, x	1a, 2a, y 2a, 4a	x, 1b, 3 2a, 4a	1a, 2a, y	1a, 3, 4b	1a, 2b, 3, x	2b, 3, 4a, 4b, x	4a, 1a, 2a, x	y, 1a, 2b, 4a, 4b,
1a (51301)	3200	0	0	0	0	0	0	0	3200	0	0
1b (51310)	3200	0	0	0	0	0	800	0	3200	3200	0
2a (51302)	100	800	0	0	0	0	0	200	1600	0	100
2b (51311)	0	400	0	0	0	0	0	0	0	0	400
3 (51303)	0	0	1000	0	0	0	0	0	0	3200	0
4a (51304)	0	0	0	3200	0	0	0	400	0	0	0
4a (51306)	0	0	0	3200	0	0	0	0	0	0	0
4b (51312)	0	0	0	3200	0	0	0	0	0	3200	0
5 (112)	0	0	0	100	3200	0	0	0	0	0	100
6 (51307)	100	0	0	0	0	800	0	0	1600	0	0
x (51308)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400
y (51309)	0	100	0	0	0	0	0	400	1600	0	0

型因子血清 0=1:100 陰性; S 及 3, 4, 6, 7 血清 0=1:50 陰性

表 4. 福氏痢疾桿菌因子血清玻片凝集反應結果

血清類別 血清名稱 菌種名稱 稀釋倍數	型 因 子 血 清						專屬 血清	群 因 子 血 清			
	I	II	III	IV	V	VI	S	3	4	6	7
	1:30	1:30	1:10	1:30	1:20	1:30	1:15	1:5	1:10	1:10	1:5
1a (51301)	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
1b (51310)	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
2a (51302)	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
2b (51311)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3 (51303)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
4a (51304)	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
4a (51306)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4b (51312)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
5 (51207)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
6 (51307)	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
x (51308)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
y (51309)	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-

清用 y 菌吸收時亦得到同樣的結果，這是型因子血清製造中的一個問題。Wheeler 氏曾提到 W 型 (2a) 血清用 y 菌吸收時不能制出特異性血清，他認為可能是所用的 W 型菌種特異性型抗原正在喪失；而 Madsen 氏則懷疑 y 菌具有一定的型抗原。總之對血清製造來說這是一個值得研究的問題。

## 二、血清的使用方法：

本組血清應與志賀氏，宋內氏，福氏（多價）及什密次氏痢疾菌診斷血清配合使用。由患者糞便（或其它材料）分離出來的符合痢疾桿菌定義的細菌，應參照生化學反應用其中一種診斷血清作玻片凝集反應，如為志賀氏，什密次氏或宋內氏痢疾桿菌即不必進一步試驗，如與福氏痢疾桿菌診斷血清起反應則應進一步用型及群因子血清詳細檢查，與 I 型血清凝集者尚須試以 S 血清，以確定其血清型。診斷時可參照 Madson 氏之福氏痢疾菌型診斷抗原式。

福氏痢疾菌型診斷抗原式（根據 Madsen 氏 1949）

型 別	型 抗 原	群（共同） 抗原
1a	I	4
1b	I,S	4,6
2a	II	3,4
2b	II	7
3	III	6,7
4a	IV	3,
4b	IV	6
5	V	7
6	VI	(+)
x	—	7
y	—	3,4

至於生化學反應與福氏痢疾菌一致但不與福氏痢疾菌多價血清凝集的菌種（指100°C加溫後仍不凝集的菌種）可能係 Boyd 氏痢疾桿菌，此類細菌目前國內報告者很少，有關此類菌的診斷血清可根據菌型分佈情況逐步增添。

## 參 考 文 獻

1. Kauffmann F: Enterobacteriaceae. Einar Munksgaard publisher, Copenhagen. 1951
2. Л.В.Троицкий: 微生物學譯報，第一卷，第二期 160 頁 1954 年，6 月，
3. Boyd, s. k: J. Hyg. 38, 477, 1938
4. Boyd, s, k: Trans. Ray. soc. Trop. med. & Hyg. 33, 533, 1940
5. Wheeler K.M: J. Jmmunol. 48, 87, 1944.
6. Wheeler K. M: Amer. J. Publ. Health. 34, 621, 1944
7. Madsen, S: "On the classification of the shigella types. Ejnar Munksgaard, Copenhagen. 1949.



## 診斷用品學習班痢疾菌蘇聯分類小組試制 痢疾菌分型血清總結

### 一、緒 言

大家都知道、痢疾菌的分類方法很多，但是從1950年起國際上才取得協議訂立了國際分類（2）。此外，在蘇聯還有蘇聯分類法（1）這是根據蘇聯學者研究成果及其痢疾流行情況和需要所擬訂的，由 Трошкуні 氏1952於年提出，並為 Гамалея 流行病學微生物學研究所舉行的會議上通過。

在這次診斷用品集中學習之際，我們有機會獲得了蘇聯學者 Трошкуні 氏分類系統的全套標準菌種和血清，為了向蘇聯學習，在這次學習期間，我們參照了“蘇聯痢疾診斷血清製造法規”（3）和“痢疾菌分型及診斷血清的製造及檢定規程（草案）”（4），初步試制了一套按蘇聯分類的痢疾菌分型血清，今將試制過程總結如下：

#### 試制血清的種類

- 葛——志氏痢疾菌血清；
- 史——什氏痢疾菌血清；
- 福氏痢疾菌 a 血清；
  - b 血清；
  - bx 血清；
  - c 血清；
  - d 血清；
  - e 血清；
  - f 血清；
  - x 血清；
- 福氏痢疾菌多價（a—f）血清；
- 新城型痢疾菌血清；
- 鮑——諾氏痢疾菌型 I 血清；
  - II 血清；
  - III 血清；
  - IV 血清；
  - V 血清；
  - VI 血清；
  - VII 血清；
- 宋內氏痢疾菌血清；
- 諾氏“卡赫特”血清；

諾氏“勞曼”血清;  
諾氏“819”血清;  
諾氏“1618”血清;

## 二、血清的製備

1. 菌種的來源: 用作製備血清用的全套菌種, 係上海生物製品研究所魏錫華主任於1956年自蘇聯國家科學院檢定所獲得。其全部菌種見表一, 用作檢定菌種的血清係蘇聯梅契尼可夫研究所出品。

2. 免疫原的製備: 製造的方法是將菌種接種在普通瓊膠平板上分離, 選擇光滑型菌落, 作成純培養進行形態, 生化及血清學檢查。然後將合格的菌種, 接種於肉湯瓶(100毫升)內, 放置 37°C 溫箱, 培育18—24小時後加 0.3% 福馬林殺菌, 經無菌試驗合格後貯存於冰箱內備用。

用作製備葛——志氏痢疾菌血清的免疫原, 是按照“製檢規程(草案)”用瓊膠培養物製備的, 即將檢定完畢的菌種, 接種於瓊膠培養基上, 培育18—24小時, 用 0.3% 福馬林生理鹽水洗下, 經無菌試驗合格後, 然後比濁成一定的濃度分裝於小管內備用。

表一, 自蘇聯國家科學院檢定所獲得的全部菌株單

菌 號	菌 名	原 菌 號	菌 號	菌 名	原 菌 號
1267	福氏痢疾菌 a	226	1201	鮑—諾氏痢疾菌 III	10423
1268	福氏痢疾菌 b	1864	1202	鮑—諾氏痢疾菌 III	1625
1269	福氏痢疾菌 c	538	1203	鮑—諾氏痢疾菌 III	1946
1270	福氏痢疾菌 c	26	1204	鮑—諾氏痢疾菌 IV	12181
1271	福氏痢疾菌 c	337	1205	鮑—諾氏痢疾菌 V	2012
1272	福氏痢疾菌 c	4833	1206	鮑—諾氏痢疾菌 V	3208
1273	福氏痢疾菌 d	414	1207	鮑—諾氏痢疾菌 V	3849
1274	福氏痢疾菌 e	1675	1208	鮑—諾氏痢疾菌 VI	2469
1275	福氏痢疾菌 e	2696	1209	鮑—諾氏痢疾菌 VII	159
1276	福氏痢疾菌 e	224	1300	鮑—諾氏痢疾菌 VII	103
1277	福氏痢疾菌 e	4835	1301	鮑—諾氏痢疾菌 VII	2619
1278	福氏痢疾菌 f	324	1302	宋內氏痢疾菌	5063
1279	福氏痢疾菌 f	326	1303	宋內氏痢疾菌	714
1280	福氏痢疾菌 f	198	1304	葛—志氏痢疾菌	152
1281	福氏痢疾菌 f	4195	1305	葛—志氏痢疾菌	920
1282	福氏痢疾菌 f	4832	1306	葛—志氏痢疾菌	1362
1283	福氏痢疾菌 x	4834	1307	新城痢疾菌	4898
1284	福氏痢疾菌 y		1308	新城痢疾菌	4720
1285	鮑—諾氏痢疾菌 I	30	1309	史—什氏痢疾菌	164
1286	鮑—諾氏痢疾菌 I	196	1310	史—什氏痢疾菌	997
1287	鮑—諾氏痢疾菌 I	1909	1320	諾 氏	卡赫特
1288	鮑—諾氏痢疾菌 II	4830	1321	諾 氏	勞 曼
1289	鮑—諾氏痢疾菌 II	2242	1322	諾 氏	819
1290	鮑—諾氏痢疾菌 II	1016	1323	諾 氏	1618

3. 家兔的選擇及自然抗體的測定：免疫用的家兔係採用體重 2,000 克左右的健康家兔。免疫前採血，用有關菌種測定其自然抗體，而選擇其含自然抗體較低者應用（一般不超過 1:320）。

4. 免疫，採血及血清的處理：

免疫途徑：耳緣靜脈。

免疫劑量及次數：肉湯培養物製備的免疫原為 0.1 毫升，0.25 毫升、0.5 毫升、1.0 毫升及 1.5 毫升。瓊膠培養物製備的免疫原則係 0.1 億，0.5 億、1.0 億、5 億、10 億及 20 億個菌體。

免疫間隔均係四天。

於末次注射後 7—10 天試血，若效價達到要求時，即由頸動脈採血，次日，分離血清加入 1% 的硫柳汞，使其最後濃度為 1:10,000，然後於 55°—56°C，加溫 30 分鐘滅活。經上述處理的血清，除用本菌測定其效價外，還與其他有關病疾菌型作定量凝集試驗以測定其類屬凝集情況。

5. 血清的吸收：吸收試驗用的菌液為 18—24 小時瓊膠培養物。製成每毫升含 100 毫克的菌體，加 0.5—2% 福馬林殺菌。

吸收的方法係按“制檢規程（草案）”所載的方法進行，即先將菌液經遠沉後，棄去上清液，於菌體（沉渣）內加入鹽水混勻，再遠沉，棄去上清液以 0.01% 硫柳汞生理鹽水將血清作成 10 倍稀釋後，加入菌體中，使二者充分混勻，置於 37°C 三小時，並不時加以搖動，然後遠沉，經吸收的血清用吸收菌株作玻片凝集試驗，並應於 30 分鐘內不出現凝集，否則應按上法重新吸收。

### 三、檢 定

經吸收的血清均進行吸收完全度試驗，即於玻片上置血清一滴加入適量菌苔充分混勻後，置於有防乾設備的大平皿內，放置 30 分鐘，如不出現非特異性反應，表明已吸收完全。然後用本菌及有關菌株作玻片凝集試驗，檢查其特異性反應，一般均在 1—2 分鐘內呈現明顯的凝集反應。最後並作定量凝集試驗以測定效價（表六）

定量凝集試驗用的抗原系 18—24 小時的瓊膠培養物以 0.1% 福馬林鹽水稀釋成含 10 億個菌體濃度的懸液。

此外，還作了物理性狀的檢查，如沉澱和溶血以及無菌試驗。

### 四、結 果

在所獲得的 48 個菌株中，它們都能在普通瓊膠上發育良好，均為革蘭氏陰性的桿菌，這些菌株的生化反應結果如表二所示。由表二得知它們的生化反應基本上都符合於痢疾菌的定義。

3 株葛—志氏痢疾菌及 2 株史—什氏痢疾菌的生化反應和一般文獻所載的相符，即它們不分解甘露醇，其中 1 株葛—志氏痢疾菌（1304）能分解麥芽糖。2 株史—什氏痢疾菌均能分解鼠李糖和產生凝集質。其中 1 株（1309）還能於第五天發酵山梨醇。

在 18 株福氏痢疾菌中，各個菌型的生化反應是不易區分的，有的能分解鼠李糖，有

表二、蘇聯痢疾菌株的生化反應

菌 種	培 養 基	葡 萄 糖	乳 糖	甘 露 糖	肌 醇	麥 芽 糖	水 蘇 糖	蔗 糖	木 糖	山 梨 糖 醇	菊 糖	尿 素	脫 氫 基 質	硫 化 氫	動 力
		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1267	a	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1268	b	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1269	c	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1270	c	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1271	c	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1272	c	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1273	d	+	-	+	-	+	-	+10	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1274	d	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1275	e	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1276	e	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1277	e	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1278	f	+	-	+	-	+12	-	+11	-	+	-	-	-	-
福 氏 氏	1279	f	+	-	+	-	+6	-	+7	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1280	f	+	-	+	-	-	-	+10	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1281	f	+	-	+	-	-	-	+6	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1282	f	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1283	x	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福 氏 氏	1284	y	+	-	+	-	+8	-	-	-	+4	-	-	-	-
諾 氏 氏	1285	I	+	-	+	-	-	-	+2	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1286	I	+	-	+	-	-	-	+12	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1287	I	+	-	+	-	-	-	+11	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1288	II	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1289	II	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1290	II	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+3	-	-	-
諾 氏 氏	1291	III	+	-	+	-	-	+10	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1292	III	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1293	III	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1294	IV	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1295	V	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+12	-	-	-
諾 氏 氏	1296	V	+	-	+	-	-	-	+12	-	-	+7	-	-	-
諾 氏 氏	1297	V	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+7	-	-	-
諾 氏 氏	1298	VI	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+12	-	-	-
諾 氏 氏	1299	VII	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+12	-	-	-
諾 氏 氏	1300	VII	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+12	-	-	-
諾 氏 氏	1301	VII	+	-	+	-	-	-	+11	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1302		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1303		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1304		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1305		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1306		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
新 城 氏	1307		⊕	-	⊕	-	-	-	-	-	-	+7	-	-	-
新 城 氏	1308		⊕	-	⊕	-	-	-	-	-	-	+10	-	-	-
皮 什 氏	1309		+	-	+	-	-	-	-	-	-	+5	-	-	-
皮 什 氏	1310		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1320		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
諾 氏 氏	1321		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
819	1322		+	-	-	-	-	-	-	-	-	+11	+11	-	-
1618	1323		+	-	-	-	+15	-	-	-	-	+10	-	-	-

的發酵麥芽糖，有的蔗糖，有的山梨醇。有的能產生脫氫基質。由此可見，各菌型的測定主要是依靠血清學。

2株新城型痢疾菌的生化反應不同於上述福氏痢疾菌，它們在分解葡萄糖時能產生小量氣體，且能遲緩分解蔗糖(7-10)，根據對甘露醇反應的結果，1株(1307)屬於新城型，另1株(1308)係曼徹斯特痢疾菌。

從表二可以看出，在17株鮑—諾氏痢疾菌中，它們都能發酵甘露醇，其中I型、II型（1289例外），及1株（1301）Ⅲ型能分解木糖，所有V型菌株都能分解衛矛醇，這點是和福氏痢疾菌有區別的。

宋內氏痢疾菌株的生化反應不同於福氏及鮑—諾氏痢疾菌，它們能遲緩分解乳糖，且有1株（1303）還能迅速分解蔗糖。

除此以外，我們還有4株甘露醇陰性的菌株。按原載型別為諾氏卡赫特（ТНХТ），勞曼（Роман），819及1618。根據 Троцкий 氏分類，卡赫特相當於薩克斯（Sachs）氏的 Q454，勞曼相當於 Q1167。1618與 Q771 相同。819與 Q1030不能區別。由於這些菌株在病因學及流行病學上的意義還不清楚。因此，Троцкий 氏未將此類菌株列入該氏分類中。它們的生化反應基本上與薩克斯氏菌是相符的。

各菌株用蘇聯痢疾診斷血清檢查的結果均與原載型別相符合（福氏菌 X, Y, 諾氏卡赫特，勞曼，819及1618因無蘇聯血清，未檢查）。

表三係我們檢查一些家兔自然抗體的結果，由表三可見，家兔正常血清含福氏痢疾菌的自然抗體較高，這個結果與痢疾菌國際分類小組是相符合的(7)。

表四是各試驗菌株的交叉凝集情況，從表四表明，葛—志氏痢疾菌，史—什氏痢疾菌，鮑—諾氏痢疾菌，宋內氏痢疾菌與各菌株間僅有低度交叉反應。

血清吸收是依據試管凝集和玻片凝集交叉情況而決定。表五記載了各種血清的免疫菌，吸收菌及吸收後的凝集價。

在這次實驗中，我們用一個X菌株（1283）製備了一個X血清，這次血清曾用國際分類福氏菌1—6型地方菌株31株檢查結果均係陰性，4株Y菌，其中3株為陰性，1株為“+”，而與4株X菌檢查均呈“++” — “+++”的凝集，與本菌的凝集價為640倍，是否係純X血清尚有待進一步的研究。

表三、 家兔自然抗體測定的結果

抗 原	安 兔 血 清 稀 釋 倍 數	血 清 稀 釋 倍 數						
		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640或更高	
福 氏	a	45	0	0	3	25	12	5
	b	45	0	9	9	9	9	9
	c	58	0	11	17	24	5	1
	d	44	0	3	15	15	10	1
	e	57	0	31	18	8	0	0
	f	58	0	11	25	16	5	1
鮑—諾氏	I	13	12	0	1	0	0	0
	II	13	11	2	0	0	0	0
	III	13	10	2	1	0	0	0
	IV	13	12	0	1	0	0	0
	V	13	11	2	0	0	0	0
	VI	13	12	1	0	0	0	0
	VII	13	8	3	2	0	0	0



表五、製造血清的免疫菌株，吸收菌及吸收後的血清效價

血清名稱	免疫抗原	原血清 效價	吸 收			吸收後的 血清效價
			總吸收次數	吸 收 菌 名	總用量	
葛一志氏痢疾菌	葛一志氏痢疾菌 1305	1,380X	2	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 1a	400毫克 150 " 150 "	1,380X
史一什氏痢疾菌	史一什氏痢疾菌 1330	10,240	3	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 f 福氏痢疾菌 I 型 福氏痢疾菌 I 型	100毫克 100 " 50 " 150 " 200 "	2,560X
福氏痢疾菌 a	福氏痢疾菌 a 1267	10,240X	11	福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 e 福氏痢疾菌 f 福氏痢疾菌 1a 福氏痢疾菌 3 福氏痢疾菌 4a 福氏痢疾菌 5	800毫克 2500 " 800 " 200 " 600 " 700 " 600 " 900 "	a: 2,560X y: 640X
福氏痢疾菌 b	福氏痢疾菌 b 1268	2,560X	4	福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 e 福氏痢疾菌 x	1400毫克 300 " 700 "	640X
福氏痢疾菌 bx	福氏痢疾菌 b 1268	2,560X	6	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 e 福氏痢疾菌 3	50毫克 4350 " 300 " 50 "	b: 640X x: 320X
福氏痢疾菌 c	福氏痢疾菌 c 1269	10,240X	4	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 b 福氏痢疾菌 d	400毫克 400 " 200 "	1,280X
福氏痢疾菌 d	福氏痢疾菌 d 1273	30,480X	5	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 e 福氏痢疾菌 3	250毫克 100 " 900 " 100 "	320 X
福氏痢疾菌 e	福氏痢疾菌 e 1275	10,240X	5	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 f 福氏痢疾菌 x	400毫克 50 " 200 " 400 " 100 "	320 X
福氏痢疾菌 f	福氏痢疾菌 f 1282	10,240X	8	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 b 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 4b 福氏痢疾菌 5	200毫克 200 " 400 " 2750 " 200 " 200 "	32 X 6400 X

續表五

福氏痢疾菌 x	福氏痢疾菌 x 1283	640X	9	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 b 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 c	400毫克 2400 400 400	640 X
福氏痢疾菌 多價 (a-f)	福氏痢疾菌 a-f 血清 等量混合		1	新城型痢疾菌	400 毫克	a:2560X b:2560X c:640X d:5,120X e:5,120X f:2,560X
新城型痢疾菌	新城型痢疾菌 1307	6,400 X	1	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 1b	200毫克 200	5,120X
鮑-諾氏痢疾菌 型 I	鮑-諾氏痢疾菌 I型 1287	320 X	1	福氏痢疾菌 3 史-什氏痢疾菌	150毫克 150	320 X
鮑-諾氏痢疾菌 型 II	鮑-諾氏痢疾菌 II型 1290	1280 X	1	福氏痢疾菌 1a 福氏痢疾菌 3	150毫克 150	640 X
鮑-諾氏痢疾菌 型 III	鮑-諾氏痢疾菌 III型 1292	1600 X	2	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 f 福氏痢疾菌 1a 福氏痢疾菌 1b	100毫克 100 100 100 100 100	1,280X
鮑-諾氏痢疾菌 型 IV	鮑-諾氏痢疾菌 IV型 1294	1600 X	1	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 鮑-諾氏痢疾菌III	200毫克 100 100 100	320 X
鮑-諾氏痢疾菌 型 V	鮑-諾氏痢疾菌 V菌 1297	1,280X	4	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 1a 福氏痢疾菌 y	300毫克 100 500 450 50	1,280 X
鮑-諾氏痢疾菌 型 VI	鮑-諾氏痢疾菌 VI型 1298	2,560X	4	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 1a	1250毫克 250 150 100	2,560X
鮑-諾氏痢疾菌 型 VII	鮑-諾氏痢疾菌 VII型 1299	12800X	2	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 1a 史-什氏痢疾菌	200毫克 200 300 100 100	1,280 X



續表五

宋內氏痢疾菌	宋內氏痢疾菌 1302	6400 X	1	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 d	100毫克 100 "	1,280X
諾氏 “卡赫特”	諾氏“卡赫特” 1320	640 X	1	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 d	100毫克 100 "	640 X
諾氏 “勞曼”	諾氏“勞曼” 1321	6400 X	2	福氏痢疾菌 a 福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 1a 福氏痢疾菌 1b	200毫克 100 " 100 " 100 "	1,280X
諾氏 “819”	諾氏“819” 1322	5,120X	1	福氏痢疾菌 c 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 f	150毫克 200 " 200 "	2,560X
諾氏 “1618”	諾氏“1618” 1323	320 X	1	福氏痢疾菌 f 福氏痢疾菌 d 福氏痢疾菌 y	100毫克 150 " 50 "	320 X

註：a, b, c, d, e, f, …… 為蘇聯分類福氏痢疾菌株。  
1a, 1b, 2a, 3, 4a …… 係國際分類福氏痢疾菌株。

表六係吸收後的蘇聯痢疾菌分型血清與本菌及與國際分類痢疾菌的凝集表。由表六得知福氏痢疾菌 a 血清除與本菌凝集至 2560 倍外，尚與福氏痢疾菌 Y 凝集至 640 倍。bx 血清除與 b 凝集至 640 倍外，還與福氏痢疾菌 2b 凝集至 160 倍，與 X 凝集至 320 倍。福氏痢疾菌 C 血清除與本菌凝集至 1280 倍外，尚與福氏痢疾菌 2a 凝集至 320。福氏痢疾菌 c 血清與本菌凝集為 320 倍，與福氏痢疾菌 3 型凝集至 320 倍。福氏痢疾菌 f 血清與本菌凝集至 640 倍，與 1a 型凝集達 1,280 倍，1b 型達 1,280 倍。福氏痢疾菌 b 血清與本菌的凝集價為 640 倍，與福氏痢疾菌 2b 型的凝集為 160 倍。

鮑一諾氏痢疾菌型 I 血清與本菌凝集至 320 倍與國際分類的鮑愛德氏痢疾菌 I 型凝集至 320 倍。鮑一諾氏痢疾菌型 II 血清除與本菌凝集至 640 倍外，尚與國際分類鮑愛德氏痢疾菌 7 型凝集達 640 倍。鮑一諾氏痢疾菌型 III 血清與本菌凝集至 1280 倍，與國際分類鮑愛德氏痢疾菌 4 型凝集達 320 倍。鮑一諾氏痢疾菌型 V 血清與本菌凝集為 1280 倍，與國際分類鮑愛德氏痢疾菌 2 型達 320 倍。鮑一諾氏痢疾菌型 VI 血清與本菌的凝集價為 1,280 倍，與國際鮑愛德氏痢疾菌 5 型凝集至 80 倍。

諾氏“卡赫特”血清與本菌凝集至 640 倍，與國際分類薩克斯氏菌 Q454 凝集至 640 倍，諾氏“勞曼”血清的本菌效價為 1,280 倍與國際分類薩克斯氏菌 Q771 的凝集為 1,280 倍。諾氏 819 血清與本菌凝集至 2,560 倍與國際分類薩克斯氏菌 Q1030 凝集至 2,560 倍。





## 五、經 驗

在我們製備的血清中，葛一志氏，史一什氏，鮑一諾氏以及諾氏“卡特赫”，“勞曼”，“819”，“1618”等，它們在抗原構造上是特異的，雖然與其他有交叉凝集，但這樣低度的凝集只要用小量的相應菌株吸收即可除去。

包括在 Троцкий 氏分類系統的福氏痢疾菌是一群相互間具有共同抗原的菌株，這可以從表四的交叉情況得到證明，因此，想獲得一個特異的分型血清，必須使用相應菌株除去它們之間的類屬凝集。

在製備 a 血清時，我們曾先後經過七次小量吸收試驗，在小量吸收時，我們發現要想獲得一個純 a 血清，主要的困難是不易除去與 Y 菌株（國際分類）的類屬凝集。雖然在我們的小量吸收試驗中，有三次成功地獲得過純 a 血清，但也有三次失敗，先用小量 Y 菌吸收，然後用別的菌吸收結果製成純 a 血清其效價為 320 倍，但是當我們用另外一隻免疫家兔血清重覆試驗時，結果沒有得到純 a 血清。由於 a 菌與 Y 菌在抗原上關係如此密切，同時，為了實用目的，把這二個菌型分開是不適當的(5)。所以我們製備的 a 血清，除與 a 凝集外，並能凝集國際分類的 Y 菌株。

根據文獻(1)及我們的實驗結果(6) Троцкий 氏分類系統的福氏痢疾菌 C 相當於國際分類福氏痢疾菌 2a 型，b 相當於國際分類的 2b 型。2a 和 2b 這二個亞型，按國際分類它們之間的區別，僅在於群抗原成分，而型抗原是相同的。因此，要想獲得純 b 及純 C 血清，必須首先除去它們間的凝集。

在製備純 c 血清時，並不十分困難。但欲得一純 b 血清，主要的困難是不易除去與 X 菌株的凝集素，後來我們經過數次小量吸收試驗後得到，即要想得到純 b 血清，需用多次小量 X 菌吸收，然後再以其他菌型吸收，方始獲得。在大量製造時，亦得到了相同的結果。

e 和 d 型菌株，用國際分類血清檢定其交叉凝集關係，結果證明它們在結構上是很密切的，用 d 型菌去吸收 e 血清，或用國際分類 3 型（相當於 e 型）去吸收 d 血清，往往可使吸收後的血清效價降得很低。所以我們這次製備的 e 血清效價都較低，因此，在玻片凝集反應上與國際 3 型菌的凝集也較弱。

在這次實驗中曾獲得了一個純 X 血清，但是用另外一個菌株 (51308) 作實驗時，結果二次都失敗了，關於 X 菌株是否含有特異性抗原問題，尚須作進一步的研究。

## 六、總 結

按蘇聯痢疾診斷血清製造法規及痢疾菌分型及診斷血清的製造及檢定規程（草案）試製成一套按蘇聯分類的痢疾菌分型血清，其中包括：葛一志氏痢疾菌，史一什氏痢疾菌，福氏痢疾菌 a, b, c, d, e, f, bx, x, 福氏痢疾菌多價 (a—f)，新城型痢疾菌，鮑一諾氏痢疾菌 I, II, III, IV, V, VI, VII, 宋內氏痢疾菌，諾氏“卡特赫”，“勞曼”，“819”及“1618”等 24 種血清，並對有關問題作了說明。

本文執筆者：茅清吾，周惠民。

### 參 考 資 料

1. Троицкий, В. Л.; Ж. М. Э. И., 3:7 (微生物學譯報, 1954, 1:160) 1953.
2. Kauffmann, F.; *Enterobacteriaceae*. munksgaard, Copenhagen, 1954,
3. 蘇聯痢疾診斷血清製造法規。
4. 痢疾菌分型及診斷血清的製造及檢定規程(草案)。
5. Пехленка, В. Я. И. Альгаузен, В. П. 微生物學譯報, 3:4, 1956.
6. 痢疾菌在蘇聯分類與國際分類中各相應菌型的血清學比較試驗初步報告。
7. 診斷用品學習班痢疾菌國際分類小組試製痢疾菌分型血清總結。

## 國際菌痢疾班學習用品診斷 分類小組試制痢疾菌分型血清總結

### 一、緒 言

桿菌痢疾是我國廣泛和經常流行的疾病，是夏、秋季最常見的腸道傳染病，它威脅人民的健康，損害勞動生產力，以至影響經濟建設。由於我國以往科學落後，缺乏有關痢疾方面的系統調查和研究，自全國解放後，黨和政府重視人民衛生事業，提倡科學研究，因而引起國內許多學者，對痢疾菌流行情況的調查，傳染源的追索及菌型分佈等的研究，為今後痢疾噬菌體的生產和有關生物制品以及對桿菌痢疾的防治提供了參考資料。

診斷痢疾菌型的分型血清自 1953 年以來，我國各地已先後（1—6）開始摸索試制，並有小量產品，供應外界需要。

衛生部為了適應祖國的衛生事業及研究工作蓬勃發展的需要，責成生物制品委員會在大連生物制品研究所成立“診斷用品學習班”，集中全國各生物制品研究所的有關人員於大連所在相互學習，共同提高的方針下學習沙門氏菌屬因子血清，傷寒，副傷寒，變形桿菌診斷菌液及痢疾菌分型血清的製造方法，以便將來各所在統一的步調下進行大量生產來滿足外界需要，本小組根據“痢疾菌分型及診斷血清的製造和檢定規程（草案）”（7），及蘇聯痢疾診斷血清製造法規”（8）並參考了 Madsen 氏等（9—15）方法試制了一套（31種）分型血清，其中包括：

#### A 群菌血清

痢疾志賀氏菌型 1	血清；
2	血清；
3 (Q771)	血清；
4 (Q1167)	血清；
5 (Q1030)	血清；
6 (Q454)	血清；
7 (Q902)	血清；

#### B 群菌血清；

福氏志賀氏菌型 1	血清；
2	血清；
3	血清；
4	血清；
5	血清；

福氏志賀氏菌型 6	血清;
S 特異性因子	血清;
群 4	血清;
3	血清;
6	血清;
7	血清;
3.4	血清;
C 群菌血清	
鮑愛德氏菌血清型 1	血清;
2	血清;
3	血清;
4	血清;
5	血清;
6	血清;
7	血清;

#### D 群菌血清

宋內氏志賀氏菌血清;

多價及混合血清:

4 種痢疾菌 (志賀氏, 什密次氏, 福氏及宋內氏菌) 混合血清;

福氏志賀氏菌多價 (1—6 型) 血清;

鮑愛德氏志賀氏菌多價 (1—7 型) 血清;

痢疾志賀氏菌 3—7 型多價 (薩克斯氏菌) 血清。

## 二、血清的制備

1. 菌株的來源: 此次試驗用的菌株大部份係大連所日常生產用的, 少數的菌株來自國內衛生研究機構, 其中亦有自傳染病院分離得來的菌株, 見表一。

2. 免疫原的制備: 制備免疫原用的菌株都經過形態及生化學特性檢查, 均為典型的痢疾菌 (見表二) 用相應的血清 \* 檢查其抗原結構時, 結果亦均正常 (見表一), 制備免疫原時採取光滑型菌落接種於肉湯培養基內, 經 18—20 小時培育後, 加 0.3% 福馬林殺菌, 制備痢疾志賀氏菌 I 型免疫原係採用瓊膠培養物加福馬林殺菌, 制備多價血清用的免疫原, 是把各型培養物等量混合制成。

3. 家兔的選擇及自然抗體的測定: 試驗用的家兔均係健康, 體重一般在二公斤左右, 免疫前採血, 測定其自然抗體, 倘效價超過 1:320 以上即不予使用。

開始測定家兔自然抗體時, 是與各型痢疾菌作凝集試驗, 但經過測定 25 隻家兔後, 發現該血清與福氏志賀氏菌都有較高的凝集, 尤以福氏志賀氏菌 I—III 型為最突出。為了節省材料和時間起見, 以後我們只採用福氏 I, II, III 菌型作凝集, 結果見表三。

註。血清: 志賀氏, 什密次氏, 宋內氏及福氏志賀氏菌分型血清係大連所出品;

鮑愛德氏志賀氏菌 1—7 型血清係英國寶成藥廠出品;

痢疾志賀氏菌 3—7 型 (薩克斯氏菌) 血清係來自衛生部生物製品檢定所。

表一 試制血清用菌種來源及其抗原構造

群別	菌種名稱	菌號	抗原構造	原始來源	直接來源
A	痢疾志賀氏菌型				
	痢疾志賀氏菌 1	51335		蘇聯塔拉薩蘇奇中央 國家科學檢定所	衛生部生物制品檢定 所
	痢疾志賀氏菌 2	51337		不明	”
	痢疾志賀氏菌 3	1325		中國人民解放軍醫學 科學院	”
	痢疾志賀氏菌 4	1327		”	”
	痢疾志賀氏菌 5	1326		”	”
	痢疾志賀氏菌 6	1324		”	”
	痢疾志賀氏菌 7	1328		”	”
B	福氏志賀氏菌型 亞型				
	福氏志賀氏菌 1 1a	T166-2	I:1	上海生物制品研究所	大連生物制品研究所
	福氏志賀氏菌 1b	1076	IS:4,6	捷克流行病學微生物 學研究所	衛生部生物制品檢定 所
	福氏志賀氏菌 2 2a	51026	II:3,4	不明	”
	福氏志賀氏菌 2b	233	II:7	大連生物制品研究所	大連生物制品研究所
	福氏志賀氏菌 2b	720	III:7	”	”
	福氏志賀氏菌 3	51303	III:6,7	捷克流行病學微生物 學研究所	衛生部生物制品檢定 所
	福氏志賀氏菌 4 4a	51305	IV:—	”	”
	福氏志賀氏菌 4b	51312	IV:6	”	”
福氏志賀氏菌 5	博 726	V:7	大連生物制品研究所	大連生物制品研究所	
福氏志賀氏菌 6	吳傳 3630	VI:—	”	”	
福氏志賀氏菌 變種V	吳傳 1962	—:3,4	”	”	
C	鮑愛德氏志賀氏菌型				
	鮑愛德氏志賀氏菌 1	1203		第二軍醫大學	中國人民解放軍醫學 科學院
	鮑愛德氏志賀氏菌 2	1204		”	”
	鮑愛德氏志賀氏菌 3	1205		”	”
	鮑愛德氏志賀氏菌 4	1206		”	”
	鮑愛德氏志賀氏菌 5	1207		”	”
	鮑愛德氏志賀氏菌 6	1090		捷克流行病學微生物 學研究所	衛生部生物制品檢定 所
鮑愛德氏志賀氏菌 7	1091		”	”	
D	宋內氏志賀氏菌	51334		蘇聯基輔流行病學微 生物學研究所	衛生部生物制品檢定 所



表二 試制血清用菌種生化反應

菌種及菌號	培 基	葡 萄 糖	乳 糖	甘 露 糖	澱 粉	山 梨 醇	鼠 李 糖	木 糖	銀 花 金 素 醇	蔗 糖 質	動 力
痢疾志賀氏菌 型 菌 號											
痢疾志賀氏菌 1 51335		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
痢疾志賀氏菌 2 51337		+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
痢疾志賀氏菌 3 1325		+	-	-	-	+ <sup>9</sup>	-	-	-	-	-
痢疾志賀氏菌 4 1327		+	-	-	-	+ <sup>8</sup>	-	-	-	-	-
痢疾志賀氏菌 5 1326		+	-	-	-	+ <sup>7</sup>	-	-	-	-	-
痢疾志賀氏菌 6 1324		+	-	-	-	+ <sup>7</sup>	-	-	-	-	-
痢疾志賀氏菌 7 1328		+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
福氏志賀氏菌 型 亞型 菌 號											
福氏志賀氏菌 1 1a T160-2		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 1b 4076		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 2 2a 51206		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 2b 233		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 2b 720		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 3 51303		+	-	+	-	+ <sup>7</sup>	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 4 4a 51305		+	-	+	-	+	-	-	-	+	-
福氏志賀氏菌 4b 51312		+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
福氏志賀氏菌 5 傳 736		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 6 長傳 3650		+	-	+	-	+ <sup>8</sup>	+ <sup>10</sup>	-	-	-	-
福氏志賀氏菌 變種Y長傳1952		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
鮑愛德氏志賀氏菌 型 菌 號											
鮑愛德氏志賀氏菌 1 1203		+	-	+	-	-	-	+ <sup>13</sup>	-	-	-
鮑愛德氏志賀氏菌 2 1204		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
鮑愛德氏志賀氏菌 3 1205		+	-	+	+ <sup>7</sup>	+	-	-	-	-	-
鮑愛德氏志賀氏菌 4 1208		+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
鮑愛德氏志賀氏菌 5 1207		+	-	+	-	+ <sup>2</sup>	-	+ <sup>16</sup>	-	+	-
鮑愛德氏志賀氏菌 6 1090		+	-	+	+ <sup>2</sup>	+	-	-	-	-	-
鮑愛德氏志賀氏菌 7 1091		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
宋內氏志賀氏菌 51334		+	+ <sup>10</sup>	+	-	-	+	-	-	-	-

注: + = 24 小時小量陽性反應;  
 +7 = 培育至第7天呈陽性反應;  
 - = 觀察14天呈陰性反應。

由表三得知家兔對福氏志賀氏菌Ⅰ—Ⅱ型的凝集價為最高，關於這一點我們推測可能與人類流行的痢疾菌型有關，根據幾年來我國各地所報告的資料看，(5,16—18)亦以福氏菌前三個菌型的百分率佔最高。鮑愛德氏志賀氏菌群病例很少，薩克斯氏菌群尚未有過報告，因此，家兔含這二個菌群的天然抗體也是很低的，最高也未超過 1:80 以上。

此次測定天然抗體時，未包括痢疾志賀氏菌Ⅰ型及Ⅱ型在內，也是這個緣故。

4. 免疫，採血及血清的處理：免疫的程序和方法是按“制檢規程（草案）”中所訂的進行，即：肉湯制備的免疫原，免疫時劑量自 0.1 毫升遞增至 1.5 毫升、痢疾志賀氏菌Ⅰ型的瓊膠培養物，免疫時從 0.1 億個菌體增加至 20 億個菌體，耳緣靜脈注射，每次注射的間隔為 5 天，末次注射的 7—10 天試血，效價達到要求時即行全部採血，否則再注射二次。血清分離後，加入 1% 硫柳汞溶液使成 1:10,000 濃度，然後於 55°—

表三 家兔自然抗體測定結果

菌 類 別	家兔隻數	血 清 稀 釋 倍 數					
		<40	40	80	160	320	>320
福氏志賀氏菌 Ⅰ Ⅱ型							
福氏志賀氏菌 1 1a	87	10	19	20	15	17	6
福氏志賀氏菌 1b	25	0	0	7	5	8	5
福氏志賀氏菌 2 2a	85	8	27	26	17	6	1
福氏志賀氏菌 2b	24	0	2	9	7	4	2
福氏志賀氏菌 3	87	3	9	29	26	18	2
福氏志賀氏菌 4 4a	39	26	6	6	0	1	0
福氏志賀氏菌 4b	25	4	9	8	2	1	1
福氏志賀氏菌 5	25	5	8	10	1	1	0
福氏志賀氏菌 6	25	15	6	4	0	0	0
福氏志賀氏菌 變種 X	25	1	4	8	8	3	1
福氏志賀氏菌 變種 Y	25	0	1	11	10	2	1
鮑愛德氏志賀氏菌 型							
鮑愛德氏志賀氏菌 1	14	11	1	2	0	0	0
鮑愛德氏志賀氏菌 2	14	14	0	0	0	0	0
鮑愛德氏志賀氏菌 3	14	14	0	0	0	0	0
鮑愛德氏志賀氏菌 4	14	14	0	0	0	0	0
鮑愛德氏志賀氏菌 5	14	14	0	0	0	0	0
鮑愛德氏志賀氏菌 6	14	12	1	1	0	0	0
鮑愛德氏志賀氏菌 7	14	14	0	0	0	0	0
痢疾志賀氏菌 型							
痢疾志賀氏菌 3	15	15	0	0	0	0	0
痢疾志賀氏菌 4	15	15	0	0	0	0	0
痢疾志賀氏菌 5	15	15	0	0	0	0	0
痢疾志賀氏菌 6	15	15	0	0	0	0	0
痢疾志賀氏菌 7	15	15	0	0	0	0	0
宋內氏志賀氏菌	15	14	10	1	0	0	0

註：稀釋價自 1:10—1:320  
>320 超過 320 倍

表五 分型血清的制造

血清名稱	免疫抗原	原血清 效價	吸 收			吸收後的 血清效價
			總吸收 次數	吸 收 菌 名	總用量	
痢疾志賀氏菌 型 1	痢疾志賀氏菌 1型(51385)	6,400X	3	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 5 福氏志賀氏菌 Y 大腸菌	350 毫克 300 毫克 150 毫克 200 毫克 150 毫克	5,120X
痢疾志賀氏菌 型 2	痢疾志賀氏菌 2型(51387)	12,800	1	福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 Y	200 毫克 100 毫克	20,480X
痢疾志賀氏菌 型 3	痢疾志賀氏菌 3型(Q771) (1325)	320X	1	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4a	100 毫克 100 毫克 150 毫克	320X
痢疾志賀氏菌 型 4	痢疾志賀氏菌 4型(Q1167) (1327)	800X	1	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀菌 4a(鐵 28)	150 毫克 150 毫克 150 毫克	1,280X
痢疾志賀氏菌 型 5	痢疾志賀氏菌 5型(Q1030) (1326)	400X	1	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4b 痢疾志賀氏菌 2型	25 毫克 75 毫克 100 毫克 25 毫克	320X
痢疾志賀氏菌 型 6	痢疾志賀氏菌 6型 (Q454)(1324)	1,280X	未吸收			1,280X
痢疾志賀氏菌 型 7	痢疾志賀氏菌 7型 (Q802)(1328)	3,200X	1	福氏志賀氏菌 1a " " 3 大腸菌	200 毫克 200 毫克 200 毫克	2,560X
痢疾志賀氏菌 3-7型多價 *	痢疾志賀氏菌 3-7型 用多價血清 20 毫升加 3 型, 4 型, 5 型及 6 型血 清各 6 毫升加硫 柳素鹽水 56 毫升 配成	160— 640X	2	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 2a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4a(鐵 28) 痢疾志賀氏菌 2型	43 毫克 33 毫克 22 毫克 65 毫克 86 毫克 43 毫克	160—640X
福氏志賀氏菌 型 1	福氏志賀氏菌 1a型 (F166-2)	12,800X	4	福氏志賀氏菌 2a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4b 福氏志賀氏菌 5 福氏志賀氏菌 Y 福氏志賀氏菌 X 大腸菌	800 毫克 250 毫克 150 毫克 400 毫克 500 毫克 250 毫克 400 毫克	1a: 5,120X 1b: 5,120X

(續表五)

血清名稱	免疫抗原	原血清 效價	吸 收		吸收後的 血清效價	
			總吸收 次	吸 收 菌 名 總用量		
福氏志賀氏菌 型2	福氏志賀氏菌 2b型(233)	6,400X 以上	8	福氏志賀氏菌 Y 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 X	470 毫克 674 " " " " 40 " " 800 " "	2a:320X 2b:640X
福氏志賀氏菌 型3	福氏志賀氏菌 3型(51303)	2,560X	5	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 2b 福氏志賀氏菌 4b 福氏志賀氏菌 5 福氏志賀氏菌 X 福氏志賀氏菌 Y	450 毫克 100 " " 100 " " 580 " " 150 " " 300 " " 300 " "	640X
福氏志賀氏菌 型4	福氏志賀氏菌 4a(51305)	3,200X	4	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 Y 痢疾志賀氏菌 2型 大腸菌	200 毫克 200 " " 800 " " 400 " " 200 " "	a:5,120 b:2,56
福氏志賀氏菌 型5	福氏志賀氏菌 5型(傳726)	6,400X	6	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 Y 痢疾志賀氏菌 1型 大腸菌	400 毫克 400 " " 1,700 " " 600 " " 200 " " 250 " "	2,560X
福氏志賀氏菌 型6	福氏志賀氏菌 6型(長傳3850)	3,200X	4	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 2a 福氏志賀氏菌 Y 傷寒沙門氏菌("H"901)	400 毫克 500 " " 500 " " 400 " " 200 " "	1,280X
福氏志賀氏菌 S特異因子	福氏志賀氏菌 1b型(1076)	6,400X	5	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4b	1,300 毫克 2,000 " " 400 " "	1,280X
福氏志賀氏菌 群3	福氏志賀氏菌 2a型(51026)	6,400X	3	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 2b 福氏志賀氏菌 3	1,000 毫克 1,000 " " 500 " "	2a:1,280X 4a: 640X Y:640X
福氏志賀氏菌 群4	福氏志賀氏菌 2a型(51026)	1,600X	6	福氏志賀氏菌 2b 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4a(鐵28) 福氏志賀氏菌 X	1,000 毫克 800 " " 1,250 " " 200 " "	1a:2,560X 1b:1,280X 2a:2,560X Y:1,280X

(續表五)

血清名稱	免疫抗原	原血清效價	驗 收			收 驗 後 的 血清效價
			總吸痰數	驗 收 劑 名	總用量	
福氏志賀氏菌 群 6	福氏志賀氏菌 4b型(51312)	6,400X	3	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 4a 福氏志賀氏菌 Y 大腸菌	200 毫克 800 " 400 " 200 "	8:5,120X 4b:2,560X 1b:2,560X
福氏志賀氏菌 群 7	福氏志賀氏菌 2b型(720)	12,800X	4	福志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 2a	800 毫克 800 " 1,600 "	2b:5,120X 3:5,120X 5:1,280X X:5,120X
福氏志賀氏菌 群 3.4	福氏志賀氏菌 2a型(51302)	5,120X 以上	4	福氏志賀氏菌 2b 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 X	1,800 毫克 1,200 " 200 "	1a:2,560X 2a:2,560X 4a:640X y: 1,280 1b:2,560X
* 福氏志賀氏菌 多 價	福氏志賀氏菌 1a(1166) 福氏志賀氏菌 2a(51026) 福氏志賀氏菌 9(51303) 福氏志賀氏菌 4a(51305) 福氏志賀氏菌 5(長傳726) 福氏志賀氏菌 6(長傳3650) 用多價血清 14.4 毫升加福氏菌 6 型血清 3.6 毫升 加硫柳膠鹽水 162毫升混合	400X 640X	1	痢疾志賀氏菌 1 型	300 毫克	640X—5,120X
鮑 愛 德 氏 菌 型 1	鮑 愛 德 氏 菌 1型(1203)	3,200X	2	福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 2b 痢疾志賀氏菌 1型 痢疾志賀氏菌 2型 大腸菌	300 毫克 200 " 100 " 50 " 300 "	2,560X
鮑 愛 德 氏 菌 型 2	鮑 愛 德 氏 菌 2型(1204)	800X	1	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 2a 福氏志賀氏菌 3	200 毫克 100 " 100 "	1,280X
鮑 愛 德 氏 菌 型 3	鮑 愛 德 氏 菌 3型(1205)	1,600X	1	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4a(繼28)	150 毫克 150 " 150 "	640X

(續表五)

血清名稱	免疫抗原	原血清效價	發 收		發收後的血清效價	
			總發收數	總用量		
鮑愛德氏菌 型4	鮑愛德氏菌 4型(120%)	400X	1	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 2a 福氏志賀氏菌 4a 痢疾志賀氏菌 2型	130 毫克 150 " " 150 " " 200 " "	640X
鮑愛德氏菌 型5	鮑愛德氏菌 5型(120%)	800X	7	福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 4a(鐵28) 福氏志賀氏菌 1a 人腸菌	1,600 毫克 1,600 " " 700 " " 1,330 " "	640X
鮑愛德氏菌 型6	鮑愛德氏菌 6型(100%)	12,800X	2	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 1b 福氏志賀氏菌 2b 福氏志賀氏菌 4a(鐵28) 痢疾志賀氏菌 1型	550 毫克 100 " " 200 " " 150 " " 300 毫克	10,240X
鮑愛德氏菌 型7	鮑愛德氏菌 7型(100%)	6,400X	1	福氏志賀氏菌 1b 人腸菌	200 " " 150 " "	5,120X
鮑愛德氏菌 (1-7型)多價	鮑愛德氏菌 1-7型	320X— 1,280X	2	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 痢疾志賀氏菌 1型 痢疾志賀氏菌 2型	200 毫克 150 " " 50 " " 400 " "	320X—1,280X
宋內氏志賀氏菌	宋內氏志賀氏菌 (51334)	3,200X	2	福氏志賀氏菌 1a 福氏志賀氏菌 3 福氏志賀氏菌 X 福氏志賀氏菌 Y	130 毫克 100 " " 150 " " 250 " "	2,500X
4種痢疾志賀氏菌 混合	* 痢疾志賀氏菌 1型血清4.5毫升 痢疾志賀氏菌 2型血清4.5毫升 宋內氏志賀氏菌 血清0.0毫升 福氏志賀氏菌 (1-6)型15升滴 福氏志賀氏菌 6型0.3毫升加鏡 柳凝水144毫 升配成。	— — — — —	1	鮑愛德志賀氏菌 1型	75 毫克	痢疾志賀氏菌 1型 痢疾志賀氏菌 2型 宋內氏志賀氏菌 及福氏志賀氏菌 兩各型總集至 400X—6,400X

註：\*痢疾志賀氏菌 3-7 型多價血清與 3, 4, 5, 6 型菌株的凝集價不高，為了提高上述各菌的凝集價，我們於 20 毫升多價血清內，加入 3, 4, 5 及 6 型血清各 6 毫升，然後可用硫酸亞錳水稀釋。  
福氏志賀氏菌多價血清及 4 種志賀氏菌混合血清與福氏菌 6 型菌株的凝集較低，為了使效價提高我們採用上述方法，在福氏菌多價血清內加入福氏菌 6 型血清 3.6 毫升，在 4 種混合血清內加入福氏菌 6 型血清 0.3 毫升。

66°C 加溫 30 分鐘，滅活。

5. 血清的吸收：按“制驗規程（草案）”所載的方法制成每毫升含有 100 毫克或 4,000 億個菌體的吸收菌，加 0.5% 福馬林殺菌。

血清於吸收前與本菌及有關病疾菌作定量凝集試驗，以測定與本菌的凝集價及與各菌型間的類屬凝集價（見表四）然後根據類屬價的高低和各型福氏志賀氏菌的抗原結構，決定吸收菌的種類和用量（見表五）。

吸收的方法是先將吸收菌液，遠心沉澱，棄去上清液，將血清按凝集價的高低，以 0.01% 硫柳汞鹽水作成 5—10 倍（痢疾志賀氏菌 3—7 型多價係 2.5 倍稀釋）稀釋，然後加入菌體中，使二者充分混勻、置於 37°C 3 小時。遠沉、經吸收的血清用吸收菌株作玻片凝集試驗時應於 30 分鐘內不出現凝集者為合格、否則應按上法繼續吸收。吸收時每次使用的菌量，一般每毫升的血清都不超過 800 毫克或 4,000 億個菌體。

### 三、檢 定

所有經吸收的血清均進行過吸收完全度試驗，即以血清與菌苔在玻片上混勻後，置於有防乾設備的大平皿內，放置 30 分鐘，如不出現非將異性反應，表明已吸收完全。然後用本菌及相應的菌株作玻片凝集試驗，檢查其特异性反應，一般均在 1—2 分鐘內呈明顯凝集反應結果見表六。用玻片凝集檢查特异性及非特异性反應時，除採用標準菌株外，還使用現有的每個菌型的菌株 1—5 株加入檢定（見表七）。

用本菌及相應菌株作定量凝集測定效價結果見表五。

此外，還作了物理性狀檢查及無菌試驗。

### 四、主要經驗

在這次試製痢疾菌分型血清的過程中，發現了一些問題，茲分別介紹如下：

用福馬林處理的痢疾志賀氏菌 3—7 型（薩克斯氏菌）免疫製成的血清與經福馬林處理的本菌不能獲得較高的凝集價，用加熱處理的本菌作凝集試驗較用福馬林菌液的凝集價高（見表八），這點與 Madsen 氏 (13) 所得到的結果一致，他認為是由於該菌含有 K 抗原的緣故。

在製造痢疾菌分型血清過程中，由於福氏志賀氏菌彼此間交叉凝集較高，因此，需經過多次的吸收，始能將類屬凝集素吸盡。痢疾志賀氏菌及鮑愛德氏志賀氏菌與福氏志賀氏菌之間的抗原關係較弱，故祇需 1—2 次的吸收甚或不經吸收即能製成特异性血清，這次我們用鮑愛德氏志賀菌 5 型 (1207) 疫的血清在吸收前除與本菌凝集至 800 倍外，還與福氏志賀氏菌 1a 型凝集至 1,600 倍，與 3 型菌至 6,400 倍，與 Y 變種至 3,200 倍，與 4a 型菌株竟高達 12,800 倍、超出原效價 16 倍之多，免疫二次，得出的結果前後相似，這一點值得進一步的研究。

在整個血清的試製過程中，一般都認為福氏志賀氏菌型 2，型 3 及群 4 血清在吸收時較為困難，我們根據以往的經驗 (2) 在吸收型 2 血清時，將 2b (233) 型血清先經過數次福氏志賀氏菌 Y (51309) 吸收，然後，再以福氏志賀氏菌 3 型及 X 變種吸收，這樣能製出與福氏志賀氏菌 2a 型凝集至 320 倍與 2b 型菌株凝集至 640 倍效價的特異血

表七 檢定分型血清用的地方菌種表

菌種名稱及菌號	抗原成份	來源	菌種名稱及菌號	抗原成份	來源
福氏志賀氏菌1a長傳1079	1:4	長春市傳染病院	福氏菌3型長傳658	Ⅱ:6	大連市傳染病院
" " 1969	"	"	" " 鐵208	Ⅱ:6	大連鐵路醫院
" " 2188	"	"	福氏菌4a鐵41	Ⅲ:3	"
" " 2460	"	"	" " 鐵28	Ⅲ:3	"
" 鞍防 17	"	鞍山防疫站	福氏菌4b傳780	Ⅲ:6	大連傳染病院
福氏菌1b長長1771	ⅠS:4,6	長春市傳染病院	福氏菌5型長傳2390	Ⅳ:7	長春市傳染病院
" " 2141	"	"	福氏菌6型 " 3650	Ⅳ:—	"
" 傳 266	"	大連市傳染病院	" 長 743	Ⅳ:—	大連傳染病院
" " 852	"	"	福氏菌x變種長傳2337	—:7	長春市傳染病院
福氏菌2a長傳3723	Ⅰ:3,4	長春市傳染病院	" 長傳2367	—:7	"
" " 2726	"	"	" " 2381	—:7	"
" " 2759	"	"	" " 2420	—:7	"
" 傳 746	"	大連市傳染病院	福氏菌γ變種長傳1951	—:3,4	長春市傳染病院
福氏菌2b長傳2221	Ⅰ:7	長春市傳染病院	" 長傳1952	—:3,4	"
" " 1902	"	"	" " 2012	—:3,4	"
" 沈陸 65	"	沈陽陸軍醫院	宋內氏菌長傳2549	"	"
福氏菌3型長傳2493	Ⅱ:6,7	長春市傳染病院	" " 2619	"	"
" " 2497	"	"	" " 2657	"	"
" " 2514	"	"	" " 2663	"	"
" 傳 513	"	大連傳染病院	痢疾志賀氏菌1型長傳288	"	長春市傳染病院

表八 用福馬林菌液免疫製成的痢疾志賀氏菌 3—7 型多價血清與福馬林菌液及加熱100°C—1小時菌液凝集反應

菌液		家兔號	1	2
100°C 加 熱	痢疾志賀氏菌 3 型		3,200	1,600
	痢疾志賀氏菌 4 "		800	500
	痢疾志賀氏菌 5 "		1,600	1,600
	痢疾志賀氏菌 6 "		400	100
	痢疾志賀氏菌 7 "		3,200	1,600
福 馬 林	痢疾志賀氏菌 3 型		200	50
	痢疾志賀氏菌 4 "		800	100
	痢疾志賀氏菌 5 "		100	—
	痢疾志賀氏菌 6 "		100	—
	痢疾志賀氏菌 7 "		800	400

註: 1號家兔免疫後凝集效價不高, 休息一個月後, 再注射二次。

清, 關於這點我們認為是值得介紹的。

在吸收福馬林志賀氏菌型3血清時, 亦有同樣的體會, 即首先祇能用4b型菌吸收,



然後，再以其它菌型吸收。

在製造福氏菌群 4 血清時，也得出與以往相同的經驗，即用福氏志賀氏菌 2a 製造經常能獲得與含有群 4 菌株凝集強的血清，如用 Y 血清製造則往往不易製出與福氏菌 1b 型凝集較高的群 4 血清，Madsen 氏亦得出相同的結果，這點我們認為是與群 4 抗體的含量有關，用 2a 型血清製造純群 4 血清在吸收時若控制不好，效價往往也不高，若用 2a 型血清製造群 3.4 混合血清較容易吸收，得出的效價亦高，與福氏志賀氏菌 1b 型可凝集至 2,560 倍（見表五），我們認為此種血清與型血清共用，已足能區別福氏志賀氏菌 1a, 1b, 2a, 2b, 4a 及 4b 亞型。

根據以往的經驗，福氏志賀氏菌血清除用本菌檢定其特异性外，還採用 1—5 株地方菌種檢定，以免製成的血清祇和本菌凝集很好，而與地方菌種不凝，或凝集不强，甚或出現非特异性反應，在這次檢定血清工作中我們曾遇到這樣一件事，就是檢定福氏志賀氏菌型 2 血清時用新分離的福氏菌 Y 菌株作凝集呈陽性反應，但當該菌於保存一段時間後即轉為陰性反應。因此，我們認為作凝集試驗用的菌株應該是愈新鮮愈好，至於發生此一現象的原因尚須進一步探討。

一般臨床檢查常從三糖鐵培養基上沾取菌落用痢疾菌分型血清作凝集試驗，但因少數傷寒沙門氏菌與痢疾菌的生化反應相似，在三糖鐵培養基上也不產生硫化氫，並可與痢疾菌分型血清發生凝集，所以痢疾菌血清中的傷寒沙門氏菌凝集素應先經吸收除去。我們這次在試製中曾以傷寒沙門氏菌 “H”901 吸收。

在檢定中發現某些血清與從患者糞便中分離的大腸菌（它的生化反應能在葡萄糖，乳糖產酸，產氣）有類屬凝集，我們即以此菌株吸收，經吸收的血清它的效價未見降低，但 X 血清經此菌吸收後，效價迅速減低，是否此菌有群 7 抗原，尚須作進一步的研究。

爲了減少吸收次數，我們選用了不含群 3 抗原的福氏志賀氏菌 4 型 (51305) 菌株，製造福氏志賀氏菌型 4 血清。關於這個問題，Edwards 和 Ewing 二氏在他們所著的“腸菌科的鑑別”一書中 (15) 也曾提到選擇不含群抗原的福氏志賀氏菌 4 型菌株製造血清。

## 五、總 結

按痢疾菌分型及診斷血清製造及檢定規程（草案）和蘇聯痢疾診斷血清製造法規並參考了 Madsen 氏等方法，我們試製成了 A 群：1—7 型血清；B 群：1—6 型，S 特异性因子，群 3, 4, 6, 7 及群 3.4 血清；C 群：1—7 型血清；D 群：宋內氏志賀氏菌血清；及 4 種痢疾菌（志賀氏，什密次氏，福氏多價及宋內氏菌）混合血清；福氏痢疾菌多價（1—6 型）血清；鮑愛德氏志賀氏菌多價（1—7 型）血清以及痢疾志賀氏菌 3—7 型多價血清，共計 31 種。並對有關問題作了介紹和討論。

本文執筆者：周惠民、梁應華。

## 參 考 資 料

1. 方景燦，張舍余，車玉翠：大連生物製品研究所技術資料彙編。
2. 周惠民，蔣毓武：生物製品通訊，1:544, 1956。

3. 蘇華, 劉裕雲: 生物製品通訊, 2:168, 1957.
4. 劉新銘, 楊才華: 生物製品通訊, 2:173, 1957.
5. 辜清吾, 徐君福: 生物製品通訊, 2:156, 1957.
6. 周佳敏, 程知義: 中國人民解放軍醫學科學院院刊, 第2期, 第185頁, 1956.
7. 痢疾菌分型及診斷血清的製造及檢定規程(草案)。
8. 蘇聯痢疾診斷血清製造法規。
9. Wheele, K. M.: Am. J. Pub. Health, 34: 621, 1944.
10. Weil, A. J., Black, J. and Farsetta, K.: J. Imm., 49:321, 1944.
11. Ferguson, W.W., Branston, M., McCallum, G. L., and Carlson, M. J.: J. Lab. and Clin. Med., 32:349, 1947.
12. Carlquist, P. R.: Am. J. Pub. Health, 37:840, 1947.
13. Madsen, S.: On the Classification of the Shigella Types. Munksgaard, Copenhagen, 1949.
14. Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae. Munksgaard, Copenhagen, 1954.
15. Edwards, P. R. and Ewing, W. H.: Identification of Enterobacteriaceae. 1955. Burgess Publishing Co., Minnesota, U. S. A.
16. 周惠民等: 生物製品通訊, 2:143, 1957.
17. 程志義, 周佳敏, 鍾文蓬: 微生物學報, 4:297, 1956.
18. 方綱, 王華教: 微生物學報, 5:179, 1957.

# 沙門氏菌血清組試製沙門氏菌因子血清總結

## 一、前 言

沙門氏菌是一大群在生化特性和血清學上相關的腸桿菌，對人類能引起傷寒，副傷寒及急性胃腸炎等疾患，在動物中的致病範圍也很廣泛，常見者如馬，羊流產，鷄白痢，鼠傷寒等，因而，它不但關係着人民的健康，同時也與農業，畜牧業，食品工業密切相關，防治沙門氏菌病的危害對我國的社會主義建設是十分必需的，而沙門氏菌因子血清，是調查沙門氏菌病流行分佈情況，傳染來源，確定菌型診斷時所不可缺少的。我國在解放前，由於處於半封建半殖民地的地位，人民健康得不到重視，科學研究無法開展，在沙門氏菌病和有關問題上除了日本學者在東北，法國學者在上海作過一些工作之外，我國學者雖然也作過一些工作，比起其他先進國家是很少的。解放後，在黨的重視下和領導下，大連所和其他兄弟所初步作了一些工作，但遠遠不能滿足客觀形勢發展的要求，為了解決這個問題，衛生部生物制品委員會決定在大連所舉辦診斷用品學習班，以加強這方面的研究，培養這方面的人才，根據這種情況，我們儘現有的菌種對大連所以往生產過或試制過的血清，以及沒有進行過生產和製造過的血清進行製造和試制。製造方法基本上是按照今年所起草的沙門氏菌因子血清制檢規程（草案）進行的，以下是對這次製造和試制工作的報告。

## 二、免 疫 抗 原

I：免疫抗原的制備：制備免疫抗原的菌種，首先進行了形態及生化學檢查，並以相應的 O、H、及 vi 血清作了血清學檢查，證明正確後再使用。由於血清種類不全，有一部份菌種只作了 O 或 H 血清的檢查，並有個別菌種，因為相應的 O 及 H 血清均缺如，僅作了形態及生化學檢查。

### 1：O——免疫抗原

將檢查好的菌種，於普通瓊膠平皿上進行分離，選擇光滑集落，接種於大管瓊膠斜面或乳版瓊膠培養基上，於 37°C 溫箱中培養 18—20 小時後，以採菌器刮下，製成每毫升約含 30 億——50 億菌體的生理鹽水懸液，於 100°C 水浴中加溫 2½ 小時後再用生理鹽水稀釋成爲每毫升含 10 億菌體的懸液，經無菌試驗證明細菌已被殺死後，即可應用。

制備 Q5 血清時，免疫抗原使用無動力的乙型付傷寒沙門氏菌培養物，制成生理鹽水懸液，加入 0.3% 福馬林進行殺菌，殺菌後稀釋備用。

### 2：H——免疫抗原

制備前檢查動力，不良者在 U 形管內通過 1—2 代，動力良好時用於制備免疫抗原。

在單相菌，如傷寒沙門氏菌，甲型付傷寒沙門氏菌，乙型付傷寒沙門氏菌特異相變種及  $\delta$ -系各菌種，選擇單個典型集落接種 100 毫升肉湯，於 37°C 溫箱內培養 6—8 小時後，加入 0.3% 福馬林殺菌，未測定肉湯菌液濃度。馬德利亞沙門氏菌發育不良，濃度經常很低，改為挑 3—5 個菌落接種，能達到一定的菌液濃度。

用雙相菌制備免疫抗原時，採用了下述二種方法，

① 作普通瓊膠平皿分離，用因子血清測定單個集落 50—100 個，和欲得到的位相的因子血清凝集數目在 90% 以上為合格，選強度凝集的菌落接種於肉湯內，按上述方法制備免疫原，如集落和相應因子血清凝集者數目不到 95% 時，再作平皿傳代計數，一般均能在第 1—3 代合格。

② 用 Gard 氏游散瓊膠平皿培養法制備。即在軟瓊膠內加欲抑制的位相的因子血清進行培養，例如，在加有 c, n——因子血清的軟瓊膠平皿上培養達厄斯薩蘭沙門氏菌制備 1, w 免疫原，軟平皿經 37°C 18—20 小時培養後用約 20 毫升的生理鹽水洗下，加入 0.3% 福馬林殺菌。使用的培養基瓊膠的濃度為 0.7—0.8% 所加的血清濃度一般為 1/200—1/800，凡易於誘導和易於選出所需位相的單個菌落的菌種，所加血清濃度均較少，如用本法制備倫敦沙門氏菌特異相 1, v 免疫抗原時，培養基內所加非特異相 6 因子血清濃度是 1/800 (血清效價為 1/1600)。但在難於誘導的菌種，使用的血清濃度約為 1/200。此時誘導的代數也增加至三次左右，如布雷登尼沙門氏菌 (1, 7) 的免疫原即是如此製備的。

用乙型付傷寒沙門氏菌制備 H:2 免疫抗原過程中，發現標準菌種與大部份地方菌種的一切集落都不合格，或僅與 b 因子血清凝集，或同時與兩相 (b 及 2) 的因子血清都凝集，其原因不明，估計可能是因子血清不純。本次使用的免疫抗原是用 Gard 氏誘導法制備的。製成後檢查時其定量凝集試驗結果是與 H:2 因子血清有 1:640 的陽性反應，與 H-b 血清有 1:100 的陽性反應。

### 3: vi——免疫抗原

對 V 形傷寒菌選擇與 vi 血清強度凝集，但與 O 因子血清不凝集的菌落，對巴勒盧普菌則選擇與 vi 血清凝集良好的菌落，接種於乾燥的普通瓊膠乳瓶中，於 37°C 培養 18—20 小時後，製成生理鹽水懸液，加 0.3% 福馬林殺菌，並按 0.5% 濃度加入氯化鈣保護 vi 抗原。

### II: 免疫抗原的檢定:

上述各種免疫抗原製成後，均按制檢規程草案進行塗片鏡檢，無菌試驗和血清學檢查。

對 O 抗原，用相應因子血清作定量凝集試驗，凝集價能達到血清效價的一半以上時即可使用。

制備 O<sub>22</sub>, 24, 28, 30, 35, 38, 39 及 41 血清的免疫抗原時，因缺乏相應的 O 血清作檢定，僅在加溫前以有關的 H 血清進行了檢查，而制備 O<sub>42</sub> 血清使用的抗原 (維斯拉哥沙門氏菌 42:Z<sub>1</sub>，一) 因 O 及 H 血清均缺如，未作血清學檢定。

H 免疫抗原，單相菌以相應的 H 因子血清，雙相菌及其單相變種，則從相應的第一相和第二相血清作定量凝集試驗，對所要求的位相的血清，凝集達血清效價一半以上，

對另一相血清無凝集或僅有很低的凝集價時可以使用。

制備 H, l,v, l,w, l,z<sub>10</sub>, l,z<sub>11</sub>, 等免疫原時, 僅能以 l,v 及 l,w 因子血清進行檢查 (因缺少 v, w, z<sub>10</sub>, z<sub>11</sub> 等血清)。制備 n, z<sub>15</sub> 免疫原時, 也僅能以 e, n, x 血清 n, z<sub>15</sub> 及 c, n, z<sub>11</sub> 血清進行了檢查, 製備 z<sub>0</sub>, z<sub>10</sub>, z<sub>1</sub>, z<sub>2</sub>, z<sub>3</sub> 等免疫抗原時, 以 "z<sub>1</sub>" 血清進行了檢查, 由於實際上不可能得到 z<sub>1</sub> 因子血清, 所以這種因子血清也是一種未經吸收的含有 z<sub>1</sub> 凝集素的血清。檢查 z<sub>10</sub> 抗原時, 因該菌株為單相菌 (田納西沙門氏菌) 又缺少 z<sub>10</sub> 因子血清, 故僅用 O 因子血清作了檢查, 製備 z<sub>10</sub> 免疫抗原時 (吉大港沙門氏菌) 是用 Gard 氏誘導法製備的, 製成後由於缺少 z<sub>10</sub> 血清, 未作檢查, 僅用該菌株的第一相的因子血清 b 作了檢查, 與 b 血清試管凝集試驗在 1:40 為陰性。而 z<sub>10</sub> 免疫抗原 (維斯拉哥沙門氏菌) 缺少 z<sub>10</sub> 血清和該菌的 O 血清, 故未作血清學檢查。

vi 免疫抗原, 傷寒菌以 O:9, H:d 及 vi 血清作檢定, 對巴勒盧普菌因缺乏 O 及 H 血清, 僅以 vi 血清作了檢定。

### 三、免疫血清的製備

#### I: 家兔自然抗體的測定

免疫前, 用沙門氏菌屬 O—42 抗原以前的各群代表菌測定了 164 隻健康家兔的自然抗體。

第三表是這些家兔的血清對各個代表菌的反應情況, 較常見的自然抗體是:

馬德利亞沙門氏菌:	52隻家兔中 16 有隻的凝集效價超出 1:160
賽羅沙門氏菌:	52隻家兔中 13 有隻的凝集效價超出 1:160
倫敦沙門氏菌:	164隻家兔中 23 有隻的凝集效價超出 1:160
豬霍化沙門氏菌:	164隻家兔中 15 有隻的凝集效價超出 1:160
阿伯丁沙門氏菌:	164隻家兔中 15 有隻的凝集效價超出 1:160
乙型付傷寒沙門氏菌:	164隻家兔中 7 有隻的凝集效價超出 1:160

對其餘抗原的凝集價則很少達 1:160。

這些家兔當中, 有 112 隻是用 A—E 群代表菌 (第四表的前六種抗原) 測定的。其餘 52 隻是用全部 20 種抗原測定的。

在製備因子血清時, 應儘量避免類屬反應的存在, 我們選擇對所有的各種抗原凝集效價均不超過 1:80 的家兔進行免疫。如第五表所示, 如用 A—E 群代表菌測定, 則凝集效價均不超過 1:160 者有 92 隻, 佔總數 112 隻的 82%。如用 O—42 抗原以前各群代表菌測定, 則凝集效價均不超過 1:160 者有 28 隻, 佔總數 52 隻的 54%。

#### II: 兔 疫:

選用健康, 未受孕、自然抗體在 1:80 以下的家兔進行免疫, 採用耳緣靜脈注射法。O 血清一般免疫四次, H 血清大都免疫三次。劑量各為 2.5, 5, 10 及 15 億菌體及 2.5, 5, 及 10 億菌體, H 血清以肉湯製備的免疫抗原進行免疫時為 0.25, 0.5 和 1 毫升菌懸液, vi 血清免疫四次, 劑量為 5, 10, 15 和 20 億免疫菌體均為 5 日, 於最後一次免疫後七日, 以免疫抗原試血。O 血清效價達 1:800 以上, H 血清達 1:3200 以上, vi 血清達 1:320 以上時即可次日進行採血。

製備 O 血清的個別家兔在第三次免疫後效價即已達到要求，未進行第四次免疫即全採血。亦有個別家兔，經四次免疫後，試血仍不能達到要求，再以 15 億及 20 億劑量進行兩次追補免疫，效價如仍達不到要求則廢棄，另選家兔重新免疫。

H 血清免疫結果效價均在 1:3200 以上，vi 血清在試血時，使用了免疫抗原，未用傷寒菌 vi “1” 菌株，這是一個操作上的錯誤，因而在試血時，實際上不知該血清的 vi 效價。

血清效價合格後，實行全採血用頸動脈放血法，以滅菌大管或乳瓶收集血液，凝固後於 37°C 溫箱中放置半—1 小時，再置冰室過夜，次日分離出血清，遠沉去血球，經 56°C 30 分鐘滅菌後加入 1/10,000 硫柳汞防腐。

#### 四、因子血清的製備

##### I：免疫血清效價和類屬凝集素的測定

製備 O 因子血清的原血清，均先用相應的菌株，以試管凝集法檢查其效價及類屬凝集素效價，O 抗原與其他菌株無關係的菌株的 O 血清，則先把血清稀釋 10 倍與各 O 群代表菌株作玻片凝集試驗，如發現交叉凝集現象時，再測定其交叉凝集的效價。O 血清檢定的結果見附表 4。

製備 H 及 vi 因子血清的免疫原 100°C 加溫的免疫抗原及其他有關的菌株作交叉凝集試驗結果見於血清製造表中（表 6）。

##### II：吸收菌的製備：

吸收 O 血清中類屬 O 凝集素的吸收菌使用 100°C 加溫一小時的吸收菌。把經過檢查的菌種，接種到乳瓶或克氏瓶瓊膠培養基上，經 37°C 20—24 小時培養後，用採菌器刮下，製成每毫升含 100 毫克濕菌體的菌懸液，然後於 100°C 水浴中加溫 1 小時，經無菌試驗合格後使用於吸收。吸收菌立即使用時，一般不另加入防腐劑，如一次未用盡或暫不使用時，則加入 0.4% 石炭酸防腐。

制備吸收 H 血清中本菌 O 凝集素的吸收菌的方法，和上述方法相同，唯加溫時間為 2 小時，以充份破壞鞭毛抗原。

制備吸收 H 凝集素的吸收菌時均以液體接種法接種，經 37°C 培養 20—24 小時後生理鹽水洗下，製成濃度一般每毫升大約含菌體 400—500 億的菌懸液，再加入 2% 福馬林，置 37°C 二日進行殺菌後再用於吸收。

##### III：吸收，檢定和血清處理：

在吸收前，先將使用的吸收菌液用生理鹽水洗滌一次或二次。O 血清用 0.01% 硫柳汞生理鹽水稀釋 5—10 倍，H 血清稀釋 10—20 倍。把血清與菌體充分混勻，置 37°C 溫箱中，每 15 分鐘搖動一次，三小時後，再置冰箱中過夜，次日取出，遠心沉澱後，取上清液檢定。

如一次吸收未能成功時，則按檢定結果，再用相應吸收菌進行吸收。

O 及 vi 血清於每次吸收後，使用相應菌株進行玻片檢查，最後，再用我們現有的沙門氏各群的代表菌株進行吸收完全度檢查，因子血清應與抗原上具有相同因子的菌株，在玻片反應時呈明顯凝集（卅），而與其他菌株，一般於 30 分鐘內不現凝集。試管

凝集的效價在 1:160 以上。

H 血清，於每次吸收後，以有關菌株作玻片凝集試驗，最後，並用含有各種 H 抗原的代表性菌株進行較全面的檢查。應在 1—2 分鐘內與相應菌株，有明顯凝集，一般在 30 分鐘內無交叉反應，試管凝集效價，一般均在 1:400 以上，但  $\alpha_{24}$  沒有達到這個效價。

吸收完全後，並作了無菌試驗，有菌生長時，則以除菌濾過器濾過，最後用綢布或濾紙濾過，以除去雜質。

## 五、討 論

### I: 關於 O 血清部份:

1. 在製造 O 血清 6<sub>1</sub>, 6<sub>2</sub>, 8, 16, 25 時，曾用不同的菌株，作為免疫抗原，制備了血清，並進行了比較吸收，其結果見於附表 6 中。

制備 6<sub>1</sub> 血清時，使用豬霍亂沙門氏菌 1350 菌株制備的血清，原效價及吸收後的效價，均較用湯卜遜沙門氏菌免疫血清為高。但從原血清吸收後效價下降情況看來，二者下降比例近似，吸收菌用量，種類，吸收次數等，相差並不懸殊。

制備 6<sub>2</sub> 血清時，情況亦大致與 6<sub>1</sub> 血清類似，但從效價及吸收菌的使用情況上來看，用湯卜遜沙門氏菌免疫的 O 血清，比用豬霍亂沙門氏菌 5210 菌株免疫的血清好一些，另外，據過去生產方面的經驗，亦認為使用湯卜遜沙門氏菌的 O 血清來製造 6<sub>2</sub> 血清，較之用豬霍亂沙門氏菌 5210 免疫的血清來製造 6<sub>2</sub> 血清為好。

制備 0:8 血清時，使用了紐波特沙門氏菌和弗基尼亞沙門氏菌，作了比較，吸收前後的效價情況是，紐波特沙門氏菌自 1280—640，而弗基尼亞沙門氏菌是 2560—2560。但是，二者之中，紐波特沙門氏菌 O 血清比較容易吸收，使用吸收菌量較少，但應注意：這一血清的吸收是在小量試驗的情況下進行的。

制備 0:16 血清時，曾使用了加明那拉沙門氏菌及非丁伏斯沙門氏菌分別進行了免疫和吸收，結果，使用加明那拉沙門氏菌製造 0:16 血清時，其最後效價較高 (1:1280) 但吸收次數，吸收菌量，以及吸收菌種類上來說也比較多，所以尚難以肯定何者較優。

制備 0:25 血清時，用翁德斯太浦沙門氏菌及馬德利亞沙門氏菌作了比較，從血清最後效價來看，顯然，用馬德利亞沙門氏菌免疫的血清較高，而且吸收次數，吸收菌種類，吸收菌量也少。

2. 使用豬霍亂菌 5210 則備 0:6<sub>2</sub> 血清時，在吸收中曾發現其與翁德斯太浦沙門氏菌有微弱反應 (玻片反應 30 分鐘+) 我們乃用翁德斯太浦沙門氏菌進行了吸收，吸收後即不再與翁德斯太浦沙門氏菌起反應，而只與其他含有 6<sub>2</sub> 抗原的菌株起反應。關於翁德斯太浦沙門氏菌是否具有 6<sub>2</sub> 抗原這一問題，Edwards<sup>(1)</sup>曾提及，本菌是具有 O 6<sub>1</sub> 及 6<sub>2</sub> 抗原的，但我們使用本菌株去吸收上述血清時，仍能得到與其他含 6<sub>2</sub> 抗原的菌株起反應，而與翁德斯太浦沙門氏菌不起反應的 6<sub>2</sub> 血清，同時，在使用翁德斯太浦沙門氏菌制備 0:25 血清時，僅使用卡勞沙門氏菌吸收後，即與各種含 6 抗原的沙門氏菌不再有反應，而卡勞沙門氏菌是不具有 6<sub>2</sub> 抗原的<sup>(2)</sup>。另外，在翁德斯太浦沙門氏菌的原始文獻<sup>(3)</sup>中雖未提及其 O 6 抗原成份如何，但是這篇文獻中卻可以看出，本菌株與豬霍

亂沙門氏菌 O 血清反應為 1:50 以下 (O)。而翁德斯太浦沙門氏菌的 O 血清也只會和豬霍亂沙門氏菌有 1:10 的凝集效價，由此，可以推想，可能我們所用的翁德斯太浦沙門氏菌，是只有  $6_i$  抗原而不含有  $O_{6_i}$  抗原，或只含微量的  $6_i$  抗原的，也可能，在翁德斯太浦沙門氏菌株之間， $6_i$  抗原的量上有某些區別，所以，我們的結果，和 Edwards 氏的記載並不一致。

3. 在吸收 0:10 血清時，使用了倫敦沙門氏菌免疫得到的 O 血清，以紐因吞沙門氏菌及明尼蘇達沙門氏菌去吸收後，雖與紐因吞沙門氏菌及明尼蘇達沙門氏菌不現類屬凝集現象，但卻仍能與山夫頓堡沙門氏菌有交叉凝集現象，必須再用山夫頓堡沙門氏菌進行吸收後，才可以得到純的 0:10 血清。用少量血清進行了比較試驗，結果見下表：

血清名稱	吸收菌名稱	吸收菌量	檢定結果
1. 倫敦沙門氏菌 O 血清	山夫頓堡沙門氏菌	500 mg	倫敦沙門氏菌卅 山夫頓堡沙門氏菌一 紐因吞沙門氏菌一
2. 倫敦沙門氏菌 O 血清	紐因吞沙門氏菌	1000mg	倫敦沙門氏菌卅 紐因吞沙門氏菌一 山夫頓堡沙門氏菌卅

根據 Kauffmann 氏的記載，O:10 血清可以用倫敦沙門氏菌的 O 血清，以紐因吞沙門氏菌及明尼蘇達沙門氏菌吸收後製出，但這次製造的結果却與文獻中的

方法稍有出入，這是值得在以後的生產中注意的。

4. 在製備 O:28, 30, 35, 38, 39, 40, 41, 42 血清時，實際上是在沒有對照血清的情況下進行製造的。而 O:22, 23, 24, 27, 34 等血清，也沒有相應血清進行對照，只是在製備免疫抗原時，用各該菌株抗原上的其他因子的相應血清，或是混合血清進行了檢查。因此，這些血清，似乎不應視為標準品，而只能看作一些試制的產品。

5. 由菌種的抗原式上看來，O:11, 16, 17, 18, 28, 30, 35, 38, 39, 40, 41, 42 各血清，由於各該菌株不含有其他抗原成份，似應比較容易製造，但實際上，用這些菌株免疫得到的 O 血清，與其他沙門氏菌之間，是有交叉反應的，而且，個別血清，吸收也不是很容易的，這種情況，可以自表五及表六中看出，這些交叉反應，一般都是比較低的，但也有些是比較高的，甚至和本菌的效價接近。

這樣一些類屬反應，在文獻中並未曾記載，可能和使用的菌株有關，即這些菌株之間，在抗原上有微弱的關係，因為，有個別的交叉反應，並不能用加溫的吸收菌除去，這些，都是應該在以後的生產或研究中加以注意。

6. 根據 Kauffmann 氏腸菌科一書中的記載，製造 O:30 血清時，應使用具有 O:40 抗原的雷俄格倫德沙門氏菌吸收，反之，製造 O:40 血清時，也要用具有 O:30 抗原的厄那那沙門氏菌進行吸收。但是，我們在進行製造時，發現 O30 血清和雷俄格倫德沙門氏菌株並無交叉反應（玻片反應 1:10 陰性），而 O:40 血清與厄那那沙門氏菌也僅有 1:10 的交叉凝集價。

7. 製造過程中，有某些菌株（如依利諾沙門氏菌，馬德利亞沙門氏菌）比較粗糙，因此，在製造免疫抗原時應注意，加溫時，菌液不可過濃，加溫後，最好沉去凝塊。

8. 在製備 O:2 血清時，檢定用菌株中，甲型副傷寒沙門氏菌 1015 株，與甲型副



傷寒沙門氏菌杜雷佐變種的 O:2 抗原的量上，似有所區別，作凝集試驗時，使用杜雷佐變種作為抗原時，凝集效價比使用 1015 株作為抗原時的凝集價高出 1—2 個稀釋倍數，這個結果是和大连所歷次的生產經驗一致的。此點也是今後在生產及檢定時，值得加以注意的。

## II：關於 H 血清部份：

### 1. e 系血清：

包括與 e<sub>1</sub>h 和 β 相 (e<sub>1</sub>n, e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>x, e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>z<sub>15</sub>) 有關的 7 種因子血清，即 e<sub>1</sub>h, e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>x, h, n, e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>z<sub>15</sub>, x, z<sub>15</sub> 因子血清。其中 e<sub>1</sub>h 及 e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>x 血清甚易製造。

吸收 e—抗體，製備單價因子血清時，發現兩種情況，即 e<sub>1</sub>h (紐波特沙門氏菌特異相) 的 e—成份易於吸收，用達厄斯薩蘭沙門氏菌吸收一次即可，效價也未下降。而各 β 相血清的 e 或 en 成份很難吸收。

e<sub>1</sub>n (達厄斯薩蘭沙門氏菌) 血清中的 e—成份是用紐波特沙門氏菌，沙門氏菌 24682 和鴨沙門氏菌三種吸收菌，共五次吸收掉的，效價由原血清的 1:12800 下降到 1:1600。

e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>x 血清 (非丁伏斯沙門氏菌) 的 e<sub>1</sub>n 成分是用達厄斯薩蘭沙門氏菌和聖地亞哥沙門氏菌二種吸收菌共六次吸收掉，效價由原血清的 1:12800 降至 1:400。

e<sub>1</sub>n<sub>1</sub>z<sub>15</sub> 血清 (聖地亞哥沙門氏菌) 的 e<sub>1</sub>n 成分是用徹斯特沙門氏菌，達厄斯薩蘭沙門氏菌和鴨沙門氏菌三種吸收菌，共六次吸收掉的。效價由 1:25600 降到 1:1600。(表中所列效價未下降的原因是尚與馬德里亞沙門氏菌有極強的類屬反應。如予吸收，則效價立刻下降，作玻片反應時不堪應用，因而未曾除去與馬德里亞沙門氏菌的類屬反應)。

使用上述吸收掉 e<sub>1</sub>n 的 x, z<sub>15</sub> 因子血清作玻片凝集時，反應很弱，如將菌種加以誘導整理，則結果較佳，但仍不很強。

由吸收的難易與最後效價的高低可知，l<sub>1</sub>h 血清 (至少是其 e—成分) 可能比較單純，而且 h 成分很豐富。β 相血清則成分複雜，其中 e—以外的成分量較少。β 相抗原中 e—以外的成分量的多少問題，尚未見有文獻記載。

### 2. g—系血清：

製備了 f, g, m, p, q, s, t 及 u 共 8 種因子血清。

用都柏林沙門氏菌吸收羅斯托克沙門氏菌血清製備 u 因子血清很容易，吸收一次即可。

用奧雷寧堡沙門氏菌和腸炎沙門氏菌吸收蒙德維多沙門氏菌血清製備 s 因子血清，也很容易。

q 因子血清的大量吸收，完成得很容易，但在試驗吸收過程中，曾連續八次使用二種吸收菌 (腸炎沙門氏菌和埃森沙門氏菌) 尚未徹底吸收乾淨。大连所生產方面的經驗，也和我們的大量吸收實驗不同。

其他兩種 g 系血清，p 及 f 因子血清較難製備。前者吸收八次，使用了四種吸收菌 (腸炎沙門氏菌 184 號和 361 號，蒙德維多沙門氏菌和布達佩斯沙門氏菌)。後者吸收六次，使用了吸收菌六種 (布達佩斯沙門氏菌，埃森沙門氏菌，腸炎沙門氏菌號，山夫

頓堡沙門氏菌，都柏林沙門氏菌及羅斯托克沙門氏菌)

Kauffmann 氏(4)指出 g 系各菌種，除診斷用抗原表的結構而外，尚有 O<sub>1</sub>, z<sub>1</sub>, z<sub>2</sub>, z<sub>3</sub>……等成份。小島和八田(5)認為“實際上很難把抗原的各個成分加以精確的分析和證明”。上述實驗也證明了 g 抗原乃是複雜的複合抗原。

m 和 t 因子血清是用奧雷寧堡沙門氏菌血清制備的，很容易吸收。因為在診斷 g 系菌種時很必要，可以列在這裡。

g 血清是參照蘇聯法規用腸炎沙門氏菌免疫，以奧寧堡沙門氏菌吸收製備的，實際上，除 g 以外還有其他抗原 (O, z<sub>1</sub>, z<sub>2</sub>) 但在使用上是沒有妨礙的。

3. l—系血清：製備了 l<sub>1</sub>v, l<sub>2</sub>z<sub>13</sub>, v, w, z<sub>13</sub> 和 z<sub>23</sub> 共六種因子血清。不需吸收 l—抗體的前二種因子血清很容易製備。後四種因子血清需要除去 l 成分，使用的吸收菌如下：

- v：烏干達沙門氏菌和達厄斯薩蘭沙門氏菌。
- w：布雷登尼沙門氏菌，倫敦沙門氏菌和爪哇沙門氏菌。
- z<sub>13</sub>：倫敦沙門氏菌和爪哇沙門氏菌。
- z<sub>23</sub>：波茨坦沙門氏菌，倫敦沙門氏菌、布雷登尼沙門氏菌和渥興頓沙門氏菌。

因而 l—成分不是一個簡單的而是複合抗原。

Kauffmann 氏(6)指出，倫敦沙門氏菌，烏干達沙門氏菌和達厄斯薩蘭沙門氏菌的 l 抗原各有特點。上述 v 因子血清製備中使用的吸收菌即是該氏指定的。我們在試驗吸收中，曾用該氏指定的吸收菌中的任何一種單獨的進行吸收，結果證明了 Kauffmann 氏的結論。

Edwards 和 Bruner 氏(7)在研究爪哇沙門氏菌的抗原結構時，用很多 l 系菌種作交叉吸收，由其第三表可知 l—抗原的複雜性，較 Kauffmann 氏最早估計的尤甚。該二氏製備 z<sub>24</sub> 因子血清所用的吸收菌，是烏干達沙門氏菌，而在本次實習的試驗吸收當中，發現我們的烏干達沙門氏菌種不能起此種作用，因而改用上述四種吸收菌。

#### 4. z<sub>1</sub>—系血清：

Kauffmann 氏(8)記述了塞羅沙門氏菌，杜塞道夫沙門氏菌，亞利桑那沙門氏菌的抗原關係和製備 z<sub>20</sub> 與 z<sub>21</sub> 因子血清的方法。Moran 和 Edwards 二氏(9)發現泰拉哈西沙門氏菌的 H 抗原 (z<sub>1</sub>, z<sub>21</sub>) 與 z<sub>20</sub> 及 z<sub>21</sub> 因子血清有很高的類屬反應，指出，必須進一步吸收。但由該二氏的第二表可知，這三種 (z<sub>20</sub>, z<sub>21</sub> 和 z<sub>22</sub>) 抗原關係甚為密切，吸收後效價大為降低。Seligmann 和 Saphra 二氏(10)在研究維克羅斯沙門氏菌的 H 抗原時 (z<sub>1</sub>, z<sub>20</sub>) 未作交叉吸收，僅用試管反應效價作決定。

本次製備了 z<sub>1</sub>z<sub>20</sub>, z<sub>1</sub>z<sub>21</sub>, z<sub>1</sub>z<sub>22</sub> 及 z<sub>20</sub>, z<sub>21</sub>, z<sub>22</sub> 共 6 種 z<sub>1</sub>—系血清，不需吸掉 z<sub>1</sub> 凝集素的血清很容易製備。z<sub>1</sub>—因子血清也是易於製備，只用塞羅沙門氏菌及泰拉哈西沙門氏菌吸收二次即完成。

z<sub>20</sub> 血清是從泰拉哈西沙門氏菌和杜塞道夫沙門氏菌二種吸收菌吸收塞羅沙門氏菌血清製成的。反覆吸收了 12 次。作玻片反應時稀釋至 80× 可無類屬反應，作定量凝集試驗，特異性較好。

z<sub>21</sub> 血清是以塞羅沙門氏菌和杜塞道夫沙門氏菌和維克羅斯沙門氏菌三種吸收菌吸收

泰拉哈西沙門氏菌血清製成的。應提出的是在連續餘10次使用大量吸收菌（400毫克左右）都不能吸淨類屬反應，而後，改用了小量吸收菌（50毫克左右）進行吸收，結果成功地製出了  $z_2$  因子血清。本血清在定量凝集試驗中特異性稍差，但在玻片試驗中，5分鐘內無類屬反應。

5. 非特異相血清：共製備了：2. 5. 6. 7.  $z_6$  和 1.2.3.5 等六種因子血清。Kauffmann 氏 1937年<sup>(11)</sup>指出，診斷用抗原表所列的非特異相抗原式乃是縮寫，略去了一些抗原，如 3. 4. 8. 9 等。但該氏並未指出各菌種非特異相的詳細結構，僅指定了製備 2. 5. 6. 7 等因子血清所用的免疫用菌種和吸收菌。

本次製備 5 因子血清所用的免疫原與吸收菌和該氏指定的菌種相同。

在製備 2 因子血清過程中，增用了其它的吸收菌。製備 6 因子血清時，原訂使用湯卜遜沙門氏菌柏林變種和明斯特沙門氏菌吸收，因後者菌落變粗，故放棄不用，結果使用了倫敦沙門氏菌，豬霍亂沙門氏菌，布雷登尼沙門氏菌和湯卜遜沙門氏菌柏林變種。製備 7 因子血清中，因 174 號布雷登尼沙門氏菌特異性菌種出現了非特異相，改用倫敦沙門氏菌吸收後，仍有非特異相方面的高度類屬反應存在。又加用鼠傷寒沙門氏菌吸收，才製成純 7 因子血清。試驗吸收中證明，紐波特沙門氏菌波多黎哥變種的吸收作用，在製備 7 因子血清時與鼠傷寒沙門氏菌相同。

$z_6$  因子原被 Edwards<sup>(12)</sup> 列至  $\beta$  相，Kauffmann 氏<sup>(13)</sup> 因共與湯卜遜沙門氏菌的非特異相有密切關係，改稱之作非特異相，並指定，在製備  $z_6$  因子血清時，須用該菌吸收。小島及八田指出多種非特異相都與  $z_6$  因子有類屬反應。本次制備  $z_6$  因子血清使用了有非特異相的四種吸收菌，但因湯卜遜沙門氏菌是最後使用的尚不能說明只用湯卜遜沙門氏菌不能把類屬反應全部吸掉。

6. 其他：包括不屬於上列各系的13種血清，其中有 a. b. c. d. i. k. y.  $z_{20}$  和  $z_{30}$  是用單相菌制備的，r. z.  $z_{10}$  和  $z_{35}$  是用雙相菌制備的。和前述有復合抗原的各群比較，這些血清比較容易制備。

在診斷用抗原表以外的某些重要的類屬現象，在文獻中曾有記載。Taylor 等氏<sup>(14)</sup> 指出，甲型付傷寒沙門氏菌與吉大港沙門氏菌之間有很高的類屬反應，本次實驗的結果見下表：

小島，八田<sup>(15)</sup>，Edwards 及 Fwing<sup>(16)</sup>

等氏證明，k 抗原與 l 抗原之間有類屬反應。

本次制備的湯卜遜沙門

氏菌特異相血清原與 l-系菌種有很高的類屬反應（對本菌 1:25600，倫敦沙門氏菌 1:2560，布雷登尼沙門氏菌 1:2560，爪哇沙門氏菌 1:1280）但在 I 系血清，則未發現此種類屬反應。

Kauffmann 氏<sup>(17)</sup> 指出， $z_{20}$  與  $z_{30}$  抗原間有類屬反應存在，因為沒有  $z_{30}$  抗原的菌種，本次制備的  $z_{30}$  因子血清，沒有經過這一步應有的處理過程。

### III：關於 vi 血清部份：

血 清		甲型付傷寒沙門氏菌		吉大港沙門氏菌	
抗 原	吸收菌	未吸收	吉大港沙門氏菌	未吸收	甲型付傷寒沙門氏菌
	甲型付傷寒沙門氏菌		25600	6400	3200
吉大港沙門氏菌		2560	0	51200	6400

用傷寒沙門氏菌 vi 1, Ty 2, T6S 和巴勒盧普菌試制 Vi 因子血清的經過見第 7 表。

由於 vi 1 株是典型的 V 形菌，免疫血清對於傷寒沙門氏菌 O 901 及 H 901 株均有高度的陽性反應，吸收四次，用吸收菌 H 901 1.5 克/每毫升，最後檢定時，未發現與其他菌的類屬反應。

vi I 株是傷寒沙門氏菌的變種，O 抗原喪失，其免疫血清僅與 H 901 株有高度的凝集，吸收二次，用菌 0.4 克/每毫升，最後檢定時，未發現與其他菌的類屬反應。但 Kauffmann 氏 (18) 曾指出，粗糙形亞利桑那菌株與 vi I 等粗糙型菌種制備的血清之間有類屬反應。

T6s 株也是變種，Kauffmann 氏 (8) 用之制作 vi 血清時發現有 H 抗體的產生，本次免疫血清中，則是與 H 901 株，O 901 株均為陰性反應，因而未用 W 型傷寒沙門氏菌吸收。但 T6s 血清與 O 因子血清最後檢定用 29 菌種中的 5 個菌種（均不太光滑）有遲緩陽性的玻片反應，與 1:20—1:640 的試管反應。製成純 vi 因子血清。

巴勒盧普菌免疫血清，除本菌以外，尚與 O 因子血清最後檢定的 29 個菌株中的 3 個菌種，有遲緩陽性的玻片反應，吸收二次，使用 0.5 克/毫升吸收菌後，把這種類屬反應吸收乾淨。但這種血清，除 vi 抗體而外，尚含有巴勒盧普菌的 O 及 H 抗體。

這些因子血清的最後效價，按制檢法規都合格，其中用 Ty 2 株制備的血清效價最低，原因是本血清僅免疫了三次，比其他三種血清少免疫一次。

測定最後效價中，發現四種血清與 vi "1" 株的反應，較其他菌種高出 1—2 管，與文獻上的結果一致。

最後要提一下的是，在本次學習中，制備的血清，常有文獻中未經記載的類屬反應，原因不明，可能與菌種的光滑程度，以及家兔的自然抗體有關，因時間與人力所限，沒有深入的研究。

## 六、總 結

在這次學習中共制成了 O 因子血清 32 種即 1. 2. 4. 5. 6. 6<sub>1</sub>. 7. 8. 9. 10. 11. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 27. 28. 30. 34. 35. 38. 39. 40. 41. 42. 中間產物 3.15 血清及 A—E 混合各一種，其中 6. 6<sub>1</sub>. 8. 16. 25 等五種血清並用不同菌株進行了免疫及吸收的比較。

制成了 H 因子血清 37 種即 a. b. c. d. f. g. h. i. k. m. n. p. q. r. s. t. u. v. w. x. y. z. z<sub>9</sub>. z<sub>12</sub>. z<sub>13</sub>. z<sub>15</sub>. z<sub>22</sub>. z<sub>21</sub>. z<sub>23</sub>. z<sub>27</sub>. z<sub>28</sub>. z<sub>30</sub>. z<sub>30</sub>. z<sub>30</sub>. 2. 5. 6. 7, 中間產物 9 種即 2h, 1, v. 1, z<sub>21</sub>, n, z<sub>15</sub>, 2n, x, z<sub>12</sub>, z<sub>21</sub>, z<sub>1</sub>, z<sub>21</sub>, z<sub>1</sub>, z<sub>21</sub>, 1.2.3.5, 此外還制成了 vi 因子血清和巴勒盧普 vi 因子血清各一種。總共 82 種。並對血清製造中的一些問題加以討論。

本文執筆者 劉新銘 舒澄 方景燦

### 参 考 文 献

1. P. R. Edwards.: Proc. soc. Exp. Biol and Med. 59:49, 1945.
2. F. Kauffmann.: z. Hyg. 120: 177, 1937.
3. M. W. Hehning: J. Hyg. 36:525, 1936.
4. F. Kauffmann.: Z. Hyg. 117:431, 1935.
5. 小島八田: 食物中毒菌 1940
6. F. Kauffmann.: Acta path. 17:187, 1940.
7. P. R. Edwards & D. W. Bruner.: J. Immunol. 44:319, 1942.
8. F. Kauffmann.: Die Bakteriologie der Salmonella-Gruppe 1941.
9. A. B. Moran & P. R. Edwards.: Proc. Soc. Exp. Biol & Med. 62:294. 1946.
10. E. Seligmann & L. Saphra.: J. Bact. 55:561, 1948.
11. F. Kauffmann.: Z. Hyg. 119:356, 1937.
12. P. R. Edwards.: J Hyg. 38:306, 1938.
13. F. Kauffmann.: Acta path. 16:292, 1939.
14. J. Taylor, W. Hayes, J. Freeman & E. S. Anderson.: J. path. Bact. 60:35, 1948.
15. 小島八田: 食物中毒菌, 131頁, 1940.
16. P. R. Edwards & W. H. Ewing.: Identification of Enterobacteriaceae p. 41 1955.
17. F. Kauffmann.: Acta path. 34.99, 1954.

表一、制備沙門氏菌屬因子血清使用的菌種一覽表

菌號	菌名	抗元	直接來源	原始來源
143	甲型付傷寒沙門氏菌 <i>S. paratyphi A</i>	1. 2. 12:a:—	上海同濟大學醫學院	丹麥哥本哈根血清研 研所
144	甲型傷寒沙門氏菌杜雷佐變種 <i>S. paratyphi A var. durazzo</i>	2. 12:a:—	"	"
146	乙型副傷寒沙門氏菌 <i>S. paratyphi B</i>	4. 5. 12:b:1. 2.	"	"
147	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種 <i>S. paratyphi B var. java</i>	4. 5. 12:b:—	"	"
149	乙型副傷寒沙門氏菌 O 形 <i>S. paratyphi B O form</i>	4. 5. 12:—:1—	"	"
150	得來士亥姆沙門氏菌 <i>S. schleissheim</i>	4. 27. 12:b:—	"	"
151	聖地亞哥沙門氏菌 <i>S. san diego</i>	4. 12:1b:e <sub>0</sub> , z <sub>1</sub> 5	"	"
152	沙門氏菌 24682 <i>S. 24682</i>	4. 5. 12:e <sub>0</sub> b:—	"	"
154	鼠傷寒沙門氏菌 1 <i>S. typhi murium 1</i>	4. 5. 12:i:1. 2.	"	"
155	鼠傷寒沙門氏菌 1074 <i>S. typhi murium 1074</i>	4. 5. 12:i:—	"	"
162	豬霍亂沙門氏菌 1350 <i>S. cholerae suis 1350</i>	6 <sub>a</sub> . 7:—:1. 5.	"	"
163	豬霍亂沙門氏菌 5210 <i>S. cholerae suis 5210</i>	6 <sub>a</sub> . 7:—:1. 5.	"	"
165	湯卜遜沙門氏菌 C 30 <i>S. thompson C30</i>	6. 7:K:—	"	"
166	湯卜遜沙門氏菌柏林變種 <i>S. thompson var. berlin</i>	6. 7:—:1. 5.	"	"
167	奧雷寧堡沙門氏菌 <i>S. oranienburg</i>	6. 7:m. t:—	"	"
168	維爾肖沙門氏菌 <i>S. virchow</i>	6. 7:r:1. 2.	"	"
169	田納西沙門氏菌 <i>S. tennessee</i>	6. 7:z <sub>0</sub> —	"	"
170	佛基尼亞沙門氏菌 <i>S. virginia</i>	8:d:—	"	"
171	紐波特沙門氏菌 <i>S. newport</i>	6. 8:e <sub>0</sub> b:1. 2.	"	"
172	紐波特沙門氏菌波多黎各變種 <i>S. newport var. puerto rico</i>	6. 8:—:1. 2.	"	"
174	肯氏基沙門氏菌 <i>S. kentucky</i>	8. 20:i:z <sub>4</sub>	"	"
175	杜塞道夫沙門氏菌 <i>S. duesseldorf</i>	6. 8:z <sub>1</sub> , z <sub>2</sub> :—	"	"
176	泰拉哈西沙門氏菌 <i>S. tallahassee</i>	6. 8:z <sub>4</sub> , z <sub>5</sub> :—	"	"
177	格蘭斯出浦沙門氏菌 <i>S. glostrup</i>	6. 8:z <sub>10</sub> , e <sub>0</sub> , z <sub>16</sub> .	"	"
178	傷寒沙門氏菌 H 901 <i>S. typhi H 901</i>	9:12:d:—	"	"
179	傷寒沙門氏菌 O 901 <i>S. typhi O 901</i>	9:12:—:1—	"	"
182	傷寒沙門氏菌 6S. <i>S. typhi 6S</i>	vi:(d):—	"	"

續表一

菌號	菌名	抗元	直接來源	原始來源
183	傷寒沙門氏菌 vi "1" <i>S. typhi</i> vi 1	(9)(12).vi:(d):—	上海同濟大學醫學院	丹麥哥本哈根血清研 研所
184	腸炎沙門氏菌 <i>S. enteritidis</i>	9.12:g.m:—	"	"
185	都柏林沙門氏菌 <i>S. dublin</i>	1.9.12:g.p:—	"	"
186	羅斯托克沙門氏菌 <i>S. rostock</i>	1.9.12:g.p.u.—	"	"
187	莫斯科沙門氏菌 <i>S. moscow</i>	9.12:g.q:—	"	"
191	烏干達沙門氏菌 <i>S. uganda</i>	3.10:z <sub>1</sub> ,z <sub>2</sub> :1.5.	"	"
193	山夫頓堡沙門氏菌 <i>S. senftenberg</i>	1.3.19:g.s.1:—	"	"
185	吉大港沙門氏菌 <i>S. chittagong</i>	(1)3.10(19):b:z <sub>36</sub> .	"	"
196	阿柏丁沙門氏菌 <i>S. aberdeen</i>	11:i:1.2.	"	"
197	浦那沙門氏菌 <i>S. poona</i>	13.22:z:1.6.	"	"
199	卡勞沙門氏菌 <i>S. carrau</i>	6.14.24:y:1.7.	"	"
200	馬德利亞沙門氏菌 <i>S. maderia</i>	1.6.14.25:y:—	"	"
201	非丁伏斯沙門氏菌 <i>S. hvingtfooss</i>	16:b:c,p,x.	"	"
203	塞羅沙門氏菌 <i>S. cero</i>	18:z <sub>4</sub> ,z <sub>20</sub> :—	"	"
204	明尼蘇達沙門氏菌 <i>S. minnesota</i>	21:b:—	"	"
205	泰拉維沙門氏菌 <i>S. tal-aviv</i>	28:y:c,p,z <sub>15</sub> .	"	"
207	厄班那沙門氏菌 <i>S. urbana</i>	30:b:c,p,x.	"	"
208	阿德里沙門氏菌 <i>S. adelaide</i>	35.f.g:—	"	"
209	蘭佛內斯沙門氏菌 <i>S. inverness</i>	38:K:1.6.	"	"
210	香莖沙門氏菌 <i>S. champagn</i>	39:K:1.5.	"	"
211	雷俄格魯德沙門氏菌 <i>S. rio grande</i>	40:b:l.5.	"	"
212	維克羅斯沙門氏菌 <i>S. waycross</i>	41:z <sub>4</sub> ,z <sub>28</sub> :—	"	"
213	維斯拉哥沙門氏菌 <i>S. weslaco</i>	42:z <sub>36</sub> :—	"	"
220	雷丁沙門氏菌 <i>S. reading</i>	4.12:e,b:1.5.	昆明生物制品研究所	英國李斯特研究所
221	德爾卑沙門氏菌 <i>S. derby</i>	1.4.12:f.g:—	"	"
222	埃森沙門氏菌 <i>S. essen</i>	4.12:g.m:—	"	"
223	布達佩斯沙門氏菌 <i>S. budapest</i>	4.12:g.t:—	"	"

續表 -

菌號	菌名	抗元	直接來源	原始來源
224	馬流產沙門氏菌 <i>S. abortus edci</i>	4.12:—;e,p,x.	昆明生物制品研究所	英國李斯德研究所
227	豬霍亂沙門氏菌 <i>S. cholerae suis</i>	6.7:—;1.5.	"	"
232	蒙德里維多沙門氏菌 <i>S. montevideo</i>	6.7:g.m.s:—	"	"
237	傷寒沙門氏菌 OK 901 W. <i>S. typhi</i> O K 901 W	9.12:—:—	"	"
245	鴨沙門氏菌 <i>S. anatum</i>	3.10:e,h;1.6.	"	"
253	蘇德新大浦沙門氏菌 <i>S. onderstepoort</i>	1.6.14.25:e,h;1.5.	"	"
255	柯爾克沙門氏菌 <i>S. kirkee</i>	17:b;1.2.	"	"
256	肯塔基沙門氏菌 <i>S. kentucky</i>	(8). 20:f;2g	"	"
263	布雷登尼沙門氏菌 <i>S. bredeney</i>	1.4.27.12:l,v;1.7.	"	"
273	瓜哇沙門氏菌 <i>S. javiana</i>	1.9.12:l,z28;1.5.	"	"
313	薩厄斯薩沙門氏菌 <i>S. dar es salaam</i>	1.9.12:l,w;1,n.	大連生物制品研究所	日本傳染病院
315	倫敦沙門氏菌 <i>S. london</i>	3.10:l,v;1.6.	"	"
517	乙型傷寒沙門氏菌 <i>S. paratyphi B</i>	4.5.12:b;1.2.	"	"
361	腸炎沙門氏菌 <i>S. enteritidis</i>	9.12:g.m:—	大連生物制品研究所	日本傳染病院
1115	波斯坦沙門氏菌 <i>S. potsdam</i>	6.7:l,v:e,p,z <sub>10</sub> .	中國人民解放軍醫學科學院	
1247	巴勒盧普沙門氏菌 <i>Balierup</i>	20.vi;z <sub>14</sub>	衛生部中央生物制品檢定所	
50098	傷寒沙門氏菌 Xy <sub>2</sub> <i>S. typhi</i> Ty 2	9.12.vi:d:—	"	
1329	傷寒沙門氏菌 Ty <sub>5</sub> <i>S. typhi</i> Ty 5	(9)(12).vi:(d):—	"	大連生物制品研究所
460641	杜塞道夫沙門氏菌 <i>S. duesseldorf</i>	6.8;z <sub>4</sub> ;z <sub>24</sub> :—	中國人民解放軍醫學科學院	
460651	泰拉哈西沙門氏菌 <i>S. tallahassee</i>	6.8;z <sub>4</sub> ;z <sub>25</sub> :—	"	
461341	沃爾頓沙門氏菌 <i>S. worthington</i>	1.13.23:l,w;z.	"	
461142	伊利沙門氏菌 <i>S. illnois</i>	3.15;z <sub>10</sub> ;1.5.	"	



表二、檢定菌種使用血清及其來源一覽表

血 清	來 源	血 清	來 源
O. I	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院	O. Ⅷ	上海軍事醫學科學院 日 本
I	同 上	XⅡ.	上海軍事醫學科學院
Ⅳ	同 上	Ⅹ.	同 上
V	同 上	Ⅹ(V).	日 本
Ⅵ <sub>1</sub>	上海軍事醫學科學院	ⅩⅠ.	上海軍事醫學科學院
Ⅵ <sub>2</sub>	同 上	ⅩⅡⅠ.	日 本
Ⅵ.Ⅶ.	上海軍事醫學科學院 日 本	ⅩⅢ.	日 本
Ⅵ.Ⅷ.	同 上	ⅩⅣ.	上海軍事醫學科學院
Ⅷ.	大連生物製品研究所 日 本	I.ⅩⅤ.Ⅲ	日 本
Ⅷ	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院 日 本		
Ⅷ.	大連生物製品研究所		
Ⅷ.Ⅹ.ⅩⅠ	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院 日 本		
X.	上海軍事醫學科學院		
Ⅳ.	上海軍事醫學科學院 日 本		
ⅧⅢ.	日 本		
ⅩⅤⅠ.	日 本		
Ⅳ.ⅩⅤⅣ.	日 本		
Ⅳ.	大連生物製品研究所		
Ⅳ	上海軍事醫學科學院 日 本		
Ⅳ.	同 上		

檢定菌種使用血清及其來源一覽表

血 清	來 源	血 清	來 源
II a	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院	c <sub>1</sub> n	大連生物製品研究所
b	同 上	e <sub>1</sub> n <sub>1</sub> x	同 上
c	同 上	z <sub>4</sub>	日 本
d	同 上	z <sub>6</sub>	同 上
f	同 上	z <sub>10</sub>	日 本 英 國
i	同 上	e <sub>1</sub> n <sub>1</sub> z <sub>15</sub>	英 國
k	同 上	2	大連生物製品研究所
g	上海軍事醫學科學院	6	同 上
m	大連生物製品研究所	7	同 上
n	上海軍事醫學科學院	vi	同 上
p	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院		同 上
q	大連生物製品研究所		
r	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院		
s	同 上		
t	大連生物製品研究所		
u	同 上		
lv	同 上		
w	日 本		
y	大連生物製品研究所		
e,h	大連生物製品研究所 上海軍事醫學科學院		

表三、家兔自然抗體測定結果

批 原	稀 釋 倍 數							總 數
	<1:20	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
甲型副傷寒沙門氏菌	147	7	7	3	0	0	0	164
乙型副傷寒沙門氏菌	148	3	6	0	3	4	0	164
家畜鼠沙門氏菌	102	14	21	12	7	6	2	164
傷寒沙門氏菌 H901	124	17	17	3	3	0	0	164
倫敦沙門氏菌	82	16	27	16	16	4	3	164
阿伯丁沙門氏菌	117	14	12	6	7	4	4	164
浦那沙門氏菌	46	1	2	2	1	0		52
馬德里亞沙門氏菌	22	4	7	3	3	13		52
弗丁伏斯沙門氏菌	36	9	5	1	1			52
刻爾克沙門氏菌	44	2	6	0	0	0		52
塞羅沙門氏菌	19	7	8	5	7	6		52
明尼蘇達沙門氏菌	43	4	5	0	0	0		52
泰拉維沙門氏菌	29	6	11	5	1	0		52
厄班那沙門氏菌	42	2	8	0	0	0		52
阿德萊沙門氏菌	38	9	5	0	0	0		52
茵佛內斯沙門氏菌	37	5	9	1	0	0		52
奇班沙門氏菌	44	5	3	0	0	0		52
雷散格倫得沙門氏菌	50	1	1	0	0	0		52
維克羅斯沙門氏菌	42	2	5	3	0	0		52
維斯拉哥沙門氏菌	45	2	4	1	0	0		52

家兔自然抗體測定結果

		<1:20	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	總 數
對 A—F 群代表菌	隻數	38	9	30	15	11	5	4	112
	%	34	8	27	18	10	4	4	100
對 O—12 抗原以前各群的代表菌	隻數	6	3	11	8	7	17		52
	%	12	6	21	15	13	38		100

注：對一種以上的抗原凝集效價達到 1:20，但對全部抗原均不超過 1:20者記在 1:20 項下，餘類同。

表四、O 血清吸收前效價及類屬反應

抗 原	血 清									
	1.2.12	2.12.	4.12.	4.5.12	6 <sub>1</sub> .7.	6 <sub>1</sub> .6 <sub>2</sub> .7.	62.7.	6 <sub>1</sub> .6 <sub>2</sub> .7.	6 <sub>1</sub> .7.	
143. 甲型副傷寒沙門氏菌	2560	640								
144. 甲型副傷寒沙門氏菌 杜雷佐變種	2560	2560	+							
146. 乙型副傷寒沙門氏菌		320	+	2560						
220. 甲定沙門氏菌	+		5120	2560						
181. 家畜霍亂沙門氏菌	+				5120	1280	2560	1280	1280	
165. 湯卜遜沙門氏菌	+			+	+	2560		1280		
171. 紐波特沙門氏菌			1280		2560	2560	640	80	1280	
170. 弗基尼亞沙門氏菌										
174. 肯塔基沙門氏菌										
179. 傷寒沙門氏菌 0901		640	160	5120						
315. 倫敦沙門氏菌			+		+					
192. 紐因頓沙門氏菌			+	+						
193. 山夫頓沙門氏菌	2560	40	+	+				+		
461142. 依利諾沙門氏菌	+			+						+
196. 阿伯丁沙門氏菌			+					+		
201. 非丁伏斯沙門氏菌										
264. 加明那拉沙門氏菌										
255. 刺刺克沙門氏菌										
203. 韋羅沙門氏菌										
204. 明尼蘇達沙門氏菌										
197. 浦那沙門氏菌										
198. 源興頓沙門氏菌	+			+						
199. 卡勞沙門氏菌	+			+	+					+
200. 馬諾利沙門氏菌或										
253. 翁達斯大浦沙門氏菌	+			+	+					+
150. 許萊亥姆沙門氏菌										
205. 泰拉維沙門氏菌				+						
207. 厄波那沙門氏菌			+							
208. 阿維萊沙門氏菌						+				
209. 弗內斯沙門氏菌			+							
210. 香班沙門氏菌										
211. 雷克格倫德沙門氏菌				+						
212. 維克羅斯沙門氏菌								160	160	
213. 維新拉哥沙門氏菌										

空格 ⇒ 未作； 0=1:10或片反應陰性； <40=1:40陰性； 1:10或片反應陰性；

+ 卅卅 吸收前未作，發取過程中發現或片反應的陽性程度；

續表四

抗 原	(8)	6,8.	0,12	3,10	11	3,15	16	16	17
		弗基尼亞沙門氏菌 O 血清 (170)	171 紐波特沙門氏菌 O 血清	傷寒沙門氏菌 O 血清	倫敦沙門氏菌 O 血清	阿伯丁沙門氏菌 O 血清	紐西沙門氏菌 O 血清	非丁斯沙門氏菌 O 血清	加明那沙門氏菌 O 血清
143. 甲型付傷寒沙門氏菌					0		0	+	0
144. 甲型傷寒沙門氏菌 杜霍佐變異			2560		0		0	0	0
146. 乙型付傷寒沙門氏菌			1280		0		1280	0	<20
220. 里定沙門氏菌		40	2560		0		0	0	40
161. 諾霍亂沙門氏菌	<40	160			0		0	0	<20
165. 湯下瀉沙門氏菌	<40	80			640		0	0	0
171. 紐波特沙門氏菌		1280			0		0	0	<20
170. 弗基尼亞沙門氏菌	2560				0				
174. 肯塔基沙門氏菌					0				
179. 傷寒沙門氏菌 O 901			2560		0	2560	+	0	0
315. 倫敦沙門氏菌				1280	1280	5120	160	0	<20
192. 紐西沙門氏菌				640	640	2560	+	640	640
193. 山夫頓堡沙門氏菌				+	1280	5120	0	+	10
461142. 依有諾沙門氏菌	2560		+		+	+	+	0	0
196. 阿伯丁沙門氏菌					1280		0	0	<20
201. 非丁斯沙門氏菌					160		1280	1280	0
254. 加明那沙門氏菌					0			1280	
255. 刺爾克沙門氏菌					0		0	0	2560
203. 索羅沙門氏菌					0		80	640	0
204. 明尼蘇達沙門氏菌				80	0		0	0	<20
197. 浦那沙門氏菌					0		0	0	0
198. 溫賽頓沙門氏菌					1280		1280	640	0
199. 卡勞沙門氏菌	<40				80		0	0	20
200. 馬德利亞沙門氏菌或 253. 若達斯太浦沙門氏菌					1280		+	0	<20
150. 許萊亥維沙門氏菌									
205. 泰拉赫沙門氏菌		+	+		0		160	+	5120
207. 厄班那沙門氏菌					0		0	+	<20
208. 阿德萊沙門氏菌					0		0	0	0
209. 雷弗內斯沙門氏菌					0		0	0	0
210. 香班沙門氏菌					0		0	+	0
211. 雷假格倫沙門氏菌					0		0	0	<20
212. 維克羅沙門氏菌					640		0	0	0
213. 維斯拉哥沙門氏菌					+		0	+	<20



續表四

抗 原	血清	4.12-27	28	30	34	35	38	39	40	41
		許寒友 沙門氏菌 血清	塞拉維沙 門氏菌 血清	厄班那 沙門氏 菌血清	依利諾 沙門氏 菌血清	阿德萊 沙門氏 菌血清	西弗內 斯沙門 氏菌血清	香班沙 門氏菌 血清	雷俄格倫 德沙門 氏菌血清	維克羅 斯沙門 氏菌血清
143. 甲型付傷寒沙門氏菌			0	0	0	0	0	0	0	0
144. 甲型付傷寒沙門氏菌 杜爾佐變種			0	0	0	0	0	0	0	0
146. 乙型付傷寒沙門氏菌			40	0	40	20	0	0	0	0
220. 甲定沙門氏菌	640		40	0	2560	0	0	40	0	0
16. 猪霍亂沙門氏菌			20	0	0	20	0	0	0	160
165. 湯下瀉沙門氏菌			0	<20	0	40	0	<20	0	0
171. 細波特沙門氏菌			80	0	0	40	0	20	0	0
170. 弗基尼亞沙門氏菌										
174. 青塔沙門氏菌										
179. 傷寒沙門氏菌 O 901	+		160	0	2560	40	0	80	0	0
318. 倫敦沙門氏菌	80		<20	0	2560	0	0	0	0	160
192. 紐西登沙門氏菌			40	0	2560	80	0	80	0	160
193. 山大頓堡沙門氏菌	卅		160	40		80	0	160	0	160
461142. 依利諾沙門氏菌			卅	0	5120	0	0	80	40	820
196. 阿伯丁沙門氏菌			20	160		20	0	0	0	640
201. 非丁伏斯沙門氏菌			40	160		80	0	320	0	0
254. 加爾那拉沙門氏菌										
255. 刺爾支沙門氏菌			40	0		<20	0	20	0	0
203. 索羅沙門氏菌			0	0		0	0	20	0	0
204. 明尼蘇達沙門氏菌			<20	0		<20	40	0	0	0
197. 浦那沙門氏菌			0	0		0	0	0	0	0
198. 瀝興頓沙門氏菌			0	0		0	0	卅	0	0
199. 卡勞沙門氏菌			0	0		0	0	0	0	0
200. 馬德利亞沙門氏菌										
253. 威氣德斯卡浦沙門氏菌			80	40	160	40	0	<20	0	0
150. 許寒友沙門氏菌	2560									
205. 塞拉維沙門氏菌			1280	0		80	0	80	80	0
107. 厄班那沙門氏菌			0	5120		0	0	0	<20	0
208. 阿德萊沙門氏菌			0	0		2560	0	0	0	0
209. 西弗內斯沙門氏菌			0	0		0	1280	0	0	0
210. 香班沙門氏菌			0	0		0	0	2560	0	0
211. 雷俄格倫德沙門氏菌			0	0		0	0	0	1280	0
212. 維克羅斯沙門氏菌			0	0		0	0	0	0	1280
213. 維斯拉哥沙門氏菌			0	0		0	0	0	0	80

續表四

抗 原	血清		A—E 混合 O 血清				
	42	3.15					
143. 甲型付傷寒沙門氏菌	0	0	160				
144. 甲型付傷寒沙門氏菌 兩株雷佐變種	0	0	1280				
146. 乙型付傷寒沙門氏菌	0	0	640				
220. 甲定沙門氏菌	0	0					
161. 豬霍亂沙門氏菌	0	0	1280				
165. 湯卜瀉沙門氏菌	20	0					
171. 細波特沙門氏菌	0	+	1280				
170. 弗基尼亞沙門氏菌			640				
174. 肯紫沙門氏菌							
179. 傷寒沙門氏菌 O 501	40	0	1280				
315. 倫敦沙門氏菌	0	2500	2560				
192. 細菌香沙門氏菌	0	5120	2560				
193. 山夫極香沙門氏菌	0	640					
46142. 依利普沙門氏菌	80	5120					
196. 阿伯丁沙門氏菌	160	+					
201. 非丁伏斯沙門氏菌	0	+					
254. 加明那拉沙門氏菌							
255. 耐爾克沙門氏菌	20	0					
203. 弗羅沙門氏菌	0	0					
204. 明尼蘇達沙門氏菌	0	0	80				
197. 浦那沙門氏菌	0	+					
198. 湖奧頓沙門氏菌	0	0					
199. 卡勞沙門氏菌	0	0	640				
200. 馬塞利亞沙門氏菌或							
203. 新德新大浦沙門氏菌	0	0					
150. 許萊多姆沙門氏菌							
205. 泰拉維沙門氏菌	0	+					
207. 厄班那沙門氏菌	0	0					
208. 阿爾萊沙門氏菌	0	0					
209. 齒佛內斯沙門氏菌	0	0					
210. 香疾沙門氏菌	0	0					
211. 雷假格倫德沙門氏菌	0	0					
212. 維克羅斯沙門氏菌	0	+					
213. 維新拉普沙門氏菌	5120	0					



表五, 沙門氏菌屬 O 因子血清及 A-E 群混合 O 血清製造表

血清名稱	免疫抗原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每 升 血 清 中 量 (mg)	因子血清效價				
			次 數	吸 收 菌 名 稱						
1	甲型副傷寒沙門氏菌 (143. S.P.A. 1015)	2500 × (3200 ×)	1	144. 甲型副傷寒沙門氏菌杜雷佐變種 (S.P.A. Var. durazzo)	100mg	1280 ×				
			2	144. 甲型副傷寒沙門氏菌杜雷佐變種	20mg.					
				199. 卡勞沙門氏菌 (S. Carrat)	200mg					
				46172 依利諾依斯沙門氏菌 S. illinois	100mg					
				220. 里定沙門氏菌 (S. reading)	70mg					
				163. 猶克羅沙門氏菌 (S.choleraesuis 5210)	100mg					
			3	162. 猶克羅沙門氏菌 (S.cholerae suis)	200mg					
				196. 阿伯丁沙門氏菌 S. aberdeen.	300mg					
			2	144. 甲型副傷寒沙門氏菌杜雷佐變種	2500 ×		1	237. 傷寒沙門氏菌 O 901 (S. typhi O 901)	100mg	1280 ×
							2	237. 傷寒沙門氏菌 O 901	300mg	
4	220 里定沙門氏菌 (S. reading)	5120 × (6400 ×)	1	237. 傷寒沙門氏菌 O 901	800mg	#				
			2	171. 紐波特沙門氏菌 (S. Newport)	40mg					
			3	171. 紐波特沙門氏菌	400mg					
			4	171. 紐波特沙門氏菌	800mg					
			5	171. 紐波特沙門氏菌	400mg					
5	乙型副傷寒沙門氏菌 O 形 (S. paratyphi B O form)		1	220 里定沙門氏菌	1000mg	640 ×				
			2	133. 山夫頓堡沙門氏菌 (S.Senfenberg)	400mg					
			3	193 山夫頓堡沙門氏菌	500mg					
			4	205. 泰拉維沙門氏菌 (S. tel-aviv)	500mg					
			5	165. 湯卜遜沙門氏菌 (S. thompson c 30)	200mg					
				199. 卡勞沙門氏菌 (S. Carrat)	200mg					
				200 馬德利亞沙門氏菌 (S. madelia)	200mg					
			6	200 馬德利亞沙門氏菌	200mg					
				461142 依利諾依斯沙門氏菌	100mg					
			211. 里歐格倫沙門氏菌 (S. riogrande)	200mg						
7	165. 湯卜遜沙門氏菌 C.30	300mg								

因子血清名稱	免 疫 抗 原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每 毫 升 血 清 用 量 (mg)	因 子 血 清 效 價	
			次 數	吸 收 菌 名 稱			
F <sub>1</sub>	162 豬霍亂沙門氏菌 1330.	3120 ×	1	163. 豬霍亂沙門氏菌 5210	400 mg	1280 ×	
	2		208. 阿德萊沙門氏菌 (S. adelaide) 倫敦沙門氏菌	200 mg 200 mg			
	105. 湯卜遜沙門氏菌	640 × (800X)	1	163. 豬霍亂沙門氏菌 5210	600 mg	160 ×	
F <sub>2</sub>	163. 豬霍亂沙門氏菌 5210	640 ×	1	162. 豬霍亂沙門氏菌 1350	400 mg	160 ×	
			2	162. 豬霍亂沙門氏菌 1350.	100 mg		
			3	162. 豬霍亂沙門氏菌 "	50 mg		
			4	193. 山夫頓堡沙門氏菌 461142 依利諾侯斯沙門氏菌	100 mg 100 mg		
			5	96 阿伯丁沙門氏菌 253. 翁德斯太浦沙門氏菌	50 mg 50 mg		
	165. 湯卜遜沙門氏菌	2560 ×	1	162. 豬霍亂沙門氏菌 1350	500 mg	640 ×	
			2	162. 豬霍亂沙門氏菌 1350	250 mg		
			3	212. 維克羅斯沙門氏菌 (S. Waycross) 196. 阿伯丁沙門氏菌 193. 山夫頓堡沙門氏菌	310 mg 100 mg 100 mg		
	7	豬霍亂沙門氏菌	2560 × (3200X)	1	171. 紐波特沙門氏菌 (S. newport)	400 mg	640 ×
		162 豬霍亂沙門氏菌 1350	1280 ×	1	171. 紐波特沙門氏菌	800 mg	320 ×
2				212. 維克羅斯沙門氏菌	300 mg		
3				461142. 依利諾侯斯沙門氏菌 200. 馬德里沙門氏菌	200 mg 200 mg		
4				199. 卡勞沙門氏菌 (S. Carracu) 200. 馬德利亞沙門氏菌	400 mg 200 mg		
8	171. 紐波特沙門氏菌	1280 ×	1	162. 豬霍亂沙門氏菌	50 mg	640 ×	
			2	224. 馬漢薩沙門氏菌	50 mg		
			3	205. 泰拉維沙門氏菌 (S. tel-aviv)	20 mg		
	170 弗基尼亞沙門氏菌 (S. Virginia)	2560 ×	1	224. 馬漢薩沙門氏菌	500 mg	2560 ×	
2			224. 馬漢薩沙門氏菌	500 mg			
3			199. 卡勞沙門氏菌	150 mg			
4			461142. 依利諾侯斯沙門氏菌	160 mg			
9	227. 傷寒沙門氏菌 O 901	2560 × (+) (3200+)	1	144 甲型副傷寒沙門氏菌杜雷佐變種 220 里定沙門氏菌	400 mg 400 mg	640 ×	
			2	220. 里定沙門氏菌 146. 乙型副傷寒沙門氏菌	600 mg 400 mg		

## 續表

因子血清名稱	免疫抗原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每 毫 升 血清用量 (mg)	因子血清效價
			次數	吸 收 菌 名 稱		
續 9	(續) 237. 傷寒沙門氏菌 O 901		3	黑定沙門氏菌 (220) 146. 乙型副傷寒沙門氏菌 46142 依利諾依斯沙門氏菌 205. 泰拉維沙門氏菌	400 mg 200 mg 100 mg 50 mg	
10	315. 倫敦沙門氏菌	1280 ×	1	192 紐因吞沙門氏菌 ( <i>S. mewington</i> ) 204. 明尼蘇達沙門氏菌 ( <i>S. minnesota</i> )	700 mg 300 mg	160 ×
			2	193. 山夫頓堡沙門氏菌	100 mg	
17	249. 阿伯丁沙門氏菌 ( <i>S. aberdeen</i> )	1280 × (1600 ×)	1	315. 倫敦沙門氏菌	800 mg	640 ×
			2	200. 馬德利亞沙門氏菌 201. 非丁伏斯沙門氏菌 ( <i>S. hyittingfoss</i> )	800 mg 200 mg	
			3	162. 雅羅蘭沙門氏菌	200 mg	
			4	461142 依利諾沙門氏菌 212. 維克羅斯沙門氏菌 193. 山夫頓堡沙門氏菌 213. 維斯拉各沙門氏菌 ( <i>S. weslaco</i> )	200 mg 200 mg 200 mg 200 mg	
15	192. 紐因吞沙門氏菌 ( <i>S. mewington</i> )	5120 ×	1	315. 倫敦沙門氏菌	800 mg	640 ×
			2	315. 倫敦沙門氏菌	500 mg	
16	244. 加那那拉沙門氏菌 ( <i>S. gambara</i> )	1280 × (1600 ×)	1	192. 紐因吞沙門氏菌	600 mg	1280 ×
			2	203. 塞羅沙門氏菌 ( <i>S. Cerro</i> )	800 mg	
			3	196. 阿伯丁沙門氏菌 200. 馬德利亞沙門氏菌	400 mg 100 mg	
				207. 厄班那沙門氏菌 ( <i>S. urbana</i> )	800 mg	
			4	143. 甲副傷寒沙門氏菌 193. 山夫頓堡沙門氏菌 203. 塞羅沙門氏菌 213. 維斯拉各沙門氏菌 ( <i>S. Weslaco</i> )	200 mg 200 mg 200 mg 200 mg	
16	非丁伏斯沙門氏菌 ( <i>S. hyittingfoss</i> )	1280 × (1600 ×)	1	146. 乙型副傷寒沙門氏菌	800 mg	640 ×
			2	193. 山夫頓堡沙門氏菌 207. 厄班那沙門氏菌 315. 倫敦沙門氏菌	400 mg 400 mg 100 mg	
			3	461142. 依利諾沙門氏菌 203. 塞羅沙門氏菌 200. 馬德利亞沙門氏菌	200 mg 200 mg 200 mg	

因子血清名稱	免疫抗原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每 毫 升 血清用量 (mg)	因子血清效價
			次數	吸 收 菌 名 稱		
17	刺麻克沙門氏菌 (255, S. kirke)	2500 ×	1	205. 泰拉維沙門氏菌 (S. tel-aviv)	800 mg	1280 ×
			2	193. 山夫頓堡沙門氏菌 (O) 146. 乙型副傷寒沙門氏菌 461142. 伊利諾沙門氏菌 (S. illinois)	400 mg 500 mg 200 mg	
18	塞羅沙門氏菌 (203, S. Cerro)	2:60 ×	1	192. 紐因頓沙門氏菌	800 mg	640 ×
			2	212. 維克羅沙門氏菌 (S. waycross)	400 mg	
			213. 維斯拉諾沙門氏菌 (S. weslaco)	200 mg		
			3	199. 卡勞沙門氏菌 (S. carraw) 200. 馬德利亞沙門氏菌 (S. madelia)	200 mg 400 mg	
4	199. 卡勞沙門氏菌 200. 馬德利亞沙門氏菌	200 mg 200 mg				
19	山夫頓堡沙門氏菌 (193, S. Senftenberg)	5120 ×	1	315. 倫敦沙門氏菌	330 mg	1280 ×
			2	143. 甲型副傷寒沙門氏菌 192. 紐因頓沙門氏菌	400 mg 100 mg	
			3	199. 溫奧頓沙門氏菌 461142. 伊利諾沙門氏菌	100 mg 200 mg	
20	肯塔利沙門氏菌 (256, S. kentucky)	1280 ×	1	172. 紐波特沙門氏菌波多黎哥變種	500 mg	80 ×
			2	172. 紐波特沙門氏菌波多黎哥變種	200 mg	
			3	172. 紐波特沙門氏菌波多黎哥變種	100 mg	
			4	220. 里定沙門氏菌	200 mg	
21	明尼蘇達沙門氏菌 (204, S. minnesota)	2560 × (#)	1	315. 倫敦沙門氏菌	600 mg	2560 ×
			2	205. 泰拉維沙門氏菌 203. 塞羅沙門氏菌 193. 山夫頓堡沙門氏菌	500 mg 300 mg 300 mg	
			1	199. 溫奧頓沙門氏菌	600 mg	
22	浦那沙門氏菌 (197, S. poona)	1280 ×	2	199. 溫奧頓沙門氏菌	500 mg	320 ×
			3	199. 卡勞沙門氏菌 (O) 195. 阿伯丁沙門氏菌 (O) (S. aberdeen) .62. 豬霍亂沙門氏菌 (O)	300 mg 280 mg 200 mg	

續 表

因子血清名稱	免疫抗原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每 毫 升 血清用量 (mg)	因子血清效價						
			次數	吸 收 商 名 稱								
22			4	193. 山夫頓堡沙門氏菌 (O) 179. 傷寒沙門氏菌 O 901 461142. 伊列諾沙門氏菌	130 mg 250 mg 170 mg							
			5	203. 塞羅沙門氏菌	300 mg							
			6	209. 西佛內斯沙門氏菌 (O) (S. 10 verwee)	300 mg							
				200. 馬德利亞沙門氏菌	100 mg							
			7	209. 西佛內斯沙門氏菌 (H)	150 mg							
23	福奧頓沙門氏菌 (461341)	1280 ×	1	197. 浦那沙門氏菌 (O) 193. 山夫頓堡沙門氏菌 (O)	629 mg 120 mg	320 ×						
				2	179. 傷寒沙門氏菌 O 901 (O) 153. 山夫頓堡沙門氏菌 (O) 205. 泰拉維沙門氏菌 (O) 461142. 伊列諾沙門氏菌 (O)		300 mg 200 mg 300 mg 100 mg					
			3		193. 山夫頓堡沙門氏菌 205. 泰拉維沙門氏菌 201. 非丁伏沙門氏菌 199. 卡勞沙門氏菌 165. 湯卜羅沙門氏菌 212. 維克羅沙門氏菌		200 mg 200 mg 100 mg 100 mg 100 mg					
					4		200. 馬德利亞沙門氏菌	200 mg				
					34		卡勞沙門氏菌	10240 ×	1	253. 翁德斯太浦沙門氏菌	800 mg	1280 ×
									2	253. " "	400 mg	
			3	200. 馬德利亞沙門氏菌 (O)					200 mg			
			4	200. " (O) 461142. 伊列諾沙門氏菌					200 mg 100 mg			
			5	200. 馬德利亞沙門氏菌					210 mg			
			25	翁德斯太浦沙門氏菌	2560 ×		1	199. 卡勞沙門氏菌	800 mg	320 ×		
2	199. " "	400 mg										
3	199. " "	300 mg										
4	199. " "	400 mg										

續表

因子血清名稱	免疫抗原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每毫升血清用量 (mg)	因子血清效價				
			次數	吸 收 菌 名 稱						
25		x	5	193. 山夫頓堡沙門氏菌	800 mg	320 x				
			6	461142. 伊利諾沙門氏菌	800 mg					
			7	461142. " "	500 mg 400 mg					
	馬德利亞沙門氏菌 (S. maderia)	2560 x (#) (3200 x #)	1	190. 卡勞沙門氏菌	1000 mg	2560 x				
			2	193. 山夫頓堡沙門氏菌 461142. 伊利諾沙門氏菌	800 mg 1000 mg					
			3	199. 卡勞沙門氏菌	900 mg					
	27	得萊士亥姆沙門氏菌 (150.S.schleisbeim)	5120 x	1	220. 里定沙門氏菌 (O) 里定沙門氏菌 315. 倫敦沙門氏菌	500 mg 500 mg	640 x			
2				315. " (O) 193. 山夫頓堡沙門氏菌						
3				193. " (O) 315. 倫敦沙門氏菌 179. 傷寒沙門氏菌 O 901 (O)	50 mg 50 mg 25 mg					
28	泰拉維沙門氏菌 (205. S. tej-aviv)	1280 x	1	178. 傷寒沙門氏菌 II 901 192. 紐門頓沙門氏菌 461142. 伊利諾沙門氏菌	280 mg 150 mg 200 mg	320 x				
			2	204. 明尼蘇達沙門氏菌 201. 非丁伏斯沙門氏菌 166. 喬卜羅沙門氏菌柏林變種 193. 山夫頓堡沙門氏菌	200 mg 150 mg 150 mg 150 mg					
			3	203. 寒羅沙門氏菌 210. 香班沙門氏菌 (S. Champign) 200. 馬德利亞沙門氏菌 172. 紐波特沙門氏菌波多黎哥變種	44 mg 50 mg 50 mg 44 mg					
			30	厄班那沙門氏菌 (207)	5120 x		1	200. 馬德利亞沙門氏菌 251. 溫興頓沙門氏菌 193. 山夫頓堡沙門氏菌	40 mg 50 mg 50 mg	5120 x
							2	201. 非丁伏斯沙門氏菌	200 mg	
							34	伊利諾沙門氏菌 (461142)	5120 x	
2	179. 傷寒沙門氏菌 O 901 220. 里丁沙門氏菌	300 mg 100 mg								
3	220. 里丁沙門氏菌	300 mg								

續 表

因子血清名稱	免疫抗原	原血清效價 (未吸收前)	吸 收		每毫升血清用量 (mg)	因子血清效價
			次數	吸 收 菌 名 稱		
35	208 阿德萊沙門氏菌 S. adelaide	2560 × (3200 ×)	1	200. 馬德利亞沙門氏菌	40 mg	640 ×
				178. 傷寒沙門氏菌 H 901	40 mg	
			2	172. 紐波特沙門氏菌波多黎哥變種 (S. newport var. puerto vica)	44 mg	
				193. 山夫頓堡沙門氏菌	50 mg	
				201. 非丁伏斯沙門氏菌	50 mg	
205. 泰拉維沙門氏菌	50 mg					
38	209. 因布內斯沙門氏菌 S. invernens	1280 ×	1	204. 明尼蘇達沙門氏菌	200 mg	640 ×
39	310. 香登沙門氏菌 (S. Champaign)	2560 ×	1	201. 非丁伏斯沙門氏菌	400 mg	1280 ×
				192. 紐因吞沙門氏菌	150 mg	
				461142. 依利諾沙門氏菌	150 mg	
			2	205. 泰拉維沙門氏菌	150 mg	
103. 山夫頓堡沙門氏菌	300 mg					
178. 傷寒沙門氏菌 H 901	140 mg					
40	211. 雷格特倫維沙門氏菌 (S. riagrande)	1280 ×	1	205. 泰拉維沙門氏菌	200 mg	4280 ×
				461142. 依利諾沙門氏菌	200 mg	
				207. 厄塞那沙門氏菌	200 mg	
41	212 維克羅斯沙門氏菌 (S. Waycross)	1280 ×	1	315. 倫敦沙門氏菌	200 mg	640 ×
				2	196. 阿伯丁沙門氏菌	
			461142. 依利諾沙門氏菌	200 mg		
3	165. 湯卜羅沙門氏菌	200 mg				
	163. 雅霍亂沙門氏菌	200 mg				
42	213. 維斯拉哥沙門氏菌 (S. Wexlaco)	5120 ×	1	178. 傷寒沙門氏菌 H 901	100 mg	1280 × 卅
				166. 湯卜羅柏林變種	80 mg	
				461142. 依利諾沙門氏菌	48 mg	
3.15	192. 紐因吞沙門氏菌 (S. newington)	5120 × (192)	1	196. 阿伯丁沙門氏菌	400 mg	$\frac{315}{192} \times 5120 \times$ $\frac{193}{192} \times 1280 \times$ $\frac{461142}{192} \times 2560 \times$

血清名稱	免 疫 用 抗 原	原血清 效 價	吸 收		每毫升血清使用量 (mg/ml)	因子血清 清效價
			次數	吸 收 菌 名 稱		
A—E 混合 O	143. 甲型副傷寒沙門氏菌	143 ×	1	199. 卡勞沙門氏菌	200 mg	100 ×
	146. 型副傷寒沙門氏菌	140 ×		204. 明尼蘇達沙門氏菌	100 mg	320 ×
	162. 雅霍亂沙門氏菌	1280 ×		205. 泰拉維沙門氏菌	500 mg	320 ×
	170. 弗基尼亞沙門氏菌	640 ×	2	196. 阿伯丁沙門氏菌	200 mg	320 ×
	179. 傷寒沙門氏菌 O 901	1280 ×		212. 維克羅斯沙門氏菌	240 mg	1280 ×
	315. 倫敦沙門氏菌	2560 ×				1280 ×
	192. 紐因吞沙門氏菌	2560 ×		3	196. 阿伯丁沙門氏菌	100 mg

表六、沙門氏菌屬H因子血清製造表

因子血清	免 疫 元		原 效 價 及 類 屬 反 應			吸 收				最後效價
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	效 價	次 數	菌 號	菌 名	菌 量 克/毫升	
a	143	甲型副傷寒沙門氏菌	143	甲型副傷寒沙門氏菌 OII	1:2500	1	143	甲型副傷寒沙門氏菌 O	0.8	1:6400
			143	” O	1:1600	2	195	吉大港沙門氏菌 OII	0.8	
			145	” OII	1:800					
b	147	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種林	147	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種OH	1:2500	1	154	鼠傷寒沙門氏菌 OH	0.54	1:2500
			154	鼠傷寒沙門氏菌 OH	1:100					
			172	紐波特沙門氏菌波多黎各變種OH	<1:100					
c	227	精靈亂沙門氏菌K1535特異相體形	227	精靈亂沙門氏菌K1535特異相體形OH	1:2500	1	227	精靈亂沙門氏菌 O	0.5	1:51200
			224	馬諾產沙門氏菌 O	1:800	2	197	浦那沙門氏菌 O	0.6	
			185	都柏林沙門氏菌 O		3			0.4	
d	178	傷寒沙門氏菌H901	178	傷寒沙門氏菌H901	1:2500	1	179	傷寒沙門氏菌 O901	0.5	1:6400
			178	” O901	1:6400	2	179	”	0.5	
e,h	152	2468沙門氏菌	152	2468沙門氏菌 OH	1:51200	1	152	2468沙門氏菌 O	0.8	1:51200
			152	” O	1:3200	2	146	乙型副傷寒沙門氏菌 OII	0.5	
			318	達厄斯薩蘭沙門氏菌 OH	1:6400					
			171	紐波特沙門氏菌 O	1:400					
f	221	德爾俾沙門氏菌	221	德爾俾沙門氏菌 OH	1:5000	1	223	布達佩斯沙門氏菌 OII	0.8	1:2500
			221	” O	1:800	2	153	埃森沙門氏菌 OH	0.8	
			153	埃森沙門氏菌 OH	1:800	3	361	腸炎沙門氏菌 OH	0.8	
			223	布達佩斯沙門氏菌 OH	1:800	4	193	山夫頓堡沙門氏菌 OII	0.4	
							361	腸炎沙門氏菌 OH	0.2	
							223	布達佩斯沙門氏菌 OH	0.3	
							185	都柏林沙門氏菌 OH	0.4	
							186	羅斯托克沙門氏菌 OH	0.2	



續表六

因子 血清	免 疫 元		原 效 價 及 類 屬 反 應			收			最 後 效 價	
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	效 價	次 數	菌 號	菌 名		商 量 克/毫升
g	184	腸炎沙門氏菌	184	腸炎沙門氏菌OH	1:51200	1	184	腸炎沙門氏菌	0.3	1:6400
			184	" O	1:400	2	167	奧雷寧堡沙門氏菌	0.45	
			167	奧雷寧堡沙門氏菌OH	1:1600					
			167	" O	1:20					
h	171	紐波特沙門氏菌第1相	171	紐波特沙門氏菌OH	1:12800	1	172	紐波特沙門氏菌波多黎各變種OH	0.8	1:12800
			171	" O	1:3200	2	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌OH	0.8	
			323	達厄斯薩蘭沙門氏菌OH	1:800	3	177	格羅斯出浦沙門氏菌OH	0.4	
			132	沙門氏菌 24682 OH	1:12800	4	166	湯卜遜沙門氏菌柏林變種 OH	0.4	
i	155	鼠傷寒沙門氏菌1074	155	鼠傷寒沙門氏菌OH	> 1:2,600	1	146	乙型副傷寒沙門氏菌 O	0.4	1:1280
			155	" O	1:3200	2	232	聖德維多沙門氏菌OH	0.4	
			146	乙型副傷寒沙門氏菌OH	1:200					
			172	紐波特沙門氏菌OH	1:200					
k	165	湯卜遜沙門氏菌360	165	湯卜遜沙門氏菌OH	1:25600	1	166	湯卜遜沙門氏菌柏林變種 OH	0.8	1:3200
			165	" O	1:1600		273	爪哇沙門氏菌OH (S. javiana)	0.8	
			166	湯卜遜沙門氏菌柏林變種 OH	1:1000	2	177	格羅斯出浦沙門氏菌OH	0.8	
						3	177	" O	0.4	
lv	315	倫敦沙門氏菌第1相	315	倫敦沙門氏菌OH	> 1:12800	1	245	鴨沙門氏菌	0.1	1:5120
			315	" O	1:3600					
			245	鴨沙門氏菌OH	1:400					
			313	達厄斯薩蘭沙門氏菌OH	1:6400					
			191	烏丁達沙門氏菌OH	1:12800					
m	167	奧雷寧堡沙門氏菌	167	奧雷寧堡沙門氏菌OH	1:51200	1	167	奧雷寧堡沙門氏菌 O	0.5	1:25600
			167	" O	1:200	2	193	山夫頓堡沙門氏菌OH	0.3	
			193	山夫頓堡沙門氏菌OH	1:800	3	242	貝塔氏沙門氏菌	0.3	
			242	貝塔氏沙門氏菌OH	1:1600					

續表六

因子血清	免 疫 元		原 效 價 及 類 屬 反 應			驗 收				最後效價		
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	效 價	次 數	菌 號	菌 名	菌 量 克/毫升			
n	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌第2相	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌 OH	1:12800	1	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌 O	0.8	1:1000		
			313	" O	1:800	2	313	"	0.8			
			198	溫奧頓沙門氏菌 OH	1:800	3	313	"	0.4			
			237	傷寒沙門氏菌 O901	1:200	171	紐波特沙門氏菌 OH		171		紐波特沙門氏菌 OH	0.3
						198	溫奧頓沙門氏菌 OH		0.2			
						313	達厄斯薩蘭沙門氏菌 O		0.2			
						152	沙門氏菌 21682 OH		0.4			
						171	紐波特沙門氏菌 OH		0.2			
						171	"		0.2			
						198	溫奧頓沙門氏菌 OH		0.4			
						198	"		0.5			
						171	紐波特沙門氏菌 OH		0.3			
						315	倫敦沙門氏菌 OH		0.2			
			198	溫奧頓沙門氏菌 OH	0.5							
			273	傷寒沙門氏菌 O901	0.3							
243	鴨沙門氏菌 OH	0.2										
P	186	都柏林沙門氏菌	186	都柏林沙門氏菌 OH	1:102400	1	184	腸炎沙門氏菌 OH	0.5	1:3200		
			186	" O	1:320	2	184	"	0.25			
			184	腸炎沙門氏菌 OH	1:12800	361	"		361		"	0.25
						361	"		0.125			
						361	"		0.0625			
						361	"		0.0625			
						223	布達佩斯沙門氏菌 OH		0.075			
						232	聖維維多沙門氏菌 OH		0.04			
Q	187	莫斯科沙門氏菌	187	莫斯科沙門氏菌 OH	1:3200	1	184	腸炎沙門氏菌 OH	0.57	1:3200		
			187	" O	自 凝	2	361	"	0.8			
			184	腸炎沙門氏菌 OH	1:800	361	"	3	361		"	0.8
						273	爪哇沙門氏菌 (S. javiana)	OH	4		273	爪哇沙門氏菌 (S. javiana)

續表六

因子血清	免 疫 原		原 効 價 及 類 屬 反 應			吸 收			最後効價		
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	効 價	次 數	菌 號	菌 名		量 量 克/毫升	
r	168	維爾肯沙門氏菌第1相	168	維爾肯沙門氏菌 OH	1:27600	1	166	湯卜遜沙門氏菌 柏林變種 OH	0.5	1:12800	
			168	" O	1:800		172	紐波特沙門氏菌 波多黎谷變種 OH	0.5		
			166	湯卜遜沙門氏菌 柏林變種 OH	1:1600		196	阿柏丁沙門氏菌 OH	0.5		
			172	紐波特沙門氏菌 波多黎谷變種 OH	1:200	2	196	"	0.2		
							232	蒙德維多沙門氏菌 OH	0.275		
							232	"	0.275		
s	232	蒙德維多沙門氏菌	232	蒙德維多沙門氏菌 OH	1:25600	1	167	奧雷寧堡沙門氏菌	0.8	1:12800	
			232	" O	1:800		2	184	腸炎沙門氏菌 OH		0.8
			184	腸炎沙門氏菌 OH	1:200	361		"	0.4		
			167	奧雷寧堡沙門氏菌 OH	1:800	4		168	維爾肯沙門氏菌 OH		0.3
							167	奧雷寧堡沙門氏菌 OH	1:800		167
t	167	奧雷寧堡沙門氏菌	167	奧雷寧堡沙門氏菌 OH	1:6400	1	232	蒙德維多沙門氏菌 OH	1.0	1:6400	
			167	" O	1:200		2	232	"		0.28
			232	蒙德維多沙門氏菌 OH	1:800						
u	186	羅斯托克沙門氏菌	186	羅斯托克沙門氏菌 OH	1:25600	1	188	都柏林沙門氏菌 OH	1.0	1:3200	
			186	" O	1:1600						
			188	都柏林沙門氏菌 OH	1:12800						
v	315	倫敦沙門氏菌第1相	315	倫敦沙門氏菌 OH	1:3200	1	245	鴨沙門氏菌 OH	0.307	1:3200	
			345	" O	1:1600		245	" O	1.107		
			245	鴨沙門氏菌 OH	1:200	191	烏干達沙門氏菌 OH	0.604			
			313	達厄斯薩蘭沙門氏菌 OH	1:1600	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌	0.803			
			191	烏干達沙門氏菌 OH	1:3200						
			w	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌第一相	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌 OH	1:5120	1		313
313	" O	1:1280				2	"	"		"	
315	倫敦沙門氏菌 OH	1:160					3	263	布雷登尼沙門氏菌 OH	"	
191	烏干達沙門氏菌 OH	1:160				4		"	"	0.3	
151	聖地亞哥沙門氏菌 OH	1:640					5	315	倫敦沙門氏菌 OH	0.5	
						263		布雷登尼沙門氏菌 OH	0.3		
						318	倫敦沙門氏菌 OH	0.2			
						273	爪哇沙門氏菌 OH (S. javiana)	0.3			

續表六

因子 血清	免 疫 原			原 効 價 及 類 屬 反 應		吸 收				最 後 効 價
	菌 數	菌 名	菌 號	菌 名	効 價	次 數	菌 號	菌 名	菌 量 克/毫升	
x	201	非丁伏斯沙門氏菌第二相	201	非丁伏斯沙門氏菌	1:12800	1	201	非丁伏斯沙門氏菌	0.4	1:400
				OH	1:1600	2	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌	0.2	
			206	泰拉維沙門氏菌	1:12800	3	"	"	0.1	
			131	聖地亞哥沙門氏菌	1:12800	4	"	"	0.1	
			207	厄班那沙門氏菌	1:12800	5	151	聖地亞哥沙門氏菌	0.2	
				OH		6	"	"	0.25	
			313	達厄斯薩蘭沙門氏菌	1:12800	7	"	"	0.1	
y	200	馬德利亞沙門氏菌	200	馬德利亞沙門氏菌	1:2400	1	200	馬德利亞沙門氏菌	0.3	1:12800
				O	1:200	2	263	布雷登尼沙門氏菌	0.4	
			243	布雷登尼沙門氏菌	1:640	3	263	"	0.4	
			177	格羅斯出浦沙門氏菌	1:1280					
z	197	浦那沙門氏菌第一相	197	浦那沙門氏菌	1:12800	1	197	浦那沙門氏菌	0.6	1:6400
			243	鴨沙門氏菌	1:800					
zg	174	肯塔基沙門氏菌β相	174	肯塔基沙門氏菌	1:51200	1	174	肯塔基沙門氏菌	0.8	1:12800
				O	1:800	2	154	鼠傷寒沙門氏菌	0.8	
			154	鼠傷寒沙門氏菌	1:1600	3	"	"	0.8	
				OH		4	245	鴨沙門氏菌	0.2	
				OH		163	派瓦乳沙門氏菌	0.2		
				OH		166	湯卜羅沙門氏菌	0.6		
zg	177	格羅斯出浦沙門氏菌第一相	177	格羅斯出浦沙門氏菌	1:1600	1	177	格羅斯出浦沙門氏菌	0.6	1:12800
				O	1:100	2	274	肯塔基沙門氏菌	0.08	
			151	聖地亞哥沙門氏菌	1:25600	3	151	聖地亞哥沙門氏菌	0.143	
			177	格羅斯出浦沙門氏菌	1:800	4	143	甲型付傷寒沙門氏菌	0.14	
			143	甲型付傷寒沙門氏菌	1:1600	5	313	達厄斯薩蘭沙門氏菌	0.13	
			174	肯塔基沙門氏菌	1:800					
			224	馬波廣沙門氏菌	1:200					
			313	達厄斯薩蘭沙門氏菌	1:25					
zg	191	烏干達沙門氏菌第一相	191	烏干達沙門氏菌	1:25600	1	191	烏干達沙門氏菌	0.8	1:12800
				O	1:3200	2	166	湯卜羅沙門氏菌	0.8	
			273	爪哇沙門氏菌(S. javiana)	1:6400	3	273	爪哇沙門氏菌	0.29	
			313	達厄斯薩蘭沙門氏菌	1:6400	4	315	倫敦沙門氏菌	0.4	
			315	倫敦沙門氏菌	1:3200					
			166	湯卜羅沙門氏菌						

續表六

因子血清	免 疫 原		原 效 價 及 類 屬 反 應				吸 收			最 後 效 價	
	商 號	商 名	商 號	商 名	效 價	次 數	商 號	商 名	菌 量 克/毫升		
Z <sub>15</sub>	131	聖地亞哥沙門氏菌 O/H	151	聖地亞哥沙門氏菌 O/H	1:10240	1	288	徹斯特沙門氏菌 O/H	0.437	1:10240	
			283	徹斯特沙門氏菌 O/H	1:2560	313	達厄斯薩爾沙門氏菌 O/H	0.33			
			313	達厄斯薩爾沙門氏菌 O/H	1:2560	2	288	徹斯特沙門氏菌 O/H	0.437		
						313	達厄斯薩爾沙門氏菌 O/H	0.33			
						3	283	徹斯特沙門氏菌 O/H	0.437		
						4	"	"	"		
			5	"	"	"					
			6	313	達厄斯薩爾沙門氏菌 O/H	0.312					
							243	鴨沙門氏菌 O/H	0.2		
Z <sub>16</sub>	203	零羅沙門氏菌	203	零羅沙門氏菌 O/H	1:25600	1	203	零羅沙門氏菌 O	0.6	1:25600	
			"	"	O	1:1000	2	213	維斯拉哥沙門氏菌 O		0.1
			460641	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	"	"	"	"	"		"
			460651	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	1:3200	"	"	"	"		
			212	維克羅斯沙門氏菌 O/H	自凝	"	"	"			
Z <sub>17</sub>	203	零羅沙門氏菌	203	零羅沙門氏菌 O/H	1:25600	1	203	零羅沙門氏菌 O	0.6	1:1600	
			"	"	O	1:1600	2	213	維斯拉哥沙門氏菌 O/H		0.1
			460641	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	1:1600	3	176	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	0.4		
			460651	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	1:3200	375	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	0.4			
						4	175	"	O/H		0.5
						176	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	0.2			
						5	176	"	O/H		0.2
						6	176	"	O/H		0.2
						7	176	"	O/H		0.4
						8	176	"	O/H		0.2
						9	175	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	0.2		
						175	"	O/H	0.2		
						176	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	0.2			
						178	"	O/H	0.2		
			175	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	0.1						
			175	"	O/H	0.2					
			176	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	0.1						
			176	"	O/H	0.2					
			175	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	0.2						
			175	"	O/H	0.2					
			176	泰拉哈西沙門氏菌 O/H	0.1						
			176	"	O/H	0.2					
			175	杜塞道夫沙門氏菌 O/H	0.1						
			175	"	O/H	0.1					

續表六

因子血清	免 疫 原		原 效 價 及 類 屬 反 應			吸 取			最 後 效 價		
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	效 價	次 數	菌 號	菌 名		菌 量 克/毫升	
Z <sub>1</sub> Z <sub>22</sub>	175	杜塞道夫沙門氏菌	175	杜塞道夫沙門氏菌	1:12800	1	175	杜塞道夫沙門氏菌	0.74	1:25600	
			175	OH	自凝			175			OH
			203	塞羅沙門氏菌	1:400			203			塞羅沙門氏菌
			167	泰拉哈西沙門氏菌	自凝			167			泰拉哈西沙門氏菌
			177	格羅斯出浦沙門氏菌	1:1600		177	格羅斯出浦沙門氏菌			
Z <sub>24</sub>	175	杜塞道夫沙門氏菌		同 上		1	175	杜塞道夫沙門氏菌	0.74	1:2560	
							2	203	塞羅沙門氏菌		0.05
							3	176	泰拉哈西沙門氏菌		0.41
							3	176	" "		0.12
Z <sub>1</sub> Z <sub>22</sub>	176	泰拉哈西沙門氏菌	176	泰拉哈西沙門氏菌	1:12800	1	172	紐波特沙門氏菌	0.8	1:12800	
				OH			2	172	多黎谷變種		0.8
			176	" "	1:800		3	172	" "		0.176
			203	塞羅沙門氏菌	1:25600		4	176	泰拉哈西沙門氏菌		0.176
			175	杜塞道夫沙門氏菌	1:51200		5	172	紐波特沙門氏菌		0.176
							6	176	泰拉哈西沙門氏菌		1
						177	格羅斯出浦沙門氏菌	0.2			
Z <sub>22</sub>	176	泰拉哈西沙門氏菌	176	泰拉哈西沙門氏菌	1:12800	1	460651	泰拉哈西沙門氏菌	0.46	1:200	
				OH	1:800		2	174	青塔基沙門氏菌		0.2
			203	塞羅沙門氏菌	1:25600		3	177	格羅斯出浦沙門氏菌		0.118
			175	杜塞道夫沙門氏菌	1:51200		4	172	紐波特沙門氏菌		0.4
							4	174	青塔基沙門氏菌		0.2
							5	174	" "		0.2
							6	203	塞羅沙門氏菌		0.4
							7	175	杜塞道夫沙門氏菌		0.4
							7	203	塞羅沙門氏菌		0.2
							8	175	杜塞道夫沙門氏菌		0.2
			8	212	維克羅斯沙門氏菌	0.2					
			9	203	塞羅沙門氏菌	0.05					
			9	175	杜塞道夫沙門氏菌	0.05					
			9	203	塞羅沙門氏菌	0.05					
			10	175	杜塞道夫沙門氏菌	0.05					
			10	212	維克羅斯沙門氏菌	0.05					
				175	杜塞道夫沙門氏菌	0.05					

續表六

因子血清	免 疫 原		原 效 價 及 類 屬 反 應			吸 收				最 後 效 價
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	效 價	次 數	菌 號	菌 名	菌 量 克/毫升	
1:2 <sub>23</sub>	273	爪哇沙門氏菌第一相 (S. javiana)	273	爪哇沙門氏菌 OH	1:6400	1	273	爪哇沙門氏菌 O	0.85	1:12800
			273	" O	1:400	2	"	"	0.2	
			191	烏干達沙門氏菌 OH	1:1600	3	106	湯卜羅沙門氏菌 OH	0.8	
			400641	波斯坦沙門氏菌 OH	1:1600	4	163	雀霍亂沙門氏菌 OH	0.09	
			106	湯卜羅沙門氏菌 OH	1:1600		166	湯卜羅沙門氏菌 柏林變種 OH	0.27	
Z <sub>24</sub>	293	爪哇沙門氏菌 (S. javiana) 第一相	273	爪哇沙門氏菌 OH		1	273	爪哇沙門氏菌 O	0.85	1:6400
				同 上		2	273	"	0.2	
						3	166	湯卜羅沙門氏菌 柏林變種 OH	0.8	
						4	166	"	0.27	
						5	163	雀霍亂沙門氏菌 OH	0.09	
						6	460411	波美坦沙門氏菌 OH	0.4	
						7	315	倫敦沙門氏菌 OH	0.2	
						8	460411	波美坦沙門氏菌 OH	0.2	
						9	263	布雷登尼沙門氏菌 OH	0.3	
Z <sub>29</sub>	169	田納西沙門氏菌	169	田納西沙門氏菌 OH	1:51200	1	169	田納西沙門氏菌 O	0.8	1:6400
			169	" O	1:200					
Z <sub>35</sub>	195	吉大港沙門氏菌第二相	195	吉大港沙門氏菌 OH	1:51200	1	195	吉大港沙門氏菌 O	0.8	1:6400
			195	" O	1:800	2	143	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	0.12	
			143	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	1:3200		109	田納西沙門氏菌 OH	0.2	
						3	197	浦那沙門氏菌 OH	0.3	
						4	143	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	0.4	
						5	197	浦那沙門氏菌 OH	0.4	
Z <sub>36</sub>	140	維斯拉哥沙門氏菌	維斯拉哥沙門氏菌 OH	1:2560	1	2,3	維斯拉哥沙門氏菌 O	0.6	1:1280	
			"	1:6400	2	2,3	"	0.3		

續表六

因子血清	免 疫 原		原 效 價 及 凝 膠 反 應		吸 收			最 後 效 價		
	菌 號	菌 名	菌 號	菌 名	次 數	菌 號	菌 名		劑 量 克/毫升	
2	146	乙型副傷寒沙門氏菌第二相	146	乙型副傷寒沙門氏菌 OH	25600	1	263	布雷登尼沙門氏菌 OH	0.8	
			147	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種 OH	1000	2	"	"	0.5	
			149	乙型副傷寒沙門氏菌 O <sub>15</sub>	1:3200	3	147	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種 OH	0.8	
			263	布雷登尼沙門氏菌 OH	1:6400	4	166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種 OH	0.8	
			166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種 OH	1:6400	5	166	"	0.8	
			6	166	"	0.6				
			245	鴨沙門氏菌 OH	1:3200	7	162	禾雷亂沙門氏菌 OH	0.6	
5	166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種	166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種 OH	1:2,600	1	163	湯卜羅沙門氏菌 C <sub>30</sub> OH	0.5	
			172	紐波特沙門氏菌波多黎各變種 O	1:3200	2	172	紐波特沙門氏菌波多黎各變種 OH	0.52	
			245	鴨沙門氏菌 OH	1:6400	245	鴨沙門氏菌 OH	0.67		
			171	紐波特沙門氏菌 OH	1:1600	3	172	紐波特沙門氏菌波多黎各變種 OH	0.52	
			146	乙型副傷寒沙門氏菌 OH	1:1000	245	鴨沙門氏菌 OH	0.67		
			166	湯卜羅沙門氏菌 C <sub>30</sub> OH	1:3200	4	"	0.32		
			263	布雷登尼沙門氏菌 OH	1:400	6	173	杜塞漢夫沙門氏菌 OH	0.32	
6	245	鴨沙門氏菌第二相	245	鴨沙門氏菌 OH	1:12800	1	166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種 OH	0.8	
			166	湯卜羅沙門氏菌 OH	1:12800	2	315	倫敦沙門氏菌 OH	0.8	
			171	紐波特沙門氏菌 OH	1:800	3	166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種 OH	0.8	
			246	明斯特沙門氏菌 OH	1:12800	4	"	"	0.6	
			5	"	"	0.6				
6	163	禾雷亂沙門氏菌 OH	0.4							
7	220	里丁沙門氏菌 OH	0.4							
7	263	布雷登尼沙門氏菌第二相	263	布雷登尼沙門氏菌 OH	1:1280	1	157	布雷登尼沙門氏菌第一相 OH	0.5	
			"	"	O	1:1600	2	157	" OH	0.5
			163	禾雷亂沙門氏菌第二相 OH	1:3200	3	154	鼠傷寒沙門氏菌 OH	0.4	
			166	湯卜羅沙門氏菌柏林變種 OH	1:6400	4	315	倫敦沙門氏菌 OH	0.4	
			171	紐波特沙門氏菌 OH	1:800	154	鼠傷寒沙門氏菌 OH	0.75		
			315	倫敦沙門氏菌 OH	1:100	5	"	"	0.28	
			245	鴨沙門氏菌 OH	1:1600	6	"	"	0.19	
143	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	1:1600	7	143	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	0.28				



續表六

因于血清	免 疫 原		原 效 價 及 類 屬 反 應			吸 收 效 價				
	菌 號	商 名	菌 號	菌 名	效 價	次 數	菌 號	商 名	劑 量 效 價	
1,2,3,5	172	紐波特沙門氏菌 波多黎谷變種	172	紐波特沙門氏菌 波多黎谷變種 OH	1:25000	1	172	紐波特沙門氏菌 波多黎谷變種 OH	0.5	
	166	紐潘下遜沙門氏 菌柏林變種	166	潘下遜沙門氏菌 柏林變種 OH	1:25000	2	166	潘下遜沙門氏菌 柏林變種 OH	0.5	
			165	潘下遜沙門氏菌 C <sub>30</sub> OH	1:12800	3	174	肯塔基沙門氏菌 OH	0.2	
			215	鴨沙門氏菌 OH	1:12800					
			263	布雷登尼沙門氏 菌 OH	1:25000					
e,p,x	224	馬流產沙門氏菌 β 相	224	馬流產沙門氏菌 OH	1:12800	1	224	馬流產沙門氏菌 O	0.5	
			224	" O	1:3200					
			205	泰拉椰沙門氏菌 OH	1:6400					1:12800
			151	聖地亞哥沙門氏 菌 OH	1:6400					
			207	厄查那沙門氏菌 OH	1:6400					
			313	達尼斯薩蘭沙門 氏菌 OH	1:6400					
n <sub>1</sub> 15	151	聖地亞哥沙門氏 菌 β 相	171	紐波特沙門氏菌 OH	1:12800	1	71	紐波特沙門氏菌 OH	1	
			151	聖地亞哥沙門氏 菌 OH	1:25000	2	171	" "	1	
			283	歐斯特沙門氏菌 OH	1:25000	3	151	聖地亞哥沙門氏 菌 O	0.5	
							171	紐波特沙門氏菌 OH	1	
							220	里丁沙門氏菌 OH	1	
							220	" "	0.5	
							171	紐波特沙門氏菌 OH	0.5	
							253	翁德斯大浦沙門 氏菌 OH	0.5	
							253	" "	0.5	
									1:25000	

表七、vi 血清製造表

vi-1

因子血清	原 原		原 效 價 及 類 屬 反 應		吸 收			最 後 效 價			
	商 號	商 名	商 號	商 名	效 價	次 數	商 號		商 名	劑 量 克/毫 升	
vi	183	傷寒沙門氏菌 vi <sup>12</sup>	183	傷寒沙門氏菌 vi1	1:2500	1	178	傷寒沙門氏菌 H901	0.2	183傷寒沙門氏菌 vi1 1:2500	
			1329	" " Ty5	1:2500	2	"	" " "	0.2	182傷寒沙門氏菌 T6S 1:640	
			179	" " O901	<1:20						1329傷寒沙門氏菌 Ty5 1:640
			178	" " H901	1:5120						1247 巴勒盧普菌 1:640
vi	50098	傷寒沙門氏菌 Ty2	183	傷寒沙門氏菌 vi1	1:20480	1	178	傷寒沙門氏菌 H901	0.5	50098傷寒沙門氏菌 Ty2 1:1200	
			50098	" " Ty2	1:20480	2	"	" " "	0.5	183傷寒沙門氏菌 vi1 1:320	
			1274	巴勒盧普菌	1:320	3	"	" " "	0.25	1247 巴勒盧普菌 1:160	
			178	傷寒沙門氏菌 H901	1:10240	4	"	" " "	0.25		
			179	" " O901	1:2560						
vi	182	傷寒沙門氏菌 T6s	182	傷寒沙門氏菌 T6S	1:1280	1	193	山夫頓堡沙門氏菌	0.6	182傷寒沙門氏菌 T6S 1:640	
			183	" " vi1	1:2560			198	濕興頓沙門氏菌	0.2	183傷寒沙門氏菌 vi1 1:1280
			1329	" " vi5	1:1280			2461142	伊利諾沙門氏菌	0.2	1329傷寒沙門氏菌 ty5 1:640
			50098	" " Ty2	1:1280						50098傷寒沙門氏菌 ty2 1:640
			1247	巴勒盧普菌	>1:2500						1247 巴勒盧普菌 1:2500
			178	傷寒沙門氏菌 H901	<1:100						
			179	" " O901	<1:100						
			171	紐波特沙門氏菌	1:20						
			193	卡羅沙門氏菌	1:20						
			461142	伊利諾沙門氏菌	1:20						
				193	山夫頓堡沙門氏菌	1:640					
	198	濕興頓沙門氏菌	1:160								
vi (含有 O11)	1247	巴勒盧普菌	1247	巴勒盧普菌	1:1280	1	193	山夫頓堡沙門氏菌	0.3	1247 巴勒盧普菌 1:640	
			182	傷寒沙門氏菌 T6S	1:1280	2,461142	伊利諾沙門氏菌	0.2	182傷寒沙門氏菌 T6S 1:80		
			178	傷寒沙門氏菌 H901	<1:100					183傷寒沙門氏菌 vi1 1:320	
			179	" " O901	<1:100					1329傷寒沙門氏菌 ty5 1:160	
			193	山夫頓堡沙門氏菌	破 (+)					50098傷寒沙門氏菌 Ty2 1:160	
			200	馬德利亞沙門氏菌	片 (+)						
			461142	伊利諾沙門氏菌	應 (+)						





## 傷寒付傷寒及變形桿菌

### OX<sub>10</sub>, OX<sub>2</sub>, OX<sub>8</sub> 診斷菌液的健康人血清凝集試驗

#### 一、前 言

健康人血清對傷寒付傷寒及變形桿菌 OX<sub>10</sub>, OX<sub>2</sub>, OX<sub>8</sub> 診斷菌液的凝集滴度，各個國家和不同地區因受腸系菌的感染和對腸系菌苗的預防接種情況而有所不同，是在解釋維達與外斐二氏反應結果和制備診斷液時需要注意的一個問題。蘇聯“傷寒付傷寒及痢疾細菌診斷液的製造與檢定法規”<sup>(1)</sup>中規定變形桿菌與健康人血清凝集不應超過1:100，傷寒與付傷寒菌種不超過1:50。Felix 等<sup>(2)</sup>提出可能利用 vi 凝集反應作為一種可靠的血清學方法來診斷傷寒帶菌者。Bhatnagar 等<sup>(3)</sup>由於從未發現在排出傷寒菌期間血清中無 vi 抗體，同時證明 vi 抗體不會以天然凝集素或在免疫以石炭酸防腐的傷寒付傷寒菌苗後出現，認為檢查一個患者血清中的 vi 抗體有助檢查出傷寒感染。Bhatnagar<sup>(4)</sup>對 vi “1” 菌種作了詳細的檢定和報告之後使此點在實際上成為可能。

在檢定和報告了 vi “1<sub>α</sub>” 菌種之後 Bhatnagar<sup>(5)</sup> 證明了 134 個經血清學方法證實的傷寒患者 vi 抗體的存在，56 個曾經預防接種過的患者 vi 效價在 1:50—1:200，78 個未預防注射的患者 vi 效價在 1:25—1:100，他還檢查 34 個臨時的或慢性的傷寒帶菌人，在排菌期間 vi 效價為 1:10—1:100。

大連所曾出品過 vi 菌液，杭州防疫站為了檢查飲食業服務人員中的傷寒帶菌人使用了這個菌液，結果發現呈陽性反應的人數佔被檢人數的三分之二，由於菌液質量不良抑或由於其它原因尚不明瞭。

為了了解傷寒 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vi 付傷寒甲乙丙和變形桿菌 OX<sub>10</sub>, OX<sub>2</sub>, OX<sub>8</sub> 菌液和大連市健康人血清凝集的情況，原計劃尋找未作過和作過傷寒付傷寒三聯菌苗預防注射的健康人進行試驗，後來因未找到沒有接受過傷寒付傷寒菌苗的人，採了 73 名在不同期間內接受過傷寒付傷寒菌苗預防接種的健康人血液作了試驗，由於分離的血清量不等，有些血清只試驗了一部分菌液，以下是這次試驗的報告。

#### 二、菌液的制製

制備菌液用的菌種為：傷寒沙門氏菌 H901 (No.178), O901 (No.237), vi<sub>1</sub>, 1<sup>\*</sup> (No.183), Ty<sub>3</sub> (No.1329), 甲型付傷寒沙門氏菌 (No.143), 乙型付傷寒沙門氏菌 (No.146), 丙型付傷寒沙門氏菌 (No.159), 變形桿菌 OX<sub>10</sub> (No.822), OX<sub>2</sub> (No.1065) 和 OX<sub>8</sub> (No.1066)。這些菌種在制備菌液之前均經形態、生化及血清學檢查，結果證明大都是典型的，值得提出的是變形桿菌 OX<sub>8</sub> 不分解的尿素，傷寒沙門氏 vi “1” 和 Ty<sub>3</sub> 以半個體培養基作穿刺培養時穿刺綫不整齊微現向周圍游散現象，以 H 因子血清作玻片凝集試驗時出現微弱的凝集。

制備菌液用通常的刮種法，即將檢定好的菌種接種於 pH 7.4 的瓊膠斜面上，37°C

18—20小時培養後作為種子，然後用接種器以塗抹法接種於 pH7.4 的瓊膠克氏瓶內，培養後以刮菌器刮下以生理鹽水作成每毫升含菌 100 億（蘇聯標準管）的原液，按 1% 量加入福爾馬林殺菌，vi 菌液並加入 0.5% 氯化鈣保護 vi 抗原。

菌液製妥後經塗片鏡檢，無菌試驗及血清學檢定後存放於 4—10°C 冰室中備用，臨用時將原液稀釋成每毫升含 5 億菌體的懸液。

### 三、各種菌液的健康人血清凝集試驗

試驗對象共 73 人，均為成年人，大部為男性，其中 50 人為本市駐軍，於今年五月份作過傷寒付傷寒三聯菌苗預防注射，其中 13 人接種三次，37 人接種一次；其餘 23 人為本班學習人員和大連所職工，除其中兩人最近十年內未作過三聯菌苗預防注射外，其餘均在 1952—1956 年之間作過三聯或五聯菌苗預防接種。

試驗方法是由靜脈採血，分離血清（未經滅活）與上述十種菌液作定量凝集試驗，與 vi “1” 和 Ty<sub>5</sub> 菌液作試驗的血清由 1:2.5 開始稀釋至 1:80，其餘由 1:10 開始稀釋至 1:320，血清與菌液各為 0.5 毫升等量混合振蕩後置 37°C 孵箱內過夜，次日觀察結果，加入 vi “1” 和 Ty<sub>5</sub> 菌液者置 37°C 兩小時後取出在室溫內過夜，次日觀察結果。根據反應強度和有無分別以 +、++、+++、+、± 及 - 記錄之，以 “+” 為終點效價。由於一部份血清量過少未能全面試驗，只作了一部份菌液，與 vi 菌液的凝集反應結果列於表 1，與其它菌液的反應結果列於表 2。

表 1. 健康人血清與菌液的凝集反應結果

菌液名稱	試驗人數	凝 集 效 價													
		1:5 陰性		1:5		1:10		1:20		1:100		1:160			
		人數	%	人數	%	人數	%	人數	%	人數	%	人數	%		
傷寒沙門氏菌 vi “1”	73	8	10.96	2	2.74	4	5.48	4	5.48	9	12.33	13	17.8	33	45.2
沙門氏菌 Ty <sub>5</sub>	73	6	8.22	4	5.48	5	6.85	4	5.48	11	15.06	8	10.96	35	47.94

表 2. 健康人血清與傷寒付傷寒及變形桿菌 OX<sub>19</sub>OX<sub>12</sub>OX<sub>2</sub>菌液的凝集反應結果

菌液名稱	試驗人數	凝 集 效 價													
		1:20 陰性		1:20		1:40		1:80		1:160		1:320		1:640	
		人數	%	人數	%	人數	%	人數	%	人數	%	人數	%	人數	%
傷寒沙門氏菌 H 901	68	1	1.47	1	1.47	8	11.76	11	16.18	23	33.82	8	11.76	16	23.52
傷寒沙門氏菌 H 901	69	5	7.25	3	4.35	15	21.73	25	36.23	8	11.59	6	8.67	7	10.14
甲型付傷寒沙門氏菌	70	17	24.28	15	21.43	12	17.14	7	10	5	7.14	7	10	7	10
乙型 傷寒沙門氏菌	65	16	24.62	8	12.3	14	21.53	13	20	4	6.15	5	7.69	5	7.69
丙型付傷寒沙門氏菌	43	35	55.56	11	17.46	9	14.28	4	6.35	3	4.76	1	1.59	0	0
變形桿菌 OX <sub>19</sub>	52	7	13.46	6	11.54	13	25.00	14	26.92	9	17.30	1	1.92	2	3.85
變形桿菌 OX <sub>12</sub>	52	6	11.54	9	17.30	15	28.85	13	25.00	9	17.30	0	0	0	0
變形桿菌 OX <sub>2</sub>	41	2	4.88	4	9.76	16	39.02	10	23.81	5	12.19	1	2.44	3	7.32

#### 四、討 論

1. 日本北里研究所<sup>(6)</sup>對141人調查的結果是注射單價傷寒菌苗2次 vi 凝集價在1:6以上者佔55.8%，注射單價菌苗3次 vi 凝集價在1:6以上者佔58.3%。這個結果是和 Bhatnagar 等<sup>(3)</sup>早年所說的未見有 vi 抗體在免疫以石炭酸防腐的傷寒副傷寒甲、乙菌苗後出現不一致的。由表1的結果可見我們檢查的73個人的血清中1:5陰性者對 vi “1”只有8例，對 Ty<sub>5</sub>只有6例，效價在1:10以上的對 vi “1”和 Ty<sub>5</sub>均為63人佔調查人數的86.3%，這個比率較北里研究所的還要高，其中效價達1:160者 vi “1”有33人佔45.2%，Ty<sub>5</sub>有35人佔47.94%，這可能由於我們使用的兩個菌種均含有少量鞭毛抗原的關係，從凝集狀態來看也可以說明這一點。我們知道，典型的 vi 凝集既不同於絮狀的 H 凝集，也不同於沉於管底的顆粒狀的 O 凝集，是以微細的顆粒狀均勻的貼附在凝集管下端周圍的。我們這次所觀察到的大都是微小的絮片狀凝集，搖動後即行消失類似 H 凝集，但又不十分典型，此外有一個值得注意的現象是在這次試驗的結果中對 vi “1”和 Ty<sub>5</sub>的反應強度很多都是從1:5—1:160均為“+”有時甚至記為“++”也是有些勉強的，這種情況不但見於同時凝集傷寒沙門氏菌 H901 和 vi “1”及 Ty<sub>5</sub>的血清也見於對傷寒沙門氏菌 H901 的凝集價只有1:40(+)而對 vi “1”和 Ty<sub>5</sub>的凝集價均達1:160(+)的血清(No.31、32、68、72)，在這種情況下說可能是 H 凝集也是解釋不通的，是否由於這兩個菌株的粗糙特性所致是值得進一步仔細觀察的。與以上所述不同的有一個血清(No.42)對 vi “1”和 Ty<sub>5</sub>由1:5—1:160的凝集反應均較明顯(++或++)，缺點是凝集狀態未註明)對傷寒沙門氏菌 H901 的反應為1:40(+)，應對此人作詳細的細菌學檢查以確定是否為傷寒帶菌人。

2. 對傷寒 H<sub>2</sub>O，付傷寒甲、乙菌液的反應在1:80以上的分別佔85.3%，66.6%，37.1%和41.5%而對付傷寒丙菌液的反應在1:80以上的僅有12.7%，顯然是由於注射傷寒付傷寒甲、乙菌苗的關係。

3. 健康人血清對變形桿菌 OX<sub>19</sub>的反應1:160上的佔23%不符合蘇聯法規所要求的檢查5個健康人凝集價不得超過1:100的規定。對變形桿菌 OX<sub>1</sub>和 OX<sub>2</sub>的反應超過1:160的為17.3%和21.9%，較 OX<sub>19</sub>稍低。有些人血清對變形桿菌 OX<sub>19</sub>、OX<sub>2</sub>或 OX<sub>3</sub>凝集價較高的原因，可能由於受到某種抗原上有關的變形桿菌或其它桿菌感染所致，因而在解釋外斐氏反應結果時不能單單依靠一次凝集試驗的成績。

#### 五、總 結

在這次學習中我們制備了傷寒 vi、O、II 付傷寒甲、乙、丙及變形桿菌 OX<sub>19</sub>、OX<sub>2</sub>、OX<sub>3</sub> 菌液，發現目前保存的傷寒菌 vi “1”和 Ty<sub>5</sub>均含有少量 II 量抗原，不適於制備 vi 診斷菌液。在用這些菌與健康人血清作凝集試驗時也證實了這一點。其它菌液都可以達到我們的制檢規程草案的要求。健康人血清凝集試驗的結果表明和變形桿菌 OX<sub>19</sub>的反應有超過1:160者不符合蘇聯法規的要求。文中對診斷菌液的健康人血清凝集試驗結果作了討論。

### 参 考 文 献

1. 蘇聯“傷寒付傷寒及痢疾細菌診斷液的製造與檢定法規”第2頁。
2. Felix, A, Krikeldridu K, S Reitler, R: J. Hyg. 35, 421, 1935。
3. Bhatnagar, S, S, Freeman, J, F d Dhillon, C, S: Ind. J. med. Res. 24, 597, 1937。
4. Bhatnagar, S, S, C. G. F. Speechly and M. Singh: J. Hyg. 38, 663, 1938.
5. Bhatnagar, S, S: Brit. med. J. 2, 1195, 1938
6. ワクテン・血清・培地の頁68頁, 北里研究所1956。



## 痢疾菌在蘇聯分類中 各相應菌型的血清學比較試驗初步報告

蘇聯學者將痢疾菌分為四個種(1)，它和國際分類(2)的主要區別是蘇聯分類把葛一志氏痢疾菌及史一什氏痢疾菌作為 A, B 二個不同的種列入表中、並且在分類表裡取消了薩克斯氏菌群的五個菌型，理由是因為它們的病因學和流行病學的意義尚不明確。此外，蘇聯分類還把 C 種分為福氏，新城及鮑——諾氏痢疾菌三個亞種、其中福氏痢疾菌亞種又分為 a, b, c, d, e, f 六個菌型、鮑——諾氏痢疾菌亞種分為 I—VII 型，共計 13 個菌型、根據分類表中所載，在這些菌型和國際分類中的福氏痢疾菌及鮑愛德氏痢疾菌之間有一部份菌型的抗原是相同的；有的保持特有的，詳見表一。

這次診斷用品學習班痢疾菌蘇聯分類小組在按痢疾菌蘇聯分類試制分型血清的同時，曾將蘇聯分類與國際分類的相應菌株作了比較試驗，其步驟如下：

表一、痢疾菌蘇聯分類表

蘇聯分類表解			相當於國際分類表		舊 名 稱		
種	亞 種	型	詳	型	種	型	
葛一志氏痢疾菌 志賀氏痢疾桿菌 舒都采氏——竹筴 次氏痢疾桿菌 福氏痢疾桿菌	福氏	—	A 痢疾志賀氏菌	1	志賀氏痢疾桿菌	—	
		—	A 痢疾志賀氏菌	2	竹筴次氏——舒都采氏痢疾菌	—	
		a	.....	2a	—	—	
		b	.....	2a	—	—	
		c	.....	2a	—	W. Andrews	
		d	.....	2a	—	—	
	新城	鮑氏——諾夫格老德 斯卡德氏	e	B 福氏志賀氏菌	—	福氏痢疾桿菌	—
			f	.....	3	—	Z. Andrews
			—	.....	1a	—	V. "
			—	.....	6	—	88鮑氏——新城型 70
			I	.....	1	—	170
			II	.....	—	—	—
			III	.....	4	—	P274
宋內氏痢疾桿菌	—	—	C 鮑志賀氏菌	—	—	—	
		—	.....	2	—	P288	
		—	.....	—	—	—	
		—	.....	5	—	P143	
		—	.....	—	—	—	
—	—	D 宋內氏志賀氏菌	—	—	宋內氏痢疾桿菌	—	

### 實驗材料的來源

實驗用的蘇聯菌株係上海生物製品研究所魏錫華主任於1956年由蘇聯帶來，檢定菌株用的全套血清為蘇聯梅契尼可夫研究所出品，並由魏主任所贈。國際分類菌株則係大

連生物製品研究所日常生產血清用的，檢定用的福氏痢疾菌分型血清亦係大連所出品。  
 施愛德氏痢疾菌血清是英國寶威藥廠出品，薩克斯氏菌群血清由檢定所獲得。

## 方 法

各菌株用瓊膠平板進行分離，取出單個菌落接種在瓊膠斜面上，然後作化學檢查，並用蘇聯及國際分類的分型血清作玻片凝集試驗檢查其抗原特性及相互關係，結果見表二，三，四。

由表二，三，四得知，蘇聯福氏 b 型菌同於國際福氏痢疾菌 2b 型，C 型相當於 2a 型，c 型與 3 型相同，f 型與 1b 型不能區別。

表二、蘇聯分類痢疾菌與國際分類痢疾菌用蘇聯痢疾菌血清  
 及國際分類福氏菌分型血清交叉玻片凝集反應

福氏 菌 種	血 清	國 際 分 類 血 清						蘇 聯 分 類 血 清									
		型 血 清						群 血 清				a	b	c	d	e	f
		I	II	III	IV	V	VI	S	3	4	6						
1267	a	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
1268	b	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—
1269	c	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
1270	c	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1271	c	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1272	c	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1273	d	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+	+
1275	e	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	—
1276	e	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
1277	e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
1278	f	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—	—	—	+
1279	f	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—	+
1290	f	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—	+
1281	f	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—	+
1282	f	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—	+
1283	X	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
1307	新城	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1808	新城	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T166-2	1a	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+
1076	1b	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—	+
51026	2a	—	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+
233	2b	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
51303	3	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—
51305	4a	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
51312	4b	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
300	5	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
743	6	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1283	X	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
1652	Y	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—

註：國際福氏菌分型血清係大連生物製品研究所出品。

表三、蘇聯鮑——諾氏菌與國際鮑愛德氏痢疾菌血清  
及菌株交叉玻片凝集表

菌 株	血 清	國 際 分 類 鮑 愛 德 氏 痢 疾 菌 血 清							蘇 聯 分 類 鮑 愛 德 氏 痢 疾 菌 血 清						
		1	2	3	4	5	6	7	I	II	III	IV	V	VI	VII
1285	I	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—
1286	I	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—
1287	I	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—
1288	I	—	—	—	—	—	卅	—	卅	—	—	—	—	—	—
1289	I	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	—
1290	I	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	—
1291	II	—	—	—	卅	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—
1292	II	—	—	—	卅	—	—	+	—	卅	—	—	—	—	—
1293	II	—	—	—	卅	—	—	+	+	卅	—	—	—	—	—
1294	IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—
1295	V	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—
1296	V	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—
1297	V	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—
1298	VI	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—
1299	VII	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅
1940	VII	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅
1301	VII	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅
1203	1	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—
1204	2	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	—	—
1205	3	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	—
1208	4	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—
1207	5	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	卅	—
1090	6	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—	—
1091	7	—	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—	—	—

註：I, II, III, IV……蘇聯菌株及血清；  
1, 2, 3, 4……國際分類菌株及血清。  
國際鮑愛德氏痢疾菌血清係英國寶威藥廠出品。

表四、諾氏卡赫特，勞曼，819 及 1618 用  
薩克斯氏菌血清作玻片凝集結果

菌 株	血 清	Q771	Q454	Q1030	Q1167	Q902
Q 771	卅	—	—	—	—	—
Q 454	—	卅	—	—	—	—
Q 1030	—	—	卅	—	—	—
Q 1167	—	—	—	卅	—	—
Q 902	—	—	—	—	卅	—
卡赫特	—	卅	—	—	—	—
勞曼	卅	—	—	—	—	—
819	—	—	卅	—	—	—
1618	—	—	—	—	—	—

註：血清自衛生部生物製品檢定所獲得。

蘇聯鮑——諾氏痢疾菌 I 型與國際鮑愛德氏痢疾菌 I 型相同，鮑——諾氏痢疾菌 II 型相當於國際鮑愛德氏痢疾菌 7 型，III 型與 4 型不能區別，V 型與 2 型相同，VII 型同於 5 型。

未列入 Троицкий 氏分類表中的諾氏“卡赫特”菌與國際分類 Q454 相同，諾氏“勞曼”與 Q771 相同，819 型與 Q1030 相同。

我們爲了進一步證實彼此間

的抗原關係，將免疫血清作了交叉凝集及吸收試驗

## 結 果

福氏痢疾菌 b 型與國際福氏痢疾菌 2b 型的關係：b 型菌(1268)用痢疾菌國際分類血清作玻片凝集時，其抗原式為 II : 7 (見表二) 與國際分類福氏痢疾菌 2b 型(II:7)相同，但蘇聯分類中沒有與 b 型相當的國際菌株。b 型菌的免疫血清能與本菌及 2b 型菌凝集至 2,560 倍、2b 型 (233) 的免疫血清能凝集 2b 及 b 型菌達 6,400 倍，作交叉吸收試驗彼此均能互相吸盡，因此證明 b 型與 2b 型是相同的，見表五。

表五、福氏痢疾菌 b 型與國際分類福氏痢疾菌 2b 型交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	b 型(1268)		2b 型(233)	
	未吸收	用 2b 吸收	未吸收	用 b 吸收
蘇聯 b 型 (1268)	2,560	0	6,400	0
國際 2b 型 (233)	2,560	0	6,400	0

表六、福氏痢疾菌 C 型與國際分類福氏痢疾菌 2a 型的交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	C 型(1269)		2a 型(51026)	
	未吸收	用 2a 吸收	未吸收	用 C 吸收
蘇聯 C 型 (1269)	2,560	0	10,240	0
國際 2a 型(51026)	2,560	0	10,240	0

表七、e 型與 3 型的交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	e 型(1275)		3 型(51803)	
	未吸收	用 3 型吸收	未吸收	用 e 吸收
蘇聯 e 型 (1275)	10,240	320	2,560	0
國際 3 型(51803)	10,240	0	10,240	640

表八、f 型與 1b 型交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	f 型(1269)		1b 型(1076)	
	未吸收	用 1b 吸收	未吸收	用 f 吸收
f 型 (1269)	12,800	0	12,800	0
1b 型 (1076)	12,800	0	12,800	0

C 型與 2a 型的關係：C 型 (1269) 作玻片凝集其抗原式為 II : 3, 4 與國際分類福氏痢疾菌 2a 型 (II:3, 4) 相同，用交叉凝集及吸收試驗結果證明它們是相同的，見表六。

e 型與 3 型的關係：e 型(1275) 與 3 型在抗原結構上是一致的 (III : 6, 7) 用 e 血清作凝集與 e 型及 3 型均能凝集至血清的原價 (10,240)，但 3 型血清與本菌凝集至 10,240 倍，與 e 型菌僅凝集至 2,560 倍，達原價的 1/4。用交叉吸收試驗彼此均不能吸盡，即 e 血清用 3 型菌吸收後尚能與本菌凝集 1:320、3 型血清以 e 吸收也不能除盡，見表七。按蘇聯分類表中 e 型同於 3 型，但從這個試驗中未能獲得證明，其原因有待進一步的探討。

f 型與 1b 型的關係：f 型菌 (1269) 用痢疾菌國際分類血清作玻片凝集時，其抗原式為 IS:4,6 與國際分類的福氏痢疾菌 1b 型 (IS : 4, 6) 相同，用交叉凝集及吸收試

驗亦獲得同樣的結果(見表八)。根據蘇聯分類表f型相當於國際分類的福氏痢疾菌V型(1a)而我們得出的結果係1b型,這一點尚須作進一步的研究。

鮑一諾氏痢疾菌與國際分類的鮑愛德氏痢疾菌的比較試驗:從表三得知,鮑一諾氏痢疾菌I型同於國際鮑愛德氏痢疾菌1型,II型同於7型,III型與4型相同,V型相當於2型,IV型與5型不能區別。爲了進一步了解這五個菌型彼此間的抗原關係,作了交叉凝集及吸收試驗,結果見表九、十、十一及表十二。

此外,我們從表三,還可以看出蘇聯分類鮑一諾氏痢疾菌II型和國際分類7型是一致的,這二個菌型不論在生化學及血清學上都是不能區別的。結果見表十三。

相當於國際分類中薩克斯氏菌群的幾個蘇聯菌型:蘇聯1952年痢疾菌分類表中未將相當於薩克斯氏菌群的諾夫格老德斯卡經氏的四個菌型列入已如上述,根據表四的玻片凝集反應諾夫格老德斯卡經氏卡赫特同於薩克斯氏菌Q454,勞曼同於Q771,819型與Q1030相同,其中1618型與國際菌株不相同,爲了探討其中相互間的關係,除作玻片凝集試驗外,還進行了交叉凝集試驗及交叉吸收試驗,結果見表十四、十五、十六。

表九、蘇聯鮑一諾氏痢疾菌I型與國際鮑愛德氏痢疾菌1型交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	血 清		鮑一諾氏菌 I 型(1287)		鮑愛德氏菌 1 型(1203)	
	未吸收	吸收	未吸收	吸收	未吸收	吸收
鮑一諾氏菌 I 型(1287)	320	0	160	0	0	0
鮑愛德氏 1 型(1203)	2,560	0	1,280	0	0	0

表十、鮑一諾氏菌III型與國際鮑愛德氏菌4型交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	血 清		鮑一諾氏菌 III 型(1292)		用鮑愛德氏痢疾菌 4 型(1208)	
	未吸收	吸收	未吸收	吸收	未吸收	吸收
鮑一諾氏菌 III 型(1292)	1,280	0	640	0	0	0
鮑愛德氏菌 4 型(1208)	1,280	0	640	0	0	0

表十一、蘇聯鮑一諾氏痢疾菌V型與國際分類鮑愛德氏痢疾菌2型的交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	血 清		鮑一諾氏菌 V 型(1297)		國際鮑愛德氏菌 2 型(1204)	
	未吸收	吸收	未吸收	吸收	未吸收	吸收
鮑一諾氏菌 V 型(1297)	1,280	0	1,280	0	0	0
國際鮑愛德氏菌 2 型(1204)	1,280	0	1,280	0	0	0

表十二、蘇聯鮑一諾氏痢疾菌IV型與國際分類的鮑愛德氏菌5型交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	血 清		鮑一諾氏菌 IV 型(1299)		國際鮑愛德氏菌 5 型(1207)	
	未吸收	吸收	未吸收	吸收	未吸收	吸收
鮑一諾氏菌 IV 型(1299)	1,280	0	640	0	0	0
國際鮑愛德氏菌 5 型(1207)	320	0	640	0	0	0

表十三、蘇聯分類鮑一諾氏痢疾菌II型與國際分類鮑愛德氏痢疾菌7型交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	血 清		鮑一諾氏菌 II 型(1290)		鮑愛德氏菌 7 型(1091)	
	未吸收	吸收	未吸收	吸收	未吸收	吸收
鮑一諾氏菌 II 型(1290)	1,280	0	2,560	0	0	0
鮑愛德氏菌 7 型(1091)	2,560	0	2,560	0	0	0

表十四、卡赫特菌與Q454的交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株	血 清		卡赫特菌 (1320)		Q454(1324)	
	未吸收	吸收	未吸收	吸收	未吸收	吸收
卡赫特(1320)	640	80	320	0	0	0
Q454(1324)	1,280	0	2,560	0	0	0

表十五、勞曼菌與 Q771 的交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株 \ 血 清	勞曼(1321)		Q771(1325)	
	未吸收	用Q771吸收	未吸收	用勞曼吸收
勞曼(1321)	2,560	0	1,280	0
Q771(1325)	2,560	0	640	0

表十六、819 型與 Q1030 的交叉凝集及吸收試驗結果

菌 株 \ 血 清	819 型 (1322)		Q1030(1326)	
	未吸收	用Q1030吸收	未吸收	用819吸收型
819 型(1322)	2,560	80	640	0
Q1030(1326)	80	0	1,280	0

從上面這些表中可以看出，勞曼與Q771相同，卡赫特能將 Q454 血清中的凝集素除盡而 Q454 不能把 89 卡赫特的血清中的凝集素吸盡，同樣，819 型能將 Q1030 血清中的抗體全部除去，而 Q1030 則不能把 819 血清中的凝集素吸盡。由此可知，它們之間是不完全相同的，其次，1618 型根據我們的試驗沒有相當的國際菌型，我們的結果與 Тромсуй 氏所指出的勞曼同於 Q1167 卡赫特同於 Q454 不相符合，是否由於菌株發生錯誤，或由其他因素所引起、有待於今後證實。

### 小 結

根據蘇聯痢疾菌的分類表及蘇聯學者的工作，將蘇聯福氏痢疾菌，b, c, e, f 鮑——諾氏痢疾菌 I, II, III, V, 及 VII 型以及分類表以外的四個菌型與國際分類的有關菌型作了初步的比較試驗。試驗結果證明絕大多數菌型的血清學性完全相同，只有個別的菌型有細微差別，另有兩株與原述的情況不相符合。

本文執筆者：周惠民，周學良，薛清吾。

### 參 考 文 獻

1. 微生物學譯報, 1:160, 1954.
2. Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae. Munksgaard, Copenhagen 1954.

## 沙門氏菌屬因子血清製備中吸收時間和 溫度的比較試驗

製備沙門氏菌屬因子血清的吸收溫度與時間，在文獻中記載雖多但常不同。過去各所和國內某些實驗室通常使用的是：37°C 3 小時，37°C 3 小時後冰室放置一夜和 50°C 3 小時後冰室放置一夜等。不同溫度與時間的吸收效果有無差別問題在文獻中很少有材料。今後各所均將生產因子血清，爲了在製檢規程中把操作方法統一起來，對上述 3 種吸收溫度與時間進行了下述比較試驗。

### (一) 材料與方法

免疫血清與吸收菌是爲生產沙門氏菌屬因子血清按法規同批製備的剩餘品，保存期都在 3 個月內。

將 8 毫升血清 10 倍稀釋，平分在兩個沉澱管中和吸收菌混合，在一定的時間內加溫吸收，加溫過程中每 15 分鐘輕搖一次，保持懸液的均勻狀態。吸收完畢立即離心分離出上清作定量凝集試驗，觀察吸收效果和繼續吸收。

不同吸收時間的比較試驗分兩組，第 1 組只 37°C 加溫 3 小時，第 2 組 37°C 加溫吸收 3 小時後再冰室放置一夜。

不同吸收溫度的比較試驗也分兩組，第 1 組在 37°C，第 2 組在 50°C，都是加溫吸收 3 小時後再冰室放置一夜。

加溫裝置在 37°C 是培育室，50°C 是水浴箱。此時，各血清同置於一個木架上，搖時輕搖木架，不分別搖（在冰室放置期間不搖）。

定量凝集試驗用標準吸管操作。

### (二) 實驗成績和討論

#### (1) 不同吸收時間的比較

用 O 及 vi 血清 3 種，OH 血清 4 種，在 37°C 3 小時和 37°C 3 小時後再冰室放置一夜進行吸收，其結果見第 1, 2 表。

第 1 表前 2 實驗例的兩組 3 次吸收在對本菌吸收菌的效價上沒有區別。第 3 例 (O:6<sub>1</sub> 因子血清) 的類屬反應下降的情況則是始終有 1 管的差別。第 1 組是 2560(+)→640(+)→320(+)→80(+); 第 2 組是 2560(+)→320(+)→80(+)→40(+). 即第 1 組的吸收效果稍差。但對本菌的效價第 1 組較第 2 組高一管 (320(+) : 160(+)).

第 2 表第 1, 3, 4 實驗例 (H:b, H:h 及 H:t 因子血清) 的兩組吸收，對本菌和吸收菌的效價基本相同，吸收效果沒有差別。第 2 例 (H:g 因子血清) 的結果是對本菌的效價在兩組間沒有區別，對吸收菌的效價有所不同。其中對 100°C 加熱的本菌，兩組沒有差別，對奧雷寧堡沙門氏菌的效價，第 1 組是 25600(+)→3200(+)→400(+)→O; 第 2 組是 25600(+)→1600(+)→200(+)→O。

合計 7 例，兩組間吸收效果沒有區別者 5 例 (vi, O:1, H:b, H:h 和 H:t 因子血

清)。第1組較第2組稍差者2例(O:6<sub>2</sub>及H:g因子血清)。但在O:6<sub>2</sub>因子血清中,第1組對本菌的効價較第2組高。因而未發現冰室放置1夜有何明顯的優點。

### (2) 不同吸收溫度的比較

O血清及OH血清各3種,在37°C和50°C加溫吸收,再在冰室放置一夜後所測定的凝集効價分別記載於第3,4表內。

第3表第1例(O:2血清)的類屬反應下降情況在兩組間有差別,分別是320(+) $\rightarrow$ 80(+) $\rightarrow$ 20(+),和320(+) $\rightarrow$ 40(+) $\rightarrow$ O,第1組始終高一管。第2,3例則無明顯差別。對本菌的効價則是3例2組都相同。

第4表第1例(H:a因子血清)的兩組吸收後對本菌的効價是第2組較高。(2560(+) $\rightarrow$ 5120(+))。類屬反應下降情況分別是1600(+) $\rightarrow$ 160(+) $\rightarrow$ 20(+) $\rightarrow$ 20(+),和1600(+) $\rightarrow$ 320(+) $\rightarrow$ 80(+) $\rightarrow$ 20(+),第2組較差。第3例對本菌的効價在兩組間並無差別,吸收效果則與H:a因子血清相反,類屬反應的下降情況在第1組是1280(+) $\rightarrow$ 320(+) $\rightarrow$ 20(+);第2組是1280(+) $\rightarrow$ 160(+) $\rightarrow$ O。第1組較差。至於第2例(H:lv因子血清)兩組間則無明顯差別。

合計6例,37°C與50°C的吸收效果無差別者3例(O:15,34及H:lv因子血清),37°C較佳者1例(H:a因子血清),50°C較佳者2例(O:2及H:t因子血清)。亦即觀察到効價上的輕度動搖,却無效果方面的優劣之分。至於對本菌的効價也沒有觀察到明顯差異,6例中5例相同,1例在37°C吸收後較50°C的稍低(差1管)。

(3) 衆所周知,在作定量凝集試驗時,37°C 3小時後立即觀察所得的結果肯定比再於冰室放置一夜後的効價低。37°C與50°C加溫至少在O反應中有些差別。這與上述試驗成績矛盾。但是定量凝集試驗與吸收試驗之間有不同點,前者不作離心沉澱。Pijper氏(South african M. J.17:175,1947)曾以vi抗原抗體進行比較,證明如予離心,則縮短加溫時間也能觀察到同樣的凝集効價。

在文獻中關於不同時間與溫度的比較吸收試驗甚為少見。Spaun氏(Acta path. 36:6:609,1954)研究vi抗體的結合能力時,曾以200倍稀釋的血清在4°C進行吸收,得出隨時間的延長所用菌量逐漸減少的成績。我們的試驗是以10倍稀釋的血清(需用吸收菌量甚多)在37°C加溫吸收的結果與Spaun氏不同。由於目的在於製備稀釋倍數低的因子血清,沒有進一步研究高倍稀釋血清與吸收菌量,溫度及時間等條件的關係以及少量多次使用吸收菌時的吸收效果。

在吸收菌量方面,和製備沙門氏菌屬因子血清總結的第3,4表中同名血清比較可知本實驗的用量甚少。有時竟只有 $\frac{1}{10}$ 左右,但所用血清及吸收菌則是相同的。由於時間限制,我們沒有來得及研究這個在生產成本上很重要的問題。

### (三) 總 結

用13種10倍稀釋的沙門氏菌屬免疫血清,在37°C 3小時和37°C 3小時後再冰室一夜(不同時間)以及50°C 3小時後再冰室一夜與37°C 3小時後再冰室一夜(不同溫度)進行吸收,比較對本菌及吸收菌的凝集効價,發現它們的吸收效果並無明顯的差別。

本文執筆 舒 濬



第三表 37°C 3 小時與50°C 3 小時然後放置冰箱一夜的吸收效果比較

凝製備的血清	原血清	吸 收				效 力		價 值	
		次 數	菌 名	菌 量 (盤)	血清量 10X (毫升)	抗 原	37°C	50°C	
O:12 甲型副傷寒沙門氏菌佐登種 O 血清		吸 收 前				甲型副傷寒沙門氏菌佐登種	1280(卅)		
						傷寒沙門氏菌 O901	320(+)		
		1	傷寒沙門氏菌 O901	800	40	甲型副傷寒沙門氏菌佐登種	1280(卅)	1280(卅)	
						傷寒沙門氏菌 O901	80(+)	40(+)	
		2	同 上	600	30	甲型副傷寒沙門氏菌佐登種	1280(卅)	1280(卅)	
						傷寒沙門氏菌 O901	20(+)	0	
O:15 紐因頓沙門氏菌 O 血清		吸 收 前				倫敦沙門氏菌	2500(+)		
						紐因頓沙門氏菌	5120(+)		
		1	倫敦沙門氏菌	500	40	紐因頓沙門氏菌	1280(+)	1280(+)	
						倫敦沙門氏菌	640(+)	640(+)	
		2	同 上	375	35	紐因頓沙門氏菌	640(+)	640(+)	
						倫敦沙門氏菌	80(+)	160(+)	
		3	同 上	200	30	紐因頓沙門氏菌	640(+)	640(+)	
						倫敦沙門氏菌	40(+)	40(+)	
O:34 伊利諾沙門氏菌 O 血清		吸 收 前				伊利諾沙門氏菌	1280(+)		
						紐因頓沙門氏菌	1280(+)		
		1	紐因頓沙門氏菌	500	40	伊利諾沙門氏菌	640(+)	640(+)	
						紐因頓沙門氏菌	80(+)	80(+)	
		2	同 上	400	35	伊利諾沙門氏菌	640(+)	640(+)	
						紐因頓沙門氏菌	20(+)	40(+)	

第四表 37°C 3 小時與50°C 3 小時然後放置冰箱一夜的吸收效果比較

凝製備的血清	原血清	吸 收				效 力		價 值	
		次 數	菌 名	菌 量 (盤)	血清量 10X (毫升)	抗 原	37°C	50°C	
a 甲型副傷寒沙門氏菌 OH 血清		吸 收 前				甲型副傷寒沙門氏菌 OH	6400(+)		
						甲型副傷寒沙門氏菌 O	1600(+)		
		1	甲型副傷寒沙門氏菌 100°C	1000	40	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	2560(卅)	5120(+)	
						甲型副傷寒沙門氏菌 O	100(+)	320(+)	
		2	同 上	400	35	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	2560(卅)	5120(卅)	
						甲型副傷寒沙門氏菌 O	20(+)	80(+)	
3	同 上	200	31	甲型副傷寒沙門氏菌 OH	2560(卅)	5120(卅)			
				甲型副傷寒沙門氏菌 O	20(+)	20(+)			
lv 倫敦沙門氏菌 OH 血清		吸 收 前				倫敦沙門氏菌	12800(+)		
						福沙門氏菌	3200(+)		
		1	福沙門氏菌	2000	40	倫敦沙門氏菌	5120(卅)	5120(卅)	
						福沙門氏菌	80(+)	80(+)	
		2	同 上	100	30	倫敦沙門氏菌	5120(卅)	5120(卅)	
						福沙門氏菌	20(+)	0	
t 奧雷家沙門氏菌 OH 血清		吸 收 前				奧雷家沙門氏菌	20180(+)		
						蒙維維多沙門氏菌	3280(+)		
		1	蒙維維多沙門氏菌	1100	40	奧雷家沙門氏菌	10240(+)	10240(卅)	
						蒙維維多沙門氏菌	320(+)	160(+)	
		2	同 上	450	30	奧雷家沙門氏菌	5120(卅)	10240(+)	
						蒙維維多沙門氏菌	20(+)	0	

第一表 37°C 3 小時與37°C 小時然後放置冰箱一夜的吸收效果比較

提製備的血清	原血清	吸 收				效 價				
		次 數	商 名	商 數 (瓏)	10倍稀 釋血清 (毫升)	抗 原	37°C 3小時	37°C 3小時時 於4°C 一夜		
vi	傷寒沙門氏 菌 vi I 血清	吸 收 前				傷寒沙門氏菌 vi I	512(±)			
						傷寒沙門氏菌 II901	5120(+)			
		1	傷寒沙門氏 菌 II901	500	40	傷寒沙門氏菌 vi I	2560(+)	2560(+)		
						傷寒沙門氏菌 II901	640(±)	640(+)		
		2	"	500	38	傷寒沙門氏菌 vi I	1280(±)	1280(±)		
						傷寒沙門氏菌 II901	160(+)	80(±)		
		3	"	500	36	傷寒沙門氏菌 vi I	1280(±)	1280(±)		
						傷寒沙門氏菌 II901	80(+)	60(+)		
		O:1	副傷寒甲沙門氏菌1015 清 O 血	吸 收 前				副傷寒甲沙門氏菌1015	1280(±)	
								副傷寒甲沙門氏菌杜雷 佐變種	2560(+)	
1	副傷寒甲沙 門氏菌杜雷 佐變種			500	40	副傷寒甲沙門氏菌1015	1280(+)	1280(±)		
						副傷寒甲沙門氏菌杜雷 佐變種	320(±)	320(±)		
2	"			500	38	副傷寒甲沙門氏菌1015	1280(±)	1280(±)		
						副傷寒甲沙門氏菌杜雷 佐變種	40(+)	10(±)		
3	"			500	36	副傷寒甲沙門氏菌1015	1280(±)	1280(±)		
						副傷寒甲沙門氏菌杜雷 佐變種	0	0		
62	豬霍亂沙門 氏菌 5210 O 血清			吸 收 前				豬霍亂沙門氏菌 5210	1280(+)	
								豬霍亂沙門氏菌 1350	2560(+)	
		1	豬霍亂沙門 氏菌 1350	500	40	豬霍亂沙門氏菌 5210	640(+)	640(±)		
						豬霍亂沙門氏菌 1350	640(+)	320(+)		
						豬霍亂沙門氏菌 5210	320(±)	320(+)		
		2	"	500	38	豬霍亂沙門氏菌 5210	320(±)	320(+)		
						豬霍亂沙門氏菌 1350	320(+)	80(+)		
		3	"	250	36	豬霍亂沙門氏菌 5210	320(±)	160(±)		
						豬霍亂沙門氏菌 1350	80(+)	40(+)		

註：效價中數字是凝集價。括號中“+、±、-”代表該管的凝集程度。

第二表 37°C 3小時與37°C 3小時然後放置冰箱一夜的吸收效果比較

凝製備的血清	原血清	吸 收				效 價				
		次 數	演 名	菌 數 (億)	血清量 (10X 升塞)	抗 原	37°C 3小時	37°C 3小時後冰室 1 夜		
b	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種 O11 血清	吸 收 前				乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種	25600(+)			
						鼠傷寒沙門氏菌 I	100(+)			
		1	鼠傷寒沙門氏菌 I	500	40	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種	12800(+)	6400(+)		
						鼠傷寒沙門氏菌 I	50(+)	0*		
		2	"	500	39	乙型副傷寒沙門氏菌爪哇變種	12800(+)	12800(+)		
						鼠傷寒沙門氏菌 I	0	0		
g	腸炎沙門氏菌 5186 O11 血清	吸 收 前				腸炎沙門氏菌 5186 (F)	51200(+)			
						腸炎沙門氏菌 (100°C)	25600(+)			
						奧雷寧堡沙門氏菌 9087	16000(+)			
		1	腸炎沙門氏菌 5186 (100°C)	500	40	腸炎沙門氏菌 5186 (F)	12800(+)	6400(+)		
						腸炎沙門氏菌 (100°C)	3200(+)	1600(+)		
						奧雷寧堡沙門氏菌 9087	0*	0*		
		2	腸炎沙門氏菌 5186 (100°C)	500	39	腸炎沙門氏菌 5186 (F)	12800(+)	12800(+)		
						腸炎沙門氏菌 (100°C)	400(+)	200(+)		
		3	腸炎沙門氏菌 5186 (100°C)	500	38	奧雷寧堡沙門氏菌 9087	0	0		
						腸炎沙門氏菌 5186 (F)	6400(+)	6400(+)		
		h	紐波特沙門氏菌 563 O11 血清	吸 收 前				紐波特沙門氏菌 563	25600(+)	
								紐波特沙門氏菌波多黎各變種	6400(+)	
				達尼斯薩蘭沙門氏菌	6400(+)					
1	紐波特沙門氏菌波多黎各變種			1000	40	紐波特沙門氏菌 563	25600(+)	25600(+)		
						紐波特沙門氏菌波多黎各變種	6400(+)	6400(+)		
2	紐波特沙門氏菌波多黎各變種			1000	38	達尼斯薩蘭沙門氏菌	200(+)	200(+)		
						紐波特沙門氏菌 563	25600(+)	25600(+)		
3	紐波特沙門氏菌波多黎各變種			500	36	紐波特沙門氏菌波多黎各變種	1000(+)	1000(+)		
						達尼斯薩蘭沙門氏菌	0*	0*		
4	紐波特沙門氏菌波多黎各變種			500	34	紐波特沙門氏菌 253	25600(+)	25600(+)		
						紐波特沙門氏菌波多黎各變種	400(+)	400(+)		
i	24682 沙門氏菌 O11 血清			吸 收 前				奧雷寧堡沙門氏菌 9087	25600(+)	
						奧得維多沙門氏菌 K623	3200(+)			
		1	奧得維多沙門氏菌 K623	1500	40	奧雷寧堡沙門氏菌 9087	12800(+)	12800(+)		
						奧得維多沙門氏菌 K623	0*	0*		

註: 0\* = 反應集價在 1:50 以下, 但玻片反應尚為弱陽性

## 小白鼠和豚鼠對於鼠疫菌免疫力的差異(摘要)

高橋秀雄 劉宗漢

作者1950年5月在長春進行鼠疫活菌菌苗免疫力實驗時發現：無粘套(Envelope)抗原之 M<sub>1</sub> 株對豚鼠之免疫力很大，對小白鼠則極小；而有粘套抗原之 EV 株，Ottens 株及蘇聯株對豚鼠免疫力雖小，却對小白鼠免疫力很大。因實驗動物較少，所得成績由統計學觀察不夠正確，僅供參考。

(摘自本所彙刊一卷三期)

## 鼠疫活菌菌苗菌種之保護力試驗(摘要)

大連生物制品研究所 劉宗漢、王樞群、劉樹茂。  
長春鼠疫防治所 孫耀東、徐洪太、孫心華。

爲了解本所供制鼠疫活菌菌苗用之三株菌種的保護力試驗，特將三株菌種 (Ottens 株，EV 株，M<sub>1</sub> 株) 分別制成菌懸液 (15億/毫升)，每種懸液各接種 10 匹豚鼠，每匹皮下注射 1 毫升，20 天後以 50 個最小致死量之毒種培養物感染，同時用 10 匹未經免疫之豚鼠作對照，如免疫組有 60% 以上生存，則該菌種認爲合格。

另以皮上劃痕法觀察其保護力，以 15 億菌體接種於皮上，免疫期間與感染和皮下法同。

試驗結果：

1. 本所保存之三株菌種，其保護力試驗，按蘇聯法規要求均合格
2. Ottens 和 EV 二株之皮上劃痕免疫法之保護力亦合蘇聯法規要求，但較皮下法低 20%。M<sub>1</sub> 株未作皮上法。

## 鼠疫活菌免疫力動物實驗成績報告(摘要)

劉宗漢 高橋秀雄

作者們用四株無毒鼠疫桿菌 (M<sub>1</sub>株·EV株, Otton 株及蘇聯株) 分別做成濃度為 1 毫升含 5 億個菌的活菌菌苗, 以此菌苗各注射 1 毫升於豚鼠皮下, 14 日後用 [四平 2 株] 強毒菌攻擊, 再觀察 14 日。結果: 1. 除 M<sub>1</sub> 株在注射處有 0.1—1.5 厘米大的硬結外, 其餘各株反應輕微; 2. 四株菌都有相當的免疫力, 但以 M<sub>1</sub> 株較佳。

(原文見 1950 年 6 月大連衛生研究所學術委員會編印的單行本)

## 乾燥鼠疫活菌菌苗的保存溫度及時間對 活菌數的影響(摘要)

劉宗漢 劉樹茂 林世德 劉慧綱 李德有

爲了解保存溫度及時間對乾燥鼠疫活菌苗的活菌數之影響, 特進行本試驗。

本試驗共用 5 批菌苗 (8—4, 8—6, 9—1, 9—2, 9—3) 每批抽若干瓶, 每瓶裝 5 毫升菌液, 冷凍乾燥後, 將同批各分二份, 一份保存於冰室 (5—10°C), 另一份保存於室溫下 (15—30°C)。每隔 1—1.5 個月檢查活菌數一次, 53 年 11 月到 54 年 11 月共檢查 8 次, 同時還檢查含水量。

試驗結果說明:

1. 乾燥後在冰室保存之菌苗, 第五個月之活菌數佔原活菌數(乾燥後當時)96%, 一年後降至 54%,
2. 乾燥後在室溫下保存之菌苗, 第五個月之活菌數佔原活菌數之 70% 而一年後降至 34%
3. 各批活菌數不等, 且同批之不同安瓶也不一致這可能與真空度和分裝量不太一致有關。

作者們並證明制品水分含量在 3.0—3.9% 與 2.0% 以下者冰室保存一年共活菌計數結果無大區別。

## 乾燥鼠疫活菌苗保存溫度對活菌數的影響

王樞群 王克仁

(大連生物製品研究所, 第五室主任劉宗漢指導)

自 Haffkine 氏創造鼠疫死菌苗以後, 在預防鼠疫上雖起到了一定效果, 但尚不修理想。所以有很多學者企圖製造活菌苗。後研究成功並肯定了活菌苗的優越效能。在最初還是使用液體活菌苗, 它在運輸和保存上不很方便, 效期又短, 即使保存於低溫經 1—2 週後幾乎也要變成死菌苗。為解決此困難逐漸採用冷凍乾燥方法。1941 年蘇聯製出乾燥鼠疫活菌苗, 並大量使用, 我國於 1950 年製出乾燥製品。

鼠疫活菌苗在乾燥真空狀態下保存可使其所含活菌不致很快死亡, 也就保證其質量不致受損。但鼠疫菌苗在不同的保存條件下呈現着不同的生活力。我們在將 1955 年 2 月製造的 6 批菌苗每批分別保存於冰室及室溫, 經過不同時間抽取樣品測定活菌數。本報告即活菌數消失情況的觀察結果。

### 實驗材料及方法

#### 一、乾燥鼠疫活菌苗的制備

將菌苗生產用鼠疫菌種, Otten 株, 塗抹於亞硫酸鈉瓊脂乳瓶培養基上 30°C, 培養 48 小時後, 以 1% 明膠及 10% 蔗糖液做成菌液。按 0.5 毫升分裝於安瓶後立即進行冷凍乾燥。將安瓶放在食鹽及冰混合物 (-23°C) 內凍結, 在此溫度下進行真空乾燥, 脫水劑為苛性鈉。真空乾燥之全過程為 20 小時。然後將安瓶連結真空機, 待充分排氣後以火焰熔封。每支熔封後的安瓶均經真空放電裝置檢查其真空狀態。取真空放電良好的安瓶留做樣品。

共製 6 批菌苗, 其製法均相同。此 6 批菌苗的殘水量在分批保存前測定如表 1

表 1. 各批菌苗的含水量

菌 苗 批 號		5	6	7	8	9	10
殘水量 (%)	製造後立即測定	3.780	3.580	2.520	2.320	3.781	1.844
	冰室保存 18 個月測定	3.508	3.048	2.780	2.508	2.103	2.237

註: 表中數字為 % 值, 即  $\frac{\text{烘乾後失去之重量}}{\text{原重量}} \times 100$

#### 二、保存條件

同批乾燥菌苗一部分放 4—6°C 冰室保存; 另一部分放一般辦公室之室溫保存。

#### 三、活菌數測定

在保存時期內每隔一時期取樣品測定活菌數。在測定活菌數前先以真空放電裝置檢

表 2. 乾燥鼠疫活菌苗保存於冰室及室溫其活菌數變化情況

菌 苗 批 號	保 存 條 件	保 持 時 間 ( 活 菌 數 製 造 當 日 起 算 )	活 菌 數 (億) 及 活 存 率 (%)											
			保 存 時 間 (月)											
			1.5	3.0	5.0	6.5	8.0	9.0	10.0	11.5	13.0	14.0	18.0	27.5
#5	冰室	活菌數	0.95	1.06	1.45	1.25	1.8	1.58	1.76	1.77	1.88	1.47	1.15	0.88
		活存率	54.2	59.2	82.8	69.6	100.5	89.2	88.3	96.0	77.0	82.1	64.2	47.4
	室溫	活菌數	0.78	0.26	0.046	0.0005	0.0005							
		活存率	43.5	14.3	2.56	0.03	0.03							
#6	冰室	活菌數	1.37	1.14	2.14	1.81	1.92	1.96	2.18	2.17	1.52	1.66	1.51	0.95
		活存率	72.4	60.3	112.9	95.5	101.5	103.7	115.3	114.8	80.4	87.8	79.8	49.8
	室溫	活菌數	0.88	0.36	0.15	0.0065	0.0042							
		活存率	46.5	18.6	7.6	0.34	0.22							
#7	冰室	活菌數	0.94	1.31	1.57	1.36	1.36	1.22	1.53	1.9	1.06	0.97	1.16	0.74
		活存率	74.6	100.3	124.2	107.9	107.9	96.8	121.4	150.7	84.7	76.9	92.0	62.4
	室溫	活菌數	0.57	0.19	0.09	0.01								
		活存率	45.2	14.8	6.7	0.8								
#8	冰室	活菌數	0.97	0.95	1.65	1.58	1.54	1.23	1.61	1.69	1.03	0.95	1.04	1.06
		活存率	71.8	70.3	122.2	117.0	114.0	91.1	119.2	125.1	76.2	70.0	77.0	78.5
	室溫	活菌數	0.73	0.18	0.23	0.019								
		活存率	55.5	14.0	17.0	1.4								
#9	冰室	活菌數	1.27	0.91	1.21	1.57	1.79	1.36	1.60	1.62	1.31	1.28	1.31	1.25
		活存率	66.4	47.8	63.0	79.0	93.7	71.2	83.7	84.8	68.5	67.0	68.5	60.5
	室溫	活菌數	0.73	0.19	0.055									
		活存率	39.2	6.2	2.8									
#10	冰室	活菌數	1.11	0.83	1.07	—	1.73	1.13	1.64	1.61	1.32	1.15	0.98	0.97
		活存率	94.8	70.9	91.4	—	147.0	96.5	140.1	137.0	95.7	98.2	83.7	82.4
	室溫	活菌數	0.55	0.17	0.06									
		活存率	47.0	14.3	5.1									

註：表中活菌數單位為億；活存率為  $\frac{\text{保存時間之活菌數}}{\text{保存前活菌數}} \times 100$

查安瓶是否放電（全部安瓶均保持其放電狀態）。

啓開安瓶後以 2 毫升磷酸鹽緩衝鹽水溶解，由其中取 1 毫升放 9 毫升同樣溶液裡，以此為原液（用做比濁之菌液）以下繼續以鹽水肉湯（等量混合）做  $10 \times$  稀釋。取其適當稀釋度接種 3 支平板（其稀釋度之選擇應根據每平板中能生長出適當數目的菌落，一

數在200—400左右)。

滅菌平皿應先以普通瓊脂基鋪底，冷後滴 1—2 滴正常馬血液，隨之加入適當稀釋度的菌液 1 毫升，最後澆入約 15 毫升亞硫酸鈉瓊脂基（其中含亞硫酸鈉 0.05%，瓊脂為 1%，事先過濾使之透明，在使用時溶解後保持 45—50°C 澆入平皿）。轉動平皿使混合。待冷後於 35°C 培養三天，取出計取平板表面及深層之鼠疫菌落數。

每批菌苗在每次測定活菌數時均取 2 支樣品，分別測定活菌數。所得成價（如表 2）為 2 支樣品之平均數。

#### 四、菌苗濃度測定

如上所述，乾燥菌苗經緩衝鹽水溶解後，又經 10× 稀釋者（即上面所指的原液）用中央檢定所發下標準比濁管——第三管比濁，用肉眼制定。

### 實 驗 結 果

供試之 6 批菌苗在冰室保存到目前為止共經 27 個半月，在此時期分期測定了 13 次活菌數，其結果列於表 2。表中的數字雖不甚規律，但亦足可看出以下幾點：

1. 室溫保存者活菌數下降得非常迅速，在保存一個半月即約有半數死亡；3 個月後之活存率只不過在 15% 左右。

2. 冰室保存到 11.5 個月（約一年）活菌數不見有減少，在 27.5 個月尚可保持活菌率在很高水平——平均在 50% 以上。同時亦可看出在保存初期（1—3 個月）活菌數有下降趨勢，但再過一時期活菌數又高起來。這種現象到底是屬於活菌計數時技術上之誤差抑或由於其它原因，有待進一步觀察。

(3) 乾燥菌苗中的殘水量多寡對活菌數亦有影響，如表 2 之 #5、#6 菌苗由於殘水量在 3.0% 以上，保存 27.5 個月後其活菌率降至 50% 以下。



## 採用新採種法提高鼠疫活菌數及產量的試驗 (摘要)

劉宗漢 劉依生 劉彩繁

爲了提高鼠疫活菌菌苗之活菌數及產量，特採用蘇聯之新採種法。

過去慣用的方法是將菌苔接種於乳瓶平板，然後將乳瓶平板上發育之菌苔刮下製成菌液。

而蘇聯的方法是：將菌種製成菌液，然後塗於乳瓶斜面，30°C 培養 48 小時後，向乳瓶內加蔗糖水沖洗製成菌液。

按蘇聯法採種較舊法，在產量上提高 43% 活菌數提高 70%。

## 提高鼠疫活菌數及產量所用培養基的選擇 (摘要)

劉宗漢 劉依生 劉彩繁

爲了提高活菌數及產量，在製造鼠疫活菌菌苗時，特採用不同之原材料，製成六種培養基，以觀察效果，六種培養基即照內蛋白胨、華東蛋白胨、豬胃消化、牛肉水、肉渣消化和牛奶消化等培養基，每種培養基各分裝 10 只乳瓶，接種鼠疫菌種，培養 48 小時，刮菌秤重並計算活菌數。

試驗結果表明，牛奶消化培養基之產量和活菌數均較其他培養基穩定（如附表所示）

培 養 基	照 內	華 東	豬 胃 消 化	牛 肉 水	肉 渣 消 化	牛 奶 消 化
產 量 (克)	10	5	4	5	5.5	5.5
濃 度 (億/毫升)	45	50	60	45	45	50
一 人 份 活 菌 數 (億)	2.64	2.86	1.47	2.15	2.15	7.92

## 鼠疫菌通氣培養初步實驗報告

王樞群 李培誠 王克仁

(大連生物製品研究所，第五室主任劉宗漢指導)

直到目前為止絕大多數菌苗的生產是沿用的是固體培養基方法，這在產量上有一定限制，技術操作上亦較麻煩，更重要的是它所使用的培養基為自然蛋白水解物加上一定量的瓊膠，這對培養基質量的控制較難，因而逐漸向液體綜合培養基方向發展。綜合培養基含有一定已知量的氮源、碳源、某些鹽類以及某些必需的維生素等物，這對科學地掌握細菌生長的規律性給予了可能。

鼠疫菌苗的生產，我們利用固體培養基雖製出合乎標準的製品，但這種方法不適合於大量生產，並發現培養基的質量常不穩定，菌苗質量亦隨之動搖。如欲從鼠疫菌的營養要求和代謝等生理學上來探究其原因，仍使用固體培養基實難完成。

由此可見，鼠疫菌的通氣培養對實際生產及營養代謝的研究有着重要意義。關於用此法生產鼠疫菌苗的問題在蘇聯法規中已簡略提出；對營養代謝的研究在國外有許多報告。本報告主要是為今後以液體通氣培養法生產鼠疫菌苗所進行的初步實驗。

### 實驗材料及方法

#### 一、通氣培養裝置

我們就本實驗室的條件擬出一構造簡單的通氣培養裝置（見附圖）其各部構造及作用分述於下：

1. 通氣方法，將一般真空機的排氣端連一膠皮管伸入脫油瓶中，經水洗之氣再通過蔡氏除菌濾器（濾板直徑為 14 釐）進入培養瓶中。因每次實驗帶四個培養瓶，故經除菌濾過之氣經一多支管分入四瓶，進入之氣只通過單孔玻璃管排於培養基內。

2. 通氣量的測定，以大連煤氣公司用以測量煤氣流量的 3 號煤氣表測定。經測定後，真空機本身的氣流量為 1176 立升/小時；如在排氣端接一上述之濾器，其氣流量由於受阻稍減，為 882 立升/小時。進入四個培養瓶中之空氣量未曾分別進行測量。但在安裝時將四瓶之培養基內進氣玻璃管端放在同一水平線上，據肉眼觀察其氣泡之大小多寡無甚差別，當然亦不會完全一致。

3. 攪拌作用，本裝置無特設攪拌輪與振盪機，其攪拌作用只藉通入之氣泡來攪混培養物，據肉眼觀察，攪混程度雖不如特裝之攪拌輪，但由於進入之氣量較大亦足能使各部充分接觸空氣。

4. 接入菌種，圖中之大試管即用以接入菌種及取出樣品。在每次實驗開始將含有一定量菌種的大試管以膠塞連結（如圖）。在大試管中的吸管插至管底，通過濾瓶加



氣，同時將 D 膠皮管內的玻璃球捏開，菌種則很快通過 D 管進入培養瓶中。為洗淨大試管內殘存的菌種，可再通過濾瓶吸氣，捏閉 D 管之玻璃球，則培養瓶中的液體流入大試管，待適量後再以同法將其送回。菌種接入後換一新大試管，並將大試管中的吸管稍放上，待以後取樣品用。

5. 取樣品，根據實驗之目的在培養過程中由培養瓶吸取樣品，其方法如上段所述，取吸一定量樣品後，將該大試管取下，換一新大試管。

6. 防沫劑係用豆油及桃仁油，共加量為 1.5 立升肉湯的培養瓶加 0.08 毫升，在培養基滅菌前一次加入。通氣培養 24 小時其培養物之表面只有一薄層泡沫。

在實驗中亦曾用過香油，花生油及辛醇等，但按其加量之少及持續時間之長以桃仁油及豆油為適。

7. 在培養過程中加入物質方法，在某些實驗中為了調節培養物的 pH 加入鹽酸及葡萄糖物質。加入途徑為在瓶塞上另設一孔，如圖中之 C 管，其中放一小玻璃球，將含有加入之物質之吸管與 C 管聯結，捏開玻璃球後物質由吸管流入。

8. 培養溫度，培養瓶放於水恆溫箱中培養，其水溫保持在 31.5—32°C，此時培養瓶中之溫度因不斷通入空氣易放散溫，故只在 29°C 左右。

9. 排氣，通過此四個培養瓶之空氣在排出時集中一管，再通過含 5% 石炭酸水溶液過濾，通出室外。

**二、菌種。**係用目前生產用 EV 株，此菌種為由蘇聯乾燥管分離後立即培養厚金格爾瓊脂培養上；30°C 48 小時，共經 2 代，以明膠蔗糖液做保護劑經冷凍乾燥保存者。每次使用時為將乾燥管啓開以生理鹽水稀釋，培養於厚金格爾瓊脂斜面上，28°C 48 小時培養後再以鹽水洗下做純菌試驗，菌液放冰室一夜，俟第二日純菌試驗合格後經比濁測定濃度，取一定量接種培養瓶。一般試驗為 1.5 立升肉湯中加 3000 億菌種（即 2 億/毫升），亦有 1 億/毫升者。如此制得之菌種簡稱為固體菌種。在某些試驗裡會使用了液體菌種，即通氣培養 24 小時的菌液用做菌種，放冰室一夜後使用（目的為等待純菌試驗之結果）。其接種量視實驗目的而定。

**三、培養基：**整個試驗均為厚金格爾氏消化液（牛肉豬胰臟或胰液消化液）其消化法簡述如下：

去筋去脂牛肉 1 公斤放 1.5 立升沸水中煮沸 20 分鐘，將肉渣攪碎三次後放回原場，修 pH 8.0—8.4，穩定後待 35—40°C 加適量胰液。加氯仿防腐，放 37°C 消化

48 小時，以布過濾，放冰室保存，

本試驗所使用之消化液共為六批，各批可含之總氮及氨基氮量如表 1。

肉湯的制法：制出之肉湯要求所含氮基量為 100mg/100ml，由於各批消化液所含氮基量不一致，故需消化液之量亦不一致。常以蒸溜水稀釋成 100mg/100 ml，再加入 NaCl 0.5%，Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%，PH 調 7.0，100°C 30' 後過濾使透明，

表 1 各批消化液所含總氮及氮基量

消化液批號	總量 mg/100ml	氮基總量 mg/100ml
混		550
17	9356	401
21	9857	437.6
23		407.5
24	12762	619.9
25	18340	631.2

混“混合”為過去保存之數批消化液混合者

再分裝於培養瓶中，15 磅 30 分鐘滅菌。

**四、活菌數測定法：**

1. 菌液之稀釋：先測定菌液濃度，後制成 15 億/ml 之菌液，以此為原液，再以冷生理鹽水按 10<sup>-5</sup> 稀釋法，至 10<sup>-8</sup> 及 2 × 10<sup>-6</sup>，再此 = 稀釋管各接種兩支含培養基的平板，每支平板 0.1 毫升 (10<sup>-6</sup> 平板上接種 150 個菌體，2 × 10<sup>-6</sup> 平板上接種 300 個菌體)，以鈎端玻璃棒塗勻，平放培養 30°C 3 日後計算菌落數，再以總菌量除之即得活菌率。

2. 活菌計數用平板制法，培養基亦為厚金格爾瓊脂培養基，含氨基氮 100mg/100ml，用時煮沸溶解，待冷至 45—50°C 加入 1% 健康馬之溶血血液，凝固後使用。

**五、菌液 pH 及濃度之測定，**

pH 值均用電氣 pH 測定計測定。

濃度按 1954 年中央生物制品檢定所發的蘇聯標準比濁管之 5 億管為準。應當指出比濁管系用肉眼判定，故常有誤差。

**實 驗 結 果**

**一、通氣培養 24 小時的發育， pH 變化情況及活菌率，**

實驗 7. 8. 9 為單純做此實驗，使用之消化液為混合批，由表 2. 3. 4 可看出，其 pH 逐漸變鹼，在 16 小時以後達 8.0 以上，到 24 小時可達 8.5—8.9 左右；培養 24 小時可達 80 億左右；其活菌率亦在 60% 以上，並證明此菌液保存冰室一夜活菌率無變化。

**二、靜止培養之 pH，發育濃度變化**

實驗 12 為靜止與通氣培養之比較實驗，由表 5. 6. 可看出靜止培養之 pH 變酸，正與通氣培養者相反；其發育情況亦非常低劣，最初培養之菌種濃度為每毫升肉湯含兩億菌體，發育之最高濃度亦不過 8 億/毫升左右，但通氣培養者最終濃度為 105 億/毫升。

表 2 通氣培養 24 小時之 pH 變化情況

實驗號	取樣時間	接種前肉湯	播種後							冰室一夜
			立即	4 小時	8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時	
7			7.31	7.06	7.8		8.16	8.3	8.93	8.96
8		7.16	7.08	7.15	7.36		8.3	8.56	8.56	8.5
9		7.2	7.2	7.26	7.37	7.67	8.4	8.59	8.61	8.9

表 3 通氣培養 24 小時之發育情況

實驗號	取樣時間	播種後						冰室一夜
		4 小時	8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時	
7		9.72	27.5		61.6	71.6	80.25	80.0
8		11.9	23.3		60.0	80.0	78.58	75.0
9			25.7	47.0	63.7	81.2	74.8	84.4

表中數字為總菌數 (億) / ml

表 4 通氣培養 24 小時及又放冰室一夜之活菌率

實驗號	規定時間	24 小時	又放冰室一夜
7			61.93
8		66.13	67.0
9		54.8	57.7

表 5 通氣培養及靜止培養 pH 變化

培養條件	取樣時間	接種前肉湯	接 種 後							冰室一夜
			立 即	4 小時	8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時	
通 氣	氣	7.1	7.0	6.9	7.0	7.45	7.8	8.0	8.3	8.3
靜 止	止	7.04	7.0	6.75	6.3	6.3	6.35	6.33	6.35	6.3

表 6 通氣培養及靜止培養之發育情況

培養條件	取樣時間	接 種 後				
		8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時
通 氣	氣	42.5	70	90	100	105
靜 止	止	6.25	7.27	8.3	8.3	6.24

### 三、在培養過程中調節 pH 的作用。

通氣培養之 pH 逐漸變鹼，我們為使其保持在弱鹼性曾用以下三種方法調節 pH：(1) 以 2N HCl 溶液逐漸加入，使 pH 不超過 7.5，(2) 一次加入及逐次加入葡萄糖溶液；(3) 培養基裡含磷酸緩衝

液 (1.5 立升培養基內加  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  21 克， $\text{KH}_2\text{PO}_4$  4.0 克)。

由表 7. 8. 9. 可看出不同調 pH 方法之 pH 變化，發育濃度以及活菌率的情況。其中證明加入 1% 葡萄糖 (另試驗證明加 0.5% 葡萄糖及逐加者亦同) 易於變酸，不易控制，加磷酸鹽緩衝劑者保持 pH 最穩定，以 HCl 溶液調節者亦可，活菌率似乎稍有不同，但尚不能肯定 pH 能提高活菌率。發育情況除加葡萄糖者外均無其差別。

表 7 通氣培養過程中不同方法調節 pH 之 pH 變化

調 pH 法	取樣時間	接種前肉湯	接 種 後							冰室一夜
			立 即	4 小時	8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時	
HCl		7.4	7.5	7.3	7.5	7.7	7.4	7.8	8.3	8.3
磷酸鹽緩衝液		7.25	7.2	7.15	7.25	7.3	7.3	7.4	7.6	7.6
1% 葡萄糖		7.25	7.25	6.9	5.75	6.0	5.5	5.0	5.7	5.6
對照 (未調節)		7.45	7.5	7.2	7.4	7.8	8.0	8.3	8.7	8.4

表 8 通氣培養過程中不同方法調 pH 之發育情況 (億/ml)

調 pH 法	取樣時間	接 種 後						冰室一夜
		4 小時	8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時	
HCl		10.5	27.5	45.0	55.0	75.0	75.0	67.5
磷酸鹽緩衝劑		10.6	30.0	45.0	60.0	75.0	75.0	78.0
1% 葡萄糖		11.25	30.0	30.0	30.0	28.2	25.0	
對照 (未調)		9.58	27.5	40.0	55.0	70.0	75.0	76.5

表 9 通氣培養過程中不同方法調 pH 之活菌率 (%)

調 pH 法	取樣時間	培 養 24 小時	冰室一夜
HCl		58.5	71.4
磷酸鹽緩衝液		34.4	31.9
1% 葡萄糖		甚微	甚微
對照 (未調)		51.2	49.0

### 四、接種不同量固體菌種及液體菌種之比較。

由瓊脂斜面所制得的所謂“固體菌種”及通氣培養 24 小時的菌液“液體菌種”分別按培養瓶中每毫升肉湯接種 5000 萬及 2 億菌體。使用培養基均為 17 批。

從表 10, 11, 12 可看出，接種菌種在 5000 萬——2 億之間，對培養物的 pH 變化無影響；其發育濃度在接種量少者於 16 小時可達接種量多者之水平，最後亦有稍高之趨勢；其活菌率似乎液體菌種 2 億者稍高。

表 10 接種不同量之固體及液體菌種通氣培養之 pH 變化

菌種	取樣時間	接種前 肉湯	接 種 後							冰室二夜
			立 即	4 小時	8 小時	12 小時	16 小時	20 小時	24 小時	
固	2億/ml	7.05	7.1	6.9	6.85	7.0	7.25	7.55	8.0	7.85
固	5000萬/ml	7.1	7.05	7.03	6.8	7.0	7.3	7.65	8.05	8.0
液	2億/ml	7.1	7.1	6.9	7.1	7.4	7.65	7.9	8.2	8.05
液	5000萬/ml	7.1	7.1	7.03	6.8	7.0	7.35	7.7	8.1	8.0

表 11 接種不同量之固體及液體菌種  
通氣培養之發育濃度 (億/ml)

菌種	取樣時間	接 種 後					冰室 二夜
		8小時	12小時	16小時	20小時	24小時	
固	2億/ml	42.5	50.0	85.0	75.0	75.0	75.0
固	5000萬/ml	25.0	40.0	65.0	85.0	90.0	90.0
液	2億/ml	45.0	55.0	85.0	90.0	82.5	82.5
液	5000萬/ml	25.0	40.0	65.0	90.0	90.0	90.0

表 12 接種不同量之固體及液  
體菌種通氣培養之活菌率 (%)

菌種	取樣時間	培 養 24小時	冰室二夜
固	5000萬/ml	38.5	44.5
液	2億/ml	50.0	51.5
液	5000萬/ml	37.8	39.8

## 五、通氣培養 24 小時後菌液沉澱情況

通氣培養 24 小時後除經特別處理或調 pH 至弱酸性外多為懸液，放冰室一夜亦不易自然沉下。這對去掉培養基而只取菌體頗為困難。在培養過程中調節 pH 的實驗中發現培養基內加入緩衝劑者沉澱甚速。因此進一步觀察了緩衝劑之不同濃度對鼠疫菌沉澱的作用；從而找出使其沉澱的最低緩衝劑濃度。

所使用的緩衝液製法如下：

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6.96 克

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.36 克

加蒸溜水至 50 毫升溶解，15 磅 30 分鐘滅菌，最後 pH 為 7.05。

其總鹽量為 1M。

表 13 為實驗 15 之 A 及 B 菌液，分別加入不同量緩衝液，放冰室一夜後判定其沉澱情況。可看出緩衝液之濃度高者沉澱較好，但未找出可使沉澱的最低濃度。在表 14 中可看到最低沉澱濃度在 0.02M。

表 13 加緩衝液之菌液放冰室一夜沉澱  
情況

菌液	含緩衝液之濃度					
	0.2M	0.1M	0.075	0.05	0.025	○ (對照)
實驗 15-A	+	+	+	+	+	-
實驗 15-B	+	+	+	+	+	-

表 14 加緩衝液之菌液放冰室  
一夜沉澱情況

菌液	含緩衝液濃度 (M)			
	0.02	0.01	0.005	○ (對照)
實驗 16-A	+	-	-	-
實驗 16-C	+	-	-	-

註：表中“+”係表示沉澱。

## 討 論

通氣培養方法近來應用逐廣，其裝置之構造多樣，功能特性亦各異，這均因實驗目的不同所致，但在原則上都注意以下數問題：1. 應能防止污染；2. 進入之空氣宜純並能盡量攪散，使其充分與液相接觸；3. 可任意由瓶中取出樣品或加入某些物質；4. 可以定量的研究變化後的物質以及各種產物；5. 可以進行各種容量的實驗，如使用示踪原子所進行的小量實驗；6. 應簡單、便宜、實驗室易於做到。

根據以上的一般要求來看，我們可設計的培養瓶是相差甚遠的。除防止污染、構造簡單、便宜、實驗室易於做到以及取樣品或加入某些物質等項尚能符合外，其它條件則不具備。如通入之空氣雖然通過一次清水洗滌但亦不能完全防止機械油之隨空氣進入培養瓶中。因此今後準備用空氣壓縮機代替真空機。本裝置不適於細菌代謝作用的研究，但用來生產少量菌苗尚可。

關於通氣之多少未進行研究，是否現在的通氣量就足夠鼠疫苗的需要了？今後應以空氣壓縮液機來定量的研究通氣量與通氣方法的問題。

在培養過程中調節 pH 許多學者都很強調，但根據本實驗的情況來看却不一定十分必要。我們發現用此培養基鼠疫苗隨着發育而變鹼，但這對產量及活菌率並不減低，在某些實驗中調節亦未見有顯著效果。這裡應當提出，我們在使用葡萄糖時，由於鼠疫苗很快分解了它致使培養基迅速變酸，結果抑制了鼠疫苗的繁殖。今後應找出逐漸加入葡萄糖之適當時間及適當的量，使其 pH 保持在一定領域內，只有在這種條件下才能肯定加入葡萄糖的意義。由於本實驗之次數尚不許多，對於在培養過程中調節 pH 有否益處的問題的結論還嫌過早，尚有進一步研究的必要。

本實驗所使用的培養基只為一種方法所製得者——厚金格爾消化液，就此亦可看出不同批製出的消化液亦有區別，在前些實驗中使用“混合”消化液，其活菌率就較高，但後來因此消化液用盡，改用新消化者，其活菌率就下降，但產量尚無大區別。雖未在同一次試驗中用完全一致的條件進行比較，但亦可看其質量的不同。今後的研究中應廣泛地比較一下其他消化液，如酪素水解物，馬丁消化液等，以便選出適當的培養基來，更進一步的觀察鼠疫苗在各種消化液中的發育規律。在固體培養基上無論用何種消化液，其所含氨基氮量之多少對鼠疫苗的產量及活菌率的影響頗大，至於液體培養基中氨基氮的含量起何等作用尚待研究。

用通氣培養法製造鼠疫苗應考慮產量是否合適，活菌率是否高，注射後反應性如何以及免疫效果是否強等問題。我們這次初步實驗裡只就產量及活菌率進行了觀察。在產量上如與同體積消化液所製成的固體培養基來比較尚高，（固體者為 40 億/ml，本實驗者為 80—100 億/ml），與蘇聯法規中可提到的濃度比較亦超過（蘇聯法規中為 40—50 億/ml）。活菌率在使用“混合”消化液時多次實驗均較高。

在 Коробнова 氏的著作中謂深層通氣培養法製造菌苗應特別注意菌種的使用，如果菌種多次經通氣培養則逐漸失去免疫力，但只通過二代者尚無影響。我們根據這種原則精神，盡量使用不經通氣培養之菌種，即用瓊脂上的培養物來做菌種。並且接種的菌種量亦不像蘇聯法規所載者之多。本實驗結果指出，使用菌種量之多少（每毫升肉湯接



5000萬——2億菌體)以及固體菌種或通氣培養之液體菌種無甚差別。

在泡沫劑方面曾多次比較了桃仁油、豆油、香油、花生油、皂化麻籽油以及辛醇。

就其效能來看以桃仁油為最合適，所加之量較少，持續時間較長。但無論加入何油均能受通氣之攪拌作用很快乳化，致使培養基稍混濁，這對正確測定菌液濃度稍致偏差。加入辛醇者雖不致培養基混濁，但其加入量較多且不易持久，故為不適。

## 結 論

一、本文介紹了一簡易的通氣培養裝置及其操作法，並就鼠疫菌 EV 株的通氣培養進行了初步研究。

二、利用此裝置及適當的培養基培養鼠疫菌 EV 株，可得到較高的發育濃度及活菌率。

三、本報告就培養物之發育濃度、pH 變化及活菌率為着眼點進行了以下各項觀察及討論：

1. 通氣培養與靜止培養的比較，
2. 在培養過程中調節 pH 的作用，
3. 接種不同量固體及液體菌種之比較，
4. 通過培養 24 小時後菌液沉澱情況之觀察。

## 干燥鼠疫活菌苗應用皮上，皮下法接種

### 人體後的反應觀察

馬占瑞 官希珍 劉大剛

大連生物制品研究所 吉林省鼠疫防治所

爲了解大連生物制品研究所學習蘇聯法規後，應用蘇聯[EV]菌種制成的乾燥鼠疫活菌苗接種人體後的反映，特於 1957 年 3 月間在東北疫區白城鎮結合該地區預防接種工作，進行了反應觀察。現將所觀察的結果敘述如下，以便在今後預防接種及改進生物制品質量上提供參考。

菌苗：係本所 67 年 2 月出品；批號：9—2；檢定號：57120；失效日期：57 年 8 月 11 日。

接種對象：爲了解不同年齡、性別接種後的反映，選擇了第一完小學生 193 名（男 155 名，女 38 名），白城縣第一中學學生 164 名（男 103 名，女 61 名），白城縣委黨校學生 239 名（男 191 名，女 48 名），總計 596 名（男 449 名，女 147 名）。

按接種途徑之不同，將上述各校學生分爲皮上、皮下兩組。皮上劃痕接種者 288 名（男 198 名，女 90 名），皮下接種者 308 名（男 251 名，女 57 名）。

被接種者之年齡，完小學生爲 11—15 歲，中學學生爲 16—20 歲，縣委黨校學生爲 20—45 歲。

接種方法：接種前對上述各校學生首先詢問健康情況，各測體溫一次，對腋下體溫超過 37°C，經過詢問有禁忌症及過去接種有特殊反映均不給予接種。

皮下接種法係各地通用方法，一切接種手續皆按「乾燥鼠疫活菌苗使用法」說明書進行。接種劑量完小學生 0.7 毫升，餘者爲 1 毫升。

皮上劃痕接種法，首先經 75% 酒精充分消毒，待消毒液消散後，用 2 毫升注射器盛稀釋好的濃菌液（每毫升含菌 200 億），滴上臂三角肌附着處三滴（每滴爲 0.017 毫升，三滴爲 0.05 毫升，共含菌量 10 億）然後用種痘刀輕劃滴菌處之表皮，輕塗抹，待乾後始可穿衣（約 5 分鐘）。每人共劃痕三處，相距 3—4 厘米，每處劃四條網狀痕，每條痕長約 1.0—1.5 厘米。兩條平行痕間隔約 0.2 厘米，劃痕時以不出血爲度，但亦不應過淺。

以上兩種方法經接種後 20—24 小時觀察被接種者反應，分別記載全身，局部反應情況，對反應強者繼續觀察到反應消失時爲止。

觀察項目：

1. 全身反應 發燒、自覺症狀（全身不適、噁心、嘔吐、頭疼、頭暈等）。
2. 局部反應 紅腫、硬結、淋巴腺腫。

判定標準如下：全身反應，腋下體溫在 37.5°C 以下爲弱反應，在 37.6°C—38.5°C 者爲中反應，在 38.6°C 以上者爲強反應；局部反應紅腫在 2.5 厘米以下者爲弱反應，

在 2.5—5.0 厘米者為中反應，在 5.0 厘米以上或有淋巴腺炎者為強反應。

觀察結果：對皮下、皮下二法 596 名之被接種者，經接種 20—24 小時後所觀察的反應結果如下：

接種疫苗後 20—24 小時的反應結果

接種方法	人數	局部反應			全身反應		
		弱反應	中反應	強反應	弱反應	中反應	強反應
皮下	308	174 (56.5%)	132 (42.8%)	2 (0.7%)	306 (99.3%)	2 (0.7%)	—
皮下	288	288	—	—	288	—	—
總計	596	462	132	2	594	2	—

備註：帶案號為有淋巴腺腫痛者。

從表內結果中可看出，皮下接種者 308 名，局部紅腫範圍較大，並伴有不同程度的壓痛，紅腫在 2.5 厘米以下者（弱反應）174 名（56.5%），在 5.0 厘米以下者（中反應）132 名（42.8%），引起淋巴腺腫者（強反應）2 名（0.7%）。所有局部反應皆經 72 小時左右逐漸消失。全身反應較輕，體溫在 37.5°C 以下者（弱反應）306 名（99.3%）在 38.5°C 以下者（中反應）2 名（0.7%），無強反應。頭暈者 17 名（6.1%），頭疼者 2 名（0.7%），全身不適者 2 名（0.7%），所有全身反應經 36.48 小時恢復正常。

皮下割痕法接種者 288 名，反應極輕，局部反應在割痕處有紅暈，不大的浮腫（1.0 厘米左右），有時沿割痕有點狀水疱。所有被接種者全身狀態良好，無任何不良反應。

鑒於以上情況，單從被接種者所出現的全身，局部反應強弱來看，皮下割痕法接種處遠較皮下接種者為輕。在效果方面根據衛生部生物製品委員會乾燥鼠疫活疫苗法規實習班（1）及蘇聯學者 E. И. Коробкова 氏試驗結果（2）皆證實了皮下接種法優於皮下法。當然在這方面還須進行更多的試驗以肯定其效果。不過我們認為在我國目前的情況下，由於皮下接種法能引起較強的全身和局部反應（雖然少數），局部化膿，流產，（3）特別應着重指出，因接種後反應強而影響工作者是屢見不鮮的。因此給預防接種工作上造成了很多困難。而皮下割痕接種法技術較簡便易行，一切衛生工作者皆可勝任，簡化了預防接種，群眾願意接受，不引起強反應且禁忌範圍有限，尤其是不影響工作，因此我國可重點試行。

## 總 結

1. 本文總結了皮下接種者 308 名的反應結果，按腸道菌苗人體反應之標準及衛生部（55）檢技字 1849 號的文件指示，合乎要求。

2. 皮下割痕接種法，技術簡便，反應極輕微，群眾樂於接受，可重點試行。

## 參 考 文 獻

1. 衛生部生物製品委員會乾燥鼠疫活疫苗法規實習班：乾燥鼠疫活疫苗法規實習總結，生物製品通訊，第一卷四期 520—522，1956 年 12 月。

2. 陳起林譯：（自微，流，免雜誌 15—21 頁，11 期 55 年），提高 EV 預防鼠疫活菌苗效力的方法，生物制品通訊，第一卷第四期 597—601。

3. 東北防治鼠疫工作總結，50—53 年，東北鼠疫防治所。

## 死卡介苗代替結素的應用（摘要）

李光祖 李應乾 馬占瑞

本文就 1955—1956 年在大連作卡介苗接種時應用死卡介苗試驗結果簡要報告於下：

1. 在 987 名口服卡介苗者中結素反應有 580 名 (58.8%) 呈陽性，162 名 (16.4%) 呈疑陽性，275 名 (24.8%) 呈陰性，而死卡介苗試驗結果則有 770 名 (78%) 呈陽性，217 名 (22%) 呈陰性。

2. 在 56 名皮內接種卡介苗者中結素試驗陽性者 41 名 (73.2%)，疑陽性者 12 名 (21.4%)，陰性 3 名 (5.4%)，本組之結素反應陽性或疑陽性者死卡介苗試驗皆為陽性，陰性者二試驗結果相同。

3. 在 1150 名兒童皮內接種卡介苗前檢查時，結素陽性者 598 名 (52%)，疑陽性者 49 名 (4.3%)，陰性者 503 名 (43.7%)，而死卡介苗陽性者 630 名 (54.8%)，陰性者 520 名 (45.2%)。

4. 在 1316 名兒童中有 581 名 (44.1%) 呈結素陽性，77 名 (5.8%) 呈疑陽性，658 名 (50.1%) 呈陰性，而死卡介苗試驗則有 608 名呈陽性 (46.2%)，708 名 (53.8%) 呈陰性。

綜上所述，死卡介苗試驗之敏感性優於結素。經驗證明，死卡介苗試驗安全，且簡而易行。

（本文曾發表於生物制品通訊一卷四期）。

## 卡介苗皮上試驗 (摘要)

魏文彬 鄧寶雲

1951 年作者在旅大地區給 5000 名兒童作了卡介苗皮上試驗，其中有半數兒童同時做了結核菌素皮內試驗。

所用之卡介苗為一般活卡介苗，但濃度為 20 毫克/毫升。在種後第 7 天記取結果，反應大小與結核菌素同。所用結素系 1000 倍稀釋液。

卡介苗皮上試驗與結核菌素皮內試驗並用者 2500 人，其中兩種試驗結果俱為陰性反應者 884 人 (35.36%)，兩種試驗結果俱為陽性反應者 1478 人 (59.12%)，兩種結果未取得一致者 138 名 (5.52%)。在結果不一致的 138 名中，卡介苗試驗陽性而結素試驗陰性者 31 人 (1.24%)，結素試驗陽性而卡介苗試驗陰性者 43 人 (1.72%)。

單用卡介苗試驗者共 2501 人，陽性及可疑陽性反應計 1505 人 (60.18%)。

因此，作者認為卡介苗試驗可以代替結素試驗。

(摘自本所彙刊一卷三期)

## 口服卡介苗使用方法試驗 (摘要)

李光祖 馬占瑞 李應乾

根據我國目前情況，產院尚不能滿足人民的需要，因而新生兒在出在後 5—6 天內產婦就必須出院。口服卡介苗因受此限制而不能服全量。為此，我們在 1955 年以縮短口服時間的方法進行試驗，以圖克服上述困難。

我們採用生後第一、三、五日服用 (第一組)，生後第二、三、四日連續三次服用 (第二組) 和通用的生後第三、五、七天服用 (第三組) 的方法。

試驗結果如下：

第一組的腸轉率為 57.1% (217/380) 第二組為 60.5% (148/245) 第三組為 63.6% (152/239)。

按顯著性測驗分析，三組大致相同，無顯著差異。此外，在口服卡介苗後的反應及其所引起的頸淋巴腺炎為數極少，三組亦無甚差別。根據試驗結果，我們認為第一、二組法代用第三組方法是安全可靠的。

(本文發表於生物製品通訊一卷四期 541—544 頁)

## 廣東新會、江門、中山地區鈎端螺旋體病的調查報告

聶第楷 陳炯然\* 馬占瑞 史鵬達\*\*  
劉玉玲\*\*\* 周勵 崔錦家 魏曦

1886年 Weil 氏<sup>(1)</sup> 描述一種人的急性傳染病，其特征是黃疸，發熱、肝脾腫大、瘀斑性出血以及蛋白尿。1883—1888年 Вогкина 及 Васильев 二氏<sup>(2)</sup> 觀察到同樣的病例11例，其中一例死亡，他們描述並發表了這種疾病的獨特性。1915年稻田及井戶<sup>(3)</sup> 等氏發現了這種病的病原體，稱之為黃疸出血螺旋體 (*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*)。井戶、法貴、伊藤及和邇等氏<sup>(4)</sup> 根據其對鼠的調查研究，於1917年發表了鼠為這種螺旋體的帶菌者。1918年野口氏<sup>(5)</sup> 在紐約城由野鼠的腎臟分內離到同樣的螺旋體並命名為黃疸出血鈎端螺旋體 (*Leptospira icterohaemorrhagiae*)。查閱文獻，國內論及鈎端螺旋體較早者惟湯澤光氏<sup>(6)</sup> 及鍾惠瀾、朱貴卿和陳國清等氏<sup>(7)</sup> 兩篇；前者報告廣州三病例，後者為發生在北京的二病例以及由52隻狗的血清學檢驗中發現其中五隻狗的血清凝集試驗呈陽性反應。1943年劉雋湘及魏曦氏<sup>(8)</sup> 由昆明水源及溝渠水39份標本中培養出鈎端螺旋體九株。近幾年來我國廣東、浙江地區有不少病例<sup>(9)(10)(11)</sup> 發生。1955年10—12月作者等就1954—1955年發生在廣東新會、江門、中山等地50例<sup>(12)</sup> 鈎端螺旋體病的病人血清一部份作了血清學的檢查，同時在感染區收集健康人及動物血清作了檢查，並從新會的狗、牛及鼠體內作了鈎端螺旋體的分離。現在將調查結果報告如下。

### 材 料 和 方 法

#### 血清學檢查：

血清的選擇——血清的收集是在1955年10—12月期間進行的。共分三組，即臨床診斷為鈎端螺旋體病患者或恢復期患者，健康人和動物血清等。

(1) 臨床診斷為鈎端螺旋體病的患者血清——從1954—1955年發生在新會、中山、江門等地50例患者中收集到23例患者的血清。其中一部份是在病期中收集的；另一部份則為康復後採取的。

(2) 健康人血清——在病例發生最多的新會第四區收集健康人血清。共檢查了18人份。

(3) 動物(包括狗、牛及鵝)血清——自江門、新會地區收集得來，除污染的廢棄以外，實際檢查共20份。

血清學檢查方法——人及動物血清的檢查是用六種 (*L. grippityphosa*, *L. DV-B*, *L. DV-A*, *L. canicoba*, *L. weil*, *L. hebdomadis*) 不同血清型的活鈎端螺旋體為抗原與所

\* 廣東省衛生防疫站

\*\* 江門市衛生防疫站

\*\*\* 廣東省防疫大隊

收集的血清作凝集溶解試驗，將六種不同型的鈎端螺旋體接種於 Teperoux 氏培養基<sup>(19)</sup>（製備方法見附錄），放在 28°C 孵箱中培養 6—8 天，待發育到每視野（接物鏡 60×、接目鏡 12×）有 50 條以上的鈎端螺旋體時，用整個培養物為抗原。凝集溶解試驗的試法為將 0.2 毫升活鈎端螺旋體培養物與 0.2 毫升各項不同稀釋倍數的血清於試管中混合，使血清最終濃度為 1/10 1/30 1/100 1/300 1/1000 1/3000 1/10000，然後置 28°C 孵箱中，經兩小時後取出，由每管中各取一滴於載物片上，再加蓋玻片於暗視野顯微鏡下（每視野 720×）觀察結果。凝集效價在 1/300 以上者為陽性反應。

#### 鈎端螺旋體的分離：

標本的種類及來源——檢查的標本有狗腎、牛腎、野鼠及家鼠。狗腎及牛腎從江門市新鮮屠宰的狗、牛取得，即將新鮮屠宰的狗、牛的腎臟取出置於滅菌的生理鹽水（調節 PH7.2—7.4）瓶中，然後立即送到實驗室檢查。家鼠是在江門市區捕獲的；野鼠係自新會縣第四區田野裡捕獲得來。所有的鼠當送到實驗室時都是活的。

分離的方法——將送到實驗室的活鼠窒息死後，浸於 3% 來蘇水中 2—3 分鐘，固定在解剖台上，以碘酒消毒腹部皮膚，進行解剖。將每 3—4 隻鼠（同種的鼠）的肝臟各取一小塊及兩個腎臟放在滅菌乳鉢內混合磨碎，再加滅菌的生理鹽水（PH 調節為 7.2—7.4）作成 10—20% 混懸液以備檢驗。狗腎或牛腎也用同樣方法作成懸液；惟每份標本只採自一個腎臟，以灼熱的鐵片迅速的在腎臟表面烙過，用滅菌剪刀取腎臟一塊（主要是皮層部份）放在滅菌的乳鉢內剪碎研碎，再用滅菌生理鹽水（PH 調節為 7.2—7.4）作成 10—20% 懸液。

將各種標本的懸液分別接種於 Teperoux 氏培養基（每管培養基為三毫升，接種懸液量為 3—5 滴）；同時取一毫升接種於體重為 100—200 克的幼年豚鼠腹腔內。在未接種培養基及豚鼠之前，每種標本的懸液都經過暗視野顯微鏡的檢查，每個標本觀察 30—50 個視野（720×）。

接種的培養基放在 28°C 孵箱中培養，每經七日取出一滴於暗視野顯微鏡下檢查一次，連續檢查四次，若為陰性即棄去。由於設備條件的限制，大多數培養材料只在 28°C 孵箱中培養一週後即取出放於室內（室溫為 10—18°C）。接種的豚鼠分籠隔離飼養，每日量體溫一次，若發病則待瀕死或剛死後以無菌手續進行解剖，取肝、腎作成 10—20% 生理鹽水（PH7.2—7.4）混懸液，將此懸液一毫升繼續接種一隻豚鼠腹腔內，並在暗視野顯微鏡下檢查懸液內是否有鈎端螺旋體，若為陽性則取懸液接種於 Teperoux 氏培養基內培養。

所分離的鈎端螺旋體的血清型鑑定：

將待鑑定的鈎端螺旋體分別與七種（L.grippotyphosa, L.DV-B, L.DV-A, L.canicola, L.weil, L.hebdomadis, L.licterohaemorrhagiae）標準鈎端螺旋體的免疫血清作凝集溶解試驗。

(1) 標準鈎端螺旋體免疫血清的制備——將各型標準菌種分別接種於 Teperoux 氏培養基於 28°C 培養 8—10 日，選取每視野（720×）有 50 條以上運動活潑而無自然凝集的鈎端螺旋體培養物加溫 56°C，30 分鐘致死後，注射於體重為 2—2.5 公斤的家兔（耳靜脈注射），共注射三次，每次注射量為二毫升，間隔為 5—6 日，第三次注射後

間隔八日試血，凝集效價達 1/10000 以上者即放血，採取血清，滅能後加防腐劑硫柳汞水溶液 (1/5000) 備用。

(2) 抗原的制備——將待鑑定的鈎端螺旋體分別接種於 Tepoux 氏培養基，於 28°C 孵箱中培養，經 6—8 日發育到每視野 (720×) 有 50 條以上的鈎端螺旋體時即將培養物用作抗原。

(3) 操作方法與人及動物血清的凝集溶解試驗相同。

## 結 果

### 人及動物血清檢查結果：

(1) 臨床診斷為鈎端螺旋體病患者或恢復期患者的血清檢查結果見表工。共計檢查 23 人，其中 14 人的血清與 L. weil 抗原呈陽性反應；另外二人的血清與多種抗原呈陽性反應。本組血清中陽性反應出現最早者為病期第六日。患者康復後，其血清仍為陽性反應的例中經歷最長者達 457 日。

(2) 健康人血清共檢查 16 份，其中一份與 L. weil 抗原呈陽性反應。

(3) 動物 (狗、牛、鵝) 血清共檢查 20 份，全為陰性。

表上：23 名臨床診斷為鈎端螺旋體病患者及恢復期患者血清凝集溶解試驗結果。

患 者	性別	年齡	籍貫	職業	發病日期	取血日期	從發病到取 血間隔日數	凝 集 效 價	陽性反應 抗原名*
陳 × 蓮	男	27	新會	農	7.17.55	11.10.55	116	10000	V
陳 × 益	"	28	"	"	—	11.19.55	—	—	—
湯 × 陸	"	19	"	"	11.17.55	① 11.23.55 ② 11.25.55	① 6 ② 8	{ 1000 300	{ V, F I.
曾 × 洪	"	15	"	"	9.8.55	11.19.55	72	10000	V
陳 × 劍	"	47	"	"	10.12.54	11.10.55	394	1000	V
區 × 傑	"	22	"	"	10.8.54	11.10.55	—	—	—
李 × ×	女	35	"	"	8.10.54	11.10.55	457	3000	V
何 × 加	男	19	"	"	11.19.55	① 11.29.55 ② 12.1.55	{ ① 10 ② 12	{ ① 1000 ② 3000	{ V V
歐 × 歡	"	32	"	"	9.26.55	11.10.55	45	30000	V
伍 × 瑞	"	21	"	"	10.15.55	11.10.55	21	3000	V
陸 × ×	"	25	"	"	9.10.55	11.15.55	—	—	—
余 × 昌	"	34	"	"	9.25.54	11.14.55	—	—	—
盧 × 明	"	34	"	"	9.1.54	11.10.55	485	300	V
李 × 信	"	17	中山	"	9.5.55	11.19.55	—	—	—
歐 × 生	"	17	"	"	8.21.55	11.19.55	—	—	—
楊 × 榮	"	22	"	"	7.27.55	11.19.55	115	3000	V
袁 × 順	"	24	"	"	10.7.55	10.27.55	20	{ ① 8000 ② 10000	{ I V
趙 × ×	"	23	"	"	6.14.55	11.19.55	158	300	V
蔡 × ×	"	54	"	"	3.26.55	11.19.55	—	—	—
胡 × 權	"	23	"	"	3.23.55	11.19.55	241	3000	V
吳 × 才	"	36	"	"	12.8.54	11.19.55	305	300	V
文 × ×	"	49	江門	"	10.23.55	11.5.55	13	40000	V
歐 × 林	"	24	順德	"	11.16.55	11.22.55	6	300	V

\* V = L. weil, F = L. canicola, I = L. DV-B.



## 鈎端螺旋體的分離:

全部材料經直接用暗視野顯微鏡檢查和直接培養均為陰性。將材料接種豚鼠再進行培養，結果從 100 隻黃胸鼠 (*Rattus flavipectus*) 中分離出鈎端螺旋體兩株 (№33 及 №40)；從 32 條狗體中分離出鈎端螺旋體一株 (№38) (表 II)。

表 II. 自新會縣狗、牛及鼠體內分離鈎端螺旋體的結果:

動物名稱	檢 查 數	分離出鈎端螺旋體株數
溝鼠 ( <i>R. norvegicus</i> )	7	—
陸頂鼠 ( <i>R. rattus</i> )	15	—
<i>Bandicota nemoriaga</i>	10	—
黃胸鼠 ( <i>R. flavipectus</i> )	100	2
狗	32	1
牛	37	—

№40 鈎端螺旋體分離經過——取黃胸鼠 №22、№23、№24 及 №25 的肝腎混合懸液一毫升接種於一隻豚鼠腹腔內。接種後第六日豚鼠體溫顯著升高，持續至第八日體溫下降死亡，皮膚黃胆顯著，鼠蹊部淋巴腺充血，兩側腎腫大充血，肝臟腫大，腸壁有多數出血點，肺有出血斑。將肝及肝腎混合分別作成懸液（用調節 PH 為 7.2—7.4 的生理鹽水作成 10—20% 的懸液）於暗視野顯微鏡下檢查，每視野 (720×) 有鈎端螺旋體 10—30 條。將肝懸液及肝腎混合懸液分別接種培養基，結果見表 III 及表 IV。

表 III. 黃胸鼠 №22, №23, №24 及 №25 肝腎混合懸液接種豚鼠後，取豚鼠肝腎作成懸液培養結果:

培 養 基 量 (毫升)	所加滅能兔血清量 (滴)	接 種 懸 液 量 (滴)	培 種 一 週 後 觀 察 結 果 (每視野 (720×) 鈎端 螺旋體條數)
3	2	2	1—5
3	2	4	1—6
3	2	6	1—2
3	2	8	—
3	2	10	—
3	2	20	—

表 IV. 黃胸鼠 №22, №23, №24 及 №25 肝腎混合懸液感染豚鼠後，取豚鼠肝臟作成懸液培養結果:

培 養 基 量 (毫升)	滅能兔血清量 (滴)	接 種 懸 液 量 (滴)	培 種 一 週 後 觀 察 結 果: 每視野 (720×) 鈎端 螺旋體條數
3	3	3	4—16
3	0	3	—
3	1	5	20—50
3	3	5	1—2
3	1	10	—
3	0	10	—
3	0	20	—

№33鈎端螺旋體分離經過——取黃胸鼠 №10、№11、№12、及 №13 的肝腎混合懸液一毫升接種於豚鼠腹腔內。接種後豚鼠發熱不顯著，第五日死亡，解剖所見無顯著病變，取豚鼠肝腎混合懸液一毫升繼續接種第二代豚鼠。第二代豚鼠接種後第三日開始發熱，持續到第八日體溫下降死亡，解剖所見：鼠蹊部淋巴腺輕度充血，腹膜有出血現象，胃壁有點狀出血，脾腫大出血，兩側腎上腺腫大充血，肺有出血斑。取肝腎混合懸液繼續接種第三代豚鼠；並於暗視野鏡下檢查，未見到鈎端螺旋體。第三代接種的豚鼠次日即死掉，鼠蹊淋巴腺輕度充血，肺有點狀出血，腹腔內有腹液少許，（無色透明）。暗視野鏡下檢查腹液，每視野（720×）有鈎端螺旋體 1—2 條，但肝腎懸液中則未見到。繼續用肝腎懸液接種豚鼠傳代，至第五代豚鼠死後取肝腎懸液及腹液分別培養，結果見表 V。

表 V. 黃胸鼠 №10, №11, №12 及 №13 的肝腎混合懸液或  
豚鼠鼠後傳代至第五代時培養結果：

培養基量 (毫升)	所加血清量 (滴)	接種培養物	接種量 (滴)	培養 10 日後觀察結果 (每視野鈎端螺旋體數)
3	3	第五代豚鼠腹液	1	30—50
3	1	第五代豚鼠腹液	3	—
3	1	第五代豚鼠肝懸液	5	—

№38鈎端螺旋體分離經過——取 №32 狗腎懸液一毫升接種豚鼠，接種後第三日死亡，無顯著發熱，解剖所見亦無明顯病變，繼續傳代。第二代接種的豚鼠於接種後第八日死亡，亦無顯著病理變化。第三代接種的豚鼠於接種第五日死亡，腹部皮下有點狀出血，如針頭大，腹壁普遍有出血點，胃壁有少許出血點，兩側肺均有出血斑。取肝腎懸液於暗視野鏡下檢查，每視野（720×）有 1—10 條鈎端螺旋體，肝腎懸液培養結果見表 VI。

表 VI. №32狗腎懸液接種豚鼠後，傳代至第三代時取豚鼠肝  
腎懸液培養結果：

培養基量 (毫升)	所加兔血清量 (滴)	接種豚鼠肝腎懸液量 (滴)	培養結果(兩週後觀察) (鈎端螺旋體條數)
3	3	3	2—3/每視野 (720×)
3	2	3	7, 30個視野
3	1	5	4, 30個視野
3	2	5	6, 30個視野

所分離的鈎端螺旋體血清型的鑑定：

№40、№38 及 №33 鈎端螺旋體的血清型鑑定結果分別記於表 VII, 表 VIII 及表 IX。  
№40 及 №38 鈎端螺旋體均屬 L. weil 型；№33 為黃疸出血鈎端螺旋體 (L. icterohaemorrhagic)。

表Ⅶ. №40鈎端螺旋體與各型鈎端螺旋體標準血清所作的凝集溶解試驗結果:

標準血清 \ 血清稀釋倍數	10	30	100	300	1000	3000	10000	對照
<i>L. grippotyphosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. DV-B</i>	卅	卅	卅	+	+	—	—	—
<i>L. DV-A</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. Canicola</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. weil</i>	C	C	C	C	卅	卅	卅	—
<i>f. hebdomadis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = 每10個視野 (720×) 中 1—3 個視野有凝集。

卅 = 每10個視野 (720×) 中 4—7 個視野有凝集。

卅 = 每10個視野 (720×) 中 8—10 個視野有凝集。

— = 陰性。

C = 溶解 (折光降低, 部分菌體看不見)

表Ⅷ. №38鈎端螺旋體與各型鈎端螺旋體標準血清所作的凝集溶解試驗結果:

標準血清 \ 血清稀釋倍數	10	30	100	300	1000	3000	10000	對照
<i>L. grippotyphosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. DV-B</i>	卅	卅	+	+	—	—	—	—
<i>L. DV-A</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. Canicola</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. weil</i>	C	C	C	卅	卅	卅	+	—
<i>f. hebdomadis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

表Ⅸ. №33鈎端螺旋體與各型鈎端螺旋體標準血清所作的凝集溶解試驗結果:

標準血清 \ 血清稀釋倍數	20	60	200	600	2000	6000	20000	對照
<i>L. grippotyphosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. DV-B</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. DV-A</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. canicola</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. weil</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. hebdomadis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. ictero haemorrhagiae</i>	卅	卅	卅	卅	+	—	—	—

## 討 論

關於鈎端螺旋體病的血清學診斷以及鈎端螺旋體的血清型別鑑定，作者等採用了凝集溶解試驗的方法，因為這一試法的特異性較高，陽性反應在病程中出現較早<sup>(14)</sup>，但在病程的早期病人血清也有與非特異性的鈎端螺旋體抗原呈陽性反應的。鈎端螺旋體病與非鈎端螺旋體所致的疾病不一樣，在病程初期出現異質性抗體<sup>(16)</sup> (Heterogeneous antibody)，隨着病程的進展，異質性抗體效價逐漸降低以致於消失；而非鈎端螺旋體所致疾病適相反，隨着病程的進展，異質性抗體效價一般是增高。本文中所述檢出的17例陽性血清中有二例為與多種抗原呈陽性反應，都是在病程的較早期出現的。

在病程中，凝集溶解試驗出現為陽性反應的時間，據文獻記載為4—13天<sup>(15)</sup>之間；也有記載謂凝集抗體首先被檢出約在病程的第12天<sup>(17)</sup>，第三星期達最高，並且可能持續到許多個月或多年。本文報告的陽性血清例中，陽性反應出現最早者為病後第六日；另一例在病後第六日還是陰性，而在第八日始出現陽性。

至於凝集溶解試驗所用的抗原，作者等採用了活的鈎端螺旋體培養物，因為凝集現象用活的鈎端螺旋體較用死的明顯而易觀察，並且可以看到溶解現象，用死的鈎端螺旋體為抗原則看不到溶解現象，而且凝集也不如用活的鈎端螺旋體那樣清晰可見。

溶解現象的產生與血清稀釋度有關，在高度稀釋的血清中鈎端螺旋體溶解呢，還是在低度稀釋的血清中溶解？說法尚不一致<sup>(18)(19)</sup>。據作者等的觀察是在抗血清較低度稀釋的情況下有溶解現象，而高度稀釋了的血清則只能看到凝集。

鈎端螺旋體血清型分類，目前尚無一致公認的方法，作者等就自鼠，狗體中分離的三株鈎端螺旋體用七種標準鈎端螺旋體免疫血清分別作了凝集溶解試驗，其中兩株 (№40, №38) 與 *L. weil* 抗血清呈陽性反應，一株 (№33) 與 *L. icterohaemorrhagiae* 抗血清呈陽性反應。用同樣的方法，將標準菌種 *L. weil* 及 *L. icterohaemorrhagiae* 與相應的抗血清作交叉凝集試驗，結果是兩者在血清學型別上沒有相同的地方。

用不同方法分離鈎端螺旋體所得的陽性率也各不相同。有謂用直接培養的方法<sup>(17)</sup>較用動物接種易於分離出鈎端螺旋體。Rislakki 及 Salmineu 二氏<sup>(20)</sup>在芬蘭鼠體鈎端螺旋體病的調查中，曾將各種方法加以比較，其結論是沒有一種方法能得出絕對的結果。本文報告分離的三株鈎端螺旋體均自接種豚鼠後培養獲得，直接培養結果全為陰性，這可能是由於設備條件的限制，大多數培養材料只在 28°C 孵箱中培養一週後即取出放於室內 (室溫為 10—18°C)，因此影響了鈎端螺旋體的生長繁殖。豚鼠對不同型鈎端螺旋體的感受性各不相同，在分離鈎端螺旋體時用豚鼠接種同時進行直接培養似較適當。

1955年作者之一 \* 與葉惠芬及彭利氏在廣東省鈎端螺旋體病流行地區對狗類的調查中，發現狗對鈎端螺旋體補體結合試驗陽性率達 97.4%，本文中報告從新會縣 32 條狗體中分離出鈎端螺旋體 (*L. weil*) 一株更肯定了調查地區狗對鈎端螺旋體的感染。因此在預防鈎端螺旋體病的措施上不僅應注意滅鼠，同時也應注意狗感染和帶菌這一流行因素，特別是由於販賣由一地區運送到另一地區，可能造成水源被污染而形成新的疫區。

\* 陳瑞然

## 摘 要

本文報告廣東省新會、中山、江門地區鉤端螺旋體病的調查結果並對鉤端螺旋體病的血清學診斷（凝集溶解試驗）以及鉤端螺旋體分離的一些問題加以討論。

(1) 用凝集溶解試驗檢查結果，從 23 個臨床診斷為鉤端螺旋體病的患者及恢復期患者的血清中檢出 16 人的血清為陽性反應，其中 14 人的血清與 L.weil 抗原呈陽性反應；二人與多種鉤端螺旋體抗原 (L.weil, L.camnicoba, L.DV-B) 呈陽性反應。從新會縣第四區 16 個健康人的血清中檢出一人的血清與 L.weil 呈陽性反應。

(2) 從新會縣 100 隻黃胸鼠 (*R.flavipectus*) 中分離出鉤端螺旋體二株 (№40, №33)；從同一地區 32 條狗體中分離出鉤端螺旋體一株 (№38)。

(3) 分離的三株鉤端螺旋體經用凝集溶解試驗鑑定結果，有兩株 (№40, №38) 屬於 L.weil 型，一株 (№33) 為黃疸出血鉤端螺旋體 (*L.icterohaemorrhagiae*)。

(在江門市工作期間，承蒙廣東省衛生防疫站葉惠芬同志及江門市衛生防疫站幫助，特此致謝。野鼠標本係中國科學院動物研究室壽振黃教授所鑑定，併此致謝)。

## 參 考 文 獻

[1] 原文未見、引自 Li, H.Y. and Davis, D.E., The prevalence of carriers of *Leptospira* and *Salmonella* in Norway rats of Batmore, The Amer. J. of Hyg., 56: 1952.

[2] В.С. Циктоно, Лептоспирозы человека. (1954) 第八頁。

[3] Inada, R., Ido, Y., Hoki, R., Kaneko, R. and Ito, H., The Etiology, mode of infection and Specific Therapy of Weils disease (*Spirochaetosis icterohaemorrhagica*), J. Exp. med., 23: 377—402, 1916.

[4] Ito, Y., Hoki, R., Ito, H., Wani, H. The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, The causative agent of Weils disease (*Spirochaetosis icterohaemorrhagica*), J. Exp. med., 26: 341—353, 1917.

[5] Noguchi, H., morphological characteristics and nomenclature of *Leptospira*, J. Exp. med., 27: 575—592, 1918.

[6] 湯澤光, The occurrence of Weils disease in Canton, China, Chinese med. J., 51: 483, 1937.

[7] Snapper, I., Chung, H.L., Chu, I. and Chen, K.C., Preliminary observations on human, canine and murine *Leptospirosis* in north China, Chinese med. J. 58: 408 1940.

[8] 劉尚淵、魏曉，由昆明水源及溝渠中培養鉤端螺旋體之結果，(未發表)。

[9] 鄧顯華、李堅白、曾次軍，廣州市郊區農民的外耳氏病，中華內科雜誌，1955年第6號，461—465頁。

[10] 鍾惠潤、伍學鑑、丘福禧、洗維遜、侯鐘昌、鄧啓洪、李尚助、張乃峰、葉惠芬。廣東省粵中地區鉤端螺旋體病的研究工作報告，第三部份——182 例

臨床分析，中華內科雜誌，1956年第8號，第597—608頁；第9號，第712—723頁。

[11] 王家駒，何世元，馬家整，出血性黃疸鉤端螺旋體之培養動物實驗與對青毒素敏感度之測定，微生物學報，第4卷，第1期，155頁，1956。

[12] 張肖白，史鵬達，區元坤，趙桑，何錦添，鉤端螺旋體病五十例報告，中華內科雜誌，1956年，第9號，第724—737頁。

[13] В.С. Киктенко, Лептоспирозы человека (1954) 第41—42頁

[14][15] Schlossberger, H. and Brandis, H., Leptospira, annual review of microbiology, vol.8:140, 1954.

[16] Wiesmann, E., The leptospires With Special reference to their antigenic characteristics, Bulletin of Hygiene, 28:581—582, 1953.

[17] Mackie, T.T., Hunter, G.W., and Worth, C.B., A manual of Trop. med. (第二版) 第124頁

[18] Lawrence, J.J., The lysis of Leptospire by antiserum, Australian J. of Exp. Biol. and med. Science 33 (Part I) :91—101, 1955.

[19] В.И. Терских, Лептоспироза (1952), 第38—39頁,

[20] Ris Lakki, V. and Salmineu, A., Investigation of Leptospirosis in rats in Finland, Acta pathologica Et microl, Scan., XXXVII:121—131, 1955.

附錄：Терских 氏培養基制備法——Терских 氏培養基為 10% 磷酸鹽緩衝液及 5—10% 兔血清組成，其制備法如下：

①  $\frac{1}{15}M$   $Na_2HPO_4$  (11.876 克  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  溶於 1000 毫升蒸溜水中)

②  $\frac{1}{15}M$   $KH_2PO_4$  (9.078 克  $KH_2PO_4$  溶於 1000 毫升蒸溜水中)

取①液 8 毫升及②液 2 毫升混合，加蒸溜水 90 毫升 (PH 為 7.2—7.4，如不在此範圍，可將①液及②液之量分別增減以調節之)，用濾紙過濾，分注試管，120°C 30 分鐘滅菌，涼後加 5—10% 滅活兔血清。

## 學習蘇聯斑疹傷寒疫苗法規後生產工作總結

自從一九五三年第四季度集中學習蘇聯斑疹傷寒疫苗製造和檢定法規基本結束後，本室立刻轉向了大量生產，並持續至今。經過近兩年的生產，對蘇聯法規的優越性有了進一步的認識和提高，扭轉了對蘇聯法規懷疑和試試看的態度，為進一步學習蘇聯先進科學技術，提高產品質量打下了穩固的思想基礎。

近兩年來，在黨和上級的關懷與正確領導下，由於全室同志們的努力，完成了國家交給的生產任務、和各項指標，除疫苗含菌量較高外，基本上達到了蘇聯法規所規定的質量標準，扭轉了學習蘇聯法規以前產品存在的“反應大”“效價低”的情況。在整個工作中基本上執行了法規和操作規程，並且通過近兩年的生產工作證明，嚴格執行法規是提高質量最重要的保證，所以取得上述一些成就正是執行法規的結果。但是由於對圍繞法規進行試驗研究工作的重要性認識不足，特別是近年來絕大部份精力都放在大量的生產任務上。沒有時間進行必要的試驗研究工作，因而在質量上，特別是疫苗含菌量方面以及對法規的操作規程的執行上，還存在着不少的問題，另外由於責任心不強，在近兩年來的生產中曾發生幾次較大的責任事故，給國家造成了很大損失，更是相當嚴重的。在今後的工作中，必須加強工作的責任心，克服和消滅責任事故；努力貫徹“學習蘇聯先進經驗，提高質量”的方針，加強試驗研究工作，嚴格執行法規，為全部達到法規的最高標準而努力。

### 一、毒種方面

根據中央決定，本室是用 D. II 兩個流行性斑疹傷寒立克次氏體毒種製備斑疹傷寒疫苗的，在整個工作中基本上是按照法規和操作規程的精神工作的，因而供應生產的毒種基本上保證了“純淨、豐富、毒力高”的要求，特別是今年上半年的工作為最明顯。但是由於最初對蘇聯法規的全部精神領會不強，執行不嚴，也遇到了一些問題如感染幼蟲死亡過早，遠不到法規所規定的時間，另外由於某些操作技術不符法規的要求，致使毒種造成毒力低、滴度低、繁殖量少以及污染率高等情況，給毒種傳代和供應生產的工作造成困難。而在解決這些問題時最初也有脫離法規和操作規程的地方，如曾一度採用了海豬傳代的方法，並未獲得良好的結果。最後還是按着法規的精神而解決了這些問題。

從開始生產到現在，毒種繁殖情況、污染率、滴度和毒力情況，如表所示，由表可見毒種的繁殖、滴度和毒力是隨着毒種蟲子代數增加提高的，而污染率則隨着毒力的提高而減低。

1. 最初（毒種蟲代數1~5代）由於對蟲鼠交替傳代經驗不足和技術條件所限，掌握不着幼蟲傳代的規律，感染幼蟲死亡過早，影響小白鼠的傳代。為了解決這個問題，曾用成蟲感染注射的方法和海豬傳代的方法做試驗，這種試驗未曾獲得良好的結果。

後來我們將法規規定的1:1感染幼蟲的方法改為1:400稀釋感染幼蟲，結果感染幼蟲的發病時間延長，感染小白鼠也大體上接近法規的要求，毒力也有所提高（如表1.2所示）。

2. 雖經上述試驗後，大體上已接近法規的要求，但是個別的提前死亡或死亡的時

間太晚的現象仍然存在，加之小白鼠滴定不當和小白鼠本身的不健康等，對於毒種傳代和供應生產仍具有一定的影響。為進一步證明懸液濃度和感染齡的發病時間的關係，我們用 1:1 和 1:400 稀釋的毒懸液同時感染幼齡和一齡蟲，比較兩者的區別結果證明 1:400 的毒懸液對幼齡和一齡蟲的感染都很規律，尤以一齡蟲為最明顯，感染後第 7—10 天大量發病用該病蟲感染的小白鼠也很典型（表 3）

3. 以前用於感染小白鼠的病蟲多是死亡的，甚至死亡後不能及時放入冰箱，使病蟲乾涸，這樣毒種毒力有很大影響，並增加了污染的機會。試驗證明，應用新鮮的（死亡後即放入冰箱保存）或瀕死的病蟲感染小白鼠是最成功的，能夠保證毒種的純度和毒力的穩定，由此可見，感染小白鼠病蟲的選擇，對毒種的傳代和供應生產具有很大意義。

4. 在提高了毒力，減少了污染以後，對病蟲感染小白鼠的滴度和小白鼠本身傳代的滴度做了試驗，病蟲感染小白鼠的滴度試驗主要是以一齡蟲為主進行的。試驗證明，用  $1\frac{1}{2}$ ，1 和  $\frac{1}{2}$  個病蟲感染小白鼠，得出了適當的滴度，克服了小白鼠死亡或發病時間不一致的現象保證了毒種傳代的正常進行。

小白鼠傳小白鼠，毒種滴定的試驗證明，適當的滴度對斑疹傷寒立克次氏體毒種的傳代和供應生產具有很大意義。並且證明，毒種滴度的提高毒種代數及毒力是有關係的，本室 B 和 II 斑疹傷寒立克次氏體毒種的滴度，隨著毒種代數的增加和毒力的提高，已由最初 1:2—1:3 逐漸的提高別 1:9—1:14 之間。因而保證了小白鼠死亡的規律（即大部份是感染後四天瀕死）和立克次氏體的豐富。並由於減少了 40 小時前的死亡，因而大大的減低了接種解剖過程的耗損率。

最後，近兩年來的毒種傳代工作證明，小白鼠的健康情況和感染小白鼠放置的溫度對斑疹傷寒毒種的保存也有很大的關係必須經常地在工作中之加以注意。

## 二、接種解剖方面：

從 1953 年初到現在，本室進行了大量的小白鼠接種和解剖，以備疫苗生產之用近兩年來的實際工作證明，接種解剖方面的操作規程是適宜的，既嚴格了無菌操作，又保證了大量的生產。本室接種解剖近兩年來的生產情況如表 5。

由表 5 可見 1955 年上半年的損失率較 1954 年已有顯著降低立克次氏體含量也有所增加，主要原因是調整了毒種的滴度減少了小白鼠感染後 40 小時內的死亡；感染小白鼠毒懸液的滴入量的準確、適當也是原因之一。由此結果，不僅降低了損失率，提高了立克次氏體含量，而且鼠肺內的雜菌數也大大的減少，因此對疫苗的質量具有一定的意義。

## 三、原液方面：

近兩年來疫苗原液的製備和檢定基本上是按法規及操作規程的製造和檢定方法進行的。因而保證了大量生產任務的完成，在質量上除含氮量較高外，均達到了法規的標準。

## 四、執行法規情況和存在的問題

如上所述從毒種到檢定的整個生產過程中，基本上是按着法規和操作規程進行的，這也是所以能完成任務和各項指標，特別是保持了批批達到法規最高効價的根本保證。但是由於設備條件和技術條件不夠，經驗不足，在設備和操作技術上仍有不完全符合法規的地方，在疫苗質量上仍存在着一些問題。

不符合法規的主要有：



1. 喂養幼蟲的特殊飼養器仍用鋁圈或蛋殼所代替；應用的人血，也非完全新鮮者，有時甚至保存至一週。

2. 除幼蟲外，我們還經常應用了一齡蟲，並且我們認為後者較幼蟲好，但這是與法規的規定不符的；另外，感染幼蟲所用毒懸液稀釋度較法規高。

3. 放置感染小白鼠的冰室溫度為 10—13°C，甚至有時為 8—9°C

4. 攪拌機的轉數低。（12,000 轉/分）研磨時也較法規的規定不同（現為 2—3 分鐘）。另外高離心機也不符法規所規定的規格（現用沙培氏離心機）。

存在的主要問題有二：

1. 如表 7 所示疫苗總菌量均高於法規的標準（最低 1.2884—1.3383mg/100ml，最高 1.949—1.9788mg/100ml），大部份在 1.4—1.7mg/100ml 之間。

2. 疫苗內的組織塊仍然存在，

近來根據北京中央生物製品研究所和中央上海生物製品所的經驗，就上述兩方面的問題做了一些試驗，擬通過洗肺，改變研磨時間和不補加沉澱等方法，降低總菌量，但均未獲得預期結果，現議法試驗中。

### 五、操作規程的修改意見

毒種部份

1. 感染幼蟲應用的皮膜除人皮膜外，應增加大白鼠皮膜及其他可以應用的皮膜，該皮膜的保存時間不宜規定。

2. 用紫外光照射的方法消毒皮膜，較用氫水的方法為好，故希於操作規程中加以規定。

3. 傳代毒種除繼續規定幼蟲外，應增加一齡蟲。另外，喂蟲時間，接種蟲數，蟲糞檢查，感染鼠數，和滴度等，可不具體規定

4. 感染幼蟲之新鮮脫纖維人血的保存時間不應做具體規定

5. 毒種的傳交時間應不做具體的規定。

6. 感染幼蟲毒懸液的稀釋度，應提高如 1:400 等，以保證毒種的穩定。

7. 毒種傳代的多餘鼠肺，經檢查合格者可以應用於生產。

8. 放置毒種和接種解剖小白鼠的冰室溫度，應改為 8—13°C

原液部份：

1. 研磨項內腐敗鼠肺的檢查應移入第五項內。

2. 噴霧消毒的 1% 石炭酸，應改為 3% 石炭酸

3. 懸液製成後，三天方可沉澱，如不能進行沉澱時則應放入冰室保存；沉澱的時間最晚不遲於研磨後的 10 天。

4. 為防止沈渣流入，低沉後導引時低沉上清可以用絹過濾。

5. 高速後如不能馬上用醚處理時，應將懸液置於冰室，以防染菌。

6. 原液濃度測定的稀釋倍數，已有明確規定，因而具體辦法即可不再規定。如原液 1 毫升加滅菌生理鹽水 19 毫升 = 20× 是操作規程上規定的方法，而 0.5 毫升原液加 9.5 毫升生理鹽水也是 20× 均可應用。

7. 疫苗稀釋用的磷酸緩衝液 pH 應用 7.2—7.4。

8. B. II 毒種原液的稀釋混合比例為 50%。
9. 原液的保存期限為原液濃度測定後一年。
10. 疫苗的含氮量以每 100 毫升疫苗內不應含有 2 毫克之“氮”為標準。

表 1: 毒種傳代中的一般情況

項 目 代 數	立克氏體 平均量 (+)	平均污染率 (%)	濃 定 度		毒 力	
			滿 定	最高濃定所占 %	平 均 值 (LD <sub>50</sub> )	%
1-5	1.9	11.1	1:2-5	50	1:128	33
6-9	2.1	10.8	1:4-7	—	1:128	60
10-15	2.2	1.8	1:4-8	39	1:256-512	87
16-19	2.3	1.37	1:7-12	78	1:256-512	77
20	2.75	0.37	1:8-15	63	1:256-512	100

表 2: 蟲代數增加和毒力的關係

毒力級 代數(CD <sub>50</sub> )	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>7</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>9</sub>	D <sub>10</sub>	D <sub>11</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>13</sub>	D <sub>14</sub>	D <sub>15</sub>	D <sub>16</sub>	D <sub>17</sub>	D <sub>18</sub>	D <sub>19</sub>	D <sub>20</sub>
	1:1024	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
J:512	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—
1:256	—	1	—	—	—	—	—	2	1	1	2	—	—	2	—	—	—	2	2
1:128	2	—	1	1-2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:64	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
J:16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 3: 不同濃度的毒懸液感染幼蝻和一齡蝻的結果

幼						蝻					
1:400			7:1			1:400			7:1		
716個			938個			246個			179個		
死亡日 (天)	死亡數	死亡率 %	鏡 檢 結 果			死亡日 (天)	死亡數	死亡率 %	鏡 檢 結 果		
1	—	—				1	—	—			
2	—	—				2	—	—			
3	20	2.6				3	15	—			
4	25	3.3				4	20	—			
5	15	—	1±, 2-, 3-,			5	309	—	1±, 2±, 3-, 4-, 5+,		
6	135	20	1+, 2+, 3+, 4±, 5-,			6	319	—	1+, 2+, 3+, 4+, 5±,		
7	75	10	1#, 2#, 3#, 4+, 5#,			7	85	—	1#, 2#, 3#, 4#, 5#,		
8	50	6	1#, 2#, 3#,			8	70	9	1#, 2#, 3#, 4#,		
9	132	17	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5+, 6#,			9	80	7	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5+, 6±,		
10	120	16	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5±, 6-,			10	7	8.5	額死 1#, 2#, 3#, 活 4±, 5#, 6+, 7±		
第 7-10 天死亡 47%						第 7-10 天死亡 24.5%					
幼						蝻					
1:400			7:1			1:400			7:1		
246個			179個			246個			179個		
死亡日 (天)	死亡數	死亡率 %	鏡 檢 結 果			死亡日 (天)	死亡數	死亡率 %	鏡 檢 結 果		
1	—	—				1	—	—			
2	—	—				2	—	—			
3	3	—				3	5	—			
4	—	—				4	2	—			
5	—	—				5	5	—			
6	13	—	1±, 2-,			6	34	—	1±, 2±, 3+,		
7	82	13	1+, 2+, 3#,			7	83	18	1#, 2#, 3#, 4±, 5±,		
8	38	15	1+, 2#, 3#, 4±,			8	44	24	1#, 2#, 3#, 4#,		
9	64	26	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5+, 6±,			9	32	17	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5±, 6±,		
10	49	20	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5±, 6-,			10	6	3.3	額死 1#, 2#, 3#, 4#, 活 5±, 6+, 7±		
第 7-10 天死亡 74%						第 7-10 天死亡 62.3%					

表 4: 不同孳數 (一齡蟲) 感染小白鼠的結果

毒種	死亡情況	1 虱						1 虱										
		2 天		3 天		4 天		2 天		3 天		4 天						
		死亡數	R 量	死亡數	R 量	死亡數	R 量	死亡數	R 量	死亡數	R 量	死亡數	R 量					
L <sub>10</sub>	—	—	4	1.2	1	2.5	—	—	—	—	5	2.6	—	—	—	—		
L <sub>20</sub>	—	—	3	1.6	2	1.0	—	—	—	—	1	1.5	4	1.7	—	4		
L <sub>30</sub>	—	—	—	—	—	5	2.6	—	—	1	2.5	—	—	4	2.6	—	5	
L <sub>40</sub>	—	—	—	—	—	20	4	2.2	—	—	—	—	—	5	2.2	—	—	
L <sub>50</sub>	—	—	1	2.0	2	2.0	2	3.0	—	—	—	—	—	5	3.0	—	—	
L <sub>60</sub>	—	—	1.2	—	—	—	—	—	1	2.0	4	2.0	—	—	—	—	1	
L <sub>70</sub>	1.6	—	26	—	20	—	36	—	3	—	16	—	20	—	60	—	21	
死亡(殺死)小鼠%																		
R 平均量					1.8						2.1							2.5

“註”表內R量均係平均數。

表 5: 接種解剖生產統計表

年 月	I 器 種					II 器 種					
	接種小白鼠數 (個)	解剖小白鼠數 (個)	損 失 數 %	立克次氏 體平均量	接種小白鼠 數 (個)	解剖小白鼠 數 (個)	損 失 數 %	立克次氏 體平均量 (+)			
一	1	6,535	6,500	339	8.2	1.8	—	—	—	—	
	2	8,200	7,669	531	6.6	1.84	—	—	—	—	
	3	14,300	17,754	636	3.5	1.9	—	—	—	—	
	4	15,616	14,035	373	2.4	2.01	10,494	6,600	414	4.2	2.12
九	5	15,052	15,959	301	2.0	1.9	22,855	22,714	650	2.7	1.96
	6	—	—	—	—	—	33,187	29,262	935	3.0	1.95
五	7	15,639	14,922	717	4.6	1.9	4,996	10,755	202	4.0	1.90
	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
四	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	3,564	—	17	0.5	2.27	5,484	200	81	1.5	2.17
	11	10,370	12,251	113	1.5	2.11	10,600	14,427	177	1.7	2.13
	12	21,822	23,098	237	1.1	2.02	21,802	23,817	274	1.3	2.01
	總計	115,248	111,734	3,511			109,408	106,775	2,733		
一	1	18,698	14,124	2,285	1.5	2.15	19,367	15,117	181	0.9	2.09
九	2	21,338	21,650	138	0.6	2.08	21,424	21,424	189	0.9	2.07
	3	24,232	25,275	165	0.7	2.03	24,357	25,295	168	0.7	1.99
五	4	29,913	28,827	336	1.1	1.97	29,006	28,806	310	1.2	1.98
	5	30,653	28,827	327	1.1	2.0	30,880	28,813	422	1.5	2.06
五	6	13,610	18,598	121	0.9	2.05	13,646	8,5112	123	0.9	2.08
	總計	138,441	137,072	1,372			139,439	137,907	1,472		

表 6: 原液檢定結果統計表

批號	I 種 原 液				濃測 結果	批號	II 種 原 液				濃測 結果
	總 量 毫克/100毫升	pH	石 炭 酸 %	濃測 結果			總 量 毫克/100毫升	pH	石 炭 酸 %	濃測 結果	
(54)1	3.459	6.7+	0.071	1:28	(54)1	2.884	6.8+	0.534	1:28		
(54)2	—	—	—	—	(54)2	2.875~3.01	6.7+	0.5344	1:28		
(54)3	—	—	—	—	(54)3	2.48	7.0+	0.47	1:28		
(54)4	2.6139	6.8+	0.41~0.198	1:28	(54)4	2.363	7.0+	0.5195	1:28		
(54)5	2.961	6.8+	0.487	1:28	(54)5	2.377	7.0+	0.4967	1:28		
(54)6	2.121	6.8+	0.4039	1:28	(54)6	2.562	6.9~7.0	0.5	1:28		
(54)7	—	—	0.401	1:28	(54)7	1.115	6.9~7.0	0.5089	1:28		
(54)8	2.7051	6.7	0.4039	1:28	(54)8	2.0926	6.9~7.0	0.5212	1:28		
(54)9	2.705	6.7~6.8	0.4217	1:28	(54)9	2.0644	6.9+	0.5017	1:28		
(54)10	3.4982	6.7	0.4045	1:28	(54)10	2.3592	6.0+	0.5005	1:28		
(54)11	4.0575	6.7	0.4345	1:28	(54)11	2.0624	6.9~7.0	0.5173	1:28		
(54)12	2.5485	6.7+	0.5777	1:28	(54)12	1.809	6.9~7.0	0.5075	1:28		
(54)13	2.3911	6.7+	0.5651	1:28	(54)13	1.6658	7.0+	0.52326	1:28		
(54)14	2.518	7.0+	0.4941	1:28	(54)14	1.6231	7.0+	0.51506	1:28		
(54)15	2.547	7.0+	0.525	1:28	(54)15	1.5661	7.0+	0.50380	1:28		

表 6: 原液檢定結果統計表續上頁

I 種 原 液					II 種 原 液				
批號	總 量 毫克/100毫升	pH	石 礫 酸 %	濃 度 結果	批號	總 量 毫克/100毫升	pH	石 礫 酸 %	濃 度 結果
(54)16	2.700	6.8—7.0	0.518	1:28	(54)16	1.5804	7.0+	0.5034	1:28
(54)17	2.3772	6.9—7.0	0.5177	1:28	(54)17	1.68	7.0+	0.49371	1:28
(54)18	1.8224	7.1+	0.479	1:28	(54)18	—	—	—	1:28
(54)19	2.3706	7.05	0.44148	1:28	(54)19	1.748	7.1+	0.5277	1:28
(54)20	2.0702	7.05	0.12904	1:28	(54)20	2.311—2.3822	7.0-	0.976	1:28
(54)21	1.8336	7.1	0.5227	1:28	(54)21	2.142	7.0-	0.5443	1:28
(54)22	1.48	7.05+ 7.1	0.46819	1:28	(54)22	2.086	7.0-	0.5186	1:28
(54)23	2.217	7.05—7.1	0.489	1:28	(54)23	1.832	7.0-	0.5180	1:28
(42)24	2.354	7.0-	0.511	1:28	(54)24	1.846	7.0	0.561	1:28
(54)25	2.17	7.0	0.511	1:28	(54)25	1.874	7.0—7.05	0.526	1:28
(54)26	1.86	7.0	0.5035	1:28	(54)26	1.917	7.05	0.5345	1:28
(54)27	1.86	7.0	0.513	1:28	(54)27	1.931	—	0.4937	1:28
(54)28	1.959	7.0+	0.5015	1:28	(54)28	1.776	7.0+	0.5425	1:28
(54)29	1.888	7.05	0.4692	1:28	—	—	—	—	—
(54)30	1.748	7.0	0.534	1:28	—	—	—	—	—
1	1.972	7.0	0.4546	1:28	1	1.755	7.0-	0.5185	1:28
2	1.901	6.9+	0.5179	1:28	2	1.789	7.0-	0.5185	1:28
3	1.887	6.95+	0.5469	1:28	3	1.803	6.95	0.5345	1:28
4	1.331	7.1-	0.536	1:28	4	1.114	7.1-	0.535	1:28
5	1.7	7.05	0.506	1:28	5	1.86	7.05	0.557	1:28
6	1.895	7.05	0.522	1:28	6	2.06	7.05	0.58	1:28
7	1.78	7.05	0.565	1:28	7	1.806	7.05	0.537	1:28
8	1.862	7.05	0.512	1:28	8	1.434	7.05	0.525	1:28
9	1.565	7.05	0.509	1:28	9	1.705	7.05	0.51	1:28
10	1.635	7.05	0.481	1:28	10	1.663	7.1-	0.493	1:28
11	1.945	7.05	0.485	1:28	11	1.939	7.05	0.466	1:28
12	1.925	6.95	0.472	1:28	12	1.511	6.95	0.507	1:28
13	1.995	7.05	0.48	1:28	13	1.988	7.05	0.49	1:28
14	1.832	7.05	0.493	1:28	14	1.874	7.05	0.49	1:28
15	1.988	7.05	0.4996	1:28	15	1.142	7.05	0.4928	1:28
16	1.918	7.05	0.483	1:28	16	2.453	7.05	0.496	1:28
17	2.030	7.05	0.495	1:28	17	2.397	7.05	0.491	1:28
18	1.833	7.05	0.483	1:28	18	2.369	7.05	0.501	1:28
19	2.002	7.05	0.4928	1:28	19	2.312	7.05	0.533	1:28
20	1.664	7.05	0.5212	1:28	20	2.414	7.05	0.533	1:28
21	2.023	7.05	0.4906	1:28	21	2.679	7.05	0.5000	1:28
22	2.059	7.05	0.5248	1:28	22	2.199	7.05	0.5216	1:28
23	2.052	7.05	0.5314	1:28	23	2.087	7.05	0.5407	1:28
24	2.143	7.05	0.507	1:28	24	2.482	7.05	0.51	1:28
25	2.129	7.05	0.44	1:28	25	2.143	7.05	0.45	1:28
26	1.743	—	—	1:28	26	2.228	—	—	1:28
27	2.214	—	—	1:28	27	2.369	—	—	1:28

表 6: 原液檢定結果統計表續上頁

B 種 毒 液					D 種 毒 液				
批號	總 量 量 毫克/100毫升	pH	石 碳 酸 %	濃 測 結果	批號	總 量 量 毫克/100毫升	pH	石 碳 酸 %	濃 測 結果
28	2.27	7.0+	0.5109	1:28	28	2.45	7.0+	0.526	1:28
29	2.08	7.0-	0.512	1:28	29	2.24	6.98- 7.0-	0.49	1:28
30	2.13	6.98- 7.0	0.481	1:28	30	2.36	6.98- 7.0-	0.409	1:28
31	2.24	6.9	0.512	1:28	31	2.38	7.0	0.499	1:28
32	2.14	—	—	1:28	32	2.19	—	—	1:28
33	2.03	—	—	1:28	33	2.14	—	—	1:28
34	2.43	—	—	1:28	34	2.41	—	—	1:28

表 7: 疫苗檢定結果統計表

號 批	無菌 試驗	安全 試驗	pH	總 量 量 毫克/100毫升	石 碳 酸 %	効力 試驗	註
1	合格	合格	6.95	1.552	0.47	合格	1. 表和原液係試驗生菌者, 另因
2	合格	合格	6.9	—	0.444—0.462	合格	菌數較多(每個視野平均超過一
3	合格	合格	6.9+	1.9788—1.8366	0.42—0.47	合格	個)故已廢棄。
4	合格	合格	7.1	1.864	0.1555	合格	2. 原液濃度測定結果均為1:28合
5	合格	合格	7.0+	1.6943	0.459	合格	格。將若干批疫苗釋到1:40免疫
6	合格	合格	7.0+	1.45—1.7085	0.46—0.47	合格	小白鼠仍能100%保護。試驗, 其
7	合格	合格	7.0—7.1	1.4949—1.5519	0.4507—0.46348	合格	至釋到1:2800免疫小白鼠仍能100
8	合格	合格	7.1	1.5894—1.6088	0.4142—0.4769	合格	%保護小白鼠, 由此可見, 按蘇聯
9	合格	合格	6.9—7.1	1.4237—1.5946	0.4297—0.4968	合格	法規製備, 疫苗的効價是很高的。
10	合格	合格	7.0—7.05	1.3383—1.3952	0.4674—0.6031	合格	3. 表6所列 pH 總量及碳酸含量
11	合格	合格	6.8—7.1	1.2884	0.45618—0.554	合格	均係本所生化率的測定結果。表7
12	合格	合格	6.9—7.0	1.39—1.48	0.44263—0.48547	合格	所列的 pH 總量及碳酸等項結果係
13	合格	合格	6.9—7.0	1.5302	0.431—0.4975	合格	檢定科報告的結果。
14	合格	合格	6.95—7.1	—	0.43794—0.47391	合格	4. 上述原液內立克次氏體含量平
15	合格	合格	6.8—7.1	—	0.45357—0.45224	合格	均為廿一世除少數批號偶有細菌外
16	合格	合格	6.85—7.0	1.5305	0.46191—0.5	合格	(但是均合法規標準)絕大多數批
17	合格	合格	6.9—7.0	1.5376	0.457—0.4975	合格	號內是沒有細菌的。
18	合格	合格	6.9—7.0	1.4964—1.5884	0.446—0.472	合格	
19	合格	合格	6.85—7.0	1.5088	0.4366—0.468	合格	
20	合格	合格	6.9—7.0	—	0.456—0.475	合格	
21	合格	合格	6.9—7.05	—	0.415—0.4769	合格	
22	合格	合格	6.9+	1.9861	0.45	合格	
23	合格	合格	7.0	1.815	0.42	合格	
24	合格	合格	7.0	1.9861	0.41	合格	
25	合格	合格	7.0	1.881	0.48	合格	
26	合格	合格	7.0	1.438	0.46	合格	
27	合格	合格	7.0	1.4309	0.47	合格	
28	合格	合格	6.9	1.579	0.49	合格	
29	合格	合格	6.9	1.4	0.4+	合格	
30	合格	合格	6.9	1.5	0.4+	合格	

表 7: 疫苗檢定結果統計表續上頁

批 號	無菌 試驗	安全 試驗	pH	總 錫 量	石 碳 酸	効力 試驗	註:
				毫克/100 毫升	%		
31	合格	合格	7.0	1.3	0.1	合格	
32	合格	合格	7.0	1.7	0.45	合格	
33	合格	合格	7.0	1.5	0.4	合格	
34	合格	合格	7.0	1.6	0.5	合格	
35	合格	合格	7.0	1.6	0.509	合格	
36	合格	合格	7.0	1.7	0.5	合格	
37	合格	合格	7.0	1.8	0.4	合格	
38	合格	合格	7.0	1.7	0.4	合格	
39	合格	合格	7.0	1.7	0.4	合格	
40	合格	合格	7.0	1.5	0.480	合格	
41	合格	合格	7.1	1.48	0.419	合格	
42	合格	合格	7.1	1.6	0.41	合格	
43	合格	合格	7.1	1.47	0.5	合格	
44	合格	合格	7.1	1.7	0.5	合格	
45	合格	合格	7.1	1.6	0.47	合格	
46	合格	合格	7.1	1.7	0.49	合格	
47	合格	合格	7.1	1.7	0.47	合格	
48	合格	合格	7.1	1.6	0.46	合格	

## 地方斑疹傷寒毒種分離及鑑定進行情況

毒種數目：#2、#10共兩株。來源：吉林省圖們。

以上兩株於五月中旬帶回大連，在路上係以感染毒的死虱放於冰壺中帶回大連，分兩個工作室進行必要的傳代。因房屋所限工作單綫進行，先集中力量做毒種，接種鼠肺，研磨按蘇聯法規加排髓製成原液後又如以濃縮製成原液 195 毫升亦即診斷用抗原，全部過程在八月中旬完成（自大連傳種至抗原製出止約共三個月）。毒種經補體結合試驗初步鑑定近似人型。此株毒力很低，五次測毒試驗 LD<sub>50</sub>在 1:16—1:32，1:32—1:64 一次準備以後再重新測定。#2毒種已於八月下旬開始免疫家兔六隻，在中途因球蟲病死掉三隻，現正在補注射免疫家兔中。

目前正在進行第二個毒種 #10 的工作，工作才開始（八月中旬）不久，在製備鼠肺及原液階段。

下一步：#10毒種全部結束後，預計在年前完成H毒種抗原及血清工作。1956年春進行地方毒種的最後血清學鑑定，第二季度擬作地方毒種生物學性狀（檢定所的要求）的觀察。

五五年九月五日報告



## 皮膜喂虱法研究總結

曾用鷄、鴨、鵝、兔、豚鼠、鼠及大白鼠進行研究二百餘次。發現：母鷄表皮以及兔和大白鼠的初生乳鼠，表皮皆可用為喂虱的皮膜。剝取皮膜法：將動物泡在 60°C 溫水中半小時後即可褪皮，褪下之表皮涼乾放在鋁製金屬圈上，加塗人的面部油脂，放在兩隻併列的紫外光管下消毒 20 分鐘（兩管之距離約三吋），即可做喂虱血之用。應用此法感染的幼虱，所得之立克次體毒力以及製出的疫苗效力能合乎聯辦法規的要求。

注溫水溫度改 55°C

總結中的幾點說明：

1. 感染幼虱的稀釋懸液改為的 1:400 的依據，幼虱改為一齡虱的依據。

① 主要根據魏所長介紹波蘭文獻，改變稀釋度可使虱死亡延遲，我們根據此情況，曾作不同稀釋度的試驗，結果 1:400 左右為宜，而決定用此稀釋度。

② 幼虱在實際使用中比一齡虱死亡日期早而一齡虱發病較規律些。

2. 改用紫外光消毒皮膜理由

根據研究室的經驗，用紫外光消毒能使皮膜上不存在水漬同時還能達到消毒的目的。用氯水消毒手續比上法複雜皮膜水分也多，使用上不太方便。

3. 毒種傳代的多餘鼠肺，可以應用於生產，考慮我們每年兩個毒種組多餘的有兩萬個左右肺，如能應用生產，約能多生產 20 萬毫升疫苗，給國家積累一筆財富，而此肺皆經毒種總檢合格的，疫苗最後出品亦係各個不同生產批號混成的，因此考慮可以用於生產。

4. 放置毒種和接種組小鼠的冰室溫度，實際在使用時難以控制 12—13°C，經常在 8—13°C 間，所以建議改之。

5. 噴霧消毒用酚改為 3%，較 1% 消毒好些，一般常用皆為 3%。

6. 研磨後經檢查合格之懸液，因經常等批號進行下段（沉澱）工序，在大生產中因待批號最多有 12 天，因此提出最晚不遲於研磨後的 12 天。

7. 關脫纖維血放置時間的問題，

每次使用時，採取新鮮血液較困難，我們曾用過放置壹星期內的脫纖維血，使用與新血無出入。

8. 關於毒種的轉交時間問題

毒種組每多轉交接種解剖組用的毒種，把時間具體規定下來在實驗工作當中有不恰當之處，如有按時供出，接種接種組不能當時使用，再如毒種組為趕時間供出毒種，而不能很好的更細緻的選擇毒種，總而言之，要在不影響接種用的時間內供應出毒種，而時間不應作具體規定。

9. 沉澱上清導引時提議加絹過濾問題

未通過絹濾過的沉澱上清，高速後瓶底組織物較多，而通過絹的上清則無有此現象。

## 斑疹傷寒疫苗人體反應

學習蘇聯法規後，製造的斑疹傷寒疫苗做人體反應觀查，共做兩次：一九五四年及一九五五年各做一次。

1. 人體反應對象，主要以本所職工和基建工人為主，其中有木工、瓦工、木炭工、油工、力工、職員等。

2. 方法：1. 注射量第一次為 0.5 毫升，第二、三次為 1 毫升。每次間隔為七日。

2. 上臂之皮下注射，於注射後18—24小時觀查結果。

3. 反應之判定：

全身反應根據體溫判定

弱反應 體溫不超過 37.5°C 者；

中反應 體溫在 37.6—38.5°C 之間者；

強反應 體溫在 38.6°C 以上者。

局部反應以注射部位紅腫大小判定

弱反應 紅腫不超過 5 公分者

中反應 紅腫在五—十公分者

強反應 紅腫在十公分以上及淋巴綫腫大者。

### 3. 人體反應結果

1. 一九五四年，係用檢定批號 6.10 批(5—4,5—6,5—7)疫苗。結果如下表

類別 反應程度	局部反應		全身反應	
	例數	百分率	例數	百分率
弱反應	48	92.3	50	96.2%
中反應	4	7.7	2	3.8
強反應	—	—	—	—
計	52	100	52	100

3. 一九五四年及一九五五年綜合結果

類別 反應程度	局部反應		全身反應	
	例數	百分率	例數	百分率
弱反應	57	92	60	96.8
中反應	5	8	2	3.2
強反應	—	—	—	—
計	62	100	62	100

2. 一九五五年，係用 27—6, 36—5 批號疫苗。

類別 反應程度	局部反應		全身反應	
	例數	百分率	例數	百分率
弱反應	9	90	10	100
中反應	1	10	—	—
強反應	—	—	—	—
計	10	100	10	100

### 4. 學習法規前人體反應情況

類別 反應程度	局部反應		全身反應	
	例數	百分率	例數	百分率
弱反應	—	—	329	90.2%
中反應	—	—	24	6.5%
強反應	—	—	12	3.3%
計	—	—	365	100%

注：學習法規前沒有做局部反應觀查，故未填寫。

4. 由上述人體反應結果來看，雖然人體反應調查例數不多，但已可看出學習蘇聯法規以後人體反應結果較以前有顯著改善，特別是強反應在60幾人中尚沒有發現。另外疫苗在注射後，當時局部有劇烈疼痛，而學習法規後根本沒有這種反應。

(1) 斑疹傷寒疫苗1—56號耗損量

總數 786.446支

合格數 756.990支

不合格 29.639支

主要耗損原因：1. 髒；2. 有毛毛；3. 有玻璃片；4. 打掉；5. 漏掉（即破漏）等原因。

(2) 檢定中的問題：

1. 測毒時，小白鼠兩小時內死亡問題。雖然次數不多，但有。„II”種幾次都是用死鼠肺時，有這種現象；但„E”種原因不詳。

2. 測毒時毒力很強，但到攻擊時毒力突然下降，倍數有時降2—3倍，對照全部不死。毒種保存和操作沒有改變，這種情形發生過兩次。

3. 攻擊後由於死亡不規律（並不多）結果怎樣判定。

4. 疫苗中絮狀物多少的判定標準問題，怎樣算合格，或不合格。

5. 夏天測毒時，遠心沉澱器內，溫度過高（30°C左右）影響毒力。

關於法規方面的意見：

1. 原液濃度測定中的稀釋倍數 $30 \times 24 \times 28 \times$ ，根據質量情況是否可以不免疫 $20 \times 24 \times$ 。

2. 攻擊時採用測毒某倍數的前後各一倍數，並且對照要採取後二個倍數，是否可以和攻擊一樣，不必做最後一個。

5. 學習法規前與學習法規後人體反應調查比較：

類 別	學習法規前	學習法規後
反應程度		
弱 反 應		96.8%(60/62)
中 反 應		3.2%(2/62)
強 反 應		0%(0/62)

## 關於大連地方分離斑疹傷寒毒種 的研究工作總結報告

### 總 結 提 綱

- ① 分離經過和其流行病學的調查
- ② 動物試驗
  - a. 豚鼠
  - b. 大白鼠
  - c. 小白鼠
  - d. 衣蠹
  - e. 家兔
- ③ II 毒種的血清學
  - a. 凝集試驗
  - b. 補體結合試驗
  - (1) 免疫動物之血清 (家兔、豚鼠)
  - (2) 原患者恢復期血清 (病後一年)
  - (3) 病人恢復期血清 (北京)
  - c. 吸收試驗
- ④ 提高毒種的毒力以除去雜菌的試驗:
  - a. 豚鼠交替傳代法
  - b. Зротоваий 家兔法
  - c. 小鼠腦法
  - d. 關於小桿菌問題的研究:
    - (1) 在小鼠肺內分佈的情況
    - (2) 對動物的致病性,
    - (3) 毒力試驗,
    - (4) 鑑別。
- ⑤ 討論。
- ⑥ 結論。

由於在斑疹傷寒疫苗的製造上，存在着很嚴重地問題；不僅各所採用的製造方法極不統一，各行其是，而且所用的毒種也大多未經檢定即參加生產，如同中央生物製品研究所採用了 10 個沒有經過檢定的毒種，同時進行生產，以致混淆不清，因而所生產的疫苗就效力低，反應高，嚴重地影響了軍民健康。為此中央衛生部於 1953 年 8 月在中央檢定所召集了北京、上海、大連三所負責製造斑疹傷寒疫苗的同志，學習蘇聯製造和檢定斑疹傷寒疫苗的法規，以期從根本上解決這些問題。在 8 月的會議上決定集中各

所人員成立斑疹傷寒疫苗蘇聯法規學習班於大連所進行實習工作，並初步的規定生產疫苗用蘇聯人型毒種和大連所在旅大分離的地方種 H 毒種。

1953年10月5日斑疹傷寒疫苗蘇聯法規學習班開始工作，按照蘇聯法規試製小量疫苗，到同年的12月底，這項工作在基本上勝利完成，證實了按照蘇聯法規所生產的疫苗效力是高的；含氮量比過去大連所製的疫苗要低10倍；（雖然這還不够蘇聯的標準），福馬林的含量，也比各所過去所製疫苗低，因此反應自然就會小。事實駁斥了有些人開始實習時所抱的如“0.03 毫升免疫一次不行，含氮量能到那麼低嗎？”以及對皮膜喂蟲法無信心的各種想法和懷疑態度，這是一方面。另一方面，在試製疫苗的過程中發現毒種的毒力不高，滴定毒力時小鼠死亡很不規律。以大白鼠肺和1953年9月30日，4月25日乾燥的毒種，通過蟲體時，虱子大批死亡，並且發現是由於雜菌致死，其中有些雜菌，染色、形態、大小和立克次體很難區別，以致在供應生產的毒種時發生了很大的困難。同時 H 毒種自分離後除去動物試驗外，並未經血清學定型，如果用來做為全國生產用的毒種，還應當做血清學的鑑別。因此，為了進一步整理 H 毒種，提高它的毒力，除去雜菌，鑑定型別，而最後確定其能否參加生產，由四所各派人員參加，於53年成立了研究小組，此外根據蘇聯專家的提議，在將來生產斑疹傷寒疫苗時應加入“Π”毒種，所以打開蘇聯“Π”種傳代也列為研究小組的任務之一。在研究小組三個多月的工作中，為了解決以上的問題，按照計劃曾進行了一系列的試驗，並整理了有關的材料，除去有關“Π”種的工作已另有報告外，現將有關毒種的工作情況，結果報告如下：

#### ① H 毒種的分離經過和其流行病學的調查：

##### A, H 毒種的分離經過：

大連所斑疹傷寒疫苗室在1952年第二季度完成生產任務後，所有毒種只以雞胚傳代保存，不作動物傳代，雞胚一星期傳一代，有一次工作同志把原來的鼠肺種（C種）感染雞胚後將雞胚放於普通冰箱內十數日，俟再感染雞胚時已不能傳出，因此把鼠肺種丟掉了。到52年底準備53年生產的時候，根據蘇聯專家的提議，以鼠肺生產斑疹傷寒疫苗為佳。但大連所的鼠肺毒種丟掉了，當時所保存的Wilmington, Mexico, Cairo, 和Brien種又都不能適應於鼠肺，這樣，大連所曾兩度派人至北京取適應鼠肺的毒種，北京也沒有。因此大連所乃就地聯繫本市各醫院，分離新毒種。曾分離2例，但只有1例成功，即H毒種。H毒種的分離經過如下：

H 毒種是於1952年11月27日自旅大傳染病醫院一個患者身上分離的。患者郭連超，男性，53歲土著農民。根據旅大傳染病醫院病誌的記載，其病程為：11月16日突然發燒，有感冒感，不能起床，全身不適，11月26日入院治療，入院第2日抽血化驗外斐氏反應為1/640，主要症狀為意識不清，譫語，結膜充血、口乾、耳聾，皮膚疹形大，散在性多處，分佈於軀體，上肢，下肢不明顯。12月12日病愈出院。（原病誌抄件見附錄1），開始分離毒種係於發病後第11天，即病人入院的第2天，取患者靜脈血10毫升，加1毫升2%的滅菌枸橼酸鈉溶液，以之注射豚鼠兩只，大白鼠一只，豚鼠每只注射患者血液3毫升於腹腔同時注射0.6毫升於辜丸，大白鼠則注射3.5毫升於腹腔，同時注射0.5毫升於辜丸。注射後的豚鼠經過8—10天的潛伏期體溫發熱至40.4°C左右，體重降低，辜丸紅腫，於發熱第二天，取出辜丸塗片檢查未發現立克次體；於是將豚鼠血液再傳第

二代豚鼠，經3天的潛伏期，發熱至 $40.5^{\circ}\text{C}$ 左右，辜丸紅腫，體重降低，於發熱第四天檢查辜丸鞘膜，發現許多細胞內立克次體。注射後的大白鼠經過5天的潛伏期，第6天發熱到 $39.6^{\circ}\text{C}$ ，並有眼膜炎，至次日體溫降低至 $39^{\circ}\text{C}$ 時，以無菌手續，取出辜丸，製成1/10的生理鹽水懸液，注射3毫升於大白鼠腹腔，並用辜丸鞘膜塗片，以Giemsa染色鏡檢，未發現立克次體，第2代的大白鼠於注射後第6天體溫發熱至 $39.4^{\circ}\text{C}$ 第7天體溫降至 $37.8^{\circ}\text{C}$ ，經解剖，取出辜丸，以辜丸鞘膜塗片鏡檢發現很多立克次體，立即製成1:10的辜丸生理鹽水懸液，繼續用大白鼠傳代保存，另外用此懸液經鼻感染小鼠10只，為適應鼠肺後進行生產用，如此傳代數次，至第3代傳至大鼠，立克次體發育很好，亦未污染雜菌，於是就用它於1953年1月1日用此代大鼠肺，開始進行生產斑疹傷寒疫苗。

血清學反應：用第三代的大白鼠辜丸1:10的懸液，注射2毫升於家兔辜丸內，注射後第三天辜丸開始紅腫，第5天取辜丸鞘膜塗片發現立克次體，第10天將家兔放血殺死，用其血清做外斐氏反應，結果外斐氏反應對OX19為1/100。

#### B. II 毒種的流行病學調查：

斑疹傷寒疫苗籌辦法規學習班成立以後，為了進一步了解毒種的流行病學，曾先後於53年11月中旬至旅大傳染病醫院查看了病誌，到旅大市營城子區政府衛生股和原病人處做了訪問，並抽取了原患者的血清，根據營城子區衛生股的資料，當時在營城子區郭家溝一帶並未發現其他類似的患者。根據患者的家屬講只在郭連超發病月餘，該村村長曾發高熱，但並未入院，亦無確診，此後也未發現同樣的患者。郭連超是當地的土著農民，除去偶而至大連市區以外，並未到過其他地方，所了解的其他問題與傳染病醫院所載相符。無大區別，如此可以說該病是散在性的，偶發的斑疹傷寒。所採原患者恢復期血清亦經做了補體結合試驗，其結果見II毒種的血清學一項。

#### ② 動物試驗：

a. H 毒種在海豬體內發育情況：將含立克次體[卅]號的小鼠肺稀釋成1:30的懸液，注射0.5毫升於豚鼠腹腔內，於第四、五日發熱至 $40^{\circ}\text{C}$ 以上，辜丸腫大，在辜丸鞘膜塗片中，可以見到細胞內立克次體。

b. H 毒種在大白鼠體內的發育情況：曾用兩種方法感染大白鼠，一為鼻腔感染，一為腹腔感染，前者所用材料皆為小白鼠肺，以1:2(1鼠肺+6毫升生理鹽水)之稀釋度接種1毫升，三天後發病，死時解剖鼠肺，塗片立克次氏體發育良好。後者除小白鼠肺外曾用其他材料，其結果見下表：

C. H 毒種在小白鼠體內的發育情況：H 毒種曾長期適應於小白鼠體內，除於分離時外從未傳至小白鼠，此次曾先後分別以大白鼠肺材料，病鼠材料以及曾通過蟲體的鼠肺材料感染小白鼠，茲將其結果分述如下：

(1) 大白鼠肺材料：1953年10月23日將大連所正在傳代的含立克次體[卅]號的大白鼠肺按1:1的濃度經鼻腔感染小鼠，每只滴量約0.05—0.1毫升，於第8日發病，以後連續小鼠傳代5次，每次皆可見立克次體於小鼠肺的發育，但有雜菌混染，且一代比一代的污染率高，如以HM I 代表小鼠代數(I代表1代，以此類推)將每次傳代小鼠污染個數算出百分數，則其污染率為HM I =10%，HM II =25% HM III =50%，

動物種類	接種日期	接種材料	注射途徑	稀釋倍數	注射量	接種後第幾天發熱	連續發熱天數	第幾天死亡	鏡檢結果				附註
									腹膜	肺	脾	腦	
大白鼠	9.11	豚鼠乳劑	腹腔	20	0.5ML	5	—	—	R-⊖	R卅, ⊖	R卅, ⊖	R-	第6天殺
”	14.11	豚鼠肺膜	”	20	0.5ML	4	4	8		R卅, ⊖	R卅, ⊖	R-, ⊖	
”	20.11	豚鼠腦	”	10	1ML	6	—	—		R卅, ⊖	R卅, ⊖		第7天殺
”	2.11	小鼠肺	”	10	0.5ML	—	—	2	R+	R+	R+		
”	2.11	”	”	10	0.5ML	—	—	2	R+	R+	R+		
”	22.11	”	”	20	1ML	—	—	2	R+	R+	R+		
”	27.11	”	”	10	1ML	3	1	3	R+, ⊖	R-			

HMIV = 66.67%, HMV = 93.33%。(詳見第①項)。

② 病蟲材料：所用病蟲來源不一，有的是由大白鼠肺傳來的有的是由小鼠肺傳來的，有的是以大白鼠腦傳來的，但其立克次體含量則皆選擇鏡檢時為“卅”號的，濃度一般都用一個病蟲滴一只小鼠，其結果大部於第三日發病，第四日死亡到第五日不發病的很少。以病蟲材料感染的小鼠，很少發現雜菌混染的現象。

③ 小鼠肺材料：所用小鼠肺材料除①項中所述外，都為通過蟲體者。感染時所用稀釋度預先做滴定，選擇發病率高，死亡規律，立克次體發育良好的稀釋度傳代，一般是1:3 (1鼠肺加9毫升鹽水)。小鼠發病的情況與第(2)項相似。

此外我們曾做了將新鮮蟲種冷藏一個時期後再滴鼻的試驗，其結果見下表：

材料	蟲種號	冷藏溫度	溫度時間	滴鼻稀釋度	滴鼻鼠數	死亡、發病情況	鏡檢結果(平均)	附註
小鼠肺	H- $\frac{2}{B}$ -11	-7°C	10天	1:1	15	72小時死亡10只 96小時死5只	R卅	
病蟲	H- $\frac{2}{A}$	4°C	11天	1鼠-1鼠	5	72小時發病	R卅	

由上表結果可見鼠肺於-7°C保藏10天尚不失去感染力，病蟲放4°C11天尚好。

D. H 毒種在蟲(衣蟲)體內發育的情況：感染蟲子曾用四種不同的材料，立克次體發育良好的小白鼠肺大白鼠肺，家兔肺和蟲子二種方法：Weigl氏蟲缸注射法和皮膜感染法一般所用稀釋度如為小鼠肺和大鼠肺則經常為0.3克加90毫升生理鹽水，沉澱15.00轉，30分鐘後。取上清經蟲缸(家兔肺之稀釋度與此同，蟲傳蟲所用濃度為2-4蟲加1毫升生理鹽水)。注射。用皮膜感染時，則於1毫升脫纖維入血內加3滴1:1的鼠肺懸液，蟲子經感染後大多於第5天起發病，第11天死光。經感染的蟲子發病時大部皆發紅但也有不發紅而含立克次體相當豐富的，此現象與波蘭學者 Krynski氏所述相同(Krynski氏認為此現象係由於蟲子神經中樞麻痺因而不能吸血所致)，在感染後不發病的蟲子當中，我們也曾發現帶有大量立克次體的活潑的蟲子。

此外我們以大鼠腦感染蟲子一次，稀釋度為1/20(按重量)，結果於第9天發病，第12天死光。發病較晚，可能為感染材料含立克次體較少的緣故。

註：以上所述之鏡檢結果，皆為用 Macchiavello 氏及 Giemsa 氏染色法染色觀察者。

c. H 毒種在家兔體內發育的情況：根據 Здродовский 氏的方法將家兔用 10% 的 Luminal 麻醉，以降低其體溫，然後經氣管注射 5 毫升 1/10 的鼠肺懸液，於第三天解剖，可見肺部的肺是肝性病變，塗片鏡檢有大量立克次體。

③ H 毒種的血清學

a. 凝集試驗。

(1) 材料和方法：凝集試驗所採之方法係根據蘇聯法規，惟所用抗原之稀釋度較高，每毫升約含 1 億菌體。其抗原及血清之製備方法如下：

1. 抗原之製備：將按照蘇聯法規所製出的 B (第 4 批) 及 H (第 6 批) 原液又重新沉澱，先低速 1500 轉 5 分鐘，棄沉渣，取上清，再以高速 4000 轉沉澱 2 小時，棄上清，將沉渣加含 0.2% 福馬林的生理鹽水，約為原量 1/3，又高速 4000 轉 2 小時，棄上清於沉渣中加原量 1/5 的含 0.2% 福馬林生理鹽水。即成濃縮抗原。

2. 免疫血清之製備：為了避免免疫材料中的非特异性部份所產生的抗體過多，除了把抗原盡量洗滌精製外，還採用了病鼠材料免疫，以期減少由於將來以鼠肺抗原和‘抗鼠肺抗原血清’作血清試驗時的非特异性反應。免疫方法共三種，所用免疫材料則為兩種：

(一) 將 B 及 H 濃縮抗原以生理鹽水稀釋 5 倍，各免疫家兔 2 隻其法如下表：

日期	次數	抗原種類	動物標記	免疫途徑	注射量	附註
54, 3/ I	1	H	黃頭、黃尾	皮下	1 毫升	
54, 4/ I	1	B	紅耳、雙紅耳	”	”	
54, 10/ I	2	H	黃頭、黃尾	腹腔	”	
54, 11/ I	2	B	紅耳、雙紅耳	”	”	
54, 12/ I	3	H	黃頭、黃尾	靜脈	”	
54, 13/ I	3	B	紅耳、雙紅耳	”	”	

(二) 以 B 及 H 立克次體感染的病鼠加生理鹽水及石英砂研碎，低速沉澱 1500 轉 3 分鐘，棄沉渣，取上清注射家兔各 2 隻，原定免疫 3 次，但因第 3 次注射一週後試血

日期	次數	毒種(株數)	動物標記	途徑	注射量	立克次體量
54, 3/ I	1	H 5	黃耳、雙黃耳	皮下	0.5 毫升	R 卅
54, 4/ I	1	B 5	紅頭、紅尾	”	”	R +
54, 10/ I	2	H 10	黃耳、雙黃耳	”	0.7 毫升	未檢查
54, 11/ I	2	B 10	紅頭、紅尾	”	”	”
54, 17/ I	3	H 20	黃耳、雙黃耳	”	1.2 毫升	”
54, 18/ I	3	B 20	紅頭、紅尾	”	”	”
54, 30/ I	4	H 10	黃耳、雙黃耳	靜脈	1 毫升	R 卅
54, 30/ I	4	B 10	紅頭、紅尾	”	”	R +



效價不高，故又免疫一次。

(三) 同(二)法，但注射途徑家兔耳丸，各免疫一只家兔。

日期	次數	毒種(編號)	動物標記	免疫途徑	注射量	立克次體量
54, 3/1	1	H 10	黃 背	耳丸(兩側)	0.7 毫升	R +
54, 4/1	1	B 10	紅 背	耳丸(一側)	"	R +

注: 1. 黃色代表 H, 紅色代表 B。

2. 免疫前, 每只家兔皆試血, 免疫後採血前每只家兔皆試血其結果見表 I。

3. H 原患者恢復期血清: 係於 1953 年 11 月中旬至原病人處抽取者。

(2) 試驗結果: 凝集試驗前後共做三次, 結果見下表:

動物種類	動物標記	血 清	第 一 次	第 二 次	第 三 次
家 兔	黃 尾	H 疫苗血清	H 1280 (3) 80 (2)	H 640 (2) 40 (2)	H 320 (3) 80 (4)
	紅 耳	B 疫苗血清	H 20 (3) 320 (4)	H 20 (3) 80 (4)	H 20 (3) 160 (2)
"	雙 黃 耳	H 蟲血清	H 320 (3) 40 (2)	H 320 (2) 40 (2)	H 320 (3) —
"	紅 尾	B 蟲血清	H — 80 (3)	H 20 (2) 40 (2)	H 20 (3) 160 (4)
"	黃 背	H 蟲耳丸血清	H 641 (3) 80 (2)	H 320 (2) 70 (2)	H 1280 (4) 80 (4)
"	紅 背	B 蟲耳丸血清	H 80 (2) 320 (2)	H 40 (3) 80 (2)	H 80 (2) 160 (2)
H 原 患 者 血 清			H —		

原患者恢復期血清凝集試驗係自 1/5 開始, 因血清不多, 故只做了一次。其他血清則皆自 1/10 開始。由原患者恢復期血清之凝集試驗結果中可以看出其血清中的凝集抗體已經消失。

b. 補體結合反應試驗:

(1) 材料方法: 所用方法係根據蘇聯法規全量為 1.25 毫升, 所用材料抗原及免疫血清之製備與凝集試驗同。惟曾用由中央生物製品研究所取得之 M (據云係鼠型) 抗原和血清做對照, 及增加了 B 與 H 抗原免疫的豚鼠血清 (免疫方法係根據舊法規)。

(2) 試驗結果: 補體結合試驗按蘇聯方法者曾做三次, 結果詳見表 II, 由結果中可以看出 B 與 H 有顯著的區別, 此點與凝集試驗結果相同, M 則與 B 接近。B 種為蘇聯贈送我國的人型毒種, 且為新打開者當無問題, 所以可以肯定不是人型毒種。此外由 H 抗原與原患者恢復期血清從做的補體結合試驗結果看來, H 並未與其他毒種相混, 因為大連所自 1952 年底以後所保存傳代的立克次體毒種只有人型的幾種並無其他鼠型毒種。至於 M, 則據上海的同志講, 他們在 53 年生產疫苗時, H 和 M 是同時進行接種小鼠的, 也並未隔離操作, 所以很可能是和人型相混了。但是否如此或有其他原因, 尚須做進一步的研究。

表 II

動物種類	動物標記	血清	免疫前試血	採血前試血	第一次	第二次	第三次
家 兔	黃 頭	H 疫苗血清	H 5 (-) B 5 (+)	H 1280 (4)	H 5120 (3) B 320 (3) M 320	H 1280 (3) B 640 (2)	H 5120 (3) B 320 (3)
"	黃 尾	"	H 5 (2) B 5 (-)	H 1280 (3)	H 640 (4) B 40 (3)	H 2500 (2) B 80 (2)	
"	雙 紅 耳	B 疫苗血清	H 5 (+) B 5 (-)	B 1280 (4)	H 1280 (2) B 1280 (4) M 1280 (4)	H 320 (3) B 1280 (4)	H 1280 (3) B 2560 (3)
"	紅 耳	"	H 5 (2) B 5 (+)	B 320 (2)	H - B 320 (3)	H 40 (2) B 320 (4)	
"	黃 耳	H 風血清	H 5 (+) B 5 (-)	H 256 (3)	H 2560 (2) B 160 (2)	H 2560 (2) B 320 (3)	H 5120 (3) B 320 (2)
"	雙 紅 耳	"	H 5 (2) B 5 (-)	H 2560 (2)	H 2560 (2) B -	H 2560 (2) B -	H 2560 (2) B -
"	紅 頭	B 風血清	H 5 (-) B 5 (2)	B 160 (3)	H 20 (2) B 160 (3)	H 80 (2) B 640 (3)	H 80 (3) B 640 (3)
"	紅 尾	"	H 5 (+) B 5 (2)	B 640 (4)	H - B 610 (4)	H 40 (2) B 320 (4)	H 320 (2) B 320 (4)
"	黃 背	H 風腺丸血清	H 5 (+) B 5 (-)	H 1280 (3)	H 5120 (2) B 80 (2) M 640 (4)	H 1280 (3) B 80 (3)	H 5120 (2) B 80 (2)
"	紅 背	B 風腺丸血清	H 10 (+) B 5 (-)	B 640 (2)	H 80 (2) B 80 (4) M 640 (4)	H - B 80 (4)	H - B 100 (1)
原 患 者	恢 復 期	血清			H 640 (2) B - M 10 (4)	H 80 (4) B -	H 320 (2) B -
豚 鼠	"	M			H 160 (2) B 160 (3) M 160 (4)	H - B 160 (4)	
"	B <sub>1</sub>	B 疫苗血清			B 80 (2) H 20 (2)		
"	B <sub>2</sub>	"			B 40 (4) H 10 (2)		
"	H <sub>1</sub>	H 疫苗血清			H 160 (2) B 5(+)		
"	H <sub>2</sub>	H 疫苗血清			H 160 (2) B 10(+)		
"	H <sub>3</sub>	"			H 10 (4) B -		
"	H <sub>4</sub>	"			H 80 (2) B -		

(注) 1. 海狗血清和原患者恢復期血清皆自 1/5 稀釋開始。

2. 家兔血清除個別情況外皆自 1/40 稀釋開始。

3. 各項對照無誤

此外，與研究小組工作的同時，在北京中央生物製品研究所的斑疹傷寒室曾以 H 和 B 抗原對北京的患者血清做了補體結合試驗，其結果見附錄。

c. 吸收試驗：吸收試驗前後共做二次，雖然 Craigie 氏於 1946 年曾發表過做此試驗的方法，但因未找到原文獻，所以就根據做因子血清的辦法試做一下，同時考慮到凝集抗體與補體結合抗體可能不一致，因此做了兩組，一組吸收時加補體，一組吸收時不加補體。為了證實這一點，兩組血清都互相交替做了凝集試驗和補體結合試驗。

(1) 材料和方法：用 B 及 H 濃縮抗原加 H 等量 B (B 疫苗血清—雙紅耳) 和 H (H 血清—雙黃耳) 1/5 稀釋的家兔免疫血清，交叉吸收，其法如下：

- 第一次：(第一組)
1. 抗原 1 毫升 + B 血清 (1/5) 1 毫升 (B<sub>1</sub>)
  2. 抗原 1 毫升 + H 血清 (1/5) 1 毫升 (H<sub>1</sub>)
  3. H 抗原 1 毫升 + 血清 (1/5) 1 毫升 (B<sub>2</sub>)
  4. 抗原 1 毫升 + H 血清 (1/5) 1 毫升 (H<sub>1</sub>)

搖勻後放冰箱中過夜，然後高速 4000 轉 2 小時棄沉渣，取上清，做立克次體凝集試驗和補體結合試驗。

- (第二組)
1. 抗原 1 毫升 + B 血清 (1/5) 1 毫升 + 補體(1/10)1 毫升 (B<sub>3</sub>)
  2. 抗原 1 毫升 + H 血清 (1/5) 1 毫升 + 補體(1/10)1 毫升 (H<sub>4</sub>)
  3. H 抗原 1 毫升 + B 血清 (1/5) 1 毫升 + 補體(1/10)1 毫升 (B<sub>4</sub>)
  4. 抗原 1 毫升 + H 血清 (1/5) 1 毫升 + 補體(1/10) 1 毫升 (H<sub>8</sub>)

搖勻後放 37°C 水箱中結合吸收 1 小時，然後高速 4000 轉 2 小時，棄沉渣取上清，做立克次體凝集試驗和補體結合試驗。

第二次：方法同第一次，但所用 H 血清則換以黃耳，因其對 B 抗原之交叉現象較大，另外將原抗原又濃縮 4 倍，因第一次以 B 抗原吸收的一組結果不好，可能為抗原的濃度不夠所致。

### (2) 試驗結果：

第一次：(第一組)：吸收後之血清做交叉凝集試驗，其結果如下：

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	血清對照
H <sub>1</sub> H	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
H <sub>1</sub> H	4	4	3	2	+	+	—
B	—	—	—	—	—	—	—
H <sub>1</sub> H	4	3	—	—	—	—	—
B	4	4	4	4	3	2	—
B <sub>2</sub> H	+	—	—	—	—	—	—
B	4	4	3	3	4	4	—

吸收後血清作交叉補體結合試驗之結果如下：

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	血清對照
H <sub>1</sub> H	±	±	—	—	—	—	—
B	±	—	—	—	—	—	—

H <sub>2</sub> H	4	4	4	3	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
B <sub>1</sub> H	2	—	—	—	—	—	—
B <sub>2</sub>	4	4	4	+	—	—	—
B <sub>2</sub> H	—	—	—	—	—	—	—
B	4	4	4	4	+	—	—

(第二組)：吸收後之血清做交叉補體結合試驗，其結果如下：

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	血清對照
H <sub>3</sub> H	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
H <sub>4</sub> H	—	—	—	—	—	—	—
B	4	4	4	4	—	—	—
B <sub>3</sub> H	4	4	4	2	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
B <sub>1</sub> H	+	—	—	—	—	—	—
B	4	4	4	—	—	—	—

吸收後之血清做交叉凝集試驗，其結果如下：

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	血清對照
H <sub>3</sub> H	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	+	—	—	—	—
H <sub>4</sub> H	—	—	—	—	—	—	—
B	4	4	4	4	4	±	—
B <sub>3</sub> H	3	2	+	+	—	—	—
B	3	3	4	4	2	2	—
B <sub>1</sub> H	4	4	3	3	+	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

第二次：(第一組)交叉凝集試驗的結果如下：

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	血清對照
H <sub>1</sub> H	4	4	4	4	3	+	—
B	+	+	+	+	—	—	—
H <sub>2</sub> H	4	4	4	4	4	2	—
B	+	+	±	±	—	—	—
B <sub>1</sub> H	+	—	—	±	—	—	—
B	4	4	4	3	+	+	—
B <sub>2</sub> H	2	2	±	—	—	—	—
B	4	4	4	4	4	3	—

補體結合試驗結果如下：

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	血清對照
H <sub>1</sub> H	4	4	4	4	2	+	-
B	2	+	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> H	4	4	4	4	4	2	-
B	+	-	-	-	-	-	-
B <sub>1</sub> H	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-
B <sub>2</sub> H	-	-	-	-	-	-	-
B	4	4	4	4	4	±	-

(第二組) 交叉凝集試驗結果如下:

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/130	血清對照
H <sub>3</sub> H	4	4	4	3	-	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>4</sub> H	4	4	4	3	+	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-
B <sub>3</sub> H	-	-	-	-	-	-	-
B	±	±	±	±	-	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-
B <sub>4</sub> H	4	4	4	4	4	2	-

補體結合試驗結果如下:

	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/130	血清對照
H <sub>5</sub> H	4	4	4	3	+	±	±
B	-	±	-	-	-	-	-
H <sub>6</sub> H	4	4	4	4	3	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>7</sub> H	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	±	-	-	-
B <sub>5</sub> H	-	-	-	-	-	-	-
B	4	4	4	4	±	±	-

“±” 其他對照無誤。

根據文獻記載，凝集抗體與補體結合抗體並非一致，此次試驗除第一次第二組之結果能看出二者有區別外，其他各組並無區別，因此關於此一問題尚須做進一步的研究。但由結果中却可看出 H 血清中的成份多，吸收時以抗原可以將其吸收，但用 B 抗原則不行，只能吸收一小部份，反過來也一樣。由此可以證明 H 和 B 在抗原成份上有顯著的不同，並非一型。

從試驗中也得出一些經驗，如吸收之能否完全與抗原的濃度很有關係（相對的，自然與血清中的效價高低也有關係。如在第一次吸收試驗中以 B 抗原吸收的失敗，第二次將 B 抗原濃縮後即成功（同一血清 2 次皆同），而第一次吸收成功的 H 抗原，第二次

則失敗，因為在第二次換用了 L<sub>1</sub>H 交叉較多的 H 血清（血清內含抗體多）但抗原却未濃縮，所以結果失敗。

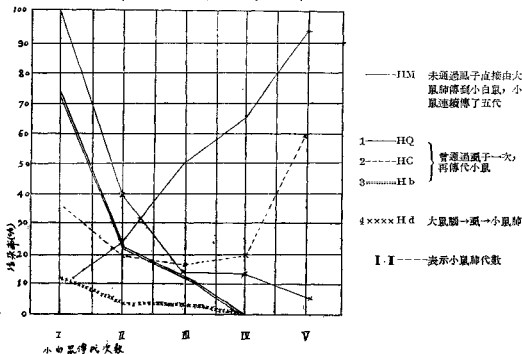
在以上各項試驗中，可以看出以 H 毒種免疫的血清效價較高，而 B 則較低，這可能與原材料的立克次體含量有關（由免疫血清之製備項內之第二項表中可以看到 B 材料較 H 材料所含立克次體為少）。

③ 提高 H 毒種的毒力以除去雜菌的試驗。

H 毒種最初以大白鼠肺和乾燥毒種通過蟲體和小鼠時，發生了很嚴重的染菌問題，影響了對生產毒種的供應，在蟲體上的污染情況，由下表中可以看出：

感染材料	毒種號	毒種來源	稀釋度	種風數	逐日死亡和立克次體發育情況										
					第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天	第七天	第八天	第九天	第十天	第十一天
I. 鼠肺種風	IIa 1.1	M4 19 10	1:32		0	4	12+	13+	5+	2	0	1	2		
	IIa 1.2	"	1:16		2	8	15+	14+	9+	9+	2	1			
	IIa 1.5	IIM5.4 24, 10R 升	1:20		2	5R	21R+	8R+	12R+	7R+	3R+				
	Ha 1.3	M1, 22 10	1:20		4	3	36+	11+	2	0					
II. 乾燥安瓶種風	IIa 1.8	乾燥毒種 80/9	1:30		0	9	3	5+	6R+	5R1+	8R+	3R-	12	5	3

表四、通過雜菌後與未通過雜菌之小鼠傳代污染率比較表

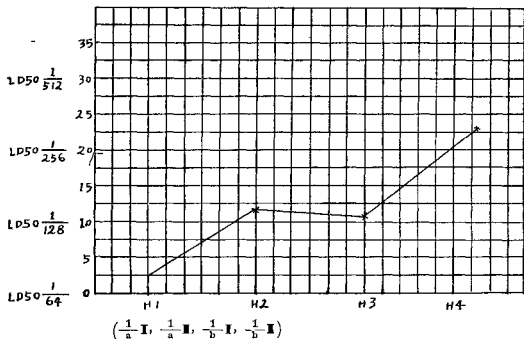


(註) 1. 稀釋度中之 1:32 係指按 1 鼠肺加 3 毫升生理鹽水。以下類推 2. “+” 代表雜菌污染。

通過蟲體一代以後的 H 毒種雖然也有雜菌污染，但情況好多了，這可以從表 III 中看出，如表 III 所示，未通過蟲體的一綫雜菌污染率是一代比一代高，而其他各綫則不這樣。只有其中的第一、二、綫在第一代小鼠污染率高但這可能和接種的小鼠量有關，此二綫於第 II 代時都只種了 4 隻小鼠，所以其統計結果可能不够準確。

以大白鼠肺傳至小鼠後的染菌情況見表 III，這些雜菌，其中有的無論在形態，大小，染色上都很難和立克次體區分，因此就產生了一個很實際的問題，怎樣區別它們和怎樣除掉雜菌？爲了分離純的立克次體；曾經用雞胎，組織培養；通過海豬以後接種大鼠腹腔再取出辜丸傳至蟲體，用大鼠脾臟接種大鼠腹腔後取辜丸再傳大鼠。然後取腦等

表 IV H 毒種經鼠交替傳代數次後毒力提高情況

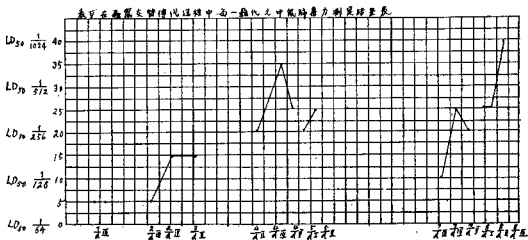


- 註：(1) H1, H2, ……等代表 H 毒種通過一次、二次……蟲子  
 (2) 每一蟲子代間的小鼠肺測毒有三次或四次這表所示的點是數次測毒的平均數 H1=2.5 H2=13.7 H3=11.7 H4=25.6  
 (3) 每一蟲子代間的小鼠肺測毒具體次數和 LD50 在另表中記載。  
 (4) 縱座標代表 LD50 的增減：

$LD_{50} \frac{1}{64} = 0$	$LD_{50} \frac{1}{256} = 20$
$2LD_{50} \frac{1}{64} = 5$	$2LD_{50} \frac{1}{256} = 25$
$LD_{50} \frac{1}{128} = 10$	$LD_{50} \frac{1}{512} = 30$
$2LD_{50} \frac{1}{128} = 15$	$2LD_{50} \frac{1}{512} = 35$

辦法。這些方法都能夠分離出純淨的立克次體來，但是傳至小鼠後在初時却常發生污染雜菌毒力測定時死亡不規律的現象，雜菌從那裡來的呢？有以下幾個揣測根據波蘭 Weigl 氏實驗室發表的文獻記載，立克次體可能會變成細菌②小白鼠帶菌因此會於健康小鼠肺內進行了分離雜菌的工作（其結果見關於小桿菌的研究一項）但是這個問題的解決還是在蘇聯專家介紹了蘇聯的文獻“立克次體和立克次體病”一書以後。在該書上 Зародовский 氏指出小白鼠的染菌問題在生產斑疹傷寒疫苗時確是一個困難，小白鼠之所以染菌是因為毒種的毒力不高造成細菌性的續發性感染所致，並且，敘述了除去雜菌的方法。根據 Зародовский 氏的說法雜菌問題實際上也是毒力問題，這說法是符合前面所述的一些情況的，為此我們就進行了以下的提高 H 毒種毒力以除去雜菌的試驗。

蚤鼠交替傳代法：蚤 1 代小鼠 5 代的交替傳代可以維持毒種的高度毒力已見斑疹傷寒疫苗蘇聯法規，如表 III 所示，它實際上也是除去雜菌的一個好方法，根據這個啓示，我們以蚤一代小鼠一代的方法進行了 H 毒種的提高毒力工作，因為若是用蚤單傳，則根據波蘭文獻所記，久之則毒種會趨向於第三型（毒力減弱）同時若老在一個宿主上速傳，則再傳至小鼠時恐也會不能立即適應，而蚤 1 代，鼠 5 代的方法可能只是維持毒力而不能提高，因此決定採用此法。如此蚤鼠交替連傳 4 次後毒力由最初的無結果（死亡不規律一皆在 2 小時內死亡）上升至 1/256 2 個 LD50 結果見表 IX，此後更提高毒力到 1/1024 1 個 LD50，結果見表 VI 所用毒種來源為前述之由大鼠腦傳來者，以下皆同。蚤傳鼠，鼠傳蚤的稀釋度見動物試驗項內）。



註 1.  $\frac{1}{d}$  共測定兩次毒力，皆全部於兩小時前死亡，故無結果  
 2.  $\frac{n}{d}$  代鼠未傳小鼠，即直接傳至  $\frac{r}{d}$  代鼠故未測定毒力。

縱座標示 LD50 的增減，

$LD_{50} \frac{1}{64} = 0$	$LD_{50} \frac{1}{256} = 20$	$LD_{50} \frac{1}{1024} = 40$
$2LD_{50} \frac{1}{64} = 5$	$2LD_{50} \frac{1}{256} = 25$	$2LD_{50} \frac{1}{1024} = 45$
$LD_{50} \frac{1}{128} = 10$	$LD_{50} \frac{1}{512} = 30$	
$2LD_{50} \frac{1}{128} = 15$	$2LD_{50} \frac{1}{512} = 35$	



b. Зродовский 氏家兔法：按 Зродовский 氏之法，我們曾傳了兩次家兔。（見動物試驗項）以感染後之家兔肺接種蠶體，蟲子無細菌性死亡，結果立克次體發育良好，證明無雜菌污染，以此法可以除去雜菌。

此外，與我們工作的同時，北京中央生物製品研究所斑疹傷寒室也進行了除去H毒種雜菌的工作，詳見附錄II。

#### ④ 關於小桿菌問題的研究

關於感染後小鼠肺污染雜菌的問題，在立克次體與立克次體病一書裡有詳盡的敘述，Зродовский 氏把這些雜菌分為四類，細小的革蘭氏陰性桿菌只佔其中之一。在我們的工作中，因為它對生產後疫苗的影響最大所以專對它進行了一些研究。

a. 小桿菌在小白鼠肺內的分佈情況。為了探知小桿菌在鼠肺污染情況下所佔的比例數字和在健康小鼠肺中帶菌的情況，做了以下幾個試驗：

(1) 由16支污染鼠肺之培養管（普通斜面，肉湯）中分離各種雜菌，以求出小桿菌在其中的比例數字，結果見下表：

菌 類	革蘭氏色	所佔數字	總 數	比 例 數	百 分 比
桿 菌	-	6	21	6/21	28.56%
”	+	7	”	7/21	33.33%
球 菌	+	3	”	3/21	14.23%
小 桿 菌	-	5	”	5/21	23.89%

(2) 將健康小白鼠以乙醚殺死後馬上進行解剖，取肺1小塊在血平板上培養，進行雜菌檢查，鼠肺染菌率為38.75%，帶菌之小白鼠中各種菌的百分比如下：

菌 類	頭 數	總 數	比 例 數	百 分 比
球 菌	14	30	14/30	46.5%
桿 菌	13	30	13/30	43.3%
小 桿 菌	3	30	3/30	10%

(註) 1. 球菌中包括革蘭氏陽性葡萄球菌和少數四聯八聯球菌。

2. 桿菌中包括革蘭氏陰性，陽性大桿菌其中有枯草桿菌。

3. 小桿菌有革蘭氏染色陰性的細小桿菌。

4. 此次分離係在大連所西山動物室內進行，無菌操作環境不好，故以上的數字可能不準確。

(3) 將健康小白鼠用乙醚麻醉後，再以無菌肉湯滴鼻，以造成人為的刺激66小時後再用乙醚殺死，取肺，以血平板進行雜菌分離試驗，共用小白鼠50隻，鼠肺染菌率為22.2%帶菌之小白鼠中，各種菌的百分比如下：

菌 類	頭 數	總 數	比 例 數	百 分 比
球 菌	4	10	4/10	40%
桿 菌	5	10	5/10	50%
小 桿 菌	1	10	1/10	10%

(註) 1. 球菌，桿菌中之類別與(2)同。

2. 此次分離之無菌操作環境比上次為好。

此試驗之第(2)與第(3)的結果相差較多，可能與工作時的無菌環境有關。因此次試驗中以肉湯滴鼻的小鼠沒有發生肺炎病變的，故其結果應相近。此外未用鼠肺懸液做分離是一缺點。但由上述的試驗中可以知道健康小鼠是帶菌的，(2)，(3)兩項中小桿菌所佔的百分比也相近。

小桿菌對動物之致病性及其毒力之測定。

小桿菌對動物的致病性試驗，採用了兩種動物，蝨和小白鼠，小桿菌也只選用了由H毒種污染的鼠肺中分離出來 L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 兩個，將菌液經蝨肛注射感染蝨子後（菌液稀釋度因原始記錄不在此地，故須以後再補）蝨子於第二日即大部死亡。L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 對小鼠的感染（經鼻感染）結果和毒力測定的結果見下表（毒力測定的方法按蘇聯法規規定）：

第一次感染結果

L <sub>1</sub> 菌濃度	接種量 20號針頭	總數	24小時死	48小時死	5日死	6日死	鏡檢	L <sub>2</sub> 菌濃度	總數	24小時死	48小時死	鏡檢	培養
1 MG/cc	4 滴	5	1	4			-	1 MG/cc	3	3		-	+
0.5 MG/cc	4 滴	5	1	4			-	0.5 MG/cc	2	2		-	+
0.1 MG/cc	4 滴	5	1	2	1	1	-	0.1 MG/cc	4		4	-	+

因多數在 1—2 日內死亡，鏡檢時也看不到細菌，只培養陽性，肺有肺炎變化，故以 L<sub>1</sub> 降低其濃度，再做一次。

第二次感染結果：

L <sub>1</sub> 菌濃度	接種量	總數	1日死	2日死	3日死	殺死	肉眼所見	鏡檢	培養	處理醫案
0.1 MG/cc	20號針頭 4滴	3	1	2				+	+	取之作測毒用
0.05 MG/cc	”	3		2	1			+	+	”
0.01 MG/cc	”	3				3		+	+	”
0.005 MG/cc	”	3				3		+	+	”

L<sub>1</sub> 毒力測定結果 I：

稀釋度	8X	16X	32X	64X	128X	253X	512X	1024X	LD50	終點
死亡數	2/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/16

(註) 小鼠死亡情況：所死者皆係於 2—24 小時內死亡。

L<sub>1</sub> 測定結果 II：

稀釋度	8X	16X	32X	64X	128X	253X	512X	1024X	2LD50	終點
死亡數	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/8

(註) 小鼠死亡情況：1/8 中 1 個於 2 小時前死亡，一個於 2—24 小時死亡。

由以上之結果中可以看出以 L<sub>1</sub> 感染之小鼠大多於 48 小時內死亡，此點與以斑疹傷寒立克次體感染之情況不同。其對小鼠之毒力亦不高，據蘇聯文獻所載健康鼠肺組織於 1/16 稀釋時，亦能使小鼠死亡（我們的試驗結果亦同（故此種死亡可能係非特異性的死亡，而不必考慮。此點可供我們在分析斑疹傷寒立克次體毒力測定時 2 小時前死亡

太多現象的一種參考。

C 小桿菌的鑑定：我們對由各種來源的15種小桿菌進行了生化反應的鑑別工作，其初步結果見表VI，對 L1. L2 和 H12 更與百日咳免疫血清做了凝集試驗其結果如下：

菌種	稀釋倍數	40×	80×	160×	320×	640×	1280×	2560×	5120×	12400×	對照
L1 菌與百日咳血清		卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-
L2 菌與百日咳血清		卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-
H12 菌與百日咳血清		卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	-	-

由凝集試驗和表 VI 中的生化反應結果看來，L1. L2 和 H12 可以肯定為支氣管腐敗寄生菌

在初步的生化反應結果中可以看出，小桿菌的種類不一，相差也甚遠，所以過去以揣測的立克次體變為細菌的說法已不能成立。但這種小鼠帶菌情況是大連所小鼠獨有，還是普通性的問題？根據 Зароковский 氏所述和我們的工作結果看起來恐是普通性的，因為鼠肺是與外界環境相通的，不可能避免雜菌的進入，特別是支氣管部份，因此如果要避免細菌性的續發性感染，保證小鼠肺毒種在生產時的供應，在現在看起來只有提高毒種的毒力一途。

### ⑤ 討論：

H 毒種由動物試驗，血清學的鑑別，流行病學的調查等各項結果看來雖然缺乏一個標準的鼠型血清對照，但也可初步肯定其為鼠型。此點也符合過去日本人在東北所做的關於這一方面的情況，根據日本的文獻記載，在南滿一帶的斑疹傷寒是鼠型。從流行病學的觀點看來，H 毒種與 1953.10—1954.2 月北京的 3 個斑疹傷寒患者血清也都有較  $\pi$  和 B 為高的補體結合效價，（見附錄 II），說明北京有鼠型斑疹傷寒，（謝少文氏在其“北京之斑疹傷寒”一文中曾云北京鼠型，人型都有）其抗原性與 H 毒種相近。因此在考慮 H 毒種應否用於生產時，此點很為重要，此外根據學習班所做交叉保護試驗的結果，H 疫苗能够保護 B 的攻擊與 Castaneda 氏（1941年）所做結果相同。

關於 H 毒種最初以大白鼠肺通過發體時的染菌問題，其雜菌的來源，顯然是原毒種染菌，並非技術問題，如接種時稀釋度低等，因為北京所做係將鼠肺按重量 1:300 稀釋後經發肛注射感染蝨子，但仍有雜菌污染。惟已經分離純淨的立克次體接種小鼠肺後，在最初仍有污染情況的發生，則和毒力低有密切的關係。提高斑疹傷寒立克次體毒力的方法有很多種，Castaneda 曾以豚鼠→大鼠→小鼠傳代的方法以防止細菌的污染和維持其毒力，但根據我們以蝨鼠交替傳代的結果來看，後者是既簡便而收效又大的。

### ⑥ 結論：

H 毒種長期在大白鼠上繁殖，在這次試驗中才更換宿主傳至蝨和小白鼠。最初數代的小鼠肺中有嚴重的污染現象，後經屢次蝨鼠交替傳代，情況好轉：在小鼠肺中發育很規律，滴鼻後三晝夜死亡，污染率降低，鏡檢時立克次體一般在卅。

H 毒種腹腔注射感染大白鼠，第三天發燒，連續發燒二天後死亡，辜丸鞘膜，腹膜，脾臟塗片都看到細胞內立克次體。

H 毒種腹腔注射豚鼠，第三至第五天起發燒，連續發燒三天辜丸腫大，鞘膜塗片可見細胞內立克次體。

H 毒種用 Weigl 氏蝱紅注射法和皮膜蝱蟲法感染蝱子，第 5 天起發病第 11 天死亡，蝱腸立克次體豐富。

H 毒種的流行病學是散在性的和北京的流行情況相似，H 毒種的血清學與人型 B, π 毒種（見附錄 II）都有顯著的區別。H 毒種的毒力已提高到 1/1024 一個 LD<sub>50</sub>，雜菌污染問題也隨着毒力提高而解決，H 毒種對小白鼠肺的適應，繁殖得到很好的結果。

根據 H 毒種的生物學性狀，流行病學的調查，血清學的鑑定可以初步肯定其為鼠型。根據 H 毒種的毒力情況和其在流行病學上的情況它可以參加生產。

附錄 I：病誌（抄錄）

旅大傳染病醫院

姓 名：郭連超  
年 齡：55歲 性別：男 職業：農  
病 名：疑似斑疹傷寒 住址：旅大市營城子區前牧城驛郭家溝  
入院日期：1952年11月23日  
最後診斷：斑疹傷寒 27/XI  
治療結果：1952年12月12日治癒  
主 訴：發熱、食慾不振（病症述者為其家族）  
現 病：11月18日發熱有感冒感，不能起床，全身不適。三天來耳聾，不能飲，三天來曾有疹出現。  
既 往 史：曾患牙痛：  
神智清，耳稍聾，眼球結膜充血，舌苔薄  
胸 部：心跳亢進，心音弱，肺呼吸音弱  
腹 部：無抵抗，肝（—），脾（—）  
皮 膚 疹：形大散在性多處，軀幹，上肢都有，下肢不明顯，  
27/XI 皮膚斑痕除顏面外都有，口發乾，舌苔厚，  
28/XI 意識不清，譫語，結膜充血，口乾，心音弱跳快，左肺下部有乾性囉音。  
29/XI 右肺前下部有囉音，心跳音比昨天增強減慢些。  
30/XI 自昨天起，熱有降趨勢，昨天最低 37.8°C，今天 33.5°C，斑呈癩痕狀。  
1/XI 精神略好，耳聾輕，局部皮疹發紅，  
2/XI 意識漸清楚，耳聾輕，左頰下部腫脹，皮膚不紅，有硬結，眼結膜不紅，心跳稍快，呼吸音弱，聽不到囉音，口乾，  
3/XI 意識完全清楚，耳不聾，腫脹減輕。心音弱，呼吸音弱。  
4/XI 熱下降到 37°C，耳聾，精神好。夜間睡覺很好。  
5/XI 有點咳嗽，  
3/XI 夜間出汗  
7/XI 熱下降到正常  
8/XI 精神良好，可以坐起  
9/XI 咳嗽減輕。

外斐氏反應 OX <sub>19</sub>	1:40 卅	1:80 卅	1:160 卅	1:320 卅	1/640 +	1/1280 +
送驗日期 27/XI, 報告日期 28/XI						
27/XI	血 色 素			75%		
	A. B. C			374萬		
	白 血 球			18000		
	嗜 伊 紅			176%		
	淋 巴 性			22%		
	內 皮 性			2%		
	血 型			O 型		
	蛔 卵			(十)		

## 附錄 II H 毒種的觀察試驗結果

## 1. 小白鼠滴鼻試驗:

大連: H 種自1953年10月在本所開始用 13—18 公分體重小白鼠滴鼻接種, 最初數代發現鼠肺中有雜菌污染, 以鼠肺懸液 1:300 稀釋於蝨肛注射後, 仍然有一部份蝨腸染有雜菌。後取滴鼻接種後 3—4 日瀕死的小白鼠腦髓 (1:3 懸液) 行蝨肛注射結果即無雜菌污染。而立克次體發育良好, 同時以小鼠腦作鵝胚卵黃囊接種培養亦獲得發育良好的立克次體而無雜菌。小鼠腦的人工細菌培養為陰性。另外以鼠肺懸液注射家兔靜脈及腹部皮內注射後, 局部毳毛喂蝨, 於 8—12 日蝨腸中立克次體發育良好, 亦無雜菌污染。

## 2. H 種的毒力測定:

滴 鼻 傳 代	1. 8代	2 X	50% 致死量	1:256
	2. 9代	2 X	50% 致死量	1:512
	3. 9代	2 X	50% 致死量	1:253
	4. 13代	2 X	50% 致死量	1:128
鵝 胚 滴 鼻 傳 代	2代	2 X	50% 致死量	1:512
蝨 腸 滴 鼻 傳 代	1代	2 X	50% 致死量	1:128
	2代	2 X	50% 致死量	1:255
鼠 腦 滴 鼻 傳 代	8代	2 X	50% 致死量	1: 64

3. 北京市 1958. 10—1954. 2 斑疹傷寒患者恢復期血清學反應結果 (補體結合反應及外斐氏反應):

竇	H 1:640	OX <sub>19</sub> 1:1280	Π 1:320	OX <sub>2</sub> B 1:160
邢	H 1:1280(卅)	OX <sub>19</sub> 1:2560	Π 1:1280(卅)	OX <sub>2</sub> 1:320 B 1:1280(卅)
張道海	H 1:130	OX <sub>19</sub> 1:320(+)	Π 1:80	OX <sub>2</sub> 1:80
楊小英	H 1:320	OX <sub>19</sub> 1:1280	Π 1:320(+)	OX <sub>2</sub> 1:80
張克 X	H 1:1280	OX <sub>19</sub> 1:130	Π 1:1280	OX <sub>2</sub> — B 1:1280(+)
龍新華	H 1:160	OX <sub>19</sub> 1:1280	B 1:80	
俞景 X	Π 1:160(+)	OX <sub>19</sub> 1:40	H 1:160 (+)	

H7029 (豚鼠) H 1:160 II 1:80

H 6340 (豚鼠) H 1:160  $\pi$  1:20

那5196 (豚鼠) H 1:160  $\pi$  1:160(###)

H 家兔 H 1:2560 OX<sub>19</sub> 160(+)  $\pi$  1:640 OX<sub>2</sub>— B 1:320

那5138 (豚鼠) H 1:640  $\pi$  1:640(+)

(中央生物製品研究所斑疹傷寒室)

# 大連市鼠型斑疹傷寒立克次氏體“H”株之分離報告

孫 盛 豪

## 緒 言

旅大市自1945年解放後，除了1949年在小平島地區曾有一次流行性斑疹傷寒的流行(1)之外，近幾年來則很少發現此病，更沒有死亡的病例。過去，旅大市在日寇統治時期，每年均有斑疹傷寒的發生。據偽大連療病院(2)的統計；自1913至1931年共有1,495人患斑疹傷寒病，特別在1914年大連曾發生過一次大的流行，患者竟達1,729人，死亡131人(死亡率為7.4%) (3)。1937—1944年此病患者共有4,496人，死亡473人(死亡率為10.5%) (4)。

Mooser氏(5)，兒玉氏(6)(7)(8)(9)(10)，Zinsser氏(11)等根據流行病學、臨床學和病原學三方面，主張斑疹傷寒分類為流行性斑疹傷寒(病原體為普氏立克次氏體)與鼠型斑疹傷寒(病原體為莫氏立克次氏體)二型，普氏與莫氏立克次氏體在自然界中的關係頗為密切，兩型的病原體又為一元性起原，故提倡一元二型說。至於一元一型，一元三型說(流行型、中間型、鼠型)的主張，近幾年來少有學者再提出來，因此，它將成為歷史上的材料。

關於東北所發生的斑疹傷寒，戶谷氏曾於1918年指出：東北地區的斑疹傷寒有重症、和輕症兩型之區別。之後，田上氏(1921)(12)及梅田氏(1930)(13)先後在撫順觀察了輕症型(鼠型)斑疹傷寒患者58名，也證實了此點。關於鼠型斑疹傷寒的流行病學和病原學方面，兒玉氏和他的協同工作者們(9)在1931年大體上就已經搞清楚了。該氏將其病原體命名為“*Rickettsia manchuriae*”並由於流行病學、臨床學、病原學上與墨西哥發生的“Tarbadillo熱”、美國北部發生的“Brill病”為同一疾病，因此，兒玉氏等也同意 *Rickettsia manchuriae* 和莫氏立克次氏體(*Rickettsia mooseri*)為同一物。

據兒玉等的意見，普氏與莫氏兩型立克次氏體係起原自一元性。在自然界中莫氏立克次氏體性質可能變異為普氏立克次氏體，關於此兩型間變異性的論據，主要是以動物實驗所顯示之病原性的差異作為基礎的。用莫氏立克次氏體病毒懸液接種於雄性豚鼠腹腔或辜丸內，則發生特異的陰囊反應(Niell-Mooser氏反應)，並在辜丸鞘膜細胞內外檢出立克次氏體，大白鼠受莫氏立克次氏體感染後，則出現有短的高燒，辜丸鞘膜面塗片可檢出較多的立克次氏體(Maxcy氏現象)，但普氏立克次氏體感染如上動物時，則不呈現這些特點。即使出現某些類似的現象，但在性質上還有所區別；如將普氏立克次氏體通過過異種動物後，再接種於豚鼠腹腔或辜丸內，很可能出現輕度辜丸反應(假性Niell-Mooser氏反應)。

在旅大市分離鼠型斑疹傷寒立克次氏體，最早有兒玉氏等(1931)(6)，該氏等為了查明鼠型斑疹傷寒的感染途徑，曾在大連市香爐礁、石道街二地搜捕老鼠，並從老鼠體

上的跳蚤(*Xenopsylla cheopis*)分離出鼠型斑疹傷寒立克次氏體。

以往在實驗室做斑疹傷寒病原分型工作，大致用上述動物試驗為主要的方法。自第二次世界大戰後，由於抗原製備的改進，補體結合反應試驗的應用頗為廣泛，已用於多種細菌、真菌、原生動物所引起的疾病以及多種病毒和立克次氏體病的診斷。蘇聯學者 Drobyshevskaya 氏<sup>(14)</sup>於1941—1942年斑疹傷寒大流行時，曾用補體結合反應試驗作迅速診斷。我國謝少文氏<sup>(15)</sup>亦指出普氏與莫氏立克次氏體之間確有明顯的血清學上的區別。現時分離毒種，可以用血清學方法清楚而迅速地做出分類和分型的鑑定。

我們於1952年11月27日，在旅大市傳染病醫院的協助下，由患者血液中分離出鼠型斑疹傷寒立克次氏體毒種一株，定名為“H”（H係實驗室分離毒種之次序符號，別無他意）。當時，因工作關係未能將材料整理出來，1953年斑疹傷寒蘇聯法規實習班曾對該毒種實驗情況整理過<sup>(16)</sup>。這次，我們有機會將“H”毒種的分離、動物實驗及血清學反應的結果整理出來，作為該毒種的歷史參考資料。

## 病歷和流行病學調查

### 一、病 歷

患者郭○超，56歲，係旅大市營城子區前牧城驛郭家溝，男性，農民。

患者於1952年11月16日突然發燒、有感冒感，全身不適，不能起床，三天來耳聾，不進飲食，並出現疹子。11月26日入旅大傳染病醫院治療。入院當時神志清醒、耳稍聾、眼球結膜充血、腹部無抵抗、肝脾均在腫大。皮膚疹形大多散在於軀干、上肢各處，下肢却不明顯。27日皮膚疹除顏面外均有，口乾、舌苔厚。至28日意識不清、譫語、結膜充血、口乾、耳聾、發熱 $38.2-39.4^{\circ}\text{C}$ 。12月3日症狀開始轉好；意識完全清楚，耳不聾。12月4日體溫降至 $37.2^{\circ}\text{C}$ ，睡眠良好。12月7日，體溫正常，次日可以坐起，12月12日病癒出院。

### 二、流行病學調查

1953年斑疹傷寒疫苗蘇聯法規實習班成立後，為進一步了解“H”毒種的流行病學，曾派人於1953年11月中旬前去旅大傳染病醫院、營城子區衛生股和原病人處做了訪問調查，了解原病人身體很好，無後遺症，已參加勞動生產。據該區衛生股的資料，當時營城子區郭家溝一帶並未發現類似患者。據患者家屬講：在郭○超發病前月餘，該村村長曾發高熱，但未入院，亦無確診，此後未發現類似病例。原患者發病前，除偶而去大連市以外，未曾到其他地方。因此可以說該病是散在性，偶發性，輕症型的斑疹傷寒。採取原患者恢復期血清，行補體結合試驗，其結果見血清學試驗項。

### 三病毒分離實驗及其結果

分離病毒材料，係採取患者發病第11天（入院第二天）的靜脈血10毫升（加1毫升2%的無菌檸檬酸鈉溶液），注射每隻雄性豚鼠腹腔內3毫升和睾丸內0.6毫升，共注射兩隻。注射雄性大白鼠腹腔內3.5毫升，睾丸內0.5毫升一只。

動物感染經過及其結果分述如下：

#### 1) 豚鼠

1號：經10天潛伏期後，體溫升高至 $40.0-40.4^{\circ}\text{C}$ 持續六天，體重減輕，睾丸無反



應，於發熱第三天，取出辜丸塗片檢查未發現立克次氏體。用此辜丸制成10倍懸液盲目傳第二代豚鼠；經三天潛伏期，體溫發熱至 40.5°C，體重減輕，於發熱第四天，用辜丸鞘膜塗片檢查（Giemsa 氏染色法，以下均同）發現許多細胞的細胞漿內含有立克次氏體。

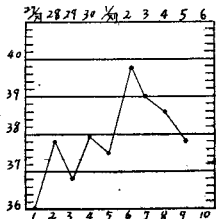
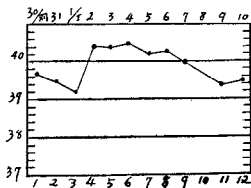
2 號：10天潛伏期後，體溫40.0~40.5°C 持續六天，體重減輕，辜丸紅腫，於第二天檢查辜丸鞘膜無立克次氏體，當日以辜丸 10 倍懸液接種第二代豚鼠；經過三天潛伏期，上熱，同樣以辜丸懸液再接種第三代豚鼠；第三代經兩天潛伏期，發熱 40.3~40.0°C，辜丸紅腫，體重減輕，於發熱第四天檢查辜丸鞘膜發現有立克次氏體。

### 2) 大白鼠

經過五天潛伏期，第六天發熱至 39.6°C，並有眼腺炎，次日體溫降至 39°C 時，以無菌方法取出辜丸，鏡檢鞘膜塗片，未發現立克次氏體，將此辜丸制成10倍懸液以三毫升接種於第二代大白鼠腹腔內。第二代大白鼠受感染第六天上熱至 39.4°C，次日體溫降至 37.8°C，摘出兩個辜丸，鞘膜塗片見有大量立克次氏體。再將此辜丸制成10倍懸液，除了用一份接傳大白鼠外，另取一份經鼻腔感染10只小白鼠，小白鼠感染後3—4天開始死亡，肺塗片均找到立克次氏體。用鼻腔感染方法在鼠肺中共傳六代；第一——三代為小白鼠，之後用小白鼠肺接傳第四——六代的大白鼠，立克次氏體在大白鼠肺內發育很好，亦未污染雜菌。1953年1月1日曾用此毒種試製了斑疹傷寒疫苗。現今我們實驗室所保存的鼠型“H”毒種，即由上述鼻腔感染鼠肺傳代法分離出來的。

### 3) 家兔

用前述四代大白鼠腦10倍懸液，注射二毫升於家兔辜丸內，經過兩天潛伏期，發熱至 40.0—40.6°C，持續三天，辜丸紅腫，於發熱第三天鏡檢辜丸鞘膜塗片標本，發現有立克次氏體。在感染後第10天全採血，作外斐氏反應觀察，其結果見血清學試驗項。



## 四 血清學試驗

### 1) 外斐氏反應

病人血清：入院第二天（發病後第11天）抽出化驗為1:640 陽性。

感染家兔血清：前述感染後第10天家兔血清為1:100 陽性。

### 2) 補體結合試驗

因與實習班資料重複放於此從略，僅將一般情況概述如下：

1953年斑疹傷寒蘇聯法規實習班，在我室開辦以後，針對“H”毒種進行了一系列的研究工作；當時在國內感到地方斑疹傷寒毒種很缺乏，為了客觀地分析研究我室在1952年分離的“H”毒種的特性，不僅在大連所實習班內繼續進行前所未完成的補體結合試驗，與此同時，在北京生物制品研究所斑疹傷寒室也進行毒種的血清學鑑定。

實習班“H”毒種研究組根據蘇聯法規所載的補體結合試驗方法，用中央生物制品研究所贈送之鼠型毒種“M”株（據云是當時國內鼠型標準毒種）制成抗原和血清，並用蘇聯流行性斑疹傷寒“B”種的豚鼠免疫血清和抗原進行了“H”毒種的血清學鑑定，一共做了三次補體結合試驗，試驗結果<sup>(16)</sup>證明：“H”毒種和蘇聯流行性“B”種有顯著的區別，而北京所的“M”株則與蘇聯“B”種相近似，蘇聯“B”種是新打開的乾燥毒種，因此，是純淨的標準的。我室在1952年以後保存的立克次體種僅有蘇聯的流行性“B”種沒有其他任何鼠型毒種，由此可以說明“H”種也是純淨的並無有與其他毒種在實驗中混淆的嫌疑，根據“H”抗原和原病人血清的補體結合試驗結果亦可得到證明。

北京生物制品研究所在“H”毒種的血清學鑑定工作中<sup>(16)</sup>也證實上述同樣事實，由此可以肯定“H”毒種不是流行性而是鼠型斑疹傷寒立克次體。

## 五 討 論

我們在1952年11月於大連分離的斑疹傷寒立克次氏體“H”毒種，係用病人發熱第11天的血液接種動物分離出來的。由動物實驗結果上可以看出：用感染的豚鼠辜丸懸液接種於下代豚鼠腹腔內，經3—4天潛伏期，發熱，即出現特異的陰囊紅腫（Niell-Mooser 氏反應）以及在炎症辜丸鞘膜上皮細胞中檢出大量立克次氏體。病毒接種於大白鼠腹腔內，大白鼠則出現一時性的熱型（亦有熱持續2—3天的），辜丸無腫脹，但從辜丸鞘膜內可檢出大量的立克次氏體（Maxcy 氏現象）。

流行性斑疹傷寒毒種接種豚鼠腹腔，只有熱而辜丸却不紅腫，立克次氏體也極難找到。但須指出：如果流行性斑疹傷寒毒種通過異種動物（家兔辜丸、小白鼠、大白鼠及家鼠腹腔內）再回到豚鼠，很可能出現 Niell-Mooser 氏反應的現象，但反應程度却較輕微，辜丸既不發紅又無溫熱感，只現輕微的浮腫，辜丸固定於陰囊內的時間也不如鼠型的長。如鼠型斑疹傷寒毒種通過豚鼠，再回到豚鼠，此時也能減弱 Niell-Mooser 氏反應的程度，但流行性斑疹傷寒毒種對大白鼠的 Maxcy 氏現象却始終為陰性<sup>(17)(18)</sup>。

我們分離“H”毒種過程中，曾用大白鼠鼻腔感染法傳代，使立克次氏體很容易適應於大白鼠肺臟，肺塗片檢查見有大量立克次氏體分佈於細胞內外。關於鼠型斑疹傷寒立克次氏體感染大白鼠肺臟的問題，早在1939年 Castaneda 氏<sup>(19)</sup>已試驗證明。至於流行性斑疹傷寒立克次氏體（“H”毒種），我們曾用體重不等的大白鼠（不經物理化學因素使動物減弱抵抗力的處理）作鼻腔感染試驗，幾次都沒有感染成功。我們認為莫氏立克次氏體具有容易適應於大白鼠肺臟的特點，關於這一生物學的特點，是否可以作為鼠型與流行性斑疹傷寒立克次氏體鑑別診斷上的旁證，尚有待於今後的進一步試驗和探

討。

病人血清與感染家兔血清的外斐氏反應皆呈陽性。補體結合試驗的結果清楚地表現了 "M" 與 "B" 兩種毒種有區別。至於 "M" 株 (鼠型對照毒種) 補體結合反應却與 "B" 相近, 因此, 我們懷疑 "M" 可能不是鼠型毒種。

根據許多學者的經驗, 多數斑疹傷寒患者, 利用補體結合反應很容易獲得診斷, 在實驗室亦多用它做斑疹傷寒立克次氏體的分型鑑定。但有的學者<sup>(20)</sup> 於補體結合試驗中, 遇到了血清對兩個抗原呈現同等滴度, 雖做幾次檢查也難以確定的情況。另有學者<sup>(21)</sup> 研究, 曾經注射過流行性疫苗的人, 再度感染鼠型病毒, 發現這類患者的血清, 與高度純淨的流行型和鼠性兩種抗原, 都表現同等的補體結合反應滴度。上述在補體結合試驗中所遇到的困難, 不得不引起我們的注意: 在確定斑疹傷寒病原型別時, 不僅要依據血清學的結果, 亦應該同時重視動物 (生物學) 的實驗, 如此方能取得正確性的判斷。

## 六 結 論

我們於1952年11月在大連分離的斑疹傷寒立克次氏體 "H" 株, 據血清學, 生物學試驗以及流行病學的調查結果, 證明是鼠型斑疹傷寒毒種。

附註: (1) 本文承范明遠醫師帶閱並借閱寶貴資料; (2) 本文有銀子奇同志協助技術操作; (3) 本文補體結合試驗係斑疹傷寒毒種法規實驗室試驗組所做, 特此一并聲明和誌謝。

## 參 考 文 獻

- (1) 岡本良三等 本刊 302 頁
- (2) 間接引自豐田太郎: 滿洲の醫事衛生殊に傳染病。九州帝大醫學部學會出版、1935.
- (3) 北野政次: 滿洲に於ける急性傳染病、第一輯, 大陸傳染病學會、1941.
- (4) 郭文華: 大連醫學雜誌、第一卷、第四期、1947.
- (5) Mooser, H. 等: Jour. Exper. Med., 59, 137, 1934.
- (6) 兒玉誠等: 細菌學雜誌、432, 79, 1932.
- (7) 高橋權三郎等: 細菌學雜誌、435; 363. 1932.
- (8) 兒玉誠: 東京醫事新誌, 2789, 1795 1942.
- (9) 兒玉誠等: 細菌學雜誌, 426. 567; 427, 657. 1931.
- (10) 兒玉誠: 東京醫事新誌, 213, 1935.
- (11) Zinsser, H. 等: Jour. Exper. Med., 52, 865. 1930.
- (12) 田上賴之: 醫學中央雜誌、第 347 號, 1921.
- (13) 梅田生: 實地醫家ト臨床、第七卷, 1930.
- (14) 間接引自 Smordintzev, A. A: 朱濱生譯、斑疹傷寒的預防和治療, 44~66
- (15) 謝少文: 免疫學叢刊、第八冊、人民衛生出版社、1953.
- (16) 衛生防疫資料彙編, 第七輯、衛生部防疫司、1955.
- (17) 兒玉誠等: 細菌學雜誌、427. 1931.

- (18) 高橋權三郎: 細菌學雜誌, 442 1932.
- (19) Castaneda M. R: Amer.J.Path., 15. 467. 1939
- (20) 山口與四郎: 日本傳染病學會雜誌, 第30號、第一卷、1956.
- (21) PLOTZ H and al: Soc. Exp. Biol. Med., 59, 248. 1946.

## 在動物皮膜上飼養及感染人虱\*

魏 曦 張 婉 荷

自從蘇聯 Пшоничнов (1) 首先利用人的表皮創造了餵虱及感染虱的工具後，對於斑疹傷寒的研究工作及疫苗製造提供了有利條件，但採用人皮還存在着一些缺點和困難，首先是供應上的困難。人的表皮必須採自屍體或外科切除的四肢，在我國目前尚不能達到有求必應的程度。而人皮的來源是否合乎健康條件，也無法控制；再從人道觀點以及技術觀點來衡量，使用人皮來作試驗也是一個缺點。這就是我們要另覓其他材料來代替人皮的目的和動機。作者等做了二百餘次試驗廣泛地試用了七種動物及鳥類的皮膜。結果證明大白鼠乳鼠，乳兔及雞的皮膜，在餵虱及感染虱的作用上完全與人皮膜相同。其中以初生的乳鼠皮膜最佳，甚至比人的皮膜還好，蝨在乳鼠皮膜上吸血率常可達到 100%。大白鼠乳鼠皮膜在斑疹傷寒的生產和研究工作上已應用了兩年，它的優越性已經肯定下來。現將大白鼠乳鼠表皮的制備及應用方法略述於下：

1. 皮膜的剝取及使用法：剝取動物表皮須以溫水浸泡動物使其表皮脫離真皮。由於動物的種類不同，水的溫度也不同，一般在 40—80°C 之間，浸泡時間約為數分鐘至半小時。乳鼠皮膜所需溫度為 50—60°C。取初生後 1—7 日尚未長毛的大白鼠乳鼠，將鼠放於溫水中溺死，立即取出將四肢末梢及尾部表皮剝去，以小剪沿一面體側剪開，用手指輕輕剝離表皮即可，剝下的皮膜可直接應用，也可將皮膜平置玻璃片上或紙上晾乾，置冰箱中保存待用。

餵蝨盒的設計及裝配法：其構造分三部份，盛血用的小圓盒直徑 3.8 厘米，邊高 1.2 厘米；安放皮膜的圓圈（略似無頂之禮帽），直徑 3.2 厘米，立邊高 1.1 厘米，翻口寬 0.5 厘米。以上三者均為鋁制。固定皮膜的彈簧圈，銅制鍍銀並帶有鋼絲（見圖 1）。在制備皮膜時，先取安放皮膜的圓圈，將皮膜蒙在立邊上，然後卡上固定皮膜的彈簧圈，即可應用了（見圖 1）。

2. 餵蝨用具的消毒：Пшоничнов 的原法用 10% 氫水消毒皮膜 30 分鐘，再以自來水洗去氫之氣，但往往氫之臭味未能盡除，因而造成吸血時間延長和吸血率不高的情況，為了改進這種條件我們試用了一種雙管紫外光燈照射消毒法。以兩個紫外光管並行排列制成皮膜消毒燈，兩管的距離為 10 厘米，兩管之間有個鋁制架子放置皮膜及餵蝨盒等物。使皮膜之裡外兩面均能同時消毒。照射試驗的結果，約在 20 分鐘後皮膜上的全部細菌均可殺死。故此種消毒法不但操作簡便而消毒也很徹底。

3. 餵蝨方法：取健康人的脫纖維血，或含有斑疹傷寒立克次體的血液約 1—2 毫升，盛於餵蝨小圓盒之內，再將消毒的皮膜圈放入盒內，使皮膜與血液接觸。隨後可將餵蝨盒放入 37°C 孵箱中，經過數分鐘後取出檢查，看皮膜有無漏血之處。如無漏血處，即可將蝨投入盒內，如有漏血處，可用石臘填補。蝨在皮膜上吸血一般所需時間為

\* 本論文曾於 1954 年 12 月在中華醫學會放大分會的年會上宣讀。

5—10 分鐘。如蠶在皮膜上久不吸血，可能是皮膜本身或週圍環境有不適合的地方。如皮膜保有過久或染有特殊臭味以及週圍光線太強或溫度不適當等等皆為引起蠶不吸血的緣因。蠶吸血後可由皮膜上輕輕取下，放於飼養盒中，置於 28—32°C 溫箱中。

我們應用了上述方法試驗了數種動物，如兔、大白鼠、豚鼠及小白鼠等及鳥類，如鷄、鴨及鴿等的皮膜。結果以大白鼠乳鼠皮膜最好，乳鼠的皮膜次之，鷄皮膜更次，皮膜無論反正放置皆可。我們的經驗是不論正面或反面，若在皮膜上塗以人的皮脂，就會對蠶起誘導作用，不獨吸血的時間加快，吸血量數日也能增多。

4. 在皮膜上感染蠶：使蠶感染斑疹傷寒立克次氏體的步驟與蠶絲的方法相同，惟血液之內加有小白鼠之肺臟感染物的懸液，鼠肺感染物必須符合立克次氏體稀釋法的規定，含有適當量的立克次氏體。蠶在皮膜上吸取此種含有立克次氏體之血液後，平均 8—9 天死亡，這是與一般情況相同的。一種現象是大家所熟知的，即立克次氏體在小白鼠肺內傳代過多即發生的退化現象，如桿狀變為球狀及毒力強變為毒力弱等，但這種現象一經通過蠶體傳代後即可恢復正常。在蠶體傳代時所用的人皮膜，只起到機械式的傳遞作用，對於立克次氏體也是無害的，我們曾用這種條件來衡量乳鼠皮膜的質量，看它是否對於立克次氏體不利，經過一再的試驗，事實證明乳鼠皮膜對立克次氏體是無害的。自 1954 年以來我所斑疹傷寒疫苗的生產工作中，應用乳鼠皮膜蠶絲約有百餘次，所得的結果也令人十分滿意，用乳鼠皮膜法使立克次氏體在蠶上傳代是完全可以轉變其退化現象為正常的。因此乳鼠皮膜對立克次氏體在傳代上的作用與人的皮膜也完全相同。乳鼠皮膜的試驗成功，完全代替了人皮，此外它還有提高蠶子吸血率的優點。

### 參 考 文 獻

- (1) Пилешинцов А. В.: Ж. М. Э. Н. 1943. 1—2

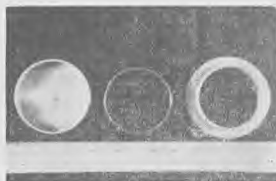


圖 1

圖 1: 蠶食膜的三個構成部分。左為吸血前，中為吸血後，右為吸血後之皮膜之切面，右為皮膜之切面。

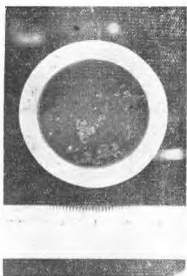


圖 2

圖 2：顯鏡盒全部裝配後鏡蓋之情況。

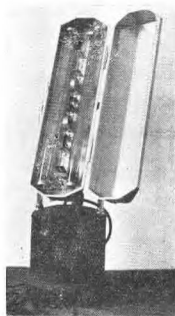


圖 3

圖 3：雙管紫外光線消毒皮膜及顯鏡盒各零件之情況。

## 關於改變人虱嗜血習性的研究\*

魏 曦 范明遠

人虱是一種絕對的人體寄生生物，因而具有單嗜血性的特點，如果摒除人血而代以其他動物的血液飼養，每每難以使其生存或傳代，Goldberger 與 Anderson(1) Nicolle, Blairot 與 Conseil(2), Galli—Valleria(3), Noeller(4) 等均曾企圖改變人虱的習性，而以動物血液喂養，但皆未能成功。此後 Davis 與 Hansens(5)，試用家兔飼養人虱，曾獲較好的結果，但傳至第二代因產卵不多未能繼續繁殖。最近 Culpepper (6) 再以家兔試驗，才獲得了滿意的結果，在他的報告中曾提到傳代已達25次，估計繼續傳代是沒有困難的。但他的方法所要求的條件在一般情況下是比較困難的，該法不但要求從大量的家兔中選擇適宜的兔種，同時也需要大量的人虱以供淘汰。但他的工作說明了一點，即人虱的嗜血習性是可以改變的。在實際生產和研究的工作中我們感到長期動員志願者餵血不但在管理上困難，在技術上也是一個缺點，因而改變人虱餵養方法的企圖就成了我們必須完成的課題。米丘林生物學的理論告訴我們，機體如果受到外界特定條件的影響是可以適應這種條件而改變其固有的特性的。從這方面考慮改變人虱的嗜血習性是我們這次研究的理論根據。在這一理論的指導下，我們定下了一個以兔血逐漸代替人血的餵養方法進行試驗，經過數次的研究，已達到了滿意的結果。茲將試驗經過報告於下。

### 材料及實驗

本試驗中所用虱種係於1954年由北京生物製品研究所取來，在大連時曾與本地獲得之虱種交配一次，以往一直在人體上餵養，從未發生過任何感染。

所用家兔經過多次之試驗以銀狐及玄狐兩個品種為最適宜，白色兔種的大部份也很適用，但常有個別幾只給虱種造成大量死亡，須經過選擇方能使用。在餵養時家兔須固定在特別之架上（圖一），腹部朝上，用細齒電剪將腹部之毛齊根剪去，但有時應用普通剪刀剪去長毛，再用刀片剃去所餘短毛，除盡皮上短毛有利於幼虱之吸血。在剃毛時以酒精(70%)代替肥皂，因肥皂之氣味常有妨礙虱子吸血的情況；酒精潤毛之作用幾與肥皂相同，此外尚有消毒皮膚之優點。在每次餵養後家兔腹部皮膚每每容易乾燥，曾試用濃甘油塗抹其上而獲得滿意的結果。我們注意到，此法不但防止皮膚乾燥，同時也產生了抑制兔毛生長的作用。

餵養時所需條件除了以上幾項外，還需解箱兩具，並須準備適當數量的餵養盒，餵養圈，高邊平皿，以及深顏色的毛料氈塊(3×3厘米)。

人與家兔交替餵養的方法是在減少人血增加兔血的原則下進行，通過一再的試驗，我們得出了一個規律，按着這個規律進行餵養，所需時間雖然較長，但可避免虱子的過

\* 本文曾於1956年7月在北京中國微生物學會第二屆全國會員代表大會上宣讀。



多死亡。但在交替餵蟲的初期蟲子因溶血性滲透而死亡的情況是不可避免的，而愈到後來這種現象就愈見減少，甚至不再因此而死亡。按着規律餵蟲必須特別注意的有幾點；即頭一代蟲必須自始至終以一日覓一日人的交替方法飼養，以後各代直至第五代在三令蟲脫皮後，必須以一日人二日覓，一日人三日覓以至一日人四日覓的交替方法餵養，從原則上講這是一個按定向發展逐漸增加覓血以至全部以覓血代替的方法。從第六代蟲開始，以後就不必再用交替的方法餵蟲。到了這時候蟲子可以完全脫離人血全部以覓血為營養了。在交替餵蟲的時期，每一代蟲的產卵量都完全正常，與人血餵的蟲種比較並無遜色。在實際的餵蟲工作中須注意的地方有幾點：

(1) 開始在覓上餵蟲時可以選取剛孵出的幼蟲約兩千個左右，經過定向培養約需六個月的時間即可達到第六或第七代，至此成蟲繁殖之總數約有兩萬左右。

(2) 每日必須餵血兩次，早晨及午後各一次，幼蟲每次約需10—20分鐘，成蟲每次約需20—30分鐘。

(3) 餵蟲的前後全部蟲子必須放在清潔的高邊平皿內，經常保存在孵箱中，其溫度為30—32°C，濕度為60—70%。為了保證蟲子的安全最好準備兩個孵箱，將蟲子分為兩部份，每孵箱中各保存一半，以免因溫度調節器發生故障而喪失全部蟲種。

(4) 在人體上餵蟲可用一般的餵蟲盒，但在覓上餵蟲時則須放入特製之餵蟲圈內（圖二）以防覓在掙扎時使蟲子受到損失。

(5) 毛料氈塊可使蟲子棲息於其上並在上面產卵，但易為蟲的糞便及其它排出物所污染，必須每日消除氈塊上之污物以保持清潔。

(6) 在家覓上餵蟲時必須將氈塊連同蟲子直接放在家覓腹部之皮膚上，在皮膚上直接吸血可保證蟲子獲得充分的營養。這對於蟲子的長成和產卵均有極大關係。

## 討 論 及 總 結

人蟲以家覓飼養和繁殖在本試驗中已告成功，定向變異方法論在這次試驗中發揮了決定性的作用。在這個理論的指導下我們成功地使蟲子對人血的消化功能轉化為對覓血的消化功能。這是通過人與覓交替餵養人蟲的方法而達到的。人覓交替餵養法是比較簡單易行的，除了第一代蟲必須全部以交替方法飼養外，還須特別注意三令蟲脫皮後以交替方法飼養的這個關鍵。從第六代起蟲種消化覓血的功能即已固定，以後就不必再以人血飼養了。從這一規律中不難看出，由第二代至第五代這四代蟲的幼蟲，二令蟲及三令蟲就已經有了對覓血的適應性，而成蟲的適應性却產生得比較慢。其緣因何在呢？我們認為按米丘林生物學的規律來衡量，這個現象是不難理解的，一般來講幼令生物與成年生物相比是具有更大的可塑性的，這就可以說明為什麼幼蟲，二令及三令蟲很早就可吸取覓血而不致死亡的緣因，在發育時期的幼蟲是具有很大的可塑性的。

各種毛色的覓種均可以餵蟲，但有部份家覓，尤其是個別白毛家覓常有造成蟲子大量死亡的危險，取用時必須注意加以選擇。在這次試驗中所用的幾種家覓以銀狐種及玄狐種為最適宜。

本方法對於一般規模的試驗室是具有其便利之處的，因為所需的家覓數量甚少，而開始一批所用的蟲子數目也不多，這是為一般試驗室易於辦到的條件。在生產或研究的

工作中採用家兔鐵籠的辦法是比較經濟的，特別它對生產的成本還可以減低。

在本文公開宣讀後，蘇聯 B. A. Пилипенко 及 E. P. Ворона 二氏在 1957 年第 1 期之“病蟲學問題”上發表了兔籠鐵籠的成果。

### 參 考 文 獻

1. Goldberger, J., and Anderson, J. F., U. S. Pub. Health Serv. Reports, 27: 279—308, 1912
2. Nicolle, C., Blaizot, L., and Conseil, E., Inst. Pasteur Ann., 27: 204—225, 1913
3. Galli-Vallerio, B. Von, Centbl. f. Bakt. Parasitenk. und Infektionskrank. 78:37—43, 1916
4. Noeller, W., Berlin. Klin. Wchnschr., 53:778—780, 1916
5. Davis, W. A. and Hansens, E. J., Amer. Jour. Hyg., 41:1—4, 1945
6. Culpepper, G. H., Amer. Jour. Trop. Med., 28: 499—504, 1948

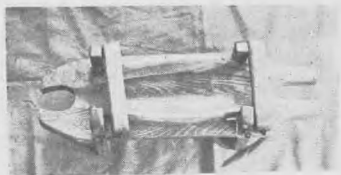


圖 1



圖 2

圖 1: 鐵籠時固定家兔之特製木架。

圖 2: 家兔鐵籠時的全套裝設，注意鐵籠在家兔腹部的安裝方式。

## 消除斑疹傷寒立克次氏體 補體結合抗原的抗補體性質的試驗

劉純榮 魏文彬

近10年來在立克次氏體方面的研究有顯著的進展。各種不同立克次氏體抗原早已制出(1,2,4)，用來進行凝集反應與補體結合反應之用，以此可以協助我們對各種立克次氏體病的診斷，同時也可以對某些立克次氏體作型的鑑別。

爲了血清學試驗獲得良好的結果，須有高度純淨和特異性抗原。一般在抗原懸液中含有立克次氏體和組織顆粒，並含有可溶性物質(3)，常給制備抗原造成很大的困難。爲了解決抗原的純淨度和型的特異性問題，最早由 Craigie 氏應用(2,5) 乙醚處理的方法來解決這個問題。

我們在實際工作中也遇到，由於懸液中含有組織顆粒，致使制備的抗原有抗補體反應，妨礙了試驗的進行。我們根據蘇聯文獻記載的石炭酸沉澱立克次氏體抗原的方法，加以補充進行制備抗原（增加用乙醚處理的方法）。我們的目的是爲了消除抗原的抗補體反應，並且要求制備出的抗原具有高度的特異性。現將我們試驗的方法與結果介紹於下。

### 試驗材料與方法

材料：

動物：本所動物室飼養13—15克健康的小白鼠。

毒種：本試驗所用的毒種有 Полянина（以下簡稱爲“П”種）及 H 種，П 種爲流行性斑疹傷寒毒種，係1953年由蘇聯寄來，H 種爲國內通用的鼠型斑疹傷寒毒種，係1952年由本所工作人員於大連分離的。

方法：

#### 一、原液制備：

1. 研磨：每個感染的小白鼠肺，加一毫升緩衝鹽水（無防腐劑）在每分鐘 12,000 迴轉的攪拌機內研磨 3 分鐘，將鼠肺研碎。

2. 沉澱：將研磨了的肺懸液，倒入沉澱管內，以每分鐘 3,000 迴轉沉澱 10 分鐘，上清液保存於無菌的廣口瓶內，其沉渣再加原量  $\frac{1}{2}$  的緩衝鹽水 (pH7.0—7.2)，依同法研磨 3 分鐘，再行低速後的清混合於第一次沉澱後的上清液中。

將沉澱後的肺立克次氏體懸液，用每分鐘 1,000 迴轉的高速沉澱器沉澱 35 分鐘，棄去上清，其沉渣用玻璃棒攪碎後，用以原量  $\frac{1}{2}$  的緩衝鹽水 (pH7.0—7.2) 稀釋之，以同樣沉澱的方法繼續沉澱 2 次，第二次沉澱後其沉渣用 5% 石炭酸緩衝鹽水稀釋成原量，於室溫內放置 48 小時後，輕輕的吸取上清（以免動搖），再以每分鐘 3,000 迴轉沉澱 10 分鐘。棄去沉渣，其上清液再以每分鐘 1,000 迴轉 35 分鐘後棄去上清，沉澱用 0.2% 福爾馬林緩衝鹽水稀釋到原量，於室溫內放置 3—5 天。

3. 加排醚：取上述之制好的原液，第一次加入30%的乙醚振盪75次後，於室溫放置24小時。

加醚處理 24 小時後，此時肺懸液分三層，上層為乙醚層，中間層為組織層，下層為水層。將水層輕輕地導引出之後，再加45%的乙醚振盪75次，放置室溫內24小時後，將下層再導引出來。

將乙醚處理後之原液，放於 37°C 水浴箱中加溫 2 小時，再用真空機排醚 2 小時。

### 二、抗原制備方法：

將制備好之原液先行以每分鐘 3,000 迴轉沉澱10分鐘，棄去沉渣，上清液以每分鐘 1,000 迴轉沉澱35分鐘，其沉渣用玻璃棒很細緻的攪碎後，加 1/2 量的 0.25% 石炭酸緩衝鹽水。再進行每分鐘 3,000 迴轉沉澱10分鐘後，上清液再以每分鐘 1,000 迴轉沉澱35分鐘後，攪拌均勻加 1/2 量的石炭酸緩衝鹽水，即為抗原。

## 試驗結果

用石炭酸沉澱的抗原是可以除去抗原的抗補體反應的，其結果見表 1。

補體結合試驗結果

方 法	血 清	抗 原	抗原稀釋									
			原倍	2 ×	4 ×	8 ×	16 ×	32 ×	64 ×	128 ×		
加石炭酸處理	II-1688	II-2	4	4	4	4	4	4	1	—		
	鹽 水	II-2	—	—	—	—	—	—	—			
對 照	II-1688	II-1	4	4	4	4	4	4	—			
	鹽 水	II-1	4	±	±	—	—	—	—			

註：II為流行性斑疹傷寒毒。

由表 1 的結果可以看出用石炭酸沉澱的抗原，沒有抗補體現象，而對照抗原却有抗補體現象。用石炭酸沉澱的抗原，如果不用乙醚處理。雖然無抗補體現象，但型的特異性還是不明顯，經乙醚處理後，其型的特異性比較更明顯一些，其結果見表 2。

補體結合試驗結果

方 法	血 清	抗 原	抗原稀釋									
			原倍	2 ×	4 ×	8 ×	16 ×	32 ×	64 ×	128 ×		
加 醚 處 理	II-1688	II-1	4	4	4	4	4	2	—			
	II-1	II-1	4	4	3	—	—	—				
	鹽 水	II-1	—	—	—	—	—	—				
對 照	II-1688	II-2	4	4	4	4	4	2	—			
	II-1	II-2	4	4	4	3	3	—				
	鹽 水	II-2	—	—	—	—	—	—				

註：II種為國內通用的鼠型斑疹傷寒毒。

## 討 論

根據試驗結果可以看出，用石炭酸沉澱的斑疹傷寒立克次氏體抗原的抗補體反應。比未用石炭酸處理的抗原抗補體反應為輕。最主要的是原液階段加 0.5% 石炭酸，於室溫作用 48 小時後，使組織顆粒完全沉下來。由此可見，抗原的抗補體反應，最主要的是懸液中的組織顆粒的存在。所以在制備抗原時，最好在原液階段時就加以處理，就會使制出之抗原更純淨些，從而消沉了抗補體性。

我們制備的抗原，不但要對立克次氏體病進行診斷，同時還要對各種立克次氏體進行型的鑑別。有幾種立克次氏體，有同樣的可溶性抗原，例如流行性的斑疹傷寒立克次氏體與鼠型斑疹傷寒立克次氏體的可溶性抗原是相同的<sup>(1, 3)</sup>，這些可溶性抗原的存在無法鑑別型的特異。為此我們制備的抗原，不僅僅要求沒有抗補體反應，同時還應具有高度的型的特異。這些可溶性物質，經乙醚處理，即可被放散出來<sup>(2)</sup>，和立克次氏體分離開來，由此獲得之菌體就代表着具有型的特異性的抗原。

## 總 結

1. 用石炭酸處理的斑疹傷寒立克次氏體抗原去進行補體結合試驗，其抗補體現象較未用石炭酸處理的對照抗原為輕，以至完全沒有抗補體現象。
2. 用石炭酸處理的斑疹傷寒立克次氏體抗原，為了顯現型的特異性，應用乙醚處理。

## 參 考 文 獻

1. 吳安然；免疫學叢刊。3:50—60, 1951.
2. 謝少文、林霞；免疫學叢刊。8:51—67, 1953,
3. Л. Ф. Здродовский, Е. М. Голиневич; Учение О риккетсиных и риккетсинозах, 104—125, 1953.
4. 朱濱生等譯；斑疹傷寒預防和治療。1950, 10—61頁。
5. Голиневич, Е. М.; К. М. Ф. П. 1955, 6:35—69.
6. 斑疹傷寒疫苗操作規程（初稿），1953年，內部材料。

## 試用 ACTH 提高斑疹傷寒毒種的毒力試驗

劉純榮 魏文彬

1955年由阿門分離的斑疹傷寒毒種——TM10，由於初分離出，在實驗室內不適應於小鼠肺，經過一年多的時間（至1956年6月）蝨鼠交替傳代（一代蝨一代小鼠），立克次氏體在鼠肺中含量少，毒力低。爲了增強立克次氏體在鼠肺中的繁殖和提高毒種的毒力起見利用了 ACTH 處理小鼠，然後再用 TM10 毒種感染，以觀察毒種的毒力是否有所提高，立克次氏體在鼠肺內的繁殖是否可以增加，今將試驗的方法與結果敘述一下。

### 試驗材料

動物：本所所動物室飼養，體重13—15克健康的小白鼠。

明膠：英國製品，粉末劑。

ACTH：波蘭製品，每安瓶 50mg 的粉末劑。

毒種：本室1955年6月29日乾燥的毒種(TM10)打開後通過一代蝨。

### 試驗方法及材料

1. 明膠稀釋：蒸餾水稍微加溫後，將明膠緩慢的加入溫水內，待完全溶解後再加，以免凝結成小塊，10磅30分鐘滅菌。

2. ACTH 稀釋：在臨用時將四支安瓶並(200mg)的ACTH倒入試驗管內，加滅菌蒸餾水45毫升，待溶解後再用，在溶解的同時要用蒸餾水洗滌試管壁殘留的ACTH，待溶解後，再加 37°C 溶解的30%明膠8.0毫升。充分振盪混合均勻使成ACTH16mg/cc，即可使用。

3. 注射方法：整個試驗共分三組，注射不同劑量的ACTH，丙組爲對照組，不注射ACTH，)每組注射八只小鼠，每隻小鼠皮下注射4mg/0.25cc，將稀釋的ACTH皮下注射0.25毫升，在注射的同時注射器要不斷的加溫保持 37°C—39°C，注射部位有後肢、胸部、背部和脛部皮下。

甲組：每日皮下注射二次ACTH4mg/0.25cc（早晚各一次）感染立克次氏體前注射6劑，感染後注射4劑、共計10劑，每隻小鼠共需 ACTH40mg。

乙組：方法與甲組相同，只是感染前注射6劑（共24mg）而感染後不注射。

丙組：不注射ACTH，此組爲對照組。

4. 感染：感染後的第九天的一令衣蝨200個、放於盛有石英砂的滅菌乳鉢內研磨，研碎時加入滅菌的緩衝鹽水（pH7.0—7.2）2.0 毫升再研磨，然後倒入沉澱管內1500—3000迴轉遠心沉澱2分鐘吸取上清，以此立克次氏體懸液進行鼻腔感染小鼠，感染後觀察三天，在第三天解剖，鏡檢以觀察立克次氏體的繁殖情況，並要測毒，同時要

繼續傳代，共傳三代，第一代每組解剖六只小鼠，第二代甲乙組各解剖 7 只小鼠，丙組解剖 5 只小鼠，第三代甲乙組各解剖 8 只小鼠，丙組解剖 5 只小鼠。詳細情況見表 1。

表 1: 各組小鼠每代立克次氏體繁殖情況的比較

組別	代數	代		
		第一代	第二代	第三代
甲	組	1.4	1.3	1.5
乙	組	1.4	1.4	1.7
丙	組	1.7	1.3	1.6

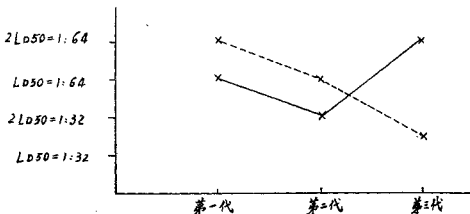
註：數字代表立克次氏體的平均“+”號。

氏體懸液。將此懸液稀釋成  $8 \times 16 \times 32 \times 128 \times 256 \times 512 \times 1024 \times$  進行注射，每稀釋度注射 2 只小鼠，每隻小鼠尾靜脈內注射 0.5 毫升，觀察 24 小時，以計算死亡結果。

整個試驗共傳三代，每代均測毒。第一代試驗組  $LD_{50}=1:64$ ，對照組  $2LD_{50}=1:64$ ，第二代試驗組  $2LD_{50}=1:32$ ，對照組  $LD_{50}=1:64$ ，第三代試驗組  $2LD_{50}=1:64$ ，對照組  $2LD_{50}=1:32$ 。

圖 1:

各組每代測毒情況的比較



註：—— 試驗組。----- 對照組。

### 總 結

1. 在注射方法上由表 1 的試驗結果可以看出甲組乙組的結果無顯著區別。同時對照組與試驗組的立克次氏體的繁殖也沒有區別。
2. 從圖 1 的試驗結果可以看出對照組的毒力是逐漸下降，而試驗組的毒力是有所提高。

此試驗僅僅於小鼠上傳三代，試驗次數太少而且 ACTH 亦用盡其試驗結果也難以說明問題。

## 斑疹傷寒診斷液

### I. 流行性及鼠型斑疹傷寒的 立克次氏體“凝集反應”

岡本良三

(前大連衛生研究所病理科)

#### 緒 言

Otto 和 Dietrich (1) 二氏首先證明在流行性斑疹傷寒患者血清中有凝集素的存在以來, Krukowski (2) 氏在 Weigl 氏實驗室里曾做過仔細的研究, 他認為立克次氏體凝集反應比外斐二氏 (Weil-Felix) 反應較早出現高滴度。Weigl 氏曾證明除病人以外的感染動物諸如猴、家兔、大白鼠及小白鼠等亦均能產生凝集素。1930 年以後 Zinsser 和 Castaned (3)、Castaneda 和 謝 (4)、河野 (5) 諸氏爲了闡明流行性與鼠型斑疹傷寒血清學的異同點; Zinsser 和 Castaneda (6)、Fitz Patrick (7)、謝和王 (8)、謝少文和劉柔陽 (9) 諸氏爲了觀察動物受感染後的抗體演變, 用凝集反應進行試驗, 均取得了一定的結果。當時, 限於抗原製造困難, 凝集反應僅行之於實驗室, 而未能被廣泛地應用。最近, 大量生產立克次氏體抗原已成爲可能, 因此, 有人企圖將此特異性的凝集反應用於實際工作中。1940 年 Hudson 氏 (10) 用鼠型斑疹傷寒病毒感染的的小白鼠及大白鼠之鼠肺疫苗作爲抗原, 進一步試驗和探討了感染及復原動物之凝集反應結果, 他認為已有可能應用於實際。從來, 各家使用的抗原, 均爲當時所能獲得大量立克次氏體之方法, 即由 Weigl 氏蝕腸法、大白鼠腹腔內增殖法、Zinsser、魏曦和 Fitz-Patrick 諸氏瓊脂斜面培養法以及大白鼠和小白鼠滴鼻感染法等所取得的經石炭酸或福馬林處理之純立克次氏體懸液。一般試管內凝集反應有反應不銳敏、判讀結果優的缺點。本實驗的凝集反應基本上解決了比等缺欠。本文所指“凝集反應”的凝集原係取自感染鼠肺和雞胎卵黃囊材料的提純立克次氏體懸液, 並且經過加石炭酸和凍融處理而“顯露”出抗原性的。“凝集反應”就其本態而言, 可與病毒性的凝集反應視爲同一之免疫反應 (本文所載之“凝集反應”的術語即意味與一般凝集反應有所不同)。本文如下概要介紹: (1) 凍融抗原及反應方法之特點; (2) “凝集反應”對感染及復原鼠血清所顯示的特異性; (3) 指出“凝集反應”今後用於實際可能性等。

#### 抗原制備和反應方法

鼠肺抗原: 以莫氏立克次氏體 (R. mooseri) 感染大白鼠、小白鼠; 普氏立克次氏體 (R. prowazeki) 感染小白鼠, 將其感染肺臟磨碎, 以生理鹽水稀釋, 再以遠心分離出立克次氏體。遠心分離提純的程度使遠心上清之雙縮脲 (Biurete) 反應呈陰性, 磺柳酸 (Sulfosalicylic acid) 試驗呈弱陽性爲準; 加入 0.5% 石炭酸或 0.2% 的福馬林; 混



濁度與一般細菌凝集反應等同。在製造過程中，為避免減弱抗原性的因素，注意了 Zinsser 和 Castaneda 二氏不宜加福馬林的提示。我們為了使反應的抗原性能盡早出現，曾試加石炭酸；加福馬林；不加任何化學藥品三組，都經過凍融處理，發現其抗原性出現速度：加石炭酸組為最早，不加任何化學藥品組為次，最遲者為加福馬林組。凍融次數是以供試懸液情況為轉移的，一般 10 次左右即足以“顯露”出抗原性，但加福馬林者有時需凍融 40 次以上。另外，須注意上述各組凍融過度時，往往會引起自家凝集現象而不能使用。

**雞胎抗原：**用 Cox 氏法感染雞胎，取其卵黃囊組織和稀薄卵黃液，首先將卵黃囊磨碎，然後加入卵黃液，經紗布過濾，再以遠心分離出立克次氏體。其後之操縱過程大致與鼠肺抗原相同。

**反應方法：**將血清放在凹玻片上，作二倍連續稀釋，然後加抗原試驗。即先用毛細管吸取少量（一定量）生理鹽水放在凹玻片上，與等量血清充分混合，取其半量再與其次之凹玻片上的鹽水充分混合，以下如此類推稀釋好血清，再用白金耳取一定量的抗原放進上述之稀釋血清中。五分鐘以內即可判斷結果。最高的一個滴度，肉眼往往不易查見，如用凝集鏡觀察，則能清楚地發現凝集現象。

#### 感染普氏立克次氏體的豚鼠於發病及復原期的立克次氏體“凝集反應”

體重 570—850 克豚鼠 14 只，每七只一組共分兩組。一組 (MR21—29) 用感染普氏立克次氏體的豚鼠 MR15 之腦 10 倍生理鹽水乳劑，每只腹腔內接種 1.5 毫升；另一組 (MR30—36) 用上述感染材料稀釋成 500 倍，每只亦取同樣接種於腹腔內。每間隔兩天採血檢驗。感染豚鼠對外斐氏試驗原表現陰性反應，故僅行立克次氏體“凝集反應”，共試驗成績見表一，表二所示。

從上述實驗成績中，可以概括地看到人型痘疹傷寒病毒感染豚鼠的立克次氏體凝集素之消長情況。陽性反應開始出現的時間：10 倍病毒接種組七例中有六例，於剛發熱時顯示弱陽性，發熱第四天 (MR26 是第七天) 始出現陽性反應；500 倍病毒接種組七例中一例於發熱第四天、二例第七天、其他三例更為遲些始出現陽性反應，另有一例直到第 47 天死亡止，一直為陰性。一般，接種病毒量多的豚鼠早出現，而少者則晚出現陽性反應。病毒量的多少，則又是動物感染發病輕重之主要起因。

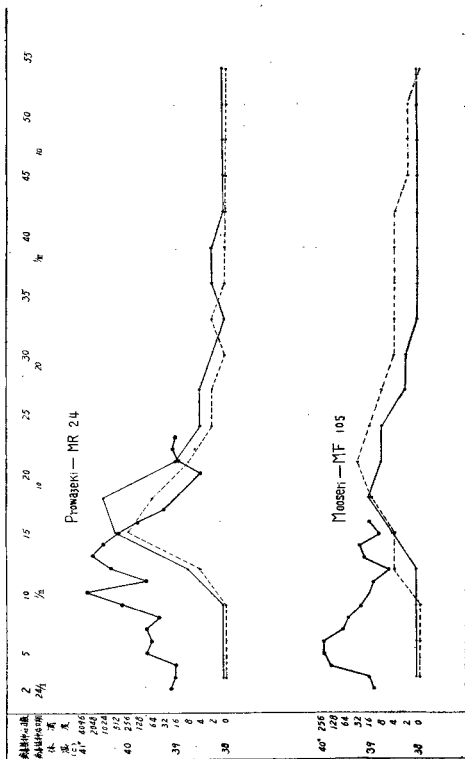
其次，就動物血清出現最高滴度的時間所見，一般是在發熱中間乃至下熱之後，即接種第 15—18 天左右，而下熱一週後則少見。以鼠型抗原 (簡稱 M.A) 與人型抗原 (簡稱 P.A) 檢驗豚鼠免疫血清，其反應最高滴度的出現時間：豚鼠 MR21 M.A 是於發熱第七天 (即下熱前四天，接種第 15 天)；P.A 則於發熱第 10 天 (下熱前四天，接種第 18 天)。MR22 兩抗原均在發熱第七天 (即下熱前八天，接種第 15 天)。MR23 均在下熱第二天 (接種第 18 天)。MR24 M.A 是在發熱第七天 (下熱前兩天，接種第 15 天)；P.A 下熱第二天 (接種第 18 天)。MR25 均在下熱的次日 (接種第 15 天)。MR26 M.A 在發熱第七天 (下熱前兩天，接種第 15 天)；P.A 下熱第三天 (接種第 18 天)。MR29 M.A 於發熱第七天 (約下熱前兩天，接種第 15 天)；P.A 發熱第四天 (約下熱前五天，接種第 12 天)。MR31 均於發熱第 10 天 (下熱前三天，接種第 18 天)。MR32 均為下熱第二天 (接種第 27 天)。MR33 均於發熱第

表一、普氏立克次氏體感染、復原豚鼠的抗血清之滴度

動物號碼	21	22	23	24	25	26	29	30	31	32	33	34	35	36
別種	腦 乳 劑 1:10 1.5ml							1:500 1.5ml						
發熱程度	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
發熱期間	9-18	(9)12 -22	9-14 (16)	9-16	9-14	9-16	9-14 (16)	16-22	9-20	13-25	12-19	(7)12 -18	9(12) -18	9(11) -17
病後經過日數	弱							度						
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	+	(2)	(2)	(4)	(4)	0	(4)	0	0	0	0	0	0	0
15	1024 (512)	256 (32)	8 (8)	512 (256)	128 (64)	64 (64)	16 (16)	0	64 (16)	0	2 (0)	0	8 (8)	0
18	2068 (256)	32 (16)	16 (16)	1024 (16)	32 (16)	128 (32)	16 (16)	0	1024 (512)	0	1024 (256)	0	64 (128)	0
21	64 (256)	16 (16)	8 (8)	16 (8)	16 (32)	32 (16)	16 (8)	0	256 (256)	2 (0)	512 (128)	0	64 (128)	2 (2)
24	32 (64)	32 (32)	4 (16)	4 (2)	16 (16)	16 (16)	4 (8)	0	256 (128)	2 (2)	64 (128)	0	64 (64)	4 (2)
27	16 (64)	8 (16)	2 (4)	4 (2)	16 (16)	16 (16)	8 (8)	0	64 (64)	8 (8)	128 (64)	0	64 (64)	4 (4)
30	8 (32)	8 (16)	2 (4)	2 (2)	(8) (4)	8 (8)	4 (4)	0	32 (64)	8 (8)	128 (64)	0	16 (16)	2 (4)
33	16 (32)	16 (16)	0 (2)	2 (2)	8 (4)	8 (8)	2 (2)	0	32 (64)	8 (8)	8 (16)	0	4 (4)	2 (2)
36	8 (8)	16 (16)	2 (2)	2 (0)	2 (2)	4 (4)	2 (0)	0	32 (64)	8 (8)	8 (16)	2 (2)	4 (4)	2 (0)
39	8 (8)	8 (4)	2 (2)	2 (0)	4 (2)	4 (4)	4 (2)	0	16 (8)	16 (2)	8 (4)	8 (0)	16 (4)	2 (0)
42	8 (8)	8 (4)	2 (2)	0	0	4 (4)	0	0	8 (4)	8 (2)	4 (2)	8 (0)	8 (2)	2 (0)
45	4 (4)	4 (4)	2 (0)	0	0	2 (2)	2 (0)	0	4 (2)	8 (2)	4 (2)	4 (0)	4 (2)	0
48	4 (4)	4 (2)	2 (0)	0	0	2 (2)	0	死亡	8 (2)	8 (2)	4 (2)	2 (0)	4 (0)	0
51	4 (4)	8 (4)	0	0	0	2 (2)	0		8 (0)	4 (0)	2 (0)	2 (0)	2 (0)	0
54	+	2 (0)	0	0	0	2 (0)	0		2 (0)	2 (0)	2 (0)	2 (0)	2 (0)	0
57	0	不明	0	死亡	0	0	0		0	2 (0)	0	0	2 (0)	0
60	0	2 (0)	0	0	0	0	0		0	2 (0)	0	0	2 (0)	0
63	0	0 (2)	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0

注：( ) 中的數字是莫氏立克次氏體滴度，無括弧者則為普氏立克次氏體之滴度。發熱期間中的如(9)即為9日。

表二、感染豚鼠的熱型與立克次氏體“凝集反應”凝集素的消長之關係



七天（下熱前兩天，接種第 18 天）。MR34 M.A 是在接種第 36 天；P.A 第 39 天。MR35 均於發熱第 10 天（下熱前一天，接種第 18 天）。MR36 P.A 於下熱後第七天（接種第 24 天）；M.A 於接種第 27 天始達最高水平。以後滴度漸次下降，M.A、P.A 兩抗原的血清反應變陰性，最早的是在接種後 42 天，遲者為 66 天，一般是在接種後兩個月左右的時間。

從人、鼠兩型不同抗原的試驗，觀察凝集素之消長情況。其中勿論試以何種抗原，就其出現陽性反應以及最高滴度的時間所見，均無顯著差異，即 M.A 出現早的 13 例中有四例；P.A、M.A 同時期的佔七例；而 P.A 早的僅有二例。從不同型的抗原試驗，觀察反應之最高滴度：本型抗原 P.A 高者為多，13 例中有八例；同等滴度者四例；而 M.A 高者僅有一例。其中豚鼠 MR21 顯示了 P.A 1:2058 倍；M.A 1:512 倍之高滴度。凝集素之消失時間：M.A 為早，11 例中有九例；同時消失者三例。由各例各檢查次數來看 P.A、M.A 滴度之高低，大致 P.A 見高，M.A 則低。

#### 感染莫氏立克次氏體的豚鼠於發病及復原期的“凝集反應”

用莫氏立克次氏體“F”株感染大白鼠，然後解剖製成腦、睪丸混合生理鹽水 30 倍乳劑（經度遠心沉澱）分別以三毫升注射 700 公分左右之豚鼠 MF 102, 105, 106, 111, 112；另以 300 倍乳劑三毫升注射於 MF 114, 115, 119, 122 之腹腔內。追加則用豚鼠 MF 104 腦 10 倍乳劑分別以一毫升注射於 MF 123, 124, 125 之腹腔內。各例感染情況一般不佳，其結果見表三及表二所列。

本項實驗，多數例之感染發病情況不够典型，以莫氏立克次氏體感染豚鼠的凝集反應成績與前述之普氏立克次氏體感染例比較，則前者的可靠程度為差，然而，從其中仍能看出一定的事實。首先，概括觀察凝集素之消長：其陽性反應出現的時間多數例（九例中六例）是於症狀消失後，即接種第 15 天左右，在發病期間，呈陽性者較少（三例）。最高滴度的出現：多數例是在第 18、21、24 天（或 17、20、23 天）；發熱的病例是在下熱後四天起至一週內；與普氏立克次氏體感染例比較，不僅是十分遲慢，而且滴度又低，從沒有超越 32 倍以上者。以後滴度逐漸下降，兩抗原的反應變為陰性，最早的是在接種第 29 天，遲者在 60 天左右，一般滴度消失見於 1—2 個月以內。

由兩不同型的抗原實驗所見：初發陽性例多數（八例）於接種後同時期出現。顯示最高滴度之時間：P.A 為早，M.A 則遲，即 P.A 早出現者在 12 例中有六例；同一時期者五例；而 M.A 早者僅有一例。最高滴度就本型抗原所見：M.A 高滴度佔多數（六例）；同等滴度為次（五例）；P.A 高者僅有一例。其次就凝集素消失的時間所見：P.A 早消失者有九例；同時消失者一例；M.A 早消失者僅有一例。從各例及各檢查次數來看 P.A、M.A 滴度之高低，一般 M.A 高；P.A 則偏低，同樣的情況也見於中途死亡的二例。

據 Zinsser 和 Castaneda 二氏的墨西哥及歐洲型之復元豚鼠的血清學檢查，發現勿論何種型血清對該兩型立克次氏體抗原均發生凝集現象。此種情形，亦見於歐洲型血清對墨西哥型抗原的凝集；墨西哥型血清對 Weigl 氏疫苗的凝集。然而，我們重覆上述實驗時，並未看到後者的現象。勿論是對人型或是鼠型抗原，人型斑疹傷寒血清却比鼠型斑疹傷寒血清顯示了很高的凝集效能，兩者之間的關係又頗似外斐二氏的試驗。

表三、莫氏立克次氏體感染、復原豚鼠的抗血清之滴度

動物 號數 (MF)	102	105	106	111	112	114	115	119	122	追 加 例	123	124	125		
	腦漿丸乳劑 1:30 3.0ml					1:300 3.0ml					腦乳劑 1:30 1.0ml				
發熱程度	+	+	+	?	?	-	+	+	?		+	不明	+		
N, M, R	+		+		+	+		+			+	+	+		
發熱期	6-14		4-9		5-15		4-9 7-14				10-16 10-14 7-16				
病毒接種後 經過日數	滴					度				病毒接種後 經過日數			滴		度
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0		
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0		
12	$\frac{2}{(2)}$	$\frac{0}{(4)}$	0	0	0	0	0	$\frac{1}{(8)}$	0	11	0	0	0		
15	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{8}{(4)}$	$\frac{16}{(8)}$	$\frac{2}{(0)}$	$\frac{2}{(2)}$	0	$\frac{8}{(8)}$	$\frac{0}{(2)}$	14	0	0	0		
18	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{32}{(16)}$	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{2}{(0)}$	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{4}{(8)}$	17	$\frac{32}{(32)}$	0	$\frac{2}{(2)}$		
21	$\frac{32}{(16)}$	$\frac{8}{(32)}$	$\frac{32}{(32)}$	$\frac{16}{(32)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{16}{(32)}$	$\frac{2}{(2)}$	$\frac{8}{(16)}$	$\frac{8}{(8)}$	20	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{8}{(4)}$	$\frac{4}{(16)}$		
21	$\frac{32}{(32)}$	$\frac{8}{(16)}$	$\frac{32}{(16)}$	$\frac{8}{(8)}$	$\frac{4}{(8)}$	$\frac{8}{(16)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{16}{(8)}$	$\frac{16}{(32)}$	23	0	0	$\frac{8}{(16)}$		
27	$\frac{4}{(2)}$	$\frac{2}{(8)}$	$\frac{16}{(16)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{2}{(4)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{2}{(4)}$	$\frac{16}{(32)}$	26	$\frac{2}{(2)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{8}{(8)}$		
30	$\frac{4}{(2)}$	$\frac{2}{(4)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{2}{(2)}$	$\frac{2}{(2)}$	$\frac{2}{(4)}$	0	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{4}{(16)}$	29	$\frac{0}{(2)}$	0	$\frac{4}{(8)}$		
33	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{0}{(4)}$	$\frac{8}{(4)}$	$\frac{0}{(2)}$	0	$\frac{2}{(4)}$	0	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{4}{(16)}$	32	0	0	$\frac{4}{(8)}$		
36	$\frac{2}{(0)}$	$\frac{0}{(4)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{4}{(3)}$	$\frac{0}{(4)}$	0	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{8}{(8)}$	35	0	0	死亡		
39	0	$\frac{0}{(4)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{2}{(4)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{0}{(4)}$	$\frac{8}{(16)}$	38	0	0			
42	0	$\frac{0}{(1)}$	$\frac{4}{(1)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{0}{(4)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{4}{(4)}$	$\frac{4}{(8)}$	41	0	0			
45	0	$\frac{0}{(2)}$	0	0	$\frac{0}{(2)}$	$\frac{0}{(2)}$	0	$\frac{0}{(4)}$	死亡	44	0	0			
48	0	$\frac{0}{(2)}$	0	0	$\frac{0}{(2)}$	0	0	$\frac{0}{(1)}$		47	0	死亡			
51	0	$\frac{0}{(2)}$	0	0	死亡	0	0	$\frac{0}{(2)}$		50	0				
54	0	0	0	0		0	0	$\frac{0}{(2)}$		53	0				
57	0	0	0	0		0	0	$\frac{0}{(2)}$							
59	0	0	0	0		0	0	0							
62	0	0	0	0		0	0	0							

由上述結果中，可以清楚看到，立克次氏體“凝集反應”對感染斑疹傷寒的豚鼠免疫試驗所起的重要作用，它完全解決了外斐氏反應對豚鼠免疫血清呈陰性反應的問題。因此，立克次氏體“凝集反應”在血清學中是佔有重要地位的，它不僅可用於實驗室的診斷，而且也有可能應用於斑疹傷寒患者的診斷及流行病學調查方面。

## 結 論

(一) 立克次氏體“凝集反應”對人、鼠型病毒免疫的豚鼠血清，均產生反應。

(二) 立克次氏體“凝集反應”之陽性程度：人型斑疹傷寒病毒感染豚鼠血清為強；鼠型則弱。

(三) 立克次氏體“凝集反應”之初發陽性期：人型的豚鼠免疫血清多數於發熱第四或第七天左右（即病毒接種第 12、15 天）；鼠型的豚鼠免疫血清於發熱期出現陽性者為少，多數見於症狀消失後（即接種第 15、18 天左右）的幾天內。

(四) 反應的最高滴度出現時間：感染人型病毒的豚鼠免疫血清於下熱前後的幾天（即接種第 15、18 天左右）；而鼠型者則略遲於 18、21、24 天左右。

(五) 人型的豚鼠免疫血清，勿論對人型抑或鼠型抗原均呈現高滴度，能達百倍甚至幾千倍以上；受鼠型病毒感染的豚鼠血清則低，往往不超過幾十倍。

(六) 豚鼠感染後，經過一定期間，其反應滴度逐漸降低，人型病毒感染的豚鼠大致於 40 天以後，兩個月以內；鼠型者則較早若干日即轉為陰性。

(七) 以人型病毒攻擊復原的鼠型病毒感染之豚鼠，其血清中不見有凝集素的產生。

(八) 人、鼠型之豚鼠免疫血清與人、鼠型兩抗原之“凝集反應”結果所見：

(1) 人型的豚鼠免疫血清之反應最高滴度，就其本型來看 P.A 為高，M.A 為低；而鼠型的免疫血清則出現與此相反的結果。

(2) 人型的豚鼠免疫血清之凝集素消失時間：M.A 早，P.A 為遲；而鼠型者則出現與此相反的結果。即受鼠型病毒感染的豚鼠血清對鼠型抗原、人型血清對人型抗原分別具有程度不同之特異性作用。由此可利用豚鼠免疫血清對人、鼠型兩抗原“凝集反應”上的差異，進行斑疹傷寒分型診斷。

註：本文係用日文寫出，由清野滋翻譯，孫盛霖校閱。

## 參 考 文 獻 (省 略)

## 斑疹傷寒診斷液

### II. 健康人血清的立克次氏體“凝集反應” 與外斐氏反應比較試驗

岡本良三 孫盛豪 范明遠 朱文杰 韓秀英  
(前大連衛生研究所病理科)

第 I 報實驗結果指出：受普氏 (R. prowazeki) 和莫氏 (R. moosri) 立克次氏體感染的豚鼠，其免疫血清的立克次氏體“凝集反應”呈陽性反應，如此，於感染豚鼠的實驗診斷上，提供了一個甚為適用的方法，該反應完全彌補了外斐氏反應對感染豚鼠為陰性反應的缺點。因此，我們推想，立克次氏體“凝集反應”可能適用於人類的血清學診斷上。我們採取了 60 個健康人血清標本，以立克次氏體“凝集反應”和外斐氏反應進行優劣比較試驗，現將結果扼要報告如下。

#### 材料及方法

斑疹傷寒診斷液：係用 1948 年在大連分離的普氏立克次氏體毒種感染小白鼠，取其肺臟研磨成生理鹽水乳劑，行二次低速一次高速遠心沉澱，加入福馬林制成混懸液，再行交互凍結、融解處理。本診斷抗原滴度的測定，是用感染豚鼠下熱後的免疫血清，其反應滴度顯示 1:256—1024 為准。

血清反應方法：立克次氏體“凝集反應”用凹玻片法，受檢血清按二倍連續稀釋法稀釋。先將玻片標上號碼，用帶橡皮帽之毛細管（畫有 0.01 毫升定量標記）吸取一定量的生理鹽水置於各號玻片上，再取與鹽水等量之滅活受檢血清和第一號玻片上的鹽水混合稀釋，然後取其半量滴入次號玻片上的鹽水中，以下之稀釋如此類推，最後一張玻片上的稀釋血清棄掉半量，另外準備一份不加血清的抗原作對照，最後，用白金耳取一定量的抗原（診斷液）放於各號玻片之凹窩邊緣（先勿與稀釋血清接觸），從最末號玻片（即高倍稀釋的血清）起，以白金耳將抗原和抗體充分混合，於室溫內，當時即能判斷結果。用凝集鏡或肉眼觀察均可，但後者成績要降落一個倍數，陽性與一般細菌的凝集反應略同，根據反應強度不同，有粗大或細小顆粒狀物出現於浮游液中。為使反應迅速出現，須將玻片旋轉搖動幾下為宜。外斐氏反應，按常規使用試管法，抗原為培養 24 小時的 OX<sub>19</sub> 菌浮游液。人血清是取自準備檢驗華氏反應者，經過滅活處理（關於血清滅活與不滅活的比較試驗，準備以後再詳細介紹）。

#### 實驗結果與總結

被檢血清的對象為 30 名蘇聯人和 30 名中國人，兩反應的試驗結果見下表所示（表一、表二）。

表一、蘇聯人反應滴度比較成績

例 號	R “凝集反應”	外斐氏反應
1	0	1:80
2	0	160*
3	0	80
4	0	20
5	0	160
6	0	40
7	0	20
8	2	20
9	0	40
10	0	20
11	0	20
12	0	160
13	0	40
14	0	160
15	0	160
16	0	20
17	0	10
18	0	40
19	0	20
20	2	80
21	2	10
22	0	40
23	0	10
24	0	40
25	0	10
26	0	10
27	0	20
28	0	20
29	0	80
30	0	0

表二、中國人反應滴度比較成績

例 號	R “凝集反應”	外斐氏反應
1	1:2	1:20
2	0	5
3	0	10
4	0	100
5	0	80
6	4	80
7	0	160
8	0	40
9	0	40
10	0	80
11	0	40
12	0	10
13	0	40
14	2	160
15	0	80
16	0	160
17	0	80
18	0	20
19	0	20
20	0	20
21	0	80
22	0	40
23	0	160
24	0	80
25	0	5
26	0	80
27	0	40
28	0	80
29	0	20
30	0	10

30名蘇聯人的立克次氏體“凝集反應”陰性結果有27例，1:2陽性者僅有三例；反之，外斐氏反應陰性者僅有一例，其餘29例全為陽性，其中滴度達1:80以上者有九例。中國人的立克次氏體“凝集反應”結果與蘇聯人相同即陰性者為27例，陽性1:2有二例，1:4一例，反之，外斐氏反應均為陽性，滴度1:80以上者達14例之多。以上檢查例數雖少，但從試驗結果中，仍可看出一定的問題：即兩國健康血清的立克次氏體“凝集反應”陽性例均少，而外斐氏反應之陽性例却非常多。我們認為，這種現象不是後者的反應靈敏度高的問題，因為外斐氏反應對斑疹傷寒以外的人類某些疾病或對某些健康動物亦均能表示陽性反應，上述被檢例均未有斑疹傷寒的病史，我們認為1:4以上的滴度，對斑疹傷寒的診斷是有意義的。根據以上各點，證明立克次氏體“凝集反應”是具有很高特異性的。本“凝集反應”對斑疹傷寒以外的人類疾病之關係，尚須要進一步



的研究和探討。

綜合上述實驗結果，證明健康人類血清的立克次氏體“凝集反應”陽性例極少，而外斐氏反應陽性例則非常多，故前者比後者甚為優越。

## 斑疹傷寒診斷液

### Ⅱ. 斑疹傷寒家兔免疫血清的立克次氏體“凝集反應”

岡本良三 朱文杰 孫盛豪 范明遠 韓秀英  
(前大連衛生研究所, 病理科)

本文作者之一岡本, 以新製備的斑疹傷寒診斷液, 檢驗斑疹傷寒豚鼠免疫血清, 得知該動物的立克次氏體“凝集反應”之滴度於下熱直後最高, 其後逐漸下降, 於兩個月左右便消失(見Ⅰ報)。用健康人血清進行立克次氏體“凝集反應”與外斐氏反應比較試驗, 證明了前者具有高度的特異性(見Ⅰ報)。本文將立克次氏體“凝集反應”及外斐氏反應檢驗感染斑疹傷寒家兔血清內反應物質的消長結果, 作一扼要介紹。

#### 材料及方法

選擇兩公斤雄性家兔四隻(編號為 K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>), 用鼠型斑疹傷寒立克次氏體(“h”種)感染的豚鼠睪丸材料, 製成 1:10 生理鹽水乳劑, 接種於上述家兔睪丸內。每間隔兩日採血一次, 測定血清內反應物質之消長情況。診斷液製備方法及血清學反應方法均同第Ⅰ報。外斐氏反應係於 1:5 稀釋基礎上, 再行二倍連續稀釋(5×2<sup>n</sup>)。

#### 實驗結果

家兔 K<sub>1</sub> 中途死亡。

家兔 K<sub>2</sub> 經兩日潛伏期, 體溫上升至 40°C 並持續六日, 睪丸腫脹。於發病第六日以無菌手術摘出睪丸, 將其鞘膜作塗片染色 [(Giemsa 氏法)], 見大單核細胞內有許多立克次氏體, 取此睪丸一部分製成鹽水乳劑, 復接豚鼠腹腔, 亦發生典型感染。

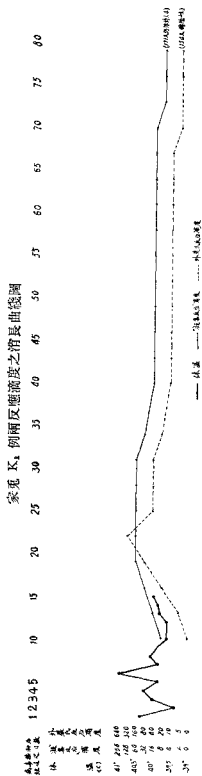
家兔 K<sub>3</sub> 係用 K<sub>2</sub> 餘下的一部分睪丸接種感染的, 家兔接種後 2—5 日有輕度睪丸腫脹, 第八日有輕度熱型, 其它症狀均不明顯。

家兔 K<sub>4</sub> 是用感染豚鼠睪丸乳劑接種的, 接種後第二日稍有熱型和睪丸腫脹, 其它無重要變化。

於家兔感染試驗之前, 曾用立克次氏體“凝集反應”及外斐氏反應檢驗健康家兔血清, 結果, 立克次氏體“凝集反應”檢驗三隻均為陰性, 外斐氏反應八隻中有三隻顯示弱陽性反應。

血清學反應結果:

K<sub>2</sub> 例本例兩反應於病毒接種前均為陰性, 因其它原因於接種 10 日內未作血清學檢查。立克次氏體“凝集反應”於接種第 10 日顯示 1:8, 其後逐漸上升, 至第 19 日(約下熱第 11 日)達最高滴度 1:64, 並持續 13 日, 以後逐漸下降, 於接種第 73 日降至 1:8, 到 171 日仍保持 1:4 的滴度。外斐氏反應到接種第 10 日尚未顯示陽性反應, 第 13 日顯示 1:5, 於接種第 19—22 日反應滴度最高, 其後漸低, 至第 70 日降為



1:5, 141 日表示弱陽性或陰性, 自 154 日以後則完全變為陰性。(詳見圖一所示)。

K<sub>3</sub> 例 本例立克次氏體“凝集反應”, 於接種後第四日尚為陰性, 第六日即出現 1:4, 其後逐漸上升, 第 12 日達最高滴度 1:64, 並保持了一個星期的時間, 以後漸低, 至接種第 58 日降為 1:4, 此滴度的水平一直保持到 166 日。外斐氏反應, 自第 25 日開始檢查為 1:40, 以後漸低, 至 79 日降為 1:10, 135 日顯示弱陽性, 135 日以後則完全變為陰性。

K<sub>1</sub> 例 本例立克次氏體“凝集反應”於接種後第七日出現 1:4, 於 19—31 日之 12 日間滴度最高, 以後漸低, 至 70 日為 1:4, 一直到 157 日仍保持此滴度的水平。外斐氏反應於接種前曾顯示弱陽性反應, 接種後第四日出現 1:10, 以後逐漸上升, 於 16—31 日的 15 日間達最高滴度 1:80—1:320, 其後漸低, 到 112 日仍保持 1:10, 130 日降為 1:5 弱陽性, 以後即變為陰性。

### 總 結

立克次氏體“凝集反應”和外斐氏反應, 通過感染斑疹傷寒的家兔免疫血清試驗, 表明了立克次氏體“凝集反應”具有特異的消長曲綫。接種病毒的 K<sub>3</sub>、K<sub>1</sub> 例家兔, 立克次氏體“凝集反應”於接種四日內均為陰性, 至第七日呈弱陽性反應, 以後逐漸升高, K<sub>1</sub>、K<sub>3</sub> 例於第 19 日始出現最高反應滴度, 而 K<sub>3</sub> 例早在第 12 日即出現最高滴度, 三例滴度以後漸低, 於五個月後仍保 1:4 滴度的水平。經過如此長時間, 用“凝集反應”檢驗, 仍還能證明家兔感染過斑疹傷寒, 感染豚鼠的該反應滴度於兩個月左右即消失, 而家兔滴度的持續時間却比其延長許多。外斐氏反應滴度初期與立克次氏體“凝集反應”平行, “凝集反應”五個月後仍為陽性, 但外斐氏反應則於早期, 即 K<sub>3</sub> 於接種第 154 日, K<sub>1</sub> 135 日, K<sub>1</sub> 130 日即消失。健康家兔的血清學檢查, 外斐氏反應有的呈弱陽性反應, 而“凝集反應”則完全為陰性、如此證明, “凝集反應”對感染斑疹傷寒以外的家兔血清, 不顯示陽性反應。

## 斑疹傷寒診斷液

### Ⅱ. 斑疹傷寒流行時期病人及健康者 血清的立克次氏體“凝集反應”

岡本良三 范明遠 孫盛豪 朱文杰 韓秀英

(前大連衛生研究所, 病理科)

自 Weil 和 Felix 二氏於 1916 年發表了用  $OX_{19}$  變形桿菌和斑疹傷寒患者血清作凝集試驗以來, 外表氏反應即成爲斑疹傷寒血清學診斷上應用最廣的一種方法。以後, Castaneda, Stever 及 Rubinstein 諸氏相繼報告了他們所改進的簡便操做法。但外表氏反應對沙門氏菌症以及其它疾病的類屬反應仍然很強, 此種非特異性反應乃是其嚴重缺點。立克次氏體凝集反應在很早以前即被用於斑疹傷寒血清學的實驗了, 該反應係用立克次氏體抗原, 故具有嚴格特異性, 但因當時供應大量抗原尚有困難, “顯微鏡凝集反應”的手續又較爲繁雜, 故未能被廣泛利用。直至最近十年, 由於抗原的研究有了很大發展, 立克次氏體凝集反應才被廣泛應用。Zinsser [1], Castaneda [2], 河野 [3] 及劉采揚 [4] 諸氏先後用該反應進行斑疹傷寒實驗診斷的研究。在第二次世界大戰期間, Kligler [5] 及 Stuart-Harris [6] 諸氏用立克次氏凝集反應診斷流行性及鼠型斑疹傷寒, 其結果甚爲滿意。該反應之試驗操做方法先後亦有諸多改進, 其中具有代表性的是: Plotz 氏 [7] 法, 該法係用 Cox-craigie 鷄胎卵黃囊法制備立克次氏體抗原, 將抗原 0.25 毫升和等量血清加入肥達氏反應用之小試管中, 經  $42^{\circ}\text{C}$  四小時, 冰箱  $16-18$  小時放置後, 以肉眼判斷凝集結果。此外尚有 Castaneda [8], Fitz-Patrick [9] 二氏的玻片凝集反應法。上述所列舉的方法, 仍嫌反應出現較慢和操作手續不够簡便, 尤其在邊遠地區或疾病流行的現場, 在沒有冰箱、孵箱等設備的條件下, 用立克次氏體凝集反應作迅速診斷尚甚困難。本文作者之一岡本, 曾用凍結融解交互作用的方法處理立克次氏體抗原, 創制了一種比上述各反應甚爲優越的斑疹傷寒診斷液, 該診斷抗原經豚鼠疫血清、健康人血清以及家兔免疫血清的試驗已經獲得了充分證明 (詳見本文 I, II, III 報)。1949 年四月間, 在大連小平島地區流行一種發疹性熱性疾病我們有機會去該地檢驗病人及健康者 (病人家屬) 的血清, 進一步追證了斑疹傷寒診斷液在實際應用上的意義及立克次氏體“凝集反應”的特點。今將試驗結果簡報如下:

#### 材料及方法

抗原制備: 將感染人型斑疹傷寒病毒之鼠肺研磨成乳劑, 加 0.2% 甲醛生理鹽水混懸, 行二次低速二次高速遠心分離、洗滌, 然後將抗原濃縮成約原量的  $1/10-1/30$  並使混懸液含有 0.1% 甲醛。最後將抗原分注試管, 以乾水 (加丙酮) 凍結和溫水融解交互作用, 使其充分“顯露”出抗原性, 然後測定抗原滴度, 分注安瓶備用, 一般於  $4^{\circ}\text{C}$

水箱內可保存半年乃至一年。

血清反應法：係用凹窩玻片法。用普通毛細管（事先在其尖端刻記 0.01 毫升定容刻度）吸取 pH 7.0 生理鹽水按序滴在各號玻片上，然後取等量（0.01ml）受檢血清與第一號鹽水混合，再依次行倍倍稀釋，最後於每號稀釋血清中加等量（0.01ml）抗原混合，搖動玻片使其均勻混合，另備一分不加血清的對照，以肉眼判斷凝集結果。在室溫內反應能立刻出現，因立克次氏體“凝集反應”的特異性很高，即使在最低的稀釋倍數出現陽性反應，也具有診斷價值。一般“+”以上為陽性，其浮游液中出現顆粒狀凝集塊，陰性和對照呈均勻混濁狀。

我們共計檢查了 30 個人的血清標本，其中臨床疑似斑疹傷寒患者和診斷不明者有 19 例，病人健康家屬 11 例，都做了立克次氏體“凝集反應”及外斐氏反應，同時採取

1949 年大連市小平島區斑疹傷寒流行時病人及健康者之立克次氏體“凝集反應”成績

例 號	性 別	年 齡	臨 床 診 斷	病後採血日	血 清 學 檢 查 所 見	
					外斐氏反應	R“凝集反應”
1	女	50	斑疹傷寒	13日	1:160	1:128
2	”	13	”	18 11 16	1280	512 512 256
3	”	28	”	約 10 餘 日	640	128
4	男	27	”	9	40	32
5	女	9	”	11	640	2048
6	男	36	”	約 月 餘	160	256
7	女	17	”	”	80	1024
8	”	11	”	10	1280	2048
9	”	12	”	約 月 餘	80	128
10	”	26	”	”	80	128
11	”	17	”	約 10 餘 日	80	512
12	男	11	”	2	80	4
13	女	34	”	約 10 餘 日	1280	4
14	男	42	”	”	80	128
15	女	38	不 明	不 詳	10	—
16	”	9	”	7	20	—
17	男	36	”	15	10	—
18	女	46	”	1	20	2
19	”	19	”	3	20	—
20	”	23	健 康	”	160	—
21	”	9	”	”	40	2
22	男	25	”	”	10	—
23	女	52	”	”	40	—
24	”	19	”	”	40	—
25	男	17	”	”	40	2
26	女	16	”	”	20	—
27	”	19	”	”	40	—
28	男	13	”	”	20	—
29	”	11	”	”	10	—
30	”	18	”	”	10	—

一部分患者的血液和用患者身上的瘰子制成懸液接種豚鼠，企圖分離病原體，以協助查明本次流行病的本質。

## 實 驗 結 果

(1) 11 例健康人血清的檢查結果：立克次氏體“凝集反應”表示弱陽性者有二例，其餘均為陰性；而外斐氏反應（五倍稀釋法）則全為陽性，其中40倍以上者有五例，一例“凝集反應”呈陰性，而外斐氏反應却達160倍之高滴度。此項試驗結果證明立克次氏體“凝集反應”比外斐氏反應的可靠性為大，並再次證明了本文第Ⅱ報的結論。

(2) 斑疹傷寒患者及診斷不明者血清檢查結果：診斷不明者五例中祇有一例（No.18）立克次氏體“凝集反應”呈陽性，其餘四例均為陰性；臨床診斷為斑疹傷寒的各例，其反應滴度最低者為四倍，最高者為2048倍，“凝集反應”的結果表明，此類患者確為斑疹傷寒。從外斐氏反應的結果看臨床診斷不明例，則全部表示弱陽性反應；對斑疹傷寒患者顯示了超過診斷價值以上之陽性滴度，但其中比較起來，低滴度者（40—80倍）却佔了半數。從上述試驗結果中可以看到，立克次氏體“凝集反應”對斑疹傷寒患者顯示了嚴格的特異性，因此證明該反應方法，可以用來協助我們對斑疹傷寒患者作有意義的診斷。

## 討 論

於血清學試驗同時，我們進行了斑疹傷寒病原分離工作，取四個病例的血液分別接種豚鼠，結果分離出一株立克次氏體；另以兩例患者身上的瘰子製成的乳劑接種豚鼠，則全數呈現典型感染發病，其中一例如“T”株已留作長期傳代。所分離的三株毒種，經本實驗室證明為流行性斑疹傷寒毒種（*Rickettsia prowazeki*）。據我們以往的經驗，患者血液之病毒分離率一般為50%，而這次的分離率却十分低。從病原分離結果中，完全證明了立克次氏體“凝集反應”對斑疹傷寒診斷的正確性。

本試驗使用之斑疹傷寒診斷液，是由感染鼠肺組織提純出來的立克次氏體，經過凍結融解交互作用後所制得之一種特殊抗原。關於立克次氏體經過凍融處理的機轉，我們認為：立克次氏體受凍融交互作用後，可能“顯露”出深部抗原，使其反應靈敏度高於不經凍融處理的立克次氏體抗原。斑疹傷寒診斷液製成後，須先測定其抗原滴度，即將已知免疫血清稀釋至1:256倍或以上時，對制成的抗原仍顯示陽性凝集為準。本診斷液實際應用於斑疹傷寒診斷上，已被確認具有嚴格的特異性（Specificity），因此，它完全可以用於斑疹傷寒病組與其它急性傳染病的鑑別診斷。至於斑疹傷寒的分型診斷，因為我們這次祇準備了單型的抗原，故未能進行比較觀察。

我們從立克次氏體“凝集反應”的一些特點可以看出：玻片凝集法的準確度，實際上不比試管法為遜色，但是要求抗原和抗體間須保持一定量的比例關係，兩者任何一種偏多或過少均能影響反應結果，我們使用之抗原全量比其它學者所報告的為少。關於反應的機能，似可以用一般凝集反應的理論來說明，即反應過程分為兩個階段，第一階段（相）乃是抗原抗體間的特異性結合期，所需時間極短，並且肉眼不能查見；第二階段即形成肉眼所能窺見的凝集現象，其反應出現的速度和第一階段相差幾十倍，此階段乃受

外界理化因素改變的直接影響（如抗原和抗體量的比例關係、溫度、酸鹼度及電解物等諸因素的改變）。關於反應出現的最適宜溫度，歷來各家報告不同，有放置於 42°C [7] [10]、40°C [1] [11] [12]、37°C [2] [3] [13] 及室溫 [8]，其後往往還須經水箱內放置。我們試驗的立克次氏體“凝集反應”第二相出現的速度極為迅速，即本診斷液與患者血清自開始接觸作用起，勿須經過 40°C 水浴箱及水箱放置，於室溫中當時即能判斷結果。而未經凍融處理的立克次氏體抗原，其凝集反應的作用時間，據文獻記載有 5—10 分鐘 [8]，2—5 小時 [1] [2] [3] [9]、24 小時 [13] 不等。最後，我們認為：立克次氏體“凝集反應”不僅是斑疹傷寒有價值的診斷方法，而且尚可能用來作立克次氏體抗原結構的研究。

## 結 論

我們用特製的斑疹傷寒診斷液，在大連市郊熱性病流行地區檢驗了患者及其健康家屬的血清，證明是斑疹傷寒流行，並分離出三株普氏立克次氏體。在實驗中證明，立克次氏體“凝集反應”具有嚴格的特異性和很高的靈敏度。如此證明，我們新試制的斑疹傷寒診斷液是具有一定的優越性的。

## 主要參考文獻

- (1) Zinsser, H. and Castaneda, M.R.: J. Exp. Med., 56:455, 1932.
- (2) Castaneda, M. R. and Zia, S.H.: J. Exp. Med., 58:55, 1933.
- (3) 河野通男: 東京醫事新誌, 2923:825, 1935.
- (4) Liu, P.Y. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83:682, 1938.
- (5) Kligler, I. J., and Oleinik, E. Nature, London, 152:627, 1943.
- (6) Stuart-Harris, C.H., Rettie, G.K.C., and Oliver, J.O. Lancet, 2:537, 1943.
- (7) Plotz, H. et al.: A. J. Hyg., 47:150, 1948.
- (8) Castaneda, M.R.: J. Immunol., 50:179, 1945.
- (9) Fitz-Patrick, F.K.: J. Lab. & Clin. Med., 30:577, 1945.
- (10) Addison, B. et al.: A. J. Hyg. 47:166, 1948.
- (11) Hudson, N.P.: J. Infec. Disc., 67:277, 1940.
- (12) Nelson, C. T.: J. Lab. Clin. Med., 32:360, 1947.
- (13) Liu, P.Y., Zia, S.H. and Wang, K. C.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 38:682, 1936.

## 利用超聲波處理的斑疹傷寒診斷抗原

### “凝集試驗”之初步報告

范明遠 邢文新 崔錦家

#### 前 言

最近關於立克次氏體血清學的研究有顯著進展，用立克次氏體凝集反應和補體結合試驗進行立克次氏體病的診斷、鑑別和流行病學調查以及毒種檢定等均獲得很大成果。立克次氏體凝集反應不僅具有嚴格的特異性，且其操作技術亦甚為簡便。凝集反應當推玻片方法為最簡易，需用之抗原量較試管法為少，但反應出現的速度還不够理想，需經過溫箱 5—6 小時和水箱過夜的放置始能記取結果(1×2)。值得提出的是 Castaneda 的玻片反應法(3)，他用每批 20 個小鼠肺制成 5—10 毫升抗原，先將受檢血清稀釋成各種滴度，然後取上述抗原一滴放在玻片上與稀釋血清混合，在 15°C 環境中經過短時間旋動(16r.p.m.)，最快在 5—10 分鐘即能判讀結果。該反應出現的速度在有關凝集反應的實驗報告中是屬於最快的一個方法。除了考慮影響反應出現速度的外界環境諸因素之外，就如何處理抗原自身的問題亦很重要。關於促進立克次氏體發揮抗原性問題，岡本(4)曾用交互凍結融解方法處理斑疹傷寒診斷液，在“凝集試驗”中證明該抗原具有很高的靈敏性，其反應最快可於五分鐘內出現。關於立克次氏體“凝集反應”和外斐氏反應的特異性問題，有人做過試驗證明前者具有嚴格特異性，岡本等就以健康人血清，動物免疫血清以及斑疹傷寒病人血清等作了兩反應的比較試驗也證明了這個問題(5×6)(7)。大家知道，立克次氏體凝集反應亦可用於斑疹傷寒分型診斷。流行性和鼠型斑疹傷寒病原體雖具有各自的特殊性抗原，但兩型之間却又有若干交互免疫性。早在 1932 年 Zinsser 等(8)以普氏(R. prowazeki)及莫氏(R. mooseri)立克次氏體與其兩型免疫血清進行凝集試驗，證明兩型之間呈交互凝集反應。Plotz(9)，Fulton(10)等先後報告了普氏和莫氏兩型立克次氏體在免疫學上具有相同性質的可溶性抗原。Shepard 等(11)用電子顯微鏡檢查普氏和莫氏立克次氏體，看到兩病原體均有英膜樣物質，並證明該物質即為可溶性抗原。交互凝集現象雖對斑疹傷寒病原分型診斷有若干影響，但一般根據對同型凝集價較高的特點進行鑑別診斷仍還有一定的意義。岡本(4)用流行性及鼠型斑疹傷寒診斷液檢驗兩型的豚鼠免疫血清，亦證明了同型抗原抗體之凝集價高於異型。Plotz 等(9)將抗原進行充分洗滌，獲得了高度純淨的立克次氏體特殊性抗原，因流行性抗原不含有鼠型的可溶性抗原，故與同型的抗血清作凝集試驗，便呈現十分特異的反應。本試驗是於上述凍融法處理抗原的基礎上提出一新的途徑；即用超聲波處理斑疹傷寒診斷抗原，以提高立克次氏體“凝集反應”的靈敏性。因本試驗祇准備了單一的普氏立克次氏體抗原，並又未採取 Plotz 的除可溶性抗原法，故未作流行性與鼠型斑疹傷寒特異性的鑑別試驗。以健康人血清及斑疹傷寒豚鼠免疫血清進行“凝集試驗”，證明超聲波立克次氏



體抗元對斑疹傷寒具有一定的診斷意義；且該抗元的“凝集反應”具有高度靈敏性。今將初步試驗結果報告如下。

## 實 驗 方 法

抗元制備方法：試制抗元所用的“T”毒種係由流行性斑疹傷寒病人的衣殼分離出來的；經豚鼠心血接傳了40代，感染小白鼠呈典型發病。抗元是用含有豐富立克次氏體的鼠肺，經砂磨碎加入 0.2% 甲醛生理鹽水初步制成均勻乳液，然後將該液以每分鐘 1,000—1,500 轉進行遠心分離沉澱 5—10 分鐘，除去組織碎屑及砂粒，收取上清液高速遠心沉澱（每分鐘10,000轉）35—45分鐘，棄去上清，收留沉在管底的立克次氏體，再加入甲醛生理鹽水，用如上的低、高速遠心沉澱共重覆二次，最後稀釋成 10% 並含 0.1% 甲醛的懸液。

超聲波處理抗元方法：取上述抗元懸液按 200 毫升分裝於特制的超聲波大試管中，然後，放在頻率 560 千週，屏極電壓 3500 伏特，屏極電流 550 毫安培的超聲波上作用五小時。同時為了防止溫度升高，以冷水通至冷凝管使發射槽中的油溫不超過 28°C，超聲波大試管中懸液的溫度最高不超過 37°C，經過超聲波作用後的懸液靜置於室溫中數小時，可自行分離為兩層，再略行低速遠心分離除去沉渣，其上清即成為超聲波立克次氏體抗元，放於水箱中備用。

血清：供試血清有兩種，（一）取自本所血庫的30份健康供血者的血清；（二）15份斑疹傷寒豚鼠免疫血清。豚鼠免疫血清制備方法：選擇體重約 700 克的豚鼠15只分為兩組，一組（八只）接種流行性斑疹傷寒病毒，感染材料係用“T”毒種感染的豚鼠腦 1:10 生理鹽水懸液，每只豚鼠腹腔內接種 2.0 毫升；另一組（七只）則用鼠型斑疹傷寒病毒“C”毒種感染的豚鼠辜丸生理鹽水懸液稀釋成 1:30，分別以此病毒懸液 3.0 毫升接種豚鼠腹腔。上述兩組豚鼠感染後，流行性病毒組的豚鼠經 7—9 日潛伏期後開始有熱型，熱期持續 4—8 日，於退熱前（即接種後15日左右）採血試驗，鼠型組的豚鼠經 4—5 日潛伏期即開始發熱，熱型保持 4—6 日，辜丸發生不同程度的 Neill-Mooser 反應，於退熱後數日（即接種後16日左右）採血試驗。

凝集反應方法：先將受檢血清稀釋成 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 倍。取四張潔淨玻片，每片標記兩個號，四片按序標上 1—8 號（即代表 1:2—1:256 八個血清稀釋度），用很細的毛細管吸取生理鹽水，於每號玻片上放置一滴（約 0.01 毫升）；另取等量受檢血清先與第一號生理鹽水混合稀釋，取其半量再與第二號鹽水混合稀釋，以下如此類推，末號之稀釋血清棄去半量；然後取等量抗元放於各號玻片上，依次從高倍稀釋血清向低倍的方向混合；同時分別以抗元（0.01 毫升抗元+0.01 毫升生理鹽水）和血清（0.01 毫升血清+0.01 毫升生理鹽水）作對照。用手旋動玻片，使抗元和血清充分混合，在室溫中當時判讀結果。肉眼檢查，陰性反應呈輕度混濁狀，陽性反應凝集清楚；其浮游液中有細粒狀凝集塊者記作“+”，有清楚凝集塊其周圍尚混濁者為“++”，有大凝集塊其周圍完全透明者為“+++”，“++”以上者為陽性。同時，並試以外斐氏反應以資比較，該反應之抗元為培養 24 小時的  $O_{12}$  變形桿菌。

## 實 驗 結 果

### (1) 超聲波作用抗原的時間與陽性“凝集反應”出現的關係

我們根據抗原懸液的性質，濃度和控制超聲波的條件，將抗原放在超聲波上作用15分鐘~5小時各種不同時間，以觀察超聲波對抗元促進刺激作用的適宜時間。用斑疹傷寒標準免疫血清測定上述的超聲波抗原，結果發現超聲波作用三小時及三小時以上時間的抗原顯示了陽性“凝集反應”，一小時僅出現弱陽性反應，五小時則為強陽性，超聲波作用抗原的適宜時間為五小時。

(表一)

表一 超聲波作用抗原的時間與“凝集反應”的關係

超聲波作用時間(分)	15	30	60	180	300
立克次氏體“凝集反應”的強度	-	-	+	++	+++

### (2) 超聲波抗原與健康人血清及斑疹傷寒豚鼠免疫血清的“凝集反應”結果

健康人血清的“凝集反應”結果：30份健康人血清的“凝集反應”和外斐氏反應比較試驗結果如表二所示。

表二 健康人血清之“凝集反應”與外斐氏反應比較試驗結果

例號	稀釋血清之凝集效價		例號	稀釋血清之凝集效價	
	R. “凝集反應”	外斐氏反應		R. “凝集反應”	外斐氏反應
1	0	10	16	0	20
2	0	20	17	0	10
3	0	40	18	2	20
4	0	40	19	0	40
5	0	20	20	0	20
6	0	40	21	0	40
7	16	40	22	0	80
8	0	20	23	0	30
9	0	20	24	0	40
10	0	10	25	0	40
11	0	20	26	0	20
12	0	20	27	0	40
13	0	80	28	0	160
14	0	40	29	0	80
15	0	40	30	0	40

從表二中可以看出，“凝集反應”陰性結果有 28 例，其餘 1:2 弱陽性者有一例，1:16 陽性者一例；而外斐氏反應則全部呈陽性反應，30 例中呈 1:10 弱陽性反應者有四例，陽性者有 26 例，其中 1:20 佔 10 例、1:40 者 12 例、1:80 以上者為四例。由此項試驗結果中證明超聲波抗原的“凝集反應”比外斐氏反應顯示了較高的特異性。

表三 豚鼠免疫血清的“凝集反應”結果

免疫血清	抗原	稀釋血清之凝集效價			
		1:16	1:32	1:64	1:128
流行性斑疹傷寒“T”血清	立克次氏體	1	1	4	2
鼠型斑疹傷寒“R”血清	”	2	5	—	—

豚鼠免疫血清的“凝集反應”結果：

以超聲波抗原和 15 份豚鼠免疫血清進行“凝集試驗”，結果全為陽性，其中 1:16 陽性者有三例、1:32 六例、1:64 四例、1:128 二例。僅從已知的流行性及鼠型兩免疫血清和流行性抗原的試驗結果看來似有區別(表三)。

從表三中可以看出，八例流行性斑疹傷寒稀釋血清的陽性凝集價 1:16 者有一例、1:32 一例、1:64 四例、1:128 二例；七例鼠型免疫血清 1:16 者有二例、1:32 者五例。流行性血清組八例中 1:64—1:128 高凝集價即有六例，而鼠型組七例均在 1:32 倍以下。

僅就此試驗結果顯示了流行性血清的凝集價高於異型。從本項試驗結果中再次證明超聲波抗原的“凝集反應”是具有較高的特異性的。從上述健康人血清及豚鼠免疫血清的“凝集試驗”中，已經充分證明超聲波斑疹傷寒診斷抗原具有高度靈敏性，反應結果出現極為迅速，即抗原和抗體的結合勿須經解箱及水箱放置，於室溫內當時即能判斷結果，因此，超聲波抗原“凝集反應”的靈敏性完全可與凍融抗原相比擬。

## 討 論 與 總 結

從健康人血清的試驗中，得知外斐氏反應全部呈陽性反應，並且其中稀釋血清1:40以上的高凝集價佔了全部被檢例的53.3% (16例)；超聲波抗原的“凝集反應”僅有二例血清呈陽性反應，佔全部被檢例的6.7%。我們認為，稀釋血清在1:4以上的陽性凝集價始具有診斷意義，因此前述二陽性反應例僅有1:16一例(N<sub>67</sub>)值得考慮，此例在查血當時是未患斑疹傷寒的，但我們未能確知該例在查血以前曾否患過斑疹傷寒，對此尚具疑問。健康人血清的外斐氏反應全部呈陽性反應，這一點與岡本等的試驗結果完全相同<sup>(5)</sup>，此種現象我們亦認為不能以外斐氏反應靈敏性高於“凝集反應”的原因來解釋，因為外斐氏反應不限於對立克次氏體病產生陽性反應，故其非特異性顯然是健康人血清呈陽性反應的主要原因。

超聲波對微生物(抗原)作用的機轉尚不十分明瞭。超聲波具有物理作用，氧化作用及發熱作用的特點，故根據試驗所要求的目的應適宜調配這三個條件；如果超聲波使用適當能促進抗原性充分發揮，相反則能使抗原受到某些不良影響<sup>(12)</sup>。Babudieri<sup>(13)</sup>曾試驗Q熱血清的凝集反應，他為了使病原體充分疏散和避免其任何極小的聚集，而以較長時間的超聲波作用進行處理。我們認為，超聲波作用抗原懸液時，由於超聲波能的影響，懸液中不斷產生空泡，空泡受到壓力影響後又陸續消失，如此，空泡反覆產生和消失對抗原即開始發生作用，經過一定時間，將立克次氏體完全自殘餘的組織成分中分離出來，成為極純淨的、分散的個體，並且刺激抗原性發揮出來。以此超聲波抗原進行“凝集試驗”顯示了高度的靈敏性。因此，證明它與凍融法處理抗原的試驗結果相類似，比不經過處理的抗原為優越。超聲波抗原的特點在實驗室中已獲得初步證實，因此，預計該抗原對臨床斑疹傷寒病人的診斷以及抗原結構的研究等方面可能具有一定的實際意義。

(1) 用超聲波法處理立克次氏體懸液，試製成一種對斑疹傷寒具有診斷意義的特異性診斷抗原。

(2) 超聲波抗原和健康人血清及斑疹傷寒豚鼠免疫血清的“凝集反應”具有高度的靈敏性。

## 主要參考文獻

- (1) Fitz-patrick, F.K.: J. Lab. & Clin. Med., 30:577, 1945.
- (2) 北岡正見: 綜合醫學, 4:64, 1947.
- (3) Castaneda, M.R.: J. Immunol., 50:179, 1945.

註: 本實驗承魏鳴所長給予熱情鼓勵; 本文又承魏文影主任審閱; 為此一併表示謝忱。

- (4) 岡本良三: 本刊 290 頁。
- (5) 岡本良三, 孫盛毫等: 本刊 297 頁。
- (6) 岡本良三, 朱文杰等: 本刊 300 頁。
- (7) 岡本良三, 范明遠等: 本刊 302 頁。
- (8) Zinsser, H. & Castaneda, R.: *J. Exp. Med.*, 56:455, 1932.
- (9) plotz, H., Wertman, K., Bennett et al: *Proc. Soc. Exp. Biol, Med.*, 57:336, 1944.
- (10) Fulton, F. & Begg, A.M.: *Research Council. Spec. Rep.* 255:163, 1946.
- (11) Shepard & Wyckoff: *Pub. Health. Rep.* 61:761, 1946.
- (12) 山内豊紀: 大連衛生研究所彙刊, 一卷二期, 27頁, 1951年。
- (13) Babudieri, B.: *Advances in the Control of Zoonoses, World Health Organization Monograph Series No. 19:199, 1953.*

## 乾燥斑疹傷寒疫苗的研究(初步報告)

孫盛豪 朱文杰

### 緒 言

近年來，由於適合於立克次體大量繁殖的動物及感染方法相繼被發現，大量滿足預防接種需要的斑疹傷寒疫苗有系統的製造工作始有可能。(1,2,3,4,5,6)

中央生物製品研究所以及長春生物製品研究所用雞卵製造斑疹傷寒疫苗獲得了很大成績，在一定時期內滿足了實際預防的需要。(7,8)

自1946年，我們開始逐漸由小量到大量生產實際預防用的小白鼠肺和雞卵斑疹傷寒疫苗並給我們目前斑疹傷寒疫苗的製造工作打下了有力的基礎。(9)

學習蘇聯法規後製造的疫苗，用抗毒免疫方法測定，具有很高的免疫効價，動物即使接受很少量的疫苗注射，也能保護二個50%致死量(LD<sub>50</sub>)毒素的攻擊；疫苗稀釋至1:1600免疫動物，尚可保護75—100%的小白鼠免於毒亡。

液體疫苗在適宜條件下保存(0—5°C)，疫苗的免疫性和物理性在一年半以上的時間內並未發生變化。(10)相反，在22°C或37°C溫度下保存三個月，以同樣方法測定疫苗効力則出現不同情況，疫苗稀釋1:700免疫小白鼠時不能耐過二個LD<sub>50</sub>致死量毒素的攻擊，經低倍稀釋測定該批疫苗効力降到1:350以下。(11)在低溫度凍結融化以後疫苗効力也非常不穩定。由此可見，保存條件對疫苗的影響很大。

最近，生物製品工作上陸續採用凍結乾燥方法保存菌種、製備乾燥製品。我們知道，乾燥製品對外界環境的變化相當穩定。

Kapacena(12)氏在乾燥斑疹傷寒疫苗的抗原性和免疫原性的研究中指出，於室溫(20°C)保存乾燥疫苗，三年內疫苗的免疫原性未發生任何改變，於40°C保存者疫苗効力相應減低。Kapacena在1954年的報告中沒有提及疫苗的乾燥方法，乾燥本身對疫苗効力的影響以及乾燥基質的選擇等。

我們的工作一方面是證明上述問題，另外以不同的乾燥條件進一步研究乾燥疫苗的實用價值。

### 材 料 和 方 法

製造疫苗的材料是經鼻腔感染小白鼠肺。將鼠肺研磨沉澱加0.1%福麻林蒸溜水使成較純淨的立克次體懸液。再用乙醚處理製成非常純淨而且透明的懸液，用此懸液做無菌試驗證明無細菌生長時則留作乾燥之用，同時將此懸液分出一部分製備液體疫苗作為乾燥疫苗的試驗對照。

我們採用三種基液進行疫苗乾燥。預先配製蔗糖筋膠、乳糖筋膠修正pH至7.2，第

三種則不加任何基質以無菌蒸溜水代替，觀察不同基液對乾燥疫苗効力的影響。

上述三種基液分別混以等量疫苗（此時蔗糖、乳糖為10%，而筋膠成為1%）進行分裝，每只安瓶的裝量分為1.5毫升與0.75毫升二種。裝有疫苗的安瓶放在乾冰—丙酮混合物的容器內，於-50°C的溫度下凍結，經過一定時間，把安瓶移於乾燥罐中連通真空機（5/1000毫米水銀柱）排氣20小時，在乾燥過程中間根據疫苗的乾燥程度而變換乾燥環境的溫度以減少疫苗中的含水量。

疫苗乾燥以後將安瓶真空封口，然後和液體疫苗一起置於實驗室氣溫、37°C 溫箱、0—8°C 冰箱等不同試驗溫度下保存。

經過不同時日，用乾燥和液體疫苗定期進行動物免疫試驗觀察疫苗的免疫原性和抗原性變化情況。

為了試驗乾燥過程對疫苗効力的影響，在乾燥前後用乾燥和液體疫苗免疫小白鼠進行抗毒免疫試驗。

每一批疫苗，預先用緩衝鹽水稀釋成 1:320, 1:384, 1:448, 1:832, 1:1152, 1:1536, 各取 0.5 毫升注射小白鼠腹腔，免疫後第14天進行立克次體攻擊注射。

立克次氏體毒素為同株立克次氏體感染小白鼠肺的濃稠懸液，經低速高速沉澱洗滌以後，稀釋至 1:8, 1:16, 1:32, 1:64……

用每一稀釋度的 0.5 毫升經尾靜脈注射小白鼠測定毒力，最後算出50%致死鼠。免疫小白鼠用 2 個 LD<sub>50</sub> 或 4 個 LD<sub>50</sub> 毒素注射，對照組和試驗組的免疫動物相同，也採取上述各倍立克次氏體毒素尾靜脈注射。

立克次氏體毒素致死力很強，短時間就能殺死小白鼠，因此，抗毒免疫試驗在24小時以內判定結果。

## 試驗結果

乾燥前液體疫苗免疫的小白鼠，用 2 個 LD<sub>50</sub> 立克次氏體毒素攻擊注射的結果，由第一表可以看出，疫苗稀釋至 1:1536 尚能保護小白鼠不死。

第一表 乾燥前液體疫苗効力試驗

疫苗稀釋	二個LD <sub>50</sub>	四個LD <sub>50</sub>
1:320	94	94
1:384	94	94
1:448	94	94
1:832	94	94
1:1152	94	94
1:1536	94	94
對 照	94	94

注解：分子為死亡小鼠數，分母為免疫小鼠數

用 4 個 LD<sub>50</sub> 毒素注射時，至少可保護 75% 小白鼠不被毒死，可見，乾燥前液體疫苗的抗毒効價很高，可以達到 1:1536 以上。

乾燥後，用不同基質乾燥疫苗免疫小白鼠，再以 2 個 LD<sub>50</sub> 立克次氏體毒素攻擊注射的結果，如第二表所指，第一批蔗糖筋膠乾燥疫苗稀釋至 1:1536 能使 50% 小白鼠免於死亡。第二批疫苗効力較低只能保護到 1:448。

第一批乳糖筋膠乾燥疫苗 1:1152 的能保護 50% 小白鼠不致死亡，這一點比蔗糖筋膠乾燥疫苗第一批効力稍差。而稀釋至 1:448 可保護 100% 小白鼠耐過 2 個 LD<sub>50</sub> 毒素的攻擊。

用蒸溜水乾燥的疫苗，第一批稀釋至 1:384 免疫

後有 100% 小白鼠能耐過 2 LD<sub>50</sub> 毒素的攻擊，1:832 稀釋者尚可保護 50% 小白鼠不死。第二批稍不規律，但從疫苗効力測定結果來看 1:448 稀釋疫苗仍然有效。

第二表 不同基質乾燥疫苗的効力試驗

疫苗稀釋度及 小白鼠死亡 疫苗批號		1:320		1:384		1:448		1:832		1:1552		1:1536		對 照	
		總數	生存數	總數	生存數	總數	生存數	總數	生存數	總數	生存數	總數	生存數	總數	生存數
蔗糖筋膠	第一批	4	4	4	3	4	2	4	2	4	2	4	2	4	0
	第二批	4	2	4	2	4	4	4	0	4	0	4	0	4	0
乳糖筋膠	第一批	4	4	4	4	4	4	4	2	4	2	4	0	4	0
	第二批	4	3	4	4	4	4	4	0	4	1	4	2	4	0
蒸 溜 水	第一批	4	4	4	4	4	3	4	2	4	0	4	0	4	0
	第二批	4	2	4	3	4	4	4	0	4	0	4	0	4	0

註解：攻擊注射全部使用 2LD<sub>50</sub> 立克次氏體毒。

總起來說，不同基質的乾燥疫苗第一批均比第二批的疫苗効力高。必須指出，第一批疫苗是用 10 毫升容量的安瓶分裝 1.5 毫升的疫苗而進行乾燥的，而第二批用的是 2.5 毫升容量的安瓶分裝 0.75 毫升的疫苗。

## 討 論

根據不同基質乾燥疫苗効力測定情況，我們認為蔗糖筋膠與乳糖筋膠乾燥疫苗大致相同，用蒸溜水乾燥者疫苗効力較差。

同樣的時間內乾燥完畢以後，測定乾燥物品的含水量出現相異的結果，蔗糖筋膠與乳糖筋膠乾燥疫苗的含水量為 1.8—2.0%，而不加基質用蒸溜水代替基質者比上二種的含水量高出一倍為 4.5%，可見，無基質的蒸溜水疫苗在乾燥過程中水分的放散率最低。

水分含量是乾燥物品保存期間長短的決定因素之一，在後期準備進行的不同保存條件對疫苗効力影響的試驗可能看出區別，本試驗中蒸溜水乾燥疫苗効力之低除與含水量有關係以外，乾燥基質的存在是很重要的。不僅如此，乾燥基質的選擇、基液和立克次氏體懸液的濃度對疫苗効力的保護作用及乾燥速度也有一定影響。

其次乾燥物品的面積直接影響着水分的放散，乾燥物品的面積越大越能保證乾燥時間的縮短。從試驗中證明，用 10 毫升容量安瓶分裝 1.5 毫升欲乾燥的物品比用 2.5 毫升容量安瓶分裝 0.75 毫升要來得好，雖然乾燥物品的含水量未因容器大小有所不同，但就二種容器乾燥疫苗効力情況可看出，不論用何種基質，大的容器比小的容器乾燥出來的疫苗効力高，這也說明，疫苗効力和乾燥程度有很大關係。

用小型裝置進行乾燥盡量使真空抽氣機和乾燥罐之間的連通裝置縮短並在乾燥罐中分層放置有效的脫水劑對乾燥結果具有很大意義，條件允許時最好使用五氧化二磷，我們使用的是氫氧化鈉，較純淨的氫氧化鈉的脫水作用相當令人滿意，這不僅對於乾燥物品有利而且使昇華的水蒸汽避免直接進入真空抽氣機，而延長機器的使用壽命。

以抗毒免疫方法測定乾燥前後疫苗的抗毒効價證明，疫苗効力在乾燥中受到了一定

損失。

乾燥前稀釋至1:1536的疫苗用來免疫小白鼠有100%能耐過2個LD<sub>50</sub>毒素的攻擊。而乾燥後，蔗糖筋膠疫苗只能保護住1:1536疫苗免疫的50%小白鼠不死。乳糖筋膠疫苗稀釋至1:448始能保護100%小白鼠不死亡。由此可見，疫苗効力在乾燥過程中大約降低2—3倍。乾燥本身對疫苗効力雖有影響，但疫苗的免疫特性並未喪失。以1:448稀釋度來說，仍然保持斑疹傷寒實際預防使用疫苗有効標準的最高要求。

以前在立克次體毒種乾燥試驗中證明，凍結並不能減少活立克次體數，對這個有影響的主要是真空排氣過程或拖長凍結後到乾燥的時間，由於溫度升高凍結物品融化所造成的。基於這種情況，適當地改進乾燥設備、減少乾燥需要時間對立克次體疫苗的乾燥效果亦同樣是重要的。

關於乾燥疫苗和液體疫苗在不同條件下保存時間及効力變化問題準備在下一個報告中進行討論。

## 結 論

1. 本試驗闡明乾燥前後斑疹傷寒疫苗効力變化情況並在乾燥基液的選擇上作了對比，簡單地述及疫苗的乾燥心得。

2. 斑疹傷寒疫苗的抗毒免疫効價在乾燥後，大約減低2—3倍，但並未喪失疫苗的免疫特性，尚能達到目前實際預防用疫苗有効標準的最高要求。

3. 影響疫苗効力的因素與冷凍無關，主要是真空排氣過程或凍結後溫度升高造成的。

4. 蔗糖筋膠乾燥疫苗和乳糖筋膠乾燥疫苗効力沒有明顯差別，不加任何基質單以蒸餾水乾燥者因無基質保護，効力較差。

本試驗蒙我所第五室及第八室同志們大力協助，第二室韓秀英，張繼成、張子奇等同志給予具體幫助於此深表謝意。

## 參 考 文 獻

1. Castaneda, M.R., Amer. J. Path., 15; 467, 1939.
2. Durrand, and Giroud, P., G.R. Acad. Sci. 210; 493, 1940.
3. Durrand, and Sparrow, H., G.R. R. Acad. Sci. 210; 420, 1940.
4. Cox, H.R., Publ. Health Rep. 53; 2241, 1938.
5. Cox, H.R., Publ. Health Rep. 54; 1070, 1939.
6. П.Ф. Здродовский и Е.М. Голиннич: Учение О риккетсиях и риккетсиозах, Издание второе; 420, 1956.
7. 中央生物製品研究所斑疹傷寒室學習資料
8. 中央長春生物製品所，衛生防疫資料彙編；第七輯，7, 1955
9. 大連生物製品研究所，生物製品技術操作規程，1953
10. 趙樹蒼等，生物製品通訊，第二卷第一期；40, 1957
11. 大連生物製品研究所所檢定科試驗資料（未發表）。
12. П.С. Карасева, Журн. Микроб. Эпидемиол. Иммунобиол., 7; 15, 1954.



# 斑疹傷寒兔肺疫苗

范明遠 魏文彬

## 前 言

現代許多國家生產斑疹傷寒疫苗是用 Durand—Sparrow 鼠肺、Cox—Craigie 鷄胎卵黃囊及 Weigl 蝨腸的方法。有關用兔肺感染斑疹傷寒病毒及試製兔肺疫苗的研究，僅有十餘年歷史，所累積的資料亦寥寥無幾。Castaneda (1939) (1) 首次用含有鼠型病毒的豚鼠單丸囊懸液經呼吸道感染家兔，在肺中見有病毒生長。Durand 和 Sparrow (1940) (2) 曾指出，流行性斑疹傷寒病毒能成功地感染小白鼠，而兔肺內立克次氏體的增殖則很少令人滿意，並且容易再感染。Durand 和 Giroud (1940) (3) 將斑疹傷寒病毒材料用人及馬血清製成混懸液，接種家兔呼吸道，試製了具有一定免疫性的兔肺疫苗。一般，家兔對斑疹傷寒，特別是流行性病毒不太敏感，因此，生產兔肺疫苗在實際上還有許多困難，為了解決此問題，首先必須設法增強家兔對斑疹傷寒立克次氏體的感受性。Giroud (1947) (4) 用 6% 兔肺病毒懸液八毫升接種家兔氣管後，將該兔放置於 4°C 環境中，第五日剖檢，見整個肺已形成肝樣變，其重量達 40 公分。筆者之一(魏)於 1949 年在法國巴士德研究院 Giroud 氏實驗室工作時，曾看到他們已經用兔肺大規模生產斑疹傷寒疫苗。在我國尚未見到有關這方面的研究報導。我們曾追試 Giroud 氏的感染家兔寒冷處理法，但沒有成功，根據我們具體條件，曾試以絕食和寒冷併用法前處理家兔，增強了家兔對斑疹傷寒病毒的感受性，從而引起規律發病和肺內立克次氏體的大量增殖，我們前後試製了 20 批兔肺疫苗。以下就普氏立克次氏體 (*Rickettsia prowazeki*) 感染兔肺試驗及其疫苗試製的結果，做一摘要報告。

## 實驗材料及方法

(1) 實驗動物 取自小動物室繁殖的沒有呼吸道疾病的健康家兔，體重二公斤左右，雌雄兼用。

(2) 感染材料 係用大連流行性斑疹傷寒患者的衣囊分離出的普氏立克次氏體“T”株。初代家兔是用感染的小白鼠肺臟材料接種，即選擇含有豐富立克次氏體且無雜菌的小白鼠肺研磨，製成生理鹽水乳劑，略行低速遠心沉澱，然後再稀釋成 10 倍生理鹽水懸液感染兔肺。第二代以後之家兔，則用感染兔肺作接種材料，其操作過程大致同上。

(3) 絕食、寒冷併用處理家兔法 自小動物室取來家兔，首先檢查健康狀態、體溫和體重，然後將牠放進 6°C 冰室內並停止給食。家兔經三天“飢寒交迫”的影響，體質漸衰，體重平均減輕了 165 公分；體溫亦略有降低。於第三天接種病毒，其後仍放回原處，但開始每日給食一次。對照組八隻家兔，在病毒接種前不作任何前處理，接種後

同上。

(4) 氣管接種方法 家兔氣管接種，只須要一個人操作。接種病毒前，先剪掉家兔前頸部的毛，塗 5% 碘酒及酒精消毒；操作者坐在凳上，將家兔豎立狹於兩膝間固定，勿須麻醉，僅用布片覆蓋住兔之口鼻部，預防懸液向外噴濺；操作者以左手拇指把家兔下頰上揚，食指固定前氣管部，其他三指墊在兔的後頸部略推氣管向前；右手把注射器（10毫升，21 號或略粗之銳利針頭）針頭刺進喉頭下部的氣管腔，欲檢查是否刺中，可略將注射器內筒回抽，如懸液出現汽泡，即說明已刺中氣管，遂將病毒徐徐注入氣管腔內，接種後從鼻腔噴濺懸液的現象不多見，病毒接種量係根據家兔大小為轉移，一般接種量為 5—10 毫升。

(5) 立克次氏體檢查法 從感染的兔肺上取幾處不同部位的組織塊，作蓋印和塗抹標本，用麥氏 (Macchiavello) 和姬氏 (Giemsa) 法染色。麥氏染色是用 1937 年的改良法：塗片經火焰固定後，用九份 0.5% 鹼性複紅水溶液和一份 pH7.6 磷酸緩衝液混合過濾後倒在玻片上，染色五分鐘，水洗，以 M/50 枸橼酸 (pH3.0) 分色 30—90 秒，水洗，再以 1% 美藍水溶液複染 30 秒，鏡檢，立克次氏體呈紅色，細胞呈藍色，另用姬氏法對照染色。鏡檢判斷成績是用下列標準，R. 為 *Rickettsia* 的簡寫，每一兔肺之 R. “十” 標記，是不同部位成績的平均值。

“—” 檢查數次找不到 R.

“十” 一個視野中有相當量的 R.

“卅” 一個視野中有很多的 R.

“卅” 整個視野中佈滿 R.

(6) 兔肺疫苗製造方法 全部操作過程是按照無菌手續進行的，剖檢兔肺，選擇立克次氏體多且無雜菌的肺臟，準備作疫苗。滅菌兔肺平均重 20 公分，肺稱量後放入高速絞切器中研碎，加 0.5% 福馬林生理鹽水研磨成均勻懸液，以 2,000 轉 10—15 分鐘遠心沉澱，取上清液，另將餘下的沉澱物添加鹽水，反覆沉澱洗出其中的立克次氏體，然後將上清液合併一起，經 10,000 轉 45 分鐘遠心沉澱，除去上清液，用玻璃珠打碎沉澱物，再用福馬林生理鹽水稀釋成 10% 原液，經過四日室溫、10 日冰室內放置，無菌試驗（無普通和厭氣菌生長）、安全試驗（豚鼠 5 ml ip 不發病）及效果試驗合格後，即稀釋成 5% 並含 0.2% 福馬林的疫苗。

## 實 驗 結 果

(1) 家兔臨床症狀 熱型：家兔於感染第二日，有少數發熱，體溫升至 39.5—40°C，而多數趨向下降，波動於 38°C 上下，在病死前一日和死亡當日降至 37°C，瀕死時則體溫突降至 36°C 以下。症狀：家兔感染病毒後，日見羸瘦和衰弱，至第三日每隻家兔體重比接種當日平均又降低了 258 公分，於死亡前 1—2 天發生喘息，結膜炎等症狀，一般經過 3—4 日發病即開始死亡，其中 3—4 日死亡者佔 43.8%，4—5 日者有 56.2%。

(2) 兔肺病理解剖 受感染兔肺的病理變化與病程進展約一致，初期（約接種後 24—48 小時）肉眼可見肺門部出現不太顯著的點狀或塊狀病變，充血明顯，隨着時間改變，不僅其病變加重，病變範圍亦有所擴大，有的全肺散有病灶癰型，病灶部的色澤比

健肺要深暗。病程中期(約48—72小時)炎變範圍擴大,分散的病灶往往融合成大片的實質性病區(即由一個肺葉的一部分擴延至整個肺葉幾個肺葉甚至全肺),肺炎多呈棕色外觀。至末期(72—96小時或更晚)已形成典型克次氏體肺炎,嚴重者呈瀰漫性的變化,實質化的部分,質地堅實,略形突起而粗糙,切面呈紅色或灰色,其含氣量亦大大減少,如切下一片投入水中即刻能下沉。病死家兔的肺臟多呈暗紅色肝樣變,表面濕潤有光澤,切開後流出許多炎性滲出液和血液,往往亦能到在一個肺上却同時存在着新舊不同、輕重不一的病灶,在四乃至五日的末期死亡家兔的肺臟,陳舊性肺灶較為多見。從兔肺病理解剖所見,我們認為,克次氏體肺炎是具有融合性小葉肺炎(Confluent lobular pneumonia)和大葉肺炎(lobar pneumonia)的兩種類型,只是每個家兔表現不同而已,而後者可能是前者的轉化。

(3) 兔肺克次氏體鏡檢成績 肺內立克次氏體的含量:經過絕食和寒冷方法處理的家兔,容易成功地感染斑疹傷寒病毒,兔肺不僅有如上描述的典型肺炎變化,而且於顯微鏡標本上能發現豐富的立克次氏體。兔肺內立克次氏體的增強強度見表一所示。

從上表中可以看出,334隻家兔R.陽性者佔85%,其中R.“+”以上的兔肺為41.8%,R.相當量者為43.2%;陰性成績佔全部感染兔肺的15%,其中未感染發病或感染後立克次氏體已消失者為13.5%,染有雜菌(桿菌)的兔肺為1.5%。發病與立克次氏體的出現:家兔受病毒感染後,發病日期一般很規律,僅有少數試驗例有提前或錯後發病及死亡的現象,多數於接種後3—4日症狀最為明顯,並且開始死亡,根據我們的觀察,於病毒接種後第四日解剖最為適宜(此時R.量最多),往往於第四日早晨檢查時,尚見病兔蹲居籠子一隅,數小時後,則全數陷入殞死狀態。早期死亡有三兔,其肺臟雖有某種程度炎性反應,但不見立克次氏體增殖,此可能因該兔體質本來已呈衰竭狀態,而接種病毒後,由於負擔過重致死;陰性成績有42例,其中八例已超過五日以上仍不發病,開胸解剖,肺臟則迅速收縮,少有炎變和立克次氏體的增殖,此顯然是屬於未感染者,亦可能有輕度感染已經痊癒,其餘病死例之兔肺,多有嚴重的肝樣變和陳舊性病灶,在塗片標本中不見有立克次氏體,但偶而可見染色性較弱的紅色顆粒形的痕跡,此類陰性例可能因錯過了立克次氏體檢出的時機;另外五例染菌者,間或能找到立克次氏體,我們將此類統計在陰性結果中。

表一 334隻家兔肺臟R.鏡檢成績

R. 卅	卅	+	-	染菌
24 (7.1%)	116 (34.7)	144 (43.2)	45 (13.5)	5 (1.5)
284 (85%)			50 (15%)	

表二 家兔病死及殺死與肺內R.出現的強度

死亡原因	檢查數	R. 鏡 檢 成 績				
		卅	卅	+	-	染菌
病死	303	23 (7.6%)	110 (36.3)	128 (42.2)	37 (12.2)	5 (1.7)
殺死	31	1 (3.2%)	6 (19.3)	16 (51.6)	8 (25.8)	

對照組八隻家兔,於病毒接種後觀察五日,不見異狀,殺死其中四隻解剖鏡檢無立克次氏體;其餘四兔再行感染病毒,三隻於接種次日死亡,另一只稍有熱型,但於接種後二日亦相繼死亡,剖肺鏡檢均未找到克次氏體。關於家兔病死及殺死與肺內立克次氏體出現的關係,見表二所示。

由上表中可以看到，病死例的立克次氏體陽性檢出率比發死的略高，於感染病毒後四日左右，不僅肺炎發展速度，亦是立克次氏體增殖的最旺盛階段。立克次氏體與兔肺傳代的關係：用含大量立克次氏體的小鼠肺材料接種第一代家兔，第二代以後則使用兔肺材料接種，共計接種11代，用兔 334 隻，其肺內立克次氏體檢出率見表三所示。

表三 兔肺傳代與肺內R.檢出率

代 數		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
檢 查 數		31	32	35	28	37	26	34	22	33	25	31
檢 查 成 績	陽 性 例 (%)	29 (93.5)	28 (87.5)	34 (97.1)	22 (78.6)	31 (83.8)	22 (84.6)	33 (97.1)	17 (77.2)	23 (69.7)	25 (100)	25 (64.5)
	陰 性 例 (%)	2 (6.5)	4 (12.5)	1 (2.9)	6 (21.4)	6 (16.2)	4 (15.4)	1 (2.9)	5 (22.7)	10 (30.3)	0	11 (35.5)

普氏立克次氏體于兔肺內接傳11代，從陽性檢出率上看，似略有下降的趨向，但不十分規律。兔肺傳代對立克次氏體影響如何？因缺乏相應觀察，尚不清楚，但是可以指出兩點，即（1）用經過兔肺傳代的立克次氏體，接種小鼠鼻腔仍引起典型發病；（2）R.陽性例的兔肺，其立克次氏體繁殖很好，並且極少有染菌（雜菌）現象。立克次氏體形態：在284例的兔肺標本中，鑷檢看到被染成紅色的立克次氏體，多數是桿狀和短桿狀，於R.密佈的標本中球桿狀居多，於兔肺傳代過程中桿狀立克次氏體一直居多，此與鼠肺傳代迥然有別。於大單核細胞大量增生的蓋印標本中，常看到，該細胞形質中出現一個或數個類似包涵體紅色圓形的即 Giroud 氏所稱的均勻小體 (Corps homogènes)，關於兔肺傳代與包涵體的關係，Begg 等 (1945) (5) 曾指出，用適應鼠肺的立克次氏體感染兔肺，在開始的幾代中僅能找到細胞內包涵體，經過連續傳代始能看到有些細胞形質中有桑椹顆粒，而另些細胞則出現立克次氏體。關於立克次氏體包涵體型的研究，我們準備以後專文介紹。

(4) 兔肺疫苗鑑定我們曾將本疫苗送至北京中央生物制品檢定所，申請檢定，茲將其中 51—2—4 批號，檢定號 456 的疫苗檢定結果及總評摘錄如下：斑疹傷寒兔肺疫苗

物理檢查：淡乳白色，有極細小顆粒。

化學檢查：pH6.7。

無菌試驗：合格。

效力試驗：產生抗體試驗（補體結合效價1:40）合格。

保護力試驗：中和試驗，用本品所製之免疫血清稀釋至 1:8 時，尚能保護小鼠。

總 評：本品補體結合效價合格，茲再參考中和試驗定為合格。

## 討 論

關於立克次氏體的主要生長因素，所知道的很少，一般只能從實際觀察方面，相對地說明其一般規律。立克次氏體具有在細胞內寄生的特點，故其培養亦總離不開動物活

體組織。Zinsser、魏曠及 Fitz—Patrick 等(6)用塗過鼠胎和雞胎碎屑的瓊脂斜面，培養成功多種立克次氏體，從其技術上看，似乎近於普通細菌的培養方法，但斑疹傷寒立克次氏體對動物組織的自然親和性，是有其特定範圍的，即使在人工培養基中，立克次氏體的增殖亦局限於一定的細胞內。爲了擴大斑疹傷寒疫苗及診斷抗元的研究，學者們無不在研究使用各種理化等方法，處理對立克次氏體感受性弱的動物，以期獲得培養大量立克次氏體的方法。例如 Zinsser 和 Castaneda (7) 用“Benzol 法”處理大白鼠，然後往其腹腔內接種莫氏立克次氏體 (*R. mooseri*)，結果於睪丸鞘膜、腹腔滲出液及腹膜上皮細胞內見有無數的立克次氏體的增殖，Zinsser、Castaneda、Seastone 等(8)用“維生素缺乏飼育法”處理豚鼠和大白鼠，接種墨西哥型斑疹傷寒病毒，發現該動物腹腔內有多量立克次氏體；Zinsser 和 Castaneda (9) 以 X 綫照射豚鼠，大白鼠及家兔，促進了莫氏立克次氏體的繁殖。最近，Castaneda (10) 曾指出，降低動物體溫 (38°C 以下) 有利於立克次氏體繁殖。Зародковский (11) 引據 Castaneda 的經驗，試驗用 10% 魯米那 (Luminal) 水溶液給家兔腹腔或肌肉注射 (每 100 公分體重注射 0.1 毫升)，使其催眠、降低體溫，經氣管接種流行性斑疹傷寒病毒，獲得了典型兔肺立克次氏體病，並用該肺試制成功疫苗。我們於 1950 年曾用本實驗室日制的深部 X 綫照射家兔，經氣管接種流行性病毒，結果不太好。其後又試以感染家兔冰室內放置法，其效果亦不令人滿意。最後試驗絕食、寒冷合併前處理家兔法，獲得了如文中所述之典型兔肺立克次氏體病。據 Pinkerton 的報告，受腦系鼠型病毒腹腔內感染的大白鼠，於 18—26.5°C 的外界溫度，動物能 100% 死亡，而升高至 29.5—37°C 時僅有 25% 的動物死亡。豚鼠，家兔容易發生睪丸鞘膜感染，顯然是與遊離體外的陰囊溫度較體內溫度爲低有關。因此，我們認爲溫度是立克次氏體發育和繁殖的重要因素之一，相對降低動物正常體溫能促進 R. 繁殖，反之，升高則能抑制。外界溫度低，自然會影響動物機體新陳代謝的延緩，利於 R. 發育，絕食則更削弱機體反應性防禦機能，從而促進兔肺對 R. 感受性的增強，兩種條件兼施，即促使家兔發生典型立克次氏體肺炎和立克次氏體的大量增殖。

在試驗 334 例感染家兔，病死率達 90.7% (303 只)，立克次氏體陽性檢出率爲 85% (284 只)。於陰性檢出率 15% (50 只) 中，除了三只於接種後二日死亡、八只五日以後死亡和五只染菌死亡者以外，其餘佔多數的 34 例是於適宜病期中死亡的。我們推論早死與晚死例的原因，顯然是與感毒條件 (病毒懸液的濃度和接種地等) 和動物個體差異有關。於適宜病期死亡例，不僅發症明顯，而且肺臟病變亦頗典型，但由此類肺組織中，何以找不見立克次氏體？我們從病變和立克次氏寄存的關係中看到，新形成肺炎病變的肺組織和病灶周圍的肺組織中均含有大量立克次氏體，於肝樣化或近正常像的部位中亦能找到立克次氏體，但於病變甚爲嚴重和出現暗灰色陳舊性病灶的肺組織中，往往找不見立克次氏體，此可能因爲立克次氏體被溶解變形和消失所致。關於此點，我們準備用組織病理學的方法研究證明。但這個現象提醒我們要控制好 R. 的發育規律，即感染家兔於適宜病期 (四日) 出現明顯症狀，或近頻死時應及時剖殺，當不會錯過立克次氏體檢出的時機。Зародковский 在文章中指出，已污染雜菌的鼠肺毒種經兔肺傳代則能消除毒種污染現象，由此，他創造了鼠肺與兔肺交互傳代的方法，但他用兔

肺連續傳代却遇到了嚴重的續發性細菌污染的困難。我們一直是用兔肺連續傳代的，如文中提到的11代（於另外的幾批，接傳代數還要長），從未發現過嚴重染菌現象，本試驗所提到的 1.5% 的染菌率，乃是隔代、零散出現的，此種偶然現象並不致影響毒種繼續傳代。

根據以往經驗證明，決定流行性斑疹傷寒疫苗的實際功效是非常困難的，一般尚限於實驗室的證據。Здоровский 曾用豚鼠進行免疫試驗，證明兔肺斑疹傷寒疫苗具有很好的免疫性。Giroud 等用豚鼠及人體進行免疫，證明了兔肺疫苗的效果，不過，他強調指出，注射次數與劑量對免疫效果有重要影響，不應忽視。我們試制的兔肺疫苗，對小白鼠及豚鼠的試驗，證明均具有免疫性，前後出品了23萬餘毫升兔肺疫苗，行人體免疫注射，關於遠期效果現在尚不清楚。

最後，我們認為，在改善動物感染方法及提高疫苗質量方面，均還須更進一步的去進行探討。

## 結 論

我們以絕食、寒冷法處理家兔，經氣管接種普氏立克次氏體，使家兔發生了典型立克次氏體肺炎，用此含有大量立克次氏體的兔肺，制成具有一定免疫性的斑疹傷寒疫苗。

## 主要參考文獻

- (1) Castaneda, M. R.: Amer. Path. 15:467, 1939.
- (2) Durand, P. & Sparrow, H.: Comptes rendus, 210:420, 1940.
- (3) Durand, P. & Giroud, P.: Compt. rend. Acad. Sci., 210:493, 1940.
- (4) Giroud, P.: Biol. Méd., Paris 36, No. 9—10, 1947.
- (5) Begg, A. M., Fulon, F. and Van Den Ende, M.: J. Path. & tBact., 56: 109, 1944.
- (6) Zinsser, H., Wei, and Fitz-Patrick, F.: Proc Soc. Exp. Biol. a. Med., 37: 604, 1937.
- (7) Zinsser, H., & Castaneda, M. R.: J. Exp. Med., 52:649, 1930.
- (8) Zinsser, H., Castaneda, M. R., and Seastone, C. V.: J. Exp. Med., 53: 333, 1931.
- (9) Zinsser, H., & Castaneda, M. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 29:840, 1932.
- (10) Castaneda, M. R.: J. Immunol., 33:101, 1937.
- (11) Здоровский, П. Ф.: Риккетсии и риккетсиозы, изд. АМН СССР. 128—139, 1948.

## 使用兔化蝨種製造斑疹傷寒疫苗的初步報告

魏 嶽 范明遠

一株兔化蝨種培養的成功經驗已於另文中發表<sup>(1)</sup>，以新蝨種製造斑疹傷寒疫苗，並測定其效價是本篇報告的主要目的。關於斑疹傷寒疫苗的效力問題一般文獻認為蝨腸疫苗對斑疹傷寒的保護作用仍然是比較高的。如 Zinsser<sup>(2)</sup>認為 Rutten<sup>(3)</sup>在我國使用 Weigl 蝨腸疫苗的效果是特別顯著的，又如 Ding<sup>(4)</sup>對蝨腸疫苗，兔肺疫苗，以及鵝胎疫苗的比較研究更說明了蝨腸疫苗的優良效果，再如 Пшеничников—Ройхера<sup>(5)</sup>的幼蝨疫苗也在第二次世界大戰期間曾一度使用。問題在於蝨腸疫苗的製法特殊，大量生產受到限制。其最大的困難是蝨子的喂養和繁殖問題，喂蝨必須動員大批的志願者，困難的徵結也就在此。兔化蝨種的試驗成功解決了志願者喂血的問題，不難看出兔化蝨種在繁殖上的困難是比較少的。對蝨腸疫苗的重新估價到了目前又有其一定的現實意義。因此在我們繁殖了大量的兔化蝨種之後，就開始按 Пшеничников—Райхера 法<sup>(5)</sup>製造幼蝨疫苗，以下是我們試製及效價測定的結果。

### 試 驗 方 法

(1) 蝨種：本試驗中所用的兔化蝨種是1956年第一批從人蝨馴化成功的，在取用時已在兔上傳至第八代，部分蝨種經過腸塗片並用 Нохт 法染色檢查，並未發現任何細菌或寄生性立克次體。

(2) 毒種：此次用作感染蝨子的立克次體是一株蘇聯 II 型流行性斑疹傷寒毒種，此毒種自1953年起即在本所用之於鼠肺疫苗的生產。毒種毒力一直是經過蝨鼠交替傳代來維持的，但在製造幼蝨疫苗之前，曾連續通過兔化蝨種之幼蝨四代，以加強其毒力及抗原性，在製造疫苗時其毒力是 1:256。

(3) 疫苗之製造：感染蝨子是用皮膚喂蝨法，此方已在另文中發表<sup>(6)</sup>，不再詳述，所用的蝨子是兔化蝨種的一令蝨，感染蝨時係將 II 型毒種的蝨腸懸液（每蝨加 0.05 毫升之 pH7.0 的緩衝鹽水）一滴加入一毫升的兔血內，使其在喂蝨盒內混合，隨即按上皮膚，投入幼蝨，任其吸取皮膚下之感染血液。每盒約放幼蝨一百個，以免擁擠及妨礙吸血，幼蝨喂完後，即取出放入平皿內，置 30°—32°C 孵箱中存放，此後每日的喂養均在更體上進行，其方法已在另文中詳述<sup>(1)</sup>，每日早晨及午後各喂血一次，凡早期死亡之蝨均棄去，至第四日即開始用 Нохт 染色法檢查蝨子之塗片，以估計立克次體繁殖之情況，至第八日即停止喂血，準備於第九日製造疫苗，如此停喂24小時是爲了使蝨子將血液完全消化，以免疫苗內發生紅色。至第九日即將本日及第八日之死蝨與現存之活蝨全部收集作爲製造疫苗之用，以往四至五日內之蝨糞亦含大量立克次體，按日收集入放 0.2% 佛馬林溶液內保存，所有蝨子及蝨糞均以 0.2% 佛馬林溶液浸泡24小時，其目的在於消滅雜菌及殺死蝨子體內之立克次體。隨後用滅菌之有網漏斗過濾，用滅菌玻

皿接住濾液，此中含有益之糞便，以後可作稀釋液用，另用小罐將蠶從濾網上取下，放在滅菌乳鉢內研碎，直至研成褐色均勻的懸液為止。將懸液用 0.2% 佛馬林生理鹽水洗入沉澱管中，在遠心沉澱器中以每分鐘 2000—3000 轉速度轉 2—3 分鐘，至此蠶皮下沉而立克次體懸浮於上清液中，將上清液倒在滅菌玻璃瓶中，再加佛馬林生理食鹽水，再轉，如此 4—5 次沉澱內全是蠶皮可以棄去，將累次的上清合併，並將第一次過濾的稀釋液經過輕輕的遠心沉澱後，也將上清與之合併。再酌量加入 0.2% 佛馬林生理食鹽溶液以達到每 2.5 毫升中含有 100 幼蠶。至此疫苗已成。此次所製疫苗之批號為 I56—1。

(4) 疫苗效力之測定：本試驗中所採用的是抗毒法，此法較之抗傳染試驗更為準確可靠，亦為我國現行斑疹傷寒疫苗檢定法規所規定。其操作如下：

1. 免疫：將蠶體疫苗按 1:10 到 1:1500 的倍數用滅菌生理食鹽水稀釋(見附表)，按每個稀釋倍數給 13—15 克的小白鼠 12 只腹腔免疫一次，注射量 0.5 毫升，至第 15 天進行免疫力試驗。

2. 攻擊毒素：II 毒種的鼠肺感染材料，經過研磨每三個鼠肺以 1.0 毫升的緩衝脫脂牛乳製成懸液，以之進行兩次沉澱，第一次為低速除去肺臟組織，第二次為高速除去非特异性蛋白質等。將此上清以滅菌生理鹽水稀釋成 1:16 至 1:1024 之倍數，以 18 克小白鼠作靜脈注射以測定其毒力，得出  $1L_{D_{50}}$ 、 $2L_{D_{50}}$  及  $4L_{D_{50}}$  之數值，並以此為標準的攻擊毒素。一切操作應在冰中進行，製成之標準攻擊毒素應保存在  $0^{\circ}$ — $4^{\circ}C$  的冰箱中。

3. 效力測定：I56—1 幼蠶疫苗是 1956 年 10 月 26 日製成的，並於製成後保存在  $0^{\circ}$ — $5^{\circ}C$  的冰箱中，至 11 月 6 日開始免疫小白鼠，11 月 21 日進行攻擊注射，由以上試驗測出攻擊毒素之毒力為  $1L_{D_{50}}=256 \times$ ， $2L_{D_{50}}=128 \times$  及  $4L_{D_{50}}=64 \times$ 。每只免疫小白鼠由尾靜脈注射 0.5 毫升，隨後觀察 24 小時。由附表可見幼蠶疫苗之效價為 1:1,500。本所高子珍及鄭鎮西(7)等曾對本所生產之純化濃縮斑疹傷寒鼠肺疫苗作過效力研究，經過數次之試驗所得出之效價為 1:1400。因此幼蠶疫苗之效價與此種純化濃製之鼠肺疫苗之效價相比是幾乎相等的。

蠶腸疫苗免疫小白鼠抗毒試驗結果

疫苗稀釋 毒素量	1:10	1:50	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1,000	1:1,200	1:1,500	對照
$1L_{D_{50}}$	9i	9i	6i	9i	9i	9i	9i	9i	9i	9i	3i
$2L_{D_{50}}$	9i	9i	9i	9i	9i	9i	9i	4i	9i	4i	4i
$4L_{D_{50}}$	9i	9i	9i	4i	4i	4i	4i	4i	9i	4i	4i

注：分母為動物總數；分子為動物死亡數。

## 結 論

本試驗證明利用化蠶種所製之斑疹傷寒疫苗是具有高度的免疫力的，其稀釋倍數



高達1:1500仍能產生高度的中和抗體，對免疫的小白鼠能有效地保護 2LD<sub>50</sub> 立克次體毒素的攻擊。與本所生產的純化濃縮鼠肺疫苗之效力相比幾乎相同。但痘腸疫苗並未經過純化濃縮，如果改進痘腸疫苗的製造方法，可能還能提高其效力，這個問題尚有待今後的工作來解決。覓化痘種製造斑疹傷寒疫苗之效果既經證明，對於大量生產痘腸疫苗就提供了有利的條件。

### 參 考 文 獻

1. 魏曦，范明遠：本彙編 282 頁。
2. Zinsser, H., Virus and Rickettsial Diseases, p. 891, 1943.
3. Rutten, J., Varia Dossiers de la Commission Synodale, Peking, p.183 February, 183, 1936.
4. Ding, E., Zschr. f. Hyg. u. Infektkr, 124:670-682, 1943.
5. Пшенищев—Райхера：蘇聯生物製品檢定規程1946年版34頁。
6. 魏曦，張婉荷：本彙編 279 頁。
7. 高子珍、鄭鎮西：生物製品通訊第一卷第四期 536 頁1956年。

### 關於斑疹傷寒疫苗效力的研究(摘要)

高子珍 鄭鎮西

作者們證實純化濃縮流行性斑疹傷寒疫苗的效力很大，經1000倍以上稀釋後，仍可使小鼠抵抗 2LD<sub>50</sub> 的立克次體毒素的攻擊。

中和抗體產生的時間，經用小白鼠試驗證明至遲在免疫後第三日即出現，但用試管中和法在第三日不能測出有抗體存在。由此可知，測定中和抗體時宜採用直接攻毒法。

(原文曾發表於生物製品通訊第一卷第四期1956)

## 旅大市1953年乙型腦炎流行情況

薛慶煜 李光祖 范明遠 星書田

(大連醫學院) (大連生物製品研究所)

與往年一樣，1953年夏我區又有乙型腦炎流行發生。病毒學診斷在八月初旬即得到確證。總共所報告的患者有152例其中88例發生於旅大區內，其餘64例則出現於與旅大相毗連的某工地。

### 一、患者數與病亡數

#### (一) 患者按發病地點的分佈

旅大區轄二市兩縣：計大連市七個區，旅順市六個區，金縣13個區；此外還有由數島嶼所組成的長海縣。大連市中心由三個區所組成；第Ⅳ、Ⅴ區則屬市郊區；至於Ⅵ、Ⅶ二區與金縣和旅順一樣，實質上是農村。

這次乙型腦炎流行，病例分佈比較廣泛，見於都市和農村。流行所及：大連市延及七個區；在金縣的13個區中僅三個區無病例報告；而在旅順病例雖少却散在於三個區內。當市區內流行曲綫顯示上升之際，在與我區相毗連的某工地腦炎流行突然暴發。

在旅大區內發病的88例中：

發生於大連市區者63例，其中死亡16例；見於金縣者22例，其中死亡11例；見於旅順者三例，其中一例病亡。某工地出現64例患者，其中死亡者23人（表一）。發生於旅大區內的患者中，78例係當地人或久居旅大者；10例係於1953年內初次來此的外鄉工人或旅行者（原松江省籍工人八例，遼東省籍工人一例，江蘇籍學生一例）。

表一 患者與病亡者按發病地區的分佈

地 區	例 數	病 亡 數	病亡率(%)
大 連 市 區	63	16	25.4
金 縣	22	11	50.0
旅 順	3	1	33.3
旅 大 鄰 區	64	23	35.9
某 工 地			
總 計	152	51	33.6

#### (二) 患者和病亡者的年齡

就上述78例患者中看：79.5%在30歲以下；73%在20歲以下；而介於5—20歲者則佔患者總數的半數。可見本病在我區主要是兒童和青少年的疾病。在這78例中，有23例病亡，其中九例發生於10歲以下的年齡組，病死率36.0%；10歲以上者死亡14例，病亡率24.6%；如不分年齡總的病亡率為29.5%（表二）。

表二 患者、病亡者按年齡性別的分佈

年 齡 組	患 者		病 亡 者		合 計		
	男	女	男	女	患 者	病 亡 者	病 亡 率
0-4	4	4	3	2	8	5	62.5
5-9	10	7	4		17	4	23.5
0-9	14	11	7	2	25	9	36.0
10-19	14	8	5	1	22	6	27.2
20-29	11	4	3	2	15	5	33.3
30-36	5	2		1	7	1	14.3
40-49	4	1	1		5	1	20.0
50-59	2	0			2		
60以上	0	2		1	2	1	50.0
10以上	36	17	9	5	53	14	26.4
總 計	50	28	16	7	78	23	29.5

## (三) 患者和病亡者的性比例

在78例患者中男性50例，女性28例，男女患者之比為1.78:1。如以十歲劃分年齡組則10歲以下者男性當女性患者的1.27倍，而10歲以上者則為2.11倍。病亡者10歲以下者男性當女性的3.5倍，10歲以上者為1.8倍。

如以每百女性所相當的男性數為性比例，由表三可見患者和病亡者的性比例都大大超過100。如以十歲劃分年齡組計算性比例，並按地區內全人口性比例予以校正（ $\frac{\text{患者（病亡者）性比例}}{\text{人口性比例}} \times 100$ ），則可看出已校正的患者性比例，在十歲以下者為

121.9，十歲以上者為175.9，遠較前者為高。如不分年齡則校正後的患者性比例為154.5。病亡者的性比例的校正數：十歲以下者為347.1，十歲以上者為150.0，如不分組則為198.0（表四）。

表三 患者、病亡者與全人口的性比例

人口性比例	患者性比例	病亡者性比例
115.5	178.5	228.6

表四 全人口性比例和患者、病亡者校正性比例

年 齡 組	人 口	患 者	患 者 性 比 例	病 亡 者	病 亡 者 性 比 例
	性 比 例	性 比 例	校 正 數	性 比 例	校 正 數
10歲以下組	104.3	127.2	121.9	350.0	347.1
10歲以上組	120.4	211.8	175.9	180.0	150.0
總 的	115.5	178.5	154.5	228.6	198.0

## (四) 患者、病亡者按職業的分佈

患者見於社會各階層，以7—19歲學生為最多；其次則為學齡前兒童；再次順序則為工人，職員，家婦，公安人員，農民和其他。發病數之所以多見於學生和兒童者，看來是與年齡有關係的。

表五 患者、病亡者按職業的分佈

職 業	患 者		病 亡 者	
	例 數	百 分 比	例 數	百 分 比
學 生	20	37.2	10	43.5
學 齡 前 兒 童 和 嬰 兒	17	21.8	7	33.5
工 人	9	11.5	0	0
職 員	7	9.0	2	8.7
家 庭 婦 女	6	7.7	2	8.7
公 安 人 員	4	5.1	1	4.3
農 民	4	5.1	1	4.3
其 他	2	2.6	0	0
總 計	78	100.0	23	100.0

## (五) 患者、病亡者與居住地區的關係

在這78例患者中，46例(59.2%)發生於大連市區，32例(40.8%)發生於農村中。在前者中有35例出現於市中心區，佔患者總數的45.9%；11例出現於郊區，佔患者總數的14.1%。病亡者共有23例，其中8例見於大連市區，佔病亡總數的34.8%；15例見於農村，佔病亡總數的65.2%。由表六可見市區內患者多，病亡率低，農村患者雖較少，但病亡率則較高。

表六 患者、病亡者按地區的分佈

例 數	患 者			病 亡 者		
	總計	市 區		總計	市 區	
		中心區	郊區		中心區	郊區
78	46	35	11	23	8	15
百分比	100.0	59.2	49.8	100.0	34.8	63.2

## 二、發病率與死亡率

## (一) 居民區

1. 如按行政區劃分，患者的發病率在大連市每十萬人口介於5.0—12.5之間；金縣為6.0；旅順為2.3。死亡率在大連市介於0.87至6.20之間；金縣為3.13；旅順為0.80。在大連市內的發病率以市中心區的I和II區較低，死亡率以I、II和III區較低。發病率和死亡率都以大連市的第IV區為最高(表七)。

表七 居民區與發病率和死亡率

居 民 區	患 者 數	發 病 率 (每十萬人口)	死 亡 數	死 亡 率 (每十萬人口)	
大 連 市 (區)	I (中山)	12	6.6	2	1.05
	II (西崗)	6	5.0	1	3.87
	III (沙河)	17	8.9	2	1.05
	IV (前子)	4	8.2	1	2.05
	V (甘井)	7	9.2	2	2.66
	VI (營子)	4	9.5	1	2.35
	VII (小島)	4	12.5	2	6.20
	金 縣	21	6.0	11	3.13
旅 順	3	2.3	1	0.80	
總 計	78	6.7	23	11.98	

※人口統計根據1953年6月30日人口普查。

2. 根據居民區的性質，我地居民區可分為市區、市郊區和農村區三個類型。如表八 居民區類型與發病率和死亡率的关系※

居民區	患者數	發病率 十萬人口	病亡數	死亡率 十萬人口
市區	35	7.2	5	1.03
市郊區	11	8.8	3	2.10
農村區	32	5.8	15	2.91
總計	78	6.7	23	1.98

※ 人口統計根據1953年6月30日人口普查。

按居民區的類型統計，則每十萬人口的發病率在市區者為7.2；市郊區者為8.8；農村區者為5.8。至於死亡率在農村區者為1.03；市郊區者為2.40；農村區者為2.91。在農村有較低的發病率，但有較高的死亡率（表八）。

（二）年齡如按患者年齡分組統計，則每十萬人口的發病率在十歲以下者為8.0，十歲以上者為6.4；死亡率十歲以下者為2.09，十歲以上者為1.69。就本組患者看，不論發病率或死亡率都以十歲以下的兒童組為高（表九）。

（三）預防接種本年於乙型腦炎流行開始以前，曾用鷓鴣疫苗按規定的劑量和方法對地區內一部份兒童進行了預防接種。根據市衛生防疫站的統計共接種十歲以下週歲以上的兒童99,118人，佔十歲以下人口的29.6%。在接種組中腦炎患者發生了五例，發病率為5.0在未受接種的236,566名兒童中，出現患者20人，發病率為8.5。雖然看來接種者似較未接種者為好，但實際上不具統計學上的意義。

表九 發病率、死亡率和年齡的關係※

年 齡 組	發 病 率			死 亡 率		
	男	女	男女合計	男	女	男女合計
0—4	3.8	4.0	3.9	2.8	2.0	2.4
5—9	15.1	11.1	13.2	6.0	0	3.1
0—9	8.2	6.6	8.0	4.09	1.22	2.69
10—19	11.4	7.2	9.4	4.0	0.9	2.5
20—29	9.1	4.0	6.8	2.5	2.0	2.2
30—39	6.0	3.1	4.8	0	1.6	0.7
40—49	6.6	2.2	4.7	1.6	0	0.9
50—59	5.4	0	3.0	0	0	0
60歲以上	0	8.0	3.7	0	4.0	1.8
10歲以上	7.9	4.6	6.4	1.99	1.32	1.69
總 計	7.9	5.2	6.7	2.57	1.29	1.97

※ 人口統計根據1953年6月30日人口普查。

### 三、死 亡 率

（一）年齡 在旅大地區的78例中，病亡者23人，病亡率為29.5%。病亡率以幼齡兒童患者為最高，達62.5%；5—9歲者為23.5%；10—19歲者27.2%；20—29歲者33.3%；30—39歲者14.3%；40—49歲者20.0%；60歲以上之二例一例死亡，病亡率為50.0%（見表二）。

(二) 流行期 如患者發病於流行的初期病亡率較高，以後隨流行的進展病亡率有逐步下降的趨勢(表十)；而此現象在易感性高的人口中，表現得尤為明顯(表十五)。

表十 病亡率與流行期的關係

月 份	6			7		8			9			10	總 計
	上	下	不詳	上	下	上	中	下	上	中	下		
患者數	1	1	1	1	2	8	18	29	9	2	4	2	78
病亡數			1		1	3	6	7	3		2		23
病亡率			100.0		50.0	37.5	33.3	24.1	33.3		50.0		29.5

(三) 居民區 如根據患者所住居民區的類型進行分析，則病亡率以市中心區的患者為最低，佔 14.3%；農村者為最高，達 46.9%；市郊區者則介於上述二區之間，佔 27.2%。

表十一 病亡率與居民區的關係

居 民 區	患 者 數	病 亡 數	病 亡 率
市 區	35	5	14.3
市 郊 區	11	3	27.2
農 村	32	15	46.9
總 計	78	23	29.5

(四) 職業 就這組患者看，嬰兒學齡前兒童組及學生組的病亡率比較高，它們分別為 41.1% 和 34.5%。其他各職業組的病亡率則介於 25 至 33% 之間。

表十二 病亡率與職業的關係

職 業	患 者 數	病 亡 數	病 亡 率
學齡前兒童和嬰兒	17※	7※	41.1
學 生	29	10	34.5
工 人	9	0	0
家 婦	6	2	33.3
職 員	7	2	28.6
公 安 人 員	4	1	25.0
農 民	4	1	25.0
其 他	2	0	0
總 計	78	23	29.5

※ 內有嬰兒二名

#### 四、季節與氣候

本年腦炎流行起於七月下旬，止於十月上旬。七月下旬以前只見數例可疑之散發性患者。流行曲綫從八月上旬起急遽飛騰，至八月下旬達最高峯。一入九月疫勢即開始下

降；中旬之後患者僅是零星出現，具散發性質。

1953年夏季，六月平均最高氣溫為20.6—22.1°C，最低為16.2—18.6°C；七月平均最高氣溫為24.7—28.3°C，最低為19.7—24.0°C；八月氣溫有下降趨勢，最高者為22.6—26.8°C，最低為18.9—21.9°C。當流行暴發之前七月中下旬的平均最低氣溫已分別高達22.2°C和24.0°C；而上旬的平均最低氣溫也接近20°C。自八月初旬起平均氣溫逐步下降，至八月下旬平均最低溫度已降至20°C以下，而平均最高溫度也很快接近20°C。

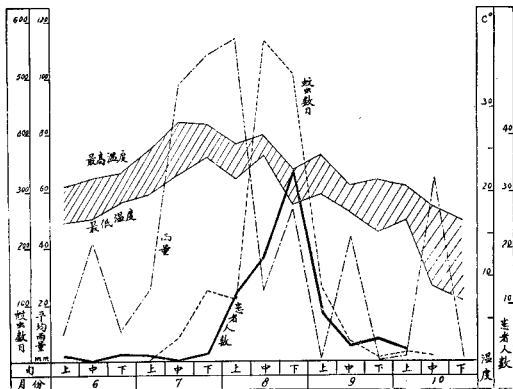
從七月中旬到八月上旬，地區內多雨。平均降雨量由七月上旬的25.4毫米，驟然激增至七月中旬的97.8毫米，至八月上旬達114.4毫米。八月中旬以後雨量頓減，而在九月中竟有兩旬無雨。

這樣氣象學上的變化（表十三）顯然對我區這次腦炎流行的消長起了很大作用（見附圖）。

表十三 1953年旅大地區的氣溫和雨量率

月份	旬	平均雨量 (毫米)	平均最高 氣溫 °C	平均最低 氣溫 °C	平均氣溫 °C
6	上	10.8	20.6	16.2	18.6
	中	42.2	21.5	16.7	18.9
	下	10.7	22.1	18.6	20.7
7	上	25.4	24.7	19.7	22.2
	中	97.8	28.3	22.2	24.7
	下	109.3	27.9	24.0	26.1
8	上	114.4	25.8	21.9	23.9
	中	26.0	26.6	23.4	24.9
	下	54.6	22.6	18.9	20.9
9	上	0	24.3	19.7	21.9
	中	44.0	20.7	17.9	19.1
	下	0	21.4	15.1	19.0
10	上	0.5	20.9	16.8	19.3
	中	66.9	18.4	8.6	15.4
	下	1.4	16.6	7.1	13.6

※ 大連海洋氣象台記錄



流行性乙型腦炎的流行與氣候、雨量和蚊蟲的關係

### 五、尖音庫蚊淡色變種成蚊的自然消長。

藏嶺前轉山屯人宅設站、隔日捕尖音庫蚊淡色變種成蚊（日以八小時計），按旬累積的數字看，成蚊的增長與地區氣象條件相呼應。自八月上旬起成蚊數目很快激增，於旬日之內即達高峯（1）。隨氣溫、雨量的下降，蚊蟲數量也相繼大減。而成蚊的消長曲綫恰與發病曲綫相符（見附圖）。

### 六、易感性與發病率和死亡率。

適逢其會，在毗連旅大區的某工地職工的95%於當年流行發生之前來自沒有乙型腦炎的黑龍江省（當時的松江省）。他們都是民工，在來旅大之前從未到過其他乙型腦炎地方性疫區。5%的職工則為我市支援這項工程的幹部和工人。當我區流行開始抬頭之際，該工地流行即呈暴發之勢。於五旬之內共出現了64名患者（79.7%患者發生在前三旬之內），其中63名係黑龍江省人

（原松江省），只一名為我市籍的幹部。前者的發病率為420/十萬人；後者為125/十萬人；此差異具有統計學上的意義。在前者中病亡23人，死亡率為153/十萬人口；後者一例得慶恢復（表十四）。

表十四 發病率、死亡率與易感性的關係※

易感性	患者數	發病率 每十萬人口	病亡數	死亡率 每十萬人口
易感人口	63	420	23	153
非易感人口	1	125	0	0

※ 工地人口統計係由市衛生防疫站供給。

如將在旅大區內發病的八名新來自黑龍江省（原松江省）的工人和一名外籍暑期來大連遊覽的學生與上述工地的63名患者一併計算，則在這72名患者中，有28名病亡，死亡率為38.9%。這組患者的死亡率表現有典型的時間性，即在流行的初期，病亡率高，流行的末期，病亡率低（表十五）。而死亡率也顯示出與患者年齡成正比的規律（表十六）。

表十五 非旅大籍患者病亡率與流行期的關係

月 份	8			9		合 計
	上	中	下	上	中	
患 者 數	16	18	25	12	1	72 ※
病 亡 率	11	7	8	2	0	28
病 亡 率	68.7	38.9	32.0	16.0	0	38.9

※ 不包括在旅大區發病的原遼東省籍工人。

表十六 非旅大籍患者病亡率與年齡的關係

年 齡 組	5—9	10—19	20—29	30—39	40—49	50—59	60 以上	總 計
患 者 數	1 ※※	7	23	17	19	3	2	72 ※
病 亡 數	0	2	9	8	6	2	1	28
病 亡 率	0	28.6	39.1	47.1	31.6	66.6	50.0	38.9

※※ 係一工人之子，年八歲，由黑龍江省來工地省親。

※ 不包括在旅大區發病的一名原遼東省籍工人。



## 討 論

本病的病因學診斷，已經確立。在這次流行中先後共分離得十株病毒，經證明為乙型胸膜炎病毒<sup>(2)</sup>。第一株病毒得自8月5日發病9日病亡的五歲男孩患者。7月下旬遇有患者二例，具典型症象，其一病亡；雖然沒有病因學診斷但從流行病學及臨床學的論據看，乙型腦炎的診斷似少疑義。7月初旬以前共報告了四名散在性可疑患者，其中一例病亡。他們都沒有經血清學及病毒學檢查。病亡的一例也無病理材料可資參考。鑑於四例發生的時期較早，病程一般不重，乙型腦炎的診斷不是毫無疑問。但是根據臨床表現與乙型腦炎酷似，故在分析上未予剔除。

本年流行，病例散佈頗廣，只是在金縣和旅順分別各有三個區沒有病例報告。究竟是沒有病例抑或有病例而未發發現因而漏報呢？事後未能進行調查。鑑於屬於農村性質的大連市第Ⅵ、Ⅶ二區發病率相當高，而共緊隣的具有相似條件的金縣和旅順的發病率則相對地較低，這是難以理解的。這些地方醫藥衛生設施都不好，而金縣旅順的農村尤嫌不足，看來病人的漏報是可能的，如此屬實，則可解釋何以金縣旅順發病率較低之故。

按我市為一工業城市，工人、機關幹部、公安人員乃至農民都以男性為多，而在日常生活中他們有較多地受染機會。在我區十歲以上的患者中24名是職工、農民及幹部，在這24人中21(87.5%)人是男性。此或可解釋何以十歲以上年齡組患者之性別比例遠較十歲以下者為高。至於何以十歲以下患者的病亡性別比例竟高達347.1，檢查本組資料，沒有找到充分解釋。

農村的發病率看來雖然較低，但是死亡率則非常高，竟達46.9。是否旅大農村是一新的疫區，人口有較高的易感性，因而引起較高的死亡率呢？按蘇軍自1946年夏在我旅大區即發現此病，以後歷年發生，經蘇聯醫師確診為乙型腦炎<sup>(3)</sup>；而蘇軍駐區主要係在農村。1951至1952兩年內金縣旅順分別都有乙型腦炎的報告<sup>(3)</sup>。據此上述論點是不成立的。問題是旅大農村，特別是金縣，地濶山多，交通不便，就診困難，很少能在發病後2—3日內就診。且送診時在路上顛波勞頓，影響病程殊少疑問。加之農村醫師應診率遠較城市為低，診療質量差，可能是高死亡率的主要原因。

本病的死亡率一般與年齡成正比，但在旅大的78例中十歲以下的患者，病亡者達36.9%，較十歲以上者(26.4%)為高。檢查病歷多數兒童患者就診時間在病後2—3日之後，而入院時間又大多在昏迷、驚厥等嚴重症象出現以後，這不能不影響患者的予後。

死亡的二例嬰兒，都來自郊區；學齡前兒童死亡的5例中僅一例發生在市內，其餘例都在農村。在病亡的10例學生中，有8例發生在農村。死亡家婦二人，一係屬於旅順農村，一係郊區的73歲高齡老人。至於病亡職員之一及農民一人都居位於農村。可見病亡率與職業無關，而再次反映病亡與農村的關係。

把某工地工人視為具有較高易感性的集體是根據了：他們來自沒有腦炎的東北部，從未到過其他有乙型腦炎的地方疫區，故出現較高的發病率和死亡率。此外血清學觀察<sup>(2)</sup>也說明了此點。在8月下旬在某工地取17份介於19—39歲新來的工人的血清，

他們都沒有腦炎病史，也未做過預防接種。其中11人（64.7%）中和試驗結果是陽性，平均中和指數是511。可惜在流行發生之前沒有對照觀察為大缺憾。同年8月中旬，曾檢查了沒有腦炎史和預防接種史的18至45歲的15名旅大籍的正常人的血清，其中14份（93.3%）中和試驗結果陽性，不僅其陽性率較該工地新來工人者為高，且其平均指數是1.665，也大於後者3.26倍。因此認為易感者的輸入是構成某工地流行暴發的主要原因。

某工地做過中和實驗的17名工人既然是初次由松江省來旅大者，從前也未到過其他腦炎地方性疫區，這次陽性中和實驗結果說明他們唯一可能受染之處就是隣近旅大的某工地。如是，該地流行雖僅四週，病毒的散播看來非常廣泛，就此血清反應結果推論，不顯性傳染可能多於實際腦炎患者的數目150倍。

關於地區內病毒儲主問題，沒有進行調查。

## 總 結

本文概要分析了1953年旅大地區乙型腦炎的流行情況，並對發病率、病亡率和易感性問題略加討論。

病亡率以農村為最高。醫療設施不足、交通不便，就診時遲是農村病死率高的主因。

根據毗隣旅大區的某工地流行看，易感者的輸入促成該工地腦炎流行的暴發。論據顯示，在這一流行中病毒散佈極廣，而不顯性傳染可能150倍於有腦炎臨床表現者。

## 參 考 資 料

1. 張宗葆：旅大市愛國衛生運動委員會流行性乙型腦炎研究組昆蟲小組資料。
2. 魏文彬：旅大市愛國衛生運動委員會流行性乙型腦炎研究組，病毒小組1953年工作報告。
3. 旅大市衛生防疫站資料。

## 旅大市流行性乙型腦炎隱性感染之初步調查

王成棟 魏文彬

流行性乙型腦炎一病近年來在旅大地區幾乎每年夏秋季都有流行<sup>[1,2]</sup>。在臨床、病原、流行病學及其他方面<sup>[3~6]</sup>均經過研究判明：旅大市歷年來所流行的流行性腦炎和我國其他各地相同全屬「乙型」。在1953年由於基本建設，人口的流動在某些地區有所增加。在8—9月裡忽然病例在某幾個單位內發生的較多<sup>[4]</sup>。為了解其原因是否就是由於人口流動而引起的腦炎流行，故把來自外地的人員和常住在本地人員的血清對乙型腦炎病毒的抵抗力用中和試驗作了一比較觀察。試驗共分兩組：試驗組為常住在本地人員的血清；而對照組則為外地（黑龍江省）在同年春季來本地支援建設的工人。另外，還檢查了十份來自北滿的馬血清。今將實驗結果報告於下。

### 材料及方法

一、血清：試驗組（常住在旅大市的居民）血清於1953年9月間從旅大市醫學院醫院及防疫站選擇沒有注射過腦炎疫苗及腦炎病史的健康的工作人員採取來的。共計15人份。對照組為同年春季來自北滿黑龍江省拉林、雙城、尚志及賓縣等縣來旅大支援建設的工人，按試驗組同樣的原則選擇出17人份血清。以上兩組人員均為青壯年。馬血清為龍江省支援建設的民用馬匹。其年齡在4—10歲之間。試驗對照之陰性血清為同年由哈爾濱市防疫站採取之健康人血清，並經試驗證明確為陰性者。

以上各血清均用無菌手續採取血液，於次日分離出的血清，不加任何處理立即保存在低溫冰庫內，以供試驗之用。

二、毒種：為旅大系22號流行性乙型腦炎病毒，經鼠腦傳至20代。試驗前的毒力在 $10^{-8}$ 左右。中和試驗用之毒種懸液是用pH7.6之肉湯製成的20%病毒懸液。

三、動物：中和試驗所用之動物全為本所動物室飼養之體重12—14克左右的健康小白鼠。試驗時每一稀釋度五只，每份血清共用四個稀釋度，計20只。

中和試驗的方法：一般按“流行性乙型腦炎的防治”一書所載的方法：即把不同濃度之病毒懸液（ $10^{-1}$ — $10^{-7}$ ）分別於每管內加0.2毫升。然後在各管內再加入等量的被檢血清之後放在37°C水溫槽內一小時使之中和。由水溫槽拿出後立即放置在冰浴中。先從高稀釋度開始依次接種到上述之小鼠腦內，每鼠0.03毫升。最後再接種對照試驗的動物。接種的動物觀察21天後，按Reed-Muench氏之方法計算出其LD<sub>50</sub>。判定標準：中和指數0—9為陰性；10—49為可疑；50以上為陽性。

### 試驗結果

一、常住旅大地區的健康人血清對流行性乙型腦炎病毒的中和試驗：被檢的15人當

中，年齡在20—45歲之男性6人，有5人為陽性。年齡在18—21歲的9份女性血清，試驗結果全為陽性。總計男女15份血清中14份有中和流行性乙型腦炎病毒的能力。陽性率佔93.3%（見表1）。

二、來自北滿的健康人血清對流行性乙型腦炎病毒的中和試驗：從1953年春自北滿南來支援建設的工人中在同年9月間，選擇沒有注射過腦炎疫苗及無腦炎病史的健康工人採取了17份血清（全為男性）。其中來自賓縣的11名，拉林縣2名，尚志縣2名，雙城縣2名，計17名。年齡介于19—39歲之間（19—29歲的有13名，30—39歲的有4名）。結果17名中陽性的有11名，佔64.7%（見表1）。

表 1. 健康人及馬血清對流行性乙型腦炎病毒中和試驗結果

被檢血清	年 齡	發檢血清份數	陽 性 結 果	
			血清份數	百分比
常住旅大地區健康人	18—45	15	14	93.3
來自北滿的健康人	19—39	17	11	64.7
來自北滿的民用馬匹	4—10	10	10	100

三、來自北滿的民用馬匹血清對流行性乙型腦炎病毒中和試驗：1953年9月間在某地裡共採取來自北滿的馬血清10份。這些馬匹均在同年春季來到遼寧省南部。年齡為4—10歲之間。所有這些馬的血清對乙型腦炎病毒的中和試驗結果全為陽性，即陽性率為100%。並且中和指數亦相當的高，均在2,000—30,000之間（結果見表1）。

## 討 論

以上述用中和試驗的方法檢查了流行性乙型腦炎流行區旅大市的居民和一般認為非流行區的黑龍江省〔8,9,10〕（北緯44°以北）所屬幾個縣的居民以及該地區馬的血清的觀察結果，初步的可以說明：兩地居民之間受乙型腦炎病毒感染的情況有所區別。

遼寧省1938年就有流行性乙型腦炎的病例報告〔11〕。解放後本病例的報告有所增加。所以在居民之中受乙型腦炎病毒侵襲的機會亦可能增加，而造成廣泛的隱性感染。在選擇採血的對象雖然注意到以往病史腦炎為陰性，亦未曾注射過腦炎疫苗等問題，但結果仍得到相當高的陽性率（93.3%）。由黑龍江省來本地的民工中選擇沒有離開過該地同時在歷史上即無腦炎的病史又未受過腦炎的人工免疫。其陽性率佔64.7%。歷年來東北的乙型腦炎的流行均在北緯44°以南地區〔8〕。那就可能由於在本地的一個夏季裡受病毒侵襲而形成隱性感染的結果。以張鴻源〔13〕氏的報告來看，也證實了這一點。從結果中可看出兩地的居民對乙型腦炎病毒的抵抗力在程度上是不同的。所不同的原因從其他影響結果的因素上觀察：兩組之間在年齡上是相仿的，一般皆為青壯年。在性別上北滿支援建設的工人全屬男性，沒有女性工人。若與常住旅大地區健康人的試驗組男女俱備相比，可能略有缺陷，但我們考慮問題不大。正好像三田村氏〔12〕所報告的那樣：“非腦炎患者或健康人的血清內中和腦炎的物質，只受地區的影響，而不受年齡和性別的支配”。據此，這兩組的試驗結果還是完全可以對照的。另外，從十份北滿的馬血清

全得到陽性的結果，並且從中和指數相當的高的情況來看，我們考慮其原因有三個可能性：①首先是馬雖來自北滿，但皆為成年馬。所以很有可能從腦炎流行區移到北滿去的；②其次是馬終日在開敞野地裡生活毫無防護，受蚊蟲襲擊的機會比人多，同時被蚊蟲刺咬的量也大的結果；③另外也可能由於受蚊蟲襲擊的頻度比人大增或者是動物種屬的機體的反應性不同所致。以張鴻源<sup>[13]</sup>的報告來看，屬於②種的可能性較大。

根據以上的結果分析：本年從北滿來支援建設工人中腦炎的發病率高可能是由於來自非流行區，血液中缺乏對乙型腦炎病毒的抵抗力是其流行的原因之一。

## 結 論

一、從試驗結果中可看出：北滿（北緯44°以北）與旅大地區之居民的血清對流行性乙型腦炎病毒中和能力不同。旅大地區的居民有中和能力的佔93.3%；而北滿的人雖在旅大地區經過一個夏季，有中和能力者僅佔64.7%。該地區的馬血清100%有中和本病毒的能力。

二、1953年從北滿來支援建設的工人中發病率所以高可能是由於缺乏對乙型腦炎病毒的抵抗力所致。

## 參 考 文 獻

1. 基莫非也夫：東北衛生，第四卷，第一期，19，1951。
2. 張冠民等：東北醫學雜誌，第四期，327—332，1952。
3. 王成棟等：旅大市流行性腦炎病原之判定，見本刊。
4. 薛慶煜、李光祖等：旅大市1953年流行性乙型腦炎流行病學調查報告，見本刊。
5. 魏文彬等：微生物學報，2:111—116，1954。
6. 魏文彬等：微生物學報，2:117，1954。
7. 中央人民政府衛生部防疫處：流行性乙型腦炎的防治，健康報社出版，1952。
8. 中央人民政府衛生部防疫司：流行性乙型腦炎及恙虫病防治資料彙編。23，1953。
9. 黃禎祥等：中華醫學雜誌，37:4，257，1951。
10. Mitamura, T., Jap. Med. J. 3:4, 257, 1951。
11. 望月昇等：日本傳染病學會雜誌14:58，1940。
12. 三田村等：東京醫事新誌，3030:1225，1935。
13. 張鴻源等：教學簡訊第八、九期：36，1956。

## 流行性乙型腦炎病毒在豚鼠血流中出現時間 的觀察(摘要)

王成棟 魏文彬

我們進行使尖音庫蚊攜帶流行性乙型腦炎病毒越冬試驗時，曾用感染了腦炎病毒的豚鼠血液浸在棉球上使成蚊吸吮，從而使成蚊受染。至於豚鼠當注射病毒之後，病毒在其血流中能否出現，情況如何，就必須事先作試驗證實不可。試驗中指明當 $10^{-1}$ 的流行性乙型腦炎病毒注射於體重350克左右的豚鼠腹腔內在10分鐘至120小時之內在血流中能證明出病毒；36—120小時之間雖也能找到病毒但不規律。

原文刊生物制品通訊，2:274—275, 1957.

## 旅大市流行性腦炎病原之判定(摘要)

王成棟 李劼 司穉東 顧秀甲 魏文彬

1. 近年旅大市所流行之腦炎經病原、血清學證明為流行性乙型腦炎。
2. 1952—1953年，由患者材料共得13株病毒。52年分得者命名為#22, #23, #25; 53年分得者為53-1……………53-9。
3. 所分得之病毒經過濾、動物感染範圍、交叉補體結合以及中和試驗等試驗證明為流行性乙型腦炎病毒。
4. 1953年自六次延髓穿刺抽取腦組織分得一株流行性乙型腦炎病毒(53-9)。
5. 1952—53年檢查之183例患者血清補體結合反應中，有66例得到兩份以上的血清，其中陽性反應者15例，可疑者4例；有117例單份血清，其中陽性反應者10例，可疑者1例。
6. 疑似腦炎患者血清之補體結合試驗結果支持了對流行性乙型腦炎病原的判定。

原文刊生物制品通訊 2:276—282, 1957.

## 尖音庫蚊攜帶流行性乙型腦炎病毒越冬試驗

魏文彬 王成棟

張宗葆 孫 鐸

流行性乙型腦炎一病，流行極廣。已知在日本、朝鮮、中國、蘇聯之濱海地區以及菲律賓諸地均有流行<sup>[1,2]</sup>。

在我國東北，流行性乙型腦炎在臨床上最早記載為1938年<sup>[3]</sup>。其他各地十餘年前已證實有本病之流行<sup>[4]</sup>。日本在1924年就有〔乙型〕腦炎之臨床記載<sup>[3,5]</sup>，這可能為世界上對本病的最早記載。由於腦炎為一急性傳染病，死亡率甚高，故引起人們的注意。各國學者在過去的數十年當中，對本病原的傳染媒介、季節、氣候和其他方面皆有較詳盡的研究。但儲存本病原的宿主問題仍懸而未決。

衆所周知，本病之傳播媒介為蚊蟲已無疑義。蚊蟲在自然界裡怎樣才感染了病毒；流行之前後病毒又隱藏在何處這一問題成為近年來研究的對象。最初三田村氏<sup>[6]</sup>以流行病學為依據，首先指出：自然界成蚊可能帶毒越冬傳播給其他動物，又再從其他有毒血症的動物獲得病毒。以後蘇聯學者<sup>[7]</sup>也認為庫蚊可以帶毒越冬；岡本氏<sup>[8]</sup>也得到同樣的結果。近年我國各專家對這一問題亦加以證實<sup>[9,10]</sup>。另外，也有些學者認為乙型腦炎病毒可能與其他型腦炎（聖路易腦炎）一樣：真正的宿主為雞或其他鳥類的體外寄生蟲<sup>[5,11]</sup>。並且，田淵氏<sup>[12]</sup>從候鳥的體外寄生蟲分離到與乙型腦炎極相同的病毒。王潛淵等氏<sup>[13]</sup>證明狗壁蝨在試驗室內也能使其帶毒，並能經卵傳遞給後代。所以儲存乙型腦炎病毒的宿主究竟是單一的蚊蟲或者還有其他動物，在目前尚難肯定。作者亦為了解儲存乙型腦炎病毒的宿主，打下澈底預防本病的基礎，進行流行性乙型腦炎病毒在蚊體內越冬及遺傳的實驗研究。今將本病毒在蚊體內越冬的情況簡報於下。

### 試 驗 材 料

毒種：所用之毒種為1952年從本地流行的腦炎死亡患者腦組織分得的22號毒株，經鑑定確為流行性乙型腦炎病毒<sup>[14]</sup>。

補體結合試驗血清：用本室制備之乙型腦炎病毒抗原診斷為陽性的患者血清。

中和試驗血清：為本室以乙型腦炎病毒（中山株）免疫的家兔血清。

抗原：把被診斷的病毒接種於10—12克的小鼠腦內俟發病後剖取腦髓，按Casals氏<sup>[15]</sup>交互冰凍融解法制備的。

試驗動物：所用之小鼠、家兔、豚鼠等全為本所動物室繁殖之健康動物。

供試驗用之蚊種為尖音庫蚊淡色變種（*Culex pipiens* var. *pallens*）。依蚊蟲的來源和感毒的方法及試驗飼育的溫度等的不同，又分為甲、乙、丙三群計八個試驗組（參閱表1）。

甲群：1953年10月間由昆蟲組自野外採集的自然界孑孓在試驗室內羽化的成蚊。

用受染腦炎病毒豚鼠感毒的蚊子編為Ⅰ組，使蚊子直接吸吮病毒懸液而感毒的編為Ⅱ組。

乙群：1953年10—11月間昆蟲組自野外採集的自然界越冬成蚊用受染腦炎病毒豚鼠血感毒的蚊子分為Ⅲ、Ⅳ兩組。以直接吸吮病毒懸液感毒的蚊子為Ⅴ組。

丙群：為1953年12月以後至1954年3月間自野外採集之自然界越冬成蚊。在54年5月間用受染小鼠感毒的蚊子分為Ⅵ、Ⅶ兩組。不行人工感毒的為Ⅷ組。

## 方法 及 結 果

一、受染腦炎病毒豚鼠感毒法：經鼠腦傳代之新鮮病毒用 pH7.6 的肉湯制成 10% 懸液，分批的間隔 4—6 小時注入體重 350 克左右之豚鼠腹腔內。每只豚鼠注射 3 毫升。在注射後間隔一定的時間（自注射病毒後至採血的時間各批為 12、18、22 小時），同時自心臟採取血液，加入等量的 5% 蔗糖液。吸取在無菌脫脂棉中，置於蚊籠上使蚊吸吮（已證明豚鼠注入上述量的病毒後其血流中自注射後 10 分至 120 小時內證明存在有病毒，並能使小鼠發病死亡）〔16〕。用本法感染甲群的Ⅰ組及乙群的Ⅲ、Ⅳ組。為了使蚊子都能充分的吸吮到病毒，在53年的11月下旬每組皆重複的感染三次。

二、直接吸吮病毒法：將感染腦炎病毒發病的新鮮鼠腦制成 10% 懸液。再用 5% 蔗糖液稀釋 5—10 倍（1—2%），浸在棉球中置於蚊籠上，使蚊吸吮。本法共感染甲群中的第Ⅱ組及乙群中的第Ⅴ組。在53年11月下旬也同樣的重複感染三次。

三、受染小白鼠感毒法：把接種腦炎病毒發病之小鼠腦用 pH7.6 的肉湯制成 10% 病毒懸液，接種於 10—12 克之小鼠腹腔內，經 3—4 小時後，仰縛於木板上，用剪刀剪除腹部之毛，放進蚊籠內，使其過夜。次日把吸血之蚊選出。用本法感毒的為丙群之Ⅵ、Ⅶ兩組。

四、試驗成蚊在試驗室內越冬的情況。如上所述，各群成蚊飼養在放有少量水的大瓦缸內，保持一定的溫度，力求符合成蚊在自然界越冬的條件。整個越冬過程，溫度保持在 4—13°C 之間。如果低於 4°C 之際，則以電烤爐微微加溫，但以不超過 13°C 為限。每週喂一次 5% 蔗糖溶液。

在整個冬季裡成蚊的死亡數很低。而在54年春三月以後隨溫度的上升，死亡數目亦逐漸增高。傳染及分離病毒試驗是在自然界成蚊出現以後開始的（1954年5月18日）。從感毒至試驗的開始已達 6 個月之久。

五、傳染試驗：所有的越冬成蚊在54年5月18日開始第一次傳染試驗。其中甲群的Ⅰ、Ⅱ組，乙群的Ⅳ、Ⅴ組和丙群的Ⅵ、Ⅶ等組在試驗之前一週開始逐漸提高其周圍溫度至 28°C 以後使其刺咬 3—7 日的乳鼠或 7—9 克之小白鼠，以觀察動物是否發病，藉以證明蚊蟲能否帶毒越冬。另外，乙群中之Ⅳ組及丙群中的Ⅶ組在試驗之前不用人為的方法提高其周圍的溫度，以觀察在春季的自然條件下蚊蟲的攜帶的病毒能否使動物感染而發病。雌蚊吸血之後即可滋養卵的發育。產卵後就觀察病毒能否經卵傳遞至下一代（結果以後再報）。

本試驗各組蚊蟲由於不能一次都吸到血，故皆連續進行 3—4 次。結果其中除丙群的Ⅶ組為陽性外，餘者全為陰性（見下表）。



表 1. 尖音庫蚊攜帶流行性乙型腦炎病毒越冬試驗的結果

群別	組別	越冬前				越冬		帶毒試驗				備註	
		時間	蚊的來源	感毒時間	感毒方法	環境	溫度	飼養溫度	傳染試驗 蚊數	結果	分離試驗 蚊數		結果
甲	I	53年10月	自然界 子下人工 羽化	53年 11月下 旬	受染蚊 鼠血液	感有少 量水的 瓦缸內	40~ 13°C	28°C	100+	-	7	-	
	II	53年10月	"	"	病毒 懸液	"	"	"	100+	-	19	-	
乙	III	53年 10-11月	野外採 集的成 蚊	"	受染蚊 鼠血液	"	"	"	906	-	479	-	
	IV	53年 10-11月	"	"	"	"	"	室溫 (18°C左右)	223	-	200	-	
	V	53年 10-11月	"	"	病毒 懸液	"	"	28°C	50	-	9	-	
丙	VI	53年11月 ~54年3月	"	54年 5月中 旬	受染 小鼠	"	"	"	200+	※(+)	16	-	※被試驗的 6只乳鼠在 5日內發病 死亡4只
	VII	53年11月 ~54年3月	"	"	"	"	"	室溫 (18°C左右)	100+	-	96	-	
	VIII	53年11月 ~54年3月	"	-	-	"	"	28°C	100+	-	※30+(+)	-	※被接種的 3只小鼠在 第8天發病 死亡1只

※ 經培養結合試驗抗原反應為 1:16; ※ 經培養結合試驗抗原反應為 1:8; 中和試驗共指數 >10,000 帶有“+”號的為蚊蟲的約數。

六、分離病毒試驗：為了從蚊體內最大限度的可能證明出病毒，凡雌蚊產卵之後，分批用煙薰死研磨製成乳劑（一般每隻蚊加稀釋液不超過 0.1 毫升）。經抗生素處理後接種於 7—9 克之小鼠腦內，觀察三週。如有呈現病症之小鼠立即剖取腦髓進行鑑定以證明是否為乙型腦炎病毒。

由於越冬成蚊經過的時間太久，死亡率甚高，因而最後分離病毒試驗時蚊蟲所剩無幾，尚難說明問題。本試驗祇在丙群中的羅組約 30 隻蚊蟲中分離出一株流行性乙型腦炎病毒。其餘皆為陰性（見表 1）。

## 討 論

很多學者 [7,8,9,10] 的實驗研究證明蚊蟲可以帶毒越冬。我們的實驗也得到同樣的結果。另外，以我們現有材料來看，蚊蟲一旦感染腦炎病毒之後可能就終身帶毒 [6,17]，也間接地說明了凡能感染病毒並能越冬的成蚊就有帶毒的可能性。據我國張鴻源氏 [9] 的報告：庫蚊在越冬的情況下能帶毒達 318 天之久；王逸民 [10] 氏報告的為 92 天。以我們的實驗推論：在旅大地區 11 月間蚊蟲基本上停止吸血活動。而我們是在第二年的 6 月 16 日從自然界越冬成蚊中分離到一株流行性乙型腦炎病毒（丙群羅組）。這樣看來至少

帶毒已有二百餘天。關於帶毒時間的長短可能因地而異。在北方冬季較長，蚊蟲越冬和帶毒時間就相應隨之而延長。這都說明蚊蟲帶毒對自身無害，但却保有傳播病毒的能力。以這些情況觀察，起碼可認為蚊蟲是儲存腦炎病毒主要宿主之一。

不經任何人為的條件而在自然界裡越冬的成蚊中分離出腦炎病毒更確切地說明了這一問題。

在試驗裡我們利用人工感毒的方法反未能試驗成功。其原因，首先我們考慮到感染病毒的濃度與在蚊體內增殖所謂“有毒性”的條件問題。試驗感染用的病毒濃度：管 $10^{-1}$ 的病毒3毫升注入到體重350克之豚鼠體內時被血液沖淡之後能相當於 $10^{-1}$ 左右（豚鼠的血液量按其體重的1/13計算約25—30毫升之間）。這樣濃度的病毒在過去已經證實足以使蚊蟲感染並能用小鼠傳染和分離出病毒<sup>[17]</sup>。三田村氏<sup>[18]</sup>用 $10^{-1}$ — $10^{-6}$ 的病毒行感染蚊蟲的試驗證明：病毒量對蚊蟲的“有毒性”的影響不大。所以未成功之主要原因還不在於此。病毒在蚊體內能達到“有毒性”，溫度是其中主要條件，屢次得到證實<sup>[9,17,18]</sup>。在我們的試驗裡感毒之後並未經過人為的加溫。當時又在11月末，室溫已在 $10^{\circ}\text{C}$ 以下。在這樣的溫度之下病毒在蚊體內已經證明不出來<sup>[18]</sup>。病毒在蚊體內可能需要一定的溫度使其達到一定的程度後，再在越冬的條件下才能把病毒保藏下來。所以未能感染成功，這可能是最主要的原因。能使病毒在蚊體內達到“有毒性”的溫度起碼應在 $22^{\circ}\text{C}$ 以上。這樣的溫度在北方的晚秋已甚罕見。所以在自然界裡帶毒越冬的成蚊可能是在初秋之際就已帶毒（九月份我們這裡腦炎尚在流行）。可推想到越冬成蚊的帶毒率可能與當年秋季的氣溫有相當大的關係；同時也很可能與第二年腦炎的流行有着一定的意義。

在試驗中用越冬的成蚊行傳染試驗皆未成功。我們在試驗的前一週方才開始逐步的提高溫度至 $28^{\circ}\text{C}$ 。達到 $28^{\circ}\text{C}$ 之後僅一天的時間便開始傳染試驗（因為提高溫度後蚊蟲驟然大批死亡）。這樣可能病毒還未能達到“有毒性”的程度所致。所以丙群Ⅵ組雖然傳染試驗未成功，但是在提高溫度（ $28^{\circ}\text{C}$ ）之後，將近一個月的時間從剩下的約30隻蚊蟲中分離出一株病毒。

由54年5月17日用受染病毒小鼠感毒的丙群Ⅵ、Ⅶ兩組的結果來看：前者經 $28^{\circ}\text{C}$ 過三週以後（6月10日）傳染試驗就成功。並且被試驗的六隻乳鼠中有四隻發病；相反後者（Ⅶ組）飼養在春季的室溫裡就不能使動物感染發病。可以說明溫度對病毒的傳播起着一定的作用。所謂流行性乙型腦炎的季節性可能是在這個季節裡最適合病毒媒介的增殖和促使病毒達到“有毒性”的溫度兩個因素相結合，造成流行的主要條件之一。但在春季裡不能使病毒達到“有毒性”之際，能否在動物與蚊之間周而復始的傳遞。這一問題尚未見到實驗報告。如果這一點能得證實，關於蚊是否為儲存腦炎病毒的宿主問題就迎刃而解。在丙群Ⅶ組為自然界越冬成蚊，是否在試驗之先已帶有病毒的可能性，我們也曾考慮到。但由於因素複雜，如不更進一步的去觀察尚難肯定。

另外，補體結合試驗所用的血清是選擇效價在16倍以上的流行性乙型腦炎陽性患者血清。並以標準乙型腦炎病毒抗原經過二次以上的試驗證明無其他任何非特異反應的特異血清。其試驗結果以我們的觀察比用腦炎病毒鼠腦懸液免疫的豚鼠血清還清楚。

本試驗，自始至終都在獨立的試驗室內進行。整個試驗分為昆蟲與病毒兩個組。每

次試驗都有專人負責，故試驗結果一般應為可靠。

## 摘 要

一、本試驗報告：1953年秋季至54年6月之間由自然界越冬成蚊中分離出一株病毒。經中和試驗和補體結合試驗證實為流行性乙型腦炎病毒。說明蚊蟲可以攜帶腦炎病毒越冬。並以蚊蟲活動的時間來推論，其帶毒時間可達二百餘天之久。

二、自然界越冬成蚊在春季用提高溫度(28°C)的人工方法亦可使其感染病毒。蚊蟲一旦帶有病毒，若欲使其“有毒性”(感染動物成功)溫度因素是具有決定性的作用。

三、關於蚊蟲在自然界裡帶病毒的條件、意義，儲存腦炎病毒的宿主以及試驗方法等問題亦已討論。

致謝：在工作當中有一段時期由李劫同志參加，特致謝意。

## 文 獻

1. 基莫非也夫：東北衛生，4:19, 1951
2. 應元岳：熱帶病學，人民衛生出版社，1952, 72.
3. 望月昇等：日本傳染病學會雜誌，14:58, 1939
4. 黃禎祥：中華醫學雜誌，37:253, 1951.
5. А.К.Щубладзе, С.Н.Гайдамович: Крайний курс практической вирусологии. 1954, 232—238.
6. 三田村等：東京醫事新誌，3065—3089:825, 1938.
7. 阿巴那森瀾：日本夏季腦炎，1952年報告。
8. 北岡等：醫學中央雜誌，102:637.
9. 張鴻源等：教學簡訊，第三、四期合刊：80. 1955.
10. 王逸民等：中華衛生雜誌，4:198, 1956.
11. 松本稔：日本細菌學雜誌，3:59, 1948
12. 田淵英一等：家畜衛生試驗研究報告，23號，93, 1951.
13. 王濟潤等：中華醫學雜誌，38:1043, 1952.
14. 王成棟等：旅大市流行性腦炎病原之判定，見本刊
15. Casals J. and Palacios R: J. Exper. Med. 74:401, 1941
16. 王成棟等：流行性乙型腦炎病毒在豚鼠血流中出現時間的觀察，見本刊，
17. 魏文彬等：微生物學報，2:111, 1954.
18. 三田村等：東京醫事新誌，3065—3089, 812, 1938.

## 由大連市區住宅與牛舍蚊體中分離出 流行性乙型腦炎病毒(摘要)

魏文彬 李 劼  
張宗葆 孫 鐸

在我國，據報告只有在北京市區內從自然界捕獲之淡色庫蚊蚊體中分離出病毒。其他城市或地區還沒有類似的報告。爲了證實旅大市的自然界成蚊是否同樣的可在乙型腦炎流行期間攜帶病毒，作爲今後我國預防乙型腦炎在捕滅蚊子問題上的根據。本文作者張宗葆及孫鐸二氏於1953年在大連市區做了各種蚊種季節分佈的調查，並對指定的住宅及牛舍各一處的蚊種季節分佈的情況做了詳細的分析。與這次工作的同時，對捕獲的各種蚊種亦做了分離病毒的試驗。

結果表明大連市在1953年於流行性乙型腦炎流行之前，自一牛舍內捕獲的三帶喙庫蚊蚊體中出一株病毒（在我國系首次報告）。在同年腦炎流行中期，自與該牛舍毗鄰的人的住宅內捕獲的淡色庫蚊蚊體中分離出另一株病毒。此二株病毒經補體結合試驗及中和試驗證明皆爲流行性乙型腦炎病毒。

分離此二株病毒的時間與三帶喙庫蚊在牛舍中以及淡色庫蚊在住宅中季節分佈曲線的峯是一致的，此點在本地區流行性乙型腦炎的流行病學上有重要意義。根據蘇聯學者Aeb氏的意見，流行性乙型腦炎的流行有兩個輪環：動物間流行之環與人群中流行之環，前者之流行較後者之流行爲早，而蚊則爲其傳播媒介。我們由蚊體分離病毒的工作確已證實了Aeb氏說法的正確性。我們在以三帶喙庫蚊佔多數的牛舍內亦曾發現淡色庫蚊，同樣的人的住宅內雖以淡色庫蚊佔多數但亦能發現三帶喙庫蚊，因此我們推論動物間與人群中病原體的傳播可能由於此兩種蚊的媒介。

在1953年大連市流行性乙型腦炎流行末期中，我們沒能由自然界捕獲的成蚊中分離出病毒。我們同意黃毓祥鄭璧凱二氏的解釋，即當“流行開始以後，動物因得了不顯性感染，同時有免疫力的動物數量也增加了。因此就有許多蚊蟲吸了有免疫性的血清，致形成很多中和病毒的機會”。關於這一點，當然還需要進一步做試驗來證實。

（原文全文發表於 微生物學報，2卷2期，117—124頁，1954年11月。）

## 東鄉氏伊蚊及淡色庫蚊感染流行性乙 型腦炎病毒試驗(摘要)

魏文彬 王成棟  
張宗葆 張瑞平

根據北京市的報告在北京市有三種蚊種可以傳染流行性乙型腦炎病毒。

旅大市系濱海都市，各種蚊種的季節分佈和種類與北京市不盡相同。尤以東鄉氏伊蚊的幼蟲在旅大市含有鹽質成分的石縫水中和岩洞水中孳生，在旅大市極易找到。因此我們就以東鄉氏伊蚊為重點，輔以淡色庫蚊，在試驗室內做了人工感染流行性乙型腦炎病毒的試驗，其目的是要了解在濱海地區較常見的東鄉氏伊蚊是否和淡色庫蚊一樣地可以感染腦炎病毒，以便在捕滅蚊子預防腦炎這項工作中對東鄉氏伊蚊採取適當的措施。

試驗結果表明使東鄉氏伊蚊叮咬了已感染了乙型腦炎病毒的小白鼠或用人工方法餵養東鄉氏伊蚊以病毒（在棉球上）後，可在感染病毒 7—23 $\frac{1}{2}$  天後在蚊體中分離出在質上與原來感染的病毒相同的病毒。（在我國系首次報告）。

旅大市的淡色庫蚊可攜帶流行性乙型腦炎病毒至少可至 41 $\frac{1}{2}$  天，其有效傳染時期為 35 天。淡色庫蚊一旦感染流行性乙型腦炎病毒可能終身攜帶病毒由試驗中可以證實。

（原文全文發表於 微生物學報，2 卷 2 期，111—116 頁，1964 年 11 月）。

## 東鄉氏伊蚊感染流行性乙型腦炎 病毒試驗（續報摘要）

李 訪 魏文彬 張宗葆 孫 鐸

1. 雌性東鄉氏伊蚊，不論以刺咬受染小鼠或吸吮病毒懸液的方法，皆可接受流行性乙型腦炎病毒的感染；雄性東鄉氏伊蚊，因無吸血習性只能接受後一方法的感染。試驗中，以刺咬受染鼠感染的成蚊至少可攜帶該病毒23天；以吸吮病毒懸液感染之成蚊，至少可以攜帶該病毒20天。

2. 染有乙型腦炎病毒之東鄉氏伊蚊，具有傳播病毒使易感動物——小白鼠之乳鼠致病的能力。試驗中，以刺咬受染鼠感染之成蚊，其傳播病毒之能力，至少在染毒後21天（三周）；以直接吸吮病毒懸液感染之成蚊，至少在染毒後14天（兩周）。

染毒成蚊攜帶病毒時間之長短及其傳播病毒能力之大小，決定於其生存時間之久暫及生活能力之強弱。

原文刊 生物製品通訊，2:270—274, 1957.

## 聖路是腦炎病毒之保存試驗

張婉荷 魏文彬

腦炎病毒保存是試驗室的常規工作。在一般文獻中記載<sup>(1,2,3,4)</sup>，腦炎病毒保存於50%中性甘油內，置4°C冰箱中可保存數月不死。但也有記載；在這種情況下，保存不得超過兩個月。關於腦炎病毒在試驗室保存多少時間傳代最適宜，其說不一。頻繁的傳代。造成人力物力的浪費和工作的混亂，在這種狀況下，決定以本室現有的日本乙型腦炎，臺灣森林腦炎，及聖路易腦炎等毒種做保存試驗，以觀察這些病毒長期保存情況。今將聖路易腦炎病毒保存試驗敘述如下。

### 材料及方法

#### 一、病毒之來源及測定

由旅大傳染病院李作洲氏，於1952年5月24日由北京中央衛生研究院帶來。原為 $10^{-1}$ 之冷凍乾燥管，本室收到後，即放於 $-30^{\circ}\text{C}$ 之冰箱中保存。初欲提高毒種之毒力，故先以7—9克小白鼠，進行腦內傳代。以PH7.4—7.6普通由湯做成10%腦乳劑，用角型沉澱器以每分鐘2000轉沉澱10分鐘，取上清做為傳代材料。每隻鼠接種0.03毫升腦內。俟3—7日發病後，將鼠放心血死，以無菌手續將鼠腦取出。用同法連續傳代8次後。按常規測定毒力方法，用PH7.4—7.6肉湯做10進倍稀釋，取每個稀釋度接種於10—12克之小白鼠腦內，每個稀釋度注射5隻，觀察兩週，按Reed和Muench LD50氏法計算，此毒種之毒力滴度 $\text{LD}_{50}=10^{-7.4}$ 。

#### 二、鼠腦保存試驗材料之制備

將聖路易病毒之懸液接種於7—9克之小鼠腦內0.03cc（方法同前），俟其發病後。取腦保存於50%中性甘油管內，分別置 $0^{\circ}\text{C}$ 及 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱中，每隔一段時間，分別由冰箱中取出，將腦以生理鹽水沖洗3次，研磨接種小白鼠，按常規方法測定毒力。

#### 三、乳劑保存試驗材料之制備

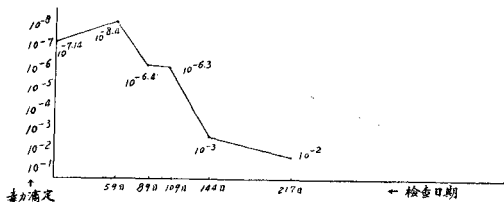
病毒材料制備方法同前，僅發病後之小白鼠腦做成10%乳劑，經角型沉澱器以每分鐘2000轉，沉澱10分鐘，取上清以0.5—1cc分注於滅菌小試管中，分別放於 $0^{\circ}\text{C}$ 及 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

每隔一定時間，由 $0^{\circ}\text{C}$ 及 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出一管乳劑，接種7—9克之小白鼠腦內0.03cc，俟其3—7日小白鼠發病而死，計算其結果。

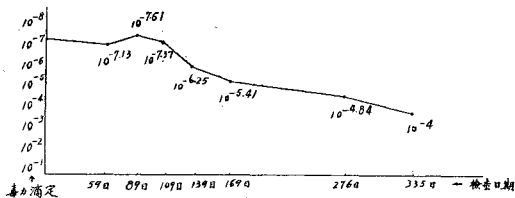
### 試驗結果

#### 一、鼠腦保存試驗

① 保存於0°C 冰箱中毒力滴定結果。



② 保存於-20°C 冰箱中毒力滴定結果。

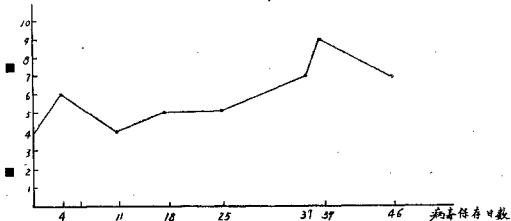


二乳劑保存試驗。

① 保存於0°C 冰箱中材料，接種小鼠發病情況





② 保存於 $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中之乳劑，接種小白鼠發病情況。

$-4^{\circ}\text{C}$  冰箱中，在 59 日內毒種之滴度沒 (LD<sub>50</sub>) 有什麼變化，59 日以後，才有下降趨勢，在 109 日以後 LD<sub>50</sub> 急劇下降。

聖路易腦炎病毒保存於 50% 中性甘油中，在  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中，在 109 日以內 LD<sub>50</sub> 沒什麼變化，在 109 日以後，有下降趨勢，毒種 LD<sub>50</sub> 隨着保存時間的增加而逐漸下降。

聖路易腦炎乳劑保存試驗中，保存在  $0-4^{\circ}\text{C}$  冰箱中，33 日接種小白鼠，均能使動物有典型之腦炎症狀，並引起死亡。保存在  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中，46 日內小鼠接種後，均有典型腦炎症狀，並引起死亡。

由本試驗材料來看，存在些缺點，首先是試驗之設計不周，估計不足，病毒保存期檢查安排的前緊後鬆，時間不够適當，所以材料用完，而試驗被迫停止，這是不能令人滿意的。

## 結 論

1. 聖路易腦炎病毒，用 PH7.4—7.6 肉湯做成 10% 乳劑，放  $0-4^{\circ}\text{C}$  冰箱中 53 日，或放  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中 46 日，接種小鼠均能引起典型之腦炎症狀，並引起死亡。

2. 聖路易腦炎病毒，在 50% 中性甘油中，放於  $0-4^{\circ}\text{C}$  冰箱中，保存 59 日，和放於  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中，保存 109 日，毒種的毒力沒有顯著的變化，再繼續保存，則毒力有下降之趨勢。

## 參 考 材 料

1. 流行性乙型腦炎的防治，健康報社，1952年。
2. 王潛淵，實驗病毒學人民衛生出版社1955年。
3. 流行性乙型腦炎疫苗製造學習蘇聯法規的前後，衛生物製品研究腦炎疫苗室，在1956年11月全國第一次生物製品所所際論文報告會上宣讀。
4. А.К. Шубладзе, С. Я. Тацмаовия.

Краткий Курс практической вирусологии.

參加本項工作的尚有李劼，沈森，張國光，顧秀甲等同志。

## 乾燥牛痘苗的大量生產與效價的研究\*

魏 曦 李福聲 張婉荷

種痘在我國早已發明，據醫宗金鑑記載<sup>(1)</sup>遠在九百餘年前，即宋朝仁宗時代（公元1022—62）一種預防天花的人痘接種法即已開始流傳於民間。這是我國醫學史上光榮的一頁。約七百年後（1767）琴納氏<sup>(2)</sup>才有牛痘苗的發明，從此種痘就成為既有效又安全的方法。按理這個偉大的發明應該是消滅天花的有力武器，但至今除蘇聯及一些社會主義國家外，天花在不少國家內仍未能徹底消滅。我國在解放前以及解放初期也有天花流行的嚴重情況，自從1949年起我國人民在黨和政府的領導下立即着手推行普遍種痘的工作，在六億人口中消滅天花是個既光榮而又極其堅鉅的任務，我們生物製品工作者負有供應量大，效力高，期限長的牛痘苗的崇高職責，在歷史上我們只能生產液體牛痘苗，1950—51兩年之中已為二億一千萬人種痘，但至此就出現了新的問題，我國地區遼闊，有廣大的農村和遙遠的邊區，液體牛痘苗勢難解決這些地區的種痘問題，因液體牛痘苗限期短，容易失效，經過長途運輸到目的地後已成廢品，改進牛痘苗的生產方法就成了迫不及待的工作了。根據各國的研究和我們自己的經驗只有乾燥牛痘苗方能解決這個問題。Otten<sup>(3)</sup>，Boulnois<sup>(4,5)</sup>，Kaiser<sup>(6)</sup>及 Morosov<sup>(7)</sup>都曾在這方面有所供獻。1947年作者<sup>(8)</sup>為了供應邊區省份的需要曾小量試製乾燥牛痘苗，我們的工作證明牛痘苗與阿拉伯膠配製後經過乾燥可以延長效價。此次從這個基礎上出發重新考慮了大量生產的問題。同時我們也把毒種的毒力問題，保護液的選擇問題，以及大型冷凍乾燥的設備問題一併加以慎重的考慮和研究。茲將研究經過和結果報告於下。

### 材料及方法

(1) 毒種及毒種的毒力：由於歷史的關係本所多年來所用的毒種是一種“牛化天花毒”，實際上這樣的毒種是與國內各生物製品研究所常用的“天壇毒種”有相似之處的，因兩者均係由天花患者分離而得，所不同者“天壇毒種”為一株保存了廿餘年的舊毒種，而“牛化天花毒”却是分離不久的新毒種而已。本所採用這樣的毒種是以城井，島谷及笠井等<sup>(9)</sup>的經驗為根據，他們的研究證明毒種在動物，如牛和家兔體上交替傳代過久，就對動物體產生適應性，而對人體逐漸失去了毒力。如以此種毒種生產牛痘苗，種痘的結果就會發現發痘率降低。為了補救這個缺點城井等主張經常更換新的毒種，這類毒種是從天花流行中分離而得的，因此叫做“牛化天花毒”。他們的方法是，首先選擇天花流行中的兒童患者（必須是未患其他傳染病的兒童），取其痘痂中之膿液，納入消毒試管內，與一毫升之消毒生理鹽水混和，置 37°C 孵箱中二小時，略為減毒，或採痘痂與適當量之甘油（60%）醇（0.5%）溶液混合研細，然後按野口法<sup>(10)</sup>注

\*本論文曾於1952年1月在匈牙利微生物學會成立大會上宣讀。

射家兔辜丸，在辜丸上通過三代後，就接種到小牛的皮膚上，在一至二歲的小牛皮膚上通過二至三代後，即可獲得減毒的“牛化天花毒”。減毒的標準以家兔臀部皮膚反應為依據。凡“牛化天花毒”不在兔皮膚創痕上發生痘疤者即是減毒成功的證明，這株毒種就可以用於牛痘苗之產生了。本所的“牛化天花毒”一般加入等量的 60% 甘油溶液在 0~10°C 的溫度下保存，保存期限約為一年。本試驗中所用的毒種是 1947 年分離的。

關於毒種毒力的強弱試驗，本所歷來採用牛隻免疫測毒法，此法是以 Chaumier<sup>(11)</sup> 及城井等<sup>(12)</sup> 的研究結果為依據。在實際工作中，為了選擇毒力較強的毒種，每年在生產牛痘苗之前，即對保存的各批“牛化天花毒”毒種進行毒力鑑定，其步驟如下：

取檢疫後的一至二齡小牛一隻，將全腹部之毛剃去，並按常規將牛皮消毒，第一次用被檢毒種接種於小牛之腹部，其範圍約為自助下至盆骨之間的寬約二十厘米的狹長地帶，任其發痘，至第四天再用同一被檢毒種在牛腹兩側保留下的皮膚上劃痕接種，其操作一如人體接種牛痘苗，每一劃痕約為三厘米，劃痕之數共為三組，每組為並列之直線三條，每組之間的距離約為十厘米，每條之間的距離約為二厘米。這樣同時接種三組的目的，是在利用三組之間的反應的差異，作出平均反應的估價，為了更準確的估計痘毒在免疫力的影響下發痘的程度，又於第五天，在以上三組直線劃痕之下補充一次毒種的接種，為了便於與上次接種區別，可將劃痕的形式安排為三個交叉的十字，這次劃痕除了觀察其本身之反應外，亦可作為上次劃痕反應之對照。以後數日即觀察其全部反應，至第六日或第七日在兩次的劃痕線上即出現痘疤，此時即可檢查並測繪其發痘範圍及形狀。凡在劃痕上發現了一片完整飽滿之痘疤者為毒力強之證明，在劃痕出現一串圓形球狀痘疤者為毒力中等之證明，而只在劃痕之兩端或中間發出一兩顆痘疤或不發痘疤者為毒力弱之證明。毒種之取捨就根據這個鑑定來判斷，毒力強的毒種經過這樣的鑑定後，就用之於生產。這個反應是以免疫原理為根據的，當第一次接種了毒種之後，牛體一面在接種部位發痘，一面也產生了全身性的免疫力，在免疫力逐漸發展的形勢下進行第一次和第二次的劃痕接種，就使得毒種在免疫力的影響下發育起來，如毒種的毒力甚強發出的痘疤就很完整，而毒力中等或毒力較弱的毒種就會表現痘疤發育不全的現象。在此次試驗中的生產毒種就是根據這個原理和方法挑選出來的。

毒種在使用前均經過需氧菌及厭氧菌的細菌學檢查以及動物試驗。

(2) 乙醚除雜菌的效果：過去有許多單位在製造乾燥牛痘苗時不甚注意除去雜菌，因此 Van Rooyen 及 Rhodes<sup>(13)</sup> 認為凡乾燥牛痘苗不降低雜菌是不合格的，蘇聯 Morosov 等<sup>(7)</sup> 主張用 1.5% 酚處理痘牛痘苗以減少其雜菌，Kaiser<sup>(6)</sup> 則用而 Zehirol 獲得同樣效果。作者<sup>(8)</sup> 在 1948 年所試製之乾燥痘苗係用乙醚為滅菌劑，此法曾先後在我國北京及昆明兩處生物製品研究所用之於液體牛痘苗，在使用乙醚之十餘年經驗中，他們認為不獨乙醚之滅菌效果可靠，而對牛痘苗之效價亦毫無妨礙，因而此次又將原有經驗結合本地之現有條件進行試驗，在試驗時取用生產上所採刮之痘疤納入消毒之廣口瓶中，然後將純製之乙醚傾入瓶內，以浸泡全部痘疤為止，加上瓶蓋後置室內之冷暗處，此後再隔一小時以無菌操作法取痘疤一部份，放入消毒之真空瓶內，以真空水泵抽去乙醚，稱其重量，並按 1:5 用滅菌生理食鹽水製成懸液，再取懸液進行細菌計數，

以滅菌生理食鹽水將懸液稀釋成 1:1000, 1:5000, 1:10,000 三個倍數，每稀釋倍數取一毫升放入平皿內與肉湯瓊脂混合，凝固後置 37°C 孵箱中培養24小時，然後取出計算菌數。同批甘油製之痘苗及未經處理之痘泡亦按上法稀釋並計算其菌數作為對照。其結果如第一表所示，兩小時後乙醚即可將痘泡內之雜菌減少約一半，三小時減至雜菌總數之廿分之一，五小時減至總數的四百分之一，七小時減至總數六百分之一，因此乙醚之滅菌作用甚強，約在三至五小時之間即能達到法規要求之標準，即每毫升三千個雜菌，與甘油處理之牛痘苗及未經處理之痘泡互相比較其菌數之懸殊，甚為顯著。有一點必須注意，即所用之乙醚必須是純製者，劣質乙醚含有殺死牛痘毒之作用，但劣質乙醚一經蒸溜即能除去此種不良因素，而成為合用之牛痘苗滅菌劑。在實際生產中，一切採取痘泡的操作方法均按法規之規定進行。取得痘泡之後即納入消毒之五百毫升廣口瓶內，每

第一表 乙醚滅菌試驗

原 苗 種 類	牛 痘 原 苗 與 乙 醚 接 觸 時 間			
	2 小 時	3 小 時	5 小 時	7 小 時
乙 醇 處 理 者	90200	8347	400	210
甘 油 處 理 者	113600	97610	107452	161350
未 經 處 理 者	130000	147000	160000	181235

注：表內數字代表每一毫升牛痘苗內所含之雜菌數。

瓶容量約為 200 至 300 克，用消毒之長柄鑷子將成塊之痘泡略為打碎，即加入純製之乙醚以掩蓋全部痘泡為止，經過五小時後，即將乙醚傾出，然後將全部痘泡傾出，放在消毒之大型平皿上，再將盛有痘泡之平皿放入特製之風箱內，將殘餘之乙醚除去，至此痘泡所含乙醚已不甚多，微量的殘餘乙醚在真空乾燥加工時即可全部除去。

(3) 牛痘苗的保護液：對於保護液的研究，Morosov 等(7)用蛋白，蘇聯塔拉塞維奇國立生物製品鑑定所 1946 年生物製品鑑定規程要求用馬血清，牛奶，蛋白及筋膠等。作者在此次工作中除了再度試用阿拉伯膠外，還選擇了幾種材料進行試驗，其中有筋膠，蔗糖及牛血清。但未試用馬血清及雞蛋蛋白等物，因恐其產生過敏反應之故。其他材料經過幾次初步試驗，也因特殊緣故只得放棄，如蔗糖因在冷凍乾燥時需要很低的溫度，那時我們的冷凍條件不夠，就未繼續試驗，牛血清及牛奶在那時的條件下易使牛痘苗內原有的雜菌再度繁殖，也就試了二次而終止了。最後剩下筋膠及阿拉伯膠，這兩種材料易於掌握，適合我們當時的條件，故做了進一步的研究。本研究中所用筋膠是大連科學研究所出品，係用牛皮製成，質量很好，製成溶液後略有沉澱，一經過濾後，即成淺黃透明之液體，冷後成為固體，所用溶液為磷酸氫二鉀及磷酸二氫鈉所配成，濃度為 M/15，反應為 pH7.4。將筋膠放入此緩衝液中配成 2% 的筋膠溶液，經過高壓消毒即可使用。消毒時之壓力我們的經驗是以十磅為佳，超過了這個限度常使筋膠失去粘稠性。消毒時間為 30 分鐘。消毒的次數過多也可影響筋膠的粘稠性及凝固性，筋膠雖說失去了這樣的特性但它並不影響牛痘苗的保護力。在生產中我們仍然避免消毒次數太多，

以免影響筋膠原有的物理特性。阿拉伯膠是在同樣的緩衝液內所配成，其濃度為10%，惟一經消毒後即產生沉澱，此外溶液還因高壓消毒而變為酸性，我們所採取的辦法是令溶液靜置過夜，次日在無菌操作下取出上清，這部份上清液經過酸鹼度的調整至 pH7.4，即可作為痘苗之保護液，使痘苗稀釋至法規規定之要求。筋膠緩衝液內不放任何防腐劑。

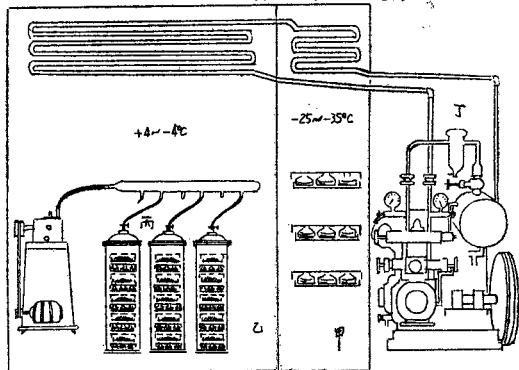
(4) 痘苗之配製：痘痘經過乙醚處理後，即加筋膠緩衝液或阿拉伯膠緩衝液研磨，一切操作均在5°C之冷室內按無菌操作法進行。痘苗與筋膠緩衝液之稀釋倍數，係根據 Groth 效價測定法所得之結果作出決定，一般為1:4至1:7。製成之痘苗在經過一系列的厭氣菌及需氣菌的細菌學檢查及動物實驗後，如屬合格，即進行分裝安瓶，每安瓶內裝入0.1毫升或0.5毫升（十人至五十人份），安瓶式樣為長形圓管，一端封閉，一端開口，管長約80毫米，外徑約8毫米，在近口一端製成兩個狹窄部分，其一為了便於熔封，另一為了便於鋸開。經過冷凍乾燥後每管均用真空封閉。亦曾使用氮氣充填安瓶內，加以封閉，但因技術上的困難，使用一段時間後，隨即放棄。為了使用者的方便，每管痘苗均附有一管稀釋液，其配方如下：石灰酸0.5毫升，甘油20毫升及生理食鹽水100毫升。經過高壓消毒後即分裝安瓶，此液內之甘油成份為20%，係因過高濃度之甘油不易使乾燥後之痘苗溶解，甘油在此配方內之主要作用為粘着劑，故成份略低亦無妨礙。乾燥痘苗經過此液處理後只須一分鐘即成均勻之乳狀液。種痘時易於附着於劃痕之處，不致流走。

(5) 冷凍乾燥設備：近代的冷凍乾燥設備在本工作進行時尚無法取得，從原理上講冷凍乾燥設備只有兩類，一類為利用冷凝器吸收製品中排出之水份，一般常用的 Lyophile 冷凍乾燥設備即屬於此類。另一類為利用水份吸收劑來完成吸取製品中水份的任務，所謂 Chrycochem 冷凍乾燥設備即屬此類，對於此兩類設備的研究和設計 Flosdorf 及 Mudd (14,15) 等有所供獻，我所具備的條件為一種極為簡單的冷凍乾燥設備，其冷凝系統為一套亞摩尼亞壓縮器，因此不能按 Flosdorf 等利用 Freon 壓縮系統的設計進行改良。在設計時我們必須照顧到保存牛痘毒的幾點要求，即 1. 對於痘毒的活力必須注意保存；2. 痘苗必須在分裝安瓶後進行冷凍乾燥；3. 乾燥痘苗的剩餘水份應在3%~5%的範圍內。為了照顧第一點要求我們必須在冷凍乾燥時貫徹一個原則，即（一）迅速將安瓶內之痘苗凍結；（二）在乾燥過程中迅速減低真空壓力以便保持牛痘苗之凍結狀態。根據以上三項要求及二個原則我們就利用現有的亞摩尼亞冷凍系統的條件改裝為一套冷凍乾燥設備（見圖）。圖上可見這套設備的四個部份，即“甲”——一個在零下25~35°C的冷凍室，這是為了迅速凍結痘苗而設的；“乙”——一個在+4~4°C的冷凍室，這是為了保持安瓶內痘苗的凍結狀態而設的；“丙”——一套裝有痘苗的真空瓶及真空抽氣機，這是利用粗製無水氫氧化鈉作為水份吸收劑的設備；“丁”——全部亞摩尼亞壓縮機及其進入“甲”及“乙”兩室的冷凝管。

痘苗的實際冷凍乾燥過程是這樣進行的：在全部痘苗裝好安瓶後，即放入大型的平皿內，安瓶在皿內互相依靠使痘苗成為斜面，以擴大其蒸發面，隨後送入“甲”室，使痘苗快速凍結，經過一晚之凍結，次日晨移至“乙”室，裝入大型之真空乾燥瓶內，無水氫氧化鈉乾燥劑也以搪瓷盆裝滿同時放入瓶內，如是就形成一層痘苗和一層乾燥劑互

相間隔，真空瓶內以裝滿爲止。在大連地區有生產粗制無水氫氧化鈉的工廠，成本不大，用後仍可當作副產品供應肥皂生產部門作爲原料。對氫氧化鈉的要求有幾點，本品

大型冷凍真空乾燥設備示意圖



必須制成三四分厚的片劑，制成後裝入白鐵箱內保存待用，保存時間不能過久，不然片劑表面易於形成碳酸鈉而減低其吸水能力。待至所有真空瓶裝滿後即可與真空抽氣系統連接，並開動真空機使真空瓶內迅速減壓，氣壓降至 0.1—0.3 毫米汞柱即爲合格，不然乾燥效果不佳。經過 24 小時真空乾燥後，大部份水份經升華作用已經除去，但尚有剩餘水份仍未除盡。再將真空瓶移至 30°C 左右之溫室內繼續減壓，排除剩餘水份。乾燥後疫苗中的剩餘水份平均不得超過 5%（以後曾達到 3%）。乾燥疫苗制成後皆經過法規規定的細菌學檢查及動物試驗，合格後，乃進行效價持久試驗及人體接種試驗。

### 實驗及結果

(1) 效力持久實驗：按上法制成之乾燥疫苗，曾分別在 22°C 之解箱及冰箱 (10—15°C) 中儲存，並按月取出安瓶進行效價穩定試驗。首先將安瓶在電子真空測定器上檢查真空保存的情況，如果真空良好，即將安瓶打開用滅菌生理食鹽水按 Groth 法稀釋爲  $10^{-2}$ ,  $5 \times 10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  等倍數，稀釋後即在剃毛之白色家兔背部兩側進行皮內注射，每一稀釋度注射 0.1 毫升。每次注射三隻家兔以取得效價之平均數值。注射後第五日觀察反應。按我國法規規定家兔發痘反應以痘斑直徑 10 毫米以上及

稀釋度5000倍（即 $5 \times 10^{-4}$ ）為合格。於第二表內可見此次試驗之結果。第一批痘苗自1950年11月12日保存至1951年8月17日，為期九個多月，在筋膠痘苗項下表現之結果說

第二表 乾燥牛痘苗之效價持久實驗

批 號	製 造 及 檢 查 之 日 期	筋 膠 牛 痘 苗						阿 拉 伯 膠 牛 痘 苗						對 照 甘 油 牛 痘 苗					
		水 10~15°C		糖 22°C		箱		水 10~15°C		糖 22°C		箱		水 10~15°C		糖 22°C		箱	
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
1	製造日期 1950年11月12日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1950年12月19日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1951年1月27日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1951年2月27日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1951年3月27日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1951年4月15日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1951年5月4日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	檢查日期 1951年6月14日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	製造日期 1950年8月10日	卅	卅	卅	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	檢查日期 1951年7月24日	卅	卅	卅	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
3	製造日期 1950年9月10日	卅	卅	卅	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	檢查日期 1951年7月24日	卅	卅	卅	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

卅 = 高度紅腫及坏死（直徑14~20毫米）      卅 = 中度紅腫及坏死（直徑11~13毫米）

十 = 輕度紅腫及坏死（直徑5~10毫米）

-- = 未發痘      ○ = 未試驗

明冰箱中保存之效價降落較慢，九個月後仍與製造時之原效價相差無幾，而在解箱中之效價經過五個月後即有顯著之降低，但仍符合法規之要求。第二批在冰箱中保存了十一個多月，第三批十個多月而兩批之效價均超過法規之要求。因此筋膠痘苗的效價可在冰箱中保存至少九到十一個月，或甚至超過此數。而在解箱中只能保存五個月。至於阿拉伯膠痘苗在冰箱中却只能保存四個月，在解箱中保存約一個多月，作為對照之甘油痘苗只能在10~15°C下保存兩個多月。由此可見筋膠對痘苗共有優良之保護力，比阿拉伯膠之保護力更為顯著，根據這個試驗我們認為採用筋膠作為生產乾燥牛痘苗之保護劑是比較適宜的。

(2) 人體接種：1950年曾將一批新製成之乾燥痘苗分發國內幾處地方衛生局，請其代為進行人體接種試驗，有數處將試驗結果作了彙報，其中以武漢及南京兩處做得比較有計劃，故特提出以供研究。武漢市一共接種了2394人，而且在接種乾燥痘苗的同時又為每人在同一手臂上加種了甘油牛痘苗作為對照，從第三表可見在武漢接種的全部

2394人中，有初種者及覆種者，初種者之陽性率較覆種者略高，兩者之發症率均在90%上下。南京全部為覆種者，發症率略低(77%)，但武漢與南京兩地的平均發症率為89.3%，根據武漢甘油牛痘苗的對照結果證明乾燥牛痘苗的效價與之相比是完全相同的。因此說明乾燥牛痘苗按上法制出不獨在效價方面具有抵抗一般室溫的優點，在發症率上也是質量較好的。

第三表 乾燥牛痘苗人體接種成績

地 區	接 種	人 數	陽 性	陽 性 率	總 人 數	陽 性 總 數	總 陽 性 率
武 漢	初 種	344	316	91.8%	2525	2257	89.3%
	覆 種	2050	1840	89.8%			
南 京	覆 種	181	101	77.0%			

### 討 論 及 總 結

通過此次研究已將牛痘苗的冷凍乾燥技術上的有關問題加以解決：乙醚消除疫苗內的雜菌的作用既可靠又安全，因為乙醚不獨對疫苗本身毫無影響，而在消除雜菌之後仍可完全從疫苗內排除出去。使用酚就不能達到這個目的，因酚一經乾燥不但不能除去還會增加濃度，這對疫苗是不利的。因此我們認為乙醚作為乾燥疫苗的除菌劑是比較理想的。加以在大量疫苗的生產中乙醚的消耗量並不甚大，浸泡痘泡的乙醚在使用後，經過蒸餾仍可回收再用，這是乙醚的另一優點。

在各種保護液中外試驗也證明了筋膠的優點，它既沒有像牛奶及血清等助長雜菌生長的缺點，又不像蔗糖那樣需要更低冷凍條件的困難，與阿拉伯膠相比雖兩者之性質近似，但筋膠在保護疫苗的作用上比阿拉伯膠更為優越。

本研究中所改進的一套大型冷凍乾燥設備是適合我國現實情況的。尤其是在那些特殊冷凍劑無法獲得的時候，利用亞摩尼亞冷凍系統來達到真空乾燥的目的有其實際的現實意義的。

至於乾燥疫苗人體接種的結果能達到平均發症率約90%的情況，我們認為是與兩種緣因有關的，首先是對毒種毒力的嚴格保持，這是疫苗質量優良的先決條件。其次是對那些特殊條件，如保護劑，安瓶真空度，以及剩餘水分等的密切注意。對這些條件的重視是保證疫苗質量的決定性因素。

自此法試驗完成後，從1952年至1954年的三年期間內曾生產了兩千萬人份的乾燥疫苗，經本所流行病學科為嬰兒接種的結果，七批乾燥疫苗的平均發症率為96.9%(15)。

### 參 考 文 獻

1. 張仲景，增訂醫藥金鑑，上海錦章圖書局出版，第六十卷，第八頁。
2. Stearns, R. P. & Pasti, G., Bulletin of the History of Medicine(1950)24:103
3. Otten, L., Ztschr.f. Hyg. u. Infektiouskr., (1933) 114:705



4. Bouinois, J. R. P., Rev. Med. et Hyg. Trop., 1936 28: 185
5. Idem Ann. de Med. et de Pharm. Colon., (1937)35:1081
6. Kaiser, M., Zent. f. Bakt. I Abt. Orig., (1937)139:498
7. Morosov M. A., Korolkova, M. I., Kasaatkavitch, S.S. & Dalinov, K.E., J. Microbil. Epidemiol. & Immunolog.,(1943)6:76
8. Mei, H., Chinese Med. Jour.,(1947)65:163
9. Kii, N. & Kasai, H., Far Eastern Assoc. of Trop. 6th Cong. Trans., (1925)2:859
10. Noguchi, H., J. Exp. Med., (1918)27:425
11. Chaumier, E., Rev. Internat. de la Vaccine, Annee, (910)No.3
12. Kii, N., Scien, Report of the Govern. Inst. for Infect. Diseases (1926)5:63
13. Van Rooyen, C. F. & Rhodes, A. J., Virus Diseases of Man (1950)p.374
14. Florsdorf, E. W., Stokes, F. J., & Mudd, S., Jour. Amer. Med. Asso.(1940) 115:1095
15. Florsdorf, E. M., Hull, L. Q. & Mudd, S., Jour. Immunol. (1945) 50:21
16. 李應乾、馬占瑞、本集編 366 頁

## 嬰兒接種牛痘苗的觀察報告

李應乾 馬占瑞

1951年中央衛生部印發之‘生物製品法規草案’曾規定：牛痘苗在實驗室檢定合格後經嬰兒試驗合格始能發出。與此同時，使用部門曾反映：本所出品之牛痘苗的發痘力不強，特別是乾燥牛痘苗。我們遵照法規草案的指示及瞭解本所生產之牛痘苗的發痘力，特於1953年2月到11月對本所生產之27批牛痘苗及毒種進行了接種嬰兒的觀察。

### 觀 察 方 法

1. 接種對象的選擇 選擇了1月至4歲的未曾接種過牛痘苗或接種後未出現原發痘之小兒762名，這些小兒分佈於24個托兒所和一個街道。其中男359名(47.1%)女403名(52.9%)。在年齡上絕大部分係1歲以下的嬰兒(98.4%)，僅有12名在1歲以上(二歲者八名，三歲者三名，四歲者一名)，每批痘苗原計劃接種10人，但在痘苗的供應上及每個托兒所的人數的分佈不均衡，致使各批接種人數不等，少者9人多者236人。

2. 痘苗來源 先後共使用牛痘苗27批，其中乾燥牛痘苗7批，液體牛痘苗20批，這27批牛痘苗除乾1、2、3號係長春原苗由本所負責乾燥及長原號液體牛痘苗外，皆係本所製品。所用之牛痘苗皆經本所檢定科以安全試驗，效力試驗及雜菌數試驗合格後批准使用。

#### 3. 接種方法

1) 乾燥痘苗之稀釋 將瓶頸用70%酒精消毒，再以小鋸將瓶頸劃痕並打開，用消毒之注射器吸取所需用之甘油水放入瓶內，將瓶振搖數次，使痘苗溶解成均勻之乳狀劑，置於消毒之玻璃板上備用。

2) 液體痘苗之溢出 將含有牛痘苗之毛細管以酒精消毒折其兩端，將一端插入帶有橡皮球之短毛細吸管之細端，然後用手指按橡皮球，痘苗即可溢出置於消毒之玻璃板上備用。

3) 接種部位 左上膊三角肌皮上。

4) 接種方法 接種前用溫肥皂水清洗，以酒精棉球塗抹消毒，酒精蒸發後，點置痘苗少許於皮膚上，用種痘刀平行。縱切二痕，每痕長約6—8毫米，痕間2毫米，以微出血為度。每人接種兩顆，顆間約20毫米，經過5—6分鐘在痘漿乾燥之後即放下衣袖。

4. 檢查方法及檢查標準 參照我國生物製品法規草案及蘇聯1951年之牛痘苗製造及檢定法規，於接種後第八日檢查(24×7)，測量發痘直徑及紅潤直徑，計算全部痘疤

及紅潤直徑之平均數，按規定之指數判定痘苗之優劣。

痘疤及紅潤之直徑與其指數之關係如下表：

指 數	痘 疤 直 徑 (毫 米)	紅 潤 直 徑 (毫 米)
1	8-5	5
2	6-7-8	10-20-30
3	9-10-11	30-40-50
4	12-13-11	三分之二臂及全臂

按 Groth 計算法，痘苗指數以分數表示之，分子為痘疤之平均直徑數，分母為紅潤之平均直徑數。痘苗指數不應低於 $\frac{1}{2}$ 。

除按上法指數合格外，合格之牛痘苗，其發痘率（發痘人數/接種人數）不得低於90—100%，其發痘數（發痘類數/接種類數）不得低於80—90%。

### 觀 察 結 果

1. 1953年2月24日到11月6日共觀察7批乾燥牛痘苗和20批液體牛痘苗接種嬰兒後的發痘情況，發痘結果如表1。

從表1中，動物效力鑑定，雖然全部合格（將牛痘苗稀釋5000×以0.1注射家兔皮內5日後量其紅潤在6毫米以上者為合格），但嬰兒接種結果：乾燥17號因發痘率和發痘數不合格，液體89號因發痘率不合格未發出，預備投入生產之海種原2號也因嬰兒試驗指數不合格而未使用。

總計接種762人，發痘者736人，發痘率96.6%；接種1524類，發痘1418類，發痘數為93.1%；痘疤平均直徑為8.6毫米，紅潤平均直徑為18.6毫米，指數為 $\frac{1}{2}$ 。因此我們認為本所生產之牛痘苗的效力基本上是良好的。

2. 乾燥牛痘苗與液體牛痘苗的比較，如表2。

表 2. 乾燥牛痘苗與液體痘苗之動物效力試驗和嬰兒接種發痘之比較

痘 苗 種 類	家兔皮內平均紅潤直徑 (毫米)	接 種 人 數	發 痘 人 數	發 痘 率 %	接 種 類 數	發 痘 類 數	發 痘 率 %	痘 疤 平 均 直 徑 (毫 米)	紅 潤 平 均 直 徑 (毫 米)
乾燥牛痘苗(共7批)	16.9	196	190	96.9	392	370	94.4	9.1	22.2
液體牛痘苗(共20批)	14.0	566	546	96.5	1162	1048	92.6	9.5	17.3
合 計	14.7	762	736	96.6	1524	1418	93.1	8.6	18.6

表 1. 各批牛痘苗接種嬰兒後發痘結果

批 號	實 驗 室		種 類		種 種 人 數		接 種 劑 量		發 痘 率		痘 疹 直 徑 (毫 米)		痘 疹 直 徑 (毫 米)		損 傷 數	
	安 全	升 級	男	女	合 計	個 數	%	個 數	%	範 圍	平 均	範 圍	平 均	個 數	損 傷	
乾燥	(-)	1375	3	9	12	24	100.0	100.0	100.0	6-12	9.1	12-30	20.7	9.1	(+)	
乾燥	(-)	700	5	7	12	24	100.0	100.0	100.0	8-12	9.1	15-30	20.0	9.1	(+)	
乾燥	(-)	1450	19	25	44	88	98.4	98.4	98.4	3-12	7.2	6-30	15.0	7.2	(-)	
乾燥	(-)	2950	4	6	10	20	100.0	100.0	100.0	6-12	9.0	15-30	20.0	9.0	(+)	
乾燥	(-)	400	6	4	10	20	100.0	100.0	100.0	7-15	9.7	10-30	20.2	9.7	(+)	
乾燥	(-)	225	5	6	11	22	11	100.0	100.0	7-12	10.2	25-30	33.1	10.2	(+)	
乾燥	(-)	430	53	44	97	194	97	100.0	100.0	3-15	9.8	10-60	24.8	9.8	(+)	
液體	(-)	375	9	9	18	36	18	100.0	100.0	4-11	7.7	10-10	13.0	7.7	(+)	
液體	(-)	109	5	4	9	18	8	88.0	88.0	6-11	9.7	15-35	21.2	9.7	(-)	
液體	(-)	1875	11	12	23	47	231	41.7	98.3	6-10	9.1	10-30	19.3	9.1	(+)	
液體	(-)	775	2	5	7	14	5	18	100.0	6-10	9.0	10-20	16.1	9.0	(+)	
液體	(-)	115	2	8	10	20	0	10.0	10.0	5-12	8.2	15-35	20.6	8.2	(+)	
液體	(-)	218	5	6	11	22	11	21	100.0	5-11	8.1	10-35	17.8	8.1	(+)	
液體	(-)	500	7	5	12	24	12	23	100.0	3-12	9.4	10-26	19.0	9.4	(+)	
液體	(-)	108	7	5	12	24	12	22	100.0	3-11	8.8	10-30	19.0	8.8	(+)	
液體	(-)	325	5	4	9	18	9	17	100.0	3-10	8.8	12-30	22.8	8.8	(+)	
液體	(-)	625	6	11	17	34	16	32	94.0	3-11	8.6	10-40	20.9	8.6	(+)	
液體	(-)	1275	4	6	10	20	9	18	90.0	6-12	9.4	13-30	10.0	9.4	(+)	
液體	(-)	125	6	11	17	34	16	32	94.0	5-10	7.5	10-40	21.4	7.5	(+)	
液體	(-)	2625	6	4	10	20	10	20	100.0	5-12	9.5	10-30	21.6	9.5	(+)	
液體	(-)	3000	3	7	10	20	10	20	100.0	6-12	8.5	9-35	22.8	8.5	(+)	
液體	(-)	117	9	3	12	24	12	24	100.0	9-12	9.5	15-30	21.6	9.5	(+)	
液體	(-)	160	19	34	53	106	48	86	90.6	2-12	6.6	6-16	10.8	6.6	(+)	
液體	(-)	175	19	24	43	86	39	10	90.7	8-14	8.2	8-20	9.6	8.2	(+)	
液體	(-)	50	18	25	43	86	42	83	97.7	3-15	8.1	12-20	13.8	8.1	(+)	
液體	(-)	1050	6	4	10	20	10	20	100.0	3-16	10.6	16-30	26.0	10.6	(+)	
液體	(-)	1190	12	3	15	30	15	30	100.0	6-16	11.2	15-38	26.7	11.2	(+)	
計		--	359	403	762	1524	736	44.6	96.6	2-16	8.6	6-60	18.6	8.6	(+)	

從表 2 可知，乾燥牛痘苗，不論在動物鑑定及人體接種效力上，不但不示弱，反而略高於液體牛痘苗。

3. 牛痘苗之動物效力試驗與嬰兒接種發痘結果之比較，從表 1 中是不容易看出來的，為此，我們把家兔皮內紅潤直徑在 15 毫米以上者與不足 15 毫米者分別綜合為二組，其接種嬰兒發痘結果如表 3。

表 3. 牛痘苗之動物效力試驗與嬰兒接種結果的比較

牛痘苗接種家兔皮內紅潤直徑(毫米)	接 種 人 數	發 痘 人 數	發 痘 率 %	接 種 人 數	發 痘 人 數	發 痘 率 %	痘疹平均直徑(毫米)	紅潤平均直徑(毫米)
在 15 毫米以上者 (14 批) 平均 16.9	278	269	96.8	556	524	94.2	8.8	20.7
在 15 毫米以下者 (13 批) 平均 12.4	484	467	96.5	968	894	92.3	8.5	17.3
合計 (27 批) 平均 14.7	762	736	96.6	1524	1418	93.1	8.6	18.6

從表 3 中可知，家兔皮內紅潤直徑在 15 毫米以上之 14 批牛痘苗嬰兒接種結果較不足 15 毫米之 13 批牛痘苗之結果為好，但無顯著意義。

4. 嬰兒接種牛痘苗之發痘結果與年齡性別的關係，如表 4、5

從表 4 中可看出，嬰兒生後 1—3 月接種者，發痘率和發痘數皆弱於 4 月以後，雖然這些差別不大，但也值得注意。從表 4 中可知，性別與接種發痘結果無關。

表 4. 嬰兒接種牛痘苗發痘結果與年齡關係

年齡別(月)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12以上	計
接種人數	27	117	116	106	76	67	57	31	34	32	19	80	762
發痘人數	25	106	110	102	76	66	57	30	34	32	18	80	736
發痘率%	92.6	90.6	94.8	96.2	100.0	98.5	100.0	96.8	100.0	100.0	94.7	100.0	96.6
接種總數	54	234	232	212	152	134	114	62	68	64	38	160	1524
發痘總數	47	195	205	167	149	131	112	58	67	64	35	158	1418
發痘率%	87.0	83.3	89.3	92.9	98.0	97.7	98.2	93.5	98.5	100.0	92.1	98.8	93.1

表 5. 嬰兒接種牛痘苗發痘結果與性別關係

性 別	接 種 人 數	發 痘 人 數	發 痘 率 %	接 種 總 數	發 痘 總 數	發 痘 率 %
男	379	346	96.4	718	663	92.3
女	403	390	96.7	806	755	93.6
合 計	762	736	96.6	1524	1418	93.1

5. 此次所作的液體牛痘苗大部在失效前兩個月觀察，其中抽出一批(93號)作了

過效期三天後的觀察，證明本所出品之牛痘苗過效期後仍保持相當高之發痘力，如表 6。過期之牛痘苗僅在發痘指數上較有效期間稍差，但發痘率（數）並不示弱。

6. 在工作開始時，我們會對乾燥 1、2、3 號牛痘苗和液體 88 號作了接種三週後的覆查，根據覆查所知，大部分嬰兒已脫疤，顯露出邊緣整齊之痘痕，僅個別疤痕邊緣不

表 6. 93 號牛痘苗在有效期間與過期三天後接種嬰兒發痘結果比較

痘苗 (SG號)	凍原皮內紅腫直徑	接種人數	發痘人數	發痘率 %	接種顆數	發痘顆數	發痘數 %	痘所平均直徑 (毫米)	紅腫平均直徑 (毫米)
在有效期間	14毫米	211	206	97.6	422	308	94.3	9.2	19.6
過期後三天	未檢	25	25	100.0	50	49	98.0	8.0	19.5
合計	—	236	231	98.0	472	447	95.0	9.1	19.5

整。未發現一例局部壞死等不良現象。在所觀察的 27 批中，不論在動物效力試驗及人體效力試驗上，均以乾燥 2 號為強。在覆查中，未發現該批痘苗因毒力較強而招致局部壞死及其他合併症等。雖然未對各批牛痘苗逐一覆查，但我們推想：其他批牛痘苗接種後也是安全的。事實上，從被接種的托兒所和街道裡未曾聽到過有種痘不安全的病例。

## 討 論

根據我們的觀察，動物效力試驗和嬰兒接種之發痘力基本上是一致的，在 27 批經動物效力檢定合格之牛痘苗僅有第三批嬰兒接種不合格（約 11%），且這些不合格之痘苗皆在合格與不合格分界線之邊緣上。因此，我們認為，動物效力試驗基本上是正確的。

雖然如此，但牛痘苗之效力檢定，以人體最為適當。良好之牛痘苗接種於初種痘者應百分之百發痘。為了保證牛痘苗之效力良好，僅憑動物效力試驗是不夠的。因此，蘇聯生物製品法規和我國生物製品法規草案都規定，牛痘苗必須經嬰兒試驗合格後方能出品。我們認為這一規定是完全正確而且是必要的。

在我們的接種方法上採用本市慣用的平行複縱縱切二痕，每人種二顆的方法，而蘇聯法規規定用單縱切種，每人種三顆。可能前者較後者在發痘指數上有所差別，複切二痕發痘指數稍大，可惜我們沒有作這方面的比較。在發痘率上因後者接種顆數較多可能略高。蘇聯法規及一般文獻中皆規定單縱切種，且單縱切種判定效果最準確。顯然我們所使用的平行複縱切二痕的方法是不適宜的。

關於種痘的時間問題，一般教科書規定 4—6 個月為宜，也有主張越早越好，臍帶掉即可接種。因年紀大時易出現併發症等，按我們的觀察，生後 1—3 個月的小兒之發痘力略低於 4—12 個月的小兒，4—12 個月的小兒接種後並未發現任何不良現象。因此，我們認為在我國天花已基本消滅的今天，特別是天花已根絕的地區，勿需強調過早的種痘，以 4—12 個月為宜。在種痘季節上，雖一年四季皆可，但按我們的經驗，春秋季最好，冬季夏季則有諸多不便，如夏季易化膿，冬季小兒穿衣多窄瘦等。

從觀察可知，本所出品之乾燥牛痘苗優於液體，這可能與液體牛痘苗的保存不妥有

關，雖然我們未發現保存上有問題。

從我們觀察可以確信，本所出品之牛痘苗之發痘力基本上是良好的，這一點可以用過期之93號呈現出較高之發痘率來證明。因此，外界反映本所出品之牛痘苗發痘率不高可能保存及使用上不妥所致。

## 總 結

1. 本文報告了1953年所做之27批牛痘苗接種嬰兒後的發痘結果，其中乾燥痘苗 7 批，液體痘苗20批。這27批痘苗在嬰兒接種發痘來看，有三批（乾燥17號，液體89號和原 2 號）不合格。其餘全部合乎蘇聯51年法規要求。若按我國生物製品法規草案製定，則全部合乎要求。

2. 本文對乾燥牛痘苗與液體牛痘苗加一分析，認為二者相差無幾，且前者略優於後者。

3. 本文對接種時間及季節作了討論，認為春秋季最適宜種痘，新生兒出生後以 4—12 月種痘為宜。

4. 本文觀察證明，牛痘苗之嬰兒接種觀察（嬰兒試驗）實屬必要。

## 幾種抗生素與痢疾噬菌體配合作用的初步研究

### （一）噬菌體在微量抗生素的配合下對再生菌的抑制作用（摘要）

司稷東 于智麗

由 8 株志賀氏及福氏痢疾菌株，30次正式試驗的結果證明，用低於抑菌量的幾種抗生素——氯霉素、合霉素、鏈霉素及青霉素，與噬菌體配合，可以抑制菌株被噬菌體裂解後再生菌的發育，而本來選出的這些菌株，如果單獨在該噬菌體的作用下，4—6 小時內被裂解，而24小時內一定有再生菌生長出來的。對再生菌的抑制時間，隨着抗生素量的增加而延長，抗生素達一定量後，可長時間抑制再生菌的發生，在本試驗中只觀察到 5—7 日。

這種抗生素與噬菌體配合應用抑制再生菌的作用，在治療與預防上，可能有實際價值，值得進一步的研究。

（原文曾發表於 生物制品通訊 第二卷第一期1957）

# 旅大市某工廠使用痢疾噬菌體預防痢疾的 效 果 調 查

流 行 病 學 科

## I. 前 言

噬菌體被發現之後曾被廣泛的應用於治療和預防，在試管中也有很高的裂解效價，不過在實際應用中的效果至今似有爭論，今年夏天我們在本市某機械工廠試用了噬菌體預防桿菌痢疾，以了解噬菌體的預防效果，並由於噬菌體有特殊的臭味，因而在預防工作中常會遭到服用者的拒絕，在噬菌體中加入白糖之後能改變其口味，但是白糖對噬菌體是否有破壞作用雖然在實驗室中經過一星期的初步試驗，認為加入白糖之後噬菌體似可保持其裂解效價，但在實際應用中究竟效果如何在這方面無論國內外都無文獻記載，因而在我們今年預防工作中，一部份噬菌體加入白糖觀察其預防效果，以作比較。

## II. 試驗方法及材料

我們選擇了該廠三個條件基本相似熱車間，甲、乙車間作為試驗組，但乙車間工人服用含糖噬菌體，丙車間作為對照組，甲、乙車間噬菌體服用人數各為293人，服用量有15毫升，20毫升二種，服用間隔時間為5—7天，空腹服用一般因工作換班或其他原因服用次數多未達到三次。

噬菌體為本所今年產品，失效期為1958年2月，為含有志賀氏及福氏型的多價噬菌體，服用時與等量5%的蘇打水同服，乙車間服用的含糖噬菌體即在5%的蘇打水中加入40%的白糖，然後和噬菌體同服。

服用後七天作為噬菌體預防的有效期間，觀察發病情況，試驗初期我們沒有經常去工廠調查工人發病情況，亦未及時發現患者，在整個試驗期間患者都靠該廠保健站大夫根據患者的主訴作出初步診斷，糞便未作日檢，一部分作了細菌學檢查，但因採便問題及送便時間問題，因而都未培養出痢疾菌。

## III. 試驗結果與分析

甲車間服用噬菌體人數293名，其中發病人數為4名都為非典型痢疾，發病日期在服噬菌體後第1—6天內，發病率為1.1%，在該車間有39名工人因某些原因未服用噬菌體，在觀察期間發病者1名，從症狀上來看是較典型的，發病率為2.6%。

乙車間服用噬菌體人數293名，其中發病人數為3名都為非典型痢疾，在服噬菌體後第1—4天內發病，發病率為1.0%，而該車間有270名工人未服噬菌體，發病人數10名，發病率為3.7%。

丙車間觀察對象共667名，在觀察期間發病者19名，其中1名為典型痢疾，發病率



爲 2.8%。

甲、乙車間服用噬菌體人數共 586 名，發病者 7 名，發病率爲 1.1%，而所有未服用噬菌體的人數爲 977 名，發病數 30，發病率爲 3.1%，如表一。

表

試 驗 組				對 照 組			
車 間 名 稱	服用人數	發病數	發病率	車 間 名 稱	觀察人數	發病數	發病率
甲	293	4	1.1%	甲	39	1	2.6
乙	293	3	1.0%	乙	271	10	3.7
				丙	677	19	2.8
總 計	586	7	1.1%	總 計	977	30	3.1

從表一中可以看到甲、乙兩試驗組的發病率基本上相近，這說明噬菌體中加入白糖對噬菌體在實際預防的效果上似無影響，並且從實驗室試管中試驗的結果也說明白糖對噬菌體的裂解效價沒有很大的影響，而改變噬菌體的口味問題是開展噬菌體預防痢疾工作中的一個很重要而迫切需要解決的問題，這次實驗僅從實際應用上初步觀察了白糖和噬菌體的關係問題，但由於這次試驗人數較少，而且試驗設計中還存在着一些缺點，所以對這方面的試驗今後有進一步觀察的必要，而且也希望在實驗中能更全面，系統的進行這一問題的研究和觀察。

從上表我們可以看到試驗組發病率爲 1.1%，而對照組發病率爲 3.1%，從表面數字上來看好像噬菌體在預防痢疾的發病上還起到一定的作用，但是由於我們在工作上存在的缺點，對發病患者未進行深入調查，而且發病後都未經細菌學的確診，因而在材料的正確性上還值得考慮，至於噬菌體的效果有待今後繼續研究和觀察。

## 痢疾噬菌體預防效果的調查

### 流行病學科

#### 一 前 言

痢疾是一個複雜而頑固的傳染病，是危害我國人民最嚴重的三大傳染病之一。從旅大市 53—55 年痢疾流行病學調查(1)中也充分說明了這點。痢疾不僅使人民喪失了健康，而且直接影響了各項生產。因而，我們認為痢疾的預防是一個嚴重而且迫切需要解決的問題。

噬菌體自 1917 年被發現後曾被很多人應用於痢疾的治療和預防。但是噬菌體的效果無論在國外或國內曾引起不少爭論各學者所進行的試驗結果亦不一致。我國在噬菌體的應用上是比較晚的，對於噬菌體在實際應用上的效果觀察很少。因此，我們在今年夏天對本市痢疾患者家庭接觸者進行了噬菌體的預防效果觀察，一方面了解本所制品在實際預防中的效果，一方面對噬菌體的服用劑量及每次服用間隔時間也作了初步研究。

#### 二、試驗材料及方法

1. 所用噬菌體為本所 56 年制品，其中志賀氏和福氏(2a)噬菌體各占 50%。噬菌體對各菌株裂解效價為  $10^{-8}$ ，失效期為 58 年 2 月 23 日。

2. 這個實驗於 1956 年 6 月 15 日開始至同年 10 月底結束。服用對象為本市痢疾患者的家庭接觸者。患者是由衛生防疫站按發病先後每天報告一次，在接到報告後，就按次序編號登記，以服用間隔時期不同分成二組：一組間隔期為 5 天；一組為 7 天，每組中再以劑量不同分成二組：一組服用 15 毫升；一組服用量較大為 30 毫升。另外還有對照組，分組以固定次序輪迴。

3. 服用方法：成人服用劑量為 30 毫升或 15 毫升；6 月—3 周歲小孩服用量為成人的  $\frac{1}{2}$  (10 毫升或 5 毫升)；6 月以下小兒不予服用，服用時應先服用 5% 小蘇打 15—25 毫升，並於飯前 1—1 $\frac{1}{2}$  小時服用。我們為了工作方便起見將噬菌體和等量的 5% 蘇打水混合同時服用，並因工作條件所限，未能每次做到空腹服用。大部分接觸者進行了三次預防服用，但一部分接觸者因種種原因只進行了一次或二次。

4. 對於各組接觸者一般於疫情報告後第二天進行家庭訪視，除了解患者家庭一般衛生情況進行簡單的衛生宣教工作之外，並把接觸者一一登記，然後給以服用噬菌體，一般都由訪視人員親自給予服下以防接觸者因噬菌體的異味而不服。每次在服用噬菌體的同時，訪視人員就調查自上一次服用噬菌體後到這次服用期間有無痢疾的發生。如有發病的情況則詳細詢問其症狀及發病日期等，填入卡片，並用間接採便方法連續二天檢便二次，一般在發現有可疑情況時都由科內大夫再次作詳細訪問，以便從臨床症狀上來

鑑別是否為痢疾。在三次服用後的第七日再去進行最後一次訪問，調查服用後的發病情況。

5. 接觸者發病後大部分在家自行隔離，部分患者送入傳染病院。糞便檢查陽性結果的作了噬菌體裂解試驗（有四株菌種丟失），用試管方法，18小時判定結果。

### 三、觀察結果

從1956年6月15日到10月底，我們共觀察了424個痢病患者，這424個患者中有246名患者在發病後送入傳染病院隔離，其餘78名則為自家隔離的患者。有72.8%患者於發病後5日內進行過訪視和投藥。在這424個患者中有11戶在該患者發病前已有典型的痢病患者發生。但是都未報告衛生防疫站亦未進行任何處理或消毒。

這424戶家庭中共有接觸者1831人，對照組700人（包括試驗組中不願服噬菌體的人數在內）。試驗組1131人，其中15毫升7天組299人，15毫升5天組302人；30毫升7天組249人，30毫升5天組290人。在服用人數中有64人只服了一次，59人服了二次，1008人服用了全量。

在觀察期間共發現患者22名，都為典型患者——有膿血便，裡急後重等症狀，或細菌學檢查為陽性者（非典型患者未計算在內）。對照組發病11名，試驗組發病亦為11名，發病率見下表。

組別	人數	患病數	患病率%
對照組	700	11	1.57
試驗組	7天 30毫升	240	3 1.25
	15毫升	200	2 .06
	組合計	539	5 .92
試驗組	5天 30毫升	290	4 1.37
	15毫升	302	2 .06
	組合計	590	6 1.01
合計	1131	11	0.97

對照組與試驗組，15毫升與30毫升，7天與5天組的發病率經用顯著性測驗無顯著意義。

對22名患者，我們都作了糞便細菌學檢查，其中12名培養為陰性；10名得到了陽性結果，其中福氏2a型4名，福氏3型4名（1名只與型III血清起凝集反應，與因子血清群67不凝）宋內氏菌1名，未定型者1名（只與福氏混合血清起凝集反應，與因子血清不凝）。在檢查陽性的10名中，我們對其中六名作了噬菌

體與該菌的裂解試驗（其他四株菌種在試驗過程中未保留），試驗結果如下：

2a型四株：裂解結果 $10^{-3}$ —株， $10^{-1}$ —株，不溶的一株

未定型福氏菌： ”  $10^{-6}$

福氏重型（特殊）： ”  $10^{-3}$

在22名發病者中男性患者9名，女性患者13名，未發現與性別有關。但從年齡分佈上看有14名患者發生在10歲以下的小兒，10歲以上的接觸者中發病8名。這次服用噬菌體的10歲以下小兒共681名，所以發病率為2.1%。10歲以上的試驗者1150名，發病率0.69%，因而小兒接觸者的發病率高於成年人。

### 四、討 論

在佛子嶺水庫(2)及梅山水庫(3)利用噬菌體預防桿菌痢疾是有效的，在一定時期

內發病率可較對照組降低 2—5 倍。但是根據我們此次實驗結果來看，服用噬菌體成品以預防家庭接觸者續發病疾沒有獲得顯著的效果。對照組發病率為 1.57%，試驗組為 0.97%，這個差別是無顯著意義的。這次試驗的分組是按疫情次序的先後排列的，不加入人為的選擇，工作都按預訂的計劃進行。服用劑量和服用時間都是按規定由訪視人員親自給以服下。在觀察期間同樣對各組進行了詳細的訊問和必要的檢查。

根據 22 名發病者的菌型來看多為 2a 型和 3 型。然而我們的噬菌體亦為福氏 2a 型的並且也能溶解 3 型菌，可是服用結果效果並不顯著。噬菌體在出品前都經過裂解試驗（與 2a 菌），裂解結果在  $10^{-8}$  以上才能出品。對於 3 型的裂解結果，經過試驗一般在  $10^{-7}$  以上。但是噬菌體在人體內的裂解結果並不理想，我們考慮以下幾個原因提出討論：

1. 我們所出品的噬菌體所用菌種部分是 54 年來自上海第一傳染病院，部分是 1949 年以前留下的菌種。歷年來始終利用這幾株而未加入地方菌種生產。噬菌體與該菌種的裂解試驗是滿意的。但是噬菌體成品用於地方上作為預防用時，由於沒有地方菌種投入生產，所以在人體中的裂解結果並不滿意，預防效果就不顯著。因而必須收集地方菌種做出相應的噬菌體才能起到應有的預防作用。

2. J.A. Знандер 氏 (4) 認為噬菌體在體內經常遭到很多的障礙，特別是它在血清培養基上的活力顯著降低，因此他認為在機體內噬菌體是容易變化的。

3. 被預防者在服用前都是健康者，因而腸內容物很多，噬菌體服用後絕大部分可能被腸內容物吸附而失去對病疾桿菌的預防效力。

4. 我們這次給接觸者服用時未按說明書先服用蘇打水以後再服噬菌體的方法，而是二者混合後同時服用，可能在胃中小蘇打還未完全與胃酸作用時，胃酸已經破壞了噬菌體。根據乾燥多价痢疾噬菌體的制備篇 (5)，PH 在 4.32 以下只要五分鐘噬菌體的效價就能減低到  $10^{-4}$ ，因而在預防上就失去作用。其他如腸內物質等可能對噬菌體也有抑制作用。

至於其他菌型的發病，我們認為這是因為噬菌體所包含的型太少。旅大市所流行的型是比較廣泛的 (6)，因而改進噬菌體質量增加噬菌體型在預防上作用是很大的。其他是否因為服噬菌體後產生再生菌而發病等等。這些原因都是值得我們今後繼續研究和探討的。所以我們認為今後不但了解噬菌體在預防中的實際效果，更重要的是研究噬菌體在人體內的作用機轉。

噬菌體的服用量問題：在我們說明書上規定為每次 10 毫升—15 毫升，最近蘇聯規定 (7) 每次服用 50 毫升。因而我們認為 15 毫升的服用量可能太少，不過根據我們這次實驗結果 15 毫升組和 30 毫升組的發病率無顯著差別。這一方面說明 15 毫升和 30 毫升在預防效果上無任何差別；另一方面說明可能 15 毫升、30 毫升同樣不能起到預防效果，而必須以更大量來預防。今後在服用劑量方面還必須進一步研究。

從上面材料看小兒的發病率較成人為高。這可能因小兒都由大人照顧，大人在發病後不注意隔離、消毒，又因其帶菌情況較多 (8)，經常密切的與小兒接觸。尤其是 1—5 歲的兒童剛學會走路雙手經常在地上爬，接觸機會很多，發病率亦高。

## 五、總 結

1956年夏季在大連市試用本所的痢疾噬菌體於痢疾患者家庭接觸者，服噬菌體組1131人，共服用三次，對照組700人。兩組均觀察四週，試驗組發病率為0.97%，對照組發病率為1.4%，說明使用噬菌體對痢疾接觸者進行預防未能得到預防效果

## 參 考 文 獻

1. 三年來旅大市痢疾流行病學分析

大連生物制品研究所 流行病學科 內部材料

2. 試用痢疾噬菌體預防桿菌痢疾 司穉東 李應乾

中華衛生雜誌 1956年 第1號 15—19頁

3. 梅山水庫工地應用痢疾噬菌體預防桿菌痢疾之效果調查 安徽省愛國衛生站

生物制品通訊 第一卷 第三期 411—413頁

4. Зильбер, Л.А. Учение О Вирусах, 200 1956

5. Schade, A. L. 及 Caroline, L., J. Bact. 46:463—473, 1943; 48:179—190, 1944

6. 旅大市三年(1953—55年)來痢疾菌型分佈的報告

周惠民等 生物制品通訊第二卷第一期143—150頁

7. 液體痢疾噬菌體製造法規(1956年)

8. 細菌性痢疾的流行病學問題

中華兒科雜誌1955年第三期第226—227頁。

## 試用痢疾噬菌體預防桿菌痢疾(摘要)

司穉東 李應乾

1954年夏季，我們在安徽某工地上試用了痢疾噬菌體預防桿菌痢疾。

此次接受預防的共4,208人，未接受預防的對照組1,545人。

觀察期間為服用噬菌體開始至最後一次完了後一周時間內。試驗與對照組觀察期間相同。

在接受預防的4,208人中有61人發病，發病率為1.4%，而同時在對照1,545組人中則有68人發病，發病率為4.4%，預防組較對照組發病率低2.1倍。

(本文發表於中華衛生雜誌1956年第1號第15—19頁。)

## 痢疾噬菌體治療桿菌痢疾臨床報告(摘要)

司穉東 李應乾 于智麗 劉祥運

(大連生物製品研究所)

倪大石 施培福 洪加浩 張道生

(安徽省衛生防疫站)

大連生物製品研究所在蘇聯同志無私的幫助下試製了痢疾噬菌體，現已大量生產和應用，但目前該製劑對我國流行的桿菌痢疾的治療效果如何，還待證實。為此，大連生物製品研究所與安徽省衛生防疫站合作，並得安徽省和平醫院及某工地醫院大力協助，於1954年夏天在合肥市及某工地進行了該製劑對桿菌痢疾初步治療的研究。本文僅就臨床觀察方面加以分析討論。

此次所用之製劑，內含志賀氏及福氏痢疾噬菌體各佔50%。裂解價均在 $10^8$ 以上。對國內不少流行地區分離之同型菌株，均有相當高之裂解力。

此次試驗觀察計213人，其中以噬菌體治療者157人，磺胺嘧啶治療者35人及磺胺胍治療者21人。磺胺製劑做為對照。

試驗證明：痢疾噬菌體治療桿菌痢疾是有效的。與磺胺嘧啶及磺胺胍比較，噬菌體之效果優於二者。在治癒率上，噬菌體組(88.5%)高於磺胺嘧啶組(68.5%)及磺胺胍組(61.9%)。在症狀消失上，如體溫恢復正常，腹痛消失、腹瀉控制、糞便轉為正常及細菌學培養轉為陰性等方面，在平均日數上噬菌體治療者較二種磺胺劑治療者縮短，平均療程也較短。

比較了噬菌體不同服用方法的治療效果。口服不同劑量及次數，沒有發現顯著的差異，但每四小時服30毫升的大劑量組效果似較好，兼用灌腸方法效果似較佳，惟例數不多尚待繼續研究。

(本文曾發表於中華醫學雜誌1955.9.828—834頁)

## 1953—1955年在旅大地區所分離的 672 株痢疾 桿菌對噬菌體製劑的感受試驗

于智麗 車繼璞

在李氏等痢疾噬菌體治療成人桿菌痢疾之初步報告中曾經提出：噬菌體在試管內能引起一定程度的菌體裂解者在治療上有效；反之，如在試管中對菌體不能產生裂解作用者，則在臨床上療效亦有疑問。

本試驗的目的，旨在了解本所痢疾噬菌體製劑，對旅大地區近三年來所分離出之痢疾桿菌的感受性，並藉此觀察噬菌體製劑的裂解範圍和效能，以資改進製品的質量。

### 試驗材料與方法：

(一) 噬菌體：大連生物製品研究所1956年所產批號 855 志賀氏及福氏(2a)痢疾噬菌體。(比例各佔50%)

(二) 菌株：1953—1955年由旅大地區患者中分離出的痢疾桿菌，其菌型計包括：福氏痢疾桿菌 625 (1a—2 株, 1b—233, 2a—228 株, 3 型—106 株, 4a—17 株, 4b—16 株, 5 型—6 株, X 變種—1 株, Y 變種—16 株)。

宋內氏痢疾桿菌——26 株。

什密茲氏痢疾桿菌——7 株。

未定型者——14 株。

(三) 操作方法：先以平板點滴法測定，(將被檢菌株用白金耳塗於普通瓊膠平皿培養基上，再滴加一白金耳噬菌體)。對於裂解者，再以 Аппельман 氏法測定效價；其具體做法如下：

(1) 平板點滴法：先將烤乾之瓊膠平板劃分 6—8 份扇形格，標上菌號。然後用白金耳沾取少許被檢菌株，分別塗於已劃格之瓊膠平板上，再用白金耳沾取一白金圈志賀氏福氏混合痢疾噬菌體。經 18—20 小時培養，於滴加噬菌體處出現裂解現象，即為陽性結果。一般於 3 小時後便出現裂解現象，但標準則在 18 小時後。

(2) Аппельман 氏法：選平板上裂解的菌株，以 A 氏法測定效價，觀察裂解效能。為使結果確實，並合乎法規要求需觀察 48 小時。

### 試驗結果：

本試驗共檢查痢疾桿菌 672 株，其中應用平板點滴法呈陽性者計 632 株 (94.1%)，陰性者為 40 株 (5.9%)。應用 Аппельман 氏法呈陽性者計 619 株 (92%)；6 小時裂解者 (效價  $10^{-1}$  以上) 493 株 (74%)，18 小時裂解者 ( $10^{-1}$  以上) 332 株 (52%)，48 小時裂解者 ( $10^{-1}$  以上) 270 株 (42%)。結果如表 1 所列。

表 1 平板點滴法與  
Аппельман 法檢查結果

檢查 結果	檢查 方法	Аппельман氏方法			
		平 皿 點 滴 法	6 小 時	18 小 時	48 小 時
檢 查 數	672	432	632	632	
陽 性	632	490	332	270	
陽 性 率 %	94.1	74	52	42	

從表 1 可以看出：平板點滴法較 Аппельман 氏法敏感，陽性率較高；而 Аппельман 氏法 6 小時之結果又較 18 小時和 48 小時之陽性率為高。依據蘇聯學者 Вобляко 氏的意見，其原因，可能係由於液體培養基易出現再生菌，以及菌株與噬菌體的適應性問題的關係。按法規要求，以 48 小時尚保持裂解者為標準。

為了探討與其他型痢疾菌的關係和裂解範圍，在進行上列試驗之同時，又依據痢疾桿菌之血清學

分型（國際分型法），分別與噬菌體製劑作了初步的檢查其結果如表 2 所列。

從表 2 可以看出，其中以福氏 2a 型痢疾菌株之陽性率為最高，效價  $10^{-7}$  以上者計 80.6%，其次為弗氏 3 型 77.5%。至於其他各型，除宋內氏，什密茲氏，福氏 1a 型外，皆略有裂解。由此可知，該噬菌體製劑除能裂解相應之福氏 2a 型外，尚能裂解其他不同型之菌株，所異者，僅裂解程度不同而已。至其原因將在討論中加以敘述。

## 討 論：

根據上述的試驗結果，該噬菌體製劑可以認為在基本上是能溶解多數痢疾桿菌的。由於製劑中含有二分之一的福氏 2a 型噬菌體，因而與福氏 2a 型菌株陽性最高。至於對其他型之福氏痢疾桿菌，如 3 型 Y 型變種和 5 型等，也有較高之裂解性能，至其是否與該些菌株之菌體表面抗原多糖類及類脂體之構造有關，正如過去許多試驗所證實的，“菌體表面的抗原結構，在決定該菌對噬菌體之感受性方面”起着重要的作用，例如：在研究沙門氏菌屬對噬菌體之感受性時，發現一種可裂解傷寒菌，腸炎菌，*Bac. Pullorum* 等數種菌的噬菌體，因為他們之間具有共同的菌體抗原。反之：該噬菌體却不能裂解副傷寒和猪霍亂菌。因為後者沒有上述的共同抗原物質。

又該製劑中雖然含有二分之一的福氏 2a 型噬菌體但尚有 10% 左右的福氏 2a 菌株未被裂解或裂解較低。我們初步認為可作下列幾種假定：1) 各菌株對噬菌體之適應性不同，2) 雖然血清型相同但噬菌體型不同。3) 由於已用噬菌體製劑在某些地區進行過預防和治療，因此有產生抗該噬菌體的菌株，使其不被裂解的可能。至於是否尚有其他原因有待研究。

由此可知：本所製劑所包括的噬菌體型是不齊備的，缺乏多價性和高度的特異性，應設法改進，而尤其應該迅速尋找宋內氏、什密茲氏，福氏 1b 及 1a 等噬菌體型加入製劑中。

## 小 結：

就 Аппельман 氏法於試管中測定噬菌體製劑，對旅大地區所分離出之菌株裂解作用的觀察，可以初步認為：

(一) 該噬菌體製劑缺乏多價性及高度特異性，未能將目前國內所流行之痢疾菌型全部或大部加入，而特別是不含宋內氏及福氏 1a、1b 噬菌體型，此點必須改進。



表 II 各型痢疾桿菌對噬菌體製劑的感受性測定結果

方 法	平 皿 法		試 管 法															
	檢 查 數	陽 性 %	6 小 時 陽 性 結 果				18 小 時 陽 性 結 果				48 小 時 陽 性 結 果							
			10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup> -10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup> -10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup> -10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup> -10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup> -10 <sup>-9</sup>				
梁氏痢疾菌 總檢數	625	600	96	600	488	81.3	24	4	1.4	25.7	330	55	1	2.5	85	14.3	263	44.8
1a	2	2	0	2	1		1	1	1		0		1	1	1		0	
1b	233	228	97.3	228	172	75.4	18	2.5	11.9	52.2	51	22.3	9	3.9	39	17.1	26	11.4
2a	228	227	99.6	227	15	6.6	4	1.8	26	11.2	185	80.6	2	0.9	30	13.2	162	71.3
3	16	102	90.2	102	2	6	5.9	1	6	5.9	79	77.4	2	2	15	14.7	65	63.7
4a	17	17	100	17	4	23.5	2	11.8	2	11.8	4	23.5	1	5.9	1	5.9	3	17.6
4b	16	3	18.7	3	1	33.3	0	0	0	0	1	33.3	0	0	0	0	1	33.3
5	6	5	83.3	5	2	40	3	60	0	0	2	40	0	0	0	0	2	40
x 變種	1	1	1	1	3		0	0	0	0	1		0	0	0	0	1	
y 變種	16	15	93.8	15	3	20	12	80	0	0	9	60	0	0	0	0	9	60
梁氏痢疾菌	26	21	80.7	21	5	23.8	5	23.8	3	14.3	0	0	5	23.8	3	14.3	0	0
肖姆茲氏菌	7	1	14.3	1	0		0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	
未定型菌	14	3	21.4	3	0		0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	

(二) 根據旅大地區所分離出的痢疾桿菌型別分析，其中以福氏 1b 和福氏 2a 為最多，至志賀氏則未見；因而在製造時是否應考慮由於各型菌流行比例的不同，而斟酌情形加入不同比例的噬菌體型。

### 參 考 文 獻

- ① 李廣溥、司釋東等，“痢疾噬菌體治療成人桿菌痢疾之初步報告”。中等內科學雜誌，1955年三卷六期第 425 頁。
- ② 蘇聯法規 1955
- ③ 路里，噬菌體的分離、分型及製造。防治醫學，1951年一卷四期43頁。
- ④ 周方譯，噬菌體預防小兒夏季下痢疾的實驗，防治醫學，1951年一卷二期22頁。
- ⑤ 易木 噬菌體，防治醫學，1951年一卷一期63頁。

## 痢疾噬菌體成品對自患者分離之病菌的裂解效能

賈 鴻 舉

噬菌體，特別是用於預防和治療各種傳染病的噬菌體，必須有廣泛的溶菌範圍及高度的裂解能力，這是衆所周知的。痢疾噬菌體亦不例外，由於它在我國防疫戰線上已經較廣泛應用，因此它更必需具備這種特性。

廣泛的溶菌範圍，高度的裂解能力不僅是指該製劑對生產用菌及實驗室菌種有廣泛溶菌及高度裂解，而且更重要的是對新從患者分離之病菌的裂解效能。

在蘇聯生物製品法規中明確規定：“檢定噬菌體的效價必須用非生產菌”，只有這樣才能確切而真實的評定出該製劑的質量。遺憾的是：我國在這一工作上還不能按法規進行。本文所討論的內容就是圍繞着這一問題。

### 材 料 與 方 法

一、痢疾桿菌為自長春地區分離由長春傳染病醫院轉來，經本所菌種室按國際分類以血清定型者，計 645 株。分離日期 1956 年 8—11 月。包括如下數型：1b—181 株；2a—244 株，2b—4 株，3 型—113 株，4 型—3 株，5 型—2 株，x—2 株，y—12 株，宋內氏菌 65 株，什密茲氏—9 株及非典型病菌 10 株。

二、噬菌體 共抽取二批，一為新製成的產品，含有志賀氏，福氏 2a，宋內氏及什密茲氏等菌成份，批號 1371。另一批為含有福氏 2a，1b，宋內氏及什密茲氏等菌成份，批號 1598。這二批噬菌體之製法同於法規規定。

三、肉湯 按普通方法製成的肌肉湯，按 1:3 用生理鹽水稀釋，pH7.0—7.4 分裝於中管，裝量 4.5 毫升。

四、操作方法及觀察，根據蘇聯生物製品法規規定，檢定痢疾噬菌體之裂解力按 Аптецкий 氏方法進行，即將噬菌體按 10 進稀釋成不同的倍數，每管滴入培養 3—4 小時之肉湯菌懸液一滴，之後再放於 37°C 下培育 18 小時觀察成績，以最末透明管為其效價。

### 試 驗 結 果

本試驗的目的之一是測定痢疾噬菌體成品對自患者分離之病菌的裂解範圍，獲得了如下結果：

第一組試驗用痢疾噬菌體成品 1371 批對 364 株新分離之病菌作了裂解，其中有 121 株 (33.2%) 無裂解現象，其餘 66.8% 的痢疾都能被噬菌體成品所裂解。

將其按國際分型統計結果如表 1 所示。

※ 給上海軍事醫學科學院特製的試驗用製劑。

表 1. 1371批噬菌體對自患者檢出之各型病菌裂解能力

菌 型	菌 數	裂解菌數	不裂解數	裂解率	菌 型	菌 數	裂解菌數	不裂解數	裂解率
1b	106	1	105		y	5	4	1	
2a	127	127	0	100	宋 內 氏	49	41	8	83.7
2b	2	2	0		什 密 茲 氏	5	4	1	
3	59	58	1	98.3	非 典 型	8	4	4	
5	1	0	1		總 計	364	234	121	66.8
x	2	2	0						

表 1 的材料證明，不被痢疾噬菌體成品所裂解之病菌除極少數其他菌型之病菌外，絕大部分是福氏 1b 型菌，它幾乎 99% 不能被現在生產之痢疾噬菌體成品所裂解。

著者鑒於 1371 批製劑無福氏 1b 型噬菌體成份之缺欠，又抽取特制的含有福氏 1b 型噬菌體成份之製劑 1398 批與另一部分病菌 (281 株) 作了裂解力的測定，其結果如表 2 中所示。

表 2. 1398 批噬菌體對自患者分離之各型病菌的裂解情況

菌 型	菌 數	裂解數	不裂解數	裂解率	菌 型	菌 數	裂解數	不裂解數	裂解率
1b	75	71	4	94.7	y	7	6	1	
2a	117	113	4	96.6	宋 內 氏	16	14	2	88.0
2b	2	2	0		什 密 茲 氏	4	4	0	
3	54	51	3	94.4	非 典 型	2	2	0	
4	3	3	0		總 計	281	266	15	94.6
5	1	0	1						

表 2 的結果，是令人滿意的，加入福氏 1b 型噬菌體成份不但不影響其他噬菌體成份之溶菌效果，而且還填補了在流行病學上的一個空白，使福氏 1b 型病菌由過去不溶而變為裂解率達 94.7% 之高度。

比較表 1 和表 2 的材料不難看出 1398 批製劑之溶菌範圍遠遠超過 1371 批，其裂解率相對的增高 (由 66.8% 增到 94.6%)。

根據對自患者檢出之病菌的溶菌力，即裂解滴度的測定，結果如表 3，表 4。

從表 3 看到，1371 批制劑的裂解力是較高的，對長春地區檢出之病菌是相應的。譬如，這一制劑除對福氏 1b 型病菌不溶外，它對福氏 2a 型菌有 99.2% 的菌裂解力高達  $10^{-7}$  以上，對非本噬菌體之病菌 (如 3 型) 也有 96.6% 的裂解滴度在  $10^{-7}$  以上，較董 (1) 于 (2) 二氏所得結果高出很多。由此可見，本制劑除對長春地區檢出之菌種相符合外，其制劑質量也有改進。

表 4 的材料大致和表 3 一致，只是不被 1398 批制劑裂解的病菌較多些，其原因將在討論中加以敘述。值得注意的是 1398 批制劑能對 80.0% 的福氏 1b 型菌的裂解力高達  $10^{-7}$

※ 董：于二氏用二價 (老費氏和福氏) 噬菌體測定獲得如下結果：董：2a—78.7%，3—60.5%，宋內氏裂解力極低，在  $10^{-1}$ — $10^{-3}$  之間。于：2a—80%，3—77.1%，宋內氏裂解數很少，效價也很低。

以上，這是不難看出加入福氏1b型噬菌體成份之必要性。

表 3. 1371批製劑對自患者分離之病菌的裂解滴度

菌 型	菌 數	裂 解 滴 度						不 裂 解 數
		$10^{-1}-10^{-3}$		$10^{-4}-10^{-6}$		$10^{-7}-10^{-9}$		
		裂解數	%	裂解數	%	裂解數	%	
1b	106	1						105
2a	127			1		126	99.2	
2b	2					2		
3	59			2		56	96.6	1
5	1							1
x	2					2		
y	5			1		3		1
宋 內 氏	49			12		29	70.7	8
什 密 茲 氏	5			1		3		1
非 典 型	8			3		1		4
總 計	364	1		20		222	61.0	

表 4. 1398批製劑對新分離之病菌的裂解滴度

菌 型	菌 數	裂 解 滴 度						不 裂 解 數
		$10^{-1}-10^{-3}$		$10^{-4}-10^{-6}$		$10^{-7}-10^{-9}$		
		數	%	數	%	數	%	
1b	75			11		60	80.0	4
2a	117			2		111	94.8	4
2b	2					2		
3	54			5		46	85.0	3
4	3					3		
5	1							1
y	7			2		4		1
宋 內 氏	16			7		7	50.0	2
什 密 茲 氏	4					4		
非 典 型	2			1		1		
總 計	281			28		238	84.7	15

## 討 論

根據二批痢疾噬菌體成品對長春地區檢出之部分病菌進行裂解能力及裂解範圍的測定證明，目前所生產的痢疾噬菌體制劑還不能合乎蘇聯標準，尚需作進一步的努力。蘇聯生物製品法規規定<sup>(3)</sup>，製造痢疾噬菌體必須包括有當地流行之主要菌型。但是目前，我們的制劑中就沒有作到這點，除特製之1398批外，在一般成品中缺乏重要的福氏1b型菌的噬菌體成份。

又蘇聯法規規定，檢定成品之質量要用非生產用菌，這些菌有75%達到規定滴

度來才評為合格。根據本試驗材料來看還有個別菌型難以達到這一要求。

噬菌體之裂解範圍與裂解力之高低大小與痢疾的預防和治療效果關係至巨。Д'ерель氏(4)很早就指出，噬菌體裂解檢出之細菌是用它於治療的必要條件。С. Н. Муромцев 氏(5)，И. Ф. Кваситадзе И. Ф. Михайлова(6)等氏的文章也強調指出，噬菌體的效果決定於制劑的裂解效價及裂解範圍。因此，用於預防和治療痢疾的噬菌體必須是高效價及裂解範圍廣的。我們認為增高裂解效價與裂解範圍，不僅能提高防治痢疾的效果，而且還能提高其對自患者分離之病菌的裂解能力及作用範圍，這樣一來，法規規定的用非生產菌檢定制劑之效價問題，自然就迎刃而解。

本試驗的材料中發現有某些血清學相同的菌而被噬菌體裂解情況則相反，我們認為主要是和噬菌體的特異性有關。大家都知道噬菌體的分型較細菌為多，並且有高度特異性的噬菌體只能作用於某些菌種(7)。本試驗中另一種情況是1371批制劑較1398批制劑裂解力高些(2a—99.2:94.8, 3型—96.6:85.0, 宋內氏—70.7:50.0)。我們認為可能是由於被用於測定的病菌的保存情況不同所致。1371批所裂解的病菌是經再次(本所)分離定型後不出一週者，1398批所裂解之病菌大都是定型之後在普通瓊脂斜面冰室保存不下三週者。在А. С. Криваский 氏的文章(8)中指出，噬菌體的效價是決定於細菌的培養條件。他說：培養基的某一成份的改變也能使細菌改變相應地也改變了噬菌現象。想像保存時間的長短也影響着噬菌現象。宋內氏病菌被溶解的不同主要是上述原因。В. П. Кузнецова 在他的試驗(9)中證明，宋內氏噬菌體對S和R有顯著的裂解區別，即有嚴格的界限。我們的試驗材料也證明這點。表4的宋內氏病菌裂解結果較表3為低是由於宋內氏病菌在普通瓊脂斜面上長時間保存R型菌大量出現之結果。我們日常檢定成品時也碰到這種情況：冰室保存時間較長的菌其裂解力下降。

至於本試驗結果較董、于二氏為高，其原因除加入宋內氏及什密茲氏等菌成份外，與其檢出地區是有關係的。И. С. Дилецко 氏(10)證明，從生產噬菌體的地區及經常使用噬菌體的地區分離的菌種的裂解力是較遠於這些地區分離的菌種低的。

總之，這一試驗給我們提出了很多問題，特別是積極加入福氏1b型菌成份及提高裂解力是迫不及待要解決的。

## 總 結

一、本所痢疾噬菌體制劑在質量上有所改進，加入了宋內氏及什密茲氏等菌成份，能使絕大部分相應菌種裂解，有的達99%以上。

二、目前在一般制劑中還不含福氏1b型菌成份，這是一大缺點，給用它預防和治療痢疾上造成一個漏洞。

三、目前制劑的質量較接近於蘇聯法規，但要達到同樣標準，還須進一步研究。

四、所使用的二批制劑裂解力都不高，對2a, 3型1b型菌裂解到 $10^{-7}$ 較多些。

本試驗蒙菌種室協助致謝

※ 法規規定：各類菌的滴不得低於以下標準，志賀氏— $10^{-7}$ ，福氏，— $10^{-5}$ ，宋內氏— $10^{-6}$ ，什密茲氏 $10^{-3}$ 。

### 參 考 文 獻

1. 董殿順：大連地區檢出之痢菌對噬菌體的感受性試驗。未發表。
2. 于智力等，大連地區分離之痢菌對噬菌體的感受試驗。  
本 報 編 頁
3. 蘇聯法規。
4. Лурье М. П. Феномен творт—а, апреля 166 1941 巴庫
5. Муромцев С. Н.; Изминчивость мик. и проблемы имму. 218 頁
6. Квеситадзе П. Ф. 等 Ж. Мэн 1957. 1. 99 頁
7. Зильбер Л. А. Учение о вирусах 218 頁
8. Кривиский, А. С.; Вопросы патогенеза и иммунологии  
Вирусных инфекций, 第 249 頁1955版。
9. Кузнецова, В. П.  
生物製品通訊一卷四期 615 頁
10. Диденко, С. И.;  
生物製品通訊一卷三期 476 頁

## 茶對噬菌體効價影響的初步試驗

徐 烈 英

噬菌體製劑，具有一種特殊的臭味，凡服過噬菌體製劑者，皆有此反映。雖曾用糖改進過該製劑的口味，（以糖加入製劑中後測定効價對噬菌體効價並無影響，混入後放置半年也無影響），但廣泛應用於預防其成本較貴。香料也曾試過，在試驗中遇到有些香料經氾過或加熱滅菌易蒸發。有些香料與製劑起凝集作用。現根據捷克斯洛伐克學者的經驗提示，（他們用本國所出產的一種植物葉子，相當於茶類，或咖啡加入噬菌體製劑中改善製劑口味）。用中國茶作如下試驗：

### 一 試驗材料及方法

#### I. 材 料

1. 茶葉：一級花茶，三級花茶，四級花茶及五級花茶均由中國茶葉公司出品天津分公司經銷，由半兩及一兩之紙袋分裝。

2. 噬菌體：係用福氏(2a)，宋內氏，志賀氏，什密次氏，四種菌按50%，30%，10%，10%比例，混合培養，製成的四種混合多價噬菌體。另一組為生產出品之 955—2 批號，兩種混合多價噬菌體（經檢定合格者）。

#### II. 方 法

1. 將茶配成比普通喝茶略濃的濃度（茶味有輕重不同，輕者茶2克加500毫升沸水，重者，茶2克加250毫升沸水）。濾紙濾過後滅菌。將茶與噬菌體製劑按1:1,2:1,混合。

2. 混合後當時測定効價和放置 1—4 天後測定効價，觀察其結果。

### 二 試驗結果

I 測定効價結果如下表

表 1. 茶與多價噬菌體按 1:1 混合測定効價

組別 \ 菌株及菌號	宋內氏(604)	什密次(619)	志賀氏(105)	福氏(687)
一級花茶與噬菌體(1:1)	10—6	10—4	10—8	10—8
五級花茶與噬菌體(1:1)	10—7	10—4	10—8	10—8
未 加 茶	10—11	10—4	10—8	10—8



表 2. 不同種茶與多價噬菌體按 1:1 混合測定効價

組別	茶株及菌號	志賀氏	宋內氏	宋內氏	福氏	福氏	福氏	福氏	福氏
		(694)	(697)	(697)	(686)	(200)	(655)	(687)	(1:1)
一級花茶與噬菌體 (1:1)				10-5		10-8	10-9	10-9	
三級花茶與噬菌體 (1:1)		10-8				10-8			10-8
四級花茶與噬菌體 (1:1)		10-8	10-5		10-8				10-9
五級花茶與噬菌體 (1:1)		10-8	10-7		10-8	10-8	10-8	10-7	10-8
未加茶噬菌體		10-8	10-6	10-6	10-8	10-8	10-9	10-9	10-8

表 3 茶與噬菌體按 2:1 混合後測定効價

組別	茶株及菌號	福氏 (686)	福氏 (687)	志賀氏 (105)
		三級花茶與噬菌體 2:1	10-8	10-8
五級花茶與噬菌體 2:1		10-8	10-7	10-8
未加茶之噬菌體		10-8	10-9	10-8

表 4 茶與噬菌體 (製品批號 955-2) 2:1 混合後放置三天測定効價

組別	茶株及菌號	志賀氏 (2)	志賀氏 (14)	志賀氏 (105)	福氏 (206)	福氏 (207)	福氏 (126)
		三級花茶與噬菌體 2:1	10-8	10-8	10-8	10-8	10-8
五級花茶與噬菌體 2:1		10-7	10-8	10-8	10-8	10-8	10-8
未加茶之噬菌體		10-8	10-9	10-6	10-8	10-8	10-8

表 5 茶與噬菌體按 2:1 混合放置四天測定効價結果

茶株及菌號	志賀氏 (2)	志賀氏 (14)	志賀氏 (105)	福氏 (206)	福氏 (207)	福氏 (126)
三級花茶與噬菌體 (2:1)	10-8	10-8	10-8	10-8	10-8	10-8

## II 加入茶後對噬菌體製劑 pH 之影響

1. 噬菌體製劑 pH 7.6
2. 茶 (按上法配製) 之 pH 6.8 左右
3. 茶與噬菌體 1:1 混合後 pH 7.2 左右
4. 茶與噬菌體 2:1 混合後 pH 7.0 左右

## III 茶對細菌發育之影響

稀釋 1—2 倍時對細菌發育略有影響, 5 倍時則無影響

初步結論: 根據以上効價結果, 茶對噬菌體之効價並無影響, 且以茶與噬菌體 (2:1) 亦無影響, 可試用茶加入噬菌體後服用以改善噬菌體之口味, 但臨床上應用之效果如何, 尚待進一步試驗。

## 人糞便痢疾噬菌體吸附作用的初步研究(摘要)

司程東 于智麗

作者在研究噬菌體分離方法的工作中，發現由人糞便中分離痢疾噬菌體時，在糞便懸液的濾液中，往往不能檢出噬菌體，而用其它方法檢查，則證明糞便中確有噬菌體存在。作者對此現象用正常人的和痢疾患者的糞便做了仔細的研究。試驗分三部分：第一部份是用15個健康人的糞便標本做試驗。即於標本中加入多價痢疾噬菌體制劑，置溫箱一夜，次日取出用蔡氏濾器過濾。然後取懸液及濾液同時在瓊膠平板及肉湯培養基中做裂解試驗，檢查噬菌體。結果發現未經過濾的懸液全部有噬菌體可被檢出，經過過濾的懸液絕大部分不能被檢出，而對照液（即不加糞便標本的噬菌體稀釋液的濾液）均呈很強的裂解現象。第二部份是用糞便中最普遍存在的菌類和糞便渣滓分別做了試驗。結果證明噬菌體不被糞便中存在的菌類所吸附，而糞便渣滓則可。第三部份是對用噬菌體治療的患者進行了檢查。結果在成形的糞便濾液中檢出噬菌體的例數遠低於直接檢查懸液的方法；但在尚未成形的稀便中，則由濾液能檢出的機會顯著增高，而在膿血粘液便，檢出機會更增高。作者們最後認為人正常糞便中有某種不可濾過的物質，對痢疾噬菌體有一種吸附作用。

(摘自微生物學報 3:137—143, 1955)

## 口服痢疾噬菌體在人體腸道內存留時間及其由身體排出途徑的觀察(摘要)

司程東 于智麗

用噬菌體預防痢疾時，一般常用方法是每隔一定時間服用一次其主要根據就是服用一次噬菌體後，以能在腸道內留存的時間來決定。作者曾就18例健康人，用糞便檢查法逐日檢查糞便中的噬菌體。此外，還對部分人作了尿、乳及唾液檢查。試驗結果

(1) 根據18例健康人的試驗結果，口服痢疾噬菌體，在糞便中，該噬菌體可持續存在3—15日大部為4—7日

(2) 口服痢疾噬菌體，除可由糞便排出身體外，並可由腸道吸收，經由腎臟、乳腺、唾液腺而由尿、乳液及唾液排出。

(3) 乳兒可由服用噬菌體的母親的乳液接受噬菌體。

(摘自微生物學報: 3:159—166, 1955)

## 口服及注射痢疾噬菌體在小白鼠各臟器 之分佈與留存時間的觀察

司穉東 于智麗 陸情

痢疾噬菌體口服後，在人體除可由糞便排出外，並可由尿、乳及唾液排出，因此可以推想口服噬菌體由腸道吸收，經血流達腎臟、乳腺及唾腺。爲了解噬菌體口服後在體內各器官的分佈情形，用小白鼠進行了試驗觀察，又進一步爲了比較一定量及不同量噬菌體在各臟器內留存的時間，予小白鼠皮下注射噬菌體進行了觀察。

小白鼠口服噬菌體用飼食的方法，服用量不易控制，約爲0.2—0.5毫升；皮下注射分二組，一組爲0.2毫升，一組爲0.4毫升。

小白鼠予以噬菌體後每隔一定時間殺死2—3隻，剖取各臟器，檢查噬菌體。

由檢查結果發見，口服噬菌體3小時後，在血中已可出現噬菌體，同時在肝、腎、肺亦可檢出（本試驗中各臟器之血液未能充分洗除）惟在瓊脂平板上只爲少數孤立的裂解斑。噬菌體在血中可留4日，肝爲3日，肺爲2日，腎於2日後已不見，腦中則終未檢出噬菌體，脾於1日後始檢出，可留4日。糞便與腸中檢出噬菌體量較多，但在糞便中第四日已不能檢出。

檢查結果列入表1

表1. 口服痢疾噬菌體小白鼠各臟器之分佈及留存時間

檢 查 時 間		本	血	肝	脾	腎	肺	腦	腸	糞 便
3	小 時		3/5	3/5	5/5	3/5	3/5	5/5	5/5	5/5
5	小 時		4/5	3/5	5/5	3/5	4/5	5/5	5/5	5/5
1	日		3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	5/5	3/5	5/5
2	日		3/5	3/5	3/5	5/5	3/5	5/5	3/5	5/5
3	日		3/5	3/5	3/5	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5
4	日		3/5	5/5	3/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
5-22	日		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

註：分母爲檢查之小白鼠數。分子爲噬菌體檢出陽性數。

皮下注射噬菌體，於1日後血、肝、脾、腎、腸、肺及腦均可檢出噬菌體，糞便中則終未檢出。由檢查結果發見，注射0.4毫升噬菌體，其在各臟器內留存之時間，較0.2毫升者長，尤其在血液內留存之時間相差甚多，注射0.4毫升有的於29日後尚可檢出，但並不是29日內每日解剖者均可檢出，其在10日內者每日血中均可檢出，10日後者實際只第17、24及29日檢出，其餘日期未檢出。腦內噬菌體兩組只第四日各檢出一次，其他臟器一般可連續檢出。檢查結果如表2。

噬菌體在各臟器存在的量，以脾臟最多，而且從開始到最後檢查的時間內，幾乎沒

有減少，其次為腎、肺及肝臟，但一般是開始時較多，逐漸減少以至消失。

注射噬菌體，在糞便中一直未發見噬菌體。

表 2. 皮下注射噬菌體在小白鼠各臟器檢出時間表

注射量	標本	血	肝	脾	腎	肺	腦	腸	糞便
0.2 毫升	9	12	27	21	23	4	25	—	
0.4 毫升	29	17	37	29	26	4	25	—	

※ 注射0.2毫升組共觀察27天，注射0.4毫升組共觀察37天。

### 討 論 與 總 結:

1. 由本試驗可以證明小白鼠口服痢疾噬菌體，大部分動物迅速即由腸道吸收進入血液（3小時），而5小時後檢查3隻小白鼠，全部可在血中發見噬菌體，同時並可迅速的出見於肝、腎、肺等器官，但脾臟似出見較晚，腦中則未發見。由腸組織檢出較多的噬菌體，但因係口服，故結果未必可靠（剖開腸壁只用生理鹽水沖洗數次）。

2. 用飼食法口服噬菌體，因食入之噬菌體量無法控制，故無法知道在各臟器內噬菌體留存的時間與噬菌體量的關係，因此用皮下注射的方法做了觀察，根據檢查結果，認為注射量較大，其在血中及肝、脾、胃、肺等臟器內留存的時間，似亦較長。

3. 在各臟器之留存時間，由注射組觀察，都是以脾臟最久，在我們全部觀察的時間內，一直都檢出噬菌體，因此在脾臟中留存的時間注射0.2或0.4毫升最少可達27或37日，估計還應較長。其次為腎及肺，再次為肝臟。

在各臟器內噬菌體留存的量，也以脾臟最多以腦中最少。

4. 二注射組在全部觀察期間內（27日，37日）。糞便中均未發見噬菌體，口服組第五日以後至第22日，糞便中亦均未發見噬菌體，可以說明小白鼠在此期間內，並未因飼食而有痢疾噬菌體進入體內。

## 痢疾噬菌體用於桿菌痢疾細菌學 診斷的初步報告(摘要)

司羣東 劉祥運 于智麗  
施培福 洪加浩 張道生

作者們用多價痢疾噬菌體作桿菌痢疾患者的細菌學診斷並與一般普通方法做了比較。噬菌體檢查方法共有三種，但其中以第三種方法的結果為最好即從鑑別培養基上選取可疑菌落三個，B.T.B 用乳糖瓊脂平板做裂解試驗，當日觀察結果，並做血清凝集試驗，當日得出初步診斷。試驗結果：在1024次標本檢查中痢疾菌培養陽性者為664次，其中福氏菌610次，宋內氏菌44次，什密茲菌9次，可能為異型菌1次。用第三種方法共檢查310人，陽性者263人(84.4%)；共檢標本446次，陽性者379次。作者們認為噬菌體用於診斷是很方便的，可節省檢查材料，較一般普通方法提前得出結果(可提一二日)；但因目前所用噬菌體不全，對裂解試驗陰性者不能排除痢疾菌的診斷。此外，噬菌體對少數大腸及副大腸菌有非特異性裂解現象，只須從其它性質上極易與痢疾菌分別。

(摘自中華醫學雜誌 1955年 九月號)

## 利用再生菌作痢疾桿菌噬菌體分型及 製造用噬菌體選種的研究 各型噬菌體及再生菌分離法(一)(摘要)

鄒 雲 臣

用作分型的原噬菌體是由污水或其它標本中分離而得。以此噬菌體與相應原菌作連續三代培養，用試管法選其18小時培養效價高者用之。各型噬菌體按分離次序稱為Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ……等型；再生菌按其抗噬菌體的裂解性而稱抗Ⅰ、抗Ⅱ、抗Ⅲ……等型。

分離各型噬菌體時，須用平板法。例如Ⅰ型噬菌體是由下法取得。於兩個平板上，各加一滴菌液，然後分別加入濃度不同的噬菌體稀釋液一鉸圈，用L形玻璃棒塗抹後，於37°C 溫箱內培育，次日選取單個蝕斑，分別用鉸綫分離於肉湯管內，加入適量菌液後，以6小時能產生高效價而在18小時培養效價為 $10^{-4}$ 時的一管作為Ⅰ型噬菌體。Ⅱ型噬菌體係按同法以抗Ⅰ再生菌與原噬菌體作用而得。餘類推。

分離各型抗噬菌體再生菌時，須用原菌或再生菌與相應型的噬菌體在肉湯管內先行培育，然後用平板進行分離。例如分離抗Ⅰ型噬菌體再生菌時，於十進稀釋的噬菌體肉湯管中，加入原菌液一滴，培育6小時記取結果一次，至18小時效價為 $10^{-4}$ 時，取其 $10^{-1}$ 管作平板分離即得。抗Ⅱ型噬菌體再生菌是用原菌與Ⅱ型噬菌體作用而得。抗Ⅲ型噬菌體再生菌是用抗Ⅰ型噬菌體再生菌與Ⅲ型噬菌體作用而得。餘類推。

各型噬菌體對原菌及再生菌在肉湯管內的溶菌作用如下表所示：

噬 菌 體 型 菌 株	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	對 照 (菌液)
原 菌	—	—	+	+
抗 Ⅰ 再 生 菌	+	—	+	+
抗 Ⅱ 再 生 菌	—	+	—	+
抗 Ⅲ 再 生 菌	+	+	—	+
註 備	(—) 裂 解      (+) 不 裂 解			

(原文曾發表於 生物製品通訊 第二卷 第一期, 1957年)

## 福氏痢疾 2a 型菌噬菌體的裂解試驗(二) (摘要)

鄒 雲 臣

試驗用的 I 型噬菌體是從蘇聯噬菌體中分離出來的；II、III 型噬菌體是從大連解放廣場污水中分離而得。試驗用的菌株是本室製造用的 5 株 2a 型菌，菌號為 49、126、200、207、209。

用 I、II、III 型噬菌體與試驗菌作裂解性試驗。其結果如下：

單的 I、II 型噬菌體對原菌的效價，6 小時都為  $10^{10}$ ，而 18 小時則變為  $10^8$ 。等量混合和互差 10 倍混合的 I、II 型噬菌體對原菌的效價，6 小時都為  $10^{10}$ ，但 18 小時時，僅等量混合的效價為  $10^{10}$ ，其餘則為  $10^8$ 。

等量混合和互差 10 倍混合的 I、II 型噬菌體，與原菌作 100 毫升肉湯傳代培養（作三代）及測效價以作比較。等量混合的和 I 比 II 多 10 倍混合噬菌體，與原菌培養出的各代噬菌體，效價不僅高，而且很穩定；效價都在  $10^9$  以上。II 型比 I 型多 10 倍混合的噬菌體，與原菌培養出的各代噬菌體，效價較低，且不穩定，高者為  $10^8$ ，低者為  $10^7$ ， $10^6$  者為多。因此，我們認為 I 型比 II 型的裂解力較強，故在製造噬菌體種時，可採用 I:II = 1:1 至 I:II = 10:1 之間的任意比例作培養，都能獲得效價高的噬菌體。

I、II 型噬菌體與抗 I、抗 II 再生菌起交叉裂解作用。III 型噬菌體對原菌及抗 I 再生菌不起裂解，但它能裂解抗 II、抗 III 再生菌。

抗 I、抗 II 再生菌的培養特性是不一樣的。例如抗 I 再生菌是典型 S 菌落；在肉湯內培養時，呈均勻混濁生長（與原菌相同）；在平板上或肉湯內與 I 型噬菌體皆不起裂解作用。抗 II 再生菌，多為不典型菌落（R 形菌落為多）；在平板上仍能被 II 型噬菌體所裂解，但在肉湯內則不顯其裂解作用。抗 III 再生菌與抗 II 再生菌相似，它在肉湯內對 I、II 型噬菌體都不起裂解，只能被 III 型噬菌體所裂解。再生菌的其他性質尚待今後作進一步的研究。

### 結 論

1. II 型比 I 型噬菌體的裂解力為強。
2. 等量混合的 I、II 型噬菌體效價為最高，且不長再生菌。
3. 利用再生菌作噬菌體分型及其選種的方法，可以得到效價高而裂解力強的噬菌體。

（原文曾發表於 生物製品通訊 第二卷第一期，1957年）

## 志賀氏痢疾桿菌 噬菌體的裂解試驗(三)(摘要)

鄒 雲 臣

供試驗用的 I、II、III 型噬菌體，是從大連解放廣場污水中分離而得。供試驗用之菌株是本室製造的 6 株志賀氏菌，其菌號為：2、14、48、101、198、199。

用 I、II、III 型噬菌體與原菌及再生菌作裂解性試驗，其試驗結果如下：

單的 I、II 型噬菌體對原菌的裂解效價 6 小時都為  $10^8$  而 18 小時則全變為  $10^0$ ，但用等量混合的 I、II 和 I、II<sub>III</sub> 型噬菌體，不僅 6 小時效價是  $10^8$ ，而 18 小時仍保持  $10^8$ ，I、II 型互差 10 倍時，其效價則降低一管。

用等量混合的 I、II 和 I、II<sub>III</sub> 型噬菌體與試驗菌作 100 毫升肉湯傳代（作三代）培養及測定效價以作比較。所作之試驗結果二者相同，各代效價多為  $10^8$ ，僅第三代個別的菌株為  $10^9$ 。但是用 I、II 型噬菌體培育的 100 毫升肉湯至 18 小時，仍能產生抗 I<sub>II</sub> 再生菌而變混濁。而用 I、II<sub>III</sub> 型噬菌體培育的 100 毫升肉湯至 18 小時及 20 天亦不產生再生菌，因此，我們認為等量混合的 I、II<sub>III</sub> 型噬菌體用於製造為最適宜。

I 型比 II 型噬菌體的裂解速度約快 15 分鐘。抗 I 和抗 II 再生菌與 I、II 型噬菌體起交叉裂解作用，效價 6 小時為  $10^8$  而 18 小時則為  $10^8$ 。III 型噬菌體對原菌及抗 I 再生菌都不起裂解作用，只能裂解抗 II 及抗 I<sub>II</sub> 再生菌。

抗 I 和抗 II 再生菌在培養特性上有顯著的區別。例如抗 I 再生菌為典型的 S 菌落，在肉湯內培養時呈均勻混濁，在平板上或肉湯管內與 I 型噬菌體皆不起裂解作用。抗 II 再生菌為不典型菌落（多數為 S 型），在肉湯內培育時，18 小時呈沉澱（沉澱分散在管底）半混濁狀態；在平板上仍能被 II 型噬菌體裂解，但在肉湯內則不顯裂解作用。抗 I<sub>II</sub> 再生菌的培養特性與抗 II 再生菌相似，它對 I、II 型噬菌體都不起裂解，只能被 III 型噬菌體所裂解。再生菌的性質作了一般性質的觀察，其他特性尚待今後作進一步的研究。

### 結 論

1. I 型比 II 型噬菌體的裂解力為強。
2. 等量混合的 I、II 和 I、II<sub>III</sub> 型噬菌體效價為最高。
3. 等量混合的 I、II<sub>III</sub> 型噬菌體適合於製造用。

（原文曾發表於 生物製品通訊 第二卷第一期 1957 年）



## 宋內氏痢疾桿菌噬菌體的裂解試驗(四)

鄒 雲 臣

### 試 驗 材 料

六株宋內氏痢疾桿菌噬菌體是從大連沙河口和西崗區污水中分離出來的。這六株都是在6小時能裂解宋內氏菌而在18小時長再生菌的噬菌體；按其裂解性和再生菌的抗裂解性及血清學等一般生物性狀，分為I和II兩個型，每型各佔3株。

依照裂解力強（裂解菌量多且快而長再生菌慢者）、效價高、裂解範圍廣（能裂解多數地區的宋內氏菌者）的原則，從中選出了I、II型噬菌體各一株。

III型噬菌體是用抗I<sub>II</sub>再生菌以同法從西崗區污水中分離而得。

選供試驗用的I、II、III型噬菌體具以下特點（用514號菌檢查）

(1) I型噬菌體在平板上形成較小的蝕斑，直徑為0.1—0.2毫米；對原菌的裂解效價6小時為 $10^8$ 至 $10^9$ 而18小時為 $10^9$ ，每管長出的抗I再生菌，都呈對照管樣混濁，用平板分離則能得到完全抗I的多為S型的再生菌菌落，與宋內氏菌診斷血清起凝集，亦能被II型噬菌體所裂解，但對III型噬菌體則不起裂解作用。

(2) II型噬菌體在平板上能形成較大的透明斑，直徑為1.0—2.0毫米；對原菌的效價6小時為 $10^8$ 至 $10^9$ 而18小時為 $10^9$ 用平板分離抗II再生菌，則能得到為數甚少的R型菌落，其中大部份都被裂解了。經移種的抗II再生菌，對宋內氏菌診斷血清不起凝集，在肉湯管內對II型噬菌體亦不顯裂解作用，但能被I、III型噬菌體所裂解，效價6小時為 $10^8$ 至 $10^9$ 。

(3) III型噬菌體對原菌和抗I再生菌都不起裂解作用，但能裂解抗II、抗I<sub>II</sub>再生菌，效價為 $10^8$ 至 $10^9$ ；蝕斑的直徑為1—2毫米。

綜合I、II、III型噬菌體的裂解性，如表1所示：

供試驗用的菌株，有513、514、674、675、676、677、678、694、697株。其中513、514、678來自北京中國醫學科學院，677、697來自長春，674、675為大連株，694來自蘇聯（原號為714）。

表 I

噬菌體 菌 號	I型	II型	III型	對 照
原 菌	-	-	+	+
抗I再生菌	+	-	+	+
抗II再生菌	-	+	-	+
抗I <sub>II</sub> 再生菌	+	+	-	+

註：(-)號表裂解 (+)號表不裂解

### 試 驗 方 法

1. 100 毫升肉湯噬菌體培養法：於100毫升肉湯內（盛於300毫升三角瓶內），加入菌液（培養18時之菌中斜面一支，加入4.5毫升肉湯洗下其全部菌苔者）0.5毫升

及噬菌體 0.2 毫升，置 37°C 溫箱內培養 6 小時，取出加份 0.25% 搖勻使其完全溶解後，測定其裂解效價。

(2) 試驗 I 方法：用等量混合的 I、II 型噬菌體與原菌測效價及作三代 100 毫升肉湯噬菌體培養，並測其效價。

(3) 試驗 II 方法：用等量混合的 I、II<sub>m</sub> 型噬菌體與原菌測效價及作三代 100 毫升肉湯培養，並測其效價。II<sub>m</sub> 型噬菌體是用等量混合的 II、III 型噬菌體與原菌培養出來 (II<sub>m</sub> 噬菌體對原菌的效價為 10<sup>-7</sup>至 10<sup>-8</sup>，在 50—90 分鐘之內能完全裂解而呈透明) 的。

### 試驗結果

試驗 I 結果：等量混合的 I、II 型比單的 I、II 型裂解速度為快，在 50—90 分鐘內即完全裂解而呈透明了 (單的 I、II 型則需 1.5—2 小時才能完全裂解而呈透明)。等量混合的 I、II 型及其培養出的各代噬菌體效價結果，見表 II (18 小時效價) 所示。

由表 II 可見，等量混合的 I、II 型比其培養出的各代噬菌體效價為高；經檢查長出的再生菌而知其效價低的原因，是由於 II 型噬菌體的裂解力次於 I 型所致。

試驗 II 結果：等量混合的 I、II<sub>m</sub> 型比單的 I、II 型裂解速度亦快，在 50—90 分鐘之內就完全裂解而呈透明了。等量混合的 I、II<sub>m</sub> 及其培養出的各代噬菌體效價結果見表 III (18 小時效價)。

表 II

噬菌體 菌 號	I + II	I + II		
		第一代	第二代	第三代
		513	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>
514	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>
674	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>
675	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>
676	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>
677	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>
678	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>
694	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
697	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>

表 III

噬菌體 菌 號	I + II <sub>m</sub>	I + II <sub>m</sub>		
		第一代	第二代	第三代
		513	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
514	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
674	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
675	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-6</sup>
676	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
677	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
678	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
694	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>
697	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>

由表 III 可見，等量混合的 I、II<sub>m</sub> 型噬菌體，效價不僅高而且作傳代培養時效價亦穩定。故適合於製造用。

依我們現有的材料，所有的抗 I 再生菌，對其診斷血清都起凝集；而抗 II 和抗 II<sub>m</sub> 再生菌則對其診斷血清不起凝或凝集的很弱，其原因尚待進一步追查。

### 結 論

1. 等量混合的 I、II 和 II、III 及 I、II<sub>m</sub> 型噬菌體都比單型的裂解力為強。
2. 等量混合的 I、II<sub>m</sub> 型噬菌體，不僅效價高而且傳代培養時效價亦穩定。故適合於製造用。

## 福氏痢疾 I 型菌噬菌體的裂解試驗(五)

鄒雲臣

### 試驗材料

噬菌體：從大連市沙河口和中山區的污水中，分離出12株噬菌體。其中有 I 型噬菌體 6 株、II 型 4 株、III 型 2 株。從中選出 I、II、III 型各 1 株。這 3 株噬菌體見以下特性：(1) I 型噬菌體的裂解效價為  $10^{-8}$  至  $10^{-9}$ ，與原菌作用所生之抗 I 再生菌為 S 形菌落。抗 I 再生菌對 I、III 型噬菌體不起裂解作用，但能被 II 型噬菌體所裂解。(2) II 型噬菌體的裂解效價為  $10^{-8}$  至  $10^{-10}$ ，與原菌作用所生之抗 II 再生菌為 R 形菌落。抗 II 再生菌能被 I、III 型噬菌體所裂解，但不能被 II 型噬菌體所裂解。(3) III 型噬菌體能裂解抗 II 和抗 III 再生菌，效價為  $10^{-9}$ ，但對原菌和抗 I 再生菌則不起裂解作用。

綜合 I、II、III 型噬菌體，對原菌及其再生菌的裂解性，可用表 1 表示之。

表 1

噬菌體 菌 株	I	II	III	對 照 (肉湯+菌液)
原 菌	-	-	+	+
抗 I 再生菌	+	-	+	+
抗 II 再生菌	-	+	-	+
抗 III 再生菌	+	+	-	+

(-) 表示裂解；(+) 表示不裂解。

菌株：供試之菌株共 8 株。其中有 1a4 株，菌號為 660、661、662、664；1b 有 4 株，菌號為 667、668、737、738。

### 試驗方法

試驗 I：用等量混合之 I、II 型噬菌體，與試驗菌作效價測定，看 18 小時之效價結果。

試驗 II：用等量混合之 I、II 型噬菌體，與試驗菌作三代 100 毫升肉湯培養及測效價。其方法是於 100 毫升肉湯內，加入噬菌體 0.1 毫升及菌液（新培育 18 小時之菌中斜面 1 支，加入 4.5 毫升肉湯洗下其菌苔即成）0.5 毫升。置  $37^{\circ}\text{C}$  溫箱內培育 6 小時，取出加粉 0.25%，並搖均使其充溶解，然後測效價及再以同法作傳代培養。

### 試驗結果

試驗 I 之結果見表 2。由表可見，等量混合的 I、II 型噬菌體，對各試驗菌的裂解效價都在  $10^{-8}$  以上。單從效價來看，是達到了製造用噬菌體種的要求。但能否用於生產，尚看其傳代培養之效價是否穩定，若穩定則可，相反則否。

表 2

效 價 株	660	661	662	664	667	668	737	738
I + II	$10^{-10}$	$10^{-10}$	$10^{-9}$	$10^{-11}$	$10^{-11}$	$10^{-10}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$

試驗 II 結果見表 3。表 3 結果表明：用等量混合的 I、II 型噬菌體，與各試驗菌所製出的各代噬菌體，其效價不僅高，而且經三次傳代後很穩定。

由試驗 I 和試驗 II 之結果，便證明了 I、II 型噬菌體適於製造用。

表 3

效 價 號	660	661	662	664	667	668	737	738
第 一 代	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$
第 二 代	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$
第 三 代	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$

### 討 論

用等量混合的 I、II 型噬菌體，與試驗菌作傳代培養及測效價時，檢查其  $10^{-10}$  管所長之再生菌，皆系抗 II 再生菌，由此可見，II 型比 I 型的增殖力為強，但它們的裂解速度相同。

### 結 論

(1) 等量混合的 I、II 型福氏痢疾 I 型噬菌體，對各試驗菌的裂解效價很高，都在  $10^{-8}$  以上。

(2) 用等量混合的 I、II 型噬菌體，與各試驗菌所製出的各代噬菌體，其效價不僅高，且很穩定，故適用於製造。

## 什密次痢疾桿菌噬菌體的裂解試驗(六)

鄒雲臣

### 試驗材料

噬菌體：從大連市沙河口和西崗區的污水中，分離和選擇出了 I、II、III、IV 型噬菌體各其中 I、II、III 型噬菌體，對典型原菌及其再生菌的裂解性與志賀氏菌噬菌體同。但 III 型噬菌體對非典型原菌亦起裂解作用。IV 型噬菌體除能裂解抗 III 再生菌外，對其他菌的裂解性與 III 型噬菌體同。

菌株：供試驗用的菌株有 4 株，菌號為 8、42、745、746。

### 試驗方法

試驗 I：(1) I、II、III、IV 型噬菌體，各按  $\frac{1}{4}$  體積混合之，然後與各試驗菌作三代 100 毫升肉湯培養及測效價。(2) 培養方法：於 100 毫升肉湯內，加入噬菌體 0.1 毫升及菌液（新培育 18 小時之菌中斜面 1 支，加入 4.5 毫升肉湯洗下其菌苔即成）0.5 毫升。置  $37^{\circ}\text{C}$  溫箱內培育 18 小時，取出加酚 0.25%，然後測效價及再以同法作傳代培養。

試驗 II：(1) 用試驗 I 所製出的各代噬菌體，與各試驗菌作 100 毫升肉湯培養及測效價。(2) 培養方法：於 100 毫升肉湯內，加入噬菌體 0.1 毫升及菌液（菌液製法與試驗 I 同）0.5 毫升。置  $37^{\circ}\text{C}$  溫箱內培育 6 小時，取出加酚 0.25%，然後測定效價，看 18 小時之效價結果。

### 試驗結果

試驗 I 之結果如表 1 所示：從表 1 之結果來看，是達到了製管用噬菌體的要求（效價達到  $10^{-6}$  即可用於生產）。但效價並非很高，仍需從污水分離和選其效價高的噬菌體代之（目前還得用於生產）。

表 1.

效價 噬菌體		菌 號			
		8	42	745	746
第 一 代		$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$
第 二 代		$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$
第 三 代		$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$

試驗 II 結果見表 2。表 1 和表 2 之結果相比，則無顯著的差異。由此可見，用培育

18小時之I、II、III、IV型噬菌體為種，與相應之菌株進行製造，其產品效價仍能達到 $10^{-6}$ 以上。

表 2

效 價 \ 菌 號	8	42	745	746
第 二a 代	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$
第 三a 代	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$
第 四a 代	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-6}$

註：(1) 二a代系用試驗I第一代所製出的6小時噬菌體。  
(2) 三a代系用試驗I第二代所製出的8小時噬菌體。  
(3) 四a代系用試驗I第三代所製出的6小時噬菌體。

### 討 論

(1) I型噬菌體是小的明斑(直徑為0.1—0.2毫米)，效價為 $10^{-6}$ 至 $10^{-8}$ 。其他各型噬菌體的效價較高，都在 $10^{-6}$ 以上。等量混合的I、II和I、II、III型噬菌體，它們都不能完全消除其再生菌的生長。但I、II、III、IV型同時存在時，便能消除其再生菌的生長。

(2) 效價低的原因，可能與I型噬菌體的裂解力弱有關。今後應再分離其裂解力強的I型代之，以便提高其裂解效價。

### 結 論

用各按 $\frac{1}{4}$ 體積混合的I、II、III、IV型的什密次噬菌體，與試驗菌製出的18小時噬菌體，其效價較高亦穩定，故適用於製造。

## 痢疾噬菌體成品在不同溫度保存時 效價的變化(初步報告)

賈 鴻 舉

關於痢疾噬菌體成品的效價與溫度和效期的關係問題，研究的不多，在我國這方面文獻更屬少見。我國縱橫千里，氣溫差別很大，冷藏設備不足，這些情況對生物製品的使用與保存關係巨大。痢疾噬菌體是生物製品之一，並且在國內各地已經使用。根據法規規定，這一制劑的效期為二年，但是，規定效價能否保持二年？在什麼樣條件下能保持二年？在效期內效價的變動如何？這一系列問題都是我們所要知道的。但是，由於本文是一個初步報告，只能探討一下痢疾噬菌體成品在效期內效價高度變動的情況。

### 實 驗 方 法

將噬菌體製造室生產的痢疾噬菌體成品，抽取四批部分制劑（批號：468, 478, 678和680）。將第一批(468)分別放置於冰室，室溫，恆溫室及培育室內。第二批(478)沒放於培育室，僅放於冰室，室溫及恆溫處，後二批(678, 680)，只放置於室溫下觀察。

試驗是從1955年4月（前二批）和8月（後二批）分別開始的到1957年7月基本結束，共曆時二年。

保存溫度：冰室——4—8°C，恆溫室——21—23°C，培育室——36—37°C，室溫條件——在背陰處，冬天有暖氣設備。

實驗所用之菌種為普通瓊脂斜面冰室保存者，每月傳代一次之典型的生產和檢定用菌。

實驗所用之培養基為普通肉湯，pH7.0—7.4，中管分裝，裝量為4.5毫升。

測定方法及統計：全部測定按 АИИО.АЛМУН 氏方法進行。以檢定出品之檢定滴度加起來以所用之菌數除得平均數，統計成 1.0 作為原始滴度。其後每月按此方法將所測得的結果統計作為每月的效價滴度。

### 實 驗 結 果 及 討 論

由於被試的噬菌體成品前二批雖按同一方法製造，又同時開始實驗，但其製造日期不同，因此著者沒將其效價的變動作批號之間的比較。後二批所用材料一樣，製造日期又僅相差一天，因此將其效價滴度繪入一個圖內作了比較。現將其結果製成圖1, 2, 3。

圖1是468批制劑在不同溫度下放置時效價變化的曲綫。從這個圖中很顯然地看出：放置在37°C培育室中之制劑。三個月後即失去效力，到11個月時其效價滴度僅為 $10^{-1}$ 以上。22°C恆溫室及室溫放置之制劑也有變化，但較37°C放置之制劑的效價變

\* 痢疾噬菌體操作規程上規定：檢定成品用12株菌，其中有9株裂解在 $10^{-2}$ 以上即判定為合格。

化是小的多。冰室保存之制劑較恒溫室溫更。

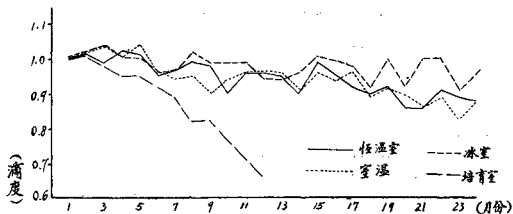


圖 1.

圖 2 是 478 批制劑在不同溫度下保存時效價的變動曲線。這一組試驗的結果，基本上和圖中的結果相似。即冰室保存者較其他二處 (22°C 恒溫室，室溫) 為好。

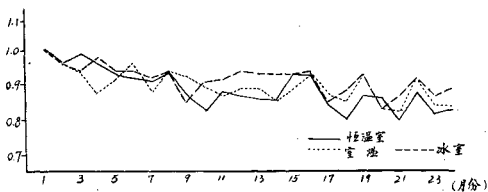


圖 2.

圖 3 是 678 批 (實線) 與 680 批 (虛線) 制劑在室溫下保存的效價滴度變動的比較。

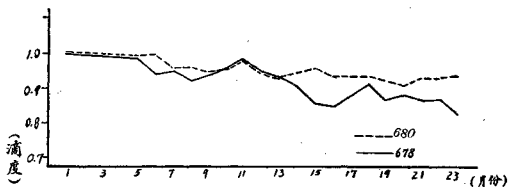


圖 3.



圖 3 的材料，基本上是和圖 1, 2 的室溫條件下制劑效價滴度變動的情況一致。但是，這二批制劑在保存於一年之後效價滴度的變化有了差別，680 批制劑的效價幾乎維持在一個水平上。而 678 批則在其下，到最後二者相差幾近於 $10^{-1}$ 。

由上述結果看來，作者所獲得的材料，基本上和唐氏的試驗結果相近<sup>(1)</sup>：37°C 放置者效價滴度很快下降。

從本試驗的材料看到的第二個問題是：在保存的過程中所測定的效價滴度忽高忽低，並且三者（冰室，22°C 恆溫室及室溫放置者）都有同樣的波動。這種現象用技術差誤是難以解釋通的。根據 A. C. Крипский 氏的文章的結論認為<sup>(2)</sup>：細菌生存條件的改變對它和噬菌體的相互作用有着極大的意義。甚至生存條件極輕微的變化，如培養基某一成份的改變，就能引起細菌組成的改變，相應地改變了噬菌作用。作者認為，本試驗每月用的病菌都是在冰室中長期保存，並於應用時用不同批號培養基移植。這樣一來，有時細菌就產生了輕微的變異，因而影響了噬菌現象，出現了忽高忽低的情形。另外，B. H. Ноникова 氏<sup>(3)</sup>在測定傷寒噬菌體滴度時證明，用 Ашпельмин 氏方法測定噬菌體滴度是容易出現再生菌而降低滴度的。著者認為這恐怕也是一個使效價滴度忽高忽低的原因。

本試驗中看到的另一種情況是 678 批與 680 批制劑效價變化不一致。這一問題著者認為能否用製造日期不同，所使用菌種的代數不同來解釋？抑或各批制劑對溫度抵抗有差別？根據著者日常工作發現，縱然製法材料都同而滴度是不同的，對溫度的抵抗也略有差別。

關於不同溫度下放置與效期之關係，由於本文是一個初步報告，所獲材料又難以確切的說明這一問題，因此，本文不擬加以討論，待續報中述之。

## 小 結

一、在不同溫度下保存痢疾噬菌成品，效價滴度的變化是有區別的。冰室保存者效價滴度變化最輕，22°C 恆溫室，室溫次之，37°C 培育室放置者變化最大。

二、在測定的過程中，曾發現噬菌體的效價滴度的變動，有忽高忽低成波浪狀形式。

本文在技術上蒙高子珍、劉蘭君協助特此致謝

## 參 考 文 獻

1. 唐翼雪：微生物學報 5 卷 1 期 49 頁 57 年。
2. Крипский A. C.: Вопросы патогенеза и иммунологии вирусных инфекций. 1955, 249—266.
3. Ноникова В. Н.: Советское медицинское реферативное обозрение (Мик. инфек. Эпиде.) 1956, 21, 10 頁。

## 學習蘇聯法規試製多價痢疾噬菌體經驗總結

王世鵬 徐烈英 車繼樸

鑑於本所出品之噬菌體，僅含有福氏2a及志賀兩種成份，各佔50%。裂解範圍窄，其中尚缺少宋內及什密次兩種噬菌體。而目前國內流行情況，宋內痢疾的流行不斷上升，志賀痢疾逐漸下降，甚至絕跡。這就要求我們的製品，必須針對當前國內流行情況，適當的改善製品成份和適宜的含量，以適應治療和預防的需要。應特別及早解決加入宋內及什密次噬菌體。為此，我們曾從污水中進行分離。總共分離300多份污水，有70%左右可分出不同型的噬菌體（但効價不高，易出現再生菌）。但只分出2株合乎法規要求的什密次，志賀及1株福氏2a，1株福氏1a，1株福氏1b噬菌體。這些噬菌體，不用再生菌進行分型，澱解箱中培養18小時，經三角瓶傳代三代（因生產時從噬菌體母液到產品需傳三代），不降低其効價不出現再生菌合乎法規要求。但始終未分離出一株合乎法規要求的宋內噬菌體，於是便重新檢查1954年和1955年由蘇聯取來的2株宋內噬菌體。如按上述方法傳代不經分型，也不降低其効價和出現再生菌，合乎法規要求，於是便試製生產，茲將試製方法和結果簡述如下：

### 試製方法與結果

試製方法：根據目前國內痢疾菌型流行情況，確定福氏2a含50%，宋內30%，志賀和什密次各佔10%。福氏2a及志賀噬菌體，用日前出品檢定合格之噬菌體。僅製造宋內氏及什密次兩種，取不同量按上述比例混合測定効價有無影響。

另一組按上述比例混合培養，測定効價有無影響。

#### （一）噬菌體母液之製造：

先以 Appelman 氏法，測定經檢查合格的噬菌體効價。培養18小時，取其最高兩管混合58°30'加熱，培養第一代三角瓶。噬菌體量不超過0.2%，菌濃度0.5億/毫升。再由第一代三角瓶取噬菌體傳第二代三角瓶。培養時間均為18小時。以第二代三角瓶做為噬菌體母液。効價宋內 $10^{-7}$  什密次 $10^{-6}$  即為合格。結果如表一所列。

表 1. 測定宋內及什密次噬菌體母液効價

菌名 稱 號 價	宋 內 痢 疾 菌				什 密 次 痢 疾 菌				
	674	675	694	697	612	619	723	8	42
6 小 時	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-1}$	$10^{-8}$
18 小 時	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-3}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-8}$

(二) 產品試製：(按目前本所生產方法)其効價福氏  $10^{-8}$ ，志賀  $10^{-7}$  宋內  $10^{-6}$  什密次  $10^{-5}$  即合格。

I. 分別培養：各噬菌體分別與相應菌株培養，然後按上述比例混，福氏2a50%，宋內30%，志賀，什密次10%。結果如表二

表 2. 測定四種混合(福氏2a, 宋內, 志賀及什密次)多價噬菌體効價

菌株名稱 効價	福氏(2a) 痢 菌						志 賀 痢 菌					宋 內 痢 菌					什密次痢菌				
	49	126	209	655	683	687	2	14	48	105	575	198	674	675	677	694	697	612	619	723	8
6 小 時	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$
18 小 時	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$

II. 混合培養：取福氏，志賀，宋內及什密次四種噬菌體依 50%,30%10%,10% 的比例與相應菌株混合培養。以 4.5 立升大瓶肉湯培養時，噬菌體總量為 0.2%，菌濃度為 0.5 億/毫升。福氏2a噬菌體加入 4.5 毫升，宋內 2.5 毫升，志賀及什密次各 1 毫升。則菌濃度，福氏2a為 0.25 億/毫升，宋內 0.15 億/毫升，志賀及什密次 0.1 億/毫升，置 37°C 孵箱中混合培養 6 小時取出加 0.25% 石炭酸測定効價。結果如表三

表 3. 測定混合培養的四種多價噬菌體的効價

菌株名稱 効價	福氏(2a) 痢 菌				志賀痢菌		宋內痢菌			什密次痢菌		
	655	686	687	49	105	1682	675	694	697	619	723	42
6 小 時	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$
18 小 時	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$

### III. 安全試驗

- 1: 取小白鼠 5 隻經皮下注入 1 毫升噬菌體，觀察 4 天無一隻死亡。
- 2: 家兔 2 隻，耳靜脈注入 5 毫升，觀察一周無死亡和麻痺症狀。

## 討 論

噬菌體能裂解相應的菌株，但經較長時間培養(約12—15小時)便出現再生菌。這是我們幾年來在生產中易出廢品的主要原因。由於利用再生菌，將噬菌體分為 2—3 個型，按適宜比例混合培養可使効價穩定，不再出現再生菌。但國外不少學者，不主張利用再生菌進行生產。如捷克斯洛伐克專家，曾經指出：決不應利用出現再生菌的噬菌體進行生產。應選擇單個菌體透明斑，不出現再生菌的噬菌體。為此，我們曾分離 300 多份污水，僅分離出 7 株，如 18 小時培養連續傳代三代，不用再生菌分型方法，仍不降低其効價，也不出現再生菌。但如培養 6 小時，傳代時逐漸降低効價，並出現再生菌。

在檢查蘇聯 714 宋內噬菌體時也有同感，培養 18 小時傳三代不降低效價，也不出現再生菌。如培養 6 小時則否。在試驗中，也曾利用再生菌進行分型，未獲得成功，反而效價降低。如按捷克專家提出的選擇單個的大透明斑方法，也未成功。又曾利用通氣振盪法，豚鼠通過法也都告失敗。只有利用 18 小時培養的方法可使其效價穩定，其原因究屬如何，需詳細探討。

所分離出的什密次噬菌體，裂解範圍甚窄，只能裂解本室保存的什密次細菌 50%。是否在什密次細菌中，也像宋內那樣還分有若干噬菌體型，值得今後研究。

## 小 結

1. 試驗證明，將噬菌體以 18 小時培養之，雖曾多次傳代仍不降低其效價，也不出現再生菌。可用此法，進行生產，並可運用該法從自然界中分離裂解力強的噬菌體。
2. 在噬菌體的選擇上，應強調選種。不要盲目的只重提高效價，在選擇中，經 3—5 次通過，如仍未提高即可廢棄，不必浪費時間。
3. 將四種噬菌體與相應的細菌混合培養，不降低其效價，在其它方面也無影響。

## 痢疾傷寒及付傷寒乙噬菌體分離方法的研究(摘要)

司穉東 于智麗

作者們的試驗共分兩個部份：第一部份是分離污水中噬菌體的各種方法比較。所用方法為：1. 原標本不加任何處理，直接用蔡氏濾器過濾 2. 取標本 10—15 毫升加於 40 毫升肉湯中，在 37°C 溫箱中培養一夜，次日過濾，3. 取標本 10—15 毫升加於 40 毫升肉湯之同時，分別加入在瓊膠上培養 18 小時的，欲分離某種噬菌體的相應菌株的菌懸液 1 毫升，培養一夜，次日過濾。所用菌株為福氏菌，志賀氏菌，傷寒菌和副傷寒菌乙菌各一株。試驗結果，標本之直接過濾液，其檢出率不如在肉湯中培養後過濾者高而後者又不如在加入相應菌液而培養後再過濾者為高。作者們並就平板法和試管法做了比較，結果認為平板法的檢出率不獨較試管法為高，而且後法比較麻煩，每隔較短時間要作一次觀察否則裂解現象將因再生菌的發育，易被混過，同時如呈輕度不完全裂解時，有時結果不易判定。第二部份是過濾方法和不用過濾方法從大便中分離檢出率的比較。作者們用成年及小兒痢疾患者的糞便做了三組八種方法的比較試驗。試驗結果發現加入相應菌培養一夜的標本，其檢出率為最高，特別是懸液經加熱處理後 (58°C 30 分鐘) 最易檢出。作者們最後還比較了成形便、稀釋和膿血粘液樣便的檢出率，結果認為用成形便做成的懸液，加溫後直接檢查其檢出率遠較過濾後者為高，證明糞便的不可濾性成份對噬菌體的吸附作用。稀便也有這種現象但程度較成形便為弱，膿血粘液樣便雖用過濾法檢查，其檢出率仍甚高。

(摘自微生物學報 3:145—150, 1955)

## 1953—1955 年由東北地區分離的 89 株 傷寒桿菌的噬菌體型鑑定

董典順 劉春山

### 前 言

傷寒桿菌於 1880 年由 Eberth 氏<sup>(1)</sup>發現以後，Gaffky 氏<sup>(2)</sup>於 1884 年首先獲得了純培養，但當時學者對該菌無法進行分類。對傷寒桿菌的分類工作是由研究其抗原構造開始的，Felix 及 Olitzky 二氏於 1924—1929 年發表的關於傷寒、副傷寒菌類抗原構造的研究結果，對 O 和 H 抗原做了闡明(3.4)。1934 年 Felix 氏及 Pitt 氏對 vi 抗原又做了闡明(5.6)。此後 Kauffmann 及 White 二氏根據傷寒桿菌的不同抗原構造將其進行了分類(7.18)。再次之進展乃是 Craigie 氏(8)及共同事在研究 V 群傷寒菌時發現一株傷寒噬菌體，該噬菌體對 V 型菌株如 Rawlings、Watson、Ty2 及其他 V 型菌株均有溶菌作用，而對 W 型菌如 Ty8、Ty901 及其它 V 型菌株則不起溶菌作用。以後 Craigie 與 Brandon 二氏(9)更進一步的研究乃知 V 型菌起溶菌作用之噬菌體與 vi 抗原有關。氏等以 648 株傷寒菌與此種噬菌體進行試驗，結果對此種噬菌體有感受性的菌株均屬 V 型，而無一株型菌株。此種噬菌體即被稱為 vi 噬菌體。Craigie 氏及顏春暉氏(10)又對此種噬菌體進一步的加以研究比較，氏等以噬菌體的家兔免疫血清做中和試驗，乃將 vi 噬菌體分為 I、II、III、IV 等四個不同的血清型。Craigie 氏與顏氏(10)更發現此種 vi 噬菌體與其共同培養的噬菌體及其相同噬菌體型之菌株，有較高的選擇性溶菌能力，而第 II 型噬菌體尤為顯著。氏等發現此種現象後，乃用於 V 群傷寒菌的分型。

用 vi 噬菌體來分型，可將 V 群傷寒桿菌分為若干不同的噬菌體型。根據 1947 年 Craigie 氏及 Felix 氏之總結，共有 24 型及亞型(11)，到 1953 年又增至 33 型之多(12)根據最近文獻(20)記載，已增至 39 型，用噬菌體來進行分型，在流行病學的實際應用上有着重要的意義，可藉此來探尋疫病的傳染源及探求帶菌者與疫病發生的關係等，以便及時對傳染源加以管理和探制。

用噬菌體來進行傷寒桿菌的分型工作，在我國顏春暉氏(13)於 1938 年於北京首次應用。顏氏將 125 株傷寒桿菌進行了噬菌體分型，並發現了兩個新的型(P15、P16)。此後在我國此項工作便沒有充分的開展。近年來錢宇平氏(14.15)在這方面曾做了一些工作，唯因國內存有的分型用標準噬菌體殘缺不全，並且沒有製造機構來充分供應，致使此項工作不能很好的開展起來。

為了使此項工作在國內能充分的開展，並在試驗室方面打下一些基礎，我們將由匈牙利索取的 32 種分型用噬菌體與其相應的標準菌種進行了分型用噬菌體的製造，並將 1953—1955 本所由東北地區所收集的 89 株傷寒桿菌進行了分型，現將試驗結果報告如下。

## 一、材料及來源

第Ⅱ型傷寒 vi 噬菌體：系 1956 年由匈牙利贈給的，計 32 種。

被檢菌種：系 1953—1955 年本所方景燦醫師等由東北各主要城市收集的。計 89 株。內旅大市 72 株；瀋陽市 7 株；鞍山市 4 株；哈爾濱市 6 株。

## 二、方 法

分型方法基本上是按照 Craigie 氏與顏春暉氏(10)所介紹的方法進行的。

### (一) 噬菌體的製造

將標準菌種接種於中管普通瓊脂斜面上，於 37°C 解箱內培育 18—20 小時後，每管加入普通肉湯 4.5 毫升將培養物洗下，再將此洗下之培養物稀釋 10 倍使用。

取上述稀釋 10 倍的菌液 5 毫升，加入盛有 100 毫升普通肉湯之三角瓶內（使每毫升內約含 0.5 億菌體），再加入其相應的噬菌體 2 毫升放於 37°C 解箱內，6—8 小時後，肉湯便完全透明或稍有混濁，然後取出用濾器濾過，再分裝於滅菌之小瓶內備用。

### (二) 臨界濃度的測定

將上述濾過後的噬菌體按 10 倍稀釋法由  $10^{-1}$  稀釋至  $10^{-10}$ （稀釋時每個稀釋倍數換一支吸管）。再將每個稀釋倍數之噬菌體與其相應的菌株按下述“分型方法”一節中所敘述的方法，分別在瓊脂平板培養基上做溶菌試驗。其最大稀釋倍數尚能溶菌者，即為其臨界濃度。分型前，將其稀釋。

### (三) 分型試驗

將被檢菌株接種於中管普通瓊脂斜面上，於 37°C 培育 18—20 小時，然後進行血清學檢查，檢查其含有 vi 抗原，證明有 vi 抗原者用子分型。用於分型的菌株培養物加入普通肉湯 4—5 毫升將培養物洗下，再將此洗下之培養物用普通肉湯（或滅菌生理鹽水）稀釋至每毫升約含 15 億菌體之濃度使用。

用內徑 2.75 毫米之白金耳，取上述菌液塗於普通瓊脂平板上（平板培養基做好後要於 37°C 解箱內烘烤  $1\frac{1}{2}$  小時後使用），速塗 32 個，俟乾後，再用內徑 2 毫米之白金耳取分型用噬菌體分別加於各菌面積之中心。乾後，放於 37°C 解箱內，兩小時後取出放於冰箱內一夜，次日晨再放於 37°C 解箱內，4—6 小時取出觀察結果。

## 三、結果判斷

判斷結果的檢索表，系採用 1953 年國際噬菌體分型委員會所通過的（表 1）“傷寒桿菌噬菌體分型標準表”（12.19）來進行判斷的。

用噬菌體對 89 株傷寒桿菌分型的結果見表 2。由表中可以看出，共分出了十個型。A 型 19 株；D<sub>1</sub> 2 株 D<sub>2</sub> 29 株；D<sub>3</sub> 1 株；E<sub>1</sub> 5 株；E<sub>2</sub> 1 株；J 3 株；M 3 株；25 1 株及 31 型 2 株。2 株（旅傳 63 及旅傳 69）因溶菌不典型未確定其型別。另 21 株因不被任何噬菌體溶解而無法定型。

## 四、討 論

1. 這次分型工作，由於收集的菌種不多，很難對東北地區所流行的傷寒桿菌的噬菌體型做出確切的分析，但僅根據對 89 株傷寒桿菌的分型結果看來，常見的有 A、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>、E<sub>1</sub>、E<sub>2</sub>、J、M、25、31 等十個型。同時又看明顯的看出，最多的為 D<sub>1</sub> 型，共檢出 29 株，佔檢查菌株總數的 32.6%，其次為 A 型，共檢出 19 株，佔檢查菌株總數的 21.3%。根據這次的分型結果看來，我們初步認為 1953—1955 年，東北地區流行的傷寒桿菌的噬菌體型主要是 D<sub>1</sub> 及 A 型。

根據 Felix 氏 (19)1955 年的總結，世界各地所流行傷寒噬菌體型以 A 型為最常見的一種。1957 年錢宇平氏在北京所進行的分型結果看來，也是以 A 型為最多。而 D<sub>1</sub> 型只有印尼和德意志民主共和國較為常見，其他地區則均不常見。但根據我們這次分型的結果看來，在東北地區（主要是旅大）D<sub>1</sub> 型却是最常見的一種，其次為 A 型。這可能在每一地區有它流行的主要型別。這對流行病學的調查工作上，對追尋傳染源，提供了有力的線索。

2. 89 株傷寒桿菌中，尚有 23 株未有定型，其中 2 株（旅傳 63 及旅傳 96）因溶菌不典型而未判定其型別。另 21 株因不被任何噬菌體溶菌而無法定型。其中一部份菌株可能因失去 vi 抗原而不被噬菌體溶解。我們未獲得第 I 型 vi 噬菌體，因而不能用噬菌體來進行試驗菌株有無 vi 抗原的測定，我們是採用了血清學的辦法來進行了 vi 抗原的檢查，在 21 株不被任何噬菌體溶解的菌株中，確有一部份菌株失去了 vi 抗原。但還有一部份菌株經血清學檢查證明，確有 vi 抗原存在，但不被任何噬菌體溶解，這部份菌株我們分析可能為 H 型，因這次試驗中缺少 H 型標準噬菌體，或為新型，這尚待進一步研究。

3. 用 vi 噬菌體來做傷寒桿菌的分型，僅限含有 vi 抗原的菌株，但 vi 抗原很不穩定，如營養條件、溫度、保存時間等都對 vi 抗原有所影響，以至消失。故在未進行分型前應首先進行有無 vi 抗原的檢查。但我們目前尚未獲得第 I 型 vi 噬菌體，在未獲得以前，我們建議用血清學的辦法來代替。

4. 分型試驗中，所用平板培養基的乾燥程度與試驗結果的準確性有密切的關係。根據我們這次工作中的經驗，平板培養基於使用前，在 37°C 孵箱內並少要烘烤 1½ 小時或更長的時間方可使用，以要在塗上菌液和滴加噬菌體後能很快乾燥，不然經培養後所形成的溶菌環模糊不清而影響結果的判定。

5. 噬菌體分型的操作手續甚為煩雜，這給實際工作帶來很大的不便，因此可用數種噬菌體混合一起分為若干組來進行溶菌試驗。(17) 如果菌株被某一組噬菌體所溶解，再以其所含有的單型噬菌體進行溶菌試驗即可。至於如何混合，我們認為，應根據當地流行菌型的情況來考慮混合，例如常見的菌型可少幾種混合一組，不常見的可多幾種混合一組，在混合時應考慮到不影響各噬菌體的臨界濃度為限。

## 五、提 要

1. 對 1953—1955 年由東北地區所收集的 89 株傷寒桿菌進行了噬菌體型的鑑

表 1 傷寒桿菌的噬

V 型 菌 株	Vi 噬														
	A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>5</sub>	C	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	G
A	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL
B <sub>1</sub>	±s	CL	±s	±s	±s	-	-	-	±s	±m	±s	±s	±s	±s	±s
B <sub>2</sub>	±s	-	CL	-	-	-	-	±m	-	-	±m	-	±m	-	±m
B <sub>5</sub>	±n	-	±s	CLs	±s	±m	±m	-	-	-	±s	±s	±s	±m	±m
C	±s	±n	±n	±n	CL	±n	±m	±m	±m	±m	±n	±n	±n	±n	±n
D <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	CL	CL	CL	±m	±m	-	-	-	-	-
D <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	CL	-	-	-	-	-	-	-	-
D <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-	-	CL	-	-	-	-	-	-	-
D <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	CL	CL	-	-	-	-	-
D <sub>6</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CL	-	-	-	±m	-
E <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CL	CL	-	-	-
E <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CL	-	-	-
F <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CL	CL	-
F <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±n	CL
G	-	-	-	-	±n	-	-	-	-	-	-	-	-	±n	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±s	-	±n	±n	-
J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±n	-
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±m	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CL	-	-	-	CL	-
30	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-

註解: CL.....完全溶解  
 -.....不溶解  
 ±.....少數透明斑  
 +, ±, 卅.....透明斑之多少及溶解程度  
 n.....正常大小之透明斑  
 s.....小透明斑數  
 m.....小透明斑(以10×擴大鏡觀察)





定，共分 A、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>、E<sub>1</sub>、E<sub>2</sub>、J、M、25 出及 31 等十個型。並以 D<sub>2</sub> 及 A 型爲最多，D<sub>2</sub> 型佔檢查菌株總數的 32.6% A 型佔 21.3%。

2. 對噬菌體分型工作中的有關問題進行了討論。

### 參 考 文 獻

1. } 引自秦氏細菌學
2. }
3. Felix, A. Journ. immunologiei, 9:115, 1924.
4. Felix, A. and Olitzky: Journ. immunologiei, No. 1, VI, 1926.
5. Felix, A. and Pitt, R. M. J. Path. and Bact 38:409-420, 1934.
6. Felix, A. and Pitt, R. M. Lancet, 2:186-191, 1934.
7. Билибин, А. Ф. и Кал-Чернохвостова, Л. И. : Брюшной тиф и паратифю  
10. Москва, 1949.
8. Craigie J. J. Bact. 31:56, 1936.
9. Craigie J. and Brandon, K. F.: J. Path. Bact. 43:233, 1936.
10. Craigie J. and Yen. C. H. Canad. Pub. Health J. 29:448, 1938.
11. Craigie J. and Felix, A: Lancet, 1:822, 1947.
12. A. Felix (1955) In sixth International congress for microbiology, some,  
september, 1953.
13. Yen. C. H. Chinese M. J. 3:321, 1940.
14. 錢宇平: 中華新醫學報 2:806, 1951.
15. 錢宇平等: 中華衛生雜誌 4:283, 1956.
16. 引自 (12) 110 頁
17. Yen. C. H. Chinese, M. J. 57:330-357, 1940.
18. F. Kauffmann: Enterobacteriaceae, Copenhagen, 45-118, 1954.
19. A. Felix: Bulltin. W. H. O. 13:109-170, 1955.
20. Wilson, V. R. and Edwards, P. R: J. Infect. Dis. 100:—, 124, 1957.

## 鼠疫噬菌體的試製(摘要)

劉宗漢 王樞群 王克仁

根據實際需要，特試製鼠疫噬菌體。

製造方法如下：在 200 毫升肉湯中加入 24 小時培養之鼠疫菌苔 (Otten, EV 皆可) 1 白金耳 (約 2mg) 於 37°C 培養 24 小時，再加鼠疫噬菌體 0.5 毫升，振盪混合後，再於 37°C 培養 48 小時，每 24 小時觀察並振盪一次，俟細菌完全溶解 (約 48 小時後) 不混濁，瓶底無沉澱 (混濁、沉澱者廢棄)，將此清滲之噬菌體過濾後分裝於安瓶，於 37°C 放置 48 小時，無細菌發育透明清滲者為合格。

所試製之噬菌體之效價可達  $10^9$  以上，具有相當高的特異性。與本所保存之 18 株假性結核菌及 8 株出血性敗血症菌不起裂解作用，而與本所保存之 10 株鼠疫無毒菌，弱毒菌及中央檢定所保存之強毒菌皆有裂解作用。

由上可知，按上法可製出效價高且具有特異性之鼠疫噬菌體。

## 抗鼠疫噬菌體血清的試製

王樞群 王克仁

(大連生物制品研究所 第五室主任劉宗漢指導)

由保有鼠疫菌的嚙齒類動物或患者分離鼠疫菌時常呈陰性結果，其原因在很多情況下是鼠疫菌與其相應噬菌體同時存在，在分離時鼠疫菌被噬菌體裂解所致。這給防治鼠疫工作帶來了很大困難。因而解決此問題有着很重要的意義。

蘇聯在實際工作中已採用了抗鼠疫噬菌體血清，得到了良好的效果。我國雖尚未廣泛採用，但也注意到此問題，並且也已進行了一些研究。本報告為我們在 1954 年所試制的十批血清的檢定結果和保存 2 年後效價變化情況，以及其他某些研究結果。

### 實驗材料及方法

一、噬菌體種，由長春鼠疫防治所得到的特異鼠疫噬菌體，我們又用 Otten 株（鼠疫菌無毒株）重新製造，對新製品進行了特異性及效價的檢定。其效價以 Appleman 氏法測定達  $10^{10}$ — $10^{11}$ ，以瓊脂重層法測定為每毫升噬菌體能產生 6 億個蝕斑，其特異性亦很可靠，曾用 19 株假性結核菌及 8 株動物出血性敗血症菌檢查，結果此噬菌體均不能噬菌（陰性）；而用 10 株鼠疫菌檢查則均可噬菌（陽性）。

用於免疫家兔之抗原分為以下三種：

1. 普通噬菌體，即 Otten 株肉湯培養物的噬菌體裂解液；
2. 明礬沉澱噬菌體，取 10% 鉀明礬液，經滅菌後加入普通噬菌體內，使其最後明礬濃度為 1.0%。
3. 氯化鈣沉澱噬菌體，取 10% 氯化鈣溶液，經滅菌後加入普通噬菌體內，使其最終濃度為 1.0%。

以上抗原在製出後放冰室（4—6°C）保存。

二、菌種，本實驗均用無毒鼠疫菌種 Otten 株。

三、培養基，固體培養基均為含 0.05% 亞硫酸鈉瓊脂，液體培養基均為普通肉湯。

四、動物，體重 2—3 公斤之家兔及 15—20 克的小白鼠。

五、免疫方法，分為以下三法：

第一法，此法為根據蘇聯成書之記載，於家兔耳靜脈注射 6 次為一程，每次劑量遞增——0.6 毫升，1 毫升，2 毫升，4 毫升，6 毫升及 8 毫升，每次之間隔時間為 4 天，末次注射後 12—20 天試血或繼續進行下一程免疫。

第二法，此法為於家兔耳靜脈注射五次算一程，每次劑量遞增——1 毫升，2 毫升，4 毫升，6 毫升及 8 毫升，每次間隔時間為 48 小時，末次注射後 3 天試血或進行下一程免疫。

第三法，此法為家兔腦內注射法，每次注射 0.25 毫升，間隔 48 小時，注射 10 次為一程，末次注射後 3 天試血或繼續進行下一程免疫。

本試驗共免疫 15 只家兔，其中 5 只於中途死亡，其餘 10 只之免疫方法等列於表 1。每只家兔經全採血後做為一批血清，血清分為兩種保存方法，一為分裝安瓶後進行冷凍乾燥，真空封口保存；一為分裝安瓶後仍以液體狀態保存，但全部制品均保存於 4—6°C 冰室中。

表 1. 家兔之免疫方法，抗原種類及抗原量

動物號	免疫用抗原	注射途徑	免疫方法	抗原總量
3	普通噬菌體	耳靜脈	第二法 共 6 程	120(毫升)
6	"	"	第二法 共 13 程	273
7	"	"	"	"
8	"	"	第一法 共 5 程	108
9	"	"	"	"
11	明佩沉澱液菌體	"	第二法 共 8 程	168
13	氯化鈣沉澱液菌體	"	"	"
14	"	"	"	"
4	普通噬菌體	腦內	第三法 共 8.5 程	21.25
5	"	"	"	"

### 六、免疫血清之效價測定法：

基本上採用中和試驗法，即將噬菌體稀釋成每毫升含約 2000 個噬斑，分別加入數試管中，每支加入 1 毫升。再將血清以 2 倍階段稀釋法，從 10× 開始，繼續 20×, 40×, …, 163840×，視血清效價之高低取適當的數種稀釋倍數，各取 1 毫升分別加入上述含 1 毫升噬菌體的試管中。將噬菌體及血清之混合液放 36°C 2 小時使其中和。取出後加入 3 毫升菌液（濃度為 5 毫克/毫升）。混合後由其中取 0.5 毫升放在已澆好的亞硫酸鈉瓊脂平板上（平板應先保溫）共做 2 支平板，而後加入 2 毫升同樣瓊脂基（保溫在 45—50°C）共同混合。候凝固後，放 36°C 溫箱 5—6 小時計數每支平板上所出現的噬斑。另設一對照，即以肉湯代替血清，餘者皆同。

判定結果為取 2 支平板之平均噬斑數，按下式計算得出血清之某稀釋度之中和率，以中和率 50% 或近似 50% 者為準。

$$\frac{\text{對照平板噬斑數} - \text{實驗平板噬斑數}}{\text{對照平板噬斑數}} \times 100 = \text{中和率}$$

## 實 驗 結 果

### 一、免疫最終之中和效價及保存 2 年餘之重檢效價

10 只免疫家兔之血清效價檢定結果以及保存兩年餘之重檢結果均列於表 2，由其中可

看出第 3, 6及11批血清效價為最高, 近於 50% 中和率在 40960—81920× 稀釋度; 以第 5 批血清為最低——2560—5120× 稀釋度; 其餘均相似, 都在 10240—20480× 稀釋度。

此血清保存 2 年另 3 個月之久仍未改變效價, 基本上與最初效價一致。

表 2. 各批血清之中和效價 (附保存 2 年之重試結果)

血清批號	保存狀態	全採血後測定(1955年2—3月)								冰室保存2年餘測定(1957年6月)								
		血清稀釋倍數								對照	血清稀釋倍數							
		2560	5120	1024	2048	4096	8192	16384	2560		5120	1024	2048	4096	8192	16384		
4	乾燥	蝕斑數	2	22	82	101				184			27	134	282	318		384
		中和率%	99	88	<u>56</u>	<u>15</u>							82.8	<u>34.9</u>	20.6	17.0		
	液體	蝕斑數		21	63	116	125			119		15	102	192	279			350
		中和率%		80	<u>46</u>	3	<0					95.7	70.7	44.4	20.3			
5	乾燥	蝕斑數	16	87	135				188		68	206	239	344				384
		中和率%	92	<u>54</u>	28							82.1	<u>46.2</u>	30.7	10.4			
	液體	蝕斑數	41	96	118	129			145	49	167	229	241					324
		中和率%	<u>70</u>	<u>34</u>	26	11				84.9	<u>48.4</u>	29.3	22.4					
6	乾燥	蝕斑數			7	43	100		210			4	39	186	287			384
		中和率%			96	79	<u>52</u>					98.4	89.6	<u>51.4</u>	20.2			
	液體	蝕斑數			4	42	114	175	213		1	17	89	210				350
		中和率%			98	80	<u>46</u>	17			99.7	95.7	74.4	<u>40.0</u>				
7	乾燥	蝕斑數			31	117	167	199	233			3	16	69				130
		中和率%			85	<u>50</u>	28	14				97.5	86.2	<u>41.6</u>				
	液體	蝕斑數			1	22	91	137	213			88	220	292	391			324
		中和率%			99	89	<u>57</u>	35				72.5	<u>30.2</u>	9.7	<0			
8	乾燥	蝕斑數			16	79	139	161	135									
		中和率%			90	<u>49</u>	10	<0										
	液體	蝕斑數			30	89	149	144	207			57	157	263	317			324
		中和率%			86	<u>57</u>	28	25				80.2	<u>48.6</u>	18.0	2.1			
9	乾燥	蝕斑數			52	107	150	170	155		1	12	80	202				350
		中和率%			<u>66</u>	<u>31</u>	3	<0				99.7	96.3	77.1	<u>42.3</u>			
	液體	蝕斑數			39	141	184	234	213			62	185	319	340			324
		中和率%			<u>51</u>	<u>34</u>	14	<0				80.7	<u>42.2</u>	1.5	<0			

表 續

血清批號	保存狀態	全採血後測定(1955年2-3月)						冰室保存2年餘測定(1957年6月)									
		血清稀釋倍數			對照			血清稀釋倍數			對照						
		2560	5120	10240	20480	40960	81920	63840	2560	5120	10240	20480	40960	81920	63840		
11	干燥	蝕斑數			7	51	104	191	260				18	104	227	312	384
		中和率%			97	80	60	26					90.5	72.7	40.7	10.8	
	液體	蝕斑數			14	69	123	159	150				45	158	265	337	324
		中和率%			90	54	18	<0					80.6	50.1	10.8	<0	
13	干燥	蝕斑數		14	75	146		270			4	48	147			350	
		中和率%		95	72	46					98.8	86.1	58.0				
	液體	蝕斑數		16	74	123	166	150			34	179	241	343		324	
		中和率%		90	50	18	<0				80.9	40.4	20.4	<0			
14	干燥	蝕斑數	95	98	140	161		173									
		中和率%	80	43	29	7											
	液體	蝕斑數	10	61	115	154		184	41	129	230	326				384	
		中和率%	95	67	43	16			80.3	66.4	40.1	14.9					
3	液體	蝕斑數			38	74	104	155			7	75	191	295	384		
		中和率%			80	50	32				98	80.3	50.2	23.0			
觀察類別	液體	蝕斑數		73	109	144	158	174									
		中和率%		58	37	17	9										

※ 蘇聯副抗鼠疫噬菌體血清。為 Capaton "Muxpo6" 研究所出品，失效期為1952年12月。

## 二、應用此血清由動物體內分離帶有噬菌體的鼠疫菌

本實驗為將適當濃度的菌液及噬菌體混合後，儘快注射於小鼠尾靜脈。經過不同時間由動物體分離鼠疫菌及測定肝脾內含噬菌體之量。

共試驗了 12 只小鼠，其接種之物質、量、剖檢時間及結果等均列於表 3。由其中可看出用平板分離鼠疫菌時，平板上加有抗鼠疫噬菌體血清者為好，不出現任何噬菌情況，鼠疫菌發育得也很正常；但無血清者則不同，鼠疫菌雖然長出，但菌落菲薄，不正常，且有顯著的噬菌情況。將肝脾研碎後測定其溶菌價可看出保持足量的噬菌體。

表 3.

小白鼠號	接種物 (0.5毫升)	接種後 解剖 時間	分離鼠疫菌 (平板法)						分離噬菌體 (Appleman 氏定量法)									
			加抗血清 平板			未加血清 平板			分離 噬菌	處理	溶菌							
			菌生長	噬菌	菌生長	噬菌	菌生長	噬菌			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
1	0.8 億活菌 + 原噬菌體 0.1 毫升	2小時 25分	肝	+	-	+	+	肝脾	55°C 30'	混合	未處理	-	-	+	-	+	+	+

續 表

小白鼠號	接種物 (0.5毫升)	接種後 解剖 時間	分離鼠疫菌 (平板凝印法)					分離噬菌體 (Appleman 氏定量法)													
			分離 噬菌 體	加 血清 × 生長	血 凝 × 菌 生長	凝 血 × 菌 生長	未 加 血 清 × 菌 生長	分 離 噬 菌 體	處 理	對照											
										10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>		
2	0.8 億活菌 + 原噬菌體 0.1 毫升	2 小時 25 分	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	卅 卅	◎ 混合	55°C30' 未處理		—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
3	"	23 小時	肝 脾	數個 卅	— —	數個 卅	— +	"	未處理		—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
4	"	"	肝 脾	數個 卅	— —	數個 卅	— 卅	"	未處理		—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
5	0.8 億活菌 + 10 <sup>-8</sup> 噬菌體 0.1 毫升	3 小時	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	— —	"	55°C30' 未處理		—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	"	"	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	— +	"	55°C30' 未處理		—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	"	22 小時 20 分	肝 脾	數個 卅	— —	數個 卅	— +	"	未處理		—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
8	"	"	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	— +	"	未處理		—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	0.8 億活菌 + 10 <sup>-8</sup> 噬菌體 0.1 毫升	50 分	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	— —	"	55°C30' 未處理		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	"	"	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	— —	"	55°C30' 未處理		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	"	21 小時 20 分	肝 脾	10- 20個 卅	— —	10- 20個 卅	— —	"	未處理		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	"	"	肝 脾	卅 卅	— —	卅 卅	— —	"	未處理		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註：凝加抗血清平板均將動物臟器在平板上壓印後，加入 0.1 毫升 NOS 液體抗鼠疫菌噬菌體血清，以迄液稀混和塗抹。  
 ×表示菌生長情況，+=數+個，卅=百餘個，卅=不可數；  
 ◎表示噬菌程度，(—=無噬菌體；+=有噬菌體)  
 ◎將整個脾及部分肝，放於乳鉢內研碎(混有玻璃粉)，肝、脾重量在 1 克左右，將此全部放在 9 毫升肉湯中，此管做為 10<sup>-1</sup> 管，取其一部份加熱 55°C30'，以下按 10 稀釋下去，再向每管加入 2.5 毫 Otton 菌液。對照管只有 Otton 菌液及肉湯。其中"—"表示完全溶菌管。  
 ◎10<sup>-1</sup>，10<sup>-2</sup> 管因菌液懸液過濃，不能判定是否溶菌。



## 討 論

關於抗鼠疫噬菌體血清的製造及檢定標準至今見到的報告不多，似乎尚無一致意見。各家已用不同方法製出血清並用不同方法檢定了效價，均肯定了此血清的效果，認為是有廣泛應用的可能。

本實驗原目的是要探索一下用不同抗原及不同免疫方法製得之血清效價有何差別，從中找出適當的抗原及免疫方法。但因在免疫過程中由於作者出差未能在免疫各程測定效價，以及各方法使用的動物頭數有限，雖然各批血清的效價無大差別，亦不能就此下出用各種抗原和方法製得之血清效果無大差別的結論，尙有待進一步研究的必要。

在這次實驗中有機會得到蘇聯 Саратов “Микроб” 研究所出品的抗鼠疫噬菌體血清，在其安瓶上只載有失效日期——1952年 12 月，出品日期則不得見。我們也隨同本實驗做了檢定，結果其中和率在  $20480 \times$  稀釋度。因此血清係過期者，只可做一參考。

關於檢定方法，我們曾比較了數種。如將不同稀釋倍數的血清及噬菌體混合後放  $36^{\circ}\text{C}$  2 小時使之中和，再加入適量肉湯及菌液，繼續培養觀察其溶菌情況，以判定血清之效價；再如不同稀釋倍數血清與噬菌體混合中和後，取適量滴於已塗有鼠疫菌的平板基上，觀察蝕斑之出現情況以判定血清效價。用這些方法所得之結果都不規律，誤差較大。最後仍以本文所介紹的方法為最適。同時我們認為採用 50% 或其近似值中和率做為血清效價標準為好，因絕對數值（如 100% 噬菌體被中和）往往誤差較大。通過本實驗之多次檢定結果看來此方法是適合的，可以正確地表明血清效價之高低。

關於此血清的實際應用效果問題，我們在本實驗中只就 Otten 株做了檢查（如表 3），認為是可以保護鼠疫菌不受噬菌作用。但還需進一步用其它菌種（如強毒菌）進行研究。不過據此實驗可以看出，噬菌體通過動物體後在平板上的噬菌作用不如未通過動物者之強，因而在未加血清之平板上仍能長出鼠疫菌來，只不過不健康。至於此菌是否在傳代中被噬菌未進行觀察。

## 結 論

一、本實驗用 10 隻家兔分別使用了不同免疫方法及不同抗原製造了抗鼠疫菌噬菌體血清，其效價尚屬良好，大部對 100—300 個鼠疫噬菌體噬菌斑之近似 50% 中和率在  $10240$ — $20480 \times$  稀釋度，其最低者只有一批在  $2560$ — $5120 \times$  稀釋度，最高者在  $40960$ — $81920 \times$ 。

二、此血清用以分離含鼠疫噬菌體的鼠疫菌亦認為滿意，可以抑止噬菌體的噬菌作用。

三、血清在真空乾燥及液體狀態保存於冰室，經 2 年零 3 個月並不改變效價。乾燥保存及液體保存亦無甚差別。

## 一種改良的白喉毒素培養基 (摘要)

陳立予 劉士敏

爲了實際的需要，作者特應用 Martin 豬胃消化液，Hartly 牛心消化液，Pope-Smith 馬肉消化液及簡易牛（馬）肉消化液製造白喉產毒培養基。

上述四種材料，經實驗得出：以 Pope-Smith 馬肉消化液最佳，簡易馬肉消化液次之，牛肉消化液又次之，其他二種最差。作者鑒於馬肉材料制之注射液注入人體後易起過敏反應，且注入後連續注馬血清易發生危險，所以主張用牛肉消化液法。其制法如下：

先將牛肉（1公斤）去筋絞碎，並預備蒸餾水2公升加溫至90°C時將碎肉徐徐加入，隨加隨攪，全部加入後，再加0.8%無水碳酸鈉液2公升混合均勻，若溫度不超過55°C時即加入豬胰浸液80毫升攪勻放置50°C乾溫箱中24小時（最初每隔1—2時搖一次）取出濾去肉渣後按每公升7.5毫升量加入濃鹽酸混勻置蒸汽消毒鍋（不上磅）加溫30分鐘取出以蒸餾水補足損失量後濾過儲于冷室備用。

消化液制成後，按下法配制培養基：先以牛肉消化液1公升、蒸餾水1公升混勻，加蛋白胨20克，磷酸鈉2克，酸性磷酸鈣2克，待全部溶化後，加10%氯化鈉溶液2.5毫升，並以10當量苛性鈉修正pH至7.8。80°C水浴加溫30分，取出冷卻，以蒸餾水補足損失量，繼以濾紙濾過，並以每公升濾液中加入純制硫酸鎂0.2克，搖勻分裝消毒。每瓶（2.5公升白喉燒瓶）裝500毫升，以12磅高壓消毒20分鐘。

接種時，每500毫升上述培養基需加10毫升糖液。糖液的制法是：糖稀50克加水100毫升，再加氯化鈣0.5克，分裝消毒備用，消毒法同上。

按上述培養基屢次試驗，均得圓滿結果。並獲得下面若干事實。

1. 牛肉消化液作產毒培養基，合用與否與溫度有主要關係，消化前加溫以80—90°C最佳，消化溫度以50°C爲宜。
2. 牛肉消化液培養基含鹽量在3.0—4.6毫克/毫升之間可得良好結果，尤以3—4毫克/毫升間爲佳。
3. 糖稀含量與產毒結果因批號不同而有高低，通常在此培養基濃度1%左右較爲合適，過高過低都不相宜。

(摘自本所叢刊第一卷第一期)

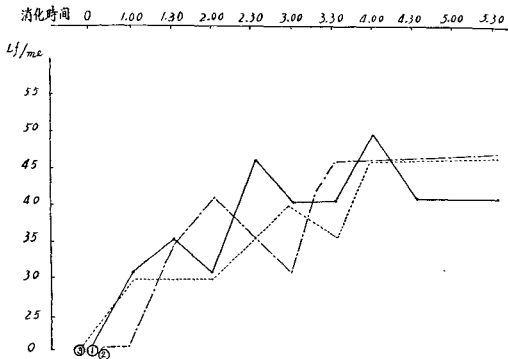
## 關於白喉毒素產生的實驗（摘要）

奧原廣治

### 一、胰酶消化培養基與毒素產生

牛胰凝乳消化後，總氮量及氨基氮量都有顯著的增加，據 Popc 和 Smich 二氏<sup>(1)</sup>的研究結果氨基氮量是直線增加着的。許多研究者們都認為利用胰酶消化牛肉培養基能夠顯著地增強白喉桿菌的毒素產生，真子<sup>(2)</sup>氏也曾利用胰酶消化牛肉培養基制得了相當強的毒素。著者仿效真子氏的消化法，用胰酶消化牛肉，進行產毒試驗，證明了以它能夠顯著地增強白喉桿菌的毒素產生並查明了毒素產生不穩定的原因的一部份。即是胰酶消化三小時以內的消化分解產物儘管對白喉桿菌毒素產生力有效但缺乏穩定性。消化三小時半以上時，其分解產物似乎適於毒素產生並且穩是，如第一圖。

第一圖 牛肉經胰蛋白酶消化時間與毒素產生



表中的數字是表示實驗例數。

將各消化肉水的總氮量按一小時消化時的標準都稀釋成 4.2mg/ml，然後進行了產毒實驗。

實驗表明，胰酶消化直到三小時對毒素產生還缺乏穩定性超過三小時以後始趨穩定。消化時間超過三小時半時，儘管把肉水稀釋很淡，毒素効价還是很高的。只要是消化超過三小時半，把總氮量及氨基氮量稀釋成同一濃度，毒素產生也是很好的。這可能是在於在消化三小時半以後其水解產物才發生功效。這樣的產物雖經稀釋很淡，但對白喉桿菌的發育、菌膜形成等還很有效，毒素効价還很高。消化時間短的產物雖然對菌體發育、菌膜形成及毒素產生等效果也很良好，但只是比較不穩定。

## 二、培養基總氮量與毒素產生

有關白喉毒素產生用培養基總氮量的研究尚屬較少。Pappeheiml 氏<sup>(3)</sup>應用簡單的氨基酸培養基（總氮含量為 0.7mg/ml），而 Mueller 氏<sup>(4)</sup>應用以酪蛋白水解物為氮源的培養基（總氮含量為 2.7mg/ml）能夠制得毒素，但缺少有關總氮量綜合性的研究。白喉桿菌產生毒素的波動性，其一部分原因可能要歸咎於培養基的總氮量。

著者根據實驗結果，認為不能僅以肉水中的總氮量做為培養基的總氮量，它還應該包括附加質如蛋白腺、‘糖稀’及酵母等物的氮和氨基氮。最適於白喉毒素產生的總氮量為 2—10mg/ml，毒素効价可達 150。以胰酶消化牛肉液和以胰酶消化豬胃液為基本材料時，前者的總氮量要比後者高。向消化液中加入附加質，經常保持培養基總氮量恒定，就能防止毒素產生的不穩定。

## 三、蛋白腺種類與毒素產生

著者應用 Carno、Myo、Poly、至誠堂、Witte、Proteose、Neo、Bacto、Chapateout、南興、極東及照內等 12 種蛋白腺進行了產毒比較試驗。結果是按培養基成分不同而有所差別。即胰酶消化豬胃培養基除照內蛋白腺，半合成培養基除極東、南興及照內等蛋白腺外其它都有効於毒素產生。一般都認為 Proteose、Chapateout 蛋白腺也很適於製造白喉毒素，而著者認為 Myo 及 Carno 蛋白腺也很適用；其它蛋白腺有的認為完全不適用，有的認為問題不大。從本實驗中可以看出，只要對培養基成分加以充分的探討，幾乎所有的蛋白腺都會適用於白喉毒素產生的。而在南興、極東蛋白腺的半合成培養基上未能出現絮狀反應，照內蛋白腺對任何種培養基都不適合。

在實驗中又曾為除鐵而向培養基中加入磷酸鈉及氯化鈣過濾一次。在這裡著者注意到各種蛋白腺經過這番處理後都能顯著地增強毒力。在本實驗中也體會到如果單獨地依靠某一種培養基或者僅以某種蛋白腺為最適用，這都是不合理的，當選擇蛋白腺時，要結合培養基成分來考慮。

## 四、培養基含鐵量與毒素產生

用豬胃消化培養基追試了 Mueller 氏培養基含鐵量的實驗結果，正如 Papponleina 氏所指出，證實了該培養基中的微量鐵對於毒素的產生起着決定性的作用。忽略了培養基中的微量鐵，在白喉毒素的產生上就會有很大困難的。

由培養基中除鐵時，加入磷酸鈉及氯化鈣，使鐵吸附於磷酸的沉澱中而除掉，如果每次都能很細心地操作，鐵就可以被除掉到差不多同一濃度的程度。

除鐵以後，在滅菌以前向培養基中加入硫酸鐵然後再滅菌，這樣會由於加熱而使按 Mueller 氏法所做的反應不明顯並且有很大變化和動搖，同時最適含鐵量的界限也隨着不明確起來或者最適範圍擴大起來了。如果在培養基滅菌後以無菌手續加入滅菌硫酸鐵，這就能解決上述缺點，最適範圍亦明顯起來了。含鐵量在 15—20r/ml 時產毒最強，若超出這個範圍，不論或多也不論或少，產毒結果都不好。這一點和 Pappenheimer 氏及 Muller 氏的成績大體一致，永井氏<sup>(7)</sup>曾記載說，用馬丁氏肉湯時含鐵愈少（10 r/40ml）產毒愈強，含色氨酸的培養基最好不含鐵。著者在本實驗中已經明確了胰海消化牛肉培養基的最適含鐵量。許多人雖然都認識到含鐵量的影響但又都處於熟視無睹的情況中。著者在這裡強調對於白喉毒素產生不能忽略培養基含鐵量的問題。向各種不同含鐵量的培養基中，加入 Mueller 氏第二液即重金屬鹽溶液使含鐵量達 20r/30ml 時，產毒得到突出的提高，這應該是值得重視的事實。Mueller 氏培養基必須含有重金屬鹽，而對於以肉水為主要材料的培養基似乎是重要，這必待今後進行研究。著者在本項研究中慎重地注意使培養基濾過後的含鐵量一定，這樣就能經常地製得 Lf40 以上的強毒素。

## 五、酵母及菌種與毒素產生

已經證實向培養基中加入酵母時，即能很明顯地促進白喉桿菌發育又能增強產毒。所用四種酵母結果均為良好，使用量 0.5% 時產毒最強。

關於菌種方面，使用各種培養基進行了實驗。按培養基成分之不同，成績顯然是有差別的。P. 8. T 株在消化豬胃及消化牛肉培養基上不論發育或產毒都不甚好，相互間的差別不大。而在馬丁氏改良培養基和半合成培養基上却有着很明顯的差別，前者對 P. W. 8 株不好，後者對 P. 8. T 株不好。Mueller 氏在合成培養基上用 P. 8. T 株製得了 Lf100 的毒素，因此不能僅以著者的實驗成績來下結論。這是因為培養基成分而產生的差別，並不能表示菌種本身的強弱問題。

## 六、糖的種類與毒素產生

白喉毒素製造用糖一般主要為麥芽糖。著者在本實驗中也證實了麥芽糖為佳，同時還證實了在白喉毒素製造中常用的‘糖稀’也不比麥芽糖遜色。培養基中的含糖濃度多為 0.5% 以下，而在本實驗中却得出以 1% 為最好的結果。Taylor 氏<sup>(8)</sup>以 1—2% Sierbeumann 氏<sup>(6)</sup>以 2% 為最適宜，這可能是適合於他們所用的培養基的，不能認為過多。本實驗也肯定了他們的研究結果，即是糖含量越多產毒愈好。‘糖稀’不論在任何種培養基上對於產毒來說都不次於麥芽糖，同時可以用簡單的設備自己製造，認為將來可以代替麥芽糖。

粗製麥芽糖，乳糖，分解乳糖，土木香粉，糊精，木質醣，葡萄糖，左旋糖及蔗糖等在含量 0.4—0.6% 以下還可以產毒但效價很低。

‘糖稀’和其它糖混用時，以分解乳糖為最好，在含量 0.05% 的培養基上可製得 Lf52.5 的毒素，土木香粉和乳糖也能由於與‘糖稀’混用而奏效；蔗糖，木質醣及糊精也有微效。但‘糖稀’與葡萄糖及左旋糖混用時則將阻止毒素產生。

### 七、豬胃消化液經胰酶再消化後的產毒情況

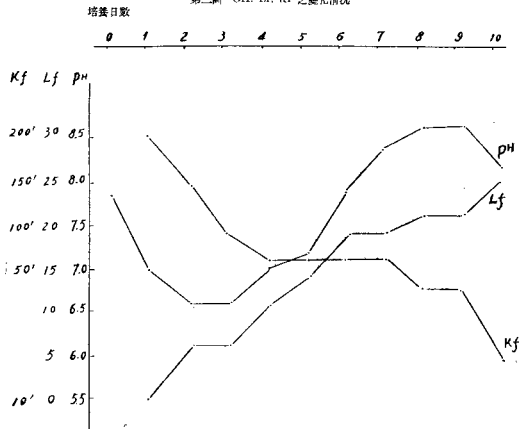
豬胃鹽酸水解液經胰酶再消化能獲得良好效果。豬胃鹽酸水解液在 37°C 下經胰酶消化七天最適於白喉桿菌的產毒。胰酶再消化並不能增加總氮量。氨基氮也只不過僅有少微的增加。然而對菌體發育、菌膜形成及毒素產生却很起作用。消化時間究應幾天尚不能肯定，然而消化七天似乎能保持產毒穩定。

各研究者所採用的消化方法各有不同，有的認為 37°C 好，有的認為 50°C 最適宜。由於時間不同，消化程度亦有差別。著者認為最適宜和最理想的強度應該是既能防止雜菌發育又有助於消化，因此採用了 50°C 消化一天的措施。在 pH 8.0 和 60°C 下消六小時半者能製得 Lf45 的毒素。

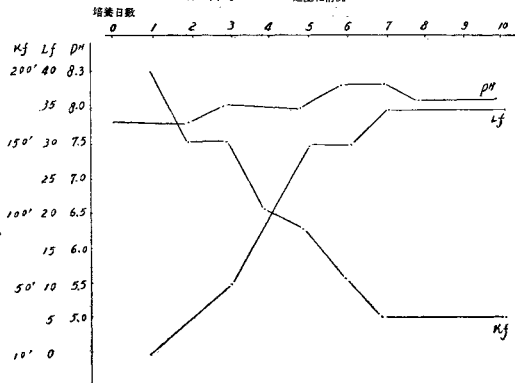
### 八、培養液的 pH 變化，培養基的擺放對發育的影響

一般在培養後 72 小時以內 pH 變化很大，趨於酸性，以後則轉向鹼性。這段時間可能就是細菌的增殖旺盛期。如第二圖所示，在增殖期的初期 pH 下降，以後逐漸上升，同時毒素產生也隨着平行提高。一旦達 pH 8.5 以上時，毒素驟轉緩慢而一旦降至 pH 8.2 時，則產毒激增，同時絮狀反應出現時間也隨着大大縮短。

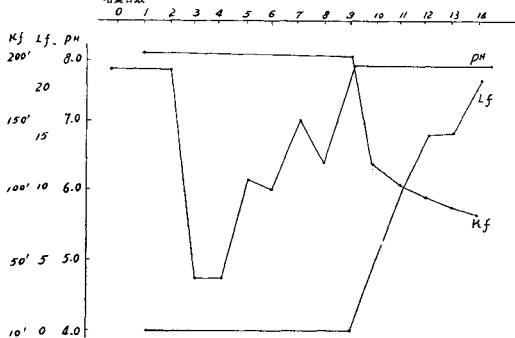
第二圖 OH, Lf, Kf 之變化情況



第三圖 pH, Lf, Kf 之變化情況



第四圖 培養基 pH 變化和毒菌產生的情況



第三圖所示的情況則完全不同，發育初期並沒有 pH 下降的情形，在第三天 pH 增高，在第六天 pH 再增高，第八天略有下降，回復到起始 pH。在此期間，Lf 價繼續上升，第七天達最高峰，以後則保持平穩而反應出現時間與此成反比繼續縮短，第七天後保持平穩。

培養基的酸鹼反應由培養初期就開始轉向鹼性時毒素的產生似乎較早結束，受 pH 的影響較大。第七天以後 pH，Lf 和 Kf 三者成爲平行關係，由於這樣產生的毒素較爲穩定，因而亦就不易減弱。

第四圖是 pH 變化特別懸殊的例子，這是我們常常遇到的經驗。這種猛烈的下降和偏向強交性的變化致使培養基面上的菌膜下沉，菌體處於活動停止的狀態中，用肉眼已經見不到菌體增殖的變化。這是因爲糖的過剩或者是因爲在菌體增殖的初期糖的分解作用過強所致還不明瞭。同一批培養基中每個培養瓶的 pH，Lf 及 Kf 也往往不同。這也可能與培養基本身有關係，但也常常與細菌本身有關。雖然由於糖過剩而使 pH 能够在第九天復原，這就說明其因素在於細菌本身。第九天後 pH 才開始穩定，回復到起始的水平。在這種激劇的 pH 變動期內毒素完全無絮狀反應效價。轉爲鹼性後第二天毒素效價才能達到 Lf<sub>5</sub>，以後繼續上升，到第十四天能達到 Lf<sub>20</sub>，Kf 很緩慢地逐漸縮短。

其次關於培養基製造後在室溫中擺放對白喉桿菌發育的影響未曾見到有人報告。培養基在剛滅菌後即時放冷至 37°C 左右接種細菌，這樣就能使細菌發育良好。放置室溫就會使發育不良，放置冷室中並不發生任何影響。但是對毒素產生任何處理方法都不發生影響。

### 參 考 文 獻

- (1) Pope and Smith, J. of Path. Bact., 55, 572, 1932.
- (2) 眞子憲治, 未發表
- (3) Pappeneimer, A. M., Brit. J. Exptl. Path., XVII, 342, 1936
- (4) Mueller, J. and Miller, P.A., J. of Immunol., 40, 21, 1941
- (5) Taylor, Ann. Inst. Pasteur, 55. 474, 1935.
- (6) Sierbeumann. J. of path. and Bact., 34. 261, 1936
- (7) 永井: 實驗醫學雜誌, 28, 26, 1942.



## 破傷風產毒中肉渣廢料的應用 (摘要)

陳立予 劉士敏

作者本着提高質量減低成本的原則，特應用本所製肉浸液之肉渣廢料製成破傷風產毒培養基——肉渣消化培養基。其成份有：肉渣消化液（肉渣 10 公斤，豬胃 2 公斤、水 40 公升、濃鹽酸 0.36 公升）20 立升，肉浸液（牛肉 20 公斤、水 20 立升）10 立升，自來水 10 立升，肉膏 40 克，食鹽 120 克、醋酸鈉 120 克、pH7.6, 100°C 平壓滅菌二次；每次一小時。

該培養基主要原料係廢物利用，且純屬國產之普通低廉化學品，培養時間縮短 2—3 天，故成本大大降低；將主要原料與肉浸液基比較，可降低 5 倍，若將產毒單位計算在內，可降低 16 倍。該培養基十分穩定，產毒力高，連續試驗 8 次，獲得小白鼠單位 240,000 以上，而肉浸液基僅 70,000，胃消化液基僅 110,000，牛肉消化液僅 160,000。此外肉渣消化液還可提高肉浸液的使用價值。

(摘自本所彙刊一卷三期)

## 製備破傷風毒素培育過程中的產氣現象 (摘要)

陳立予 劉士敏

作者過去製備破傷風桿菌之培育時日，雖因培養基種類不同而有長短，但常都在 7 天以上，甚至 20 天以上，事先似有其固定性。一經培育期滿，即行取出檢定。此間日籍技師從事破傷風工作有年，係用酸性肉水培養培製毒，其中不含還原劑，亦不外加肉渣。培育時間長短，主以培育過程中觀察產氣現象決定，作者鑒於此種現象的應用在我國似未前見，故以實驗情況作一報導。

將已接種破傷風桿菌之培養瓶，置 36—37°C 培育 16 小時後即開始觀察，每天上午下午各一次，直至產氣現象停止或接近消失，立即取出檢定。觀察時取電筒放在培養瓶頸段用眼光綫通過處觀察培養液內有無氣泡上升及附着表面的情形。

在試驗中未證明產氣現象可以掌握獲得高單位毒素。產氣現象在加肉渣培養基完全不適用。但因作者試驗次數不多，尚不能得出最後的結論，願以科學問題提出研討。

(摘自本所彙刊一卷三期)

## 大量製造破傷風毒素的研究 (摘要)

奧原廣治

作者在製造破傷風預防液和治療血清時，試用簡單之培養基製造毒素，因其毒性很強且適與大量製造，故就其要點加以報導。

所用培養基有二；1) Poly 蛋白胨 1.5%，醋酸鈉 0.3%，氯化鈣 0.01%，食鹽 0.5% 肉膏 0.1% 菸鹼酸 0.001% 加 2 倍稀釋之牛肉湯製成。2) Poly 蛋白胨 2.0%，肉膏 0.1%，氯化鈣 0.01% 食鹽 0.5% 醋酸鈉 0.3%，菸鹼酸 0.001%，加 5 倍稀釋牛肉水製成。以上二培養基之 pH 皆為 6.2。可任擇用之。

接種後 37°C 13—24 小時培養，其發育達高點，此時並有大量氣體產生。毒素之產生於產氣停止後很迅速的增加，至 48—72 小時達最高點，以後逐漸減弱。

作者以 48—72 小時內培養能得到 200,000—400,000 最小致死量的毒素。

(摘自本所彙刊一卷三期)

## 用兩株破傷風桿菌製成的毒素及 類毒素進行比較生物學檢定的報告

劉 仁 文

### 前 言

本所於 1954 年按上海生物製品研究所製造破傷風產毒培養基的處方<sup>(1)</sup>製成了數批培養基。每批培養基分別接種多倫多 (Toronto) (1953 年來自上海生物製品研究所) 菌株和大連 #47 菌株 (Haffkine 或破方) (1949 年來自中央生物製品研究所)。從這數批培養基之產毒情況來看，對小白鼠最小致死量，以大連 #47 菌株產毒力為最強，和由多倫多製成後的毒素毒性相差過分懸殊。本報告的 NO25 批即屬其中之一。我們為了進一步查明兩菌株的毒素及類毒素在生物學檢定方面究竟有何差異，乃進行如下的比較試驗。現將試驗結果報告如下：

### 試 驗 材 料

1. 毒素及類毒素：按上海所 (泰氏) 處方配製一批培養基，在接種前分成 NO 25A 和 NO 25 B 兩亞批。分別於 No 25 A 接種多倫多菌株，於 NO 25 B 接種大連 #47 菌株。培養結果 NO 25 A 菌液用小白鼠測定最小致死量相當於 80 萬 MLD/毫升，NO 25 B 菌液用小白鼠測定最小致死量相當於 1000 萬 MLD/毫升。NO 25 A 及 NO 25 B 菌液各取一部分除菌過濾後，每升加 700 克硫酸銨陸續攪拌，使硫酸銨達到飽和為止。靜置一夜，取浮游物進行真空乾燥製成乾毒備用。其餘一部分 NO 25 A 及 NO 25 B 原培養菌液加 0.4% 福馬林。37°C 溫室脫毒 21 天後，除菌過濾，加 1% 明礬製成明礬沉澱類毒素作為抗原。

2. 破傷風標準抗毒素：價聯標準破傷風抗毒素 42 批，原效價 4AE/毫升，丹麥標準破傷風抗毒素 38 批，原效價 5AE/毫升。

3. 四個所出品破傷風抗毒素及所用菌種：在中央生物製品檢定所的幫助下獲得了上海生物製品研究所出品的濃製及精製破傷風抗毒素 (NO 439—3 菌種系多倫多菌株)，中央生物製品研究所出品的精製破傷風抗毒素 NO 5318 菌種系破方株，很少一部用印度 Haffkine 株)，長春生物製品研究所出品的精製破傷風抗毒素 (NO 1—1 菌種系多倫多菌株)，中南生物製品研究所出品的原製破傷風抗毒素 (NO 013—3 菌種系 Pease 及大連 #47 株)。

### 試驗方法及結果

(1) 乾燥毒素最小致死量的測定：

方法：1. 用小白鼠、豚鼠和家兔分別進行。取體重 16—18 克的小白鼠，於後肢皮

下注射 0.5 毫升，每一劑量用 4 隻小白鼠，觀察 4 天，取 50% 的死亡劑量。

2. 取體重 350—400 克的健康豚鼠，於後肢皮下注射 1 毫升，每一劑量用 4 隻豚鼠，觀察 4 天，取 50% 死亡劑量。

3. 取體重 1800—2000 克的健康家兔，注射耳靜脈，注射劑量 1 毫升每一劑量用 2 隻家兔，觀察 4 天，取 50% 致死劑量。

4. 毒素試驗量。試驗標位：L+10。結合條件：37°C 60 分鐘，試驗動物：16—18 克小白鼠。注射途徑：尾靜脈。注射量：0.4 毫升。

結果：

乾燥破傷風毒素 NO 25 A 是用 NO 25 A 培養濾液加 70% 飽和度的硫酸銨沉澱製成。小白鼠最小致死量 1200 萬/克。豚鼠最小致死量 350 萬/克。家兔最小致死量 1.5 毫克。 $5 \times L + 10 = 0.52$  毫克。

乾燥破傷風毒素 NO 25 B 是用 NO 25 B 培養濾液加 70% 硫酸銨製成，小白鼠最小致死量是 3200 萬/克，豚鼠最小致死量是 800 萬/克，家兔最小致死量是 1/15 毫克。 $5 \times L + 10 = 0.36$  毫克。

表 1: 乾燥毒素最小致死量測定結果

NO 25 A	家兔	豚鼠	小白鼠	$5 \times L + 10$
	1.5 毫克	$\frac{1}{3500}$ 毫克	$\frac{1}{12000}$ 毫克	0.52 毫克
NO 25 B	$\frac{1}{15}$ 毫克	$\frac{1}{8000}$ 毫克	$\frac{1}{32000}$ 毫克	0.36 毫克

由上表得知：乾燥毒素和液體毒素一樣，NO 25 B 毒素毒力較強。NO 25 B 大於 NO 25 A，小白鼠相當於 2.6 倍，豚鼠相當於 2.3 倍，家兔相當於 20 倍。

### (2) 類毒素結合力的測定

方法：按臺灣法規方法：

結果：NO 25 A 類毒素為 45EC/cc，NO 25 B 類毒素等於 40EC/cc。

### (3) 類毒素免疫力的測定

方法及結果

表 2: 類毒素 NO 25 A 血清效價結果

動物號數	體重(克)	抗原注射			注射後體重		結果	平均效價
		日期	劑量	途徑	21' x	4' x 1		
1	510	11' x	0.5cc	皮下	560	600	= 0.7 <sub>M</sub> /cc	平均 0.69 <sub>M</sub> /cc
2	410	11' x	0.5cc	"	500	500	= 1.5 <sub>M</sub> /cc	
3	450	11' x	0.5cc	"	490	560	= 1.0 <sub>M</sub> /cc	
4	455	11' x	0.5cc	"	500	560	= 0.5 <sub>M</sub> /cc	
5	500	11' x	0.5cc	"	540	570	= 0.7 <sub>M</sub> /cc	
6	500	11' x	0.5cc	"	550	620	= 0.5 <sub>M</sub> /cc	
7	450	11' x	0.5cc	"	470	560	= 0.5 <sub>M</sub> /cc	
8	480	11' x	0.5cc	"	550	615	= 1.0 <sub>M</sub> /cc	
9	460	11' x	0.5cc	"	480	500	= 0.5 <sub>M</sub> /cc	
10	500	11' x	0.5cc	"	550	615	< 0.4 <sub>M</sub> /cc	

表 3: 類毒素 NO 25 B 血清效價結果

動物合	號數	體重	抗原注射			注射後體重		箱 果	平 均
			B 期	劑 量	途 徑	21 ×	4 × 1		
1	435	11' ×	0.5cc	皮 下	500	530	=1.0M/cc	平 均 1.05M cc	
2	495	11' ×	0.5cc	"	530	590	=1.0M cc		
3	430	11' ×	0.5cc	"	500	545	=1.0M/cc		
4	450	11' ×	0.5cc	"	540	540	=2.0M/cc		
5	480	11' ×	0.5cc	"	500	535	=0.1M/cc		
6	460	11' ×	0.5cc	"	520	545	=1.0M/cc		
7	470	11' ×	0.5cc	"	320	550	=1.0M/cc		
8	465	11' ×	0.5cc	"	520	550	=3.0M/cc		
9	440	11' ×	0.5cc	"	510	550	<0.1M/cc		
10	475	11' ×	0.5cc	"	510	545	=0.5M/cc		

由上得知：類毒素NO25 A 的結合效力效價高於 NO 25 B 的結合效力效價。從免疫豬鼠血清效價來看 NO 25 A 其效價在 1M/毫升以上者佔 30%，平均效價為 0.69M/毫升。而 NO 25 B 效價在 1M/毫升以上者佔 70%，平均效價為 1.05M/毫升。類毒素 NO 25 B 較 NO 25 A 免疫血清效價高。

(4) 以結合單位不同的類毒素做成明礬沉澱類毒素進行免疫力的測定。

方法：將類毒素 NO 5 B (40EC 毫升) 稀釋成 30EC/毫升，20EC/毫升，10EC/毫升，加入 1% 鉀明礬製成明礬沉澱類毒素。各注射 10 隻豚鼠，經 30 天後採血測定血清效價。

由表 4 得知：稀釋成 30 單位者免疫豚鼠血清效價最低者為 0.25M/cc 佔免疫動物的 40%，最高者為 1.0M/cc，佔 10%，平均為 0.412M/cc。稀釋成 20 單位者，免疫豚鼠血清效價最低者為 <0.25M/cc，佔 50% 最高者佔為 0.5M/cc，佔 10%，平均為 0.15M/cc，稀釋成 10 單位者，免疫豚鼠血清效價，最低者為 <0.05M/cc，佔 20%，最高者為 0.5M/cc，佔 10%，平均效價為 0.172M/cc。

因此免疫豚鼠血清效價與類毒素結合效價兩者基本上是平行的。

(5) 以乾燥毒素測定國際標抗及蘇聯標抗的結果。

方法及結果

標準血清：用中央生物制品檢定所 0009 批原效價 4AE/毫升，蘇聯第 42 批，原效價 4AE/毫升，丹麥 TE38 批，原效價 5AE/毫升。

試驗標位：L+/10，結合條件：37°C60 分鐘。

試驗動物：16—18 克小白鼠。

注射量：0.4 毫升。注射途徑：尾靜脈。

試驗結果如下表：

表 4. 類毒素 NO 25 B 稀釋成數個不同稀釋單位兔疫豚鼠血清效價

稀釋成 30EC/毫升				稀釋成 20EC/毫升				稀釋成 10EC/毫升				
動物 號	抗原注射 日期	注射後 體重 g	結果 10 × 1 採血	動物 體重	抗原注射 日期	注射後 體重 g	結果 10 × 1 採血	動物 體重	抗原注射 日期	注射後 體重 g	結果 10 × 1 採血	平均 單位
1	500 11/ × 0.5cc	皮下	=0.25 <sub>M</sub> /cc	440 11/ × 0.5cc	皮下	500 300	=0.25 <sub>M</sub> /cc	425 11 × 0.5cc	皮下	460 515	<0.172 <sub>M</sub> /cc	
2	420 11/ × 0.5cc	"	<0.25 <sub>M</sub> /cc	440 11/ × 0.5cc	"	470 500	<0.25 <sub>M</sub> /cc	475 11/ × 0.5cc	"	530 575	=0.25 <sub>M</sub> /cc	
3	430 11/ × 0.5cc	"	=0.5 <sub>M</sub> /cc	470 11/ × 0.5cc	"	530 620	=0.5 <sub>M</sub> /cc	520 11 × 0.5cc	"	500 615	<0.05 <sub>M</sub> /cc	0.172 <sub>M</sub> /cc
4	450 11/ × 0.5cc	"	=0.75 <sub>M</sub> /cc	475 11/ × 0.5cc	"	530 500	<0.25 <sub>M</sub> /cc	480 11 × 0.5cc	"	510 540	=0.12 <sub>M</sub> /cc	
5	450 11/ × 0.5cc	"	<0.25 <sub>M</sub> /cc	400 11/ × 0.5cc	"	530 540	<0.25 <sub>M</sub> /cc	475 11 × 0.5cc	"	540 580	=0.12 <sub>M</sub> /cc	
6	410 11/ × 0.5cc	"	=0.5 <sub>M</sub> /cc	480 11/ × 0.5cc	"	560 565	=0.25 <sub>M</sub> /cc	500 11/ × 0.5cc	"	565 620	=0.5 <sub>M</sub> /cc	
7	500 11/ × 0.5cc	"	=0.37 <sub>M</sub> /cc	460 11/ × 0.5cc	"	570 580	=0.25 <sub>M</sub> /cc	460 11/ × 0.5cc	"	500 545	=0.12 <sub>M</sub> /cc	
8	405 11/ × 0.5cc	"	=0.25 <sub>M</sub> /cc	420 11/ × 0.5cc	"	520 560	=0.25 <sub>M</sub> /cc	490 11/ × 0.5cc	"	500 520	=0.37 <sub>M</sub> /cc	
9	460 11/ × 0.5cc	"	=0.5 <sub>M</sub> /cc	470 11/ × 0.5cc	"	530 610	<0.25 <sub>M</sub> /cc	465 11/ × 0.5cc	"	500 580	=0.12 <sub>M</sub> /cc	
10	460 11/ × 0.5cc	"	=1.0 <sub>M</sub> /cc	440 11/ × 0.5cc	"	455 540	<0.25 <sub>M</sub> /cc	450 11/ × 0.5cc	"	520 535	=0.12 <sub>M</sub> /cc	

表 5 親和力試驗

乾燥破傷風毒素 NO 25 A																						
管 號	毒 素		丹麥標抗			緩 沖 液	結 果				管 號	毒 素		中檢所標抗			緩 沖 液	結 果				
	濃 度	用 量	稀 釋	用 量	單 位		24	48	72	96		濃 度	用 量	稀 釋	用 量	單 位		24	48	72	96	
1	4mg/cc	0.13	11	1.0	5.5	0.87		T	½	½		1	4mg/cc	0.13	9	1.0	4.5	0.87		T	½	½
2	4mg/cc	0.13	10	1.0	5.0	0.87		t	½	½		2	4mg/cc	0.13	8	1.0	4.0	0.87		±	T	½
3	4mg/cc	0.13	9	1.0	4.5	0.87		—		t		3	4mg/cc	0.13	7	1.0	3.5	0.87		—		t

乾燥破傷風毒素 NO 25 B																						
管 號	毒 素		丹麥標抗			緩 沖 液	結 果				管 號	毒 素		中檢所標抗			緩 沖 液	結 果				
	濃 度	用 量	稀 釋	用 量	單 位		24	48	72	96		濃 度	用 量	稀 釋	用 量	單 位		24	48	72	96	
1	4mg/cc	0.09	9	1.0	4.5	0.91		T	½	½		1	4mg/cc	0.09	9	1.0	4.5	0.91		T	½	½
2	4mg/cc	0.09	8	1.0	4.0	0.91		t	T	½		2	4mg/cc	0.09	8	1.0	4.0	0.91		t	T	½
3	4mg/cc	0.09	7	1.0	3.5	0.91		—	t	t		3	4mg/cc	0.09	7	1.0	3.5	0.91		—	t	t

註：“—”陰性反應  
 ± 疑陽性  
 t 後肢運動少數不靈活  
 tt 後肢呈典型破傷風症狀  
 T 全身呈典型破傷風症狀  
 TT 全身呈典型破傷風致影響運動  
 TTT 全身呈典型破傷風致擊近頸死期

由上表得知：兩個不同菌株製成之乾燥毒素，對丹麥標準抗毒素之親和力，用中檢所標準抗毒素作對照來看，No. 25 A 乾燥毒素比 No 25 B 乾燥毒素之親和力強。

表 6.

乾燥破傷風毒素 NO 25 A																						
管 號	毒 素		蘇聯標抗			緩 沖 液	結 果				管 號	毒 素		中檢所標抗			緩 沖 液	結 果				
	濃 度	用 量	稀 釋	用 量	單 位		24	48	72	96		120	濃 度	用 量	稀 釋	用 量		單 位	24	48	72	96
1	4mg/cc	0.13	8	1.1	3.63	0.77		½	½	½		1	4mg/cc	0.13	8	0.9	0.97		T	½	½	½
2	4mg/cc	0.13	8	1.2	3.33	0.67		½	½	½		2	4mg/cc	0.13	8	1.0	0.67		t	T	½	½
3	4mg/cc	0.13	8	1.3	3.07	0.57		t	T	rrr		3	4mg/cc	0.13	8	1.1	0.77		—	±	t	tt

乾燥破傷風毒素 NO 25 B																						
管 號	毒 素		蘇聯標抗			緩 沖 液	結 果				管 號	毒 素		中檢所標抗			緩 沖 液	結 果				
	濃 度	用 量	稀 釋	用 量	單 位		24	48	72	96		120	濃 度	用 量	稀 釋	用 量		單 位	24	48	72	96
1	4mg/cc	0.09	8	1.1	3.68	0.81		½	½	½		1	4mg/cc	0.09	8	0.9	1.01		rr	½	½	½
2	4mg/cc	0.09	8	1.2	3.33	0.71		t	T	½		2	4mg/cc	0.09	8	1.0	0.91		t	T	rr	½
3	4mg/cc	0.09	8	1.3	3.07	0.61		—	±	t		3	4mg/cc	0.09	8	1.1	0.81		—	t	t	t

由上表得知：兩個不同菌株制成之乾燥毒素，對蘇聯標準抗毒素之親和力來看，在中檢所標準抗毒素作對照，NO 25 B 乾燥毒素比 NO 25 A 乾燥毒素之親和力強。

總觀上兩表之結果，兩菌株所制成之乾燥破傷風毒素，以 NO 25 A 毒素和丹麥標準抗毒素之親和力較強，而和蘇聯之標準抗毒素之親和力則較弱。NO 25 B 毒素則反是，對丹麥標準抗毒素之親和力較弱，對蘇聯標準抗毒素之親和力較強。

(6) 出品血清的檢定

我們用了 4 個所各一批抗毒素作親和力比較試驗，現將試驗結果彙總如下：

方 法

用乾燥破傷風毒素 NO25A (多倫多株) 及乾燥破傷風毒素 NO25B (大連 47株) 作為標準毒素來測定上述各生物制品研究所出品的抗毒素效價，

(1) 上海生物制品研究所出品的精制破傷風抗毒素 NO 439—3 效價測定結果如下：

- 標準血清：中檢所 #12, 4 單位/毫升
- 試驗動物：16—18 克小白鼠，
- 注射途徑：尾靜脈，注射量：0.4 毫升，
- 結合條件：37°C 60 分鐘，
- 標準毒素：乾燥破傷風毒素 NO 25 A,

$$5 \times 1. + /10 = 0.52 \text{ 毫升}$$

表 1.

試 驗 組	標 準 毒 素		439-3 抗 毒 素			緩 沖 液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
組	4mg cc	0.13	2000	1.0	1000	0.87			TTT	5%
	4mg cc	0.13	1800	1.0	900	0.87				T
	4mg cc	0.13	1600	1.0	800	0.87				tt
	4mg cc	0.13	1400	1.0	700	0.87				t
	4mg cc	0.13	1200	1.0	600	0.87				-
	對 照 組	標 準 毒 素		標 抗			緩 沖 液	結 果		
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位	24		48	72	96
組	4mg cc	0.13	8	1.0		0.87			5%	5%



表 2. 標準毒素: 乾燥破傷風毒素 NO 25 B

$$5 \times L + /10 = 0.36 \text{ 毫克}$$

試	標準毒素		439-3 抗毒素			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
驗 組	4mg/cc	0.09	2000	1.0	1000	0.91		½	¾	¾
	4mg/cc	0.09	1800	1.0	900	0.91		½	¾	¾
	4mg/cc	0.09	1600	1.0	800	0.91			¾	¾
	4mg/cc	0.09	1400	1.0	700	0.91			T	T
	4mg/cc	0.09	1200	1.0	600	0.91				t
對 照 組	標準毒素		標 抗			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
	4mg/cc	0.09	8	1.0					TT	¾

由上可見: 濃制及精制破傷風毒素 NO439-3, 用乾燥破傷風毒素 NO 25 A 測定效價相當於 1000單位/cc 用乾燥破傷風毒素 NO 25 B 測定效價相當於 750單位/cc, 乾燥破傷風毒素 NO 25 A 測得結果比 NO 25 B 效價高 25%。

(2) 中央生物制品研究所出品之精制破傷風抗毒素 NO 5318 效價測定結果如下:

方法同上:

表 3. 標準毒素: 乾燥破傷風毒素 NO 25 A.

$$5 \times L + /10 = 0.52 \text{ 毫克}$$

試	標準毒素		5318 抗毒素			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
驗 組	4mg/cc	0.13	4200	1.0	2100	0.87			¾	¾
	4mg/cc	0.13	4000	1.0	2000	0.87				¾
	4mg/cc	0.13	3800	1.0	1900	0.87				TT
	4mg/cc	0.13	3600	1.0	1800	0.87				T
對 照 組	標準毒素		標 抗			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
	4mg/cc	0.13	8	1.0					TT	¾

## 標準毒素：乾燥破傷風毒素 NO 25 B

表 4.  $5 \times L + /10 = 0.36$  毫克

試	標準毒素		5318 抗毒素			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
驗 組	4mg/cc	0.09	4200	1.0	2100	0.91			½	½
	4mg/cc	0.09	4000	1.0	2000	0.91				½
	4mg/cc	0.09	3800	1.0	1900	0.91				TT
	4mg/cc	0.09	3600	1.0	1800	0.91				T
對 照 組	標準毒素		標 抗			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
	4mg/cc	0.09	8	1.0		0.91			TT	½

由上可見：精制破傷風抗毒素 NO5318，用乾燥破傷風毒素 NO25 A 和 NO25 B，測定效價結果無差別，皆相當於 2000 單位/毫升。

(3) 長春生物制品研究所出品的破傷風抗毒素 NO1-1 效價測定如下：

方法同上：

標準毒素：乾燥破傷風毒素 NO 25 A。

表 5.  $5 \times L + /10 = 0.52$  毫克

試	標準毒素		1-1 抗毒素			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
驗 組	4mg/cc	0.13	2200	1.0	1100	0.87		½	½	½
	4mg/cc	0.13	2000	1.0	1000	0.87		t		½
	4mg/cc	0.13	1800	1.0	900	0.87				
	4mg/cc	0.13	1600	1.0	800	0.87				
對 照 組	標準毒素		標 抗			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
	4mg/cc	0.13	8	1.0		0.87		T		½

標標準毒素: 乾燥破傷風毒素 NO 25 B

6.  $5 \times L + /10 = 0.36$  毫克

試	標準毒素		1-1 抗毒素			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
驗 組	4mg/cc	0.09	2200	1.0	1100	0.91		TT	½	¾
	4mg/cc	0.09	2000	1.0	1000	0.91		t		¾
	4mg/cc	0.09	1800	1.0	900	0.91				
	4mg/cc	0.09	1600	1.0	800	0.91				
對 照 組	標準毒素		標 抗			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
	4mg/cc	0.09	8	1.0		0.91		tt		¾

由上可見: 破傷風抗毒素 NO1-1, 用乾燥破傷風毒素 NO 25A 與 NO 25 B, 測定效價無差別, 皆相當於 1000單位/毫升。

(4) 中南生物制品研究所出品破傷風抗毒素 NO13-3 效價測定結果如下:  
方法同上:

標準毒素: 乾燥破傷風毒素 NO 25 A。

表 7.  $5 \times L + /10 = 0.52$  毫克

試	標準毒素		13-1 抗毒素			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
驗 組	4mg/cc	0.13	1600	1.0	800	0.87		¾		¾
	4mg/cc	0.13	1400	1.0	700	0.87		T		¾
	4mg/cc	0.13	1200	1.0	600	0.87				
	4mg/cc	0.13	1000	1.0	500	0.87				
對 照 組	標準毒素		標 抗			緩沖液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
	4mg/cc	0.13	8	1.0		0.87		T		¾

標準毒素：乾燥破傷風毒素 NO 25 B.

表 8.  $5 \times L \div 10 = 0.36$  毫克

試 驗 組	標 準 毒 素		13-14 抗 毒 毒			緩 沖 液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
組	4mg cc	0.09	1600	1.0	800	0.91		9a		9b
	4mg cc	0.09	1400	1.0	700	0.91		T		3b
	4mg cc	0.09	1200	1.0	600	0.91				
	4mg cc	0.09	1000	1.0	500	0.91				
對 照 組	標 準 毒 素		標 抗			緩 沖 液	結 果			
	濃 度	用 量	稀釋度	用 量	單 位		24	48	72	96
組	4mg cc	0.09	8	1.0		0.91		tt		3b

由上可見：破傷風抗毒素 NO13—3，用乾燥破傷風毒素 NO 25 A 和 NO 25 B，測定效價無差別，皆相當於 700單位/毫升。

### 討 論 及 結 論

1. 破傷風菌產毒力是受到多種因素影響的<sup>(2)</sup>，這點已為大家所習知。根據本試驗證明，在同一培育情況下，由於菌株來源，株別不同，產毒力也的確有很大的差異並且對各種動物的毒性比率極不一致。Llewellyn Smith 氏在她的著述中<sup>(3)</sup>已經有了說明，但對毒素的複雜性以及發生差異的原因，迄今還未做深入探討。

2. 一般說來，同批毒素，它的毒性是和結合力、免疫力以及用此毒素所測得的抗毒單位一致的，就是說，毒性愈大，則結合力、免疫力愈高；但是如果是由不同菌株制得的毒素，其結果就不盡然。以本試驗而論 NO. 25 A 毒素的毒性雖低，但於制成類毒素後，它的結合力較高，免疫力則較低；而 NO 25 B 毒素的結果與此相反。由此可知，一種毒素的抗原性好壞，不應以毒性高低作為準則，必須從多方面來考慮，才能得出正確的評價。

3. 用不同毒素測定來源不同的抗毒素，其結果往往互有差異，這是不足為奇的。世界衛生組織在 20 年前曾經組織了一次比較測定<sup>(4)</sup>，也認為在 99% 檢定中，測定值與真正值可有 73.5% 至 136% 的誤差。按本試驗結果證明，在這四批抗毒素制品中，唯獨對上海所製造的濃制破傷風抗毒素（批號 439—8）的中和能力不一致，用 NO 25 A 及 NO 25 B 毒素測定的結果，前者高於後者 25%。原因何在，顯然不是由於技術操作的關係；檢定方法也不致引起多大影響<sup>(4)</sup>。作者認為根本問題應從該批

抗毒素和 NO 25 B 毒素方面去作進一步的研究。

### 參 考 文 獻

- ① 本所 1953 年由上海生物製品研究所學得的破傷風產毒培養基處方。
- ② muller and meller; J. Bact. 55: 421—43, 1947; 56: 143—7, 1948.
- ③ 引自 W. E. Van Heyningen Bacterial toxins 1950. Blackwell pub.
- ④ Bull. Helth. org. vol. Ⅴ, NO.5, P.683, 1938

## Lithander 氏簡易迅速白喉馬匹免疫法之試用(摘要)

陳 立 予

作者鑒於過往之白喉免疫法經時較久方有成果，特參閱瑞典 Arne Lithander 氏以白喉死菌與類毒素合併免疫馬匹(1948)法一文，在20天內，共注射六次，即可獲得高效價白喉血清之試驗結果。其方法如：備 30Lf/每毫升之類毒素作為免疫材料，注射前曾以 2% 蟻酸液經室溫處理24小時，用遠心沉澱後除去上清液又經生理鹽水清洗之2%白喉菌體與之混合後使用。免疫次序在第一程為連續皮下注射六次，每次間隔3—4天，注射量為20•50•100•150•250及300毫升，放一次注射後4—5天即可採血，經三週休息，進行第二程免疫，自第一程後各程之免疫均按三次注射量為100,150及200毫升，其間隙、採血及休息完全與第一程相同。

此次試驗因屬初次，僅試驗馬匹4頭，注射量按原量減半，但間隔縮短為2天，經注射十一次歷日獲得每毫升700單位以上白喉血清之試驗結果(700, 700, 900及1300)，在免疫進程中，馬匹反應不大，今後如按原法劑量注射，可能獲得更高之效果。

本免疫法主要是節省人力物力，見馬體健康不受影響，應用抗原量亦少。該法在20天內即可獲致成果。

(摘自本所彙刊一卷期)

## 白喉抗毒血清製造方法的經驗

泉二熊一

### 緒 言

白喉抗毒血清製造方法從發現抗毒素以來，不斷地在進步與發展着。並且逐漸地達到在短期間內也能獲得高單位血清的技術水平。這個事實如下表所示。

年 度	免疫期間	一頭馬的注射量	免 疫 材 料	注射回數	抗毒素的平均單位
1924	8—12個月	2—3 <sup>l</sup>	毒素	12—20	400
1927	35天	1.3 <sup>l</sup>	類毒素(10cf)	8	600
1931	24天	1.4 <sup>l</sup>	類毒素加面粉(15cf)	7	750
1938	18天	1.0 <sup>l</sup>	類毒素加面粉(40cf)	6	1250

從上表可以看出，不管在免疫期間上或抗毒素效價上都有飛躍的進步與發展。共主要的因素如細谷(2)所指出：

1. 免疫原的研究（強毒素的製法，類毒素的發見及其精製法的研究添加增強免疫原性物質如明礬，羊毛脂西米粉等。）
2. 免疫方法（縮短注射間隔）
3. 免疫馬匹的選擇（選擇含有自然抗體的馬）等。

關於這個問題，細谷(2)曾報告：用 0.8 克精製類毒素的粉末，分五次給一頭馬注射，從免疫開始經過 42 天就能獲得 600—700 單位的血清。另外倉內(4)等採用 Sordelli, Schmidt 等的連續免疫方法，只用類毒素進行連續免疫，在大陸馬 12 匹中有 11 匹約在 2 個月以內，曾達到 400—1125 單位。

以製造白喉抗毒血清為目的而進行免疫時，對馬匹的選擇應特別地注意。特別是馬匹有無白喉的自然抗體對免疫成績有着重大的影響。這個事實曾經得到結論。

#### 一、免疫馬匹的自然抗體含有量與免疫的關係

我根據過去在工作中的片斷經驗認為，白喉免疫用馬必須每毫升血清含有 0.01 單位以上的自然抗體。

第一表 馬匹的白喉自然抗體檢查結果

	A.E. ml.	匹數	百分比 (%)
自然抗體 0.01 單位以上的馬匹	>1.0 <5.0	47	45
	>0.1 <1.0	33	32
	>0.01 <0.1	16	15
總 計	—	96	92
自然抗體不足 0.01 單位的馬匹	<0.01	8	8
總 計	—	104	100

本研究所現在採用“蒙古馬”和“東北馬”二種，我們對 104 匹馬進行了自然抗體的檢查成績如第一表所示。其中 96 匹 (92%) 含有 0.01 單位以上的自然抗體。其他 8 匹 (8% 強) 在 0.01 單位以下。這些馬匹我們認為對白喉免疫是有困難的。

馬匹自然抗體產生的機制到現在尚不够明確。但 Ramon<sup>(6)</sup>和橫井等認為，隨著馬匹年齡的增長自然抗體含有率也逐漸增高。而我們在這次的實驗中也看出了這樣的問題。其成績如第二表

第二表、馬匹白喉自然抗體與年齡的關係

馬 匹 年 齡	3—6歲		7—11歲	
	匹數	%	匹數	%
自然抗體 A.E. ml.				
>1.0<5.0	19	37.2	22	44.9
>0.1<1.0	20	39.2	13	26.5
<0.01<0.1	6	11.8	12	24.5
<0.01	6	11.8	2	4.1
計	51	100	49	100

第三表、白喉自然抗體與免疫成績之間的關係

自然抗體 A.E. ml.	>1.0	<1.0	>0.01
	<5.0	1.0<	<0.1
免疫成績 A.E. ml.			
80—100	1匹	2匹	3匹
300—500	14匹	10匹	5匹
1000—2000	20匹	11匹	9匹
計	35匹	23匹	17匹

如上表所示，年齡小的馬自然抗體含量低的較多；年齡大的馬自然抗體含量高的比較多。其次關於含有自然抗體的馬匹與免疫成績之間的關係，我們也曾進行了檢查，其結果如表。

即自然抗體 1.0 單位以上 5.0 單位以下的35匹馬中，80—100 單位即不合格的只有一匹，1000—2000單位高的單位的有20匹。與此相反，自然抗體含量0.01單位以上0.1單位以下的17頭馬匹中，80—100 單位的有3匹，1000—2000單位的有9匹。由此事實我認為，自然抗體含量雖少而在0.01單位以上時產生高效價抗毒血清還是可能的，但與自然抗體含量多的馬匹相比，其合格率還是低的。

### 小 結

1. 本研究所所使用的馬匹（蒙古馬，東北馬）的自然抗體含有率，與 Ramon、永井等的報告相比是比較高的。
2. 馬匹的自然抗體含有量略與年齡呈比例，隨着成長其含量高的較多。
3. 馬匹的自然抗體含有量能够影響免疫成績，其含量愈多成績愈良好。

### 二、免疫方法

#### 1. 基礎免疫的方法

我們用20頭馬以自然抗體相同為條件分成4群各按不同方法進行基礎免疫，以比較其反應情形與抗毒素產生的程度。

免疫原：在改良馬丁氏肉湯培養基上，用 Park-Williamns No.8 株 35—36°C 培養10天所獲得的毒素，其效價為 Lf15—45。類毒素是用效價低（15—20Lf/ml.）的毒素加0.5%福馬林37—38°C放置約8星期，往家兔皮內注射及豚鼠5毫升皮下注射，完全無反應或不呈異狀者。

精製濃縮類毒素是根據細谷法<sup>(8)</sup>製造的。

分類：

- 1 群：精製濃縮類毒素（20Lf/ml.）每日連續注射。
- 2 群：精製濃縮類毒素（20Lf/ml）間隔2—4日注射。

- 3 群: 精製濃縮類毒素(20Lf/ml)以等量的生理鹽水稀釋後,間隔3—5日注射  
 4 群: 原類毒素(14Lf/ml)每日連續注射。

第四表 (1群) 白喉精製濃縮類毒素每日連續注射方法

馬 號	免 疫 日 期 單 位 量	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
		2	5	2	5	5	5	10	10	10	15	15	15	20	20	20	30	30	30	40	40	40	50	50	50	50
906	>1.0<5.0										試		試							試						300
915											20		40		+	+	+		80		+	+	+	+	+	200
923	=0.1										20		40		+	+	+	+	100		+	+	+	+	+	200
903											50		70						100							400
898											20		40		+	+	+	+	50		+	+	+	+	+	200

免疫期間: 25天 注射次數: 24次 注射量516ml(10320cf)

平均位: 單260A.E./ml.最高單位: 400A.E./ml. 最低單位: 200A.E./ml.

符號說明 一: 完全不呈反應 +: 注射局部有直徑厘米的腫脹 #: 注射局部或者腹部有 15×30 厘米的腫脹 卐: 比重以注射部位(背部)為中心腫脹向四方擴展, 下腹部的腫脹也比重, 同時有四肢發痛的浮腫。

表中“單位”為馬匹自然抗體單位“試”為試血清定效價。

第五表 (2群) 白喉精製濃縮類毒素間隔2—4日注射的方法

馬 號	免 疫 日 期 單 位 量	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16	20	24	28	
		0.5ml	0.5	1	1	2	2	4	4	7	7	10	20	40	60	80	試	血
968	>1.0<5.0														試	試	+	100
892	”														30	100	卐	100
953	=0.1														50	500	+	700
954	”														70	200	卐	300
960	”														50	400	+	400

免疫期間: 28日 注射次數: 15次 注射量: 240ml(4800cf)

平均單位: 320A.E./ml. 最高單位: 700A.E./ml 最低單位: 100A.E./ml

第六表 (3群) 白喉精製濃縮類毒素(20Lf/ml.)加等量生理鹽水間隔3—5日免疫的方法

馬 號	免 疫 日 期 單 位 量	1	3	5	7	10	14	18	23	29	
		5	10	15	25	50	70	100	150	試	
966	>1.0<5.0						試	試			400
864	”						100	300			600
949	1.0<						70	200			700
940	”						902	70			600
942	”						70	50	+	+	100

免疫期間: 28日 注射量: 8425ml(8500cf) 注射次數: 8次

平均單位: 480A.E./ml. 最高單位: 700A.E./ml 最低單位: 100A.E./ml.



第七表 (4群) 白喉原類毒素(14Lf)每日連續注射的方法

馬 號	免 疫 日 期	單 位																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
970	>1.0<5.0	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
869	"	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
952	≈1.0	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
944	"	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
945	"	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

免疫期間：23日 注射量：415ml(5810Lf) 注射次數：22次  
平均單位：580A.E/ml. 最高單位：1100A.E/ml. 最低單位：300A.E/ml.

從上述4—7表可以看出：第一群當注射20ml.(400Lf)時，就開始出現注射局部的腫脹，最後擴展至腹部，四肢浮腫。這一群的注射反應情況不良需要24天的免疫時間，注射24次共用 516ml. 精製類毒素(10.220Lf)，平均單位：260A.E/ml, 最高單位，400A. 最低單位200A.E/ml。

第二群需要 28 天的免疫期間，注射 75 次共用 240ml 精製濃縮類毒素(4800Lf) 注射反應比第一群輕微。

第三群需要28天的免疫期間，精製濃縮類毒素 等量的生理鹽水稀釋，注射 8 次，共用425ml(8500Lf)。這一群比第1, 2 群的成績為優而且反應情況極輕微。平均單位：480A.E/ml. 最高單位：700A.E/ml. 最低單位：100A.E/ml

第四群需要25天的免疫期間，用的是原類毒素 (14Lf/ml.)注射22次共用。415ml. (5810Lf)這一群的成績是最優秀的。注射反應比第三群差比第1, 2群好。

以上四群成績的小結：

1. 只用類毒素免疫時，如果把類毒素精製濃縮再用生理鹽水稀釋注射，此時注射反應也能減輕，並且在短期間內能獲得高效價的抗毒素。另外用未精製的原類毒素時，注射反應比前者雖然多少強些，但也得到了效價高的抗毒素。

2. 用精製濃縮類毒素連續注射時，最大限度只能用 50ml，間隔2—4日注射時可以用 80ml；另外用原類毒素連續注射時，其最大量也是 50ml；精製濃縮類毒素 等量生理鹽水稀釋，間隔2—5日注射時，用150ml尚有增量的餘地。

## 2. 超(本)免疫方法

根據前節的試驗，基礎免疫用濃縮類毒素等量的生理鹽水稀釋間隔2—4日進行免疫注射和用原類毒素每天連續注射等方法是最有效的，關於(本)免疫方法分為三項進行如下：

5. 群：用精製濃縮類毒素(20Lf)以等量生理鹽水稀釋的抗原作基礎免疫的第3群馬匹仍按同樣方法繼續進行免疫。

6. 群：由按第4群的方法進行超基礎免疫的馬匹中選出抗毒素效價與第5群相同的馬匹，用原類毒素(30Lf)以生理鹽水稀釋作為抗原每天連續注射。

7. 群：基礎免疫條件與第5群相同的馬匹，用原類毒素(30Lf)不經稀釋進行每天連

續注射。其成績如下表

第八表 (5 群) 精類製毒素(20Lf)加等量的生理鹽水進行間隔免疫

注射前 單位	注射前之 平均單位	馬 號	1	6	12	18	
			200	250	300	400	
600	480	966	—	—	+	600	1. 免疫期間: 18日 2. 注射次數: 3次 3. 注射量: 類毒素750ml (1500Lf) 4. 單位: 最高: 600 最低: 400 平均: 540
	480	864	—	+	+	600	
700	480	949	—	—	+	600	
600	480	940	—	+	+	500	
100	480	942	—	+	+	400	

第九表 (6 群) 毒素(30Lf)加等量生理鹽水連續注射

注射前 單位	注射前 平均單位	馬 號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
			800	800	800	1000	1000	1000	1500	1500	1500	2000	2000	2000	試
1100	480	967				1300			1400			1600			2000
600	460	878				600			600			700			700
900	480	954				300			300			400			400
300	480	945				300			500			600			700
100	480	968				300			400			500			600

1. 免疫期間: 13日 2. 注射次數: 12次 3. 注射量: 13200Lf 4. 單位: 最高: 2000 最低: 400 平均: 880

第十表 (7 群) 毒素(30Lf)連續注射方法

注射前 單位	注射前 平均單位	馬 號	600	600	600	800	800	800	1200	1200	1200	1800	1800	1800	試
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
400	460	960				400			500			600			900
600	460	944				600			700			700			700
700	460	953				700			800			900			900
500	460	869				500			600			800			900
100	460	968				200			300			500			900

1. 免疫期間: 13日 2. 注射次數: 12次 3. 注射量: 13200Lf 4. 單位: 最高: 900 最低: 700 平均: 860

第五群基礎免疫的平均單位是 480 單位，其後用相同的抗原，一方面觀察注射反應，一方面繼續注射使其達到最大量。免疫期間 18 天，注射了三次，共用 750ml (15000Lf) 最高單位為 600 最低為 400 平均為 540 單位，抗毒素效價緩慢地上升。

第六群的基礎免疫的平均單位是 480 單位，注射了以生理鹽水稀釋的毒素 12 次，共注射 15900Lf 每日連續注射，所獲得的單位最高為 2000 最低為 400 平均 880 抗毒素的效價是急速地上升。

第七群注射未經稀釋的原毒素 12 次，13200Lf 連續注射，單位最高達 900 最低為 700 平均 860。與第六群相同，抗毒素效價是急速地上升，其曲線是平行的。

注射反應的程度在 5. 6. 7 群中都沒有多大的差別都是輕微的。

## 小 結

1. 只用類毒素進行免疫時，經一定的期間，抗毒素效價急速上升，但其後增加注射量繼續注射時，抗毒素效價的上升極其緩慢，並且在短期間內獲得高效價的血清是困難的。

2. 用類毒素連續注射，進行基礎免疫之後，再用強毒素連續注射時，抗毒素效價急速地上升，能在短期間內獲得高效價的抗毒素血清。

### 3. 採血方法

免疫馬的抗毒素效價達到一定的單位時，直接進行全採血或者部分採血。部分採血，由於多次的採血能得到大量的血清。全採血時血清的收量雖少，但能得到高單位的血清。進行部分採血時血清總量雖多但血清單位能略微下降些，這是衆所週知的問題。在這種情況下把免疫效價保持在某種程度上繼續部分採血就成了問題，我們首先把高單位的馬分成4—6次進行部分採血，另外與過去所採用的方法相同只進行二次採血的比較二者之間抗毒素效價下降的情況。其結果（二群）如下：

第一群：選擇1000單位以上的馬匹17匹，每隔4—6日連續採血二次，共採6次。第二群選擇1000單位左右的馬匹14匹，連續採血二次。採血量每次3000ml 其成績：不管二次採血或者多次（六次）部分採血，在效價損失方面，二者之間沒有差異。

其次爲了證明二法之間，那一個方法有利於生產，以56頭馬匹進行免疫持續期間與部分採血，持續次數的試驗，其成績如下表。

區 別 方 法	例 數	持 續 時 間			部 分 採 血 次 數			一 次 部 分 採 血 所 需 要 的 期 間 (日)
		最 長 (日)	最 短 (日)	平 均 (日)	最 多 (次)	最 少 (次)	平 均 (次)	
多 次 (6 次) 部 分 採 血 方 法	28	450	99	243	24	6	15	32
二 次 部 分 採 血 方 法	28	525	50	187	18	2	6	62

即多次採血方法從免疫開始到免疫完了（全採血）的期間最長爲450天，最短爲99天，平均243天。部分採血最多爲24次，最少爲6次，平均採15次。一次部分採血所需要的免疫期間（包括休息期間）僅僅是32天。二次部分採血方法：免疫持續期間最長325天，最短爲50天，平均187天。部分採血次數最多18次，最少2次，平均6次，一次部分採血所需要的免疫期間（休息期間在內）平均62天。

根據以上的實驗成績從血清數量方面考慮時，當然要採取多次部分採血的方法。

在於抗毒素效價急速下降的問題二群都是從第四次免疫以後表現了出來，此時須採取全採血的處理或須繼續免疫的問題，尙待今後研究。

## 總 結

1. 東北種，蒙古種的馬匹比在日本及其它地方所使用的馬匹的白喉自然抗體含有率高。
2. 白喉自然抗體含量與馬匹的年齡呈正比。
3. 白喉自然抗體的多少能够影響到人工免疫的難易，其含量愈多抗毒素產生量也

多而且免疫也容易。

4. 關於白喉免疫的基礎免疫，採用精製濃縮類毒素以生理鹽水稀釋間隔2—5天進行注射和以原類毒素每天連續注射時，能够很快地達到目的。

5. 超（本）免疫時採用毒素（30Lf 左右）進行連續注射成績最好。

6. 抗毒素效價達到高峰進行部分採血時，採取多次連續的方法或者與過去相同的兩次部分採血的方法。二者之間在抗毒素效價損失上沒有區別。在免疫持續期間上，也未看出差異。在血清收量上，進行多次部分採血的方法時更多些。

### 參 考 文 獻

1. V. Behring u. Kitasato Deutsche med. Wocheuschrift 16, 113, 1890
2. 細谷省吾：日本醫學及健康保險 第3211號 昭和15年11月
3. 細谷省吾，田中哲之助，利部光四郎，門內顯義：實驗醫學雜誌 19卷 353頁昭和10年
4. 倉內喜久雄，小見山徹，安藤榮之助：滿洲醫學雜誌 21卷 685頁 昭和9年
5. 橫井鐵四郎：實驗醫學雜誌 18卷 647頁 昭和9年
6. Ramon G: Rev.d'immuologie 5, 417, 1929
7. 永井吉郎，利部光四郎，中村精子，久保岡次：實驗醫學雜誌 26卷 987頁 昭和17年
8. 細谷，出口，利部：實驗醫學雜誌 4309, 1942

## 關於用馬匹生產抗毒素在免疫過程中如何決定 效價高峰時機進行採血的問題(摘要)

王 成 懷

我們在用馬匹生產破傷風抗毒素的過程中經常遇到採血效價比採血前的試血效價降低許多的困難，尤其是效價較高的馬匹更為顯著。按我們慣用的規定，一向都是在最後一次注射當天進行試血檢定，在第七、八天連日進行兩次部份採血或者在第十天再進行第三次採血。我們懷疑到這個按習慣規定下來的採血日期可能不適用於當前的具體條件。為了證實這一點，曾由生產中任意抽出13匹免疫馬（破傷風抗毒免疫），分做兩組進行了效價變動情況的觀察以尋求效價高峰。

第一組的5匹馬從最後一次注射（類毒素250毫升加明礬0.1%）當天起每天預以試血檢定效價直到第七天。其中只有3匹的試血效價達每毫升500單位以上，其高峰均在第四——五日間而第八、九日的兩次部份採血效價均已逐日下降。但同一次部份採血的開始，中間和最後三個時期的效價基本上一致。

第二組的8匹馬從開始注射日起在每一劑量注射的同一天進行一次試血效價檢定。其中有2匹馬在第四劑量（類毒素250毫升加明礬0.1%）注射日其試血效價已超每毫升1,000單位，因此中止了注射。其餘6匹馬以第七劑量（類毒素400毫升加明礬0.1%）為最後一次注射。8匹受觀察馬中只有5匹其最後一次注射日的效價達每500單位以上，按同第一組一樣的方法從最後一次注射當天起每天試血檢定效價，有五匹直到第八天，有2匹直到第七天，有1匹只到第五天。這5匹馬的效價高峰均在第四五日，以後則逐日下降。

雖然兩個組的觀察結果有某些出入，但效價高峰却都是在最後一次注射的第七天以內。在這一點上兩組的結果都指出了我們常用的採血時間已處於效價趨向下降的範圍內，因此採血效價比試血效價低這也是必然的現象。

為了更進一步追查採血效價下降是否由於分離血漿以及加入防腐劑等操作所致，我們用由上述被觀察馬匹所採的血漿做了比較計算。從計算數值看，血漿由於被檸檬酸鈉溶液稀釋致使其效價本應降至86.4%，而按實際檢定結果平均只降至87.0%。可見效價下降的基本原因並不在於分離血漿或加入防腐劑等操作上，至少也可說是影響不大。

從已得的觀察資料綜合看來，在抗毒素生產的免疫過程中選定適宜的採血時間亦即確定效價高峰時機是有很大的意義的；在各種不同條件下和根據馬匹的不同個體情況應該探索相適應的免疫方法和措施以提高生產效率。

(本文曾發表於 生物製品通訊 第2卷第1期, 1957)

## 血清乾燥法的研究

王成懷 李大容 梁作德 李淦

### 前 言

血清經冷凍昇華法乾燥後，不但不能損失效價或發生蛋白質變性，同時還很利於運輸和保存例如減輕重量，避免凍結，效價穩定，不發生沉澱等等。但如果不能使含水量份減到極少的程度時，就不能保證效價穩定或防止保存中發生變質；如果乾燥後再溶解時需要很長時間，這會給臨床方面造成很大困難。我們在生產製造乾燥血清中所遇到的嚴重困難就是乾燥後的溶解緩慢。這種情況主要是在乾燥濃制（硫酸銨濃析）血清上發生的。關於這一點 Flosdorf 氏<sup>(1)</sup>也發表了同樣的經驗和見解：由免疫馬血清提煉的球蛋白經乾燥後溶解很慢。Lahiri 氏<sup>(2)</sup>認為這種現象是與蛋白的類脂質部份有關的，他用膽酸鹽 (Sod. taurocholate, Sad. glycachalate) 和乙醚予以處理後成功地解決了這個問題。Cahn 氏<sup>(3)</sup>也曾指出類脂蛋白 (Lipoprotin) 在冷凍乾燥過程中發生變性，這就成為乾燥後再溶解慢的因素。

為了解決這一困難，我們曾在冷凍抽干、使用促溶劑、調整固體總量、按消化法處理血清等幾方面進行了試驗，同時追試了 Lahiri 氏的膽酸鹽處理法並獲得了初步成果。

### 實驗 (一)：冷凍與抽干方法的實驗

任選一批濃制破傷風抗毒血清 (# 5 固體總量 15.74%，pH 7.3)，分成原液，或加葡萄糖，或加鹽水予以稀釋等幾種，各分裝每小瓶 20 毫升。各種血清，在其它條件基本上一致的情況下，採用快速和緩慢兩種不同的冷凍法所及高、低兩種不同起始溫度的抽干法進行了冷凍乾燥後的溶解試驗。（所用乾燥方法的一般技術問題已發表於大連衛生研究所彙刊一卷三期 100 頁）。

快速冷凍：在干冰、丙酮混合物（-25~-70°C）中進行凍結 25 分鐘。

緩慢冷凍：放置低溫室（-25~-32°C）中進行凍結 24 小時。

抽干起始溫度（高）：開始抽干當時乾燥器周圍氣溫為 2~7°C 或 3~7°C 以後逐漸提高，最終達 26~34°C。

抽干起始溫度（低）：同上，起始為 -7~-16°C 或 -11~-16°C。

乾燥後按原分裝量注入常溫蒸餾水使其完全溶解，測取溶解速度，結果如第一表。

從實驗結果來看，冷凍條件對溶解度的影響不大；抽干起始溫度的高低也沒能使溶解度發生變化。但血清的處理方法顯然是起了作用。向乾燥前的液體血清中加葡萄糖 5%，已能使乾燥後的溶解時間縮短許多。將乾燥前的液體血清用生理鹽水予以稀釋時，對縮短乾燥後溶解時間更有效，稀釋越大效果愈好。顯然是和溶解後所含固體總量有關的，亦即固體總量愈少溶解則愈快。

第一表：按不同冷凍法及不同抽干起始溫度乾燥後的再溶解時間

血清處理	冷 凍 法		抽 干 起 始 溫 度	
	快 速 冷 凍	緩 慢 冷 凍	2~7°C	-11~-16°C
原 液	96~186分鐘	137~155分鐘	121~207分鐘	112~179分鐘
加葡萄糖 5%	49~82分鐘	66~114分鐘	67~132分鐘	103~168分鐘
稀釋(血清3: 鹽水1)	82分鐘	101分鐘	96~103分鐘	79~90分鐘
稀釋(血清1: 鹽水1)	14分鐘	20分鐘	14~61分鐘	15~45分鐘

另外在抽干操作上也採取了幾種措施例如將整個抽干過程分成幾個不同時間的階段逐步提高周圍溫度或將脫水劑(氫氧化鈉)量分成兩次量中途換置等進行了試驗。但不論那一種措施都未能對溶解度發生顯著的影響，只是若將同量的脫水劑分成兩次擺放(中途換置)時，能使乾燥後含水份減少。

### 實驗(二)：葡萄糖的試用

實驗(一)所得的結果已經表明，向乾燥前的液體血清中加入葡萄糖(5%)對加快溶解度有一定的成效。為了進一步觀察葡萄糖含量與溶解度的關係選用硫酸銨濃制血清和消化精制血清各一批，調整固體總量 13.03%，分別各加葡萄糖 5%，10%，15%，在同一條件下進行冷凍乾燥。按分裝量注入蒸餾水，使其完全溶解，比較溶解度，其結果如第二表。

第二表：含不同濃度葡萄糖的乾燥血清溶解時間

血清種類	葡 萄 糖 含 量	5%	10%	15%
	硫 酸 濃 制		31~79分鐘	11~35分鐘
消 化 精 制		17~32分鐘	6~10分鐘	17~18分鐘

由第二表可見，隨着葡萄糖含量的增加而溶解時間縮短，但含量並不見得比10%者好。順便在這里又能看到，同一固體總量的兩種血清，消化精制血清乾燥後溶解比硫酸銨濃制者快。

第三表：含葡萄糖10%，固體總量的乾燥精血清溶解度

固 體 總 量	溶 解 時 間
17.11%	16~25分鐘
15%	8~20分鐘
13%	6~12分鐘
11%	5~7分鐘
9%	7~11分鐘
7%	7~8分鐘

結合着這個結果，又選用一批消化精制血清(# T7)稀釋成不同固體總量，分別加入葡萄糖10%，在同一條件下進行冷凍乾燥後用與分裝量等量的蒸餾水溶解，觀察了溶解情況。實驗結果說明，在含葡萄糖10%的情況下，固體總量與溶解度之間仍然保持着大體的比例關係(第三表)。

### 實驗 (三) 血清的提煉法及固體總量的調整

從實驗 (一)，實驗 (二) 都已看出，乾燥前血清固體總量愈少，乾燥後溶解愈快。爲了再證實這一點，選硫酸銨濃制血清及消化精制血清各一批，分別調整各批固體總量 13.03%，11%，9%，7%，及 5%，進行冷凍乾燥，測定乾燥後的溶解度，結果如第四表。

第四表：不同固體總量的濃制及精制乾燥血清溶解度

固體總量	13.03%	11%	9%	7%	5%
硫酸銨濃制	68~110分鐘	48~90分鐘	43~90分鐘	19~36分鐘	4~7分鐘
消化精制	49~77分鐘	21~45分鐘	9~17分鐘	3~7分鐘	1~5分鐘

所得結果仍然表明，溶解度與固體總量及血清提煉方法有關即消化精制血清比硫酸銨乾燥後溶解愈快。爲了追試這個結果又選濃制血清乾燥後溶解度好；固體總量愈低

第五表：不同固體總量的精制乾燥血清溶解度

固體總量	溶解時間
10%	15~26分鐘
9%	11~19分鐘
8%	9~14分鐘
7%	3~7分鐘

用一批消化精制血清，調整固體總量 10%，9%，8%，及 7%，進行冷凍乾燥，觀察乾燥後的溶解度，結果如第五表。

從本實驗結果看，在生產中若採用消化精制法提煉血清並調整固體總量 2% 以下時可得溶解度相當可觀的乾燥血清。

### 實驗 (四)：經膽酸鹽乙醚處理

選用硫酸銨濃制白喉及破傷風血清各一批，消化精制破傷風血清一批，及曾經冷凍乾燥再予溶解的硫酸銨濃制白喉、破傷風血清各一批，基本上仿照 Lahiri 氏方法進行處理。即各批血清分別矯 pH 7.2，按 0.1% 加入膽酸鹽 (Bile Salt No. 3, Difco) 輕輕搖盪 (約 10 分鐘)，放置 0°C 48 小時後，在 0°C 下加入試料 1/5 量的乙醚，經常竭力搖盪，持續 2 小時。倒掉上部乙醚，在室 (18~30°C) 溫下進行遠分離 (2,000R.P.M) 15 分鐘。用虹吸管由分離管吸出血清，按批合併後在室溫下向液面吹風以除殘剩乙醚。如此處理共反覆四次。各批又分成兩份，其中一份最後再加入膽酸鹽 0.1% 留於血清中。業經處理的各試料速同各批對照 (未加處理者)，經冷凍乾燥後，按分量注入蒸餾水，觀察溶解度；結果如第六表。

不論硫酸銨濃制或消化精制血清經膽鹽——乙醚處理後都使乾燥後的再溶解時間縮短許多。但經四次處理後再加膽酸鹽似乎沒有必要，相反地成績倒有惡化的趨勢。

經膽鹽——乙醚處理後，抗毒素效價幾乎沒有損失。在動物安全試驗上基本上沒有異常現象，僅有個別試品安全試驗的個別動物死亡 (當時所用動物的正常健康情況不甚良好)。



第六表：經膽酸鹽處理的各種血清乾燥後的溶解情況

血清處理情況	血清種類	濃制破傷風 (乾燥後再溶解)	濃制破傷風	濃制白喉 (乾燥後再溶解)	濃制白喉	精制破傷風
	固體總量	11.78%	16.79%	15.7%	10.79%	7.18%
四次處理		1~3分鐘	3~30分鐘	3~60分鐘	1~2.5分鐘	1~1.5分鐘
四次處理後再加膽鹽		1.5~4分鐘	5~30分鐘	3~30分鐘	2~4分鐘	0.5~2分鐘
對照(未經處理)		20~60分鐘	>60分鐘	>60分鐘	10~30分鐘	1~2分鐘

註：表中「>60分鐘」表示到60分鐘尚未完全溶解。

## 討 論

根據我們所進行的幾項實驗結果看，欲求乾燥血清的再溶解快，首先須要考慮血清的提煉方法及固體總量的限度。

消化精制血清乾燥後的溶解度要比硫安濃制者好得許多，若將固體總量保持在 8% 以下，就能基本上得到滿意的效果。但究竟在這樣的低固體總量下乾燥血清的效價是否能維持穩定，換言之，若將血清稀釋某種程度後是否要損失效價，這要看我們繼此實驗之後的另一個研究項目——乾燥血清效價穩定試驗的結果來判斷。

總之，我們根據實驗結果認為在我們目前的條件下只有上述措施才是解決乾燥血清溶解度的比較可追的線索。但解決濃制血清乾燥後溶解度的問題，看來 Lahiri 氏的膽酸鹽——乙醚處理辦法還是比較可行的，事實上 Lahiri 氏已經把它應用到生產上去了。

向血清中加葡萄糖這個辦法固然能使溶解度好轉一些但不容易乾燥成功，常常失敗於抽乾中途血清融化以及乾燥後含水份高。

至於冷凍和抽乾等操作，固然很重要，但對解決溶解度這一問題似乎不是基本關鍵。

## 結 論

為解決冷凍乾燥血清溶解度，採取了幾種措施進行了試驗。

1. 改變冷凍及抽乾的方法未能收效。
2. 向血清中加入葡萄糖雖然略有功效，但抽乾操作不易成功。
3. 乾燥血清溶解度與血清固體總量及提煉方法有關。將消化精制血清固體總量調整 8% 以下時溶解時間可縮短到滿意的程度。
4. 解決硫酸銨濃制乾燥血清的溶解度使用膽酸鹽乙醚處理已經收到良好的效果。

## 主要參考文獻

- (1) Flosdorf, E. W.: Fruze-Drying, pp. 81, Reinhold Pulliohing-Corporation, 1949.
- (2) Lahiri, D. C.: Indian J. Med. Research, 35, No.1, pp. 7~13, 1947.
- (3) Cohn, E. J., Strong, L. F., Hughes, W. L. Jr., Mulford, D. J., Ashoroth, J. N., Melin, M. and Taylos, L. H.: J. Am. Chem. Soc., 68, 459, 1946.

## 消除血清中熱源質的試驗

梁作德 李 淦 王成懷

在如何破壞已產生的熱源質方面，已經有了許多有效的措施。消除普通水溶液中的熱源質也比較容易。而如像血清、血漿或其它液體生物製品，消除其中既存的熱源質却是有着很大困難的，因為它們是不適合靠加熱或使用強酸強鹼來處理熱源質的溶液。因此，對生物製品方面所採用的方法應該是既能消除熱源質而又能不致使該溶液遭受損害的。例如 Hauser 氏 (1953)<sup>(1)</sup> 報告：用鹼矯正含熱源質細菌濃液的酸鹼度至 pH10.0，即能破壞熱源質。但應該充分考慮其對某種溶液的安全性問題。再如 Pingert 與 Clayton 二氏 (1948)<sup>(2)</sup> 報告：用澱粉酶 (Diasoc) 在 43°C 下破壞熱源質之後再提高溫度到 95°C 以破壞澱粉酶。但這對如血清、血漿等製劑也有困難。Lces 與 Levey 二氏曾提倡加入木炭 (1:1000) 搖 15 分鐘以除熱源質，但 Howard 與 Spooner 二氏 (1946) 不贊成使用木炭末吸附熱源質，因為特別是從蛋白質溶液中除掉木炭末是有很大的困難的。Zittle 氏 (1945) 曾創制 S-3 試板，經濾過來吸附熱源質。但 Smith 與 Pommel 二氏 (1947)<sup>(3)</sup> 指出：S-3 試板不能從蛋白質溶液中除掉熱源質；他們一方面利用人造沸石 (離子交換劑的一種，系含水的鋁、鈉矽酸鹽，一種水軟化劑) 處理，同時又經用 S-6 紙板濾過，這樣就很成功地消除了熱源性蛋白質溶液如血清血漿等的熱源質。我們為了研究熱源質的產生與消除的原理，進行了消除濃製血清中熱源質的試驗，並獲得了某些程度的成效。

### 實 驗

1. 材料：含熱源質濃製血清，硫酸鉍鹽折濃製白喉抗毒血清。固體總量為 8.72%。經普通除菌濾板 (含石綿量 50%) 除菌濾過 (按每 10cm<sup>3</sup> 132.5ml. 血清量) 後，其熱源質測定結果如第一表。本血清經冷凍乾燥後再用半量的蒸溜水稀釋 (即濃縮一倍) 其熱源質測定結果如第二表。

2. 人造沸石：加 10 倍量 (重克) 的 0.5% 碳酸鈉無熱源質水溶液攪拌，傾倒上清，再用無熱源質蒸溜水反覆洗滌，直至洗液呈中性 (以石蕊標示) 為止。

3. 石綿三合板：石綿經過處理後製成三層板，中層石綿含量為 60~100%。

〔附註〕熱源質測定方法：每批次試驗使用體重 1½ 公斤以上的家兔三隻。每公斤家兔耳靜脈注射檢品三毫升。以每隻家兔注射後三次試驗測溫中之最高體溫與注射前三次預備測溫中之最高體溫差的三隻平均值做為衡量檢品熱源質的尺度。

第一表 原濃製血清熱源質測定結果

家 兔	注射前最高體溫	注射後最高體溫	上昇體溫	平均上昇體溫
I	39.4°C	40.4°C	1.0°C	0.733°C
II	39.3°C	40.0°C	0.7°C	
III	39.1°C	39.9°C	0.5°C	

第二表 經冷凍乾燥，半量稀釋後熱源質測定結果

家 兔	注射前最高體溫	注射後最高體溫	上昇體溫	平均上昇體溫
I	39.2°C	40.7°C	1.5°C	1.3°C
II	39.4°C	40.5°C	1.1°C	
III	39.5°C	40.8°C	1.3°C	

方法：

用上述同一批的含熱源質濃製血清進行了如下幾種方法的試驗。

1. 三次除菌過濾：已除菌過濾的含熱源質濃製血清再用普通除菌過濾板反覆過濾三次，經冷凍乾燥後用半量的蒸餾水稀釋，使其濃縮一倍，測熱源質以觀熱源質的消除程度。
2. 沸石處理：血清每 100 毫升中加入已處理的沸石 24 克，不斷攪拌 30 分鐘，經普通除菌板過濾，冷凍乾燥後再如同第 1 法進行稀釋，測熱源質以觀熱源質的消除程度。
3. 石棉三合板過濾：經石棉三合板過濾一次，冷凍乾燥後再如同第 1~2 法進行稀釋，測熱源質以觀熱源質的消除程度。
4. 爲了觀察三合板中層石棉含量與消除熱源質效果之間的關係，又按中層石棉含量 60%、70%、80%、90%、100% 試製了五種不同的三合板，仿照第 3 法進行了試驗觀察。

## 結 果

1. 含熱源質濃製血清經普通濾板連續三次過濾後，其熱源質已由對照的 1.3°C 消除到 0.983°C（第二、三表）。

第三表 經三次過濾處理後熱源質測定結果

家 兔	注射前最高體溫	注射後最高體溫	上昇體溫	平均上昇體溫
I	39.5°C	40.15°C	0.65°C	0.983°C
II	39.8°C	41.0°C	1.2 °C	
III	39.4°C	40.5°C	1.1 °C	

2. 經沸石處理後其結果較爲更好，由對照的 1.3°C 消除到 0.766°C（第四表）。

第四表 經沸石處理後熱源質測定結果

家 兔	注射前最高體溫	注射後最高體溫	上昇體溫	平均上昇體溫
I	39.6°C	40.4°C	0.8°C	0.766°C
II	39.6°C	39.9°C	0.3°C	
III	39.4°C	40.6°C	1.2°C	

3. 三合板濾過者成織最好，已消除到  $0.683^{\circ}\text{C}$  (第五表)。

第五表 經三合板濾過處理後熱源質測定結果

家 兔	注射前最高體溫	注射後最高體溫	上 昇 體 溫	平均上昇體溫
I	39.7 °C	40.3 °C	0.6 °C	0.683°C
II	39.6 °C	40.15°C	0.55 C	
III	39.55°C	40.45°C	0.9 °C	

4. 三合板中層石綿含量與消除熱源質效果之間存在着正比關係即是隨着石綿含量的增加而熱源質消除效率顯著 (第六表)。

5. 由第一、二表可以看出，隨着血清的濃縮，其熱源質亦有所增。

第六表 經不同石綿含量的各種三合板濾過處理後熱源質測定結果

三合板中層石綿含量	家兔體溫平均上昇度
60 %	1.466°C
70 %	0.906°C
80 %	1.066°C
90 %	0.706°C
100 %	0.5 °C

## 討 論

從實驗結果看來，用我們設製的石綿三合板進行濾過能夠消除血清中已存在的熱源質到比較可觀的程度。Zittle 氏試用過 S—3 紙板，Smich 與 Pommel 二氏結合人造沸石處理試用過 S—6 紙板，而他們所試用的紙板的製法如何則我們無從查出。我們在實驗中試製的三合紙板不論在製造上、保存上以及使用上都很簡便。但是在我們的實驗中還存在着不少缺陷，有待今後進一步追究。這裡存在的問題是：(1) 試驗次數過少，還有反覆重試的必要；(2) 實驗結果是否能符合大量生產，特別是濾過面積與濾過量之比對消除熱源質作用的關係，應進一步究明；(3) 三合板的消除熱源質作用的機制須更深刻地予以證實，如採用石綿混和攪拌以及石綿柱通過吸附等等措施進行試驗；(4) 實驗結果表明，沸石處理顯然是有效的，但如果與三合板濾過法聯合起來處理，想像會獲得更好的效果。

## 結 論

為研究熱源質的產生與消除的原理，曾選含熱源質的濃製抗毒血清，採用多次除菌濾過、人造沸石處理以及自製石綿三合板濾過等方法進行了消除血清中熱源質的試驗。

試驗結果表明，石綿三合板濾過法成效較好，在小量試驗中已能將熱源質  $1.3^{\circ}\text{C}$  (家兔體溫上昇度) 的血清處理成爲  $0.5\sim 0.683^{\circ}\text{C}$ 。

本實驗在設計和進行當中都得到魏職副所長的熱誠指導，謹表謝意。

## 主要參考文獻

- 1) Hauser, N.: Zeitschrift Hyg. u. Infekt.-Krh., 136, 418 (1953).
- 2) Pingert and Clayton: Chcm. Abstr., 42I, 2402 (1948).
- 3) Smith and Pommel: J. of Bact., 54, 715 (1947).

## 白喉標準血清之試制(摘要)

陳廷祚 劉仁文

取白喉馬血清 200 毫升，以精確之滴定管小心分注 2 毫升於若干安甌中。然後冷凍乾燥，再移入乾燥器中。一月後，任意取出兩安甌，俟稱重三次重量不變時，密封安甌口，於冷室中保存之。

此血清制成後，首先經固體血清重量的檢定。每安甌中平均血清重量為 0.2215 克。然後作單位檢定。

單位檢定時，將稀釋後的血清，用家兔皮內法，測定其抗毒素單位。然後以 66% 甘油鹽水稀釋成每毫升含 10 國際單位，此即為白喉標準血清。對照血清系哥本哈根標準血清，每毫升亦含 10 國際單位。標準毒素系本所舊存之穩定毒素，試驗單位如為 Lr/300 時，其  $3 \times \text{Lr}/300$  量為毒素之 180 倍稀釋，0.1 毫升。

初步檢定每毫升含 62 單位。經稀釋後，最後檢定，每毫升含 10 單位，與國際標準完全符合。因此，每安甌原含 310 單位，每單位血清為 0.714 毫克固體血清。

(摘自本所彙刊一卷一期)

## 氣性壞疽腐敗梭菌標準毒素及血清之試制(摘要)

陳廷祚 劉仁文

一、標準毒素之製造：用牛肉浸汁 2 公升、蛋白腺 60 克，鹽 10 克加溫溶解後，調整 pH 至 8.1 過濾、分裝一公升於二公升之三角瓶中。高壓 120°C 20 分鐘。接種前蒸氣加溫一刻鐘後冷卻至 45°C。然後以無菌操作於各瓶中加入適量之碳酸鈣及 50% 葡萄糖 20 毫升。接種 48 小時培養之菌液，31°C 培育 40 小時。培育後，於冷室中先用濾紙過濾，然後以除菌濾板過濾。取濾液少許作最小致死量的測定，餘量以硫酸銨鹽析法析出毒素乾燥之。該乾燥毒素為黃褐色，溶解度良好。

二、標準血清的製造：取腐敗梭菌血清約 100 毫升，以精確滴定管小心分注 2 毫升血清於若干安甌中。冷凍乾燥後作單位檢定。按初步檢定之結果，用甘油稀釋為 50 單位/毫升，再作最後檢定。

自製之標準毒素經檢定(用丹麥 vi30 號標準血清)：豚鼠 Ln/25 量 = 0.146mg 毒素。小白鼠 L+/2 量 = 0.1mg 毒素。自製之標準血清：無論用豚鼠皮內法或用小白鼠靜脈法檢定，結果與國際標準完全一致。用本標準血清檢定出品血清，兩法完全一致。

(摘自本所彙刊一卷二期)

## 應用輪環沉澱反應測定破傷風抗毒血清效價試驗

血清科免疫室 泉 二 熊 一

Ramon 氏 (1922) 發表了應用絮狀反應測定白喉抗毒血清效價以來，曾有許多學者們利用了 Ramon 氏法進行了破傷風血清效價測定的研究，指出在實際應用上較為困難。美濃氏發表了使用濃厚的甘油鹽水稀釋血清，再重疊毒素時，在其接觸面呈現“反應環”，依此測定的白喉抗毒血清效價與用動物測定的效價一致。本文作者，本試驗應用美濃氏法進行了破傷風抗毒血清效價測定試驗。

### 一、材 料:

#### 1. 抗原:

(1) 破傷風毒素: 本所第一毒素室制備的毒素加入 0.5% 石炭酸鹽水，經 Seitz 濾過器濾過。pH7.0 毒力為 200,000 最小致死量

(2) 破傷風類毒素: 上述毒素加入 0.5% 福爾馬林，37°C 孵室中放置 2 星期，完全脫毒的，pH6.6 的類毒素。

(3) 白喉毒素: 本所白喉科制備，單位為 Lf<sub>20</sub>, pH7.6。

#### 2. 血清:

(1) 破傷風抗毒血清: 血清中加入 0.5% 石炭酸，每毫升 500—2,000 單位，採用 5 種。

(2) 白喉抗毒血清: 血清中加入 0.5% 石炭酸，單位為 500—1,000 Lf，採用 4 種。

(3) 健康馬血清: 未經免疫的新馬血清，採用 5 種。

(4) 破傷風標準血清: No.585，每毫升 800 單位。

3. 血清稀釋液: 20% 甘油鹽水，即用 5% 食鹽水稀釋甘油為 20%。

4. 試管: 直徑為厘米，長 10 厘米的小試管。

### 二、方法與結果:

將破傷風毒素 (或類毒素) 與破傷風抗毒血清重疊，檢查其接觸面的沉澱“反應環”。首先將比重大的抗毒血清放於管底比重小的毒素放於其上層，用 20% 甘油鹽水稀釋免疫血清時，不論稀釋到何種程度，上層的毒素與下層的血清都不能混合而能造成明顯的接觸面。操作時使盛血清的小試驗管略為斜傾，取毒素液 1 毫升小心地置於血清層之上部。放於 18—20°C 恆溫槽中 (或室溫) 20 小時，沉澱反應“環”由抗毒血清濃度高的開始較明顯地出現並逐漸到低濃度。最後的一個沉澱反應環呈現為一條白綫，其次一個試管則呈現模糊不清的狀態，如下圖:

作者按上述方法進行了以下幾項試驗: 輪環沉澱反應特異性試驗:



表 2. 白喉毒素與各種血清間之輪環沉澱反應

血清 種類	管 號 稀 釋 倍 數	管 號										
		I 0x	II 2x	III 4x	IV 8x	V 16x	VI 32x	VII 64x	VIII 128x	IX 256x	X 512x	XI 1024x
破 傷 菌 原	1093	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1121	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1122	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1123	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1125	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
白 喉	881	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	884	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	885	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	892	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
健 康	84	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	85	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	86	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	87	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	88	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：表 1,2 中 +：白色凝狀反應，  
⊕：綠色凝狀反應。

著者爲了進一步探討破傷風毒素、白喉毒素與稀釋 2 倍之健康馬血清發生輪環沉澱反應的本質，而採用了製造毒素培養基的主要材料與健康馬血清進行輪環沉澱反應試驗。結果如表 3、表 4 所示：產毒培養基，蛋白陳可與稀釋 2 倍的健康馬血清發生輪環沉澱反應，並以 Poly—蛋白陳反應爲最高。根據此項結果著者認爲破傷風毒素（或類毒素）與稀釋 2—4 倍的白喉抗毒血清以及健康馬血清所起的輪環沉澱反應屬於非特异性反應。

表 3. 產毒培養基及原材料與健康馬血清之輪環沉澱反應

培 養 基 及 原 材 料	血 清 號		84				85				86				87				89						
	管 號		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV			
	稀 釋 倍 數		0x	2x	4x	8x	16x	0x	2x	4x	8x	0x	2x	4x	6x	8x	0x	2x	4x	6x	8x	0x	2x	4x	6x
破傷風產毒培養基	+	+	⊕	-	-	+	+	⊕	-	+	+	-	-	-	+	⊕	-	-	-	+	+	-	-	-	-
馬 肉 水	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
牛 肉 水	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Poly. 蛋 白 陳	+	+	⊕	-	+	+	⊕	-	+	+	-	+	+	-	+	⊕	-	-	-	+	+	-	-	-	-



表 4. 各種蛋白胨水 (2%) 與健康馬血清 (No.84) 之輪環沉澱反應

管 號 稀 釋 倍 數	I	II	III	IV		備 註
				6 ×	16 ×	
蛋白胨	0 ×	2 ×	4 ×	6 ×	16 ×	
Poly —	+	+	⊕	—	—	
myo —	+	—	—	—	—	
照 內	+	+	—	—	—	
南 典	+	+	—	—	—	
Witte—	+	+	—	—	—	

註：表中+：白色環狀反應。

⊕：綠色環狀反應。

2. 破傷風毒素 (或類毒素) 的稀釋及用量對輪環沉澱反應的影響：

著者將破傷風毒素按倍倍稀釋法稀釋後重疊於破傷風抗毒血清上部，另一方面取不同量的原毒素 (或類毒素) 重疊於破傷風抗毒血清上部進行了反應觀察。結果如表5，表6，說明毒素 (或類毒素) 稀釋倍數愈大，其反應範圍愈小。稀釋8倍以上時其反應不明顯。增加原毒素 (或類毒素) 用量時對反應域無影響。

表 5. 不同倍數稀釋破傷風毒素的輪環沉澱反應

管 號	單 位	稀 釋 倍 數	I	II	III	IV	V	VI	毒素反應 成或Lp價	血清Lp價
			32μ	16	8	4	2	1		
1	20萬	0 ×	+	+	+	+	+	—	2 AE/ml	800
2	20萬	2 ×	+	+	+	+	—	—	4 AE/ml	500
3	5萬	4 ×	+	+	+	—	—	—	8 AE/ml	800
4	2.5萬	8 ×	—	—	—	—	—	—	—	—

表 6. 不同用量的破傷風毒素、類毒素的輪環，沉澱反應

管 號	A E 用 量	I	II	III	IV	V	VI	血清Lp價
類 毒 素	1ml	+	+	+	+	—	—	2AE/ml
	2ml	+	+	+	+	—	—	2AE/ml
	4ml	+	+	+	+	—	—	2AE/ml
	8ml	+	+	+	+	—	—	2AE/ml
毒 素	1ml	+	+	+	—	—	—	4AE/ml
	2ml	+	+	+	—	—	—	4AE/ml
	4ml	+	+	+	—	—	—	4AE/ml
	8ml	+	+	+	—	—	—	4AE/ml

註：1. 標準血清 No.585,800A.E./ml

2. 毒素：200,000M.L.D./ml。類毒素係由此毒素製備。

3. 溫度、時間以及毒素（或類毒素）之 pH 對輸環沉澱反應的影響：

著者進行了破傷風毒素與破傷風抗毒血清之輸環沉澱反應的溫度，時間，以及毒素（或類毒素）之 pH 方面的試驗，認為破傷風毒素與破傷風抗毒血清的輸環沉澱反應在室溫或 18—20°C 水槽內 15—20 小時範圍為宜。若小於此時間範圍則輸環沉澱反應之終末是難以明確地判定。如果超過此範圍，按血清及毒素（或類毒素）種類不同，多少有差異，而一般都是由血清的高稀釋倍數管開始逐漸消失反應，因此容易發生誤差。

溫度超過上述範圍則容易出現不明顯的反應環；降低時則不能出現反應或者需要較長時間。

著者將破傷風毒素（或類毒素）的 pH 矯正為 5.4, 6.0, 7.0, 7.6, 8.0, 9.0 重疊破傷風抗毒血清，觀察輸環沉澱反應。結果如表 7：以 pH5.4—7.6 為適宜；pH8.0 以上時則反應環的呈現不明顯，並難以判定。

表 7. 破傷風毒素（或類毒素）之 pH 對輸環沉澱反應的影響

P A E	發 號							Lp 價	備 註
	I	II	III	IV	V	VI	VII		
H	10	8	6	4	3	2	1		
5.4	+	+	+	+	+	+	-	2AE ml	
6.0	+	+	+	+	+	+	-	2AE ml	
7.0	+	+	+	+	+	+	-	2AE ml	
7.6	+	+	+	+	+	+	-	2AE ml	
8.0	+	+	+	+	-	-	-	不明	
9.0	+	+	+	-	-	-	-	"	

註：表中+白色反應，-：無反應，±：不明顯。

4. 抗毒血清的輸環沉澱反應測定效價與動物測定效價的關係：

著者根據上述試驗結果用 24 個批號破傷風免疫馬血清進行了輸環沉澱反應效價測定與動物效價測定的比較試驗。

1) 標準毒素和類毒素的 Lp 價檢定：

選 2—3 批已知單位的破傷風抗毒血清，（標準血清可用一批按遞減法予以稀釋，求各輸環沉澱反應最大稀釋度（或最小抗毒素單位）。

如第 8 表所示，有三批 (No.1, No.2, No.3) 單位不同的血清，將其各種稀釋成每毫升含有 20, 15, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 單位。取各種稀釋液 1 毫升分別放入小試管中，再重疊毫升被檢毒素，作輸環沉澱反應。本毒素或類毒素，與三批血清呈相同結果時例如與三批血清的輸環沉澱反應終末點都在第 VII 號管時，則此毒素（或類毒素）。可作為檢定血清用標準毒素（類毒素），Lp 其價為 2 單位。

2) 抗毒免疫血清的效價測定：

先將被檢血清稀釋 10 倍，然後按表 9 各量分別放入各試管中，補加 20% 甘油鹽水湊成全量 1 毫升，然後分別重疊 1 毫升按上述方法檢定的標準毒素（或類毒素）進行輸

表 8. 標準毒素 (或類毒素) Lp 價測定

管 號		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
編 號	A.E ml	20.μ	15.μ	10.μ	8.μ	6.μ	4.μ	3.μ	2.μ	1.μ
No. 1	500	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 2	800	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 3	1000	+	+	+	+	+	+	+	+	+

表 9. 抗毒免疫血清效價測定

管 號	被 檢 血 清 (10× 稀釋液)	稀 釋 液 (20% 油鹽水)	標 準 毒 素 液	結 果
I	0.1 ml	0.9 ml	1 ml	+
II	0.08 ml	0.92 ml	1 ml	+
III	0.06 ml	0.94 ml	1 ml	+
IV	0.04 ml	0.96 ml	1 ml	+
V	0.02 ml	0.98 ml	1 ml	+
VI	0.01 ml	0.99 ml	1 ml	+

對 照 組

管 號	標 準 血 清		稀 後 釋 (20% 油鹽水)	毒 素 液 (Lp價2AE)	結 果
	單 位	用 量			
I	10.μ	0.1 ml	0.9 ml	1 ml	+
II	8.μ	0.08 ml	0.92 ml	1 ml	+
III	6.μ	0.06 ml	0.94 ml	1 ml	+
IV	4.μ	0.04 ml	0.96 ml	1 ml	+
V	3.μ	0.03 ml	0.97 ml	1 ml	+
VI	2.μ	0.02 ml	0.98 ml	1 ml	+
VII	1.μ	0.01 ml	0.99 ml	1 ml	+

表 10. 輪環沉澱反應效價與動物測定效價比較

批 次	血 清 號	動物效價 (A.E. ml)	L <sub>p</sub> 價 (A.E. ml)
1	208	3,000	2,900
2	615	2,000	2,000
3	663	1,000	1,000
4	691	2,000	2,000
5	823	1,000+	1,100
6	835	1,000	1,000
7	861	2,000	2,000
8	867	1,500	1,500
9	883	2,000	2,000
10	891	2,000	2,000
11	1033	100	600
12	1121	500	500
13	1122	500	500
14	1123	1,000+	1,000
25	1125	1,350	1,330
16	596	500	500~600
17	597	450	400
18	598	450	500
19	612	1,800	1,800
10	613	1,500	1,500
21	616	700	700
22	618	2,000+	2,000~2,500
32	678	3,500	3,000~4,000
24	604	1,800	1,800

註：動物效價係由檢定組人員進行的。

環沉澱反應同時作標準毒素（或類毒素）L<sub>p</sub>價的對照試驗，並按下列公式計算被檢血清單位：

$$\text{被檢血清單位} = \frac{\text{標準毒素（或類毒素）L}_p\text{價}}{\frac{1}{10} \times \text{血清用量}}$$

如表 9 中被檢血清單位等於  $\left(\frac{2}{\frac{1}{10}} = \right) 500 \text{A.E./ml}$   
 $\frac{1}{10} \times 0.04$

著者應用輪環沉澱反應檢定了 24 批抗毒免疫血清效價，結果與用動物檢定的效價基本一致（如表 10）。

## 總 結

1. 破傷風毒素（或類毒素）與甘油鹽水稀釋的破傷風抗毒血清之接觸面能產生明顯的沉澱反應環。

2. 破傷風毒素（或類毒素）與稀釋 2—4 倍的白喉抗毒血清、健康馬血清能生成白色或綠色的非特異性反應“環”。

3. 破傷風產毒培養基以及各種 2% 蛋白胨液能與稀釋 2—4 倍的健康馬血清起白色或綠色的非特異性反應“環”，牛肉湯及馬肉湯則完全無此反應“環”。

4. 破傷風毒素（或類毒素）與破傷風抗毒血清之間的輪環沉澱反應同於白喉毒素與白喉抗毒血清之間的輪環沉澱反應，係特異性反應。

5. 毒素之稀釋倍數愈大則反應域愈狹小，稀釋 8 倍以上時則反應不明顯。毒素的不同用量對反應無其影響。

6. 破傷風之輪環沉澱反應的溫度，時間以 18—20°C 15—20 小時為宜。毒素 pH 5.4—7.6 為適宜。

7. 應用破傷風輪環沉澱反應測定抗毒血清效價與動物效價基本一致。

根據上述結果著者認為應用輪環沉澱反應測定破傷風抗毒血清效價，操作簡便、經濟、並可早期獲得結果。尤其是適於大量製造破傷風抗血清免疫馬的試血檢定工作。

## 參 考 文 獻

1. Haen, Zipp u. Tschertkow: Immunität—forschung Baud 45, 1925,
2. Haen, Zipp u. Tschertchow: Immunität—forschung Baud 47, 1929.
3. H. Schwictt: Der Praxis der Auswertung von Toxinen, Antitoxin, 1931.
4. 美濃真澄: 日本微生物學會雜誌, 第30卷 (下) 2328 (昭和11年)

## 致病性兩極染色桿菌之細胞核(摘要)

魏文彬 詹耀曾

作者用酸水解法首次試驗了四種致病性兩極染色桿菌——鼠疫桿菌，禽敗血桿菌，假結核桿菌，及Whitmore氏桿菌），其目的是為了觀察兩極染色桿菌的細胞核的形態。以上各菌的特制“印章”塗抹玻片經酸處理將桿菌體中的一般染色體消化掉而使菌體細胞核更清楚的染出。作者在本文中描述了核的形成和演變過程，認為核在細胞分裂進行增殖時有重要意義。

(摘自本所彙刊一卷二期)

## 水生植物對於中華瘧蚊幼蟲繁殖的關係(摘要)

張宗葆

中華瘧蚊是中國最普遍的一種瘧蚊，同時也是傳染瘧疾最重要的一種。它的幼蟲生長在清水的池塘裡，緩流的河流裡，稻田裡及積水的水坑裡，而且這些產地都是生長着適量的植物，離開這個條件就不適宜生存，因此研究這個問題在抗瘧上是不可忽視的。

此次調查在南京進行，南京水生植物從生態上觀察可分：浮生類、沉生類和直生類三種。在進行此項工作之前，首先選適合之池塘及河流數處作為測驗幼蟲密度的觀察站，池塘內多係浮生類及沉生類，而河流則為直生類型。經過十個月的觀察結果，乃判斷沉生類植物對中華瘧蚊幼蟲繁殖最為合適，其比率也最高，直生類次之，浮生類則不適合幼蟲生長。

為了證實野外觀察的結果，同時在實驗室內也進行了植物與產卵關係試驗其結果與野外觀察相同。由此我們瞭解，中華瘧蚊的產卵，有其選擇產地的固有本能。

(摘自本所彙刊一卷一期)

## 1953年大連市區住宅與牛舍蚊種季節 分佈調查報告(摘要)

張宗葆 孫 鐸

1. 旅大市區的蚊種經初步調查的結果，計有 14 種，其中屬於庫蚊屬的有 8 種，伊蚊屬有 4 種，按蚊屬有 2 種。帕氏按蚊 1 種，在東北尙屬首次報告，從動物地理分佈觀點上講是極有意義的。

2. 1953年在大連市區蚊種季節分佈調查結果：在住宅內的蚊種有 5；在牛舍內的蚊種有 7。住宅內以淡色庫蚊為最多；牛舍中以三帶喙庫蚊佔首要的位置。

3. 住宅與牛舍內各蚊種數字相互對比，前者除淡色庫蚊外，其他各種均低於後者。

4. 各蚊種的季節分佈曲綫按其性質，無論為住宅或牛舍，可分為三個類型第一類型的季節分佈曲綫頂峯在 8 月；第二類型的季節分佈曲綫頂峯在 9 月；第三類型的季節分佈曲綫有 6 月份與 8 月份先後兩個頂峯。

5. 平均溫度在  $21^{\circ}\text{C}$  以上為蚊種繁殖高昇時期，低於此即行下降。雨量在一年中以 2 月份為最多，蚊的季節分佈除騷擾伊蚊日本變種外，其他各種亦以 8 月份為最多。故蚊種發生的規律似與大自然中的溫度和雨量的昇降變化，有一定的密切關係。

## 大連市區常見蚊種吸血習性及活動 時間的觀察(摘要)

張宗葆 孫 鐸 吳金福

1. 淡色庫蚊的主要嗜血對象是鷄，其次是人。
2. 東鄉氏伊蚊的主要吸血對象是馬，其次是牛。
3. 以牛為主要嗜血對象的蚊種有五：即點背伊蚊、騷擾伊蚊日本變種、二帶喙庫蚊、三帶喙庫蚊和中華按蚊。
4. 成蚊在夜間吸血活動時間內均有兩個高峯期，且前一高峯蚊數均較後一高峯蚊數為多。淡色庫蚊的吸血第一高峯期在下午 10 時至上午 2 時間；點背伊蚊，騷擾伊蚊日本變種、三帶喙庫蚊則均在下午 9 時或 10 時間。
5. 三帶喙庫蚊的低峯期自下午 10 時至上午 2 時間；點背伊蚊從下午 9 時至上午 3 時間；而騷擾伊蚊日本變種，在第一高峯之後，蚊數順序下降，直至翌晨 4 時，又復上升。
6. 蚊蟲嗜血活動高峯期與低峯期的形成與蚊蟲的感光力的強弱可能有密切的關係。

(摘自微生物學報、5:189—195,1957)



# 大連市沙河口區井水調查報告

## 尙 之 二

1950年本室受衛生部門的委託，檢查了本所所在區——沙河口區內 65 個井水的情況。大連市沙河口區內的井水檢驗成績在東北醫學文獻上<sup>[1][2]</sup>是有過記載的，但是為時過久，再加上解放後變化很大，有的閒置未用，有的用途改變，如本為飲用後改為澆菜園用等，所以水質的情況自然就不同了。這次檢查的目的是要查明這些井水是否適合飲用，以便直接利用或處理後利用。檢驗項目是按照一般衛生項目進行的，但固體總量，鐵、錳，等因時間關係則從略，對井的構造，周圍狀況亦作了調查。從事工作的人員除本室同志外，多是臨時組織起來的，檢驗工作是在較短時間內完成的。

## 檢 驗 方 法

### 一、採集水樣

供化學檢驗用的水樣採用 1 升的‘水樣採集瓶’，供細菌檢驗用的水樣係用滅菌的 100 毫升的‘水樣採集瓶’放在水面下約 1 米深處採集的。採取水樣時測定了水溫，氣溫，井深、水深，並記錄了井的構造，形狀及其四周的衛生情況。每天上午約採集 10 個水樣後立即送回檢驗。

### 二、色 度

以 0.0025% Bismark Brown 色度標準液 1ml 用蒸餾水稀釋重 1 升所呈之色為 1 度用比色管法比較測定的。

### 三、濁 度

蒸餾水 1 升中加入白陶土 1mg 所呈之混濁度為 1° 用比色管法比較測定的。

### 四、嗅及味

取水樣 50ml，微溫後（約 40~50°C）檢其嗅味，記錄之如無嗅、微嗅、異嗅、苦味、鹹味等。

### 五、pH 值

用 Hellige 比色盤，指示劑 B. T. B, P. R, 等測定。

### 六、Cl<sup>-</sup>

取水樣 50ml，用 Mohr 法測定之。

### 七、SO<sub>4</sub><sup>-</sup>

水樣 50ml，加鹽酸酸化之，加熱 BaCl<sub>2</sub> 溶液生成混濁，其概量與含量既知 SO<sub>4</sub><sup>-</sup> 比濁管比較判定之。

### 八、硝 酸

利用二磺酸份比色法 (Phenyl—disulfonic acid) 比色測定。

### 九、亞硝酸

盛水樣 50ml 於比色管中，加碘鎂澱粉溶液 1ml，稀硫酸 1ml 酸化之，五分鐘以內呈現藍色，即表示有亞硝酸存在。

### 十、鉍

水樣加鹼性混合液沉澱後，取上清液 50ml，加納氏試劑 0.5ml 放置 10 分鐘後觀察之。

### 十一、硬度

硬度是用肥皂溶液法測定的，水 100ml 中含 CaO 1mg 者即為 1°

### 十二、氯化有機物質需用 KMnO<sub>4</sub> 量

取水樣 100ml，加稀 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5ml，準確加入 10ml, 0.01NKMnO<sub>4</sub> 標準液，加熱煮沸 5 分鐘，再加入 0.01N 草酸 10ml，將無色液用 0.01N KMnO<sub>4</sub> 滴定之，計算氯化每升水中有機物質的 KMnO<sub>4</sub> mg 數。

### 十三、總細菌數及大腸菌檢查

水樣 1ml，利用普通瓊脂培養基，於 37°C 解箱中培養 48 小時，計算細菌集落數，大腸菌為取水樣 0.1ml, 1ml, 10ml，能使乳糖發酵者，記錄於結果內。

## 檢 查 結 果

### 檢驗結果列表一

### 本所暫定水質標準及檢驗結果討論

欲確定這些井水是否合乎飲用，須首先確立一判斷標準。政府衛生部門尚未頒佈統一水質標準，我國土地廣闊，欲製定統一井水標準，亦非易事。在此種情況下參考以往東北地區井水調查成績及草擬標準〔2〕〔3〕並結合旅大臨海地區具體情況，暫定標準如下，這個標準僅供參考。

項 目	標 準 mg/L
色 度	不超過 20°
濁 度	不超過 10°
臭 味	無異臭味
反 應	中性，微耐酸性，微耐鹼性
Cl <sup>-</sup>	不超過 250mg/L
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	不超過 100mg/L
硝 酸 (N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	不超過 30mg/L
亞 硝 酸	不可檢出；
鉍	不可檢出；
氯化有機物需用 KMnO <sub>4</sub> 量	不超過 10mg/L
硬 度	不超過 20°
總固體物質	不超過 500mg/L
細 菌 總 數	1ml 水中不超過 500 個
大 腸 菌 數	1ml 水中不得檢出

此外井周圍衛生情況亦極為重要，如果井之周圍環境不良，即令一時檢驗合格，因經常有被污染之可能，仍不適合飲用。

色度：色可因水中浮游性物質如土壤微粒子，有機物腐敗產物，及微生物等而生成，如硅藻類繁殖可呈黃色，鐵鹽多時呈黃褐色。色度在原則上應將浮游物除去後（如濾過，沈澱等）觀察之，但本檢驗成績乃取檢水直接測定者。色度在 $3^{\circ}$ 至 $5^{\circ}$ 為淡黃色佔47.7%， $5^{\circ}$ 及以上者為黃色，佔1.2%；超過標準者無。

濁度：水之濁度主為微粉末狀砂土懸垂於水中所致，本檢驗中在 $3^{\circ}$ 至 $5^{\circ}$ 為微濁，佔77.0%； $5^{\circ}$ 及以上者為濁，佔1.08%；超過標準者無。

臭味：異臭可因微生物之生存，及有機性物質分解而來。異味因水中無機鹽類如食鹽稍多量時可呈鹹味，硫酸鹽稍多量時可呈苦味，含石灰等呈澀味等。本檢驗中井水多具微臭，味則多為苦、鹹等。

反應：純水原為中性，井水可因種種鹽類，遊離碳酸，或偶因含有磷酸，有機酸等而呈中性鹼性或酸性，本檢驗中最高pH為7.9最低為7.1，以7.3最多，可佔47.8%。pH在7.0—6.8之間可評為中性，7.1與7.6之間者可評為微鹼性，6.8與6.2之間者可評為微弱酸性。

$\text{Cl}^-$ ：生物體之排泄物中特別尿中可含大量氯化物，如果井水中檢出大量氯化物時暗示該水可能被此等排泄物所污染。但在沿海地區，及相當深層之地下水皆含有大量氯化物。如果井水因被污染而檢出大量氯化物時，必同時檢出 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 及過量有機物。僅 $\text{Cl}^-$ 多量存在時概可歸因於地域關係，因此判定標準因地域亦有顯著差異，一般為100mg，海岸地區則可為250mg。旅大濱海井水一般含 $\text{Cl}^-$ 量皆高，由上表可見其含 $\text{Cl}^-$ 量最高可達1144.5mg，最低為42.5mg，250—100mg者佔47.7%，100mg以下者僅佔7.7%。

$\text{SO}_4^{2-}$ ：水中硫酸主由土壤中硫酸鹽而來，特別含硫化物，硫酸較多之地域更可含遊離狀之硫酸。惟一般地區水中硫酸異常增高時可視為糞便，髒水等混入之證。其判定標準各屬亦極不一致，有的規定為250mg者，亦有無明確規定者。本所暫定為100mg在本檢驗中含量在100mg以上者佔29.2%，100mg—50mg之間者佔6.12%。

硝酸( $\text{N}_2\text{O}_5$ )：在清淨水中一般不可檢出硝酸或僅可含微量，大體硝酸為含氮化合物之最終氧化產物，水中硝酸主由動物體之排泄物或其腐敗物而來。含多量硝酸之水可認為水已久被污染，同時 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 亦必多量檢出。故原則上含多量硝酸之水是不適於飲用的。在本所暫定標準為30mg，但在本檢驗中含100mg以上者竟達53.8%，30—100mg之間者達33.8%。30mg以下者僅佔17%，沙河口區井多設在院內或菜園內，故被糞肥料等污染機會極多。

亞硝酸：亞硝酸為動物系含氮有機物質，被細菌分解的產物。因是中間氧化產物故其存在表示新近被污染的。雖然硝酸鹽可被還原而生成亞硝酸鹽，但在一般情況下，亞硝酸的存在證明水是被污染的。檢驗結果檢出者為13井佔20.0%，未檢出者為52井佔80.0%。

$\text{NH}_4^+$ ：主由動物體中有機物分解或硝酸鹽，亞硝酸鹽被還原而成。 $\text{NH}_4^+$ 之檢出為水被污染最敏感的指標，故在衛生學上是有極重大意義。但井構造及周圍狀況良好之深井及含鐵井水，因無機變化而產生 $\text{NH}_4^+$ ，在衛生學上是無意義的。檢出者佔29.2%未檢出者佔70.8%。

$\text{KMnO}_4$  需用量：水中還原性物質主為有機物質，故 $\text{KMnO}_4$ 需用量即可表示水中

可溶性有機物之量。此等可溶性有機物與 $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ , 亞硝酸同樣, 雖然直接對人體無害,) 但其含量則代表了水被污染的程度, 故對衛生上關係是很大的。考慮到這些井的周圍環境不良情況, 有機物質可能是隨污水而來或動植物分解產物直接落到水中所致。在本檢驗中最高者為 28.2mg 最低為 3.3mg, 10mg 以上者佔 21.8%, 5mg 以下者佔 16.9%。

硬度: 硬度示水中鈣鎂等含量, 人類每日需鈣量約 1g 左右, 故相當硬度之水對人體是無害的, 在本檢驗中超過  $20^\circ$  者佔 40%, 最高硬度為  $30.2^\circ$  最低為  $5.8^\circ$ 。

以上檢驗結果可歸納之如表二:

《表 二》

項 目	超過標準的井數%	最高含量 mg	最低含量 mg
$Cl^-$	52.3	1144.5	42.5
$SO_4$	29.2	100.0 以上	30.0
硝酸	83.1	100.0 以上	30.0 以下
亞硝酸	20.0 (檢出率)		
鉍	29.2 (檢出率)		
$KMnO_4$ 量	21.8	28.2	3.3
硬 度	38.4	30.2	5.8
細菌總數	87.7	36824	50
大腸菌	98.4		

在上述檢驗井水中, 如檢出大腸菌, 亞硝酸, 鉍, 及有兩項超過標準者都不可直接飲用, 惟  $Cl^-$ ,  $N_2O_5$ , 硬度及細菌數僅少量超過標準時, 經煮沸後仍可飲用。

### 總 結

1. 檢驗沙河口區 65 個井水, 不適於直接飲用, 其主因為水被污染, 氯之檢出率為 29.2%, 亞硝酸為 20.0%,  $KMnO_4$  消耗量超過標準者佔 21.8%, 惟多數經煮沸後仍可供飲用。

2. 檢驗井水中含  $Cl^-$ , 硝酸, 硬度都高, 細菌數多, 硝酸可能因糞便污水及菜園中肥料而來, 多量之氯化物, 可能受海水影響所致。

附記: 採水工作由王大和、吳金福擔任, 化學分析由本室許柏師、任允彝、梁桂琴及衛專學校同學協力完成, 細菌檢查由本所細菌科擔任。

### 參 考 文 獻

- [1] 奧田久司、原田廣一、三宅理一: 滿洲藥學會會報第 22 回, 37—51, 53—60, (1930)。
- [2] 兒玉得三、鈴木俊一、竹吉正規: 滿洲醫學雜誌 22 卷, 555—570, (1935)。
- [3] 兒玉得三、鈴木俊一、竹吉正規: 滿洲醫學雜誌 26 卷, 73—104, 663—725 (1937)。

# 氯仿之精制及鑑定

## 江 聲 尚 之 二

一、精制方法：精制氯仿方法有用液態空氣使不純之氯仿凝結(熔點 $-63.5^{\circ}\text{C}$ )，或與四水楊酸酐(Tetrasalicylide)生成結晶良好之複合物 $[\text{C}_6\text{H}_4, \text{H} \begin{array}{c} | \\ \text{O} \\ | \\ \text{CO} \end{array}] \cdot 2\text{CHCl}_3$ ，再加熱蒸溜而得極純之氯仿，此二法因限於條件未進行試驗。本實驗中所用方法為將氯仿加硫酸振搖，以分解其易碳化物及其他氯化物，然後中和，脫水蒸溜之。

二、精制手續：於分液漏斗內加待精制之氯仿 500ml，濃硫酸 50ml，振搖約 5 分鐘，放置暗處，以後隔半小時搖一次，每次振搖 3 分鐘，4 小時後如硫酸着色，分離硫酸層，再加入濃硫酸，50ml，如前振搖 4 小時，放置過夜，分離硫酸層，再加濃硫酸 50ml 振搖，如此操作直至硫酸層不顯色為止。分離硫酸層後、用 50ml 蒸溜水共兩次洗滌之，然後加 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液 50ml 共兩次，以中和其中硫酸，最後再用 50ml 蒸溜水沖洗兩次。分離水層後，投入  $\text{CaCl}_2$  約 15~20 克輕振，放置過夜，以吸收其中水分。用乾燥濾紙將氯仿滷入蒸溜瓶中，連接冷却管（接口處須用軟木塞，不得用膠塞）插入溫度計於水浴上蒸溜之。棄去初溜出之渾濁液（約 30~50ml）收集  $60\sim 62^{\circ}\text{C}$  之清澄溜出液。最後蒸溜瓶內殘留物約為 10~15ml。將蒸溜所得氯仿加 1~2% (V/V) 無水醇，密塞避光低溫貯存。

### 三、精制結果列表 (一)

精 制 NO	原 料 ml	數 量 ml	硫酸用量 ml	精制後產量 ml	收 量 %
1	混 合 氯 仿	500	150	約 400	80.0
2	回 收 氯 仿	500	150	約 290	58.0
3	致 力 廠 出 品	500	100	約 300	60.0
4	”	500	100	約 400	80.0
5	”	500	100	約 370	74.0
6	”	500	150	約 350	70.0
7	”	500	150	約 350	70.0

備註：1. 混合氯仿為廠次品與部分藥廠氯仿之混合物。

2. 回收氯仿為本室作其他試驗之回收品。

### 四、原料及精制氯仿之藥物檢查

按照蘇聯藥典第八版(1952)，117 頁，麻醉用氯仿及中華人民共和國藥典(1953年版)194 頁，麻醉氯仿項目進行檢查。

#### (一) 原料檢查結果列表 (二)

《表(二)》

檢 查 項 目		蘇 聯 品	德 國 品	旅 大 品	天 津 致 力 出 品 A	致 力 廠 出 品 B	致 力 廠 出 品 C
I 比重	20°C				1.488	1.488	1.488
	25°C	1.48	1.480	1.482	1.479	1.480	1.478
II 酸度	pH	6.25	6.45	6.15	6.35	6.35	6.25
	N/100NaOH ml	0.28	0.12	0.35	0.22	0.22	0.20
	試 紙	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
III 光氣	聯 苯 胺	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	飽 和 Ba(OH) <sub>2</sub>	(+)	(+)	(+)	不明顯	不明顯	不 清
IV 氟 化 物	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
V 游 離 氮	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
VI 酮 酸	(-)	(+)	(+)	(#)	(#)	(+)	
VII 易 炭 化 物	(-)	(#)	(+)	(+)	(+)	(+)	
VIII 殘 渣 (25ml)				0.0003g	0.0002g	0.0001g	
IX 水					(+)	(+)	

註 I. 蘇聯藥典規定 20°C(1.477~1.486), 中國藥典規定 25°C(1.473~1.478)

II. 蘇聯藥典用試紙試酸度, 中國藥典用 N/100NaOH 滴定不超過 0.2ml, pH 為本室添加測定項目。

III. 蘇聯藥典用結晶聯苯胺試之, Rosin 用 Ba(OH)<sub>2</sub> 試光氣。

IV. 規定不超過 1mg.

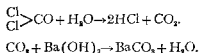
(二) 精制品檢查結果列表 (三) 《表三》

檢 查 項 目		精 制 品 NO1	NO2	NO3	NO4	NO5	NO6	NO7
I 比重	20°C	1.494	1.493	1.494	1.494	1.484	1.488	1.483
	25°C	1.483	1.484	1.486	1.486	1.474	1.476	1.471
II 酸度	pH	6.25	6.40	6.25	6.35	7.10	6.60	
	N/100NaOH ml	0.26	0.24	0.26	0.25	0.18	0.18	0.18
	試 紙	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
III 光氣	聯 苯 胺	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	飽 和 Ba(OH) <sub>2</sub>	(-)	(-)	不明顯	(-)	(-)		
IV 氟 化 物	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
V 游 離 氮	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
VI 酮 酸	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
VII 易 炭 化 物	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
VIII 殘 渣	0.0005g	0.0006g	0.0008g	0.0002g	0.0001g		0.0008g	
IX 水				(-)	(+)	(-)	(-)	
備 註								
原 料	加入氣仿與蘇 聯藥仿混合品	回收氣仿	致力品	致力品	致力品	致力品	致力品	致力品
醇	未加醇	未加醇	未加醇	加1%醇	加1%醇	加1%醇	加1%醇	加1%醇

### 五、討論：

1. 酸度檢查：蘇聯藥典要求 10 克樣品加 40ml 水振搖後，分離水層，取水層，10ml 應為中性反應，經精制後之氯仿，如法檢查 pH 值一般在 6.5—7.0 之間，以藍試紙試之不變紅，中國藥典為取樣品 20ml 與 10ml 蒸餾水振搖後用酚酞為指示劑以 N/100NaOH 滴定之，所耗 NaOH 不得超過 0.2ml，我們認為此法比較精確明確，但精制過程中需要充分注意中和完全，方才能達到不超過 0.2ml 之規定（如精制品 NO5, NO6, NO7.）同時亦作為光氣之檢查。

2. 光氣（碳酰氯）檢查：光氣具毒性，故此項檢查較為重要，按蘇聯藥典為將少量聯苯胺結晶置乾燥帶栓玻璃管中溶於 10ml 樣品，暗處過夜，溶液不應混濁，應用此法檢查原料氯仿及精制氯仿都未檢出，為慎重起見，採用中國藥典及 Rosin 規格進行檢查，Rosin 則為取樣品 10ml 以潔淨之飽和 Ba(OH)<sub>2</sub> 溶液覆蓋其上，其交界面不應有白色薄膜生成，其反應為：



反應是靈敏的，但試劑應新鮮配制，操作中不可混入 CO<sub>2</sub> 氣體，中國藥典將光氣與酸度合併為一項，（見前）結果明確較易判斷。

3. 精制效果：在試驗過程中採用了各種不同氯仿為原料，計有蘇聯品庫存德國品，及天津致力化學廠出品等。精制前均含有不同之雜質，如蘇聯品酸度較高，光氣用 Ba(OH)<sub>2</sub> 檢查亦是正反應，本所庫存德制品及致力廠出品酮醯及易炭化物等項都不合格。將此等不同原料用前法精制後一般能符合蘇聯或中國藥典麻醉用氯仿規格，而且每批結果穩定，惟酸度一項尚應注意控制，精制品收量平均為 70.28%。精制手續主要根據日本藥局方注意第六改正所載方法，但為了工作時間上的安排作了少許變更。檢查方法以中國藥典所載較為適宜。

### 提 要

各種不同來源之不純氯仿用濃硫酸處理精制後，可以達到麻醉用氯仿標準，精制收量平均為 70%。檢查法以中國藥典所載較為適宜。

參考：1. 日本藥局方註解縮刷第六改正 p28C (1952) 精制法

2. 於達望：制藥化學 p204 (1951)

## 生物製品中氯仿含量測定法實驗

尙之二 葉義芳

### 前 言

根據文獻記載，測定血液及組織中的氯仿含量有許多不同方法。Nioux 測定了麻酔狗血液中的氯仿含量，所應用的方法是加酒精於樣品中蒸溜，使全部氯仿溶於酒精中，蒸溜液用酒精性氫氧化鉀溶液分解，分解後的氯化物再用弗爾哈特法 (Volhard) 測定之 [Brit. med. J. 1906, II. 1792—1793]。Fujiwara 於 1916 年提出了氯仿與鹼性吡啶混合加熱後可生成有色絡合物，並且提出血液中氯仿可用乙醚提出後檢驗之，這個呈色反應稱為 Fujiwara 反應，後來被許多學者利用於測定組織中之氯仿。Cole 首先採用了 Fujiwara 反應測定組織的水提取液中的氯仿含量並且遇到了呈色溶液混濁及準確性不高等困難，[J. Biol. Chem. 1926, 71: 173—180]。Kulkarni 將樣品蒸溜 1—1½ 小時以上，逐出的全部氯仿收集於吡啶中，取一定量加 20% NaOH，置沸水浴中加熱 1—1½ 分鐘，放冷後取吡啶層與標準比色測定之，[Indian. J. med. Research, 1944, 32: 189—195]。一九四五年 Habgood 及 Powell; Ussing 分別發表了先用水蒸汽蒸溜分離，次用 Fujiwara 反應測定氯仿的方法。Habgood 及 Powell 所用的方法是取水蒸汽蒸溜後的蒸溜液，用少量甲苯提取之，提取液加吡啶及 20% NaOH，置沸水浴中加熱五分鐘，吸取吡啶層加水稀釋後比色測定 [Brit. J. Ind. med. 1945, II. 39—40; C. A. 1945, 39, 5273]。Ussing 所用的方法為取血液 1 ml，加水 4 ml，10% 錳酸鈉 1 ml，25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.2 ml。於小蒸溜瓶中進行水蒸汽蒸溜，溜液收集於含有 1 ml 吡啶中至達 6 ml，後加 60% KOH 2 ml，沸水浴中加熱 1½ 分鐘，冷後取上清吡啶層 0.5 ml，加酒精 4 ml，60% KOH 0.5 ml，比色測定之，[Acta physiol. Scand. 1945, 9: 214—20; C. A. 1945, 39, 5272]。1948 年 Burgen 利用康威擴散皿將血液中氯仿擴散至甲苯內，然後取甲苯液加吡啶呈色測定 [Brit. med. j. 1948, I, 1238]。Burgen 指出微量氯仿可以藉 Fujiwara 反應測定，但用水蒸汽蒸溜的方法分離氯仿是浪費時間而且需要特制的磨口玻璃器具，如代以康威擴散法則簡便迅速，1½—2½ 小時內可進行 10—20 個測定，每一測定需樣品 1—2 ml。Sasaki 亦利用康威擴散法測定了生物材料中的氯仿含量，但甲苯液與吡啶保置 100°C 中加熱 50 分鐘呈色測定的 [NISSHIN IGAKU, 1955, 42, 344—9; C. A. 49, 14084]。Hanna 及 Siggia 將樣品加苯胺，氫氧化鈉，木精迴流 1½—2 小時，後加硝酸呈酸性及過量 AgNO<sub>3</sub>，生成 AgCl 沉澱，用木精，乙醚洗滌，於 90°C 乾燥 1 小時稱重。[Anal. chem. 1950, 22: 569—70]。Waters, Morris 等則鑒於利用乙醚提取氯仿較制備非蛋白濾液手續簡便並且在乙醚溶液中氯仿與吡啶之反應在較低溫度下即可完成，故採用乙醚提取法，乙醚提取液與吡啶在 82°C 水浴中加熱 8 分鐘呈色測定，[waters: chloroform, 1950, p103]。

由上述文獻看來，重量法因手續繁，不宜於測定微量氯仿，所以很少利用，比色法



與容量法則較為通用。自樣品分離氫仿的方法則有蒸溜法，擴散法和提取法。為了比較這三類方法是否適合於測定生物製品中氫仿之用遂進行了（一）蒸溜—分解—滴定法（二）擴散—比色法（三）提取—比色法試驗，今將測定方法及測定結果報告如下：

### I. 蒸溜分解滴定法

一、原理：將氫仿自製品中蒸溜分離，用氫氧化鉀甲醇溶液分解、生成氫化鉀、然後用硝酸銀、硫氰酸鉍標準液滴定。

二、試劑：1. 35% 氫氧化鉀甲醇溶液：溶35克氫氧化鉀於甲醇中，並用甲醇稀至100ml 靜置等日，採用上清液。

2. 5% 酒石酸醇溶液：溶5克酒石酸於酒精中，並用酒精稀至100ml。

3. 95% 酒精溶液。

4. 稀硝酸：10.5ml 硝酸加水至100ml。

5. 硫氰酸鉍指示劑：溶8克  $\text{Fe NH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  於水並稀至100ml。

6. 0.1N  $\text{NH}_4\text{CNS}$  之配制：稱取8克  $\text{NH}_4\text{CNS}$  溶於水並稀至1000ml。

7. 0.1N  $\text{AgNO}_3$  之配製及標化：

(1) 稱取17.5克  $\text{AgNO}_3$  溶於水並稀至1000ml。

(2) 置純  $\text{NaCl}$  於  $105^\circ\text{C}$  烘箱中烘2小時。

(3) 準確稱取  $\text{NaCl}$  250 毫克，放入有塞之三角瓶中 (250ml) 加水 50ml 溶解之。

(4) 加入 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  50ml，稀硝酸 3ml，硫氰酸鉍指示劑 2ml，用 0.1 N  $\text{NH}_4\text{CNS}$  滴定至顯紅棕色。

0.1 N  $\text{AgNO}_3$  1ml 相當於  $\text{NaCl}$  5.845 毫克。

(5) 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  與 0.1 N  $\text{NH}_4\text{CNS}$  二液濃度之比值：準確以滴定管放30ml 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  於有塞玻璃瓶中，加水 50ml，稀硝酸 2ml，及硫氰酸鉍指示劑 2ml，用 0.1 N  $\text{NH}_4\text{CNS}$  滴定至顯紅棕色，算出一毫升  $\text{NH}_4\text{CNS}$  相當於  $\text{AgNO}_3$  毫升數。

計算：

$W$  = 所稱  $\text{NaCl}$  之重 (毫克)

$m_1$  =  $\text{AgNO}_3$  毫升數，

$m_2$  =  $\text{NH}_4\text{CNS}$  毫升數，

$m$  = 每 ml  $\text{NH}_4\text{CNS}$  相當於  $\text{AgNO}_3$  毫升數

$$\text{硝酸銀當量濃度} = \frac{W}{5.845} \cdot \frac{1}{m_1 - m_2 \cdot m} \cdot \frac{1}{10}$$

### 三、測定方法

1. 蒸溜：於一250ml 三角瓶中加入 63ml 酒精及 5 毫升 5% 酒石酸醇溶液，小心加入樣品 10ml (準確量取約相當於氫仿含量 0.05—0.08 克) 迅速水浴上蒸溜，蒸溜液收集於盛有 10ml 酒精液之約 400ml 三角瓶中，蒸溜中接收管應插入酒精液面下，收集蒸溜液約 50ml 後，即停止蒸溜，用蒸溜水沖洗用具，使洗液流入蒸溜液中。

2. 廻流：於蒸溜液中加入 15ml 氫氧化鉀甲醇溶液，附逆流冷凝器，在水浴上加熱半小時，然後用蒸溜水沖洗冷凝器。

3. 滴定: 冷卻後, 用稀硝酸調節溶液至酸性 (用石蕊試紙作指示劑) 並繼加 2ml 稀硝酸, 加入 40ml 0.1 N AgNO<sub>3</sub> 及 3ml 硫磺鐵銹指示劑, 過剩 AgNO<sub>3</sub> 用 0.1N NH<sub>4</sub> CNS 滴定。

每 1 ml 0.1 N AgNO<sub>3</sub> 相當於 0.00398 克 CHCl<sub>3</sub>, 依法作空白試驗, 並應自測定結果中減去之, 如樣品不足時可酌情減少。

4. 計算: ml = 所用樣品之毫升數。

ml<sub>1</sub> = AgNO<sub>3</sub> 毫升數,

ml<sub>2</sub> = NH<sub>4</sub>CNS 毫升數,

N = AgNO<sub>3</sub> 當量濃度。

m = 每毫升 NH<sub>4</sub>CNS 相當於 AgNO<sub>3</sub> 之毫升數

W = 每 100 毫升樣品中氯仿之含量

$$W(g) = \frac{(ml_1 - ml_2 \times m) \times N \times 0.0398}{ml} \times 100.$$

四、測定結果: 為試驗本法之準確性, 曾配製氯仿~甲醇, 氯仿~水, 氯仿~血清等標準液。

標準氯仿~甲醇溶液之配製: 用吸管準確吸取 0.5ml 氯仿放入已知重量之稱量瓶中 (瓶中予盛甲醇 5-10ml) 密蓋迅速稱量, 秤畢迅速洗入預盛甲醇之容量瓶中, 並正確稀釋至 100ml。仿此配成氯仿~水, 氯仿~血清等標準液, 取此標準液作樣品按上述測定法測定之, 測定結果列表 (一)。

利用上述樣品按上述測定法外, 並進行延長迴流時間, 利用水蒸氣蒸溜等試驗, 測定結果列表 (二)。

<表一>

樣品	取量	實際氯仿含量 (g)	測出含量 (g)	回收率%	測定日期
氯仿~甲醇溶液 (0.7531g/10ml)	10.00 ml	0.0753	0.0685	92.3	1955.12.3 第一次測
"	10.00 ml	0.0753	0.0696	92.4	55.12.5 第二次測
"	10.00 ml	0.0753	0.0685	90.9	55.12.6 第三次測
"	10.00 ml	0.0753	0.0696	92.4	55.12.13 第四次測
"	10.00 ml	0.0753	0.0695	92.3	55.12.23 第五次測
氯仿~甲醇溶液 (0.7530g/100 ml)	10.00 ml	0.0743	0.0678	91.3	55.12.19 第一次測
"	10.00 ml	0.0743	0.0677	91.1	55.12.20 第二次測
氯仿~血清溶液 (0.754g/100 ml)	10.00 ml	0.0754	0.0624	82.7	55.12.9 第一次測
"	10.00 ml	0.0754	0.0622	82.5	55.12.12 第二次測
"	10.00 ml	0.0754	0.0568	75.3	55.12.13 第三次測
"	10.00 ml	0.0754	0.0567	75.2	55.12.14 第四次測
氯仿~水溶液 (0.750g/100 ml)	10.00 ml	0.0750	0.0537	71.6	55.11.28 第一次測
"	10.00 ml	0.0750	0.0436	58.1	55.11.3 第二次測

《表二》

標 品	取量 ml	實際含氯仿量 (g)	測出含量 (g)	回收率%	操作 方法	測定 日期
氯仿~水溶液 (0.730g/100 ml)	10.00 ml	0.0750	0.0643	85.7	未經蒸餾，迴流半小時。	1955.11.26. 第一次測
”	10.00 ml	0.0750	0.0589	78.5	”	55.11.28. 第二次測
”	10.00 ml	0.0750	0.0460	61.3	”	55.11.30. 第三次測
”	10.00 ml	0.0750	0.0615	82.0	未經蒸餾，迴流 1 小時。	55.11.28. 第四次測
氯仿~甲醇溶液 (0.753g/100 ml)	10.00 ml	0.0753	0.0711	64.4	未經蒸餾，迴流半小時。	55.12. 6. 第一次測
”	10.00 ml	0.0753	0.0731	97.0	未經蒸餾，迴流 1 小時。	55.12. 7. 第二次測
氯仿~甲醇溶液 (0.743g/100 ml)	10.00 ml	0.0743	0.0682	91.7	蒸餾 1 小時，迴流 1 小時。	55.12.22. 第一次測
”	10.00 ml	0.0743	0.0684	92.0	”	55.12.23. 第二次測
”	10.00 ml	0.0743	0.0682	91.8	”	55.12.23. 第三次測
氯仿~血清溶液 (0.743g/100 ml)	10.00 ml	0.0743	0.0605	81.4	水蒸氣蒸餾 20 分鐘，迴流半小時。	55.12.26. 第一次測
”	10.00 ml	0.0743	0.0558	75.1	”	55.12.27. 第二次測
氯仿~甲醇溶液 (0.743g/100 ml)	10.00 ml	0.0743	0.0670	90.1	水蒸氣蒸餾，迴流半小時。	56. 1. 4. 第一次測
”	10.00 ml	0.0743	0.0620	83.4	”	56. 1. 5. 第二次測
”	10.00 ml	0.0743	0.0640	86.1	”	56. 1. 5. 第三次測

五、討論 1. 由表 (一) 同一氯仿~甲醇標準液經放置不同時間，多次測定結果是極近似的，說明這個方法重複性較高，回收率在 91—92% 之間，對於有高度揮發性的氯仿而言，這個測定法基本上是可以採用的。誤差來源可能由於在蒸餾過程中損失及迴流分解不完全所致。但用氯仿~水配製標準液，測定結果很不穩定，當天配製的測出含量較高，以後便逐日降低 (由表 (二) 亦可看出)。其主要原因是標準液本身濃度降低，氯仿在水溶液中甚易揮發所引起的。氯仿在血清中也有類似水溶液的情況，測出含量低，回收率在 80% 左右。

2. 爲了提高回收率，曾作了延長迴流時間，(將迴流時間增爲 1 小時) 及利用水蒸汽蒸餾等試驗，但都沒有效果。血清用水蒸汽蒸餾時因泡沫很多，曾加泡沫抑止劑一辛醇約五滴。

曾取氯仿~水溶液，氯仿~甲醇溶液，省略蒸餾步驟，直接迴流測定之，回收率略有增多，但不顯著，而且含量也是逐漸降低，證明氯仿在蒸餾與迴流過程中有少量損失外，主要原因還是其水溶液在保存過程中，因密閉不嚴，及在每次測定開瓶取樣時揮發了。

測定手續參考：(1) 中央檢定所轉蘭州所材料。

(2) Methods of Analysis of A. O. A. C. p.620, 7th. ed. 1950.

## II. 擴散~比色法

一、原理：置樣品於康威擴散皿外室，氯仿自外室擴散至內室之甲苯中，取該甲苯液與吡啶及氫氧化鈉溶液混合呈色，比色定量之。

## 二、試劑:

1. 甲苯——取純甲苯於分液漏斗中，每次加約 1/10 的濃硫酸振搖，直至硫酸層無色，分離硫酸層以後，以 20% NaOH 中和其酸性，再以蒸餾水洗至中性，放置過夜，底層有少量水析出，棄去水層，在沙浴上蒸餾，收集 109°—110°C 溜出液，並重蒸餾之。

2. 吡啶——取吡啶飽和氫氧化鈉約 10% 振搖，放置數日，（或於沸水浴中加然半小時）吡啶顯紅色，取吡啶層蒸餾之，收集 112°—116°C 蒸溜液，並重蒸餾之，如此處理後之吡啶加氫氧化鈉不應呈色，如呈色應再處理之。或取吡啶加量約 20%（體積）的苯蒸餾之，亦可得到良好效果。

3. 20% 氫氧化鈉

4. 粘着劑——取凡士林 3 份加石臘（熔點 55°C）1 份加熱溶化製成。

三、測定方法：樣品氫仿含量在 0.5—35mg/100ml 範圍。

1. 擴散 取 0.8ml 甲苯于擴散皿內室，1—2ml 樣品放入擴散皿外室，迅速蓋上于先塗有粘着劑之玻蓋，放入 37°C 恒溫箱中 60 分鐘。

2. 呈色 擴散完畢後，自恒溫箱中取出，去蓋，自擴散皿內室吸取 0.5ml 甲苯於預盛有 5ml 吡啶之試管中，加 20% NaOH 2.5ml，搖勻，將試管置沸水浴中 5 分鐘，完後於冰水中放冷。

3. 比色：放冷後，吸取 5ml 吡啶層於比色管中，加水 1ml 除去混濁，生成紫紅色，在 1 小時內是穩定的，取空白管為零點，用綠色濾光板比色。

(1) 空白管為 5ml 吡啶加 0.5 ml 甲苯加 2.5ml NaOH，置沸水浴中 5 分鐘，冷卻後，吸取 5ml 吡啶層加水 1ml 製成。

(2) 標準氫仿—甲苯溶液之配製：正確吸取 9.3ml 甲苯放入稱量瓶中，稱重，再正確加入 0.7ml 氫仿，再稱重，得出該 10ml 氫仿—甲苯溶液中氫仿之重量，由此計算出含有 0.5 克氫仿之毫升數，吸取一定毫升之氫仿—甲苯溶液，再以甲苯稀釋至 100 ml，即得 0.5% 標準氫仿—甲苯溶液，分別取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ml 標準氫仿—甲苯溶液，以甲苯稀釋至 50ml 製成 5mg%, 10mg%, 20mg% 之標準液，各取 0.5ml 如前操作製成標準管，並繪成標準曲線。

四、測定結果 仿試驗 I 配成氫仿—水溶液，氫仿—血清溶液作為供試樣品，測定結果列表（三）。

## 五、討論:

1. 由表（三）的結果看，氫仿—水溶液的回收率最高達 98.4%，平均為 94.4%，氫仿—血清的回收率最高達 96.0%，以後則逐日降低，生物制品中微量氫仿基本上是可以應用擴散法測定的。但在本試驗中由於操作的熟練程度和設備上的限制（標準管未經過擴散步驟）還不能達到文獻所載準確度。測出含量較實際含量較高的兩例係由於甲苯、吡啶不純所致，有兩次含量低，只有 50% 左右，這是由於沒有恒溫箱，在室溫下擴散的。

2. 試劑的精制很重要，如果苯、吡啶不純，使空白管顏色太深，有時甚至不能調至零點。試劑經精制，仍不能使空白管完全不呈色。精制好的甲苯，放置一個時期後，

《表(三)》

標 品	實際氯仿含量	測出含量	回 收 率	測 定 日 期	備 註
氯仿-水溶液	13.0 mg/100ml	12.8 mg/ml	98.4%	1956.2.2.	
"	12.5 mg/100ml	14.4 mg/ml	115.2%	56.2.8.	試劑不純
"	10.0 mg/100ml	12.0 mg/ml	120.0%	56.4.13.	試劑不純
"	15.0 mg/100ml	12.8 mg/ml	85.3%	56.4.28.	
"	18.0 mg/100ml	16.4 mg/ml	91.1%	56.4.30.	
"	18.0 mg/100ml	16.8 mg/ml	93.3%	56.5.3.	
"	13.6 mg/100ml	7.0 mg/ml	51.5%	56.1.16.	室溫擴散
"	15.0 mg/100ml	8.8 mg/ml	58.7%	56.4.29.	室溫擴散
氯仿-血清溶液	15.0 mg/100ml	14.4 mg/ml	96.0%	56.4.20.	
"	15.0 mg/100ml	12.2 mg/ml	81.3%	56.4.21.	
"	15.0 mg/100ml	12.7 mg/ml	84.7%	56.4.24.	
"	15.0 mg/100ml	12.0 mg/ml	80.0%	56.4.25.	

與吡啶顏色的程度又會加深。吡啶只經過雙蒸溜過 NaOH 仍顯紅色，如預先用 NaOH 處理，使之呈色後再蒸溜或加苯蒸溜之效果良好。

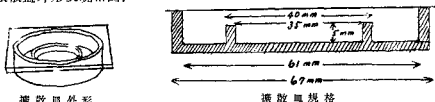
3. 使用的粘着劑 Burgen 係用黃耆膠 (tragacanth gum) 5g 加 70ml 水研磨成膠狀再加 25ml 甘油配製而成，本試驗係用凡士林石臘代替，但因融點較低，在 37°C 易融化，故擴散皿之玻蓋易滑動操作時應注意。

4. 供應合乎規格的擴散皿也很重要，在試驗過程中曾經用兩個小平皿代替擴散皿，但結果不好，測出含量極低。

應用此法測定生物制品中氯仿比蒸溜法簡便，用樣品少，如有足夠的擴散皿同時可進行許多樣品的測定。

參考：Burgen: Simplified method for estimation of chloroform in Blood. Brit. med. J. 1948. I. 1238.

附擴散皿外形及規格圖：



擴散皿外形

擴散皿規格

### Ⅲ. 提取—比色法

一、原理：樣品中氯仿用乙醚提取，然後加吡啶顯色，比色定量之。

二、試劑：

1. 乙醚——與吡啶混合應無色，否則蒸溜之。
2. 吡啶——精製法同擴散法，在空白試驗中應無色。
3. 20% NaOH 溶液 (W/V)。
4. 95% 乙醇。

三、測定方法：

1. 提取：取 2ml 樣品 (氯仿含量為 0.2~0.8mg) 於 18ml 乙醚中、充分振搖，

靜置沉澱完後，取上清 5ml 供試（共可取 3 份）。

2. 呈色：在有刻度的比色管中，加入 2ml NaOH，再加入 5ml 吡啶，加塞振搖使吡啶呈鹼性，加 5ml 乙醚提取液。蓋上帶有 39cm 冷却管，並用錫紙包好的軟木塞，搖勻後，置  $82^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$  之水浴中，加熱 8 分鐘，取出用冷水冷却，加乙醇成 12ml，充分振搖靜置待乳濁清除後，用綠色濾光板比色測定之，由標準曲線算出氮仿含量。以上是 Waters 氏的測定法。但在實際操作中由於比色管上裝 39cm 冷却管手續繁雜，並且測定結果極不一致，遂取消冷却管，使用比色管之玻塞輕塞之，得到滿意的結果。

3. 比色：(1) 0.5% 氮仿~乙醇標準液之配制示例：

吸取 9.3ml 乙醇於稱量瓶中稱重： 25.5777g  
 次加 0.7ml 氮仿、稱重： 26.6420g  
 10ml 溶液中含氮仿量： 1.0643g  
 溶液中含 0.5g 氮仿之體積： 4.69 ml ( $10:1.0643 = x:0.5$ )  
 吸取氮仿~乙醇溶液 4.69ml 用乙醇稀至 100ml，即為 0.5% 氮仿~乙醇標準液，此標準液相當穩定，可使用較長時間。

(2) 0.1% 氮仿~水標準液之配制：

吸取 0.5% 氮仿~乙醇標準溶液 10ml，用水稀至 50ml 即成。此標準液臨用前配制。

(3) 標準曲線之繪製：

0.1% 氮仿水標準液 ml	水 ml	乙 醚 ml	提取液 ml	20% NaOH ml	吡 啶 ml	加 乙 醇 至
0.00 (空白管)	2.00	18.00	5.00	2.00	5.00	12.00
0.20	1.80	18.00	5.00	2.00	5.00	12.00
0.40	1.60	18.00	5.00	2.00	5.00	12.00
0.60	1.40	18.00	5.00	2.00	5.00	12.00
0.80	1.10	18.00	5.00	2.00	5.00	12.00

將此等標準管，按上述步驟同樣處理，可得一標準曲線。

四、測定結果 測定的一些結果分別列表 (四) 表 (五)

《表四》 使用冷却管時測定結果

標 品	實際含氮仿量 mg	測出含量 mg	回收率 %	測定日期
氮 仿~水 溶 液	0.50	0.13	26.0	1956. 4. 10
”	0.50	0.14	28.0	1956. 4. 10
”	0.50	0.13	26.0	1956. 4. 10
”	0.50	0.12	24.0	1956. 4. 11
”	0.50	0.22	44.0	1956. 4. 11
”	0.50	0.38	76.0	1956. 4. 12
”	0.50	0.31	62.0	1956. 4. 12
”	0.50	0.22	44.0	1956. 4. 12
”	0.50	0.35	70.0	1956. 4. 13
”	0.50	0.38	76.0	1956. 4. 13
”	0.50	0.22	44.0	1956. 4. 13
氮 仿~血 清 溶 液	0.33	0.15	45.4	1956. 4. 7
”	0.32	0.14	43.7	1956. 4. 7

《表五》 未使用冷却管時測定結果

樣 品	實際氯仿含量 mg	測出量 mg	回收率 %	測定日期
氯仿~水溶液	0.30	0.30	100.0	1957. 7. 1
”	0.50	0.50	100.0	1957. 7. 1
”	0.40	0.42	105.0	1957. 5. 7
”	0.50	0.48	96.0	1957. 5. 7
”	0.50	0.52	104.0	1956. 11. 29
氯仿~血清液	0.50	0.39	78.0	1957. 5. 7
”	0.40	0.26	65.0	1957. 5. 7
”	0.50	0.33	66.0	1957. 5. 7
”	0.50	0.30	60.0	1956. 11. 29

五、討論 由表(四)看,測定結果都很低,回收率平均在 46.85% 左右,其主要原因,可能是在 82°C 時乙醚急劇沸騰,所加的冷却管因冷却效率不高,氯仿尚未與吡啶生成有色物質,即隨乙醚揮發而去,或始終存留在冷却管中未與吡啶接觸。如果標準管同樣使用冷却管則不能得到標準曲綫。

表(五)所示的測定結果較為滿意,回收率在 96.0—105% 範圍,取消了冷却管而代以玻璃使乙醚揮發速度大為減低,我們使用的比色管容量為 50ml,故其上部亦起了冷却的作用。測定過程中特別因氯仿的加熱揮發等仍可引起一定的誤差,但因標準管經過同樣的處理,系統誤差得到了相當程度的校正,所以顯示了較高的回收率。標準管與樣品管在同一條件下操作,同一水浴,同一加熱時間等是很重要的。利用此法測定生物制品中的氯仿是比較簡單的,並不需要特殊的儀器。

參考: Waters:chloroform, p. 103—105. 1951.

## 提 要

試驗了三種不同的氯仿含量測定方法:

1. 蒸溜~分解~滴定法:測定結果穩定,但回收率在 91—92% 之間,操作手續較繁,不能用來測定制品中微量氯仿,同時不便作多數樣品測定。

2. 攪散~比色法:回收率平均在 95% 左右(標準管未經攪散)用樣品少同時可進行多數樣品之測,尤宜測定制品中微量氯仿。但目前合乎規格之攪散皿不易購到。

3. 提取~比色法:回收率在 96.0—105% 範圍,宜於測定制品中微量氯仿,方法簡便,在目前條件下為較實用的方法。

## 乾燥生物制品水份測定——卡氏法及其 與烘箱乾燥法測定結果比較

尙之二 崔錦家 高春生

關於水份的測定有許多不同的方法。物理的方法有：(1) 乾燥法——在常壓或減壓條件下加熱即所謂烘箱乾燥法，與真空乾燥法；(2) 蒸溜法——將不溶於水的有機溶劑與檢品一同蒸溜再測量蒸溜液中水量；(3) 電測法——測定其電導度等而知其水份含量，以及由其他物理性質而測知其水份等。化學的方法有：(1) 氫化鈣法——由發生氫而測定其水份；(2) 氯化乙醯——吡啶法；(3) 卡氏法等。這些方法根據的原理不同亦各有優缺點。各試驗室多根據樣品的性質，水份含量的多少，存在狀態，以及要求測定速度，準確度，試驗室設備條件等而選擇適宜的方法。就中烘箱法是一個較老的，但還是較通用的一個方法。本所測定乾燥生物制品中水份根據中國生物制品製造檢定法規草案亦採用烘箱法。烘箱法的缺點是很多的，如烘乾，稱重等需要很長時間不易得到恆重，對生物制品講，經較長時間受熱易被分解或菌體本身經烘烤失重都能引起誤差。一般生物制品工作者認為用烘箱法測定水份有使測定結果偏高的趨勢。後來本所仿照中央檢定所改用卡氏法。卡氏法除利用卡氏試劑與水起特異反應的優點外，而且是容量滴定法故可以迅速的而且精密的作多數測定。為求瞭解兩法測定結果是否有一定比例的差異，烘箱法結果是否肯定的有偏高的趨勢，曾利用本所出品的乾燥鼠疫活菌苗分別用卡氏法與烘箱法測其水份，作了比較試驗。在試用卡氏法期間對卡氏試劑的標定方法和滴定終點的判定等問題也進行試驗。採用了較為便利的酒石酸鈉標化法代替了標準水法。在用肉眼觀測終點之外，並利用自制的終點滴定裝置，試驗了電量法。在破碎樣品安瓶方面利用了電熱炸安瓶器炸裂安瓶迅速安全。

### 測定方法及測定結果

#### I. 樣品準備

取乾燥制品（乾燥鼠疫活菌苗）之安瓶，先強烈振搖使內容物粉碎，然後用安瓶鋸或砂石在安瓶上劃痕。持安瓶沿劃痕緊壓在電熱割安瓶器之赤熱爐絲上，安瓶即沿痕整齊的炸開。迅速將內容物倒入預先乾燥稱量帶塞之容器內蓋好稱量之。用卡氏法測定時我們用帶玻璃塞之小三角瓶，容量約 50ml，倒入樣品時較一般容量瓶為便利。用烘箱法測定時預先烘至恆量之稱量瓶。我們所用的電熱割安瓶器如圖（一）所示，綫路如圖（二）所示。此電熱割安瓶器實際上就是一個低壓變壓器，輸入電壓為 110 伏特（交流）輸出約為 4—8 伏特（交流）。輸出部分的電流在設計時應為 50 安培左右，以便配備各種粗細不同電熱綫。割普通安瓶時用直徑約 1—2 毫米的電熱綫即可。



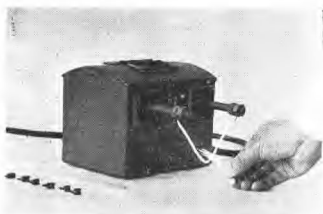


圖 (一) 電熱烘箱裝置



圖 (二) 電熱烘箱裝置的線路圖

## II. 烘箱測定法

先將秤量瓶置  $105^{\circ}\text{C}$  烘箱中烘至恆量，一般約需兩小時。除濕器中放冷後秤量，將準備好的樣品迅速倒入秤量瓶內蓋好秤量。取樣品之重約在  $0.3\sim 0.5$  克左右。置  $105^{\circ}\text{C}$  電烘箱中烘至恆量，一般烘烤時間為 4 小時，前後兩次之差不超過 1 毫克。由失去重量計算水份含量。

## III. 卡氏測定法

### 1. 試劑之配制及試劑藥品之脫水

(1) 甲醇之脫水——取市售甲醇（含水量在 1% 以上）先加氧化鈣  $(\text{CaO})3\sim 5\%$  迴流數小時後蒸溜之，用卡氏法測其含水量約為 0.6%，次加鐵條 1%， $\text{HgCl}_2$  0.04% 迴流至鐵條全部溶解，然後蒸溜，收集  $64\sim 65^{\circ}\text{C}$  之脫水甲醇，用卡氏法測其含水量可達 0.01%，一般甲醇含水量在 0.1% 以下者即可使用。甲醇之含水量見表 (一)。

表 (一) 甲醇經處理前後之含水量

未特別前含水量%	加氧化鈣脫水後之含水量%	加鐵條處理後之含水量%
1.399	0.68	0.011
0.90	0.63	0.018

(2) 吡啶之脫水——曾利用過兩種方法脫吡啶中之水份，第一為取 200 ml 吡啶加 40ml 苯混合於沙浴上蒸溜，收集  $110^{\circ}\text{C}\sim 116^{\circ}\text{C}$  之溜液。第二為加 10% 粒狀苛性鉀放置數日使之吸收水份

後蒸溜之。由表 (二) 可看出用苯脫水其含水量較低故利用該法。

(3) 二氧化硫之制備——曾利用過工業用液體二氧化硫，但主要是取亞硫酸鈉 (130 克) 制成飽和溶液 (加水約 130ml) 滴加濃硫酸，將生成二氧化硫通過濃硫酸洗氣瓶脫水乾燥之 (約 32 克)。

表(二) 吡啶經處理前後之含水量

未精製前之含水量%	加苛性鉀後水後之含水量%	加苯脫水後之含水量%
1.69	0.83	—
1.71	0.84	—
1.78	—	0.34
1.7	—	0.21

(4) 碘——未經昇華精制，取化學純品直接應用之。

(5) 卡氏試劑之制備——於一乾燥瓶內加入 42.33 克碘及 133.3 ml 無水吡啶，振搖至碘溶解，加入無水甲醇 333.3ml 混合之，放入碎冰內冷卻，通

入脫水之二氧化硫至重量增加 32 克為止。放置一、二天後即可使用。

## 2. 卡氏試劑之標化。

我們曾用過兩種方法標化卡氏試劑力價(試劑之水當量)即甲醇標準水法和酒石酸鈉結晶水法  $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , [1]。標準水法為已知重量之水加於普通甲醇中制成標準水，然後取一定量用卡氏試劑滴定，再用試劑滴定普通甲醇，由滴定數字，用數學方法計算標準水之甲醇溶液中水之含量。

酒石酸鈉法的操作步驟是：取 5~10ml 甲醇用卡氏試劑滴至終點，準確稱量約 200 毫克酒石酸鈉迅速投入，並繼續用卡氏試劑滴至終點。將酒石酸鈉重量乘以 0.1566 除以消費卡氏試劑毫升數即為該試劑力價——每毫升試劑相當於水的毫克數，以 K 表示之。在每次測定稱取樣品時同時稱取該標準物質，以校正卡氏試劑力價，手續是簡便的。

酒石酸鈉所含的結晶水是否正確可以用烘箱法預測之如下：取樣品 0.5 克左右置於 150°C 烘箱中烘烤 3 小時以上所含結晶水量可由減量計算之，茲取本室已使用多年的酒石酸鈉及其再結晶品及天津致力廠出品之酒石酸鈉測定其結晶水含量，由表(三)可看出各樣品之結晶水含量是相當確定的，並且接近理論值 15.66%，在實際計算中我們採用了數次測定結果的平均值。

表(三) 酒石酸鈉結晶水之測定  
(150°C 烘箱法測定)

測定日期	本室品%	再結晶品%	致力品%
1953.10.10	15.72	15.50	—
1953.10.10	15.71	15.62	—
1953.10.10	15.73	15.55	—
1953.10.25	15.67	—	—
1953.10.26	15.66	—	15.72
1953.10.26	15.71	—	15.61
1953.10.26	15.72	—	15.60
1953.10.29	15.71	—	—
1953.10.29	15.72	—	—

表(四) 標化試劑力價結果

測定日期	試劑NO	標準水標化 K (mg/ml)	酒石酸鈉標化 K (mg/ml)
1953.10.28	1	3.207	3.28
1953.10.30	1	3.061	3.21
1953.11.1	1	2.966	3.01
1953.11.3	2	3.081	3.20
1953.11.6	2	3.02	3.17
1953.11.10	2	2.86	2.99
1953.11.30	3	3.75	3.74
1953.11.31	3	3.66	3.618
1953.12.3	3	3.66	3.586

我們將甲醇標準水法與酒石酸鈉結晶水法比較後決定採用酒石酸鈉法標化卡氏試劑測定的一些結果列表(四)。

卡氏試劑吸濕性強，盛裝在附有乾燥管之自動滴定管內，試劑在調配後力價下降較顯著，故放置 1~2 日後標定。利用上述脫水藥品配制之卡氏試劑，其力價都在 3.5mg/ml

左右，但以後其力價仍徐徐降低這些力價下降情況由表（四）、表（五）都可看出。

表（五）卡氏試劑在保存過程中力價逐漸降低

測定日期	試劑 NO	力價 mg/ml	測定日期	試劑 NO	力價 mg/ml
1954. 2. 13	3	3.538	1954. 6. 15	3	2.123
1954. 3. 3	3	3.791	1954. 8. 10	5	3.219
1954. 4. 21	3	3.172	1954. 9. 14	5	3.125
1954. 4. 29	3	3.170	1954. 9. 16	5	3.032
1954. 5. 4	3	3.033	1954. 9. 18	5	2.929
1954. 6. 10	3	2.189	1954. 9. 20	5	2.80

### 3. 測定手續及滴定終點

準確稱取約 0.2 克樣品置於乾燥的 50ml 帶塞三角瓶中，加 5ml 脫水甲醇，振盪放置 10 分鐘用卡氏試劑直接滴定，當接近終點時，溶液由輕微的淡黃色漸轉為橘黃色繼續滴定直至紅棕色的顏色固定不變，此時便到達終點。根據下式計算樣品中含水量。

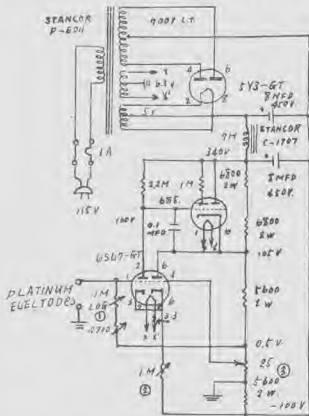
$$S = \frac{(A-B) \times K}{W \times 100} \times 100 \quad A = \text{樣品及甲醇所用試劑 ml 數}, \quad B = \text{甲醇所用試劑之 ml 數}, \\ W = \text{樣品重量}, \quad S = \text{所求含水量}\%$$

為了能正確的判斷滴定終點除用肉眼觀察外，並輔以電量法先試用了“靜止電法”<sup>(2)(9)</sup>，後來參閱文獻<sup>(3)(4)(5)</sup>制作了電眼終點指示器協助區別終點。

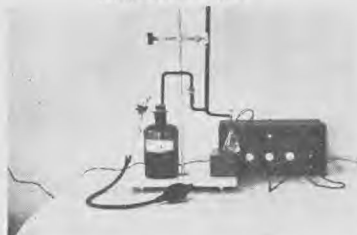
電眼終點指示器，係由三個普通的電子管和一只變壓器組成。5Y3—GT 電子管在電路裡擔當着全波整流工作，即將 350 伏特的交流電，變成脈動電流，然後通過濾波器變為穩定的直流電流，供給全部電路及其它的兩只電子管使用。6E5 電子管（電眼）在本儀器中起着指示終點的作用，相等於一般儀器的電流計，其特點很靈敏，雖然在很小的電位差下，亦同樣可以使螢光屏的陰影張大和閉縮。6SL7—GT 為雙三極電壓放大管，本儀器是將雙三極管分開使用：一支三極管擔當着來自白金電極電位的放大作用，通過屏極來影響 6E5 的柵極，從而使 6E5 的螢光屏發生變化，當白金電極之間產生 0.1mv 的電位差，就可以使 6E5 的螢光屏的陰影發生完全的閉縮和張大，所以較一般的電流計靈敏。6SL7—GT 的另一只三極管是用來穩定 6E5 電子管的陰極，使陰極偏壓保持恒定，以免由於電源的變化使螢光屏的陰影角度不穩定，因為 6SL7—GT 其陰極是採取並聯接法，當陰極電壓發生變化時兩只三極管的屏極，均按相同的比例變化，所以 6E5 的陰極偏壓和柵極電位也相應的變化，因此螢屏的陰影角度不受影響。其詳細線路如圖（三）、整個儀器盛入金屬箱內如圖（四）所示。儀器上使用的白金電極係兩根粗為 NO.18 的白金絲，封入玻璃管內，一只接於具有高阻抗的金屬隔離綫，另一只接於隔離綫的地綫（即接於儀器外皮上）。電極間的距離應保持 1 厘米，固定在絕緣度較高的膠塞上。使用時，先調整 25Ω 的零點調節器（如圖（三）③），使 6E5 電子管的螢光屏陰影角度剛完全開大或者剛好關閉，然後調整 1MΩ 的補償調節器（如圖（三）④），使螢光屏陰影角度剛好關閉或者開大。此調節器除非在換電子管時調整外，一般不須調整。但調整時應將電極取下，然後再調整。極化調節器（如圖（三）①），同樣也是 1MΩ 的電位器，串接在第一個三極管的柵極上，控制着輸入電位差的大小，

一般不換用白金電極時也不必經常調整。

滴定時，將插有滴定管尖端及白金電極之膠塞，接在裝有樣品之滴定瓶上接通電路調整零點調節器，使電眼剛剛關閉。用卡氏試劑滴定直至電眼陰影角度全開。



圖(三) 電眼終點指示器線路圖



圖(四) 電眼終點指示器及滴定裝置。

靜止點法所用簡單電路如圖(五)所示，B 為 1.5V 乾電池，R 為 2000 歐姆變阻器，G 為 50mA 的電流計，E 為白金電極，兩白金電極浸入被檢溶液，調整變阻器使通過 5~110mA 的直流電流。在滴定過程中每當滴加卡氏試劑時電流計指針暫時偏轉，但立即返至原位，當達到終點時微過量的卡氏試劑使電流增大至 50mA 以上，電流計指針偏轉至刻度以外並能保持較長時間。

圖(五) 靜止點法線路圖



IV. 乾燥製品測定結果  
取本所乾燥製品鼠疫活  
菌苗及血清分別用熾箱法與  
卡氏法測定之，全部結果列  
表(六)。

表(六)

測定日期	試種 NO (乾燥鼠疫 活菌苗)	烘箱法%	卡氏法%	差數±%	測定日期	試種 NO (乾燥鼠疫 活菌苗)	烘箱法%	卡氏法%	差數±%
1954. 2.23	5-1-11	1.800	1.75	+ 0.050	1954. 9.28	28-1-29	2.93	2.19	+ 0.74
1954. 2.23	141-3-2	2.434	2.238	+ 0.176	1954. 9.28	30-2-27	2.23	2.32	- 0.09
1954. 2.23	141-3-49	2.737	2.834	+ 0.103	1954. 9.28	30-2-37	2.955	3.30	- 0.34
1954. 2.23	147-7-32	3.25	3.11	+ 0.14	1954. 9.28	30-2-30	3.52	2.46	+ 0.06
1954. 2.23	141-3-27	2.089	2.44	+ 0.35	1954. 9.28	30-1-19	3.10	2.66	+ 0.44
1954. 2.23	146-2-48	2.086	2.071	+ 0.01	1954. 9.28	30-1-30	2.84	2.87	+ 0.08
1954. 2.23	149-2-40	3.50	3.206	+ 0.20	1954. 9.28	30-1-3	3.28	2.63	+ 0.60
1954. 2.23	24-2-30	1.78	1.409	+ 0.37	1954. 9.28	31-1-36	2.774	3.06	- 0.28
1954. 2.23	24-2-51	2.667	2.614	+ 0.04	1954. 9.28	31-2-6	3.01	3.33	- 0.32
1954. 2.23	24-1-44	2.00	1.574	+ 0.42	1954. 9.28	31-2-14	3.11	3.55	- 0.41
1954. 2.23	25-1-32	2.13	1.576	+ 0.55	1954. 9.28	31-1-47	3.48	3.26	+ 0.22
1954. 2.23	24-1-38	2.08	1.34	+ 0.74	1954. 9.28	31-1-31	2.64	3.12	- 0.48
1954. 2.23	25-3-40	2.11	1.509	+ 0.60	1954. 9.28	31-2-45	3.07	3.51	- 0.44
1954. 2.23	25-3-15	2.34	1.507	+ 0.83	1954. 9.28	31-1-44	2.63	2.94	- 0.31
1954. 2.23	24-2-36	2.66	2.265	+ 0.37	1954. 9.28	32-2-32	2.75	3.02	- 0.27
1954. 2.23	25-1-22	1.80	1.445	+ 0.44	1954. 9.28	32-1-40	2.52	2.85	- 0.33
1954. 3. 1	25-2-39	1.69	1.41	+ 0.28	1954. 9.28	32-1-26	3.13	2.84	+ 0.29
1954. 3. 1	26-2-3	2.39	2.17	+ 0.22	1954. 9.28	32-1-39	2.58	2.479	+ 0.10
1954. 3. 1	26-1-7	2.038	1.847	+ 0.19	1954. 9.28	32-2-70	2.35	2.64	- 0.29
1954. 3. 1	26-3-30	2.06	2.037	+ 0.023	1954. 9.28	32-1-18	2.56	2.65	- 0.09
1954. 3. 1	27-2-29	2.40	2.10	+ 0.3	1954. 9.28	32-3-46	3.50	2.93	+ 0.66
1954. 3. 1	27-1-2	1.66	1.66	+ 0.00	1954. 9.28	32-1-5	3.26	3.01	+ 0.25
1954. 3. 1	26-3-51	1.56	1.46	+ 0.10	1954. 9.28	32-2-28	2.58	2.87	- 0.29
1954. 3. 1	27-1-42	1.73	1.34	+ 0.39	1956. 9.25	168-1	1.735	1.92	- 0.18
1954. 3. 2	26-3-27	2.10	1.488	+ 0.61	1956. 9.25	168-1	1.78	1.53	- 0.15
1954. 3. 2	26-1-48	1.88	1.228	+ 0.65	1956. 9.25	169-1	2.306	2.36	+ 0.036
1954. 3. 2	26-2-42	1.98	1.82	+ 0.16	1956. 9.26	168-2	1.77	1.70	+ 0.07
1954. 3. 2	27-2-36	1.59	1.278	+ 0.31	1956. 9.26	168-2	1.67	1.68	- 0.01
1954. 5. 2	20-1-22	2.29	2.35	+ 0.04	1956. 9.26	169-2	1.77	1.79	- 0.02
1954. 5. 2	X-1	1.537	1.92	- 0.38	1956. 9.26	169-2	1.67	1.92	- 0.25
1954. 5. 2	X-4	1.54	1.32	+ 0.22	1956. 8.13	33A-5	11.36	10.80	+ 0.56
1954. 5. 2	X-8	2.80	2.10	0.70	1956. 8.13	33A-6	13.16	13.5	- 0.34
1954. 6.15	5-4	2.62	2.31	+ 0.31	1956. 8.13	33A-11	13.68	14.19	- 0.51
1954. 9.28	28-1-22	2.546	2.59	- 0.04	1956. 8.15	33A-24	13.63	13.64	- 0.01
1954. 9.28	28-1-20	2.303	2.77	- 0.46	1956. 8.25	33A-15	8.35	8.13	+ 0.22
1954. 9.28	28-1-3	2.615	2.66	- 0.24	1956. 8.25	33B-5	14.40	14.90	- 0.50
1954. 9.28	28-1-44	2.18	2.72	- 0.55	1956. 8.25	33A-10	12.71	13.71	- 0.46
1954. 9.28	28-1-36	43.53	2.887	+ 0.64	1956. 8.27	33A-8	14.68	14.40	+ 0.28
1954. 9.28	28-1-14	2.16	2.93	- 0.76	1956. 8.27	33A-8	11.09	10.77	+ 0.32
1954. 9.28	29-2-61	2.37	3.10	- 0.73	1956. 8.27	33B-2	14.72	14.15	+ 0.57
1954. 9.27	29-1-6	2.148	2.45	- 0.30	1956. 8.27	29-3	13.2	13.70	- 0.5
1954. 9.27	29-1-24	2.805	3.50	- 0.78	1956. 8.27	40-10	13.21	13.49	- 0.28
1954. 9.27	29-1-46	2.80	2.52	+ 0.37	1956. 9. 5	46-8-2	7.10	6.81	+ 0.29
1954. 9.27	29-2-39	2.75	2.826	+ 0.22	1956. 10.5	46-7-3	7.16	7.46	0.00
1954. 9.28	92-2-10	3.19	3.93	- 0.74	1956. 10.5	40-9	10.28	10.76	- 0.48
1954. 9.28	92-2-18	2.56	3.08	- 0.51	1956. 10.7	11-9	12.82	3.33	- 0.51
					1956. 10.7	42-2	8.49	8.71	- 0.51

說明一、乾燥鼠疫活菌苗爲76件，乾燥破傷風血清爲17件（爲過期的藥品），共爲93件。  
說明二、在差數欄內，烘箱法數值高於卡氏者用(+)號表之，反之以(-)表之。

## 結果及討論

本文所介紹的電熱炸安瓶器是比較容易製備的。使用起來較打碎或其他炸裂的辦法都較迅速安全，沒有粉碎的玻璃片四濺或混入樣品中的危險。

關於卡氏試劑標定問題，因試劑不穩定需經常標化，一般常用甲醇標準水標化法<sup>[6]</sup>。標準水是容易揮發的，體積尤易受溫度影響而改變，在實驗室中因不易保存需經常配制。Neuss 等<sup>[1]</sup>試驗了一系列含有結晶水的化合物用作基礎標準物質標定卡氏試劑，發現了含兩分子結晶水的酒石酸鈉是最適宜的。因為它所含結晶水在不同溫度下是穩定的而且接近於理論值，其含水量可以在 150°C 烘箱內烘烤 3 小時或至恒量而確知之。雖然它本身較不易溶於純甲醇中但其所含結晶水是可以迅速而且定量的與卡氏試劑起反應，在甲醇溶液中滴定終點是明確的。由表(三)可以看出勿論用致力廠品，本室品及再結晶品在 150°C 烘箱中所測的水份含量都極近似而且接近於理論值 15.66%，基本上證明 Neuss 等所選用的酒石酸鈉是合用的。但我們測定數值誤差略大，這可能是由於酒石酸鈉不純的緣故。在實驗室中如能利用較純的酒石酸鈉試劑，經烘箱法測定其水分在  $15.66 \pm 0.05\%$  範圍內，用來標化卡氏試劑是較便利而且準確的。

關於卡氏試劑滴定終點問題首先有 Fischer, Smith, Bryant, 及 Mitchell 等<sup>[7]</sup>利用微過量之試劑使被滴定液由淡黃色變至紅褐色，以肉眼觀察之。Almy, Griffin 及 Wilcox<sup>[8]</sup>對有色檢品採用電位差滴定法測定終點，用白金及鎳作電極，諸家們指出該法較肉眼觀察準確，但其操作手續較繁，用 Beckman pH 計測定既不經濟，在終點時，E. M. F. 的變化亦太小，僅 20mV。後來 Wernimont 及 Hopkins<sup>[9]</sup>應用了“靜止點”法(Dead stop)。並且指出可以得到明確的終點，其結果較肉眼觀察為準確，操作較電位差法為簡。靜止點法所根據的事實是當加 10mV 之 E. M. F. 於浸入卡氏試劑之白金電極，用標準水逆滴定之，試劑過剩時有電流通過，使電流計指針偏轉超出刻度，到達終點時則突然回至零點。Mckinney 及 Hall<sup>[3]</sup>將此法改良，利用電眼(magic eye)代替電流計指示反應終點。後來 Kieselbach 對電路又作了若干改進，消除了因電源變化而引起的電眼晃動和不穩定。

肉眼觀察終點的方法是簡便的，適用於日常分析工作，(對無色的樣品)但對初次測定者也不是沒有困難的。因在直接滴定過程中反應生成物是黃色的，微過量之試劑往往使礦所呈現的褐色終點不易辨明，又因在非水溶液中，不能用澱粉作礦的指示劑。所以初次測定者用肉眼觀察礦所呈現的褐色終點，特別在含水濃度較高時，需經多次試驗觀察或藉助於電量法。

我們參照了 Wernimont 及美國藥典 14 版所載裝配了“靜止點”法的滴定裝置。這種裝置使用簡便而且能明顯的指示終點，滴定結果與肉眼觀察法是一致的。“電眼終點指示器”是根據 Kieselach 的設計線路制作的，用電眼指示終點應是敏銳的，但在我們試用過程中未得到滿意的結果，因電眼的張閉或關閉往往不能將滴定終點正確的指示出來，這其中的原因尚需進一步的研究。由於我們不利用標準水標化試劑，所以未進行逆滴定。因設備的限制白金電極和滴定瓶的接裝不夠完善，也是造成使用上發生困難的因素之一。所以在測定中仍以肉眼觀察法為主但利用這些裝置輔助我們更快的，更正確

的掌握了滴定終點。

烘箱法與卡氏法測定結果比較：統計93件乾燥製品測定結果，烘箱法測定成績較卡氏法高者為51件，佔總件數54.8%，差異範圍最高達0.83%，最低為0.01%，平均高0.328%。烘箱法測定成績較卡氏法低者為40件，佔總件數43.0%，差異範圍最高達0.78%最低為0.01%，平均低0.361%。成績相同者兩件佔總件數2.15%。

由上述結果烘箱法測定成績較高者，僅佔50%強，並非肯定的高於卡氏法。兩法測定結果差異範圍較廣，並無一定比例關係。烘箱法測定數值較卡氏法無論高者或低者平均都在左 $\pm 0.3\%$ 右，最高不超過 $\pm 0.8\%$ 。也說明了本室在利用烘箱法測定水份期間測定數值也是高低互見的，其誤差也在這個範圍之內。

烘箱法的測定誤差來源是多方面的，如樣品中除水份外其他揮發性物質的存在，或因加溫分解而生成揮發性物質等能引起高水份值，而脂肪，類脂質等的自動氧化又能引起低水份值。在實際測定中我們也曾注意到因乾燥鼠疫菌苗中含有10%蔗糖而發生焦糖氣味，在水份含量較多時更為顯著。脂肪，類脂質等也是經常存在於血清中的。所以烘箱法所測得的數值稱之為“乾燥失重”較為合理。另外在本試驗中所用之乾燥樣品不夠均勻，因每一安瓶含樣品量較少（乾燥鼠疫菌苗約0.04克），而且每個瓶內的樣品含水量又不一致，所以也給測定結果帶來一定誤差。

## 提 要

本文報告了自制的電熱劑安瓶器，電眼終點指示器，及“靜止點”法的滴定裝置，並介紹了這些裝置的使用情況。

在卡氏測定法中證明了含兩分子結晶水的酒石酸鈉作為基礎物質標化卡氏試劑，較一般用的標準水法更為便利，酒石酸鈉所含結晶水是穩定的，而且容易保存。關於滴定終點問題除用肉眼觀測外，並輔以電量法。

我們比較了93件乾燥製品的水份測定結果，烘箱法測定成績較高者僅佔50%強並非肯定的高於卡氏法。兩法測定結果之差平均在 $\pm 0.3\%$ 左右。

## 參 考 文 獻

- (1) Neuss, J. D., O' Brien, M.G. and Frediani, H.A.: Anal. Chem. 1951, 23: 1332.
- (2) Pharmacopeia of the United States of America, 1950, 14th Revision, pp795—7.
- (3) McKinney, C.D. and Hall, R. T.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 1943, 15: 460—2.
- (4) Kieselbach, R.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 1946, 18: 726—7.
- (5) Kieselbach, R.: Anal. Chem. 1949, 21: 1578—9.
- (6) Mitchell, J. and Smith, D. M.: "Aquametry", New York, Interscience Publishers, 1948.

- [ 7 ] Smith, D. M., Bryant, w. M. D. and Mitchell, J.Jr.: J. Am. Chem. Soc. 1939, 61:2407—12.
- [ 8 ] Almy, E. G., Griffin, W. C. and Wilcox, C. S.: Ind, Eng. Chem. Anal. Ed.1940, 12:392—6.
- [ 9 ] Wernimont, G, and Hopkinson, F. J.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 1943, 15: 272; 1940, 12: 308.



# 生物製品 pH 測定

尙之二 崔錦家

pH 的比色測定法經 Clark 及 Lubs<sup>(1)</sup> 等氏的研究早已廣泛的應用到生物學實驗室中。這是一個操作比較簡單而迅速的方法，但也有不少缺點，如因蛋白質、鹽類、混濁，着色等而易引起誤差<sup>(2)</sup>。本所各生產科室測定培養基，生物製品等的 pH 亦多用比色法，測定結果往往不一致，特別在 1953 年曾因 pH 測定影響到產品的鑑定合格問題。1954 年本室增添 Beckman 及 marconi pH 計各一台，遂利用此等 pH 計與比色法作了比較試驗，在比色法的操作中幾乎一切樣品都是經過稀釋後測定的，所以又觀察了稀釋度對 pH 變化的影響並比較了二三種比色用的指示劑。

## 實驗方法

一、比色法——利用 Hellige 比色盤法。

1. 儀器：比色箱及 Hellige 比色盤，如 B.T.B. 比色盤，P.R. 比色盤，M.N.P. 比色盤等。

2. 指示劑之配製<sup>(3)</sup>：

(1) 溴麝香草酚蘭(B.T.B.)指示劑：稱 0.1g 溴麝香草酚蘭置瑪瑙乳鉢中，加 N/20 NaOH 3.2ml 研磨，溶解後，用新沸過之冷蒸餾水稀釋成 250ml (即 0.04%) 保存於有玻璃塞瓶中，密閉，放置暗處。用時每 10ml 樣品加 0.5ml 指示劑，(按 Hellige 比色盤規定量)，pH 範圍為 6.0—7.6。

(2) 酚紅(P.R)指示劑：稱 0.1g 酚紅置瑪瑙乳鉢中加 N/20NaOH 5.7ml 研磨，溶解後，用新沸過之冷蒸餾水稀釋成 500ml (即 0.02%) 保存於有玻璃塞瓶中，密閉，放置暗處。用時每 10ml 樣品加 0.3ml 指示劑，(按 Hellige 比色盤規定量)，pH 範圍為 6.8—8.4。

(3) M.N.P.(Meta-Nitrophenol)指示劑：稱 0.3g M.N.P. (Oc1ccc(cc1)[N+](=O)[O-]) 置瑪瑙乳鉢中研磨，溶解後用新沸過之冷蒸餾水稀釋使成 100ml。用時每 6ml 樣品加 1ml 指示劑。pH 範圍為 6.8—8.4。

3. 測定手續：將選用的比色盤按裝在比色箱內。取下比色箱中之甲、乙兩比色管，各準確加入樣品 10ml 或取一定量樣品加蒸餾水稀釋成 10ml。於甲管中加一定量的指示劑，(指示劑應與比色盤一致)，放在比色箱之一邊。乙管為對照管(不加指示劑)放在與比色盤有色玻璃相重合之一邊。轉動比色盤，自觀測鏡中觀測，至有色玻璃與比色管甲之顏色一致時，讀取其 pH 值。

## 二、電測法

在實驗中利用了 Beckman H 型 pH 計的小型玻璃電極，及 marconi TF 511 D 型的測定儀部分。小型玻璃電極使用樣品少，每次測定約需 5ml，不測定時浸電極於蒸溜水中，以保持玻璃薄膜中不對稱電勢在一定值。marconi 測定儀可讀至 0.02 pH 刻度。該儀器是用  $\text{pH} 7.00 \pm 0.04 (25^\circ\text{C})$ ,  $\text{pH} 6.50 (15^\circ \sim 25^\circ\text{C})$  兩種標準緩衝液校正的。(該緩衝液係 Beckman 及 marconi pH 附帶的)。爲了試驗該儀器的精密度曾配製了 Sorensen 氏磷酸鹽緩衝液，取各種 pH 值之緩衝液，測定三次，計算出平均值，並求出每一測定之平均偏差。

## 緩衝液之配製

$\frac{M}{15} \text{-KH}_2\text{PO}_4$ ml	$\frac{M}{15} \text{-Na}_2\text{HPO}_4$ ml	pH	$\frac{M}{15} \text{-KH}_2\text{PO}_4$ ml	$\frac{M}{15} \text{-Na}_2\text{HPO}_4$ ml	pH
28.5 27.0	1.5 3.0	5.79 5.91	13.5 12.0	16.5 18.0	6.89 6.98
25.5 24.0	4.5 6.0	6.09 6.24	19.5 9.0	19.5 21.0	7.06 7.17
22.5 21.0	7.5 9.0	6.37 6.47	7.5 6.0	22.5 24.0	7.23 7.38
19.5 18.0	10.0 12.0	6.56 6.64	4.5 3.0	25.5 27.0	7.48 7.73
16.5 15.0	13.5 15.0	6.74 6.81	1.5	28.5	8.04

## 緩衝液 pH 值測定

緩衝液 pH	玻 璃 電 極 測			平 均	平均偏差
	第 一 次	第 二 次	第 三 次		
5.79	pH 5.81	5.81	5.83	5.82	0.01
5.91	6.00	6.01	6.03	6.02	0.013
6.09	6.18	6.18	6.18	6.18	0.00
6.24	6.32	6.33	6.30	6.32	0.01
6.37	6.48	6.49	6.47	6.48	0.006
6.47	6.43	6.45	6.47	6.44	0.016
6.56	6.55	6.57	6.57	6.56	0.01
6.64	6.64	6.65	6.66	6.65	0.006
6.74	6.74	6.74	6.76	6.75	0.01
6.81	6.82	6.83	6.84	6.83	0.006
6.89	6.85	6.88	6.71	6.88	0.066
6.98	6.96	7.00	7.02	6.99	0.023
7.06	7.05	7.10	7.10	7.07	0.026
7.17	7.14	7.19	7.19	7.16	0.026
7.23	7.25	7.30	7.30	7.27	0.026
7.38	7.35	7.39	7.40	7.38	0.026
7.48	7.54	7.56	7.55	7.55	0.006
7.73	7.72	7.72	7.72	7.72	0.000

### 結果及討論

取本所出品的菌苗，疫苗，血清，等分別用蒸溜水及 0.9% 生理鹽水稀釋至 2.3.5. 10，用比色法及玻璃電極法測定 pH，在比色法會使用 2 或 3 種指示劑作比較。稀釋用的蒸溜水和生理鹽水都是使用前暴露於空氣中用玻璃電極測定的，蒸溜水的 pH 範圍為 5.62~6.40，生理鹽水的 pH 範圍為 6.95~6.75 實驗室的溫度為 10°—20°C，因設備所限未能在恆溫下進行，但同一樣品的稀釋和測定則是在同一溫度下完成的。每次使用的蒸溜水及生理鹽水的 pH 溫度等都記在備考欄內，測定結果列下表。

### 實驗結果

實驗標品	稀釋液及稀釋倍數		比 色 法			電測法	備 考
	蒸溜水	食鹽水	B.T.B.	P.R.	M.N.P.	玻璃電極	
痢疾噬菌體	0X		7.6-	7.6-		7.54	溫度為13°C蒸溜水pH5.62 食鹽水pH6.52試料299批 1954.4.6.測
		2X	7.6-	7.6-		7.53	
		3X	7.4+	7.6-		7.51	
		5X	7.4+	7.5		7.48	
		10X	7.4-	7.4-		7.38	
	2X		7.6-	7.6-		7.50	
		3X	7.5	7.6-		7.45	
		5X	7.5	7.0-		7.40	
		10X	7.4	7.6-		7.22	
		痢疾噬菌體	0X		7.6-	7.6-	
2X	7.6-			7.6-		7.59	
3X	7.4+			7.6-		7.58	
5X	7.4			7.4+		7.54	
10X	7.4			7.6-		7.5	
2X			7.6-	7.6-		7.56	
	3X		7.5	7.6-		7.53	
	5X		7.4+	7.5		7.47	
	10X		7.4	7.4		7.4	
	菌 苗		0X		7.0+	7.2+	7.0
2X		7.2-		7.2+	7.0	7.20	
3X		7.2+		7.4-	7.0	7.25	
5X		7.2-		7.1	7.0	7.27	
10X		7.0-		7.0+	7.0	7.02	
2X			7.1	7.2+	7.0-	7.14	
		3X	7.1	7.2+	7.0	7.13	
		5X	7.0+	7.1	7.0	7.08	
		10X	7.0-	7.1	7.0	6.98	

續表

實驗樣品	稀釋液及稀釋倍數		比 色 法			電測法	備 考
	蒸留水	食鹽水	B.T.B.	P.R.	M.N.P.	玻璃電極	
霉 菌 苗	0X 2X 3X 5X 10X		7.0+	7.2+		7.16	溫度 13°C 蒸留水 pH6.2 食鹽水 pH6.64 試料北京天壇 1954.12 測
			7.2+	7.4-		7.28	
			7.2+	7.6		7.26	
			7.0+	7.2+		7.25	
			7.0-	7.2+		7.19	
	2X 3X 5X 10X	7.2-	7.2+		7.17		
		7.2-	7.2		7.14		
		7.1	7.2		7.12		
		7.0-	7.0+		6.92		
傷 寒 菌 苗	0X 2X 3X 5X 10X		7.0-	7.2-		6.90	溫度 10°C 蒸留水 pH6.2+ 食鹽水 pH6.1+ 試料 13~2 1954.3.29 測
			7.1-	7.2-		7.05	
			7.1	7.2-		7.10	
			7.1	7.2-		7.15	
			7.0+	7.0-		7.20-	
	2X 3X 5X 10X	7.0-	7.0+		6.9-		
		7.0-	7.1		6.9		
		7.0-	7.1		6.9		
		7.0-	7.1		6.9		
		7.0-	7.1		6.9+		
傷 寒 菌 苗	0X 2X 3X 5X 10X		7.0-	7.0+		6.98	溫度 15°C 蒸留水 pH6.3 食鹽水 pH6.75 新蒸留水 pH5.7 試料 18-6 1954.4.13 測
			7.0+	7.2-		7.08	
			7.0+	7.2		7.11	
			7.2-	7.2-		7.15	
			7.2-	7.2-		7.19	
	2X 3X 5X 10X	7.0-	7.2-		6.97		
		7.0-	7.0+		6.97		
		7.0-	7.0+		6.96		
		7.0-	7.0+		6.94		
		7.0+	7.2-		7.04		
2X 3X 5X 10X	7.0+	7.2-		7.08			
	7.0+	7.2-		7.12			
	7.0+	7.0+		7.16			
百 日 咳 菌 苗	0X 2X 3X 5X 10X		7.0+	7.2+	7.2-	7.12	溫度 10°C 蒸留水 pH6.23 食鹽水 pH6.4 試料 6~5
			7.1	7.3	7.2-	7.23	
			7.2+	7.3	7.0+	7.27	
			7.3	7.3	7.0+	7.30	
			7.3	7.3	7.0+	7.32	
	2X 3X 5X 10X	7.1	7.2+	7.0+	7.14		
		7.2-	7.2+	7.0+	7.13		
		7.2-	7.2+	7.0	7.10		
		7.2-	7.2+	7.0	7.06		

續 表

實 驗 樣 品	稀釋液及稀釋倍數		比 色 法			電 測 法	備 考
	蒸 滷 水	食 鹽 水	B.T.B.	P.K.	M.N.P.	玻璃電極	
百 日 咳 菌 苗	0X		7.0+	7.2+		7.12	溫度 16°C 蒸滷水 pH6.08 食鹽水 pH6.4 試料 67-2,7-7 1954.4.16測
	2X		7.2	7.4-		7.18	
	3X		7.2+	7.4-		7.21	
	5X		7.2+	7.4-		7.25	
	10X		7.2+	7.4-		7.28	
		2X	7.2-	7.3		7.30	
		3X	7.2-	7.2+		7.08	
		5X	7.2-	7.3		7.14	
		10X	7.2-	7.2+		7.12	
	鼠 疫 菌 苗	0X		—	—	—	
2X			6.6-	7.0+	7.0	7.16	
3X			6.6+	7.0+	7.0	7.16	
5X			6.6+	7.0+	7.0	7.16	
10X			6.6+	7.0+	7.0	7.14	
		2X	6.6	7.0+	7.0	7.20	
		3X	6.8	7.0+	7.0	7.17	
		5X	6.8+	7.0+	7.0	7.18	
		10X	6.9-	7.0+	7.0	7.10	
鼠 疫 菌 苗		0X		—	—		7.00
	2X		6.7	7.0-		6.99	
	3X		6.6+	7.0-		6.88	
	5X		6.6+	6.8+		6.88	
	10X		6.6+	6.8+		6.95	
		2X	6.8-	7.0+		6.87	
		3X	6.8-	7.0+		6.64	
		5X	6.8-	7.0+		6.90	
		10X	6.8+	7.2-		6.83	
	日 服 卡 介 苗	0X		6.8-	7.2-		7.15
3X			6.8+	7.0+		7.1	
5X			6.8+	7.0-		7.1	
10X			6.9	6.9		7.0	
		3X	6.8-	7.0+		6.87	
		5X	6.8+	7.0-		6.82	
		10X	6.8-	—		6.7	
皮 內 卡 介 苗	0X		7.4-	7.5	7.4-	7.60	溫度 20°C 試料 61批
	2X		7.3	7.4-	7.2+	7.60	
	3X		7.3	7.4-	7.2	7.55	
	5X		7.2-	7.2+	7.2	7.43	
	11X		7.0+	7.2	7.1	7.28	
		2X	7.4-	7.4+	7.2+	7.47	
		3X	7.4-	7.4+	7.2	7.43	
		5X	7.2+	7.4+	7.2-	7.35	
		10X	7.2	7.4-	7.1	7.22	

續 表

實 驗 樣 品	稀釋液及稀釋倍數		比 色 法			電 測 法	備 考
	蒸 溜 水	食 鹽 水	B.T.B.	P.R.	M.N.P.	玻璃電極	
斑 疹 傷 寒 疫 苗	0X		(B.C.G) 6.0-			6.08	溫度 11°C
	2X		6.2-			6.20	蒸餾水 pH6.23
	3X		6.0-			6.22	食鹽水 pH6.45
	5X		6.0-			6.25	試料 34-3
	10X		6.0-			6.33	35-1
		2X	6.2			6.35	1954.4.5 測
		3X	6.0			6.33	
		5X	6.4-			6.37	
		10X	6.4-			6.39	
	斑 疹 傷 寒 疫 苗	0X		B.T.B 7.0-		7.0+	6.94
2X			7.0+		7.1	7.04	試料:新製品
3X			7.1		7.1	7.05	1954.5.21測
5X			7.1		7.2-	7.10	
10X			7.1		7.2-	7.05	
		2X	7.0		7.0+	6.93	
		3X	7.0+		7.0+	6.94	
		5X	7.0+		7.0+	6.94	
		10X	7.1		7.0+	6.87	
白 喉 血 清		0X		-		-	6.98
	2X		6.3		7.0	6.98	試料 1344.15.
	3X		6.4-		7.0+	7.00	17.18.19.
	5X		6.4-		7.0+	7.01	1954.5.10.測
	10X		6.4-		7.0-	6.98	
		2X	6.3		7.0+	6.99	
		3X	6.4-		7.0+	6.96	
		5X	6.3		7.0+	6.94	
		10X	6.4-		7.0-	6.90	
	白 喉 血 清	0X		6.4-	7.2+		7.18
2X			6.4-	7.2+		7.22	試料 2.6.7.8.266.
3X			6.4	7.2		7.23	1954.5.18 測
5X			6.5	7.2+		7.26	
10X			6.6+	7.2+		7.27	
		2X	6.4-	7.2+		7.18	
		3X	6.4-	7.2+		7.18	
		5X	6.4+	7.2+		7.17	
		10X	6.6-	7.2+		7.15	

## 氣性懷疽原血清

NO	樣品種類及防腐劑	原液			10X 蒸餾水稀釋		10X 鹽水稀釋	
		電測	電測	比色(P.K)	電測	比色(P.K)	電測	比色(P.K)
1	V.S. 混 1 石炭酸	8.45	8.60	8.40	8.40	8.4	8.4	
2	V.S. 混 5 氟仿	8.2-	8.40	7.8-	8.20	8.2	8.2	
3	V.S. 混 5 氟仿-石炭酸	8.2-	8.40	8.0-	8.1+	8.2	8.2	
4	# 2 石炭酸	8.50	8.70	8.40	8.50	8.1	8.1	
5	V.S. 混 4 石炭酸	8.15	8.35	8.0-	8.20	8.2	8.2	
6	# 3 石炭酸	8.40	8.6-	8.2-	8.40	8.4	8.4	

為明確起見，各種製品的原液及10倍稀釋液用電測法與比色法測定結果可歸納為簡表(一)；用生理鹽水或蒸餾水稀釋其 pH 變化趨勢可歸納之為簡表(二)。

簡表(一) 原液及10倍稀釋液用電測法與比色法測定 pH 結果

樣品名稱	原液 pH (未稀釋)		10X 蒸餾水稀釋			10X 鹽水稀釋		
	電測	比色測	電測	差數	比色測	電測	差數	比色測
痢疾噬菌體	7.53	7.6-	7.22	-0.31	7.6-	7.38	-0.15	7.4+
	7.59	7.6-	7.40	-0.19	7.4	7.50	-0.09	7.6-
霍亂菌苗	7.08	7.0+	6.98	-0.10	7.0-	7.02	-0.06	7.0-
	7.16	7.0+	6.92	-0.24	7.0-	7.19	+0.03	7.0-
傷寒菌苗	6.90	7.0-	6.90	0.0	7.0-	7.20	+0.30	7.0+
	6.98	7.0+	6.94	-0.04	7.0-	7.19	+0.21	7.2-
百日咳菌苗	7.12	7.0+	7.06	0.06	7.2-	7.32	+0.20	7.3
	7.12	7.0+	7.12	0.0	7.2-	7.28	+0.16	7.2+
鼠疫菌苗	7.10	--	7.10	0.0	7.0+	7.14	+0.04	7.0+
	7.00	--	6.83	-0.17	7.2-	6.95	+0.05	6.8
卡介苗 (口服皮內)	7.16	7.2-	6.7	-0.46	--	7.0	-0.16	6.9
	7.6	7.5	7.22	-0.38	7.4	7.28	-0.32	7.2
斑疹傷寒疫苗	6.98	--	6.89	+0.31	--	6.83	+0.25	--
	6.94	7.00	6.87	-0.07	7.10	7.05	+0.11	7.10
白喉血清	6.98	--	6.90	-0.08	--	6.78	0.0	--
	7.18	7.2	7.15	-0.03	7.2+	7.27	+0.09	7.2+
氣性懷疽原血清	8.45	--	8.40	-0.05	8.4	8.6	+0.15	8.4
	8.20	--	8.20	0.0	8.2	8.40	+0.20	7.8-
	8.2-	--	8.1+	-0.1	8.2-	8.40	+0.20	8.0-
	8.50	--	8.50	0.0	8.4	8.70	+0.20	8.40
	8.15	--	8.20	+0.05	8.2-	8.35	+0.20	8.0-
	8.40	--	8.40	0.0	8.4	8.6-	+0.20	8.2-

註明：差數為原液及10倍稀釋液電測結果之差。(一)表示低於原液，(+)表示高於原液。

簡表 (二) 制品用生理鹽水及蒸溜水稀釋 pH 變化趨勢

樣品名	稀釋液 pH 變化	鹽水稀釋	蒸溜水稀釋	較合宜的指示劑 (測定結果與電測法接近)
痢疾噬菌體		pH 規律下降	pH 下降	p.R.
霍亂菌苗		變化較小規律下降	稀至 3X 逐漸上升, 稀至 5X, 10X 逐漸下降。	B.T.B.
傷寒菌苗		變化小略示下降	逐漸上升	B.T.B.
百日咳菌苗		變化小略示下降	逐漸上升	B.T.B.
鼠疫菌苗		變化小略示下降	變化小, 略示上升	P.R.
卡介苗 (口服皮內)		降低	降低	P.R. 或 B.T.B.
斑疹傷寒疫苗		變化小	上升	B.T.B.
白喉血清		變化小略示下降	變化小略示上升	P.R.
氣性壞疽原血清		10X 稀釋者電測法與比色法 (P.R.) 測定結果與原液 pH (電測) 相同。	10X 稀釋者, 電測較原液高 0.2, 比色測定則低 0.1~0.2。	P.R.

Cullen (1922) 將血清用生理鹽水 20 倍稀釋, 得到了比色測定法 (20°C) 與電測法結果 (氫電極, 38°C) 之差為一常數, 狗血清為 0.35pH, 人血清為 0.23 稱為比色校正值。Hasting 及 Sendroy (1924) 則報告了在同一溫度下 (38°C) 兩法測定結果一致。Bayliss, Kerridge 及 Verney (1926) 比較了血清透析液的比色法與玻璃電極法的測定結果差異範圍為 -0.25 ~ +0.25pH Johnston (1928) (4) 取狗的血清用 Cullen 的稀釋法及 Dale 及 Evan's 的透析法的比色測定結果與氫電極法作了比較, 其間差異並非一常數, 而且比色法高於電測法。Glaubiger 及 Falk (1940) (5) 用比色法與玻璃電極法測定了微生物培養基, 生物制品的 pH, 得到了電測與比色測之差異並不規律, 但不超過 0.3pH, 很多測定結果極為接近。由我們測定的幾種制品看, 比色法與玻璃電極法測得結果雖然不一致, 如選用適當的指示劑, 則相差很少, 一般不超過 0.2pH。原液的 pH 用兩法測定結果之差都在 0.1pH 以內, 說明一般的生物制品不經稀釋用比色法直接測定亦可得到較準確的結果。原血清用蒸溜水稀釋者兩法測定結果懸殊, 可差至 0.4pH, 用生理鹽水稀釋者則極為近似。

制品無論用生理鹽水或蒸溜水稀釋都能變更 pH。用生理鹽水稀釋時 pH 有降低趨勢, 但變化不大, 較有規律。用蒸溜水稀釋 pH 則有上升趨勢, 但不規律, 如百日咳, 傷寒菌苗等隨稀釋度的增加 pH 逐漸上升, 痢疾噬菌體, 卡介苗等下降, 霍亂菌苗則先上升後又下降。電測法與比色法的測定結果都顯示了同樣的 pH 變化趨勢。這些結果與 Glaubiger, Falk 的報告是一致的 (5)。

由簡表 (二) 可以很明顯的看出稀釋液 pH 與原液不同。制品用生理鹽水稀至 10 倍時, 其 pH 降低平均為 -0.11 (電測結果)



制品用蒸溜水稀釋至10倍時，其 pH 改變平均為  $\pm 0.15$  (電測結果)

制品用生理鹽水稀釋 pH 的變化較小，特別稀至 3, 8 倍時與原液 pH 相差極微 (在 0.05pH 以下) 故用比色法時以用生理鹽水稀釋至 2~3 倍較好適宜。氣性壞疽原血清因蛋白質含量高，用 10 倍鹽水稀釋，其電測與比色法測定結果都與原液一致。

在比色法中選擇指示劑的條件是它的顏色改變迅速明確，測定誤差小。Michaelis 設計的單色指示劑—Nitro phenol 類指示劑被認為有較小的蛋白質誤差，對於含有蛋白質的生物制品言可能是適宜的，故在本實驗中選用了變色範圍相同的兩類指示劑 P. R 及 M. N. P. (pH 6.8~8.4) 作了比較，結果還是 Sulfon phthalein 類變色指示劑 (P. R 等) 變色明顯，測定結果與玻璃電極符合，適宜於測定微黃色，渾濁之生物制品 pH。M. N. P. 單色指示劑，由無色變到黃色，因變色不明確，很難制定，測定結果與電測法懸殊。

## 提 要

用玻璃電極法及比色法測定了本所生物制品的 pH 值，兩法測定結果的差異一般不超過 0.2pH。

稀釋能變更 pH，用生理鹽水稀釋，降低 pH，但變化小，用蒸溜水稀釋增高 pH，變化不規律。

雙色性指示劑 (P. R, B. T. B.) 較單色性指示劑 (M. N. P.) 變色明顯，測定結果與電測法接近。

## 參 考 文 獻

- [1] Clark, W.M., and Lubs, H.A.: The Colorimetric Determination of Hydrogen Ion Concentration and Its Applications to Bacteriology. J. Bact. 1917, 2:109.
- [2] 藤田秋治: pH 測定の理論と實際, 第 3 版 1954.
- [3] 安東洪次: 比色的水素イオン濃度測定法及其實際的應用。
- [4] Johnston, C.G.: A comparison of pH Determinations as Obtained by Means of Hydrogen Electrode and Colorimetric Methods. J. Biol. Chem. 1928, 79:297—307.
- [5] Glaubiger, A. and Falk, K.G.: The Determination of pH Values of Biologic Fluids. I. II. J. Lab. & Clin. Med. 1940, 25:369—376, 1311—1319

## 由煙莖中浸提菸鹼試驗報告

許柏師 尙之二

### (一) 前 言

美帝正進行慘無人道的細菌戰爭，撒佈細菌，毒蟲等使我們人、畜、農作物等都受到侵害。目前我國農業殺蟲藥劑的工業產品尚供不應求，廣大的農村實需要一種自給自足的原料而又能自行調製的殺蟲劑以解救其隨時可能遭到的蟲害。本科曾取本市華勝煙草公司之煙莖（製造捲煙之廢屑，存量約兩噸）作菸鹼定量並參考多種浸提方法，試擬出一種操作簡便，不需特種藥物的浸提方法，便於在農村中實行，今將分析結果及浸提方法報告如下藉供貴會參考。

### (二) 煙葉、煙莖中菸鹼含量測定

試樣 煙葉 市上一般賣品，品種不詳，煙莖 華勝煙草公司廢品。

測定方法 取於 50°C 乾燥兩小時之試樣粉碎之，拌以極弱之酒精性苛性鈉溶液，用乙醚抽出五小時，蒸去乙醚加強鹼性溶液進行水蒸氣蒸溜，蒸溜液以  $\frac{N}{10}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 滴定之，計算菸鹼含量。

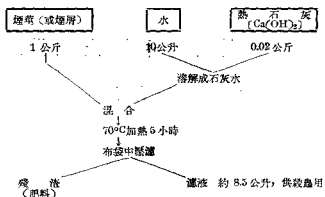
### 測 定 結 果

#### 菸 鹼 含 量

試 樣	最 高	最 低	平 均
煙 葉	1.59%	1.47%	1.53%
煙 莖	0.37%	0.29%	0.33%

### (三) 浸 提 方 法

取乾燥樣品（條件許可時於 50°C 中乾燥之）如煙莖、煙葉、煙屑等粉碎之，加極弱鹼性水溶液混合攪拌，於 70°C 時加熱五小時，然後用布袋壓搾濾過，得濾液即可供殺蟲之用，殘渣可用作肥料。其調制法可簡表之如下：



如原料為煙葉、煙莖的混合物用水量可酌增至30公升，再加相當於原料重量5%的熟石灰  $Ca(OH)_2$ ，依同樣方法操作之。農村中如無熟石灰，可加草灰或木灰濾液若干，以使其呈弱鹼性。

#### (四) 建 議

1. 本法可供目前農村中應急措施，因操作簡單農民可自行製備，惟菸鹼含量因煙草品種而異，所以水量應斟酌增減。

2. 華勝煙草公司及其他煙草公司之廢屑——煙莖等，以往各廠都當作燃料，當殺蟲藥劑不足的今天，工業部門應考慮利用該項原料，浸提菸鹼或製成硫酸菸鹼，以彌補農業用殺蟲藥劑之不足。

(1952. 5. 日報告旅大市防疫委員會)

# 利用肉渣和血塊試製細菌學用蛋白胨的試驗

楊鍾祺 梁作德

## 前 言

蛋白胨是適於細菌生長發育的營養物質之一，是細菌氮營養的最好來源。在細菌學的研究工作和生物製品的生產上，胨是不可缺少的原材料。目前國內尚無大量生產胨的工廠。現用之胨多為進口的英美和日本製品。

本女試驗的目的是利用肉渣和血塊試製適於細菌學用的蛋白胨。

蛋白胨是蛋白質水解的中間產物，其成分複雜依所用原材料和水解方法的不同而異。水解的方法很多：如胃酶水解法，胰酶水解法，胃胰酶聯合水解法，木瓜酶水解法以及微菌酶水解法等<sup>(1)</sup>。

製造肉水所餘的肉渣和分離血清所餘的血塊是生物製品研究所或細菌學實驗室的副產物，這些副產物中含有大量蛋白質，棄之實為可惜。我們為使這些副產物變成有用的胨，採用了胃酶水解法進行了製造蛋白胨的試驗<sup>(2)</sup>。

水解用的胃酶除採用了美國製的胃酶粉(1:3000)外還採用了新鮮的豬胃粘膜，在兩者的用量方面作了比較。

我們用製出的胨作了化學檢查和細菌學檢查並與國外製品作了對照比較。

茲將製造方法和化學檢查、細菌學檢查的結果報告如下。

### I 製 造 方 法

1. 消化水解：按表所記之量取肉渣或血塊各裝於 3 公升容量的圓形平底燒瓶內(共10瓶)，由各瓶中加入熱至 56°C 水道水 1.5 公升，然後按下表所記之量加入絞碎的豬胃粘膜或胃酶粉，混勻後加濃鹽酸至 pH1.5—2.0 (約需 25 毫升左右)。將 10 個燒瓶放入 40°C 的恆溫水槽中消化水解 50 小時，在消化期間裡，最初 5 小時每 1 小時搖盪一次，以後每隔 2—3 小時振盪一次。

表 I 原 材 料 用 量

試 驗 號	原 材 料		56° 水	豬 胃 粘 膜	胃 酶
	基 本 原 料				
肉 渣	1 號	肉 渣 410 克	1.5 L	90 克	2 克
	2 號	肉 渣 410 克	1.5 L		
	3 號	肉 渣 410 克	1.5 L		
	4 號	肉 渣 410 克	1.5 L		
	5 號	肉 渣 410 克	1.5 L		
血 塊	1 號	血 塊 410 克	1.5 L	180 克	2 克
	2 號	血 塊 410 克	1.5 L		
	3 號	血 塊 410 克	1.5 L		
	4 號	血 塊 410 克	1.5 L		
	5 號	血 塊 410 克	1.5 L		

2. 中和及濾過：將燒瓶放入恆水槽中放置60小時後，於各瓶中加入 20% NaOH 中和至 pH7.1—7.2 使消化停止並以 100°C 加熱 20 分鐘。然後用帆布濾過使消化液與殘渣分離，殘渣棄之。然後用濾紙濾過一次，肉渣消化液呈深黃色透明。血塊消化液呈深棕色且混濁，濾過較難，過濾兩三次才能使濾液澄清。

3. 蒸發：將上述濾液放入大蒸發皿內在水浴上蒸發濃縮。蒸發至原容積時，有時發生沉澱，用濾紙濾過除去之。濾液仍繼續蒸發直至成粘糊狀時為止。

4. 乾燥：將上述蒸發濃縮後所得的粘糊狀物，用玻璃棒打使起泡沫末然後塗於大平皿內或玻璃板上，放入減壓恆溫乾燥器內在 40°C 恆溫，60mmHg 壓力條件下乾燥，約需 8—9 小時即可完全乾燥，用刀刮下，以乳鉢研碎。用肉渣製成之臘為黃色粉末，用血塊製成者顏色較深為褐色粉末。

5. 收得量：用豬胃粘膜消化者，無論是肉渣臘還是血塊臘收得量皆較高，一般為 19—21%。用胃酶粉消化者，肉渣臘收量較高為 14—18% 而血塊臘收量則低，僅為 10% 左右。一般加胃粘膜或胃酶量大者收量較小者為多。

### II. 化學檢查

根據 Толенькова 氏的材料(2) 和美國藥典(3) 的方法用十種試製品進行了下列各項檢查並用日本製照內蛋白臘，Myo—Peptone 及美國製 Difco Bacto—protease—peptone 作對照比較，結果如下：

1. 可凝固蛋白質，脲，二縮脲反應，氮離子，重金屬，結合色氨酸，游離胺基質 (Indol) 及胱氨酸等項檢查，試製品和對照的國外製品都合於規定的標準。只有照內蛋白臘的胱氨酸試驗反應甚弱，蓋因照內蛋白臘中胱氨酸含量較低之故。

2. 總氮量，氮基氮量，灰分含量及水分含量如表 2。

2 表

項目	肉渣 1 號	肉渣 2 號	肉渣 3 號	肉渣 4 號	肉渣 5 號	血塊 1 號	血塊 2 號	血塊 3 號	血塊 4 號	血塊 5 號	日本製照內臘	美國製 Myo—Peptone	美國製 Difco Bacto—Protease—Peptone
總氮量	13.27 %	14.56 %	12.40 %	13.47 %	11.84 %	12.45 %	12.98 %	12.61 %	12.37 %	12.47 %	11.55 %	11.89 %	13.60 %
氮基氮量	1.36 %	2.39 %	1.08 %	1.11 %	1.01 %	1.98 %	2.17 %	1.0 %	0.78 %	0.90 %	2.87 %	1.36 %	1.33 %
灰分量	14.99 %	10.76 %	16.43 %	17.44 %	18.21 %	15.19 %	11.7 %	20.1 %	28.99 %	21.41 %	12.0 %	22.55 %	10.57 %
水分量	6.7 %	5.81 %	6.6 %	6.2 %	6.8 %	6.66 %	6.67 %	6.62 %	6.54 %	6.5 %	6.78 %	7.2 %	5.10 %

註：1) 總氮定量法為 Kjeldahl 氏法

2) 氮基氮定量法為 Sørensen 氏甲醛法

3) 灰分測定用美國藥典方法

4) 水分測定用 100°C 烘箱法。

### 討 論

根據美國藥典規定蛋白臘的總氮含量應不少於 14.2% 亦不得多於 15.5% 美製 Difco—Bacto Protease—peptone 總氮量為 13.6%。日製 Myo—peptone 為 11.89%，照內蛋臘

為 11.55% 皆不合美國藥典之規定。10 種試製品中總氮量最高者為 14.56%，最低為 11.84%。

從表 2 可以看出，氮基氮量與所加豬胃粘膜或胃海量之多少有關，加量愈多消化程度愈深氮基氮量亦愈大。日本照內腺氮基氮量為最高，蓋因係用胰液消化製成者。試製品之氮基氮含量與日本 Myo-peptone 及美國製 Difco-Bacto-protease-peptone 相近似。所有試製品和國外製品水分含量都合於規定（7% 以下），但灰分含量則都超過規定（5% 以下）。

### III 細菌學試驗

#### I. 細菌的發育情況

從十種試製品中選出 4 種具有代表性的腺，即肉渣 1 號（肉渣用豬胃粘膜消化者），血塊 1 號（血塊用豬胃粘膜消化者），肉渣 4 號（肉渣用胃海粉消化者）血塊 3 號（血塊用胃海粉消化者）。用上述 4 種試製品並用美國製 Difco-Bacto-Protease-Peptone 及日本製照內蛋白腺（本所生產中常用的）作對照比較，按本所生產菌苗最常用的處方製出鼠疫、霍亂、傷寒等培養基培養各該細菌，茲將細菌發育情況報告如下：

#### 1) 鼠疫菌發育情況

用上述 4 種試製品及二種國外製品，各製造鼠疫菌用固體培養基 1000 毫升分裝於 10 個乳瓶中，在同樣條件下接種同一鼠疫菌（EV 菌株），於 35° 培養 48 小時，後觀察發育情況結果如表 3。

表 3

試製品種類	肉渣 1 號	血塊 1 號	肉渣 4 號	血塊 3 號	照 內 腺	Difco-Bacto Protease-Peptone
發育程度	卅	+	卅	+	卅	卅

從表 3 可以看出，用肉渣製造者與照內腺相似，但次於美國製品。血塊製品質量較劣但亦可用。

#### 2) 傷寒菌發育情況

用上述 4 種試製品及 2 種國外製品各製造傷寒菌用固體培養基 1000 毫升分裝於 10 個乳瓶中及傷寒菌用液體培養基（普通肉湯）100 毫升分裝於二支大試管中。於各培養基中在同樣條件下接種同一傷寒菌，於 37°C 培養 24 小時後，將固體培養基上的菌刮下來秤重求出每個乳瓶的平均產量，液體培養基則觀察混濁程度，結果如表 4

試製品種類	肉渣 1 號	血塊 1 號	肉渣 4 號	血塊 3 號	照 內 腺	Difco-Bacto Protease-Peptone
每乳瓶中 平均產量	320mg	460mg	310mg	180mg	480mg	480mg/l
肉湯內發育程度	卅	卅	卅	卅	卅	卅

註：1) 每乳瓶，中平均產量可能因培養基厚度，接種量及接種面積之不同而產生誤差。  
2) 肉湯中的接種數一致。

從表 4 可以看出，在每個乳瓶中平均產量方面，血塊 1 號與國外製品近似而其他三種試製品產量較低，血塊 3 號最低。此種試驗誤差可能很大。

在肉湯中的發育程度方面，用肉渣製造者約與照內蛋白膿相等，但不如 Dicco—Bacto—Proteose—Peptone 用血塊製造者不如兩種國外製品，此結果與鼠疫菌的發育情況相符合。

### 3) 霍亂菌的發育情況

本試驗的方法除所用培養基按霍亂用培養培處方製造，菌種用霍亂弧菌外，其它方法與上項試驗完全相同。結果如表 5

表 5

藥品種類	肉 渣	血 塊	肉 渣	血 塊	照 內 膿	Dicco—Bacto Proteose—Peptone
	1 號	1 號	4 號	3 號		
每乳瓶中 平均產量	727mg	510mg	700mg	663mg	665mg	616mg
肉湯內發育程度	卅	卅	卅	卅	卅	卅

依表 5，在每個乳瓶中平均產量方面，兩種肉渣製品高於兩種國外製品，血塊 3 號與兩種國外製品相近似，血塊 1 號產量較低。

在肉湯中的發育程度方面的結果與傷寒菌的情況相同。

### 2. 生物化學反應試驗

#### 1) 靛基質(Indol)產生能力試驗

用上述四種試製品和兩種國外製品分別製造蛋白膿水(含腺 1%，食鹽 0.5%)分裝於小試管中每管 3 毫升。每種蛋白膿水均用產生靛基質陽性的大腸桿菌，Schmitz 氏痢疾菌，OX19No.1 變形桿菌及陰性的志賀氏痢疾菌各接種 5 支，於 37° 培養每隔 24 小時取出一支用 Ehrlich 氏試劑試驗一次，共觀察 5 天結果如表 6：

表 6

藥品種類	培 養 日 數	大 腸 桿 菌					Schmitz 氏 痢 疾 菌					OX19No.1 變 形 桿 菌					志 賀 氏 痢 疾 菌				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
肉 渣 1 號		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
血 塊 1 號		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
肉 渣 4 號		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
血 塊 3 號		-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
照 內 膿		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
Dicco—Bacto Proteose—Peptone		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

註：以下列各符號表示反應之強弱：

— 陰性    ± 可疑    + 陽性    卅 強陽性

依表 6，用豬胃粘膜消化製造的肉渣和血塊製品皆呈陽性靛基質反應。用胃海粉消

化者血塊 3 號在大腸桿菌的情況下於第 3 日才出現陽性反應，肉渣 4 號在 OX19No.1 變形桿菌的情況下於第四日才出現陽性反應。可見用胃酶粉消化製造的試製品產生胨基質的能力極低。

### 2) 硫化氫產生能力試驗

用上述四種試製品及兩種國外製品分別製造醋酸鉛培養基分裝於中試管內，每管 10 毫升。每種醋酸鉛培養基均用產生硫化氫陽性的乙型副傷寒菌及陰性的志賀氏痢疾菌各接種 2 支，觀察 5 天 (37° 培養) 結果如表 7

表 7

試品種類	培養日數	乙型副傷寒菌					志賀氏痢疾菌				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
肉渣 1 號		卅	卅	卅	卅	卅	---	---	---	---	---
血塊 1 號		卅	卅	卅	卅	卅	---	---	---	---	---
肉渣 4 號		卅	卅	卅	卅	卅	---	---	---	---	---
血塊 3 號		卅	卅	卅	卅	卅	---	---	---	---	---
照內藤 Difco—Bacto Proteose—Pepton		—	±	±	±	±	---	---	---	---	---
		卅	卅	卅	卅	卅	---	---	---	---	---

由表 7 可以看出，四種試製品的硫化氫產生能力皆甚強，可與美國製品 Difco—Bacto—Proteose Peptone 相比。日本照內藤的硫化氫產生能力極低，這一點與化學檢查之胱氨酸反應很弱相符合。

### 3) 可發酵糖類有無的檢查

用上述四種試製品及兩種國外製品分別製造蛋白胨水，分裝於小試管中每管 3 毫升。各取 5 支接種大腸桿菌並用加 1% 葡萄糖的照內藤水作對照，於 37° 培養，每隔 24 小時取出一支加溴麝香粉藍指示劑二滴，看是否有酸類產生，共觀察 5 天。

試驗的結果是，在四種試製品和兩種國外製品中皆未檢出可發酵的糖類。對照呈酸性反應。所以四種製品皆可供製造無糖肉湯和糖發酵培養基之用。

### 3. 破傷風菌的產毒能力試驗

以十種試製品中選出肉渣 2 號 (肉渣用胃粘膜消化者) 肉渣 3 號 (肉渣用胃酶粉消化者) 及血塊 2 號 (血塊用胃粘膜消化者) 等 3 種製品並用美國製 Difco—Bacto—Proteose—Pepton, 德國製 Witte—Peptone 及日本製 Poly—peptone 對照比較，按下列處方分別製成破傷風產毒培養基：

牛肉水 (稀釋 2 倍)	300 毫升
食鹽	0.5 %
肉膏	0.1 %
菸酸	0.001 %
蛋白胨	1.5 %
醋酸鈉	0.3 %
氯化鈣	0.01 %

pH=6.2

將上述以六種不同廠制成的培養基各 300 毫升分別裝入 250 毫升之圓形平底燒瓶中，均用同一破傷風菌接種，於 37° 培養兩天，產毒情況如表 8



表 8

試品種類	培養基號	離渣度 %	培日	養數	起 pH	後 pH	稀釋度	結果 M.L.D.
肉渣 2 號	43-3	1.5	2		6.2	6.7	40,000	16萬D <sub>5</sub>
血塊 2 號	43-2	1.5	2		6.2	6.9	40,000	16萬D <sub>5</sub>
肉渣 3 號	43-5	1.5	2		6.2	6.7	50,000	20萬D <sub>5</sub>
日本 Poly—Peptone	43-6	1.5	2		6.2	6.9	30,000	8 萬D <sub>5</sub>
德國 Witte Peptone	43-7	1.5	2		6.2	6.5	50,000	20萬D <sub>5</sub>
美國 Difco Bacto— Proteose Peptone	43-8	1.5	2		6.2	6.7	50,000	20萬D <sub>5</sub>

從表 8 可以看出，三種試制品之產毒能力皆較日本制 Poly—peptone 高出一倍多。試制品肉渣 3 號的產毒能力與德制 Witte—Peptone 及美制 Difco Bacto—Proteose—Peptone 相近，其餘二種試制品則較低，

產毒試驗只作一次，但亦可初步看出問題。

## 結 論

1. 利用肉渣和血塊為原料用豬胃粘膜或胃酶粉消化水解可制出適於細菌學用的蛋白腺粉末。但以血塊及原料用胃酶粉消化製造者產量低品質亦劣。

2. 豬胃粘膜或胃酶粉的加量越大，消化程度愈深，氨基氮量亦愈高。可根據需要適當增減。一般以 410 克的肉渣或血塊為原料加豬胃粘膜 90 克或胃酶粉(1:3000) 1 克即可。

3. 試制品中豬胃粘膜消化製造者脫基質產生能力皆強，可供制檢查脫基質反應培養基之用。但用胃酶粉消化製造者不適於此種用途。

4. 試制品的硫化氫產生能力皆強，適於製造醋酸鉛培養基以檢查細菌產生硫化氫的反應。

5. 試制品中皆不含可發酵糖類，適於製造無糖肉湯或糖發酵培養基。

6. 試制品之毒素產生能力，根據破傷風產毒試驗的結果，較本所常用於產毒的日本制 Poly—peptone 高一倍。

## 參 考 文 獻

1. Ю. А. Козлов, Питательные среды в медицинской микробиологии 1950
2. М. Ф. Тюленькова, Журнал микробиологии, Эпидемиологии и Иммунологии 1942 №10 Стр. 34
3. Pharmacopocia of United States XIV 1950

## 腸道菌苗脫福馬林方法有關問題的試驗

楊鍾祺

### 一、試驗目的

1955年在上海進行了腸道菌苗蘇聯法規實習，蘇聯法規規定五聯，四聯及單價霍亂菌苗原液可用加熱法或加福馬林法殺菌，加福馬林殺菌的原液可用脫福馬林法處理。當時採用了蘇聯塔拉塞維奇國立生物製品檢定所生物製品鑑定規程（1946年版）中所載的自動脫福馬林法進行脫福馬林，茲將具體方法摘錄如下：

自動脫福馬林法：取一排試管各加被檢液 5 毫升，再各按下列數量加 10 倍稀釋的氨水；0.12—0.16—0.20—0.24—0.28—0.32—0.36 及 0.40 毫升。氨水可採用市售約 42% 的濃氨水。用塞將試管塞緊，於室溫中放置 10 小時後，於每管中加 0.1 毫升 4% 苯三酚溶液（溶於 10% NaOH 中），有遊離甲醛存在的溶液呈桔紅或紅色，其深度依遊離甲醛含量之多少而定。顏色逐漸變深，三分鐘後最深以後逐漸消失。按下法計算中和遊離甲醛的氨量：假使從第四管開始甲醛皆與氨結合，因其中 5 毫升菌液已加 0.24 毫升 10 倍稀釋的氨水，所以於每公升菌液中應加氨水量為  $0.24 \times 200 = 48$  毫升 10 倍稀釋之氨水，或加未經稀釋的濃氨水 4.8 毫升，加氨後 10—12 小時（勿過久）抽少許菌液檢查遊離甲醛，如無遊離甲醛則用稀釋 10 倍的濃鹽酸中和之，菌液 pH 為 7.1。

在上海實習期間按上述方法試驗，存在下列兩個與化學有關的問題：

1) 痢疾菌原液在脫福馬林前，滴定中和遊離甲醛所需氨水量時，由第一管至第 7 或第 8 管顏色反應較規律，第 8 管以後（原書只作 8 管，在上海實習時又繼續作兩管，加氨水量之間隔亦為 0.04 毫升）顏色深度大致相同，肉眼不能鑑別。加氨水中和後，用苯三酚試劑作遊離甲醛定性試驗時仍出現淡紅色反應。

2) 脫福馬林前後，上海所生化室測定遊離甲醛含量，結果是脫福馬林前後之含量相差甚微，有個別情況前後完全相同，但用苯三酚試劑試驗時脫福馬林前有顏色反應而脫福馬林後則無顏色反應。

爲了查明上述二問題的原因，我們進行了一系列的試驗。

### 二、實驗方法，結果和討論

1) 我們首先用本所第四室製造的傷寒菌原液〔T50098 200 億/毫升，pH7.1，加福馬林量爲 0.5%，實測遊離醛含量爲 0.0956%〕和痢疾菌原液〔D51325 150 億/毫升，pH6.5，加福馬林量爲 0.5%，實測遊離甲醛含量爲 0.155%〕重覆了上海實習的試驗，結果與上海實習的結果一致。爲了更進一步追查原因，我們進行了增加氨量的試驗，結果列於表 1 及表 2

表 1

管 號	1,	2,	3,	4,	5,	6,	7,	8,	9,	10
傷寒菌原液(毫升)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5.5% 氨水(毫升)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
	於室溫中放置10小時									
苯三酚試劑(毫升)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
結 果	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+

註：卅卅+表示顏色之深度

表 2

管 號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
傷寒菌原液(毫升)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5.5% 氨水(毫升)	0.1	0.2	0.6	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
	於室溫中放置19小時									
苯三酚試劑(毫升)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
結 果	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+

註：卅卅卅+表示顏色之深度

由表 1 和表 2 可以看出，我們的結果基本上與上海實習的結果相同，痢疾菌原液遊離甲醛含量較傷寒原液為高，因而需氨量也較高。在傷寒菌原液方面第 3 管以後到第 10 管加試劑後呈現的顏色深度幾乎相同，在痢疾菌原液方面則第 4 管以後幾乎相同。第 10 管加氨量比第 5 管高出一倍，但在顏色反應上幾乎看不出差異。

根據這種情況，我們認為方法本身的化學反應是一可逆反應： $6\text{HCHO} + 4\text{NH}_2 \cdot \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$  在我們的實驗條件下（加氨量的範圍），這個反應達到一定的平衡狀態，反應不能向右進行到底，我們曾於 5 毫升傷寒菌原液中加濃氨水（33%）0.5 毫升，經 10 小時後，加苯三酚試劑幾乎不顯色，可見只有加更多量的氨才能使反應向右進行到底。

為了進一步證明這個問題，我們用 0.3% 福馬林水溶液進行了同樣的脫馬林試驗，結果列於表 3

表 3

管 號	1,	2,	3,	4,	5,	6,	7,	8,	9,	10
0.3% 福馬林液(毫升)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5.5% 氨水(毫升)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
	於室溫中放置10小時									
苯三酚試劑(毫升)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
結 果	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+

由表 3 可以看出，用 0.3% 福馬林水溶液試驗與用菌原液所得之結果完全相同。

根據試驗的結果，我們認為，上海實習的試驗，第8管以後顏色反應相同的原因是因為反應本身是一可逆反應，在我們實驗的加氨量的範圍內反應達平衡狀態，不加過多的氨，反應不能進行到底。但在實際工作中又不可能加過多量的氨來使反應進行到底，如果加氨量過大，則 pH 必過高（脫福馬林前後 pH 的比較見表 4，對菌苗質量可能發生不良影響。

表 4

	脫福馬林前 pH	脫福馬林後 IP	
		5毫升原液加氨水0.5毫升	5毫升原液加氨水1毫升
傷寒菌原液	7.1	10.4	10.78
痢疾菌原液	6.5	10.4	10.72

註：氨水濃度為 5.5%

根據試驗，我們認為於 5 毫升菌原液中 10 倍稀釋的氨水（相當於 4.2%）量在 0.4 毫升範圍內或高至 1 毫升，放置 10 小時，加苯三酚試驗，不能毫無顯色反應，在實際應用時，所需加氨量應按再多加氨，顏色亦不再減弱之最小加氨量。

2) 脫福馬林前後遊離甲醛含量問題，我們的試驗結果如下表：

	脫福馬林前遊離甲醛含量	脫福馬林後	
		5毫升原液加0.5毫升氨水	5毫升原液加1毫升氨水
傷寒菌原液	0.0956%	0.0358	0.0329
痢疾菌原液	0.155%	0.0478	0.0418
0.3% 福馬林液	0.120%	0.0058	0.0418

註：氨水濃度為 5.5%

試驗結果證明，脫福馬林前後遊離甲醛含量相差很大，一般脫後約為脫前之 $\frac{1}{3}$ ，加氨量增加一倍，遊離甲醛的減少並不顯著，這是可逆反應化學平衡的又一證明。

上海測定的結果，脫前脫後相差不大，甚至有個別情況前後相同，我們考慮可能是遊離甲醛測定方法上的問題，我們採用的是苯肼法，先將加過氨水放置 10 小時後的菌原液離心沉澱，取上清進行測定的。

## 遠騰培養基脫色方法的改進

趙 揚 謙

我所製造遠騰培養基的方法，是由日籍技術人員留遺下來的即在目前一些書籍上(1)(2)仍然記載的陳舊老法。其基礎培養基是用未去糖份的一般肉浸液製造的普通瓊脂。因此在使用中有時效果不佳影響鑑別。同時對於復紅顏色還原程度，書上也缺少明確標準，以致做成的培養基忽紅忽淺，使用不便。為此我們除了改用肉膏來制做基礎培養基以外，對如何控制復紅的還原程度進行了改進試驗：

為了使復紅被還原後加入培養基內易於觀察色澤，我們採取按每一立升培養基使用1毫升酒精飽和復紅液的比例，先將需用量的復紅液盛在一小試管內，用新配制的10%亞硫酸鈉（無水）溶液進行還原後再加入培基中。控制還原程度的方法是將此小管放在海立蓋式 pH 比色架上，以酚紅比色盤作標準，取脫色後色澤相當於 pH7.4, 7.6, 7.8 的三種，分別加入於培養基中，倒成平板後觀察其顏色，試驗結果以 pH 7.6 者較為合適。使用到現在為止的兩年中，我們認為很滿意。

參考：

- (1) 日本傳染病研究所學友會編：細菌學實習提要。1951年版。
- (2) 蘇聯巴格達諾夫著：乳與乳制品的微生物學。1956年版。

## 生產痢疾噬菌體用綜合培養基的試驗小結

楊 鍾 祺 崔 錦 家

試驗目的：本所生產痢疾噬菌體所用肉湯，需用大量蛋白胨和肉水。目前國內尚不能大量生產蛋白胨，為了解決原材料問題，於1956年1—2月間進行了試用綜合培養基製造痢疾噬菌體的試驗，企圖用綜合培養基代替肉湯。

試驗方法：基本上是根據蘇聯文獻(Питательные Среды в Медицинской микробиологии Козлов 著 1950)的方法進行的。所用培養基除以有機鹽類和無機鹽類（檸檬酸鈉和氯化銨）作碳源和氮源外，尚加 Оливцова 氏酵母自溶物。

結果：我們共進行小量試驗13批。試驗結果表明，綜合培養基在質量方面比不上肉湯培養基，效價只能達 $10^{-7}$ ，不適生產之用。於綜合培養基中加瓊脂制成固體培養基，接種痢疾菌，生長出的菌落小而粗糙。此外我們還於綜合培養基中加氨酸和菸酸，結果也未見好轉。但於綜合培養基中加  $\frac{1}{4}$  肉水或  $\frac{1}{2}$  肉湯，則噬菌體效價可達 $10^{-9}$ ，可與生產用肉湯培養基相比。

## 培養基中醋酸鉛的含量及 蛋白胨的品種對硫化氫產生的影響

趙 協 謙

在我國蛋白胨的製造工業尚未發展以前，細菌工作中經常使用到的蛋白胨，除了一部份採取蛋白水解液代用外，絕大部分是舶來品。因此牌號混雜，種類繁多，制成的醋酸鉛培養基，常遇有鑑定效果不正確的情況，甚至有細菌不生長者。爲了鑑別那些蛋白胨適合於做硫化氫試驗培養基之用，以及醋酸鉛在培養基內的含量及滅菌方法等對硫化氫產生的效果影響，進行了以下的試驗。

材料和方法：(1)培養基：用日產照內，南興、武田、多腺、美產豚腺，國內混合日產品華東腺及自制肉酶消化液等，分別加入食鹽，肉水及瓊脂制成 pH7.2—7.4 的基礎培養基。另取醋酸鉛配成10%溶液在滅菌後無菌加入於培養基內，直立放置使凝，並經 37°C 培養一晝夜檢查是否無菌。

### 試 驗 方 法

(2)、以傷寒桿菌、付傷寒甲、乙、丙等桿菌穿刺 37°C 培養 2 天觀察結果。

試驗一：醋酸鉛含量對細菌生長和硫化氫產生的影響比較。

將不同的醋酸鉛溶液加入用多腺制成的基礎培養基內，使其含量各爲 0.1%、0.3%、0.5%，及1%（克/毫升）。經培養後結果如下（表 I）：

表 I 醋酸鉛不同含量對硫化氫產生的影響

細菌別 \ 醋 酸 含 量	0.1%	0.3%	0.5%	1 %
傷 寒 桿 菌	—	—	—	—
付 傷 寒 甲 桿 菌	—	—	—	—
付 傷 寒 乙 桿 菌	+	+	+	—
付 傷 寒 丙 桿 菌	+	+	+	—

+ = H<sub>2</sub>S 反應陽性（下同） — = H<sub>2</sub>S 反應陰性（下同），+ = H<sub>2</sub>S 反應顯著陽性（下同）

由上表可知：醋酸鉛含量 0.3% 和 0.5% 者最好。0.1% 者硫化氫產生不太明顯。含 1% 的者不但反應不顯，而且幾乎看不到細菌的生長。這說明所以不顯陽性結果的原因，主要是在醋酸含量過多時，由於它對細菌的毒性作用抑制細菌發育之故。

試驗 2：不同種的蛋白胨對硫化氫產生的比較：根據試驗 1 的結果，醋酸鉛含量均採用 0.5% 之量（以醋酸鉛 5% 水溶液，滅菌加入於培養基中）。培養結果如下（表 2）：

表 II 不同種蛋白腺對硫化氫產生的比較

	多 腺	照內腺	南興腺	武田腺	豚 腺	華東腺	肉 酸 消 化 液
傷寒桿菌	-	-	-	未做	-	-	-
付傷寒甲桿菌	-	-	-	-	-	-	-
付傷寒乙桿菌	+	+	-	-	+	-	+
付傷寒丙桿菌	+	+	-	未做	+	-	+

由上表我們認為，做醋酸鉛培養基時宜選用多腺、武田腺、豚腺或自制肉海消化液。照內腺在一般細菌培養基雖是一良好而廣為應用之腺品，但以醋酸鉛培養基來講，根據上述試驗結果並不理想。

試驗 3: 加溫的影響。把醋酸鉛先加入培養基內，進行不同方法的滅菌，結果如下(表 3)：

表 3. 滅菌方法對硫化氫的影響:

滅菌方法	15磅40分	10磅30分	100°C30分間歇三次
滅菌後培基顏色	黑	略黑	和培基顏色一樣但培基底部沉澱多。
培養結果	未培養	未培養	H <sub>2</sub> S反應良好

從上表說明，醋酸鉛可以先加入培養基內滅菌，但須採用間歇滅菌法；(100°C30分鐘三次)不過培養基內會產生很多沉澱，故仍以滅菌後加入為妙。15磅40分滅菌所以發黑，可能因在鹼性狀態下，高溫使胱氨酸或半胱氨酸分解的結果(1)。

結論:

- (1) 以不同含量醋酸鉛進行硫化氫反應試驗，確定以含 0.3—0.5% 者為好。
- (2) 對常用的各種蛋白腺作了比較，以多腺武田腺、豚腺及自制的肉酸消化液較合於醋酸鉛培養基之用。

- (3) 滅菌溫度不宜過高，醋酸鉛加入方式，以滅菌後加入較為合適。

參考資料:

## 亞硫酸鈉瓊脂發生沉澱原因的探討

劉士敏 趙協謙

我所鼠疫活菌苗計菌數用的亞硫酸鈉瓊脂，是經紙漿濾過的透明高層。使用時清澈透明，易於計算菌數。在53—54年間，這一培養基在滅菌後，常易發生沉澱，影響計算菌數的工作。中間我們一度採用降低培養基滅菌的溫度和壓力及縮短時間的方法來解決。如將原有習用的15磅40分改成12磅30分鐘。在更改之後有時雖能解決問題，但有時仍然存在這一現象。更奇異的是在出現這一現象的培養基所用的臘，是經過檢查認為可不產生沉澱的合用品（指做成普通豚肉湯滅菌後無沉澱）。因此我們考慮到可能由於加入亞硫酸鈉以後，易於促成產生沉澱之故。但關鍵問題仍為臘的質量問題，因當時並非所有臘做成亞硫酸鈉瓊脂後均能產生沉澱。為此我們做了如下的試驗。

取好臘（化學檢定231號）及不好臘（化學檢定1040號）各一與新鮮肉水，陳舊肉水及含鹼肉水（我們所生產噬菌體肉湯使用的肉水在滅菌前每升先加入4毫升的10%氫氧化鈉溶液，便於肉湯的濾過）等分別制成亞硫酸鈉瓊脂進行比較，其中陳舊肉水的使用並分成用水道水稀釋及蒸餾水稀釋的二種（我所生產用肉水均是1:1的濃厚肉水，在使用時需要稀釋）進行比較。試驗結果如下表：

滅菌方法	新鮮肉水		陳舊肉水		陳舊肉水用蒸餾水稀釋		含鹼肉水	
	好臘	不好臘	好臘	不好臘	好臘	不好臘	好臘	不好臘
100°C30分3次	無沉澱	有沉澱	無沉澱	大量沉澱	無沉澱	大量沉澱	無沉澱	大量沉澱
10磅30分	“	無沉澱	“	有沉澱	“	有沉澱	“	有沉澱
12磅30分	“	“	“	大量沉澱	“	大量沉澱	“	“
15磅40分	“	有沉澱	“	“	“	“	“	大量沉澱

根據上表結果可以看出：

(1) 好的蛋白臘不論用何種方法滅菌或用何種肉水及新鮮陳舊與否，一概不能發生沉澱。這說明臘的質量問題確是培養基產生沉澱與否的關鍵。

(2) 不好的臘在採用新鮮的肉水及溫度較低的滅菌方法時，可以不產生沉澱。

(3) 為了保證培養基（亞硫酸鈉瓊脂）在滅菌後不發生沉澱或減輕沉澱量，應使用新鮮肉水及採用10磅30分的滅菌方法。從上述結果來看，10磅30分的滅菌法遠較100°C30分間歇三次滅菌的方法為優。甚至可以這樣說，即使是12磅30分鐘的滅菌方法，亦比間歇法好。關於這點在白喉的呂弗氏血清培養基的滅菌方法上早有人做過比較試驗，證明多次滅菌方法對白喉菌的毒力來講不如接種在一次滅菌的培養基上好。因之如何來改進各種滅菌方法亦是值得注意的問題，因內容不在本文之內，不多贅述。

附註：關於亞硫酸鈉瓊脂中產生的沉澱與一般培養基中的沉澱是否同屬一物，因所內化學微量分析有困難未做。



## 本所家兔球蟲病發生情況之初步報告

張德培 范明遠

家兔球蟲病是一種傳播廣泛和危害性嚴重的流行性疾病。病原為一種寄生性球蟲類。該蟲卵囊抵抗力甚強，散佈在兔舍及其周圍環境中的卵囊於條件適宜時能生活較長時間。家兔食進帶感染性的卵囊後即發生腸道及肝臟感染，出現以消化機能紊亂為主的病徵；仔兔的症狀表現尤為嚴重，最後多數死亡；有的家兔雖出現不同程度的症狀但不死亡，而變成球蟲攜帶者。球蟲經口進入家兔機體之後，即開始複雜的體內發育階段，然後隨糞便被排至體外，形成完整的發育環。由於球蟲不斷地進行繁殖和散佈，使家兔的感染範圍日愈擴大。據 Sustmann 氏稱患病死亡的家兔中85%死於球蟲病。球蟲病的流行不僅影響了家兔的發育和繁殖造成經濟上巨大損失；且對動物實驗亦頗有妨礙。因此，正確認識此病並及時進行防治，乃是我們生物制品研究部門的一項重要工作。本文係1956年本所家兔球蟲病的發生情況及防治結果的初步總結，今簡要報告如下。

本所家兔球蟲病已有數年歷史。從1950年以來每月平均死亡率均在 3.52—8.93%，在球蟲病流行的月份裡其死亡率高達 26.3%。每年發生季節多在夏秋多雨的 5—9 月。病兔80%以上為生後 2—3 個月體重約 800—1,600克的幼兔，甚之比此更小的仔兔（即剛離乳和離乳不久者）。1956年 5 月我們調查了本所小動物室的一部分池養仔兔共 112 只；糞便檢查結果證明該批仔兔全部受球蟲感染；其中有 24 只兔出現球蟲病症狀，佔全部感染兔 37.5%；並且先後死亡了 18 只（先死六只，於治療中又死去 12 只）佔病兔 42.9%。同時，又檢查 20 只種兔亦證明全部感染，當即進行隔離籠飼和治療。

**關於病原** 球蟲病一般具有較嚴格的特異性。家兔球蟲病祇限於家兔與家兔之間的傳播不侵犯其他種動物。這次發現的球蟲病有如下兩種：(1) 肝球蟲病、病原為 *Eimeria Stiedae* (Lindeman 1865)。(2) 腸球蟲病、病原為 *E. perforans* (Leuukart 1879); *E. magna* (Pérard 1925)。球蟲的生活史係由體內寄生和體外寄生兩部分組成的發育環，球蟲卵囊(Oocyst)寄生於外界環境，當家兔食進受卵囊污染的飼料後即引起機體感染。卵囊進入腸道後即開始一系列複雜的體內發育階段；卵囊殼被消化破裂後變成了具有動力性的子孢子(Sporozoite)潛入小腸上皮細胞內，然後又演變成肥大的裂殖體(Schizont)；進行裂殖生殖，所產生之核形的、運動活潑的裂殖子(Serzoite)使受侵的腸上皮細胞破裂，裂殖子游離至腸腔內再感染新的腸上皮細胞。在裂殖生殖時期裂殖子繁殖若干次後使機體感染迅速地變為嚴重起來；以後裂殖生殖便逐漸衰弱而產生雌雄兩性的大配子和小配子(macrogamete, microgamete)，雌雄結合生成合子(Zygote)進行配子生殖(gametogony)，合子經孢子生殖(Sporogony)產生卵囊最後又隨糞便排到外界環境中。由於球蟲種的不同，有的卵囊在進入小腸後而由輸膽管侵入肝臟，寄生於膽管及肝管上皮細胞內，經過一系列的發育後最終變成卵囊隨膽汁進入小腸再隨糞便到達體外。球蟲

發育環詳見圖一（據Reich氏）。

**疾病經過** 由於侵入家兔機體內的球蟲種不同，所發生的病型亦有差異。除肝球蟲病及腸球蟲病以外，亦常見到混合型的球蟲病和球蟲性鼻炎等。球蟲寄生在肝臟及膽管者稱肝球蟲病。此病常常採取慢性經過。由於發炎損害了肝臟的機能，同時在某種程度上也擾亂了胃腸消化機能。球蟲破壞膽管上皮，嚴重者致膽管不能排洩膽汁，如此即妨礙脂肪吸收使糞便變成白色透明狀。另外肝臟病變也影響了生成膽汁的機能。肝臟腫大並發生腹水。由於膽汁分泌受到影響，家兔口腔粘膜炎及眼結膜則變成蒼白色或黃疸色。肝臟球蟲病不出現腹瀉症狀。病兔由於營養不良和中毒最後引起機體死亡。腸球蟲病主要侵犯小腸，引起消化機能紊亂出現腹瀉症。嚴重者則出現鼓腸、強烈腹瀉症以及由此而引起的失水現象。仔兔患病後行動遲緩、聳毛、肛門周圍有稀糞污積；以後即迅速處於衰竭狀態，頻死時體溫下降至 $36^{\circ}\text{C}$ 左右，最後伴以四肢痙攣和腦膜症狀而死亡。輕度感染者僅表現食慾不振、排軟便或輕度腹瀉及衰弱消瘦等症狀。病兔耐過危險期即痊癒。成兔多發生慢性腸炎。病兔痊癒後即成為帶蟲者。

**病原體檢查** 檢查對象：（1）113只仔兔均為本所小動物室家兔組所生產。每只仔兔均有耳標，可以追查某號仔兔係某號種母所生，某號公種交尾和出生日期及同胎只數等。（2）該批仔兔均係1956年5月份上中旬離乳的仔兔，檢查時體重最小為680克，最大為1,300克，離乳前後均在無隔糞踏板的籠內及池子內飼養。（3）鑑於感染球蟲病的仔兔與種兔可能有關係，故對20只成兔一併進行了病原體檢查。

## 一、糞便檢查

（1）採取家兔稀糞及池內污草、用食鹽水稀釋約20倍、再用三層紗布過濾除掉殘渣。

（2）將濾過之糞水用手搖沉澱器沉澱五分鐘，傾去上清液用小棉球蘸取沉澱液塗片進行顯微鏡檢查。

（3）檢查種母兔及成兔的糞便時，先戴好橡皮手套用手在兔肛門附近壓擠，擠出的糞球用（1）（2）方法製成塗抹標本鏡檢。

結果：顯微鏡檢查全部糞便標本均找到了球蟲。高倍鏡檢，每個視野中可以找到數個甚至數十個卵圓型中心呈橙黃色的球蟲卵囊；另外較小的橢圓型卵囊為數甚多，有的竟占滿整個視野；成兔糞便中的卵囊極少，一個視野中僅見單個或數個卵囊（圖二）。

## 二、土壤檢查

（1）土壤標本取自飼養家兔屋內的地面及其裂縫內二厘米以下的土壤；屋角及牆皮表面的塵土；籠子地板的隙縫以及養兔池子地面的土壤，上述每種土壤至少檢查五次。

（2）將上述所採集之土壤每種稱取10克以30毫升食鹽水稀釋，充分攪拌，然後再過濾、沉澱、塗片及鏡檢。

結果：籠子地板隙縫及池子地面上的土壤中含球蟲卵囊最多；屋角及牆皮表面最少；而屋內地面及其裂縫內二厘米以下土壤中的卵囊外膜較糞便中的略厚。

**病理解剖檢查** 我們共解剖了10例疑似患球蟲病的家兔。剖取各種器官製成組織切

片標本進行鏡檢。球蟲病主要發生在肝臟或小腸，在此，僅將該二器官比較典型的病理變化描述如下：(1)肝球蟲病 肉眼所見多數的肝臟腫大，表面見有小米粒大及粟粒大之散在性灰白色及黃色的結節，該結節固以韌膜不易壓碎，其中含有膿樣或乾酪樣壞死性物質。切片檢查見肝組織顯著淤血和見有特徵性的限局性病灶(結節)，病灶中心有壞死的肝細胞及圓形細胞浸潤，並且看到許多外殼略透明的球蟲；病灶周圍除見圓形細胞浸潤外，還有結締組織增生(圖三、四)。有的病例肝臟間質尤其是匯管部有顯著的結締組織增生。膽囊內膽汁甚少，呈黃綠或黃白色。膽管上皮顯著增生呈乳頭狀外觀；膽管上皮細胞內寄生有各發育階段的球蟲；膽管腔內散有多數球蟲卵囊及脫落的上皮細胞(圖五、六)。(2)腸球蟲病 病變主要局限於小腸，有時也波及到直腸。急性者小腸個別部分的粘膜炎充血；有時可見白色斑點。腸內內容物稀薄、色黃綠、含氣泡，味惡臭。慢性病例，腸粘膜炎顯著肥厚，有時出現白點和出血性潰瘍。腸病變雖僅具一般性變化，但如在腸上皮細胞內找到球蟲者仍然具有重要診斷意義。

**治療** 112 隻仔兔均被球蟲所感染，其中42例發病(重症24隻、輕症18隻)，其餘70 隻兔尚未見發病。20 隻成兔的卵囊檢查結果雖均為陽性，但在臨床上不見異狀，因此，該批成兔實為帶蟲兔。上述112 隻仔兔中除已死亡六隻外，餘剩106 隻和20隻成兔分別以單籠飼養。每天將糞底板進行煮沸消毒，容裝病兔的籠子並以汽油噴燈進行火焰燒灼消毒，該法消毒一直進行到病兔恢復健康後再繼續二週。家兔每公斤體重用0.3克雙硫胺(Дисульфан)每天分二次混加在精飼料內喂給，另以每公斤體重0.3克的碳酸氫鈉配成0.5%水溶液讓家兔隨意飲用。投藥後的第2—3天，發現少數家兔不願進食精飼料和飲水，祇吃青飼料。故在精飼料中又添加健胃劑，仔兔每天量為0.3克，成兔則給0.6克；健胃劑由重碳酸鈉10克，龍膽末2克，木炭末10克，生薑末8克配成。

結果：經過一個療程(五天)的治療，106 隻仔兔除重症例中的12隻不活死亡外，其餘94隻仔兔均獲得治癒，治癒率達88.6%。18例重症病兔，治癒6例治癒率為33.3%。20隻帶蟲之成兔獲得100%的療效。鏡檢上述病兔糞便不再發現球蟲或者極少發現退化之球蟲；肝臟及小腸炎症消失，病損逐漸趨向修復；消化機能及膽汁分泌機能逐漸復原。

**討論** 我們於文中簡要地報告了本所家兔球蟲病的發生情況及其防治結果，另外扼要地介紹了有關球蟲病病原等方面的文獻資料。如下對球蟲病防治再略加討論：球蟲進入家兔機體後直接破壞腸管和肝臟的細胞，除了球蟲及其產物引起機體中毒以外，肝臟及小腸亦常常發生二次性的細菌感染。因此，僅依據症狀作診斷基礎尚為困難，故需同時配合糞便及病理解剖學的檢查。由於球蟲卵囊抵抗力強(具有兩層堅固的膜)和卵囊繁殖數目大，故能引起家兔的廣泛感染。根據調查結果證明，受球蟲感染的家兔甚為廣泛，132 隻家兔(112 隻仔兔和20隻成兔)的感染率達100%；112 隻仔兔有42隻發病，發病率為37.5%；病兔死亡18隻病死率為42.9%。此結果較白開氏所記載的家兔球蟲病病死率90—100%的情況為低，這可能與我們及時防治有關。因球蟲的卵囊具有一種保護性的外膜即使在不利的情況下也能保存其生存機能。如外界溫度(20°C)、濕度、光線及氧氣適宜時即能促進卵囊發育成熟和具有感染性，然後感染家兔，據Скрибин等指出，球蟲的卵囊在排至外界後經過48—72小時方具有感染性。預防工作主要是

消滅球蟲病的傳染源和切斷球蟲的發育環，故需從兩方面來解除球蟲的危脅即(1)消滅兔舍自然環境中的卵囊；(2)消除兔體內的球蟲。試驗證明，一般消毒藥物如石炭酸等對球蟲不發生效力，我們用火燒水煮的方法殺滅球蟲卵囊證明效果十分良好。在家兔的飼養管理上，經常保持兔舍乾燥、清潔和防止健康家兔與病兔的接觸乃是預防工作中的重要一環。仔兔容易感染球蟲的因素，一方面可能由於仔兔比成兔敏感；另一方面仔兔精吸母乳的機會容易由接觸母體及污染的糞便而傳染，調查的結果已經證實了此點。因此根據球蟲病的發生規律及時進行診斷，防治，始能及早避免該病蔓延。我們追試了Носик 氏等所試驗的雙磺胺與磺胺嘧啶合併療法，結果僅用了一個療程即獲得十分令人滿意的結果。試驗結果表明，患輕症球蟲病及帶蟲的家兔均獲得 100% 的治癒率，即使患重症的病兔亦有 33.3% 的療效。據美國農業部最近報導用磺胺二甲噻啉和金徽素合併治療雞球蟲病亦獲得了 100% 的療效。但不確知該藥物對家兔球蟲病的療效如何，尚需試驗證明。

### 摘 要

(1) 對 132 隻家兔 (包括 112 隻仔兔，20 隻成兔) 進行糞便檢查，確診 100% 為球蟲感染。

(2) 仔兔球蟲病的發生主要是在哺乳期所感染。離乳後與健康家兔混合群養，由於大池子不設糞底板及更換糞草時的接觸致使全群仔兔感染球蟲病。

(3) 成兔及種兔的球蟲病是由環境衛生不良所引起。

(4) 家兔球蟲病的死亡率絕非 100% 的死亡，家兔感染後由於有機體的抵抗力變化及管理上諸因素可以成為散佈球蟲的帶蟲者。

(5) 於兔舍中的土壤及糞便中證明有抵抗性強且散佈頗為廣泛的球蟲卵囊，該卵囊是家兔球蟲病傳播的重要原因。因此，加強環境衛生管理是防止球蟲病流行的重要關鍵。

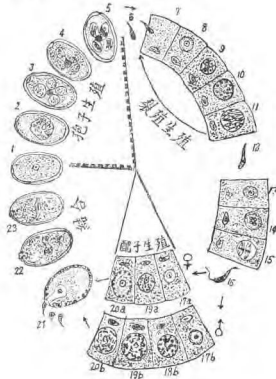
(6) 根據臨床症狀，病理解剖及糞便檢查很容易診斷出球蟲病。我們認為定期檢查糞便，用加熱消毒法處理兔籠，食器及用雙磺胺—磺胺嘧啶合併治療等措施，可以控制家兔球蟲病的流行。

註：本文承魏文彬主任暨旅大市寄生蟲病防治所姜葆真醫師審閱，特此表示謝忱。

### 主要參考資料

- (1) Сахаров, П.П., Метелкин, А.И., Тудюва, Е.И.: Лабораторные Животные 236—248 號, Мед. 1952.
- (2) Носик, А.Ф., Симоненко, Н.М.: 蘇聯獸醫學雜誌 1954.5 (引自中國畜牧獸醫學雜誌譯文)
- (3) Cours de Microbiologie de l'Institut Pasteur, p.590, 1948.
- (4) 白井 豹, 安藤啓三郎: 實驗動物之實際 126—130 頁 金原二版 1933.
- (5) 松田勝一: 醫學實驗動物學 17—21 頁 金原三版 1954 年
- (6) 科學新聞, 7:116, 1957.
- (7) Сирабин, К.И. 等著, 許綬泰等譯: 家畜寄生蟲學簡明教程 (1950年版) 99

—104頁，高等教育出版社，1951。

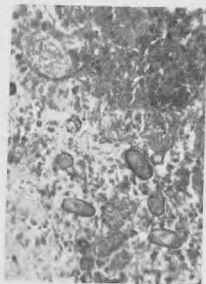


圖一、球蟲之生活史

1. 未成熟之卵囊 (Oocyst) 2—4 卵囊之發育。
5. 卵囊之孢子囊 (Sporocyst) 內各形成二個子孢子 (Sporozoit)。
- 以上孢子生殖是在細胞外進行。
- 6—7 侵入腸粘膜細胞之子孢子。
- 8—11 裂殖體 (Schizont) 形成。
- 12 裂殖子 (Meront) 散落出來。
- 13—15 後期之裂殖體。
- 16 裂殖子。
- 以上是裂殖生殖 (Schizogony)。
- 17—20 配子體 (gametocyte) 形成。
- 21 大配子體 (Macrogamete) 與小配子體 (Microgamete) 結合。
- 22—23 結合後形成囊狀之合子 (Zygote)。



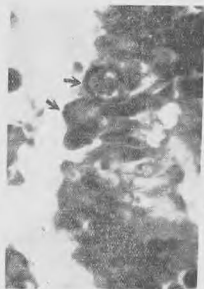
圖二、腸胃中的球蟲卵囊 6×45



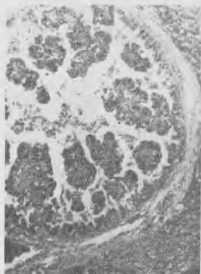
圖四、肝臟結節中的嗜血卵囊  $6 \times 45$



圖三、肝臟球蟲病的結節部  $6 \times 10$



圖六、寄生在腸管上皮細胞內的球蟲  $6 \times 10$



圖五、受球蟲感染的膽管上皮細胞  $6 \times 10$

## 培育健康小白鼠鼠群的經驗介紹

張 德 培

生產試驗動物的飼養場所，其飼養之各種實驗動物，不論其種類多少，品種的純雜與否？以及產量數量的多少；但最基本的要求，應該是產生出來之動物完全合乎健康。

但實驗動物亦與其他動物一樣，有各種細菌性的或病毒的流行性傳染病；如小白鼠的脫腳病（鼠痘）、鼠傷寒、腸炎、肺炎等，其他像豚鼠的流涎症家兔的 Shope 氏纖維瘤等等。特別是小白鼠的脫腳病與鼠傷寒能在鼠群內引起很大的死亡率，一旦流行嚴重以至非常猖獗時，往往使鼠群死亡率達到63%以上。

我們大連生物製品研究所之小白鼠，係解放後接收日本帝國主義前大連衛生研究所之鼠群，從接收該鼠以來，在鼠群中的脫腳病及鼠傷寒等從未間斷，此起彼起的終年流行着，追究其來源，係日本東京運來者，但當時之鼠群品種為德國種，因此我國的小白鼠脫腳病可能是從德國→日本→中國大連。

解放後由於黨對人民健康保健事業的大力開展，各項生物製品等的生產和研究隨着需要而大量使用小白鼠，大連之小白鼠亦之外運，從而我國東北、華東、華北、中南等地區亦發現脫腳病，特別是東北大連、長春流行甚烈，在大連所捕獲之家鼠亦有脫腳病的症狀，解剖所見完全與小白鼠脫腳病之症狀一樣。

我所數年來試驗動物室鼠群中流行脫腳病、鼠傷寒、腸炎等甚為嚴重，僅按1950年1月至1955年6月的統計，損失即達三十萬隻。平均每年損失四萬餘隻。

在流行過程中由於著者最初對該項傳染病缺乏經驗，以致流行仍然不能控制和制止。曾採取了一些預防措施，如進行脫腳病疫苗預防注射（七日苗和三日苗）以及牛痘苗的小規模試驗；及消毒隔離等等。

我們在日常飼養工作中，除見外表有患脫腳病、鼠傷寒、腸炎之症狀的死鼠外，往往發現小鼠外表非常健康，但配種交尾後最快的不到三天，長至二十八天突然死亡，一般十天左右死亡較多，解剖所見的並無外傷和內臟發炎症狀。有的死在嘴上還咬着一根草。雖然當時亦進行少數的細菌培養和病理切片檢查，但由於每天死亡數很多，進行每隻死鼠培養、切片勢不可能，因此根據症狀觀察所見，將鼠群疾病分為三大類，①即脫腳病，②鼠傷寒，腸炎，③其他（腦炎、脫肛、脫毛等）。

但如何減少前二類的疾病我們採取以下的措施：

一、我們先把鼠群分為二類，繁殖組內之小鼠：

1. 外表有患病症狀肉眼可以看出來的；
2. 外表根本看不出有任何症狀和外傷，帶菌者暫不去考慮牠。

二、選擇其後者為基礎種鼠群，並選其已經產仔二至三胎從不見有死亡小仔及換過種公母種，每盒（罐）均保懷孕或均係哺乳期，把這批基礎群所生的小仔在離乳時，把

同胎小仔性別分清楚，分裝成二個小盒飼養之，此幼仔作為第一次幼種，其母種返還繁殖組，其幼種飼養觀察一直至同居。在飼養觀察期，如某盒其中死亡或發病一隻，則全盒淘汰。

三、我們認為脫腳病和鼠傷寒可能都是直接接觸傳染的。因之首先避免同性惡斗咬架，和避免與原來所謂“健康基礎種鼠群”接近，而要分區分房同胎分盒飼養。

四、我們學習了北京生物製品研究所動物飼養場的先進經驗，加強動物的飼料營養。料內加魚粉、魚肝油、酵母粉、牛奶等。

五、我們認為帶菌小鼠由於營養的加強，飼養管理的改變以及長期的觀察與連續的換代（即按幼種長至可以交尾時即予同居，待其生下第一胎之小仔長大離乳即淘汰其父母，再將其第一胎飼育成種，如此連續的換取二至三次的第一代）是可以消滅帶菌者的。由於在日長的長期觀察及記錄的統計當中觀察到帶菌者往往在同居交尾後不到三天或最長二十八天後死亡或發病，因此可以推斷經過三代連續換代小鼠如果不死亡而且鼠群逐漸擴大即可認為鼠群是健康的。

六、另外採取換種的辦法，即採購國內外確無疾病流行過的鼠種，把原來流行的舊種徹底消滅。收效更快。

但必須指出為了使供應生產和培養健康鼠群两不误，特別是在培養鼠群時，我們是採取了從小到大，從少到多的繁殖方針，但必須將健康鼠群培育在這隔原來患病鼠群二公里以外的飼養場所進行繁殖方較妥善。特別是管理培育新鼠群的工作人員，飼料及用具必須嚴格的分清和消毒，不得混淆。

## 小 結

1. 我所從1953年末開始培育新鼠群，從1955年下半年開始供應，其事實供在供應各車間及檢定試驗中的小鼠，不論在試驗前和試驗後，以及飼養場所沒有發現脫腳病的症狀，在屍體和解剖培養沒有發現有鼠傷寒和腸炎的細菌，但血清凝集反應試驗與鼠傷寒的診斷液有凝集現象。

2. 從飼養場所死亡率統計數字來看，1955年7月1956年9月15個月的平均死亡率都保持1%左右，特別56年以來死亡率保持1%以下因此我們認為採取措施培育健康鼠群有着重大意義。

1956年10月12日



## 防止豚鼠流產的一些經驗

張 德 培

豚鼠的新生仔與一般哺乳動物一樣要經過精細胞與卵細胞的受精成爲胚胎。胚胎在母體內得到營養並受外界各種條件的影響；隨後逐漸形成與父母相似的有機體，直至發育成熟到具有各種機能（消化、血液循環、呼吸、神精活動及其他等）的器官（心、腦、腸、胃、腎、皮膚及其他等）成熟爲有機體而分娩。胎兒在母體內一般懷孕69—72天，平均70天發育成熟，分娩之小仔經母鼠舐乾附着於毛上之粘液（胎脂、水份）後即能睜眼隨母鼠行動；三四天後就會嚼青飼料。因此，在實驗哺乳小動物小白鼠、大白鼠、家兔、豚鼠四種動物當中，要算豚鼠的發育成熟最爲完善；由於牠比其他三種動物的懷孕期來得長，特別在牠懷孕期滿，分娩時已經具備了適應外界生長的條件；例如：全身豐滿的毛，細緻的牙齒和出生後已能睜開眼睛觀看四周，從而牠可以避免被母鼠踏死、餓死的現象亦要少些，而家兔、白鼠、大白鼠分娩後還是一隻全身赤裸不睜眼睛的小紅仔。

但在我們繁殖豚鼠過程中常常發生一種疾病——流產和難產（產期延長），結果給管理工作帶來很大困難，一方面因難產和流產帶來不能按使用部門任務的需要量計劃生產及達到質量的要求，另一方面給國家浪費了人力和物力。因此，如何防止豚鼠的流產等現象便成爲生產實驗動物部門的關鍵。

### 流產因素

從流和難產發生的原因來分析可能有以下各因素：

1. 傳染病高熱，細菌性的（布氏流產桿菌）所致。
2. 飼料內缺乏營養。如維生素甲，丁的缺乏，引起產期延長，或營養不良，使母豚鼠體格虛弱乏力。
3. 飼料中毒，飼料內含有霉菌，麥角，從而刺激子宮而引起流產。
4. 機械的刺激如換窩給飼料的騷，打，驚慌而震的胎兒的產出。
5. 化學的中毒，如飼養場所房內含氨，硫化氫二氧化碳過高，而引起慢性中毒，使抵抗力減弱，或急性中毒死亡。
6. 母豚鼠由於年齡過老體格軟弱或年幼早期受胎亦可引起流產和難產。
7. 其他：如生理的疾病所引起者，子宮有疾病，胎兒過大，胎兒畸形，胎位不正。

從流產和難產的臨床症狀來看：

流產前後所見症狀

#### 1. 流產和難產前

1. 精神遲鈍，不愛活動，特別在夏季室溫在 29°C 以下時，呼吸加快。（腹式呼

吸)

2. 臨產前的二三天或更長些日期，發生後肢麻痺。
3. 在流產或難產前二週左右，對精飼料和青飼料及飲水量逐日減少，到臨產和臨死的一二天飲食更少，甚至一點不吃，隨之而發生的症狀如：流口涎，腹膨脹，瀉肚。
4. 懷孕期超過十天左右不等，多為難產，不產而死。
5. 體溫在  $36^{\circ}4 \sim 39^{\circ}C$ ，臨死體溫下降至  $34^{\circ}C$  左右。

## II. 流產和難產後，

1. 胎兒流出之後母豚鼠大多數不舐胎兒之毛及不吃食胎盤。小仔有的已發育成熟，因之用人工擦乾其毛保溫找媒母豚鼠喂給奶後，仍能生活，但大多胎兒為死胎及發育日齡不足者。

2. 母豚鼠流產後不舐陰部之毛，因而陰部之毛，血水與在下腹部形成污髒的癩。

3. 人工擠取患鼠之乳頭仍有乳汁但量甚少。

4. 流產之母豚鼠，在流產後一般精神萎縮，聳毛，不吃食物，90%以上當日或次日流血死亡，但亦有數日後才死亡者，如果流產後飲食好轉，健康亦逐漸復原。

從流產季節來看，在一九五〇年至一九五三年終年都有，但多在春季冬季，夏秋季亦有發生，及至一九五四年與一九五五年發生季節都在夏末秋初，（七八月份）特別是在五四年，至五五年均係七月中下旬發生，前後相差僅僅二週。發現的症狀完全相似。

### 流產難產屍體解剖及培養所見：

消化系：口腔有綠黃色舌苔，胃內食物厚粥狀，胃粘液附着在食物上，胃壁趨縮，小腸大部份僅有少量粘液及消化不良之黃色霧狀物。大腸空虛，直腸有的有便泌有的如稀粥狀。

分泌腺：除顎下腺稍有腫大外其他正常。

生殖器官，流產者自陰唇至子宮體均各瘀血塊並收縮不全，陰腔有充血出血點，子宮口未收縮，卵巢有些腫大。

培養：心（一）脾（一）肺（一）

肝（一）子宮瘀血有溶血性鏈球菌。有個別豚鼠在大便中培養出腸炎桿菌。

根據以上各方面的具體現象和經過，著者認為豚鼠流產的主要原因是以下三方面的影響：即①種鼠，②衛生條件，③營養。如果針對這三方面加以改進，豚鼠流產是可以防止的。

### 選種育種對防止豚鼠流產的作用：

要知道豚鼠是否適合用於做種，在一般只是選擇體重多600克以上，健康情況良好，毛色光滑及行動活潑，第二性徵明顯，即可投入生產。但對該豚鼠從投入生產至老弱這一階段的過程，由於沒有做出科學的記錄根據，從而對繁殖用之公種母種在平常生產中缺乏瞭解，種豚鼠已經生產多少胎，每胎產仔數，產前產後有無疾病，是否流產過，特別對到一定年齡（二年）即予換種，這點我們做得很差。因此說：我們已往的選種育種是一種經驗的育種法，不是有系統的、有根據和目的的選種。

根據幾年來的經驗證明，流產之種鼠有80%以上是年老者。表現在趾甲生得很長，毛粗糙，產後泌乳量少。即使小仔長大其種母已瘦弱不堪。為此，我們從1955年七八月

在流產初期開始選種，選擇已產二胎之母種，體重在 700 克左右，沒有流產過的，產仔在四匹以上者，選此小仔以作育種，並以耳標記號管理，這樣 1956 年不但流產難產只減少到五例及產後死亡六例，特別在產量上亦顯著提高，例如：已往所育幼種第一胎就有發生流產現象，而生仔數第一胎平均為 1.8 至 2.7 匹，而 1956 年所投入的母幼種，第一胎即達 2.7 至 3.2 匹，而第三胎已達 3.1 至 3.5 匹。因此，種鼠的選擇對防止豚鼠流產有着決定性的影響。

控制環境條件對豚鼠流產的影響，

但有良好的種鼠還是不能達到完全防止種鼠的流產以及質與量具備的後裔，更重要的還須如何使這些動物生活在適合牠們生長的舒適的環境裡，不受外界有害動物的物質。

根據斯柯洛霍吉柯 (A.K. Скорохолько) 之試驗，〔動物舍內如果有氨氣，其含量如果能使人的眼部受到迅速的刺激其最低含量為 0.698%，咽喉 0.408%，造成咳嗽 1.72% 其含量在 0.25% 時就要使供試豚鼠在 4—9 天中死去 80%，其含量為 0.5% 時，就會使家兔的氣管及支氣管出血……並會發生腎臟與肝臟的實質變性〕。

按斯柯洛霍吉柯的試驗證明，如何控制飼養動物的環境衛生適應動物的生活條件是有相當重大的意義。由於環境的冷，熱，濕度及空氣中的各種氣體，除氮及氧外，還有二氧化碳，氫及硫化氫等；都是對動物健康有着密切的關係。特別如何防止溫度濕度的忽高忽低及不利動物的各種氣體的消滅更為重要。

過去本所飼養豚鼠的房間由於飼養豚鼠過於擁擠，長期的飼養在一立方米面積超過了五匹的環境裡；冬春二季換氣很少。夏秋氣候潮濕，而室內溫度與相對濕度很不平衡，加之換窗次數少，已往 1954 年每週換窗一次，1955 年二次，因此動物舍內的空氣非常不衛生，刺激工作人員的眼睛流淚，咳嗽困難。在這樣的環境下，對繁殖種鼠來說牠們的飲食亦非常不正常的，表現在：冬春季飼料耗用量低，夏秋季飼料量多。由於冬春季夜長。氣候冷，不開窗，空氣處於靜止，夜間生活在不通氣的房間裡，呼吸着濃厚的氫、二氧化碳、硫化氫等之氣體，致使豚鼠有受到慢性中毒的可能性，因而豚鼠食慾減少。夏秋季雖白天黑夜都開窗通氣，但因室溫高及雨季濕度大，因之亦不願活動，呼吸加快，因為氣體、溫度、濕度的不正常，促使動物飲食減少，對疾病的抵抗力相對減低。

鑒於以上情況，自 1955 年起對不利的環境進行改善。

I. 消滅發生氨氣，二氧化碳，硫化氫等氣體產生的來源：

1. 分散繁殖房內的種鼠，使飼養密度由一立方米五匹減少至四匹以內。以減少飼養過多而呼出之二氧化碳的增加。

2. 增加換窗（糞）次數，由原來每週二次改為每週換窗除（糞）三次；並經常煮沸木質籠子及糞屜，如此使有機蛋白質未待分解發酵腐敗而清除，減少室內氫及硫化氫等氣體至最低限度。以減少慢性中毒的機會。

關於清除舍內之  $H_2S$ ，據參考資料用 1% 的次氯酸鈉  $NaClO$  溶液作為  $H_2S$  的吸附劑，其效果很好，當  $H_2S$  的含量為 0.005—0.05 毫克/升時， $NaClO$  可以清除  $H_2S$  達到 94—100%。

II. 調節溫度，濕度使豚鼠生活在呼吸暢快，溫度適宜的房舍裡，這點我們可以從飼

養幼子與繁殖種鼠飼養的溫度不同而得不同的健康結果，如離乳不久的幼仔，我們飼養在不設暖汽設備的房間裡，溫度在冬季春季（10月末至第二年的4月末）都在 $-2^{\circ}\text{C}$ 至 $+8^{\circ}\text{C}$ ，夏季秋季的室溫 $13^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 之間，但由於通汽較好，溫度不大，因而死亡率很低，每月平均僅在 $1.8\sim 0.6\%$ ；而繁殖種鼠舍內設有防寒取暖的設備，但換氣設備不好溫度較大。特別是夜間溫度較白天更大，牆上可見到流動的水份。因此種鼠的疾病死亡率達到百分之四至十二，但在房頂上開築通氣口（老虎口）後，溫度顯著改善，因而死亡及流產逐月降低。如上所述，控制種鼠飼養之房舍的環境，有着重要意義。

但必須指出防止豚鼠的流產和難產除選種及控制環境條件外，關於種鼠每天所喂給之飼料的營養是否充足，亦即飼料的質量，能否使種鼠的發育正常；特別是維生素的供給，對懷孕母鼠亦有着重要意義。

著者從1950年至1955年的飼料對豚鼠的影響長期觀察中，種鼠由於在缺乏某些日糧食成份和飼料的突然改變之後的一個時期；在二至四週後；往往全群的豚鼠發生變化，例如患病及死亡增加。

終年流產及季節性的流產，死產和難產不斷的發生，是飼料對豚鼠密切有關的一環，由於用屍體組織進行細菌培養，沒有發現流產桿菌及其他致病菌。雖控制了環境條件及採取了選種等措施，收到一定預期的效果。但不能否認的這種流產，死亡現象沒有根本消滅。這說明喂給動物的飼料裡尚缺乏對懷孕種鼠的必需物質，維生素及其他物質。

### 營養對懷孕種鼠的影響

豚鼠是多胎動物，在懷孕末期，生長很快，需要的養分亦最多，如果在這時不能供給足夠的飼料養分，勢必使母體與胎兒發育受到阻礙。從數年來流產胎兒的大小發育程度所見，均為已將分娩之成熟死胎。實踐證明說明我們供給之飼料在質和量方面，只含有供給豚鼠的一般生活維持量，沒有達到滿足豚鼠懷孕期的加倍之營養需要量，正如B.C.葉爾曉夫所講的“質的飢餓”，質的飢餓即是動物完全或部分的缺乏一種或一些日糧組成成份。（碳水化合物，蛋白質，維生素和礦物質）。從而使種鼠體質軟弱，懷孕期延長，胎兒早死及發育不足。但在全群發生流產之時期，在1955年八月著者在日糧中增加維生素等飼料，魚肝油，酵母粉及魚粉，則一星期後即發生良好作用。流產，難產即逐漸下降。但必須說明，即是在青飼料質量最好的季節（4—8月）裡，如僅僅喂給青飼料而不加維生素飼料，這樣亦不能滿足懷孕鼠的需要，而必須適當的喂給維生素飼料方可。由於懷孕母種對青飼料內所含之維生素的攝取量，僅可維持本身的發育，對所懷孕的多胎胎兒的需要量，應予在飼料中另行補給。

### 討論與總結

1. 豚鼠流產，死產，經屍體培養檢查證明牠不是細菌性所引起的傳染病，是我所實驗動室一種長期存在，經常發現的一種疾病。
2. 由觀察中證明豚鼠的流產，是由於管理上對豚鼠母種在受孕，懷孕期間對有機體缺乏全面照顧。如：有害發育的環境條件之刺激物的消除及滿足發育過程營養的需

要。

3. 改善環境條件，主要是消除種鼠飼養場所的氨，二氧化碳，硫化氫及調節相對溫度到40—70%及溫度 13°C—24°C 之間。

4. 在飼養管理中，只解決環境條件和飼料營養，若不進行選擇祖代高產無病的母種投入生產，則僅僅只能獲得產量一般死亡較低的後裔

5. 做到選種，控制環境條件及營養的供給，不但可以防止種鼠的流產和死產，同時可以降低種鼠及小仔死亡率，並提高受胎率和繁殖率。

### 參 考 文 獻

1. 農畜衛生學第一冊 P. 69 72 73 А.К. Скороходько 著1954年1月2版。
2. 獸醫學原理上冊 P99 BC 葉爾曉夫主編1956年4月第一版。
3. 動物營養學上冊 P273 王棟著1951年9月初版。

## 小動物飼料盒的改進(摘要)

徐 業 修

特製的飼料盒係由白鐵皮做成，每盒分為數格，每格下部有一個半圓形的漏洞，飼料由此洞漏出。盒的上部有蓋，飼料由此裝入。效果及優點：1. 節省飼料；2. 食槽前有小踏板便於動物採食；3. 食槽有分隔擋，動物不能上槽，可保持飼料清潔；4. 不佔動物活動面積。

(原文曾發表於 生物製品通訊 第一卷第二期，1956年)

## 血清分裝裝置介紹(摘要)

李 大 容

本裝置適於分裝粘稠液體用，其特點為在分裝管部分接有一個特殊的玻璃球管並利用踏腳板控制裝量。效果及優點：1. 操作方便、快速；2. 裝量準確；3. 安瓿頸部不沾污血清，封口後不留有黑痕；4. 裝置費用低廉。

(原文曾發表於 生物製品通訊 第一卷第二期，1956年)

## 蒸餾器進水裝置與出水量的關係(摘要)

劉 士 敏

作者根據我所原用的連續煮沸式蒸餾器結構作了如下改進：1. 縮小水位間距；2. 改用水漂控制水位。效果：出水率較改進前提高一倍。

(原文曾發表於 生物製品通訊 第一卷第四期, 1956)

## 水氣兩用安甌洗滌器(摘要)

劉 士 敏

作者利用煤氣管的三通嘴改裝成水氣兩用安甌洗滌器。使用時，兩腳控制水管與氣管（壓縮空氣）活門使氣和水輪流往復進行排水及沖洗。效果：工作效率提高三倍，洗滌質量有了提高，安甌破損率也有減少。

(原文曾發表於 生物製品通訊 第一卷第四期 1956)

## 溫差電溫度計的試製(摘要)

崔 錦 家

作者利用康銅——銅兩種金屬銲接點遇熱能產生溫差電動勢的原理，製成溫差電溫度計。其特點，在短時間內可測出高至560°C 低至-169°C 左右的溫度。通過特製的熱電偶和選擇器可迅速的測出各個實驗動物的體溫，適合熱原質測定用。

(原文將發表於 生物製品通訊)