

# 郑州眼科学术会议 论文汇编

(内部資料)

中华医学会河南分会編

# 郑州眼科学术会议 論文汇編

(内部資料)

郑州眼科学术会议论文汇编

(内部资料)

中华医学会河南分会编

\*

河南人民出版社出版(郑州市行政区五路)  
河南省书刊出版业营业登记证字第1号

河南第一新华印刷厂印刷 河南省新华书店发行

\*

豫总书号:3122

787×1092 纸 1/16 • 21 $\frac{1}{2}$ 印张 • 432,000 字

1964年3月第1版 1964年3月第1次印刷

印数:1—3,500 册

统一书号:14105 • 82

定 价: 4.40 元

## 前　　言

郑州眼科学术會議是于一九六二年十一月在河南省召开的。除本省有关专、市的四十多名代表外，还邀请了十九个兄弟省市五十位专家、教授参加。这次會議的中心內容，是交流和探討我国近几年来在沙眼及青光眼的临床、科研、防治等方面的經驗与成果。大会共收到学术論文一百六十九篇，其中很多論文对我国今后开展眼科疾病的防治工作和科学的研究工作均有指导意义。为了扩大經驗交流，提高学术水平和积极支援农业、大力开展农村的沙眼防治工作以及加强青光眼的研究工作，會議期間由参加会议的各省市专家的协商研究，决定将大会宣讀的有关沙眼、青光眼的論文和小組上交流的文摘共八十二篇委托我会选編成册，供各地工作参考。

由于业务水平及其他条件的限制，难免还有很多缺点和錯誤，未能滿足大家預期的要求，希予批評指正！

中华医学会河南分会

1963年10月

# 目 录

## (一) 沙眼部分

### 論 文

- 沙眼疫苗猴体实验研究(摘要) ..... 张晓楼等(1)  
沙眼病毒的体外培养 ..... 李子华等(3)  
——用鸡胚内胚层细胞分离和传代  
抗沙眼病毒药物筛选的实验研究 ..... 马镇西等(11)  
河南省十三万人口沙眼发病情况及流行因素调查研究 ..... 马镇西等(20)  
五年来对沙眼治疗的研究 ..... 张俊杰等(50)  
农村沙眼大面积间歇治疗的初步观察 ..... 杨玉霞等(58)  
内服长效磺胺对沙眼的疗效 ..... 杨沛霖等(61)  
羊膜填垫式疤痕性睑内翻矫正术 ..... 吉民生等(66)  
上海的沙眼防治 ..... 上海市沙眼防治委员会等(75)  
广东省防治沙眼防盲治盲工作经验介绍 ..... 张 峨(83)  
在农村开展沙眼防治工作的经验体会 ..... 云南省第一人民医院眼科等(92)

### 論文摘要

- 上海地区沙眼病毒的分离和鉴定 ..... 李子华等(97)  
沙眼病毒的研究 ..... 马镇西等(94)  
沙眼病毒的组织培养 ..... 王克乾等(100)  
沙眼病毒的体外培养 ..... 李子华等(102)  
——在 HeLa 细胞中系列传代及多房型包涵体和胞外型的发现  
感染沙眼病毒后的卵黄膜直接涂片中，包涵体和胞外型的发现 ..... 李子华等(103)  
沙眼病毒免疫学研究 ..... 马升阳等(104)  
沙眼病毒鼠体接种实验研究 ..... 马升阳等(109)  
在正常对照的鸡胚卵黄膜涂片中，疑似沙眼病毒的原生小体和  
疑似始体包涵体的探讨 ..... 李子华等(110)  
沙眼免疫性问题及疫苗疗法的尝试的初步观察 ..... 昆明医学院眼科教研组  
门诊科研小组(111)  
九十六例沙眼患者病理组织的观察研究 ..... 于 杰(112)

- 山东省沙眼发病之統計及分析 ..... 孙桂毓等 (118)  
 燕湖疗法合并其他药物对沙眼包涵体的影响 ..... 广州市沙眼防治所 (119)  
 三年来对治疗沙眼药物的临床观察 ..... 楊玉霞等 (126)  
 机械与药物綜合疗法对沙眼的疗效 ..... 张培章 (129)  
 眼板切除矫正內翻倒睫的結果初步報告 ..... 孙祥正等 (129)  
 簡易眼內翻手术 ..... 刘雪公 (133)

#### ——压迫矫正术

- 五年来防治沙眼和防盲工作的情况介紹 ..... 河北省邢台眼科医院 (134)  
 浙江省杭州市沙眼防治工作簡报 ..... 吳燮灿 (135)  
 江西省沙眼防治工作的回顾与展望 ..... 胡献可 (137)  
 万安县防盲治盲工作經驗介紹 ..... 江西省眼病防治所 (138)  
 河南农村沙眼防治工作体会 ..... 河南医学院眼科教研組 (140)  
 眼板切斷火棉胶粘連矫正眼內翻的手术 ..... 馬肇麟等 (141)

## (二) 青光眼部分

### 論 文

- 国际青光眼研究动态 ..... 郭秉寬 (143)  
 在高級神經与周围神經抑制状态下对眼压活动的觀察研究 ..... 馬鎮西等 (163)  
 青光眼的病理改变 ..... 李凤鳴 (173)  
 眼压描記的常数及青光眼早期診断 (文摘) ..... (178)
- a. 电子眼压計对慢性单纯性青光眼  
 早期診断价值的初步估計 (摘要) ..... 上海第二医学院眼科教研組 (178)
- b. Priscol 試驗对青光眼的診断价值 (摘要) ..... 曹福康等 (179)
- 我国人正常眼与青光眼的眼壁硬度 (E 值) 的研究 ..... 陆道平等 (181)  
 正常眼压的測定 ..... 张效房等 (188)  
 一千二百五十五例正常眼眼压描記的統計分析 ..... 张效房等 (196)  
 正常眼弹性眼压曲綫的統計分析 ..... 吳振中等 (204)  
 論 Goldmann 氏压平眼压計 ..... 孙桂毓等 (212)  
 青光眼的视网膜电流图 ..... 赫雨时等 (220)  
 視野对青光眼早期診断的意义 ..... 周文炳等 (229)  
 青光眼的暗适应在早期診断上的意义 ..... 吳乐正 (237)  
 我国人健康眼的前房角 ..... 王承烈 (242)  
 絶对期青光眼之治疗 ..... 解放軍总医院 眼科 (250)

### ——介紹馬尾引流的方法

- 論青光眼积极主动的普查普治工作.....石增榮 (254)  
原发性青光眼“辨証論治”的初步体会.....范新孚等 (257)  
青光眼的远期疗效觀察.....王思慧等 (265)  
Scheie 氏巩膜灼瘻术疗效的觀察.....張淑芳 (272)  
关于原发性青光眼治疗上的几个問題... 西安医学院第二附属医院眼科教研組 (279)  
睫状前动脉結扎及睫状后长动脉透热凝固  
    治疗青光眼疗效之初步觀察.....孙信孚 (287)

### 論文摘要

- 我国人正常前房角小梁网及 Schlemm 氏管结构的研究.....易玉珍 (294)  
用房角鏡检查法研究青光眼之近展.....張文山 (295)  
前房角鏡检查在青光眼診斷治疗上的应用.....俞德藻 (297)  
青光眼房水蛋白紙上电泳分析的初步報告.....毛文书等 (298)  
二百一十只正常眼眼压 ( $P_o$ ) 房水流暢系数  
    (C) 与眼壁硬度系数 (E) 的測定.....陳淑初 (299)  
我国人正常眼的房水流暢系数及房水流量.....黃永康 (300)  
眼压描記的研究 ..... 河北医学院眼科教研組 (302)  
压平式眼压描記的方法及常数.....馬世英 (303)  
我国正常人二十四小时眼压的测量.....周文炳等 (307)  
昼夜眼压曲線的測定.....孔令訓 (308)  
眼压描記中几个問題的商榷.....張效房等 (310)  
眼压降下率.....黃叔仁等 (311)

### ——介紹一种簡易的眼压降下率測定法

- 飲水試驗对青光眼早期診斷之意义.....周文炳等 (312)  
血管暗点检查法用于青光眼早期診斷的初步報告.....周文炳 (313)  
应用烟酸作早期青光眼診斷和确定手术指征法.....魏勘沉 (314)  
中西医結合对原发性青光眼分类法的探討.....黃叔仁 (315)  
針刺行間穴对眼內压影响的觀察.....黃叔仁等 (316)  
小視野青光眼的远期疗效觀察.....張蓮淨等 (317)  
尿素在青光眼治疗上之应用.....关國華 (318)  
空气离子对眼压影响的初步临床觀察.....楊德旺 (319)  
虹膜嵌入巩膜术一千二百九十七次統計分析.....河北省邢台眼科医院 (323)  
虹膜周边切除术治疗充血型青光眼.....丘孝芝等 (323)

- 先天性青光眼的手术治疗.....邹子度 (324)  
——前房角切开术、前滤帘分离术、外滤帘拉开术及外滤帘切开术  
睫状体炎青光眼综合症五十二例分析.....嵇訓傳 (328)  
先天性青光眼四十一例临床分析.....王文吉等 (328)  
新型眼压計——原理和构造.....李子良 (329)  
急性充血性青光眼誘因分析.....馬肇嶸 (331)

#### 附 件

- 有关沙眼防治工作的建議(草案) ..... (332)  
关于加强青光眼的临床、科研和防治工作的几点意見 ..... (334)

## (一) 沙眼部分

### 沙眼疫苗猴体实验研究(摘要)

北京眼科研究所 张晓楼 金秀英

卫生部生物制品研究所 王克乾

沙眼是一种广泛存在的传染性眼病，是影响视力、甚而致盲的重要原因。全世界约有%的人口受它的危害。在我国农村中，沙眼患者还相当普遍。

自磺胺剂及抗生素问世以来，沙眼的治疗工作有了很大进步，但疗程仍然较为漫长。

本病流行很广，传染性较强，除尽快治愈已有的患者外，必须大力贯彻“以预防为主”的方针，才能使其根除。

通过宣传教育，成年人可以避免接触传染；但在儿童中，特别是在集体儿童中，避免接触传染则是比较困难的。因之，如能制成有效的沙眼疫苗在儿童中使用，是具有现实的积极意义的。

我们用鸡胚卵黄囊培养的沙眼病毒，经过高速低速交替离心沉淀提纯后，制成活毒疫苗及灭活疫苗，并在猴体进行免疫实验，兹摘要报告如下：

#### 实验 I 活毒疫苗

用高速低速交替沉淀提纯的活病毒作为疫苗，用以下方法免疫猴子。

1. 皮下静脉组：猴3只。第一次皮下注射疫苗1ml，第二、三次皆静脉注射疫苗1ml，每次间隔1周。

2. 皮下组：猴3只。3次皮下注射，每次1ml，间隔1周。

3. 对照组：猴2只。用正常卵黄囊制成对照疫苗，按皮下静脉法注射3次。

三组猴子注射后，局部、周身皆无不良反应。

攻毒：于第三次免疫注射的2周以后，以棉棒蘸0.2ml 10% 沙眼病毒悬液，轻轻磨擦猴睑结膜，接种沙眼。每眼接种量约为 $1,500 ELD_{50}$ 。

攻毒后临床所见：皮下静脉组的1只猴子，于攻毒前1日因腹泻曾服用金霉素500mg，除此猴未发病外，余7只猴皆发生沙眼。但是，可以明显看出，免疫组的潜伏期长、病情轻，皆未传染到对侧眼。

血清学检查：免疫后补体结合抗体滴度及血凝抑制效价皆升高。但1个月后补体结合效价很快消失，血凝抑制效价在3个月后亦近消失。

### 实验Ⅰ 灭活疫苗

用同样提纯的病毒浓缩3倍后，并以福尔马林灭活，以磷酸铝作吸附剂；另外一组原制剂为浓缩3倍的活毒疫苗，在保存期间，冰箱发生故障成为死毒疫苗。

免疫方法：每组用猴3只，以磷酸铝吸附疫苗行皮下注射，每次1.5 ml，2周后再注射1次。自然灭活疫苗行皮下注射，每周1次，每次1 ml，共3次。对照组未给予任何注射。

磷酸铝吸附疫苗皮下注射后，局部红肿数日，亦有于2—4周后成为无菌性脓肿者，但皆无全身不良反应。自然灭活疫苗组局部无反应。

攻毒：攻毒方法同实验Ⅰ，每眼接种约 $500 \text{ ELD}_{50}$ 。对照组除3猴用同样攻毒病毒(106y9)外，3猴用经过组织培养的病毒，3猴用鸡胚传代55代的病毒。

结果：磷酸铝吸附疫苗之效果，与实验Ⅰ活疫苗之效果相似（即潜伏期长、病情轻、2/3猴传染对侧眼）。自然灭活疫苗的免疫效果稍差。总的看来，灭活疫苗不及活毒疫苗免疫性强。

通过对组织培养的病毒在猴眼感染的观察，毒力有增高的趋势，而在鸡胚传代55代者毒力有减弱的倾向。

### 实验Ⅱ 再感染实验

沙眼病毒的感染，只限于结膜上皮细胞。为了了解沙眼有无局部免疫，我们把实验Ⅰ攻毒过的5只猴子患沙眼全愈后，重复用病毒攻击2—3次，结果如下：

1. 重复感染多不发病，用大剂量病毒攻击时仅轻微发病，滤泡很少，2—3周即行消失。
2. 原来未发过病的对侧眼，重复感染时亦多不发病，即便发病亦很轻。
3. 重复感染间隔日期：重复感染攻毒的日期与前次沙眼全愈或前次攻毒（如未发病）时期的间隔，最短者为28日，最长者为179日。前述因服用金霉素而未发病的6号猴，于第一次攻毒后179日再次攻毒，引起极轻的临床沙眼。最长间隔而未引起发病者为112日（5号猴）。
4. 第一次重复攻毒后虽未发病，但仍然自4/5猴结膜囊内分离出病毒，第二次自1/4猴眼中分离出病毒，第三次再感染时用大量病毒感染攻击，虽然1/4猴临幊上显有滤泡，但均未能分离出病毒。

从这个实验结果，可以看出沙眼是有局部免疫力的。重复感染不致发病，或发病极

輕。原来未发过病的眼，很可能是在第一次另眼患病时（該眼曾患有隐性感染），获得了局部的免疫。如6号猴在原始攻毒时，因为前1日服用了金霉素，虽未发病，但仍从其結膜囊內分离出沙眼病毒，故而获得局部免疫。局部免疫持續若干时日，本实验获得的数据为4个月。局部免疫的机制尚不明了。重复感染时不但发病少而輕，病毒分离阳性率也随重复感染次数而減少。由此說明，在經過感染的結膜囊內，在一定时期中是不適于沙眼病毒生存繁殖的。

从以上所有的实验看来，周身用沙眼疫苗、活毒疫苗較死毒疫苗免疫效果佳，但均不能保証攻毒后不受感染。可能是因为此实验之攻毒量太大，远远超过了自然传染中的感染量。免疫組所以能保护对側眼不受传染，也正說明了这一点。

另外，从重复感染的实验中，說明沙眼具有局部的免疫力。若能寻出減毒或无毒株，作为滴眼免疫之用，免去注射之煩，則更为理想。經過鸡胚传代55代的病毒，似有減輕毒力的趋势。如何获得減毒株，有待进一步的探索。

## 沙眼病毒的体外培养

### ——用鸡胚內胚层細胞分离和传代

李子华 郭秉寬 吳厚章 陈凤英 沈美君 周忆萍 郭毓环

沙眼病毒于1955年由我国湯飞凡等<sup>①</sup>在鸡胚中順利地培养成功以后，对世界的沙眼的研究工作起了很大的推动作用。然本病毒能否在組織培养中順利的生长与传代，尚是一个問題。如果能在組織培养中生长，即可将它从活的机体内移到体外試管中来研究，并为生活环之觀察和疫苗的制备等，提供极有利的条件。

沙眼病毒能在鸡胚內卵黃囊膜上很好的生长繁殖，已成可靠的事实。而与本組密切相关的鸚鵡熱和淋巴肉芽肿組病毒，能在組織細胞中生长，亦已成为可能<sup>②</sup>。与本組抗原性上有密切关系的如猫肺炎病毒和鼠肺炎病毒亦早在1945年經 Weiss 氏等<sup>③</sup>在鸡胚內胚层細胞中培养成功。近年来 Kordora 氏等<sup>④ ⑤</sup>更用上述細胞成功地分离培养了Q热立克次氏体。Weiss 氏等<sup>⑥</sup>更用以培养鸚鵡熱病毒和普氏立克次氏体成功。基于以下事实：与本組密切有关的其他病毒，已早能在多种細胞中生长<sup>⑦ ⑧</sup>。因此，各地学者久已进行多次尝试，决心要把沙眼病毒的試管內培养提到日程上来。由于沙眼病毒在鸡胚內最适宜生长的部位是卵黃囊膜，所以我們首先用卵黃囊的內胚层細胞来尝试培养沙眼病

毒。

关于沙眼病毒的组织培养工作，报道尚少，在工作过程中，见到了 Gardon 氏等<sup>⑨</sup> 1960 年所发表的材料。首次报告，用我国台湾分离出来的毒株第 11 代的卵黄膜材料，试验感染卵黄囊内胚层细胞成功，找到了典型的病原体包涵体，但是不能传代。据 Furness 氏 1960 年的报告，须使沙眼病毒首先适应于鼠脑后，才能使之在组织培养中生长与传代，因此并不能广泛地使所有毒株均能感染成功。1960 年第三季度开始，我们实验室即开展了这方面的研究，希望沙眼病毒能在组织培养中生长与传代，经过一段的摸索，我们已将 2 株病毒从鸡胚中移植到鸡胚内胚层细胞，并连续传了 5 代，再回种到鸡胚，仍能生长。此外，我们还用鸡胚内胚层细胞从病人标本中直接分离到 2 株病毒。

### 材料和方法

1. 鸡胚内胚层细胞的制备：取孵育 4—5 天的受精鸡胚，此时胚盘的直径已发育至 4 厘米左右，用碘酒或酒精先后消毒气室端的蛋壳，使能将整个蛋的内容物倾倒于灭菌双碟内，用灭菌剪刀取下卵黄膜上静脉丛外围约 1 厘米左右的区域（即无血管区的内胚层组织部分），放入盛有 Hanks 液 10 ml 左右的双碟中，充分洗涤，以去净卵黄液，吸去混浊的洗涤液，再用锋利的剪刀将该项组织剪成 2 毫米直径左右小块，加少许 Hanks 液，然后将其吸入试管内，待其下沉，吸去上清液，再加入 Hanks 液 10 ml 左右，直立放置 4—5 分钟，使管内组织小块充分下沉，然后吸去上清液，在沉淀的组织小块中先后加入鸡胚浸出液数滴和配制好的营养液数滴（10% 牛血清和水解乳蛋白液），即可分装使用。经培养 36—48 小时后，组织小块的细胞，即可向周围游离，并长成单层细胞。

2. 玻璃器：按组织培养技术操作常规处理，选用灭菌 200 ml 与 50 ml 的扁瓶和 10 ml 的小瓶。为着便于形态学的观察，在培养瓶中预先放入 8×16 毫米经处理后的盖玻片，待长有单细胞后即可接种病毒。经不同的间隔期，取出盖玻片进行染色和镜检。

3. 营养液和维持液的成分：56°C 30 分钟灭活的雄鸡血清 25%，Hanks 液 75%，加链霉素使最后浓度为 50—100 mg/ml（兔血清可代替鸡血清使用，1962 年以后，以 25% 小牛血清代替鸡血清），并加入水解乳蛋白 0.5% 和 50 mg/ml 的新霉素。在用上述方法配成的营养液中，经 24—48 小时后，细胞生长茂盛，维持液的成分基本上同上，唯血清量减少至 5—10%，抗菌素减少或不用。

4. 毒株和病人标本：原在鸡胚中传代的毒株 114，为我们实验室于 1960 年从沙眼病人分离而来，并经志愿者和猴体实验感染鉴定和证实<sup>⑩</sup>。病人标本系由沙眼防治所供给，直接来自病人，编号为 124、128。病人临床之分期和标本的采取及处理方法见另文<sup>⑪</sup>。

5. 病毒接种、收获和传代：取 114 株在鸡胚卵黄囊膜中传代的病毒，用肉汤盐水制

成10%的卵黃膜病毒悬液，經3,000轉離心15分钟，取其中层液体作感染用。大瓶之接种量为1 ml，中瓶为0.3 ml，小瓶为0.1 ml。經接触2小时后，大瓶加入維持液9 ml，中瓶加入5 ml，小瓶加入1 ml，然后移置36°C溫箱中培养。

沙眼病人結合膜刮取材料的标本、接种的方法和剂量同上。1962年后一切病毒稀释液均改用PG—蔗糖溶液<sup>①</sup>。

将感染病毒48—72小时的組織培养管，冰冻溶解二次，刮下容器壁上的所有細胞，連同維持液，一起保存于-35°C低溫冰箱內，备作返回6—7日的鸡胚及組織培养中系列传代用（传代用的剂量同上述）。

6.为了証实在細胞与鸡胚交互传代的过程中，病毒是进入細胞內繁殖呢，还是在細胞外仍保持其生存能力，我們作了病毒悬液对37°C溫度抵抗力的試驗。取証实含有丰富原体的卵黃膜材料，用肉湯盐水或PG—蔗糖溶液制成10%悬液（离心沉淀处理法如上述），分装带有橡皮塞的无菌3号試管中，每管1 ml，然后同置于37°C溫箱中，每隔24、36、72小时后，各取出1管回种到7天胚龄的鸡胚卵黃囊中，每胚0.3 ml。

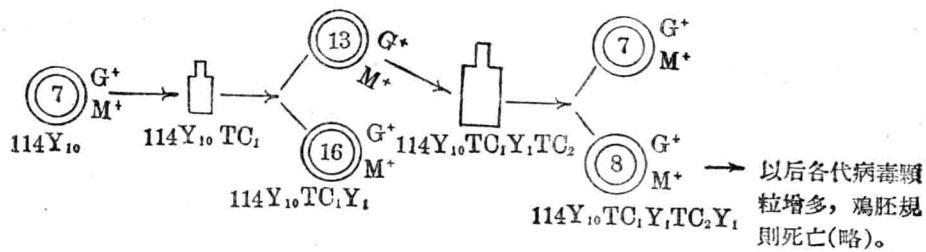
## 結 果

1.內胚层細胞培养生长情况：这些組織小块，一般在2小时后即可开始貼管，18小时后即已开始生长，48小时后为生长旺盛期，持續5天后，漸趋向退化，以25%的鸡血清对細胞生长最为适合。如将鸡血清的成分減低，其生长速度即告緩慢，在較理想的条件下，一般培养48小时后，其細胞集落向外扩展的面积，直径已可达1厘米以上（图1，A）。低倍鏡检：細胞很大，核与原浆的比例显得核很小，原浆內呈疏松的网状结构，充满圆形的卵黃球和空泡（图1，B、C、D），有时更有比卵黃蛋白球形态更大的卵蛋白块，它可比細胞核还大（图2中箭头所示的一个細胞），細胞膜的輪廊界綫明显，空隙較小。待6天后細胞漸衰老，原浆中空泡变大、模糊胞膜，甚至破裂、脱落而告死亡。

2.細胞培养感染病毒后的所見：在我們1961年早期工作的阶段中，未能找到十分典型的包涵体，取出經病毒感染2—3天后的細胞，作Giemsa染色鏡检，約有半数机会，可在細胞表面或原浆中网眼的支架上，找到紫紅色的类似原体大小的病毒顆粒（图3）。这种顆粒往往也很容易在細胞外出現，呈分散存在，而在正常对照的染片中未曾发现有此种顆粒，在极少情况之下，亦曾找到过原浆內的类似由原体組成的包涵体（如图4所示），和嗜硷性的病毒块及斑体（Plaque）（图5）。这些形态还較难肯定它是属于病毒的結構，但是这些經感染后的組織培养液，回种到鸡胚，可引起鸡胚致死，在卵黃膜涂片中可找到丰富的病毒原生小体。

3.用在鸡胚中連續传代的沪114株和125株，實驗感染組織培养的結果：

(1) 鸡胚内胚层组织培养与鸡胚卵黄囊接种交互传代的情况(图解1):



注: Y: 鸡胚传代。

Y<sub>10</sub>: 在鸡中已传至第10代。

○: 鸡胚。

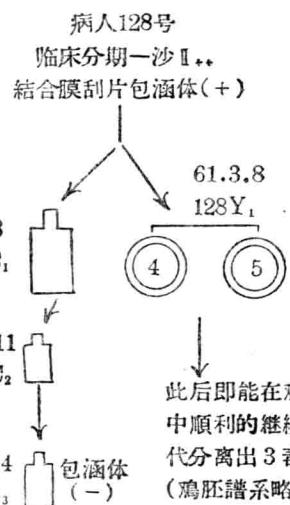
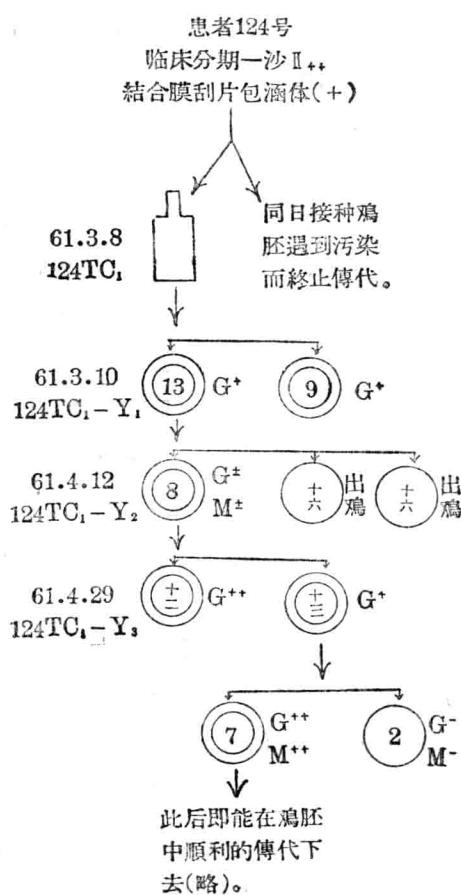
○: 病毒生长阳性, 圈中阿拉伯字示鸡胚死亡天数。以后表格里之中国数字代表活杀天数。

□: 细胞培养小管。

G<sup>+</sup>, M<sup>+</sup>: Giemsa and Macchiavello 染色性。+号的数目示病毒之多少。

□: 细胞培养大瓶。

图解 1



图解 2 以后传代情况略。

从图解 1 的示意图中可以看出，我們已交互传代了 4 次，但是在組織培养的細胞中，我們沒有找到典型的胞浆包涵体。交互传代虽已成功，但我們并未滿意于此，在此基础上，我們进行了系列传代。

(2) 用在鸡胚中連續传代的沪 114 株实验感染组织培养系列传代的情况，如表 1：

表 1 沪 114 株和沪 125 株在组织培养中系列传代情况

实验组别	感染日期	标本号	传代次数	包涵体出现时间	回 鸡 胚 情 况
A	61.4.24.	沪 125 Y <sub>2-3</sub>	TC <sub>1</sub>		
	4.26.		↓ TC <sub>2</sub>		
	5.9.		↓ TC <sub>3</sub>		→ ④ G + ④ M +
	5.17.		↓ TC <sub>4</sub>		→ ④ G ++ ④ M ++
	6.12.		↓ TC <sub>5</sub>		④ G +
B	61.4.24.	沪 114 Y <sub>10-8</sub>	TC <sub>1</sub>		
	4.26.		↓ TC <sub>2</sub>	24小时(+)	
	5.9.		↓ TC <sub>3</sub>	72小时(-)	→ ④ G +
	5.17.		↓ TC <sub>4</sub>	72小时(+)	→ ④ G + ④ M + ④ G + ④ M +
C	62.5.3.	干 114 Y <sub>6-2</sub> *	TC <sub>1</sub>		
	5.12.		↓ TC <sub>2</sub>	48小时(-)	→ ④ G - ④ M - ④ G + ④ M +
D	62.5.2.	干 114 Y <sub>6-2</sub>	原 <sub>1</sub> TC <sub>1</sub> △	30(+)78(+)	→ ④ G +++ ④ M +++ ④ G +++ ④ M +++
	5.11.		↓ 原 <sub>2</sub> TC <sub>2</sub>	24(-)	→ ④ G +++ ④ M +++
	5.12.		↓ 原 <sub>1</sub> TC <sub>3</sub>	23(-)96(+)	→ ④ G ++ ④ M +
	5.21.		↓ 原 <sub>1</sub> TC <sub>4</sub>	24(+)	
E	62.5.3.	干 114 Y <sub>7-2</sub>	TC <sub>1</sub>	48(++)	
	5.12.		↓ TC <sub>2</sub>	48(-)	④ G +++ ④ M +++ ④ G +++ ④ M +++
	5.21.		↓ TC <sub>3</sub>	96(-)	
	5.29.		↓ TC <sub>4</sub>	72(-)	
F	62.5.3.	干 114 Y <sub>6-5</sub>	TC <sub>1</sub>		
	5.11.		↓ TC <sub>2</sub>	48(-)	④ G ± ④ M ± ④ G + ④ M +
G	62.5.12.	干 114 Y <sub>7-5</sub>	TC <sub>1</sub>	23(++)	
	5.21.		↓ TC <sub>2</sub>	22(+)	④ G + ④ M ++ ④ G ++ ④ M ++

注：\* 干 114 Y<sub>6-2</sub> 示冰冻干燥毒株已传到第 6 代。

△ 原<sub>1</sub> TC<sub>1</sub> 示细胞未长成单层前，病毒与组织块同时感染。

#### 4. 用在鸡胚內胚层細胞，直接分离沙眼病人眼結合膜刮取物标本的結果：

以上証实适应于鸡胚的沙眼毒株，已能在組織培养中传代。現在的問題是能否用組織培养直接从病人标本中分离病毒，这方面的工作，尚未見有人报告。我們选出病人标本两分，同时接种鸡胚与組織培养，結果如上（图解 2）。

5. 沙眼病毒对 $37^{\circ}\text{C}$  溫度的抵抗力試驗結果：我們共进行过 2 次，病毒悬液在 $37^{\circ}\text{C}$  存放24小时以后，回种到鸡胚已不能引起規律死亡，亦找不到丰富的典型的病毒顆粒。36及72小时以后，亦得同样結果。

### 討 論

1. 从图解 1 的結果看，114 株病毒通过組織培养 1 代之后，回种到鸡胚，虽然推迟了死亡日期，但是涂片鏡检，用姬氏与馬氏的 2 种染色法，均能找到典型的病毒原体，解剖的現象所見也符合一般感染鸡胚所出現的規律。經過在 1 次的与細胞培养交互传代之后，用浓缩的細胞悬液感染鸡胚时，鸡胚即恢复規律死亡。因此认为通过組織培养 1 代之后，培养物中是存在具有感染力的活病毒的。

根据以下几点理由，虽然在早期的實驗过程中我們未見到过典型的包涵体，但是我們认为病毒可能已进入細胞中生长繁殖。

(1) 根据文献上报告，沙眼病毒对于 $37^{\circ}\text{C}$  的抵抗力均不能超过 24 小时。湯飞凡等<sup>①</sup> 报告，10% 的卵黃囊悬液經 $37^{\circ}\text{C}$  24 小时灭活。北京眼科研究所報告<sup>②</sup> 及 Jawetz 氏<sup>③</sup> 1960年的专文报告，均与湯氏結果符合， Julianelle 氏等<sup>④</sup> 报告，即使是在病人的眼結合膜刮取物中，沙眼病毒对 $37^{\circ}\text{C}$  的抗力，亦往往不能超过24小时。我們亦作了同样的實驗，証实沙眼病毒在 $37^{\circ}\text{C}$  經24小时后即已灭活。而我們實驗中的环境，沙眼病毒感染細胞之后，在 $37^{\circ}\text{C}$  溫度中往往停放48—72小时以上，如在此時間內病毒不能进入細胞中生长繁殖，长期在細胞外的这些病毒，应完全有理由认为已彻底灭活。

(2) 通过組織培养 1 代后的材料，回种到鸡胚仍能引起死亡和病毒顆粒的出現。根据 Hurst 和 Reeve 两氏<sup>⑤</sup> 的看法，經感染后的材料中，虽在形态学上无所发现，但是如能在回种到鸡胚之后，仍能形成典型的病毒顆粒者，亦算感染成功。

(3) 我們早期虽在感染細胞的原浆中，未能找到能說明生活环的各种形态，但是亦找到过浓密的嗜硷性基团（图 5）和疑似由原体組成的包涵体（图 4）。据目前所知，綜合各人的报导，鵝鴨热——淋巴肉芽肿的病毒包涵体，至少可由下面几种成分所組成： a. 嗜伊紅的原生小体。 b. 嗜硷性的始体。 c. 形态較大的嗜硷性顆粒，常环繞在包涵体内空泡的周围<sup>⑥</sup>。 d. 浓厚致密的嗜硷性基团或者是班体(Plaque)，按 Starr 氏<sup>⑦</sup> 和 Pollard 氏<sup>⑧</sup> 等人的意見，认为这是一种早期的包涵体。

无论如何，我們在后期1962年的工作中，已找到了非常典型的包涵体（图 6、7、

8、9），并且回种到鸡胚能够复制出病毒原生小体。根据这些形态学和生物学的指标，已有充分的理由使我們相信，沙眼病毒是能进入鸡胚內胚层細胞中生长繁殖的。

2. 从表1鸡胚毒株在組織培养中系列传代的結果看，125株Y<sub>2-3</sub>代，曾系列传到第5代，第4代和第5代的收获材料回种到鸡胚，均呈阳性的結果。114株Y<sub>10-8</sub>代，曾系列的传到第4代，第3代和第4代的收获材料回种到鸡胚，亦呈阳性。于114 Y<sub>6-2</sub>和于114 Y<sub>6-5</sub>均在細胞中传到第2代，第2代收获的材料回种到鸡胚，亦呈阳性。于114 Y<sub>7-2</sub>已传到第4代，在第1和第4代的細胞染色中，找到了包涵体，第2代材料回种到鸡胚呈阳性。于114 Y<sub>6-2</sub>系列传到了第3代，每代細胞在形态学上均找到了包涵体。每代收获的材料回种到鸡胚，均呈阳性。根据这些客觀的事实，我們已有理由相信：沙眼病毒是能够在鸡胚层細胞中系列传代的。比較細胞未长成单层以前即感染病毒（D組）和长成单层以后再进行感染（F組），此2种感染方法均能系列传代，唯前者在形态学上似乎較易形成包涵体。

3. 沙眼病毒在內胚层細胞中系列传代之后，毒力是否下降？从图解1交互传代的結果 114 Y<sub>10</sub> TC<sub>1</sub>—Y<sub>1</sub>—TC<sub>2</sub>—Y<sub>1</sub>看来，鸡胚与細胞交互传代之后，并不減低其毒力。

从表1 D組于114 Y<sub>6-2</sub>和 G組于114 Y<sub>7-5</sub>及 E組于114 Y<sub>7-2</sub>的結果看来，第1代和第2代的組織培养收获材料，回种鸡胚时，一般均能使鸡胚在5—6天内死亡。这也看不到有毒力下降的迹象。但从A組 125 Y<sub>2-3</sub>和 B組 114 Y<sub>10-8</sub> 2株病毒的传代情况来看，很明显的是传代次数愈多，鸡胚死亡日期愈晚甚或不死亡。显然是代数愈多，毒力愈少。因此在內胚层細细胞中繼續传代后，毒力之是否能保持稳定，尙未肯定。

4. 用組織培养为工具，直接从病人标本中分离病毒，其他学者尙未有报告。从图解2的結果看，124号标本，在細胞中传了1代，回种到鸡胚中分离出了病毒。128号标本，在細胞中传了4代，回种到鸡胚分离出了病毒。因此，用鸡胚內胚层为工具，直接从沙眼病人中分离病毒，是很有希望和前途的，它具有很大的实际意义和經濟价值：第一，組織培养比鸡胚容易用抗菌素控制細菌的污染，如124号标本，用鸡胚分离时碰到污染，而用組織培养即分离到了病毒。第二，多了一种分离沙眼病毒的工具，即更可提高病毒的阳性分离率。第三，細胞培养比鸡胚价廉。一分标本如用鸡胚分离病毒，第1代即需3只鸡胚，如用鸡胚制备組織培养，1只鸡胚即可制备內胚层細细胞30管，足够分离5—6分标本。第四，这种細胞来源与制备容易，比传代細胞易掌握。

5. 1962年的實驗中，可以較易出現典型的包涵体，这与近来我們在鸡胚传代过程中，在感染的卵黃膜的直接涂片上，发现了典型的原体和始体包涵体以及胞外的一些形态，具有密切关系。对于这个問題，我們将在另文中討論<sup>⑨</sup>。至于在其他細胞培养中的感染情况，将在另文中报道<sup>⑩</sup>。

6. 我們认为传代成功的关键在于：①感染材料必須新鮮；②必須連細胞块一起传