

148823

45233

衛生防疫資料彙編

第七輯

(對內文件・注意保存)

中華人民共和國衛生部衛生防疫司

1955年12月

序 言

幾年來我國的生物制品種類及數量不斷增加，產品的質量有了很大的改進；特別是經過全面的系統地學習蘇聯生物制品之先進方法後，所生產出的制品質量更加顯著提高，基本上保證了防疫上所需要的一些制品；在防治傳染病的工作上起到了一定的作用。我國各生物制品單位的專家和技術人員在以學習蘇聯先進經驗提高質量的方針指導下，在科學研究工作上也有了不少新的工作成就和創造。

另一方面在某些制品中仍然存在不少問題，特別是有些制品注射後反應強，效期短，運輸不方便和注射後的效果缺乏詳細調查研究以及注射前的體格檢查不夠，發生事故等問題；我們認為這些問題是需要有關方面努力研究並加以解決的。為了交流經驗改進與提高工作質量，我們將各生物制品單位報來的有關材料中的一部份，編印成冊分別印發各單位，這些材料中有的是學習蘇聯生物制品法規之經驗介紹，有的是試驗研究工作報告以及工作經驗的總結；在內容方面可能還有不夠完整之處僅供內部參考，並希批評指

中華人民共和國衛生部衛生防疫司

一九五六年二月十七日

1. 序言	
2. 關於蘇聯麻疹傷寒製造與檢定法規實習班經驗介紹（大連生物製品所，魏曉）	1—4
3. 1951—53三年間麻疹傷寒雞胚疫苗製造過程之變革及效力試驗總結（長春生物製品所）	6—34
4. 關於大連地方分離麻疹傷寒H毒種的研究工作總結報告（大連生物製品所）	35—55
5. 用國產大型冷凍設備（仿美貨 Stocks 1007P—120—20型）進行生物製品乾燥製劑試驗報告（一）（武漢生物製品所，謝毓晉等）	56—62
6. 凍乾操作規程（武漢生物製品所，陳曙）	63—64
7. 設備操作規程（武漢生物製品所，陳曙）	65—69
8. 用國產大型冷凍設備（仿美貨 Stocks 1007P—120—20型）進行生物製品乾燥製劑試驗報告（二）（武漢生物製品所，謝毓晉等）	70—76
9. 凍乾製劑第三次試驗報告	77—87
10. 用深層培養方法製造霍亂菌苗的試驗（一）（武漢生物製品所）	87—91
11. 霍亂菌苗深層培養試驗（二）（武漢生物製品所）	92—107
12. 類毒素濃縮試驗（武漢生物製品所）	108—116
13. 破傷風類毒素抗毒素絮狀反應試驗（一）（武漢生物製品所）	117—123
14. 破傷風類毒素抗毒素絮狀反應試驗（二）（武漢生物製品所）	123—128
15. 用布氏 Blake 方瓶培養白喉毒素時培養基的裝量問題（武漢生物製品所）	129—132
16. 1954年度森林腦炎疫苗研究階段總結（長春生物製品所）	133—156
17. 三年來北京市流行性感冒的病原學（中央生物製品研究所，朱既明等）	157—160
18. 北京市分離的流行性感冒病毒的生物學性狀及其他抗原分析（中央生物製品研究所，朱既明等）	161—166
19. 流行性感冒病毒的變異與流行病學（中央生物製品研究所，朱既明等）	

關於蘇聯斑疹傷寒製造 與檢定法規實習班經驗介紹

從歷史上看，北京、上海及大連三所在斑疹傷寒疫苗的生產工作上有着不同的發展情況，因而在製造的方法上就有很大的出入、不單所用的毒種不同，動物不同（大連用大白鼠、上海、北京用雞胎及小白鼠）甚至所用的檢定方法也不同，因辦法上的不一致，一切都無一定的標準，就產生了效價低，質量差的情況。這種狀況的發展一直拖到一九五三年下半年就極其嚴重的影響了對軍民疫苗的供應。在這個時候黨和政府提出了「向蘇聯學習，提高質量」的指示，並獲得了蘇聯黨、政府和蘇聯中央保健部的關懷和支持，派來了蘇聯優秀細菌學家斯達霍夫斯基同志，帶來了先進的蘇聯斑疹傷寒製造法規，並在他自己的指導下翻譯成中文本。在中央衛生部的主持下我們北京、上海、大連以及昆明四所擔任斑疹傷寒疫苗的製造人員組織了「蘇聯斑疹傷寒疫苗製造法規的學習班及實習班」。學習班集中在北京中檢所自八月十日至二十五日學習了兩個星期。這是在斯達霍夫斯基同志的直接參加及指導下進行的。經過理論學習，大家提高了認識，體會了法規的精神實質。接着從十月五日起到十二月底就進行蘇聯法規生產實習，現在我們把生產實習中的經驗教訓和體會以及優缺點總結在下面，希望能獲得同志們的批評和指正。

（一）蘇聯疫苗製造法規的優越性

由於蘇聯共產黨、蘇聯政府、蘇聯中央保健部的積極關懷和支持下，使我們獲得了世界上最寶貴的、最先進的科學技術經驗，在生物製品方面蘇聯生物製品法規是蘇聯無條件贈送給我們的許多材料中的一部份珍貴的材料。而斑疹傷寒疫苗製造法規，我們覺得更是一部典型的具體有高度理論性、思想性的社會主義類型的科學方法論的著作。通過參加學習同志們的三番兩次反覆學習，我們一致認為只有在社會主義類型的蘇聯社會才能產生這樣的社會主義類型的法規，為什麼這樣說呢？因為在蘇聯斑疹傷寒疫苗製造法規裏，我們看到了作為主導思想的米丘林學說在這裏發生作用，把斑疹傷寒立克次體通過它們最適宜的環境——蟲的腸管——提高毒力之後，才進行小白鼠肺的接種，這不是米丘林學說的實際運用嗎？同時我們也認識到也只有蘇聯的科學家才不致受到資產階級思想的束縛，而能在唯物辯證法的方法論的指導下，將蟲腸培養法與小鼠肺培養立克次體的兩個方法結合起來。使產生質與量都好的疫苗，在這種疫苗裏，立克次體的含量大，效價高。資本主義國家在製造斑疹傷寒疫苗所根據的方法論，在這一點上有着本質上的不同。直到今天資本主義國家裏的細菌學家還是以機械唯物論的方法各從自己的立場或用小鼠肺，或用雞胎各自標榜自己方法的優越性。而實際上他們做出的斑疹傷寒疫苗是遠比不過蘇聯疫苗的。比較起來他們的疫苗所含的氮量及福而馬林量都很高，因此反應也很大，蘇聯疫苗是純化濃製的，因此反應小，效力也大，這些事實是在第二次世界大戰中經過了大量預防注射而獲得了證明。

（二）蘇聯專家崇高的國際主義精神：在學習和實習斑疹傷寒法規的過程中，我們又在蘇聯共產黨、蘇聯政府、以及蘇聯中央保健部對中國生物製品的製造工作的關懷，而派來的蘇聯優秀細菌學家斯達霍夫斯基同志的指導下進行工作，我們這次學習和實習能夠勝利地獲得成功是與斯達霍夫斯基同志高度的國際主義精神以及他那種積極、認真、負責的態度分不開的。首先我們能夠得到全部用中文寫出的蘇聯斑疹傷寒疫苗製造法規，使大家能夠細緻地深入地學習蘇聯法規的精神實質，這是由於斯達霍夫斯基同志不厭翻譯工作的瑣屑繁雜，一字一句地親自領導翻譯工作，由翻譯到校對把全部法規完整地介紹到中國來。其次在他把法規交到我們手裏之後，又在中央衛生部領導下組織的全國學習班上，親自參加指導把法規中的關鍵問題與重要環節，加以仔細的研究講解，認真負責地傳授給我們。最後在實習將結束的時候又以關懷的心情，親自從北京到大連去檢查我們的工作，解答我們在工作中存在的問題。並對實習後的正式生產工作做了詳細的具體指示。像這樣為了我國人民的幸福和健康，他以忘我的精神工作着，一定要保證做到將蘇

聯製造斑疹傷寒疫苗方法的精神實質以至它的細緻末節全部毫無保留地介紹到中國來。他這種高度的國際主義精神是深深的教育了我們。我們不願以他這種崇高的蘇聯社會主義科學工作者的精神與其他任何人來作比較，因為這種精神是至高無比的，但是因為我們過去受到帝國主義的壓迫，我們很自然地認識到誰是我們的朋友誰是我們的敵人，今天我們的熱愛是完全和蘇聯科學家的偉大精神聯係在一起，結成了永固不移的友誼。

(三) 集體領導、組織分工：爲了貫徹自上而下的領導以及啓發和收集自下而上的批評，在這次實習班上我們建立了集體領導形式的班主任制，我們運用這種形式來達到「有事就大家商量」的目的。班主任制是在團結互助的原則上建立起來的；由參加實習的四個所的人員中選出班主任與副班主任而組成的爲了發揮大家的智慧，班主任有集中全體人員的意見的責任，並在班主任碰頭會上提出討論研究以達到圓滿協商解決問題中之矛盾爲目的。班主任在碰頭會上收集並討論各副班主任所提出關於實習班各小組在工作中存在的優缺點，因爲每日都在碰頭，因此所有問題就能及時反映上來，也得到及時的解決，此外，班主任與副班主任等對於制訂實習計劃領導與檢查實習計劃的貫徹與執行，也起了很重要的作用，這次生產實習是分作六個組進行的。這裏面包括兩個毒種組（B及H組）兩個接種解剖組（B組及H組）一個原液組、一個檢定組，在實習的中間，又曾增加一個Π型毒種組，各組的工作，由各組選定的組長副組長負責管理及執行。而各項工作貫徹執行的好壞，是由班主任副班主任各人分工擔任一個專組的檢查與督促的任務，通過這樣上下通氣，各個小組的活動情況，人員思想動態以及實習試驗的狀況和結果每日都彙報到碰頭會上來，凡屬於當天的問題，其中容易解決的是都作了適當的研究與處理，如有不容易解決的就由班主任偕同負責該組的副主任直接深入小組，瞭解情況收集群眾的意見；總結而制定辦法。除此以外，每星期召集一次小組長擴大會議，藉此溝通各組間的問題並對各正副小組長進行傳達班主任碰頭會上的決定，同時也通過此會收集各小組裏面的意見作爲改進工作的參考。

在實習工作進行的整整三個月（一九五三年十月五日到十二月底）我們始終堅持了集體領導制度，因此學習人員在工作中貫徹了「只許成功不許失敗」的號召，並充分地發揮了積極性和創造性來保證任務的完成，除了因爲輔佐部門發生問題（如小鼠供應問題）而使實習工作受到影響外，實習班的小組一直都是如期按計劃完成了任務，而且在工作中創造了條件，使實習工作順利地加速得到了完滿的結果，集體領導制度在這次工作中的優越性，教育了我們，使我們認識到群眾力量的偉大，並批判了個人英雄主義、主觀主義、官僚主義的錯誤的思想。

(四) 學習法規中存在的思想問題：第一次由中央衛生部所領導召集的學習班是由上海、北京、大連所斑疹傷寒室領導幹部所組成的，在中央生物製品檢定所學習時，有蘇聯專家斯達霍夫斯基直接參加指導，在這次的學習班上，我們分析了蘇聯法規的精神實質，以及它的具體內容，在具體內容方面蘇聯斑疹傷寒疫苗製造法規規定的範圍大致如下：

1. 毒種要用小鼠及鰐交替接種以提高毒力，毒種的數目要用三—五個，有一個要是地方種。
2. 用小白鼠肺製造克次體原液，加醚除脂肪、雜菌及可溶性毒素以便製造濃製純化的斑疹傷寒疫苗。
3. 百分之五十致死量檢定檢查以0.05毫升五至七倍稀釋的疫苗免疫的小白鼠。疫苗之含氮量應在每100毫升內只有一毫克。在初學這些條例時，因爲是分段學習，一時看不出蘇聯法規的特點，但在學完全部法規後，大家把前後內容聯系貫通了，這才領悟到它是一個在生物製品工作上一個偉大理想的實現，它反應了蘇聯科學技術的高度發展，無疑的它是蘇聯科學技術在全世界佔有領導地位的又一證明。但是在達到這樣一個認識以前，我們的思想及我們對蘇聯法規精神實質的體會並不是完全沒有問題的，首先我們對蘇聯法規的學習是帶有很濃厚的保守思想的，因我們有從歐美資產階級那裏學來的舊一套，處處離不了用舊的知識來衡量新的先進的蘇聯科學，甚至有的時候還怕新的方法行不通，例如我們因爲習慣用外格兒的蝟注射法來感染蝟；對於先進的普先尼其樂夫的皮膜蝟法就抱有行不通的思想，又如因爲習慣於0.5CC、0.5CC、1CC的三次免疫檢定法，就對一次注射0.05毫升疫苗的辦法抱了懷疑的態度，因存在着「未必會有那樣高的免疫力吧」的想法，這種思想一直延長到做出了結果證明了蘇聯方法的正確性和完整性以後，才一致地體會到蘇聯法規之首尾相

顧，絲絲入扣沒有先緊後鬆的情況。

(五) 實習班開班前的準備工作：正式實習班開始了，因為這次參加學習和實習的工作人員只有少數的高級幹部，主要的是中級幹部和工人，又因此次上級指定學習和實習的地點是大連，我們大連所的黨委和行政領導在上海所及北京所的實習人員尚未到達前，就進行了動員工作，發動了黨團及工會來保證這次實習工作的勝利完成。同時又召開大連所全體參加實習工作人員的動員會，在會上一再由黨委和行政進行了思想工作，強調了團結互助的精神和在這次實習班上的保證作用，提醒了大家應隨時隨地考慮及照顧到其他各所來此實習人員的思想感情，甚至要求大家在生活上也應照顧兄弟所派來學習和實習的同志。等到北京、上海兩所的人員到達後，我們又正式舉行一次實習班開幕儀式，黨委及行政領導正式向他們作了熱烈歡迎，並要求他們參加我們黨團和工會生活正如像在他們自己家裏一樣。因此參加實習的同志對這次上級所交給的任務就具備了應有的政治認識和思想準備。

與這次工作進行的同時，大連所的斑疹傷寒室同志，把實習班的準備工作放在所內工作的第一位，動員了行政科室的力量來進行實習室的改修及裝備，因一時無法購買到蘇聯法規上所規定的較多數的沉澱器，高速絞切器，真空排酸裝置，冰箱以及其他儀器設備，就只好體會法規規定的精神實質，利用了大連所內現有儀器設備加以改裝和修理，當時我們具備了六座4000轉的沉澱器，三座1500轉的大型沉澱器，兩座一萬轉的高速絞切器（將刀片改低適合絞切100鼠肺用），三座10°C左右的大冰箱，兩座12°C—13°C的冰庫。以及一套用無菌方法操作的真空排酸器等，並將斑疹傷寒室按法規指示加以擴充，這次準備工作的迅速完成，主要因大連各輔助部門工人同志們表現了工人階級的積極性，他們在總路綫的鼓舞下，以及向蘇聯學習的號召下，在實習工作尚未正式開始之前就將實習條件大部份準備好了。

在未正式實習之前我們在班主任碰頭會上考慮到祇有法規沒有詳細的操作規程，對於實習工作是不好向下面交待操作方法的。因此從十月十日至十五日以五天的功夫，根據法規分段、分工，交到各個小組，用集體的力量，將全部操作規程寫出和印出。在小組裏面，除了集中學習及分組學習蘇聯法規之外，還學習了我們所初步根據蘇聯法規訂訂的斑疹傷寒疫苗製造操作規程。每次在正式操作之前，我們要求每個小組的成員再學習一次法規。在實際動手之前，我們要求該組的小組長作一個工作計劃，這個計劃須經過領導該組的副主任簽字，方才可以動手。沒有實行這個管理方法以前，就發生過這樣的事情：不是用錯了毒種，就是用錯了小白鼠，實行之後，這種錯誤都糾正過來了。

此外我們又訂了幾種指示圖表，按日期順序將計劃內容逐一排入圖表之內。這樣就使得每個組員一看圖表，即能預先準備自己應做的工作，因此不致使工作就誤了日期。

(六) 實習經過：正式實習工作的開始是一九五三年十月十六日，從這時起一共實習了二個半月，至十二月底方才勝利地結束了全部工作。這次參加的人數計中央生物製品檢定所二人，中央生物製品研究所十人，上海生物製品所五人，大連生物製品所十四人，昆明生物製品所一人，共計三十二人。並將這三十二人按個人過去對工作熟悉的程度分組，計分毒種兩組共十一人，接種、解剖兩組共六人，原液一組共九人及檢定一組共四人。此外為負有督促檢查責任的班主任及副主任等。我們按着蘇聯斑疹傷寒法規的指示緊密體會着它的精神實質，一共進行了三次生產實習做出了十二批原液，以下我就介紹一下在這次實習當中我們實習的情況如何，創造了一些什麼條件，發現了一些什麼問題，優缺點在那裏？

這次實習期間，全體工作人員的情緒是高漲的、積極的、活潑的。在工作上都很主動、熱情、操作也認真準確。只有在一次，一個同志因在接種時，交待不清，用錯了毒種，他就很自覺地寫出了自我檢討，交給工會登到黑板報上，他的這一認真負責嚴格要求自己的態度，感動了全班的工作同志。多數同志連午間及星期天也不休息，堅守着工作崗位，使得實習工作能夠順利的完成。在這次工作中，對於動腦筋想辦法表現得特別好的有張簪大夫，他利用雞蛋壳，解決了皮膜蛋中的工具問題，孫桂臣他創造了兩環雙軌制的保存毒種，供應毒種的方法。張琦，他創造了一個加酸時的按量加酸計算表。

在實習中我們勝利的解決了我們在理論學習中所認為最困難的問題，首先我們圓滿地完成皮膜蛋法的試驗，得出了形態正常，毒力高的毒種，這在PB毒種及H毒種所得的結果相同。其次因為嚴格地遵守了法規的指示，將毒種通過一代鼠五代小鼠而獲得了毒種毒力的顯著提高。再者效力試驗方面，我們達到了將原稀釋至法規所規定的最高倍數（七倍）而免疫效果仍然可以達到最高要求。免疫劑量雖是這樣的微

小——〇・〇毫升——而注射一針即使小鼠百分之百免疫。在總的方面來講，按蘇聯方法所做出的疫苗質量非常高，比起老法製造的疫苗要超過一百多倍的免疫效價，其他如含氮量在一〇〇毫升內只有四毫克，約等於過去百分之一，福馬林含量也較老法為低約七倍以上，至於疫苗純淨，不起沉塊，更是老法所趕不上的。我們三次試驗的結果，一致說明了這樣一個問題，即蘇聯法規所作的指示是非常可靠的，不論你文化水平或技術水平如何，只要是照着他做即可做出優良的成績，這是十分肯定的。但是我們在工作中也發生了一些情況，因而造成了一些缺點，例如：因為我們的絞切方法及沉澱排壓的方法，尚不能達到蘇聯法規的要求，因此我們做出的原液在稀釋時及加鹽水攪拌時，均未利用封閉系統來進行工作，因此就發生了雜菌很高的原液，又如做出的疫苗含有不易打破的組織小塊而影響質量。這些情況都是由於我們在事前計劃得不週密，因而產生了這些嚴重的缺點。

根據蘇聯法規的要求，我們需要努力的地方還很多，首先是毒種，我們必須研究出新的地方菌種加到現有的蘇聯毒種裏面去。疫苗的含氮量須設法使其降低到合乎蘇聯法規1%的要求。疫苗內的組織小塊必須使其不存在。在我們的經驗中，只要發動群眾的智慧，在適當的理論的指導下，這些困難都是可以克服的。一個完全符合蘇聯法規的疫苗，可以在不久之後就產生出來的。

(七) 這次我們在黨和政府的正確領導和支持下與蘇聯專家大公無私的幫助下與全體參加實習的工作人員的積極努力下，勝利地完成了在生物製品工作中的第一個蘇聯法規。這次的經驗教訓，將為以後學習蘇聯法規打下有利的基礎。我們認為這次領導上一系列的英明的措施是這次學習蘇聯成功的主要關鍵，其次是在全體工作人員思想的轉變上，他們由懷疑到信任，直至以後以高度的熱情來參加此次工作，這體現着蘇聯法規的優越性是如何地鼓舞着大家，又如實習之前的理論學習是非常重要的，它不但使我們糾正了法規裏面的許多翻譯上的錯誤，更重要的是通過理論的學習我們可以體會到它的精神實質，以及各個步驟的關鍵所在。在學習之後佈置一段生產實習的準備時間也很必要，這幫助了我們去考慮生產實習的計劃，訓練中初級工作人員的政治思想和科學理論，製訂操作規程，以及佈置實習室與其中的設備及原材料等。然後在這個基礎上才進行正式的實習工作那樣就會獲得事半功倍的便利條件。在實習工作開始後，在民主形勢的基礎上所組織的班主任副班主任以及小組長副小組長每週的彙報會上把上下領導貫通起來，事無鉅細，都得到了適宜的處理。最後生產管理的一長專責制的班主任制，使得這些全班的行動進行得如一個樂隊一樣的調和，也是這次實驗成功的因素之一。總的來講，我們這次有了先進的蘇聯科學技術的指導，上級黨和行政的領導及所制定各種管理措施的方法與全體實習人員在這次管理方法的團結下，是促進成功的很重要的因素。

大連生物製品所 魏 曦

1954年

1951—1953三年間斑疹傷寒雞胎疫苗

製造過程之變革及効力試驗總結

中央長春生物製品所

內 容 摘 要

於1947年在佳木斯市，自患者分離普氏立克次體，經毒種檢定之後開始生產雞胎疫苗，其後每年利用該病毒種，進行生產以迄於今。自1951年春季迄今共生產約95萬人份，53年度之生產任務共為175,000人份，其中大部分為52年製之原液，稀釋成疫苗，所餘不足者，小量生產25000人份，補足任務量而已。今後本所已停止生產雞胎疫苗。蓋因本疫苗在流行病學方面預防効果不大，今後須按蘇聯先進方法作全面之改革，製造鼠肺疫苗，本所於建築上及設備上條件不够，不能滿足要求，於是完成本年度之任務外，停止生產。茲將三年來之製造，及研究工作，總結如次。

於1947年生產之福馬林疫苗，並未經乙醚除去脂肪，稱之為粗製疫苗。在動物試驗上効力雖好而該疫苗放置日久，則自然析出脂肪樣之膜狀物，浮於表面，外觀不美，易於誤解為疫苗變質，是為缺點。同時因含有0.2%福馬林之故，注射疼痛因而用遠心沉澱法，將疫苗洗滌，除去福馬林，而後加石炭酸鹽水，稀釋成疫苗，已成無痛性疫苗，稱為精製疫苗。但在動物試驗上，効力次之，効力降低之原因，當時認為可能由於防腐劑之作用，有待來日之研究。

1. 經實驗證明，如將粗製福馬林疫苗中之福馬林中和之，而換以石炭酸或硝酸汞為防腐劑，置於室溫內，153日，比較効力，證明未除福馬林，與中和後換防腐劑者，差別不大，隨室溫保存日期之增加，効力之降低，並非迅速。(1、2、3、4表)

當時之効力檢定法，為豚鼠保護力測定法，經2次免疫之後，用發病之豚鼠心血為感染毒，接種於心內，而後測量體溫及體重，證明心血內之發病量，1CC中，含100—200個發病量。

由以上之實驗得知，防腐劑之影響不大，精製疫苗之効力降低，可能為當洗滌沉澱時，使部分抗原損失，減少而致。爾後製造方法，曾注意以下三點：(1)疫苗中之立克次體含量愈多愈好，(2)注意勿使可溶性抗原減損，(3)使立克次體之毒素不破壞，而使之變為類毒素，注意低溫。

2. 51年冬季製造過程更加如次：為除去卵黃囊中之脂肪，及使細胞內之立克次體完全游出，乃製成20%蒸餾水卵黃囊懸液，加少量之乙醚，在-20°C凍結24小時，而後融化之，吸出下層之疫苗，加福馬林(0.8%)，在冰室內滅毒30日，按此法所製之疫苗，呈水樣透明，且發現中層組織中，含有多量之立克次體，乃改為凍融三次，自此得濃厚之疫苗，含多量之立克次體。

所製之澄清疫苗，與濃厚疫苗，二者對豚鼠之保護力，無何區別。(5表)原則上以立克次體多的好，於是採用凍融三次的製造方法。

3. 用本所之毒種，本所之檢定方法，檢定51年北京中央生物製品研究所製雞胎鼠肺混合疫苗(流行型及鼠型混合)幾乎無效(6表)。

4. 按法規之規定，豚鼠保護力測定法，改為100倍稀釋之卵黃囊懸液作感染試驗，本所之毒種，在卵黃囊1C.C.之內，最大毒力可至 10^{-8} 其毒力之大小，與雞卵之傳代有關，傳至5代以上者較好，並鏡檢時，立克次體之多少，與毒力之大小，並不完全平行，染色時着色良者毒力好，(7、8、9表)

5. 乙醚處理之疫苗，用不同量，及不同次數免疫後，豚鼠之保護力，與感染量之關係最大，而與免疫

方法，及量之關係較小，因此認為法規中規定之卵黃囊稀釋倍數不恰當，應規定為感染若干個發病量，實為合適。並證明0.5C.C. 免疫一次，對100倍卵黃囊之保護力微弱，不合法規之要求（10、11表），製造方法有再改正之必要。

6. 1952年之製造方法改正如次

卵黃囊先加乙醚凍融三次之後，研碎稀釋，除醚，加福爾馬林，製為4%疫苗，自此0.5C.C. 免疫一次可抗卵黃囊100倍稀釋之感染，（100—1000個發病量）（12、13表）

7. 用乙醚處理除脂之疫苗，經37°C 2小時加溫後，對効力影響不大（14表）。

8. 據53年度之法規，免疫3次，每次0.5C.C. 最後免疫之兩星期後，用10000倍稀釋之卵黃囊液感染，檢定19批疫苗，對100個發病量完全合格（15、16表）。

9. 以上之疫苗（53年度），送中央檢定所檢定共8批之中，有4批由効力不合格，特別其中之第2批成品，兩所檢定成績不一致，據調查瞭解，檢定所用開羅毒種檢定，長春所為用長春種檢定，後來要到開羅毒種，對同一疫苗用兩種毒種同時感染，證明確為毒種不同所致，回溯以往用長春種檢定北京疫苗亦為無效的，推想亦由毒種不同所致，（17表）

按現今之理論，普氏立克次體，各地毒種完全一致，長春種與開羅種，在豚鼠保護力上，有明顯之差別，是否抗原構造上有所不同，或毒種變異所致，宜用補體結合反應，交叉保護力，交叉中和等反應分析兩者之抗原，及分析兩者所產生之抗體，是否異同，則可瞭然。

由以上各項實驗證明，在豚鼠保護力上有充分之保護力，而在免疫學方面，本疫苗之免疫，不能防止感染，僅可使症狀減輕及死亡率降低，據各國流行病學的調查，結果亦屬如是，特別據日本之報告，使用前大連衛生研究所製雞胎疫苗，在大流行時期所觀察之效果，亦充分說明，雞胎疫苗不能防止感染，僅可減輕症狀，及死亡率而已。由此斑疹傷寒疫苗之製造及檢定工作，自應全面改革，本所之雞胎疫苗生產，自今停止。

1951—1953三年間斑疹傷寒雞胎疫苗

製造過程之變革及効力試驗總結

中央長春生物製品所

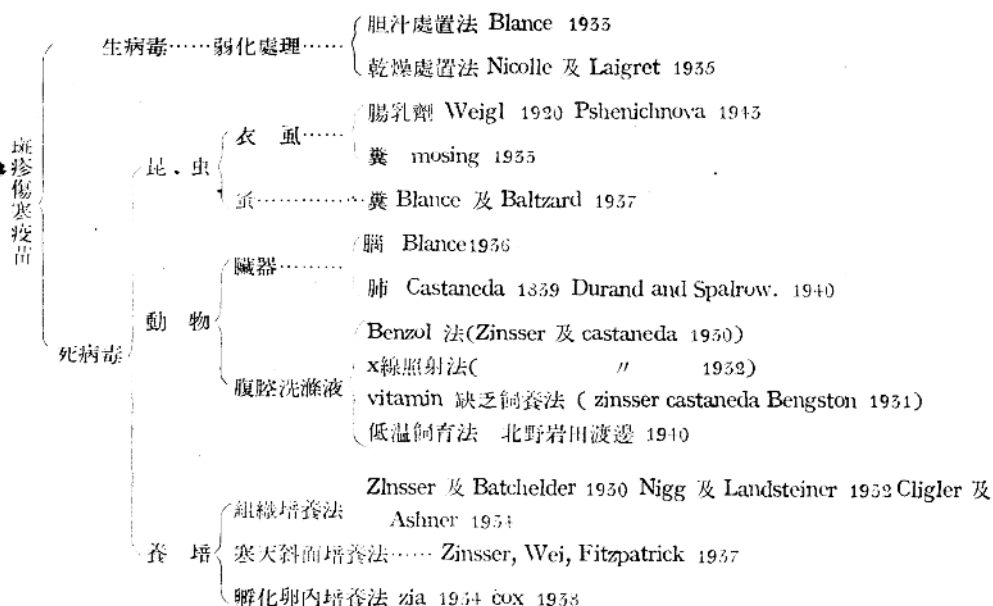
內 容 目 次

- 第一項 序言
- 第二項 1951年度之情況
 - I、1951年製造過程
 - II、1951年度効力檢定方法
 - III、1951年度疫苗之有効期間及與防腐劑之關係。
- 第三項 1951年冬季製造過程之更改及疫苗之効力檢定。
 - I、製造過程概要
 - II、乙醚處理疫苗之効力檢定
 - III、北京製疫苗効力試驗
 - IV、卵黃囊發病量測定
 - V、各免疫方法對卵黃囊感染之保護力試驗。
- 第四項 1952年之情況
 - I、1952年製造過程之更改
 - II、1952年製疫苗之効力檢定
 - III、乙醚處理疫苗之効力與保存溫度之關係
 - IV、1953年檢定52年製之疫苗効力
- 第五項 討論
- 第六項 總結
- 附：參考文獻

第一項 序 言

本所自1947年秋季開始製造斑疹傷寒雞胎疫苗，當時在前任病毒科長楊著同志之領導下進行生產，按47年之情況東北適處於解放戰爭最激烈之年代，國民黨軍向解放軍進攻亦最猖狂，本所創設於佳木斯市，受人力和物力之限制，且受嚴格之封鎖，無論在技術上或理論上均感困難，但由於楊著同志不斷之努力克服了層層困難，1947年春自斑疹傷寒患者分離 *Rickettsia Prowazeki* 陳系毒種，經毒種之鑑定工作及培養技術人員授於生產之技術及有關理論終於1947年秋季將斑疹傷寒雞胎疫苗供給解放軍使用為解放戰爭革命事業而服務實堪慶幸。

關於斑疹傷寒疫苗之種類及其製造方法可總括之如下表：



本所採用之生產方法，爲謝少文及COX氏接種法，利用來克亨雞卵，取卵黃囊製爲疫苗，生產技術簡單，對操作者感染機會少，且生產量大。

制定製造方法時，曾注意如何收集立克次體之各種抗原，使其不受損失，即製造之疫苗最好含有立克次體之完全抗原，例如：甲、立克次體本身以數量愈多愈好，乙、立克次體之毒素非常不安定，福爾馬林可使之變爲類毒素則呈安定（1），能產生抗毒素（2），丙、立克次體之可溶性抗原，該可溶性抗原，雖非傳染之因子（3），流行型及鼠型兩者有交叉反應，但用洗滌方法即可除掉（4），在立克次體之毒素，非常不安定，由溫度之影響易於破壞而失去毒性作用，如加以福馬林使之變爲類毒素時，則呈安定，可以產生抗毒素，因此在解卵之後，應立即加入福馬林，或立即凍結，以防立克次體毒素之破壞，乃應注意之問題。可溶性抗原，爲蛋白質及碳水化合物之大分子，有一定之化學構造，可使豚鼠免疫於感染（5），亦可作爲補體結合性抗原之用，此可溶性抗原非常安定，在流行型鼠型二者之間，有交叉反應，但將立克次體懸液反復沉澱，則可自立克次體除去此可溶性抗原，此可溶性抗原之產生，在生體內推測可能由於立克次小體之分解而產生，因此生體可以產生抗體，在試管內可能由於操作之過程使立克次體分解而產生（6），由此在製造過程中，立克次體之懸液內液體之中存有可溶性抗原之部分，自然應避免損失以防抗原之減少。據Cohen and chagaff（7），用電泳分析法，認爲大部之脂肪並無特異之抗原性，可能與正常卵黃囊成分有關，其他之核酸，亦無抗原性，但正常卵黃囊內無此成分。如將立克次體用 Tryptic 消化法，則得特異性抗原，與血清中之可溶性抗原相似。據Shepard and wyckoff（8），用電子顯微鏡之觀察，認爲可溶性抗原爲莢膜樣物質云云。按可溶性抗原之各種性狀看來，可以溶解於水，如用乙醚處理時，既可除去卵黃囊脂肪，同時似有破壞立克次體，使之游離出可溶性抗原之作用，由此可增加抗原性，如果如此，則應考慮添加乙醚之時期，在福馬林固定之後，再加乙醚，可能更好，須要試驗。

總之，立克次體之本身及其毒素與可溶性抗原，均爲重要之因子，不可使之損失，是爲重要的。在47年曾用遠心沉澱洗滌法除去福馬林（9），再用石炭酸鹽水稀釋，已成無痛性疫苗，但在効力試驗上，効力降低，可能失掉一部分抗原，亦可能由防腐劑之作用而致，由此逐步的試驗防腐劑之作用，漸次適當的改正製造方法。

第二項 1951 年度之情況

[1951年度製造過程及操作規程

甲、疫苗製造日程

	操 作 項 目	需 要 日 數	備 註
半成品製造	孵化雞卵	9日	用7.8日卵
	接種、培養、解剖	6日	
	研磨、振盪	3日	每分振盪200次，30分
	滅毒 { 室溫	3日	每日振盪
		20日	
半成品檢定	培養 } 安全試驗	21日	安全試驗同時
	効力試驗	21日	
	稀釋虹吸	3日	
	分裝	1日	
成品檢定	理化檢查 } 細菌檢查	12日	
	効力檢查		
包 裝	交 庫	1日	
總 計		130日	最短需要83日

乙、疫苗製造規程：——

一、孵化雞卵：

I、雞卵用白皮萊克亨種，健康清潔之受精雞卵，並須為15天以內者，其受精率在85%以上，中絕率不超過10%，在保存或輸送途中溫度應保持在 $2^{\circ}\sim 20^{\circ}\text{C}$ 中，如溫度高的時候保存時間應短縮。

II、孵化用之孵箱，用大型風扇孵箱，溫度自動調節，其溫差不應大於 1°C ，有通風及一定濕度，設有專人負責管理，管理人員不應離開孵箱30分鐘以上，每週進行一次安全檢查，他人禁止開動。

III、孵化前卵須用清水或1%石炭酸擦淨，以立位（稍斜）孵化法，於 $33^{\circ}\sim 39^{\circ}\text{C}$ 之上記孵箱中，滿四、五日檢卵一次，剔出無精及中絕卵，將受精卵繼續孵化，滿七、八日再檢卵一次，去掉中絕卵及弱卵，定雞胚位後，準備移交接種組。

IV、檢卵時室溫不可低於 15°C 時間不得超過30分鐘。

V、記錄由專人管理，按記錄表認真詳細填入，簽名蓋章，並經常與供銷科（收卵）接種組織保持聯系。

二、毒種準備：

I、毒種系中央檢定所承認之流行性斑疹傷寒立克次氏體，用雞卵卵黃囊內累代傳達保存者。凍乾或凍卵須傳三代以上方可使用。

II、作毒種卵係接種立克次氏體後，培養滿3~5天（一般應滿四天）選擇多數死卵中之頻死卵。

III、毒種毒力以卵黃囊 10^{-6} 稀釋1.0C.C.注入豚鼠（350~400公分）腹腔，應有典型斑疹傷寒症狀。

IV、作毒種操作時身穿滅菌白衣口罩及帽子，眼鏡，膠鞋，工作前後用3%石炭酸噴霧消毒，試驗台上覆蓋5%石炭酸紗布，經常保持不乾。

V、毒種卵之卵殼，用碘酒消毒後，將一個或兩三個卵黃囊摘出用小瓶法或遠沉管法研碎，加入肉湯為20—40倍稀釋，鏡檢無菌，立克次體在（卅）以上，方為可用。

VI、此毒種在室溫不應在兩小時以上，在零度以下冰箱中可保存3—7日，一般應為無菌培養18小時以上無菌者可用，特殊者可當日接種。

VII、需在前兩天了解接種組接種卵數，以便準備毒種。

VIII、所做的毒種應詳細填入，鏡檢、培養、組別或排號記錄簽名蓋章。

三、接種雞卵：

I、接種前由孵化組將準備之滿7、8日卵全數移交接種組。

II、接種時為生毒無菌操作，須穿滅菌白衣、帽子、口罩、膠鞋、眼鏡等，工作前後用3%石炭酸噴霧消毒，桌上鋪石炭酸紗布，工作完白衣脫下用蒸氣消毒。

III、雞卵氣房部經碘酒消毒、穿孔、接種，塗碘酒，封臘，記組等操作後，送入孵箱。

IV、接種使用5C.C.注射器 $\frac{1}{2}$ 針頭或14號針頭，每個雞卵注射0.1—0.2C.C.注射時須注入卵黃囊內（有卵黃湧出於注射器內）注射器用一次換一支。

V、接種時室溫不得低於20°C，時間不得超過2小時，如25°C以上可延至3小時。

VI、接種後之卵放入36°C之孵箱中（上下不差1°C）在有通風保持定濕度中培養。

VII、接種組應將卵數詳細記錄並蓋章。

四、檢卵：

I、此工作由接種組移交給解卵組負責，兩組合作（接種組選毒種）。

II、自接種後48小時開始，每日一定時間檢查。

III、檢出之死卵分組記錄，滿二日（48小時）死卵用高壓蒸氣消毒後廢棄，三、四、五日死卵準備解剖。

IV、滿五日不死卵取出記錄，但超過20%以上應報告室負責人處理之。

V、檢卵室溫與孵化雞蛋同（VI）。

VI、檢出之卵，須當日解剖，不應在室溫放置四小時以上，但冰室可保存三日。

VII、此檢卵記錄為接種組及解卵組之記錄表。

五、解剖雞卵：

I、解剖工作為生毒無菌操作，故須穿滅菌白衣、膠衣、口罩、膠靴、眼鏡、膠手套，工作前後用5%石炭酸噴霧消毒，工作完白衣不得穿出操作室，用蒸氣消毒。

II、解剖之卵應先用0.2%昇汞水浸10分鐘，此昇汞水每週換二次。

III、滿四、五日死卵集中解剖，個別（對外視有疑問者）應分別鏡檢，滿三日死卵，至少選五個分別解剖鏡檢，五日不死卵，若在10%以上，亦須分別選擇幾個解剖鏡檢。

IV、染色用蟻醛，漂白粉法，鏡檢三日卵之目的為檢查有無雜菌，滿五日不死卵是檢查立克次體多少，不足（+）者棄之。

V、解剖之卵黃囊內不應有卵黃液卵殼和漿膜等，每500公分盛一容器，此卵黃囊在室溫不應超過兩小時，冰室48小時，但凍結可保存四週。

VI、解剖時桌上鋪5%石炭酸紗布，卵黃囊之容器上蓋以紗布或玻璃罩。解剖用鑷子，每解20—30卵更換一次。

VII、卵殼桶內鋪紙，盛滿卵殼加蓋，經石炭酸噴霧消毒後，送高壓蒸氣消毒後焚毀之。

VIII、將採集之卵黃囊編號後轉交原液組，應作詳細記錄，雙方負責蓋章。

六、原液製造：

I、由解卵組將原液編號。

II、將含有大量立克次體之卵黃囊用電力研磨機研碎，按卵黃囊重量加入3倍量之生理鹽水，盛於有玻璃球之振盪瓶中，按液量加入1.5%福爾馬林是為原液。

III、第二日及第三日將原液於振盪機上振盪30分鐘（每分200次）至1小時後，放入冰室內，每日振盪一次。

IV、至雜菌試驗合格時，將數批原液混於一大瓶中。

V、混合後之原液，用鹽水稀釋5倍，放於冰箱內3日，此時疫苗分爲三層，上層爲脂肪，浮於表面，中層爲疫苗下層爲組織塊，將中層用虹吸法吸出濾過之。

VI、按原卵黃囊重量計算，所得之疫苗液量，約爲5%卵黃囊懸液，（內含0.2%福爾馬林）。

七、雜菌試驗：

I、原液在無菌室放置20日作第一次培養試驗，用二種培養基（普通斜面、葡萄糖肉湯）各兩支觀察七天，無雜菌發育，進行第二次培養，如尚有雜菌發育，繼續放置在冰室經10天（每日振盪一次）後，再一次培養。

II、第一次培養合格後，作第二次培養，用四種培養基（普通斜面、沙氏斜面、半固體、葡萄糖肉湯）各用四支（每支培養基量10—15C.C.）每支培養原液0.1C.C.，37°C觀察七天，無一支雜菌發育爲合格，負責者以半成品作無菌判定簽字。

III、此操作爲完全無菌操作，所以一切用具須嚴格滅菌。

八、安全試驗：

I、動物用豚鼠，體重爲350—450公分健康者，須在使用前一天檢體溫。

II、原液經第一次培養合格後1：4稀釋成疫苗，以0.5C.C.注入上記豚鼠腹腔，或2—4個原液，混在一起，注射1—1.5C.C.於上記豚鼠腹腔，每組用二匹豚鼠。

III、注射後豚鼠與感染（帶毒）豚鼠嚴格分開，每日以一定時間，固定人員檢體溫，必要時量體重，連續14天。有熱時繼續檢溫至21天。

IV、體溫不超過40°C或40°C不持續2日以上者爲合格，但有疑問時用豚鼠心血傳代，或復作一次以查明原因。

V、檢溫記錄表要清楚，並作半成品安全試驗最後判定簽字。

九、原液保管：

I、放置於2—5°C中按號排列，由專人負責每兩週檢查一次，有效期爲一年。

II、培養安全，効力等試驗先後或合格及再試品必須分別放置。

III、有疑問之待試品，應有特殊標誌，判定不合格品立即請示所長批准後廢棄之。

丙、管理規則：——

一、毒種保管規則：

I、本室保存有流行性斑疹傷寒立克次體和地方型斑疹傷寒立克次體毒種。

II、保存之毒種爲將卵黃囊用牛乳稀釋，凍結乾燥在冰箱或零下保存二年。

III、雞卵卵黃囊內繼代傳達，四日頻死卵，再接再雞蛋繼續傳代。

IV、雞卵內毒種凍結保存2—5個月，每種須保存兩組，每組至少保存四個。

V、管理各種毒種，應有專人負責詳細記錄，並加封加鎖，一月檢查一次，不得隨便委託他人。

二、試驗動物管理規則：——

I、本動物室不得有其他細菌病毒及非試驗動物及昆蟲等，有防蚊、防蠅及通風設備，並有專人飼養管理，非動物工作人員不得進入動物室。

II、動物室每週噴D.D.T.一次和石炭酸一次，每日飼養觀察完清掃一次。

III、動物用草料，每週換一次，舊草及死亡之廢動物消毒後焚燬。

三、總則：

I、非本室工作人員禁止入室。

II、生毒操作人員，必須注六次以上疫苗，爾後每三月注射一次，手有破傷者停止生毒操作。

III、1951年度効力檢定方法

1950年檢定法規中規定(10)豚鼠或小白鼠用1CC免疫之後對豚鼠最少要保護4個致病量，對小白鼠至少10個致病量，不過當時僅爲提案，同年趙樹棠與秦東(11)提出四種檢定方法，有豚鼠保護力試驗，小白鼠

試驗，中和試驗及血清試驗，本所則用豚鼠免疫法，而以豚鼠心血病毒，行心內接種法檢定抵抗力，豚鼠心血，對豚鼠之發病量據 Weil Brienl and Grunschka (12) 之試驗為 0.01CC 為一個感染量，且在第 3 日前或 5 日後發病量降低，星崎氏 (15) 以 29 代豚鼠心血 0.05CC 接種於心內可使 100% 發病，0.01CC 75%，0.005CC 50% 發病，0.001CC 則不發病，舍非氏之 (14) 報告為 0.01CC 即 1CC 含 100 個發病量，判定發病與否之目標，均為測定豚鼠之肛內體溫，達於 40°C 及以上者，且體重減少者，為發病。舍非氏曾指出此發病之程度，與腦病變並不平行云，本所測定心血傳達之病毒，以心血接種法，最小感染量（即系病毒種）0.005CC 至 0.01CC 亦即豚鼠心血 1CC 中含 200 個發病量至 100 個發病量。

檢定操作方法

使用疫苗 1CC 對豚鼠皮下注射，7 日後行第二次注射，自第一次免疫日起算一月後，取發熱 40°C 以上之豚鼠，第 4 日之心血與 1% 枸橼酸鈉混合後，向各免疫豚鼠心內接種 0.5CC 即接種約 100 個發病量而後每日測量體溫體重判定抵抗力如何。

III 1951 年度疫苗之有效期間與防腐劑之關係。

按 1951 年之製造方法，所製之斑疹傷寒疫苗，為 5% 卵黃囊懸液內含 0.2% 福爾馬林（僅用虹吸法，除去脂肪層，未用乙醚處理），將此疫苗分為三組，第一組為福爾馬林疫苗，第二組將福爾馬林用 NaHSO₅ 中和之，加以 1/50000 之硝酸汞來作為防腐劑，第三組將福爾馬林中和後加以 0.5% 石炭酸，作為防腐劑，以上三組疫苗除福爾馬林之後，與第一組同時試驗効力之後，置於室溫內，經 51 日及 165 日，檢定三組之効力，檢查溫度及防腐劑對疫苗有效間之關係，所得結果如第 1.2.3 表

茲將第 1.2.3 表之結果總括之如第四表

第 4 表 各種防腐劑及室溫保存對効力之關係（表示有防腐劑發病之豚鼠隻數）

疫苗	日期 發病量	當 日	室溫 51 日			室溫 165 日			備 考
		50—100	75	50	25	20	10	5	
福爾馬林疫苗		5/5	1/2	1/2	1/2	2/3	3/3	3/3	効力降低程度 由 100—10
硝酸汞來疫苗		5/5	1/2	1/2	0/2	0/3	3/3	3/3	由 100—5
石炭酸疫苗		5/5	0/2	0/2	2/2	2/3	2/3	3/3	由 100—10

由第 4 表可以看到各種防腐劑間之區別不大，而隨室溫保存日期之增加，効力漸次下降，其下降之速度亦非迅速，此外本疫苗有些缺點，即含有脂肪樣物質，放置日久，則於液面或液面上方瓶壁上，出現膜樣物質，搖動之後雖可搖勻，但容易令人誤解為疫苗變質，或粗製濫造質量不佳，含有組織塊等，實際為脂肪樣之物質，乃放置後，自然析出者，並非變質。

第三項 1951 年冬季製造過程之更改及疫苗之効力檢定

I 製造過程概要：茲將更改之部份述之於下其他各項則完全與 51 年春季之製造過程及操作規程相同，51 年春季生產之疫苗唯一之缺點為外觀上含有脂肪樣物質，為克服此種缺點乃徵詢樹實 (11) 北京生物製品研究所 (15) 之製造方法，但亦有部份不同，即

(1) 將含有多量之立克次體之卵黃囊 500 克，於研磨機內研碎，為使卵黃囊細胞容易被破碎，使立克次小體游離於細胞之外，乃加入蒸餾水 2500 CC 製為 20% 卵黃囊懸液，再加入 1250 CC 乙醚充分攪盪。

(2) 將原液置於 -20°C 冰箱中凍結 24 小時而後融化之。

(3) 在室溫融化之後，分為三層，上層為乙醚，中層為脂肪及組織，下層為疫苗液。

(4) 將疫苗虹吸法吸出而後，用抽氣機吹出乙醚二小時。

(5) 對吸出之疫苗液加入 20CC 福爾馬林 (0.8%) 放於冰室內滅毒 50 日。

(6) 安全試驗，無菌試驗，効力試驗合格後用 1% 食鹽水稀釋成全量 10,000CC 即成疫苗

(7) 本疫苗含卵黃囊5%福爾馬林0.2%。

按上述方法所製之疫苗原液，非常稀薄，當稀釋後有的呈水樣透明，稍帶黃色，且每批之顏色亦不一致，有的稍深，有的稍淺，將疫苗遠心沉澱之後，取沉澱製塗抹樣本染色鏡檢，其中之立克次體很少，小量出品後，遂將製過程改正如次。

檢查原液凍結融化後，共分為三層，下層之疫苗液中，有微量之紅褐色沉澱物，取沉澱物鏡檢，為立克次小體。中層之組織中，染色鏡檢有多量之立克次體存在，乃證實卵黃囊細胞，並未破壞，其中之立克次小體，並未全部游離出來，如此將組織塊除去之，則立克次小體損失太大，因此將原液凍結融解反覆三次，將上層乙醚除去之後，可見中層之組織膜，已呈褶皺之形狀，表面有很多皺壁，膜之下面，有絮狀物，垂於疫苗液中，虹吸之，則絮狀物亦隨而出，由此，液中立克次小體亦隨之增多，外觀濃度增加，色調一致，其後之手續與上相同。

Ⅱ 經乙醚處理之疫苗効力檢定。

効力檢定方法仍用皮下免疫二次法每次1CC一月後用豚鼠心血病毒心內接種，其結果如第五表。

按第五表之結果看來，疫苗外觀雖澄清，而在効力上未受影響最小均可防禦10個發病量。

Ⅲ 北京中央生物製品研究所製，雞胎鼠肺混合疫苗（流行型及地方型兩病毒種所製）効力試驗

本疫苗為1951年9月自北京帶來之疫苗，以皮下免疫法每次1CC，間隔7日注射一次，第23日用豚鼠心血陳系病毒心內接種法試驗効力，其成績如第六表。

按第六表之結果，六隻豚鼠中有防禦發病作用者只有兩隻，其効力低劣之原因不明，可能由病毒種不同所致。

IV 卵黃囊發病量測定。

據1951年生物製品檢定會議之規定，52年施行之効力檢定法(16)在豚鼠之保護力試驗，免疫法注射量改為0.5CC，腹腔內或皮下注射，經4星期取含有大量立克次體之卵黃囊稀釋為100倍，作為病毒感染，注射於腹腔內1CC因此首先測定卵黃囊之發病量，使用之材料為傳代之卵黃囊，其中之立克次體較為豐富者，先製10%懸液經2000rpm10分鐘遠心沉澱後，將上清稀釋注射於豚鼠腹腔1CC，其結果如第7.8.9表。

自第8.9.表可以看到卵黃囊懸液稀釋之 10^{-8} 其1CC注射於腹腔，仍可使豚鼠發熱，因此10%卵黃囊原液，每毫升之含有 10^8 個豚鼠發病量，但此發病量是否穩定，亦即注意選擇之接種卵，能否保持 10^{-8} 之毒力，是為問題，在經驗上毒力極不穩定，蓋因雞卵傳代次數，與立克次小體之毒力有關，設取凍結保存之卵，其中之立克次體雖能生存，而於雞卵傳代時在2—5代者毒力較低，傳至5代之後，毒力始可提高，在經驗上 10^{-8} 之稀釋，乃為最大之限度，其次則與立克次體之數量有關，設選擇之種卵，雖經鏡驗，取立克次體多者，但鏡檢之部份，不能代表全體卵黃囊之情況，亦不難瞭解，因有以上兩種因素，我們認為條件適合時，其毒力可達到 10^{-8} 的最大限度。

V 乙醚處理疫苗（凍結融解三次濃度較深者，）各種免疫量對卵黃囊感染之効力試驗。

第10表各種免疫量及免疫方法，對卵黃囊感染之保護力。

由第11表可知各組免疫方法對卵黃囊之感染無論100倍1000倍+組之間無大區別，唯每組對100倍及1000倍卵黃囊之間有些區別，亦即無論免疫量之大小或1—2次之間均能防禦1000倍卵黃囊之感染。如將感染濃度增加則効力次之，按法定之規定，以0.5CC免疫一次對10倍卵黃囊感染，其體溫不得超過 40°C ，而丁組兩隻豚鼠均已接近 40°C 各一日，說明効力可疑，尚不够法規規定之要求。

(第11表, 第10表之縮寫)

組別	免 疫 法	保 護 力					
	(23日)	100 倍卵黃囊			1000倍卵黃囊		
甲 組	1cc 2次	19 +	20 +	21 ±	22 ++	23 ++	24 ++
乙 組	1cc 1次	25 +	25 +	27 ++	28 ++	29 ++	30 ++
丙 組	2cc 1次	31 ++	32 死	33 ++	32 ++	35 死	36 ++
丁 組	0.5cc 1次	37 ±	33 ±	39 死	40 +	41 ++	42 ++
對 照 組		10 ⁻⁸ 不發病 10 ⁻⁷ 不發病 10 ⁻⁶ 發病					

+ 爲有保護力

± 保護力可疑

數字爲豚鼠號

第 四 項

I 1952年製造過程之更改

自51年冬季採用乙醚處理凍融三次之方法所生產之疫苗, 經各種免疫方法檢定之結果, 效力中等, 但距法規之要求尚有距離, 考慮其缺點, 乃經乙醚處理之後雖凍融三次, 而隨脂肪層除掉之細胞成分, 仍有很多, 於是試驗收回之辦法, 曾將該細胞層用研磨機再度研磨, 希圖加於疫苗之內, 以增立克次體之含量, 但該細胞, 經凍融三次之後, 已呈破碎狀態, 研磨後呈碎膜樣物質不堪使用, 於是在卵黃囊研磨後不加蒸溜水, 直接加入乙醚振盪均勻後, 凍融三次上層爲乙醚中層爲白色脂肪, 下層爲黃色卵黃囊, 融化後可將上層及中層倒出, 以後將卵黃囊取出, 再度研磨, 而後稀釋, 除醚, 加福爾馬林, 遂成疫苗原液, 如此製法濃度大大增加, 與未經乙醚處理之51年度福爾馬林疫苗相似, 將稀釋量調整如次。

1. 卵黃囊400克, 研磨5分加乙醚600毫升, 振盪均勻, 一20°C凍結24小時共凍融三次。

2. 將上中層倒出再將下層研磨5分。

3. 加入鹽水2000CC(20%卵黃囊懸液), 吹出乙醚2小時, 加入福爾馬林20CC(1%), 保存於冰室內30日, 每日振盪一次。

4. 經安全試驗, 無菌試驗, 効力試驗合格後用鹽水稀釋成10,000CC(4%卵黃囊懸液0.2%福爾馬林), 疫苗之外觀呈乳白色懸液。

II 1952年乙醚處理, 凍融三次4%卵黃囊疫苗之効力試驗。

試驗方法爲0.5CC一次腹腔免疫, 23日以100倍1000倍卵黃囊腹腔感染, 其結果如12表, 自12表可知, 卵黃囊的一個發病量爲10⁻⁶與因此接種100倍稀釋者爲1000個發病量, 如接種1000倍稀釋液爲100個發病量, 抽驗之8批疫苗完全能抗100個發病量, 而對1000個發病量之中効力可疑者, 爲僅有4隻豚鼠亦即4/24(1/6)的豚鼠表示効力可疑, 自此已合乎法規之規定。

屢次試驗疫苗之効力對100及1000倍卵黃囊之感染, 均有保護力, 如第13表, 抽查原液之効力亦均有保護力, 不過今次試驗用之卵黃囊毒力過低, 1000倍稀釋僅够一個發病量。

III 用乙醚處理之疫苗其効力對保存溫度之關係。

選擇51年製經乙醚處理比較澄清之5%卵黃囊疫苗, 與52年製4%外觀上濃度較高之疫苗, 豫先放置於暗箱中72小時, 同時試驗効力, 自耐熱性方面觀察兩種製造方法上有無區別, 其結果如第14表。

按14表之結果看來51年製與52年製二種乙醚疫苗, 對1000個發病量(0.5CC一次皮下免疫)其効力並無差別, 經37°C72小時處理之後, 兩者之間亦未顯出差別, 因此可以認爲本疫苗對溫度之影響不大, 但今次効力試驗結果與第11表之成績稍有出入, 總之在此結果之下須判斷二種疫苗均合乎要求。

IV 1953年檢定52年製4%乙醚處理疫苗的効力。