

研究报告汇輯

COLLECTIONS OF RESEARCH PAPERS

第 六 期

VOL. 6

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

HARBIN VETERINARY RESEARCH INSTITUTE
CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

Harbin, China.

1 9 7 9

目 录

羊痘弱毒疫苗的研究

II 羊痘鸡胚化弱毒通过绵羊反应毒湿苗的研究

.....袁庆志 李宝启 沈荣显 金纯贵 张淑贤 (1)

羊痘弱毒疫苗的研究

III 羊痘弱毒蛋白胶筋疫苗的研究

.....袁庆志 沈荣显 李宝启 金纯贵 张淑贤 (23)

羊痘弱毒疫苗的研究

IV 羊痘弱毒冻干疫苗的研究

.....袁庆志 沈荣显 李宝启 李亚香 金纯贵 张淑贤 (53)

羊痘弱毒疫苗的研究

V 绵羊痘弱毒疫苗免疫山羊抗山羊痘的试验

.....袁庆志 李宝启 沈荣显 李亚香 谢荷香 (79)

羊痘弱毒疫苗的研究

VI 羊痘弱毒疫苗、第II号炭疽芽胞苗和布氏杆菌19号菌苗三者同时接种 免疫绵羊试验

.....袁庆志 李宝启 沈荣显 李亚香 谢荷香 (88)

猪瘟兔化弱毒通过牛体反应疫苗的研究 I

.....袁庆志 沈荣显 金 岳 李宝启 (97)

猪瘟兔化弱毒通过牛体反应疫苗的研究 II

.....袁庆志 沈荣显 金 岳 李宝启 (114)

猪瘟兔化弱毒通过牛体继代试验

.....袁庆志 沈荣显 金 岳 (129)

羊痘弱毒疫苗的研究

II 羊痘鸡胚化弱毒通过绵羊反应毒湿苗的研究

袁庆志 李宝启 沈荣显 金纯贵 张淑贤

我们在第一报⁽¹⁾中曾报导羊痘鸡胚化弱毒（简称鸡胚毒）对绵羊的毒力有了显著的减弱，并且比较稳定和保持着优良的免疫原性，可以用做制苗的基础种毒。惟该毒仅存在于接种部位的鸡胚绒毛尿膜上，直接用来制造疫苗产量过少，满足不了实际需要。为此，曾将鸡胚毒以皮内接种方法通过绵羊的继代，利用适当代数的局部发痘绵羊的丘疹组织（简称反应毒）试制了疫苗，并获得初步结果，认为用此方法有可能解决疫苗产量问题。在这个基础上，于1954~1956年间，对绵羊反应毒的安全性、保存性，对羊的免疫期和实际应用上的一些问题做了进一步的研究，兹将试验结果报告如下。

试 验 材 料

鸡胚毒：本所培育的鸡胚毒 $E_{100}S_1$ 代。

反应毒用 $E_{61}S_1$ 、 $E_{74}S_1$ 及 $E_{100}S_1$ 代鸡胚毒通过绵羊继代的第Ⅲ~Ⅷ代反应毒（以下简称反Ⅲ反Ⅷ，其他代数类推），其对羊的最小感染量：反Ⅲ~反Ⅴ一般为 10^{-4} ~ 10^{-5} ，反Ⅵ~反Ⅷ一般为 10^{-5} 1.0毫升皮内接种。

绵羊痘强毒：用太原系丘疹毒和皮下淋巴液毒，它们对绵羊的最小感染量丘疹毒为 10^{-7} ，淋巴液毒 10^{-5} 1.0毫升皮内接种。攻毒用的剂量为丘疹毒20~1000倍乳剂，以0.1和1.0毫升在绵羊尾内面或腹侧皮内接种（用1.0毫升时，在腹侧接种5颗，每颗0.2毫升）；淋巴液为50~1000倍稀释液，以0.1毫升在绵羊尾内面皮内接种。一般多用淋巴液50倍稀释液0.1毫升皮内接种。

供试绵羊：用1~3岁的本地羊，蒙古羊，及3~5代的改良种细羊毛。经过7~14天健康观察，没有天然羊痘和其他传染病者备用。但供试羊只，一般营养较差，并多数有较重的内寄生虫病。

试验方法和结果

一、鸡胚毒通过绵羊继代试验。

本试验最初曾用皮内与睾丸两种接种途径分别通过绵羊继代。睾丸继代系，其反应毒的毒力和免疫原性的变化，虽然与皮内继代系统没有明显差别，而且睾丸组织也容易磨碎，产量又相当高，但是在继代绵羊中易混有天然免疫羊，不易及时发现，在实际应用上有一定困

难，遂中止了此项试验。因此本文仅报导皮内继代系的试验情况。

鸡胚毒以皮内接种通过绵羊继代方法：初代用 $E_{100}S_1$ 代的鸡胚绒毛尿膜毒，以生理盐水制成10倍乳剂，经3000转10分钟离心或待其自然沉淀后，取上清液，在已经剪毛、清洗、消毒过的绵羊胸腹侧皮内接种，每头剂量0.2毫升，接种数十头，在接种的绵羊局部发痘后，自发痘日算起，第3~4天（主要在第3天）采取皮肤丘疹，即为反应毒。次代即用反应毒按上述方法连续通过绵羊继代，每代采取的反应毒均须放入含有一定量的青霉素、链霉素或柳硫汞的溶液中，浸泡24小时后，培养证明无菌者，即用作次代接种材料。

本试验分两个系统继代，一是通过蒙古羊继代至13代，一是通过改良羊继代至12代，测毒时每系在10代前两种羊兼用，10代后单用蒙古羊测毒。两种羊兼用的目的，是为了明确鸡胚毒通过不同羊种继代的反应毒的毒力有无差别，及其使用代数范围。

在继代过程中，为了及时掌握反应毒的毒力变化及其稳定性，每隔适当代数对羊进行最小感染量的测定（每个滴度的接种剂量为1.0毫升，在绵羊腹侧皮内接种5~10头），以反应毒10倍乳剂5毫升静脉接种于绵羊，测其能否引起羊只全身发痘，以及将继代的发痘羊与健康羊进行同居感染试验等。试验羊只每日检查两次体温，每隔1~3天检查发痘情况和其他临床症状。除同居感染试验羊经长期观察后接种羊痘强毒外，其他试验羊经过2~3周与对照羊同时接种羊痘强毒，进行免疫试验。结果见图I和图II。

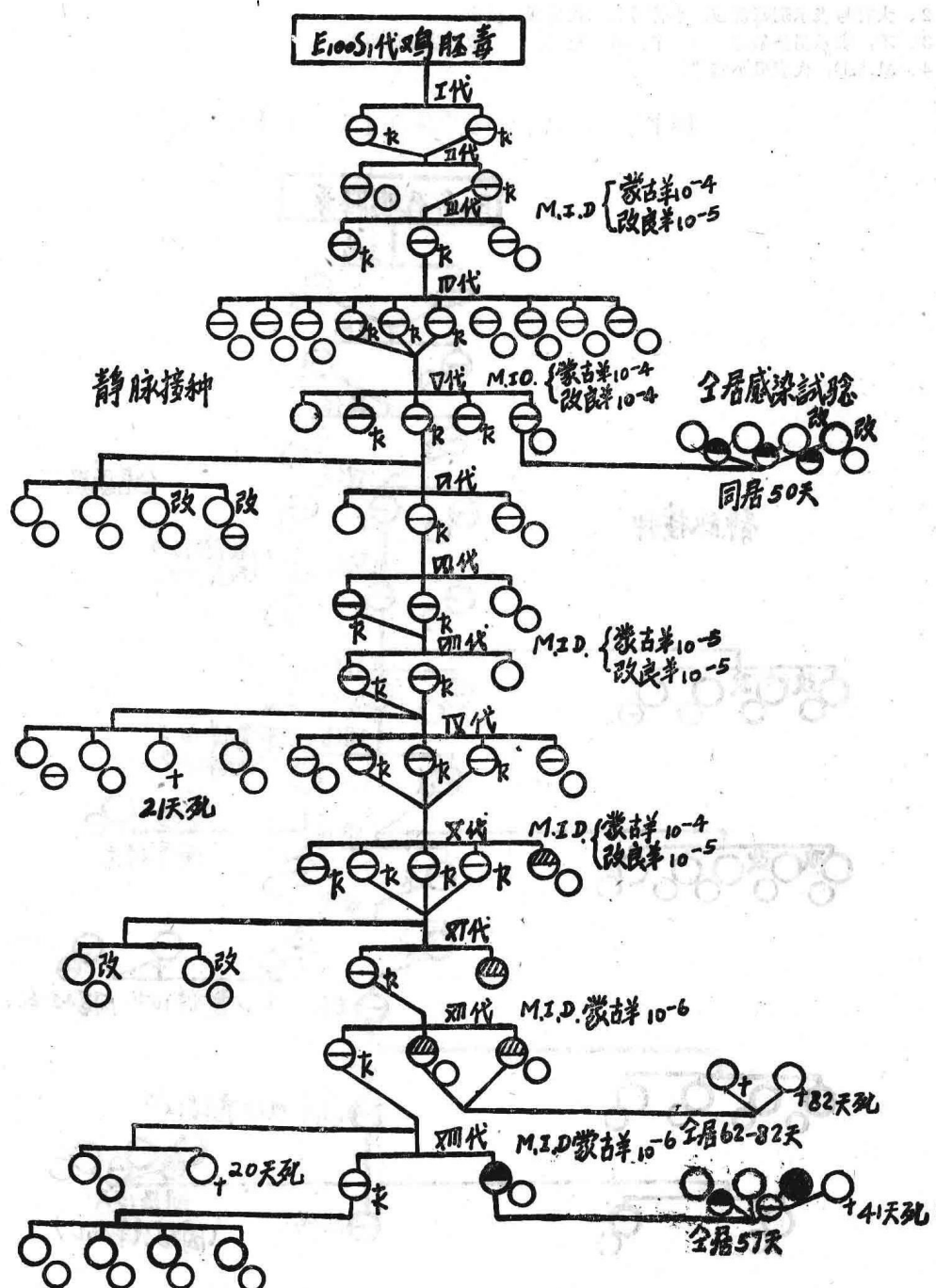
从图I、II观察可知，各系继代羊发痘的痘型，除通过蒙古羊继代系的第13代中1头为全经过型，10代以后各代未剖杀的羊只为不全经过型的I型外，其他均为不全经过型的II型。发痘的潜伏期平均为4~6天，即在接种后第5~7天发痘，持续期间，在9代前经过2~12天后，10代后在3周左右逐渐消失。所有继代羊只除有不同程度的体温反应和接种局部发痘外，均无全身发痘和其他临床症状。剖杀采毒的绵羊，据肉眼检查各脏器，特别是肺脏没有发现羊痘的特有病变，耐过的绵羊再以强毒接种，均无任何反应。

各系不同代数的反应毒对绵羊的最小感染量，在第3~5代间，除蒙古羊继代系第3代和改良羊继代系第5代对改良羊滴定为 10^{-6} 外，其余均为 10^{-4} ，第7~11代均为 10^{-5} ，蒙古羊继代系的第12及第13代均为 10^{-6} 。各系以同代反应毒对两种羊毒力滴定结果，虽然每次结果不尽一致，但总的来看，用改良羊滴定比较敏感一些，有时多于蒙古羊一个滴度。各系毒力滴定羊的发痘潜伏期均有延长，痘型均为不全经过型，并都能获得坚固的免疫力。

以第5~13代的反应毒静脉接种于绵羊，不论那个系统接种的改良羊和蒙古羊，均无皮肤反应，仅部分羊有轻微的体温反应，表明 $E_{100}S_1$ 代鸡胚毒通过绵羊13代以内的反应毒，用静脉接种方法不能引起绵羊全身发痘。试验羊只耐过后，再攻以强毒，都获得了免疫。

在第5~13代间，各系不同代数的发痘羊与健康羊同居，除改良羊继代系第11代因继代羊死亡，仅同居15天外，其他同居日数为42~82天，结果仅蒙古羊继代系与第13代发痘羊同居的4头健康羊中1头，引起了自然感染发痘（稀发），其余同居的健康羊全无反应，再以强毒接种，在两系15头中9头典型发痘，4头为不全经过型，2头无反应，免疫的羊只在同居期间临床上未见有发痘情况，认为可能是天然免疫羊。中途死亡的羊只均系由于患严重捻转胃虫，身体极度衰弱而致死，剖检上没有任何痘病变。因此，从其他同居的健康羊，在同居期间临床上没有发痘，强毒接种后照常发痘，不免疫的结果看来，认为第12代以前不能引起自然感染。

图 I $E_{100}S_1$ 代鸡胚毒通过蒙古羊继代情况



注1、符号说明：本报及以后各报告中，凡强弱毒接种羊的反应，均用下列符号表示。每个符号代表一只羊。

(1) 全身发痘●由于全身发痘兼有其他临床症状而引起死亡或全身发痘自然恢复者。

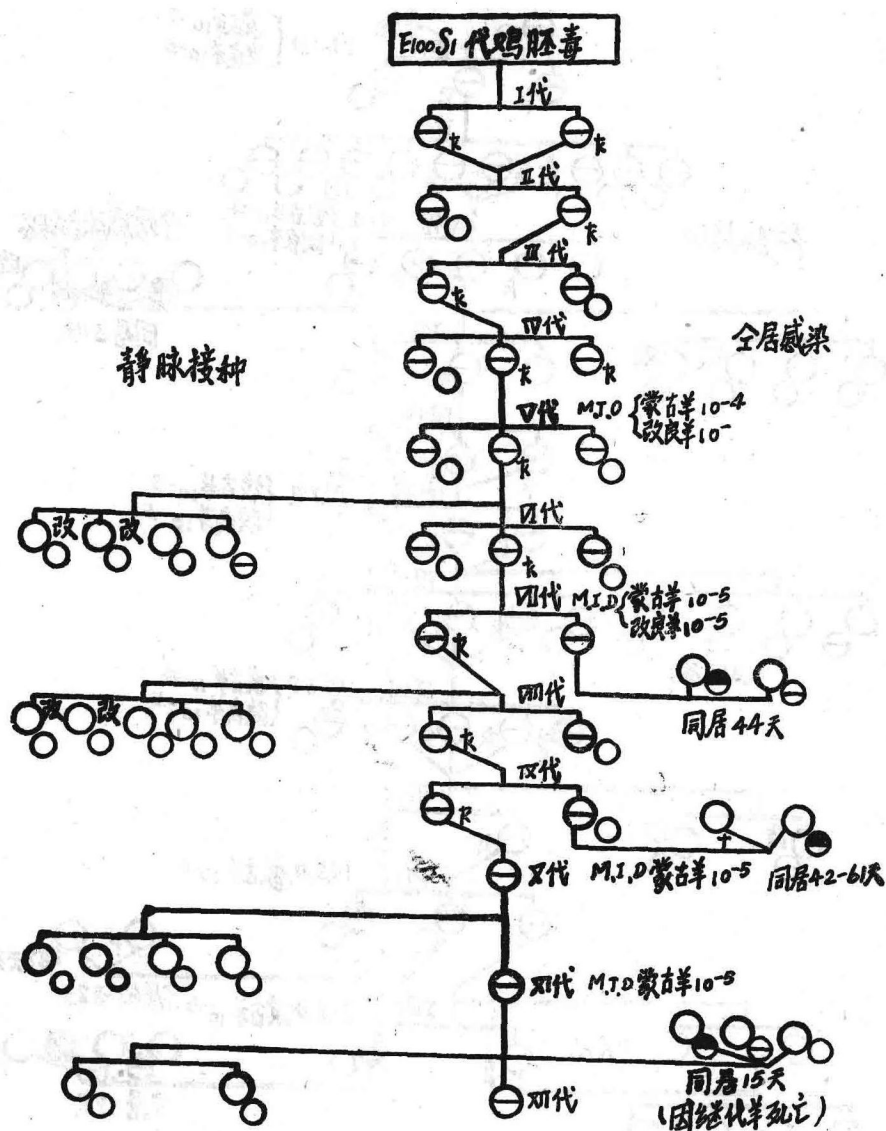
(2) 局部发痘全经过型I型⊙接种局部发痘之痘型达3~5厘米或融成一片红肿，经过丘疹、脓疱、结痂之全经过者。
局部发痘全经过型II型⊙接种局部发痘之痘型在1~3厘米，其痘型经过同上者。

(3) 局部发痘不全经过型I型⊙接种局部发痘之痘型在1~3厘米，同一个接种羊只其痘型一部分为全经过，一部分形成丘疹后即逐渐消失者，或仅在痘之顶端形成很小的脓疱，有少许脓汁即形成结痂者。

局部发痘不全经过型II型⊙接种局部发痘之痘型在0.5~2厘米之间，其痘型形成丘疹或较硬的结节后，不经过脓疱，结痂即逐渐消失者。

- (4) 可疑反应⊗局部反应不明显, 难以判定者。
 (5) 无反应○接种之局部皮肤无反应者。
 2、大符号表示弱毒反应, 小符号表示攻强毒后反应。
 3、 λ : 表示剖杀采毒。 $\dagger$: 表示死亡。 改: 表示改良羊
 4、M.I.D: 代表最小感染量

图 II $E_{100}S_1$ 代鸡胚毒通过改良羊继代情况



综上所述, $E_{100}S_1$ 代鸡胚毒通过蒙古羊和改良羊分别继代结果证明, 在第10代以前对绵羊的毒力甚为安全和稳定, 在第13代以后, 其毒力才表现出较明显增强的倾向, 特别是用改良羊继代, 虽然试验头数不多, 羊只体况稍差, 但是初步亦可看出, 并没有因为它对羊痘比较易感, 而使毒力迅速增强, 相反的与通过蒙古羊的继代结果大致相同, 总的看来用 $E_{100}S_1$ 代后的鸡胚毒通过绵羊继代的反应毒, 在一定代数内, 确是安全和稳定的, 用它大量制

造羊痘弱毒疫苗，是确实可行的。

表1 反应毒对绵羊大量皮下接种试验

反应毒	接种剂量 及途径	试验羊			反 应 情 况
		号数	品种	年令	
E ₇₄ S ₁ 反	1:30,500cc,sc	55	改良羊	2岁	接种后第7天局部有4.5×6.5厘米大肿胀，周围有1.5厘米大丘疹3个，第14天后逐渐消失。
Ⅵ丘疹	1:30,500cc,sc 1:10,170颗id	56	"	2岁	接种后第11天皮下接种部有4.5×6厘米大肿胀，第5天后皮内接种部有1.5×2厘米大丘疹，第14天后两者逐渐消失。
E ₁₀₀ S ₁	1:30,500cc,sc	57	蒙古羊	2岁	接种后第6天，两侧局部有3—4个4.2×5.7厘米大肿胀，第9天后逐渐消失。
反Ⅴ丘疹		58	"	2岁	接种后第6天在下腹部有5×10厘米大肿胀，第9天后逐渐消失。
E ₁₀₀ S ₁	1:30,500cc,sc	59	"	2岁	无反应
反Ⅷ丘疹		60	"	2岁	接种后第7天局部稍肿，第9天有9×9厘米大肿胀，第11天后逐渐消失。

表2 以不同接种途径测定反应毒对绵羊最小感染量的比较试验

接种途径	稀释倍数	头数	反 应					强 毒 接 种				
			+++	++	+	±	—	头数	●	⊙	⊖	○
皮 内	10 ⁻³	2		2				1				1
	10 ⁻⁴	2			2			2				2
	10 ⁻⁵	2		1	1			2				2
	10 ⁻⁶	2					2	1	1			
皮 下	10 ⁻³	2		2				2				2
	10 ⁻⁴	2		1	1			1				1
	10 ⁻⁵	2			1		1	2	1			1
	10 ⁻⁶	2					2	1	1			
对 照								5	5			

注：本表及以后各报各表的注苗羊反应符号说明如下：

- (卅) 强反应：仅局部发痘，呈现不全经过型的Ⅱ型，约核桃大肿胀硬结者。
- (廿) 中等反应：仅局部发痘，呈现不全经过型的Ⅱ型，约蚕豆大乃至栗子大肿胀硬结者。
- (+) 轻反应：仅局部发痘呈现不全经过型的Ⅱ型，约豌豆大乃至芸豆大肿胀硬结者。
- (±) 可疑反应：局部呈现米粒大乃至小豆大硬结或皮肤稍增厚，难以判定为接种反应者。
- (—) 无任何反应者或强毒后的反应表示为⊖与○者，均判为获得免疫范围。以后各报各表同。

二、反应毒对绵羊大量皮下接种试验。

为了进一步明确反应毒的安全性以及希望获得大量制苗材料,曾以 $E_{74}S_1$ 及 $E_{100}S_1$ 反Ⅶ和反Ⅷ代丘疹组织,用生理盐水制成30倍乳剂,以500毫升在绵羊的腹侧皮下接种,其中有1头用反Ⅷ代10倍乳剂,兼行皮内接种170颗,结果见表1。

如表1所示,凡大量皮下接种的绵羊,除局部呈现反应外,都未能引起全身发痘和其他严重反应。在单纯皮下接种的5头羊中,除反Ⅷ接种的2头羊中有一头无反应为天然免疫羊外,其余4头在接种后的第6~7天接种局部呈现轻度肿胀,持续4~8天后逐渐消失。用反Ⅶ皮内和皮下同时接种的绵羊,其皮内发痘是在接种后的第5天呈现不全经过型,皮下接种处是在接种后的第11天局部呈现轻度肿胀,证明皮内和皮下同时大量接种也不能引起羊只严重反应,至于皮下接种反应潜伏期的延长,可能由于两个途径同时接种,皮内接种途径比较敏感,引起了一定干扰所致。由此可见,在8代内的反应毒对绵羊大量皮下接种均不能引起大面积皮下严重水肿,进一步证明反应毒对羊的毒力是相当安全和稳定的,同时表明,皮下接种由于局部肿胀轻微,不能获得大量制苗材料,认为制苗时不宜采用。

三、不同接种途径,测定反应毒对绵羊最小感染量的比较试验。

为了测知皮内与皮下接种途径不同,羊只的感染和免疫是否一致,对于应用反应毒的接种剂量及接种途径上,有着实际意义。为此,曾用 $E_{100}S_1$ 反Ⅷ,以生理盐水配制不同稀释度,每个稀释度以1.0毫升在绵羊尾内面皮内接种及1.0毫升皮下接种。供试羊均为2岁的蒙古羊。观察3周后与对照羊同时接种绵羊痘强毒,结果如表2所示,皮内接种滴度为 10^{-5} ,皮下接种为 10^{-4} ,可使羊只全数发痘和免疫。皮下接种 10^{-5} 的2头羊中,一头发痘和免疫,另一头不发痘亦不免疫。

四、绵羊反应毒的保存期试验。

为了明确绵羊反应毒的保存期间,将反应毒放入不同保存液内,置于不同温度下进行保存期试验,共试验两次,结果分述如下:

(1) 在甘油生理盐水及甘油磷酸盐缓冲液内的保存试验。

本试验系将 $E_{81}S_1$ 反Ⅲ丘疹组织,经无菌处理之后,分装于盛有灭菌的50%甘油生理盐水和50%甘油磷酸盐缓冲液(pH7.4)的中性瓶内,保存于不同温度下经过不同时间,以生理盐水制成10倍乳剂,各以0.5毫升分别在绵羊腋下皮内和皮下接种,经3周后,接种羊痘强毒,结果见表3。

从表3结果得知,不论保存在甘油生理盐水或甘油磷酸盐缓冲液内反应毒,在 $-8\sim-10^{\circ}\text{C}$ 的温度下保存10个月, $0\sim4^{\circ}\text{C}$ 6个月及 $8\sim14^{\circ}\text{C}$ 4个月,以皮内接种于绵羊时,均能使羊发痘和免疫。以皮下接种于绵羊时,保存在 $-8\sim-10^{\circ}\text{C}$ 下,在甘油生理盐水中保存至10个月,甘油磷酸盐缓冲液内保存者至7个月,保存 $8\sim14^{\circ}\text{C}$ 下,两者保存至3个月时亦均能使羊发痘和免疫;保存在 $0\sim4^{\circ}\text{C}$ 下甘油生理盐水中保存者至5个月,及甘油磷酸盐缓冲液内保存至5~6个月时,均不能使羊发痘,仅能使羊免疫。可以看出,反应毒经长期保存后,用同样剂量皮内接种优于皮下接种。保存在甘油生理盐水内的反应毒,在 25°C 下保存一周时,皮内与皮下

接种，均能使羊发痘和免疫，保存至二周时，不能使羊发痘，仅能免疫。在甘油磷酸盐缓冲液

表 3 反应毒在甘油生理盐水及甘油磷酸盐缓冲液内保存期试验结果

保存温度	保存时间	甘油生理盐水				甘油磷酸盐缓冲液				强 毒	
		皮内接种		皮下接种		皮内接种		皮下接种		对照反应	
		反应	攻毒	反应	攻毒	反应	攻毒	反应	攻毒		
-8—-10℃	7个月	++ ++	○ ○	++ ++	○ ⊖	++ ++	○ ○	++ ++死	○	●	○
	8个月	++ ±	○ ●			± ++	● ○			●	●
	10个月	++ —	○ ⊖	— ++	○ ○	++ ++	○ ○	++ —	⊖ ●	●	●
0—4℃	4个月	++ ++	○ ○	± ±	○ ○	++ ++	○ ○	++ ++	○ ○	●	●
	5个月	++ ++	○ ○	— —	○ ○	— —	○ ○	— —	○ ○	●	
	6个月	++ ++	○ ⊖	— ±	● ●	± +	○ ⊖	— —死	○	●	○
8—14℃	1个月	++ ++	○ ⊖	++ —死	○	++ ++	○ ○	++ —	○ ○		
	2个月	— +	○ ○	— —	○ ○	++ ++	○ ○	++ +	⊖ ○	●	●
	3个月	++ +	⊖ ⊖	— +	⊖ ⊖	± ++	⊖ ○	++ ++	○ ○	●	●
	4个月	++ ++	○ ○	— ++	● ○	++ —	○ ○	— —死	●	●	
25℃	1 周	++ ++ ++	○ ○ ○	++ ++ ++	○ ○ ○	++ ++ —	○ ○ ○	— — ++	○ ○ ○		
	2 "	— — —	○ ○ ○	— — —	○ ○ ○	++ ++ ++	○ ○ ○	— — —	○ ○ ○	●	●
	3 "	++ — —	⊖ ● ●	— — —	○ ● ⊖	— ++ ++	⊖ ○ ○	++ — —	○ ○ ○	●	○
	4 "	— — —	● ● ●	— — —	● ● ●	— — —	● ● ●	— — —	○ ○ ○		

注：反应系指疫苗接种反应，每一符号代表一头绵羊的反应。攻毒栏内符号表示前者接种强毒后的结果(以后各报同)

液内保存者至3周，皮下和皮内接种均可使羊发痘和免疫。据此可知，用甘油磷酸盐缓冲液保存反应毒优于用甘油生理盐水保存。

(2) 在3%硼酸溶液，生理盐水及磷酸盐缓冲液内的保存试验。

用E₁₀₀S₁反Ⅷ丘疹组织，分装于盛有3%硼酸溶液(pH4.6)生理盐水及磷酸盐缓冲液(pH7.4)的中性瓶内，分别保存于0~4℃冰箱和8~14℃装有凉水的保温瓶内(每日换水一次)。经过不同时间，用生理盐水制成50倍乳剂，以0.5毫升在绵羊尾内面皮内接种。在磷酸盐缓冲液内保存者，在保存至9个月时，进行了毒力滴定，以不同稀释度，各以1.0毫升(分2颗，每颗0.5毫升)分别在绵羊尾内面皮内接种。经过3周后接种羊痘强毒，结果见表4和表5。

表4 反应毒在3%硼酸溶液，生理盐水及磷酸盐缓冲液内保存试验结果

保 存 温 度	保 存 时 间	3 % 硼 酸 溶 液		生 理 盐 水		磷 酸 盐 缓 冲 液		强 毒 对 照 反 应
		反 应	攻 毒	反 应	攻 毒	反 应	攻 毒	
8—14℃	2 个月	—	⊖	++	⊖	+++	○	● ● ●
		+	○	++	⊖	++	○	
	3 个月	—死		++	○	++	○	● ● ●
		—	○	+	○	++	○	
	4 个月	—	○	++	○	++	○	●●●●●●●
		—	⊖	—	○	—	○	
	5 个月	+	○	+	○	+	○	● ● ●
		—	○	—	○	—	○	
	9 个月	—	⊖	—	○			● ● ●
		—	●	++	○			
0—4℃	3 个月	—	○	++	○	++	○	同上3个月
		—	○	++	○	++	○	对 照
	4 个月	++	○	++死		—	○	同上4个月
		—	○	++	○	++	○	对 照
	5 个月	—	○	++	○	—	○	同上5个月
				++	○	++	○	对 照
	9 个月	—	○	++	○			同上9个月
		—	○	+++死				对 照

表 5

反应毒在磷酸盐缓冲液内保存过程中毒价测定结果

保 存 温 度	保 存 时 间	10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		强 毒 对 照 反 应
		反 应	攻 毒	反 应	攻 毒	反 应	攻 毒	
8—14℃	9 个月	++ ±死	○	++ +	○ ○	++ ±	○ ○	● ●
0—4℃	9 个月	++ ++	○ ○	++ ++	○ ○	++ +	○ ○	同 上

从表 4 和表 5 得知, 在生理盐水和磷酸盐缓冲液内保存的反应毒, 在 0~4℃ 和 8~14℃ 的温度下保存至 9 个月, 均能使羊发痘和免疫, 特别是保存在磷酸盐缓冲液内的反应毒, 其 10⁻⁵ 稀释度仍能使羊发痘, 与采毒后当时的毒力滴定结果是一致的, 证明保存至 9 个月毒

表 6

绵羊反应毒对成羊免疫期试验

试验 地区	疫 苗		试验 头数	疫苗 反应				免疫 期间	攻 毒 反 应					免 疫 率 免疫羊数/ 试验羊数
	反应毒 代 数	接种剂量及方法		++	++	+	-		●	●	●	○	○	
金 沙 农 场	反	50×1.0cc id 腋	4		2	1	1	3 个月				2	2	21/21 (100.0%)
		50×0.5cc id 腋	7	1	5	1						1	6	
		50×1.0cc id 尾	5		4	1						1	4	
		50×0.5cc id 尾	5		4	1						1	4	
		对 照	6						1	4			1	1/6(16.7%)
	Ⅶ	50×1.0cc id 腋	5	2	2		1	9 个月		2		2	1	4/6(66.7%)
		50×0.5cc id 尾	1		1							1		
		对 照	5							2		3		3/5(60.0%)
	丘 疹	50×1.0cc id 腋	9	1	8			13 个月					9	31/32 (96.8%)
		50×0.5cc id 腋	9	1	7	1					1		8	
		50×1.0cc id 尾	6	2	3	1							6	
		50×0.5cc id 尾	8	1	6	1						4	4	
		对 照	8						3	5				0/8(0%)
	参	50×1.0cc id 腋	3	1	2			18 个月					3	9/11 (81.8%)
		50×0.5cc id 腋	4	1	2		1						4	
		50×1.0cc id 尾	1		1								1	
		50×0.5cc id 尾	3		3					2			1	
		对 照	6							6				0/6(0%)

(续表6)

宁 安 农 场	反 Ⅷ	25×0.2cc id尾	4	1	3					4	7/7
		25×0.5cc id尾	3	2	1		3个月			3	(100.0%)
		对 照	3					2		1	1/3(33.3%)
	丘 疹	25×0.2cc id尾	5	4	1					5	10/10
		25×0.5cc id尾	5	3	2		11个月			5	(100.0%)
		对 照	5					3	2		0/5 (0%)
	疹	25×0.2cc id尾	4	2	1	1				4	4/4(100.0%)
		对 照	4				19个月		4		0/4 (0%)
		25×0.2cc id尾	5	3	2					2	8/9
		25×0.5cc id尾	4	2	2		25个月	1		3	(88.9%)
		对 照	3					3			0/3 (0%)

表7

绵羊反应毒对羔羊免疫期试验

试验 地区	疫 苗	反应毒 数	接种剂量及方法	试验 头数	接 种 疫 苗 应				免 疫 期 间	接种强毒后的反应					结 果 免疫羊数/ 试验羊数
					++	++	+	-		●	◐	◑	⊖	○	
金 沙	反Ⅷ代	25×1.0cc id腋	7	1	4	2			3个月				2	5	23/23 (100%)
		50×1.0cc id腋	6		4	1	1						1	5	
		25×1.0cc id尾	5		4	1								5	
		50×1.0cc id尾	5		1	3	1						1	4	
	丘 疹	25×1.0cc id腋	7		5	2			9个月	3			1	3	14/22 (63.6%)
		50×1.0cc id腋	8		7	1					1		4	3	
		25×1.0cc id尾	7		5	2				3	1		2	1	
		25×1.0cc id腋	4		4				13个月		1		1	2	
		50×1.0cc id尾	3		3					1			1	1	5/7 (71.4%)
宁 安	反Ⅷ代	25×0.2cc id尾	3		1	2			3个月					3	6/6 (100%)
		25×0.5cc id尾	3	1	2									3	
	丘 疹	25×0.2cc id尾	9	3	5	1			11个月					9	9/9 (100%)
		25×0.2cc id尾	3		3				22个月		1			2	2/3(66.7%)
		对 照	2							2					0/2
	疹	25×0.2cc id尾	4	3	1				24个月		2	1	1		2/4 (50%)
		对 照	4							4					0/4

注：除22及24个月单独设对照羊外，其他各组对照羊同成年羊对照组

力无损。用3%硼酸溶液保存者，在两个不同温度下，共试验9次接种17头羊中，仅有3次3头羊轻微发痘，其余全无反应，仅能使羊免疫，证明3%硼酸溶液对反应毒的毒力有影响，这可能与其pH酸度较大有关，故不适于用作绵羊反应毒的保存液。

五、绵羊反应毒对绵羊免疫期试验。

为了明确绵羊反应毒免疫绵羊的持续期间，曾在金沙农场和宁安农场的区域试验羊中，选出部份绵羊进行了此项试验。试验用的反应毒为E₁₀₀S₁反Ⅶ代和反Ⅷ代的丘疹毒，以生理盐水制成25倍和50倍乳剂，以0.2、0.5及1.0毫升在绵羊的尾内面或腋下皮内接种。试验的绵羊均为改良羊，其中成年羊为1~7岁，2~4岁者居多，羔羊在金沙农场试验的为2~3个月令，宁安农场的为4个月令。在疫苗接种后，结合农场具体情况，间隔适当时间，挑出部分羊只进行强毒攻击。攻毒剂量，在免疫期3~11个月，多数羊只用强毒淋巴液50倍稀释液，少数羊只用10⁻²~10⁻⁴，在13个月以后的各个免疫期全用淋巴液50倍稀释液，均以0.1毫升皮内接种。在农场的试验里是在严格隔离和消毒的条件下进行的。在对试验羊强毒接种后，将同一瓶强毒送回所内，以同一剂量接种对照羊。使用的对照羊为2岁的蒙古羊和哈尔滨地区的本地羊。判定疫苗免疫效果的标准为：免疫的绵羊无任何反应或仅在接种局部呈现微红色或无色稍硬的结节，不经过脓疱，结痂等过程而逐渐消失，对照的绵羊只少有2/3典型发痘时，则认为该疫苗有免疫效力，结果见表6、表7和表8。

表8 接种疫苗后的反应与免疫期的关系（金沙宁安）

成仔别	疫苗反应	免 疫 期							
		3个月	9个月	11个月	13个月	18个月	19个月	22个月	24—25个月
成年羊	+++	4/4	2/2	7/7	5/5	2/2	2/2	—	5/5
	++	19/19	1/3	3/3	24/24	6/8	1/1	—	3/4
	+	4/4	—	—	2/3	—	1/1	—	—
	—	1/1	1/1	—	—	1/1	—	—	—
羔羊	+++	2/2	—	3/3	—	—	—	—	2/3
	++	16/16	11/17	5/5	5/7	—	—	2/3	0/1
	+	9/9	3/5	1/1	—	—	—	—	—
	—	2/2	—	—	—	—	—	—	—

注：分母为试验羊数，分子为保护羊数。

从表6得知，绵羊反应毒对成年绵羊的免疫期试验结果，用反Ⅶ在金沙农场免疫的改良羊，经过3个月其免疫率为21/21（100%），9个月为4/6（66.7%），13个月为31/32（96.8%），18个月为9/11（81.8%），在宁安农场用反Ⅷ免疫的改良羊，经过3~19个月其免疫率均为100%，25个月尚有8/9（88.9%）的免疫效力。

从表7观察，在金沙农场用反Ⅶ免疫生后2~3个月令改良种羔羊，经过3个月其免疫

率为23/23(100%)，9个月和13个月分别降至14/22(63.6%)和5/7(71.4%)，而宁安农场用反Ⅲ免疫生后4个月令改良种羔羊，经过3个月和11个月的免疫率分别为6/6(100%)和9/9(100%)，22个月和24个月分别降至2/3(66.7%)和2/4(50%)。初步认为绵羊反毒免疫4个月令以内的羔羊，其免疫持续期次于成羊，并且羔羊愈小免疫期愈短。

从表8可以看出，在9个月后各试验组里未获得免疫的羊只。多为疫苗接种后呈现中等反应以下的绵羊，其中疫苗反应持续时间较短的羊只较多。在呈现强反应的试验组里，仅有一头羔羊在24个月攻毒时未获得免疫，其余全部免疫。说明疫苗接种后机体反应强弱与免疫期长短具有平行关系，反应强则免疫期长，反应轻则免疫期短。至于在成羊的9个月和18个月试验组里，各有一头疫苗接种后无反应的羊只，攻毒后亦无反应的问题。估计这类试验羊里，有的羊有可能在疫苗接种前就具有天然免疫力所致。

从不同接种部位和剂量上看，由于试验结果表现不够规律，看不出明显差别(参看表7、8)。但是从金沙农场的羔羊试验组观察，似乎在腋下接种者略好一些。从不同代数反应毒接种的成羊来看，用反Ⅲ免疫的绵羊试验的结果较好，可能与其毒力稍强，接种的绵羊局部反应较强有关。但是由于试验条件不同，特别是羔羊，由于绵羊的年令，营养状态和试验时期不同难以对比。

区域试验

(1) 反应毒对成羊和羔羊安全试验。

为了明确反应毒对不同羊种不同年令的羊只，在实际应用上的安全性及应用方法等，曾在1955年7月在萨尔图国营牧场，1956年5~6月在金沙和宁安农场，海拉尔近郊的胡赫勒泰牧业生产合作社四个未发生羊痘的场、社进行了区域试验。在萨尔图、金沙和宁安农场的试验均为改良种细毛羊，成羊年令为1~7岁，5岁以内者居多，羔羊为1.5~5个月令。在海拉尔用2~6岁的蒙古种成羊。使用的反应毒在萨尔图用E₇₄S₁反Ⅲ，在金沙、宁安和海拉尔用E₁₀₀S₁反Ⅴ、反Ⅶ及反Ⅷ。试验时将反应毒装于盛冰的保温瓶内，带至现地，用灭菌的生理盐水制成25和50倍乳剂，以不同剂量在绵羊尾内面或腋下皮内接种。所有试验羊只在接种后的第7~9天作首次检查，然后每隔4~6天检查一次，共检查三次。统计局部痘型的大小，主要依据第一次检查结果，因以后的检查，有的羊反应已开始逐渐消失，但是正个痘型的发展变化还是根据三次检查结果综合判定的。结果见表9和表10。

根据表9、表10和临床观察结果得知，用反应毒接种的大小羊只，多在接种后第5~8天开始局部发痘，形成硬结，经过1~2周后逐渐消失。间有少数羊只在痘的顶端由于表皮擦伤而结痂，或有少许脓汁和不大的结痂。这些羊只除局部发痘外，全无其他可见的临床反应。证明反应毒在实际应用上，甚为安全。

在宁安和金沙接种改良种成羊601头，局部发痘有582头，发痘率为96.8%，其中强反应者118头(19.6%)，中等反应者385头(64.1%)，轻反应者79头(13.1%)，可疑反应者7头(1.2%)和无反应者12头(2.0%)。接种的287头蒙古羊局部发痘者247头，发痘率为86.1%，其中强反应者67头(23.4%)，中等反应者179头(62.4%)，轻反应者1头(0.3%)，无反应者40头(13.9%)。在接种的两群蒙古羊中，2岁羊的发痘率为88.4%，3~6岁羊的发痘率为57.1%，后者发痘率低的原因，由于该群羊中的5~6岁羊发生过羊痘所致。详见表9。

接种的改良种羔羊共1063头，局部发痘者 901 头，发痘率为84.7%，其中强反应者58头（5.5%），中等反应者508头（47.8%），轻反者 335 头（31.4%），可疑反应和无反应者为 162 头（15.7%）。羔羊由于生后月令不同，其发痘率和反应程度不一致，接种的1.5—2个月令羔羊，发痘率为31.2%，2~3个月令羔羊发痘率为91.1%，3~5个月令羔羊（约半数5个月令）为93.1%，4个月令羔羊的发痘率则达100%。看来3个月令以内的羔羊发痘率低，反应轻，4个月令以上的羔羊发痘率与成年相似，反应亦较强。详见表10。

使用反应毒的代数多少，与接种绵羊的发痘率高低和反应强弱也有一定的关系，从对羔羊的试验结果看，在发痘率上，用反Ⅴ接种的羔羊发痘率（31.2%）低于反Ⅵ接种者（91.1%），而反Ⅵ又低于反Ⅶ接种者（100%）；在反应程度上也是如此顺序，以中等反应和强反应者为例，反Ⅴ接种者为6.2%，反Ⅵ接种者为62.7%，反Ⅶ接种者则为100%。用反Ⅲ接种的羔羊虽然发痘率达93.1%，但中等反应以上的仅达47.9%。在宁安和金沙农场试验的成羊，其发痘率和反应程度也具有同样表现。说明代数多的反应毒的毒力稍强，引起的反应亦强，同时也说明接种的羔羊发痘率低和反应程度弱，不仅与年令有重要关系，而且与使用反应毒的代数和毒力强弱也有着一定关系。

就接种部位而言，在金沙农场用反Ⅶ同一剂量在腋下与尾内面接种的成羊，两个部位呈现的发痘率和反应程度大致相同（表9）。而在该场以同代毒同一剂量皮内接种的1.5~3个月令羔羊（如表10）腋下接种的发痘率均高于尾内面接种的。初步认为3个月令以内的羔羊，似乎在腋下皮内接种比较合适。

从接种剂量上看，接种的成羊和4个月令以上的羔羊发痘率，没有由于接种剂量的不同而表现出明显差异，仅接种量大的反应程度略强一些，而接种的2~3个月令羔羊，都是接种量大的较接种量小的发痘率高，反应程度也比较强一些。

在接种途径上，从金沙农场用反Ⅶ接种的羔羊发痘结果来看（表10），皮内接种的4组综合发痘率（92.7%）高于皮下接种的2组发痘率（80.1%），在反应程度上，皮内接种的中等反应和强反应的，综合为64.3%，而皮下接种的为52.0%，初步看来，3个月令以内的羔羊用同样剂量，皮下接种不如皮内接种反应好。

（2）在绵羊痘流行羊群中紧急预防接种试验。

在1955年9月，曙光农场的羊群曾发生羊痘，在疫苗接种之前，该场饲养1,576头绵羊中，已有81头感染发病和6头死亡，根据患痘羊痘痂的出现和死亡来看，至少在一个月以前就开始了发病和流行。在这样严重的疫群中，我们用绵羊反应毒进行了紧急预防接种试验，以观察反应毒，在实际应用中的效果。

用反应毒接种共四群羊574头，在接种前仅有一群（第二群184头）未发生羊痘。其他三群（第6、8、10群）454头羊中，在疫苗接种当时检查，已有64头（10.3%）感染发痘。除已发痘羊未接种疫苗外，其余全部接种。接种的羊只为蒙古羊和1~4代改良羊，其中羔羊为7~8个月令，成羊为1~9岁，以2~5岁者居多，使用的反应毒为反Ⅲ和反Ⅴ，用生理盐水制成50倍乳剂，各以0.4毫升，在绵羊腋下皮内接种，在接种后的第8天，开始检查反应，共检查三次，结果列入表11。

如表11所示，接种的574头羊中，呈现局部发痘的402头（70.0%）可疑反应为7头（1.2%），无反应者142头（24.7%）。其中原来未被传染的第二群羔羊，在疫苗接种后，仍然未

绵羊反应毒素对成年绵羊的安全试验

[illegible]

表10 绵羊反应毒对羔羊的安全试验

试验地区	绵羊品种	年令	反 应 毒			接 种 头 数	局 部 发 痘				反 应	反 应 率
			材料	接种剂及方法	接种部位		+++	++	+	±		
萨尔图	2—3代改良羊	3—5个月	反Ⅲ代丘疹	50×0.4cc, id	腋下	410 (100)	1 (0.2)	193 (47.1)	188 (45.8)	4 (1.0)	24 (5.9)	382/410 (93.1%)
宁	3—4代改良羊	4个月	反Ⅳ代丘疹	25×0.2cc, id	尾内面	100 (100)	38 (38.0)	62 (62.0)				100/100 (100.0%)
				25×0.5cc, id	"	17 (100)	13 (76.5)	4 (23.5)				17/17 (100.0%)
安			反 Ⅳ 代 毒 合 计			117 (100)	51 (43.6)	66 (56.4)				117/117 (100.0%)
金	4代改良羊	1.5—2个月	反Ⅴ代丘疹	50×1.0cc, id	腋下	95 (100)		5 (5.2)	30 (31.6)	13 (13.7)	47 (49.5)	35/95 (36.8%)
					49 (100)		4 (8.1)	6 (12.2)	4 (8.1)		35 (71.5)	10/49 (20.3%)
沙			反 Ⅴ 代 毒 合 计			144 (100)		9 (6.2)	36 (25.0)	17 (11.8)	82 (57.0)	45/144 (31.2%)