

內部資料

卫生部生物制品研究所

年 刊

1963—1964



1965. 8. 北京

917

前 言

两年来我們在卫生部党政的正确领导下，在生产及研究方面进行了一些工作，并取得一定成績。为进一步总结經驗、积累資料和便于学术技术交流特将 1963 至 1964 年工作当中的生产經驗、技术总结、科研工作报告和研究論文等四十五篇汇集編印成冊。本所曾于 1963 年出版了 1960 至 1962 年集刊一冊，自本冊开始改为年刊，并决定今后每年出刊一冊。本年刊中的資料有些仅是初步的或不成熟的故只供內部参考。因編印倉促，錯誤之处难免，請予批評指正。

卫生部生物制品研究所

衛生部生物製品研究所年刊(1963—1964)

勘 誤 表

頁	欄	行	誤	正
2	1	倒 1	滴度虽然降低	滴度显然降低
6	2	正 5	不能消灭休克反应的发生	不能消灭晕厥反应的发生
18	2	倒 1	約含120—400个PFU的病毒	約含40—400个PFU病毒
26	2	倒 5	少的比較	少比較
33	2	倒 7	所得到的血凝	所得到的血凝素
33	2	倒 1	水平完全相同	水平几乎完全相同
34	2	倒 2	LD ₅₀ 的血凝素原始滴度	LD ₅₀ 的原始滴度
73	1	倒 1	毒10倍稀释	毒作次递10倍稀释
99	1	倒 8	效价显著增高	效价显著的高
109	2	正10	加0.01硫柳汞	加0.01%硫柳汞
109	2	表1第2栏 第4行	二倍肿数	二倍肺数
117	2	正1—11	京生64-1(1964),……演变的,特	左列全段应移至第118頁1栏第 10行“(1963),”之后
122		表 3 末栏 第 1 行	对停型抗体	对何型抗体
151	2	正 2	发现在51303株有噬斑	发现在51503株有噬斑
163	1	正12	用1%明胶溶液	用1%明胶盐水溶液
170	1	表 8 以下 第 6 行	直使用	一直使用
174	2	正14	200,000m	200,000ml
185	2	倒 4	n[r]軸	π[r]軸
189	2	正 4	原計計是	原設計是
208	1	倒 3	的响影显著	的影响显著
213	1	图 4	I 血浆清蛋白	I 63-5清蛋白
213	1	图 4	V 63-3清蛋白	(应删掉)
222	2	正 1	普遍內水	普通肉水
232	1	正 2	細纖細胞	組織細胞
234	2	正 2	H細胞	F L細胞
241	1	图二标题	干燥溫昇曲綫	干燥昇溫曲綫
242	1	图三标题	干燥溫昇曲綫	干燥昇溫曲綫
	目录	第3頁第25、 27、28行	田世旺	田世昭
	目录	第4頁第2行	周媛婷	周媛婷

目 录

1	組織培养流行性乙型脑炎疫苗生产技术研究工作总结	脑炎室 (1)
2	組織培养流行性乙型脑炎疫苗在不同地区人体免疫的中和抗体反应及 根据抗体升高幅度以衡量疫苗效价的商榷	王用楫、周宁珍、李美容、孙勉 (8)
3	流行性乙型脑炎病毒在鸡胚細胞培养中蝕斑形成的研究	孙 勉、黄明玉、刘培生、李月云、顾佩韦、王用楫 (13)
4	流行性乙型脑炎病毒——鸡胚組織培养系統中形成的干扰素	王用楫、孙 勉、顾佩韦 (23)
5	有关流行性乙型脑炎病毒鸡胚細胞培养系統中干扰素的蝕斑抑制检查 方法、产生动态及某些制备条件的研究	王用楫、孙 勉、顾佩韦、刘培生、黄明玉 (26)
6	流行性乙型脑炎病毒血凝素及补体結合抗原在鸡胚細胞培养中的产生动态	王用楫、李美容、刘培生、李潤洁 (32)
7	有关流行性乙型脑炎病毒鸡胚細胞传代株的毒力变异及免疫原性的研究	王用楫、孙 勉、顾佩韦、李月云 (40)
8	流行性乙型脑炎病毒在北京馬匹中的临床感染和隱性感染	王用楫、于則常、陈醒民、周 平、衣秀云 (47)
9	用半胱氨酸培养鸡胚組織和制备流行性乙型脑炎疫苗的实驗	顾佩韦、李美容、衣秀云、李潤洁、刘培生、王用楫 (51)
10	組織培养痘苗的研究	
	I、毒种传代与病毒培养	赵 鎧、聞仲权、錢汶光、胡庆祥、尤国栋 (55)
	II、痘苗的稳定性和免疫原性	赵 鎧、常淑賢、聞仲权 (60)
	III、人体接种反应与效果观察	聞仲权、韓雅儒、张美英、林传家、赵 鎧 (65)
11	血球吸附法測定痘苗中和抗体的方法	聞仲权、韓雅儒、靳勤生、赵 鎧 (68)
12	麻疹活毒疫苗的研究	
	I、麻疹高度减毒株的获得及其生物学性状观察	第一研究室 (73)
	II、疫苗免疫后抗体測定	第一研究室 (81)
13	影响麻疹血凝抑制試驗某些因素的观察	原明达、张永福 卢錦汉 (86)
14	17D 黄热病毒在鸡胚传代中的稳定性	第一研究室、检定科 (91)
15	斑疹伤寒分型特异性抗原的研究	斑疹伤寒室 (95)
16	斑疹伤寒疫苗預防接种的調查报告(第一报)	卫生部生物制品研究所、青海省卫生防疫站、西宁市卫生防疫站 (102)
17	兔化人虱在斑疹伤寒疫苗生产中的应用	斑疹伤寒室 (107)
18	斑疹伤寒疫苗防腐剂改进实驗	斑疹伤寒室 (109)

- 19 新分离乙型流感病毒的培养温度.....梁荣根、张育琴、彭佩霞 (111)
- 20 亚洲甲型流感病毒的抗原性变异.....梁荣根、张育琴 (113)
- 21 北京××大学甲、乙两型流感混合流行的病毒分离和血清学诊断.....第一研究室 (120)
- 22 放射性同位素磷³²标记流感病毒.....屈运昌、程克兰 (125)
- 23 霍乱菌苗小鼠免疫力试验方法的研究.....肖振亚、刘长明、卢锦汉 (129)
- 24 伤寒口服菌苗人群免疫效果初步观察...寿王坟铜矿职工医院、卫生部生物制品研究所 (133)
- 25 纯化伤寒菌苗的流行病学效果观察
 - I、铭明矾解毒纯化伤寒付伤寒甲、乙三联菌苗.....
 -郑州铁路局中心卫生防疫站、中心医院、齐齐哈尔铁路
局中心卫生防疫站、中心医院、卫生部生物制品研究所 (138)
 - II、磷酸铝吸附铭明矾解毒的单价纯化伤寒菌苗.....
 - ...郑州铁路局中心卫生防疫站、郑州铁路局中心医院、卫生部生物制品研究所 (141)
 - III、磷酸铝吸附铭明矾解毒的单价纯化伤寒菌苗的人体反应调查报告
(着重化脓反应).....郑州铁路局中心卫生防疫站、郑州铁路
局中心医院、卫生部生物制品研究所 (143)
- 26 噬菌体增殖反应在临床诊断上的应用...郑州铁路局中心医院、卫生部生物制品研究所 (147)
- 27 福氏痢疾菌抗原的研究
 - I、型II抗原的溶原变换现象.....舒 濬 (150)
- 28 链球菌溶血素“O”(SLO)的制备及抗 SLO 试验中的几个问题.....
 -舒 濬、陈维玲、李连臣 (154)
- 29 链球菌透明质酸酶(Shase) 试制总结.....舒 濬、李连臣、陈维玲 (159)
- 30 链球菌分族(Group)血清试制总结.....陈维玲 (162)
- 31 白喉类毒素生产方法的改进
 - I、深层培养产毒条件的比较及大罐培养产毒的初步应用.....
 -田世旺、赵 钰、姜从顺、张振华、苏家骥、赵建华、白洁慧、王桂兰 (166)
 - II、毒素过滤、解毒和类毒素精制方法的探讨.....
 -田世旺、苏家骥、赵建华、张秀兰、张振华、韩慧兰、姜从顺 (174)
- 32 精制白喉类毒素毒性解离试验初步总结...安作桥、田世旺、张秀兰、赵建华、王淑敏 (180)
- 33 白喉毒素深层培养机械设备的初步改进.....米 旺 (184)
- 34 明矾沉淀提纯丙种(胎盘)球蛋白.....刘雋湘、王佩玕、张晓琴、周家乃、赵士高 (191)
- 35 丙种球蛋白自动分解作用的研究
 - II、应用淀粉胶电泳法观察丙种球蛋白的自动分解作用.....
 -高子仪、王 椿、王淑敏 (198)
 - III、存在于胎盘球蛋白制品中的某种蛋白酶及其测定方法.....王 椿 (201)
- 36 从生产胎盘球蛋白的废液中提取清蛋白.....张淑英、张一泉、王佩玕、张晓琴 (207)
- 37 马匹油佐剂精破类免疫方法的探讨.....大动物室 (215)
- 38 抗绿脓杆菌免疫血清的作用机制.....许健音 (222)

- 39 应用同位素方法研究网状内皮细胞系统的功能初步试验
 I、应用同位素标记菌测定网状内皮细胞系统廓清率的试验……苏万年、周媛婷 (225)
- 40 新洁而灭消毒剂杀菌能力试验……斑疹伤寒室 (229)
- 41 在病毒培养中应用荧光染色技术的初步报告……第一研究室 (232)
- 42 致豚鼠心肌细胞病变因子的观察初报……巩志立 (236)
- 43 冷冻干燥工艺条件的改进……尹冠群 (240)
- 44 冷冻干燥物质的共晶点测定……分包装室 (244)
- 45 冻干制品采用不同冷冻方法对干燥过程的影响……尹冠群 (247)

組織培养流行性乙型脑炎疫苗生产技术 研究工作总结

脑 炎 室

(一) 有关生产技术的一些試驗

1960年以后, 本室使用胰酶消化鸡胎法生产組織培养疫苗, 一直到 1961 年冬因生产过程存在細胞生长不良及种毒后染菌等問題, 影响生产的进行。为此, 經领导同意改用鸡胎搖碎与毒种同时接种法进行生产。由于对该方法无足够的試驗基础, 虽然完成了生产任务, 但是生产情况不稳定, 損失还是不少。尤其是对于鸡胎的日龄, 維持液的 pH, 鸡胎的接种量, 病毒

的生长曲线, 收液的时间和疫苗的稳定性等了解不够, 因此于 1962 年开始进行了生产技术研究工作, 以探索病毒在鸡胎組織的生长繁殖規律, 給以后的生产提供材料根据。现将各項試驗結果汇报如下:

甲、病毒培养条件試驗

1. 病毒(P₈株)的生长曲线試驗: 以搖碎鸡胎法将鸡胎組織 2.0 克加入大方瓶中, 即时接种 P₈ 鼠脑病毒液 (1:10000) 在 37°C 培养不同時間取样作毒力滴定。結果見表 1, 表 2。

表 1 收液时间与毒力滴度(I)

試驗 次 数	病 毒 培 养 不 同 时 間 滴 定 結 果 (小时)									
	当 时	12	24	36	48	60	72	84	96	120
1	4.50	2.00	3.83	3.50	4.47	4.50	3.77	3.66	3.33	3.50
2	4.00	2.33	3.67	4.33	4.33	4.33	4.00	4.33	3.33	3.50
3	3.33	2.33	3.50	4.00	4.33	3.66	4.33	4.00	3.50	3.00
4	4.33	2.63	3.67	4.47	5.17	4.00	4.50	3.66	3.50	3.50
平 均	4.04	2.32	3.67	4.08	4.54	4.13	4.15	3.92	3.42	3.38

表 2 收液时间与毒力滴定(II)

試驗次数	使用容器	病 毒 培 养 不 同 时 間 (日) 滴 定 結 果									
		当 时	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	大 方 瓶	4.33	3.50	3.83	3.77	4.50	4.33	3.67	3.50	3.67	4.00
6	大 方 瓶	2.00	3.67	4.38	3.67	4.00	3.67	3.50	2.83	3.50	3.50
7	250 毫升瓶	4.33	3.50	—	4.67	3.50	3.77	1.67	<1.50	1.50	1.67*

* 于培养第 10—16 日, 每日取样作一滴定, 滴度在 1.00—2.00 之間; 于 19、20、21 日滴度分别为 0.50、0.77、0.50。

試驗結果表明最高滴度在培养 48 小时出現；大方瓶与 250 毫升疫苗瓶在培养 5 日以前滴度无差別，至第 6—9 日滴度有显著不同。

2. 病毒培养溫度試驗：不同溫度培养病毒至 48 小时，毒力滴定結果如表 3。

表 3 培养溫度与毒力滴度

試驗次数	病毒培养溫度			
	30	33	37	40
1	4.33	4.33	4.67	4.23
2	4.67	4.00	4.00	3.83
3	3.77	4.50	5.00	4.67
4	3.67	3.67	5.33	5.17
平 均	4.11	4.13	4.75	4.48

試驗結果表明以 37°C 培养的病毒毒力較高，40°C 培养的病毒四次中有一次較低。

3. 維持液中葡萄糖含量試驗：維持液中原为每 10,000 毫升含葡萄糖 200 克，增加糖量初步試驗結果似可提高病毒滴度，經进一步試驗，未能証明糖量能影响毒力滴度（見表 4）。

表 4 葡萄糖量与病毒滴度

試驗次数	維持液不同葡萄糖含量				
	无糖	正糖	二糖	四糖	八糖
1	4.00	4.17	5.00	5.00	—
2	4.23	4.00	4.33	4.50	—
3	—	4.67	5.00	4.33	3.75
4	—	4.67	4.50	3.67	4.00
5	—	4.50	3.67	3.87	4.33
6	—	4.50	4.50	4.33	4.33
平 均	4.12	4.42	4.50	4.28	4.10

注：正糖为正常糖量，二糖为二倍糖量，余类推。

4. 維持液 pH 試驗：規程中維持液 pH 定为 7.8—8.0，以搖碎鸡胎法試驗結果 pH 在 7.0—8.2 范圍內，病毒滴度基本一致，pH 在 6.6 以下滴度虽然降低（見表 5）。

表 5 pH 值与毒力滴度

試驗次数	維持液 pH 值					
	未 調	6.6	7.0	7.4	7.8	8.2
1	—	—	4.50	4.50	4.00	4.25
2	—	—	4.25	4.33	4.47	4.33
3	<2.50	3.66	4.50	4.33	4.50	4.66
4	<2.50	3.62	4.33	4.00	4.50	4.50
平 均	<2.50	3.64	4.40	4.29	4.37	4.44

5. 維持液加量試驗：2500 毫升大方瓶加不同鸡胎量（2.0 克及 3.5 克）及不同維持液（500 及 300 毫升），仅試驗两次，未能得出明显不同的結論。数据列为表 6。

表 6 維持液、鸡胎量与毒力滴度

試驗次数	維持液 500 毫升		維持液 300 毫升	
	鸡胎 2.0 克	3.5 克	鸡胎 2.0 克	3.5 克
1	4.00	4.50	4.50	5.23
2	4.75	4.67	4.33	5.00
平 均	4.38	4.59	4.42	5.12

6. 鸡胎日齡試驗：由表 7 結果証明 9 天鸡胎培养病毒的滴度最高。

表 7 鸡胎日齡与毒力滴度

試驗次数	鸡 胎 日 齡			
	7 天	9 天	11 天	13 天
1	2.75	4.00	3.67	3.67
2	3.77	4.00	3.67	3.50
3	—	4.50	4.33	—
4	—	4.23	3.33	—
5	—	4.50	3.83	—
平 均	3.26	4.26	3.77	3.59

7. 鸡胎直接搖碎与先剪碎后搖比較試驗，先后共进行七次，結果直接搖碎滴度似显較高（見表 8）。

表 8 鸡胎摇碎方法与毒力滴度

試驗次数	鸡胎摇碎方法	
	先剪后摇	直接摇碎
1	4.00	4.00
2	4.33	4.22
3	3.77	4.53
4	3.63	4.61
5	3.75	4.40
6	3.83	4.50
7	4.23	4.33
平均	3.93	4.23

8. 鸡胎内脏对病毒滴度試驗：表 9 結果未能証明除去内脏能提高病毒毒力滴度。

表 9 鸡胎内脏与毒力滴度

試驗次数	11日鸡胎		9日鸡胎	
	去内脏	存内脏	去内脏	存内脏
1	4.00	4.23	4.50	4.50
2	3.74	4.45	4.23	—
平均	3.87	4.34	4.37	4.50

9. 毒种接触鸡胎碎块試驗：表 10 試驗結果表明毒种悬液与鸡胎混合或分別加至培养瓶中，在病毒繁殖的滴度上，无差別。

表 10 毒种、鸡胎块混合与毒力滴度

試驗次数	毒种液与鸡胎块混合	毒种液与鸡胎块分开加入
1	4.67	—
2	4.67	—
3	5.00	—
4	4.22	4.00
5	4.77	4.50
6	4.67	4.33
7	4.50	4.33
8	4.00	5.00
9	5.33	5.33
平均	4.65	4.58

10. 鸡胎毒种試驗：以鸡胎毒种 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 分別感染鸡胎組織，培养 48 小时，据表 11 毒力滴定結果表明 10^{-3} — 10^{-5} 毒种可得到 4.50 左右的病毒液，以制备疫苗。

表 11 毒种浓度与毒力滴度

試驗次数	鸡胎毒种使用浓度			
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
1	4.50	4.67	4.50	3.23
2	4.50	4.50	4.23	4.33
3	4.43	5.12	5.00	—
4	—	4.50	4.67	—
5	4.36	4.50	—	—
6	4.33	3.83	—	—
平均	4.43	4.52	4.60	3.73

乙、制备条件与疫苗效价的关系試驗

1. P_8 、西₄毒株疫苗的效价比較試驗：

为了解 P_8 及西₄ 毒株所制得的組織培养疫苗，在免疫原性上有无差异，先后以两个毒株各制成两批疫苗，灭活后免疫小鼠，用同株及异株进行攻击試驗。結果表明（见表 12）：（1）两毒株的疫苗对该两毒株有明显的交互保护作用；（2）在用每个毒株攻击的两个試驗中，各有一个表現同株、异株疫苗具有同等的保护效果，免疫指数为 1,600,000、2,500,000 及 10,000、10,000；在另两个試驗中免疫指数有 10 倍及 50 倍的差距。

2. 收获病毒液时间与疫苗效价的关系試驗：这个試驗采用 250 毫升疫苗瓶培养病毒；以不同时间收取的病毒液制备疫苗，其免疫效价如表 13。

上述試驗結果表明，病毒收液时间在 2—7 日間所制得的疫苗其免疫效力最好，指数在 10,000—1,000,000 之間。

3. NaHCO_3 消毒方法不同及用量不同对疫苗效价的比較試驗：

这个試驗是大方瓶中先后进行两次，每瓶盛維持液 300 毫升，分別加入以玻璃过滤器除

表 12 P₃、西₄ 株疫苗交叉保护試驗

試驗次数	疫苗毒株	P ₃ 株 攻 击 結 果			西 ₄ 株 攻 击 結 果		
		对 照 組 LD ₅₀	免 疫 組 LD ₅₀	保 护 指 数	对 照 組 LD ₅₀	免 疫 組 LD ₅₀	保 护 指 数
1	P ₃	8.2	2.0	1,600,000	6.7	3.0	5,000
	西 ₄	8.2	1.8	2,500,000	6.7	2.0	50,000
2	P ₃	6.0	1.6	25,000	6.5	2.5	10,000
	西 ₄	6.0	3.3	500	6.5	2.5	10,000

表 13 收液时间与保护指数

試驗日期	制造日期	收液时间(日)	灭活前 LD ₅₀	对照組 LD ₅₀	免疫組 LD ₅₀	保 护 指 数
1/12	7/11	当时	4.33	7.23	3.48	5,623
		2	—		2.75	30,200
		4	3.50		2.50	53,700
		6	1.67		2.00	169,800
		8	1.50		4.50	537
		10	1.67		3.83	2,512
		12	2.00		4.76	295
		14	2.23		5.57	45
		16	1.67		5.00	160
		20	0.77		6.00	16
11/12	7/11	1	3.50	8.00	3.86	13,800
		3	4.67		2.19	645,700
		5	3.77		2.50	316,200
		7	1.50		2.67	213,800
		9	1.67		4.00	10,000
		11	1.33		5.58	263
		13	1.67		5.81	154
		15	1.00		7.00	10
		17	—		8.24	0.57
		19	0.50		6.24	57
		21	0.50		6.00	100

菌的或 9 磅蒸汽压力灭菌的 5% NaHCO₃, 加入量詳表 14。以毒种 (浓度为 1:10,000) 与鸡胎組織 (2.0 克/瓶) 同时接种法, 培养病毒, 制备疫苗。比較結果表明, 两种 NaHCO₃ 所得到的及滤过除菌 NaHCO₃ 不同用量所得到的病毒毒力滴度、疫苗效价, 都是相似的。据此, 两种 NaHCO₃ 及試驗中所使用量, 均可用于生产。

数据比較如表 14。

丙、工作小結

根据以上的試驗結果, 我們认为可以使用鸡胎搖碎与毒种同时接种法来生产組織培养乙型脑炎疫苗。收获病毒液时间应在接种后 48—72 小时, 此时毒力滴度高, 免疫效价佳良; 9 日龄鸡胎培养的滴度比 7、11、13 日龄鸡胎高, 至于鸡胎內脏并不影响病毒的滴度。

維持液的 pH 在 7.0—8.2 范围内以搖碎鸡胎組織培养病毒的滴度基本一致。我們使用 pH 7.0—8.0 維持液于 37°C 培养病毒 48 小时出現滴度高峰。为了使疫苗內不含鼠脑組織, 我們使用 P₃ 鸡胎适应株, 以 10⁻⁸、10⁻⁴、10⁻⁵ 三种不同浓度感染鸡胎組織, 病毒为 4.50 左右, 証明鸡胎毒种可以制成合乎要求的疫苗。

比較疫苗效价試驗結果說明: (1) P₃ 及西₄ 的免疫原性一致, 相互交叉保护, 均可用于疫苗制造; (2) 为制造疫苗, 病毒液收获时间应在 48—72 小时或稍后; (3) NaHCO₃ 以滤器除菌或蒸汽灭菌均可。

(二) 鸡胎毒种疫苗的試驗制备

和人群应用

为减少或消灭接种后即刻发生晕厥反应, 1962 年第三季度曾試驗用鸡胎毒种代替鼠脑毒种制备組織培养疫苗, 1963 年生产任务末期制备相当数量的鸡胎毒种疫苗, 在无锡市人群中

表 14 NaHCO_3 消毒方法、用量与保护指数

試驗次数	NaHCO_3 处理方法 及用量 (毫升)	pH 测定值	灭活前毒力滴度 (LD_{50})	疫苗效力試驗結果		
				对照组 LD_{50}	試驗組 LD_{50}	保护指数
1	过滤 3.0	7.53	4.00	8.53	1.70	6,761,000
	过滤 4.5	8.00	3.67	8.53	1.75	5,026,000
	过滤 6.0	7.93	3.67	8.53	2.23	1,995,000
	灭菌 3.4	7.80	3.67	8.53	1.67	7,244,000
2	过滤 3.0	7.50	4.50	8.53	2.67	7,244,000
	过滤 4.5	7.84	4.50	8.53	3.23	199,500
	过滤 6.0	7.94	4.00	8.53	2.83	50,120
	灭菌 3.4	7.88	5.17	8.53	1.67	7,244,000

应用。茲将有关此种疫苗的試驗制备的結果及人群应用的观察汇报于后。

甲、試驗和制备

1962年第三季度用不同浓度的鸡胎毒种按

照鸡胎組織与毒种同时接种法(武汉所法)在大方瓶中,培养病毒及制备疫苗。灭活前病毒液的毒力滴度及灭活后疫苗的保护指数列为表

15。

表 15 鸡胎毒种組織培养疫苗的效力試驗結果

制备日期	試驗日期	毒种浓度	灭活前 LD_{50}	对 照 組 LD_{50}	免 疫 組 LD_{50}	保护指数
4/8	27/9	10^{-3}	4.50	7.53	2.50	107,200
		10^{-4}	4.59	7.53	2.77	57,540
		10^{-5}	4.37	7.53	3.00	33,880
		10^{-6}	3.78	7.53	4.25	1,905
13/9	27/9	10^{-3}	4.43	7.53	1.67	724,400
		10^{-4}	4.81	7.53	2.00	338,800
		10^{-5}	4.84	7.53	2.00	338,800

由表 15 可知在感染毒种的浓度为 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 的試驗中,病毒液的毒力滴度并无实际差别,所制得的疫苗保护指数均在 10,000 以上。而用 10^{-6} 浓度毒种所得到的結果則有明显的不同,灭活前病毒毒力較低,疫苗的保护指数亦不足 10,000。就上述試驗結果,显然 10^{-6} 浓度不能用来制备疫苗,而其余三个浓度均可采用。

1963年 2 月 21 日—28 日用鸡胎毒种在鸡胎組織培养上培养病毒液 37 批,滴度在 10^{-4} 或以上者 32 批,以这 32 批病毒液制成灭活疫苗 9 批,效力检定合格。为比較目的,将上述 37 批病毒液的毒力滴度及 9 批疫苗的保护指数

与同一时期(2 月 21 日—28 日)用鼠脑毒种(浓度亦为 10^{-4})感染鸡胎組織培养所得到的病毒液的滴定試驗及疫苗的效力試驗結果一并列成表 16 及表 17。

表 16 毒力滴定試驗比較

項 目	鸡胎毒种 (10^{-4})	鼠脑毒种 (10^{-4})
滴定批数	37	35
合格批数	32	35
滴度范围	3.45—5.17	4.23—5.50
平均滴度	4.26	4.81

从表 16 表 17 数据可知由鸡胎毒种所得到

表 17 疫苗效力試驗比較

項 目	鸡胎毒种 (10^{-4})	鼠脑毒种 (10^{-4})
試驗批数	9	10
合格批数	9	10
指数范围 (对数)	4.17—5.83	4.25—6.67
平均指数 (对数)	5.03	5.54
平均指数 (绝对数)	107,000	346,000

的病毒液的毒力滴度較低，所制备的疫苗的保护指数亦較差。

乙、人群使用結果

1963年第一季度試驗制备的鸡胎毒种組織培养疫苗，于5月間在无錫注射儿童53,952人，其中注射加强針一次者39,393人，注射全程两次者5,957人，仅注射一次者8602人。在全面注射前曾做試点注射1033人，于注射后第一、二、三日进行訪視，量取体温，检查局部有无紅肿反应。第一日发烧在 38.1° 或以上者5人(0.5%)，第二日为1人(0.1%)，第三日为4人(0.4%)，局部紅暈直径为1厘米者3人(0.3%)，2厘米者1人(0.1%)。

就五万余儿童注射結果，一般說来疫苗引

起的全身或局部反应不大，也不多，但是仍有10例暈厥出現，其中8例为加强对象，2例为第一針。休克病例的出現与1962年在无錫使用鼠脑毒种組織培养疫苗所发生者相似，这表明鸡胎毒种疫苗并不能消灭休克反应的发生。

1963年无錫市乙型脑炎病例較多，計105例，流行开始較以往为早，結束亦較早，5月1例，6月7例，7月92例，8月5例，流行頂点出現在7月中旬，发生52例，較62年提早一句(62年共計25例，其中13例发生在7月下旬)。

105例中98例在11岁以下，在疫苗效果观察范围之内，接受免疫者中发生病例12，計加强針5人，全程者2人，62年全程63年未注射者1人，仅注射一次者4人。这12例症状輕、病程短，全部恢复，而对照組中出現的86例，有些属极重型，病死22例。

将注射組、未注射(对照)組总人数、发病例数、病死例数、发病率、死亡率制成表18，比較发病率，可知加强注射及62年注射者中保护較明显。經免疫而发病者中无病死者，而对照組中病死率达25.6%。从发病率及病死率的降低，均可說明疫苗有保护效果。

表 18 組織培养疫苗流行病学效果观察結果

免 疫 情 况	总 人 数	发病例数	发 病 率 (每10万)	保护倍数	病死例数	病 死 率 %
加强免疫	39,393	5	12.7	4.8	0	0
全程免疫	5,957	2	33.6	1.8	0	0
62年免疫(63年未注射)	11,852	1	8.4	7.2	0	0
小 計	57,202	8	14.0	4.3	0	0
一 次	8,602	4	46.6	1.3	0	0
未注射(对照)	142,197	86	60.5	—	22	25.6

丙、工作小結

乙型脑炎鸡胎传代毒种，以 10^{-3} — 10^{-5} 的浓度与鸡胎組織同时接种至大方瓶中，所得到的病毒液毒力滴度水平基本一致，在 $10^{-4.87}$ — $10^{-4.84}$ 范围内，以其灭活后所制出的疫苗免疫

小鼠时，保护指数可达10,000以上。如用 10^{-6} 毒种浓度制备疫苗，則毒力滴度和疫苗效价均明显降低，未能达到乙型脑炎疫苗检定的滴度和效价的最低要求。

据人群使用疫苗的觀察結果，鸡胎毒种疫

苗确有降低乙型脑炎发病率的一定作用。但在受接种的五万多儿童中,发生了 10 例接种后的立即晕厥反应。从减少或消灭晕厥反应来衡量,鸡胎毒种疫苗并不优于鼠脑毒种疫苗;另

外,从疫苗制造过程中比较,发现鸡胎毒种疫苗灭活前的毒力滴度及灭活后的保护效价,又低于鼠脑毒种疫苗。根据以上情况,似乎没有采用鸡胎毒种制造组织培养疫苗的必要时。

組織培养流行性乙型脑炎疫苗在不同地区 人体免疫的中和抗体反应及根据抗体 升高幅度以衡量疫苗效价的商榷

王用楫 周宁珍 李美容 孙 勉

在完成組織培养流行性乙型脑炎疫苗⁽¹⁾对实验动物的免疫效果及血清抗体测定⁽²⁾之后, 为人群試用此种新制品准备資料, 1959年底在北京卫生部生物制品研究所志願者中进行試驗注射, 观察全身及局部反应, 测定血清抗体反应。在得到初步結果的基础上, 1960年在江苏省滨海县及黑龙江省齐齐哈尔市志願者中进一步进行血清抗体反应的检查。

本文的内容有: 在北京、滨海、齐齐哈尔三个地区人体使用組織培养疫苗前后中和抗体的检查结果, 对以上三个地区免疫后血清抗体阳轉情况进行比較分析, 提出了据人群抗体水平增长的幅度以衡量疫苗效价的方法。

北京、滨海、齐齐哈尔的免疫經過

北京卫生部生物制品研究所职工 90 人志願接受新疫苗接种。全部为成年人。每人接受疫苗注射两次, 間隔 7 日, 每次剂量 2.0 毫升, 注射至上臂三角肌附着处皮下。注射后 24 及 48 小时各检查注射局部, 測驗体溫, 問詢有无异常感觉一次。第一次注射志願者 20 人, 未发现局部或全身反应; 一个月后, 对第二批 70 人进行注射, 仅两例局部出現紅暈, 无其他局部或全身反应。应该說明, 疫苗中含有一定量的福麻林, 注射当时有疼痛感觉。当第一批志願者接受第一次注射时, 认为局部疼

痛比較强烈, 所謂强烈是与注射鼠脑疫苗所引起的局部疼痛比較而言。以后在注射之前, 对疫苗中福麻林采取了中和措施, 即于打开疫苗安瓶后, 先加入适量的酸性亚硫酸鈉(NaHSO_3)溶液; 疫苗顏色頓時由紅色轉为黃色; 然后抽取疫苗进行注射, 即可免去疼痛。志願者中 47 人于注射之前及注射后 14—21 日采取血液。血清置低溫冰箱中保存。

滨海实验小学 8—10 岁儿童 37 人均免疫两次, 間隔一周, 每次上臂外侧皮下注射疫苗 1.0 毫升, 于免疫前及免疫后第 14 日采取血液, 分出血清。每份血清加氯仿一滴作为防腐剂, 置保冷冰瓶中运至北京, 然后保存在低溫冰箱中直至試驗。

齐齐哈尔受接种者 15 人, 全部为中学生, 年龄 15 岁左右。每人受种疫苗三次, 第一次接种量 2.0 毫升, 第二次为 3.0 毫升, 間隔一周。接受疫苗以前及以后第四周, 各采血一次。在免疫后采血的当日, 第三次接种疫苗 3.0 毫升, 于第三次接种后第 14 日, 再取血一次。三次血清于冰瓶中运至北京, 然后置低溫冰箱保存。

免疫前后血清依小白鼠脑內接种法⁽³⁾同时进行中和試驗。

另外, 在滨海及齐齐哈尔两地相当的年龄組中分別采有正常血清 40 及 43 份, 也进行了

中和試驗，以衡量各該地区的人群抗体水平。

免疫前中和抗体水平的測定

北京、滨海、齐齐哈尔三个地区共采取血清 182 份，进行中和抗体水平的測定，結果見表 1。應該特別指出，三个地区采血对象的年齡組是不同的。

表 1 北京、滨海、齐齐哈尔免疫前中和抗体检查結果

血清中和抗体	中和指数范围	北京地区		滨海地区		齐齐哈尔地区	
		观察例数	百分率%	观察例数	百分率%	观察例数	百分率%
阴性	0—9	6	12.8	12	15.6	38	65.5
可疑	10—49	6	12.8	6	7.8	14	24.2
阳性	50—99	5	73.4	3	59.7	2	10.4
	100—999	26		18		1	
	1,000—9,999	4		30		1	
	10,000—99,999	0		7		2	
	100,000以上	0		1		0	
合計		47		77		58	

比較三个地区阴性血清及可疑血清的百分率，可知齐齐哈尔高于北京或滨海 2—5 倍。在受检的 58 份血清中，中和抗体呈阳性者仅 6 例（占 10.4%）。这表明齐齐哈尔地区人群对乙型脑炎病毒的中和抗体水平很低；由此可以认为齐齐哈尔是乙型脑炎的非流行地区。

北京成年人中和抗体阳性者占检查总人数的 75.4%，与以往得到的結果一致⁽⁸⁾；再次反映乙型脑炎病毒在北京人群中传播。

滨海地区检查的对象虽为 8—10 的儿童，血清阳性率高达 76.6%，甚至超过了北京成年人。按在乙型脑炎同一流行地区，人群中和抗体阳性率随年龄的升高而有增长的趋势推想，滨海成年人的阳性率当較 76.6% 为高。据此，似可說明在滨海乙型脑炎流行的广度当較北京为甚。如果认为中和指数数值的大小能反映中和抗体强度的話，由表 1 也可知滨海儿童的抗体水平在强度上也超过了北京成年人；

从而也支持了滨海流行較北京为甚的設想。

免疫后中和抗体阳轉的結果

齐齐哈尔受接种者各注射疫苗三次。依免疫前中和抗体水平不同，将二次及三次免疫后阳轉結果列见表 2，三次免疫者阳性率較二次免疫者为高；免疫前血清抗体可疑例子（指数在 10—49 間者），无论二次或三次免疫后，全部轉为阳性。

表 2 齐齐哈尔地区中和抗体阳轉率

免疫前中和指数	二次免疫后結果			三次免疫后結果		
	观察例数	阳轉例数	阳轉率(%)	观察例数	阳轉例数	阳轉率(%)
0—9	8	3	38	8	5	63
10—49	3	3	100	2	2	100
合 計	11	6	55	10	7	70

为比較三个地区免疫后中和抗体阳轉情况，将北京、滨海、齐齐哈尔的观察例数，阳轉例数，阳性率合併列见表 3。應該說明，表 3 中举出的齐齐哈尔的阳轉数据是二次免疫后的結果；因为北京、滨海均系免疫两次，这样

表 3 北京、滨海、齐齐哈尔中和抗体阳轉比較

观察地区	免疫前中和指数	观察例数	阳轉例数	阳轉率%
北 京	0—9	6	4	67
	10—49	6	5	83
	小計	12	9	75
滨 海	0—9	9	7	78
	10—49	3	3	100
	小計	12	10	83
齐齐哈尔	0—9	8	3	38
	10—49	3	3	100
	小計	11	6	55
合 計	0—9	23	14	61
	10—49	12	11	94
	小計	35	25	71

才能使三个地区的免疫情况近于一致。

总的看来；三个地区免疫前共有阴性血清 23 例，免疫后 14 例阳轉，阳轉率 61%；免疫前可疑血清 12 例中阳轉 11 例，阳轉率达 92%。可疑血清的阳轉率高于阴性血清。这个区别是不难理解的。在可疑血清中部分可能已含有微弱的阳性抗体；对已有微弱抗体的对象，接种疫苗就象刺激注射一样，阳轉率自然会高些。

比較三个地区中和抗体的阳轉情况，可知滨海地区阳轉率較高，北京其次而齐齐哈尔显然較低。这个差别可能与各該地区人体中和抗体水平的高低具有直接的关系。

为說明免疫前已有相当抗体中和指数在 50—160 之間經免疫抗体增加幅度，如以指数增加 10 倍以上作为抗体显著增加标准，則三个地区显著增加的百分率（見表 4）分别为，滨海 83%、北京 67%、齐齐哈尔仅有的两例中只一例显著增加。这个差别与上述阳轉率的差别也是一致的。

表 4 北京、滨海、齐齐哈尔中和抗体显著增加率比較

观察地区	免疫前中和指数	观察例数	免疫后指数增加 10 倍以上例数	百分数 (%)
北 京	50—160	15	10	67
滨 海	50—160	6	5	83
齐齐哈尔	50—160	2	1	50
合 計		23	16	70

用北京，滨海的血清曾与乙醚抗原⁽⁴⁾及血凝素⁽⁵⁾进行补体結合及血凝抑制試驗，均沒有得到阳性結果。

从人群抗体水平增长的幅度

来衡量疫苗效价的商榷

关于如何使用血清学試驗方法衡量疫苗效

价的問題，我們认为是有必要提出来商榷的。

一般都是采用血清中和抗体由阴性轉为阳性作为衡量的标准。在非流行地区，人群一般均无中和抗体，可以使用这个标准；在流行地区使用这个方法，就会发生如下的一些問題。

1. 一般人群抗体水平相当高，甚至儿童的水平也不低，选择阴性血清頗不容易。

2. 以小白鼠脑內中和試驗法确定为阴性血清，可能有些不是真正的阴性血清，改用小白鼠腹腔法检查中和抗体时，有呈阳性的。

3. 关于中和抗体阴性和阳性的标准，一般认为中和指数 0—9 为阴性，50 以上为阳性，10—49 为可疑。据此，免疫前指数为 9，免疫后增至 50 即可算为阳轉；实际上抗体只增长 5—6 倍，反之，免疫前指数不足 1.0 而免疫后指数虽达到 10—49，即抗体增长了 10—49 倍或以上，仍不能算为阳轉。

基于上述这些經常遇到的問題，特别是难于发现绝对阴性的对象，我們提出从免疫人群中中和抗体水平增加的幅度（倍数）作为标准来衡量或比較疫苗的免疫效价。这个方法的提出也是基于診斷病毒性疾病早期晚期两份血清对比的原則。据此項原則在流感流行的快速診斷中⁽⁶⁾曾提出恢复期人群与急性期人群血清的抗体水平比較以判定流感流行与否及鑑定流感的型別。

从这样的設想出发，将三个地区全部受接种者免疫前后抗体水平按不同中和指数范围内的倒数排列，制成表 5。为便于与北京、滨海比較，齐齐哈尔免疫后的抗体水平系按二次免疫的結果列出的。

由各个地区免疫前后不同指数范围内的例数（見表 5），計算出免疫前后平均中和指数的对数与例数的乘积，以北京为例見表 6。从免疫前后的乘积除以例数得到免疫前后平均中和指数的对数。如北京地区：

$$\text{免疫前平均中和指数的对数} = 98.5 \div 47 =$$

表 5 北京、滨海、齐齐哈尔受接种者中和指数范围及免疫前后例数

中和指数范围	北京地区例数		滨海地区例数		齐齐哈尔地区例数	
	免疫前	免疫后	免疫前	免疫后	免疫前	免疫后
0—9	6	2	9	0	8	3
10—99	11	3	4	4	4	3
100—999	26	14	10	3	0	3
1,000—9,999	4	24	14	11	0	3
10,000—99,999	0	4	0	19	0	0
合 計	47	47	37	37	12	12

表 6 北京受接种者中和指数平均对数与免疫前后例数的乘积

中和指数范围 (1)	中和指数平均对数 (2)	免疫前例数 (3)	免疫后例数 (4)	免疫前(2)×(3) (5)	免疫后(2)×(4) (6)
0—9	0.5	6	2	3.0	1.0
10—99	1.5	11	3	16.5	4.5
100—999	2.5	26	14	65.0	35.0
1,000—9,999	3.5	4	24	14.0	84.0
10,000—99,999	4.5	0	4	0	18.0
合 計	—	47	47	98.5	142.5

2.10,

免疫后平均中和指数的对数 = $142.5 \div 47 = 3.03$ 。

同样, 滨海、齐齐哈尔两处免疫前后平均中和指数的对数均可算出。从各该地区免疫前后平均中和指数的对数差求得免疫后指数增加的倍数(见表7)。北京地区免疫后比免疫前中和指数增加8.5倍, 滨海、齐齐哈尔各增加27.6及14.8倍。

表 7 北京、滨海、齐齐哈尔受接种者
免疫后中和指数增加倍数

地 区	受接种者中和指数的对数		免疫前后 平均指数 的对数差	免疫后 指数增 加倍数
	免疫前	免疫后		
北 京	2.10	3.03	0.93	8.5
滨 海	2.28	3.72	1.44	27.6
齐齐哈尔	0.83	2.00	1.17	14.8

三个地区免疫人群中中和指数增长的幅度似

有一定差别。影响这个差别的因素, 显然不是人群中中和抗体水平的高低, 换句话说, 即与免疫前中和指数数值没有明显联系。北京受接种者全部为成年人, 指数增加倍数较低(8.5倍), 齐齐哈尔全部为中学生增加倍数居中(14.8倍), 滨海地区全部为小学生增加倍数最高(27.6倍), 从表面看来增加倍数似乎与年龄有关; 是否如此, 今后应继续观察。

结 论

1. 組織培养流行性乙型脑炎疫苗 1959—1960 年曾在北京、滨海、齐齐哈尔三个地区进行人体免疫。于免疫前后采取两份血清比较其中所含中和抗体。試驗结果表明, 組織培养脑炎疫苗在受接种者中可以使免疫前中和抗体阴性者 61% 于免疫后转为阳性。

2. 免疫前三个地区人体中和抗体的水平颇不一致。齐齐哈尔地区抗体水平最低, 血清抗体呈阳性者仅 10.4%, 且绝大部分为弱阳