

# 破傷風類毒素效力試驗豚鼠 保護方法的研究\*

盧錦漢 袁磐猷 墨文宣

(衛生部生物製品研究所)

破傷風類毒素效力試驗的方法很多,有的採用豚鼠保護方法<sup>[1-3]</sup>,有的採用小白鼠保護方法<sup>[4-8]</sup>,有的測定免疫豚鼠血清內含抗毒素單位<sup>[9]</sup>,有的用小白鼠抗毒素結合力試驗<sup>[1]</sup>,有的採用絮狀反應試驗等<sup>[10-13]</sup>。我國現行的生物製品檢定法規草案,破傷風類毒素效力試驗採用豚鼠保護方法,蘇聯法規則同時採用小白鼠抗毒素結合力試驗及豚鼠保護方法。

豚鼠保護方法用來測定破傷風類毒素的效力,雖然各國已經採用多年,但是那些因素可能影響試驗的結果,參考文獻並不多見,因此我們作了一些試驗,今將結果總結出來,提供參考。

## 試驗材料

### (一) 破傷風類毒素

本所生產的破傷風類毒素,經安全試驗合格者。

### (二) 破傷風攻擊毒素

衛生部生物製品檢定所標準乾燥毒素。

### (三) 試驗動物

本所飼養的體重 330—350 克的健康豚鼠。

## 試驗方法和結果

### (一) 關於影響破傷風毒素豚鼠致死量的因素的試驗

破傷風類毒素效力試驗中,必須保證對照豚鼠於 96 小時內死亡。爲了提高試驗的準確性,我們應該掌握影響破傷風毒素對豚鼠致死量的各種因素。

\* 1956 年 10 月 13 日收到。

### 1. 不同性別的豚鼠對破傷風毒素耐毒力的差異

(1) 試驗方法 每次試驗取健康豚鼠雌雄性各 1 組, 每組 10 隻, 每隻豚鼠皮下注射每毫升一個豚鼠最小致死量的毒素 1 毫升, 注射後所有試驗豚鼠均放置同一環境內飼養。

(2) 試驗結果 豚鼠注射毒素後每日最少觀察兩次, 3 次試驗的結果說明豚鼠對破傷風毒素的耐毒力不因性別而有所差別。(見表 1)

表 1 不同性別的豚鼠皮下注射一個最小致死量破傷風毒素的平均死亡日數

試驗次數	雄 性	雌 性
第 1 次	3.4	3.0
第 2 次	3.9	3.4
第 3 次	3.3	3.9
平均死亡日數	3.53	3.43

### 2. 不同途徑注射破傷風毒素於豚鼠體內所引起反應的差別

(1) 試驗方法 每次試驗取健康豚鼠 12 隻, 不分性別, 分成 3 組, 每組豚鼠 4 隻; 第 1 組作皮下注射, 第 2 組作肌肉注射, 第 3 組作皮內注射。皮下組每隻豚鼠於腹部皮下, 肌肉組於後腿肌肉, 各注射每毫升 1 個豚鼠最小致死量的毒素 1 毫升; 皮內組每隻豚鼠於腹部皮內注射每毫升 10 個豚鼠最小致死量的毒素 0.1 毫升。

(2) 試驗結果 3 次試驗結果如下:

(a) 豚鼠後腿肌肉注射破傷風毒素症狀顯示最早, 注射一個致死量的毒素, 於 24 小時內所有試驗豚鼠有明顯的後肢痙攣現象, 症狀嚴重時成反弓狀而死亡, 皮內較皮下注射發病早, 發病時皆為背部彎曲。

(b) 注射破傷風毒素 1 個豚鼠最小致死量於豚鼠體內, 不論注入皮下、皮內或後腿肌肉內, 均於 96 小時左右死亡, 說明 3 種不同途徑注射破傷風毒素 1 個最小致死量於豚鼠體內, 其死亡時間無區別。(見表 2)

表 2 不同途徑注射破傷風毒素 1 MLD 於豚鼠體內, 平均死亡日數

試驗次數 \ 注射途徑	肌 肉	皮 下	皮 內
第 1 次	4.50	3.50	3.70
第 2 次	3.75	3.75	4.00
第 3 次	4.25	4.25	4.60
平均死亡日數	4.17	3.83	4.10

### 3. 不同稀釋液與稀釋後放置不同時間對破傷風毒素毒力的影響

(1) 試驗方法 (a) 準確稱取標準乾燥破傷風毒素, 加入稀釋液, 第 1 次試驗先用

生理鹽水 (pH 6.2 ~ 6.8), 第 2 次試驗先用 1% 蛋白胨水 (pH 7.4), 第 3 次試驗先用硼砂緩衝鹽水 (pH 7.4) 使每毫升內含毒素 1 毫克。取以上稀釋毒素分別用三種各該稀釋液再進行稀釋, 使成每毫升內含毒素 1 個豚鼠最小致死量。(b) 毒素稀釋後於注射前放置冰浴內, 注射完第 1 組豚鼠後, 即保存室溫 (15—17°C) 暗處。每隔 30—60 分鐘, 每一稀釋液分別用一個注射器注射 3 隻豚鼠, 每隻豚鼠皮下注射每毫升 1 個最小致死量的毒素 1 毫升。

(2) 試驗結果 破傷風乾燥毒素分別用上述 3 種稀釋液稀釋成每毫升 1 個豚鼠最小致死量對豚鼠毒力無區別, 毒素稀釋後放置室溫 (15—17°C) 暗處半小時後毒力雖稍有下降趨勢, 但在 96 小時內仍能殺死全部豚鼠。

表 3 破傷風毒素用不同稀釋液與稀釋後不同時間注射豚鼠死亡平均日數

試驗次數	稀 釋 液	即 時 注 射	30 分 鐘 後 注 射	60 分 鐘 後 注 射	120 分 鐘 後 注 射
第 1 次	生理鹽水	3.7	3.7	4.0	
	緩衝鹽水	3.7	4.0	4.0	
	1% 蛋白胨水	3.7	4.0	4.0	
第 2 次	生理鹽水	3.7		4.0	3.7
	緩衝鹽水	3.7		3.3	4.0
	1% 蛋白胨水	3.7		4.0	4.0
第 3 次	生理鹽水	3.3		4.0	4.0
	緩衝鹽水	3.3		4.0	4.0
	1% 蛋白胨水	3.7		4.0	4.0

4. 不同最小致死量的破傷風毒素對豚鼠所引起的反應

(1) 試驗方法 每次試驗取健康豚鼠 24 隻, 分成 6 組, 每組豚鼠 4 隻。毒素用生

表 4 豚鼠注射不同最小致死量的破傷風毒素所產生的反應

反 應 試驗次數 最小致死量	豚鼠死亡平均日數及其反應平均數					
	4.0	2.0	1.0	0.75	0.50	0.25
第 1 次	3.0	3.3	4.7	5.0	2+	1+
第 2 次	2.0	3.0	4.0	4.25	3+	1.75+
第 3 次	2.75	3.0	4.0	5.5	2.7+	1+
平 均	2.58	3.1	4.23	4.92	2.7+	1.25+

附註：1 + = 豚鼠背稍彎曲, 仰臥翻轉容易。  
2 + = 背部彎曲顯著, 仰臥翻轉困難。  
3 + = 背部彎曲顯著, 仰臥不能翻轉。  
4 + = 症狀嚴重, 趨於類死狀態。

理鹽水稀釋成每毫升內含 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 4.0 個豚鼠最小致死量; 每種稀釋液注射豚鼠 1 組, 每隻豚鼠皮下注射毒素 1 毫升。

(2) 試驗結果 3 次試驗結果見表 4。

注射 1 個豚鼠最小致死量的破傷風毒素於豚鼠體內,根據圖 1,我們可從試驗豚鼠死亡的平均日數,推算出毒素大致的最小致死量。

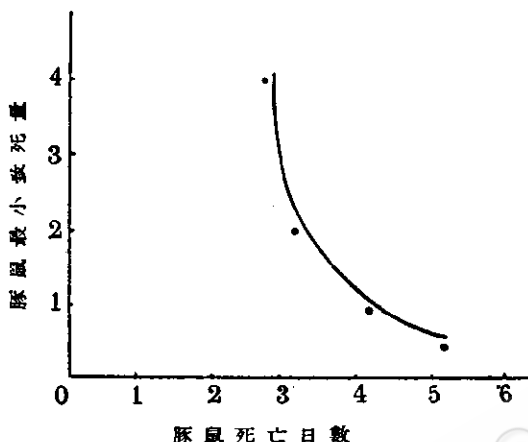


圖 1. 注射不同致死量破傷風毒素與豚鼠死亡的關係

## (二) 關於影響豚鼠對破傷風類毒素免疫力產生的因素的試驗

### 1. 實驗動物的飼養管理與破傷風類毒素效力試驗結果的關係

#### i. 豚鼠在試驗期中不喂青菜對免疫力產生的影響

(1) 試驗方法 取健康雌性豚鼠 60 隻,每隻豚鼠皮下注射同批類毒素 0.5 毫升,任意分成 10 組,每組 6 隻;第 1—6 組飼養於正常環境下,給予足夠的黑豆及青菜;第 7—10 組僅給予黑豆而不給青菜,每日給飲水。免疫後第 30 日,每隻豚鼠皮下注射 10 個最小致死量破傷風毒素;並取健康豚鼠 4 隻,同時每隻皮下注毒一個最小致死量作為對照組。

(2) 試驗結果 不喂青菜的豚鼠(第 7—10 組)免疫後 21—26 日相繼死亡,在 24 隻試驗豚鼠中僅有 1 隻生存,體質消瘦,至第 30 日攻毒 10 個最小致死量發生嚴重的破傷風症狀死亡。喂青菜的豚鼠(第 1—6 組)免疫後 30 日全部豚鼠健康生存,免疫豚鼠攻毒後無死亡者,其反應結果見表 5。

#### ii. 豚鼠在試驗期間不同飼養和不同生活條件與免疫力產生的關係

(1) 試驗方法 (a) 取健康豚鼠 72 隻,分成 12 組,每組豚鼠 6 隻; (b) 取破傷風類毒素 6 批,每批類毒素同時免疫兩組豚鼠,每隻豚鼠皮下注射類毒素 0.5 毫升; (c) 每批類毒素免疫的豚鼠兩組,分別飼養於兩種不同的環境裏,一組飼養於長 75 寬 61 高 37 厘米的大鐵絲籠子裏,籠內鋪以稻草,每星期換草兩次,每日喂乾料\*、青菜或葫蘆葡萄等;另一組飼養於長 61 寬 41 高 42 厘米的小鐵絲籠子裏,籠內以鋸末代替稻草,每日

\* 乾料: 玉米渣 10% 大麥 20% 骨粉 2% 魚肝油 0.5% 豆餅渣 30% 小麥 25% 高粱 8%  
麩皮 2.5% 魚粉 1% 食鹽 1%

表 5 同一批破傷風類毒素分組試驗的結果

組 別	免 疫 前 豚 鼠 平均體重(克)	免 疫 後 30 日 豚 鼠 平均體重(克)	試 驗 豚 鼠 數	發 病 數
1	338	358	6	3
2	343	386	6	2
3	340	401	6	1
4	343	391	6	1
5	343	364	6	2
6	335	383	6	3
對 照 組	3 隻豚鼠於96小時內死亡,其餘 1 隻豚鼠呈嚴重破傷風症狀但觀察 7 日未死			

喂養熟的黑豆(含有少量的食鹽)、青菜或葫蘿蔔等；(d) 免疫後第 28 日每隻豚鼠採心血 3 毫升,測定血清內含抗毒素的單位,至第 30 日每隻免疫豚鼠皮下注射破傷風毒素 10 個最小致死量；另取健康豚鼠 4 隻,同時皮下注射毒素一個最小致死量作為對照組；(e) 豚鼠心血均於次日分離血清,冷凍保存於低温冰箱內(−40℃)；(f) 採用小白鼠法以  $L_1/1000$  毒素試驗量測定每隻豚鼠血清的抗毒素單位。

(2) 試驗結果 6 批類毒素免疫豚鼠在不同飼料和不同生活條件下效力試驗結果見表 6。兩批類毒素免疫豚鼠測定了血清中抗毒素單位含量結果見表 7。

表 6 豚鼠在試驗期間喂不同飼養和不同生活條件下攻毒後反應情況

生活 條 件		大 鐵 絲 籠				小 鐵 絲 籠			
飼 料		乾料		青菜		熟 黑 豆 青 菜			
類 毒 素 批 號		免 疫 前 平 均 體 重	免 疫 後 30 日 平 均 體 重	結 果 (%)		免 疫 前 平 均 體 重	免 疫 後 30 日 平 均 體 重	結 果 (%)	
		(克)	(克)	死 亡 率	發 病 率	(克)	(克)	死 亡 率	發 病 率
		351	456	0	0	351	418	0	16.7
53—9		348	458	0	0	350	409	16.65	33.3
53—42		337	471	0	0	351	408	0	50.0
53—202		348	498	0	0	350	436	0	33.3
53—8 乙		341	466	0	0	351	423	0	20.0
53—1 戊		351	462	0	0	351	398	16.7	100
53—24 乙		4 隻豚鼠均於第 4 日死亡							
對 照 組									

表 7 免疫豚鼠在試驗期間喂不同飼料和不同生活條件下免疫後第 28 日其血清含抗毒素的單位

類 毒 素 批 號	生 活 條 件 與 飼 料	豚 鼠 數	每 毫 升 血 清 中 含 抗 毒 素 單 位	
			0.005	>0.005
53—202	大鐵絲籠乾料青菜	6	0	6
	小鐵絲籠黑豆青菜	6	1	5
53—8 乙	大鐵絲籠乾料青菜	6	2	4
	小鐵絲籠黑豆青菜	6	3	3

iii. 免疫期間豚鼠體重的增加與免疫力產生的關係

從日常檢定工作中，我們統計了 35 批破傷風類毒素的效力試驗，豚鼠免疫前的體重都是 330—400 克，其結果是免疫後豚鼠的平均體重增加的愈高，攻毒後的發病率就愈低，結果見表 8。同時從本文表 5 中也可看出同樣情形。

表 8 免疫後豚鼠體重與攻擊毒素後發病率的關係

免疫後 30 日豚鼠體重	500 克以上	400—500 克	400 克以下
豚鼠總數	10	133	65
發病豚鼠數	1	25	28
發病率	10%	18.4%	43%

2. 稀釋類毒素不同途徑注射豚鼠體內與其免疫力產生的關係

(1) 試驗方法 (a) 取健康豚鼠 54 隻，試驗 3 批破傷風類毒素，每批類毒素用 18 隻豚鼠，各分成 3 組，每組豚鼠 6 隻；(b) 用生理鹽水 5 倍稀釋類毒素，每批類毒素分別由腹部皮下、腹部皮內及後腿肌肉各注射 1 組豚鼠，每隻 0.5 毫升，皮下及肌肉注射係注射於 1 個部位，皮內注射則分 5 處注射，每處 0.1 毫升；(c) 豚鼠免疫後飼養於相同環境內，並飼以相同飼料，免疫後第 28 日取心血滴定血清中含抗毒素單位，至第 30 日每隻豚鼠皮下注射 10 個最小致死量破傷風毒素；同時取健康豚鼠 4 隻，各皮下注射 1 個最小致死量破傷風毒素作為對照組；(d) 用小白鼠法以  $L_1/1000$  毒素試驗量分別測定每隻免疫豚鼠血清內含破傷風抗毒素單位。

(2) 試驗結果 破傷風類毒素稀釋後皮內注射豚鼠較皮下或肌肉注射所產生的免疫力，無論從豚鼠保護力試驗或測定豚鼠免疫血清中含抗毒素單位結果上看均有顯著的增高。3 批稀釋類毒素不同途徑免疫豚鼠攻毒後反應結果見表 9。兩批類毒素免疫豚鼠測定血清中含抗毒素單位量見表 10。

表 9 稀釋類毒素不同途徑注射豚鼠體內，免疫後 30 日攻毒 10 個最小致死量的反應情況

方法與結果 類 形 來 批 號	皮 內 法				皮 下 法				肌 肉 法			
	免疫前 平均 體重	免疫後 平均 體重	結果(%)		免疫前 平均 體重	免疫後 平均 體重	結果(%)		免疫前 平均 體重	免疫後 平均 體重	結果(%)	
	(克)	(克)	發病率	死亡率	(克)	(克)	發病率	死亡率	(克)	(克)	發病率	死亡率
53—49—6	340	462	33.3	0	345	468	66.7	66.7	341	468	100	50
53—22 甲	336	458	60	0	344	469	66.7	50	339	458	66.7	16.7
53—37 甲	337	461	0	0	341	452	100	83.3	340	452	100	66.7
對 照 組	4 隻豚鼠均於第 4 日死亡											

3. 用大劑量類毒素免疫不同免疫量與不同耐毒量的關係

(1) 試驗方法 (a) 取健康豚鼠 100 隻，分成 4 組，每組 25 隻；(b) 取破傷風類

表 10 不同途徑注射稀釋類毒素於豚鼠體內，免疫後 28 日血清中含抗毒素單位

類毒素批號	途 徑	豚鼠數	每毫升血清中含抗毒素單位		
			< 0.005	0.005	> 0.005
53—37 甲	皮 內	6	0	1	5
	皮 下	6	4	2	0
	肌 肉	6	3	2	1
52—49—6	皮 內	6	2	1	3
	皮 下	6	4	1	1
	肌 肉	6	6	0	0

毒素 1 批，以皮下免疫法，第 1 組每隻豚鼠 0.5 毫升，第 2 組每隻豚鼠 1.0 毫升，第 3 組每隻豚鼠 2.0 毫升，第 4 組每隻豚鼠 4.0 毫升；(c) 免疫後 30 日，每組豚鼠再分成 5 小組，每小組 5 隻豚鼠，各小組分別皮下注射不同最小致死量的毒素；並取 4 隻健康豚鼠，同時各注射 1 個最小致死量的毒素作為對照。

(2) 試驗結果 破傷風類毒素 0.5—4.0 毫升皮下注射豚鼠，免疫後 30 日，豚鼠對破傷風毒素的耐毒力表現範圍很大，其發病情況並不與攻毒量成正比，呈現不規律的反應，這種情況可能與動物的個體差異有關，豚鼠攻毒後反應結果見表 11。

表 11 豚鼠注射不同免疫量，免疫後 30 日注射不同致死量毒素的發病情況

最小致死量 免疫量 (毫升)	2.5	10	40	160	640	2560	10240	40960
0.5	0/5	1/5	4/5	3/5	0/5			
1.0		1/5	0/5	2/5	2/5	2/5		
2.0			2/4	1/5	0/5	0/5	0/5	
4.0				0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

註：發病豚鼠數/試驗豚鼠數

#### 4. 用小劑量類毒素免疫不同免疫量與不同耐毒量的關係

(1) 試驗方法 類毒素用生理鹽水稀釋後，每批每一稀釋類毒素皮下注射健康豚鼠 6 隻，每隻 0.5 毫升，免疫後 30 日，每隻免疫豚鼠皮下注射 10 個最小致死量的毒素；並取健康豚鼠 4 隻，同時各注射 1 個最小致死量的毒素作為對照組。

(2) 試驗結果 破傷風類毒素稀釋後皮下注射豚鼠，免疫後 30 日，豚鼠對破傷風的耐毒力比較規律，免疫量大者耐毒力強，致死量大者死亡率高，試驗結果說明破傷風類毒素效力試驗採用免疫量小者較免疫量大者，在豚鼠產生的免疫力對破傷風的攻毒量較為靈敏。試驗攻擊後對照組豚鼠均於 3—4 日死亡，3 批類毒素免疫豚鼠攻擊後死亡情況見表 12。

#### 5. 不同免疫量免疫效力試驗結果的比較

表 12 豚鼠注射不同稀釋度的類毒素免疫後 30 日攻毒 10 MLD 豚鼠死亡情況

類 毒 素  攻 毒  (MLD)	52—49—6				53—22 甲				53—37 甲			
	不稀釋	5×	25×	125×	2.5×	5×	10×	20×	2.5×	5×	10×	20×
1.0			2/5	5/5								
2.5		0/5	4/5	5/5								
10	0/5	0/5	5/5	5/5	1/5	1/5	5/5	5/5	2/6	1/6	4/5	5/5
40	0/5	1/5	5/5	5/5	3/6	5/6	5/5	5/5	2/5	5/5	4/5	5/5
160	1/5	4/5										
640	1/5											

(1) 試驗方法 任意抽取破傷風類毒素 8 批, 小量免疫法用生理鹽水將類毒素稀釋 5 倍 (即較現行生物製品檢定法規破傷風類毒素效力試驗法免疫量小 5 倍), 大量免疫法按生物製品檢定法規破傷風類毒素效力試驗法類毒素不加稀釋。每批每組類毒素

表 13 破傷風類毒素小量免疫法和大量免疫法效力試驗結果

類毒素批號	小 量 免 疫 法			大 量 免 疫 法		
	免疫前豚鼠 平均體重 (克)	免疫後豚鼠 平均體重 (克)	死 亡 率 %	免疫前豚鼠 平均體重 (克)	免疫後豚鼠 平均體重 (克)	發 病 率 %
53—203	361	496	3/6	345	425	2/6
52—55甲	336	463	0/6	345	420	2/6
53—24乙	333	443	1/6	349	415	2/6
52—49—6	331	456	0/6	348	486	1/6
52—19	333	490	1/6	354	515	1/6
53—26甲	340	424	1/6	370	385	0/6
53—44	337	465	1/6	332	339	0/6
53—8丙	337	452	3/6	353	504	4/6

注射豚鼠 6 隻, 每隻皮下注射 0.5 毫升, 免疫後 30 日, 每隻免疫豚鼠皮下攻毒 10 個致死量; 並取健康豚鼠 4 隻, 同時每隻注射毒素一個最小致死量作為對照組。

(2) 試驗結果 豚鼠攻毒後對照組豚鼠均於 3—4 日死亡, 小量免疫法取豚鼠死亡率, 大量免疫法取豚鼠死亡或發病為最後結果, 小量免疫法為一次同時試驗的結果, 大量免疫法為檢定工作中分批檢定結果統計列於表 13。

## 討 論

1. 豚鼠健康的增進是與其免疫力的發生有密切的關係, 所以如何加強試驗動物的飼養管理實在是生物製品工作中的一個重要問題, 關於試驗豚鼠的營養方面, 我們以往是不够重視的, 我們採用以前的飼養方法, 豚鼠免疫後 30 日, 每隻豚鼠體重平均增加約 60 克, 自從採取了蘇聯實驗動物飼養法, 改善了實驗動物的飼養管理以後, 破傷風類毒



素效力試驗的豚鼠免疫後 30 日,每隻豚鼠體重平均增加提高到 120 克。我們試驗已經證明:試驗動物如能獲得充足的營養,就可以增加其對毒素的抵抗力。試驗動物的生活環境、清潔衛生等情況也很重要。此外 Woolley 及 Sober 氏等<sup>[14,15]</sup>認為乾草是豚鼠的生長要素之一,可能乾草中含有豐富的葉蘊酸 (Folic acid) 及生活素 (Biotin)。我們在試驗當中發現豚鼠缺乏稻草時,在長期試驗豚鼠中就有脫毛現象的發生,脫毛的豚鼠表現營養不良,體格不健康,攻毒後皆呈嚴重的破傷風症狀甚至死亡,如每日加喂稻草就可以克服豚鼠的脫毛現象。至於稻草中含有何種成分為豚鼠生長所必需,而何種乾草含此成分最多尚待研究。

2. 破傷風類毒素自動免疫的注射方法,一般多採用皮下注射,我們試驗證明,破傷風類毒素在豚鼠體內所產生的免疫力以皮內最好,而肌肉注射法與皮下注射法所獲得的免疫力無顯著的區別。至於皮內注射法在試驗中我們所採用的免疫量是 0.5 毫升,不能作一處注射,而須分五處注射,免疫力的增高是由於抗原注射途徑的關係,抑或是抗原分五處注射增加了刺激的次數與面積所致? 尚有待繼續研究。

關於肌肉注射破傷風類毒素比皮下注射所獲得的抗體要高很多,早經蘇聯學者<sup>[16,17]</sup>在兔子體內證明,但我們試驗結果未能證明此點,可能由於試驗條件不同所致。

3. 我們現在所採用的效力試驗方法僅能判別類毒素的合格與不合格,至於要求將類毒素的質量作定量的鑑定,用現行的豚鼠保護力試驗方法是有困難的,這可能是由於現在效力試驗方法是以試驗動物的發病反應來判定結果,因而所用免疫的抗原量必須較大,我們試驗證明,抗原用量大,其免疫力達到某一程度時耐毒範圍就很廣,結果在攻毒後就表現得不够靈敏,若取動物死亡為最後結果,抗原用量可以減少,對攻擊毒素量比較靈敏,採用稀釋抗原免疫方法可能定量測定破傷風類毒素的抗原性。

破傷風類毒素效力試驗一般採用皮下注射攻擊毒素,豚鼠反應往往不大顯著,有時甚至不易判辨,如注射於後腿肌肉,發病較早,症狀顯著,因此效力試驗時攻毒途徑是否可以採用肌肉法是值得考慮的。

## 總 結

1. 破傷風毒素的毒力對豚鼠不分性別;注射途徑不論是皮下、皮內或肌肉;稀釋液不論是 1% 蛋白陳水、硼酸硼砂緩衝鹽水、生理食鹽水;如乾燥毒素稀釋後,保存於 15—17°C 暗處 1—2 小時,內毒力無顯著變化。

2. 破傷風類毒素效力試驗豚鼠在免疫期間如能獲得良好的營養,豚鼠體重增加多的其免疫力的產生較高。豚鼠在長期飼養中如缺乏稻草,體格就表現不健康,有脫毛現象,對破傷風毒素的抵抗減弱。

3. 破傷風類毒素免疫豚鼠,皮內注射法較皮下或肌肉注射法產生的免疫力顯著

增高。

4. 破傷風類毒素效力試驗, 免疫量小者較免疫量大者反應規律, 對攻擊毒素量表現亦較靈敏。

### 參 考 文 獻

- [1] 蘇聯生物製品法規譯叢 1955。
- [2] 生物製品法規草案 1953 年修正本。
- [3] Standard methods, Wadsworth, 3rd, edition, pp. 736—737.
- [4] Lahiri, D. C.: *Indian J. Med. Res.*, **27**: 651, 1940.
- [5] Lahiri, D. C.: *ibid.*, **30**: 371, 1942.
- [6] Greenberg, L., Morrell, C. A., & Gibbard, J.: *J. Immunol.*, **46**: 333, 1943.
- [7] Koerber, W. L. & Mook, G. E.: *ibid.*, **46**: 411, 1943.
- [8] Ipsen, J.: *ibid.*, **70**: 4, pp. 426—434, 1953.
- [9] British pharmacopeia pp. 586—587, 1948.
- [10] Goldie, H., Parsons, C. H. & Bowers, M. S.: *J. Infect. Dis.*, **71**: 212—219, 1942.
- [11] Koerber, W. L. & Mook, G. E.: *J. Immunol.*, **46**: 411, 1943.
- [12] Moloney, P. J. & Hennessy, J. N.: *ibid.*, **48**: 345, 1944.
- [13] 謝毓晉等: 生物製品通訊創刊號, 1956。
- [14] Woolley, D. W.: *J. Biol. Chemistry*, **143**: 679—684, 1942.
- [15] Sober, H. A., Mannering, G. J., Bannon, M. D., Elvehjem, G. A. & Hart, E. B.: *J. Nutrition*, **24**: 6: 503—514, 1942.
- [16] 微生物學譯報, **1** (2): 146—147, 1954. (張寬厚譯自蘇聯微生物學流行病學及免疫學雜誌, 1953 年 1 月號, 69—71 頁)。
- [17] 東北醫學雜誌, 1952 年 7 月, 636—640. (小萌譯自蘇聯醫學 1951 年 11 期)

## STUDIES ON POTENCY TEST OF TETANUS TOXOID BY GUINEA-PIG PROTECTION METHOD

LO CHIN-HON, YUAN PON-YOU and Mo WEN-SHUN

National Vaccine & Serum Institute, Peking

(ABSTRACT)

1. When the dried tetanus toxin was kept at 15—17°C in dark place for 1—2 hrs after dissolving was administered to guinea-pigs, no loss in potency could be detected, whether the toxin was given subcutaneously, intramuscularly or intradermally, and whether the toxin was dissolved in 1% peptone solution, in borate-borax buffer solution or in normal saline solution, and there was no difference of susceptibility to the toxin in both sexes.

2. It was revealed that when the guinea-pigs were well fed with sufficient nutrition and were gaining in weight, a high level immunity was constantly observed. On the other hand, if the guinea-pigs were badly fed, especially when no hay was given, the animals will be unhealthy in appearance, especially evidenced by lossing of hairs, and will be much more susceptible to the toxin.

3. In the experiments with small immunizing doses, it was found that a higher immunity level could be induced by the intradermal of inoculation than by the subcutaneous or intramuscular route.

4. Our experience in tetanus toxoid potency test showed that the test was more sensitive and clear-cut when small immunizing doses were employed.