

# 磺胺噻唑與痢疾噬菌體對福氏 痢疾桿菌的協同制菌作用

李 萍\* 徐世德\*\* 彭永范\*

有關化學治療劑及噬菌體對病原菌協同作用的研究,近年來日趨增多,並獲得一定成果。1941 年 Neter 氏<sup>[1]</sup>證明磺胺噻唑與葡萄球菌噬菌體對葡萄球菌有協同制菌作用。1943 年毛守白氏<sup>[2]</sup>也證明磺胺噻唑與傷寒桿菌噬菌體對傷寒桿菌有協同制菌作用。近來,С. И. Лукашевич 氏<sup>[3]</sup>證明在試管與動物體內魚素與痢疾噬菌體對痢疾桿菌有顯著協同作用。這種作用不但在實驗室內一再得到證明,而且在臨床實際應用上也顯有效果。例如 1956 年 В. С. Дуброва 氏等<sup>[4]</sup>合併使用合羣素與噬菌體治療小兒菌性痢疾時認為療效較單獨使用前者為好。

細菌性痢疾仍為目前國內常見傳染病之一,且多由福氏痢疾桿菌所引起。鑑於上述協同制菌作用已在實驗室及臨床應用中得到證明,因此,我們又取痢疾桿菌噬菌體及磺胺噻唑於試管內試驗對痢疾桿菌的協同制菌作用,藉作臨床試用的參考。

## 試 驗 方 法

以磺胺噻唑(以下簡稱 S. T.)及痢疾桿菌噬菌體(以下簡稱噬菌體)適量合併,然後把試驗細菌定量種入,以觀協同抑制再生菌的效果,本試驗共分三方面做:

(一)取一定量 S. T. (次制菌量)加入不同量噬菌體內,以觀噬菌體內的再生菌是否因 S. T. 之協助而被抑制或延緩生長。

(二)取一定量噬菌體(次溶菌量或亞次溶菌量)加入不同量 S. T. 內,以觀 S. T. 的制菌力量是否因噬菌體的協助而增高。

(三)取不同量的 S. T. 加入不同量的噬菌體內,以觀協同抑制再生菌的作用是否因 S. T. 濃度不同而異。

(四)各項試驗均作相應的對照以作比較。

## 材 料

(一)培養基:為無蛋白朊肉湯,經我們試驗證明本培養基不致影響 S. T. 的制菌作用,而 S. T.、噬菌體、細菌均用本培養基稀釋。

(二)S. T.: 為國營上海第一製藥廠出品之 S. T. 鈉鹽注射液(每五毫升含 S. T. 1 克)。

1957 年 8 月 3 日收到。

\* 山東醫學院微生物學教研組。 \*\* 安徽醫學院微生物學教研組。

(三) 噬菌體：爲大連生物製品所出品之多價痢疾噬菌體（志賀氏及福氏痢疾噬菌體）。

(四) 試驗細菌：爲實驗室保存之最新分離的福氏痢疾菌株，均對噬菌體敏感但對 *S. T.* 不敏感（敏感度大於 1.0 毫克/1 毫升）。試驗菌均經生物學性狀、生化反應、凝集反應等檢得正常後使用，該菌經 18—24 小時培養，檢得無污染後以 Mcfarland 氏比濁管比得與第二管相等，每管約有六億細菌，再用上述培養基稀釋使其最後量爲每毫升約有 12 萬個細菌，該菌液可以立即接種。

## 試管內各種成分的組合

實驗內容共分五項：

### (一) 定量 *S. T.* 內加入不同量噬菌體

一排試管共 12 支，每支內培養基總量爲 4 毫升，其中均含有次制菌量的 *S. T.* (0.625 毫克/1 毫升)，噬菌體自  $10^{-2}$ — $10^{-13}$  (各支分量相差 10 倍) 及上述細菌稀釋液 0.1 毫升。

### (二) 定量噬菌體加入不同量 *S. T.* 內

一排試管共 6 支，每支內培養基總量均爲 4 毫升，其中含有次溶菌量或亞次溶菌量的噬菌體  $10^{-9}$  及 *S. T.* (10 毫克/1 毫升 (第一支)——0.3125 毫克/1 毫升 (第六支))，每支分量相差一倍，細菌液量同上。

### (三) 不同量 *S. T.* 與不同量噬菌體

試管共三排，每排 12 支，各排各支的組合不同。

每排各支之培養基總量均爲 4 毫升，每排自第一支到 12 支內的噬菌體均爲  $10^{-2}$ — $10^{-13}$ ，但各排內所含 *S. T.* 量則不同。第一排各支含有 *S. T.* 均爲 1.25 毫克/1 毫升，第二排各支均含有 0.625 毫克/1 毫升，第三排各支均含有 0.3125 毫克/1 毫升。這三種不同的量均小於該細菌的制菌量。

各排所種細菌均同上。

### (四) 噬菌體對照

一排試管共 12 支，每支內培養基總量均爲 4 毫升，但其中噬菌體量則不同，自  $10^{-2}$ — $10^{-13}$ ，其中接種細菌量同上。

### (五) *S. T.* 對照

一排試管共 6 支，總量 4 毫升培養基內含有 *S. T.* 10 毫克/1 毫升 (第一支)——*S. T.* 0.3125 毫克/1 毫升 (第六支)，及細菌量同上 0.1 毫升。

在操作過程中，稀釋噬菌體及 *S. T.* 時應特別注意混勻，準確掌握其濃度，否則不規則生長現象出現較多，以致影響觀察結果。至於細菌數量的多少也能影響結果，經試驗得知協同制菌作用的強弱與細菌數量的多少成反比。此外，我們對不同年齡的細菌也作了比較，發現不同菌齡 8、18、24 小時培養的細菌在 24 小時觀察中對結果無影響。

## 實 驗 結 果

以上試驗分別用 18 個菌株進行，爲了觀察試驗管與對照管中再生菌生長情況有無不同，各組結果均連續觀察 5 天。茲將結果列表如下：(爲了節省篇幅，試驗中首末幾管之結

果未列表內，因對結果分析無妨。另如第 4、5 日結果與第 3 日無大區別，亦未列表內）。

表內抑制再生菌的程度以溶菌力價（噬菌體）及每毫升內 S. T. 的制菌量（克）表示。

表 1 不同量噬菌體加入同量 S. T. 的抑菌程度

項 別 培養時間 菌 號		噬 菌 體 對 照			噬菌體加 S. T. 每毫升 0.625 毫克			S. T. 對 照		
		15 小時	2 日	3 日	15 小時	2 日	3 日	15 小時	2 日	3 日
抑 菌 情 況	122	$10^{-5}$	$10^{-5}$	$10^{-3}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	1.25	2.5	2.5
	107	$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-4}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	1.25	1.25	2.5
	121	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-5}$	1.25	2.5	2.5
	128	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	1.25	2.5	2.5

由表 1 可見 S. T. 與噬菌體相配合作用於福氏痢疾菌有明顯的協同制菌作用，使其溶菌力價增高；其中大部分菌株的溶菌力價皆增加 3 支。如 107 號菌株的噬菌體對照管中溶菌力價在 15 小時為  $10^{-6}$ ，到第三天在  $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  中已有再生菌生長；但加入 S. T. 者則在 15 小時為  $10^{-8}$ ，其試驗管中的再生菌在第二天後完全受到抑制。由此不難看出，在次制菌量 S. T. 存在下，噬菌體裂解細菌的能力顯著增高。

表 2 不同量 S. T. 加入同量噬菌體的抑菌程度

項 別 培養時間 菌 號		S. T. 對 照			S. T. 加噬菌體 $10^{-9}$			噬 菌 體 對 照		
		15 小時	2 日	3 日	15 小時	2 日	3 日	15 小時	2 日	3 日
抑 菌 情 況	31	2.5	2.5	5	1.25	1.25	1.25	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
	127	1.25	2.5	5	0.625	1.25	1.25	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-8}$
	124	5	5	5	0.3125	1.25	5	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$
	126	1.25	1.25	2.5	0.3125	0.3125	0.625	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$

由表 2 可見次溶菌量的噬菌體可加強 S. T. 對福氏痢疾桿菌的制菌作用。如 31 號菌株的 S. T. 對照管內，在 15 小時需 2.5 毫克/毫升才能抑制細菌生長，而且到第 3 天在 5 毫克/毫升內就有再生菌生長。但加入噬菌體  $10^{-9}$  者（次亞溶菌量），在 15 小時只需 1.25 毫克/毫升就能抑制細菌的生長，而且始終抑制了再生菌的生長。可見 S. T. 的制菌力可由噬菌體的協作而增強。

試驗不同量 S. T. 與不同量噬菌體的協同作用時共用 10 株細菌，該等菌均對 S. T. 不敏感（敏感度大於 1.25 毫克/毫升）\*，故所用 S. T. 的量均小於敏感度的量，如 1.25 毫克/毫升、0.625 毫克/毫升、0.3125 毫克/毫升。茲將三株具有代表性細菌的結果列於表 3。

本項實驗所用 10 個菌株中，其中 7 株類似表 3 中 131 號菌株的結果，即 S. T. 的量與其發揮協同制菌作用的強度成正比關係，但不甚明顯。二株與 99 號菌株類似，即三種

\* 是指所試 10 株菌的敏感度而言。

不同量的 S. T. 其協同制菌作用強度相同。只有 98 號菌株其 S. T. 量與其協同作用的強度不成正比關係。即 0.625 毫克/毫升的作用反而最強。

表 3 不同量 S. T. 加不同量噬菌體的抑菌程度

項 別 培養時間 菌 號		噬菌體對照			噬菌體加 S. T. 每毫升 1.25 毫克			噬菌體加 S. T. 每毫升 0.625 毫克			噬菌體加 S. T. 每毫升 0.3125 毫克			S. T. 對照		
		15 小時	2 日	3 日	15 小時	2 日	3—5 日	15 小時	2 日	3—5 日	15 小時	2 日	3—5 日	15 小時	2 日	3 日
抑 菌 情 况	131	$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	2.5	5	5
	99	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	2.5	2.5	5
	98	$10^{-4}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-7}$	5	5	10

討 論

以上試驗證明 S. T. 與噬菌體在試管內對痢疾桿菌有較明顯的協同制菌作用,但制菌力的強弱可因菌株不同而異。以上的每個菌株均經重複兩次試驗,有的甚至重複 4 次,可以認為這不是一種偶然現象。

同量噬菌體加入不同量磺胺藥內所表現的協同制菌作用的強弱與磺胺量多少的關係,各人的研究結論不同。就像 Neter 氏以痢疾噬菌體  $10^{-6}$  加入不同量磺胺胍內試其對志賀氏痢疾桿菌的協同制菌作用時,結果發現抑制再生菌的能力為 15 毫克%反強於 150 毫克%;但毛氏,以  $10^{-4}$  傷寒桿菌噬菌體加入不同量 S. T. 內 (150 毫克%, 100 毫克%—0.1 毫克%) 以試驗對傷寒桿菌的協同制菌作用時,發現其協同作用的強弱與 S. T. 量的多少成正比。按我們的實驗結果,則多數菌株與毛氏結果相類似,個別菌株則與 Neter 氏的結果相似,部分結果則均不同於以上兩例;即協同作用的強弱在一定範圍內與 S. T. 量的多少無關。這些差異的原因可能由於各試驗者所應用的磺胺藥類別及其量不同以及彼此應用不同的菌種菌株所致。此外,在實驗操作中的各項條件也不能完全相同,如細菌的濃度、磺胺藥物的純度等均可能有差異。

同量 S. T. 加入不同量噬菌體內所表現的協同制菌作用,其作用的強弱與噬菌體稀釋度的關係,在我們的實驗中大多是稀釋度低者抑制作用強,反之則弱。但也有個別菌株,在培養 2—3 天甚至 15 小時偶可出現反常現象,即在稀釋度低的個別試管內有再生菌生長,而在稀釋度高的試管內反能抑制再生菌生長。

關於協同作用的機制問題,我們手頭沒有足夠的參考資料,不能加以論述。按司穉東等報告<sup>[5]</sup>, 抗生素與痢疾噬菌體配合作用於痢疾桿菌時,可能由於痢疾桿菌的生理學性狀有所改變而易被裂解或抑制。也可能協同作用的一方面加強了另一方面的活動能力或制菌力,以收相輔之效,當然 S. T. 的化學性質及其本身的制菌機能不同於抗生素,因此其協同作用的機制可能不是全同的。這是一個值得研究的問題。

痢疾噬菌體在治療細菌性痢疾上有一定效果<sup>[6-7]</sup>。在我們的實驗中證明噬菌體與 S. T. 適量配合則可發揮協同制菌作用。對再生菌的抑制作用很明顯,在噬菌體作用下產生的再生菌在某些性質上有改變,特別對原來敏感的噬菌體產生耐力,不再被其裂解,在

臨床上如出現這種變異菌株，可能給使用噬菌體作痢疾防治上帶來困難。在實驗中證明的協同作用是否在痢疾的防治上有實際意義值得進一步研究。

現在磺胺藥仍為治療菌性痢疾的常用藥物，由於臨床上廣泛應用，每因用法不當導致耐藥性菌株的產生，給痢疾的治療上帶來困難，鑑於上述實驗中協同制菌作用對耐藥性菌株同樣能發揮作用，並能抑制耐藥性菌株的再生長，因而可以設想在臨床上或可利用噬菌體與 S. T. 聯合治療由耐 S. T. 痢疾桿菌所致的痢疾。是否行之有效尚需進一步研究。

## 摘 要

S. T. 與痢疾噬菌體配合於試管內作用於福氏痢疾菌時，可使噬菌體的溶菌力價及 S. T. 的制菌力皆增高，明顯地抑制了再生菌生長。

S. T. 濃度愈高協同制菌作用較強，但此差別並不顯著，數菌株無差別或反之。噬菌體的稀釋度愈高則其協同作用愈弱，反之則強。

本實驗承湖南醫學院吳潔如、王慧剛先生熱心指導，敬致謝意。

## 參 考 文 獻

- [1] Neter, E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **47**: 20—23, 1941.
- [2] Mao, C. P.: *C. M. J.*, **62**: A33, 1943.
- [3] Лукашевич, С. И.: *Ж. М. Э. И.*, (8): 26—81, 1954.
- [4] Дуброва, В. С. и Мышкова, А. С.: *Ж. М. Э. И.*, **7**: 49, 1955.
- [5] 司程東、于智聰：生物製品通訊，**2** (1): 127, 1957.
- [6] 司程東、李應乾等：中華醫學雜誌，**41** (9): 828—834, 1955.
- [7] 李廣博、司程東等：中華內科雜誌，**3** (6): 425, 1955.

# THE COMBINED INHIBITORY EFFECT OF SULFATHIAZOL AND DYSENTERY-PHAGE ON FLEXNER BACTERIA

LEE PING, HSU SHIH-TEH and PENG YUNG-FAN

(Departments of Microbiology, Shan Tung and An-Hwei Medical Colleges)

The greater combined inhibitory effect of sulfathiazol and dysentery phage acting upon Flexner dysentery bacteria in-vitro for the inhibition of bacterial regeneration was proved in this study. Hower, it was formed that the intensity of the effect was propotional to the concentration of sulfathiazol and of bacteriophage, but with no clear cut difference in different dilutions of sulfathiazol employed.