

上海市1947—1953年所分離的痢疾 桿菌對幾種化學療劑的敏感試驗

陳鴻珊

(上海第一醫學院細菌科)

細菌性痢疾的臨床治療，從1940年以來，主要應用磺胺藥類來處理，療效極好。1941年 R. Reitler 氏^[1]，1941年 G. J. Bell 氏^[2]，1942年蘇祖斐^[3]等和1942年諸福棠^[4]等報告在服藥後，症狀迅速消失，糞便培養在2、3日內即變為陰性，復發病例很少見。但自1947年起，磺胺藥劑對一部分病例已失療效。1947年 Pulaski 氏^[5]提出改用鏈黴素治療細菌性痢疾，可以迅速痊癒。1950年張湘雲、蘇祖斐^[6]報告，在30例上海市兒童患者中，因磺胺藥治療3日無效，改用鏈黴素，體溫與腹瀉一二日恢復，糞便培養2日內變為陰性，沒有發展為慢性或復發的病例記載。用濾紙片法將分離的痢疾桿菌作敏感試驗，也都是鏈黴素敏感菌。但是鏈黴素的應用，才只二、三年，1951年就有抵抗菌發現^[7]。1953年張彩英等^[8]的報告，提出了1951年鏈黴素對細菌性痢疾療效已開始有減退趨勢，而1953年抵抗菌的發現率已相當增高。氯黴素治療細菌性痢疾，在1950年^[7,9]即試用成功，在抑制對於磺胺類藥和鏈黴素有抵抗力的痢疾菌上，成為廣泛應用的藥物。至於氯黴素是否也會引起抵抗菌，目前發現不多，但是葡萄球菌的氯黴素抵抗菌已有報導^[10]。我們近二年在少數痢疾桿菌敏感試驗中，已發現有抗藥性增高的菌株，是值得提起注意的。

我們六年來用試管法測定了本地分離的痢疾桿菌，明顯的看出痢疾桿菌對磺胺藥類已有很高的抗藥性，抗藥菌佔檢查菌株的80%以上，對臨床療效顯然是不利的。對鏈黴素和氯黴素的抵抗力似也有逐漸增高的趨勢，但還不顯著。

將痢疾桿菌作体外試管試驗，測定它對藥物的敏感度，可以觀察痢疾流行的病原菌對藥物敏感的情況，作為臨床上選擇用藥的根據，而治療上遇有服藥不癒的情況，須要考慮增加藥量或改換藥物的時候，更要根據實驗室結果來作標誌。1946年 Bernheimer^[11]在試管中測定磺胺藥劑對保存菌株和流行菌株219株所作的敏感試驗，發現

了17株抗藥菌，首先提出了痢疾桿菌對磺胺藥的抗藥性問題。

細菌的試管藥物敏感試驗，操作簡單，在一般實驗室中，都能作到，而在臨床診斷和治療上，以及在流行病學上都有相當大的意義。

材料和實驗方法

菌種來源和種類：1947—1951年的菌株，是以前上海中山醫院（綜合醫院）病人的糞便中分離的。1952年中山醫院改為外科學院後，痢疾病人很少，藥物敏感試驗會暫時中斷。1953年與內科學院和兒科學院聯繫，獲得痢疾標本較多。此外我們尚試驗了17株在1947年以前所獲得的貯存菌種，作為比較。

我們一共試驗了274菌株，其中福氏痢疾桿菌最多，計234株，佔全數85.4%；次為宋內氏株，計29株，佔10.5%；志賀氏痢疾桿菌2株，佔0.92%；施密斯氏痢疾桿菌3株，佔1.1%；鮑愛特痢疾桿菌6株，佔2.1%。

菌種鑑定的方法：我們的菌株，都是將病人糞便直接培養在中國藍平板上分離的。平板上有可疑菌落時，挑選接種到雙醣鐵基上培養，凡無動力，葡萄糖發酵的菌株，即作玻片血清凝集試驗，並種入單醣，判定型別。如血清反應不能得到陽性，則根據Topley和Wilson^[12]1948年所定標準，凡尿素分解陰性，枸橼酸鈉不能利用，木膠糖不發酵，V-P試驗陰性，能還元硝酸鹽、美藍，並產生NH₃時，即作為痢疾桿菌。乳糖、蔗糖培養基用石蠟封蓋，培養三週，如延遲發酵而靛基質與木膠糖陰性時作為宋內氏桿菌；不發酵時則為福氏痢疾桿菌。

菌種保存方法：菌種經分離鑑定後，接種到肉浸液半固體培養基中，面上覆蓋無菌石蠟油，培養於37°C 18—24小時後，保存於4°C冰箱中，每三個月傳代一次。

藥品：1947—1950年所作試驗，是用磺胺嘧啶粉劑，以氫氧化鈉溶液溶解。其他磺胺藥類則用片劑配製。1950年重行整理資料，則統一應用磺胺嘧啶、磺胺噻唑鈉鹽粉劑、二氫鏈黴素和膠囊氯黴素製成溶液，整批重複試驗。1951年以前，每次試驗臨時配製溶液，並以培養基稀釋後應用。1953年因有低溫冰箱設備，則將各種藥物製成母液，分裝試管在-20°C冰箱中冰凍保存，4—5月不致失效^[13]。母液配製方法見下表。

培養基：痢疾桿菌生長要求不高，普通肉浸液中，37°C 孵育18—24小時，生長即很好。鏈黴素、氯黴素的敏感試驗，用蛋白朊肉浸液即可。在磺胺類藥物試驗中，因肉浸液內蛋白朊能對抗磺胺藥的抑菌作用^[14]，我們開始時按MacLeod氏方法，用肝浸

藥 品	溶 劑	濃度微毫克/毫升	除 菌 方 法
磺胺藥類(鈉鹽)	蒸 餾 水	1000	蔡氏濾器過濾
二 巰 銻 微 素	pH 8 緩 衝 鹽 水	1000	無菌技術配製
氯 微 素	蒸 餾 水	1000	煮沸 100°C 1 小時

液和活性炭吸收的肉浸液做試驗，後來發現不加蛋白胨的肉浸液培养基，也能使痢疾桿菌生長良好，而且敏感度並沒有出入。所以我們現在報告的試驗，都是用無蛋白胨肉浸液作磺胺藥類敏感試驗的培養基，pH 為 7.0。

試驗方法：我們採用試管法，來測定細菌對藥物的敏感度，用連續稀釋法，每管藥液半毫升，再以培養基半毫升逐管稀釋，最後仍為每管半毫升，因此藥品濃度稀釋一倍。各管中加 18—24 小時生長的痢疾桿菌 10^{-4} 稀釋度半毫升。每管藥品之最高濃度磺胺藥類為每毫升 1 毫克（即 1000 微毫克/毫升），銻微素為 100 微毫克/毫升，氯微素亦為 6 微毫克/毫升，其餘類推。在 37°C 孵育 18—24 小時，觀察結果。試驗中加各種藥物的敏感菌和抵抗菌作對照。發現抵抗菌後，必要時加濃藥液，測定其敏感度。1953 年為了精簡操作過程，只揀選數種有判斷價值的藥物濃度來試驗。每管中加藥液 2 毫升，試驗菌 10^{-3} 稀釋度 0.1 毫升。由於加入 0.1 毫升的菌液，藥物濃度有 $1/20$ 的差誤，不如前法精確，但在臨床應用上，影響並不大。此法手續簡便，節省人力物力，而結果比濾紙片法為明確清晰，不失為臨床上可以普遍應用的方法。

結果的判斷：我們結果的判斷法是參考 Schaub 與 Foley (1952) 及 Hawking 氏二書所載，歸納如下表：

藥 品	很 敏 感	敏 感	中 度 敏 感	抵 抗
磺 胺 嘧 啶 (微 毫 克 / 毫 升)	10	50	1000	>1000
磺 胺 噻 唑 (微 毫 克 / 毫 升)	10	50	1000	>1000
銻 微 素 (微 毫 克 / 毫 升)	4	10	100	>100
氯 微 素 (微 毫 克 / 毫 升)	2	4	6	>6

上列數字代表細菌不能生長的最低藥物濃度。

磺胺藥在血液中，濃度一般在 50—150 微毫克/毫升之間，故血液中細菌敏感度大於 50 即為抵抗菌。但口服後，不易吸收，所以腸道濃度高。磺胺噻唑腸道中濃度，

口服一次3克，繼服每8小時1克，一日後，可達700微毫克/毫升。磺胺胍可達40,000微毫克/毫升^[15]。故細菌的抗藥性以1,000微毫克/毫升為標準。鏈黴素亦不易吸收，據 Elias 報告^[16]，口服後64%由腸道排出，故鏈黴素在腸道中的濃度，較血液中高出很多，故以100微毫克/毫升為標準。氯黴素則自腸道排泄的很少，抵抗度較血液中為低，以6微毫克/毫升為標準。

實驗結果

表1 1947—1953年間上海市痢疾桿菌對磺胺嘧啶、鏈黴素及氯黴素的敏感度

年 份	磺 胺 嘧 啶						鏈 黴 素						氯 黴 素													
	菌 敏 感 菌			抗 藥 菌			菌 敏 感 菌			抗 藥 菌			菌 敏 感 菌			抗 藥 菌										
	微毫克/毫 升			總 數	百分 率	>1000	百分 率	微毫克/毫 升			總 數	百分 率	>1000	百分 率	微毫克/毫 升			總 數	百分 率	>6	百分 率					
	數	10	50					1000	數	10					25	100	數					2	4	6		
1947前	17	10	4	0	14	82.4	3	17.6	17	17	0	0	17	100	0	0	0	16	12	3	1	16	100	0	0	
1947	8	1	0	0	1	12.5	7	87.5	8	8	0	0	8	100	0	0	0									
1948	7	0	4	0	4	57.1	3	42.9	7	7	0	0	7	100	0	0	0									
1949	52	4	1	1	6	11.5	46	88.5	52	48	3	0	51	98.1	1	1.9										
1950	50	2	3	0	5	11.7	45	88.9	51	46	3	0	49	96.2	2	3.8										
1951	41	0	0	0	0	0	41	100.0	41	38	2	0	40	97.5	1	2.5	4	4	0	0	4	100	0	0		
—																										
1953	99	8	4	3	15	15.2	84	84.8	99	0	86	13	99	100.0	0	0	99	79	2	15	96	97	3	3		

註 1947年以前至1951年，菌株用連續二倍稀釋法測定敏感度，每株有其確定敏感度數值。1953年菌株用幾種有判斷價值的藥物稀釋度測定敏感度，所得敏感度以所選用的藥物濃度為限。為了使結果比較簡明，將各菌株敏感度按判斷標準列表如上。

(一) 痢疾桿菌對磺胺藥物的敏感度

以磺胺嘧啶來看，從1947年起，在上海市分離的痢疾桿菌，抗藥菌一般都在80%以上；1948年抗藥的菌較少，僅42.9%，但該年檢查的菌株太少，所以不能有代表性。與1947年以前所獲得的貯存菌種相比較，那時抗藥菌株僅17.6%，相差甚遠，這點與其他著者的報告是符合的，即痢疾桿菌對磺胺藥的抗藥性，在逐年增長中。

細菌對一種磺胺藥物有抵抗後，常常對其他磺胺藥亦有相平行的抵抗度，這種情況 Kirby 氏^[17]已有所報告。我們在1950年中，有四例比較了磺胺嘧啶和磺胺噻唑的敏感度，都是超過1000的抵抗度。臨床上的療效亦相一致。1951年中一例對磺胺嘧啶、磺胺胍都有>2000的抵抗度。另一例試用了磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺色啶(Sulfasuxidine)和磺胺脈瑞辛(Sulfamerazine)都是大於2000的抵抗度。對於1953—

1954 年的菌株，進行了全面的磺胺嘧啶和磺胺噻唑敏感度的比較，103 株中，102 株對二種藥物的敏感度一致。即 15 株對兩種藥物都敏感，87 株都抵抗。這證明各種磺胺藥抑菌的機轉，主要依賴於同一磺胺根，因此作敏感試驗時，除特殊需要，用一種磺胺藥即可作為標誌，臨床上發現一種磺胺藥無效時，似可以不必試服他種磺胺藥（表 2）。

表 2 痢疾桿菌對磺胺嘧啶和磺胺噻唑敏感度的比較

年 份	檢 查 菌 數	磺胺嘧啶 微毫克/毫升				磺胺噻唑 微毫克/毫升			
		敏感菌 <1000		抵抗菌 >1000		敏感菌 <1000		抵抗菌 >1000	
		菌 數	百分率	菌 數	百分率	菌 數	百分率	菌 數	百分率
1953	99	15	15.2%	84	84.8%	16	16.2%	83	83.8%
1954	4	0	0	4	100%	0	0	4	100%

(二) 痢疾桿菌對鏈黴素的敏感試驗

1947—1948 年所分離的菌株，數目雖然不多，但都是敏感的，以後敏感度有逐漸減低的趨向，且發現抗藥菌株，但增加並不顯著，此點可能由於鏈黴素在治療細菌性痢疾方面歷史短促，未被廣泛應用之故（表 1）。

(三) 痢疾桿菌對氯黴素的敏感試驗

氯黴素使用在痢疾的治療上，1951 年才開始，當時僅在磺胺藥和鏈黴素都有抵抗的病例中使用，主要因當時購買困難。其後我國已自製，而細菌性痢疾對磺胺藥一般有抵抗，治療效用極微，所以氯黴素成為目前治療細菌性痢疾的主要藥物。我們檢查的結果，1951 年四株都是敏感菌，1953 年所作 99 株中，有三株敏感度大於 6，為抵抗菌（表 1）。

氯黴素對痢疾桿菌的抗菌作用與臨床療效相符合，我們有一個同志（住院號 2300），在 1951 年 5 月實驗室感染宋內氏桿菌痢疾，病起即服用磺胺嘧啶，七日後無效，改用磺胺噻唑二日無效，又改服磺胺脛，仍無效，口服鏈黴素 1 克，不見好轉。分離出的宋內氏痢疾桿菌，做敏感試驗，除對五種磺胺藥有大於 2000 微毫克/毫升的抵抗度外，對鏈黴素的抵抗度，超過 10,000 微毫克/毫升；但對氯黴素則很敏感，敏感度只有 1.56 微毫克/毫升。於是改用氯黴素灌腸，每日一次，劑量 250 毫升，治療第三日大便培養轉為陰性，隨即痊癒。

鑑於他種藥物在臨床上廣泛應用後，逐漸形成抵抗菌，氯黴素在近幾年的應用中，已有抵抗菌出現，所以用藥時最好與敏感試驗對照，必要時按情況增加藥量，或改

用他藥。治療時並做糞便培養，作為痊癒指標，以防止症狀痊癒而成為帶菌者或慢性患者，散佈抗藥菌株。

討 論

細菌對藥物形成抗藥性，1939年^[18]以來已有很多的報告，其中磺胺類藥物因市場上容易購得，價格便宜，應用廣泛，患者並常自行服用，而症狀一經減輕，就不肯服藥。因此機體內的病原菌對間斷的少量的藥物，容易適應，而發生抗藥性。我們的材料中指出，自1947年以來，痢疾流行的病原菌就有80%以上是對磺胺藥有抵抗性的。而一種磺胺無效時，其病原菌對其他磺胺藥亦有類似的抵抗力。目前使用磺胺治療痢疾者，尚不乏人；若輪用數種磺胺藥類，無效始改用氯黴素或鏈黴素，則延長病程，對於成人妨礙出勤，影響工作，甚至引起慢性痢疾或形成帶菌者。兒童痢疾，多為急性，病情嚴重，遇抗藥菌時，輪試各種藥物，延誤時機，可能引起不治而死亡。目前與細菌性痢疾作鬥爭的預防措施，還沒有完全成功，而痢疾桿菌形成抗藥性菌的潛在可能，不能避免。臨床醫師在治療痢疾病人時，必須重視流行中病原的抗藥性問題。

鏈黴素是最易引起細菌抗藥性的藥物^[19]，臨床上應用治療痢疾的，並不普遍。目前抗藥菌發現的百分率，不如磺胺藥者為高，可在遇有氯黴素抵抗菌時使用。

氯黴素自從問世以來，臨床上應用於細菌性痢疾已有五年歷史，抗藥菌的發現報告不多，Birstingel和Kirby氏觀察^[10]有些葡萄球菌有抵抗氯黴素的性質。MacLean氏^[20]在實驗室試管中，能將許多革蘭氏陰性桿菌誘導成抗藥菌。最近兩年來我們已發現三株抗藥菌。將來是否會與磺胺藥類似，療效喪失，尚不敢推斷，可是我們必須提高警惕，密切注意其發展。

為了治療痢疾，在選擇用藥時有所根據，臨床醫師與實驗室工作者應聯繫起來，改進痢疾桿菌分離方法，並測定病原菌的藥物敏感度。這種工作是十分重要的，它不但具體解決病人用藥的問題，同時在流行病學上，亦可瞭解人羣中流行病原抗藥性的趨勢。在個別氯黴素治療無效或復發時，病原菌抗藥性高，若增加藥量，應以体外試驗敏感度為標準，適量增加，避免發生意外。劑量較大時，採用灌腸法可能有用。目前用氯黴素治療痢疾效果很好，但是有引起再生障礙性貧血的可能，而且此藥味苦，難於服用，在治療小兒痢疾時易被吐出，因此，找尋新的痢疾治療藥物，也是必要的。生黴素治療小兒細菌性痢疾已有報告^[21]。

本報告是上海市近幾年來所分離的痢疾桿菌對磺胺藥、鏈黴素及氯黴素的試管

敏感試驗，國內其他地區的情況不一定如此，如參加去年防汛工作的一位同志告訴我們，在安徽懷遠用磺胺嘧啶（劑量口服1克每日4次）及磺胺胍（1.5克每日4次）療效極好，2、3天即痊癒，這便是很好的例証，因為細菌對藥物的抗藥性，與藥物的種類、治療歷史、用法都有密切的關係。

本報告內容主要是試管中痢疾桿菌對於化學療劑的觀察。在若干病例中，試管與臨床療效相當符合，對於這方面的工作，正在作進一步的探究。

最後，必須指出，我們六年來檢查的菌數不多，各年數量更少，特別是1947年、1948年只有7—8株，計算的抗藥菌百分率，誤差可能很大。只是在抗藥菌的數目上，肯定的表現了它的存在和逐漸增多的傾向。

總 結

(1) 用試管稀釋法測定了1947—1953年間在上海市分離的痢疾桿菌對藥物的敏感度。發現80%以上菌株對磺胺藥劑有抵抗力。痢疾桿菌對一種磺胺藥有抵抗時，對其他磺胺藥有類似的抵抗力。

(2) 痢疾桿菌對鏈黴素和氯黴素的抵抗力，最近已有發現，這個報告可以作為臨床治療上的參考。

(3) 治療痢疾時，選擇用藥，最好以體外敏感試驗為依據。臨床醫師和實驗室的密切聯繫是解決此問題的方法之一。

參 考 文 獻

- [1] Reitler, R., Marberg K. *Britt. Med. J.* 1:277, 1941.
- [2] Bell, G. J. *Lancet* 2:101, 1941.
- [3] 蘇祖斐、許漢光: *C. M. J.* 61:321, 1942.
- [4] 諸福棠、顧啓華: *C. M. J.* 61:303, 1942.
- [5] Pulaski, E. J. et al. *New Eng. J. Med.* 419:237, 1947.
- [6] 張湘云、蘇祖斐: *中華兒科雜誌* 1(2):67, 1950.
- [7] McFadzean, A. J. S. et al. *Lancet* 2:166, 1952.
- [8] 張彩英、張湘云、蘇祖斐: *中華兒科雜誌* 1:40, 1953.
- [9] Ханеня, Ф. С. Лечение Бактериальной Дизентерии Синтомицином. 84, 1952.
- [10] 1. Birnstingel, M. A. et al. *Britt. Med. J.* 2:253, 1952.
2. Kirby, W. M. M., *Ann. Rev. Microbiology* 6:391, 1952.
- [11] Bernheimer, A. W. *Proc. Soc. Exp. Bto. Med.* 61:325, 1946.
- [12] Topley & Wilson, *Principle of Bact. & Imm.* 688, 1948.

- [13] Schaub & Foley, Method for Diag. Bact. 225, 1952.
- [14] MacLeod, C. M. & Mirick, G. S. *J. Bact.* 44:3, 1942.
- [15] Hawking, The Sulphonamides 73, 1951.
- [16] Elias, W. F. & Durgo, J. *Science* 101:589, 1945.
- [17] Kirby, W. M. M. et al. *J. Exp. Med.* 77:29, 1943.
- [18] MacLean, C. M. et al. *Lancet* 1:562, 1939.
- [19] Klein, Morton *J. Bact.* 52:471, 1946.
- [20] McLean, C. M. et al. *J. Clin. Invest.* 28:953, 1949.
- [21] Тиркян, Р. А. *Педиатрия* 4:33, 1954.

DRUG-RESISTANCE OF SHIGELLA ISOLATED IN 1947-1953

CHEN, H. S.

Department of Bacteriology, First Medical College of Shanghai

Two hundred seventy four strains of various *Shigella* isolated between 1947 and 1953 in Shanghai have been tested for their sensitivity to sulfonamide, dihydrostreptomycin and chloromycetin. By the test-tube method it has been found that 80% of them are resistant to sulfonamide of more than 1 mg/ml, and that when a strain appears to be resistant to one sulfonamide, it is also resistant to the rest. Besides, some of the strains recently isolated further show resistance to chloromycetin and dihydrostreptomycin. This fact is recorded for reference in future comparison.