

丙型副伤寒沙門氏菌 Vi 抗原的研究(三)*

濱野滿雄** 孙盛綱 赵永林 周 勵

(大連生物制品所)

近年来在中国, C 群沙門氏菌病中丙型副伤寒和猪霍乱沙門氏菌病的流行較伤寒、甲型副伤寒和乙型副伤寒病增多的事实, 已被望月氏^[1]和濱野氏^[2]的报告所証明。本文是报告在流行病学上具有重要意义的丙型副伤寒沙門氏菌病的菌苗制备, 預防接种和免疫学的試驗結果。

試驗和結果

(一) 丙型副伤寒沙門氏菌的毒力試驗

供試菌株系生物学及血清学典型的丙型副伤寒沙門氏菌 VW 型第 5 和第 1137 株。培养基主要应用 2% 甘油琼膠, 有时应用普通琼膠培养基。將菌株接种于上述培养基上在 37°C 培养 16—18 小时后, 用肉湯稀釋至每 0.5 毫升含 10^{-1} — 10^{-8} 毫克湿菌。取 0.5 毫升腹腔注射体重 15 克的小白鼠, 观察 3—4 周。經口感染系用白金耳投予(每只小白鼠一白金耳斜面培养物, 約 1 毫克湿菌)。死亡小白鼠均經解剖, 观察各器官的病变, 并用心血、肝、脾臟进行細菌学培养。

結果丙型副伤寒沙門氏菌毒力很高, 10^{-8} 毫克湿菌(約 10—20 个細菌)即能杀死小白鼠; 經口感染也可使小白鼠致死。試驗又証明, 甘油琼膠和普通琼膠对菌株毒力的影响不大。一般感染菌量愈大則小白鼠的平均生存日数愈短。 10^{-1} 毫克菌量感染时, 小白鼠在 3 天内死亡, 解剖后只見到各器官充血。微量菌感染或經口感染时平均生存日数延長, 解剖后發現肝、脾腫大并有許多白色斑点。心血、肝、脾臟培养均能檢出感染菌。

(二) 菌苗的制备和毒性試驗

將第 1137 号菌株接种于甘油琼膠上, 在 37°C 培养 16—18 小时后制成菌苗。除一般应用的福馬林菌苗外, 还制备出鉀明矾菌苗, 鉻明矾菌苗和超音波菌苗。毒性的檢定方法是將各种菌苗稀釋成不同倍数, 0.5 毫升腹腔注射小白鼠, 每一稀釋度注射 4—5 只

* 1955 年 8 月 31 日收到。本文的(一)、(二)二部分曾在本学报第 3 卷第 2 期發表。

** 現已回国。

小白鼠,观察3天并计算结果。

試驗 1:应用体重 13—15 克的小白鼠对如下菌苗进行毒性試驗,见表 1。在本实验中,1%福馬林处理的菌苗,以 3 号表示。將菌苗沉淀,除去上清,往沉淀內加入生理鹽水至原量,該菌苗以 3-4 号表示。將菌苗沉淀,除去上清,用鹽水洗滌后再次沉淀除去上清,往沉淀內加入鹽水至原量,該菌苗以 3-1 号表示。在菌苗內加入 0.5% 明矾并行离心沉淀,此种明矾菌苗以 3-2 号表示。在菌苗內加入安东、下条二氏^[3]和下条氏^[4]所报告的銘明矾 0.2%,并行离心沉淀,此种銘明矾菌苗以 3-3 号表示。

檢定結果如表 1 所示。福馬林菌苗的毒性依据处理程度而改变,用明矾和銘明矾处理者更低,銘明矾菌苗的毒性則減低至福馬林菌苗的 1/10。

試驗 2:由上述試驗得知,銘明矾菌苗的毒性是很低的。本試驗的目的是和福馬林菌苗作比較,証明銘明矾濃度、培养基和氯化鈣对菌苗毒性的关系。

除 3 号为福馬林菌苗外,还应用了如下数种菌苗:

14 号菌苗:用福馬林处理的甘油琼膠培养,除用 0.1% 銘明矾处理外,并加有氯化鈣。

15 号菌苗:用福馬林处理的甘油琼膠培养,除再用 0.1% 銘明矾处理外,不含有氯化鈣。

12 号菌苗:用福馬林处理的普通琼膠培养,除再用 0.1% 銘明矾处理外,并加有氯化鈣。

用体重 15 克小白鼠試驗。結果如表 1 所示,凡用銘明矾处理的菌苗,毒性都有所減低,特别是 12 号菌苗更为显著。

試驗 3:应用 13—15 克小白鼠。試驗菌苗除 1% 福馬林及氯化鈣处理外,并用超音波 (560 K.C.) 振蕩。按振蕩時間的不同,分別以 1-4 号表示;对照是不用上述方法处理的普通福馬林菌苗,以 3 号表示。

結果如表 2 所示。3 号菌苗毒性最大;試驗菌苗随超音波振蕩时的不同,毒性有所減低;振蕩 30 分鐘者較对照菌苗減低 1 倍。

試驗 4:应用 13 克的小白鼠。試驗菌苗事先不用福馬林及氯化鈣处理,待超音波振蕩不同時間 (5, 10, 15, 20, 30 分鐘) 后,再加入 0.4% 福馬林并以 6-10 号表示;对照 3 号菌苗是未用上述方法处理的普通福馬林菌苗。

結果如表 2 所示。与試驗 3 不同,对照菌苗和振蕩 5 分鐘者毒性低,其他則随時間的变化有所增高;而振蕩 30 分鐘者則再度減低。

(三) 菌苗的小白鼠自动免疫試驗

表 1 毒性試驗(一)

試 驗	菌苗号数	小白鼠数	注射量(毫克)	生 存 数	死 亡 数	50%致死量 (毫克)
1	3	5	25	0	5	8.3
		5	12.5	0	5	
		5	6.25	4	1	
		5	3.125	5	0	
	3-1	4	100	0	4	33.3
		4	50	2	2	
		5	25	4	1	
		5	12.5	5	0	
		5	1.25	4	1	
		5	3.125	4	1	
	3-4	4	100	0	4	16.7
		4	50	0	4	
		4	25	2	2	
		4	12.5	2	2	
	3-2	5	100	2	3	40
		5	50	2	3	
		5	25	3	2	
		5	12.5	4	1	
	3-3	5	100	2	3	87
		5	50	5	0	
		5	25	5	0	
		5	12.5	5	0	
2	14	5	100	1	4	33.3
		5	250	1	4	
		5	25	4	1	
		5	12.5	3	2	
	3	5	100	0	5	3.125
		5	50	1	4	
		5	25	1	4	
		5	12.5	2	3	
	12	5	100	0	5	50
		5	50	4	1	
		5	25	3	2	
		5	12.5	4	1	
	15	5	100	0	5	20
		5	50	0	5	
		5	25	2	3	
		5	12.5	4	1	

表2 毒性試驗(二)

試驗号碼	菌苗号数	小白鼠数	注射量(毫克)	生存数	死亡数	50%致死量 (毫克)
3	1 U.S.V. 5分	4	25	0	4	3.7
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	1	3	
		4	3.125	2	2	
	2 U.S.V. 10分	4	25	1	3	4.3
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	0	4	
		4	3.125	3	1	
	3 U.S.V. 20分	4	25	0	4	6.25
		4	12.5	2	2	
		4	6.25	2	2	
		4	3.125	2	2	
	4 U.S.V. 30分	4	25	0	4	7.7
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	3	1	
		4	3.125	4	0	
	3 对照	4	25	0	4	3.6
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	1	3	
		4	3.125	3	1	
4	6 U.S.V. 5分	4	25	1	3	10.64
		4	12.5	2	2	
		4	6.25	3	1	
		4	3.125	3	1	
	7 U.S.V. 10分	4	25	1	3	8.7
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	3	1	
		4	3.125	4	0	
	8 U.S.V. 15分	4	25	1	3	6.25
		4	12.5	1	3	
		4	6.25	2	2	
		4	3.125	2	2	
	9 U.S.V. 20分	4	25	0	4	7.1
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	3	1	
		4	3.125	3	1	
	10 U.S.V. 30分	4	25	1	3	9.0
		4	12.5	1	3	
		4	6.25	3	1	
		4	3.125	3	1	
	3 对照	4	25	0	4	7.1
		4	12.5	0	4	
		4	6.25	3	1	
		4	3.125	3	1	

1—4……福馬林及氯化鈣处理后用超音波振蕩者；

6—10……超音波振蕩后加入 0.4% 福馬林；

U.S.V.……代表超音波。

除上述試驗的菌苗外，本試驗增用了五联菌苗（每毫升含伤寒杆菌 0.1 毫克，甲型和乙型副伤寒杆菌各 0.1 毫克，丙型副伤寒杆菌 0.1 或 0.2 毫克，霍乱弧菌 1 毫克湿菌）；并用第 4 号丙型副伤寒菌苗（不含有 Vi 抗原）、伤寒菌 Watson 株菌苗（含有 Vi 抗原）和 H 901 株菌苗（不含有 Vi 抗原）作对照。免疫时注意菌苗的种类、免疫量、注射次数、注射途径和間隔時間；感染时注意由免疫到感染的間隔、菌株、感染途径及方法。死亡的小白鼠逐一解剖，凡不能分离出感染菌或分离出其他細菌者，均不計算結果。至于感染后的观察期間，在大量菌感染时为 3 天；微量菌或經口感染时，則观察 3—4 周。为了測定免疫效果，对小白鼠的平均生存日数也加以注意。

試驗 5: 1. 大量菌腹腔感染試驗:

免疫用 1 号和 2 号五联菌苗及 3 号（福馬林菌苗），和 3-3（銘明矾菌苗）丙型副伤寒菌苗。采用了各种免疫量、注射次数、注射途径和間隔時間。感染菌及丙型副伤寒 0.1 克及 0.001 克湿重。結果免疫小白鼠和对照者同样死亡，但前者平均生存日数較后者長，这是和免疫次数和抗原量与效果有一定关系的。此外，由于毒性低故銘明矾菌苗免疫小白鼠的平均生存日数和耐过数較其他菌苗为佳。五联菌苗和单独丙型副伤寒菌苗相較則区别不大。

2. 微量菌腹腔感染試驗:

应用 2, 3, 4, 5 号五联菌苗（2 号每毫升含 0.1 毫克丙型副伤寒菌，其余各含 0.2 毫克），及 1 号（福馬林菌苗）、3-2 菌苗（明矾菌苗）、3-3（銘明矾菌苗）及超音波菌苗等丙型副伤寒菌苗免疫。用 10^{-6} 或 10^{-7} 毫克微量菌腹腔感染，观察 4 星期。結果举例如下：

試驗 6: 应用超音波菌苗和未經超音波振荡的对照菌苗以及 3 号丙型副伤寒菌苗 3 次皮下免疫小白鼠，每次 0.5 毫升，間隔 3 天。末次免疫后第 10 天，用 10^{-7} 毫克湿菌感染。結果如表 3 所示，对照小白鼠的平均生存日数短且全部死亡；免疫小白鼠平均生存日数延長并有部分生存，未經超音波振荡的对照菌苗免疫小白鼠生存数最多。随超音波振荡時間的增加，免疫小白鼠的平均生存日数也增加。

試驗 7: 以 3 号、3-2 号、3-3 号丙型副伤寒菌苗分別不同次数皮下免疫小白鼠，每次每只 0.1 毫升，末次免疫后第 10 天，用 10^{-7} 毫克湿菌感染。結果如表 3 所示，对照小白鼠的平均生存日数为 11 天且全部死亡；免疫小白鼠除 3-2 免疫者因皮膚病在免疫过程中死亡較多外（不計在表中），一般免疫次数愈多則小白鼠平均生存率也愈高，尤以 3-3 免疫小白鼠为最高。

試驗 8: 用 3 号丙型副伤寒福馬林菌苗 0.1、0.01、0.001 毫克分別免疫小白鼠 4 次；第 1 次腹腔注射，以后則改为皮下注射；末次免疫后第 12 天用 10^{-7} 毫克湿菌感染。如

表 3 微量菌感染試驗

試 驗 次 数	免 疫 注 射					結 果	
	小白鼠数	菌 苗	注 射 量 (毫 克)	次 数	間隔(天)	生 存 数	平均生存天数
第 6 次	8	U.S.V. 5'	0.1	3	3	1	15
	5	U.S.V. 10'	0.1	3	3	1	13
	8	U.S.V. 15'	0.1	3	3	4	14
	9	U.S.V. 20'	0.1	3	3	2	14
	9	U.S.V. 30'	0.1	3	3	5	15
	10	U.S.V. (-)	0.1	3	3	6	19
	9	3 号	0.1	3	3	3	12
	10	对照				0	10
第 7 次	6	3 号	0.1	3	3	3	15
	10		0.1	2	3	7	12
	8		0.1	1		2	11
	4	3-2号	0.1	3	3	1	11
	8		0.1	2	3	1	10
	9		0.1	1		3	12
	8	3-3号	0.1	3	3	6	11
	10		0.1	2	3	7	11
	4		0.1	1		2	14
	10	对照				0	11
第 8 次	4	3 号	0.1	4	3—4	4	
	6		0.01	4	3—4	5	16
	5		0.001	4	3—4	2	17
	9	对照				5	14.5

表 3 所示,免疫量和小白鼠生存数成正比, 0.001 毫克 4 次免疫者, 免疫效价已不明显。另外, 也必须注意到由于感染量不当, 对照的 9 只小白鼠中, 仍有 5 只生存。

3. Vi 抗原与感染防御試驗

(1) 大量菌感染試驗

試驗 9: 用含有 Vi 抗原的 3 号丙型副伤寒菌苗和不含 Vi 抗原的菌苗 (系將 3 号菌苗, 置 37℃ 溫箱 4 天, 而破坏 Vi 抗原者), 分別用 1、0.1、0.01 毫克腹腔免疫小白

鼠, 7 天后用 10^{-2} 毫克湿菌感染, 观察 3 天, 用平均免疫量計算結果。如表 4 所示(第 5 次試驗), 不含 Vi 抗原菌苗免疫小白鼠的平均免疫量为 0.333 毫克, 而含有 Vi 抗原的菌苗則为 0.0666 毫克; 后者的效价較前者高 5 倍。如繼續观察时, 則所有小白鼠都于不同時間內死亡。

表 4 Vi 抗原与感染防御試驗(大量菌感染)

試 驗	小 白 鼠	菌 苗 数	免 疫 量 (毫 克)	观 察 3 天		
				生 存 数	死 亡 数	平均免疫量 (毫克)
5	5	3 (Vi+)	1.0	4	1	0.0666
	5	3 (Vi+)	0.1	3	2	
	4	3 (Vi+)	0.01	1	3	
	5	3 (Vi-)	1.0	3	2	0.333
	5	3 (Vi-)	0.1	2	3	
	5	3 (Vi-)	0.01	1	4	
	5	对照		1	4	

(2) 微量菌感染試驗

試驗 10: 用 3 号丙型副伤寒菌苗和用普通琼膠培养的 4 号丙型副伤寒菌苗(Vi-) 0.1 毫克腹腔免疫小白鼠, 7 天后用 10^{-6} 或 10^{-7} 毫克湿菌感染。結果: 10^{-6} 毫克菌感染者, 对照小白鼠的平均生存日数为 6 天且全部死亡; 而免疫小白鼠虽也死亡, 但生存日数延長。 10^{-7} 毫克菌感染者, 对照小白鼠的平均生存日数为 10 天且全部死亡; 但免疫小白鼠仍有若干生存。

試驗 11: 应用菌苗同試驗 8。分皮下和皮下腹腔兩組三次免疫小白鼠, 每只 0.1 毫克, 間隔 3 天, 末次注射后第 10 天用 10^{-7} 毫克湿菌感染。結果: 免疫小白鼠較对照小白鼠的平均生存日数長; 但含有 Vi 与否, 区别不大。

4. 丙型副伤寒菌苗免疫后的猪霍乱沙門氏菌感染試驗

試驗 12: 用 3 号丙型副伤寒菌苗和 5 号五联菌苗 3 次免疫小白鼠, 第一次为腹腔注射, 第二次后改为皮下注射, 間隔 3—5 天。末次注射后第 11 天用 10^{-7} 毫克猪霍乱沙門氏菌第 101 株感染。結果: 对照小白鼠 18 只生存 3 只 (16.7%), 其中 2 只保菌; 3 号菌苗免疫小白鼠 18 只生存 12 只 (66.7%), 其中保菌者 1 只; 五联菌苗免疫小白鼠 14 只生存 9 只 (64.3%), 其中 1 只保菌。由此初步証明, 菌苗是有效的。

5. 經口感染試驗

試驗 13: 应用 3, 3-2, 3-3, 14 各号丙型副伤寒菌苗和 2 及 3 号五联菌苗免疫小白鼠, 用 1 白金耳丙型副伤寒沙門氏菌培养(約 0.5 毫克湿菌)感染, 观察 4 周。

將上述各种丙型副伤寒菌苗稀釋为每 0.5 毫升含 1, 0.1, 0.01, 0.001 毫克菌体的菌苗, 一次腹腔免疫小白鼠, 7 天后用一白金耳培养物經口感染。如表 5 所示, 对照小白鼠全部死亡, 平均生存日数为 11 天; 免疫小白鼠除部分生存外, 平均生存日数較对照小白鼠延長。

表 5 經 口 感 染 試 驗

試驗号数	免 疫 注 射				結 果	
	小 白 鼠	菌 苗	用 量	次 数	生 存	平均生存期
第 13 次	4	3 号	1 毫克	1	2	10
	3		0.1 毫克	1	0	9
	5		0.01 毫克	1	1	12
	5		0.001 毫克	1	1	14
	3	3-2	1 毫克	1	0	17
	5		0.1 毫克	1	0	9
	4		0.01 毫克	1	1	12
	3		0.001 毫克	1	1	9
	4	3-3	1 毫克	1	0	11
	3		0.1 毫克	1	0	9
	4		0.01 毫克	1	0	10
	4		0.001 毫克	1	0	12
	5	对照			0	11

(四) 丙型副伤寒菌苗家兔免疫試驗

1. 凝集素形成的状态

試驗 14: 用各种丙型副伤寒菌苗經耳静脉免疫体重 2,000 克的家兔, 菌苗量及間隔時間各有不同, 在末次免疫后第 8 天采血。在免疫过程中, 丙型副伤寒菌苗免疫家兔死亡 2 只。免疫前后的血清凝集价如表 6 所示。

2. 家兔免疫血清抗菌性抗体(中和抗体)的試驗

試驗 15: 用五联菌苗免疫的 1, 2, 3 各号混合血清和 3 号丙型副伤寒菌苗免疫血清 0.5 毫升腹腔注射体重 13—15 克的小白鼠。4 小时后用丙型副伤寒沙門氏菌感染。結果如表 7 所示, 注射免疫血清的小白鼠的平均生存日数較注射正常血清的小白鼠的平均生存日数延長。10⁻¹ 毫克大量菌感染, 三天观察时, 对照的和注射正常血清的小白鼠几乎全部死亡; 而注射免疫血清者則仍有部分生存。

表 7 中和試驗的結果

試驗 號碼	小白 鼠	血 清	感染菌量 (毫克)	生存数/試驗数		平均生存 日 数	备 注
				观察 3 天	观察 3 天 以 上		
1	5	五联菌苗免疫前	10^{-1}	0/5	0/5	3	注射原血清 *一只腸炎菌感染
	5	五联菌苗免疫前	10^{-2}		0/5	4	
	5	五联菌苗免疫前	10^{-3}		0/5	6	
	5*	五联菌苗免疫前	10^{-4}		0/4	6	
	5	五联菌苗免疫后	10^{-1}	4/5	0/5	6	
	5	五联菌苗免疫后	10^{-2}		0/5	5	
	5	五联菌苗免疫后	10^{-3}		0/5	8	
	5	五联菌苗免疫后	10^{-4}		0/5	8	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫前	10^{-1}	0/5	0/5	3	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫前	10^{-2}		0/5	5	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫前	10^{-3}		0/5	5	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫前	10^{-4}		0/5	6	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-1}	3/5	0/5	5	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-2}		0/5	7	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-3}		0/5	7	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-4}		0/5	8	
	5	对 照	10^{-1}	1/5	0/5	2	
	5	对 照	10^{-2}		0/5	3	
	5	对 照	10^{-3}		0/5	4	
	5	对 照	10^{-4}		0/5	6	
2	5*	五联菌苗免疫后	10^{-5}		0/4	10	*一只腸炎菌感染
	5*	五联菌苗免疫后	10^{-6}		1/4	12	
	5	五联菌苗免疫后	10^{-7}		2/5	10	
	5	五联菌苗免疫后	10^{-8}		4/5	11	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-5}		0/3	8	*一只腸炎菌感染
	5*	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-6}		1/4	13	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-7}		3/5	18	
	5	丙型副伤寒菌苗免疫后	10^{-8}		4/5	22	
	5*	对 照	10^{-5}		0/4	8	*一只腸炎菌感染
	5	对 照	10^{-6}		1/5	11	
	5	对 照	10^{-7}		3/5	13	
	5	对 照	10^{-8}		5/5		

表 8 菌苗人体接种后凝集素及抗菌性抗体的試驗

血 清	凝 集 价					抗 菌 性 抗 体	
	PA O H	PB O H	PC O H	TY Vi O H	ch O	生 存 数 試 驗 数	平 均 生 存 日 数
中村接种前	20, 40	20, 80	20, —	160, 160, 320	20	1/10	7
中村接种后	40, 80	80, 160	80, 80	320, 320, >1280	20	1/10 (0/10)	11 (9)
濱野接种前	20, 40	20, —	(80), 80	40, 40, 320	—	0/10	8
濱野接种后	20, 20	40, 40	80, 80	40, 80, 160	—	2/10 (0/10)	9 (11)
孙盛綱接种前	20, 80	40, 40	40, (40)	40, 40, 320	20	0/10	9
孙盛綱接种后	40, 80	40, 80	80, 160	40, 320, >1280	—	4/10 (0/10)	8 (11)
赵永林接种前	20, 40	20, 40	— (80)	—, 80, 160	—	1/6	10
赵永林接种后	80, 80	20, 40	20, 40	—, 320, 640	—	2/6 (5/10)*	8 (9)

凝集价项括弧內的数字表示帶現象；抗菌性抗体項括弧內数字是对照的結果。抗菌性抗体試驗除濱野血清是1:2外,其他皆为原血清。

* 生存的5只小白鼠中,4只小白鼠保固。

討 論

如前所述,丙型副伤寒沙門氏菌对小白鼠的毒力很强, 10^{-8} 毫克湿菌(相当于10—20个菌)腹腔微量感染即使小白鼠致死;經口感染也能杀死小白鼠。这一点已有濱野氏^[7]报告过,并認為 Vi 抗原不是毒力的主要因素,而是与 O 抗原一起时共同發揮作用^[3]。

菌苗的毒性,在菌苗制备及实际应用上,具有重要的意义。一般福馬林菌苗經远心沉淀或洗滌处理后毒性减低一半或四分之一,但是这种处理方法对菌苗的免疫原性有無影响,尚未曾有过研究。安东、下条二氏^[3]、下条氏^[4]报告,伤寒菌苗經銘明矾处理后毒性显著地减低并且抗原性稳定。作者等根据上述报告,对丙型副伤寒菌苗进行研究的結果証明,銘明矾菌苗較福馬林菌苗的毒性减低,而普通琼膠培养用福馬林及氯化鈣处理后,再經銘明矾处理制成的菌苗毒性最低。另外,用鉀明矾处理菌苗的毒性也較福馬林菌苗的毒性低。

超音波菌苗与普通福馬林菌苗相較,前者毒性也显著减低。如先用超音波振蕩再用福馬林处理时,毒性减低的程度是不明显的。

用小白鼠做伤寒菌苗,甲型和乙型副伤寒菌苗的自动免疫試驗,已有許多报告并具有显著的結果。关于丙型副伤寒菌苗自动免疫試驗的报告很少,也未获得显著的結果。濱野氏^[7]用葡萄糖琼膠制备各种丙型副伤寒菌苗,充分注意免疫量(0.18—10.2 毫克)、免疫次数(1—10 次)、注射途徑(腹腔、皮下、血管等)、間隔時間(1—10 天)以及感染菌

量(10^{-4} — 10^{-5} 毫克湿菌)等条件做小白鼠自动免疫試驗,但未得出有效的結果。此次試驗除繼續就上述各点进行外,并用甘油琼膠制备的菌苗、五联菌苗和銘明矾菌苗。在感染方法上采用大量菌(10^{-1} 毫克)、微量菌(10^{-7} — 10^{-8} 毫克)腹腔感染和經口感染。观察小白鼠的生存数,平均生存日数及死亡小白鼠的保菌状态。結果已經証明大量菌感染小白鼠时,全部死亡;但是,免疫者較对照小白鼠生存数多,平均生存日数也長。并且,免疫次数、感染菌量和菌苗的免疫效果是有关系的。濱野氏^[7]以前未得出有效的結果的理由,可能是感染菌量太多所致。

在本實驗中丙型副伤寒菌苗 Vi 抗原和感染防御能力的关系是像安东、中村二氏^[8]和濱野氏^[9]所报告的一样。V 型伤寒菌感染时,丙型副伤寒 Vi 抗原具有防御力,而用大量和微量丙型副伤寒菌感染时,小白鼠则全部死亡。但大量菌感染,当观察 3 天时,含 Vi 抗原菌苗的效果較不含 Vi 抗原者好。

和丙型副伤寒一样,猪霍乱沙門氏菌病流行很广,在流行病学上已被重視。在本實驗中初步已証明丙型副伤寒菌苗对猪霍乱菌的感染具有防御力,因而該菌苗除对丙型副伤寒外,在猪霍乱沙門氏菌病的防疫措施上具有重大意义。

Kauffmann 氏^[10]已將由伤寒杆菌、甲型、乙型和丙型副伤寒杆菌制备的四联福馬林菌苗应用于实际的預防上;Felix 氏及其同事^[11]也曾制备出四联酒精菌苗。根据上述学者的报告并注意到实际的应用,作者等制备了含有霍乱弧菌的五联菌苗,并已作了初步的試驗,結果也有一定的希望。

結 論

1. 丙型副伤寒沙門氏菌对小白鼠的毒力很大,微量菌(10^{-7} — 10^{-8} 毫克湿菌)腹腔感染和一白金耳斜面培养經口感染,均能杀死小白鼠。

2. 各种丙型副伤寒菌苗毒性試驗比較結果証明,安东氏所提倡的銘明矾菌苗毒性最小。

3. 菌苗制法、免疫用量、免疫次数和感染菌量对菌苗的小白鼠自动免疫試驗效果具有一定的意义。試驗証明,銘明矾菌苗的效果較福馬林菌苗好;丙型副伤寒菌苗对猪霍乱沙門氏菌感染具有防御力;含有 Vi 抗原的丙型副伤寒菌苗对伤寒杆菌的感染也有防御作用,因而,該菌苗在流行病学上具有很大意义。

4. 各种丙型副伤寒菌苗家兔免疫血清均能形成凝集素;但是,抗菌性抗体的形成不明显。甘油琼膠培养免疫血清的 Vi 抗体較普通瓊膠培养的 Vi 抗体明显。

5. 五联菌苗人体接种試驗証明,0.5 及 1 毫升 2 次上膊皮下注射,引起人体血清凝

集素的形成；但是，抗菌性抗体的形成不明显。

本文承方景嶽医师鼓勵發表，并承崔錦家同志帮助，作者等一并致謝。

参 考 文 献

- [1] 望月升：东北医学杂志，2: 68, 1950.
- [2] 濱野滿雄：大連衛生研究所彙刊，1 (3): 78, 1951.
- [3] Ando, K. G. and Shimojo, H.: *Bull. World Health Organ.*, 9 (4): 575, 1953.
- [4] Shimojo, H.: *Jap. J. Bact.*, 8 (3): 281; 8 (4): 381, 1953.
- [5] 濱野滿雄：大連衛生研究所彙刊，1 (2): 14, 1951.
- [6] 濱野滿雄：丙型副伤寒沙門氏菌的研究：I. 丙型副伤寒沙門氏菌的 Vi 抗原（未發表）。
- [7] 濱野滿雄：丙型副伤寒菌的自动免疫試驗（未發表）。
- [8] 安東洪次，中村义治：細菌学杂志，563: 33, 1943.
- [9] Kauffmann, F.: *Die Bakteriologie der Salmonella Gruppe* (1941).
- [10] Felix, A., Rainsford, S. G., and Stokes, E. J.: *Brit. Med. J.*, 1: 435, 1941.

STUDIES OF VI ANTIGEN OF SALMONELLA PARATYPHI C, III.

HAMANO M., SUN SHENG-KANG, CHAO JUN-LING, AND CHOU LI
National Serum and Vaccine Institute, Dairen

In this report, the virulence of the local strain of *S. paratyphi C*, the toxicity and the immunological tests with mice of the various kinds of vaccines prepared from this organism was carefully studied in mice, rabbits and in human beings. The results are as follows:

1. The virulence of the local strain of *S. paratyphi C* was very great: mice were killed by such small quantity of the organisms, as 10^{-7} to 10^{-8} mg by the intraperitoneal route of inoculation, or by oral administration of a loopful of the 24 hour culture material.

2. Of the various types of vaccines tested, the chromvaccine, prepared according to K. G. Ando was the least toxic.

3. In testing the immunizing potency of the various types of vaccine in mice, special attention was paid to the kind of vaccine, its immunizing dosage, frequency of inoculation, and especially the dosage of the infective agent during the challenge test.

4. By immunizing rabbits and human beings by 2 or 3 inoculations, only agglutinative response but no antibacterial antibodies could be demonstrated in the sera of the vaccinated individuals. The reasons for the discrepancy is not obvious.

表 6 家兔注射各种丙型菌苗后的凝集效价

菌 苗 号 数	剂 量	間隔 天数	家 兔 号	免 疫 前			免 疫 后		
				O	H	Vi	O	H	Vi
3 号	0.5, 1.0, 2.0	3	9	—	—	—	160	640	—
			10	—	—	—	>1280	>1280	160
3-2号	0.5, 1.0, 2.0	3	11	20	—	—	40	40	—
			12	—	—	—	80	320	80
3-3号	0.5, 1.0, 2.0	3	13	—	—	—	320	160	160
			14	20	—	—	80	320	—
4 号	0.1, 0.2, 0.2		19	—	—	—	640	>1280	40
			20	—	—	—	640	>1280	20
1 号*	0.5, 1.0, 1.0		17	40	40	40	640	>1280	640
			18	40	—	40	>1280	>1280	320

* 甘油琼膠上培养的菌所制备的。

試驗 16: 用上述血清注射小白鼠, 4 时 30 分鐘后, 用 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} 毫克微量菌感染。如表 7 所示, 因菌株毒力弱, 小白鼠不健康, 未获得明显的結果。

(五) 菌苗人体接种試驗

1. 反应: 首先用 4 名男性成年人(年龄为 46 岁、45 岁、36 岁、23 岁)做預备試驗。取 0.5 毫升五联菌苗接种于上膊皮下, 間隔一周后再接种 1 毫升。結果証明, 第 1 次接种后除局部压痛外, 未發現全身反应; 第 2 次接种后發現 1 人有局部压痛, 头痛, 微热 (37.5°C)。其他 3 人沒有反应。

根据上述反应观察結果, 对 64 人做了第一次接种試驗。接种后 45 人有局部發紅和压痛等輕度反应。發热 37.5°C 者 1 人, 38.2°C 者 1 人。具有头痛、腹痛、全身倦怠等全身反应者 3 人。第 2 次接种的 48 人中, 38 人具有輕度的發紅和压痛等局部反应; 37.5°C — 38.1°C 發热者 3 人; 具有头痛、倦怠等全身反应者 6 人。

2. 凝集素的形成状态: 如表 8 所示, 虽被接种者的个体差异, 从而凝集素的形成状态也不同, 但是, 接种后凝集素較接种前均有提高。

3. 抗菌性抗体的形成状态: 試驗方法和家兔血清抗菌性抗体的試驗相同。結果如表 8 所示, 效果不明显。