

口服及注射痢疾噬菌体在小白鼠各臟器內之分布与留存時間的觀察*

司 穉 东 于 智 丽

(大連生物制品研究所)

痢疾噬菌体口服后,在人体除可由粪便排出外,并可由尿、乳及唾液排出^[1],因此可以推想,口服噬菌体可以由腸道吸收,經血流达腎臟、乳腺及唾腺。为了了解噬菌体口服后,它們在体内各器官的分布情形,作者用小白鼠进行了試驗觀察。又进一步为了比較一定量及不同量噬菌体在各臟器內留存的时间,予小白鼠皮下注射噬菌体进行了觀察。茲將試驗方法及結果报告如下。

方 法

噬菌体系用本所制出之福氏与志賀氏混合的多价痢疾噬菌体,用于小白鼠口服及皮下注射。小白鼠系由本所动物室供用,体重約 15—18 克左右,領来后由其中任意选出 5 只解剖,檢查血液、肝、脾、腎、肺、腦、腸及粪便,均未發見痢疾噬菌体。

小白鼠口服噬菌体的方法:用飼食的方法,即先将小白鼠停食一夜(約 17 小时),次日以烘干之餅餌浸于噬菌体与 5% 小苏打水等量混合液中,俟餅餌吸收了相当量的液体之后,取出飼喂小白鼠,此时小白鼠乃几乎同时立即进食,当时記錄时间,做为試驗之开始时间。飼食 3, 5 小时后,及 1—22 日后,逐日剖取各臟器及血、粪标本檢查。如此飼服之噬菌体量,每只小白鼠估計約为 0.2—0.5 毫升,但因無法控制,故不准确,因此在比較留存时间与服用量的关系时,乃用皮下注射法。

皮下注射噬菌体,共分二組:一組注射 0.2 毫升,一組注射 0.4 毫升,注射后逐日剖取标本檢查。

由各臟器及标本檢查噬菌体方法:以上三組,每次每組各取小白鼠 2—3 只,以指用力压迫其延髓部位致死,于無菌手术下剖取其肝、脾、腎、腦、肺、小腸(截取一段,剖开后以鹽水洗滌数次),并由心臟取血,由結腸取便。臟器及标本取出称重后,于無菌乳鉢

* 1956 年 4 月 3 日收到。

研碎。加入無菌肉湯培养基,使成 5% 的悬液,檢查其中噬菌体。糞便及血液亦用肉湯培养基做成 5% 的悬液檢查。以上解剖所用的器械,每剖取一臟器換用一次。

檢查噬菌体是用瓊膠平板法,平板适当烘干后,以曲玻璃棒均匀塗布曾于肉湯培养基中培养 3—4 小时的菌液(菌株系制造該噬菌体用之福氏痢疾菌一株,噬菌体对该菌之裂解效价为 10^{-8}),俟平板上菌液干后,以毛細吸管吸取上述各标本悬液之上清液,加一滴于平板上,干后于 37°C 温箱培养,次日观察結果,有噬菌体时,可看出明显的裂解空斑,如噬菌体量多时,滴加悬液处,可完全不見有菌生長。

本試驗进行中,曾注意避免小白鼠受染試驗室噬菌体的各种机会,小白鼠于飼食噬菌体后,立即換用新容器隔离,飼料亦隔离專用。

結 果

小白鼠口服噬菌体 3 及 5 小时后,及 1—22 日后各解剖 3 只,分別檢查各标本,檢查結果列如表 1。

表 1 口服痢疾噬菌体在小白鼠各臟器內之分布及留存時間(日)

檢 查 時 間	標 本	血 液	肝	脾	腎	肺	腦	腸	糞 便
3 小 時		2	1	0	1	1	0	3	3
5 小 時		3	1	0	1	3	0	3	3
1 日		2	1	1	1	1	0	1	3
2 日		2	1	1	0	1	0	1	3
3 日		1	1	1	0	0	0	0	1
4 日		2	0	1	0	0	0	0	0
5—22 日		0	0	0	0	0	0	0	0

注: 表中数字为解剖 3 只小白鼠中,噬菌体檢出陽性的小白鼠数。

由表 1 可看出,口服噬菌体 3 小时后,在血中已可出現噬菌体,同时在肝、腎、肺亦可檢出,唯在平板上只为少数孤立的裂解空斑。噬菌体在血中可留 4 日,肝为 3 日,肺为 2 日,腎于 1 日后已不見,腦中則終未檢出噬菌体,脾于 1 日后始檢出,可留 4 日。糞便与腸中檢出噬菌体量較多,在平板上滴悬液处呈無菌空白,但在糞便中第四日已不能檢出。

皮下注射噬菌体組,每日解剖 2—3 只,采取标本后混合研磨做成悬液檢查。注射 0.2 及 0.4 毫升組,1 日后于血、肝、脾、腎、腸、肺及腦均可檢出噬菌体,糞便中則終未檢

出。噬菌体繼續在各臟器标本檢出的時間列如表 2。

表 2 皮下注射噬菌体在小白鼠各臟器檢出時間*(日)

注 射 量 \ 标 本	血 液	肝	脾	腎	肺	腦	腸	糞 便
0.2 毫升	9	12	27	21	23	4	25	—
0.4 毫升	29	17	37	29	26	4	25	—

* 注射 0.2 毫升組共觀察 27 天,注射 0.4 毫升組共觀察 37 天。

由表 2 結果可以看出,注射 0.4 毫升噬菌体,其各臟器內留存之時間,較注射 0.2 毫升長。尤其在血液內留存之時間相差甚多,注射 0.4 毫升有的于 29 日后尚可檢出,但并不是 29 日內每日解剖者均可檢出,其在 10 日內者,每日均可檢出,10 日后者实际只第 17、24 及 29 日檢出,其余日期未檢出。腦內噬菌体兩組只第 4 日各檢出一次,其他臟器一般可連續檢出。

噬菌体在各臟器存在的量,以脾臟最多,每次檢查于平板上滴标本悬液处,均呈完全無菌空白,或多数融匯的裂解空斑,而且从开始到最后檢查的時間內(沒有繼續再做更多日期的觀察),几乎沒有減少。其次为腎、肺及肝臟,但一般是开始时較多,逐漸減少,以至消失。

注射噬菌体,在糞便中一直未發見噬菌体。

討論与总结

1. 由本試驗可以証明小白鼠口服之痢疾噬菌体,大部分动物迅速即由腸道吸收进入血液(3 小时),而 5 小时后檢查 3 只小白鼠,全部可在血中發現噬菌体。同时并可迅速的出現于肝、腎、肺等器官,但脾臟似出現較晚,腦中則未發現。由腸組織檢出較多的噬菌体,但因系口服,故結果未必可靠。

2. 用飼食法口服噬菌体,因食入之噬菌体量無法控制,故無法知道在各臟器內噬菌体留存的時間与噬菌体量的关系,因此用皮下注射的方法做了觀察,根据檢查結果,認為注射量較大,其在血中及肝、脾、腎、肺等臟器內留存時間,似亦較長。

3. 在各臟器之留存時間,由注射組觀察,都是以脾臟最久,在我們全部觀察的時間內,一直都檢出噬菌体,因此在脾臟中留存的時間,注射 0.2 或 0.4 毫升最少可达 27 或 37 日,估計还应較長。其次为腎及肺,再次为肝臟。

在各臟器內噬菌体留存的量,也以脾臟最多,以腦中最少。

4. 噬菌体何以在脾臟中留存時間最久,量最多,以及各臟器对長时存在于其中的噬

菌体,及噬菌体对有机体有何影响,均有待进一步的研究。

5. 本試驗中各臟器血液未曾灌注洗滌是为缺点,但根据表 2 結果,血液中噬菌体留存时期之久暫与在各臟器內之時間,似無显著影响。

6. 二注射組在全部观察期間內(27 日、37 日),粪便中均未發現噬菌体,口服組第五日以后至第 22 日,粪便中亦均未發現噬菌体,可以說明小白鼠各臟器內之噬菌体,不是显著的皆由粪便排出,也說明在試驗期間內,并未因飼食而有痢疾噬菌体进入体内。

在本實驗中,随侍同志参加工作,特此志謝。

参 考 文 献

[1] 司俾东、于智丽:微生物学报, 3(2) 159—168, 1955.

THE DISTRIBUTION AND PERSISTENCE OF DYSENTERY PHAGE AFTER ORAL AND PARENTEROL ADMINISTRATION IN WHITE MICE

SZE CHIH-TUNG

Vaccine and Serum Institute, Dairen

Experiments with dysentery phage showed that after oral and parenterol administration, it quickly entered the blood stream of the inoculated animals, and could be found in the blood of all the animals at the end of five hours. It was also found in all the organs of the body except the brain. The largest amount was found in the spleen, in which it persisted for at least 37 days. The next organs in which large amounts of phage accumulated are kidneys and lung, while the liver occupied a third place.

The administered phage did not appear in the feces of the inoculated animals throughout the period of observation which is thought to indicate that the excretion of the phage was not by the alimentary tract no matter whether it was given by the enterol or parenterol routes.