

# 提高抗鼠疫噬菌體血清中和作用的研究

田 文 琪

(福建省鼠疫防治所)

文獻中報導抗噬菌體血清對其噬菌體間的中和作用,由於添加滅活噬菌體(紫外綫照射或加熱滅活者)而有所提高<sup>[1]</sup>。我們也曾經應用加熱滅活的鼠疫噬菌體來促進抗鼠疫噬菌體血清的中和效價,結果不够顯著。但在同時我們却發現了正常豚鼠血清有顯著促進抗鼠疫噬菌體血清中和作用的能力,並進一步證明其他種正常血清也具有同樣性質。這一結果除理論外在實踐上也具有很大意義,故願提出介紹。

## 實驗材料及方法

(一)鼠疫噬菌體株:係由前東北鼠疫防治院分讓,在我們實驗室內傳代保存其效價在 $10^{-10}$ 左右。

(二)抗鼠疫噬菌體血清:供本試驗用的抗血清有二種,一種是用家兔免疫製備的,另一種是我們初次用山羊代替家兔試製成功的。前者按前文<sup>[2]</sup>報告方法製成;後者製法也與家兔基本相同,惟免疫的噬菌體則按體重比例計算,並增加數個注射程。以上兩種血清效價,經過測定,基本相同。

(三)供試驗為促進噬菌體血清中和作用的物質:

1. 加熱滅活的鼠疫噬菌體(100°C 30 分)。
2. 正常的動物血清:豚鼠、家兔、山羊等新鮮血清在-20°C 冷凍保存數天者,血清內不加任何防腐劑。

(四)促進中和作用的實驗方法:

抗噬菌體血清用肉湯(pH 7.0,完全澄清透明者)稀釋為1:20、1:40、1:80...1:81920,分別各取0.5毫升,放入一系列試管內,加等量噬菌體( $10^{-5}$ 肉湯稀釋液)混合,同時再加入0.5毫升的正常血清(用肉湯稀釋為1:10者),即置37°C 孵箱內作用5小時或24小時,然後取出,各管加入等量新鮮鼠疫菌液0.1毫升,繼續在37°C 培養24小時,觀察初步結果,再從各管做次培養,最後確定有無鼠疫菌生長。對照組以肉湯代替正常血清,其他相同。

## 實 驗 結 果

首先以加熱滅活的鼠疫噬菌體或新鮮豚鼠正常血清,分別加入抗鼠疫噬菌體血清和鼠疫噬菌體的混合液中,觀察中和效價的變化。結果證明加熱滅活噬菌體組和對照組相近,沒有表現什麼差別。而添加豚鼠正常血清組,抗噬菌體血清的中和效價,較對照組顯著提高。經過多次反覆試驗,均得同一結果。最後另換一批新鮮的免疫血清,再次試驗

時，結果更爲顯著。

在確定了以上的初步結果後，更取家兔和山羊等正常血清來檢查，發現和豚鼠正常血清，有同樣的促進作用，其結果見表 1。

表 1 正常血清對抗鼠疫噬菌體血清中和效價的促進作用

促進物質	抗鼠疫噬菌體血清稀釋倍數									
	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480	1:40960	1:81920
豚鼠正常血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
山羊正常血清	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
家兔正常血清	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
對照(肉湯)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

註：+ 鼠疫菌生長，即噬菌體被中和，失去作用；- 無鼠疫菌生長，即噬菌體未被中和，仍有作用。

此外又證明正常血清(豚鼠)經過 56°C 30 分滅活後，仍有促進抗噬菌體血清中和效價的作用，與未加熱的新鮮豚鼠血清顯示同等的程度，說明其非補體的性質。

顯示了正常血清有促進噬菌體抗體中和作用的能力後，進一步研究在不同溫度下，不同的作用時間和這種促進作用的關係。我們選用 37°C (普通暖箱溫度)和 4°C (普通冰箱溫度)做了比較。結果證明這兩種不同溫度作用 5 小時或 24 小時，基本上是相同的，沒有顯著差別。惟作用 24 小時較作用 5 小時爲高，見表 2。

表 2 溫度與時間對抗噬菌體血清中和效價的影響

作用溫度	作用時間	抗噬菌血清中和效價	
		第一次試驗	第二次試驗
37°C	5 小時	1:5120	1:10240
37°C	24 小時	1:40960	1:40960
4°C	5 小時	1:5120	1:10240
4°C	24 小時	1:10240	1:40960

## 討 論

Jerne 氏<sup>[3]</sup>證明正常血清內有噬菌體 T<sub>4</sub> 的少量特異性抗體。但我們在豚鼠、山羊、家兔等正常血清稀釋爲 1:10 時，未證明有鼠疫噬菌體的特異性抗體存在。不過當正常血清(1:10)加入抗噬菌體血清及其抗原(噬菌體)的中和反應中時，却顯出一種促進作用。並且證明這種作用不是一種補體作用的性質，因爲正常血清加熱滅活後和未加熱者具有同等的促進程度。又證明在有正常血清參加的條件下，抗噬菌體血清及其噬菌體在 4°C 和 37°C 的作用溫度，基本相同。從理論上說，這個結果給實際應用上帶來有利條件，可以把含有鼠疫噬菌體的材料，首先加入抗噬菌體血清和正常血清的肉湯培養基內，置冰箱內作用一定時間，除去噬菌體的作用，而雜菌在這種溫度又不利於生長，對鼠疫菌的分離可能是有利的，能否應用到實際上，有待研究。

利用山羊製造抗鼠疫噬菌體血清，獲得成功。它有如下的優點。因爲山羊飼養較馬方便，用費低廉，符合一般實驗室條件。雖然山羊血清量較馬爲少，但較家兔爲多，亦足供

一般實驗室的需用。製造技術簡單，血清中和效價可達到與家兔製造者的同等滴度，加入正常血清可使中和效價達到 1:40960 倍。最後停止免疫後，抗體維持時間較長，經過兩個月抗體雖有降低，如再免疫幾個循環，仍可迅速恢復原來的效價。

## 結 論

(一)利用山羊代替家兔和馬製造抗鼠疫噬菌體血清是可能的，其中和效價，可達到與家兔血清相同的中和效價。

(二)各種動物如豚鼠、家兔、山羊等正常血清，有促進抗鼠疫噬菌體血清中和作用的能力。正常血清這種促進作用，在 4°C 和 37°C 不同溫度條件下基本相同，並證明其為非補體的性質。

附誌 本文蒙本所翁文淵所長和省防疫站于恩庶醫師指導，特此致謝。

## 參 考 文 獻

- [1] 長野泰一、竹內祥：日本細菌學雜誌，8：23—25，1953。
- [2] 于恩庶等：抗鼠疫噬菌體血清的研究，中央衛生部防疫司衛生防疫資料彙編第四輯，1955年。
- [3] Jerne, N. K.: *J. Immun.*, 78: 209—216, 1956.

# STUDY ON THE ENHANCEMENT OF THE NEUTRALIZING POWER OF ANTIPLAGUE-PHAGE SERUM

T I E N W E N - C H I

*Plague Prevention Institute, Fukien*

An antiplague-phage serum was successfully obtained from an immunized goat, the titre of which is comparable to that obtained from the immunized rabbit.

If normal animal serum is added to the mixture, consisting of anti-plague phage serum and the phage, the neutralizing ability, in terms of titre, of the immunized serum will be greatly increased.