

關於白色念珠菌感染的實驗研究

一. 抗生素對小白鼠念珠菌感染的影響

張 永 聖

(大連醫學院皮膚科真菌實驗室)

近年來抗生素療法在臨床上有着顯著的發展，然而同時由於抗生素治療而引起的各種不利反應也不斷增加，其中抗生素治療後續發白色念珠菌的感染問題，早已引起醫學工作者的注意^[1-5]。但關於念珠菌症的發病機轉問題，則有各種不同的學說，迄今尚未有定論。

作者^[6]前曾在試管內實驗證明青霉素、鏈霉素、合霉素、金霉素等數種抗生素，在血中濃度的範圍內對白色念珠菌的發育，未有任何直接促進作用或抑制作用，因此認為關於抗生素與念珠菌症發病的關係，頗值得進一步的探索。但作者又認為在念珠菌症發病機轉探求之前，應先闡明在實驗動物身體內，抗生素對念珠菌感染究竟有無影響？且各種抗生素間影響的差別如何？待將這些問題明確後，方始能進行發病機轉的探求。作者曾使用對白色念珠菌具有感受性的實驗小白鼠，進行上述意圖的實驗，現將初步所獲得的結果報告於本文中。

實驗材料及實驗方法

1. 供試菌株：係本實驗室內保存的白色念珠菌（乃由肺部疾患使用抗生素後續發白色念珠菌感染病例分離的菌株）。

2. 實驗用抗生素：結晶青霉素鈉鹽（簡稱 PC），鏈霉素（簡稱 SM），金霉素（注射製劑簡稱 AM），土霉素（注射製劑簡稱 TM），合霉素（注射製劑簡稱 SyM）。

3. 實驗用動物：為本院動物室內飼養的小白鼠，體重平均 12—13 克，不拘性別；使用前一週內分別飼養，確定為健康而無任何疾患後，即使用。

4. 接種菌懸液的製作：蒐集沙伯氏培养基上 48 小時生長白色念珠菌菌落，置入滅菌離心器用玻璃管內，加以滅菌生理鹽水，製成菌懸液。經 10 分鐘 2,000 RPM 離心沉澱後，除去上清液，重新加以生理鹽水。如斯反復洗滌 3 次後，對所獲念珠菌細胞 0.4 毫升，加滅菌生理鹽水 2.1 毫升製成菌懸液，稱之原液。原液每 0.1 毫升中含有細胞數約為 5.8×10^6 。其次將原液用生理鹽水稀釋到 2 倍、5 倍、10 倍、50 倍、100 倍等度，以便接種用。

5. 實驗方法：先將已準備的小白鼠，按所使用抗生素的類別各分為 5 組，每組又分為 5 羣，每羣內有小白鼠 10 頭（在圖中標誌為 PC2×羣，PC5×羣，PC10×羣，PC50×羣，PC100×羣，其右下角的數字及“×”符號，代表接種菌稀釋的倍數）。另外單獨投與各種

抗生素而不進行菌接種者 5 羣及單獨進行菌接種而不投與抗生素者 5 羣作為對照組。

抗生素投與及菌接種方法：實驗方法分為兩種。第一種：每組實驗鼠在接種前後各連續 3 天每日 1 次腹腔內注射各種抗生素，即 PC 每次 2,000 單位，SM 每次 1,000 r，AM 10mg/ml 溶液每次 0.3 毫升，TM 10mg/ml 溶液每次 0.3 毫升，SyM 10mg/ml 溶液每次 0.4 毫升。如此連續 3 次後使用不同濃度菌稀釋液進行腹腔接種 0.25 毫升，接種後同樣投以各種抗生素繼續 3 次後觀察經過。第二種：各種抗生素的使用量與各種不同濃度菌懸液 0.25 毫升混合後，經腹腔接種法 1 次注入。

檢查方法：在接種後每日觀察小白鼠並記載其死亡數及時間。對死亡鼠進行解剖觀察，並採取心血、腹腔液各一白金耳接種沙伯氏培养基上進行培養。觀察期間為接種後 15 天。迄第 15 日而未死亡者，則捕殺解剖檢查。

實驗結果

一、實驗鼠按第一種方法在接種前後分別投與各種抗生素，並按不同稀釋濃度的菌懸液 0.25 毫升進行接種。各鼠在觀察期間內的死亡數目、死亡時間及解剖檢查培養情況與對照組相互比較所獲結果見圖 1。

由圖 1 可知 PC 組的死亡率比較對照組增高，對照組內 $10\times$ 、 $50\times$ 、 $100\times$ 稀釋菌液接種羣在觀察期間內，始未有死亡者，且殺死後的培養檢查結果大部分為弱陽性。同時對照各鼠的平均死亡時間也比較 PC 組為不同程度的延長。SM 組的死亡率，平均死亡時間與對照組比較的結果，始與 PC 組相近似，未有顯著差別。但在 AM 組的死亡率，平均死亡時間，比較對照組呈顯著的不同，即在對照組除 $2\times$ 稀釋菌懸液接種羣的死亡率為 70%，平均死亡時間為 8.7 日。 $5\times$ 稀釋菌懸液接種羣的死亡率僅為 20%，平均死亡時間約為 11.5 日，其餘 $10\times$ 、 $50\times$ 、 $100\times$ ，稀釋菌懸液接種羣，在觀察期間內均未有死亡。而 AM 組的 $2\times$ 、 $5\times$ 、 $10\times$ ，稀釋菌懸液接種羣各呈 100% 的死亡率，平均死亡時間各僅為 1.2 日，1.0 日，及 3.2 日，與對照組比較可知其死亡率有顯著上昇及平均死亡時間有顯著縮短的傾向。其他 TM 組、SyM 組各羣亦均比對照組各羣呈不同程度的死亡率上昇，且平均死亡時間的縮短傾向。

但在單獨使用各種抗生素腹腔注射，而未進行菌懸液接種的各羣在觀察期間內並未有死亡及其他病的狀態出現。

觀察期間內死亡各鼠在死亡後，立即解剖並用肉眼檢查病變情況，並採取心血、腹腔液進行塗抹培養，觀察有無白色念珠菌。其中除去少數鼠在死亡後被它鼠咬傷，以致無法檢查者 4 例外，全部解剖數共為 156 例，其心血培養陽性為 92% 而腹腔液培養陽性為 100%。此外在觀察期間內並未死亡，而迄第 15 日捕殺鼠例數 90 例中，心血培養祇有 8 例陽性，腹腔液培養祇有 18 例陽性。

進一步分析各實驗鼠在接種後 1 日以內死亡數為 55 例，佔全死亡例數 160 例（內有未進行剖檢者 4 例）的 34.3%。接種後第 2 日死亡數 12 例，佔全死亡例數 7.5%。第 3 日死亡數 9 例，佔全死亡例數 5.6%。第 4 日死亡數 12 例（佔全例數 7.5%）。第 5 日死亡數 8 例，佔全死亡例數 5%。以上各死亡例的心血及腹腔液培養白色念珠菌均為陽性，同時在腹膜、腎、肝及膈膜等處均見有程度不同的病灶及淡黃色菌顆粒的散在。其他在接種後

表 1 用第一種方法注射抗生素後各組小白鼠死亡率之顯著性測驗
(差異測驗, t -test)

抗 生 素 組 別	死 亡 頭 數	死 亡 率 (%)	比 率 差 異 標 準 誤	t 值
PC	25	50	± 8.92	3.59
SM	21	42	± 8.85	2.71
AM	47	94	± 6.38	11.91
TM	33	66	± 8.63	5.56
SyM	34	68	± 8.57	5.83
對 照	9	18	標 準 誤 差 5.43	

由表 1 可知各組皆為 t 值 > 2.5 , 呈現顯著的差別, 因此可知各實驗組小白鼠死亡率與對照組死亡率的差別很少可能由於機會的關係所造成。

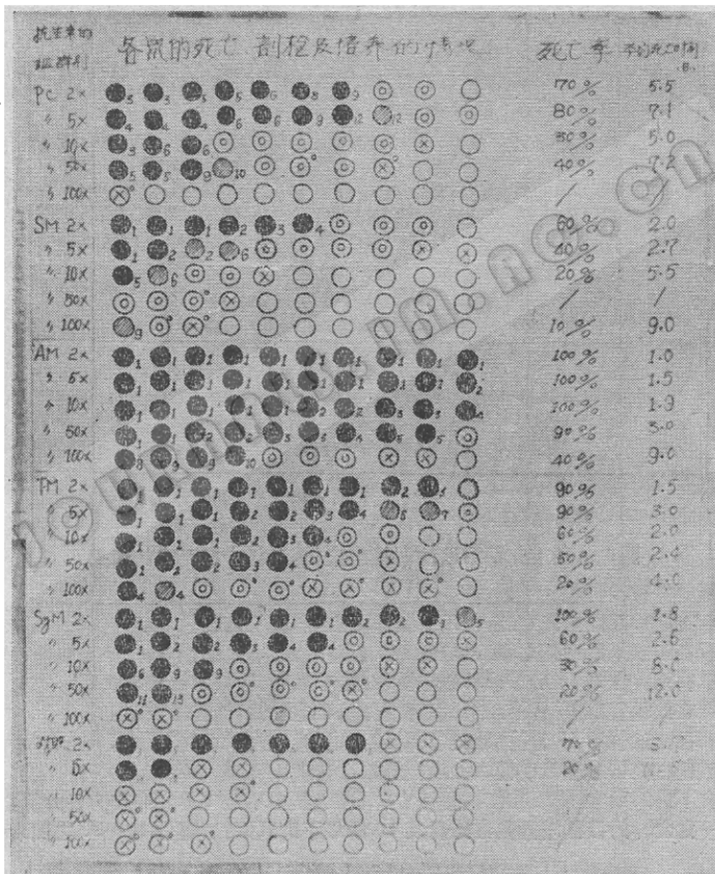


圖 2 用第二種方法注射抗生素後, 各組小白鼠死亡情況

圖 2 中表示 AM, TM, SyM 與各種不同濃度稀釋白色念珠菌懸液 0.25 毫升混合注入實驗小白鼠腹腔中, 其各種不同注射菌量與死亡率, 平均死亡時間的關係, 並與對照組比較觀察。結果接種菌量愈少, 則死亡率愈為低下, 平均死亡時間亦呈延長傾向。此種現象在 AM 組內各羣的表現, 比較對照組各羣為明顯的不同, 即在不加抗生素的對照實驗, $5\times$ 菌稀釋懸液接種羣的死亡率僅為 20%, 而在添加 AM 時則為 100% 的死亡率, 又其平均死亡時間於對照羣為 11.5 日, 而 AM 添加羣僅為 1.0 日。由此可知 AM 添加組的

死亡率明顯上昇，且平均死亡時間亦顯著縮短。至於 PC、SM 添加組亦均比較對照組，其死亡率上昇及平均死亡時間縮短；但與 AM、TM、SyM 各種抗生素添加組相互比較時，則有一定程度上的不同。另外單獨使用各種抗生素注射的對照組，在觀察期間內，各實驗鼠未有死亡或其它任何變化。

以上實驗各鼠與對照組相比較，除死亡率，平均死亡時間有懸殊的差別外，如圖中所表示各鼠的剖檢情況及心血、腹腔液的培養結果，亦有明顯的不同。

觀察期間內死亡鼠的全剖檢例數 130 例中，其腹腔液白色念珠菌培養陽性率為 100%，心血培養陽性率為 92.3%。在 1 日以內死亡鼠數在 130 例中為 51 例，佔 39.2%，其中心血培養陽性率為 100%。第 2 日死亡鼠數為 18 例，佔全部死亡鼠數 13.8%，其心血培養陽性者 17 例，佔 94.4%。2 日以後的死亡數目則逐漸減少。因此可知實驗鼠的死亡率以 1—2 日內為最高，以後則逐漸減少。此外 120 例殺死鼠的心血培養陽性者 48 例，腹腔液培養陽性者 68 例，比較分開注射有增強的傾向。

此第二種方法注射抗生素後各組實驗鼠的死亡率與對照組相互比較進行顯著性測驗，所獲得結果如表 2。

表 2 用第二種方法注射抗生素後各組小白鼠死亡率之顯著性測驗
(差異測驗 t -test)

抗 生 素 組 別	死 亡 頭 數	死亡率(%)	比率差異標準誤	t 值
PC	22	44	± 8.88	2.93
SM	13	26	± 8.25	0.97
AM	43	86	± 7.32	9.29
TM	31	62	± 8.04	5.47
SyM	21	42	± 8.85	2.71
對照	9	18	標準誤 ± 5.43	

由表 2 中可知除 SM 組 t 值 < 2.0 外，其餘各組皆為 t 值 > 2.5 ，呈顯著差異，具有統計上的意義，很少可能由於機會的關係所造成。

討 論

關於念珠菌症的發病機轉，在各學者之間仍然存在着各種不同的意見。例如 Foley^[7]、Moore^[8] 等主張抗生素具有直接促進白色念珠菌的生長作用，Wood 氏等^[3] 則主張抗生素可間接的引起菌叢替代現象 (Substitution phenomenon) 的出現。即與白色念珠菌共存且爭奪營養物的菌叢，因對抗生素敏感而被阻止增殖，因此造成對抗生素不敏感的念珠菌屬獲得充分的營養，繁殖旺盛，引起感染。Harris^[4]、樋口氏等^[9] 則認為與維生素 B 缺乏有關，即由於抗生素治療致使腸內對維生素 B 複合體合成有關的菌叢被抑制，造成缺乏引起粘膜障礙及生物體的抵抗力減弱等而產生本症。Seligmann 氏^[10] 則認為抗生素使用後，減低生物的防禦感染能力，而引起白色念珠菌感染。Boger 氏^[11] 則謂抗生素使用後，念珠菌症的增多，與白色念珠菌毒力加強有關。由此可知關於抗生素治療後續發念珠菌感染的發病機制，尙未能完全闡明。

從作者按上述兩種實驗方法所獲得的實驗結果來看，不得不認為常用的幾種抗生素

對白色念珠菌的感染,在作者的實驗條件下,具有明顯的促進作用。雖然這些實驗動物的死亡率及平均死亡時間,可依抗生素的種類不同,但亦可看出都比較單獨使用菌懸液接種羣的對照組的死亡率為增高及平均死亡時間為縮短。且根據統計學的顯著性測驗的結果,除第二種方法中 SM 組外,其他各抗生素注射組的 t 值均 >2.5 。因此可知其死亡率的差別很少可能由於機會的關係。

作者在前次試管內實驗結果,曾證明抗生素對白色念珠菌未有明顯的直接增殖促進作用,同樣秋菴氏^[12]等也認為抗生素對白色念珠菌未有直接增殖的促進作用。但根據作者此次的實驗結果,可知抗生素在身體內對念珠菌症的發生,具有一定的促進作用。且在兩種不同方法實驗的結果中,AM、TM 的 $2\times$ 、 $5\times$ 、 $10\times$ 菌稀釋液,接種各羣鼠的死亡率及平均死亡時間,略為一致,而兩者均比較對照組的死亡率顯著增高及平均死亡時間傾向縮短。其中在 1 日以內死亡鼠內,有 10 餘例為在接種後 5—10 小時以內死亡,且其心血培養亦大多數僅為中等陽性。根據此種在短期間內即行死亡的現象來看,如果單獨使用菌叢的替代現象,或維生素 B 缺乏說,加以解釋,則可感覺到有許多不足之處。當然在這同時尚應考慮到生物體抵抗力的變化因素。

Seligmann 氏^[10]實驗證明非病原性白色念珠菌的菌株與 AM 同時注入小白鼠腹腔內可迅速引起致死的全身性感染。又在使用 AM 以外的抗生素進行同樣的實驗中,認為除了 AM、TM 外,其他抗生素則未有對白色念珠菌感染的促進作用。堂野前氏也同樣認為 Tetacycline 系以外的抗生素對白色念珠菌感染未有任何影響。這些結果雖與作者的實驗結果稍有不同,可能與實驗動物的個體差異,抗生素投與量的不同,及使用白色念珠菌株的不同有關。Salvin 氏^[13]同樣曾認為使用白色念珠菌的病原性,實驗白鼠的年齡及感染方法等均可影響到動物實驗的結果。綜括以上的情況來看,身體內念珠菌症的發病機轉,應從多方面去加以考慮。

總 結

作者使用體重約 12—13 克的小白鼠,分別按不同方法投與青霉素、鏈霉素、金霉素、土霉素、合霉素,及白色念珠菌接種,進行觀察各種抗生素與念珠菌症發病的關係,初步獲得以下的結果:

1. 兩種不同實驗方法所獲到的結果極為相似,即其實驗組小白鼠的死亡率及平均死亡時間頗為接近,但都比對照組的死亡率明顯增高,平均死亡時間亦顯著縮短。因此可證明出抗生素對小白鼠念珠菌感染,具有程度不同的促進作用。

2. 實驗結果證明,金霉素及土霉素的作用為最強,合霉素次之,青霉素及鏈霉素則較弱。

雖然觀察到上述結果,作者認為生物體內念珠菌症的發病機轉,不可能用單一的因子可以解釋,應對生體的其他複雜因素加以考慮。

參 考 文 獻

- [1] 陳雅芬、柏均培：中華兒科雜誌，(1):12, 1957.
- [2] Morris, J. 等：J. Invest. Dermatol., **18**: 247, 1952.
- [3] Woods, J. W. et al.: J. A. M. A., **145**: 207, 1951.
- [4] Harris, H. J.: J. A. M. A., **142**: 161, 1950.
- [5] 張永聖等：中華兒科雜誌，(3): 205, 1957.
- [6] 張永聖：桂皮乙醚抽出物水溶部分抗白色念珠菌作用的實驗研究，三，抗生素對桂皮乙醚抽出物抗白色念珠菌作用的影響，中華醫學會旅大分會 1957 年年會論文摘要(印刷中)。
- [7] Foley, G. E. and Winter, W. D.: J. Inf. Dis., **85**: 268, 1949. (據日本細菌學雜誌，**9**: 5, 1954).
- [8] Moore, M.: J. Lab. Clin. Med., **37**: 703, 1951. (據日本細菌學雜誌，**9**: 5, 1954).
- [9] 樋口謙太郎、岩崎博：日本內科學會雜誌，**42**: 85, 1954.
- [10] Seligman, E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **79**: 481, 1952.
- [11] 查良鍾：中華醫學雜誌，**40**: 23, 1954.
- [12] 秋菴朝一郎等：日本細菌學雜誌，**9**: 5, 1954.
- [13] Salvin, J. B. 等：J. Inf. Dis., **90**: 2, 1952.

EXPERIMENTAL STUDIES ON CANDIDA INFECTION

I. INFLUENCE OF ANTIBIOTICS ON CANDIDA INFECTION IN MICE

CHANG YUN-SHENG

(Department of Dermatology, Dairen Medical College, Dairen)

The wide-spread use of chemotherapy in recent years has brought on a number of cross infections, especially that due to candida. Personal observations and a number of reports in the literature indicate that proliferation of *C. albicans* may occur in patients treated with penicillin, streptomycin, aureomycin, terramycin and syntomycin. Not only is there a numerical increase of the organism in the oral cavity, intestinal or urogenital tract etc, but localized or disseminated disease with serious and at times fatal consequences may develop. At present there still exists controversial opinions on the mechanism of the infection.

The influence of antibiotics on candida infection was experimentally examined by the author to elucidate the mechanism concerning the development of infection. In one group of mice *C. albicans* was inoculated in varying quantities together with antibiotics into the peritoneal cavity, while in another group, antibiotics and *C. albicans* were administered separately at different time intervals. The survival and mortality rate of infected animals were recorded, and the conditions found on post-mortem examination were described. The heart blood and the peritoneal fluid were cultured for the demonstration of the candida. The results of these two experiments were as follows:

1. The results of two groups were similar, the antibiotics invariably aggravated candida infection in mice with an increase in mortality rate and in reduction of survival time.
2. Aureomycin, terramycin, and syntomycin exerted the greatest effect and they were followed by penicillin, and streptomycin in order of effect of aggravation.
3. The experimental mice sometimes succumbed in a very short time after the inoculation, and samples of heart blood generally gave a positive candida culture.

This indicates that the mechanism of the infection cannot entirely be attributed to a single factor and the other factors must also be considered.