

猪的炭疽檢驗

丁錫康 劉雪園 戚斯馨

(上海市衛生防疫站)

炭疽病是炭疽桿菌所致的急性發熱敗血性傳染病,它對牲畜的威脅性是很大的,而且也可傳染給人。人類常與牲畜或畜產品接觸者如農民、牧場工人、宰牲廠工人、製革和羊毛或猪鬃整理工人等往往可被感染,其嚴重者呈敗血型,可以致死。

動物的炭疽病,主要通過消化道而發生。肉食獸及混食獸雖也可感染,但易感性不强^[1],所以猪的炭疽病沒有像食草獸那樣嚴重,其呈獸疫情況出現者更為少見。Haldsz氏曾報告一次流行,有121只猪飼養於數年前曾埋葬過炭疽病死牛的墓地上發生炭疽病,內中有68只死亡;Thrombitás氏報告有14只猪因吃了炭疽牛的肉而致完全死亡^[2]。

猪感染炭疽後,其主要病變局限於咽喉部^{[2][3]},腸胃及肺型炭疽均不多見。

Hutyra氏等報告許多慢性的炭疽病牲畜在屠宰場中宰殺前,有時並無不良的健康狀況可見^[2]。在此次檢驗中絕大部分的標本也來自此種情況的猪,生前非但體溫正常,咽、頸部外表也無特殊異樣變化。

材料與方法

自1954年6月至同年年底止,共收驗可疑為炭疽的猪局限性病理標本73例,根據條件的可能自同一猪身採集顎下淋巴結、頸淋巴結、咽背淋巴結、扁桃腺、咽喉組織、腸系膜淋巴結及脾臟等數件標本。採集的標本分別盛置滅菌的培養皿中(即同一猪身的也不混合放置),送化驗室檢驗。

送驗的標本主要根據直接塗片、培養分離及動物試驗予以證實。如直接塗片檢出有疑似的炭疽桿菌(所謂炭疽桿菌的“菌屍”或“菌影”),而培養結果為陰性者,則除以組織浸出液進行動物試驗外(如培養為陽性者,則以肉湯純培養進行動物試驗予以證實),再進行Ascoli氏沉澱試驗。

由於標本外表常受嚴重的雜菌污染,故在操作之先應在標本的外表用燒紅的刮刀予以燙灼,或在75%的酒精中浸泡適當的時間(浸泡時間視標本大小而定)。然後用消毒的剪刀自滅菌的部位挖取深層的組織一塊,用鑷子夾住塗擦鮮血瓊脂。因炭疽桿菌在猪的局限病灶中存在不多且不均勻,故在塗擦時應多用幾個不同的組織切面,在血瓊脂上來回塗擦,然後再用鉗耳密集的劃開進行分離。但扁桃腺因雜菌污染極為嚴重,且大多是革蘭氏陰性桿菌,有時雖經消毒處理仍見效不大,故在血瓊脂上的塗擦面不宜太大,以免影響炭疽桿菌的檢出。

接着將在血瓊脂上塗擦過的病理材料作直接抹片3張,進行革蘭氏染色、Wright氏

染色及 Olt 氏莢膜染色*。在這三種染色中以 Olt 氏法為最好，但為求得檢驗上的更可靠，故其他兩種方法也不偏廢。

最後將作培養及抹片所用的組織材料置於研鉢中研碎，按 1:10 的比例加入生理鹽水製成乳液，儲於試管中以備培養未檢出炭疽桿菌時作動物試驗及 Ascoli 氏沉澱試驗用（如培養為陽性，則利用肉湯純粹培養接種小白鼠；Ascoli 氏沉澱試驗不做，如培養為陰性則利用此乳液作動物試驗及沉澱試驗）。動物試驗為於小白鼠皮下接種乳液 0.2 毫升。

結 果

在收驗 73 例病理材料中，經培養及動物試驗結果證實為炭疽者有 31 例，其餘 42 例雖培養未檢出炭疽桿菌，動物試驗為陰性，但鏡檢均檢出炭疽桿菌的菌屍或菌影和 Ascoli 氏沉澱試驗呈陽性反應。

在 31 例培養及動物試驗均呈陽性結果的標本中，內有 11 件僅自同一豬身送驗一或二件標本，因代表性不够故不列入分析。其餘 20 例，每例至少自同一豬身採取 4 件標本，最多的有 6 件。檢驗結果以顎下淋巴結中的炭疽桿菌檢出率最高為 85%；脾臟及腸系膜淋巴結最低為 5%。

討 論 及 結 論

1. 豬只炭疽病主要是以局限性的情況存在，病變部分大都在咽喉部的顎下淋巴結及頸淋巴結。

2. 因豬對炭疽的易感性不强，所以即使有局限性的病況存在，大多數於外表仍無特殊異樣變化，體溫也正常。

3. 用豬只局限性炭疽病灶所作的抹片，炭疽桿菌的排列形態極不標準，革蘭氏染色反應也不正常。此外尚可見有已經消失生長繁殖能力的菌影及菌屍碎片。

4. 因病理材料本身除有炭疽桿菌外，常可能共存有嗜殺性巴氏桿菌、沙門氏菌、溶血性鏈球菌，此外外界雜菌的污染情況有時也非常嚴重，故應加以適當處理後再行培養。動物接種證實試驗的接種材料，以肉湯的純粹培養最為相宜。

5. 可疑豬的局限性炭疽病如實驗診斷中的培養及動物試驗均屬陰性者，則在處理上應參考直接塗片及 Ascoli 氏沉澱試驗。

6. 從豬體所分離出的炭疽桿菌，其毒力與自人、牛、羊體所分離出的無顯著懸殊的差別。

參 考 文 獻

- [1] Hagan and Bruner: The infectious disease of domestic animals, 177, 1951 年。
- [2] Hutyra, Marek and Manninger: Special pathology and therapeutic of the disease of domestic animals, 上海東華書店影印版, 8.18, 1946 年。
- [3] 盛彤笙譯, Kelser 氏原著: 獸醫細菌學, 中國畜牧獸醫學會出版部, 154, 1944 年。

* Olt 氏莢膜染色法: 用 3% 蕃紅水溶液, 加溫染色 2—3 分鐘。菌體呈褐色, 莢膜呈黃色。

ANTHRAX IN SWINE

TING SIH-KANG, LIU HSEUH-YUAN & TSI SZE-LING

(Laboratory of Anti-epidemic Station, Shanghai)

During the 7 months in 1954 the second half of the year 1954, 73 specimens positive for anthrax were found among the slaughtered swine. They were diagnosed by smears, culture, animal inoculation or by Ascoli's test. The atypical appearance of the organisms found in the tissue was stressed and the distribution among a small number of pigs in which multiple specimens were obtained was also briefly made.

關於家鼠攜帶痢疾桿菌的研究

II. 痢疾桿菌在鼠體內攜帶時間的初步觀察*

康 白[†] 鄒立國 張清彥

(大連醫學院[†] 旅大檢疫所)

1956 年,著者康氏由鼠體分離出 4 株宋內氏痢疾桿菌^[1]。這一事實指出:鼠類在傳播痢疾上可能起到一定的作用。鼠類傳播原蟲性痢疾雖有報告^[2],但牠們傳播菌性痢疾的問題報導頗少。1913 年,Кулеша 氏^[3]雖曾指出鼠類在傳播痢疾上的作用,但作者並未闡明各種痢疾桿菌在鼠體內的滯留時間,因而無法進一步對鼠類傳播痢疾問題作出正確的評價。

1945 年,尾形重直氏^[4]曾於我國瀋陽市一日人點心舖捕得之家鼠體內分離出 1 株福氏痢疾桿菌。奧和田正氏^[5]1955 年在日本也報告從鼠體分離出福氏菌;但經實驗感染並未使該鼠種患痢疾。

上述材料說明,鼠類攜帶痢疾桿菌是可能的,但其流行病學上的意義,還有待於探討。本文的目的,就是要闡明其中重要的一環——痢疾桿菌在鼠體內的滯留時間。

材 料 和 方 法

實驗動物 我們選用的動物全是由大連港區捕捉的溝鼠 (*Rattus norvegicus*)、黑鼠 (*Rattus rattus rattus*) 及屋頂鼠 (*Rattus rattus alexandrinus*) 三種;後二種可能經船舶由國外傳入。全部實驗動物在實驗前於人工喂養條件下喂養 3—4 個月不等。感染前,各組動物都經過檢便手續,均無痢疾桿菌或其它致病菌的發現。這樣的檢查,實際上成為實驗的對照組,以說明未喂菌動物腸細菌叢的狀態。

共用鼠 23 隻。其中 5 隻(溝鼠 2, 屋頂鼠 2, 黑鼠 1)喂宋內氏菌, 10 隻(溝鼠)喂福氏菌, 6 隻(溝鼠)喂志賀氏菌;還有 2 隻(溝鼠)作為對照,僅喂大腸桿菌和普通肉湯培養基。

實驗菌種 本實驗所用之志賀氏菌是大連醫學院微生物教研組保存菌種, 福氏菌 Y 變種及宋內氏菌是由典型患者新分離的。

感染前,曾將上述菌種交替接種普通肉湯及普通瓊脂斜面培養基上三代,選生化學及血清學典型的光滑型菌落作為實驗菌株。為了確知各菌株的毒力,對志賀氏菌及福氏菌曾以小白鼠經腹腔注射行 LD₅₀ 的測定。結果一個 LD₅₀ 前者是 15,000,000 個菌體,後者是 70,000,000 個菌體。

* 本文曾於中國微生物學會旅大分會 1957 年年會上報告和討論。

感染途徑及劑量 感染途徑是經口喂飼及經肛注入。喂是將經 18 小時培養的肉湯 5 毫升與 10 克小米混合，置平皿中。每次喂均在下午 5—6 時，以縮短痢疾桿菌暴露於外界的時間，因動物都在夜間將食物食盡。喂前，使鼠絕食 24 小時。喂菌期間，不另給水。經肛法是將動物以乙醚麻醉，身體倒置，用巴氏吸管將菌液（與飼喂用菌液同）注入腸內。注入量 2 毫升。

雖經口感染的各菌型菌數相等，即均為 5 毫升培養物（經肛組是 2 毫升），但經按毒力計算，各組的感染量大致為：

1. 志賀氏菌經口組	600 LD ₅₀
2. 志賀氏菌經肛組	300 LD ₅₀
3. 福氏菌經口組	100 LD ₅₀
4. 宋內氏菌經口組	未測定

感染後觀察 感染翌日，開始檢便，每日 1 次。取夜間排之糞粒 10 枚，置帶玻璃珠的大試管中，加無菌肉湯 5 毫升，充分震盪，使成粥狀。以白金耳塗劃於 JK 培養基上。然後，按常規行生化學及血清學檢定所分離之疑似痢疾桿菌。

本實驗所用之培養基，乃一種改良 E. M. B.，它是以肉湯代替其中之蒸餾水。為了抑制鼠腸道內的大量變形桿菌的生長，又向每 100 毫升 E. M. B. 中加入 0.5% 水合氯醛 2.5 毫升。經試驗它對痢疾桿菌的生長和變形桿菌的抑制有良好的效果。某些標本，也曾用 Бакто агар JK 培養基作為輔助。

結 果

經 2—3 月連續的觀察，全部實驗動物無一出現可觀察到的發病徵象。實驗鼠的進食和生活活動，喂菌前後都無變化；但是也證明鼠類是確能攜帶痢疾桿菌的。

實驗中，鼠的帶菌情況，可分三個階段：

第一階段，按現有檢驗技術，確找到了實驗所用菌株。

第二階段，是可疑排菌期，雖找不到典型菌，但却由喂福氏菌實驗鼠糞內找到這樣的細菌：菌落半透明、扁平、邊緣不整，在 E. M. B. 上不分解乳糖，在 Бакто агар JK 上生長不良，但用玻片凝集法能與福氏混合抗血清凝集。能分解葡萄糖、麥芽糖、甘露醇，遲緩分解（3—4 天）乳糖及蔗糖、V. P. —、M. R. +、凝基質 +、革蘭氏陰性和無動力的短小桿菌。這樣的細菌喂菌前從未發現過。將所分離之菌株，用 10% 胆汁及葡萄糖肉湯分別累代培養至十代，均未恢復成典型菌，而且最後失去了對福氏混合血清的凝集反應。經過這樣反復試驗的菌株共 17 株。

在喂和灌腸志賀氏菌的鼠的糞內，也曾找到在形態上與痢疾桿菌相同的遲緩分解麥芽糖的 6 個菌株。經過葡萄糖肉湯傳代，分別於第 4—5 代失去分解麥芽糖的能力，恢復成典型志賀氏菌。另外，還分離出不分解任何糖的革蘭氏陰性桿菌。它們雖能與志賀氏菌抗血清起玻片凝集現象，但經 2—3 代人工培養後即失去這種作用。

在喂宋內氏菌的鼠糞內，未查找可疑的變異菌，但已分離之宋內氏菌都已變為粗糙型。

第三階段是肯定的陰性階段，即實驗鼠腸細菌叢已被純培養狀態的腸球菌代替，其它革蘭氏陰性桿菌大為減少或完全消失。這種狀態持續 1—2 星期，始恢復正常細菌叢。由

附表 痢疾桿菌在鼠體內滯留時間

喂菌種類	鼠號	鼠種	感染途徑	喂蘇達	喂金黴素	檢便日期 (天)																													
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
宋內氏菌	1	溝鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	2	黑鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	3	屋頂鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	4	屋頂鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	7	溝鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
福氏菌	11	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	12	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	13	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	14	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	15	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	16	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	17	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	18	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	19	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	20	溝鼠	經口	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
志賀氏菌	35	溝鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	36	溝鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	37	溝鼠	肛	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	38	溝鼠	肛	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	39	溝鼠	肛	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	40	溝鼠	肛	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
對照	41	溝鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	42	溝鼠	經口	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

註: (+), 表示第一階段(肯定陽性); (±), 表示第二階段(可疑); (-), 表示第三階段(肯定陰性)即腸球菌純培養狀態; (0), 表示腸細菌正常。

於大便無革蘭氏陰性菌存在，所以可以肯定痢疾桿菌已完全消失。

對志賀氏菌，除經口外還有經肛感染法。兩法的結果無明顯差別，唯後者腸球菌出現較早。

實驗中發現腸球菌有抑制痢疾桿菌的作用，因而曾企圖先以金黴素消除腸球菌，再作痢疾的實驗感染。結果，腸球菌未被消滅，僅略減少，短期又恢復。因此，金黴素投入與否，不引起差異。

3隻實驗鼠（2隻喂福氏菌，1隻喂志賀氏菌）的大體解剖及病理組織學上的檢查，沒有發現異常的變化。

討 論

實驗指出，鼠類對痢疾的傳播可能起到一定的作用。但是，這種作用是有限的，因痢疾桿菌不能在鼠體內長期的停留，平均為2.5—5.4天，最長為7天。

變異菌的出現，可能有二種來源：1)腸類菌特別是副大腸桿菌，由於大量痢疾桿菌進入腸管，在共同生活過程中或後者的菌體成分和生活產物作用下發生了變異；2)痢疾桿菌在對其不利的鼠腸道及其細菌叢影響下，改變了本來的特性^[6]。本實驗出現的變異菌的來源，究屬前者抑或後者，尚不能肯定。

在實驗的第三階段，出現了腸球菌的純培養，因而間接地證明痢疾桿菌已完全消失了。另外，腸球菌在本試驗中表現出對痢疾桿菌的抑制作用，關於這方面將於本文第三報內討論。

全部實驗動物，不論經口或經肛感染痢疾桿菌，均不能使溝鼠、黑鼠及屋頂鼠患痢疾，這與文獻上的材料相符^[7]。

總 結

一、在實驗條件下，溝鼠、黑鼠及屋頂鼠感染痢疾和痢疾桿菌在其體內生存時間問題作了實驗，結果痢疾桿菌在鼠體內的平均滯留時間是2—5天，最長7天。此後有非典型菌出現，其排菌時期是2—12天。

二、全部實驗鼠不論經口或經肛浸入都沒有痢疾感染的症狀。

三、喂志賀氏菌及福氏菌的實驗鼠，在痢疾菌及“變異菌”消失後，鼠腸細菌叢發生了變化，大腸桿菌逐漸減少，腸球菌逐漸增多，最後腸球菌成為純培養的狀態。這種現象有進一步研究的必要。

參 考 文 獻

- [1] 康 白、周惠民：中華醫學雜誌，43：730—732，1957。
- [2] Lynch, K. M., et al.,: Lancet, 255: 2, 262—263, 1948。
- [3] Башков, В. И.: 消毒滅蟲除鼠指南，人民衛生出版社（陳譯），350，1956。
- [4] 尾形重直：滿洲醫學雜誌，40：4，503—506，1945。
- [5] 奥和田正：日本公衆衛生雜誌，2：2，373，1955。
- [6] 康 白：關於物種的對立面統一性，自然辯證法研究通訊，4：26—32，1957。
- [7] Wilson, G. S. et al.,: Topley and Wilson principles of bacteriology and immunity, 4th ed., 775—776, 1955。

STUDIES ON RATS AS CARRIERS OF SHIGELLA ORGANISMS

II. OBSERVATION ON THE DURATION OF THE CARRYING STATE

KAN, P., CHOU, L. G. & CHANG, C. Y.

(Dairen Medical College)

Five rats (*R. norvegicus*, 3; *R. rattus*, 1; *R. alexandrinus*, 1) were fed with *Sh. sonnei*, 10 (*R. norvegicus*) with *Sh. flexneri*, and 2 (*R. norvegicus*) with *Sh. dysenteriae*. In addition, the last named organisms were also given. Per rectum to 4 *R. norvegicus*. It was found, that irrespective to the routes of administration, a transient carrier state was observed with an average duration of 2—5 days, and the longest being seven days.

Observations were also made on the change in the intestinal flora of the experimental animals. It was found that, after the first 2 days following the ingestion of the *Sh. dysenteriae* and *Sh. flexneri*, organisms of the colon group became gradually diminished in number from the intestine, while the number of enterococci correspondingly increased. By the 7—10th day a pure culture of the enterococci was obtained. This state lasted for 1—2 weeks, after which restoration of the normal intestinal flora occurred. This change was not seen in the case of rats fed with *Sh. sonnei*.