

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。以白金耳塗割於 Ж 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 Ж 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 Ж 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. +、靛基質 +、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

間時留帶內體龜在菌桿疾表附

註：（+），表示第一階段（肯定性）；（-），表示第二階段（否定性）；（土），表示第三階段（肯定/否定兼舉）；（0），表示兩端均無端正性。

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、周憲民：中華醫學雜誌，43：730—732，1957。
- [2] Lynch, K. M., et al.,: Lancet, 255: 2, 262—263, 1948.
- [3] Вацков, 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—10 th 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*.

關於家鼠攜帶痢疾桿菌的研究

III. 鼠體內腸球菌對痢疾桿菌的影響*

康 白[†] 鄒立國 張清彥

(大連醫學院[†] 旅大檢疫所)

我們作痢疾實驗感染時，曾發現當痢疾桿菌被實驗鼠吞服後，起初大便中痢疾桿菌甚多，隨後又漸減，而腸球菌激增；後者終於形成純培養狀態^[1]。這一事實指出，腸球菌大量生長之後，又排擠了痢疾桿菌。為了闡明此種拮抗現象，初步進行一些實驗工作。

材 料 和 方 法

關於腸球菌在喂過痢疾桿菌實驗鼠的糞內消長過程的觀察所用材料與方法和本題第二報相同，因為是在同一羣動物上所作的觀察。腸球菌在 E. M. B. 培基上生長良好，因本實驗所用之 E. M. B. 是以肉湯代替其中之蒸餾水。

腸球菌的消長的表徵，是以平碟上腸球菌與其它菌的菌落比重為標準，即腸球菌佔全部平碟內的菌落數的百分數。

其次是腸球菌在試管內對痢疾桿菌拮抗作用的測定。首先將各菌接種於普通肉湯培養基中，37°C 培養 18 小時，再以無菌的肉湯作相應的稀釋。然後將腸球菌與其它菌作一定比例的混合培養如 1:0.1, 1:1, 1:10, 1:100。混合後每毫升含菌總數相當於 913,000—1,389,000 個菌體(按比濁法計算)。各混合管在 37°C 下孵育 24 小時，移至分離培養基上，觀察兩種菌的菌落數。為了證實兩菌的混合比例，在混合後，曾進行分離培養，結果符合於原來的比例。同時又可作為對照組。

實驗菌種 由鼠體共分離 21 株腸球菌，按一系列生化及其它特徵，其中 19 株(01 號等等)是“液化鏈球菌”，2 株是“糞鏈球菌”(3 及 43 號)(依 Berger 氏鑑定細菌學^[1])。本實驗用之腸球菌是 01 及 3 號株，前者是由喂福氏菌的 14 號鼠分離，後者是由喂志賀氏菌的 36 號鼠分離的(見本文 II 報附表)。普通大腸桿菌是由人體分離的，痢疾桿菌即本文 II 報所用菌株。

結 果

腸球菌在喂過痢疾桿菌的鼠糞內消長情況，因菌種而異。喂志賀氏菌時，腸球菌增加最速，且消失亦快；喂福氏菌時，增加略慢，但持續時間長；喂宋內氏菌時，增加頗少。對照組(喂大腸桿菌和無菌肉湯)中腸球菌未增加。詳見圖 1。

* 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。

腸球菌在試管內對其它菌的拮抗作用如表 1 所示。表內數字是腸球菌菌落佔全平碟上菌落總數的百分數(%)。

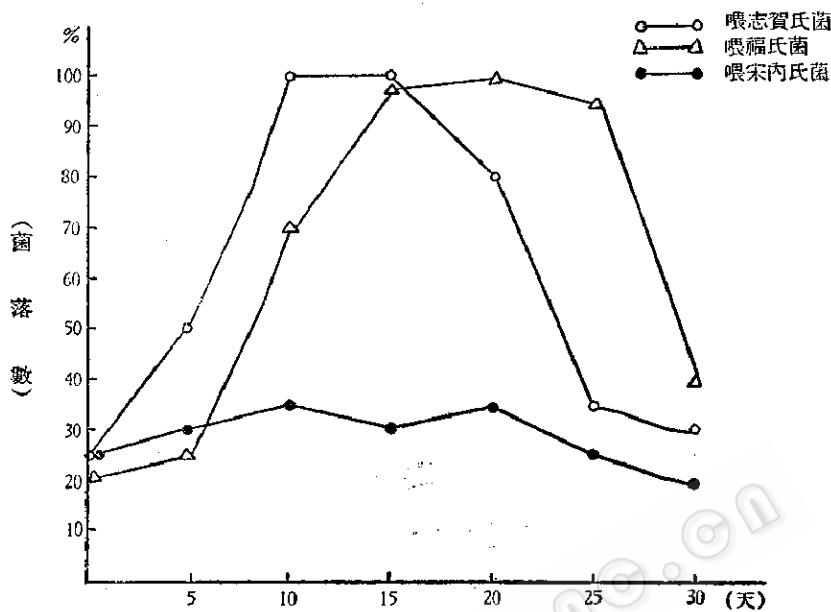


圖 1 痢疾桿菌實驗感染鼠腸內腸球菌消長情況

表 1 腸球菌對其它菌的拮抗性

其它菌 腸球菌:其它 菌	01 號 株				3 號 株			
	1:0.1	1:1	1:10	1:100	1:0.1	1:1	1:10	1:100
志賀氏菌	100	100	100	80	100	100	70	50
福氏菌	80	60	30	20	80	60	50	20
宋內氏菌	60	50	30	50	50	50	20	10
大腸菌	30	30	20	10	50	30	10	5

表 1 指出，腸球菌對志賀氏菌拮抗性最强，即使腸球菌是一個，而志賀氏菌是 10 個(實際上是按倍數比)，混合培養後，也能將志賀氏菌完全排擠掉，即腸球菌佔 100% (見表 1, 01 號菌株)。腸球菌對福氏菌及宋內氏菌的拮抗性都不大，對大腸桿菌更小，反被抑制。

討 論

文獻上，關於腸球菌對其它菌包括痢疾桿菌在內的抑制作用，有不少的報告。Меретц^[2] 認為，腸球菌不但對痢疾桿菌，對傷寒、副傷寒桿菌也有一定的抑制作用；並指出由痢疾患者分離之腸球菌較之由健康者分離的腸球菌對痢疾桿菌的拮抗性為弱。但他進行的實驗，祇限於試管內。

Сатуновская^[3] 氏報告，腸球菌對其它菌的拮抗指數是，志賀氏菌 2.77，福氏菌 2.6，傷寒桿菌 2.63，副傷寒桿菌 1.46，鼠傷寒桿菌 1.56。本實驗雖未計算拮抗指數，但就菌落

百分數的計算，亦可表明與上述的順序是一致的。

關於腸球菌在動物體內的生理學意義，許多著者認為是由於它能產生乳酸，從而使腸管發生自淨作用。小笠原一夫氏^[4]認為，不僅糞鏈球菌，即使是產酶鏈球菌也對痢疾桿菌或沙門氏菌有拮抗作用。產生這種作用的物質是腸球菌素(Enterocine)。腸球菌素能受100°C 60分鐘不被破壞，不被炭末吸收，能通過火棉膠膜。據此，可以認為痢疾的病因學與易感者腸管內的腸球菌質量和數量有關。在本實驗中，當吞服痢疾桿菌後，首先痢疾桿菌在糞便內出現，隨後腸球菌增加，繼而痢疾桿菌消失，大腸桿菌亦隨之減少和消失，終於成為腸球菌純培養的狀態。這說明腸球菌與大腸桿菌也存在着拮抗作用。齊藤佐文氏^[5]以鷄雞作的實驗觀察，也證實了這點。不過本實驗試管內的結果，腸球菌對大腸桿菌的拮抗性是非常小的，與體內的結果似有不符，值得進一步探究。

Janota 及 Dack 二氏^[6]認為，猴子所以能患痢疾是因其體內缺乏維生素 M，而後者實際上就是葉酸^[7]。現在學術界已公認，腸球菌的生長與葉酸有關^[8]。田中氏^[9]也指出，糞鏈球菌產生腸球菌素的能力，與分離該菌株的機體內葉酸含量有關。這種葉酸包括Pteroglutamic acid 及 Leucororin 兩種成分，後者是前者的衍化物。田中氏又指出，葉酸的缺乏又與維生素 B₁₂ 有關，因後者能促進前者發生，所以當前有人主張用維生素 B₁₂ 或葉酸作為痢疾的治療劑^[10]或預防劑^[11]。

總 結

一、由喂痢疾桿菌的實驗家鼠體內分離的 21 株腸球菌，依其生化及其它特徵，其中 2 株是糞鏈球菌，19 株是液化鏈球菌。對這些菌株在試管內和機體內對痢疾桿菌及大腸桿菌的拮抗作用作了實驗報告和文獻上的探討。

二、當痢疾桿菌經口或經肛注入鼠體後，糞便中起初存在痢疾桿菌甚多，隨後出現腸球菌，並逐漸增加，終於排出了痢疾桿菌，成為純培養的狀態，此時為喂菌後 7—10 天。此種狀態持續 1—2 週後，腸球菌又逐漸減少，正常腸細菌叢逐漸恢復。

三、在機體內和試管內，腸球菌對志賀氏菌屬均表現有拮抗作用。對志賀氏菌拮抗性最强，福氏及宋內氏菌次之。腸球菌雖在機體內對大腸桿菌有拮抗性，但在試管內則無此作用，反被大腸桿菌抑制。

參 考 文 獻

- [1] 康白、鄒立國、張清彥：關於家鼠攜帶痢疾桿菌的研究，第二報，微生物學報，6: 3, 364—368, 1958.
- [2] Меретц, Л. Г.: Значение нормальной микрофлоры для организма человека, 333—340, Медгиз —1955—Москва.
- [3] Сатуповская, С. Р.: Энтерококк и молочнокислый стрептококк, их антиагонистические свойства и вопрос о возможности использования в терапии и профилактике, Автореферат, Свердловск, 1952.
- [4] 小笠原一夫：日本傳染病學會雜誌，29: 5, 199—227, 1955.
- [5] 齊藤佐文等：千葉醫學會雜誌，31: 1, 107—108, 1955.
- [6] Janota, M. and Dack, G. M.: J. Inf. Dis., 68: 219, 1939.
- [7] Weil, A. J.: J. Immun., 55:4, 371, 1947.
- [8] Fink, R. M.: The utilization of hydroythymine B *Streptococcus faecalis* in the absence of Folic acid and thymine, 72:1, 105—107, 1956.
- [9] 田中定平：日本細菌學會雜誌，11:10, 879, 1956.

[10] 森重敬夫：痢疾的臨床及治療，來我國講演稿，1957. 6月。

[11] Breed, R. S. et al.,: Berger's Manual of determinative bacteriology, 6th ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, 314, 1948.

STUDIES ON RATS AS CARRIERS OF SHIGELLA ORGANISMS

III. OBSERVATION ON THE EFFECT OF ENTEROCOCCI ON THE GROWTH OF DYSENTERY BACILLI IN VIVO AND IN VITRO

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

(Dairen Medical College)

21 strains of enterococci isolated from rats following the feeding of dysentery bacilli were identified. Among them 2 strains were found to be *Streptococcus faecalis*, and 19 strains to be *Streptococcus liquefaciens*.

The inhibitory effects of enterococci on the growth of dysentery bacilli were observed both in vivo and in vitro. The effects of enterococci on *Shigella dysenteriae* were found to be the most powerful, on *Shigella flexneri* next, and on *Shigella sonnei* the least of all. The significance of the finding was briefly discussed.