

非典型痢疾菌株的研究

吳開宇 鄭國槐 王瑞芳 陳 端

(福建省流行病研究所)

非典型的痢疾菌株，近年來在許多實驗室均有發現；有關這方面的報導蘇聯文獻較多^[1-3]。1956 年作者在福州曾分離出 12 株對痢疾血清均不凝集而培養特性生化反應形態學等方面均與福氏痢菌難以區別的菌株，佔分離得的菌總菌株數 8.5%。分離後，通過胆汁肉湯及葡萄糖分別進行傳代，從血清學及生化觀察其是否能還元為典型菌。結果發現甲₁₀及乙₁₆兩株分別於第 8 代及第 20 代對福氏血清恢復其凝集能力。為了解此非典型菌株的生物學和免疫學特性，特作了進一步的研究。

實驗及結果

(一)細菌學特性：

1. 形態：取培養生長 24 小時的菌液作塗片染色檢查，結果以上兩株均為革蘭氏陰性着色均勻、無莢膜及鞭毛的桿菌。甲₁₀長為 1.6—2.0 微米，寬 0.6—0.8 微米，而乙₁₆長為 1.8—2.4 微米，寬 0.5—0.7 微米。均為不能運動；形態與痢疾菌無異。

2. 培養特性：在中國蘭培養基上發育良好，24 小時後，甲₁₀為細小圓形表面隆起、光滑、無色透明、邊緣整齊的菌落；菌落直徑在 1 毫米以下。乙₁₆在中國蘭皿上生長為灰白色半透明、邊緣不整齊、直徑在 1 毫米以上的菌落。在伊紅美蘭的鑑別培養基上甲₁₀生長為無色半透明的菌落，乙₁₆為灰白色半透明的菌落，其他特點與在中國蘭皿上相同。

3. 生化特性：

(1) 菌株甲₁₀：於初分離時為無動力，能發酵葡萄糖、麥芽糖、甘露醇及蕁糖、薔薇醇、水楊素、福壽草醇等。對肌醇及鼠李糖遲發酵，對乳糖、蔗糖、阿拉伯膠糖、衛矛醇及木糖等均不發酵。不為任何一種痢疾血清所凝集。不液化明膠，不分解尿素，不產生硫化氫。V. P. 及枸橼酸鹽試驗均為陰性；且不能形成吡嗪，過氧化酶試驗為陽性。經胆汁肉湯連續傳代到 13 代時對肌醇、水楊素、福壽草醇等即變為不發酵，吡嗪變為陽性。至 20 代後對阿拉伯膠糖變能發酵且此時能為福氏血清及型因子血清所凝集，凝集價為 640。

(2) 菌株乙₁₆：初分離時為無動力，能發酵葡萄糖、麥芽糖、甘露醇、蔗糖及阿拉伯糖、木糖、薔薇醇等。而不發酵乳糖、衛矛醇、肌醇、鼠李糖、水楊素等。且不能形成吡嗪，不為任何一種痢疾血清所凝集。其他生化反應情況與甲₁₀同。經胆汁肉湯連續傳代至第 8 代時，其生化反應開始逐漸恢復其原有特性；對葡萄糖及阿拉伯膠糖變為能產酸及有少量氣體；對甘露醇、木醇、薔薇醇變為不發酵，並此時能為福氏血清及型因子血清所凝集。對麥芽糖發酵現不穩定現象；於第 17 代、23 代、27 代時均產酸兼產生微量氣體，於第 20 代、30

代時爲不發酵。對草糖於初分離時 24 小時內即能發酵，於第 8—20 代時均於 48 小時發酵，於第 27 代開始產酸兼有微量氣體。以上發酵不穩定現象於第 36 代以後恢復穩定，呈似新城型痢菌的生化特性對葡萄糖產酸兼有微量氣體；且能發酵阿拉伯膠糖及草糖；除此以外，其他各糖均不發酵。

4. 抵抗力：

(1) 對溫度耐受力的試驗：

甲、將同量和同濃度的不典型痢疾菌株甲₁₀及乙₁₆和標準福氏 III、VI 型菌液同樣放在 60°C 水箱中加熱；加熱時間爲 10、15、20、30 分鐘；然後將加熱過的菌液再培養於牛肉湯及普通瓊脂斜面上，經 72 小時後檢查結果證明：甲₁₀菌株比對照福氏 III 型菌株抵抗力強，加熱 20 分鐘尚有生存的菌體，乙₁₆與對照組福氏 VI 型菌株在 60°C 僅 10 分鐘均無生存的菌體。同樣方法以 60、70、80°C 三種不同溫度加熱 10 分鐘觀察對不同溫度 10 分鐘的耐受力；結果證明甲₁₀在 70°C 10 分鐘尚有生存菌體，而乙₁₆與標準福氏 VI 型菌株相同，僅 60°C 10 分鐘即無生存菌體，足見甲₁₀不典型菌株對溫度抵抗力較強。

乙、將以上菌株放不同溫度中以觀察其抵抗力；每隔 3—7 日培養一次；結果在 -20°C 冰凍中甲₁₀菌株二個月後仍能培養出生存菌體，而乙₁₆菌株僅生存 47 天。在 10—12°C 室溫中甲₁₀及乙₁₆均能生存 95 天，在 33—35°C 中二者均能生存 88 天。

(2) 對 0.5% 石炭酸溶液殺菌力試驗：將以上菌株的菌苔刮下，放置於 0.5% 石炭酸溶液中，經 1—7 小時作用後，其中每隔 1 小時分別接種於培養基中檢查結果：甲₁₀菌株經作用 7 小時後仍有菌落生長，而對照標準福氏 III 型僅於第 3—4 小時作用後培養即無生長，乙₁₆的抵抗力較弱，僅 2 小時後即無生長。

(3) 對不同濃度酒精殺菌力試驗：結果甲₁₀與乙₁₆在 40% 酒精中 5 分鐘後與在 50% 酒精中 1 分鐘後均無生存菌體，對照菌組亦同。

(4) 過錳酸鉀殺菌力試驗：用市售過錳酸鉀稀釋成各種不同濃度，分別加入甲₁₀、乙₁₆及標準福氏 III、VI 型菌株，經 5、10、15 分鐘後觀察結果：甲₁₀株於 1:2,000 濃度中經 15 分鐘作用後仍有生存菌體而對照福氏 III 型菌株，於此濃度中 15 分鐘後即無生存菌體。乙₁₆株抵抗力較弱，在 1:2,000 過錳酸鉀溶液中僅作用 5 分鐘即無生存菌體與對照組結果相同。

(5) 非典型痢疾菌株的致病力試驗：將甲₁₀與乙₁₆菌苔用生理鹽水洗下；使成 1 毫升中含有 20 億的濃度（同時以同樣方法用標準福氏 III、VI 型爲對照），注射於雄性、年齡 2—3 週的小白鼠腹腔內；注射量爲 0.4、0.2、0.1 毫升；觀察引起小白鼠死亡的%及 LD₅₀結果見表 1。

表 1 非典型痢疾菌株的致病力試驗

組別	菌株	注射量	0.1 c.c.	0.2 c.c.	0.4 c.c.	LD ₅₀ c.c.
試驗組	甲 ₁₀		2/5	3/5	4/5	0.166 c.c.
	乙 ₁₆		0/5	1/5	4/5	0.30 c.c.
對照組	福氏 III 型		2/5	3/5	3/5	0.183 c.c.
	福氏 VI 型		0/5	1/5	1/5	>0.4 c.c.

(二)血清學特性：

(1) 不典型菌株對各型血清及福氏因子血清的凝集試驗：各型血清係用上海生物製品所製造的,因子血清凝集反應係送福建醫學院用北京中國醫學科學院的血清代為鑑定;結果甲₁₀為福氏 III 型,乙₁₆為福氏 VI 型。(見表 2)

表 2 不典型痢疾菌株對型及因子血清凝集

菌 株	血清種類 凝集結果	志賀氏	福 氏	宋內氏	福 氏 因 子 血 清							
					型 因 子 血 清						族因子血清	
					I	II	III	IV	V	VI	3,4	7,8,9
甲 ₁₀		—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	+
乙 ₁₆		—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—

(2) 凝集價穩定性的問題：甲₁₀與乙₁₆於初分離時對福氏血清均不凝集(抗原係用加熱煮沸 2 小時),經通過胆汁肉湯於不同傳代次時;接種於固體瓊脂上洗下菌液同樣用加熱煮沸 2 小時後過濾菌液作凝集反應結果見表 3。

表 3 返祖傳代後,不同代時凝集價的變化情況

菌株	傳代次數 凝集價	初分離時								
		第 4 代	第 8 代	第 12 代	第 20 代	第 23 代	第 27 代	第 32 代	第 36 代	
甲 ₁₀	—	—	—	—	640	320	320	80	320	
乙 ₁₆	—	—	640	640	—	640	320	160	320	

從上表可以看出,非典型菌株經返祖傳代恢復了凝集特性以後,它的凝集價仍呈不穩定現象。

(3) 交互凝集反應試驗：將甲₁₀、乙₁₆及標準福氏 III, VI 型菌株(捷克)免疫家兔製成血清,然後將之作交叉凝集結果見表 4。

表 4 非典型菌株與標準菌株的交互凝集反應

組 別		免 疫 血 清				甲 ₁₀				乙 ₁₆				標準福氏 III 型				標準福氏 VI 型			
		稀 釋 度				160	320	640	1280	160	320	640	1280	160	320	640	1280	160	320	640	1280
試驗組	甲 ₁₀	+++	+++	++	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	±	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
	乙 ₁₆	—	—	—	—	+++	+++	+++	±	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	+++	+++	++	±
對照組	標準福氏 III 型	+++	+++	+++	±	—	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	標準福氏 VI 型	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
	宋內氏痢菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	副大腸桿菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(4) 吸收試驗：結果見表 5、6。

從上表互相吸收試驗結果說明：標準(捷克)福氏 III 型及 VI 型血清抗體能被甲₁₀、乙₁₆菌株完全吸收;相反,甲₁₀、乙₁₆的血清亦能被標準福氏 III、VI 型菌完全吸收,不被其

他型的菌株吸收；因此證明甲₁₀與乙₁₆菌株的抗原構造與標準福氏 III、VI 型完全一致的。

表 5 甲₁₀菌株與標準福氏 III 型
交互吸收試驗

抗 血 清	用××吸收	“O” 抗 原	
		甲 ₁₀	標準 F. III.
甲 ₁₀	標準福氏 III 型	—	—
甲 ₁₀	標準福氏 VI 型	320	640
甲 ₁₀	—	640	1280
標準福氏 III 型	甲 ₁₀	—	—
標準福氏 III 型	—	1280	1280

表 6 乙₁₆菌株與標準福氏 VI 型菌
株交互吸收試驗

抗 血 清	用××吸收	“O” 抗 原	
		乙 ₁₆	標準 F. VI.
乙 ₁₆	標準福氏 VI 型	—	—
乙 ₁₆	標準福氏 IV 型	320	320
乙 ₁₆	標準福氏 III 型	640	640
乙 ₁₆	—	640	640
標準福氏 VI 型	乙 ₁₆	—	—
標準福氏 VI 型	—	640	1280

討 論

本文所分離的甲₁₀；乙₁₆二株於初分離時不論用活菌或加熱煮沸 2 小時之抗原，對任何型的痢疾血清均不凝集。經通過返祖方法連續傳代後則逐漸恢復其凝集及生化特性。據以上的試驗結果證明所分離的不凝集甲₁₀、乙₁₆二株為非典型痢疾菌株；並經因子血清證實為福氏 III 及 VI 型。因此我們認為在病原學研究中；遇有似痢疾而不凝集的菌株，通過返祖方法可能獲得可以凝集菌株。

從這兩株的發酵情況；一株是較穩定的；另一株是較不穩定的；前者為福氏 III 型，後者為福氏 VI 型。據這兩株對鼠李糖及衛矛醇發酵情況；乙₁₆是屬於 F. M. 費謝勒氏所提的三個基本羣的第一種羣型^[2]，即為不發酵鼠李糖及衛矛醇的一種，而甲₁₀的變化情況，即非該氏所提的三個基本羣所能概括，因為甲₁₀是能發酵鼠李糖而不發酵衛矛醇。因此作者認為可以在費氏等的三個基本羣之外加上第四羣；即能發酵鼠李糖而不發酵衛矛醇。

一般痢疾菌對水楊素是不發酵的。而我們所分離甲₁₀菌株，於初分離時是能發酵的，同時對福壽草醇及肌醇亦能發酵。這些情況，易被忽略誤為可能是副大腸桿菌。經返祖方法傳代後，即恢復它原來的生化特性，對水楊素福壽草醇及肌醇等變為不發酵。因此當病原分離如遇有對水楊素、福壽草醇有發酵者而其他生化有近於痢疾而不凝集的菌株應再通過返祖方法追探之。

所分離的非典型痢菌兩株的生活力甚強，在各種不同溫度下的耐受力均較菌種為強。其中以甲₁₀菌株不但對溫度耐受力強，且對石炭酸等各種藥物的殺菌力，也都比標準菌株長久。對動物致病力也比標準菌株為大。這些特性對痢疾疾病的流行上是有一定意義的。

總 結

- 1. 1956 年在福州痢疾病原研究工作中，曾分離 2 株對任何血清不凝集的非典型痢疾菌株，經細菌學及免疫學鑑定，證實為福氏 III 及 VI 型。
- 2. 這兩株中，一株屬於鼠李糖及衛矛醇不發酵類型，另一株是屬於鼠李糖發酵而不發酵衛矛醇的類型。
- 3. 上述兩株對溫度耐受力、生活力均較強。（尤其甲₁₀菌株）。對抗各種藥物的殺菌力

均比標準菌株長久,對小白鼠的致病力也較標準菌種大。

4. 本文提出有關非典型痢菌對糖發酵變化與血清凝集特性恢復前後關係的初步看法。

參 考 文 獻

- [1] B. K. 魯巴什金娜: 微生物學譯報, 3(5): 49, 1956.
- [2] Г. М. 費謝勒等: 微生物學譯報, 3(6): 50, 1956.
- [3] B. И. 阿爾達科娃等: 微生物學譯報, 3(6): 49, 1956.
- [4] 瀧上正: 日本傳染病學會雜誌, 第一報, 766—771.

STUDY ON THE ATYPICAL STRAINS OF *SHIGELLA* *DYSENTERIAE*

WU, K. Y., CHEN, K. K., WANG, J. F. & CHEN, T.

(Fukien Provincial Research Institute for Epidemiological Diseases, Foochow)

Atypical strains of *Sh. dysenteriae* have been reported from many laboratories. During our study of dysentery disease among children in Foochow in 1956, we have also obtained 2 inggluinable strains, which after several passages in bileglucose broth, were identified by bacteriological and serological methods to be atypical strains of Flexner bacilli types 3 and 4 respectively. The former was quite stable in its fermentating activity, and was able to ferment, among other sugars, rhamnase, but not dulcitol. The latter was comparatively labile in its fermentating activity, and it fermented neither rhamnase nor dulcitol. Both strains were found to be more resistant to the ordinary disinfectants tested and to heat, than the typical strains. The significance of these findings was briefly discussed.