

家兔实验性痢疾角膜结膜炎的初步研究报告

葛福洪 張金鑒*

(河南医学院微生物学教研组, 郑州)

自从痢疾的病原菌发现以来, 对痢疾免疫问题的研究尚不够理想, 这是由于缺乏适当的实验动物模型的缘故。自从 1955 年 Sereny^[1] 证明用新分离的痢疾菌株接种于豚鼠的结膜囊, 能规律的发生角膜结膜炎以后, 国内外许多学者^[2-9, 11] 对这种动物的实验模型进行了复试, 都获得了类似的结果。同时, 根据 Манолов^[3] 的研究, 认为家兔和豚鼠对痢疾菌株的实验感染具有相同的感受性。为了便于多次采血及观察症状起见, 本实验系用家兔作为实验对象。以福氏痢疾菌 (F2a) 进行多次的结膜囊感染, 进一步观察实验动物的症状, 重复感染所出现的现象, 以及血清抗体情况, 希图对痢疾免疫作一些初步探索。

1. 动物 选用白色短毛健康家兔, 体重 1500—2000 克左右, 作分笼饲养。

2. 实验用菌株 采用菌株系由临床新分离的 1 株福氏菌 (F2a), 按照 Беляя^[10] 保存菌种毒力的方法, 每隔 2—3 个月通过豚鼠的角膜以后, 保存于明胶半固体培养基之安瓶中, 封固后置冰箱 (4℃ 左右) 保存。每次用时, 先将保存的菌株接

种于远藤氏培养基, 经 24 小时培养 (37℃) 后, 接种于 Dorset 氏卵黄培养基, 37℃ 经 24 小时培养后, 以无菌盐水洗下, 制成均匀悬液, 以比浊管法调整所需的菌液浓度, 立即应用。

3. 感染方法 取 0.25 毫升的注射器, 附以 24 号针头, 每次感染均以 0.02 毫升菌液 (6 亿菌) 滴入家兔结膜囊。实验共用家兔 12 只, 感染前采血测定正常血清凝集价。感染单侧眼 (右眼) 的结膜囊后, 每天定时观察眼的症状, 并记录临床经过, 于临床症状完全恢复后, 间歇一定时期 (6—25 天) 再以同样方法对同侧眼 (右眼) 作第 2 次第 3 次以至第 5 次感染, 每天同样记录临床变化过程。于以上每次感染的次日起每天取分泌物接种于远藤氏培养基, 作分离培养, 如此, 连续五次分离培养痢疾菌均为阴性者, 作为阴性培养标准。计算排菌时间, 在远藤氏培养基上绝大多数均为纯菌生长, 仅在几次中分离到其它杂菌。另外于每次感

* 指导人: 杨永年教授, 黎希干教授。

本文为中国微生物学会 1963 年学术年会转稿。

表 1 痢疾杆菌多次感染家兔结膜的病期、排菌期及血清抗体滴价

动物号	感染前血清抗体滴价	第一次感染			第二次感染			第三次感染			第四次感染			第五次感染		
		病期(天)	排菌(天数)	血清抗体滴价	病期(天)	排菌(天数)	血清抗体滴价	病期(天)	排菌(天数)	血清抗体滴价	病期(天)	排菌(天数)	血清抗体滴价	病期(天)	排菌(天数)	血清抗体滴价
61	1:10	16	14	1:1280	6	3	1:640	5	1	1:640	2	1	1:320	10	0	1:320
62	1:20	18	12	1:320	19	3	1:320	5	0	1:80	7	4	1:160	3	0	1:320
63	1:10	14	9	1:320	5	3	1:320	4	4	1:160	8	4	1:320	2	1	1:160
64	1:10	20	11	1:640	6	1	1:640	5	1	1:640	5	2	1:640	6	0	1:320
65	1:10	16	12	1:160	11	3	1:80	5	1	1:160	9	1	1:160	6	4	1:160
66	1:40	8	11	1:320	9	4	1:320	3	2	1:320	5	2	1:320	12	1	1:160
68	1:10	15	8	1:80	4	3	1:160	3	1	1:160	6	2	1:160	2	2	1:160
69	1:20	18	12	1:320	5	0	1:160	4	2	1:320	2	1	1:160	2	1	1:160
70	1:20	18	16	1:320	2	0	1:160	3	1	1:80	8	3	1:40	6	0	1:40
71	1:10	15	13	1:160	17	2	1:160	9	1	1:160	8	1	1:80	7	0	1:80
72	1:20	18	16	1:1280	3	4	1:320	3	1	1:320	5	1	1:160	2	0	1:320
79	1:20	13	16	1:80	0	1	1:160	7	0	1:80	5	1	未作	5	1	1:160

染 2 周后,采血作凝集反应 1 次,每次作再感染后,都有初次感染动物作对照。实验结果见表 1。

从以上实验结果看来,以一定量(6 亿)的福氏痢疾菌(F2a)作第 1 次接种于家兔的一侧结膜囊以后,经过 1—2 天的潜伏期,能规律的引起角膜结膜炎。初期症状为结膜充血浮肿,分泌增加,而后分泌物逐渐变为粘液脓性,镜检可见大量中性白血球。后来炎症渐渐扩展至角膜,使角膜发生混浊,血管新生。炎症反应多半持续至 2—3 周以上,而后结膜炎症减退,角膜透明度逐渐恢复。对侧未感染眼未见任何症状。

连续经 2、3、4 次的感染同侧眼以后,随着感染次数的增加,角膜及结膜炎症痊愈时间缩短。在表 1 可见初次感染后的平均病期为 15.75 天;2 次为 7.25 天;3 次为 4.66 天。再感染症状逐渐减弱,平均排菌日期也渐渐缩短,如第 1 次感染后排菌日期为 12.50 天;2 次为 2.25 天;3 次为 1.25 天。更长的带菌时间未曾发现,甚至个别动物再次感染 24 小时后即分离不到作感染的同型菌株。

经初次痢疾菌(F2a)的感染发生角膜结膜炎后,在血流中可以看到对特异抗原凝集效价的上升。一般在感染 2 周以后,其效价可达 1:80—

1:1280(参看表 1)。连续感染时效价呈维持水平。

当单侧眼经过多次感染以后,如以同一菌株同时感染该家兔的双眼时,一般说来初次感染的眼(即对侧眼)较多次感染的眼症状重,病期长,但所产生的症状均较两眼从未感染过的动物的初次感染症状为轻,而且痊愈的时间也相应的缩短。

参 考 文 献

- [1] Sereeny, B.: *Acta Microbiol. (Hung)*, **3**:293—296, 1956.
- [2] Gekkei, V. D., Belaya, J. A. and Melnik, E. T.: *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **1**:70—74, 1957.
- [3] Манолюб, Д. Г.: *Ж.М.Э.И.*, (10): 94—98, 1957.
- [4] 冯振南,方纲,谢少文: *中华医学杂志*, **44**:329—337, 1958.
- [5] 冯振南: *人民保健*, (7):605—608, 1959.
- [6] Носков, Ф. С.: *Ж.М.Э.И.*, (7): 124—125, 1959.
- [7] Яхьяна, Н. А. И., Кузнецова, Н. С.: *Ж.М.Э.И.*, (7): 98—102, 1959.
- [8] Шанмаренко, И. В.: *Ж.М.Э.И.*, (10): 141—145, 1959.
- [9] Sereeny, B.: *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **3**(3):292—305, 1959.
- [10] Белая, Ю. А.: *Ж.М.Э.И.*, (1):18—21, 1962.
- [11] 潘绍武: *微生物学报*, **8**:316—320, 1962.