

# 金黄色葡萄球菌血清型及其分布的研究

王润芝 徐敏华 张顺玉

(黑龙江省应用微生物研究所, 哈尔滨)

朴 相 浩

(中国人民解放军 59171 部队)

金黄色葡萄球菌血清型及其分布的研究, 对金黄色葡萄球菌感染的控制、预防、治疗及疫苗的研制, 都是十分必要的<sup>[1,2]</sup>。

目前, 金黄色葡萄球菌分型方法有噬菌体

法与血清学法两种<sup>[3-6]</sup>。前者操作复杂, 不易掌握。后者 Oeding 氏获得了成功的结果, 制备了 8 种因子血清, 将凝固酶阳性金黄色葡萄球菌分为四个型和 30 多个亚型, 分型率达 98.9%<sup>[7,8]</sup>。

为了探讨我国金黄色葡萄球菌血清型及其分布。从 17 个省、市、区搜集到 696 株凝固酶阳性金黄色葡萄球菌。以 Oeding 氏法进行了血清学分型及其分布的研究,分型率达 93.39%。其中以 IV 型为主,占 66.67%。现将结果报告如下。

材 料 与 方 法

- 1. 金黄色葡萄球菌的标准菌株: 由卫生部药品生物制品检定所供给的 Oeding 氏金黄色葡萄球菌标准株: 17 A, F<sub>21</sub>, 2253, S<sub>365</sub>, 1503, 2095, 3189, 3647。
- 2. 供试菌株的来源: 由 17 个省、市、区的金黄色葡萄球菌感染患者(败血症、烧伤、外伤感染、脓胸、腹膜炎、多发性疖肿和耳、鼻、喉感染)的创面、脓汁、分泌物中,分离得到 696 株凝固酶阳性金黄色葡萄球菌。经纯化,常规鉴定,保存备用。
- 3. 免疫血清的制备: 按 Oeding 氏法制备免疫原<sup>[1]</sup>, 稀释浓度为 50 亿/毫升\*, 作家兔免

疫。选 2 公斤左右的健康家兔,用常规法测定血清中有无对该菌的天然凝集素,若无则可从耳静脉注射,用间歇连续三日法,共注射三程。每程隔五日。第一程注射剂量为: 0.1、0.2 和 0.4 毫升。第二程为 0.4、0.6 和 0.8 毫升。第三程为 0.8、1.0 和 1.0 毫升。待第三程末次注射后,5—7 日采血。若免疫血清凝集价在 1:2400—4800 之间,即用于因子血清吸收。56℃灭活 30 分钟后,加入硫柳汞防腐,使其最终浓度为 1:10000,分装小瓶,冰箱保存备用。

4. 因子血清(分型血清)的制备: 将标准菌株分别接种在肉汤琼脂培养基上,37℃培养 18 小时,用 1% 甲醛生理盐水制成悬液,离心将沉淀物悬浮生理盐水中,测菌液浓度,冰箱保存备用。将吸收菌按表 1 所示的量加入稀释 10 倍的免疫血清中(此菌量与 Oeding 氏法不同),混匀。置 37℃水浴,振荡吸收 2 小时,然后置冰箱过夜。离心取上清,做凝集试验。制备因子血清,与免疫菌的凝集为强阳性,而与吸收菌的凝集为阴性即为合格。加入硫柳汞,其最终浓

表 1 因子血清吸收

因子血清	免 疫 菌 株		吸 收 菌 株		吸收菌用量 (亿/毫升血清)
	标 准 株	抗原模式*	标 准 株	抗原模式	
ac	3647	abc	3189	bfg	1,314
a	3647	abc	F <sub>21</sub>	(a)bci	1170
b	2095	(a)bc	2253	acl	1848
c	3647	abc	1503	ae	984
e	1503	ae	3189 } 各半	bfg	1314
h	17A	ah	3647	abc	1940
i	F <sub>21</sub>	(a)bci	1503	ae	3656
k	S <sub>365</sub>	abk	2095	(a)bc	972
			2095	(a)bc	972

\* 见参考文献[7, 8]。

度达 1:10000,分装后放低温冰箱保存。

5. 血清分型方法: 将被检菌株接种于肉汤琼脂斜面,37℃培养 5 小时,以生理盐水制成菌悬液,稀释浓度为 50 亿/毫升。此液即为凝集原,分别与 8 种因子血清做玻片凝集试验。将凝集原与因子血清各以等量加入,混匀,置 37℃15 分钟,轻轻摇动 3 分钟观察。同时以阴性血清作对照,记录结果。

分型原则参照 Oeding 氏 1957 年建议,即含有 e 或同时有 i 因子为 I 型,无 e、i、k 因子为 II 型,含有 i 而无 e 因子为 III 型,含有 k 因子为 IV 型,与因子血清不起凝集反应的菌株,暂作为不凝株(未定型)。

\* 用 72 型分光光度计,单色光波长 600 毫微米,比色杯 10 毫米测光密度值,根据方程  $X=(Y-1.565)/2.565$  做出回归曲线图,按此图计算菌液浓度。

## 试验结果

### 一、696株凝固酶阳性金黄色葡萄球菌分型结果(见表2)

696株凝固酶阳性金黄色葡萄球菌分型结果为: IV型和III型分布较多,其中以IV型为最多, I型次之, II型最少。

从搜集到各型菌在25株以上的9个省市中, 比较金黄色葡萄球菌各血清型的分布情况(见图1)。血清型IV型的分布率为40—83%, 占首位。III型为11—30%, 次之。II型最少, 仅为2—6%。

### 二、血清型及分型率

696株凝固酶阳性金黄色葡萄球菌中, 有464株(占66.67%)为IV型, 110株(15.8%)为III型, 59株(8.48%)为I型, 17株(2.44%)为II型。分型率为93.3%。不凝集株为46株, 占6.61%。

### 三、分型的重复性和稳定性

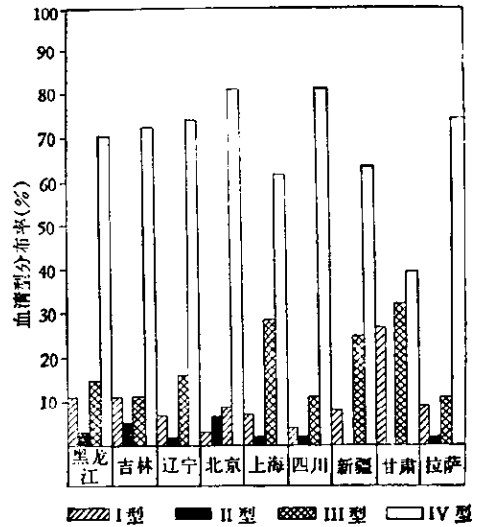


图1 金黄色葡萄球菌血清型分布率

随机抽测部份菌株, 重复5次分型, 结果为: 重复率达100%有4株, 重复率达80%有1株, 平均重复率为96%。

表2 696株金黄色葡萄球菌的分型结果

地 区	血 清 型 别				不凝株	菌株数
	I	II	III	IV		
黑龙江	20	7	28	131	10	196
吉 林	7	3	7	45	4	66
辽 宁	4	1	9	42	0	56
北 京	1	2	3	30	5	41
天 津	0	0	0	2	0	2
河 南	2	0	1	11	3	17
新 疆	2	0	6	15	3	26
上 海	4	1	16	36	4	61
四 川	4	2	13	83	11	113
江 苏	0	0	4	2	0	6
湖 北	2	0	4	8	0	14
湖 南	0	0	1	1	0	2
宁 夏	0	0	2	0	1	3
昆 明	0	0	1	0	0	1
广 东	1	0	1	11	1	14
甘 肃	7	0	8	10	0	25
拉 萨	5	1	6	57	4	53
菌株数	59	17	110	464	46	696
各型百分率(%)	8.48	2.44	15.80	66.67	6.61	

分型率(%)

93.39

## 讨 论

1. 从本试验结果看,在全国 17 个地区作为感染源的金黄色葡萄球菌主要为血清型 IV 型,这一点是否与菌株的毒力、耐药性及对环境的适应性有关,尚待进一步研究。

2. 金黄色葡萄球菌具有多种表面型特异抗原,而这种抗原又受培养基成分、培养温度和时间等因素的影响<sup>[10]</sup>,因此,因子血清制备较困难,分型结果重复性较差。通过实践,我们认为严格控制该菌的培养条件,是能使其分型基本稳定的。

3. 假凝集问题:准确的判断凝集的真假是能否正确分型的关键之一。可按 Hankewes 氏的真假凝集标准<sup>[11]</sup>来识别。

4. 关于因子血清吸收方法问题:实验证明,制备因子血清时,加入吸收菌的量,应根据血清效价高低和因子血清吸收的难易来确定。若一律加入等量的菌时,有的血清就需要反复

多次吸收,要在吸收开始时,根据具体情况加入不等量菌,只需要 1—2 次即可吸收合格。

## 参 考 文 献

- [1] Smith, A. et al.: *Microbiol. Pathol.*, 7th ed. 1960, p. 90.
- [2] Теодорович, Г. Р. и др.: *Ж. М. Э. Н.*, 5:133, 1963.
- [3] 傅正恺等: *中华医学杂志*, 10:649, 1963.
- [4] Smith, P. B.: *The Staphylococci* (ed. by Cohen, J. O.), 1972, p. 431.
- [5] Cowan, S. T.: *J. Pathol. Bacteriol.*, 48(4): 169, 1939.
- [6] Fleurette, J. et al.: *Staphylococci and Staphylococcal Diseases*, 1976, p. 71.
- [7] Oeding, P.: *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, (suppl.), 93: 356, 1952.
- [8] Oeding, P.: *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 41: 310, 1957.
- [9] Oeding, P.: *Bacteriol. rev.*, 24: 374, 1960.
- [10] Cohem, J. O.: *The Staphylococci* (ed. by Cohen, J. O.) 1972, p. 419.
- [11] Haukene, G.: *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 70: 590, 1967.