

小肠结肠炎耶氏菌 Vi 抗原的研究

于恩庶 翁士珍 李功惠

(福建省卫生防疫站,福州)

摘要 从小肠结肠炎耶氏菌发现 Vi 抗原,这是首次报道。用 Vi 抗原的抗血清测定菌株的毒力,与 VW 抗原和毒力因子血清测定的结果完全一致,即仅毒力株有 Vi 抗原,无毒株则无。故可肯定 Vi 抗原是小肠结肠炎耶氏菌的一种毒力抗原。利用 Vi 抗血清测定菌株的毒力,是非常简便的。

关键词 小肠结肠炎耶氏菌; Vi 抗原; VW 抗原

Vi 抗原在沙门氏菌的存在, 早已证实。它是一种表面抗原, 不同于 O 抗原和 H 抗原, 与菌株的毒力有密切关系, 故称为毒力抗原。此外, Vi 抗原在钩端螺旋体的存在也有报道^[1]。本文研究小肠结肠炎耶氏菌有否 Vi 抗原, 其目的是阐明与菌株的毒力有何关系。

材 料 和 方 法

(一) 菌种

小肠结肠炎耶氏菌 O:3 型毒力株 56 株, 无毒株 79 株; O:9 型毒力株 9 株, 无毒株 3 株; O:5, 27 型无毒株 60 株, 大部分系从福建各地的人和动物中分离到的, 少部分系国内各省市送来鉴定的。其中 R34 株和岩 15 株系从福建黄毛鼠和猪分离的, 经过鉴定两株均为生物 3 型。R34 株为血清 O:3 型, 岩 15 株为血清 O:9 型。这两株在乏钙培养基上, 均可分离出钙依赖株和钙不依赖株, 即 VW 抗原阳性株和阴性株, 前者对小白鼠有毒力, 后者无毒力。另外, 48 个血清型的标准参考株系从卫生部药品生物制品检定所和江西省微生物研究所领用的, 其中仅 O:9 型一株有 VW 抗原。

(二) Vi 抗血清的制备

用 R34 和岩 15 的钙依赖株在营养琼脂上, 37℃ 培养 2 天的活菌, 制成菌悬液, 静脉免疫家兔 8 次所制备的免疫血清, 用同株 23℃ 培养菌, 于 56℃ 加热 10 分钟后吸收, 必要时再增加吸收 1—2 次, 直至与同株钙不依赖株不发生凝集为止, 但与同株钙依赖株仍能凝集。

(三) VW 抗原测定

参考于恩庶等介绍的方法^[2]。

(四) 毒力因子血清

参照 Doyle^[3], 青木等^[4]及陈贻错等^[5]介绍的方法制备。

(五) 质粒 DNA 测定

参照 Kado 等介绍的方法^[6]。

结 果

(一) Vi 抗血清滴定

R34 抗血清与同株有毒株 (R34⁺) 和无毒株 (R34⁻), 37℃ 培养, 菌均发生凝集反应。但 R34 株 Vi 抗血清仅与毒株发生凝集, 而且效价与原血清相同, 与无毒株不凝集 (见表 1)。

岩 15 株 Vi 抗血清, 与上述结果相同。

表 1 Vi 抗血清滴定

R34 抗血清	抗原	凝 集 试 验							
		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
原血清	R34 ⁺	4	4	4	4	3	2	1	—
原血清	R34 ⁻	4	4	4	3	2	—	—	—
Vi 抗血清	R34 ⁺	4	4	4	4	3	2	±	—
Vi 抗血清	R34 ⁻	—	—	—	—	—	—	—	—

再取 O:3 型 6 株和 O:9 型 2 株在乏钙培养基上挑选出 VW 抗原阳性 (VW⁺) 和 VW 抗原阴性 (VW⁻) 两种菌体, 分别与 R34 和岩 15 两型 Vi 抗血清做玻片凝集试验, 结果 VW⁺ 株均为阳性, VW⁻ 株均为阴性 (见表 2)。

(二) R34 株 Vi 抗血清与毒力因子血清测定结果比较

用 R34 株 Vi 抗血清和毒力因子血清测定 O:3 型 135 株, O:9 型 13 株, O:5, 27 型 60 株的毒株和无毒株, 结果完全一致。另外, 48 个

血清型参考株, 除 O:9 型外, 均为 VW⁻ 株, 两种抗血清滴定也是 O:9 型为阳性, 其余为阴性。即两种抗血清与 VW 抗原阳性株均发生凝集反应, 与 VW 抗原阴性株均无反应 (见表 3)。

讨 论

Vi 抗原是一种毒力抗原在沙门氏菌和钩端螺旋体等均已证实。我们这次从小肠结肠炎耶氏菌的毒株中发现, 而在无毒株中不能检出

表2 同一株 VW⁺ 和 VW⁻ 菌体用两型 Vi 抗血清测定结果

菌种	血清型	VW 抗原	质粒 DNA Mdal	Vi 抗血清 (1:40)	
				R34	岩 15
R34	O:3	+	45	+++	+++
R34	O:3	-	-	-	-
77	O:3	+	45	+++	+++
77	O:3	-	-	-	-
H185	O:3	+	44	+++	+++
H185	O:3	-	-	-	-
剖 6	O:3	+	45	+++	+++
剖 6	O:3	-	-	-	-
R30	O:3	+	45	+++	+++
R30	O:3	-	-	-	-
H149	O:3	+	44	+++	+++
H149	O:3	-	-	-	-
岩 15	O:9	+	45	+++	+++
岩 15	O:9	-	-	-	-
12	O:9	+	45	+++	+++
12	O:9	-	-	-	-

表3 两种抗血清测定结果

耶氏菌株	VW 抗原	株数	毒力因子血清		Vi 抗血清	
			+	-	+	-
地方株 O:3 型	+	56	56	0	56	0
地方株 O:3 型	-	79	0	79	0	79
地方株 O:9 型	+	9	9	0	9	0
地方株 O:9 型	-	3	0	3	0	3
地方株 O:5,27 型	-	60	0	60	0	60
标准株 O:9 型	+	1	1	0	1	0
标准株其它各型	-	47	0	47	0	47

这一事实,也肯定了 Vi 抗原的致病意义。根据 76 个有毒株和 189 个无毒株的测定结果,可以看出 VW 抗原、毒力因子血清和 Vi 抗血清三种方法测定的结果完全一致。国内外文献反复证明,

VW 抗原和自凝性都是菌株毒力的主要标志,近年来使用毒力因子血清测定菌株的毒力,也已成功。

毒力因子血清和 Vi 抗血清都是用有毒株活菌免疫家兔制备的抗血清:前者用免疫株的无毒衍生株,即没有 Vi 抗原的菌体吸收后制成;后者以免疫用的毒株加热 56℃ 10 分钟破坏 Vi 抗原后的菌体吸收,实际上两种吸收抗原是相同的。其次,Vi 抗血清和毒力因子血清都不具有型特异性,即用 O:3 血清型毒株制备的抗血清,不仅对 O:3 型,也对 O:9 型有毒株产生凝集反应。还有 Vi 抗血清和毒力因子血清都与 37℃ 培养菌发生凝集反应,与 23℃ 不呈反应。两种抗血清吸收用的细菌培养温度,对吸收效果均有一定影响,即用 37℃ 培养菌吸收不完全,而用 23℃ 培养菌才能吸收完全,两种抗血清也是相同的。根据上述结果有理由判定毒力因子血清,就是 Vi 抗血清。但 Vi 抗原与 VW 抗原的关系,有待进一步研究。青木等^[4]认为毒力因子血清,即是 VW 抗血清。但 Doyle 等^[5]用琼脂扩散试验证明 VW 抗原不是与毒力因子血清起反应的决定簇,但它们都可能是 40—50Mdal 质粒 DNA 指令产生的。

参 考 文 献

- [1] 上野晃子,他:日本细菌学杂志,37(1): 125,1982。
- [2] 于恩庶、张宝英:中华微生物学和免疫学杂志,3: 190, 1983。
- [3] Doyle, M. P. et al: *Infection and Immunity*, 37: 1234, 1982。
- [4] 青木英雄,他:日本细菌学杂志,37: 188,1982。
- [5] 陈贻镛、于恩庶、李功惠:福建医药杂志,7(6): 32, 1985。
- [6] Kado, C. T. et al: *Journal of Bacteriology*, 145: