

试用噬菌体对副溶血弧菌分型研究

林业杰 陈亢川 胡海林 陈 亮

(福建省卫生防疫站 福州 350001)

摘要 应用噬菌体分型是在疾病发生流行时追查传染源和传播途径等流行病学调查中的一种有效手段。该文作者采用自行分离的8株副溶血弧菌噬菌体对实验室保存的214株副溶血弧菌试做了分型研究,结果分型率为89.72%,检出36个不同的噬菌体型,其中以400(19.63%)、100(9.35%)、300(7.0%)、010(6.54%)、440(6.07%)、220(4.76%)和200(4.21%)等7个型较常见,占总分型菌的57.48%。但从本次试验结果表明福建地区的副溶血弧菌的噬菌体型分布较复杂,型别多且分散,可能与本次的供试菌株主要来自散发性病例有关。

关键词 副溶血弧菌,噬菌体分型

副溶血弧菌(*Vibrio. Parahaemolyticus*)是我国沿海地区细菌性食物中毒的主要病原菌。对该菌采用特异性噬菌体分型,国内外资料甚少。近年来,笔者陆续从海产品中分离出66株副溶血弧菌噬菌体^[1],经初试从中筛选出8株性能稳定、裂解力强、裂解谱不同的噬菌体株,对实验室保存的214株副溶血弧菌试行分型试验,现将试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 分型噬菌体来源

系从福建沿海地区海产品标本中分离的副溶血弧菌噬菌体中,选出裂解谱完全不同的噬菌体8株,使用前将各株噬菌体分别配制成100个RTD浓度,置4℃冰箱可连续使用7~10天。

1.2 供试菌株

系本实验室保存的,从福建各地腹泻患者标本分离的副溶血弧菌203株、海产品9株、

水源2株,共计214株。

1.3 培养基

碱性肉汤和营养琼脂均按文献配制^[1]。

1.4 噬菌体分型方法

将被检菌纯化后,接种于2ml碱性肉汤,37℃培养2h至肉眼可见轻微浑浊,用吸管吸取此幼龄菌液注入已经准备好的营养琼脂平板,倾斜并转动平板,使菌液平铺到整个平板,再倾斜平板将多余的菌液吸出,待琼脂表面的菌液吸收干后,用装有4.5号针头的消毒注射器,分别吸取各株分型噬菌体液,在各平板的规定位置上滴加8种噬菌体,依次为P1~P8,待噬菌体液被吸收干后,置37℃温箱培养6~8h,观察结果。

1.5 结果记录

依据噬菌斑情况打“+”表示,按通常的融

表1 噬菌体分型结果编码法

噬菌体P1 (4)	噬菌体P2 (2)	噬菌体P3 (1)	编码
+	+	+	7
+	+	-	6
+	-	+	5
+	-	-	4
-	+	+	3
-	+	-	2
-	-	+	1
-	-	-	0

合性裂解(cL)为++++; 半融合性裂解(SCL)为+++; 不透明(OL)或有50个以上单斑者为++; 20~50个单斑为+; 20个以下均判为阴性。凡“+”以上均统计为裂解。

1.6 分型噬菌体的编码法

按何晓青的编码法^[2,3], 将分型噬菌体每种编为一组, 三种噬菌体所出现的裂解模式用七进编号法分别编为0~7号(表1)。8株噬菌体的结果可依次编为三位(三组)数字, 但第组只有2株(即2种); 故第三位数字最大只有6。

表2 8株分型噬菌体的裂解模式

繁殖菌	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
1	CL							
2		CL						
3			CL					
4				CL				
5		CL			CL			
6					CL	CL		
7		CL					CL	
8					CL			CL

表3 214株副溶血弧菌的噬菌体型分布

噬菌 体型	菌株来源			小计 (%)	噬菌 体型	菌株来源			小计 (%)	
	患者	海产品	水			患者	海产品	水		
740	2			2(0.9)	204	5			5(2.34)	
660	1			1(0.47)	200	9			9(4.21)	
640	3			3(1.4)	160	1			1(0.47)	
620	1			1(0.47)	120	1			1(0.47)	
540	2			2(0.9)	110	2			2(0.9)	
510	1			2(0.47)	100	20			20(9.35)	
450	3			3(1.4)	050	2	1		3(1.4)	
440	13			13(6.07)	040	6			6(2.8)	
420	2			2(0.9)	032	1			1(0.47)	
410	3			3(1.4)	030	1			1(0.47)	
400	39	3		42(19.63)	024	2			2(0.9)	
340	1			1(0.47)	022	7			7(3.27)	
320	2			2(0.9)	020	6			6(2.8)	
300	15			15(7.0)	012	1			1(0.47)	
240	2			2(0.9)	010	11	3		14(6.54)	
230	1			1(0.47)	004	3			3(1.4)	
224	2			2(0.9)	002	3			3(1.4)	
222	1			1(0.47)	000	19	1	2	22(10.28)	
220	9	1		10(4.67)	计	37	203	9	2	214(100.0)

2 结果

2.1 8 株分型噬菌体与 8 株繁殖菌交叉裂解情况 (表 2)

2.2 福建地区副溶血弧菌噬菌体分型情况

经对近年来从福建沿海各县市收集保存的 214 株副溶血弧菌做了分型试验, 结果有 192 株菌能被分型, 分型率为 89.72%。其中人源菌的分型率为 90.64%, 海产品为 88.89%, 2 株水源菌未能分型。共检出 37 个型 (包括未能分型), 其中以 400、100、300、010、440、200 和 220 等 7 个型较为常见, 占总分型菌的 57.48%; 未能分型者占 10.28%, 仅出现过一次的单株型有 11 个, 占总型数的 29.73% (表 3)。

2.3 不同地区来源的副溶血弧菌的噬菌体分布情况

供本次分型试验的 214 株菌中有 189 株是来自福建沿海三个区域, 即闽东、闽中和闽南。按三个不同地区来源的菌株分别统计, 结果发现三个地区的主要型别分布亦有所不同。闽东地区 57 株, 检出 20 个型, 其中以 400、200 和 010 三个型为较常见; 闽中地区 67 株, 检出 24 个型, 以 400、200、440 和 010 四个型为常见; 闽南地区 65 株, 有 19 个型, 以 400、100、440 和 010 四个型较常见 (表 4)。

3 讨论

应用噬菌体对相应菌进行分型, 主要是利

表 4 福建不同地区副溶血弧菌的主要噬菌体分布

地区	主要噬菌体型											计
							020	010	其它	未能分型		
闽东	1	14	0	5	2	0	3	3	4	18	7	57
地区	(1.75)	(25.56)	(0)	(8.77)	(3.51)	(0)	(5.26)	(5.26)	(7.0)	(31.58)	(12.28)	
闽中	6	13	7	2	1	4	1	0	5	22	9	67
地区	(8.96)	(19.4)	(10.45)	(2.99)	(1.49)	(5.97)	(1.49)	(0)	(7.46)	(32.84)	(13.43)	
闽南	6	15	3	2	12	1	3	3	5	12	4	65
地区	(9.23)	(23.08)	(4.62)	(3.08)	(18.46)	(1.54)	(4.62)	(4.62)	(7.69)	(18.46)	(6.15)	

用噬菌体具有高度的特异性, 只能侵染一种细菌中的某些菌株。因此, 通过噬菌体分型可将属于一个血清型的细菌进一步分成若干不同的噬菌体型, 使噬菌体在细菌鉴定与疾病流行时对传染源追踪和传播途径等流行病学调查发挥重要作用。副溶血弧菌是我国沿海地区细菌性腹泻和食物中毒的主要病原菌。采用噬菌体分型, 国外未见报道, 国内自 1978 年孟昭赫等用 8 个型噬菌体对不同来源 543 株菌作了裂解试验, 其裂解率为 24.7% 的报道以来, 未见有其他资料。本文试用自行分离的 8 株噬菌体对福建 214 株副溶血弧菌进行分型研究, 结果有 192 株菌能被分型, 总分型率为 89.72%, 共检出 36 个不同噬菌体型。其中以 400 型占 19.63%、100 型占 9.35%、300 型占 7.0%、010 型占 6.54%、440 型占 6.07%、220 型占 4.67% 和 200 型占 4.21% 等 7 个型较为常见; 有 11 个

型仅出现过一次的单株型; 未能分型菌占 10.28%。根据菌株不同来源地区, 发现不同地区的菌株其常见噬菌体型分布也有不同。闽东地区以 400、200 和 010 三个型占 46.27%; 闽中地区以 400、220、440 和 010 四个型占 46.3%; 闽南地区以 400、100、440 和 010 四个型占 58.5%。但从本次试验的结果看, 福建地区检出的副溶血弧菌的噬菌体型别分布较复杂, 型别多且分散, 这可能与供试菌株主要来自散在性患者有关。另据唐守亭等从日本东芝化学公司引进的分型血清, 对我国沿海地区 135 株副溶血弧菌作了血清学分型研究, 检出 37 个血清型, 其中最常见 01K32 型也仅占总分型菌的 14.4%。所以一般认为采用噬菌体分型会比血清学分型分得更细, 型别更多, 是流行病学调查中追踪传染源和传播途径的有效手段。

参 考 文 献

- [1] 林业杰, 陈亢川, 胡海林等. 中华流行病学杂志 1993, 14(特刊 16 号腹泻病专辑): 122~126.
- [2] 何晓青主编. 卫生防疫细菌检验第一版, 北京: 新华出版社 1989: 651~667.
- [3] 何晓青, 刘小玲, 杨亮等. 中华预防医学杂志 1994, 28(3): 136~139.
- [4] 孟昭赫. 中国腹泻病控制讨论会论文集, 1986: 91~111.
- [5] 唐守亭, 于继华, 施鼎玉等. 中华流行病学杂志 1987, 8(1): 31~33.

TEST OF USING PHAGES TO TYPE *V. PARPHAEMOLYTICUS*

Lin Yejie Chen Kangchuan Hu Hailing Chen Liang

(Fujian Provincial Hygiene & Epidemic Prevention Station, Fuzhou 350001)

Abstract Phage typing is an effective method in searching infective source in epidemiological investigation. We used 8 phages of *V. paraphaemolyticus* isolated by ourselves to type 214 strains of *V. paraphaemolyticus* preserved in our laboratory. The typing rate is 89.72%, 36 different phage types were detected, among those 400(19.63%), 100(9.35%), 300(7.0%), 010(6.54%), 440(6.07%), 220(4.67%) and 200(4.21%) were common, account for 57.48% of bacteria typed. The result of this test shows that the distribution of *V. paraphaemolyticus* phage types in Fujian Province is complex, the phage types are many and dispersed, which may be related to bacteria tested which were collected from scattered patients.

Key words *V. paraphaemolyticus*, Phage Typing