

丙型副傷寒沙門氏菌的 Vi 抗原的研究 (一)

濱野滿雄*

(大連生物製品所)

緒 言

最初, Kauffmann氏^[1,2] 報告丙型副傷寒沙門氏菌(*S. paratyphi* C) 与傷寒沙門氏菌(*S. typhi*)同樣有 Vi 抗原。以後又由日本諸學者加以追試, 著者^[3,9]關於這一問題也有報告。然而丙型副傷寒沙門氏菌的 Vi 抗原是否像傷寒沙門氏菌那樣為基本抗原, Vi 抗原血清學的抗原結構和菌型; 以及 Vi 抗原對小白鼠毒力等有關係問題, 尚有不明瞭之處。著者由旅大、東北、河北等地區共蒐集了丙型副傷寒沙門氏菌 50 株, 其中由旅大地區分離者 20 株, 由東北長春分離者 4 株, 由河北省分離者 26 株, 共 50 株(患者 47 株)。所有這些菌株均係用生物學和血清學的方法鑑定為丙型副傷寒沙門氏菌。著者就以上所提一些問題作了研究, 今將所獲得的結果, 詳述於下。

實驗及結果

實驗一、培養基中加糖對 Vi 抗原的影響:

1. 接種於普通琼膠及葡萄糖琼膠培養基上的菌種的玻片 Vi 凝集反應

將供試驗菌株分別接種於普通琼膠及 0.5% 葡萄糖琼膠培養基上, 於 37°C 下孵育 18—20 小時後, 与傷寒沙門氏菌 Vi 因子血清行玻片凝集反應。結果用葡萄糖琼膠培養基培養者有 46 株(92%) 為 Vi 凝集反應陽性; 而於普通琼膠培養基培養者, 隨移種代數的不同, 有 26 株(52%)至 37 株(74%) 為 Vi 凝集反應陽性。進一步用不同量葡萄糖的含糖培養基培養菌作 Vi 凝集反應, 結果如表 1 所示。相當於 VW 型的菌株, 接種於普通琼膠培養基時, Vi 凝集反應為陰性, 而接種於 0.2%、0.5% 和 1% 葡

* 現在通訊處為河北醫學院。

萄糖琼膠培养基時則為陽性,尤其在 0.5% 葡萄糖琼膠培养基時為適宜。

以上列舉的是若干菌株的結果,其他多數菌株也獲得大致相同的結果。

表1 普通琼膠培养基及不同含量葡萄糖琼膠培养基培养菌的定量凝集反应結果

菌 株 (菌 型)	因子血清	普通琼膠 培 养 基	葡萄糖琼膠基(%)						培养基 号 碼
			0.1	0.2	0.5	1.0	2.0	5.0	
2 (血液) (VW)	Vi	—	—	800	800	1,600	—	—	1
	O	800	400	400	800	800	1,600	1,600	
2 (血液) (VW)	Vi	—	—	—	800	200	—	—	4
	O	800	(800)	400	400	200	400	400	
8 (血液) (VW)	Vi	—	—	(400)	400	—	—	—	1
	O	800	400	400	400	800	800	—	
9 (尿) (VW)	Vi	—	—	(400)	400	(800)	—	—	1
	O	800	400	400	400	800	800	—	
10 (糞便) (VW)	Vi	—	—	—	—	—	—	—	1
	O	800	400	400	400	800	800	—	
11 (尿) (VW)	Vi	—	—	—	(800)	(200)	—	—	1
	O	800	400	800	800	800	1,600	—	
12 (糞便) (VW)	Vi	—	—	—	(400)	—	—	—	1
	O	800	800	800	400	800	800	—	
20 (W)	Vi	—	—	—	—	—	—	—	4
	O	1,600	1,600	800	1,600	3,200	1,600	3,200	
32 (血液) (V)	Vi	400	400	800	800	800	400	400	4
	O	—	—	—	—	—	—	—	
70 (脾臟) (X)	Vi	800	400	400	400	800	800	800	4
	O	—	—	—	—	—	—	—	

註 菌液用福馬林处理的。

數字是肉眼观察的陽性最高稀釋倍数,括号內數字是凝集鏡观察強度的陽性稀釋倍数。

— 血清 100 倍稀釋反应陰性。

2. 各种糖琼膠培养基和 Vi 凝集反应

所用糖類為木糖、阿拉伯膠糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖及糊精。各种糖的含量,根據上述試驗結果,採取 0.5% 和 1%。用 O 因子血清 VII 及 Vi 因子血清做定量凝集反应。結果如表 2 所示,VW 型菌株在各种糖琼膠培养基上,全為陰性 Vi 凝集反应;祇

有於葡萄糖琼膠培养基上則呈特異的陽性 Vi 凝集反应。在普通琼膠培养基上, Vi 凝集反应陰性;在木糖琼膠培养基上,有 3 株 VW 型呈弱陽性反应。

表 2 在各种糖琼膠培养基上培养菌的凝集反应

菌 株 (菌 型)	因子血清	普通琼 膠 基	葡萄糖	乳 糖	蔗 糖	阿拉伯 膠 糖	木 糖	糊 精
2 (VW)	Vi O	— 800	400 (400) 400 (400)	— 400 (800)	— 400 (800)	— 400 (800)	— (400) 400 (800)	— 800 (800)
6 (VW)	Vi O	— 800	200 (400) 400 (800)	— 400 (800)	— 400 (800)	— 400 (800)	— (200) 400 (800)	— 800 (800)
18 (V)	Vi O	400* —	800 —	— —	800* —	800 —	400 —	— —
20 (W)	Vi O	— 1,600	— >3,200	— 1,600	— 1,600	— 1,600	— 1,600	— 1,600
22 (W)	Vi O	— 200	— 400	— 400	— 400	— 400	— 400	— 200
24 (VW)	Vi O	— 800	800 800	— 1,600	— 400	— 200	200 400	— 400
32 (V)	Vi O	400 —	200 —	200 —	400 —	400 —	200 —	200 —
62 (V)	Vi O	400 —	800 —	400 —	400 —	400 —	400 —	400 —
63 (VW)	Vi O	— 800	400* 400	— 1,600	— 1,600	— 800	— 400	— 200
70 (X)	Vi O	800 —	800 —	800 —	400 —	400 —	200 —	400 —

括弧內的數字係用 1% 糖所得結果,其他爲 0.5% 糖。

* 表示帶現象。

3. 普通琼膠及葡萄糖琼膠培养基培养菌製成菌苗的抗原性比較

本試驗主要是把用不同培养物製成菌苗免疫的動物,对傷寒沙門氏菌(V型)的感染防禦机能的比較。茲將試驗方法及結果簡述如下:

1. 丙型副傷寒菌苗对傷寒沙門氏菌的自動免疫試驗。所用小白鼠平均体重爲 14 克。將丙型副傷寒沙門氏菌 2 号菌株(VW 型)接种於普通琼膠基及 0.2% 葡萄糖琼

膠基上, 37°C 培養 18 小時, 製成菌苗; 用 0.5% 福馬林殺菌; 葡萄糖琼膠基培養者同時用 100°C 加熱 1 小時的菌液。將菌苗用生理鹽水由每 0.25 毫升含 10^{-1} 毫克(約 1 億菌體) 10 倍稀釋至 10^{-5} 毫克(約 1 萬菌體)。每隻小白鼠腹腔接種 0.25 毫升。感染菌用鹽水稀釋成每 0.25 毫升含 0.2 毫克(菌體約 2 億; 相當於 10 個 50% 致死量)。每隻小白鼠注射 0.25 毫升。每一稀釋度用 5 隻小白鼠。感染後觀察三天。試驗平均免疫量按 Reed 和 Muench 氏法計算。最小平均免疫量如下:

由葡萄糖琼膠培養基製成的福馬林菌苗為 0.0006 毫克; 由普通琼膠培養基製成的福馬林菌苗為 0.02 毫克; 由葡萄糖琼膠製成 100°C 加熱 1 小時的菌苗為 0.02 毫克。其中以葡萄糖琼膠培養基製成的福馬林菌苗的平均免疫量最小, 因其免疫抗原性高, 效果大的事實可用定量的方法測定出來。

2. 傷寒沙門氏菌及丙型副傷寒沙門氏菌免疫血清對傷寒沙門氏菌的抗菌試驗:

將丙型副傷寒沙門氏菌 6 號菌株 (VW 型) 按上面方法處理製造菌苗, 各免疫兩隻家兔。由耳靜脈注射, 第一回 0.1 毫克(約 1 億菌體) 間隔 3 天; 再倍量免疫到 10 毫克(約 100 億菌體); 最後一次注射 7 日後, 採血分離血清, 進行試驗。對照用傷寒沙門氏菌 Watson 株 (V 型) 福馬林菌苗免疫的家兔血清及丙型副傷寒沙門氏菌 Hirschfeld 株 (W 型) 活菌的免疫血清。上述免疫血清由原血清起, 10 倍稀釋至 1,000 倍。取不同倍數的血清, 每隻體重 14 克的小白鼠腹腔注射 0.25 毫升; 立刻由另一側腹腔內注射傷寒沙門氏菌 Watson 株 (V 型) 0.2 毫克(約 2 億菌, 相當於 3 個 50% 致死量), 觀察 3 天。每一血清稀釋度用 4 隻小白鼠。免疫血清的平均感染防禦量按 Reed 和 Muench 二氏法計算, 其結果按效力大小的次序排列如下: 傷寒沙門氏菌 Watson 株 (V 型) 免疫血清為 0.0025 毫升; 葡萄糖琼膠培養物製成的福馬林菌苗免疫血清為 0.01 毫升; 普通琼膠培養物製成的福馬林菌苗為 0.025 毫升; 葡萄糖琼膠培養基培養菌加熱 100°C 1 小時製成菌苗免疫血清為 0.06 毫升。這個結果說明, 用葡萄糖琼膠培養物製成的福馬林菌苗較用普通琼膠培養物製成者效果大。對照丙型副傷寒沙門氏菌 Hirschfeld 株 (W 型) 的活菌免疫血清原液 0.25 毫升也未獲得感染防禦能力。上述 (1) 和 (2) 傷寒沙門氏菌 (V 型) 的感染防禦結果說明, 在免疫方面 Vi 抗原 (自動免疫) 和 Vi 抗体 (被動免疫) 是必要的。

實驗二、Vi 抗原的分析和菌型:

供試驗丙型副傷寒沙門氏菌以 2 號, 20 號, 32 號和 70 號四株為代表; 對照用傷寒沙門氏菌 T₄ 株 (X 型) 和傷寒沙門氏菌 Vi I (X 型)。在平皿上菌落外觀與 Giovardi

氏^[10]所報告的傷寒沙門氏菌各菌型相同。菌落均爲圓形，平滑的；但 32 号菌株 (V 型)，70 号菌株 (X 型) 呈明顯的白色混濁。

家兔免疫血清：用丙型副傷寒沙門氏菌 Hirschfeld 株 (W 型) 福馬林菌液及 100°C 加熱 1 小時處理菌液以及豬霍亂沙門氏菌 1535 菌株 (僅有 H 抗原 C 因子的 R 型菌) 福馬林菌液作爲抗原。其他對照的吸收血清用傷寒沙門氏菌 72 号血清 (傷寒沙門氏菌 Watson 株 V 型活菌免疫血清以傷寒沙門氏菌 W 型吸收的抗 A 血清，含有安東氏^[11]所謂的 Vi 及 T 抗体)。傷寒沙門氏菌 594 号血清 (傷寒沙門氏菌 T₄ 株 100°C 加熱 1 小時菌液所免疫的血清，用傷寒沙門氏菌 R 型菌吸收掉 R 及 H 抗体的抗 T 血清) 以及傷寒沙門氏菌的 R 型免疫血清。將丙型副傷寒沙門氏菌 32 号及 70 号菌株分別接種於普通琼膠基和葡萄糖琼膠基上，用福馬林處理的菌液免疫家兔，比較兩者抗体的產生情況。

凝集抗原除傷寒沙門氏菌 T₄ 株，傷寒沙門氏菌 Vi I 及豬霍亂沙門氏菌 1535 菌株外，皆用 0.5% 葡萄糖琼膠基培養，用福馬林及 100°C 加熱 1 小時處理的每毫升含 1 毫克 (約 10 億) 的菌液。

表 3 爲各種非吸收血清凝集反應的結果，由該表可看出：

2 号、20 号、32 号等菌株有丙型副傷寒沙門氏菌共同的 O 抗原，而 70 号菌株爲具有 ϕ 抗原的 R 型菌。這和傷寒沙門氏菌 T₄ 菌株 (X 型菌) 具有同樣特性。除 Hirschfeld 株外，其他各種丙型副傷寒沙門氏菌免疫血清中皆存有 Vi 抗体。20 号菌株福馬林菌液和各株丙型副傷寒沙門氏菌福馬林菌液免疫血清，呈粗大雲絮狀的反應，表示爲 H 凝集反應；其他丙型副傷寒沙門氏菌血清呈硬的小鱗片狀，表示爲 Vi 凝集反應。豬霍亂沙門氏菌 1535 号株 (僅有 H 抗原 C 因子的 R 型菌株) 福馬林菌液和各株丙型副傷寒沙門氏菌福馬林菌液免疫血清呈高度的 H 凝集反應。

表 4 是免疫血清吸收試驗後，檢查其剩餘抗体的結果。表中記載剩餘抗体的記号爲 A、Vi 及 T，其意義是安東氏^[11]所提倡的；即抗 A 血清是不安定部分 (狹義 Vi 抗原)，安定部分 (T 抗原) 及中間部分抗原所組成的廣義 Vi 抗原的相應抗体。

抗 Vi 血清是 A 抗原中不安定部分狹義的 Vi 抗原抗体，是安東氏所謂由抗 A 血清中把 T 抗体吸收後的血清。抗 T 血清是廣義的 Vi 抗原中安定部分抗体。該表表示下列諸點：(1) 丙型副傷寒沙門氏菌 Hirschfeld 株 O 血清，用紐波特沙門氏菌 (*S. newport*) O 菌液吸收製成的丙型副傷寒沙門氏菌 VII 因子血清，除丙型副傷寒沙門氏菌 70 号株及傷寒沙門氏菌 T₄ 株爲陰性反應外，與丙型副傷寒沙門氏菌 100°C

表 3 丙型副傷寒各型菌株的凝集反应(非吸收血清)

血 清 凝集原 (型)	P. C. 32(V)			P.C.6(VW)		Hirschfeld(W)		P. C. 70 (X)			猪霍亂 菌1535	傷寒菌 T. 100°C (X) 594	傷寒菌 W17R	抗 原	
	F**	F	100°C 60'	F	100°C 60'	F	100°C 60'	F**	F	100°C 60'	F	F	F		
2 { (VW)	F 100	3200 G 800	800 G 200	400 (400)	6400 G 400	800 400	3200 F 400	400 400	3200 G —	800 G —	(80) —	— —	400 G —	— —	Vi,O,H
20 { (W)	F 100	6400 F 400	6400 F 200	400 (400)	6400 F 1600	800 400	6400 F 400	800 800	400 F —	3200 F —	20 —	>3200 G —	— —	— —	O,H
32 { (V)	F 100	6400 G 3200	800 G 1600	—* (400)	400 G 400	—* 400	(1600) 800	—* 400	1600 G (100)	400 G —	160 160	— —	400 G 200	— —	Vi,O,H
70 { (X)	F 100	6400 G 800	800 G —	— —	400 G —	— —	— —	— —	1600 G (400)	400 G (200)	(320) (160)	—* 400	400 G 200	—* 1600	Vi,φ,H
傷寒菌 T.(X)	F 100	6400 G 200	400 G —	— —	200 G —	— —	— —	— —	800 G (400)	200 G —	(160) 40	— 200	400 G 100	—* 800	Vi,φ,H
傷寒菌 Vi I(X)	F 100	6400 G 100	200 G —	— —	200 G —	— —	— —	— —	800 G 400	200 G 100	160 40	—* —	200 G —	— —	Vi,φ,H
猪霍亂菌 (1535)	F	6400 F			6400 F		6400 F		800 F		(160)	6400 F			φ,H

** 葡萄糖琼脂培养,用福馬林处理製成抗原,免疫家兔(2隻)混合血清。

* 由於Vi 抗原抗 O 或抗 φ 作用,呈陰性凝集反应。

— 血清稀釋 20 或 100 倍呈陰性反应。

F 粗大絮狀凝集(H 凝集反应)。

G 細微顆粒狀或小鱗片狀的凝集(O 或 Vi 凝集反应), F 和 G 為用福馬林处理菌液的凝集狀態。

加熱菌液的凝集反应全為陽性。(2)猪霍亂沙門氏菌 1535 号(是一個特異相粗造型菌)福馬林菌液免疫血清,用 100°C 加熱菌液吸收製成的 H 因子血清 C, 除对 T₄ 傷寒沙門氏菌外,均呈顯明的陽性反应。(3)含有 Vi 抗原的丙型副傷寒沙門氏菌 6 号及 32 号与其他菌株福馬林菌液免疫血清用不含 Vi 抗原的丙型副傷寒沙門氏菌 Hirschfeld 株(W 型)吸收的抗 A 血清和傷寒沙門氏菌 Watson 株(V 型)福馬林菌液免疫血清,用傷寒沙門氏菌(W 型)吸收的抗 A 血清一樣,除对丙型副傷寒沙門氏菌 20 号(W 型)外,都是陽性反应。(4)較上述(3)的抗 A 血清更安定的 T 抗体,用 T 抗原吸收,祇剩餘不安定部分狹義的 Vi 抗原的 Vi 抗体。除丙型副傷寒沙門氏菌 20 号株

表4 凝集反应(吸收血清)

原血清 凝集原 (型)	Hirsch- feld 100°C (W)	Hirsch- feld 100°C (W)	P. C. 6 F (VW)	P. C. 32 F (V)	Watson 16 F (V)	A (3)	A (3)	P. C. 70 傷寒菌 T ₄ 100°C (X)	A (72)	傷寒菌 T ₄ 100°C (X)	P. C. 70 100°C (X)	A (72)	傷寒菌 T ₄ 100°C (X)	P. C. 70 100°C (X)
2 { F (VW) } 100	++	++	+	+	(++)	++	++	(++)	+	++	++	+	++	++
20 { F (W) } 100	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32 { F (V) } 100	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70 { F (X) } 100	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
傷寒菌 T ₄ (X) 100	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
剩餘抗体 (菌种号碼)	O (VII)	H (C)	A (2)	A (3)	A (1)	A (72)	Vi (3-70)	Vi (3-T ₄)	Vi (72-70)	T (5-94)	T ₂ (70-85)	-	-	-

A 抗原(廣義的 Vi 抗原) = 培養 Vi 抗原(不安定部分) + 中間部分 + T 抗原(安定部分)。

++++.....1,600 倍以上陽性；

+++.....400—800 倍陽性；

++.....100—200 倍陽性；

+.....100 倍肉眼觀察為陰性。

括弧內數字採用凝集鏡觀察的凝集值。

外,与所有其他菌株福馬林菌液呈陽性反应,与100°C加熱1小時处理的菌液呈陰性反应。(5)由傷寒沙門氏菌及丙型副傷寒沙門氏菌X型菌100°C加熱菌液免疫血清,前者用傷寒沙門氏菌R型活菌,後者用丙型副傷寒沙門氏菌R型活菌 ϕ 及H抗原吸收製成的抗T血清,与各种菌液凝集反应結果:除丙型副傷寒沙門氏菌20号菌株外,与其他各种福馬林菌液均呈陽性反应,100°C加熱处理的丙型副傷寒沙門氏菌32号及70号菌液也為陽性。(6)傷寒沙門氏菌抗A血清,用丙型副傷寒沙門氏菌70号菌株福馬林菌液吸收,傷寒沙門氏菌T₄株(X型)100°C加熱菌液免疫血清,用丙型副傷寒沙門氏菌70号菌株100°C殺死的菌液吸收,以及丙型副傷寒沙門氏菌70号菌种(X型)100°C殺死的菌液免疫血清,用傷寒沙門氏菌T₄株100°C殺死的菌液吸收的血清,与各株菌液均呈陰性反应。未証明有剩餘抗体的存在。

实验三、Vi 抗原对小白鼠的毒力:

用体重12—15克小白鼠每組3—5隻。將感染菌稀釋成每0.25毫升含 10^{-1} 毫克至 10^{-7} 毫克菌体,進行腹腔感染。經口感染是每隻小白鼠約1毫克菌(菌數約 10^7)

表5 Vi 抗原和毒力的關係(一)(用不同的培养基)

菌 株 (实验号)	接种方法 和 用量(毫克)	普通琼脂培养				葡萄糖琼脂培养			
		凝集價		死亡數/	平均生存	凝集價		死亡數/	平均生存
		Vi	O	試驗數	日 數	Vi	O	試驗數	日 數
12 (4)	10 ⁻¹	—	400	3/3	3.3	400	400	3/3	3.3
	10 ⁻²			3/3	7.0			3/3	5.7
	10 ⁻³			3/3	8.7			3/3	8.0
	10 ⁻⁴			3/3	7.7			3/3	9.7
	10 ⁻⁵			3/3	7.3			3/3	8.3
	10 ⁻⁶			3/3	10.3			3/3	11.0
	1.0 經口			3/3	15.7			3/3	14.7
6 (1)	10 ⁻³	—	400	4/4	8.8	400	400	5/5	7.2
	10 ⁻⁴			4/4	8.8			4/4	12.8
	10 ⁻⁵			4/4	7.3			4/5	9.0
	10 ⁻⁶			5/5	8.8			4/4	8.8
	1.0 經口			5/5	13.0			5/5	11.2
	1.0 經口			5/5	13.0			5/5	11.2
2 (2)	10 ⁻³	—	800	3/3	6.0	400	800	3/3	7.0
	10 ⁻⁴			3/3	7.0			3/3	6.7
	10 ⁻⁵			3/3	6.3			3/3	8.0
	10 ⁻⁶			2/2	5.0			3/3	9.0
	10 ⁻⁷			2/3	12.5			3/3	11.0
	1.0 經口			2/3	12.5			3/3	11.0

億),使小白鼠感染,觀察4週。死亡小白鼠逐一解剖,用心血、肝、脾等分離感染菌。感染菌用Vi及O因子血清做凝集反應測定Vi及O的凝集價,毒力以死亡率和至死亡時平均生存日數計算。

表5是將在普通琼膠培养基上Vi凝集反應陰性,而在葡萄糖琼膠培养基上Vi凝集反應陽性的同一菌株,分別注入小白鼠腹腔內或經口感染,比較其毒力。如表所示,三株菌在普通琼膠培养基上製成的菌液凝集價約在100倍以下,而於葡萄糖琼膠培养基上製成的菌液Vi凝集價為400倍。O凝集價均在400倍至800倍之間,在普通琼膠上為W型,而在葡萄糖琼膠培养基上則為VW型。由上述兩種培养基培养菌感染的小白鼠死亡率及平均生存日數結果証明,其毒力完全相同,未曾觀察到Vi抗原和毒力之間的關係。

由同一患者血液、糞便、尿等不同來源分離的菌株,接種於普通琼膠基及葡萄糖琼膠培养基上,比較兩者毒力的差別。結果証明,接種於葡萄糖琼膠基上,Vi凝集反應為陰性,認為是W型的10號菌株(由糞便分離),微量腹腔內感染及經口感染時,死亡率較Vi凝集反應陽性的菌株為低,可見其毒力也弱。這表明含有Vi抗原的S

表6 Vi抗原和毒力的關係(二)(不同菌型的毒力)

菌 株 (菌型)	抗 原	接種方法 和 用量(毫克)	凝 集 價				死亡數 試驗數	平均生存日數
			F		100°C			
			Vi	O	Vi	O		
32号 (V)	Vi, O, H	10 ⁻¹ } 腹腔內	400	—	—	400	5/5	1.0
		10 ⁻³ }					5/5	7.2
		10 ⁻⁵ }					5/5	7.0
		1.0 經口					5/5	8.0
2 号 (VW)	Vi, O, H	10 ⁻¹ } 腹腔內	400	400	—	400	5/5	1.4
		10 ⁻³ }					5/5	5.0
		10 ⁻⁵ }					5/5	7.0
		1.0 經口					5/5	9.4
70号 (X)	Vi, ϕ , H	10 ⁻¹ } 腹腔內	400	—	200	—	5/5	1.0
		10 ⁻³ }					5/5	8.4
		10 ⁻⁵ }					4/5	8.8
		1.0 經口					0/5	
20号 (W)	O, H	10 ⁻¹ } 腹腔內	—	800	—	400	5/5	5.6
		10 ⁻³ }					5/5	8.6
		10 ⁻⁵ }					5/5	11.0
		1.0 經口					4/5	14.5

型菌較缺乏 Vi 抗原者毒力大。

比較不同菌型(V 型、VW 型、W 型和 X 型)的毒力,比較結果見表 6。

从表 6 得到下列結論:

(1) 含有 Vi 及 O 兩種抗原的 32 号菌株(V 型)及 2 号菌株(VW 型)經口或腹腔感染死亡率高,且平均生存日數短,較 X 型及 W 型的菌株毒力大。

(2) 含有 Vi 抗原,而 O 抗原缺如的 70 号菌株(X 型)經口感染毒力小,不能使小白鼠致死。

(3) 含有 O 抗原,而 Vi 抗原缺如的 20 号菌株(W 型)雖死亡率高,但平均生存日數則延長,可認為 V 及 VW 型菌毒力弱。

討 論

1. 關於含糖培养基对 Vi 抗原的影响

Kauffmann 氏^[1]所謂傷寒沙門氏菌 V-W 型的變異,主要是由菌株的固有性、培养基、培养温度等三個因素所決定,而培养基是 Vi 抗原發育的主要因素。Kauffmann 氏^[2]又認為丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的出現是不規則的。著者就这方面用 50 株丙型副傷寒沙門氏菌作了追述。用比較簡單的葡萄糖琼膠培养基移种,能使在普通培养基上呈不顯性的 Vi 抗原轉化,而獲得高陽性率。这一事实說明,丙型副傷寒沙門氏菌的 Vi 抗原和傷寒沙門氏菌一樣,也是基本抗原,同時这种培养方法与在中國流行病学上佔有重要位置的豬霍亂沙門氏菌的鑑別診斷上有很大意義。如上所述,葡萄糖对丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的影响至今还未曾有过報告。僅是 Gladstone 氏^[13]的報告中提到傷寒沙門氏菌在加入葡萄糖的合成培养基中較在普通琼膠培养基上培养時,其凝集能力,以及对小白鼠的毒力等都有不同。安西港氏^[14]報告过用同樣的合成培养基加入 6 單醣的葡萄糖、半乳糖(galactose)等醣分子,認為能使保持不被 O 血清凝集的性能和毒力等;反之,峯島氏^[15]則謂含葡萄糖或半乳糖的培养基可招致 V-W 型的變異。因而葡萄糖对傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的影响仍未得到肯定性的結論。但在丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的產生上利用同化葡萄糖分子這一點仍与傷寒沙門氏菌有所不同。Kauffmann 氏^[16](1951)曾報告:爲了促進表面性 K 抗原的良好發育,可在培养基內,加入 0.1 至 0.2% 葡萄糖。著者的實驗報告結果也証明這一點,是合理的。

用普通琼膠及葡萄糖琼膠培养物分別製成的菌苗,用家兔免疫後的血液中凝集

素的產生能力及小白鼠對傷寒沙門氏菌 V 型菌抗菌性抗體的檢定及用小白鼠做爲傷寒沙門氏菌 V 型菌的自動免疫試驗證明，用葡萄糖琼膠培養物製成的菌苗和用普通琼膠培養物製成的菌苗相比較，前者因有 Vi 抗原，因此其質量較優越。根據具有 Vi 抗原的巴勒盧普菌羣^[17]及大腸菌羣對傷寒 V 型菌有防禦感染能力的事實，顯示丙型副傷寒沙門氏菌的 Vi 抗原也有同等的重要意義。

2. 關於丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原的分析和菌型的問題

傷寒沙門氏菌除具有 O 及 H 抗原外，Felix 氏^[9](1934)認爲還有一種新的 Vi 抗原。在日本安住氏^[20](1928)最早注意並詳細報告過自己的 LX 株，X 受體 (X receptor)，當時並已敘述過 Vi 抗原的耐熱性及其抗 O 作用。日本諸學者相繼發表過與此相同的抗原有：青本氏^[21]的 β 特異性受體；杉野氏^[22]的 Y 受體。後來以研究本抗原爲對象的內藤、青本、津田、伊川、越后貫、峰島、安東諸氏詳盡的研究了這一問題。Felix 氏命名的 Vi 抗原被普遍應用的原因，我想是因爲，他很早在實際中強調指出本抗原的重要性。Kauffmann 氏把 Felix 氏的 Vi 抗原如同 Felix 氏一樣，當做畏熱性的菌體抗原。如 Felix 氏所述，本抗原與毒力無關，把 Vi 抗原用 A、B、C 等單因子記號表示之，把丙型副傷寒沙門氏菌^[1]、巴勒盧普沙門氏菌^[23]、大腸桿菌^[24]都包括在沙門氏抗原表的“A”因子記號中。(1)安東氏^[11]以上述諸學者的命名和自己實驗結果考察；對 Felix 氏的所謂 Vi 抗原採用 Kauffmann 氏^[1]的因子記號“A”作爲“A”抗原，經過對本抗原進一步分析的結果，又把它分爲不安定部分(按 Felix 氏的命名法爲 Vi 受體)和安定部分(按內藤^[25]、青本、津田諸氏爲 T 受體)，以及在 Vi 和 T 受體之間各不同階段的中間部分所組成的。著者除證明了丙型副傷寒沙門氏菌以安東氏所謂 A 抗原(廣義的 Vi 抗原)的同時，本抗原和傷寒菌同樣的存在有一向被認爲的畏熱部分(狹義的 Vi 抗原)以外，還有安住氏^[20]、內藤氏^[27]、峰島氏^[15]等提及到的，被安東氏^[26]徹底證明了耐熱部分即所謂 T 抗原。在 V 型菌，尤其是 X 型菌的一部分凝集反應和沉澱反應都獲得很明確的證明。著者^[8]曾報告過丙型副傷寒沙門氏菌(VW 型)的 Vi 抗原是由畏熱性抗原所構成的，這是因爲在凝集反應上的結果。這是由於廣義 Vi 抗原中耐熱部分的 T 抗原加熱時游離於基質中。以上所敘述的是 Vi 抗原不是單純成分所構成，而是由各種複雜成分所組成的。(2)用 Vi 抗原分類傷寒沙門氏菌型，Kauffmann 氏^[1]分爲 V 型、VW 型、W 型。具有 Vi 抗原而 O 抗原缺如的菌株，已有安住氏(1928)報告過，曾命名爲 LX 株，以後 Felix 氏^[27]，Kauffmann 氏^[1]，Bhatnagar 氏^[28]，井上^[29]，伊川^[30]，越后貫^[31]等氏曾報告：該菌株爲 R 型的一種。

Rauss 氏^[22]否認爲 R 型菌,而命名爲“A”。青木氏^[21]、峰島氏、以安住氏的 LX 株(相當於 Rauss 氏的 A 型;安東氏的 X 型),安東氏^[26]以 T₄ 菌株(相當於 Rauss 氏的 A 型;安東氏的 X 型)進行了研究。內藤氏^[25]的所謂 T 凝集反應証明是 Vi 抗原的耐熱部分和 R 抗原兩者的反應。安東氏^[11]認爲 Rauss 氏的 A 型,由於容易與前述 Kauffmann 氏的 A 因子記號與安東氏的所謂 A 抗原混淆,而採用相當於 Rauss 氏的 A 型;安住氏最初報告的 LX 株則命名爲 X 型(有 Vi 抗原,缺如 O 抗原的菌型),並主張把傷寒沙門氏菌的菌型分爲 V 型、VW 型、W 型及 X 型。以上是關於傷寒沙門氏菌以 Vi 抗原爲基礎作菌型分類的問題,但對丙型副傷寒沙門氏菌這方面的研究極少,僅 Kauffmann 氏簡單的記載過 V→W 型的變異,還未見到有關各種菌型的詳細實驗報告。著者有關這一方面的研究結果認爲,丙型副傷寒沙門氏菌和傷寒沙門氏菌一樣,可分爲 V、VW、W 及 X 型。

3. Vi 抗原和毒力等關係:

關於毒力的意義,各學者的見解尚不一致。依 Kauffmann 氏^[2]以傷寒菌對小白鼠的毒力,用腹腔內感染時必須從極大量細菌的關係上看,嚴格的定義則不能稱爲是“毒力”,不如看做是毒性而致死的。而 Felix 氏表示不贊成把 Vi 抗原命名爲毒力抗原(virulence antigen)。但在丙型副傷寒沙門氏菌以極微量的腹腔內感染及經口感染,在小白鼠體內增殖引起小白鼠的死亡,表示爲真的毒力。在這裏並不探討毒力的定義,只是標誌着菌對小白鼠感染的致死能力。

關於傷寒沙門氏菌 Vi 抗原和毒力的關係已有很多學者報告過^[27,30-35]。綜合這些意見認爲:Vi 抗原不是發揮毒力的絕對因子,而和 O 抗原共同存在時,是決定其毒力的相對關係。又如巴勒盧普沙門氏菌(現在屬於副大腸菌羣)雖有 Vi 抗原,但其毒力低的事實,表明只有 Vi 抗原不是決定毒力的因子。Kauffmann^[2]、Neufeld 及 Kuhn^[32]、越後貫^[3]等氏認爲丙型副傷寒沙門氏菌的 Vi 抗原同樣亦不是決定毒力的必須因子。

上述諸學者測定丙型副傷寒沙門氏菌毒力所應用的菌株皆已陳舊,其他條件亦存有欠缺之處。因此著者考慮到下列諸點進行了實驗。

(1) 用新分離的菌株。(2) 自己的實驗成績着重在以不同培養基觀察 Vi 抗原產生能力的差別。(3) 使用同一患者來源不同,Vi 抗原也不同的菌株。(4) 用不同菌型以合理的毒力行比較測定。如表 5 所示,即用同一菌株,由於培養基不同,菌型亦不同。但沒有觀察到影響毒力的問題,推想可能是普通瓊膠基培養菌,接種在動物體內

後隨細菌增殖同時產生 Vi 抗原的關係。

以上諸項表示獲得與傷寒沙門氏菌相同的結果。

總 結

(1) 用由旅大、東北、河北等地區分離的 50 株丙型副傷寒沙門氏菌，檢查了 Vi 抗原；在普通琼膠培养基上，由於菌株移種代數的不同，Vi 凝集反應的陽性率在 52—74% 之間。在葡萄糖琼膠培养基上證明陽性率為 92%。和傷寒沙門氏菌的 Vi 抗原一樣，丙型副傷寒沙門氏菌 Vi 抗原為基本抗原。用該培養方法證明 Vi 抗原和在流行病學上佔重要地位的豬霍亂沙門氏菌鑑別診斷上，有很大的意義。

(2) 葡萄糖琼膠培养基對 Vi 抗原發育最適當的量(%)經檢定證明，在 0.5—1.0% 時，Vi 抗原的陽性率特別顯著。

(3) 用 0.5—1.0% 的葡萄糖、乳糖、蔗糖、阿拉伯膠糖、木糖、糊精等糖培养基，比較檢定 Vi 抗原產生的能力。結果證明，在葡萄糖琼膠培养基上，Vi 抗原產生為最好；木糖較差。

(4) 葡萄糖琼膠培養物製成的丙型副傷寒沙門氏菌抗原與普通琼膠培養物製成的抗原相比較，在小白鼠自動免疫試驗證明，前者對傷寒沙門氏菌 V 型菌的感染防禦能力較大。

(5) 丙型副傷寒沙門氏菌也和傷寒沙門氏菌一樣，以 Vi 抗原為基礎，可分為 V、VW、W 及 X 型(有 Vi 抗原，缺乏 O 抗原的菌型)。Felix 氏所謂廣義的 Vi 抗原，很明顯是由畏熱性的不安定部分和狹義的 Vi 抗原耐熱性的安定部分 T 抗原所構成的。

(6) 丙型副傷寒沙門氏菌對小白鼠的毒力證明：Vi 抗原不是決定毒力唯一的因子，而是和 O 抗原共同存在時相對的因子。

本文係作者用日文寫成後，經王成棟同志譯成中文，並經方景燦醫師和趙永林同志整理而成。

參 考 文 獻

- [1] Kauffmann, F. *Z. Hyg.*, 116, 617, 1935.
- [2] ———— *ibid.*, 117, 778, 1936.
- [3] Ogonuki, H. *Kitasato Archives.*, 17, 88, 1940.
- [4] 藤上三郎：軍医団誌，334, 335, 343, 1975, 1941.
- [5] 山田秀一：日傳染会誌，18, 102, 1943.
- [6] 薮谷一夫：海軍軍医誌，31, 642, 1942.

- [7] 安东洪次, 中村義治: 細菌誌, 564, 33, 1943.
- [8] 濱野滿雄, 小池晴枝: 日本医学, 3301, 2042, 1942.
- [9] 濱野滿雄及共同研究者四名: 第三回大陸傳染病学会, 1943.
- [10] Giovardi, A. Z. F. *Bakt. U. Infekt.*, 141, 341, 1938.
- [11] 安东洪次: 日本医学, 3262, 2959, 1941.
- [12] 濱野滿雄: 大連衛生研究所彙刊, 1, 14, 1, 78, 1951.
- [13] Gladstone, G. P. *Brit. J. Exp. Path.*, 18, 67, 1937.
- [14] 安西港: 細菌誌, 547, 607, 1941.
- [15] 峰島茂: 細菌誌, 529, 173, 1940.
- [16] Kauffmann, F. The Differentiation of *Escherichia* and *Klebsiella* types, 1951.
- [17] Longfellow, D. and Luippold, G. F. *Amer. J. Hyg.*, 37, 206, 1943.
- [18] Luippold, G. F. *A. J. P. H.*, 36, 15, 1946.
- [19] Felix, A. and Pitt, R. M. *J. Path. Bact.*, 38, 409, 1934.
- [20] 安住武八: 細菌誌, 384, 122, 390, 572, 1935.
- [21] Aoki, K. *Z. Immun-Forsch.*, 85, 366, 1935.
- [22] 杉野爲治: 熊本医会誌, 7, 923, 7, 944, 7, 957, 1931. 8, 159, 1932.
- [23] Kauffmann, F. and moller, E. *J. Hyg.*, 40, 246, 1940.
- [24] Kauffmann, F. *Acta path. microbiol.*, 18, 227, 1941.
- [25] Nito, J., Aoki, Y. und Tsuda, D. *Z. Hyg.*, 118, 227, 1941.
- [26] 安东洪次, 中村義治: 細菌誌, 554, 175, 554, 190, 1942.
- [27] Felix, A. and Pitt, R. M. *J. Hyg.*, 35, 428, 1935.
- [28] Bhatnagar, S. S., Speechly, C. G. and Sigh, M. *J. Hyg.*, 38, 663, 1938.
- [29] 井上正典: 細菌誌, 494, 237, 1937.
- [30] 伊川喜久藏: 細菌誌, 496, 367, 1937.
- [31] 越后實博: 細菌誌, 497, 480, 1937.
- [32] Rauss, K.: *Z. Immun-forsch.*, 97, 281, 97, 365, 1940.
- [33] Neufeld, F. U Kuhn, H. *Z. Hyg.*, 118, 653, 1936.
- [34] Robertson, R. C. and Yu, H. *J. Path. Bact.*, 43, 191, 1936.
- [35] Ørskov, J. and Kauffmann, F. *J. Hyg.*, 36, 514, 1936.

STUDIES ON Vi ANTIGEN OF *S. PARATYPHI* C, I.

HAMANO, M.

Serum and Vaccine Institute, Darien

Analysing 50 strains of *S. paratyphi* C recently isolated and grown on various media, it was found that when the strains were grown on 0.5 % glucose agar, Vi antigen could be demonstrated in 92 % of all the strains, while it was demonstrated in 52-74 % of the strains when they were grown on plain agar. Thus the importance of culture media to the demonstration of Vi antigen for *S. paratyphi* C is clearly evident, and this fact can be utilized for the differentiation of this organism from the closely related *S. cholerae suis*, which lacks Vi antigen.

The antigenicity (Vi) of strains grown on glucose media was further demonstrated by immunization of white mice and of rabbits, when better antigenicity than those growing on plain agar could be clearly demonstrated. Such an approach suggests possible practical application in the preparation of immunizing antigen.

Further, it was found that *S. paratyphi* C, like *S. typhi*, can be divided into V, VW, W, and X (V strains lacking O antigen) and that Vi antigen of *S. paratyphi* C seemed to consist of two parts, a heat-stable component and a heat-labile one. Again similar to Vi antigen of *S. typhi*, the virulence of *S. paratyphi* C was found to relate not only to its Vi antigen but also to its O antigen.