

# 福氏痢疾桿菌第 4 型的型抗原成分\*

方 綱 馮 振 南

(中國醫學科學院)

Boyd 氏<sup>(1)</sup>在 1938 年首先記述了福氏痢疾桿菌第 4 型以後,曾有許多學者<sup>(2-7)</sup>對於這一型的分類和變異進行了研究。在這些研究中,一般認為所有的福氏痢疾桿菌第 4 型菌株都具有相同的型抗原,而在發生抗原變異時,型抗原也是做為一個單元成分喪失的。我們在研究福氏痢疾桿菌的分型時,觀察到由不同的福氏痢疾桿菌第 4 型菌株製出的型特異血清,在凝集的特異性上是不一致的。為了查明這種差別是否由於該型中的不同菌株在型抗原的構成上不同所致,我們用一些福氏痢疾桿菌第 4 型的代表菌株進行了抗原分析,並以實驗的結果為基礎,研究了 45 個由臨床材料分離的福氏痢疾桿菌第 4 型菌株的型抗原結構。在研究過程中觀察到的兩個菌株的型抗原喪失變異也將在本文中報告。

## 材 料 及 方 法

**菌種** 實驗用為標準的福氏痢疾桿菌得自中央生物製品檢定所,本文內仍用該所的號碼,它們的原名和來源如下:

- |       |       |    |                                  |                    |
|-------|-------|----|----------------------------------|--------------------|
| 第 1 型 | 51301 | 原名 | <i>Sh. flexneri 1a</i>           | (捷克)               |
|       | 51310 | 原名 | <i>Sh. flexneri 1b</i>           | (捷克)               |
| 第 2 型 | 51302 | 原名 | <i>Sh. flexneri 2a</i>           | (捷克)               |
|       | 51311 | 原名 | <i>Sh. flexneri 2b</i>           | (捷克)               |
| 第 3 型 | 51303 | 原名 | <i>Sh. flexneri 3</i>            | (捷克)               |
|       | 51077 | 原名 | <i>Sh. flexneri type III</i>     | (Weil, USA) (羅馬尼亞) |
| 第 4 型 | 51209 | 原名 | <i>Sh. flexneri 103A</i>         | (英國)               |
|       | 51304 | 原名 | <i>Sh. flexneri 4a</i>           | (捷克)               |
|       | 51305 | 原名 | <i>Sh. flexneri 4a</i>           | (捷克)               |
|       | 51072 | 原名 | <i>Sh. flexneri type IV</i>      | (Weil, USA) (羅馬尼亞) |
|       | 51078 | 原名 | <i>Sh. flexneri type III, IV</i> | (Weil, USA) (羅馬尼亞) |
|       | 51312 | 原名 | <i>Sh. flexneri 4b</i>           | (捷克)               |
| 第 5 型 | 51207 | 原名 | <i>Sh. flexneri P110</i>         | (英國)               |
| 第 6 型 | 51307 | 原名 | <i>Sh. flexneri 6</i>            | (捷克)               |
| X 變種  | 51204 | 原名 | <i>Sh. flexneri X</i>            | (英國)               |
| Y 變種  | 51309 | 原名 | <i>Sh. flexneri Y</i>            | (捷克)               |

以上菌株的生化反應均符合於福氏痢疾桿菌的性質,都能在英國 Burroughs & Wellcome 公司所出的福氏痢疾桿菌多價血清中凝集,並能在該公司所出的各相當型的分

1957 年 6 月 1 日收到。

\* 本文摘要曾在中國微生物學會第二屆會員代表大會上宣讀。

型血清中凝集,但 51078 只在該公司的 103 型(IV)血清內凝集而不在 Z 型血清(III:6)內凝集。在用該菌株製備的免疫血清中也未檢查出對於族因子 6 的抗體,故鑑定為 4a 型。這些菌株中有一些在菌落形態上不完全是光滑型,但大多數均無明顯的 R 型性質。僅 51304 菌株有時在鹽水中自凝。

用於抗原分析的還有在 1954—1955 年間由臨床材料分離出的一些福氏痢疾桿菌。其中菌株 55-y99、y-146、55-y262 和 760 經用 Burroughs & Wellcome 公司的 103 型分型血清和自製的分型血清鑑定為 4a 型,菌株 522 能為 103 型血清和 Z 型(III:6)血清所凝集,鑑定為 4b 型。

**吸收試驗** 吸收所用的菌液是用福爾馬林(0.5%)滅菌的。吸收時菌體先經生理鹽水洗過,再加入 1:5 或 1:10 稀釋的待吸收的免疫血清,混合後在 43°C 水浴中放置 3 小時,然後取出置冰箱中過夜,次日遠心沉澱,分離出的上清液先用玻片凝集再用試管凝集試驗檢查吸收效果。必要時用同一菌株的菌液進行反復吸收,直到在相當於原來血清 1:40 的稀釋度中對吸收用的菌液於試管中不再凝集為止。稀釋所用的鹽水含有硫柳汞 0.01%。

試管凝集試驗在 43°C 水浴中至少放置 4 小時,再於室溫放置過夜後觀察結果。

### 福氏痢疾桿菌第 4 型菌株的型抗原分析

我們在開始研究福氏痢疾桿菌的分型時曾用四個福氏痢疾桿菌第 4 型的標準菌株製備了免疫血清。這些血清經吸收除去了所含的族因子抗體以後,對於所有的第 4 型標準菌株都有凝集作用,但對於某一些新分離的第 4 型菌株的凝集作用則有所不同。新分離的菌株 55-y99 和 y-146A 能在由菌株 51209 或 51305 的免疫血清所製出的型特異血清中凝集,但不能在菌株 51304 或 51312 的型特異血清內凝集。為了查明這一差別的原因,我們選了一些第 4 型的標準菌株和新分離的菌株進行了交叉吸收試驗。表 1 選列了 4 個代表血清經吸收後的凝集反應。用於凝集試驗的第 4 型菌株在表中只包括了 8 個,51209 與 51072 在抗原結構上是一致的, y 146-A 與 55-y 99 一致, 51078 與 55-y 262 一致, 51312 與 522 一致。此外,曾經用來分析型抗原的菌株還有 51304 和 51305,兩株的型抗原結構分別與 51078 和 51209 一致,因此它們的試驗結果從略。

從表 1 的吸收試驗 2,9,12,16 可以看到:51209 的型特異血清能凝集所有 8 個第 4 型代表菌株;55-y99 的型特異血清能凝集 51209、51072、55-y99 和 y146-A,但不凝集 51078、55-y262、51312 和 522;51078 和 522 的型特異血清則不能凝集 55-y99 和 y146-A,但凝集其它 6 個菌株。

51209 血清用 y146-A 菌液吸收,除去了對於 y146-A 和 55-y99 的抗體,但仍保留對其它 6 株的抗體(吸收試驗 3)。用 51078、55-y262、51312 或 522 的菌液吸收後還剩餘對於 51209、51072、55-y99 和 y146-A 的抗體(吸收試驗 4,5,6,7)。以上試驗結果說明 51209 的型特異血清中有兩個抗體成分(IVA 和 IVC);對於其中的一個成分(IVA),菌株 51078、55-y262、51312 和 522 沒有相應的抗原;對於另一個成分(IVC),菌株 55-y99 和 y146-A 沒有相應的抗原。用 51209 菌液吸收 55-y99 血清的試驗(吸收試驗 10)更證明了 55-y99 血清中的型特異成分主要的是 IVA 成分。

51078 和 522 血清除去了族因子抗體以後用 51209 菌液吸收(吸收試驗 13 和 17),所

表 1 福氏痢疾桿菌第 4 型免疫血清吸收後的凝集效價

試驗號	免疫血清	吸收用菌株	福氏痢疾桿菌 1a, 1b, 2a, 2b, 3, 5, 6, X, Y	福 氏 痢 疾 桿 菌						第 4 型		剩餘的型 抗體成分	
				51209	51072	51078	55-y262	51312	522	y-146A	55-y99		
1	51209	未吸收	80—640*	2560*	2560	1280	1280	1280	1280	1280	640	2560	IVA IVC...
2	51209	Y	0**	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	320	640	IVA IVC
3	51209	X, Y, y-146A	0	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	0	0	IVC
4	51209	Y, 51078	0	640	640	0	0	0	0	0	1280	1280	IVA
5	51209	X, Y, 55-y262	0	640	640	0	0	0	0	0	320	320	IVA
6	51209	Y, 51312	0	640	320	0	0	0	0	0	320	320	IVA
7	51209	Y, 522	0	640	640	0	0	0	0	0	320	320	IVA
8	55-y99	未吸收	80—2560	2560	1280	1280	1280	1280	1280	320	5120	5120	IVA...
9	55-y99	X, Y, 1a	0	1280	640	0	0	0	0	0	2560	1280	IVA
10	55-y99	X, Y, 1a, 51209	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	—
11	51078	未吸收	320—5120	640	640	5120	5120	5120	5120	2560	320	320	IVB IVC...
12	51078	3, X, Y	0	640	320	640	640	640	640	1280	0	0	IVB IVC
13	51078	3, X, Y, 51209	0	0	0	160	80	40	40	80	0	0	IVB
14	51078	Y, 522	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
15	522	未吸收	80—2560	320	320	1280	1280	1280	1280	2560	160	160	IVB IVC...
16	522	1b, 3	0	160	160	640	320	640	640	640	0	0	IVB IVC
17	522	1b, 3, 51209	0	0	0	40	40	80	80	320	0	0	IVB
18	522	1b, 3, 51078	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
第 4 型菌株的型抗原結構				IVA IVC	IVA IVC	IVB IVC	IVB IVC	IVB IVC	IVB IVC	IVB IVC	IVA	IVA	IVA

\* 稀釋倍數。  
\*\* 代表 1:40 稀釋陰性。

得到的兩個血清都剩餘能凝集 51078、55-y262、51312 和 522 的抗體。這兩個吸收試驗說明兩個菌株的型抗原除了 IVC 成分以外，還有一個為 51209 所沒有的成分(IVB 成分)。不過這一成分似乎不是主要的成分。因為對 IVB 成分的凝集效價是比較低的。用 522 菌液吸收 51078 型特異血清(吸收試驗 14)和用 51078 菌液吸收 522 型特異血清(吸收試驗 18)的結果說明這兩個菌株的型抗原是基本上相同的。

根據以上的分析和這些菌株在自製的族因子血清內的凝集反應，可以將研究過的一些第 4 型菌株分為四類。這四類的抗原簡式如下：

IVA IVC: (4)..... 51209, 51072, 51305

IVA: (4)..... y146-A, 55-y99

IVB IVC: 4..... 51078, 55-y262, 51304

IVB IVC: 6..... 51312, 522

### 臨床分離的福氏痢疾桿菌第 4 型的型抗原結構

利用以上所製的只含有一種型抗體成分的血清檢查了由臨床材料分離出來的福氏痢疾桿菌第 4 型菌株 45 個。這些菌株中有 41 株是 1954—1955 年間在北京分離的，3 株是由上海程知義教授惠贈的，1 株是由福州徐承蔭教授惠贈的。用 IVA、IVB 和 IVC 血清和用自製的族因子血清檢查的結果見表 2。

表 2 臨床分離的福氏痢疾桿菌第 4 型的型抗原和族抗原結構

菌株來源地區	在型抗體成分血清及族因子血清中的玻片凝集反應						株數	抗原簡式
	IVA	IVB	IVC	3,4	6	7,8,9		
北 京	+	-	-	-	-	-	27	IVA:-
	+	-	-	+	-	-	1	IVA:4...
	-	+	+	-	-	-	1	IVB IVC:-
	-	+	+	+	-	-	2	IVB IVC:4...
	-	+	+	-	+	-	10	IVB IVC:6
外 地	-	+	+	+	-	-	3	IVB IVC:4...
	+	-	+	-	-	-	1	IVA IVC:-

從表 2 可以看到在由北京分離的 41 株福氏痢疾桿菌第 4 型中，型抗原結構為 IVA 者有 28 株，其中僅一株在族因子 3,4 血清內凝集，其餘都不在我們所有的族因子血清中凝集。13 株型抗原結構為 IVB IVC 者中，有 2 株的族抗原是 3,4，有 10 株的族抗原是 6，有 1 株不能檢出族抗原。

由外地收到的 4 個菌株的型抗原結構：屬於 IVA IVC 類者一株，未檢出族抗原；屬於 IVB IVC 類者 3 株，族抗原均為 3,4。

值得注意的是，族抗原 6 只在型抗原結構為 IVB IVC 的菌株中發現，而從未在含有 IVA 成分的菌株中遇到。

所檢查的 45 個菌株的生物化學性質均與福氏痢疾桿菌符合。它們對於甘露醇、蔗糖、薔薇醇、木膠糖和鼠李糖的發酵試驗結果見表 3。

從表 3 可以注意到：在發酵甘露醇的菌株中，型抗原為 IVA 者都發酵薔薇醇、不發酵

表 3 臨床分離的福氏痢疾桿菌第 4 型的糖發酵反應

甘露醇	型抗原結構	蔗 糖	薔 薇 醇	木 膠 糖	鼠 李 糖	菌 株 數
+	IVA	-	+	-	-*	27
+	IVB IVC	(+)	-	-	-	13
-	IVA	-	(+)	-	+	1
-	IVB IVC	-	+**	(+)	+**	3
-	IVA IVC	-	+	(+)	-	1

- 觀察 15 天未產酸；+ 24 小時內產酸；(+) 遲緩產酸；

\* 有 1 株產酸；\*\* 有 1 株不產酸。

蔗糖，而型抗原為 IVB IVC 者都遲緩地發酵蔗糖、不發酵薔薇醇。這種區別在不發酵甘露醇的菌株中則不能看出。五株不發酵甘露醇的菌株中有一株是在北京分離的，它的型抗原是 IVA，未能檢出族抗原；其它四株都是由外地送來的。

### 菌株 y146 和 760 的型抗原喪失變異

在研究過程中，觀察到菌株 y146 和 760 喪失型抗原的變異，兩個菌株都是 1954 年在北京分離的。經鑑定為福氏痢疾桿菌後即用冰凍乾燥保存。1955 年 4 月將兩個菌株的乾燥培養物各啓開一管進行鑑定。當時兩個培養物都能在 IVA IVC 血清 (51209 血清經用 51309 菌吸收) 和 IVA 血清 (51209 血清經用 51304 菌吸收) 內凝集。以後這兩個培養物即在實驗室中傳代保存，所用培養基先為肉浸湯半固體瓊脂，後來改用 Dorset 氏鷄蛋培養基。1956 年 3 月再次檢查時發現這兩個傳代的培養物生化反應仍與 1955 年 4 月檢查結果一致，但已不能在 IVA 和 IVA IVC 血清中凝集，而能在族因子 3,4 血清內凝集並在 IVB 和 IVB IVC 血清內有微弱的凝集反應。1956 年 5 月用 y146 的變異株免疫家兔製出的免疫血清，用 y 變種吸收可以完全去除對於免疫菌株、760 變異株及其它的福氏痢疾菌株的抗體。以上結果說明這兩個菌株在傳代保存約一年以後已經喪失了它們原有的型抗原。為了證實這一點，1956 年 4 月又啓開另一管在 1954 年 10 月乾燥的 y146 培養物。從這管所獲得的培養物稱為 y146-A，以便於與傳代得到的 y146 變異株區別。y146-A 的型抗原結構已經分析證明為只含有 IVA 成分 (見表 1)。1954 年 7 月乾燥保存的另一管菌株 760 培養物，在 1956 年 4 月啓開培養後未獲得生長，因此不能再度直接地證明 760 菌株在發生變異以前的抗原結構。但 1955 年 4 月曾用該菌製出免疫血清，當時該菌培養物能在 IVA 和 IVA IVC 血清中凝集。用 y 變種和用 760 變異株的吸收試驗結果 (見表 4) 說明了這個血清中含有 IVA 抗體。同時也說明了 760 變異株

表 4 760 菌株 1955 年 4 月製備的免疫血清的吸收試驗

吸收用菌株	凝 集 用 菌 株 及 效 價 (稀 釋 倍 數)						
	760 變 異 株	y-146A	y-146 變 異 株	51209	51078	522	
未吸收	2560	2560	640	1280	320	160	IVA:4...
X, Y	0	1280	0	640	0	0	IVA
760 變異株	0	640	0	640	0	0	IVA

0 代表 1:40 稀釋陰性。

不含型抗原 IVA。因此證明在 1955 年 4 月時, 760 菌株是含有型抗原 IVA 的。

## 討 論

本文報告的研究結果證明了福氏痢疾桿菌第 4 型的菌株在型抗原結構上是不一致的。在所研究過的菌株中一部分是具有抗原成分 IVA 但沒有 IVC; 一部分是具有 IVA 和 IVC 兩種成分而不具有 IVB 成分; 還有一部分則缺少 IVA 成分而具有 IVB 和 IVC 兩種成分。由於用來證明這些成分的免疫血清都預先用第 4 型以外的菌株吸收過, 除去了其中的族因子抗體, 所以將這些成分看為型抗原的成分是合理的。

在文獻上所見到的有關福氏痢疾桿菌型抗原分析的資料不多。Madsen 氏<sup>[7]</sup>曾在 1b 亞型菌株中證明了一個為 1a 亞型和其它型所沒有的 S 抗原, Seeliger 氏<sup>[8]</sup>曾在一些福氏痢疾桿菌第 4 型的菌株中鑑別三個型抗原成分。我們的實驗結果在證明這一型的型抗原的複雜性上是和 Seeliger 氏的結果一致的, 但是由於沒有獲得他所用的菌種來進行比較, 所以尚不能確定我們所鑑定出的幾個類型與 Seeliger 氏的幾個類型之間的關係。

目前福氏痢疾桿菌的種內分類是以其所具有的型抗原為主要的依據。根據這一原則, 型抗原為 IVA 的菌株和型抗原 IVB IVC 的菌株似應分為兩個血清學型, 而以型抗原為 IVA IVC 的菌株為中間型。但是這幾類菌在變異上可能有的關係是應該注意到的。在我們的觀察中只看到 IVA 類型的菌株喪失型抗原的變異, 然而 Seeliger 氏<sup>[8]</sup>曾報告在用免疫血清進行人工離異時, 具有兩個型抗原成分的菌株可以先喪失兩個成分中的一個, 或兩個成分同時喪失。在這一觀察獲得進一步證實以前, 暫時仍將 IVA, IVB IVC 和 IVA IVC 的菌株歸為一個複合的血清學型中, 似乎對於實際工作更方便些。在鑑定這一複合的血清學型時所用的分型血清至少應含有對於 IVA 和 IVC 的抗體。

不發酵甘露醇而在血清學上與福氏痢疾桿菌近似的菌株曾經許多學者記述, 這些菌株曾被命名為 *Shigella rabaulensis*<sup>[7]</sup>, *Shigella saigonensis*<sup>[7]</sup>, *Shigella rio*<sup>[9]</sup> 等。Ewing 氏<sup>[5]</sup>、Madsen 氏<sup>[7]</sup>以及國際腸系菌科小組委員會<sup>[10]</sup>都指出這類菌株在抗原結構上與福氏桿菌第 4 型沒有顯著的差別, 因此認為沒有必要另列為新型或新種。我們所研究的 5 株不發酵甘露醇的菌株中包括了所有的三種型抗原結構類型, 這進一步地說明它們是福氏痢疾桿菌第 4 型的生化變種。

不發酵甘露醇的菌株在北京分離的 41 個福氏痢疾桿菌第 4 型菌株中僅有一個。這類菌在北京比較稀見與其在我國南方比較多見的情形<sup>[11-12]</sup>是值得注意的。

## 摘 要

1. 根據吸收試驗的結果, 證明了福氏痢疾桿菌第 4 型的菌株在型抗原上可以有不同的結構, 並在所研究的菌株中鑑別出三種型抗原成分。按其型抗原結構可以將福氏痢疾桿菌第 4 型分為三類: 即型抗原結構含 IVA 成分者, 型抗原結構含 IVA 及 IVC 成分者和型抗原結構含 IVB 和 IVC 成分者。

2. 41 個在北京分離的福氏痢疾桿菌第 4 型菌株中型抗原為 IVA 者有 28 株, 其中 27 株沒有用凝集反應可檢出的族抗原, 1 株的族抗原為 4……; 型抗原結構為 IVB IVC 者有 13 株, 其中 10 株具有族抗原 6, 2 株具有族抗原 4, 1 株沒有用凝集反應可檢出的族

抗原。

4 株由國內其它地區送來的福氏痢疾桿菌第 4 型中有 3 株的型抗原是 IVB IVC, 它們的族抗原都是 4……, 1 株的型抗原是 IVA IVC, 用族因子血清沒有查出族抗原。

3. 福氏痢疾桿菌第 4 型的分型血清中至少應含有對抗型抗原 IVA 和 IVC 成分的抗體。

4. 發現了兩株福氏痢疾桿菌第 4 型菌在實驗室傳代培養後喪失了原有的型抗原而變成了只有族抗原的菌。

### 參 考 文 獻

- [1] Boyd, J. S. K.: *Jour. Hyg.*, 1938, **38**: 477.
- [2] Weil, A. J., Farsetta, K. & Knaub, V.: *Jour. Imm.*, 1946, **52**: 221.
- [3] Veazie, L.: *Jour. Imm.*, 1949, **61**: 307.
- [4] Anzai, H., Fujita, M., Masayoshi, K. & Tsukakoshi, N.: *Kitasato Arch. Exp. Med.*, 1953, **26**: 23.
- [5] Ewing, W. H.: *Jour. Imm.*, 1954, **72**: 405.
- [6] Fukumi, H., Nakaya, R. & Nakayama, T.: *Japanese Med. Jour.*, 1951, **4**: 37.
- [7] Madsen, S., "On the Classification of the Shigella Types" Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 1949.
- [8] Seeliger, H.: *Zeitschr. für Hyg.*, 1950, **181**: 509.
- [9] Weil, A. j., de Assis, A. & Slafkovsky, H.: *Jour. Imm.*, 1948, **58**: 23.
- [10] Kauffmann, F. "Enterobacteriaceae" Ejnar Munksgaard, Copenhagen, 1954.
- [11] 程知義: 微生物學報, 1956, **4**: 297.
- [12] 徐承蔭: 私人通訊.