

武漢市福氏痢疾桿菌噬菌體分型的初步報告

徐標秀 徐友梅 白錦霞

(武漢醫學院微生物學教研組)

噬菌體分型對於某些細菌在追溯傳染源上有一定的幫助，但在痢疾桿菌方面關於噬菌體分型的研究工作的報告不多。1947 年 Hammarström 氏曾用 11 株噬菌體將 1834 株宋內氏痢疾桿菌菌株分為 68 型及亞型^[1]。但據 Boyd 氏^[2,3]的意見，認為這種分型法在流行病學上實用意義不大，因多數菌株均屬同一型，常不能應用於追踪傳染源；且曾發現通過人體後，型別有時可發生改變。

至於福氏痢疾桿菌應用噬菌體分型的問題，至今未有系統的研究。1945 年 Thomen 氏及 Frobisher 氏^[5]由雞糞中分離的噬菌體，試驗各種痢疾桿菌的結果，認為此法並不優於血清學或生化反應的鑑定。Boyd 氏^[2]亦有這種見解。但在 1930 年 Burnet 氏^[4]即曾報導福氏痢疾桿菌對 12 株痢疾桿菌噬菌體的反應，發現 v、w、x、y、z 菌株對各噬菌體的反應出現一定的規律但未作進一步分型的嘗試。1956 年 Ягуд 氏^[6]報告用 7 株噬菌體對 1a、2a、3、x、及 Y 型福氏痢疾桿菌試驗的結果，證明各型菌株對噬菌體的反應有不同的模式，認為有區別的價值。本文目的在於瞭解噬菌體對福氏痢疾桿菌的作用與血清型別的關係，並企圖探究能否利用噬菌體將其各血清型作進一步的分型。

材 料 及 方 法

噬菌體的分離及製備 噬菌體係由豬糞及蒼蠅體中分離得來。以其肉湯培養物離心沉澱後，取上清液加熱 60°C、30 分。滴於塗佈新鮮菌液的平碟上，菌液為福氏痢疾桿菌各型標準菌株的 12 小時培養物。將出現的單個噬菌斑以接種針取出(帶有少量培養物)移入一肉湯管，培養 12 至 18 小時後，離心沉澱，上清液加熱 60°C、30 分。再進行測定所得的噬菌體對各型標準菌株的作用，而將交叉作用最少效價較高而又有區別意義之噬菌體選為分型之用。按此法於 50 株噬菌體內選出 5 株。5 株噬菌體之詳細記號如下： φ_1 —P₂₃/1a， φ_2 —P₂₁/3 φ_3 —P₃₅/y/2b， φ_4 —P₂₀/x， φ_5 —P₃₅/y/2a。 φ —代表噬菌體，劃線上記號代表噬菌體實驗號，劃線下的記號為用作純化的原最敏感的菌株型別。)

各株噬菌體的噬菌斑大小：

φ_1 —P₂₃/1a \oplus 0.5—1mm 邊有浸潤 φ_2 —P₂₁/3 \oplus 1.5—2mm 邊整齊 φ_3 —P₃₅/y/2b* \oplus 0.5—1mm 邊整齊 φ_4 —P₂₀/x \oplus 1.5—2mm 邊整齊 φ_5 —P₃₅/y/2a* \oplus 2.5—3mm 邊整齊略浸潤。

對此 5 株噬菌體最敏感的菌株按以下步驟進行純化提高效價。將該噬菌體以肉湯進

1957 年 9 月 6 日收到。

* 因開始對 2a 及 2b 出現兩種空斑隨後又適應 2a 或 2b 而成。

行一系列的 10 倍稀釋，另以原最敏感的菌株培養液(12 小時)接種於平碟上，再以上列各濃度的噬菌體滴入，培養 5 小時後取出，在最高稀釋度出現單個空斑之處取一空斑接種至肉湯，培養 12 至 18 小時後，離心沉澱，上清液加熱 60°C、30 分。重覆此步驟 3 次以上，待其滴度穩定後，保存冰箱待用。

噬菌體對各菌株作用的測定 每次試驗前均先進行測定每一噬菌體對其原敏感菌株的臨界全溶效價。以此效價進行對各菌株有無溶解作用的測定。在牛肉膏瓊脂(0.5%)平碟上以直徑 3 毫米之接種環挑取一滴環培養 12 小時的菌液，塗佈於約 1.5 厘米直徑的部位，於溫箱中乾燥約 20 分後，以 2 毫米直徑的接種環挑取稀釋好的噬菌體一滴環滴於培養物中部，培養 5 小時，觀察結果。

按此法對 355 株 2a、2b、及 3 型福氏痢疾桿菌及 98 株其他腸道桿菌進行了試驗。

結 果

355 株福氏痢疾桿菌中有 233 株為 2 型，122 株為 3 型，結果列於表 1。

表 1 福氏痢疾桿菌對噬菌體反應模式

血清型別		噬 菌 體 反 應 模 式					菌 數
		ϕ_1	ϕ_2	ϕ_3	ϕ_4	ϕ_5	
標 準 菌 株	1a	L	—	—	—	—	1
	1b	L	—	—	—	—	1
	2a	—	—	L	L	L	1
	2b	—	—	L	L	—	1
	3	—	L	L	L	L	1
	4a	L	++	L	L	—	1
	4b	L	—	L	—	—	1
	5	—	—	L	L	—	1
	6	—	—	—	—	—	1
	X	—	—	L	L	—	1
	Y	L	L	L	L	L	1
武 漢 市 流 行 菌 株	2a	—	—	—	—	L	165
		—	—	L	++或 L	L	51
		—	—	L	—	L	13
	2b	—	—	L	L	—	2
		—	—	L	—	—	2
	3	—	L	L	L	L	32
		—	L	L	L	—	14
		—	L	—	L	—	54
		—	L	—	L	++或 L	22
		—	—	—	—	—	
		—	—	—	—	—	
		—	—	—	—	—	

L——全溶 ++——十個空斑以上

由表中可見不同型之福氏痢疾桿菌對噬菌體的反應模式不同，但所試之菌株均表現出一定規律，並且在同一血清型的菌株中有 2—4 種不同模式。

各噬菌體對其他腸道桿菌的作用，試驗結果列於表 2。

表 2 其他革蘭氏陰性桿菌之噬菌體反應

菌 株 名 稱		φ_1	φ_2	φ_3	φ_4	φ_5	菌 株 數	
							陰	陽
痢疾桿菌	Shiga	—	—	—	—	—	3	0
	Schmity	—	—	—	—	—	7	0
	Large Sachs	—	—	—	—	—	9	0
	Q ₇₇₁	—	L	L	L	卅	0	1
	Sonnei	—	—	—	—	—	7	0
		—	—	—	—	L	0	1
	Boyd	—	—	—	—	—	7	0
	Dispar	—	—	—	—	—	1	0
		—	—	—	—	L	0	1
	Alkalascens { I	—	—	—	—	—	1	0
	II	—	—	L	L	—	0	1
沙門氏菌	A 組 菌	—	—	—	—	—	5	0
	B 組 菌	—	—	—	—	—	5	0
	C 組 菌	—	—	—	—	—	5	0
	D 組 菌	—	—	—	—	—	5	0
	E 組 菌	—	—	—	—	—	5	0
大腸桿菌		—	—	—	—	—	14	0
		—	—	—	卅	—	0	1
副大腸桿菌		—	—	—	—	—	6	0
變形桿菌		—	—	—	—	—	13	0
總 數							93	5

5 株噬菌體對 93 株桿菌無作用,另 5 株有溶解現象。爲了瞭解這幾株細菌是否與福氏痢疾桿菌有抗原上的關係,用抗福氏型及組因子血清進行了測定,結果如後:

Q₇₇₁ 痢疾桿菌 1 株與噬菌體發生了如 3 型菌相似的反應,玻片凝集試驗證明此菌與 III 因子血清有凝集。

宋內氏痢疾桿菌 1 株與噬菌體發生了如 2a 型菌相似的反應,玻片凝集試驗證明此菌與 II 及 3、4 因子血清有凝集。

Dispara 桿菌 1 株與噬菌體發生與 2a 型菌相似的反應,玻片凝集反應證明此菌與 II, 3、4 因子血清有凝集現象。

大腸桿菌 1 株與 φ_4 發生作用,出現全溶現象,其反應類型不屬於現有的任何型別,血清學上未發現有交叉凝集的現象。

鹼痢桿菌 1 株與噬菌體發生與 2b 及 5 型菌相似的反應,玻片凝集反應證明此菌與福氏痢疾桿菌無交叉凝集現象。

討 論

本試驗結果指出現有的 5 株噬菌體對福氏痢疾桿菌各型標準菌株及本地流行的菌株的作用有一定的規律。由各噬菌體對所有的標準菌株的作用看來,此五株噬菌體尚不够用來區別各型菌株,因 2b、5、及 x 菌之反應模式完全相似。本文目的在於探究在血清學

上屬於一型的菌株對此數株噬菌體的敏感性，因此挑選了流行較多的 2 型及 3 型菌株進行了試驗；而未進行尋找其他能區別各型菌株的噬菌體。由表 1 的結果可見血清型別相似的細菌均屬於一定的反應模式，其中且發現有不同的類型；2a 型菌株內有 3 種，2b 型菌株內有 2 種，3 型菌株內有 4 種。在不同的反應模式中，僅一部分菌株與標準菌株對噬菌體之反應完全相似。其他則與標準菌株具有不同的反應。在所試驗的 355 株菌株中，有 354 株菌株對噬菌體的反應與血清型別的關係均屬於一定的規律，另有一菌株（489 號）噬菌體反應模式為 2b 型，但血清型別按自製血清及中國醫學科學院的因子血清試驗結果為 2a，而按中南生物製品研究所的因子血清試驗結果為 2b。

噬菌體型別分類的依據大致可分為二類，一類為對含 Vi 抗原菌株的分型法，另一類為對僅含 O 抗原菌株的分型法。一般說來，前者的結果簡明而確實，例如傷寒桿菌的噬菌體分型，其型別由一株噬菌體的作用而決定；有臨界溶解現象者即定為該型。但後一方法則靠數株噬菌體的共同作用，以不同的反應模式為標準而定型，例如：甲型副傷寒桿菌^[1]鼠傷寒桿菌^[7]及其他沙門氏菌^[2]、葡萄球菌、白喉桿菌^[3]及宋內氏痢疾桿菌等。因之我們認為現有之福氏痢疾桿菌對 5 株噬菌體出現之各種反應模式可能代表不同的型別。與標準菌株的反應模式不同的流行菌株是否因其抗原構造有些區別或因其他原因所致則尚待研究。

現用的 5 株噬菌體對其他腸道桿菌有很少的交叉現象。抗噬菌體血清中和試驗指出此 5 株噬菌體在血清學上是不相同的，具有血清學的特異性。其中除 ϕ_4 及 ϕ_5 間有低度的交叉中和現象外，其餘 3 株完全無交叉中和現象。各標準菌株對此 5 株噬菌體的反應曾於 1956 年 10 月、12 月及 1957 年 5 月內多次重複地進行試驗，噬菌體反應模式及噬菌斑大小均無變化。為繁殖噬菌體用的 5 株菌株（1a, 2a, 2b, 3, 及 x）均未發現帶有噬菌體，現用冰凍乾燥法保存。

此種噬菌體型別的實用價值尚待進一步證明，在此 354 株菌株內，按每年的分佈情況分析未發現有重點流行的特點，不同反應模式在每年中出現的頻率大致相似。就各菌株的生化反應與噬菌體反應模式加以分析，未發現二者之間有任何關係。

結 論

1. 試驗 5 株噬菌體對 355 株本市流行的菌株（2a、3）的作用，出現了一定的規律性和不同的反應模式。重複試驗多次，反應模式及噬菌斑無變化。

2. 此數株噬菌體有一定的特異性，與 98 株腸道桿菌作用，極少數有交叉反應；抗噬菌體血清中和試驗說明 5 株噬菌體在血清學上是不相同的。

參 考 文 獻

- [1] Topley & Wilson's Principle of Immunity & Bacteriology. 第四版.
- [2] Boyd, J. S. K.: *British Medical Journal*, No. 4786, 1952.
- [3] Tee, G. H.: *J. Hyg.*, 53:54, 1955.
- [4] Burnet, E. M. & Mckie, M.: *J. Path. & Bact.*, 33:637, 1930.
- [5] Thomen, L. F. & Frobisher, M.: *Am. J. Hyg.*, 42:225, 1945.
- [6] Громышевский 等: *Дисбактерия*, 第 83 頁, 1956 年版.
- [7] Lilleengen, Kaare: *Typing of Sal. typhimurium by means of bacteriophage*, 1948 年版.
- [8] 錢宇平: *中華新醫雜誌*, 第 806 頁, 1951 年八月.
- [9] Keogh, E. V., Simmons, R. T.: *J. Path. Bact.*, 46:565, 1938,

PRELIMINARY REPORT ON THE PHAGE TYPING OF FLEXNER BACILLI

Hsu, P. H., Hsu, Y. M. & Pai, C. H.

(Department of Microbiology, Wuhan Medical College, Hankow)

The authors have found 5 strains of dysentery-phage which showed regular activity on Flexner types 2a and 3. This phage action was found to be repeatable, and showed no change in the course of the experiment. These strains of phage also showed a lack of action on a large number of other intestinal bacilli, which signifies the relative specificity of their action.