

乙型副傷寒沙門氏菌鞭毛抗元 “混合相”的研究

舒 濬

(衛生部生物製品研究所血清室)

遠在 1934 年, Kauffmann 氏^[1]報告一株新分離的乙型副傷寒沙門氏菌具有罕見的抗元構造。它的菌落能同時與其第一、二相(b 及 1.2...)血清凝集, 並稱之為“混合相”。此後, 筆者尚未見到其它報告例。

1957 年夏, 筆者與同工者發現丹麥菌種 8006 株有疑似這種的現象。但是由於未作血清學分析, 同時用 b 血清誘導未能得到純 1.2... 相菌, 只作了“可能是因子血清不純”所致的估計^[2]。

最近我們在鑑定生產菌苗及診斷血清的乙型副傷寒沙門氏菌時, 發現保存的菌種全部具有這種非典型的性質, 因而進行了下列實驗。

菌種及其一般性質

共檢查了 5 株, 即 B94 株¹⁾、BN 株²⁾、8006 株³⁾、上海株⁴⁾與大連株⁵⁾。都是按常規在脫脂乳內冷凍乾燥保存的。

在形態和生物學性質方面, 它們都是革蘭氏陰性, 兩端鈍圓的桿菌; 有動力。他們都分解葡萄糖、麥芽糖、甘露醇、衛矛醇、阿拉伯膠糖、羣糖、木糖並形成氣體; 不分解乳糖、蔗糖、水楊苷、側金盞花醇。硫化氫反應陽性, 鹼基質反應陰性, 不液化明膠, 形成粘液堤。

在菌體抗元方面, 能與沙門氏菌屬因子血清 0-IV、V 起反應, 能被傷寒沙門氏菌“0”血清凝集至 1:20—1:160, 但不與 0-IX 血清凝集。用鼠傷寒沙門氏菌 (I. IV. V. XII: i:1.2...) 作交互吸收試驗, 能完全相互吸淨。上述性質和乙型副傷寒沙門氏菌完全相同。

鞭 毛 抗 元

上述 5 菌株的運動力良好。前 4 株的肉湯培養與乙型副傷寒沙門氏菌的第一相或第二相血清呈高度凝集, 說明它們是雙相菌, 具有 Kauffmann-White 二氏抗元表所載的鞭毛抗元 b:1.2...。在雙碟培養中, 應當出現兩種菌落, 分別具有 b 和 1.2... 抗元。但是檢查上述 4 株的菌落, 發現一部分僅與 b 血清凝集外, 其它菌落則與 b 及 1.2... 血清均起反應。

1) 蘇聯塔拉謝維契國家科學檢定所菌種。

2) 印度哈佛金研究所菌種。

3) 丹麥國立血清研究所, 國際沙門氏菌屬中心菌種。

4) 上海地方菌種, 上海生物製品研究所, 菌號 50602。

5) 大連衛生研究所菌種, 來源不明。

第 5 株(大連株)的一切菌落都屬於後一類，與乙型副傷寒沙門氏菌應有的第二相鞭毛抗原 1.2...不同。這兩種菌落(以下分別稱為第一相和第二相)的玻璃片及試管凝集反應性質(見表 1)。

表 1 5 個菌株的凝集反應

H-血清 抗 元	b	2	B94 株 第一相	B94 株 第二相	大連株	爪哇沙 門氏菌	非丁德 沙門氏菌 第一相	明尼蘇達 沙門氏菌 第一相	鼠 傷 寒 沙門氏菌 第二相
B94 株, BN 株 上海株, 8006 株 第一相	+	-	12,800	12,800	12,800	12,800	6400	12,800	0
上述 4 株第二相	+	+	12,800	12,800	12,800	12,800	6400	12,800	12,800
大 連 株	+	+	6400	6400	12,800	12,800	12,800	6400	6400
爪哇沙門氏菌(b)	+	-	12,800	12,800	12,800	12,800	12,800	12,800	0
非丁德沙門氏菌第一相(b)	+	-	6400	12,800	6400	6400	12,800	6400	0
明尼蘇達沙門氏菌第一相(b)	+	-	12,800	12,800	12,800	12,800	12,800	12,800	0
鼠傷寒沙門氏菌第二相(1.2...)	-	+	0	12,800	12,800	0	0	0	12,800
紐波特沙門氏菌波多黎各變 種(1.2...)	-	+	0	6400	6400	0	0	0	6400

註：數字表示凝集的最高效價
0=1:100 陰性
玻片反應：+ = 陽性
 - = 陰性

上表說明這些菌株的第一相能被各種含有 b 抗體的血清凝集到最高效價，與 1.2...血清無反應。用代表菌株 B94 第一相製備的免疫血清，也只能凝集有 b 抗元的各個菌種。它顯然是 b 抗元，與乙型副傷寒沙門氏菌的第一相相同。它們的第二相則能與含有 b 或 1.2...抗體的一切血清起反應，B94 株第二相的免疫血清同樣能凝集一切含有 b 或 1.2...抗元的菌種。因此，可以想像它的抗元式乃是 b. 1.2...，而不是乙型副傷寒沙門氏菌應有的第二相鞭毛抗原 1.2...。吸收試驗的結果完全證實了這種假設(見表 2)。

用含有 b 抗元的一切菌株吸收抗 B94 株第二相免疫血清之後，都剩餘能與本菌以及鼠傷寒沙門氏菌第二相(1.2...)、紐波特沙門氏菌波多黎各變種(1.2...)呈高度反應的凝集素。如以鼠傷寒沙門氏菌第二相吸收，又剩餘大量的 b 抗體，只有用含有 b 抗元(爪哇沙門氏菌)與 1.2...抗元(鼠傷寒沙門氏菌第二相)的菌液同時吸收，才能全部吸淨。大連株的吸收試驗結果也相同。結合表 1，便由凝集性(agglutinability)、凝集素結合力(agglutinin-binding capacity)與凝集元性(agglutinogenic capacity)三方面，確證這種第二相的抗元式是 b. 1.2...，與典型的乙型副傷寒沙門氏菌不同。

b. 1.2...相 的 性 質

爲了觀查上述 4 株雙相菌(b:b. 1.2...)的位相變異，先連續 3—5 代挑選單相菌落傳代，再計算數代的菌落考察位相的解離。結果證明 b. 1.2...相菌落，在產生多量同相菌落的同時，也解離出第一相 b 菌落；b 菌落也同樣能產生 b. 1.2...菌落。雙方面的解離百分比一般在 0—20% 之間，有個別偶或高達 40—50%。在相當長的期間內，例如 B94 株及 8006 株在 4 個月連續觀查中，始終保持這種性質，說明存在着相當穩定的自然的位相

變異。

在誘導變異試驗裏，主要使用最能顯示凝集素固定效應的 U 形管誘導法。將單顆菌

表 2 5 個菌株的吸收試驗

H-血清 吸收菌 抗 元	B94 株第一相				B94 株第二相				大 連 株				爪 哇 沙 門 氏 菌			鼠傷寒沙門氏菌第二相		
	B 94 株第一相	B 94 株第二相	爪哇沙門氏菌	明尼蘇達沙門氏菌相	B 94 株第二相	爪哇沙門氏菌	鼠傷寒沙門氏菌相	爪哇沙門氏菌第二相	B 94 株第二相	爪哇沙門氏菌	鼠傷寒沙門氏菌相	爪哇沙門氏菌第二相	B 94 株第一相	B 94 株第二相	大 連 株	B 94 株第二相	大 連 株	鼠傷寒沙門氏菌第二相
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B94 株, BN 株, 第一相	0	0	0	0	0	0	12,800	0	0	0	6400	0	0	0	0	0	0	0
上海株, 8006 株, 上述 4 株第二相	0	0	0	0	0	12,800	12,800	0	0	6400	12,800	0	0	0	0	0	0	0
大 連 株	0	0	0	0	0	6400	6400	0	0	6400	12,800	0	0	0	0	0	0	0
爪哇沙門氏菌(b)	0	0	0	0	0	0	6400	0	0	0	6400	0	0	0	0	0	0	0
明尼蘇達沙門氏菌第一相(b)	0	0	0	0	0	0	12,800	0	0	0	12,800	0	0	0	0	0	0	0
非丁德沙門氏菌第一相(b)	0	0	0	0	0	0	6400	0	0	0	12,800	0	0	0	0	0	0	0
鼠傷寒沙門氏菌第二相(1.2...)	0	0	0	0	0	12,800	0	0	0	6400	0	0	0	0	0	100	200	0
紐波特沙門氏菌波多黎各變種(1.2...)	0	0	0	0	0	12,800	0	0	0	6400	0	0	0	0	0	200	200	0

落接種在含有血清的半固體瓊脂 U 形管的一臂，俟菌體繁殖泳動到另一臂的表層，立刻傳種肉湯，培育 6—8 小時，作為試管凝集試驗的抗元。當半固體表層的菌液濃至可作玻片凝集反應時，也進行檢查，結果見表 3。

表 3 5 個供試菌株的誘導變異

位 相	誘 導 用 血 清 及 其 濃 度		結 果
b. 1.2...及 b		1:200	1.2...
	b (效價 1:12,800)	1:800	b. 1.2...
		1:4000	b. 1.2...
b. 1.2...及 1.2...	2 (效價 1:25,600)	1:4000	b

上表說明，使用少量 b 血清誘導 b 相可得 b. 1.2...相，用量多時，則與 b. 1.2...同樣變異為 1.2...，即乙型副傷寒沙門氏菌應有的第二相抗元。用 2 血清誘導 b. 1.2...相及上述誘導產生的 1.2...相，能迅速地變異為 b 相。所以，b. 1.2...相與 b 相及 1.2...相之間有極密切的關係。此地應附帶說明，在我們試驗中用 Gard 氏軟雙碟法進行誘導很難獲得純 1.2...相。此外在用 b 或 2 血清和 b. 1.2...相菌液作試管凝集反應時，發現經常呈示部分的凝集現象。

沙門氏菌同一位相的菌體抗元性都應相同，至少在它的各個因子血清濃度高時應當

出現完全凝集。但 b. 1.2...相菌在 b 或 2 血清濃度高至 1:100 時也還是部分凝集，類似雙相菌在兩相抗原發育都很良好的條件下，與其某一相血清相凝集的情況。因而令人懷疑 b. 1.2...相有可能是抗原性不同的兩種菌體的混合物，即其中的菌體具有不同的抗原。爲了研究這種現象的本質，進行了“逆吸收”，把 Castellani 氏吸收試驗法逆轉過來，用血清吸收菌液來分析其中菌體的抗原性。首先採集多數 b. 1.2...相菌落製備菌液，再加入血清在 37°C 放置 2 小時後，1000 r. p. m. 離心 3—5 分鐘並棄去沉澱物，觀察上清菌液的濃度及作血清學的鑑定。結果如表 4 所示，b. 1.2...相中的菌體有不同的抗原，一部分具有 b 抗原，另一部分具有 1.2...抗原。

表 4 b. 1.2...相的逆吸收試驗

抗 元		血 清	
名稱及濃度	處 理	處理後濃度	b 2
大連株, 50 億/毫升	加 b 血清	30 億/毫升	0 1:6400
	加 2 血清	18 億/毫升	1:12,800 0

討 論

用了血清誘導研究沙門氏菌抗原變異的方法，Kauffmann 氏^[3]證明犬流產沙門氏菌是乙型副傷寒沙門氏菌。Edward 及 Bruner 二氏^[5-7]證明抗原式爲 IV. XII: a:—, IV. XII. d. e. h: d. e. n. z₁₅ 與 I. II. XII:—:1.5...的菌株乃是馬流產沙門氏菌 (IV. XII:—: e. n. x), 聖地亞哥沙門氏菌 (IV. XII: e. h: e. n. z₁₅) 與甲型副傷寒沙門氏菌 (I. II. XII: a:—) 的變種。本試驗採用這種方法，闡明了 b. 1.2...相與 b 相及 1.2...相的關係，從而證明檢查的 5 株乃是乙型副傷寒沙門氏菌變異而產生的。

但是，Kauffmann 氏證明的乙型副傷寒沙門氏菌誘導相乃是 z₅，即 Gard 氏^[4]所謂的犬流產沙門氏菌 β 相 (z₇, z₈)，與 b 及 1.2...抗原無絲毫共同之處，所以 b. 1.2...相並不是一般所謂的乙型副傷寒沙門氏菌誘導相。

自從 1896 年，Achard 及 Bensande 二氏發現乙型副傷寒沙門氏菌以來的 60 餘年之間，筆者只曾見到 Kauffmann 氏在 1934 年的一例報告，一個新分離的菌株具有 b. 1.2...相。這種混合相在其它沙門氏菌的文獻中也很少見，只有 Seligmann 等氏^[8]曾在小鼠實驗感染中發現一株具有 i. 1.2...相的鼠傷寒沙門氏菌，所以曾經是一種極其罕見的現象。但是本試驗檢查了本所現有的 5 株乙型副傷寒沙門氏菌，竟發現全部具有 b. 1.2...混合相。並且這些菌株來自世界各地 (蘇聯、丹麥、印度、上海及大連)，其中 8006 株又是國際沙門氏菌屬中心所發的抗原分析用標準菌種，因而可以想像這種變異是易於發生的。新分離的和實驗感染獲得的菌株能有混合相已被上述 Kauffmann 氏及 Seligmann 等氏所證實。從本實驗來看，菌株在保存期間也可能發生這種變異，如 8006 株。8006 株以外的 4 株是在分離時即有混合相，或是保存中產生的，因無資料可查，則不得而知。

沙門氏菌屬的位相變異一般都是表現在產生另一相的菌落，而不是產生不分位相的混和相菌落。所以通常認爲，不管一個位相包括幾種抗原因子，全部生長在同一菌體身

上。混合相則與此不同, Kauffmann 氏在其專門論述位相問題的論文中, 也曾假設 b. 1.2... 相是由有 b 抗元與有 1.2... 抗元的菌體混合組成的。本試驗利用逆吸收法證實了他的假設。但是 Kauffmann 氏的假設是由該株菌落解離率為 50% 而得出的。本試驗的 5 株當中, 一株是缺少第一相的變種, 解離率為 0%, 其它 4 株只是偶而達到 40—50%, 一般是在 0—20% 之間。

關於 b. 1.2... 相的產生, 估計可能是位相解離的速度極快所致。當 1.2... 相解離速度過快時, 則不產生 1.2... 相菌落而有 b. 1.2... 相與 b 菌落; 當 b 相與 1.2... 相解離都過於快時, 則 b 相與 1.2... 相菌落均消失, 僅有 b. 1.2... 相菌落, 即單相菌。這可能是一種特殊形式的位相變異, 也可能與沙門氏菌屬的系統發生有關。White 氏曾經提出沙門氏菌屬的系統發生假說^[6]。他認為沙門氏菌原是一種細菌, 具有極複雜的抗元構造, 由於逐漸發生退行性變異, 即缺失變異(loss variation)與解體變異(segregation), 形成現代多種類型的沙門氏菌。我們認為 b. 1.2... 相與 b 相及 1.2... 相的關係可能與此假說符合。

總 結

1. 發現實驗室保存的 4 株乙型副傷寒沙門氏菌 (包括 1 株國際沙門氏菌屬中心分發的標準菌株) 的鞭毛抗元是 b:b. 1.2..., 另一株是——: b. 1.2...。
2. 在誘導試驗中, b. 1.2... 相能變異為 b 相或 1.2... 相。
3. 用逆吸收法證實 b. 1.2... 相是由有 b 抗元與有 1.2... 抗元的菌體混合組成的。
4. 討論了這種混合相的產生、頻度與解離形式。

參 考 文 獻

- [1] Kauffmann, F.: Zbl Bakt., 132: 20, 1934.
- [2] 診斷用品學習班技術工作總結報告。“學術資料彙編”。1957 年, 大連生物製品研究所。156 頁。
- [3] Kauffmann, F.: Acta Path. et. Microbiol. Scand., 18: 293, 1939.
- [4] Gard, S.: Z. Hyg., 121: 139, 1938.
以上兩文獻可參見小島、八田: 食物中毒菌。277 頁。
- [5] Edward, P. R. and Bruner, O. W.: J. Bact., 38: 63, 1940.
- [6] Edward, P. R. and Bruner, O. W.: J. Bact., 44: 289, 1944.
Edward, P. R. and Bruner, O. W.: J. Bact., 42: 467, 1941.
- [7] Seligmann, E., Saphra, I. and Wassermann, M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 58: 48, 1945.

STUDY ON THE "MIXED PHASE" IN THE FLAGELLAR ANTIGEN OF *SALMONELLA SCHOTTMULLERI*

SHU, C.

(*National Vaccine and Serum Institute, Peking*)

The so-called "mixed phase" occurring in the flagellar antigen of the paratyphoid B organism is a rare occurrence, as it has only been reported once by Kauffmann in the literature. However, recently, in analysing the antigenic components of the stock cultures of *S. schottmulleri* obtained from various sources, including one obtained from the International Salmonella Center (8006), we found four of these contained the following flagellar antigens: b:b.1.2..., while the fifth one, —; b.1.2... In our hands, b.1.2... phase was found to be changed to either b or 1.2... by cultivation in the presence of appropriate immune sera; and by means of reverse absorption test, the antigen b.1.2... phase came from cells containing b and those containing 1.2... The production, rate of occurrence, and the mode of dissociation of this mixed phase were briefly discussed.