

# 綠脓杆菌血清学分类的初步研究

舒 濬

(卫生部生物制品研究所,北京)

綠脓杆菌血清学的分类方法迄今未趋一致,为寻找实用的分类法,我們做了下述工作:

## 一、材料与amp;方法

一、菌种:1960年3—9月,收集到人体創伤感染中的菌株65株。

二、免疫血清:用0.5%福馬林生理盐水菌悬液,按一般常规免疫家兔制成。作菌体凝集反应时径直使用;作鞭毛凝集反应时先用加热的“O”菌液吸收。

三、血清学检查法:使用凝集試驗与amp;吸收試驗。抗原有加热抗原,酒精抗原与amp;福馬林抗原3种。

## 二、实验与amp;结果

### 一、加热“O”抗原

1. 抗原加热时间、温度与amp;观查反应的时间对滴度的影响:“O”凝集試驗一般使用100℃加热30分钟左右的抗原。在綠脓杆菌,我們观查到某些菌株須将时间延长至2.5小时;温度也須保持在100℃以上,才有良好的凝集。在使用塑料盘法时(两滴抗原加两滴血清),某些菌株出現凝集較迟,室温放置4小时才有較滿意的结果。过夜后滴度尽管稍有增高,但有时出現某些交叉。因此以后的試驗都是以100℃或4—5磅下加热2.5小时的菌悬液,4小时前后观查反应。

2. 交叉凝集試驗与amp;分羣:用加热“O”抗原作凝集試驗,經反复选择,制备出18个菌株的免疫血清。与amp;全部菌株的“O”凝集反应見表1。结果65株可分为9个菌羣和2个中間类型。即:

第1羣:包括与綠血,2219①、4199①及4328等4个血清凝集的32个菌株。

第2羣:包括与綠2、綠4等2个血清凝集的17个菌株。

第3羣:与綠3血清凝集的2株。

第4羣:4303株。

第5羣:与2607血清凝集的2株。

第6羣:2565①与amp;2565②共2株。

第7羣:与6246血清凝集的2株。

第8羣:10111及amp;10112、10113共3株。

第9羣:10110株。

表 1 加热“O”抗原的凝集試驗

菌 株 血清	綠 血 等 8 株	4219② 等 5 株	4199① 等 11 株	4199② 等 8 株	綠 2 等 17 株	綠 3	4303	2607 朝 2	2565① 2565②	6246 10112	10111 10112 10113	10110	5433 5437	3471
綠 血	20—80	—	20—80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	80
4219①	20—80	40—160	20—80	40—80	—	—	—	—	—	—	—	—	40	20
4219②	20—80	20—80	20—80	20—40	—	—	—	—	—	—	—	—	40—80	80
4328	20—40	20—40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
綠 2	—	—	—	—	20—160	—	—	—	—	—	—	—	—	40
綠 4	—	—	—	—	20—160	—	—	—	—	—	—	—	—	40
綠 3	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—	—	—	—	—
4303	— ±	—	—	—	—	—	80	—	—	—	—	—	20	—
2607	—	— ±	—	—	— ±	—	—	80—160	—	—	—	—	—	—
2565①	—	—	—	—	— ±	—	—	—	160	—	—	—	—	—
2565②	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—	—
6246	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—
10111	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—
10112	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—
10113	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—
10110	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—

中間类型 1: 与第 1 及第 4 羣血清都凝集的 2 株, 5433 与 5437。

中間类型 2: 与第 1 及第 2 羣血清都凝集的 3471 株。

3. 交叉吸收試驗: 在菌株較多的第 1、2 羣中, 存在凝集現象不規律与滴度相差較大的現象; 中間类型則与两个羣血清发生反应。它們的抗原构造見交叉吸收試驗, 表 2—5。

表 2 第 1 羣的抗原关系

抗 原 血清 吸 收	綠 血			
	綠血	2608	5568	5337
綠血	+++	—	—	+++
2608	+++	—	—	+++
5568	+++	—	—	+++
5337	+++	—	—	—

表 3 第 2 羣的抗原关系

抗 原 血清 吸 收	綠 2			綠 4		
	綠 2	綠 4	5275	綠 2	綠 4	5275
綠 2	+++	—	+++	+++	—	+++
綠 4	+++	—	+++	+++	—	+++
5275	+++	—	—	+++	—	—
5309	+++	—	—	+++	—	—
5468	+++	—	+++	+++	—	+++

注: 血清: 1:5 稀釋。

吸收菌与抗原: 100℃

2.5 小时加热。

表 2 是用第 1 羣的綠血, 2608, 5568 及 5337 共 4 株吸收綠血血清, 前 3 株能吸尽全部凝集素, 5337 株只能吸去一部分, 剩余与其它 3 株呈现凝集的抗体。5337 株显然缺少一部分“O”抗原。因而, 第 1 羣并不是抗原完全一致的。

表 3 是用綠 2、綠 4 及 5275 共 3 株吸收綠 2 与綠 4 血清。由綠 2 与綠 4 能交叉吸收干净全部抗体, 得知它們的抗原完全相同。而 5275 株只能吸去部分抗体, 剩余与綠 2、綠 4 能起反应的凝集素, 故第 2 羣中的各菌株也不是“O”抗原完全相同的。

与第 1、4 羣有交叉的中間类型 1, 吸收 1、4 羣血清的結果見表 4。5433 与 5437 两株都能吸净第 1 羣血清中的凝集素; 但不能吸净第 4 羣血清, 剩余第 4 羣特有的抗体。因而

这两株具有第 1 羣的抗原和第 4 羣的部分抗原。

中間类型 2 即 3471 株, 如表 5 所示, 在吸收第 1、2 羣血清至不再与 3471 株凝集后, 仍分別剩余第 1、2 羣特有的抗体。即 3471 株仅具有第 1、2 羣的部分抗原。

表 4 中間类型 1 的抗原結構

血清 吸收 原 菌	綠 血			4303		
	綠血	5433	5437	4303	5433	5437
綠血	+++	—	—	—	—	—
4303	—	—	—	+++	—	+++
5433	+++	—	—	+++	—	—
5437	+++	—	—	+++	—	—

表 5 中間类型 2 的抗原結構

血清 吸收 原 菌	綠 血		綠 2	
	綠血	3471	綠 2	3471
綠血	+++	—	+++	—
綠 2	—	—	—	+++
3471	+++	—	+++	—

### 二、酒精“O”抗原

用 10 个血清与 21 个菌株的酒精“O”抗原作凝集試驗, 結果与表 1 比較, 在一些菌株出現类属反应。交叉輕微的有綠 3 株对綠 2、4328 及 2565② 三个血清; 交叉显著的有綠 2 株、2607 株对 4219① 血清等。

### 三、福馬林“OH”抗原的“H”凝集試驗

使用的血清事先經加热“O”抗原吸收, 不含有“O”抗体。上福馬林抗原作凝集試驗, 結果見表 6。对照加热“O”抗原的分羣情况。可以看出: 第 1 羣菌株中, 綠血株与 8 个血

表 6 福馬林菌液与鞭毛血清的凝集反应

血清 菌株	綠 血	綠 3	綠 4	4303	4199①	2607	4328	2565②
綠 血	1600	800	400	800	1600	400	400	200
綠 2	—	—	3200	400	—	—	400	100
綠 3	—	1600	—	400	—	—	400	100
綠 4	—	—	1600	—	—	—	200	50
4219①	800	400	—	400	800	—	800	800
4219②	800	400	—	200	800	—	800	100
4303	800	—	—	800	200	—	800	—
4199①	400	—	—	100	3200	—	400	—
4199②	800	800	200	800	1600	—	400	800
4199③	400	—	—	400	1600	—	400	—
238	400	400	—	400	800	—	200	—
4337	400	—	—	400	400	—	400	—
3814	—	—	800	100	100	—	800	400
4275	3200	400	—	800	1600	200	800	400
2741	—	—	—	—	—	—	—	—
2508	50	400	—	—	100	—	—	—
5568	3200	1600	—	800	400	—	1600	—
2607	1600	—	—	—	—	3200	400	400
4328	1600	1600	—	800	1600	—	3200	100
2565①	—	—	200	400	200	800	1600	3200
2565②	—	—	—	800	200	1600	1600	3200

清; 4199② 株与 7 个血清; 4219①, 4219②, 4275, 568 与 4328 共 5 株与 6 个血清; 4199①, 4199③, 4337, 4275 共 4 株与 4 个血清; 2508 株与 3 个血清发生高低不等的“H”凝集, 难于找到规律。4199①, 4199② 及 4199③ 3 株来自同一病人, “H”凝集却不相同。第 2 羣中, 綠 2、綠 4 与 3814 共 3 株分别与 1、2 或 6 个血清发生“H”凝集; 第 6 羣菌株, 2565① 与 2565② 也是由同一病人分离的, 其“H”抗原也不相同。其他羣菌株也有类似现象。所以是: 同羣不同株“H”抗原有的相同有的不同; 不同羣的菌株的“H”抗原也有的相同有的不同; 同一病人不同时间分离的菌种, “O”抗原相同, 但“H”抗原却能有显著不同。在半固体保存菌种中, 我們也看到“H”抗原有变异现象。利用它来分类可能是复杂的或困难的。

#### 四、分羣与菌种来源的关系

由表 7 可以看到: (1) 烧伤研究所 46 个菌株中, 第 1 羣 23 株 (50.0%); 第 2 羣 14 株 (31.1%), 合計 81%。这些菌株分离当时正值該所病房中綠脓杆菌感染率较高, 由病房器物也分离得綠脓杆菌。而传染得到控制后菌羣也发生改变。(2) 有 7 株 (4219①, 4219②; 4199④, 4199②, 4199③; 2565①, 2565②) 是 3 个病人不同时间分离的。由表 1 可知, 同一病人不同时间分离的菌株是同羣的。(3) 上海的 8 个菌株中 4 株分属于 8、9 羣, 北京菌株中未见到这两羣。从上述可见: 按“O”抗原分羣, 其分布与菌种来源, 感染与传播間有明显联系。

表 7 菌种来源与羣别

羣 别	来 源		中央医院	人民医院	朝阳医院	药 物 研究所	天 津 血研所	上 海 二 医	合 計	
	数	%							数	数
第 1 羣	23	50	4	1	1		1	2	32	49.4
第 2 羣	14	31.1	1			1		1	17	26.1
第 3 羣	2								2	
第 4 羣	1								1	
第 5 羣	1				1				2	
第 6 羣	2								2	
第 7 羣			1					1	2	
第 8 羣								3	3	
第 9 羣								1	1	
中間类型 1	2								2	
中間类型 2	1								1	
合 計	46		6	1	2	1	1	8	65	

### 討 論 与 总 結

綠脓杆菌血清学曾經过許多学者研究<sup>[1-10]</sup>, 由于多将“O”、“H”混同, 結果常不恆定。只有 Christie 氏<sup>[8]</sup>严格区分“O”、“H”, 以“O”为基础作分类取得进展。最近, Habs 氏<sup>[12]</sup>用此法分 70 株为 12 个羣。Sandivik 氏<sup>[13]</sup>认为这个系統可以成立, 并发现 1 新羣。但 Kähler 氏<sup>[14]</sup>得到相反的结果, 推荐使用其方法。因此, 綠脓杆菌血清学分类的基础尚未統一, 方法尚未确立。

本文初步检查 65 株创伤感染菌种,用 100°C 2.5 小时的“O”抗原作凝集试验与交叉吸收试验,得出比较明确的分群结果。这一工作的目的在于分析抗原(菌群)与菌种来源的关系。从上述分群来看,用“O”抗原为基础的分群法和菌种来源有明显联系。在株数较多的第 1 群与第 2 群中,已查知抗原不全相同。在研究抗原结构与分类学上这是重要的,须要进一步探讨。本文这样分群而不再细分则是因为与其来源基本一致。当然,收集株数还少,没有包括更多地区与各种感染的菌种等等,都指出这一方法虽然初步看来是可用的,还须要深入探讨与肯定。

关于绿脓杆菌的鞭毛抗原,实验证明相当复杂,与 Kleinmaier<sup>[11]</sup>的结果一致。近来某些学者倾向于将本菌划入肠道菌,是否其鞭毛类似某些肠道菌那样复杂易变,需要更深入地探讨。

### 参 考 文 献

- [1] Kleinberger, E.: *Münchn, med. Wschr.* 1330, 1907.
- [2] Jacobsthal, M.: *Ibid.* 1247, 1912.
- [3] Pribram, M. E. & Pulay, E.: *Zbl Bakt. I. Orig.* 78:493, 1916.
- [4] Aoki, K.: *Ibid.* 96:186, 1926.
- [5] Kanzaki, K.: *Ibid.* 133:89; 94; 99, 1934/35.
- [6] Meader, P. D. Robinsen, G. H. & Leonard, V. T., *J. Hyg.* 5:682, 1925.
- [7] Mayr-Harting, A.: *J. Gen. Microbiol.* 2:31, 1948.
- [8] Christie, R.: *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 26:425, 1948.
- [9] von den Ende, M.: *J. Hyg.* 50:405, 1952.
- [10] Homma, K.: *Jap. J. Exp. Med.* 21:375, 1951.
- [11] Kleinmaier, I.: *Z. Immun. forsch.* 115:492, 1958.
- [12] Habs, I.: *Z. Hyg. Infekt-Kr.* 144:218, 1957.
- [13] Sandvik, O.: *Acta Path.* 48:56, 1960.
- [14] Kohler, W.: *Z. Immun-forsch.* 114:282, 1957.

## PRELIMINARY STUDIES IN THE SEROLOGICAL CLASSIFICATION OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

SHU CHÜN

(National Vaccine and Serum Institute, Peking)

A collection of 65 *Ps. aeruginosa* strains have been studied for their serological classification. By means of agglutination and cross-absorption tests, using heated suspensions (100°C, 2½ hours) as antigens, it was possible to divide the organisms largely into “O” groups. Nine distinct and 2 intermediate groups have been recognized, and a close correlation between serological classification and source of the organisms has been well established. It was thus suggested that the above mentioned system may provide a practical tool in epidemiological studies.

On the other hand, minor differences in structure of the “O” antigens within the same group have been noticed, and our preliminary observations indicated that the “H” antigens are much more heterologous. Same “H” antigen in different “O” groups as well as different “H” antigens in the same “O” group have been found. Whether these antigenic differences may be utilized to classify the organisms further into subgroups or types calls for a more thorough study.