

大腸杆菌 $O_{126}:B_{16}$ 型的噬菌体分型初步报告*

朱 清 滄

(西南铁路工程局卫生防疫站, 贵阳)

自 Craigie 和顏春暉两氏用 vi 噬菌体进行伤寒菌的分型以来, 由于对追溯传染源和控制其传播有实际意义, 因而噬菌体分型的方法已被广泛应用, 1953 年 Smith 氏曾用于大腸杆菌 $O_{111}:B_4$, $O_{55}:B_5$, $O_{26}:B_6$ 等的分型^[1], Stulberg 氏(1954)亦曾在 $O_{111}:B_4$ 的流行病学調查中使用^[2]。

近年来, 有关致病性大腸杆菌所致嬰兒腸炎的研究日益普遍, 就国内部分报告看来, 各地流行菌型和出現頻率通常不一, 但一个地区又常以一或两个菌型占首要地位, 如上海以 $O_{111}:B_4$ 居多^[3], 北京則为 $O_{111}:B_4$ 及 $O_{128}:B_{12}$ ^[4], 貴阳 $O_{128}:B_{12}$ 第一, $O_{126}:B_{16}$ 次之^[5], 而我室所作調查的結果則以 $O_{111}:B_4$ 及 $O_{126}:B_{16}$ 两型較多, 鉴于后者目前在本地多系散发, 为了便于正确地理解其流行及传播規律, 作者試用噬菌体进行分型, 仅将所得結果作如下报告。

材 料 与 方 法

1. 分型用噬菌体的分离和选择 分型用噬菌体系由医院及家属区下水道污水中分离而得, 方法是將污水混合后经塞氏滤器过滤除菌, 分装若干无菌三角烧瓶, 每瓶 5 毫升, 并分別加入肉湯 20 毫升及 1 株 $O_{126}:B_{16}$ 型大腸菌的 2—4 小时培养的肉湯菌液 1 毫升, 放 37℃ 孵育 4—6 小时, 取出经 60℃ 水浴加溫 30 分钟处理后, 再和该株细菌作平板裂解試驗, 若有噬斑出現, 則用白金针自噬斑中心沾取噬菌体再进行繁殖, 经纯化后将所得各株噬菌体分別与各敏感菌作交叉裂解試驗, 选出其中少有交叉, 具有区别意义的噬菌体株, 经測定并稀釋至常规試驗稀釋度(简称 R.T.D.)后供分型用。

由分得的 16 株噬菌体中选出 6 株, 分別标记为 3089- ϕ_2 , 3078- ϕ_3 , 3032- ϕ_4 , 3056- ϕ_5 , 3019- ϕ_6 , 3013- ϕ_7 , 几株噬菌体中除 ϕ_2 外, 其余 5 株的噬斑均透明, 边缘整齐, 大小约 0.5—1.0 毫米直径, 3089- ϕ_2 的噬斑較大, 直径约 1—1.5 毫米, 中心有阴影, 周围呈透明裂解圈且有扩散现象, 3089- ϕ_1 系 3089- ϕ_2 和该敏感菌株进行平板裂解試驗时, 裂解区中心阴影处出現一突变形噬斑, 经分离纯化而得, 能裂解全部試驗菌株。

2. 試驗菌株来源 除 1 株为中央生物制品檢定所 $O_{126}:B_{16}:H_2$ 标准菌种外, 余 48 株均为地方菌种。来源为成都生物制品研究所 12 株, 四川省卫生防疫站 6 株, 貴州省卫生防疫站 14 株, 西南铁路局卫生防疫站 16 株。

以上菌株均经生化学及血清学鉴定为 $O_{126}:B_{16}$ 型大腸杆菌, 分型用“OB”单价及“O”单价血清均系成都生物制品研究所贈给。

3. 試驗用培养基 为 pH 7.4 的普通琼胶和普通肉湯培养基。

4. 分型操作方法 采用平板点滴法, 被試菌经分离后, 移于普通琼胶斜面, 经 37℃ 孵育 12—16 小

* 本文蒙成都生物制品研究所董典顺主任审阅, 特此致謝。
本文 1964 年 4 月 2 日收到。

时后取出,用肉湯洗下菌苔,使成为约 15 亿 1 毫升活菌,所用之平板先于 37℃ 烘烤 1—2 小时,经标记好后,用直径 2.75 毫米白金耳钩取菌液涂布菌团,每株菌涂 8 个,待干后立即用直径 2.0 毫米的白金耳取分型噬菌体(C.T.C.)按编号顺序分别滴加于 7 个菌团中央,余 1 菌团不加噬菌体,作对照,待干后立即放 37℃ 孵育,4—6 小时后取出记录结果,按裂解情况分为“CL”——完全裂解;“CP”——裂解区有阴影;“+++”、“++”、“+”——裂解程度或噬菌斑多少程度,“—”——不裂解。

結 果

(一) 来源不同的 49 株 O₁₂₆:B₁₆ 型大腸菌均能被 7 株分型噬菌体中之一至数株裂解,

表 1 49 株 O₁₂₆:B₁₆ 型大腸菌的噬菌体型 (R. T. D. 的结果)

噬菌体型别	分 型 噬 菌 体							菌 株 来 源*					菌株数
	3089 _雨 - -φ ₁	3089- φ ₂	3078- φ ₃	3032- φ ₄	3056- φ ₅	3019- φ ₆	3013- φ ₇	中检所	贵州	四 川			
										省站	成都所	本站	
φ-1	CL	—	—	—	—	—	—	1	1	2	3		7
φ-2	CL	CP	—	—	—	—	—		1				1
φ-3	CL	—	CL	—	—	—	—		1		1		2
φ-4	CL	—	—	CL	—	—	—			1			1
φ-5	CL	—	++ CL	CL	—	—	—		10		5	2	17
φ-6	CL	—	CL	CL	CL	—	—					1	1
φ-7	CL	—	—	—	—	CL	—					1	1
φ-8	CL	CP	++ CL	CL	—	+ ++	—			1	1	1	3
φ-9	CL	—	—	—	—	—	CL			1	2	2	5
φ-10	CL	CP	—	—	—	—	CL					2	2
φ-11	CL	—	—	+++ CL	—	—	CL					1	1
φ-12	CL	—	CL	CL	—	—	CL			1		6**	7
φ-13	CL	CP	CL	CL	—	CL	CL		1				1

* 单位全名参看第一部分菌株来源。

** 包括流行病学调查时的 3 株。

表 2 分型噬菌体的非特异性溶菌試驗(C.T.C. 的结果)

分型噬菌体号 試驗菌名称	3089- φ ₁	3089-φ ₂	3078-φ ₃	3032-φ ₄	3056-φ ₅	3019-φ ₆	3013-φ ₇	菌株数	
								阳性	阴性
沙门氏菌属 (A—D 羣)	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	0	33
痢疾杆菌 (A—D 亚类)	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— CP	1*	39
致病性大腸杆菌 (O ₁₁₁ :B ₄ , O ₆₃ :B ₅ , O ₄₈ :B ₇ , O ₂₆ :B ₆ , O ₁₁₆ :B ₁₄ , O ₁₂₅ :B ₁₅ , O ₁₂₇ :B ₈ , O ₁₂₃ :B ₁₂)	—	—	—	—	—	—	—	0	33

* 宋内氏痢疾杆菌。

可按其反應模式不同而分為 13 個噬菌體型，見表 1。一個菌株經反復 3 次及同一菌株 3 個單獨菌落同時分型，其反應模式不變，僅有裂解程度的差別。

(二) 7 株分型噬菌體對 111 株其他型致病性大腸菌及沙門氏菌、痢疾杆菌的交叉裂解試驗結果見表 2，除其中一株宋內氏痢疾杆菌的地方菌種被 3013- ϕ_7 裂解外，其他未發現交叉裂解的現象。

(三) 在 1 例散發病例的流行病學調查時，由兒科某患者的門診、住院兩次糞便培養和可疑帶菌者、其保姆家女孩糞便培養時所分離出的 3 株 $O_{126}:B_{16}$ 型大腸菌，經用本法分型，結果同屬第 12 噬菌體型。

討 論

試驗的結果表明，49 株 $O_{126}:B_{16}$ 型大腸菌，對 7 株分型噬菌體的敏感情況不一，故出現了 13 種反應模式，即噬菌體型。在通過一個菌株反復數次及同一菌株的數個菌落同時分型，以及一例散發病例的流行病學調查時來自患者及可疑帶菌者所分離的 3 個菌株，經本文所述方法分型的結果，亦屬同型。說明這種反應模式具有一定規律和相對的穩定性。因此，作為一種方法在結合血清學的基礎上進一步用噬菌體分型，對於追溯傳染源具有一定的實用意義。

至於分型的機制，迄今尚不十分清楚，Anderson 和 Felix 兩氏(1951, 1953)在研究傷寒菌的 ϕ_1 噬菌體分型時，發現某一傷寒菌株的噬菌體型，是由它所帶的一或多型共生噬菌體所決定的^[6]，故一般認為細菌對噬菌體的抗性可視為帶菌免疫。同時這種抗性常具有類羣的極端特异性，即僅對曾經作用於它的噬菌體或是與之相近(系統發育上的親緣關係)的那些噬菌體有抵抗力^[7]，因而一個血清型的細菌和相應噬菌體作用，會出現不同的反應模式，至於本文所得的 13 個噬菌體型中，各型的菌株之間是否亦有抗原成分，特別是 H 抗原的類屬，抑或分型噬菌體株間的親緣關係，尚待今後繼續研究。

致病性大腸杆菌各地報告的菌型不一， $O_{126}:B_{16}$ 型在本地出現頻率較高，摸清其流行規律對該病的防治有一定幫助，經在血清学分型的基礎上再區分為若干的噬菌體型，就可能盡量排除工作中的偶然因素，而得到較準確的結果，但因尚無更多的實例，還有待今後進一步應用和証實。

由四川和貴州兩地所得菌株，在噬菌體型的分布上似有一定差別，由表 1 可見，前者 34 株菌種中，其中 20 株屬 6—12 型，而後者 14 株菌種有 13 株屬 1—5 型，這對今後了解各地噬菌體型的分布將有所裨益。

小 結

1. 用本地分離的 7 株噬菌體，可將來源不同的 49 株 $O_{126}:B_{16}$ 型致病性大腸菌分為 13 個噬菌體型。

2. 曾用於一例散發病例的傳染源追蹤調查，結果，由患者及帶菌者所分離的 3 株 $O_{126}:B_{16}$ 型大腸杆菌均同屬第 12 噬菌體型。

3. 噬菌體分型的方法簡便，從本文所得初步結果看來，尚具較高的特异性和敏感性，可於今後診斷及流行病學調查中進一步觀察和運用。

参 考 文 献

- [1] Smith, J.: *J. Path. Bact.*, **66**:503, 1953.
[2] Stulberg, C. S., Zuelzer, W. W. & Nolke, A. C.: *Pediatrics*, **14**: 133, 1954.
[3] 王增慧等: 中华儿科杂志, **12**: 202, 1963.
[4] 中国医学科学院儿科研究所消化不良研究小组: 中华儿科杂志, **11**: 215, 1960.
[5] 陈策、熊汉泉: 中华儿科杂志, **12**: 199, 1963.
[6] 引自郝世梅译: 肠杆菌科的鉴定, 科技卫生出版社, 95 页, 1959。
[7] 引自严幼宽译: 噬菌作用, 科学出版社, 51—53 页, 1957。

A PRELIMINARY REPORT ON PHAGE-TYPE OF THE *ESCHERICHIA COLI* O₁₂₆ : B₁₆

CHU TSING-CHANG

(South-West Railway Engineering Bureau Sanitary and Epidemiological Station, Kueiyang)

49 pathogenic strains of *Escherichia coli* serotype O₁₂₆ : B₁₆ obtained from differential source, could be divided into 13 bacteriophage types by the various strains of bacteriophages isolated from sewage.

Among the bacterial strains obtained from provinces Sichuan and Guizhou in the spreading of the phage-types there are certain differences.

Bacteriophages of this group have been used to track the source of infection of a group of cases. It was found that the 2 O₁₂₆ : B₁₆ strains isolated from the patient, and 1 O₁₂₆ : B₁₆ strain isolated from the doubtful carrier all belong to 12th phage-type.