

综合评述

金黄色葡萄球菌的噬菌体分型

I. 基本情况*

司 穉 东

(中国科学院植物生理研究所微生物研究室,上海)

一、历史

球菌的噬菌体是 1915 年 Twort 由痘苗中分离的菌株上发现的^[1]。1921 年 D'Herelle 由自己被荷兰猪咬伤发炎的手指脓液中分离出裂解白色葡萄球菌并经培养能裂解金黄色葡萄球菌的噬菌体^[2]。此后,对金葡菌噬菌体进行了不少研究。Callow 则曾首先发现具有不同裂解力的金葡菌噬菌体^[3]。Burnet 及 Lush 也曾分离到一些噬菌体,进行过裂解特异性方面的观察^[4],而 William 和 Timmins 则曾用 Burnet 的 4 株“Au”噬菌体进一步做流行病学上的观察,19 例急性骨髓炎病人分离的菌株可以被此等噬菌体分为不同的六个型别,并且发现在 12 例中由患处以及由同一患者的鼻、咽、血所分离之菌株都是相同的^[5]。当时所用方法是在液体培养基中观察菌培养物的裂解,而能使培养物完全裂解透明的噬菌体称为强噬菌体,并以此反应做为判定噬菌体作用的依据。这种方法显然有很大缺点,因为不少噬菌体具有特异性裂解的能力,但不一定能使液体菌培养物完全裂解透明,其实他本人也见到这种情况(并称此等噬菌体为弱噬菌体)^[4]。Fisk 改用固体培养基,是为现今实际应用的方法的开始^[6]。并用交叉培养的方法,由血浆凝固酶阳性的金葡菌分离出 24 株噬菌体,这些噬菌体具有特异的宿主域,而且对血浆凝固酶阴性的葡萄球菌均不敏感。Fisk 进一步用噬菌体对 95 株菌株做了分析^[7],发现菌株可借所分离的噬菌体分为不同的类型,而且由相关来源分离的菌株,其类型相同,例如某菌血症例,生前由血液分离的菌株以及死后尸解时由肺、脾等处分离之菌株均只对 I、N、Y 噬菌体敏感;患骨髓炎某例,由踝部和肩部脓肿,以及由血液分离的

菌株,均同属 A, D, E, R, Y 这一噬菌体型类。此外作者还发现相关病人间的病原菌的关系,例如由母亲疖部分离的菌株,和同时由女儿疖部分离的菌株都可被 A, C, D, E, L, R, Y, 2a 噬菌体所裂解。他对菌株的噬菌体特异性的稳定性也进行了观察,菌株不论在试验室的培养基上或在动物体(小白鼠)多次传代,均仍保留其原来的特异性。此后 Fisk 及 Mordvin 曾用此等噬菌体做过一些流行病学的观察^[8]。McClure 及 Miller 也曾用于研究金葡菌食物中毒^[9]。不过对这些噬菌体没有进一步的研究,后来也没有在实际上应用。现今国际上应用的噬菌体是从 Wilson 及 Atkinson 分离整理开始,后来经不同学者不断更代补充组成的^[10]。是用 Fisk 氏方法由溶原性菌株分离选择了 18 个不同的噬菌体,根据对此等噬菌体的敏感性,将其收集的菌株分 21 个型别,分别称之为 1—14 型,其中 1, 2, 3 型又分别按其对应 3A, 3B, 51; 6, 7, 42B, 47, 47C 及 29, 31, 52 诸噬菌体呈不同的敏感性而分为 1A, 1B, 1C; 2A, 2B, 2C, 2D; 3A, 3B, 3C 诸亚型。Wilson 及 Atkinson 除选择了一大部分现今尚在应用的特异性较好的型噬菌体之外,在方法上也做了改进^[10]。在此之前, Fisk 等都是用不稀释的原噬菌体检查菌株, Wilson 则改用伤寒沙门氏菌噬菌体分型中的最大稀释浓度的噬菌体(或称常规检查稀释度,略为 RTD)做菌株的定型试验^[11]。这一改进对提高噬菌体的特异性方面具有较重要的意义。此后,对金葡菌分

* 本文曾在 1965 年 3 月 7 日上海微生物学会及中华医学会上海分会内科学会传染病组学术报告会上报告。

本文 1965 年 10 月 10 日收到。

型的工作逐渐被更多学者研究和开始应用于金葡菌感染及金葡菌食物中毒的流行病学上的研究。1952年 Williams 及 Rippon 详细的报告了英国伦敦 Colindal 中央公共卫生试验室关于金葡菌噬菌体分型工作的方法和应注意的问题^[12]。以后的几次国际微生物学会议又对使用的噬菌体类型及数目作了规定,使这一工作的方法和材料得以完善、统一和便于广泛的应用。

二、噬菌体的性质

Wilson 和 Atkinson 最早应用的噬菌体计 18 株^[10],后来不同的学者对使用的噬菌体因需要不断地有所增减、代换而有很大差别。由于金葡菌噬菌体分型是根据菌株对不同组合的噬菌体的敏感性而定,因此噬菌体的型别及数目必需予以确定,这样才便于比较结果。1953年罗马举行的国际微生物学会上决定用 19 株做为分型用的基本噬菌体,计 29, 52, 52A, 79(I 组); 3A, 3B, 3C, 55(II 组); 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 70, 73, 75, 77(III 组)及 42D(IV 组)。后来 Anderson 及 Williams 建议增加 71 及 80 两株噬菌体,计 21 株^[13]。1958 年的国际微生物学会上建议用以下 21 株^[14]: I 组: 29, 52, 52A, 79, 80; II 组: 3A, 3B, 3C, 55, 71; III 组: 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77; IV 组: 42D; 以及 81, 187; 或者有的在 III 组中增加 83A 计 22 株。但由于各地或各国的菌株型别各有特点,因此在研究金葡菌的噬菌体型别时,常常有一份“补充用的噬菌体”做为上述通用的噬菌体不能分型时补充之用。当然也有时菌株对所有这些噬菌体均不敏感,这时就必须用新的噬菌体确定这些新的菌型。

上述这些噬菌体都是直接由溶原性菌分离,或再经不同宿主培育得来,经过研究发现这些噬菌体都具有一种成组合的裂解特性,例如某一菌株对某噬菌体(如 3A)敏感,往往也对同一组合的一些其他噬菌体(如 3B, 3C, 55 或 71)敏感,因此,根据这一特性,噬菌体分为不同的裂解组,即 I, II, III, IV 组。

早在 1949 年 Rountree 即曾研究金葡菌溶原性噬菌体的血清学特性^[15]。当时曾将能裂解血浆凝固酶阳性的葡萄球菌噬菌体分为 8 个不同的血清组别。Rippon 根据噬菌体的裂解特性将葡萄球菌噬菌体分为三大类即: 1) 对凝固酶阳性菌株敏感,裂解能力有一定限制的噬菌体; 2) 对大部分凝固酶阳性菌株(有时也对部分阴性菌株)敏感

的多价噬菌体; 3) 只裂解凝固酶阴性菌株的噬菌体^[16]。常用于菌株分型的噬菌体属于第一类。根据噬菌体的血清学特性,葡萄球菌噬菌体可以分为 11 个组别,即 A, B, C, D, E, F, G, H, J, K 及 L 诸组。分型用的噬菌体属于 A, B, F, L, G 诸组,其名称列于表 1。噬菌体的血清特性对菌株噬菌体分型并没有直接关系。

表 1 金葡菌型噬菌体的裂解组及血清组

裂解组	血 清 组				
	A	B	F	L	G
I	—	29, 29A, 31A 52, 52A, 79, 80,	—	—	—
II	3A, 3B, 3C, 55	55, 71,	61, 62,	—	—
III	6, 7, 42A, 42B, 42E, 47, 47A, 47B, 47C, 54, 70, 73, 75,	42C, 53, 83A,	76, 77,	—	—
IV	—	42D(原株)	42D (变种)	—	—
杂组	57, 78, 81, 82, Ks6	31, 31B, 44, 44A, 44B, 52B, 69,	58,	187,	65, 66, 68*

* 为多价噬菌体,不用于分型。

三、噬菌体的命名

金葡菌噬菌体分型工作的早期曾试图象伤寒沙门氏菌噬菌体分型的命名方法那样,以一株或少数几株噬菌体决定一个菌株型别,例如 Williams 及 Atkinson 曾以阿拉伯数字 1, 2, 3 …… 14 等命名型别,其中或再分为 1A, 1B, 1C 等亚型^[10]。Wallmark 曾用 14 个噬菌体研究了 733 株菌,将敏感菌株分为 18 个型及亚型,并命名为 1A, 1B, 2A, 2B, 2C, 3, 4, 5A, 5B, 6, 7, 8, 9, 10, 11A, 11B, 12, 13 等型^[17]。Wohl 及 Lapeyve-Mensignal 试分为 A, B, C, D, E 等组,再分为 A1, A2, B1, B2, D1, D2, D3, D4 等^[18]。但由于后来更多的研究,发现金葡菌不同于伤寒沙门氏菌或其他菌,它的噬菌体型别非常多而且复杂,而很多菌株不只对一个,而是对一个以上噬菌体敏感,并且对噬菌体常呈现非常复杂的裂解型式。例如 Williams 及 Rippon 在 229 株对噬菌体强裂解反应的菌株中,111 个菌株对 1 个以上到 10 个噬菌体均敏感,如果以较低的裂解程度计算,结果则还要复杂,例

如以强及中等裂解反应计, 295株可以分为 132 个不同的型类^[12]。显然, 这样多而且复杂的型别很难用数字或字母来命名, 因此乃建议直接以呈强裂解反应的噬菌体的名称做为菌株型别的名称, 如菌株同时对几个噬菌体敏感, 则在一列噬菌体名称之间隔以斜线来命名。因此菌株的噬菌体型也称为菌株的噬菌体型式 (phage pattern)¹⁾。例如菌株同时被 6, 7, 47, 53 噬菌体裂解呈强反应, 则菌株的噬菌体型式为 6/7/47/53。呈强裂解反应的噬菌体之外, 如尚有呈弱反应的噬菌体时, 则在名称之后附加“+”号。在金葡菌分型的工作中, 要充分注意弱反应, 它对菌株的定型有时有很重要的意义(司稗东等, 1965)^[19], 为此我们曾建议列出弱反应的噬菌体名称, 加以括弧, 附在最后。

四、菌株的型别与其他性状

1. 菌型与菌株一般生物学性状 葡萄球菌型噬菌体与菌株的血浆凝固酶很有关系, 现在分型用的噬菌体都是对血浆凝固酶阳性菌株敏感, 而又不裂解凝固酶阴性的菌株。有人曾在几百株菌中只发现一例血浆凝固酶阴性菌株对型噬菌体敏感, 至于菌型和其他性状, 例如溶血、糖发酵等则没有特异性的联系。曾经有人认为菌株噬菌体组别与血清型有一致的关系, 后来发现并不可靠。

菌型与毒素的产生 菌型与菌株肠毒素的产生似乎有一定关系。很多报告指出, 造成食物中毒的菌株多是 III 组菌株, 例如 Allison 发现, 在 47 次暴发性金葡菌食物中毒中, 64% 是由第 III 组 (17% 是由 42D 型) 菌株所致^[20]。Williams, Rippon 及 Dowsett 研究 40 次暴发性食物中毒, 35 次是由患者及食物同时检出第 III 组菌株^[21]; 另在 41 次暴发性食物中毒中, 78% 由食物或患者检出的菌株属第 III 组。作者等曾认为在英国造成食物中毒的金葡菌是第 III 组及 42D 型菌株, 而不是第 I 或第 II 组菌株。Нефедьева 在苏联也有类似的报导, 并且再次证明第 III 组菌株能产生肠毒素^[22]。

2. 菌型与耐药性 虽然各型菌株都可对各种抗菌素发生不同程度的耐药性, 但在分型菌株中, 80/81 型类及第 III 组中耐药性菌株最高, 一些作者报导的结果综合为表 2 (Wentworth)^[23]。至于这种现象的原因, 有人认为第 III 组菌株不如其他组菌株稳定, 例如第 III 组菌株抗链霉素的突变率就高于第 I, II 组菌株 (Barbour 及 Edwards)^[24]。

3. 菌型与致病力 有些作者曾指出, 某些菌

型常造成某种感染, 例如前面提到金葡菌食物中毒常为第 III 组菌株, 并且证明这一组菌株确实有产生肠毒素的特性。此外 42D 型菌株也常为食物中毒的原因, 并且 42D 菌株又最多见于动物感染中, 如 Macdonald 由牛乳腺炎分离的 34 株菌均属 42D 型组, 150 株由牛乳分离的菌株中 123 株属 42D^[25]。Smith 也由牛乳分离的菌株中发现与 42D 及有关噬菌体敏感^[26]。此外不同作者还会报导过与一些特别的感染有关的菌型。

表 2 菌株的噬菌体组别与耐药性

噬菌体组别	青霉素*		链霉素**		四环素***	
	菌株数	耐药株%	菌株数	耐药株%	菌株数	耐药株%
I	4218	42	2055	27	1797	9
II	2549	19	1169	1	810	12
III	7917	69	4266	45	2983	48
混合组(包括IV组及未分组)	2009	46	1402	27	1519	30
特别型组(包括80/81, 71, 44B)	1240	91	453	47	374	40
不能分型	2886	35	1012	49	997	46
总计	20819		10534		8480	

* 根据 27 篇文献; ** 根据 9 篇文献;

*** 根据 9 篇文献。

有些菌株的感染流行非常广泛, 而这种菌株被称为流行性菌株, 这些菌株中 80/81 型类的菌株流行最广, 几乎遍于世界各地, 这一型菌株首先见于澳大利亚, 80 型噬菌体是由 Rountree 及 Freeman 在当地感染的暴发流行中获得的^[97], 81 型噬菌体是在加拿大获得的 (Bynoe 等)^[98]。这一型组的菌株常为手术后、产后、新生儿感染的病原。这一型类间各菌株 (如 80, 80/81, 52/52A/80, 52/52A/80/81 等型式) 常可发生菌型的溶原性转换 (lysogenic conversion) 成为形成这一型式羣各菌的特点^[29-31]。除 80/81 型类菌株外, 常见的流行菌株还有 52A/79, 7/47/53/54/75, 47/53/75/77, 75/77 及 71^[32], 在产科除 80/81 型外, 还有人报导过由 52A^[33], 52A/79^[34], 44, 47B^[10], 57^[35], 3A^[36], 71^[37] 等型别造成的产房感染暴发流行。

1) 为了和 spectrum 一词区别, 我们将 pattern 试译为“型式”, 因此某噬菌体的 lytic spectrum 就译为某噬菌体的裂解谱, 某菌的 phage pattern 则译为某菌的噬菌体型式, 而 pattern group 则译为型式羣。

五、結語

金葡菌是一种能造成多种感染性疾患和分布极为广泛的菌株,尤其耐药性菌株大量出现后,对这一菌类的研究更为重要。金葡菌噬菌体型的研究,对了解金葡菌感染流行的传染源,从而对其加以控制提供了有用的武器^[38-40],经近十多年来的研究,它已成为比较成熟的方法,并已被很多国家所采用,我国从1962年开始试用以来^[41],也在很多地区和单位初步应用,相信,必能在同金葡菌感染的斗争中发挥其作用。

参 考 文 献

- [1] Twort, F. W.: *Lancet*, 189:1241—1243, 1915.
- [2] d'Herelle, F.: *Le bactériophage: son rôle dans l'immunité*. L'Institut Pasteur, Paris 1921.
- [3] Callow, B. R.: *J. Inf. Dis.*, 30:643—650, 1922.
- [4] Burnet, F. M. and Lush, D.: *J. Path. Bact.*, 40:455—469, 1935.
- [5] Williams, S. and Timmins, C.: *Med. J. Aust.*, 2:687—689, 1938.
- [6] Fisk, R. T.: *J. Inf. Dis.*, 71:153—160, 1942.
- [7] Fisk, R. T.: *J. Inf. Dis.*, 71:161—165, 1942.
- [8] Fisk, R. T. and Mordvin, O. E.: *Amer. J. Hyg.*, 40:232—238, 1944.
- [9] McClure, W. B. and Millar, A. M.: *Canad. Med. Assoc. J.*, 55:36—39, 1946.
- [10] Wilson, G. S. and Atkinson, J. D.: *Lancet*, 248:647—648, 1945.
- [11] Craigie, J. and Yen, C. H.: *Canad. J. Public Health*, 29:448—463, 1938.
- [12] Williams, R. E. O. and Rippon, J. E.: *J. Hyg.*, 50:320—353, 1952.
- [13] Anderson, E. S. and Williams, R. E. O.: *J. Clin. Path.*, 9:94—127, 1956.
- [14] Blair, J. E. and Williams, R. E. O.: *Bull. W. H. O.*, 24:771—784, 1961.
- [15] Rountree, P. M.: *J. Gen. Microbiol.*, 3:164—173, 1949.
- [16] Rippon, J. E.: *J. Hyg.*, 54:213—226, 1956.
- [17] Wallmark, G.: *Nord. Med.*, 41:806—809, 1949.
- [18] Wahl, R. and Lapayre-Mensignac, P.: *Ann. Inst. Pasteur*, 78:765—777, 1950.
- [19] 司稷东、史建成、戈宝榛、金问涛、唐观甜、吴振国: *微生物学报*, 11:526—535, 1965。
- [20] Allison, N. P.: *Proc. Roy. Soc. Med.*, 42: 216, 1949.
- [21] Williams, R. E. O., Rippon, J. E. and Dowsett, L. M.: *Lancet*, 264:510—514, 1953.
- [22] Неведьева, Н. П.: *Ж.М.Э.Н.*, (2):35—39, 1959.
- [23] Wentworth, B. B.: *Bact. Rev.*, 27:253—272, 1963.
- [24] Barbour, R. G. and Edwards, A.: *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 31:561—565, 1953.
- [25] MacDonald, A.: *Monthly Bull. Min. Health*, 5:230—233, 1946.
- [26] Smith, H. W.: *J. Comp. Path. Ther.*, 58:179, 1948.
- [27] Rountree, P. M. and Freeman, B. M.: *Med. J. Aust.*, 2:157—161, 1955.
- [28] Bynoe, E. T., Elder, R. H. and Comtois, R. D.: *Canad. J. Microbiol.*, 2:346—358, 1956.
- [29] Rountree, P. M.: *J. Gen. Microbiol.*, 20: 620—633, 1959.
- [30] Asheshov, E. H. and Rippon, J. E.: *J. Gen. Microbiol.*, 20:634—643, 1959.
- [31] Rosenblum, E. D. and Jackson, J. L. W.: *Texas Rep. Biol. Med.*, 18:654—661, 1960.
- [32] Williams, R. E. O.: *Lancet*, 1:190—195, 1959.
- [33] Barber, M. and Burston, J.: *Lancet*, 269: 578—582, 1955.
- [34] Sherman, A. J., Porter, H. C. and Eisenberg, G. M.: *Obstet. Gynecol.* 8:81—87, 1956.
- [35] Colbeck, J. C.: *Canad. Med. Assoc. J.*, 61: 557—568, 1949.
- [36] Parker, M. T. and Kennedy, J.: *J. Hyg.*, 47: 213—219, 1949.
- [37] Barrow, G. T.: *J. Hyg.*, 53:495—508, 1955.
- [38] Smith, R. T.: *J. Dis. Child.*, 95:461, 1958.
- [39] Stenderup, A., Bach, A., Pedersen, G. T. and Resendal, K.: *Acta. Path. Microbiol. Scand.*, 45:95—106, 1959.
- [40] Mclean, S. J.: *Med. J. Aust.*, 1:53—57, 1956.
- [41] 傅正世、李湘第、司稷东: *中华医学杂志*, 49: 649—652, 1963。