

大肠杆菌新的 O 抗原组*

杨正时 辜清吾 吴彩菲
(北京药品生物制品检定所,北京)

1963—1964 年在北京、天津地区,自 44 例婴儿腹泻患者大便中分离到 344 株大肠杆菌,经过血清学研究,证明为大肠杆菌新的 O 抗原组,暂称之为“pt”O 抗原组。其 O 抗原与已知的大肠杆菌 O 抗原不同,仅与 O 114 的 O 抗原有关,它所具有的 K 抗原为 B 抗原,与已知的大肠杆菌 K₁-K₈ 的 B 抗原亦不相同,为一新的 B 抗原。经过临床及流行病学观察,证明此 O 抗原组为我国致病性大肠杆菌肠炎的重要病原之一。

建国以来,在毛主席革命卫生路线指引下,我国持续地开展全民性爱国卫生运动,预防了许多传染病的发生。解放前,婴儿死亡率高达千分之二百,其中婴儿腹泻是主要原因之一^[1]。解放后婴儿死亡率已大大降低,到 1959 年下降为千分之七十,北京城区 1963 年婴儿死亡率已下降为千分之二十二点三^[2]。由于人民生活水平的提高和儿童保健工作的加强,婴儿腹泻已由过去的到处暴发流行到目前只有散在发生。为了进一步防治这些疾病,北京、天津两市儿科科学工作者与我们协作,于 1963—1964 年对北京和天津市收治的散发性的、临床诊断为腹泻的 1205 例患儿,进行了较细致的临床观察与细菌学研究。

菌种分离

在 1205 例患儿中由 627 例分得了致病性大肠杆菌 1136 株,这些菌株经过 O、K 及 H 抗原的全面检定后,证明分别属于 13 个 O 抗原组。北京地区致病性大肠杆菌的 O 抗原分布见表 1。从常见菌型分布来看,与国内外报道大致相符^[3,4]。

应该着重指出的是,于 1963 年 5—9

月,在北京、天津地区 44 例腹泻患儿中,分离到在生化特性上基本一致的一组大肠杆菌,共计 344 株。

表 1 北京地区致病性大肠杆菌 O 抗原组的分布

O 抗原组	病例数	百分比(%)
pt	40	13.88
O20	19	6.61
O25	4	1.38
O44	8	2.77
O55	35	12.15
O86	10	3.47
O111	86	29.87
O119	5	1.74
O125	11	3.82
O126	14	4.86
O127	4	1.39
O128	44	15.28
混合	8	2.78
总计	288	100

鑑定结果

这些菌株于 24 小时内发酵葡萄糖、甘露醇(产酸产气)、乳糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖、麦芽糖、蔗糖;不发酵侧金盏花醇、肌

* 曾在 1965 年罗马尼亚微生物学年会上宣读,此次发表略作修改。
本文 1973 年 5 月 7 日收到。

醇;而对卫茅醇、山梨醇、水杨苷、棉子糖的发酵则不一致;无动力菌株 77.8% 不发酵鞣糖, 21.2% 菌株于 2—12 天内迟缓分解, 而有动力菌株一般均迅速发酵;所有菌株均不产生硫化氢, 不液化明胶, 不分解尿素, 还原硝酸盐, MR 反应阳性, VP 反应阴性, 在葡萄糖铵琼脂斜面培养基上生长, 在柠檬酸铵琼脂斜面培养基上不生长, 绝大多数菌株产生靛基质。

这些菌株不与 O26:K60(B)、O44:K74(L)、O55:K59(B)、O86:K61(B)、O111:K58(B)、O112:K66(B)、O119:K69(B)、O124:K72(B)、O125:K70(B)、O126:K71(B)、O127:K63(B)、O128:K67(B) 等 12 型常见的致病性大肠杆菌血清凝集。用大肠杆菌 O1—O144 血清检定, 仅与 O114 血清有凝集, 当时我们初步认为是 O114^[5]。但是以后发现这些菌株与 O114 血清作定量凝集试验时, 其效价高低不一, 一般在 1:1280, 还不及原血清效价的 1/4, 这种情况促使我们对这些菌株的抗原又作进一步研究。

为了分析这些菌株的 O、K 抗原性质及其与 O114 的标准菌株 26W 的关系, 挑选了 1101 号、1201 号二株无动力菌株, 各制备 OK 及 O 血清, OK 血清免疫原是 6 小时肉汤培养物, O 血清免疫原用 18 小时肉汤培养物加热 100℃、2.5 小时制成, 并同时用上法制备了 26W(来自匈牙利 Rauss 教授)的 O 血清。

1101 与 26W 二菌株的 O 血清经相互交叉吸收试验证明(表 2)。虽然 1101 与 26W 间有较高的交叉凝集, 但相互吸收后二菌株 O 抗原各具有自己的特异性。

用 1101 的 O 血清经 26W 菌吸收后所获得的特异 O 因子血清检定该组菌株时, 证明皆能被该血清凝集。为了进一步证实这些菌株间的 O 抗原是否相同, 以另一株

表 2 菌株 1101 与 26W 之间的 O 抗原关系

抗 原	O 血清 (1101)		O 血清 (26W)	
	未吸收	用 26W 吸收 (100℃)	未吸收	用 1101 吸收 (100℃)
1101 (100℃)	20480	1280	10240	0
26W (100℃)	10240	0*	20480	640

* 为 1:40 阴性, 以下各表均如此。

1201 制备 O 血清与 1101 的 O 血清进行了相互交叉吸收, 表 3 的结果证明两者 O 抗原是完全相同的。

表 3 菌株 1101 与 1201 之间的 O 抗原关系

抗 原	O 血清 (1101)		O 血清 (1201)	
	未吸收	用 1201 吸收 (100℃)	未吸收	用 1101 吸收 (100℃)
1101 (100℃)	20480	0	5120	0
1201 (100℃)	20480	0	5120	0

迄今已发现大肠杆菌共有 157 个 O 抗原组, 遗憾的是我们没有获得 O145—O157 菌种参与实验, 但是根据文献报道^[6-11], 这些 O 抗原与 O114 无抗原关系。

1101 株活菌与本菌 O 血清, 只有较低效价的凝集, 证明是具有 K 抗原的。用 1101 活菌免疫的 OK 血清 1:10 稀释与分得的 344 株菌株作玻片凝集试验时, 皆能出现强的凝集反应。1101 株的 OK 血清用本菌加热 100℃、2.5 小时菌液进行吸收, 从表 4 的结果可以看出, 其 O、K 凝集素皆能被完全吸收, 即本菌所具有的 K 抗原为 B 抗原。并经试验证明与 K₁-K₈₆ 的 B 抗

表 4 菌株 1101 的 K 抗原性质

抗 原	OK 血清 (1101)		O 血清 (1101)
	未吸收	用 1101 吸收 (100℃)	
1101 (活菌)	320	0	160
1101 (100℃)	2560	0	20480

原无关。

344 株菌中大多数没有动力, 有动力菌株之 H 抗原分别为 H2、H10、H11、H21、H24、H34。

上述结果虽说明 1101 与 26W 菌株之间有共同的 O 抗原关系, 但是 1101 与 26W 的 O 血清相互吸收后, 该两菌株都各存在特异的 O 抗原因子, 并且本菌所具有的 K 抗原为一新的 K 抗原。同时, 鉴于本菌与婴儿腹泻疾患有关, 因此有理由确定本菌是大肠杆菌一个新的 O 抗原组, 我们称之为“pt”。

致病性试验

为了进一步证实本 O 抗原组各菌株的致病性, 我们选用 7 个菌株采用家兔小肠结扎法来测定其致病性^[12], 并以致病性大肠杆菌 O111:K58(B):H- (4 株) 及普通大肠杆菌(不同 O 抗原的菌株 10 株) 作对照。注射本菌及 O111 之肠段, 肠管膨胀, 并呈现紫红色或淡红色, 浆膜水肿, 失去光泽。肠腔内有暗褐色或黄色粘液样内容物, 量较多。病理组织学观察, 结扎肠段显示急性小肠炎病变, 其病变程度轻重不同。肠壁血管、淋巴管扩张, 充血、水肿及不同程度溢血或出血, 粘膜及粘膜下层有明显的炎性细胞浸润, 有的粘膜层有较广泛的坏死, 炎性渗出物与坏死物覆盖于粘膜表面, 或者脱落致使固有膜或粘膜下层裸露, 而形成浅表溃疡。肌层、浆膜可有少量白血球浸润。有的肠段病变较轻, 仅见粘膜、粘膜下层少量炎性细胞浸润, 小肠粘膜上皮退行性变, 并有轻度脱落、坏死。注射普通大肠杆菌之肠段, 无明显病理变化(图 1—3)。

更重要的是, 目前已证明在我国某些地区分离到本菌, 在婴幼儿致病性大肠杆菌肠炎病例中的分离率一般占 10%, 并且在急性期患儿粪便中, 本菌呈同一血清型的纯菌培养物。同时在患儿入院后 5—10 天采血与分离菌株进行间接血凝试验, 证明患儿血清中是有抗体存在, 20 例中 16 例阳性, 其血凝效价一般在 1:320, 说明本菌在婴儿腹泻疾患中是有病原学意义的。

参 考 资 料

- [1] 诸福棠: 新中国儿童保健事业的成就, 庆祝建国十周年医学科学成就论文集, 下册, 373—383 页, 人民卫生出版社, 1959。
- [2] 诸福棠: 中华儿科杂志, **13** (5): 339—344, 1964。
- [3] 李家宜: 中华儿科杂志, **10** (6): 460—464, 1959。
- [4] Ewing, W. H. Davis, B. R. and Montague T. S.: Studies on the Occurrence of Escherichia Coli Serotype associated with diarrheal disease. CDC Publication, Communicable Disease Center, Atlanta, Ga. 1963.
- [5] 杨正时, 辜清香等: 中华儿科杂志, **14** (2): 96—99, 1965。
- [6] Ewing, W. H. Davis, B. R.: O antiserum pools for preliminary examination of Escherichia Coli Cultures, CDC Publication, Communicable Disease Center, Atlanta, Ga. 1961.
- [7] Carpenter, K. P.: *Intl. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **13** (2): 69—93, 1963.
- [8] orskov, I., orskov, F., Sojka, W. I. & Wittig, W.: *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **62**: 439—447, 1964.
- [9] orskov, F., orskov, I. & Furowicz, A. J.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Section B*, **80**: 435—440, 1972.
- [10] Furowicz, A. J. & orskov, F.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Section B*, **80**: 441—444, 1972.
- [11] orskov, I., orskov, F. & Rowe, B.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Section B*, **81**: 59—64, 1973.
- [12] Hitoshi, S.: *J. Japan. Assoc. Inf. Dis.*, **33** (7): 661—682, 1959.



图1 感染大肠杆菌 pt O 抗原组 1101 株之肠段。显示小肠粘膜层充血,明显炎性浸润,有炎性渗出物和坏死物覆盖于粘膜表面,粘膜下层水肿,淋巴窦扩张,淋巴液贮留 (H、E×100)

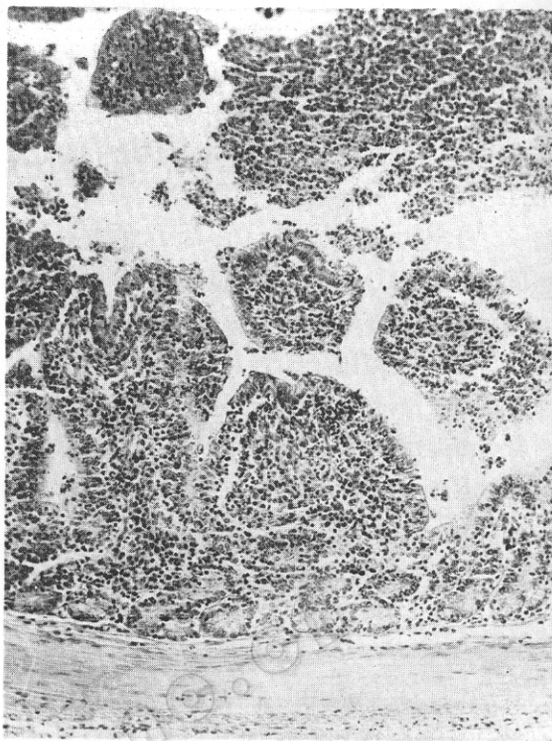


图2 感染大肠杆菌 O111:K58(B):H- 之肠段,小肠粘膜层有大量炎性细胞浸润,粘膜上皮坏死、剥脱,粘膜表面有较多炎性渗出物和坏死物覆盖,粘膜下层水肿,淋巴窦扩张 (H、E×100)

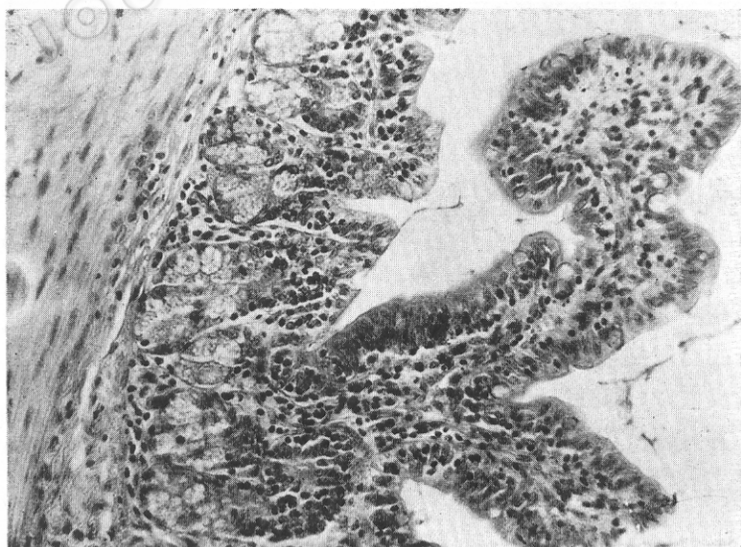


图3 感染大肠杆菌 O104:·:H3 之肠段,无明显病理变化 (E. H×200)

A NEW O ANTIGEN GROUP OF ENTEROPATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI*

YANG CHENG-SHIH, KU CHING-WU AND WU TSAI-FEI

(National Institute for the Control of Drugs and Biological Products, Peking)

During an endemic in May-September of 1963 in Peking-Tientsin area, 344 strains of *E. coli* were isolated from 44 cases of infantile diarrhea.

These 344 strains produce similar biochemical reactions conforming to the species. Among the non-motile strains, 77.8% do not ferment trehalose, 21.2% exhibit a late fermentation within 2—12 days, while the motile strains usually show a rapid fermentation.

Serologically, these 344 strains do not agglutinate with the immune sera of the commonly known enteropathogenic *E. Coli*. When these strains are tested with O1—O144 immune sera of *E. Coli*, positive agglutination reactions occur only with O114 serum. In order to make a more accurate serological analysis of these strains and to study their relationship to the standard strain, O114, two non-motile strains (1101, 1201) are selected to prepare OK and O immune sera. Although obvious cross-agglutination occurs between 1101 and O114, the O antigens of the two strains are not identical after cross-

absorption, when their specific O antigens are revealed. By absorption of OK serum 1101 with homologous cultures heated at 100°C for 2.5 hrs., it is found that agglutinins both for the living and boiled homologous cultures are removed. Therefore the K antigen of this strain is of the B antigen-type, which is proved to be different from the B antigens of the standard strains K₁—K₈₆.

The majority of these 344 strains are non-motile, and H antigens of some of the motile strains are shown to be H2, H10, H11, H21, H24 and H34.

The above results indicate that there is a close relationship in O antigens between strains 1101 and O114, but they do possess their own specificity. The K antigen of the strain 1101 is a new K antigen which is different from that of O114. Moreover, as the etiologically these 344 strains is closely associated with infantile diarrhea, it seems reasonable to conclude that these 344 strains belong to a new O antigen group of entero pathogenic *E. Coli*, which is designated as pt.