

## 痢疾杆菌 B<sub>1</sub> 亚型之间的交叉保护性试验

王秉瑞 沈玉霖 陈庆森\*

(卫生部兰州生物制品研究所, 兰州)

对 *E. coli* K12 HfrC 株与福氏志贺氏菌 1a-1、1b-03 株杂交所得的 HF1a-1、HF1b-03 弱毒株, 进行了豚鼠角膜和猴的交叉保护性试验。结果表明, 福氏志贺氏痢疾杆菌亚型之间是有交叉保护作用的。从而为研制痢疾菌苗选用生产用菌株的范围, 以及了解痢疾杆菌福氏志贺氏菌群之间的抗原关系提供了新的依据。

**关键词** 痢疾杆菌

福氏志贺氏痢疾杆菌亚型之间有无交叉保护作用, 对了解痢疾杆菌的本质和研制痢疾菌苗均有重要意义, 为此我们进行了痢疾杆菌 B<sub>1</sub> 亚型之间的交叉保护性试验。所用菌株系本实验室用 *E. coli* K12 HfrC 株与痢疾杆菌杂交所得的福氏志贺氏 I 型菌中的福氏 1a 和福氏 1b 杂交株, 因它是弱毒株, 较适于免疫。试验主要以恒河猴进行, 现将结果报告如下。

### 材料与方 法

#### (一) 菌株来源及特性 (见表 1)

#### (二) 培养基

采用厚金格尔斜面培养基, 试验菌株均于 37℃ 培养 16—18 小时, 以无菌生理盐水制备菌悬液。

#### (三) 菌株生化特性 (见表 2)

#### (四) 豚鼠角膜免疫力试验

1. 免疫接种: 选用 250—300g 的白毛红眼豚鼠, 分组, 采用每日一次, 连续 14 次角膜接种, 每次剂量 20 亿活菌, 用微量进样器滴入眼结膜囊内。此法系用 Meitert 等的方法<sup>[1]</sup>。

2. 感染剂量的测定: 以不同剂量的菌感染健康豚鼠角膜, 观察 7 天, 记录结果。以引起约 80% 豚鼠角膜发炎病变的剂量作为该菌株的感染量 (以下称 80% 感染量)。因为在豚鼠眼中建立的局部免疫力往往较弱, 不能经受大剂量感染, 所以采用 80% 感染量。

3. 感染: 于末次免疫后 10 天, 免疫组与对照

组均用同一菌株 80% 感染量感染, 观察 7 天, 记录结果。

#### (五) 猴免疫力试验

1. 选用体重为 5—6kg 的健康恒河猴, 免疫前采用 SS 和 EMB 琼脂平板按常规肠道致病菌检验程序, 对粪便进行分离, 检查是否带菌。

2. 接种: 采用插入胃管法空腹灌入菌苗。服活菌苗前 5 分钟, 每只猴灌入 10% 碳酸氢钠溶液 6—8ml (下同)。

HF1a-1 菌株接种组, 每只猴第一次服 155.4 亿活菌, 第二次服 360 亿活菌, 第三次服 626 亿活菌。

HF1b-03 菌株接种组, 每只猴第一次服 218 亿活菌, 第二次服 333 亿活菌, 第三次服 600 亿活菌。

每次用的菌苗均作活菌计数。每次服菌苗间隔 3 天。服菌苗后按肠道菌常规检查法连续作排出菌检查, 直至连续三次结果均为阴性为止。

3. 感染: 接种活菌的猴于末次服菌苗后 14 天进行感染, 感染剂量与对照组相同。F1b-03 菌株感染剂量为 504 亿活菌, F1b-8108 菌株为 179 亿活菌, F1a-8107 菌株为 233 亿活菌。观察 14 天, 记录结果。

### 结 果

#### (一) 豚鼠角膜免疫力试验

1. 80% 感染剂量的测定: F1b-03 菌株

本文于 1982 年 6 月 21 日收到。

\* 兰州大学生物系 1977 届毕业生, 现在天津商学院。

表1 试验菌株来源、抗原结构及用途  
Table 1 Sources, antigenic structure and uses of strains

菌 株 Strain	来 源 Source	抗原结构 Antigenic structure	用 途 Use
Fla-1	甘肃武威现场分离 Isolated from the field trial at Wuwei, Gansu Province	1:3.4	用于受体 receptor
Flb-03	卫生部药品生物制品检定所 National Control Institute of Drug and Biological Products, Ministry of Health	1:3.4, 6	受体感染用 receptor and for infection
<i>E. coli</i> K12 Htrc	复旦大学遗传研究所 Genetics Institute of Fudan University		用作供体 donor
HFla-1	本实验室杂交选育所得 Selected from our laboratory	1:3.4	免 疫 用 for immunization
Y变种2103	卫生部药品生物制品检定所 National Control Institute of Drug and Biological Products, Ministry of Health	-:3.4	感 染 用 for infection
Fla-8107	甘肃省卫生防疫站 Antiepidemic Station of Gansu Province	1:3.4	感 染 用 for infection
Flb-8108	甘肃省卫生防疫站 Antiepidemic Station of Gansu Province	1:3.4, 6	感 染 用 for infection
Hflb-03	本实验室杂交选育所得 Selected from our laboratory	1:3.4, 6	免 疫 用 for immunization

注: 表内“菌株”项下, “F”表示福氏志贺氏菌, “H”表示杂交, Fla 为福氏志贺氏菌 la 型, 阿拉伯字为菌号, 其它类同。  
“F” represents *Shigella flexneri*, “H” represents hybridization, “Fla” represents *Shigella flexneri* la, the arabic numerals represent strain's symbol.

表 2 试验菌株生化特性  
Table 2 Biochemical properties of test strains

菌株 strain	试验 项目 test item	葡萄糖 glucose	乳糖 lactose	麦芽糖 maltose	甘露醇 mannitol	蔗糖 sucrose	卫矛醇 dulcitol	水杨素 salicin	山梨醇 sorbitol	阿拉伯 胶糖 arabinose	假李糖 rhamno- se	木糖 xylose	肌醇 inositol	靛基质 indol	半固体 (动力) semiso- lid
Fla-1		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flb-03		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> K 12 HfrC		⊕	+	+	⊕	-	-	+	+	⊕	+	+	-	+	+
HFla-1		+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Y 变种2103		+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Fla-8107		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flb-8108		+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HFlb-03		+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

注：+：阳性；-：阴性；⊕：产酸产气。  
+： positive； -： negative； ⊕： acid and gas producing.

表 3 豚鼠眼角膜结膜交叉保护性试验结果  
Table 3 Results of guinea-pig eye protection test

项 目 组 别 group	免疫菌株 strain for immunization	感染菌株 strain for infection exp.	感染剂量 infective dose ( $1\times 10^5$ )		豚鼠数(只) number of guinea-pigs	发病率(%) morbidity	P 值 P value
			总菌 total	活菌 viable			
免疫组 immuned group	HF1a-1	Flb-03	5	0.71	10	20.0	$<0.01$
免疫组 immuned group	HF1b-03	Flb-03	5	0.71	11	18.1	$<0.01$
对照组 control group		Flb-03	5	0.71	10	70.0	
免疫组 immuned group	HF1a-1	Y变种2103	1.5	0.31	11	72.7	$>0.2$
免疫组 immuned group	HF-b-03	Y变种2103	1.5	0.31	11	100.0	0
对照组 control group		Y变种2103	1.5	0.31	10	90.0	

表 4 猴子交叉保护性试验结果  
Table 4 Results of cross protection in monkey

组 别 group	免 疫 菌 株 for immunization	猴子数(只) number of monkeys	感染菌 strain for infection		排便天数 days of excretion of test strain	发病数(只) number of deceased monkeys	发病率(%) incidence of illness (%)
			菌株 strain	剂量(活菌) dose (viables) ( $1\times 10^4$ )			
第一组 first group	HF1a-1	2	Flb-03	504		0	0
	HF1b-03	2	Flb-03	504	2-8	0	0
	对照(未免疫) control(non-immune)	2	Flb-03	504		1	50
第二组 second group	HF1a-1	3	Flb-8108	179		3	100
	HF1b-03	2	Flb-8108	179	7-11	0	0
	对照(未免疫) control(non-immune)	3	Flb-8108	179		2	66.7
第三组 third group	HF1a-1	2	Fla-8107	223		0	0
	HF1b-03	3	Fla-8107	223	5-9	1	33.3
	对照(未免疫) control(non-immune)	3	Fla-8107	223		2	66.7

总菌数为 5 亿, Flb-8108 菌株总菌数为 0.5 亿, Y 变种 2103 总菌数为 1.5 亿。Flb-8108 菌株之毒力较 Flb-03 菌株约强 10 倍。

2. 豚鼠角膜结膜免疫力试验: 由表 3 结果可以看出, HFla-1 杂交株对 Flb-03 菌株的感染有较好的保护作用, 接种组与对照组均呈显著性差异。表明痢疾杆菌亚型之间有交叉免疫力。而 HFla-1、HF1b-03 菌株对 Y 变种 2103 菌株的感染则无保护作用。

## (二) 猴免疫力试验

服菌苗后, 所有猴精神状态、大便性状等均正常。菌株一般排出 2—3 天, 未检出返祖菌株及其它菌型的痢疾杆菌。

免疫组的 14 只猴, 于末次服苗后 14 天进行感染, 免疫组与对照组均用同一剂量感染。观察 14 天, 结果见表 4。

表 4 结果表明: 经 HFla-1、HF1b-03 菌株免疫的猴, 对毒力不十分强的 Flb-03 菌株感染均有较良好的保护作用。而用毒力较强的 Flb-8108 菌株感染时, HFla-1 免疫组则无保护作用, HF1b-03 菌株免疫组仍有较良好的保护作用。此结果初步说明, 痢疾杆菌亚型之间具有一定的交叉保护作用, 这种保护作用在异亚型菌株间较同亚型菌株间弱。所以 HFla-1 菌株免疫组对毒力较强的 Flb-8108 菌株感染无保护作用。在测定豚鼠角膜结膜 80% 的感染量时已知 Flb-8108 菌株为 0.5 亿, Flb-03 菌株为 5 亿, 前者的毒力较后者约强 10 倍。经 HFla-1、HF1b-03 菌株免疫的猴对 Fla-8107 菌株感染的结果, 也证明福氏志贺氏 I 型菌亚型之间有交叉保护作用。

## 讨 论

我们曾用失去型特异抗原的福氏志贺氏 2a 菌与大肠杆菌的杂交株进行研究, 观察了型抗原在免疫中所起的作用<sup>[2]</sup>。本试

验系以杂交法选育福氏志贺氏菌 1a (HFla-1) 及 1b (HF1b-03) 弱毒株作为免疫原, 观察福氏志贺氏 I 型菌的亚型之间有无交叉保护作用。试验结果证明, 福氏 I 型菌的亚型之间是有交叉保护作用的, 从而为研制痢疾菌苗时选用生产菌株的范围, 以及了解痢疾杆菌福氏菌群之间的抗原关系提供了新的依据。并进一步表明, 杂交技术既可用于基础理论的研究, 也可以用来作实际应用的研究, 是一种比较简而易行的方法。

值得注意的是, 在豚鼠角膜免疫力试验中, 以福氏志贺氏 I 型 (1a 及 1b) 菌免疫的豚鼠眼, 不能保护 Y 变种 2103 菌种的感染。这与我们以前的福氏志贺氏 2a 杂交株免疫豚鼠眼能保护 Y 变种 2103 菌株的感染的结果不同。根据用杂交法以福氏志贺氏 2a 菌与大肠杆菌 HfrC 杂交所得的失去 II 型抗原的 Y 变种 (HF2a-1 株) 免疫豚鼠眼, 以及自然感染 Y 变种的猴康复后能保护福氏 2a 菌的感染这一事实, 我们曾推论 Y 变种可能是由福氏志贺氏 2a 菌变异而来, 是同源菌株。本试验结果表明, 福氏志贺氏 1a 菌 (抗原式 I:3.4) 不能保护 Y 变种的感染, 这又提供了这一方面的论据。即 Y 变种 2103 菌株与所用几株福氏 I 型菌在其发生学上不如与福氏 2a 的关系密切。当然这还有待于进一步试验证明。Simmons<sup>[3]</sup>曾经把福氏志贺氏菌群中的各菌株, 根据其化学结构分为两类。以 Y 变种的结构为基础的称为 Y1 类, 包括福氏 1a、2a、5a 和 Y 变种; 另一类是以 X 变种的结构为基础的称为 Y2 类, 包括 3a、4a、5b 和 X 变种。这个分类法能否与有关各菌的生物学特性相吻合, 还需进一步研究。

猴免疫力试验中, 第一组猴数目虽少, 但结合第二、三两组的情况, 以及豚鼠角膜结膜免疫试验结果比较一致来看, 所得结果是可靠的。试验还表明 HFla-1、HF1b-03

这两株弱毒株性能安全,免疫原性较好。

### 参 考 文 献

[1] Meitert, T. et al.: *Acta Microbiol. Acad. Sci.*

*Hung*, 21: 103—107, 1974.

[2] 王秉瑞、江丽君: 中华微生物学和免疫学杂志, 1(3): 191—195, 1981。

[3] Simmons, D.: *Bacteriol. Rev.*, 35: 117—148, 1971.

## CROSS-PROTECTION TEST BETWEEN *SHIGELLA FLEXNERI* GROUP SUBTYPES 1

Wang Bingrui Shen Yulin Chen Chingshen

(Lanzhou Institute of Biologicals, Ministry of Health, Lanzhou)

Whether there existed cross immunity between the subtypes of *Shigella flexneri* group is still unknown. We tested this problem by guinea-pigs eye and cross-protection test in monkey using two relatively avirulent hybrid strains named HFla-1 and HF1b-03 which had been obtained by conjugation of *Shigella flexneri* 1a and 1b with *E. coli* K12 HfrC strain. Both hybrids retained their original serological characters. The results showed that the animals immunized with HFla-1 stain protected against the challenge with

virulent *Shigella flexneri* 1b strain, and the same was found to be true when tested with HF1b-03 as immunogen and was later challenged with virulent *Shigella flexneri* 1a strain. These data offered a possible screening range for selecting strains for vaccine production when needed, and served clarifying the relationships between certain subtypes of *Shigella flexneri* group.

### Key word

*Shigella flexneri*