

12株小肠结肠炎耶尔森氏菌再生菌特性的研究

潘亮 于恩庶

(福建省流行病研究所, 福州)

有些细菌经其特异噬菌体裂解时可产生抗噬菌体基因型的细菌, 这种抗噬菌体并能繁殖传代的细菌称为再生菌 (Reproductive bacteria)。本文报道12株小肠结肠炎耶尔森氏菌 (*Yersinia enterocolitica*) 再生菌特性的研究结果。

材料和方法

(一) 试验菌株

1. 小肠结肠炎耶尔森氏菌 82株。其中自动物(猪、鼠、鸡)和病人粪便标本分离33株; 参考株(52301)1株由卫生部药品生物制品检定所供给, 该参考株可被同源噬菌体裂解, 为非溶原性菌株, 用抗噬菌体血清中和菌体表面相应受体后分离单菌落传代, 作为本试验噬菌体的增殖菌和测定再生菌释放前噬菌体的指示菌。以上菌株均为生物型3型, 血清O:3型, 或者都含有O:3抗原因子。另有48株参考株系江西省科学院微生物研究所引进的48个血清型参考株。

2. 2株鼠疫耶尔森氏菌“EV”和“Ottom”由本实验室保存。

3. 假结核耶尔森氏菌 I、II、III、IV型参考株共4株由卫生部药品生物制品检定所供给。

4. 福氏志贺氏痢疾杆菌、沙门氏菌属细菌和大肠杆菌等均由本实验室保存。

(二) 噬菌体

小肠结肠炎耶尔森氏菌噬菌体“56X”1株系从一次暴发流行小肠结肠炎耶尔森氏菌病猪群的粪便中分离的, 该噬菌体在37℃仅能裂解O:3和O:5型小肠结肠炎耶尔森氏菌, 对两型菌株的裂解效价分别为 10^{-8} 和 10^{-5} RTD, 对其它型小肠结肠炎耶尔森氏菌、鼠疫耶尔森氏菌、假结核耶尔森氏菌、福氏志贺氏痢疾杆菌、沙门氏菌属细菌和大肠杆菌等均不裂解。使用前对噬菌体进行了无菌试验, 证实无杂菌。

(三) 小肠结肠炎耶尔森氏菌抗噬菌体血清

由本实验室按常规方法以噬菌体 (10^{-5} RTD液) 免疫家兔制备, 所使用的抗噬菌体血清中和效价为1:1280。

(四) 培养基

牛肉汤 (pH7.2) 琼脂平板、牛肉汤增殖液、SS琼脂平板和改良的PBS增菌液等^[1]。

(五) 再生菌的分离与鉴定

将小肠结肠炎耶尔森氏菌新鲜培养物涂于牛肉汤琼脂平板上, 通过6号注射针头滴上噬菌体 (“56X”) 10^{-5} RTD液, 37℃培养过夜, 次日观察噬菌体抑菌区中生长的菌落, 挑取抗噬菌体的菌落在SS琼脂平板上分离单菌落多次后进行鉴定; (1) 抗原性; (2) 生化性状; (3) 对同源噬菌体免疫性和释放前噬菌体的能力; (4) VW抗原和质粒DNA的检测^[2]。

(六) 诱导再生菌释放前噬菌体试验

分离的再生菌经多次分离单菌落后, 以1:50抗噬菌体血清中和菌体表面相应受体, 再分离单菌落, 接种于pH7.2改良的PBS增菌液内, 22℃培养2天, 取4.5ml增菌液注于6cm平皿内, 去皿盖, 在垂直距离45cm处以220V, 40W紫外灯照射1分钟, 照射后即以牛肉汤作10倍稀释, 置37℃过夜, 次日以1/10容量的氯仿处理1小时, 以3,000转/分离心10分钟, 取上清液作噬菌试验。以“52301”(O:3)参考株作指示菌, 出现抑菌区或噬菌斑者经增殖2代(分离单个噬菌斑增殖法)后进行鉴定, 判定有无噬菌体释放。

结果与讨论

(一) 小肠结肠炎耶尔森氏菌再生菌的分离和抗原性检查

以小肠结肠炎耶尔森氏菌噬菌体 (“56X”) 裂解32株O:3型菌, 在各株的抑菌区内检查抗噬

本文于1984年1月3日收到。

菌体裂解的再生菌产生情况,结果获得 12 株再生菌,频率为 37.50%。12 株再生菌不与小肠结肠炎耶尔森氏菌 1—48 型免疫血清产生凝集反应,表明这些菌株菌体表面的特异性脂多糖 O 抗原都已丧失。

(二) 生化性状

12 株再生菌中有 9 株的生化性状与原菌株一致,包括葡萄糖、蔗糖、纤维二糖、乳糖、5% 乳糖发酵、尿素酶分解均为阳性;乳糖、木胶糖、鼠李糖、阿拉伯糖、七叶苷发酵、胨基质产生、硝酸盐还原、柠檬酸钠利用均为阴性。另外 3 株的生化性状与原株不同,可发酵鼠李糖、蔗糖,不发酵蜜二糖。根据 Brenner 等分类法^[2-4],这 3 株再生菌应属于类耶尔森氏菌的费氏耶尔森氏菌 (*Yersinia frederiksenii*)。

(三) 对同源噬菌体的免疫性和释放前噬菌体的结果

12 株再生菌均不被同源噬菌体裂解,以紫外线照射后都能释放前噬菌体,释放的噬菌体与同源噬菌体(56X)的性状一致,37℃仅裂解 O:3 型和 O:5 型小肠结肠炎耶尔森氏菌,对其它型小肠结肠炎耶尔森氏菌、鼠疫耶尔森氏菌、假结核耶尔森氏菌和其它肠道细菌均不裂解,并可被同源噬菌体的抗噬菌体血清所中和。

(四) VW 抗原和质粒 DNA 检测

12 株再生菌均不含 VW⁺ 菌体,在 39.5—45.0MW 之间未见质粒带,其原株均含 VW⁺ 菌体,亦可检测到质粒带。再生菌的性状改变可能与此有关。

很多学者曾经研究过细菌经噬菌体作用后遗传性状发生改变的现象,现在认为由于二者染色体之间实现交换使细菌基因型改变^[7-12]。

12 株小肠结肠炎耶尔森氏菌经其特异性噬菌体感染后,产生小肠结肠炎耶尔森氏菌再生菌,这些再生菌均为溶原性细菌,经紫外线诱导可以释放前噬菌体,同时丧失原菌体表面的特异性脂多糖 O 抗原,特别其中有 3 株变异株为以前称为类耶尔森氏菌的费氏耶尔森氏菌。

由于小肠结肠炎耶尔森氏菌是国内近年新发现的重要致病菌,该菌被噬菌体溶原化的频率有时很高,受噬菌体作用导致菌株特性改变或发生变异等的因素在分离、鉴定及研究工作中不应忽视。

参 考 文 献

- [1] 耿贯一主编:《流行病学·续篇》,人民卫生出版社,北京,第369页,1984。
- [2] 陈贻镛等:中华微生物和免疫学杂志,4(1):39,1984。
- [3] Brenner, D. et al.: *Current Microbiol.*, 4: 195—200, 1980.
- [4] Kapperud, G.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B.*, 88: 287—291, 1980.
- [5] Kapperud, G.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B.*, 89: 29—35, 1981.
- [6] Kapperud, G.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B.*, 90: 185—190, 1982.
- [7] Jacob, F. et al.: *The Viruses (II)*, Academic Press, New York, 319, 1959.
- [8] Bertani, G.: *Adv. in Virus Res.*, 5: 179—183, 1958.
- [9] Iseki, S. et al.: *Proc. Jap. Acad.*, 35: 407, 1959.
- [10] Jessen, O. et al.: *Acta Path. Microbiol. Scand.*, Sect. B., 58: 86, 1963.
- [11] 司碑东等:微生物学报,23(3):274,1983。
- [12] Watson, J. D.:《基因的分生物学》,科学出版社,北京,第111—126,1982。