

F 群弧菌的 O 抗原群*

杨正时 于 泉 陈慧珠

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

李乐民 权太淑 周广恕

(江苏省徐州市卫生防疫站, 徐州)

F 群弧菌 (F Group *Vibrio*) 也称为 EF-6 弧菌 (EF-6 Group *Vibrio*) 或河弧菌 (*Vibrio fluvialis*)。自 1977 年国际上首次报告以来^[1], 已有报告^[2-3]认为该菌是腹泻的病原菌。1984 年徐州市卫生防疫站在国内首先报道该菌引起暴发性腹泻^[4]。后来在其它地区也陆续发现。本文报道国内菌株血清学分型结果, 试图建立 F 群弧菌的 O 抗原表解, 便于开展该菌的病原学诊断, 致病性和流行病学研究。

材 料 与 方 法

(一) 菌株

1. 来源: F 群弧菌是从江苏省徐州地区腹泻患者的粪便中分离得到, 共计 49 株。

2. 检定: 试验菌株均为革兰氏阴性的弧菌, 在 TCBS 平板上呈黄色菌落, 氧化酶试验阳性, 与 O1 群霍乱弧菌血清不发生凝集, 在不含氯化钠的蛋白胨水中不生长, 在含 3.5% 或 7% 氯化钠的蛋白胨水中生长良好, 赖氨酸脱羧酶试验阴性, 精氨酸双水解酶阳性, 发酵蔗糖, 不发酵水杨素, 还原硝酸盐, V-P 试验阴性。

(二) 免疫血清制备

1. 免疫原肉汤: 蛋白胨 10g, 酵母粉 (Oxoid) 5g, NaCl 30g, 蒸馏水 1,000ml, 加热溶化, 调整 pH 到 7.8, 分装三角瓶, 每瓶 50ml, 15 磅 15 分钟灭菌。

2. 免疫原制备: 从含盐斜面上刮取少量新鲜生长物, 接种上述肉汤, 37℃ 水浴往复振荡, 每分钟 180 次, 培养 20 小时, 100℃ 水浴 2 小时, 待冷却后, 用无菌生理盐水稀释菌液, 使成 50 亿/ml 的浓度, 加入甲醛, 使其最终浓度为 0.3%, 分装入菌苗瓶备用。菌体大量沉淀的粗糙菌株, 不宜用作免疫原。个别菌株肉汤培养物 15 磅 2 小时处理。

3. 免疫: 青紫蓝家兔, 体重 2—2.5kg, 耳缘静脉免疫 5 次, 每次间隔 4—5 天, 其剂量分别为: 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0ml, 最后一次免疫后 7 天放血, 血清 56℃ 水浴 30 分钟灭活, 加入叠氮钠, 使其最终浓度为 0.1%。

(三) 血清型代表株的筛选

任选 23 株菌, 分二批免疫家兔。每株菌免疫家兔一只, 每一菌株制备的免疫血清用各个菌株的加热抗原作交叉试管凝集试验, 本菌效价应在 1:1280 以上, 交叉凝集试验效价达到本菌效价 1/2 以上的被认为同一血清型, 在同一血清型菌株中, 选择一株为加热处理抗原 (O 抗原) 的国内暂定标准株。

结 果

23 份免疫血清与 49 株菌进行交叉凝集试验, 可获得 8 个代表性的独立的 O 抗原群 (表 1)。一些血清在稀释 40 倍时与有些菌株的加热抗原发生不同程度的类似凝集现象。但经摇振后, 很难观察到颗粒状, 这可能是由于一些菌株带有粗糙抗原成份所致。仅有个别菌株之间存在较高的交叉凝集效价。

除二株粗糙自凝不能分型外, 其余 47 株在 8 个 O 群中以 O₂ 和 O₃ 菌株数最多, O₂、O₃ 和 O₄ 三群共占 74.4%。

讨 论

细菌的血清学分型是医学病原菌研究的重要手段。Kudoh^[7] 首先报道了 F 群弧菌的血清学分型。用 12 个 O 群血清检定从人、外环境和食物中分离的 116 株菌, 56 株能被定型。本文报道 47

本文于 1985 年 5 月 31 日收到。

* 钟熙、马东光和王晓新同志参加部分技术工作。

表 1 F 群弧菌的 O 抗原群与菌株的 O 抗原分布

抗 原 (菌株号)	血清型 编号	免 疫 血 清 凝 集 效 价								菌株数 (%)
		FVO ₁	FVO ₂	FVO ₃	FVO ₄	FVO ₅	FVO ₆	FVO ₇	FVO ₈	
FV84-1	FVO ₁	5120	—	—	—	—	—	—	—	4 (8.5)
FV84-10	FVO ₂	—	1280	—	—	—	—	—	—	13 (27.6)
FV84-14	FVO ₃	—	—	5120	—	—	—	—	—	7 (14.9)
FV84-16	FVO ₄ *	—	—	—	1280	—	—	—	—	1 (2.1)
FV84-20	FVO ₅	—	—	—	—	5120	—	—	—	1 (2.1)
FV84-37**	FVO ₆	—	—	—	—	—	1280	—	—	3 (6.4)
FV84-38	FVO ₇	—	—	—	—	—	—	5120	—	3 (6.4)
FV84-40	FVO ₈	320	—	—	—	—	—	—	5120	15 (31.9)

* FVO₄ 免疫原系 121℃ 2 小时处理。

** FV84-37 凝集原系 121℃ 2 小时处理。

株属于 8 个 O 抗原群。可以估计,今后随着检定菌株数量的增加和菌株来源的扩大, F 群弧菌的 O 抗原群也将会不断扩增。

Kudoh 采用 121℃ 1 小时的抗原。我们比较了二种抗原处理方法。一般来说,采用加热 100℃ 2 小时和 121℃ 2 小时的抗原,二者所获得的免疫血清的效果基本一致,但 121℃ 处理的交叉凝集反应稍多,凝集效价终点不易判断。

F 群弧菌也象肠道细菌一样,存在着 O 不凝集现象,说明具有表面 K 抗原。大多数菌株在加热 100℃ 2 小时后, O 不凝集现象消失,而少数菌株只有在 121℃ 处理后才能与 O 血清发生凝集(如文中的 FV84-16 和 FV84-37 株),说明这部分菌株的表面抗原是不同的。因此,估计 F 群弧菌至少存在着二种不同类型的表面抗原(K 抗原)。这在今后是需要加以研究的。

O 抗原表解的初步建立,将会给 F 群弧菌的血清学鉴定创造分型条件,为临床细菌学诊断提供方便。由于这次收集菌株地区较为局限,来源

较为单一(腹泻病人),菌株数不多,因此扩大菌种检索范围进行流行病学调查,将有助于丰富 O 抗原表解,也将有助于判断和分析血清型与致病性的关系。

参 考 文 献

- [1] Furniss, A. L. et al.: *Lancet*, 11: 565—566, 1977.
- [2] Huq, M. I. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 11: 621—624, 1980.
- [3] WHO Scientific Working Group: *WHO Bull.*, 58: 353—374, 1980.
- [4] Blake, P. A. et al.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 34: 341—367, 1980.
- [5] Lee, J. V. et al.: *J. Appl. Bact.*, 50: 73—94, 1981.
- [6] 权太淑等: *微生物学通报*, 6: 262—267, 1984.
- [7] Kudoh, Y. et al.: In S. Kuwakara, N. F. Pierce Advance in Research on Cholera and Related Diarrheas, pp. 75—86, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, 1983.