

四株大肠埃希氏菌国际参考菌株动力和鞭毛抗原检定的研究

杨正时 王晓新

(中国药品生物制品检定所, 北京)

作者检定了丹麦世界卫生组织大肠埃希氏菌和克雷伯氏菌研究中心的四株大肠埃希氏菌菌株,其结果不同于原来的记录和文献记载。菌株 H311b 和 H5 有动力,其 H 抗原分别为 H11 和 H27; 菌株 W27 是无动力株; 菌株 H511 的 H 抗原是 H40, 而不是原记载的 H8。这四株菌株的抗原式分别为 26:60:11(H311b 株), 81:97:27(H5 株), 115:—:—(W27 株), 102:—:40(H511 株)。

关键词 大肠埃希氏菌; 动力; H 抗原

大肠埃希氏菌具有三种主要的抗原: O、K 和 H 抗原。目前所有抗原试验菌株的菌名目录上包含有 O 抗原 170 个, K 抗原 103 个, H 抗原 56 个^[1,2]。这些抗原均由位于丹麦的世界卫生组织大肠埃希氏菌和克雷伯氏菌研究中心所标定。我们检定了系列试验菌株,发现有四株的 H 抗原不同于原有记录与文献记载。本文报告对这

些菌株的动力与鞭毛抗原检定的研究结果。

材料与方 法

(一) 大肠埃希氏菌菌株

四株试验菌株与五株其它参考菌株(表 1)系 1979 年 F. Ørskov 与 I. Ørskov 博士惠赠。

(二) 动力的检定

表 1 大肠杆菌概况
Table 1 General condition of *E. coli*

菌株名 Strain name	中国编号 Strain No. in China	来源 Source	抗原式(原载) Antigen formula (Originally)
H311b	44626	丹麦 Denmark	26:60:—
H5	44677	丹麦 Denmark	81:97:—
H511	44697	丹麦 Denmark	102:—:8
W27	44711	丹麦 Denmark	115:—:18
Ap320c	44767	丹麦 Denmark	2:?:8
E5d	44672	丹麦 Denmark	76:—:8
H501d	44693	丹麦 Denmark	98:—:8
H515b	44698	丹麦 Denmark	103:—:8
H520b	44700	丹麦 Denmark	105:—:8

将每一株菌接种于含 0.2% 琼脂半固体营养培养基的 U 形管中, 37℃ 过夜培养, 次日检查生长情况, 如果生长物以均匀混浊抵达 U 形管另一臂的顶端, 或到达 U 形管中段, 并在均匀混浊的生

本文于 1988 年 3 月 11 日收到。
本所谢念铭主任技师拍摄电镜照片; 承张路民同志协助, 特此致谢。

长物和无生长的培养基之间有一清晰的边界，表明是阳性(有动力)。当接种物仅在原接种处生长，这些菌株继续在 22℃ 培养 3d，仍未见到弥散，表明阴性(无动力)。有时，为了清晰地显示动力，在培养基内加入 0.01% 的 TTC。另外应用电子显微镜观察鞭毛。

(三) O 与 H 抗原测定^[3,4]

应用试管凝集技术测定 O 与 H 抗原，制备 O 与 H 抗血清是使用 Rauss 博士赠送的 O₁₋₁₄₄，H₁₋₄₈ 参考菌株。

结 果

(一) 菌株 311b (44626)

菌株 311b 的原载抗原式是 26:60:—，认为是一株无动力菌株，我们发现在 0.2% 琼脂培养基中，在 37℃ 时，该菌株的动力是活泼的，其 H 抗原悬液可被 H11 抗血清所凝集，并达到 H11 免疫原相同的效价。

(二) 菌株 H5 (44677)

菌株 H5 的原载抗原式是 81:97:—，我们发现该株也有活泼的动力(图 1)，电子显微镜下显示该菌株的鞭毛(图 2)，其 H 抗原悬液能被 H27 抗血清所凝集，并达到 H27 免疫原相同的效价。

(三) 菌株 W27 (44711)

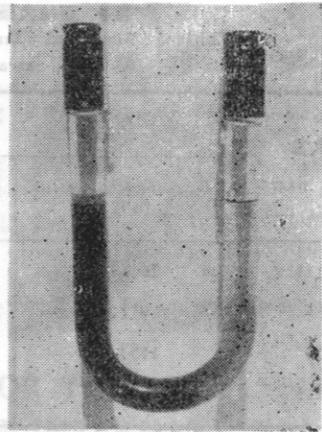


图 1 菌株 H5 在 U 形管中的动力
Fig. 1 Motility of the strain H5 in U form tube

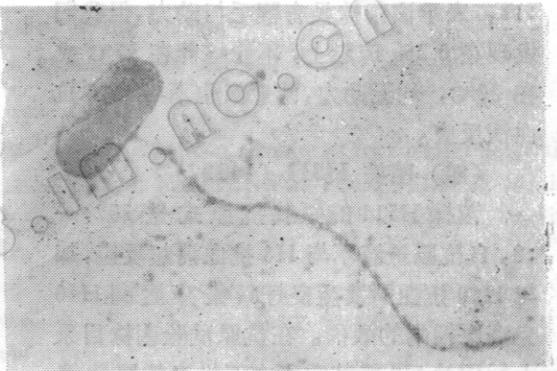


图 2 菌株 H5 的鞭毛(电镜 6900×)
Fig. 2 Flagella of the strain H5

表 2 菌株 H511 与其有关菌株的 H 抗原检定

Table 2 The identification of H antigens about strain H511 and its related strains

菌株名 Strain name	原载抗原式 Original antigen formula O:K:H	抗血清 Antisera	效 价 Titer										
			100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	盐水 Saline	
Ap320c	2:7:8	H8	4*	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—
E5d	76:—:8	H8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	—
H501d	98:—:8	H8	4	4	4	4	4	4	4	2	—	—	—
H515b	103:+:8	H8	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	—
H520b	105:—:8	H8	4	4	4	4	4	4	4	1	2	2	—
H511	102:—:8	H8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H511	102:—:8	H40	4	4	4	4	4	4	4	4	3	—	—

* 凝集强度

The strength of agglutination

表 3 四株大肠埃希氏菌国际参考菌株的血清学鉴定
Table 3 Serological identification of four international reference strains of *Escherichia coli*

菌株名 Strain name	抗原式 Antigen fomula (O:K:H)			
	Edwards & Ewing (1972)	Ørskov & Ørskov (1977)	Ørskov & Ørskov (1984)	本文作者 Yang & Wang (1979)
H311b	26:60:11	26:60:—	26:60:—	26:60:11
H5	81:—:—	81:97:—	81:97:—	81:97:27
W27	115:—:18	115:—:18	115:—:18	115:—:—
H511	102:—:8	102:—:8	102:—:40	102:—:40

菌株 W27 原记载抗原式是 115:—:18, 表示该菌株具有鞭毛与动力, 但我们发现在 0.2% 琼脂上, 不论培养在 37°C 或在 22°C, 均无动力, 菌悬液也不与 H18 抗血清反应。

(四) 菌株 H511 (44697)

菌株 H511 的原载抗原式是 102:—:8, H 抗原悬液不与 H8 抗血清起反应, 却与 H40 抗血清发生良好凝集并达到 H40 免疫原相同的效价。在抗原试验菌株目录上标记为 H8 的其它所有五株 H 抗原悬液均与 H8 抗血清凝集, 并几乎均达到 H8 免疫原相同的效价 (表 2), 证明了所使用的抗血清是无误的, 因此 H511 株的 H 抗原不是 H8, 而是 H40。

所有结果综合于表 3。

讨 论

鞭毛是细菌的运动器官, 约 50% 的大肠埃希氏菌具有鞭毛^[4], 鞭毛与其动力有关, 在常规试验中, 有动力的菌株表明鞭毛的存在。一般一个大肠埃希氏菌菌细胞上仅具有 1—4 根鞭毛, 多于 8 根鞭毛的菌细胞十分罕见。所以其动力较弱, 微弱动力的大肠埃希氏菌菌株常被误为无动力, 一个最好检查动力的方法是使用 0.2% 琼脂

半固体培养基 U 形管。U 形管较常用的小管更能清晰地判断结果, 由于 0.2% 琼脂培养基太软, 在小管里穿刺接种, 其生长物将被弥散而不易判断。使用高于 0.3% 琼脂的培养基, 将可能发生动力的错误诊断。

应用上述的方法检查 H311b, H5 和 W27 株的动力, 我们获得了满意的结果。我们的结果与 Edwards 和 Ewing 氏的结果对于 H311b 菌株是一致的^[5], 菌株 H5 是有动力的, 带有 H27。一般来说, 大肠埃希氏菌在 37°C 时鞭毛发育良好, 但少数一些菌株的鞭毛仅在 22—25°C 时发育, 但菌株 W27 不论在 37°C 或在 22°C, 均未见动力。

对一株纯化的大肠埃希氏菌而言, 鞭毛的发育是一稳定的遗传学性状。我们也从未见过一株有动力的大肠埃希氏菌在自然状态下突变为无动力。纯化了的的大肠埃希氏菌—菌株的不同菌落, 其动力是相同的, 都有动力或都为无动力。所以我们认为菌株 311b 的抗原式应为 26:60:11, H5 株应为 81:97:27, W27 株应为 115:—:—。

大肠埃希氏菌鞭毛抗原的交叉反应仅存在于若干对鞭毛抗原, 包括 H8 和 H40, 菌株 H511 原载 H 抗原是 H8, 但该菌株 H

抗原悬液仅与 H40 抗血清起反应, 而不与 H8 起反应。作者的 H8 抗血清能与抗原试验菌株目录中所有标记为 H8 的菌株起反应, 表明 H8 血清是可靠的, 特异的, 所以排除了菌株 H511 具有 H8 抗原的可能性。Ørskov 博士同意我们在 1980 年时的结论 (个人通讯), 并已将该菌株的抗原式修正为 102:-:40^[2]。

参 考 文 献

- [1] Ørskov, I. et al.: *Bacteriol. Rev.*, 41(3): 667—710, 1977.
- [2] Ørskov, F. et al.: *Methods in Microbiology*, 14: 43—111, 1984.
- [3] Edwards, P. R. et al.: *Identification of Enterobacteriaceae* 3rd edition Burgess Publishing, 1972.
- [4] 杨正时等: *微生物学报*, 19(2): 187—197, 1979.

STUDY ON IDENTIFICATION FOR THE MOTILITY AND FLAGELLA ANTIGEN OF FOUR INTERNATIONAL REFERENCE STRAINS OF *ESCHERICHIA COLI*

Yang Zhengshi Wang Xiaoxin

(National Institute for the Control of Pharmaceutical & Biological Products, Beijing)

Authors identified four strains of *Escherichia coli* from Collaborative Centre for reference and research on *Escherichia coli-Klebsiella* (WHO) in Denmark. Our results were different from original record and reference. It was shown that strain H311b and H5 were motile strains, and its H antigen respectively is H11 and H27. The strain W27 is nonmotile. H antigen of the strain H511 is H40, not

H8. Antigen formula of four strains respectively is 26:60:11 (strain H311b), 81:97:27 (strain H5), 115:-:- (strain W27), 102:-:40 (strain H511).

Key words

Escherichia coli; Motility; H. antigen