

## 小肠结肠炎耶尔森氏菌血清群的研究

### II. 我国小肠结肠炎耶尔森氏菌分群菌株的筛选和参考菌株的建立

李 笃 唐

(中国药品生物制品检定所, 北京)

从我国收集到新分离的小肠结肠炎耶尔森氏菌1120株, 经检定符合本菌特征的747株(占66.7%), 并筛选出其形态、培养特征及生化特性典型的有335株, 分成36个不同血清群, 并分别找出各群代表株制出抗血清。试验结果证明, 用本套菌株制备的群血清, 灵敏性和特异性效价都优于国外引进的参考菌株制备的抗血清。通过实际使用, 对国内新分离菌株检定能提高定群率2—3%。

**关键词** 小肠结肠炎耶尔森氏菌

自1980年以来, 从我国收集到不同分离来源的小肠结肠炎耶尔森氏菌(以下简称耶氏菌)1120株。通过检定符合耶氏菌各项特征的747株。对这些菌株进一步血清学检查和抗原性分析, 筛选出335株分属36个血清群, 并选出各群代表株制出抗血清与国外引进的参考菌株制备的抗血清进行比较试验, 结果报道如下。

### 材料与方法

#### (一) 菌株

1. 对照的参考菌株: 来自WHO耶氏菌属参考中心、法国巴斯德研究院 Mollaret, H. H 教授惠赠, 部分来自比利时。

2. 耶氏菌: 新分离的747株来自我国除台港澳省(地区)外的各省(市)自治区、地县一些卫生单位。分离菌株的来源广泛, 有人腹泻粪便, 阑尾炎、饮业人员粪便, 生熟与冷藏食品, 水, 自然环境及各种家养、野生动物, 小啮齿动物和昆虫类, 其中以猪占多数, 鼠类次之。

#### (二) 耶氏菌分群血清

均系本所制备, 将各群菌株分别接种

于适宜琼脂培养基上, 25—28℃培养48h, 用生理盐水制成菌悬液, 经煮沸2.5h(或0.7 kg/cm<sup>2</sup> 20 min)灭菌后, 用本所生产的玻璃粉比浊标准管, 用肉眼比浊制成含菌50亿/ml。耳静脉注射体重为2500—3000g的健康家兔, 免疫程序为每周2次, 每次间隔3天, 剂量为0.2、0.5、0.75、1和1.5 ml, 共5针次, 末次免疫后7天试血, 合格后颈动脉放血, 分离血清, 除去类属凝集素与血清补体, 吸收后血清最终效价不能低于640倍。

#### (三) 方法

1. 凝集试验: 实验室的常规血清学方法, 包括玻片与试管凝集。

2. 吸收试验: 对血清中含有的非特异性抗体用交叉凝集的异群菌株制成的吸收原进行吸收。为验证菌株的抗原成分, 除与血清中抗体相同菌株作吸收外, 也用不同的抗原菌株制成的吸收原作交叉吸收证实抗原成分。

本文于1988年4月12日收到。

## 结 果

## (一) 对各群代表株的血清学检定

1. 检定含有 O:2 因子的菌株有 2 株, 并制出抗血清, 通过吸收试验证实。

2. 含有 O:3 因子的菌株有 79 株, 多数来自猪体和人体。本菌已被国际认定为引起腹泻病的主要病原菌之一。从本试验菌株中 O:3 型也属多数, 占收集菌群数的 23.85%。

3. 含有 O:4 因子的抗原菌株 10 株, 含有 4.32 有 6 株, 4.33 群有 4 株。通过吸收试验证实(表 1)。分别选出 O:4.32 与 O:4.33 菌株制备抗血清。

4. 含 O:5 因子的菌株检出 33 株, 分别含 O:5 与 O:5.27 试验结果见表 2。

5. 含有 O:6 抗原的菌株检出 26 株, 符合 6.30 抗原的有 20 株, 含 6.31 抗原的有 6 株。并对这些菌株进行筛选, 而对照的 6.30 与 6.31 两株间无交叉凝集, 表明无 6

表 1 对含有 O:4 抗原菌株的鉴定

Table 1 Differentiation of O:4 antigen containing strains

菌株 Strains	抗血清 Antiserum				吸收试验 Absorption test		血清型 Serotype
	O:4.32		O:4.33		4.32(4.33)*	4.33(4.32)**	
	玻片 Slide	试管 Tube	玻片 Slide	试管 Tube			
82-91	++++	5120	++	320	+++ 2569	—	4.32
83-28	++++	5120	++	320	+++ 2560	—	4.32
84-118	++	2560	+	320	+++ 2560	—	4.32
85-49	++++	5120	++	640	+++ 2560	—	4.32
84-108	+++	2560	++	320	+++ 1280	—	4.32
F14	++++	5120	++	640	+++ 2560	—	4.32
Control							
4.32	+++	2560	++	640	++ 1280	—	4.32
84-145	++	1280	++++	2560	—	++ 1280	4.33
84-169	++	640	++++	2560	—	++ 1280	4.33
85-34	++	1280	++++	2560	—	++ 1280	4.33
86-107	+++	1280	+++	2560	—	+++ 1280	4.33
Control							
4.33	+	320	+++	1280	—	++ 640	4.33

\* O:4.32(4.33): 4.32 血清用 4.33 抗原吸收。

4.32 antiserum absorbed with O:4.33 antigen.

\*\* O:4.33(4.32): 4.33 血清用 4.32 抗原吸收。

4.33 antiserum absorbed with O:4.32 antigen.

抗原因子, 结果见表 3。

6. 含 O:8 抗原的菌株有 29 株, 从中分别筛选含 7.8 抗原的 4 株、含 O:8 抗原 3 株、含 19.8 抗原 4 株, 同时发现 2 株仅含 19 因子。试验结果见表 4。

7. 含 O:9 抗原的菌株 29 株, 其中 84-39 菌株与 O:4 血清及 85-29 菌株与

O:6.31 血清出现交叉反应, 其余 27 株均无交叉凝集, 表明仅含有 O:9 的特异性抗原因子, 并筛选出代表株制出抗血清。

8. 含有 O:10 抗原的菌株 14 株, 筛选出代表株制出抗血清。其余有: 含 O:10 (K1) 抗原 7 株; 含 O:12.25 抗原的 5 株; 含 O:12.26 抗原的 12 株; 含 O:13.7 抗原

表 2 含有 O:5 抗原菌株的鉴定结果

Table 2 Differentiation of O:5 antigen containing strains

菌株 Strains	抗血清 Antiserum			吸收试验 Absorption test		血清型 Serotype
	O:5	O:5.27	16.29	O:5.27(O:5)*	O:5(5.27)**	
85-66	+++	+	+++	—	—	5
85-68	+++	+	+++	—	—	5
85-64	+++	+	++	—	—	5
86-10	+++	++	—	—	—	5
85-11	+++	++	—	—	—	5
85-13	+++	++	—	—	—	5
Control						
O:5	++	+++	—	—	—	5
81-783	++640	+++5120	—	+++	—	5.27
81-785	++640	+++5120	—	+++	—	5.27
81-786	++640	+++5120	—	+++	—	5.27
85-19	++	++	—	+++	—	5.27
85-24	++	+++	—	+++	—	5.27
85-73	++320	+++1280	—	+++	—	5.27
Control						
O:5.27	++	+++	—	++	—	5.27

\* O:5.27(O:5): 5.27 血清用 O:5 抗原吸收。5.27 antiserum absorbed with O:5 antigen.

\*\* O:5(5.27): O:5 血清用 O:5.27 抗原吸收。O:5 antiserum absorbed with O:5.27 antigen.

表 3 对含有 O:6 抗原菌株的鉴定

Table 3 Differentiation of O:6 antigen containing strains

菌株 Strains	抗血清 Antiserum		吸收试验 Absorption test		血清型 Serotype
	6.30	6.31	6.30(6.31)*	6.31(6.30)**	
85-71	+++640	+320	320	—	6.30
86-108	+++2560	++640	640	—	6.30
86-127	+++2560	+++640	640	—	6.30
86-128	+++2560	++640	640	—	6.30
86-129	+++1280	++640	640	—	6.30
86-190	+++1280	++640	640	—	6.30
86-191	+++1280	++640	640	—	6.30
81-789	++320	+++2560	—	640	6.31
85-13	++640	+++1280	—	640	6.31
85-48	++320	+++1280	—	640	6.31
85-74	++320	+++1280	—	320	6.31
86-147	++320	++1280	—	640	6.31
Control					
6.30	++640	—	++640	—	6.30(30)
6.31	—	++640	—	++640	6.31(31)

\* 6.30(6.31): 6.30 血清用 6.31 吸收。6.30 antiserum absorbed with 6.31.

\*\* 6.31(6.30): 6.31 血清用 6.30 吸收。6.31 antiserum absorbed with 6.30.

表 4 对含有 O:8 因子抗原菌株的鉴定

Table 4 Differentiation of O:8 antigen containing strains

菌株 Strains	抗血清 Antiserum			吸收试验 Absorption test		血清型 Serotype
	7.8	8	19.8	7.8(8)*	19.8(7.8)**	
83-13	++++	++	+++	+++	—	7.8
83-63	+++	+++	+	+++	—	7.8
81-836	++++	+++	+	+++	—	7.8
86-126	++	+	++	++	—	7.8
83-20	+++	+++	+++	—	—	8
84-101	+++	+++	++	—	—	8
85-79	++	+++	++	—	—	8
84-63	++	+++	++++	—	+++	19.8
85-45	++	+++	++++	—	+++2560	19.8
85-75	+	++	++++	—	++++	19.8
85-76	+	++	+++	—	++++	19.8
86-207	—	—	++++	—	++++	19
86-208	—	—	++++	—	++++	19
Control						
7.8	++++	+++	++	+++	—	7.8
8	++	+++	+++	—	—	8
19.8	++	+++	++++	—	+++	19.8

\* O:7.8(8): 7.8 血清用 8 吸收。

7.8 antiserum absorbed with 8.

\*\* O:19.8(7.8): 19.8 血清用 7.8 吸收。

19.8 antiserum absorbed with 7.8.

表 5 对 83-7, 83-27 血清的吸收试验

Table 5 Absorption test of 83-7, 83-27 sera

血 清 Serum	吸收菌 Absorbed with	凝集试验 Agglutination test		
		抗原 Antigen	玻片 Slide	试管 Tube
83-7	—	83-7	++++	2560
83-7	O:35	83-7	+++	1280
83-7	O:35	O:12.25	++	640
83-7	O:35	O:35	—	—
83-27	—	83-27	++++	1280
83-27	O:35	O:12.25	+++	640
83-27	O:35	O:25.35	++	320
83-27	O:35	O:35	—	—

表 6 新复合抗原菌株的检出

Table 6 The strains containing poly-antigens

菌株 Strains	O血清 O antiserum					对照 Control
	4.33	5	10	16	16.29	
84-81	++++		++++	++++		—
84-82	++++		++++	++++		—
84-85	++++		++++	++++		—
84-88	++++		++++	++++		—
85-64		+++			+++	—
85-66		+++			+++	—
85-68		+++			+++	—
84-91		+++			+++	—
84-92		+++			+++	—
84-93		+++			+++	—
84-94		+++			+++	—
84-95		+++			+++	—
84-96		+++			+++	—
84-97		+++			+++	—
84-98		+++			+++	—
84-99		++++			+++	—

的 6 株;含 O:14 抗原的 9 株;含 O:16 抗原的 9 株;含 O:16.29 抗原的 4 株;含 O:17 抗原的 8 株;含 O:21 抗原的 2 株;含 O:22 抗原的 5 株;含 O:25.35 抗原的 2 株。上述各群代表株分别制备出抗血清。其中 O:25.35 两株制备的抗血清吸收试验结果见表 5。

对含 O:37 抗原因子的 4 株;含 O:38 抗原的 1 株;含 O:40 抗原的 13 株;含 O:41.43 抗原的 7 株;含 46 抗原的 3 株;含 O:47 抗原的 4 株;含 49.51 抗原的 5 株;含 O:52 抗原的 4 株;含 O:52.53 抗原的 3 株,对上述各群代表株分别制备出抗血清进行试验与验证。

### (二) 两套不同来源的菌株制备的抗血清的部分效价比较

从新筛选出的分群菌株制备的抗血清与国外引进菌株制备的抗血清间的效价有明显差异,在选有两套血清中的 O:3、4.32、4.33、5.27、7.8、8、9、10、14、15、17、19.8、25.35、40、41.43、47 和 52 共 17 种

血清试验比较。结果两套的同群血清中,仅有 O:15 和 O:47 两个血清的效价滴度是一致的,其余 15 种血清,凡用新分离菌株制备的群血清效价都高于用国外引进菌株制备的血清。在制备过程中,用新分离菌株制出的血清产生的类属交叉反应少而低,也易于吸收,而使用国外引进菌株制出的血清,因类属交叉反应较宽,有的较高,对吸收试验需要增加次数,有的还不能达到要求。如用引进菌株制备的 O:4.32 血清与 O:5 抗原菌株;O:7.8 血清与 O:8、13.7 和 19.8 菌株;O:25.35 血清与 O:15 菌株间;O:41.43 血清与 O:15、47 两抗原菌株间的交叉反应都不容易吸收干净,而影响血清的最终效价滴度。

### (三) 新的复合抗原因子菌株的检出

筛选出的 335 菌株中,大部分菌株的抗原与国外引进参考菌株的抗原成分是一致的,但也检出部分含有新复合抗原的菌株(表 6)。

含有 O:4.33、10、16 复合抗原成分

表 7 筛选出的小肠结肠炎耶尔森氏菌血清群株的来源

Table 7 Selection of serogroup of *Yersinia enterocolitica*

抗 原 O antigen	血清群菌株 Strain serogroup	
	来源 Sources	地区来源 Districts
2	人 human	吉林 Jilin
3	人 human	江苏 Jiangsu (南京)
4.32	猪 pig	陕西 Shaanxi (西安)
4.33	人 human	安徽 Anhui
5	冻虾 ice shrimp	天津 Tianjin
5.27	猪 pig	山西 Shanxi
6.30	猪 pig	江西 Jiangxi
6.31	猪 pig	山东 Shandong (潍坊)
7.8	污水 sewage water	北京 Beijing
8	人 human	河南 Henan
9	人 human	福建 Fujian
10	人 human	安徽 Anhui
10k1	蝇 fly	黑龙江 Heilongjiang (哈尔滨)
12.25	污水 sewage water	北京 Beijing
12.26	鸡肉 chicken meat	陕西 Shaanxi
13.7	鸡 chicken	湖南 Hunan
14	污水 sewage water	北京 Beijing
15	污水 sewage water	北京 Beijing
16	猪 pig	黑龙江 Heilongjiang
16.29	猪 pig	山西 Shanxi
17	蚂蚁 any	山东 Shandong (潍坊)
19.8	人 human	安徽 Anhui
21	人 human	湖南 Hunan
22	污水 sewage water	北京 Beijing
25.35	污水 sewage water	北京 Beijing
37	人 human	安徽 Anhui
38	冻虾 ice shrimp	天津 Tianjin
40	鸡肉 chicken meat	陕西 Shaanxi
41.43	人 human	吉林 Jilin
46	蝇 fly	黑龙江 Heilongjiang (哈尔滨)
47	人 human	河南 Henan
49.51	冻虾 ice shrimp	天津 Tianjin
52	冻虾 ice shrimp	天津 Tianjin
52.53	污水 sewage water	北京 Beijing
55	冻虾 ice shrimp	天津 Tianjin
57	冻虾 ice shrimp	天津 Tianjin

的菌株与含有 O:5、16.29 的抗原成分菌株在国际抗原成分表中是没有的, 是否属于新复合的抗原菌株, 需进一步研究证实。

(四) 筛选我国耶氏菌分群(型)的代表株

经试验筛选出分属 36 个血清群株是与国际的分群抗原表是一致的, 其分离来源与分离地区见表 7。

从表 7 看出, 36 个分群菌株来自我国 15 个省(市)地区, 分离面广, 来源广泛, 具

有一定的代表性。并证明其血清群是与国外引进参考菌株的抗原因子是相同的。而对一些不同的抗原成分菌株并未包括在内。

## 讨 论

耶氏菌能引起感染性疾病,早在 60 年代初已为国际一些学者所重视<sup>[1]</sup>,并证实本菌是分布较广的人畜共患性病原菌,进行过分群分型的血清学研究。1967 年 Windled<sup>[2]</sup>报道过 8 个抗原因子的血清群。1971 年 Wauters<sup>[3]</sup>报道有 28 个抗原因子,此后又报道 34 个<sup>[4]</sup>,到 1981 年 Bottone 氏增加到 51 个血清群<sup>[5]</sup>。1986 年 Brewer, R. A 和 Corbel 报道了相同的抗原表,是目前耶氏菌血清学分群及生物型较全的抗原分类表,作为国际微生物学检定耶氏菌分群定型的依据<sup>[6]</sup>。

我国自 1979 年开始耶氏菌的分离工作<sup>[7]</sup>,当时仅局限少数地区和单位。由于耶氏菌分群血清及时提供,使新分离到的菌株能及时分群定型。几年来,我们从国内收集到新分离的耶氏菌疑似菌株共 1120 株。经过系统检定,结果符合耶氏菌特征的有 747 株。对这些菌株作进一步研究,

筛选出具有典型特征的有 335 株,分属于 36 个不同抗原因子的血清群株。耶氏菌在我国虽然分布很广,菌群复杂,但可以看出,占优势的菌群仍以 O:3、O:9 较多,这与国外一些报道是一致的。通过血清学试验明显看出,应用我国新分离的群代表株制出的抗血清,在实际使用中可提高国内新分离菌株 2—3% 的定群率,使过去出现的不凝集菌株数明显减少。我国耶氏菌分群菌株的筛选和建立,不仅为我国生产耶氏菌分群血清提供了条件,也为我国对耶氏菌病原学研究提供了科学资料。

## 参 考 文 献

- [1] WHO chronicle: 30(1—12): 494, 1976.
- [2] Windled, S.: *Acta Path. Microbiol. Scand. Supp.*, 187: 715, 1967.
- [3] Wauters, G.: *Ann. Inst. Pasteur(Paris)*, 120: 631, 1971.
- [4] Wauters, G.: *ibid.*, 122: 951, 1972.
- [5] Bottone, S.: Monography CRC-Press BoCa-Raton 2-1, 1981.
- [6] Brewer, R. A. & M. J. Corbel Methods for the isolation and identification of *Yersinia*. Research Section Diseases of Breeding Department Central Veterinary Laboratory New Haw, Weybridge Surrey, KT15 3NB, p. 76, 1986.
- [7] 李笃唐等: 中华微生物学和免疫学杂志, 1(3): 156—160, 1982.

## STUDIES ON THE SEROGROUP OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

### II. SELECTION AND ESTABLISHMENT ON SEROGROUP REFERENCE STRAINS OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

Li Dutang

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

Since 1980, we have collected 1120 strains of *Yersinia enterocolitica*, from the different parts of China. These strains have been obtained from various sources in man, animals and natural environment accompanied by their clinical or ecological information of *Yersinia enterocolitica*. The results of our tests have shown that the 747 strains have exhibited the clinical morphological and biochemical characteristics of *Yersinia enterocolitica*. Through comparing under the same conditions, out of the 747 strains 335 have been selected out with bet-

ter antigenicity and have been produced antisera from their representative strains. This set of antisera is very satisfactory for its potency and specificity.

This set of antisera is ready to supply and have good efficacy and application facilitated for control strains on identifying strains and their epidemiologic observation.

#### Key word:

*Yersinia enterocolitica*