

一株有争议的志贺氏菌的抗原分析与血清型检定

杨 正 时

(中国药品生物制品检定所, 北京)

对中国医学细菌保藏管理中心所存, 1935 年国外分离, 国内检定结果不一的一株志贺氏菌 51331 进行了详细的抗原分析, 确定为福氏志贺氏菌 X 变种。该菌能与国内外出品的福氏 3 型特异血清发生交叉凝集的原因, 主要是由于上述诊断用血清中交叉反应性抗体尚未吸收纯净, 至少没用类似 51331 这样的菌株参与成品血清检定的缘故。因此, 建议在生产福氏 3 型特异血清时, 应用本菌种参与检定以提高制品质量。本菌种作为诊断血清检定时用的菌种是十分有价值的。

关键词 志贺氏菌; 抗原分析; 血清型

中国医学细菌保藏与管理中心(以下简称菌种中心)所存菌株 51331 是 1935 年国外分离的志贺氏菌, 原保存于英国伦敦李斯忒研究所。1953 年 1 月由苏联中央国家科学检定所传到我国, 当时命名为副痢疾志贺氏菌 (*Shigella paradysenteriae*), 菌号 4834, 又称福氏痢疾杆菌“X” (*Bac. dysent.*, Flexner “X”)。1962 年我国检定定为福氏 2b, 1978 年再次检定时定为福氏 3 型, 与国际检定不一致, 经作者详细研究, 确定为福氏志贺氏菌 X 变种。本文报告对该菌株的血清学与抗原分析结果。

材料与方法

(一) 菌种

51331 菌株, 冻干保存, 有二批。分别于 1953、1978 年冻干, 为本研究菌株。菌株 51571 (福氏 1a)、51572 (福氏 1b)、51573 (福氏 2a)、51574 (福氏 2b)、51575 (福氏 3a)、51576 (福氏 4a)、51577 (福氏 4b)、51578 (福氏 5 型)、51579 (福氏 6 型)、51580 (福氏 X 变种)、51581 (福氏 Y 变种) 均系菌种中心保存的标准株。

(二) 诊断血清

由兰州、北京生物制品研究所出品的有效期内市售制品, 并用英国 Wellcome 公司出品的诊断血清作对照。抗原分析用的 O 与 OK 血清系将 51331 与 51575 分别制备 O 抗原(100℃, 水浴 2.5 小时)、K 抗原(福马林杀菌)常规免疫家兔制备而成。

(三) 检定方法^[1]

在用生化反应确定志贺氏菌的基础上, 用玻片凝集试验, 试管凝集试验效价测定以及凝集素交互吸收技术进行抗原分析与血清型的确定定型。

结 果

(一) 一般生物学性状

该菌株在普通营养琼脂上生长良好, 菌落较光滑(S_r)、革兰氏染色阴性、杆状。生化反应发酵葡萄糖产酸不产气, 迅速发酵山梨醇、阿拉伯胶糖、麦芽糖、草糖、甘露醇, 迟缓发酵(7 天)鼠李糖和蔗糖。还原硝酸盐为亚硝酸盐, 甲基红反应阳性, 产生靛基质。以下生化反应结果为阴性: 侧金盏花醇、卫矛醇、木糖、肌醇、乳糖、明胶液

本文于 1990 年 7 月 13 日收到。

化、VP 反应、硫化氢、柠檬酸铵、柠檬酸钠、苯丙氨酸脱氨酶、赖氨酸及鸟氨酸脱羧酶、精氨酸双水解酶、右旋及左旋和消旋酒石酸、粘液酸、醋酸钠。根据以上结果, 本菌符合志贺氏菌定义^[2]。

用大量 (>100 亿个菌) 新鲜斜面菌苔感染豚鼠眼睛 4 只, 观察 4 天不发病, 重复感染仍为阴性, 表明本菌已丧失侵袭力。

(二) 初步血清学检定

1. 纯度试验: 将 51331 株第一批、第二批冻干菌种启开后, 各取 30 个菌落, 纯培养后与兰州生物制品研究所血清作玻片凝集, 结果一致(表 1)。

2. 抗原复原试验: 在日本陈琼脂与血琼脂培养基上传 11 代, 其血清学特殊没有改变(表 2)。

表 1 菌落纯度
Table 1 Purity of colonies

株(批号) Strain (Lots)	菌落特征 Colonies	菌落数 No. of colonies	福氏志贺氏菌抗血清 Antiserum for <i>Sh. flexner</i>				
			2 型 Type 2	3 型 Type 3	群 3,4 Group 3,4	群 6 Group 6	群 7 Group 7
51331(1)	大 Large	15	—	++	—	—	+++
51331(1)	小 Small	15	—	++	—	—	+++
51331(2)		30	—	+++	—	—	+++

表 2 抗原稳定性
Table 2 Stability of antigens

代数 Generation	培养基 Media	福氏志贺氏菌抗血清 Antiserum for <i>Sh. flexner</i>				
		2 型 Type 2	3 型 Type 3	群 3,4 Group 3,4	群 6 Group 6	群 7 Group 7
传代前 Before Generating	日本陈 Japan peptone	—	+++	—	—	+++
5	Japan peptone	—	+++	—	—	+++
10	Japan peptone	—	+++	—	—	+++
11	Blood agar	—	+++	—	—	+++

3. 不同厂家制品的检定: 用有关厂家出品的诊断血清与 51331 株作活菌玻片凝集, 同时以国内分离的福氏 3 型标准株 51575 作对照, 证明兰州生物制品研究所与英国血清的结果相似(表 3)。类似于一株失去群 6 抗原的福氏 III 型菌株, 但福氏 III 型菌株以存在群 6 抗原为基本血清学特征, 而且从表 4 中可见, 本菌对福氏 3 型血清虽有凝集, 但其效价不及原血清效价的 1/2。由于福氏 3 型菌株的型抗原至少

有 3 种以上成份, 因此仍然不能排除其可能性。根据北京生物制品研究所出品的诊断血清可初步定为 X 变种, 但凝集较弱, 因此尚不能完全肯定。

(三) 进一步血清学研究

1. 与福氏血清亚型代表株的交叉: 将 51331 株 O 与 OK 血清, 51575 株 O 与 OK 血清分别与各福氏血清亚型代表株的活菌培养物作玻片凝集, 以及用福马林杀菌的菌液测定效价。表 5 结果可见, 51575、

表 3 对不同来源抗血清的凝集
Table 3 Agglutination to antiserum from different sources

血清出品单位 Institutes	菌 株 Strains	福氏志贺氏菌抗血清 Antiserum for <i>Sh. flexner</i>				
		2 型 Type 2	3 型 Type 3	群 3,4 Group 3,4	群 6 Group 6	群 7 Group 7
兰州生物制品研究所 Lanzhou	51331	—	++	—	—	+++
	51575	—	++	—	+++	+++
北京生物制品研究所 Beijing	51331	—	—	—	—	+
	51575	—	++	—	++	+
英 国 England	51331	—	++	—	—	+++
	51575	—	+++	—	—	+++

表 4 测 定 效 价
Table 4 Detecting titer

血清出品单位 Institutes	血 清 Antiserum	菌 株 Strains	效 价 Titer
兰州生物制品研究所 Lanzhou	福氏 3 型 <i>Sh. flexner</i> type 3	51331	1:160
		51575	1:1280
	群 6 Group 6	51331	—
		51575	1:2560
	群 7 Group 7	51331	1:2560
		51575	1:2560
北京生物制品研究所 Beijing	福氏 3 型 <i>Sh. flexner</i> type 3	51331	—
		51575	1:160

表 5 与福氏各抗血清亚型标准株的交叉反应
Table 5 Crossreaction with standard strains of subserotype of *Sh. flexner*

标准株 Standard strains	血清亚型 Subserotype	与抗血清的玻片凝集 Slide agglutination with antiserum				与抗血清的凝集效价 Agglutination titer with antiserum			
		51575-O	51575-OK	51331-O	51331-OK	51573-O	51575-OK	51331-O	51331-OK
51571	1a	+++	+++	+++	+++	1:160	1:320	1:640	1:320
51572	1b	+++	+++	+++	++	1:1280	1:2560	1:160	1:160
51573	2a	++	+	++	+	<1:40	1:40	1:40	1:40
51574	2b	+++	+++	+++	+++	1:320	1:640	1:640	1:1280
51575	3a	+++	+++	+++	+++	1:5120	1:5120	1:640	1:640
51331	?	+++	+++	+++	+++	1:640	1:1280	1:2560	1:2560
51576	4a	++	+++	+++	+++	<1:40	1:80	1:160	1:80
51577	4b	+++	+++	+++	++	1:2560	1:5120	1:320	1:160
51578	5	+++	+++	+++	++	1:80	1:320	1:320	1:320
51574	6	—	—	—	—	<1:40	<1:40	<1:40	<1:40
51580	x	+++	+++	+++	+++	1:640	1:640	1:2560	1:2560
51581	y	+++	+++	+++	+++	1:160	1:1280	1:2560	1:1280

51331 株的 O、OK 血清, 除与福氏 6 型及 2a 抗原关系不甚密切外, 其余均有较密切的抗原关系。但其效价, 51575、51331 株血清与各亚型代表株的反应有一定差别。51575 主要与 16、46, 其次与 Y 变种有关。而 51331 株主要与 X、Y 有关, 其次是 2a、3a。51575 与 51331 间的相互交叉均达不到原血清效价的 1/2。

2. 表面(K)抗原检定: 用 51331、51575 菌的 O 抗原吸收各自的 OK 血清, 均能吸尽其中的所有凝集素(表 6、7), 说明 51331 与 51575 株均不含有表面(K)抗原。

3. 51331 与 51575 株间的相互吸收:

由于 51331 与 51575 株均无 K 抗原。因此 51331、51575 的 O 与 OK 血清基本反应是一致的。51331 株血清被 51575 吸收后所剩效价不高, 尚与 X、Y 起反应。51575 血清被 51331 吸收后, 本菌效价不变。主要与 1b、4b 起反应(表 8), 说明 51331 确不具有群 6 抗原, 但与含群 7 抗原的菌株已无反应, 说明 51331 在吸收中主要除去群 7 抗原。

4. 福氏 3 型抗原分析: 用不含有 3 型抗原的菌株分别吸收 51575、51331 O 血清。从表 9 可见, 51575-O 血清用福氏 2b、4b、X 变种吸收后, 本菌仍有 1:320 的

表 6 51331 株的 K 抗原
Table 6 K antigen of strain 51331

抗 原 Antigen	玻片凝集 Slide agglutination		效 价 Titer	
	51331-OK 血清 Serum		51331-OK 血清 Serum	
	吸 收 前 Before absorption	用 51331-O 吸收 Absorption by 51331-O	吸 收 前 Before absorption	用 51331-O 吸收 Absorption by 51331-O
51331-OK	++++	—	1:2560	<1:40
51331-O	++++	—	1:1280	<1:40
51575-OK	++++	—	1:640	<1:40
51575-O	++++	—	1:640	<1:40

表 7 51575 株的 K 抗原
Table 7 K antigen of strain 51575

抗 原 Antigen	玻片凝集 Slide agglutination		效 价 Titer	
	51575-OK 血清 Serum		51575-OK 血清 Serum	
	吸 收 前 Before absorption	用 51575-O 吸收 Absorption by 51575-O	吸 收 前 Before absorption	用 51575-O 吸收 Absorption by 51575-O
51575-OK	++++	—	1:5120	<1:40
51575-O	++++	—	1:2560	<1:40
51331-OK	++++	—	1:1280	<1:40
51331-O	++++	—	1:640	<1:40

表 8 51331 和 51575 株间抗原分析
Table 8 Antigens analysis between 51331 and 51575

亚型标准株 Standard strains of subserotype	51331-O 血清 Serum		51331-OK 血清 Serum	
	吸收前(效价) Before absorption (Titer)	51575-O 吸收后(效价) After absorption by 51575-O (Titer)	吸收前(效价) Before absorption (Titer)	吸收后(效价) After absorption by 51575-OK (Titer)
51571	++++(1:640)	-	+++ (1:320)	-
51572	++++(1:160)	-	++ (1:160)	-
51573	++ (1:40)	-	+ (1:80)	-
51574	++++(1:640)	-	++++(1:1280)	-
51575	++++(1:640)	-	++++(1:640)	-
51331	++++(1:2560)	+++ (1:80)	++++(1:2560)	+++ (1:320)
51576	++++(1:160)	-	+++ (1:80)	-
51577	++++(1:320)	-	++ (1:160)	-
51578	++++(1:320)	-	+++ (1:320)	-
51579	- (1:160)	-	+++ (<1:40)	-
51580	++++(1:2560)	++ (1:80)	++++(1:2560)	+++ (1:320)
51581	++++(1:2560)	++ (1:80)	++++(1:1280)	+++ (1:160)

亚型标准株 Standard strains of subserotype	51575-O 血清 Serum		51575-OK 血清 Serum	
	吸收前(效价) Before absorption (Titer)	吸收后(效价) After absorption by 51331-O (Titer)	吸收前(效价) Before absorption (Titer)	吸收后(效价) After absorption (Titer)
51571	++++(1:160)	-	+++ (1:320)	-
51572	++++(1:1250)	++++(1:1280)	++++(1:2560)	+++ (1:1280)
51573	++ (<1:40)	-	+ (1:40)	-
51574	++++(1:320)	-	+++ (1:640)	-
51575	++++(1:5120)	++++(1:2560)	++++(1:5120)	++++(1:5120)
51331	++++(1:640)	-	++++(1:1280)	-
51576	++ (1:40)	-	+++ (1:80)	-
51577	++++(1:2560)	++++(1:2560)	++++(1:5120)	++++(1:2560)
51578	++++(1:80)	-	+++ (1:320)	-
51579	- (<1:40)	-	+++ (1:320)	-
51580	++++(1:640)	-	+++ (1:640)	-
51581	++++(1:160)	++ (1:160)	+++ (1:1280)	+++ (1:160)

表 9 3 型型血清制备试验
Table 9 Test for preparation of antiserum to type 3

标准菌株 Standard strains	血清亚型 Subserotype	51575-O				51331-O	
		吸收前 Before absorption	用以下抗原吸收后 After absorption with			吸收前 Before absorption	用以下抗原吸收后 After absorption 51574 (F2b) 51580(X)
			51574 (F2b) 51577 (F4b)	51574 (F2b) 51577 (F4b) 51580 (X)	51574 (F2b) 51577 (F4b) 51580 (X) 51572 (F1b)		
51571	1a	++++(1:160)	-	-	-($<1:20$)	++++(1:640)	-($<1:20$)
51572	1b	++++(1:1280)	+++	++	-($<1:20$)	++++(1:160)	-($<1:20$)
51573	2a	++ (1:40)	-	-	-($<1:20$)	++ (1:40)	-($<1:20$)
51574	2b	++++(1:320)	-	-	-($<1:20$)	++++(1:640)	-($<1:20$)
51575	3a	++++(1:5120)	+++	+++	++(1:320)	++++(1:640)	-($<1:20$)
51331	?	++++(1:640)	+++	++	-($<1:20$)	++++(1:2560)	-($<1:20$)
51576	4a	++($<1:40$)	-	-	-($<1:20$)	++++(1:160)	-($<1:20$)
51577	4b	++++(1:2560)	+++	+	-($<1:20$)	++++(1:320)	-($<1:20$)
51578	5	++++(1:80)	-	-	-($<1:20$)	++++(1:320)	-($<1:20$)
51579	6	-($<1:40$)	-	-	-($<1:20$)	-($<1:40$)	-($<1:20$)
51580	x	++++(1:640)	++	-	-($<1:20$)	++++(1:2560)	-($<1:20$)
51581	y	++++(1:160)	++	-	-($<1:20$)	++++(1:2560)	-($<1:20$)

效价,其他福氏亚型均不凝集,为特异的 3 型型血清。而 51331-O 血清用福氏 2b、X 吸收后,各株(包括本菌)在 1:20 时均为阴性,不能获得 3 型型血清,说明 51331 不含有 3 型型抗原。

讨 论

根据菌株的生化反应与发酵甘露醇,以及与众多的福氏志贺氏菌血清发生交叉凝集反应,表明该菌与福氏志贺氏菌有密切的抗原关系,因而是一株福氏志贺氏菌菌株,不存在表面(K)抗原,也支持福氏志贺氏菌的诊断。关于其型别,由于不与福氏 2 型血清凝集,因而排除了福氏 2 型的可能性。虽然该菌与国内兰州生物制品研究所及英国诊断血清 3 型相凝,但根据本实验不是 3 型菌株,而为 X 变种,其主要理

由如下:

1. 在玻片上虽与 3 型血清凝集,但其试管凝集效价低于原血清效价的一半。

2. 与群 6 血清不凝集。目前所知,所有福氏 3 型菌株均含有群 6 抗原。

3. 与标准福氏 3 型株 51575 相比较免疫制备血清后相互交叉凝集反应,彼此均低于原血清效价的一半,从交叉反应效价来看更接近于 X 变种。

4. 从 51331 与 51575 株间的交叉吸收,51331 株起到 X 变种的作用,吸收 51575 后的血清不与含群 7 抗原的菌株起反应了。

5. 用不含有 3 型抗原的菌株吸收 51331O 血清时,不能获得 3 型因子血清,因而排除了含 3 型型因子的可能性,而对照 51575 株血清能获 3 型因子血清。

该菌株所以能与某些厂家出品的 3 型血清起反应, 主要是这些血清尚未吸收纯净, 至少没有用类似 51331 这样的菌株来参与成品血清检定的缘故。因此作者建议在生产福氏 3 型血清时, 应用本菌种参与检定, 对控制诊断血清质量十分有益。本菌种作为志贺氏菌诊断血清检定用菌株

是十分有价值的。

参 考 文 献

- [1] P. R. 爱德华等(郝士海等译): 肠杆菌科的检定, 上海科学技术出版社, 上海, 1959。
- [2] 杨正时: 微生物学, 大连出版社, 大连, 第 346—373 页, 1988。

ANTIGENIC ANALYSIS AND IDENTIFICATION OF SEROTYPE FOR AN ARGUABLE STRAIN OF *SHIGELLA*

Yang Zhengshi

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

A strain of *Shigella*, 51331, was isolated abroad in 1935, and stored in The Center for Medical Culture Collection, Beijing. Since the serotype of this strain was arguable in China. It was identified as *Sh. flexneri* var. X with antigenic analysis. As agglutinin absorption technic was used in preparing diagnostic factor serum, it appears that the culture of strain 51331 could be agglutinated by *Shigella* antiserum flexner type 3 (*Sh.*

flexneri) made in China and England. The present author suggested that diagnostic serum for type 3 or *Sh. flexneri* should be checked up with the strain 51331 for type factor specific. Strain 51331 is, therefore, useful for purpose of identification when preparing diagnostic serum for *Shigella*.

Key words

Shigella; Antigenic analysis; Serotype