

# 多位点酶电泳法在新疆伤寒沙门氏菌分类和群体遗传学中的应用

杨 珊<sup>1</sup> 徐文斌<sup>2</sup> 刘敏生<sup>1</sup> 侯惠珍<sup>1</sup> 刘远恒<sup>1</sup> 祁国明<sup>3</sup>

**摘要** 采用多位点酶电泳 (MEE) 法对新疆近11年分离的154株伤寒沙门氏菌进行部分多位点酶基因型分类和群体遗传学研究。共测定分析7种代谢酶。研究表明,上述菌株共分为69个电泳型 (ET), 分属10个克隆系 (CLa~CLj), 其中80株爆发菌株分属21个ETs, 3个CL (CLe、f和j), 以ET17、20、21、24、26和27为主, 占61.30%, CLf为优势克隆系, 菌株占95.00%; 74株散发菌株分属48个ETs, 归为9个CL (CLa、b、c、d、f、g、h、i、j), 没有发现菌株较为集中的ET, 主要克隆CLh内菌株占47.30%。显示爆发和散发均可由多个ET型和克隆菌株引起, 但爆发菌株的ET分布更为集中, 有明显优势克隆。对上述菌株群体遗传结构分析表明: 被测7种代谢酶基因位点均具有多态性, 平均杂合度 ( $\bar{h}$ ) 为6.14, 平均遗传多态值 (H) 为0.35。不同来源菌株相比 $\bar{h}$ 和H均无显著性差异 ( $P$ 均大于0.05)。表明新疆不同来源的伤寒沙门氏菌可能来自同一群体。结果还显示每个酶基因位点都有一个优势等位基因, 提示在伤寒沙门氏菌的进化演变过程中以自然选择为主。

**关键词** 多位点酶电泳 伤寒沙门氏菌 群体遗传学

近年来, 多位点酶电泳 (Multilocus enzyme electrophoresis, MEE) 方法已越来越广泛地应用于细菌的分类学、群体遗传学和分子流行病学的研究<sup>[1]</sup>。国外许多学者用MEE法对大肠杆菌、脑膜炎球菌、痢疾杆菌、流感嗜血杆菌、军团菌及沙门氏菌等进行了群体遗传学和分类学的研究; 国内也对脑膜炎球菌等进行了同样的研究<sup>[2]</sup>, 并已开始研究伤寒沙门氏菌。笔者用MEE法对近11年来新疆分离的154株不同来源的伤寒沙门氏菌进行了多位点酶电泳谱型 (ET) 的分类和群体遗传学的研究。以探讨新疆伤寒沙门氏菌不同来源菌株间的遗传学关系及其群体遗传结构, 为新疆伤寒流行病防制工作提供依据。

## 材料和方法

- 一、参考菌株: 伤寒沙门氏菌Ty2, 购自中国药品生物制品检定所。
- 二、样品菌株: 1981~1991年分自全自治

区各地散发病人的74株散发菌株和1991年在伊犁地区伤寒爆发时分离的80株爆发菌株。

三、所测酶类: 共测7种代谢酶: 葡萄糖6-磷酸脱氢酶 (G6PD)、乳酸脱氢酶 (LDH)、谷草转氨酶 (GOT)、谷氨酸脱氢酶1 (GD<sub>1</sub>)、谷氨酸脱氢酶2 (GD<sub>2</sub>)、乙醇脱氢酶 (ADH) 和苹果酸脱氢酶 (MDH)。

## 四、实验方法:

1. MEE法: 酶的检测、读胶排序、群体遗传学统计方法见文献<sup>[1]</sup>; 克隆系的划分: 我们根据遗传距离与各级聚类之间的关系, 结合流行病学背景资料将遗传距离0.4处定为CL划分的界线。

2. 待测菌株均按常规方法经Vi-Ⅱ96型标准噬菌体分型及药敏实验, 并用徐建国改良质粒提取法进行质粒检测。

- 1 新疆维吾尔自治区卫生防疫站 830011 乌鲁木齐市
- 2 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所
- 3 中国预防医学科学院

### 结 果

一、154株伤寒沙门氏菌的ET:根据每个菌株每种酶的不同电泳迁移率得出每个菌株在各个基因位点的等位基因,然后综合所有菌株的7个基因位点,共获得69个ETs。其中80株爆发菌株分属21个ETs,分别为ET<sub>12~18</sub>、ET<sub>20~28</sub>、ET<sub>30~31</sub>、ET<sub>33~34</sub>和ET<sub>62</sub>。ET<sub>17</sub>、20、21、24、26、27包含大部分菌株(占61.30%,49/80);74株散发菌株分属58个ETs即ET<sub>1-11</sub>、ET<sub>35-61</sub>、ET<sub>63-69</sub>、ET<sub>19</sub>、29、32。爆发菌株与散发菌株分属不同的ETs;不同年代不同地区分离的菌株大多数分属不同的ETs,但有的同一年代同一地区分离的菌株也属于不同的ET。

二、154株伤寒沙门氏菌CL的划分:以遗传距离0.4为界划分CL,将69个ET划分为10个

CL (CL<sub>a~j</sub>)。80株爆发菌株分属3个CL (CL<sub>e</sub>、f、i),95.00%(76/80)的菌株属于CL<sub>f</sub>,并包括90.47%(19/21)的爆发菌株的ETs;74株散发菌株分属9个CL (CL<sub>a</sub>、b、c、d、f、g、h、i、j),其中17株1990年哈密分离的菌株58.82%(10/17)属于CL<sub>d</sub>。1株从带菌者分离的菌株单独归属于CL<sub>a</sub>,CL<sub>h</sub>包含47.30%(35/74)的散发菌株及其23个ETs。显示不同来源的菌株基本上属于不同的克隆系,而绝大多数同次爆发中分离的菌株为同一克隆系内菌株,并有自己的优势CL。

三、等位基因频率和杂合度:154株伤寒沙门氏菌的7个酶基因位点的等位基因频率分析见表1,显示被测的7个酶基因位点均具有多态性,每个酶位点都有1个主要等位基因,总体平均杂合度 $\bar{h}$ 为6.14。

表1 154株伤寒沙门氏菌7个酶位点等位基因频率

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
G6PD	0.16	0.02	0.02	0.08	0.13	0.06	0.09	0.07	0.03	0.05	—	0.04	—	0.01	0.19	0.01	0.04
LDH	—	0.88	0.06	0.02	0.02	0.01	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GOT	—	0.26	0.59	—	0.12	—	0.01	0.01	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—
GD2	—	0.08	0.10	0.06	0.57	0.16	0.01	0.01	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—
LDH	0.01	0.92	0.06	—	—	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ADH	0.01	0.99	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GD1	0.01	0.99	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注:—表示0.00

爆发菌与散发菌7个酶位点等位基因频率分析表明,爆发菌株的7个酶位点只有4个具有多态性,平均杂合度3.57;散发菌株的7个酶位点均具有多态表现,平均杂合度为5.43,与爆发菌的平均杂合度相比无显著性差异( $t=0.85, P>0.05$ )。除G6PD和GOT两个酶位点外,爆发菌和散发菌的主要等位基因基本相同。

不同地区散发菌7个酶位点的等位基因频率分析表明:来自北疆地区的46株和南疆的28株菌株的7个酶位点均具有多态性,杂合度分别为4.57和4.00,两者相比无显著性差异

( $t=0.32, P>0.05$ )。

四、各酶基因位点的遗传多态度( $h_i$ )及平均遗传多态值(H):表2为被测酶基因位点在不同细菌群体的遗传多态度和平均遗传多态值。各个酶位点的遗传多态度均不相同,7个酶中以G6PD最高,说明该点变异程度最大。由于优势菌型(ETs)的存在69个ETs的各个酶基因位点的遗传多态度及平均遗传多态值均高于细菌群体。

爆发菌株与散发菌株的H分别为0.20和0.42,南疆与北疆的H分别为0.40和0.41,前两者间相比及后两者间相比均无显著性差异

表2 154株菌株与69个ETs的平均遗传多态值

酶位点	遗传多态度(hi)							遗传多态值 (H)
	G6PD	LDH	GOT	GD2	MDH	ADH	GD1	
菌株(154)	0.89	0.22	0.57	0.53	0.13	0.02	0.02	0.35
ETs(69)	0.90	0.38	0.64	0.75	0.20	0.06	0.06	0.43

( $t_1=1.01$ ,  $t_2=0.22$ ,  $P$ 均大于0.05)。

五、154株伤寒沙门氏菌的噬菌体分型、药敏及质粒检测：154株伤寒沙门氏菌经Vi-I 96型标准噬菌体分为11个噬菌体型，分型率85.25%。80株爆发菌株以E10型为主（占86.25%，69/80），A型占8.80%（7/80），未分型占5.00%（4/80）；74株散发菌株分为11个型，分型率74.30%（55/74），无明显优势菌型。

对154株菌进行12种抗生素敏感试验，敏感率为62.34%（96/154），仅检出1株耐两种抗生素的M<sub>1</sub>型菌株。

质粒检出率在154株菌中仅为10.39%（16/154），噬菌体分型、药敏谱及质粒检测结果与ETs或CL之间在本实验结果中无明显的关系。

### 讨 论

MEE法是从“一个酶一个基因”的学说发展起来的[1]。它通过对细菌酶的检测达到表现其基因型的目的。笔者选用该法将新疆近11年来分离的伤寒沙门氏菌进行分类及群体遗传学的研究。实验结果表明，所分的69个ET中，爆发菌株仅占21个，散发菌株占58个，可见引起伊犁地区伤寒爆发流行的菌株间彼此遗传距离相距较近，同属于一个ET的菌株较多，并存在主要的ETs；散发菌株分布较分散，各ET包含的菌株较少，没有主要的ET。各ET在不同人群、不同地区以及不同年代的分布情况还有待于进一步的探讨。经MEE法能将86.25%属于同一噬菌体型（E10）的爆发菌株进一步分为若干个ETs，并可将11个噬菌体型的散发菌株分为58个ETs，且分型率为100%。经克隆

系的划分还可将不同来源的菌株区分开，并有各自的优势CL。从群体遗传结构上看，两个表示群体遗传变异的值：平均杂合度和平均遗传多态值，在不同来源的菌株中各组间相比均无显著性差异，该结果与目前一些资料报道的情况[3]基本一致，即大多数伤寒沙门氏菌起源于同一克隆株，其基因型具有高度的同源性。

遗传多态性是指在同一个杂种繁殖的群体中有两个或多个有遗传性差异的组类的共处共存。这种平衡的多态性通过选择把遗传变异性保存下去。本实验结果表明被测的伤寒沙门氏菌广泛地存在酶基因位点的遗传多态现象，但不同位点的多态度有所不同，每个酶基因位点都有1个主要的等位基因，表明伤寒沙门氏菌在进化演变过程中是以自然选择的方式为主，即某些基因型赋予它们的载体以存活力和繁殖力上的优势从而有选择的保留下来。在本实验中，不同来源的菌株的优势等位基因基本相同，在群体遗传结构上也无显著性差异。说明在进化演变进化过程中不同来源的伤寒沙门氏菌可能来自同一群体。提示引起新疆伤寒爆发流行的菌株并没有某一固定的菌型，而是受外界的影响选择性的发生在某一菌型中。

Application of Multilocus Enzyme Electrophoresis in Studies of Taxonomy and Population Genetics of *S.typhi* in Xinjiang Yang Shan, Xu Wenbin, Liu Minsheng, et al., Xinjiang Uighur Autonomous Regional Hygiene and Epidemic Prevention Station, Urumchi 830011

Multilocus enzyme electrophoresis (MEE)

was employed to study the genotype taxon and population genetics of 154 isolates of *S. typhi* from Xinjiang in recent 11 years. Seven kinds of enzymes were examined and determined. One hundred and fifty-four strains of *S. typhi* were classified into 69 electoretic types (ETs) and 10 clones (CLa-CLj). Among those 154 strains 80 epidemic isolates belonged to 21 ETs and 3 clones (CLe, f, j). ET17, 20, 21, 24, 26, 27 were the main ETs (61.30%), and CLf was the dominant clone (95.00%). Seventy-four non-epidemic isolates belonged to 48 ETs and 9 clones (CLa, b, c, d, f, g, h, i, j), no obvious dominant ET was found in them, and the main clone CLh accounted for 43.30%. It demonstrated that both outbreak and sporadic epidemics could be caused by many strains of ETs and clones, but the distribution of the former ETs was more concentrated and the preponderance of clones was more obvious. The analyses on structure of population genetics indicated that all of 7 enzymes were polymorphic. Genetic diversity among the enzyme loci was quite high, with an average of 0.35 per locus (H). The average number of alleles per locus ( $\bar{h}$ ) was 6.14. There was no significant

difference in  $\bar{h}$  or H between the isolates of different sources ( $P > 0.05$ ). It was clear that *S. typhi* of different sources in Xinjiang were originated from the same population. The results also showed that there was a dominant allele in every enzyme locus. Natural selection was the main role in the evolution of *S. typhi*.

Key words Multilocus enzyme electrophoresis *S. typhi* Population genetics

### 参 考 文 献

- 1 Selander RK, Caugant DA, Ochman H, et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 51: 873.
- 2 王骏, 王健夫, 胡真, 等. 多位点酶电泳法用于我国A群脑膜炎奈氏菌的分型及流行病学意义. *中华流行病学杂志*, 1991, 12(2): 65.
- 3 Reeves MW, Evins GM, Heiba AA, et al. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *J Clin Microbiol*, 1989, 27(2): 313.

(收稿 1993-07-05 修回: 1993-10-18)

## 南召县1953~1992年疟疾流行病学分析

赵起亭<sup>1</sup> 赵桂鑫<sup>1</sup> 张子震<sup>1</sup> 张 昭<sup>1</sup> 李本献<sup>1</sup> 袁 海<sup>1</sup>  
赵现伟<sup>1</sup> 郭文华<sup>1</sup> 张新功<sup>1</sup> 郭升起<sup>1</sup> 吕兆阳<sup>1</sup> 赵桂祥<sup>2</sup>

南召县山深蚊虫多,属间日疟高发区。1953~1992年疟疾发病490 891例,男271 463例(55.30%),女219 428例(44.70%),男女之比为1.24:1。分布于全县16个乡镇,发病率波动在1932.61/万~0.07/万之间,曾为严重危害我县人民身体健康的传染病。40年间农村发病占95.12%,最小年龄6个月,最高年龄84岁,18~45岁病例占总数的60%以上。经全民预防服药、普查普治和以消灭传染源为主的综合目标责任制的实施,1988年起发病率控制在1/万以下,为1992年11种传染病之第10位。

40年中五次发生间日疟爆发流行,分别为1956、1965、1970、1977、1981年。发病率依次为230.77/万、482.06/万、1932.61/万、427.80/万、269.52/万。1990年在较低发病率(0.12/万)的情况下,较1989年(0.07/万)又有回升。由此看来南召县疟疾发病有每5~10年一次大流行的趋势。

(收稿: 1993-02-09 修回: 1993-03-22)

1 河南省南召县卫生防疫站 474650

2 南召县云阳卫生院