

三种金属阳离子盐液的诱导形成和保护 伤寒沙门菌 Vi 抗原作用的研究

张敬学¹ 曹杰¹ 屠静¹ 邹志英¹ 张凤琴² 刘桂荣² 曹润九²

摘要 本法以 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 3 种金属阳离子盐液诱导产生和保护伤寒沙门菌 Vi 抗原。结果表明, 96 株 Vi-Ⅱ噬菌体标准菌 100.0% 为 V 型菌; 1 320 株地方菌株中 1 292 株菌为 V 型菌, 占 97.9%, 28 株菌为 W 型菌, 占 2.1%。优于其他关于 Vi 抗原每年丢失率为 5.0% 的报道。

关键词 伤寒 Vi 抗原

The Induction and the Prevention of Vi Antigen of *S. typhi* Loss by Three Metallic Ions of Salts Zhang Jing-xue*, Cao Jie, Tu Jing, et al. *Dept. of Microbiology, Beijing Medical University, Beijing 100083

Abstract Three metallic salts Ferrous, Magnesium and Calcium were used to induce and to prevent Vi antigen of *S. typhi* loss. All of the 96 Vi-Ⅱ phage typing standard strains belonged to V type (a recovery rate of 100%). Out of 1320 local strains, 1292 were type V (a recovery rate of 97.7%) and 28 remained type W with a Vi loss rate of 2.1%. The results showed that induction and prevention of Vi antigen of *S. typhi* loss by the three metallic salts was higher than that of other reports which showed a loss rate of 5% Vi antigen of *S. typhi*.

Key words Typhoid Vi antigen

Vi 抗原是覆盖在菌体外围的荚膜多糖抗原, 新从人体或动物体分离的菌株含丰富的 Vi 抗原。在人工培养、保存中 Vi 抗原极易丢失, 丢失 Vi 抗原的菌, 由 V 型变异为 W 型。据国外报道, 在保存菌种中 Vi 抗原的丢失率每年约为 5.0%^[1]。由于 Vi 抗原的产生受染色体控制^[1,2], 因而大多数微生物学家认为 Vi 抗原一旦丢失是不能恢复的, 我国收集的菌种中每年约有 30.0% 左右的伤寒沙门菌丢失 Vi 抗原。而 Vi 抗原是伤寒沙门菌毒力抗原和保护性抗原之一^[1,2]。由于其丢失直接影响 Vi-Ⅱ噬菌体分型的病原学检测及多糖疫苗研制等工作, 笔者继某些金属盐诱导伤寒沙门菌 Vi 抗原的研究^[3,4]之后, 扩大应用范围, 以 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 三种

金属阳离子盐液, 单独或联合使用诱导形成和保护 Vi 抗原, 以使 Vi 抗原丢失率降低, 现将结果报告如下。

材料与方法

一、材料:

1. 菌种: 本室保存的 Vi-Ⅱ分型噬菌体标准菌 96 株和地方菌株 1 320 株(其中 1987 年 335 株、1988 年 635 株及 1989 年 350 株)。

2. 伤寒沙门菌因子血清: 卫生部北京和成都生物制品研究所产品。均在有效期内使用。

3. Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 水溶液配制: 称取硫酸镁($MgSO_4$)、硫酸亚铁($FeSO_4$)、活性钙各 1g, 分别溶于 100ml 蒸馏水中, 过滤、15 磅高压蒸气灭菌 30 分钟备用。

4. 培养基: 葡萄糖肉浸液肉汤、肉浸液

1 北京医科大学微生物学系 100083

2 北京市卫生防疫站

琼脂、血琼脂培养基。按常规方法制备。

二、实验方法:装有 2ml 葡萄糖肉浸液肉汤管 5 支,第 1~3 支分别加入 0.05ml 1.0% $MgSO_4$ 、 $FeSO_4$ 、活性钙灭菌水溶液混匀。第 4 管加入 1% $MgSO_4$ 和 $FeSO_4$ 各 0.05ml 混匀。第 5 管加入 1% $MgSO_4$ 和活性钙水溶液各 0.05ml 混匀。分别接种伤寒菌,经 37℃ 培养 4~6 小时,转种血琼脂平板,经 37℃ 培养 18~24 小时,挑取菌落进行玻片血清凝集试验。

结 果

1. 96 型标准菌株及 1 320 株地方菌

株,经诱导培养后菌落全部为 S 型。

2. 96 型标准菌株及 1 320 株地方菌株,经诱导培养后 Vi 丢失结果见附表,与文献[3,4]报道相符。

(1) 96 型标准菌株经诱导后,除加入 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 混合液诱导后,全部为 V 型菌外,其他诱导各有 1 株菌 Vi 丢失,为 W 型菌,且为同一菌株 34 号即 D₁ 噬菌体型。

(2) 1 320 株地方菌株来自不同年份,1987 年 335 株、1988 年 635 株、1989 年 350 株。经不同二价金属阳离子盐液培养诱导保护 Vi 抗原后,其 Vi 丢失数、丢失率各不相同,其中以同时加入 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 混合盐液诱导培养效果最佳(附表)。

附表 诱导后 Vi 丢失株数及所占百分比

年 份	实验株数	Mg^{2+} W 株(%)	Ca^{2+} W 株(%)	Fe^{2+} W 株(%)	Fe^{2+} Mg^{2+} W 株(%)	Ca^{2+} Mg^{2+} W 株(%)
标准菌	96	1(1.0)	1(1.0)	1(1.0)	1(1.0)	0(0.0)
1987	335	21(6.3)	19(5.7)	12(3.6)	8(2.4)	7(2.1)
1988	635	38(6.0)	37(5.8)	25(3.9)	18(2.8)	16(2.5)
1989	350	20(5.7)	21(6.0)	19(5.4)	7(2.0)	5(1.4)
合 计	1416	80(5.7)	78(5.5)	57(4.0)	34(2.4)	28(2.0)

讨 论

1. 本文结果所示,伤寒沙门菌培养、保存中,培养基内加入 Fe^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等二价金属盐液除可诱导产生 Vi 抗原使 W 型菌恢复为 V 型菌外^[3,4],还可以防止其丢失、脱落。其中尤以加入 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 混合盐液效果最佳,Vi 抗原丢失率仅为 2.1%、0.0%,证明以二价金属盐液 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 等诱导 Vi 产生和防止其丢失、脱落具有很好的重复性。再次支持了 Kauffman V-W 变异为可逆的观点。菌落全部为 S 型。

2. 二价金属阳离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 等是细菌生长所需的无机盐。它们分别是多种酶反应的辅因子,是稳定核蛋白体、形成细胞膜和各种菌体成分中不可缺少的元素^[2]。在伤寒沙门菌培养过程中虽然加入的血液、鸡蛋、牛奶、鲜牛肉汤等含有上述元素的化合物,但量不够。当细菌长时间人工培养、保存在缺少生长所需元素的环境中有可能产生各

种变异,如 V-W 变异。 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 为细胞通道的信使,只有保证适量的 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 才能打开细胞通道,随着阳离子通道打开,才能保持细胞内外环境的酸碱平衡、营养平衡,细胞才能正常发育。本实验结果充分证实 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的上述作用^[5,6]。

3. Vi 是由 N-乙酰-D-半乳糖醛酸组成的线性多聚体,有 2 个抗原决定簇,主要是 O-乙酰基,另 1 个为 N-乙酰基和羧基,其生成是由染色体上 2 个基因位点(ViaA 和 ViaB)决定控制的,ViaA 存在于染色体上,ViaB 位点则构成 Vi 抗原的结构基因^[1]。有可能由于多聚体结构发生改变而使 Vi 抗原丢失,其中多数菌株经改变培养环境,Vi 抗原可以恢复生成。如我们的实验结果和文献[3,4]中所示,96%~98%的菌株中 Vi 抗原得以恢复生成。实验中所示约有 2%~4%的菌变成 W 型是由于细菌的基因突变或转移、转导所导致的 Vi 丢失,有待今后的实验研究来证实。

参 考 文 献

- 1 Anderty L, Shousun C. Application of optical properties of the Vi capsular polysaccharide for Quantitation of the Vi - antigen in vaccine for typhoid fever. J Clin Microbiol, 1988, 26:719.
- 2 孙汶生. 细菌的营养. 见: 冯树异, 程松高, 吴光照, 等主编. 医学微生物学. 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社出版, 1992, 18.
- 3 张敬学, 刘桂荣, 曹润九, 等. 金属盐诱导伤寒沙门氏

菌 Vi 抗原初探. 中国公共卫生学报, 1988, 2:213.

- 4 张敬学, 刘桂荣, 曹润九, 等. 某些金属盐诱导伤寒沙门氏菌 Vi 抗原的研究. 北京医学, 1991, 13(增刊一): 91.
- 5 汪堃仁, 薛绍白, 柳惠图, 等主编. 细胞生理学. 北京师范大学出版社, 1991. 376~379.
- 6 Bruce Alferts. Molecular Biology of the cell third Edition Garland publishing. Inc New york and London, 1994. 503-540.

(收稿: 1996-07-17 修回: 1996-08-20)

关于《中华流行病学杂志》的文献半衰期 ——与唐鸿等同志商榷

郝清华 吕志勇 石义英

拜读贵刊 1995, 16(5):317 唐鸿等同志的《(本刊)文献老化的研究》一文后, 受益匪浅, 但对文中的某些美中不足之处, 笔者愿借贵刊一角提出与作者商榷。该文引用的半衰期数学模型为: $X = 10 \times [\ln(a + \sqrt{a^2 + 2b} + 0.1)]$, 半衰期由此而得。对此公式, 不知作者从何处引来, 笔者不敢雷同。

笔者查阅文献此公式应为: $X = 10 \times [\ln(a + \sqrt{a^2 + 2b}) + 0.1]$, 证据可参阅下列文献: 中华内

分泌代谢杂志 1993, 9(1):54; 中华胸心血管外科杂志 1995, 11(5):315; 中华老年医学杂志 1994, 13(4):234; 图书情报工作 1983, (5):7。

由于公式引错, 据此算出的半衰期也是不准确的。应依据正确的公式另行计算。如中文期刊半衰期应为 3.9297(原为 3.6490), 余略。若有不当, 还望批评指正。

(原作者唐鸿同志同意该内容, 并向读者致歉)

(收稿: 1996-10-30)

作者单位: 山东省滕州市中心人民医院 277500

沂南县风疹流行的调查分析

高西奎¹ 陈桂兴² 付永春² 杨守堂²

沂南县 1992 年 4 至 6 月份发生风疹流行, 疫情波及面广, 发病人数多, 为证实及了解此次风疹流行概况, 于 1992 年 7 月份在县城、乡村人群中, 整群抽样进行了回顾性调查。共调查 3 565 人, 临床诊断 298 例, 患病率 8.36%。对县城小学调查 376 名, 患病 106 例, 患病率为 28.9%, 乡村小学 365 名, 患病 77 例, 患病率为 21.0% ($u = 2.44, P < 0.05$), 结果表明城市小学患病率显著高于乡村小学。发病 298 名, 患者最小 4 岁, 最大 13 岁, 8 岁年龄组患病率最高。本次流行自 4 月份开始有病例报告, 发病 54

人, 5 月份达到高峰(532 例), 6 月份 12 例, 疫情基本终止。

本次流行, 患者起病有程度不等的发热、上呼吸道卡他症状, 很短的前驱期即出现皮疹, 斑丘疹自面部迅速弥漫全身, 分布较密集, 米粒大小, 无明显痒感, 耳后与枕部的淋巴结肿大。

收集小学生血清 195 份, 应用抗体捕捉 ELISA 检测风疹 IgM 抗体。风疹抗体阳性者 138 份, 阳性率 70.77%。城、乡人群血清抗体比较, 流行后风疹抗体阳性率分别为 71.43% 及 70.29% ($t = 3.139, P < 0.01$)。人群抗体水平县城明显高于农村。

(收稿: 1996-11-20)

1 山东省沂南县卫生防疫站 276300

2 山东省临沂市卫生防疫站