

河弧菌的溶原噬菌体初查

陈亢川 陈拱立 黄哲

(福建省卫生防疫站,福州)

河弧菌 (*V. fluvialis*) 在英国曾称 F 群弧菌,在美国曾称 EF₆ 群,是一种能引起人类腹泻的新致病弧菌,1976—1977 年在孟加拉国曾引起一次流行;目前,欧、美、亚、非四大洲报告发现此菌或由此菌引起病例的已有 20 余个港湾国家,因而此菌被认为是全球港湾地区的微生物^[1,2]。在国内,1979 年与 1984 年曾在福建南部与东部沿海的三个县腹泻患者与水产品中检出此菌^[3,4]。关于此菌的分类, Lee 等(1981)已作过详细描述^[5],但其噬菌体情况,至今尚未见报道。鉴于弧菌属中已有部份弧菌检出噬菌体,其中霍乱弧菌噬菌体已在诊断和分型上广为使用^[6],本文就所保存的河弧菌进行噬菌体分离,结果从 5 株河弧菌中检出噬菌体,确定河弧菌亦具溶原性,现报道如下。

材料与方 法

(一) 菌株来源

供试的 63 株河弧菌中, 48 株来自福建省

沿海三个县的腹泻患者, 1 株来自健康人, 9 株检自海产品,另 5 株巴西菌株 (EF₆ 1—5) 由美国马里兰大学微生物系赠送。82 株其他肠道菌为本实验室保存菌株。

(二) 培养基

指示菌为置碱性肉汤 (含 1% 氯化钠、pH 7.8) 放 37℃ 温箱培养 6—8 小时的培养物。试验用平板,底层为含 1.5% 琼脂的普通琼脂,上层为含 0.6% 琼脂的半固体。

(三) 方法

用琼脂层叠法,指示菌与被检菌系交互使用。将试验菌分别接种于 2 支肉汤培养管内,37℃ 培育 6—8 小时,取 1 支作指示菌,另 1 支经 56℃ 20 分钟加热灭菌或用氯仿灭菌作为被检噬菌体液。取指示菌液 0.1ml,加于溶化并冷至 45℃ 左右的 4.5ml 0.6% 普通琼脂培养基内,混匀,倾注于 1.5% 普通琼脂平皿底层上,待凝结后,置 37℃ 培养 6 小时及隔夜后各取出观察一次。如发现噬菌斑或裂解区时,用接种针挑取

增殖,并反复挑取单噬菌斑进行传代纯化。

结 果

(一) 检出情况

以63株河弧菌相互作用指示菌与被检菌,检查结果从5菌株中分离到噬菌体,检出率为7.9%,并从其子代菌株中再次检出噬菌体。从48株病人检出菌中检出4株(8.3%),9株海产品菌均阴性,5株巴西菌株中亦检出1株,其中有2株病人菌株检出二种不同形态的噬菌体。据检出顺序,编成7个噬菌体号,分别为F噬₁—F噬₇。F噬₁分离自EF₆-5(巴西株),F噬₂、F噬₃与F噬₄、F噬₅各分离自同一菌株。F噬₆与F噬₇分离自病人。

(二) 噬菌体特征

1. 形态: 据电镜观察, F噬₁—F噬₅均呈蝌蚪形,头部大小在112.5×100—50.0×50.0nm间^[7]。其中F噬₁头部呈六角晶柱形(图版I-1),头部大小为112.5×93.8nm,有尾,长约150nm,其上可见明显的尾鞘,似大肠杆菌T₂噬菌体。F噬₂头部呈不甚规则的球形,棱角不甚明显,大小与F噬₁近似。F噬₃—F噬₅头部均为圆球形,比F噬₁、F噬₂小,大小在50—63×50—63nm,尾长为150—175.0nm(图版I-2)。

分离到的7株噬菌体,噬斑大小在1—2mm间,呈不透明的磨玻璃样,边缘明显,但多数不整齐。其中F噬₁、F噬₂、F噬₃和F噬₄株噬斑大小在2mm左右(图版I-3),F噬₅、F噬₆噬斑略小,大小在1mm左右(图版I-4)。由此看来,噬菌体较大者噬斑亦相应较大。

2. 对同种菌的裂解能力: 检出的7株噬菌体对菌的裂解能力均较弱,其完全裂解的稀释度在10⁻²—10⁻³之间(图版I-5)。裂解面甚狭,58株地方株仅有5株被裂解,但7株噬菌体中有F噬₁、F噬₄、F噬₅等3株能裂解一株巴西株(EF₆-4)。如按裂解范围统计,在63株菌中,F噬₆能裂解2株(3.2%),F噬₁、F噬₂、F噬₃各能裂解3株(5.7%),F噬₄、F噬₅各能裂解4株(6.3%),F噬₇能裂解5株(7.9%)。能被裂解的6株菌中,有3株来自腹泻患者,2株来

自海产品,1株为巴西菌株。按裂解型式分,7株噬菌体可分成I—VI等6个裂解型(表I)。

表1 7株河弧菌噬菌体对63株同种菌的裂解结果

来源	菌株号	F噬 ₁	F噬 ₂	F噬 ₃	F噬 ₄	F噬 ₅	F噬 ₆	F噬 ₇
病人	5676	—	—	—	—	—	—	CL
海产品	海 ₄	—	—	—	CL	CL	—	—
病人	5739	CL	CL	CL	—	CL	CL	CL
海产品	海 _{3A}	CL	CL	CL	CL	CL	—	—
病人	6436	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL
巴西菌株	EF ₆ -4	—	—	CL	CL	CL	—	—
其他病人与海产品共57株		—	—	—	—	—	—	—
噬菌体型		I	II	III	IV	V	VI	

3. 裂解的特异性: 用上述噬菌体对82株肠道菌,包括32株海氏I—V群不凝集弧菌、5株副溶血性弧菌、5株易北河弧菌、5株麦切尼柯夫弧菌、10株埃尔托弧菌(小川、稻叶型各5株)、3株亲水气单胞菌、5株假单胞绿脓杆菌、5株大肠艾希氏菌、5株志贺氏菌、7株沙门氏菌作裂解试验,结果均阴性,表明这些噬菌体的宿主范围不宽,具有一定特异性。

讨论与小结

溶原性是指无外在噬菌体颗粒感染时却能产生噬菌体的遗传特性。在自然界中,溶原性菌的分布很广,已发现葡萄球菌、弧菌、假单胞菌、沙门氏菌、芽孢杆菌、棒状杆菌等有很多菌株具有溶原性。但河弧菌自发现和命名以来,是否有噬菌体,迄今尚未见报道,本文用交互分离法,从5株河弧菌中检得噬菌体,其特性与温和噬菌体相符,因而认为河弧菌中有一部份菌亦具溶原性,其溶原菌的比例,至少有7.9%。

依据检出噬菌体的个体形态,可分成六角晶柱形(头部)与不甚规则球形或圆球形两类,据噬菌体裂解谱,至少可分成I—VI等6个裂解型。但这些噬菌体裂解面均甚狭窄(3.2—7.9%)。这些噬菌体既能裂解人源菌,亦能裂解海产品菌,说明海产品菌与人源菌间存在着联系。来自福建菌株的噬菌体既能裂解当地菌株,有的也能裂解美洲的巴西菌株,巴西菌株中

检出的 F 噬₁ 亦能裂解部份福建菌株, 显示出亚洲、美洲菌株间抗原性存在着共同点。

Rountree 曾报告一个菌株可释放出 5 个不同型的噬菌体^[8]。本试验检出的噬菌体, 从形态与裂解范围看, 6284 号与 5876 号菌株各携带有二个不同型的噬菌体。

河弧菌的溶原噬菌体有严格的种特异性, 今后如能掌握多类型的噬菌体株, 对河弧菌的分类与分型定有帮助。

参 考 文 献

- [1] Jesen, M. J. et al.: *Current Microbiology*, **3**: 373—376, 1980.
- [2] Khan, M. V. et al.: *Trop. and Geogr. Med.* **34**: 19—27, 1982.
- [3] 陈亢川等: 福建医药杂志 **1**: 7—8, 1985.
- [4] 陈拱立等: 中华流行病学杂志, **6**(6): 339—343, 1985.
- [5] Lee J. V. et al.: *J. Appl. Bacteriol.* **50**: 73—94, 1981.
- [6] 耿贯一主编: 流行病学(续编), 112—117 页, 人民卫生出版社, 北京, 1984.
- [7] 中国科学院微生物研究所噬菌体组: 噬菌体及其防治, 科学出版社, 北京, 1974.
- [8] Rountree R. M.: *J. Gen. Microbiol.* **3**: 153, 1949.