

布氏菌噬菌体 SA 对各种布氏菌的裂解活性

崔庆祿 郭秀兰

(内蒙古地方病防治研究所,呼和浩特)

摘要 布氏菌噬菌体 SA 是从猪种布氏菌培养物中分离到的。其裂解活性当菌液浓度为 10^{-4} 时,对光滑型猪种菌 1、3 型,牛种菌 1、3、6 型和沙林鼠种菌可产生混合性裂解,产生噬菌斑直径 3—4mm。噬菌体 SA 原液或稀释浓度为 10^{-1} 、 10^{-2} 时,对羊种菌 1、3 型不裂解。对羊种菌 2 型、粗糙型牛种菌 45/20、犬种菌和绵羊附睾菌产生混合性裂解或噬菌斑,噬菌斑为 1—2mm 或更小。

关键词 布氏菌噬菌体;裂解活性;噬菌斑

有关布氏菌噬菌体的研究,1951 年国外就有报道,但应用到布氏菌鉴定方面的噬菌体,只有苏联在 1955 年从污水中分离到牛种菌噬菌体即 Tb (Tbilisi) 噬菌体为国际所公认。因为裂解范围有局限性,不能鉴定所有的布氏菌属。自 60 年代以来, M. J. Corbel 等对布氏菌噬菌体作了大量的研究,把目前世界各地陆续分离出的包括 Tb 噬菌体在内的 40 余株布氏菌噬菌体,根据宿主范围及裂解活性分为五群^[1]。国内到目前为止还未见到公开的有关报道。1985 年我们从猪种布氏菌培养物中分离到一株布氏菌噬菌体,命名为布氏菌噬菌体 SA。现将其裂解活性试验结果报道如下。

材 料 和 方 法

(一) 材料

1. 供试菌株:

(1) 参考菌株: 猪种菌 S 1330, 牛种菌 A 544、45/20, 羊种菌 16 M、63/9、Ether, 沙林鼠种菌 5 K 33, 犬种菌 RM 6/66 和绵羊附睾种菌 63/290。

(2) 本所菌株: 猪种菌 12 株有 1、3 型, 牛种菌 15 株有 1、3、6 型, 羊种菌 30 株 1、2、3 型, 犬种菌 1 株 (广西卫生防疫站供给) 和未定

本文承陆士良教授,黄建主任审阅,表示感谢。

种、型的 8 株非典型菌株。

2. 布氏菌噬菌体:

(1) 布氏菌噬菌体 SA: 是从 50 年代由北京农业大学提供的猪种 1 型布氏菌分离。该菌株本所保存近 30 年, 编号为 S 005。

(2) 布氏菌噬菌体参考株: Tb、Wb、BK₂、Fi (由中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所供给, 我所重新增殖)。

3. 培养基: 对 Albimi 布氏肉汤及琼脂培养基^[2]进行了改进, 即原 Albimi 培养基中加入的 2% M 蛋白胨和 2% 琼脂, 改用英国进口胰

蛋白胨 (Tryptose) 和 1.5% 琼脂, 并加 10% 灭活马血清。

(二) 方法

1. 接种: 将培养 48 小时布氏菌培养物稀释为 10⁹/ml 菌悬液, 均匀涂布于改进的 Albimi 琼脂平板培养基上, 待干 30—60 分钟备用。

2. 布氏菌噬菌体稀释液的制备: 将噬菌体 SA 原液稀释为 10⁻¹—10⁻⁶ 六个浓度。噬菌体参考株用常规试验稀释液^[3]。分别取各稀释液一滴滴在接种供试菌的琼脂平板培养基上, 待干后, 放 37℃ 培养 48 小时记录噬菌斑出现情

表 1 布氏菌噬菌体原液对各种布氏菌的裂解结果

| 参 考 菌 株 | | | | | | 本 所 菌 株 | | | | | | | |
|---------|-----|-------|-----|------------|--------|---------|--------|------|------|------|-----|---------|---|
| 猪种 | 牛 种 | | 羊 种 | | 沙林鼠种 | 犬 种 | 绵羊附睾种 | 猪 种 | 牛 种 | 羊 种 | | 非典型菌 | |
| S | S | R | S | | S | R | R | S | S | S | R | R | |
| 1330 | 544 | 45/20 | 16M | 63/9 Ether | 5 K 33 | RM 6/66 | 63/290 | 12 株 | 15 株 | 25 株 | 5 株 | 6 株 2 株 | |
| + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | - | + | - | + |

注+: 裂解, - : 不裂解, S: 光滑型菌株, R: 粗糙型菌株

表 2 布氏菌噬菌体 SA、Tb、Wb、BK₂、Fi 对各种布氏菌裂解结果

| 菌 种 | SA | | | | | | Tb | Wb | BK ₂ | Fi | |
|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----|----|-----------------|----|---|
| | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | | | | | |
| 猪种菌 | S 1330 (S) | + | + | + | + | PL | PL | - | + | + | + |
| | S 005 (S) | + | + | + | + | PL | PL | - | + | + | + |
| | 中 5 (S) | + | + | + | + | PL | PL | - | + | + | + |
| 牛种菌 | A 544 (S) | + | + | + | + | PL | PL | + | + | + | + |
| | 45/20 (R) | + | + | PL | PL | - | - | - | - | - | - |
| | A 8405 (S) | + | + | + | + | PL | PL | - | + | + | + |
| | A 42 (S) | + | + | + | + | PL | PL | + | + | + | + |
| 羊种菌 | M 16 (S) | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| | 63/9 (S) | + | + | PL | PL | - | - | - | PL | + | - |
| | Ether (S) | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| | M 819 (S) | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| | M 28 (R) | + | PL | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | M 5 (R) | + | + | PL | - | - | - | - | - | - | - |
| | M 45 (S) | + | + | + | + | PL | PL | - | + | + | + |
| 沙林鼠种 | 5K33 (S) | + | + | + | PL | PL | - | PL | + | + | + |
| 犬种菌 | RM6/66 (R) | + | + | + | PL | PL | - | - | - | - | - |
| 犬种菌 | 57 (R) | + | + | PL | PL | - | - | - | - | - | - |
| 绵羊附睾种 | 63/290 (R) | PL | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 非典型菌 | 202 (R) | + | PL | - | - | - | - | - | - | - | - |

注: “+” 裂解, “PL” 葡萄状噬菌斑或单个噬菌斑, “-” 不裂解, “S” 光滑型菌株, “R” 粗糙型菌株

况。

试验结果

(一) 噬菌体 SA 原液对供试菌的裂解结果 (表 1)

表 1 结果说明, 噬菌体 SA 原液对光滑型猪种菌、牛种菌、沙林鼠种菌和粗糙型牛种菌 45/20、犬种菌、绵羊附睾种菌、羊种菌 2 型及两株非典型菌株均产生融合裂解或噬菌斑, 对羊种菌 1、3 型不裂解。

(二) 噬菌体 SA 稀释浓度及噬菌体参考株常规浓度对供试菌株的裂解活性 (表 2)

表 2 结果说明, 在布氏菌噬菌体 SA 稀释浓度为 10^{-1} — 10^{-4} 时, 对供试光滑型猪种、牛种、沙林鼠种布氏菌产生裂解, 浓度为 10^{-3} 和 10^{-6} 时, 则形成葡萄状噬菌斑或单个噬菌斑 (如图版 I-1—3), 噬菌斑直径为 3—4mm。浓度为 10^{-1} — 10^{-3} 时, 对羊种菌 1、3 型不裂解, 对羊种菌 2 型和粗糙型牛种菌 45/20、犬种菌 (如图版 I-4), 绵羊附睾种和两株非典型菌株, 可产生裂解或单个噬菌斑, 噬菌斑直径为 1—2 mm 或更小, 有时不出现噬菌斑。4 株参考噬菌体, 除 Wb 在高浓度时, 对羊 2 型菌产生噬菌斑外, 对供试菌株的裂解活性与 M. J. Corbel 等的试验结果相似, 并对所有粗糙型菌均无裂解活性^[1,2]。

讨 论

1. 布氏菌噬菌体 SA 与噬菌体参考株对供试菌株裂解结果表明, 布氏菌噬菌体除 SA 高浓度时, 对部份粗糙型菌株形成裂解外, 其它噬菌体对光滑型猪种、牛种和沙林鼠种菌均产生相似的裂解活性, BK₂ 裂解全部羊种菌, 而 SA、Wb 在高浓度时, 只裂解羊 2 型菌。

2. 被 SA 及参考株裂解的羊种菌 M45, 是

50—60 年代从人布氏菌病患者血液中分离的。这种菌已发现 6 株, 当时被确定为羊种菌。经重复鉴定这些菌株不变异, Tb 噬菌体裂解为阴性, 与 A 因子血清凝集, 在 2.5×10^{-4} 硫磺培养基上生长。这些特点与羊 2 型菌相似; 但能产生大量 H₂S, 又与牛 3 型菌相似; 从短小芽孢杆菌对 6 株供试菌的抑菌圈直径达 18—20 mm^[4], 又象猪 3 型菌, 但猪 3 型菌不产生 H₂S。这些尚未定种的菌株对 4 种噬菌体都敏感。

3. 噬菌体 SA 除用亲代株 S 005 进行增殖外, 还用牛种菌突变株 (即用牛种菌 A 8405 在链霉素药片抑菌圈内生长的部分单个菌落, 经鉴定, 突变株的生化特性与亲代株不同, 由强毒株变为弱毒株, 其种、型既不象牛种菌, 又不象猪种菌) 进行反复增殖, 增殖后的噬菌体液裂解范围广于 S 005 菌增殖的噬菌体液。这是否因突变株可引起噬菌体 SA 变异, 而扩大了其裂解范围, 这一问题还有待深入研究。

4. 因本所保存菌株和噬菌体参考株的数量有限, 只能作部分菌裂解活性试验及噬菌体参考株对照试验。对于如何提高噬菌体 SA 裂解活性和确定其裂解范围; 对羊种菌 M45 等 6 株菌的裂解情况是否原鉴定有误, 还是应属其它种布氏菌; 用牛种菌的突变株增殖噬菌体 SA 可否引起 SA 变异, 从而提高和扩大了其裂解范围; 该突变株与五群噬菌体的对照试验等工作均需作进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Corbel, M.J. and E.L. Thomas: *The Brucella-phage*, Weybridge, 1980.
- [2] Corbel, M.J.: *Veterinary Bulletin*, 54(2—3): 68—72, 1984.
- [3] 姜顺求主编: 布鲁氏菌病防治手册, 人民卫生出版社, 69—70, 1984 年。
- [4] 崔庆禄等: 微生物学报, 22(1): 95—97, 1982.