

# 空肠弯曲菌增菌方法的研究与血清学分型

张绪团 宋家乐 王春山 王一骏 李玉保

(解放军总后勤部卫生部直属防疫队)

郑焕佳 吴采菲 辜清吾

(二炮防疫防护队) (卫生部药品生物制品检定所)

**摘要** 本文对空肠弯曲菌增菌培养基作了改进,以增菌法与直接分离法(直接法)对比进行实验。从 379 份腹泻成人粪便中分离出 29 株空肠弯曲菌,其中增菌法分离出 29 株(100%),直接法 15 株(51.72%)。增菌法提高检出率 48.28%, $P < 0.001$ ,两法差异非常显著,符合率为 96.3%,说明增菌法优于直接法。另外,用烛缸培养法从鸡和猪粪便中分离出空肠弯曲菌分别为 50 和 32 株。对人、鸡和猪粪便中检出的 110 株菌作了血清学和生物学分型。从分出的 15 个血清型谱中发现不同来源菌株有共同性血清型,多集中于 45 型(44.55%)、28 型(24.54%)、34 型(9.1%)。其生物型也有类似情况,110 株中只有 I 型(20%)和 II 型(80%),未发现 III, IV 型。说明两个分型方法对追溯空肠弯曲菌肠炎的传染源有重要意义。

**关键词** 空肠弯曲菌;增菌;血清型;生物型

近年来,有些微生物工作者用选择性增菌肉汤从人的粪便标本中分离空肠弯曲菌能提高检出率<sup>[1-3]</sup>;并在鉴定方法上有新发展。采用生物学和血清学分型方法<sup>[4-9]</sup>,对流行病学追溯空肠弯曲菌肠炎的传染源和传播途径方面有着重

要意义。应用增菌法检查空肠弯曲菌,国内尚未见到报道。生物学和血清学分型的报道也少见。因此,我们在 1983 年的初步结果基础上<sup>[5]</sup>,于 1985 年夏秋季再次应用增菌法,对其培养基成份略加改进,并与直接法作了比较。结果说

明,增菌法可提高检出率达 48% 以上。并对分离出的空肠弯曲菌菌株作了生物学和血清学分型。现将其结果报告如下。

## 材 料 和 方 法

### (一) 培养基

增菌培养基 (EB): 用改良布氏肉汤 100 ml, 加羊血 5ml, 抗菌素混合液 1ml (含增效剂 TMP 0.5mg、万古霉素 1.5mg、多粘菌素 B200 IU 和庐山霉素 1.5mg)。分离培养基 (BAP): BAP 和 EB 的基本成份及配制方法均按上海市卫生防疫站干燥制品说明书进行。

### (二) 标本采集

用无菌棉拭子从驻京部队周围三个医院 (简称 A、B、C) 肠道门诊取急性腹泻病人粪便 379 份; 从某医院鸡、猪场取鸡、猪粪便各 60 份, 将标本插入 Cary-Blair 半固体培养基内, 于 4—24 小时送实验室检验。

### (三) 分离培养

1. 直接分离法 (直接法): 将采有粪便棉拭子直接涂在 BAP 上划线接种。

2. 选择增菌法 (增菌法): 将上述用过的棉拭子插入 EB 增菌管内 (含 EB 5ml), 连同上述平板置于微氧罐 (5% O<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>、85% N<sub>2</sub>) 或腊烛缸内, 43℃ 孵育 24 小时, 然后从 BAP 平板上挑取可疑菌落鉴定。另外从 EB 增菌管内挑取 1—2 白金环培养物在 BAP 平板上划线培养。同上法培养 24 小时, 再按下述方法鉴定。

### (四) 鉴定

按文献 [4, 5] 方法, 和用卫生部药品生物制品检定所提供的 7 种多价和 52 种单价分型血清进行鉴定, 及生物学和血清学分型。血清学分型是将被检菌种接种在无血培养基 (CFP)<sup>[4]</sup> 上培养的, 用丙酮醛化血球, 待致敏后配成 1% 血球悬液作被动血凝实验。

## 结 果

### (一) 增菌法与直接法分离效果比较

用增菌法和直接法从 379 份腹泻患者粪便

中共分离出空肠弯曲菌 29 株 (7.65%), 其中增菌法分离出 29 株 (100%), 直接法 15 株 (51.7%)。经统计学分析  $\chi^2=12.07, P<0.001$ , 差异非常显著 (见表 1)。从不同医院分离的菌株数也有一定区别, 以 B 医院阳性率最高 (11.82%), A 医院次之 (6.49%), C 医院最低 (5.45%) (见表 2)。另外, 因缺混合气体用烛缸法培养, 从 60 份鸡和 60 份猪粪便中分离出空肠弯曲菌分别为 50 株 (83.33%) 和 32 株 (53.33%)。

表 1 两种方法分离空肠弯曲菌结果

方 法	直 接 法		合计数(%)
	+	-	
增菌法 + -	15 0	14 350	29(7.65) 350(92.35)
合计数%	15(3.96)	364(96.04)	379(100)

总符合率 =  $(15+350) \div 379 = 96.3$ 。

配对法:  $\chi^2 = 12.07, \therefore \chi^2_{(1), 0.001} = 10.83$ 。

$\therefore \chi^2 > \chi^2_{(1), 0.001} \quad P < 0.001$ 。

表 2 两种方法从不同医院分离空肠弯曲菌结果

菌株来源	标本数	阳性数 (%)	
		增菌法	直接法
A	231	15(6.49)	7(3.0)
B	93	11(11.82)	6(6.45)
C	55	3(5.45)	2(3.64)

### (二) 血清学分型结果 (见表 3)

从人、鸡和猪粪便标本共分离出空肠弯曲菌 111 株, 对其中 110 株进行了血清学分型。血清型谱数有 15 个, 即 1、4、14、21、26、28、20/28、26/34、34、35、44、45、48、49 和 14/45。但常见血清型主要集中在 28、45 和 34 型, 其不同来源 (人、鸡和猪) 分布为: 28 型分别为 7/28 (25%)、10/50 (20%)、10/32 (31.25%); 45 型分别为 6/28 (21.43%)、26/50 (52%)、17/32 (53.13%); 34 型分别为 7/28 (25%)、2/50 (4%)、1/32 (3.1%)。从总计来看, 45 型是最多的 49/110 (44.55%), 其次为 28 型 27/110 (24.55%), 34 型 10/110 (9.1%)。

表3 不同来源菌株血清型分布

来源	菌株数	血 清 型														
		1	4	14	21	26	28	20/28	26/34	34	35	44	45	48	49	14/45
人	28	0	0	1	2	1	7	1	0	7	0	2	6	0	1	0
鸡	50	1	0	5	0	0	10	1	1	2	0	3	26	0	0	1
猪	32	0	1	0	0	0	10	0	0	1	1	1	17	1	0	0
合计	110	1	1	6	2	1	27	2	1	10	1	6	49	1	1	1
(%)		(0.9)	(0.9)	(5.46)	(1.8)	(0.9)	(24.55)	(1.8)	(0.9)	(9.1)	(0.9)	(5.46)	(44.55)	(0.9)	(0.9)	(0.9)

### (三) 生物学分型结果

通过马尿酸水解作用、硫化氢产生和萘啶酮酸敏感试验,对110株空肠弯曲菌进行了生物学分型(表4)。结果只发现I和II型,未发现III和IV型。其中以II型(88/110)最多,占80%,I型(22/110)较少占20%。不同来源菌株亦有类似情况,II型中从人、鸡和猪粪便中分离到的分别为27/28(96.43%)、40/50(80%)、21/32(65.62%);I型中分别为1/28(3.57%),10/50(20%)、11/32(34.38%)。

表4 不同来源菌株生物学分型结果

来 源	菌株数	生物I型(%)	生物II型(%)
人	28	1(3.57)	27(96.43)
鸡	50	10(20.0)	40(80.0)
猪	32	11(34.38)	21(65.62)
合 计	110	22(20.0)	88(80.0)

## 讨 论

Michael<sup>[1]</sup>应用选择增菌法从食品中分离出少量弯曲菌(0.1—0.4个/g)。Donna等(1984)<sup>[2]</sup>应用该法分离人的粪便标本,检出率比直接法提高30%。我们在1983年的初步结果可提高33.33%<sup>[3]</sup>。于1985年再次比较,并且将其增菌培养基成份加以改进,即用改良布氏肉汤作基础,用庐山霉素代替放线菌酮,去掉了琥珀酸钠和L-半胱氨酸,重新组合一个配方。从379份标本中分离出29株空肠弯曲菌,选择增菌法(29株)比直接法(15株)多分离出14株。这14株菌中有9株是从轻度腹泻患者软便中分离到的,5株是从服药3—5天患者粪便中分离的。这些病人粪便中含菌量较少,直接法不易分离出,而经增菌培养后,空肠弯曲菌大量繁殖

容易分离到。因此用增菌法分离时,BAP平板上布满了纯培养菌落,致使检出率高达48%以上。经统计学分析, $P < 0.001$ ,两种方法有明显差异,增菌法优于直接法。这一点对轻度腹泻或服过药的病人粪便检查更有重要意义。同时说明了新组合的增菌培养基抑制杂菌能力较强,使空肠弯曲菌得以大量增殖。而且实验用试剂是国产的便于推广。

北京地区分离到的菌株主要集中在45型(44.55%)、28型(24.55%)和34型(9.1%),与苏州市分离到的菌株主要集中在24、10和49型有很大区别<sup>[8]</sup>,说明不同地区分离的菌株血清型分布不同。

近年来,有许多报道<sup>[4,6,9]</sup>均说明空肠弯曲菌广泛分布在自然界,家禽家畜是人类空肠弯曲菌肠炎的主要传染源。本文110株菌的血清学和生物学分型结果均与文献报道基本一致。为家禽家畜是人类空肠弯曲菌肠炎的主要传染源看法提供了更充分的依据。

### 参 考 文 献

- [1] Michael, P. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.* **43** (6): 1342, 1982.
- [2] Donna, S. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **19**(1): 434, 1984.
- [3] 张绪团等: *人民军医*, **2**: 36, 1985.
- [4] 陈晶晶等: *中华微生物学和免疫学杂志*, **5**(4): 258, 1985.
- [5] Penner, J. L. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **12**(6): 732, 1980.
- [6] Lior, H. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **15**(5): 761, 1982.
- [7] 贯名正文他: *日本细菌杂志*, **39**(3): 592, 1984.
- [8] 王焕姐等: *苏州医学院学报*, **2**: 9, 1985.
- [9] Garota, M. M. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.* **49** (3): 667, 1985.
- [10] 赵汉良等: *公共卫生与疾病控制杂志*, **3**(3): 57, 1984.