

# 伤寒沙门氏菌变异研究

吉瑞庭 刘维先

(中国人民解放军昆明部队第72医院, 云南)

1975年6月, 在伤寒病暴发流行的防治工作中, 分离了八株典型伤寒杆菌。此后每年又从一些散在病例中同样分离到典型菌株。但到1979年6月, 从住院病人中分离出三株变异菌。现将变异菌株的观察结果报告于下。

## 材料与方 法

### 一、材料

1. 变异菌(35160、35167、35232): 分离自伤寒病人血液。

2. 标准菌: 上海生物制品研究所生产的伤寒杆菌“O”诊断菌液。

3. 培养基: 除常用普通培养基外, 血培养是用胰化蛋白胨液<sup>[1]</sup>, 双糖培养基是 Kligler 双糖琼脂<sup>[2]</sup>, 单糖发酵管是液体。

4. 伤寒杆菌诊断血清和沙门氏菌属诊断血清均由成都生物制品研究所供给。

5. 抗菌素: 庆大霉素、卡那霉素、氯霉素、链霉素、新霉素、金霉素、四环素和土霉素。

## 二、方法

### (一) 变异菌的分离与鉴定

取病人血液接种到胰化蛋白胨液内, 37℃ 培养 24—48 小时后, 将培养物转种到血平板上, 再置 37℃ 培养 24 小时, 观察菌落性状, 并按菌落大小分别挑选, 再接种到 Kligler 双糖琼脂上, 37℃ 培养 24 小时, 检查双糖反应, 涂片, 革兰氏染色, 镜检, 作血清学鉴定。

初步确定为伤寒杆菌后, 将胰化蛋白胨液的培养物稀释成  $10^{-5}$ , 取 0.05 毫升, 接种到普通琼脂平板上, 37℃ 培养 24 小时, 观察一次再培养 2—3 日, 观察一次。分别取大小菌落接种到普通琼脂斜面上, 培养 24 小时, 稀释适当浓度, 如前法作传代培养, 观察菌落性状。

### (二) 生化反应

采用单糖发酵管法。

### (三) 血清学试验

1. 取斜面培养物与伤寒杆菌诊断血清和沙门氏菌属诊断血清作玻片凝集试验。

2. 取分离菌株 35160 和 35167 的琼脂培养物制成的“O”抗原, 和伤寒杆菌“O”诊断菌液, 分别免疫家兔。采家兔血清作三菌株交叉定量凝集试验。家兔免疫前, 取心血分离血清, 与拟免疫的菌株进行试管凝集反应, 经筛选无自然抗体者可供试验用。

收取免疫血清后, 再取标准菌和 2 株分离菌作交叉吸收试验。

### (四) 药物敏感试验

三株变异菌对八种抗菌素的药物敏感试验, 用纸碟法测定<sup>[3]</sup>。

## (五) 返祖试验

将三株分离菌的大小菌落分别接种到半固体琼脂上, 置室温培养 40 天取菌苔。再转种到 Kligler 双糖琼脂和乳糖、蔗糖的单糖发酵管内, 作药物敏感试验。

## 观察结果

### 一、生物学性状

三株分离菌均为革兰氏阴性杆菌, 无动力, 在液体培养基中呈混浊状态。在固体培养基上, 菌落圆形, 无色半透明, 表面光滑, 边缘整齐。在三株菌中均可分离出两种大小不同的菌落, 大的直径 2—3 毫米, 约占总菌数的 2/3。小的直径 1 毫米左右, 最小的如针尖, 约占总菌数的 1/3。每株菌的大小菌落分别在普通琼脂上传代, 结果子代均以亲代的菌落大小为主, 兼有少量的另一种菌落。实验表明, 分离菌的生物学性状基本符合伤寒杆菌的特性。

### 二、生化反应 (见表 1)

从表 1 看出, 三株分离菌在 Kligler 双糖琼脂上均呈现阳性反应, 在乳糖、蔗糖的单糖发酵管内均发酵, 但发酵不完全, 先产酸后返碱。

### 三、血清学性状

三株分离菌的培养物均与伤寒杆菌诊断血清和沙门氏菌属诊断血清中的 9、Vi 和 d 有明显凝集, 两株分离菌(35160 和 35167)与诊断菌液的交互凝集滴度完全一样, 均为 1280。交叉吸收试验结果均能吸收。

### 四、药物敏感试验 (见表 2)

表 2 结果表明, 三株分离菌对药物的敏感性不同; 同一菌株所分离出的大小菌落对药物的敏感性也不同。35232 菌株的小菌落对 8 种抗菌素均不敏感。

### 五、返祖试验

三株分离菌中, 除 35160 株的小菌落在 Kligler 双糖琼脂上发酵完全, 在乳糖、蔗糖的单糖发酵管内有微弱发酵(6 小时后逐渐返碱)外, 其它各菌株的生化反应均能恢复到典型特性, 但对药物的敏感性却与返祖试验前的相同。

表 1 三株分离菌的生化反应

分离菌株	菌落	生 化 反 应															
		克氏双糖琼脂	葡萄糖	乳糖	甘露醇	蔗糖	麦芽糖	肌醇	木胶	阿拉伯胶糖	侧金盏花醇	鼠李糖	卫矛醇	甘油红肉汤	尿素	硫化氢	明胶
35160	大小	+/+	+	++	+	+++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	大小	+/+	+	++	+	+++	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
35167	大小	+/+	+	++	+	+++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	大小	+/+	+	++	+	+++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
35232	大小	+/+	+	++	+	+++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	大小	+/+	+	++	+	+++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-

\* 表内“+/+”示 Kligler (克氏)双糖琼脂的上下层均有发酵产酸反应。“-”示观察 15 天,阴性。“+<sup>10</sup>”示观察到第 10 天发酵。“+”24 小时内发酵产酸。“++”迅速发酵,12 小时内达顶点,但发酵不完全,逐渐返碱。“+++”示 24 小时内迅速完全发酵,32 小时后逐渐返碱。“⊖”示微弱。

表 2 分离菌对药物敏感试验

分离菌株	菌落	抑 菌 圈 直 径 (毫 米)							
		庆大霉素	卡那霉素	氯霉素	链霉素	新霉素	金霉素	四环素	土霉素
35160	大小	16	16	16	-	-	-	-	-
	大小	20	16	16	-	-	-	-	-
35167	大小	18	18	16	18	16	-	-	-
	大小	18	18	16	-	16	-	-	-
35232	大小	18	-	-	-	-	-	-	-
	大小	-	-	-	-	-	-	-	-

## 讨 论

1. 根据三株分离菌的生物学、血清学性状等试验的结果分析,均符合伤寒沙门氏菌,但在 Kligler 双糖琼脂上能完全发酵;在单糖发酵管内也能分解乳糖和蔗糖,这是伤寒杆菌不应有的现象<sup>[4]</sup>。此现象经半固体琼脂返祖试验,多数菌又失去对乳糖和蔗糖的发酵能力,恢复其原有特性。由此说明,伤寒沙门氏菌的生化特性发生了变异。

2. 三株分离菌的大小菌落在色泽、形状、透明度、生化特性和血清学反应等方面完全一样。与考夫曼<sup>[4]</sup>叙述的侏儒型伤寒沙门氏菌菌落有显著差别。但对抗菌素的敏感性和耐药程度不一致,说明这种小型菌落纯属生长特性上的变异。小型菌落接种传代后,仍不失其生长、

生化特性,耐药性亦可传给子代,经返祖试验也不能迅速改变对药物的敏感性。

3. 据报道,伤寒病的典型症状和特征近年逐渐少见。这种临床症状的变迁可能与细菌变异有一定关系。本文报道的三株分离菌在生长、生化特性上已发生变化,但经返祖试验很容易恢复原有特性,至于是否会继续改变下去,还需严格注意观察。三株分离菌发生变异的原因,据有关资料<sup>[6]</sup>推测,可能与病原、免疫和广泛使用抗菌素等相互作用有关。

## 参 考 文 献

- [1] 上海市医学化验所:实用临床检验(第一版),905 页,上海科技出版社,1965。
- [2] 程知义:细菌性痢疾的实验室诊断(第一版),155 页,人民卫生出版社,1958。
- [3] 朱忠勇等:临床医学检验(第一版),542 页,上海科技出版社,1978。

(下转 223 页)

(上接 216 页)

- [4] 考夫曼著(方景灿等译): 肠杆菌科(第一版), 9—16 页, 人民卫生出版社, 1964。
- [5] P. R. 艾德华和 W. H. 爱文著(郝士海等译): 肠杆

- 菌科的鉴定(第一版), 18 页, 上海科技出版社, 1964。
- [6] L. M. Weiner: J. Bact. **79** (6): 863, 1960.