

28 株产肠毒素大肠杆菌的生化反应和药敏试验

林成水 曾昭鸿 庄世福 王 斌

(福建省卫生防疫站,福州)

近年来,国内外学者从霍乱样腹泻病人粪便中分离出能产生肠毒素的大肠杆菌,即产肠毒素性大肠杆菌(ETEC)。为了观察产肠毒素性大肠杆菌、致病性大肠杆菌与普通大肠杆菌之间的差别。我们将收集到的菌株进行了兔肠攀试验、生化反应、药敏试验及血清凝集试验。

材 料 和 方 法

一、菌株来源

从成年人霍乱样腹泻病人粪便中分离出产肠毒素大肠杆菌 28 株;从小儿腹泻病人检出致病性大肠杆菌 40 株;从健康人群中分离出大肠杆菌 73 株,共计大肠杆菌 141 株。

二、家兔肠结扎试验

试验菌株接种于 3% pH7.6 胨胨水中,置 37℃ 孵育 4 天^[1];阳性对照菌株孵育 1 天。其培养液进行家兔肠攀试验。选择 2Kg 左右的健康家兔,麻醉后剖腹,取出小肠,每 5cm 结扎一段,每段间隔约 1cm,每只兔共结扎 15 段左右,每段注入试验菌株培养液 1ml,并设阳性和阴性对照段,阳性对照段注入阳性菌株培养液 1ml;阴性对照段注入 3% 胨胨水 1ml。然后放回小肠缝合腹部。24 小时后,处死家兔剖腹,检查各肠段的反应情况。在对照段反应正常时,测量各肠段的液体贮留量。每厘米肠段平均积

液 $\geq 1\text{ml}$ 者,即为阳性反应,表示该菌株能产生肠毒素。

三、生化反应

按常规方法进行。

四、药物敏感试验

采用纸片法。

五、玻片凝集试验

用 OK 多价 I—V 抗血清进行试验。

试验结果

一、家兔肠攀试验

28 株产肠毒素大肠杆菌经兔肠攀试验,结果平均每厘米肠段积液 3ml 者有 2 株, $\geq 2.5\text{ml} - < 3\text{ml}$ 有 4 株; $\geq 2\text{ml} - < 2.5\text{ml}$ 有 6 株; $> 1.5\text{ml} - < 2\text{ml}$ 有 7 株; $1 - 1.5\text{ml}$ 有 9 株(表 1)。40 株致病性大肠杆菌及 73 株大肠杆菌进行家兔肠攀试验均为阴性反应,平均每厘米肠段积液量少于 0.1ml。

二、生化反应

141 株大肠杆菌中,90% 以上菌株能分解葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、甘露糖、阿拉伯

糖、木糖、鼠李糖;90% 以上菌株不分解肌醇、尿素、柠檬酸盐。

产肠毒素大肠杆菌与不产肠毒素大肠杆菌对各种酯、醇类及其他生化反应的阳性率很接近。但产肠毒素大肠杆菌对蔗糖分解高于从健康人群分离到的大肠杆菌($p < 0.05$),而显著低于致病性大肠杆菌($p < 0.01$)。同时产肠毒素大肠杆菌能分解蔗糖的菌株,有 75% 是迟缓分解。10 株能分解水杨素的产肠毒素菌株都是迟缓分解的,其分解阳性率明显高于致病性大肠杆菌($p < 0.01$)。产肠毒素菌株能分解卫茅醇的均在 24 小时内分解,而不产肠毒素菌株都有迟缓分解的菌株(表 2)。

三、药物敏感试验

28 株产肠毒素性大肠杆菌的药物敏感试验结果见表 3。

四、致病性大肠杆菌血清分型

供试菌株均以 OK 多价 I—V 抗血清(五种多价,20 种单价抗血清)作凝集试验。小儿腹泻病人分离的 40 株致病性大肠杆菌中,有 O_{55} 30 株, O_{126} 3 株, O_{26} 、 O_{28} 、 O_{44} 、 O_{86} 、 O_{119} 、 O_{125} 、 O_{127} 各 1 株;健康人群中分离的 73 株中有 11 株致病性大肠杆菌,其中 O_{86} 4 株, O_{44} 和

表 1 28 株产肠毒素大肠杆菌兔肠攀试验结果

菌号	细菌学鉴定	平均积液 (ml/cm)	菌号	细菌学鉴定	平均积液 (ml/cm)
1	致病性大肠杆菌 $O_{127}:B_3$	1.16	15	致病性大肠杆菌 $O_{114}:KX_2$	1.40
2	普通大肠杆菌	1.20	16	致病性大肠杆菌 $O_{114}:KX_2$	1.28
3	普通大肠杆菌	1.66	17	普通大肠杆菌	3.00
4	普通大肠杆菌	1.83	18	普通大肠杆菌	2.87
5	普通大肠杆菌	1.29	19	普通大肠杆菌	2.50
6	致病性大肠杆菌 $O_{127}:B_3$	1.54	20	普通大肠杆菌	2.10
7	致病性大肠杆菌 $O_{127}:B_3$	1.69	21	普通大肠杆菌	3.00
8	普通大肠杆菌	1.80	22	普通大肠杆菌	2.80
9	普通大肠杆菌	2.00	23	普通大肠杆菌	2.10
10	普通大肠杆菌	1.18	24	普通大肠杆菌	2.02
11	普通大肠杆菌	2.25	25	普通大肠杆菌	1.18
12	普通大肠杆菌	1.45	26	普通大肠杆菌	1.93
13	普通大肠杆菌	2.15	27	普通大肠杆菌	1.95
14	普通大肠杆菌	2.80	28	普通大肠杆菌	1.24

表2 大肠杆菌生化反应

试验项目	产肠毒素菌株		健康人群的菌株		致病性大肠杆菌	
	+%	(+%)	+%	(+%)	+%	(+%)
葡萄糖	100		100		100	
产酸	100		100		100	
产气	100		100		100	
乳糖	100		100		100	
麦芽糖	100		98.6	(1.4)	100	
甘露糖	100		97.3		100	
蔗糖	14.3	(42.9)	27.4	(6.8)	92.5	
硫化氢	0		0		0	
尿素	0		0		0	
甲基红	100		100		100	
V.P 反应	0		0		0	
柠檬酸盐	0		0		0	
硝酸盐还原	100		100		100	
水汤素	0	(35.7)	10.9	(20.5)	5	
肌醇	0		1.4		0	
阿拉伯糖	100		98.6		97.5	
卫茅醇	21.4		35.1	(21.6)	12.5	(10)
棉子糖	60.7	(7.1)	50.6	(6.8)	87.5	
蜜糖	78.6	(7.1)	98.6		70.0	(12.5)
木糖	100		100		97.5	(2.5)
鼠李糖	92.9		90.4	(4.1)	100	
甘露醇	100		98.6	(1.4)	100	
山梨醇	67.9		97.3		37.5	(35)
明胶液化	0		0		0	
凝基质	100		100		85	

注: +%: 阳性反应菌株的百分率; (+%): 迟缓阳性反应菌株的百分率。

表3 28株产肠毒素性大肠杆菌药物敏感试验(株)

敏感程度	青霉素	金霉素	土霉素	红霉素	四环素	磺胺嘧啶	合霉素	呋喃妥因	庆大霉素	链霉素	新霉素	卡那霉素
不敏感	28	17	17	16	15	11	7	1				
中度敏感		9	3	10	2		6	11		3	1	
高度敏感		2	8	2	11	17	15	16	28	25	27	28

注: 表中数字为菌株数

O₂₀ 各2株, O₂₅、O₁₂₆、O₁₂₈ 各1株; 28株产肠毒素大肠杆菌中有5株能与致病性大肠杆菌抗血清凝集, 即 O₁₁₄ 2株, O₁₂₇ 3株。

讨 论

1. 28株产肠毒素大肠杆菌的生化反应结果, 与不产生肠毒素大肠杆菌的生化反应基本一致^[2]。但产肠毒素大肠杆菌分解蔗糖阳性率高于健康人群分离的大肠杆菌, 显著低于小儿

腹泻病人分离的致病性大肠杆菌; 而分解卫茅醇、山梨醇的阳性率明显低于健康人群分离的大肠杆菌。至于产肠毒素菌株与不产生肠毒素菌株之间的生化特性, 有待进一步研究。

2. 产肠毒素大肠杆菌引起霍乱样腹泻能否流行? 从观察的病例中均为散在分布, 而且病例之间没有任何联系, 目前尚未能看出有流行的趋势。至于本病有否健康带菌者问题, 国外
(下转第34页)

(上接第 20 页)

有些作者认为,恢复期病人的产肠毒素大肠杆菌在小肠中消失,定位于大肠,而大肠粘膜不受肠毒素作用,因而成为无症状带菌者^[1]。我们在调查中尚未发现健康带菌者。

3. 在靛基质、甲基红、服泼二氏试验和柠檬酸盐的反应结果中,呈++--型反应的菌株最为常见。我们试验 141 株中有 136 株属于这个型,占 95.8%;而呈-+-型反应的菌株有 6 株,占 4.2%。与杨正时等报告基本一致^[4]。但呈-+-型反应的菌株只发现在小儿腹泻病人分离的致病性大肠杆菌菌株中,占该型菌

株 15%,而产肠毒素菌株和健康人群分离的菌株未发现有一+-型反应的菌株。

4. 产肠毒素大肠杆菌对多数抗菌素是敏感的,特别是卡那霉素、庆大霉素、新霉素、链霉素等具有高度敏感,在治疗由产肠毒素性大肠杆菌引起霍乱样腹泻时,应首选这些药物。

参 考 文 献

- [1] 林成水等: 流行病学杂志,1(2): 105—106,1980。
- [2] 郝士海等译: 肠杆菌科的鉴定(第三版),第60页,1978,科学出版社。
- [3] 鲍行豪等: 微生物学通报,7:3,1980。
- [4] 杨正时等: 微生物学报,19(3): 321—326,1979。