

大肠杆菌产生不耐热肠毒素的影响因素

林成水 李功惠 曾昭鸿 曾凝梅

(福建省卫生防疫站)

为了探讨大肠杆菌产生肠毒素的影响因素,近年来,我们从霍乱样腹泻病人粪便中分离的优势菌,经多次兔肠结扎试验,证实大肠杆菌 7910、7914、7915、7922、7926、432、447、7927、7929、7930、7931、7948 等 12 株能产生不耐热肠毒素,该菌株接种于 pH7.6、3% 豚豚水中,置 37℃ 孵育 4 天。每一影响因素的每次测定均在同一家兔小肠结扎段中进行,兔肠结扎试验方法见文献[1]。

1. 培养时间对产生肠毒素的影响: 我们对 7922、7929、7930、447、432 等菌株进行 13 次不同时间培养观察,结果培养 1 天者,每厘米肠段平均积液量为 1.1ml; 2 天者为 1.94ml; 3 天者为 2.4ml; 4 天者为 2.8ml。经方差测验, $P < 0.01$ 。培养 1 天者大多数呈阴性反应; 培养 2—3 天者仍有阴性反应; 培养 4 天者,不仅积液量多,而且每次试验都呈阳性反应。实验证明随着培养时间的延长,产生肠毒素的数量也增加。说明大肠杆菌产生肠毒素较慢,需要一定时间才能产生足够肠毒素。因而,我们认为对腹泻病人分离的菌株进行肠毒素试验时,以培养 4 天为宜,避免能产生肠毒素菌株的遗漏,特别是对某些产生肠毒素较慢,或产生肠毒素较少的菌株显得更为重要。

2. 不同培养温度对产生肠毒素的影响: 我们对 7910、7914、7915、7922、7926、7929、7930、7931 等 8 株菌株,在 17℃ 培养 4 天,其培养液能使每厘米兔肠段平均积液量为 0.75ml; 27℃ 为 1.55ml; 37℃ 为 1.71ml; 40℃ 为 2.03ml; 42℃ 为 1.96ml。实验结果表明,在 17℃ 培养时,产生肠毒素量明显低于 27—42℃, $P < 0.05$ 。27℃ 培养时,其积液量虽与 37—42℃ 培养无明显差异,但有 2 次试验每厘米肠

段积液量少于 1ml。我们认为以 37—42℃ 培养较适宜。

3. 培养液的不同 pH 值对产生肠毒素的影响: pH4 的 3% 豚豚水培养液,平均每厘米肠段积液量为 0.12ml; pH5 为 2.08 ml; pH6 和 7 为 2.14 ml; pH8 为 2.26ml; pH9 为 2.28 ml。说明大肠杆菌在 pH4 的豚豚水中产生肠毒素量明显低于 pH5—9。 $P < 0.01$ 。

4. 培养液与空气接触面大小对产肠毒素的影响: 我们用 7915、7922、7927、7930 菌株实验结果,培养液与空气接触面每 cm^2 含培养液 0.5 ml 时,其培养液能使每厘米肠段平均积液量为 2.17ml; 每 cm^2 含培养液 1、1.5、3、5、10ml 时,每厘米肠段平均积液量分别为 2.15、2.06、1.84、1.96、1.76ml。证明了随着培养液与空气接触面每 cm^2 所含容量增加时,其兔肠积液量也随着减少。 $P < 0.01$ 。说明浅层培养能使大肠杆菌产生肠毒素量增加,这可能与产肠毒素大肠杆菌在繁殖和产生肠毒素时,需要较多氧气有关。

5. 不同浓度豚豚水培养对产生肠毒素的影响: 大肠杆菌 7922、7927、7930、等菌株,接种于不同浓度的豚豚水,培养 4 天,结果 0.5% 豚豚水每厘米肠段平均积液量为 2.02ml; 1—6% 豚豚水平均积液量分别为 2.35、2.39、2.46、2.45、2.38、2.51ml,各组之间没有显著差异。

6. 不同豚对产生肠毒素的影响: 用大肠杆菌 7915、7922、7926、7930、7948 等菌株接种于不同豚水中培养,其结果 3% 豚豚水平均每厘米肠段积液量为 3.21ml, 3% 胰豚水为 3.45 ml; 3% 蛋白豚水为 3.57ml; 3% 多价豚水为 3.08 ml。各种豚水对大肠杆菌产生肠毒素量没有明显影响。

7. 搅拌培养对产生肠毒素的影响: 电磁搅拌器搅拌培养 1 天者, 每厘米兔肠段平均积液量为 1ml, 常规培养组为 1.59ml, 两组无显著差异; 搅拌培养 2—4 天者, 每厘米兔肠段平均积液量分别为 1.22、0.84、0.81ml, 而常规培养组分别为 2.84、3.19、3.54ml, 两组有非常显著

差异 ($P < 0.01$)。说明搅拌培养反而使肠毒素含量明显减少。

参 考 文 献

- [1] 林成水等: 微生物学通报, 9(1): 18, 1982。