

临床标本中一组黄杆菌的分离和鉴定

杨暑伏 纪舒萍 郑秀英 徐迪诚

(哈尔滨市卫生防疫站)

姜国强 朱忠勇 邹慧纯 徐风彦

(南京军区福州总医院) (哈尔滨铁路中心医院)

摘要 本文报道从 5 例肺炎病人痰液, 1 例化脓性脑膜炎病人血及脑脊液检出的 7 株黄杆菌, 经表型特征和遗传型特征的系统鉴定, 4 株为黄杆菌 IIb 群菌, 2 株为大比目鱼黄杆菌, 另一株为脑膜脓毒黄杆菌。测试了 7 株菌的药物敏感性和动物致病性。讨论了黄杆菌与临床感染的关系。

关键词 黄杆菌; 分离; 鉴定

我们从 5 例肺炎及 1 例化脓性脑膜炎病人标本中检出 7 株黄杆菌, 其中 4 株鉴定为黄杆菌 IIb 群 (*Flavobacterium group IIb*)、2 株为大比目鱼黄杆菌 (*F. balustinum*)、1 株为脑膜脓毒黄杆菌 (*F. meningosepticum*)。鉴于前两种菌在国内系首次检出, 后 1 种菌的报道也较少^[1,2], 兹将菌株的鉴定结果报告如下。

材料与方 法

(一) 菌株

供试菌共 7 株, 编号为 83-1、83-2、83-3、84-2, 分别由 4 例出生 28—300 天的婴儿肺炎痰中检出; 编号 8401, 系自 1 例 62 岁的肺炎患者痰液中检出; 编号 8511、8512, 分别自 1 例出生 18 天的新生儿血及脑脊液中检出。

(二) 分离与鉴定方法

取病人痰、血、脑脊液, 分离于血液琼脂平板。37℃ 培养 24 小时, 挑取优势菌菌落, 接种 TS1 培养基, 28℃ 培养 24 小时, 均不发酵葡萄糖、乳糖和蔗糖, 菌落略带黄色者用半固体琼脂保存待鉴定。

菌株鉴定: 按文献 [3、4、5] 方法进行操作和判定, 并用 Api-20E 系列生化装置(法国生产)复核^[6]。

(三) 细菌 DNA 中 G+C mol% 测定
采用溶解温度法。

(四) 药敏试验

药敏纸片购自上海市临床检验中心, 按常

规法操作和判定结果。

(五) 小白鼠致病性观察

小白鼠, 3 周龄, 购自农业部哈尔滨兽医研究所。接种的菌液浓度、剂量和部位均按文献 [7] 进行。

结 果

(一) 形态、染色特征

7 株菌均为革兰氏阴性, 杆菌或球杆菌, 0.8—1.1 × 1.2—1.5 μm, 无动力, 无芽孢和荚膜。

(二) 培养特性

7 株菌在 SS、TCBS 琼脂平板上不生长, 在麦康凯琼脂上能生长, 但菌落较小。在普通营养琼脂 28℃ 培养 24 小时, 菌落直径约 1.2—2.2mm, 光滑、湿润、半透明、稍凸起, 加 1 滴 20% KOH 于菌落上, 该菌落迅速变为粉红色, 在普通琼脂平板上, 25—28℃ 培养 48 小时, 均产生脂溶性黄色素, 其中 83-1、83-2、83-3、84-2 菌株的菌落色泽较深, 一般为橙黄色; 在 0.25% 琼脂酪蛋白胨平板上, 菌落中心为黄色、四周为灰白色花瓣状, 28℃ 培养 3 天后, 其直径可达 18mm 以上, 初培养物具有果香味, 而菌株 8401、8511、8512 不形成花瓣状菌落, 在 5% 羊血琼脂平板上, 单个菌落不溶血, 成片菌苔底部产生绿色变区。需氧, 在厌氧条件下

中国科学院微生物研究所蔡妙英副研究员协助测定细菌 GC 值, 对菌株主要性状做了复核, 仅致谢。

表 1 7 株黄杆菌的鉴别特征

	乳糖	蔗糖	果糖	麦芽糖	甘露醇	ONPG	DNA 酶	尿素酶	淀粉酶	卵磷脂酶
黄杆菌 IIb 群(参考株)*	-	d	d	+	-	d	d	+	+	+
83-1 株	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
83-2 株	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
83-3 株	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
84-2 株	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
脑膜脓毒黄杆菌(参考株)*	d	-	+	+	d	+	+	d	-	-
8401 株	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
大比目鱼黄杆菌(参考株)*	-	-	d	-	-	-	+	-	-	NT
8511 株	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
8512 株	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-

*: 引自伯杰氏系统细菌学手册^[4]; “d”生化反应不定; “NT”未做试验

不生长,在 4℃ 和 42℃ 均不增殖。

(三) 生理生化特征

7 株菌在 O-F 培养基中氧化分解葡萄糖,氧化酶、接触酶阳性,产生靛基质,水解七叶灵,液化明胶,在无盐胨水中生长良好;不产生 H₂S,在 3.5% NaCl 胨水中不生长,不利用枸橼酸盐,不分解木糖、肌醇,精氨酸双水解酶、鸟氨酸和赖氨酸脱羧酶阴性。7 株菌对乳糖、蔗糖等 10 项生化试验结果各不相同,它们可做为菌种鉴别的重要依据(表 1)。

(四) 细菌 DNA 中 G + C mol% 值

黄杆菌 83-1、83-2、83-3 和 84-2 株为 36.60, 8401 株为 34.16, 8511 和 8512 株为 31.23。

(五) 抗生素敏感试验

用 18 种抗生素进行药敏试验,菌株 83-1、83-2、83-3、84-2 和 8401 对红霉素、乙酰柱晶白霉素、氯霉素和四环素敏感;对青霉素和先锋霉素等 14 种抗生素耐药。8511、8512 株对红霉素、乙酰柱晶白霉素、新霉素、庆大霉素、螺旋霉素和复方新诺明敏感;对青霉素和多粘菌素 B 等 12 种抗生素耐药。

(六) 致病性

8401 株经小鼠腹腔注射,5 只鼠中有 3 只于第 3 天死亡,经脑内接种 3 只鼠于第 2—3 天死亡,并从其肝、脑等脏器也检出该菌。其他 6 株菌对小鼠无致病性。

根据以上生物学特性和 G + C 值测定的结果,7 株菌分属于黄杆菌属中的 3 个种,其中

83-1、83-2、83-3、84-2 为黄杆菌 IIb 群菌,8511 和 8512 为大比目鱼黄杆菌,8401 为脑膜脓毒黄杆菌。用 Api-20E 系列生化装置对菌株做数值鉴定^[6],也分别得出相应的菌名。

讨 论

鉴定的 7 株菌均为不发酵葡萄糖和产生脂溶性黄色素的革兰氏阴性杆菌。氧化酶、接触酶阳性;无动力、无芽孢;需氧生长。细菌 DNA 中 G + C mol% 在 30—40 之间,符合黄杆菌属的定义^[5-7]。7 株菌中有 4 株为黄杆菌 IIb 群,2 株为大比目鱼黄杆菌,这两种菌在国内系首次检出;1 株为脑膜脓毒黄杆菌。这 3 种菌的主要鉴别特征如表 1 所示,黄杆菌 IIb 群不分解乳糖,不产生 DNA 酶,分解蔗糖,淀粉酶和卵磷脂酶阳性,G + C 值为 36.60 mol%;大比目鱼黄杆菌氧化葡萄糖、果糖,不分解其他糖醇,尿素酶、淀粉酶阴性,G + C 值 31.32 mol%;脑膜脓毒黄杆菌分解乳糖、甘露醇,ONPG 阳性,G + C 值 34.16 mol%,对小白鼠有致病性。根据以上结果,7 株菌的属和种的鉴定依据是充分的。

黄杆菌广布于水和土壤中,在医院的外环境和一些妇女的阴道中常可检出^[7],它与临床感染症有密切关系,常引起婴幼儿、年老体弱者的脑膜炎、肺炎和尿道感染^[7-10]。脑膜脓毒黄杆菌是婴幼儿脑膜炎的重要病原菌,据蕈内英子统计^[11],该菌引起的脑膜炎,婴儿占 95%,儿

童占 1.5%，成人占 3.0%。黄杆菌 IIb 群临床感染的报道较少，Bagled^[12] 和 Stamm^[13] 认为与脑膜炎和菌血症有关。大比目鱼黄杆菌与感染的关系未见报道。我们分离的 7 株黄杆菌，均来自病人标本，并从标本中多次检出，细菌初代分离为优势菌生长，病人使用对检出菌敏感的抗生素治疗，病情好转，说明黄杆菌与这些感染症有关。黄杆菌对多种抗生素耐药^[14]，一旦造成感染，治疗困难。因此，在诊断黄杆菌感染时，要及早进行细菌培养和药敏试验，为临床合理使用抗生素提供依据。

参 考 文 献

- [1] 晏碧君等：中华医学检验杂志，6(5)：17，1983。
[2] 谭世焘等：临床检验杂志，2(3)：53，1984。
[3] Lennette EH et al.: Manual of Clinical Microbiology

(3rd ed), pp. 280—283, American Society for Microbiology, Washington D. C, 1980.

- [4] Krieg NR, JG Holt et al.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology vol. I, pp. 353—361 Williams & Wilkins Baltimore/London, 1984.
[5] Buchanan RE et al.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th ed), pp. 357—360 Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1974.
[6] Shayegani M et al.: J. Clin. Microbiol. 7: 539—545, 1978.
[7] King EO et al.: Am. J. Clin. Pathol. 31(3): 241, 1959.
[8] 蕨内英子·他：日本细菌学杂志，3(11):122,1970。
[9] 赵占春：临床检验杂志，2(4):45,1984。
[10] 古田裕·他：感染症学杂志，48(8):313,1974。
[11] 蕨内英子·他：感染症学杂志，50(11):355,1976。
[12] Bagled CA et al.: J. Invertebr. Pathol., 11: 251, 1958.
[13] Stamm WF et al.: N. Eng. J. Med., 292: 1099—1102, 1975.
[14] Holmes B et al.: Int. J. Syst. Bacteriol., 28(2): 201, 1978.