

伤寒沙门氏菌的裂解气相色谱分析

纪 标 任培上 唐 银 熊宏恩

(湖南医科大学第一附属医院传染病研究室,长沙 410008)

谭 立

(北京航空医学研究所北京 100036)

摘要 本文应用裂解气相色谱法分析 15 株伤寒沙门氏菌(其中标准株 1 株,临床株 14 株)的色谱图,结果表明,临床株裂解气相色谱图分为 A 和 B 两类。A 类(7 株)色谱图完全相同;B 类(7 株)色谱图仅相似,但按其差异又可分为 B₁ 组(4 株),B₂ 组(2 株)和 B₃ 组(1 株)。组内色谱图完全相同。B₁ 组图谱更接近于标准株。裂解图谱与血清型和抗药谱之间未发现有规律性的联系,但它们为伤寒沙门氏菌的鉴定和色谱图库的建立提供了有益的参考。

关键词 伤寒沙门氏菌;裂解气相色谱;血清学;抗药性

1965 年以来,裂解气相色谱法在分析微生物工作中已被广泛应用^[1]。周方等^[2]于 1980 年应用裂解气相色谱法分析了肠道杆菌。金天如

等^[3]于 1984 年报道裂解指纹图的峰形可分类鉴定试验菌株。1985 年崔镜等^[4]报道,菌属之间有明显差异。近年来国内报道,共检测 4 株

沙门氏菌属的标准株,伤寒沙门氏菌2株,副伤寒甲沙门氏菌1株,鼠伤寒沙门氏菌1株。但未检测临床分离菌株。

本文应用裂解气相色谱法分析15株伤寒沙门氏菌的裂解气相色谱图,与血清学和抗药谱之间的联系,结果报道如下。

材 料 和 方 法

(一) 供试菌株

共15株伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*),其中标准株H_{901,9097}(下称H₉₀₁)1株,由湖南医科大学微生物教研室提供。临床株有14株,从1990年9—10月一起暴发流行的伤寒患者的血和骨髓培养中分离到,其中血培养6株,骨髓培养8株。15株伤寒沙门氏菌均能被肠杆菌科分属诊断噬菌体中O-1所裂解。

(二) 培养基

菌种分离采用SS和麦康凯(Mac)培养基。菌种活化和菌样制备采用肉膏汤及营养琼脂。SS、Mac和营养琼脂均购自上海医学化验所,肉膏汤由本室常规配制。沙门氏菌属诊断血清为兰州生物制品研究所产品。肠杆菌科分属诊断噬菌体为江西省卫生防疫站产品。药物纸片为浙江军区后勤部卫生防疫检验所产品。

(三) 仪器

采用带有Hp₃₃₉₂积分仪的Hp₅₈₉₀A气相色谱仪,配以CDS₁₂₂型热丝式裂解器。色谱柱为PEG-20M弹性石英玻璃毛细管柱,内径为0.25mm,长25m,不分流。检测器为氢火焰离子化检测器(FID),Hp₅₈₉₀A气相色谱仪(美国Hp公司)。

(四) 菌样制备

将4℃冰箱保存的菌种转种于肉膏汤中,置37℃温箱过夜活化。次日接种于营养琼脂平板、置37℃温箱过夜,4000r/min离心15分钟,重复洗涤和离心各三次,最后用0.5ml蒸馏水制成粘稠菌液,装入安瓿冻干备用。

(五) 色谱条件

载气为高纯氮气,流量为45ml/min,氢气流速为40ml/min,空气流速为400ml/min。

放大置1,衰减置2。色谱柱起始温度为60℃,保留0.5分钟,然后以20℃/min速率升至160℃,保留8分钟,平衡时间2分钟。进样口温度为200℃,裂解温度为770℃,裂解时间为20秒,升温速率为20℃/10⁻³s,接口温度为50℃。走纸速率为8mm/min。按上述程序,每个样品重复分析3次。

结 果 与 讨 论

(一) 15株伤寒沙门氏菌裂解气相色谱图分析

15株供试伤寒沙门氏菌所获得裂解气相色谱图清晰,裂解图谱重现性良好。用目测法将图谱划分为a、b、c、d和e5个区段的图形进行分析比较,根据裂解指纹图差异进行分组。15株伤寒沙门氏菌裂解气相色谱指纹图,在a区段三个峰中,第一峰小于第二峰,第二峰小于第三峰者划为A组。A组均为临床株,包括5663,5657,5630,5736,5655,5660和12共7株,组内裂解气相色谱图完全相同(图1)。在a区段三个峰中,第一峰大于第二峰而小于第三峰者划为B组。B组包括临床株:5631,561,5746,6197,5701,38和14共7株和标准株(H₉₀₁)1株。B组中根据b、c或e区段上图形差异,又可分为B₁组(5631,5661,5736,6197)共4株;B₂组(5701,38)共2株;B₃组(14)1株和标准株(H₉₀₁)1株。各组内的色谱图相同,而组间色谱图的区别在于标准株与

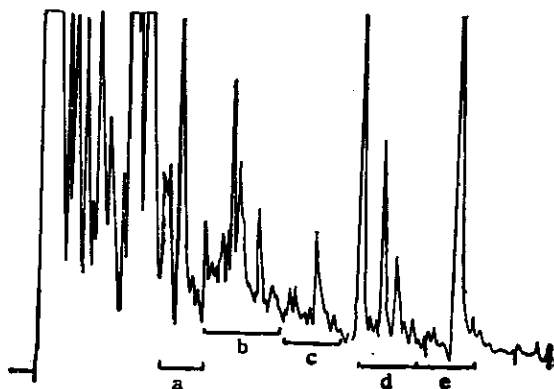
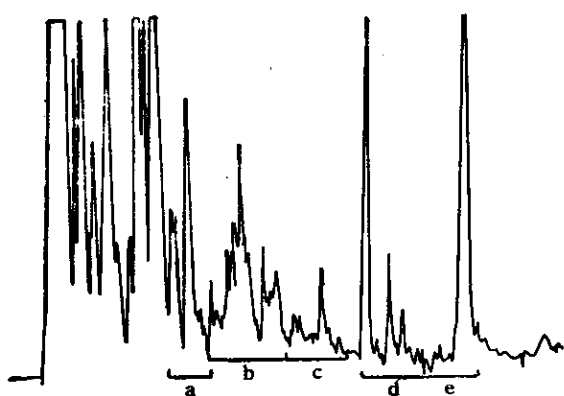
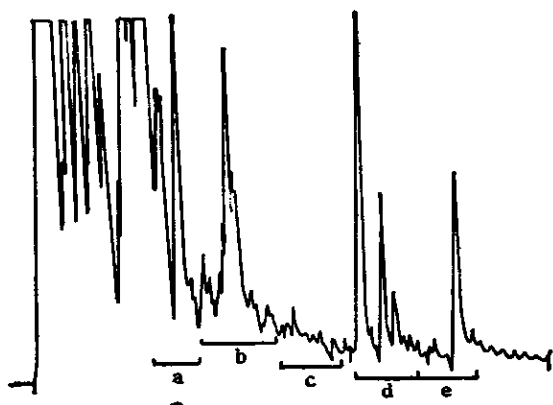
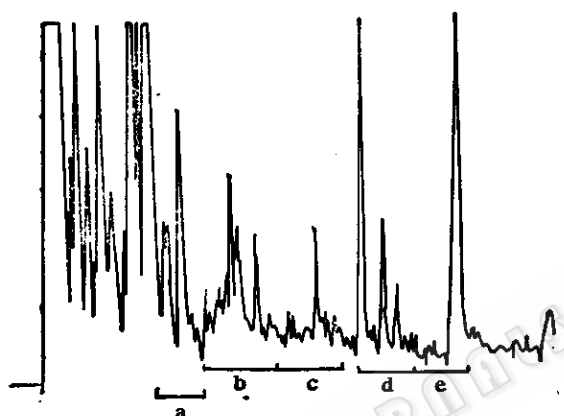
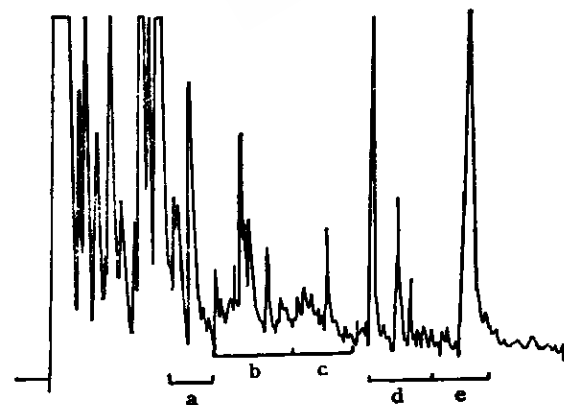


图1 伤寒杆菌A组(5663,5657,5630,5736,5655,5660,12)裂解气相色谱图

图2 标准株-伤寒杆菌 H_{901,90097} 裂解气相色谱图图5 伤寒杆菌 B₁ 组 (14) 裂解气相色谱图图3 伤寒杆菌 B₁ 组 (5631, 5661, 5746, 6197) 裂解气相色谱图图4 伤寒杆菌 B₂ 组 (5701, 38) 裂解气相色谱图

B₁ 组在 b 区段上有差异(图 2、3)。B₁ 组与 B₂ 组在 b 区段和 c 区段上有差异(图 4)。B₃ 组在 b、c、e 区段上与前两组也有差异(图 5)。因此, B₁ 组更接近于标准株。

(二) 裂解气相色谱表现与细菌血清学关系

15 株伤寒沙门氏菌的诊断血清玻片凝集试验结果: 标准株 H₉₀₁ 1 株, O 和 H 抗原均强阳性(++++), vi 抗原缺失(-)。临床株 14 株中, O 抗原强阳性(++++), 7 株, 中度阳性(+++) 6 株, 轻度阳性(++) 1 株; H 抗原强阳性(+++) 10 株, 中度阳性(+++) 3 株; 轻度阳性(++) 1 株; vi 抗原强阳性(++++), 11 株, 中度阳性(+++) 3 株(表 1)。由此看出, 伤寒沙门氏菌裂解气相色谱图与菌株的 O、H 和 vi 三种抗原成份强度不完全一致。A 组裂解气相色谱表现相同, 而其 O、H 和 vi 抗原强度不完全相同。A 组与 B 组的裂解气相色谱表现不同, 而其中有的菌株的 O、H 和 vi 抗原强度可完全相同(表 1)。

Emswiler 等^[2]曾用裂解气相色谱法分析 10 个血清型沙门氏菌的细胞壁, 鞭毛, DNA 和全细胞成份, 发现各菌型的图谱差别与其抗原组成并不完全一致, 有的抗原组成差异很小, 但指纹图差别很大。

(三) 裂解气相色谱表现与细菌抗药性的关系

15 株伤寒沙门氏菌的药物敏感试验结果(纸片法): 标准株 H₉₀₁ 对 17 种抗生素试验高度敏感者 14 种, 中度敏感者 3 种; 14 株临床株伤寒沙门氏菌对 17 种抗生素均有不同程度的抗药性, 计耐 5 种抗生素 2 株, 耐 6 种抗生素

表 1 伤寒沙门氏菌裂解色谱表现与血清凝集试验结果

组 别	菌种号	O	H	vi
A 组	5663	+++	++++	++++
	5657	+++	+++	++++
	5630	+++	++++	++++
	5736	++++	+++	+++
	5655	+++	++++	++++
	5660	++++	++++	+++
	12	++++	++++	++++
B 组	5631	++++	++++	++++
	5661	+++	++	+++
	5746	++++	++++	++++
	6197	++++	++++	++++
	5701	++	+++	++++
	38	++++	++++	++++
	14	+++	++++	++++
	H ₂₉₁	++++	++++	—

注：“++++”块状凝集，液体澄清“+++”凝集均匀、液体清晰
“++”凝集量较多、液体微浊 “+”凝集量较少、液体混浊
“-”不凝集，均匀混浊

1 株，耐 7 种抗生素 7 株，耐 8 种抗生素 4 株。

表 2 伤寒沙门氏菌裂解色谱表现与药物敏感试验结果

(单位: mm)

组别	菌号种	复	竣	V	庆	链	氯	卡	丁	妥	氯	多	孟	痢	新	四	蔡	脐
A 组	5663	0	0	0	13	14	0	13	20	15	0	18	22	15	21	0	24	29
	5657	0	0	0	17	17	0	15	22	0	0	19	24	14	22	0	0	33
	5630	0	0	0	17	19	0	14	25	18	0	20	30	17	21	0	0	38
	5736	0	0	0	0	13	0	14	16	12	0	17	18	15	18	12	0	25
	5655	0	0	0	0	14	19	0	23	12	0	18	23	13	21	0	0	28
	5660	0	0	0	13	15	0	14	20	21	0	21	23	15	22	0	0	30
	12	27	0	0	25	17	0	30	26	28	27	19	25	19	22	0	0	35
B 组	5631	0	0	0	16	17	0	14	18	14	0	18	18	18	20	0	0	32
	5661	0	0	0	14	15	0	16	22	0	0	20	26	19	24	0	0	34
	5746	0	0	0	14	16	0	13	20	0	0	19	22	17	20	0	0	34
	6197	0	0	0	13	16	0	18	25	15	0	20	22	23	25	0	0	32
	5701	0	0	0	14	16	0	13	22	0	0	18	22	16	19	0	25	28
	38	0	0	0	17	19	0	14	25	18	0	20	30	17	21	0	0	38
	14	25	0	0	25	14	0	24	23	23	23	13	25	12	22	0	0	35
	H ₂₉₁	31	32	22	29	20	25	32	20	25	32	19	28	23	23	32	30	37

注：复：复方新诺明，竣：竣苄青霉素，V：先锋霉素 V，庆：庆大霉素，链：链霉素，氯：氯苄青霉素，卡：卡那霉素，丁：丁胺卡那霉素，妥：妥布拉霉素，孟：先锋孟多霉素，痢：痢特灵，新：新霉素，四：四环素，蔡：蔡啉酸，脐：头孢噻肟钠

参 考 文 献

1. Reiner E: *Nature* 106:1272, 1965.
2. 周方: 微生物学通报, 7(3): 136, 1980.

对竣苄青霉素和先锋霉素 V 耐药率为 100%; 对氯苄青霉素 (13/14) 和四环素 (13/14) 耐药率为 92.85%; 对复方新诺明 (12/14)、氯霉素 (12/14)、蔡啉酸 (12/14) 和新霉素 (12/14) 耐药率为 85.71%; 而对头孢噻肟钠则为 100% 高度敏感(表 2)。表 2 结果表明, 细菌的抗药性与裂解气相色谱表现未找到相关关系。如 A 组裂解气相色谱表现相同, 对 17 种抗生素试验的耐药程度不完全一致(耐 5 种抗生素 1 株, 耐 6 种抗生素 1 株, 耐 7 种抗生素 3 株, 耐 8 种抗生素 2 株)。A 组和 B 组之间裂解气相色谱表现不同, 而其抗药性程度可相似(表 2)。因此, 裂解气相色谱法分析伤寒沙门代菌的气相色谱, 既不能代替血清型抗原成份的分析, 也不能确定细菌的抗药性程度。

总之, 本研究的裂解气相色谱表现, 可作为伤寒沙门氏菌的鉴定, 并为建立裂解气相色谱指纹图库提供了有益的参考。

3. 金天如等: 中国医学科学院学报, 6(1): 39—41, 1984。
4. 崔锦等: 卫生防疫(江西省卫生防疫站) 3: 1—4, 1985。
5. Emswiler B S et al.: *Appl Environ Microbiol* 35: 97, 1978.

ANALYSIS OF PYROLYSIS GAS CHROMATOGRAPHY OF *SALMONELLA TYPHI*

Ji Biao Ren Pelshang Tang Yin Xiong Hongen

(Research Laboratory of Infection Diseases, The First Affiliated Hospital, Hunan
Medical University, Changsha 410008)

Tan Li

(Aviation Medicine Research Institute, Beijing 100036)

The chromatograms of pyrolysis gas chromatography (PGC) of fifteen strains of *Salmonella typhi* were reported to see if there is any possible relation of the graphs to serological typing and drug-resistance spectra of the bact. In the fifteen strains there were fourteen clinical strains and one reference strain (H901). The results indicated that the clinical strains might be divided into group A and B (7 strains each) by PGC. The graphs drawn from group A organisms were entirely the same in shape while those of group B showed only basic similarity. According to the diversity of graphs of group B organisms, the group B organisms, may be subdivided into group B1 (4 strains), B2 (2 strains) and B3 (1 strain). The graphs within each subgroup were completely the same and those of subgroup B1 exhibited close similarity to that of the reference strain. Albeit no regular connection of chromatograms with serological types and drug-resistance could be seen, the graphs yet provided useful reference for founding a bank of chromatograms, compaed with which salmonella typhi graph could then be identified.

Key words *Salmorella typhi*; Prolysis gas chromatography; Microbiology; Serology; Drug-resistance.