

一株快速发酵乳糖伤寒杆菌的分离与鉴定

傅继华¹⁾ 孟梅荣²⁾ 关冰¹⁾
翟文济¹⁾ 李海平¹⁾ 刘世君²⁾

(¹⁾ 山东省卫生防疫站 济南 250014 ²⁾ 滨州地区卫生防疫站 256618)

摘要 由一发热待查病人血液分离得到一株快速发酵乳糖的肠杆菌,经形态、肠杆菌科噬菌体裂解、血清学和生化系统鉴定,为一株发酵乳糖的伤寒杆菌(*Salmonella typhi*)。该菌株豚鼠角膜结膜侵袭力实验阴性,不产生肠毒素,也符合伤寒杆菌的一般生物学特性。

关键词 分离,伤寒杆菌,发酵乳糖,生物学特性,致病性

伤寒是一种严重危害人体健康的肠道传染病,由于近年来伤寒病人的临床症状不典型,常常被误诊而延误诊治。本文所报道的由快速发酵乳糖伤寒杆菌引起的伤寒病人,也实属例外。该菌株由一发热待查的病人血液中分离出,经形态、肠杆菌科噬菌体裂解、生化和血清学系统鉴定,除快速发酵乳糖一项外,硫化氢、木糖和阿拉伯糖则阴性,其余各项结果均与伤寒杆菌一致。具体结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源及分离方法

病人赵××,女,40岁,因发热10余天而住院,经红霉素、灭滴灵等药物治疗,病情不见好转,于其住院的第5天采静脉血分别作细菌培养和肥达氏试验,并取2ml血加入普通肉汤,37℃培养48h,接种SS平板37℃24h,出现均一的红色圆形、凸起光滑湿润的菌落,继而作进一步鉴定。

1.2 血清

57种/套沙门氏菌属因子血清由卫生部兰州生物制品所生产(批号为92001)。

1.3 生化结果判定及培养基的配制

按何晓青主编《卫生防疫细菌检验》有关方法进行^[1]。

1.4 肠杆菌科分属诊断噬菌体(7种/套)

由珠海东大生物工程有限公司站生产,使用方法按生产单位提供的说明进行。

1.5 药敏试验

采用琼脂扩散(K-B)法,操作及结果判断按文献[2]进行。实验用药敏纸片,由上海市医化所生产,有效期内使用。

1.6 豚鼠角膜结膜侵袭力试验

方法及结果判定按文献[3]进行。健康豚鼠由本站动物室提供。

1.7 兔肠瘳结扎实验

方法及结果判定按文献[4]进行。

1.8 肥达氏反应

试管法,操作及结果判定按文献[5]进行。

2 实验结果

2.1 形态与培养特性

受试菌株为革兰氏染色阴性杆菌、带有鞭毛、能运动;在普通营养琼脂平板上37℃培养24h,菌落直径为1~2mm,光滑、湿润、圆形、隆起、无色半透明;在SS平板37℃培养24h,出现大小、形态与在营养琼脂相似的菌落,红色、光滑、湿润、不透明,类似大肠杆菌菌落;在伊红美蓝平板37℃培养24h,菌落呈圆形凸起、边缘整齐,直径1~2mm,具有黑色金属光泽;在麦

康克和 DHL 琼脂平板 37℃ 培养 24h, 均呈圆形隆起的红色菌落; 在 TCBC 琼脂平板 37℃ 培养 24h, 无菌落生长。

2.2 生化特性

将受试菌接种在克氏双糖管 37℃ 培养 24h 结果为: 乳糖、葡萄糖均迅速发酵, 产酸、不产气, 硫化氢阴性, 动力阳性; 系统生化结果为: 葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、甘露糖、甲基红、精氨酸、赖氨酸、硝酸盐还原、单糖、果糖均阳性; 蔗糖、侧金盏花醇、卫茅醇、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖、水杨素、肌醇、棉子糖、纤维二糖、明胶液化、胍基质、V-P、枸橼酸盐、KCN、尿素、鸟氨酸、苯丙氨酸均阴性。

2.3 血清凝集情况

从营养琼脂平板上, 取少量菌落作玻片凝集, 结果为: A-F 群多价 \pm 、 $O_9 \pm$ 、Vi $\#$ (迅速凝集)、HCl $\#$ 。从营养琼脂平板上刮取适量菌落悬于含有 3ml 生理盐水的华氏管中, 放入盛有开水的烧杯内煮沸 30min, 2500r/min 离心 5min, 用沉淀菌再作玻片凝集, 结果为: A-F $\#$ 、 $O_9 \#$ 、Vi $+$ 、HCl $++$ 。

2.4 噬菌体裂解情况

O-I 裂解, C、Sh、E、CE、E-4、Ent 均不裂解。

2.5 药物敏感性测定

经测定菌株对新霉素 (NEO)、庆大霉素 (GEN)、青霉素 (P-G)、氧哌嗪青霉素 (PIP)、氯霉素 (CMP)、头孢唑啉 (CFI)、先锋霉素 (CTN)、卡那霉素 (KAN)、羧苄青霉素 (CAR)、苯唑青霉素 (P_{12})、和氨苄青霉素 (AMP) 均敏感; 对新霉素 (NEO)、链霉素 (STR)、万古霉素 (VAN)、磺胺药 + TMP (COS)、红霉素 (ERY)、妥布霉素 (TOB)、磺胺药 (SU) 和丁胺卡那 (AKN) 均产生耐药。

2.6 豚鼠角膜结膜侵袭力试验

将受试菌株接种于健康豚鼠眼角、结膜后, 连续观察 3d 豚鼠眼角结膜炎症反应情况, 结果未出现明显炎症反应。表明该菌株侵袭力阴性。

2.7 兔肠襻结扎试验

按常规方法将受试菌液注射于结扎好的兔

肠腔内, 16h 后解剖观察, 受试菌所在的肠段内有很少量的积液, 与阴性对照相同, 阳性对照则有大量积液。表明该菌株不产生肠毒素。

2.8 肥达氏试验

用病人血清作肥达氏试验, 结果显示 O 凝集价为 1:80, H 凝集价为 1:320。鉴于患者近年未接种过伤寒疫苗也没有患伤寒病史, 经氨苄青霉素治疗 3d, 体温转为正常, 强化治疗后痊愈出院, 可诊断为一例由快速发酵乳糖的伤寒杆菌引起的伤寒病人。

3 讨论

经形态、肠杆菌科噬菌体裂解、系统生化和血清学等系统鉴定, 本文所报道的是一株快速发酵乳糖且硫化氢阴性的伤寒杆菌。该菌株所具有的生物学特性和致病性与普通伤寒杆菌相同。有关发酵乳糖和硫化氢木糖和阿拉伯糖阴性的伤寒杆菌, 经作者查阅有关文献, 目前国内文献还未见报道。该菌株的发现对今后的伤寒防治有着指导性意义。同时建议对伤寒杆菌的定义要进一步完善, 在原定义的基础上加“有个别伤寒杆菌能发酵乳糖”。这样才能避免由于菌株发酵乳糖而被排除伤寒的现象。正如本文所报道的病例。所分离到的菌株, 除发酵乳糖外, 硫化氢、木糖和阿拉伯糖 3 项生化与绝大多数伤寒沙门氏菌的结果相反。如按常规检验判断方法可在分离检出菌的第一步, 因快速发酵乳糖而被排除伤寒, 延误诊治还有可能造成疫情扩散蔓延。

参 考 文 献

- [1] 何晓青主编. 卫生防疫细菌检验. 南昌: 新华出版社, 1989.
- [2] 傅继华, 翟文济, 段玉琴等. 中国卫生检验杂志, 1995, 3: 157.
- [3] 傅继华, 胡建华, 李云圃等. 中华流行病学杂志, 1990, 10(S. 6): 6.
- [4] 傅继华, 李云圃, 王茂泽等. 中华流行病学杂志, 1988, 19(S. 3): 308.
- [5] 中华人民共和国卫生部卫生防疫司编. 伤寒·副伤寒防治手册. 北京: 华夏出版社, 1990.