

从腹泻患儿检出小肠结肠炎耶森氏菌*

陈亢川 庄世福

(福建省流行病防治研究所, 福州)

1964年 Carlsson 和 Mollaret 等确定了小肠结肠炎耶森氏菌 (*Yersinia enterocolitica*) 对人的致病性以来^[1,2], 在国外已有 30 多个国家报道了本菌。为了解本菌在国内是否存在和其致病

情况, 近几年来我们采集腹泻患儿粪便标本, 分离培养, 结果检出部分菌株。现将 8 例患儿检出株的生物学特性、血清学性状及药物敏感试验结果报道如下。

材料与方 法

1. 菌株: 80009 菌株检自莆田县腹泻患儿粪便; 81001 等 7 株检自惠安县 7 例腹泻婴幼儿的泻出物; O₃ 型耶森氏菌标准株 52301 系卫生部药品生物制品检定所发给。

2. 分离鉴定: 标本采集后置 C—B 保护液 (Cary—Blair 半固体去琼脂), 48 小时内转种改良磷酸盐缓冲液, 4℃ 增菌 3—4 周, 划线接种于 S. S 琼脂, 30℃ 培养 48 小时后鉴定。

生化反应及其他鉴定用培养基配制见文献 [3], 鉴定方法及结果判断方法见文献 [4]。

3. 抗原分析: 耶森氏菌 A—D 群 O 血清及 0:3 和 0:9 因子血清系卫生部药品生物制品检定所赠送。抗原分析用“O”血清参考 Григорьян 氏方法^[5], 以普通琼脂 48 小时培养物制成盐水悬液, 100℃ 水浴 2 小时半后, 分 2.5、5、10、15、15 亿剂量 5 次免疫家兔, 每次间隔 4 天, 末次免疫后 7 天采血。

吸收试验按 Okamoto 氏方法^[6], 用 2ml 对倍稀释血清加入 25℃ 或 37℃ 培养菌 200mg, 混匀后 37℃ 置 2 小时, 4℃ 过夜, 重复两次。血清效价用肥达氏法测定, 抗原均经 100℃ 水浴 60 分钟处理。

4. 药敏试验: 采用上海市第六人民医院检验科法。

5. 小鼠毒力试验: 以普通琼脂 28℃, 24 小时培养物制成盐水悬液, 分别以 25、50 和 100 亿剂量, 各注射 16—18g 小白鼠 5 头, 连续观察 7 天后解剖。

结果与讨论

一、形态

80009 等菌株为革兰氏阴性球杆菌, 大小约 0.6—0.8 × 0.8—1.2 μm, 碱性美蓝染色偶有两极浓染, 陈旧培养物呈多形态, 在肉汤内生长, 可见短链状排列, 在庆大琼脂上多呈球形。

二、培养特性

在肉汤管中 28℃ 培养 24 小时, 呈均等混浊, 无菌膜形成, 48 小时后出现分层现象, 有少量菌体沉淀, 以 9 个/ml 细菌接种磷酸盐缓冲液, 4℃ 增菌 7 天, 菌数达 9 × 10⁴ 个/ml, 在碱性胨水和 C—B 保护液中亦能增殖。

在琼脂平板上, 25℃ 培养 24 小时后, 菌落直径约 0.1—0.5mm, 圆形, 边缘整齐, 光滑湿润, 稍隆起, 半透明而略带灰白色, 无特殊气味无粘性, 易乳化。在 S. S 琼脂和麦康凯琼脂上, 25℃ 培养 48 小时, 菌落直径约 1.5—2.0mm, 形态近似志贺氏菌, 结果与 Asakawa^[7] 和 Tsubokura^[8] 等所描述的一致。在麦康凯琼脂上, 72 小时后, 菌落密集处可出现类似发酵乳糖之红色, 培养 24 小时后, 如果以液体石蜡覆盖, 则无此现象, 液体麦康凯管中亦不发酵乳糖, 这可能与菌株有氧化分解乳糖的能力有关。在血琼脂平板上不溶血, 37℃ 培养 48 小时, 菌落直径约 1.5mm, 而 25℃ 培养 48 小时, 可达 2mm 以上, 形态酷似脑膜炎双球菌。

三、生化反应

80009 等菌株主要生化特性是发酵葡萄糖、蔗糖、纤维二糖产酸不产气, 不发酵乳糖(或迟发酵乳糖)、鼠李糖、棉子糖、水杨素、侧醇和七叶灵, 较迟分解半乳糖、阿拉伯糖和麦芽糖, 6 株木糖和 OF 试验 2 天阳性, 2 株 4 天阳性, 苯丙氨酸脱氨试验阴性, 鸟氨酸脱羧酶阳性, 以 18 小时肉汤培养物置暗视野镜检。37℃ 培养无动力, 22℃ 培养有动力, 以动力半固体穿刺接种, 37℃ 无动力, 22℃ 培养至第 7 天, 大多数菌株可出现动力(表 1)。与有关报道一致^[1,4,6,9]。按 Nilehn (1969) 生化分型法均属生物学 3 型^[4], Wauter 生化分型法 6 株为 3 型, 2 株为 4 型。总之, 80009 等 8 株的生化反应典型, 分类地位明确, 易于与其他革兰氏阴性菌及

* 卫生部药品生物制品检定所李鸾唐同志对本工作给予大力支持和帮助; 参加本工作的还有郑昌烈等同志。一并致谢。

其他耶森氏菌相鉴别^[9]。

表 1 8 株耶森氏菌生化反应

项 目	结 果	项 目	结 果
侧 醇	-	柠檬酸盐	-
七叶灵	-	胍基质	-
阿拉伯糖	(+)	明胶	-
卫芽醇	-	尿素	+ ¹
半乳糖	+ ¹	H ₂ S	-
葡萄糖	+	硝酸盐	+
菊 糖	-	MR	+
肌 醇	- , + ^w	VP 22°C	+ ¹
乳 糖	- , (+)	37°C	-
甘露醇	+ ¹	葡萄糖产气	-
麦芽糖	(+)	过氧化氢酶	+
棉子糖	-	氧化酶	-
鼠李糖	-	β-半乳糖苷	+
水杨素	-	卵磷脂酶	-
蔗 糖	+ ¹	苯丙氨酸	-
山梨醇	+ ¹	赖氨酸	-
木 糖	+ ¹ , (+)	精氨酸	-
乳 糖 (O-F)	+ ¹ , (+)	鸟氨酸	+
		动力 22°C	+ ¹
		37°C	-

四、血清学试验

1. 玻片凝集: 所有菌株均与耶森氏菌 A 群 O 血清和 0:3 因子血清呈强凝集(1:10, + + +), B-D 群 O 血清及 0:9 因子血清不凝集(1:10, -), 与沙门氏菌、志贺氏菌、致病性大肠杆菌和霍乱弧菌等各种多价诊断血清均无交叉凝集, 以 52301 菌株作对照, 结果一致。

2. 试管凝集: 以 100°C 水浴 60 分钟处理抗原, 各菌株分别与 52301 菌株抗血清及 80009 菌株抗血清作凝集, 结果均达到或接近免疫血清原效价。以 80009 菌株抗原和 0:3 因子血清作凝集, 效价与 52301 均为 1:640, 与 A 群 O 血清作凝集, 效价高于 52301 (表 2)。

3. 吸收试验: 以 80009 菌株为代表株作抗原分析。A 群 O 血清分别以 80009 菌株和 52301 菌株吸收后, 不再与两菌抗原发生凝集; 52301 抗血清经 80009 菌株吸收后, 结果同上; 80009 抗血清经 52301 菌株吸收后, 不与 52301

表 2 试 管 凝 集 结 果

免疫血清	抗 原								
	52301	80009	81001	81003	81004	81005	81006	81007	81008
A 群*	1:320	1:640							
0:3	1:640	1:640							
52301 抗血清	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640
80009 抗血清	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640	1:640	1:320	1:640	1:640

* A 群含 01、02、03、04、05 血清型。

表 3 抗 原 分 析 表 解

免疫血清	吸 收 菌	凝集效价 (以 100% 计)	
		80009 抗原	52301 抗原
A 群	-	100	50
	80009	0	0
	52301	0	0
80009 抗血清	-	100	100
	52301	6.25	0
52301 抗血清	-	100	100
	80009	0	0

抗原凝集, 但与 80009 抗原仍有 6.25% 的剩余效价(表 3), 此结果与吸收菌的培养温度(37°C

表 4 8 株耶森氏菌药敏结果

药 品	+++	++	+	-
四 环 素	3	5		
金 霉 素	5	3		
氯 霉 素	7	1		
土 霉 素	6	2		
合 霉 素	5	3		
庆大霉素	8			
卡那霉素	8			
新 霉 素		8		
链 霉 素	7	1		
磺胺嘧啶	8			
红 霉 素		4	4	
呋喃妥因				
青 霉 素				8

或25℃)无关。

五、药敏试验(见表4)

药敏试验结果说明,从患儿检出的8株耶森氏菌对磺胺嘧啶均高度敏感,对四环素族、氨基糖苷类和呋喃妥因较敏感,红霉素中度敏感或低度敏感,青霉素耐药。因此,治疗上应首先选磺胺嘧啶和庆大霉素等药物。

六、毒力试验

经观察全部小鼠均未出现腹泻、厌食、皮毛松弛及死亡;7天后剖腹,仅80009菌株于100亿剂量试验组中,发现一只小鼠肝脏有一米粒样结节,与森田迪夫报道的耶森氏假结核菌所引起的小鼠肝脏病变相似,但比其病变程度轻。病变组织分离得试验菌纯培养。

上述结果证明,80009等菌株具有小肠结

肠炎耶森氏菌的基本特征和典型的生化反应,属Nilehn生物学3型,血清学为O₃型或以0:3抗原因子为主的小肠结肠炎耶森氏菌。

参 考 文 献

- [1] Carlsson, M. G. et al.: *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **62**: 128, 1964.
- [2] Mollaret, H. H. et al.: *Ann. Inst. Pasteur.* **107**: 121, 1964.
- [3] 郝士海等译:《肠杆菌科的鉴定》第三版,卫生部药品生物制品检定所出版,1978.
- [4] Knapp, W. et al.: *Microbiol. Immunol. Zbl. Bakt. Hyg.* 1. Abt. Orig. **A223**: 88—105, 1973.
- [5] Григорьян, Э. Г. и др.: *ЖМЭИ*, **11**:57, 1979.
- [6] Okamoto, K. et al.: *Microbiol. Immunol.* **24**: 1013—1022, 1980.
- [7] Asakawa, Y. et al.: *J. Hyg.* **71**: 715, 1973.
- [8] Tsubokura, M. et al.: *Vet. Sci.* **35**: 419—424, 1973.
- [9] Mollaret, H. H. et al.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th ed. 330—332, 1974.