

七株侵袭性大肠杆菌 O143 的鉴定

宋元鍤 张淑贞 王水湘 谢小梅 孙吉昌

(江西省卫生防疫站)

摘要 本文报告了从痢疾样病人分离的 7 株 O 抗原与鲍氏志贺氏菌 8 型相同的侵袭性大肠杆菌 O143 的鉴定结果,并对无动力、不产气和赖氨酸阴性的大肠杆菌与志贺氏菌的生化鉴别试验进行了讨论。

关键词 侵袭性大肠杆菌

近年来,世界各国对大肠杆菌性腹泻进行了深入的研究,发现侵袭性大肠杆菌 (EIEC) 可致肠炎,引起痢疾样疾病,并可引起食物中毒和急性腹泻的爆发^[1-6]。EIEC 具有侵袭力,其生化和抗原性常与志贺氏菌相似。因此,许多由 EIEC 引起的腹泻爆发,常被误诊为志贺氏菌病。在美国,由 EIEC O124 引起的腹泻广泛爆发,但最初却被确诊为痢疾志贺氏菌 3 型所致^[4]。我省从痢疾样病人分离的 7 株迟缓发酵乳糖,经血清学鉴定为生化异常的鲍氏志贺氏菌 8 型,现根据 Edwards 等^[7]报告鲍氏志贺氏菌 8 型与大肠杆菌 O143 的 O 抗原相同,与大肠杆菌 O114 有次要抗原关系,我们对 7 株菌重新进行了鉴定,并与上述标准菌株进行了生化和血清学的比较,结果 7 株菌均为侵袭性大肠杆菌 O143。现将鉴定结果报告如下。

材料与方 法

(一) 菌株

试验菌 7 株,于 1964 年和 1965 年从吉安和赣州两地的痢疾样病人粪便分离,编号: 64-392、64-393、64-1339、65-262、65-264、65-265 和 65-266。标准鲍氏志贺氏菌 8 型 2 株,编号为 51346 和 51587,标准大肠杆菌 O143 1 株,编号 44503 (4608-58) 和标准大肠杆菌 O114 1 株,编号 44475 (W26),均由中国药

品生物制品检定所供给。

(二) 血清

志贺氏菌属分型血清 (51 种) 和侵袭性大肠杆菌诊断血清 (21 种),均由中国药品生物制品检定所供给。用于交叉凝集和交互吸收试验的标准鲍氏志贺氏菌 8 型 (51346)、标准大肠杆菌 O143 和 O114 及试验菌代表株 (65-262) 的免疫 O 血清,由作者按常规法免疫家兔制备。

(三) 肠杆菌科 7 种分属诊断噬菌体

7 种肠杆菌科分属诊断噬菌体包括沙门氏菌 (O-I) 噬菌体、柠檬酸杆菌 (C) 噬菌体、大肠杆菌 (E) 噬菌体、柠檬酸杆菌和大肠杆菌 (CE) 噬菌体、大肠杆菌 (E-4) 噬菌体、志贺氏菌 (Sh) 噬菌体和阴沟肠杆菌 (Ent) 噬菌体,均由本站生产制备。

(四) 药敏纸片

由大连生物试剂厂按 WHO 标准生产供给。

(五) 方法

菌株鉴定按 Edwards 和 Ewing^[7]“肠杆菌科的鉴定”进行。噬菌体裂解试验参照 Adams 氏方法^[8]。药敏试验按改良 Kirby-Bauer 氏法^[9]。豚鼠角膜试验按 Sereny 氏法^[10]。

结果与讨论

(一) 形态与染色

7 株菌在普通营养琼脂平板上,菌落为半透明,光滑型;在伊红美蓝琼脂平板上为无色半透明菌落,与志贺氏菌的菌落相似。革兰氏染

本文得到本站中心实验室何晓青主任技师的审阅和指
导,特此致谢。

色为阴性杆菌,无动力。

(二) 生化特性 (表 1)

表 1 七株试验菌的生化特性

	试验菌株 (7株)	鲍氏志 贺氏 菌 8 型 (2株)	大肠杆菌 O143 (1株)	大肠杆菌 O114 (1株)
葡萄糖产气	-	-	+	+
乳糖	+	-	+	+
鼠李糖	+	-	+	+
棉子糖	-	-	+	+
阿拉伯糖	-	-	+	+
七叶苷	+ ²⁻⁴	-	-	+ ²
水杨苷	+ ²	-	-	+ ²
ONPG	+	-	+	+
凝基质	+	-	+	+
克氏枸橼酸盐	+ ²	-	+ ²	+ ²
葡萄糖铵	+	-	-	+
醋酸钠	+ ²⁻⁴	-	-	+ ²
赖氨酸脱羧酶	-	-	+	+
精氨酸双水解酶	-	-	-	+
鸟氨酸脱羧酶	-	-	-	+
粘液酸	+	-	+	+

从表 1 结果看出, 7 株试验菌的生化反应与鲍氏志贺氏菌 8 型不同, 与大肠杆菌 O143 和 O114 相似, 符合大肠杆菌的生化特性。本试验还证实了 Edwards 等^[7] 报道的克氏枸橼酸盐、醋酸钠和粘液酸试验对志贺氏菌与无动力不产气的大肠杆菌的鉴别有很大的价值, 所得结果一致。表 1 结果还表明, 葡萄糖铵试验

大肠杆菌一天即可出现阳性反应, 而醋酸钠试验需要 2~4 天。水杨苷和七叶苷也可作为辅助鉴别试验。因此, 我们认为对无动力不产气和赖氨酸阴性的大肠杆菌与志贺氏菌的鉴别, 再补充上述试验即可判断^[7]。

7 株试验菌均为无动力, 不产气, 迟缓发酵乳糖和赖氨酸阴性, 符合侵袭性大肠杆菌的生化特性, 与 Toledo 等^[11]、Regina 等^[12] 和杨正时等^[13] 的研究报道一致。

(三) 噬菌体裂解试验

7 株试验菌、1 株标准大肠杆菌 O143 和 2 株鲍氏志贺氏菌 8 型与肠杆菌科 7 种分属诊断噬菌体进行裂解试验, 结果全部试验菌株只与志贺氏菌 (Sh) 噬菌体裂解, 与其余六种噬菌体均不裂解。然后将 (Sh) 噬菌体稀释成 1RTD 后再进行裂解试验, 结果 7 株试验菌和 1 株标准大肠杆菌 O143 均不裂解, 和 2 株标准鲍氏志贺氏菌 8 型能裂解 (表 2)。

上述结果与何晓青等^[14] 对志贺氏菌属噬菌体研究结果一致, 即大肠艾希氏菌只能被 100RTD 及其以上浓度的 Sh 噬菌体裂解, 而不被 1RTD 裂解; 而志贺氏菌除个别菌型 (如痢疾志贺氏菌 1 型和鲍氏志贺氏菌 13 型) 外, 都能被 1RTD 的 Sh 噬菌体裂解。由此证明 7 株试验菌应为大肠杆菌。

(四) 血清学特性

7 株试验菌、1 株标准大肠杆菌 O143 和

表 2 10 株菌与肠杆菌科七种噬菌体裂解结果

菌株	噬菌体	O-1 10 ³ RTD	C 10 ³ RTD	E 10 ³ RTD	CE 10 ³ RTD	E-4 10 ⁴ RTD	Ent 10 ³ RTD	Sh 10 ³ RTD	Sh 1RTD
51346		-	-	-	-	-	-	CL	CL
51587		-	-	-	-	-	-	CL	CL
64-392		-	-	-	-	-	-	CL	-
64-393		-	-	-	-	-	-	CL	-
64-1339		-	-	-	-	-	-	CL	-
65-262		-	-	-	-	-	-	CL	-
65-264		-	-	-	-	-	-	CL	-
65-265		-	-	-	-	-	-	CL	-
65-266		-	-	-	-	-	-	CL	-
44503		-	-	-	-	-	-	CL	-

注: CL: 融合性裂解 一: 不裂解

表3 试验菌株 65-262 血清与鲍氏 8 型血清和大肠杆菌 O143 血清交叉凝集和交互吸收结果

抗 原	试验菌株 65-262 血清			鲍氏 8 型 51346 血清			大肠杆菌 O143 (44503) 血清		
	未吸收	经 51346 菌吸收	经 44503 菌吸收	未吸收	经 65-262 菌吸收	经 44503 菌吸收	未吸收	经 51346 菌吸收	经 65-262 菌吸收
51346	2560	0	0	2560	0	0	1280	0	0
51578	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
64-392	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
64-393	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
64-139	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
65-262	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
65-264	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
65-265	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
65-266	2560	0	0	1280	0	0	1280	0	0
44503	2560	0	0	1280	0	0	2560	0	0

注：“0”示 1:40 阴性

2 株标准鲍氏志贺氏菌 8 型与志贺氏菌属分型血清中的鲍氏志贺氏菌 8 型血清和侵袭性大肠杆菌的诊断血清中的 O143 血清玻片凝集试验均呈强凝集(+++),菌液加温 100℃,1 小时后仍然呈强凝集;而标准的大肠杆菌 O114 与上述 2 个血清均不凝集,同时用大肠杆菌 O114 免疫 O 血清与标准鲍氏志贺氏菌 8 型玻片凝集试验亦不凝集,说明大肠杆菌 O114 与鲍氏志贺氏菌 8 型没有抗原关系。Edwards 等^[7]报道大肠杆菌 O114 与鲍氏志贺氏菌 8 型有次要抗原关系,本文未观察到。

试验菌代表株 65-262 免疫 O 血清与标准的鲍氏志贺氏菌 8 型免疫 O 血清和标准的大肠杆菌 O143 免疫 O 血清进行交叉凝集和交互吸收试验(表 3),表 3 结果说明试验菌株与标准的鲍氏志贺氏菌 8 型和标准的大肠杆菌 O143 的 O 抗原完全相同,均能互相吸收,与 Edwards 等^[7]报道的结果一致。

(五) 豚鼠角膜试验

豚鼠角膜试验是鉴定侵袭性大肠杆菌的一项重要指征。志贺氏菌和侵袭性大肠杆菌都具有侵袭力,感染豚鼠角膜,可产生特异性角膜结膜炎。7 株试验菌在 1965 年进行的豚鼠角膜试验均为阳性。本次试验将 7 株试验菌和 1 株新分离的福氏志贺氏菌 2a 型作对照,按 Serey 氏^[10]方法进行,结果 7 株试验菌除 65-266 株阴

性外,其余 6 株和 1 株对照菌均呈强阳性反应,一般在 24~48 小时即出现眼结膜充血,浮肿,有浆液渗出物,角膜呈玻璃状混浊。取浆液渗出物培养,均分离到原菌。盐水对照为阴性。

65-266 株原来豚鼠角膜试验阳性,本次试验已变成阴性,可能是由于 140Mdal 质粒已经脱失之故^[15]。

(六) 药敏试验结果

7 株试验菌以 14 种药敏试纸进行试验,结果高敏的有卡那霉素、先锋霉素、丁胺卡那霉素、痢特灵、萘啶酮酸、庆大霉素和托布霉素等 7 种药物;多粘菌素 B、新霉素和链霉素等 3 种药物为中敏;完全耐药的有四环素、红霉素和呋喃妥因等 3 种药物,此结果与曲万云等^[2]和仇庆文等^[3]报道的结果相一致。

综上所述,7 株试验菌经形态、培养特征、生化特性和豚鼠角膜试验鉴定,符合侵袭性大肠杆菌的特性,血清学鉴定属大肠杆菌 O143,故 7 株试验菌鉴定为侵袭性大肠杆菌 O143。

参 考 文 献

- [1] WHO Scientific Working Group: *Bulletin* 58 (1):23, 1980.
- [2] 曲万云等: *中华医学检验杂志*, 8(1): 3, 1985.
- [3] 仇庆文等: *中华医学检验杂志*, 8(1): 7, 1985.
- [4] 张绪团等: *微生物学通报*, 12(6): 266, 1985.
- [5] 林锦光等: *中国人兽共患病杂志*, 2(4): 32, 1986.

- [6] 杨素芝等: 中华流行病学杂志, 7(3): 129, 1986。
- [7] Edwards P R, et al.: Identification of Enterobacteriaceae, 3rd edition, Burgess Publishing Co. 1972.
- [8] Adams M H.: Bacteriophages. Interscience Publishers, Inc., New York, USA. 1959.
- [9] Bauer A W, et al.: *Am. J Clin Pathol* 45: 493, 1966.
- [10] Sereny B.: *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 4: 367, 1957.
- [11] Toled M R, et al.: *J Clin Microbiol*, 11: 422, 1980.
- [12] Regina M, et al.: *J Clin Microbiol*, 17(3): 419, 1983.
- [13] 杨正时等: 中华流行病学杂志, 7(4): 237, 1986。
- [14] 何晓青等: 中华微生物学和免疫学杂志, 8(2): 96, 1988。
- [15] 杨正时: 国外医学《微生物学分册》, 3(1): 29, 1985。