

# 国内首次发现鲍氏 14 型产气变种

李景学 孙启华 周国清 崔树玉 于钦问 温宪勤

(山东省卫生防疫站, 济南)

**摘要** 本文报道了 10 株从腹泻病人分离的革兰氏阴性无芽孢杆菌, Sereny 试验阳性, 均携带侵袭性大质粒。经 39 种生化检测, 除分解葡萄糖产气外均符合志贺氏菌属定义。各单项生化试验结果与 Ewing (1986) 描述的鲍氏志贺氏菌相符, 与 Edwards (1972) 描述的鲍氏 14 型完全一致。血清学鉴定与鲍氏 14 型血清凝集阳性(++++), 生理盐水对照阴性。噬菌体裂解试验支持上述结果。故将它们定为鲍氏 14 型产气变种。

**关键词** 志贺氏菌属; 鲍氏 14 型产气变种; Sereny 试验

多年来一直认为志贺氏菌属中仅福氏 6 型的某些菌株可分解葡萄糖产酸并产生少量气体。近几年来国外相继有鲍氏 13 型和 14 型产气菌的描述<sup>[1,2]</sup>, 但国内尚未见报道。我们在复检本省 1988—1989 年志贺氏菌属菌型分布调查的疑难菌株中, 发现了 10 株鲍氏 14 型产气变种, 并经中国医学细菌保藏中心成都生物制品研究所志贺氏菌专业实验室复核确认。本文报道了这 10 株菌的若干生物学特性和致病因子的检测结果, 并与有关细菌的鉴别特征进行了比较。

## 材料与 方法

### (一) 菌株

供试菌(菌号 5-295-5-304)为 1988~1989 年由枣庄市、汶上、郟城、惠民、邹县和聊城地区卫生防疫站从痢疾样腹泻病人粪便中分离得到。鲍氏 14 型标准菌(菌号 51532)来自中国药品生物制品检定所。EIEC O<sub>124</sub>:K<sub>72</sub>, O<sub>23a:c</sub>:K<sub>73</sub> 由本站分离, EIEC O<sub>143</sub>:K<sub>1</sub> 由江西省卫生防疫站提供。

### (二) 培养基

SS、DHL、EMB、麦康开、普通营养琼脂和 HE 琼脂分别为本站和上海生物制品研究所制备的半成品, 生化培养基按文献 [3] 制备, 试验方法按常规进行, 糖类观察 14 天。

### (三) 诊断血清

志贺氏菌属诊断血清(51 种/套)为兰州生物制品研究所制备, 有效期内应用。

### (四) Sereny (豚鼠角膜结膜炎) 试验

健康豚鼠由本站动物室提供, 按常规法进行。

### (五) 质粒分析

按 Kado 法<sup>[4]</sup>进行。

### (六) 肠杆菌科分属诊断噬菌体

江西省卫生防疫站制备, 按文献 [5] 进行。

### (七) 药敏纸片和水解酪蛋白胨琼脂

上海医学化验所生产, 有效期内应用, 按 K-B 法<sup>[6]</sup>进行。

## 试验 结果

### (一) 形态与培养特性

10 株供试菌均为革兰氏阴性无芽孢杆菌; 在 6 种平板培养基上, 37℃ 培养 20 小时, 生长良好; 仅 HE 平板上呈草绿色, 其余平板上均为无色半透明菌落, 直径 1.5—2.0 mm。普通肉汤 37℃ 培养 20 小时, 呈均匀混浊生长, 无菌膜形成。

### (二) 生化特性

10 株供试菌经 39 种生化试验检测, 其结果完全一致, 仅某些糖、醇类的发酵时间略有差异(表 1)。

表1 10株菌的生化特性

试验项目	结果	试验项目	结果	试验项目	结果
氧化酶	-	肌醇	-	硫化氢	-
O/F 试验	F	卫茅醇	-	尿素	-
葡萄糖产酸	+	水杨素	-	苯丙氨酸	-
产气	+	蔗糖	-	丙二酸盐	-
甘露醇	-	侧金盏花醇	-	明胶	-
阿拉伯糖	+	丙三醇	+ <sup>6-1</sup>	赖氨酸	-
木糖	+ <sup>3-3</sup>	七叶苷	-	精氨酸	+
山梨醇	+ <sup>1-3</sup>	ONPG	-	鸟氨酸	-
草糖	+	甲基红	+ <sup>1</sup>	粘液酸	-
乳糖	-	V-P	-	乙酸钠	-
纤维二糖	-	硝酸盐	+ <sup>1</sup>	葡萄糖铵盐	-
棉子糖	-	西蒙氏枸橼酸盐	-	动力	-
鼠李糖	-	克氏枸橼酸盐	-		
麦芽糖	-	靛基质	-		

\*+”为阳性,右上角数为阳性天数;“-”为阴性;“F”发酵型

表2 肠杆菌科噬菌体裂解结果

菌号	O-1 10 <sup>8</sup> RTD	C 10 <sup>8</sup> RTD	E 10 <sup>8</sup> RTD	CE 10 <sup>8</sup> RTD	E4 10 <sup>8</sup> RTD	Ent 10 <sup>8</sup> RTD	Sh 10 <sup>8</sup> RTD	Sh 1RTD
标准菌株 C <sub>14</sub>	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-295	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-296	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-297	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-298	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-299	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-300	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-301	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-302	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-303	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
5-304	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl
O <sub>18ac</sub> :K <sub>71</sub>	-	-	Cl	-	-	-	Cl	-
O <sub>124</sub> :K <sub>72</sub>	-	-	Cl	-	-	-	Cl	-
O <sub>143</sub> :K <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	Cl	-

注: O-1: 沙门氏菌噬菌体, C: 枸橼酸杆菌噬菌体, E: 大肠埃希氏菌噬菌体, CE: 枸橼酸杆菌(φ II) 和大肠埃希氏菌(E-3) 混合噬菌体, E4: 大肠埃希氏菌(E-4) 噬菌体, Ent: 阴沟杆菌噬菌体, Sh: 志贺氏菌噬菌体, Cl: 融合性裂解, RTD: 噬菌体效价计量单位

(三) 血清学鉴定

10株供试菌与鲍氏14型血清玻片凝集阳性(+++),其它血清和生理盐水对照阴性,定量凝集其效价均在1:640以上(血清原效价1:1280)。

(四) Sereny 试验与质粒检测

Sereny 试验于接种后24—48小时,10株菌均呈明显炎症反应(病眼裂封闭有大量脓性分泌物);对照眼无反应。质粒检测均携带分子

量为120—140 Md的大质粒(见图1)。

(五) 噬菌体裂解试验(表2)

由表2可见,10株试验菌、鲍氏14型标准菌和 EIEC O<sub>143</sub>:K, 均被志贺氏菌“Sh”噬菌体裂解,符合鲍氏14型裂解谱<sup>[7]</sup>。EIECO<sub>28ac</sub>:K<sub>73</sub>, O<sub>124</sub>:K<sub>72</sub> 除 Sh 裂解外,还被大肠菌“E”噬菌体裂解,当将 Sh 稀释至 1RTD 时,三株大肠菌不被裂解。

(六) 药敏试验

表3 10株菌药敏试验结果(抑菌环直径 mm)

菌号	新霉素	四环素	多粘菌素	红霉素	磺胺药+TMP	链霉素	先锋霉素	庆大霉素	刺特灵	苯唑青霉素	妥布霉素	萘啶酸	氯霉素	卡那霉素	丁胺卡那	氨基青霉素	羧苄青霉素	青霉素
5-295	23	—	15	—	—	—	—	25	13	—	18	20	—	16	15	—	—	—
5-296	17	—	14	—	—	—	—	18	15	—	17	20	—	13	15	—	—	—
5-297	16	—	15	—	—	—	—	17	15	—	17	20	—	14	14	—	—	—
5-298	17	—	14	—	—	—	—	17	14	—	16	18	—	13	13	—	—	—
5-299	18	—	14	—	—	—	—	18	16	—	17	19	—	14	16	—	—	—
5-300	18	—	15	—	—	—	—	18	14	—	16	18	—	16	15	—	—	—
5-301	17	—	14	—	—	—	—	15	13	—	15	19	—	12	14	—	—	—
5-302	17	—	14	—	—	—	—	17	16	—	15	16	—	13	15	—	—	—
5-303	17	—	15	—	—	—	—	15	12	—	16	15	—	11	13	—	—	—
5-304	15	—	14	—	—	—	—	15	14	—	18	18	—	14	16	—	—	—

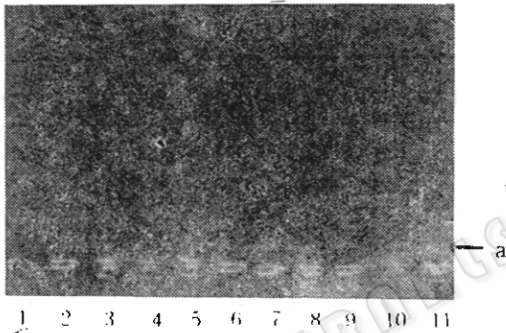


图1 鲍氏14型标准菌和10株产气变种质粒电泳图

1,鲍氏14型标准菌(菌号51532)无大质粒带, Sereny 试验阴性。2—11,鲍氏14型产气变种5-295—5-304,具有120—140Mdal的大质粒带。(a), Sereny 试验阳性

10株菌对新霉素、多粘菌素、庆大霉素、痢特灵,妥布霉素、萘啶酸、卡那霉素、丁胺卡那均呈不同程度敏感,对其它药物有耐药性(见表3)。

### 讨 论

所试10株菌在普通琼脂平板上生长良好,革兰氏染色为阴性无芽孢杆菌,O/F 试验属发酵型,氧化酶、苯丙氨酸、尿素、V-P、西蒙氏枸橼酸盐和硫化氢均呈阴性反应,故应属于肠杆菌科中的埃希氏-志贺氏菌生化群<sup>[8]</sup>,该群目前包括埃希氏菌属5个种和志贺氏菌属A、B、C、D四个群。而本文报道的10株菌均不发酵纤维二糖、侧金盏花醇和甘露醇,鸟氨酸、赖氨

酸阴性,无动力,故可排除埃希氏菌属中的蟑螂埃希氏菌(*E. blattae*)、赫曼氏埃希氏菌(*E. hermanni*)、伤口埃希氏菌(*E. vulneris*)和费格森氏埃希氏菌(*E. fergusonii*)四个新种<sup>[8,9]</sup>。这10株菌豚鼠角膜结膜炎试验均阳性,质粒检测可见120—140Mdal侵袭性大质粒存在,而且赖氨酸阴性,无动力,符合志贺氏菌属和侵袭性大肠杆菌的特性。血清学鉴定,鲍氏14型血清玻片凝集阳性(++++) ,生理盐水对照阴性,定量凝集达血清原效价一半以上。由于鲍氏14型与大肠菌O<sub>32</sub>抗原相同<sup>[10]</sup>,故本试验10株菌还可从下述两方面与侵袭性大肠杆菌鉴别。

1.生化特性的比较: EIEC 是一组低活性大肠埃希氏菌,但其生化特性与志贺氏菌仍有明显区分。Silva (1982)<sup>[11]</sup>曾研究了EIEC 9个O群的97株菌的生化特性,均为甘露醇、靛基质阳性,克氏枸橼酸盐、粘液酸、乙酸钠、乳糖、ONPG、鼠李糖和麦芽糖的阳性率也均在30.9—91.8%。而本文报道的10株菌,上述生化反应均阴性,葡萄糖铵盐也阴性。就所试39种生化反应而言,除分解葡萄糖产生少量气体外,其余38种生化特性均符合志贺氏菌属定义。而各单项生化反应与Ewing (1986)描述的鲍氏志贺氏菌相符<sup>[10]</sup>,与Edwards (1972)描述的鲍氏14型完全一致<sup>[3]</sup>。

2. 从表2噬菌体裂解试验结果可见, 14株菌均被志贺氏菌(Sh)噬菌体裂解。应用1RTD的Sh噬菌体试验时, 10株试验菌和一株鲍氏14型标准菌也均被裂解, 但3株侵袭性大肠杆菌不裂解。此结果与有关报道<sup>[7]</sup>一致, 即大肠埃希氏菌的某些菌株只能被100RTD以上的Sh噬菌体裂解, 不能被1RTD的Sh型菌体裂解。

综上所述, 根据10株菌的形态、生化特性、血清学特性, Sereny试验和侵袭性质粒检测结果, 将其定为鲍氏14型产气变种。

### 参 考 文 献

1. Brenner et al.: *J Clin Microbiol* 16(3): 432, 1982.

2. Krieg N R and J G Holt (ed): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology I*: 423, 1984.
3. 郝士海等译: 肠杆菌科鉴定(第三版), 卫生部药品生物制品检定所, 江西省卫生防疫站印, 1980。
4. Kado I et al.: *J Bacteriol* 145: 1365 1981.
5. 何晓青主编: 卫生防疫细菌检验, 新华出版社, 651页, 1989。
6. 胡真等: 抗生素敏感试验。中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所印, 1987。
7. 何晓青等: 中华微生物和免疫学杂志, 8(2): 96, 1988。
8. Farmer J et al.: *J Clin Microbiol* 21(1): 46, 1985.
9. 于恩庶等: 中国人兽共患病学, 福建科技出版社, 144页, 1988。
10. Ewing et al.: *Identification of Enterobacteriaceae* (4th Edition) 135, 1986.
11. Siwa et al.: *J Clin Microbiol* 11(5): 441, 1980.