

从临床感染中分离的九株粘质沙雷氏菌

赵乃昕 成可径 赵淑莲

安玉亮

(潍坊医学院, 山东潍坊 261042)

(潍坊市人民医院, 潍坊 261041)

蔡妙英

金盛义

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

(山东医科大学附属医院, 济南 250010)

摘要 从临床化脓性感染中分离到九株革兰氏阴性产生脂溶性红色素的小杆菌。经详细鉴定(20种生化反应, 120种底物利用试验及G+C mol%测定)为粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)。其中两株能利用3,4-二羟基苯甲酸盐为唯一的碳源而生长, 证明此试验适用于本属的种型鉴定。9株菌中有7株细菌属于粘质沙雷氏菌A₂型。药敏试验显示青霉素及其它作用于细胞壁的抗生素对这些菌无效而所试验的氨基糖苷类抗生素几乎全有效。红霉素、链霉素和复方增效磺胺则各株间的敏感性不同; 磺胺虽不抑制此菌生长却抑制灵菌素的产生。

关键词 化脓性感染; 粘质沙雷氏菌; 3,4-二羟基苯甲酸盐; 药敏试验; 灵菌素

1990—1991年从临床各种感染中分离出9株产生脂溶性红色素的革兰氏阴性小杆菌, 经系统鉴定及观察, 这些菌株为粘质沙雷氏菌, 其中7株属于此种A₂型。我国对临床分离的沙雷氏菌尚无鉴定到菌型的报道, 而菌型的鉴别对医院流行病学有重要价值。此外在观察中还遇到各种有意义的现象, 现报道如下。

材料和方法

(一) 临床菌株

由潍坊医学院附属医院、潍坊市人民医院和山东医科大学附属医院共收集到12份临床化脓性感染标本, 其中5份脓汁以纯培养状态生长出红色素的菌落; 3份痰培养和1份尿培养以优势生长长出此菌。共分离到供试菌9株(表1)。

(二) 对照用菌株

在进行生化反应和底物利用试验时, 以大肠埃希氏菌44106, 葱头假单胞菌ATCC

13945和椰毒假单胞菌NCIB 9450为对照。

(三) 生物学性状的观察

培养特性和生化反应按“一般细菌常用鉴定方法”^[1]进行。底物利用试验用Palleroni和Doudoroff的无机盐基础^[2], 加入0.3%的底物, 以平板法进行。每个平板试验10个菌株, 接种物为约1亿/ml的生理盐水菌悬液, 各取一接种环接种。以不含底物的无机盐平板为对照, 35℃培养48小时观察结果。然后放置室温15天, 观察迟缓出现的结果。

(四) G+C mol%和DNA相关性测定

以Marmur法^[3]提取DNA, 以Marmur和Doty的方法^[4]测定T_m值, 计算G+C mol%。菌株间的DNA相关性是按De Ley等的复性速率法^[5]实验得到。

结果和讨论

(一) 形态特征

供试菌株在血平板或营养琼脂平板上产

表1 分离的粘质沙雷氏菌的来源及各株间不一致的性状

编号	标本来源	色素溶于液体石蜡	底物利用				药敏试验			
			3,4-二羟基苯甲酸盐	3-羟基苯甲酸盐 4-羟基苯甲酸盐	乙酸盐	meso-酒石酸盐	Ery	Str	Cos	Su
沙1	耳后皮下脓肿	+	-	-	(+)	-	敏	低	敏	抗
沙2	乳腺脓肿	+	+	+	(+)	-	抗	敏	中	抗
沙3	痰	-	+	+	(+)	-	抗	敏	中	抗
沙4	中耳炎分泌物	+	-	-	(+)	-	抗	敏	中	抗
沙5	膀胱炎尿	+	-	-	(+)	-	抗	敏	中	抗
沙6	痰	+	-	-	-	(+)	抗	敏	中	抗
沙7	痰	+	-	-	-	-	抗	敏	中	中
沙8	十二指肠液	-	-	-	-	(+)	抗	中	低	中
沙9	腿部脓肿	+	-	-	(+)	(+)	抗	中	低	抗

“(+)”迟缓阳性;“敏”敏感;“抗”抗药;“中”中度敏感;“低”低度敏感;“Ery”红霉素,“Str”链霉素,“Cos”复方增效磺胺,“Su”磺胺

生中等大小,湿润光滑的菌落,有脂溶性红色素。涂片染色呈革兰氏阴性球杆状,在液体培养基中10小时左右的幼稚培养物方显杆状。

(二) 生化特性

氧化发酵试验为发酵型,氧化酶阴性,触酶强阳性。不需要生长因子,能在葡萄糖铵盐培养基中生长。发酵葡萄糖产酸不产气,甲基红试验结果不定,VP阳性,不产生靛基质和硫化氢,苯丙氨酸脱氨酶阴性。能发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、L-岩藻糖、赤藓醇;不发酵乳糖、卫矛醇、阿拉伯糖、木糖、蜜二糖和D-岩藻糖。在无机盐基础培养基中能利用柠檬酸盐、辛酸盐、犬尿酸盐、菸酸盐、γ-氨基丁酸和L-脯氨酸为唯一的碳源进行生长;不能利用丁酸盐、丙二酸盐、马尿酸盐、甘氨酸、苏氨酸、赖氨酸和缬氨酸为唯一的碳源进行生长。能产生DNA酶、脂酶和明胶酶,不产生淀粉酶。由上述形态和生化反应的表型特征鉴定供试菌株为粘质沙雷氏菌。这些菌株的详细生理生化性状见表2。

(三) G+C mol%测定结果

将沙2和沙3两株菌提取DNA,进行G

+C mol%测定,结果沙2为60.0,沙3为59.5。将沙2与沙3的DNA按复性速率法进行DNA-DNA分子杂交,两者的DNA相关性为98%。这进一步肯定了粘质沙雷氏菌的鉴定。

(四) 种内的区别与分型

虽然上述九个菌株在形态培养、生化反应和底物利用试验的结果极为一致,但对3,4-二羟基苯甲酸盐的利用上存在明显的不同,沙2和沙3可利用此化合物,而其它7株细菌则完全不能利用。据知,此项结果在沙雷氏菌属的鉴定中未曾报道过。虽然3,4-二羟基苯甲酸盐阳性的菌株,4-羟基苯甲酸盐往往也阳性,但前者仅需一天而后者需三天才表现阳性,因而建议在对本属细菌的分类鉴定时,应包括3,4-二羟基苯甲酸盐利用试验。

上述菌株除3,4-二羟基苯甲酸盐外,对3-羟基苯甲酸盐、4-羟基苯甲酸盐和内消旋酒石酸盐的利用上也存在不同(表1)。除沙2、沙3外,其它7株沙雷氏菌因产生灵菌素,赤藓醇阳性,苯甲酸盐、马尿酸盐、3-羟基苯甲酸盐和4-羟基苯甲酸盐为阴性而符合Grimont的A₂

型^[6]。沙2、沙3株因试剂不全而未鉴定到菌型。

表2 9株供试菌的生理生化性状

阳性的性状		阴性的性状	
红色素	VP	氧化酶	尿素分解
动力	明胶酶	胨基质	淀粉酶
OF:发酵型	脂酶	硫化氢	葡萄糖产气
触酶	生长于4%NaCl	苯丙氨酸脱氨酶	生长于7%NaCl
利用:			
葡萄糖	来苏糖	木糖	
麦芽糖	山梨醇	L-阿拉伯糖	纤维二糖
半乳糖	七叶苷	蜜二糖	山梨糖
甘露醇	甘油	乳糖	棉子糖
蔗糖	赤藓醇	鼠李糖	D-岩藻糖
藜糖	侧金盏醇	卫矛醇	菊糖
L-阿拉伯糖醇	肌醇	松二糖	糊精
水杨素	木糖醇	松三糖	D-阿拉伯糖醇
L-岩藻糖	熊果苷	2,3-丁二醇	正丙醇
乙酸盐	β-甘油磷酸盐	L-酒石酸盐	乙酸盐
己酸盐	葡萄糖酸盐	D-酒石酸盐	甘氨酸
辛酸盐	葡萄糖醛酸盐	乳酸盐	丙二酸盐
壬酸盐	柠檬酸盐	丁酸盐	戊二酸盐
DL-苹果酸盐	乌头酸盐	异丁酸盐	己二酸盐
丙酮酸盐	2-酮戊二酸盐	异戊酸盐	庚二酸盐
琥珀酸盐	犬尿酸盐	中康酸盐	辛二酸盐
延胡索酸盐	苯乙酸盐	柠康酸盐	癸二酸盐
菸酸盐	L-丙氨酸	衣康酸盐	顺丁烯二酸盐
L-天门冬酸	D-丙氨酸	甜菜碱	反乌头酸盐
天门冬素	β-丙氨酸	2-羟丁酸盐	异烟酸盐
L-谷氨酸	L-组氨酸	3-羟丁酸盐	邻羟基苯甲酸盐
L-苯丙氨酸	L-丝氨酸	4-羟丁酸盐	甘氨酸
L-酪氨酸	L-脯氨酸	粘液酸盐	L-精氨酸
		苯甲酸盐	L-亮氨酸
		马尿酸盐	DL-甲硫氨酸
		L-苏氨酸	L-缬氨酸
		L-赖氨酸	D-缬氨酸
		2-氨基戊酸	瓜氨酸
		肌氨酸	6-氨基正己酸

粘质沙雷氏菌为重要的条件致病菌,近年来在抵抗力低下的生物体由此菌引起的感染较为常见。此菌抵抗青霉素而医院对于局部脓肿往往首先使用青霉素,本文中沙1、沙2的感染,就因只注射常量青霉素而迁延时日,病情发展,其后才作细菌分离改用其它抗生素的。本文的9株粘质沙雷氏菌药敏结果甚为一致,全部抗药的是青霉素G、氨基青霉素、苯唑青霉素、先锋霉素、万古霉素、杆菌肽、红霉素、土霉素和利福平。全部敏感的是庆大霉素、卡那霉素、丁胺卡那霉素、新霉素和托布霉素。羧苄青霉素和哌啶酸呈中度敏感。各株间反应不一致的药物见表1。

分离的大多数菌株对磺胺抗药而对复方增效磺胺呈中度敏感,表现为抑菌环虽大但不为不完全抑菌。有趣的是不论是毫无抑菌作用的氨基磺胺还是不完全抑菌的复方增效磺胺,往往都抑制灵菌素的产生,在含药纸片周围不显红色,此现象的机理值得进一步研究。

参 考 文 献

1. 中国科学院微生物研究所细菌分类组:一般细菌常用鉴定方法,科学出版社,1978。
2. Palleroni N J and M Doudoroff; *Annu. Rev. Phytopathol.* **10**:73-100,1972.
3. Marmur J; *J. Mol. Biol.* **3**:208-218,1961.
4. Marmur J and P Doty; *J. Mol. Biol.* **5**:109-118,1962.
5. De Ley J et al.; *Eur. J. Biochem.* **12**:133-142,1970.
6. Grimont P A D and F Grimont; *Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. 1*, p. 477-486,1984.

(1992-11-24 收稿)

NINE STRAINS OF *SERRATIA MARCESCENS* ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES

Zhao Naixin Cheng Kejing Zhao Shulian

(Weifang Medical College, Weifang 261042)

Cai Miaoying

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

An Yuling

(Weifang People's Hospital, Weifang 261041)

Jin Shengyi

(Affiliated Hospital of Shandong Medical University, Jinan 250010)

Nine strains of *Serratia marcescens* were isolated from clinical samples. In the identification, 20 items of biochemical reactions and 124 items of substrate utilization tests have been used. Two strains, which have not been appointed to a biotype of the species, can utilize 3-hydroxybenzoate, 4-hydroxybenzoate or protocatechuate as sole carbon source for growth. The growth in protocatechuate medium was more rapid as compared with 3- or 4-hydroxybenzoate medium. So, we here suggest that protocatechuate should be included in the substrate utilization for the genus. The other seven strains have been identified as Grimont's A₂ subphenon of *S. marcescens*. Pencillin and other wall-acting antibiotics are all resisted by these strains; aminoglycoside antibiotics are almost all effective. Co-trimoxazole and sulfadiazine, though couldn't inhibit the growth of the strains, do inhibit their pigment production.

Key words Suppurant Infection; *Serratia marcescens*; Protocatechuate; Drug Sensitivity; Prodigiosin