

枸橼酸杆菌引起食物中毒的报告

孙成斋** 贾振山* 吴显军*

枸橼酸杆菌和亚利桑那杆菌等肠杆菌一样属于机会感染的病原菌〔1〕,国内尚未见报道,国外报告此菌能引起人类败血症〔2〕、胆道感染〔3〕及食物中毒〔4〕等。1978年8月某部发生了一次食物中毒,经流行病学、临床、细菌学及双份血清凝集试验,综合判定为由枸橼酸杆菌引起的食物中毒,现报告如下。

材料和方法

一、调查方法:发病后立即赶到现场进行流行病学调查,以无菌手续采集血、便、呕吐物及剩余食物标本等,带回实验室放冰箱保存备用。

二、材料:SS、EMB培养基为市售成品,血液琼脂、嗜盐菌选择培养基及生化学试验培养基自制。志贺氏菌、沙门氏菌及致病性大肠杆菌血清为北京生物制品研究所生产。药敏纸片由上海市第六人民医院供给。

三、分离程序:肠杆菌、副溶血弧菌、金葡菌、蜡样杆菌采用常法分离,韦氏梭菌采用厌氧培养法。将分离培养基上的可疑菌落转种TSI培养基,对初步生化学反应符合者再作全生化学鉴定。

四、活菌计数:按春田氏〔5〕介绍的稀释法。以最高稀释度在分离培养基上出现的各种菌落,全部转种生化学试验培养基。根据生化学特征最后判定。以同一稀释度中两个平板各种细菌的平均值乘以稀释倍数,即为每克标本中各种细菌的活菌数。

五、双份血清凝集试验:抽取病后2~10天的患者静脉血各一次,分离血清,放冰箱保存。把自标本中分离得的优势菌,转种营养琼脂斜面,按常法制成10亿/毫升的诊断菌液,凝集试验按常法操作。

结 果

一、流行病学:

发病率:某连于8月31日9时许出现有头痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻、发热病人3例,10时5例,11时4例,12时8例,14时3例,15时4例,以后停止发病,共27例,为全连总就餐人数87名的31.3%,持续时间6个小时。

单位分布:各班均有病人发生,以炊事班最多,可见与进食有直接关系(表1)。

表1 病人在各班的分布

	进餐人数	发病人数	发病率(%)
一班	10	3	30.0
二班	12	4	33.0
三班	9	1	11.1
四班	11	3	27.3
五班	9	4	44.4
六班	11	4	36.4
七班	11	1	9.1
连部	6	1	16.7
炊事班	8	6	75.0
合计	87	27	31.3

潜伏期:对27例病人的潜伏期进行统计,求其几何平均数,推定此次食物中毒的潜伏期为4小时。

原因食品:8月31日早餐主食馒头是新蒸的,未见异常。副食有凉拌猪肝与肺,还有30日剩下的少量猪肉包馅,因为量少,经炒熟后也分给部分班食用。据讲包馅已轻度腐败。猪肝与肺是30日从当地食品站买回后,经水洗,放入一只大铝盆内,当晚9时许煮熟后又放到同一盆内,盆事前未经消毒处理。第二天晨即切碎分食。流行病学调查证明单吃猪肝与肺和

**工程兵后勤部卫生处

*工程兵后勤部防检所

•88612部队医院防疫所

同食用包馅的战士发病率相差不大(表2)。因此可以认为凉拌猪肝与肺是原因食品,和包馅无关。

表2 发病和副食种类的关系

副食种类	进食人数	发病人数	发病率(%)
凉拌猪肝、肺	64	21	32.8
猪肝、肺+包馅	23	6	26.1

$\chi^2 = 0.85$ $P > 0.05$

二、临床与治疗: 27例病人的临床表现是, 头痛22例(81.5%), 腹痛、腹泻各21例(81.1%), 全部为粘液、水样便, 一般为3~4次/日, 也有多达20多次的, 无脓血便。恶心、呕吐者17例(63.0%), 发热9例(33.3%)。9例病人白细胞总数在5,500~11,700/毫米³之间, 中性在65~70%左右, 仅1例为82%。9例大便常规检查有2例发现少量红、白细胞, 其他未见异常。

所有住院病人经按急性胃肠炎处理, 服用黄连素、痢特灵, 脱水者适量补液, 一周内全部康复。

三、细菌分离: 15份标本在SS、EMB及血液琼脂培养基中, 占绝对优势的是大肠杆菌和枸橼酸杆菌。共分离出枸橼酸杆菌15株, 其中来自粪便11株, 呕吐物和食物各2株。该菌株全为具有迅速分解乳糖、卫茅醇、纤维二糖, 可在氰化钾培养基、Jordan氏枸橼酸盐培养基上生长等特点, 因此被判定为弗劳地枸橼酸杆菌。10株大肠杆菌, 有8株来自粪便, 2株来自猪肝、肺。还分离出少量的变形杆菌及绿脓杆菌。志贺氏菌、沙门氏菌、金葡菌、副溶血弧菌、韦氏梭菌、蜡样杆菌等阴性。

把猪肝、肺标本2份分别做活菌计数, 第一份标本中枸橼酸杆菌2,000个/克, 大肠杆菌55,500个/克; 第二份标本枸橼酸杆菌13,333个/克, 大肠杆菌2,453,333个/克。1份粪便标本枸橼酸杆菌3,000,000个/克, 大肠杆菌13,250,000个/克。

用从粪便和猪肝、肺标本中分离的7株大

肠杆菌和4株枸橼酸杆菌分别做药敏试验, 两种细菌表现出相似的耐药谱, 都较规律的对痢特灵、TMP、合霉素、土霉素、庆大霉素, 卡那霉素耐药, 对SD、链霉素敏感, 对于这种现象颇值得进一步探讨。

四、双份血清凝集试验: 用枸橼酸杆菌、大肠杆菌分别制成菌液, 和13例双份血清凝集反应的结果表明, 大肠杆菌虽有凝集抗体出现, 但没有意义, 而对枸橼酸杆菌有显著诊断意义的4倍以上抗体效价上升(表3)。第一次平均滴度为1:37.7, 第二次1:37.2。

表3 13例病人双份血清凝集试验结果

姓名	双份血清凝集滴度	
	第一份	第二份
郭 × ×	1:32	1:1024
李 × ×	1:32	1:512
黄 × ×	1:64	1:512
史 × ×	1:16	1:512
秦 × ×	1:32	1:256
肖 × ×	1:64	1:256
任 × ×	1:64	1:256
金 × ×	1:128	1:256
陈 × ×	1:32	1:1024
谢 × ×	1:16	1:1024
秦 × ×	1:64	1:512
宋 × ×	1:32	1:1024
孙 × ×	1:32	1:256

一: 不凝集, +: 25%凝集, ++: 50%凝集, +++: 75%凝集, 卅: 完全凝集。

讨 论

枸橼酸杆菌由于生化学反应比其他肠杆菌更接近沙门氏菌及亚利桑那杆菌属, 因此Edwards & Ewing^[6]把它置于沙门氏菌族, 其代表株是弗劳地枸橼酸杆菌(Citrobacter freundii)。由于大量中间型菌株的存在。所以长期以来命名相当混乱, 最常用的异名是贝萨斯达-巴勒鲁普菌(Bethesda-Ballerup)。Bergey's手册^[7]第八版收录的枸橼酸杆菌属除弗劳地型以外, 还记载了Werkman & Gillen 1932年报告的所谓无定型枸橼酸杆菌(Citrobacter Diversus)但Ewing^[6]对此持有异议, 认为枸

橡胶杆菌属的代表型只有弗劳地枸橼酸杆菌一种,当然这并不排除大量生化学变异株的存在。我们在此次食物中毒时分离出的细菌,由于生化学反应典型,因此应属于弗劳地枸橼酸杆菌。在世界范畴内本菌至今没有可供实用的分型血清。由于分类学上它与沙门氏菌属、亚利桑那菌属的近缘关系,所以生化学、血清学反应有很多相似处,据报道^[6,9]枸橼酸杆菌、沙门氏菌属的“O”、“H”、“Vi”抗原及亚利桑那菌属的“O”、“H”抗原间可以出现相当严重的交叉,这是实际工作中应当注意的。

现在认为本菌是机会感染的病原微生物。在外环境及动物体内广泛分布,在某些特殊环境中,当细菌有了大量繁殖的机会也可以引起食物中毒,比如肉类食物被本菌污染以后。青山等^[10]报告因食用鱼片而致11名进食者全部发病。我们处理此次食物中毒,系食用凉拌猪肝、肺所致,每克食品中枸橼酸杆菌的活菌数在2,000~13,333个之间,使进食者的31.3%发病。本菌引起的食物中毒潜伏期短,青山等报告为15~30小时,我们处理的为4小时,显然较前者短。临床表现为头痛、腹痛,恶心、呕吐。腹泻次数多少不一,为粘液水样便,无脓血,有少量红、白细胞,严重者有脱水现象。低热者居多,而青山等的病人中也有高达39°C以上的,预后良好,未发现死亡。另据坂崎、^[11,16]小张^[12]等报告,新生儿及某些消耗性疾病末期由本菌续发感染的也并非少见。就现有资料及我们的经验来看,爆发后未见二代病人发生,说明在一般条件下病人的传染性是很低的,也进一步确立了本菌作为机会感染菌的地位。反之,这并不能否定人作为传染源的作

用。中村等^[13]报告,细菌性痢疾及其密切接触者4,956名和食品业人员11,273名中,贝萨斯达-巴勒鲁普菌的平均带菌率为0.98%。而稍后大岛^[14]报告,腹泻、肠炎病人中本菌的检出率57.3%,临床诊断为痢疾而志贺氏菌阴性者,本菌检出率为46.1%,健康人群本菌的阳性率仍可高达30.3%。所以许多作者强调枸橼酸杆菌作为机会感染致病菌的作用是不应忽视的。

关于本菌的耐药性问题,60年代日本研究者发现对链霉素、氯霉素、金霉素、四环素有轻度耐药,到了80年代不仅常用抗菌素而且对新合成的先锋霉素也有不少菌株产生了耐药性^[15]。我们分离出的枸橼酸杆菌表现出多联耐药的征,耐药谱和同时分离出的大肠杆菌又大概一致,因此有关本菌耐药性和大肠杆菌间的关系有进一步深入研究的必要。

参 考 文 献

1. 田村和满: Modern Media, 5:9, 1977.
2. 原田贤治他: 日本细菌学杂志, 8:700, 1953.
3. 平田一士: 京都府卫生研究所所报, 7:56, 1954.
4. 陈敏馨: 临床病理, 11:51, 1963.
5. 春田三佐夫: Modern Media, 8:39, 1977.
6. 郝士海等译: 肠杆菌科的鉴定, 310页, 江西新华印刷厂, 1978.
7. Bergey: Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed, p 310, The Williams & Wilkins, Baltimore, 1974.
8. Ewing WH: CDC Publication, Atlanta, 1971.
9. 小酒井望: 微生物检查, 7:209, 1974.
10. 青山岩他: 日本传染病学会杂志, 1:45, 1960.
11. 坂崎利一: 日本细菌学杂志, 9:953, 1954.
12. 小张一峰他: 日本感染病学会杂志, 26:160, 1952.
13. 中村武雄他: 日本感染病学会杂志, 30:923, 1955.
14. 大岛丰正: 日本感染病学会杂志, 11:1061, 1961.
15. 真下启明: 感染症学杂志, 2:48, 1979.
16. 坂崎利一: Modern Media, 10:311, 1957.