

两株无鞭毛鼠伤寒沙门氏菌的 微生物学诊断

锦州医学院附属医院检验科

姚宏震 王新花 褚亮子 王小男

1981年2月至5月,我院儿科病房先后发生两起因鼠伤寒沙门氏菌交叉感染致多数患儿发病,我们从患肺炎患儿的腹泻粪便中共分离出42株鼠伤寒沙门氏菌。在菌株鉴定过程中,我们还发现两株其形态,培养特性,生化反应与已分离的其它已证明为鼠伤寒沙门氏菌相同,惟血清学反应仅能与沙门氏菌属因子血清O—4凝集与H—b、c、d、i、e、h及e、n、1、2均不凝集的B群沙门氏菌。因未定型,本文暂称它为无鞭毛B群沙门氏菌变异株,并分别编号为J8102、J8105。因上述两株细菌系由鼠伤寒沙门氏菌感染而发病的患儿粪便中在同一个时期分离出,故我们考虑以鼠伤寒沙门氏菌变异株的可能性较大。遂决定采用噬菌体作转导试验,终于确定两株菌的完全抗原式(1、4、5、12;i、2),肯定了这两株沙门氏菌是典型的双相鼠伤寒沙门氏菌。现将各项检查报告如下:

一、生化反应:

两株细菌生化反应表现一致,均发酵葡萄糖,甘露醇,麦芽糖,产酸产气;分解卫矛醇,阿拉伯胶糖,木糖,鼠李糖,产酸不产气;不发酵乳糖、蔗糖、水杨素;产生硫化氢;能利用枸橼酸盐,使硝酸盐还原为亚硝酸盐,分解酒石酸盐,不分解尿素、靛基质反应阴性。

二、血清学分析:

两株无鞭毛变异株,经多次用沙门氏菌属因子血清(成都生物制品研究所出品,共144种)做玻片凝集试验,结果它们对O—4因子血清呈明显凝集。进一步用O—1、5、12因子血清

试验(O—12系复因子血清,结果,O—9、12呈阳性,单因子血清O—9呈阴性),亦呈明显凝集,但与H—b、c、d、i、e、h及e、n、1、2因子血清均不凝集,因此,判明两株细菌的抗原式为1、4、5、12;i、2。

为比较两株无鞭毛变异株与同一时期内由其它患者粪便分离出的已定型为鼠伤寒沙门氏菌的“O”抗原成分是否相同,除做玻片凝集试验外,我们又分别用无鞭毛的B群沙门氏菌变异株及确认为鼠伤寒沙门氏菌各一株的纯培养物,制成细菌悬液,按常规法,先用死菌后用活菌分别免疫家兔制备免疫血清,进行定量凝集试验及凝集素交叉吸收试验,结果,每株细菌与任何一种免疫血清的凝集效价均达1:1280,交叉吸收后,再分别以吸收后的免疫血清做凝集试验,结果,均呈阴性。证明两者“O”抗原成分完全相同。

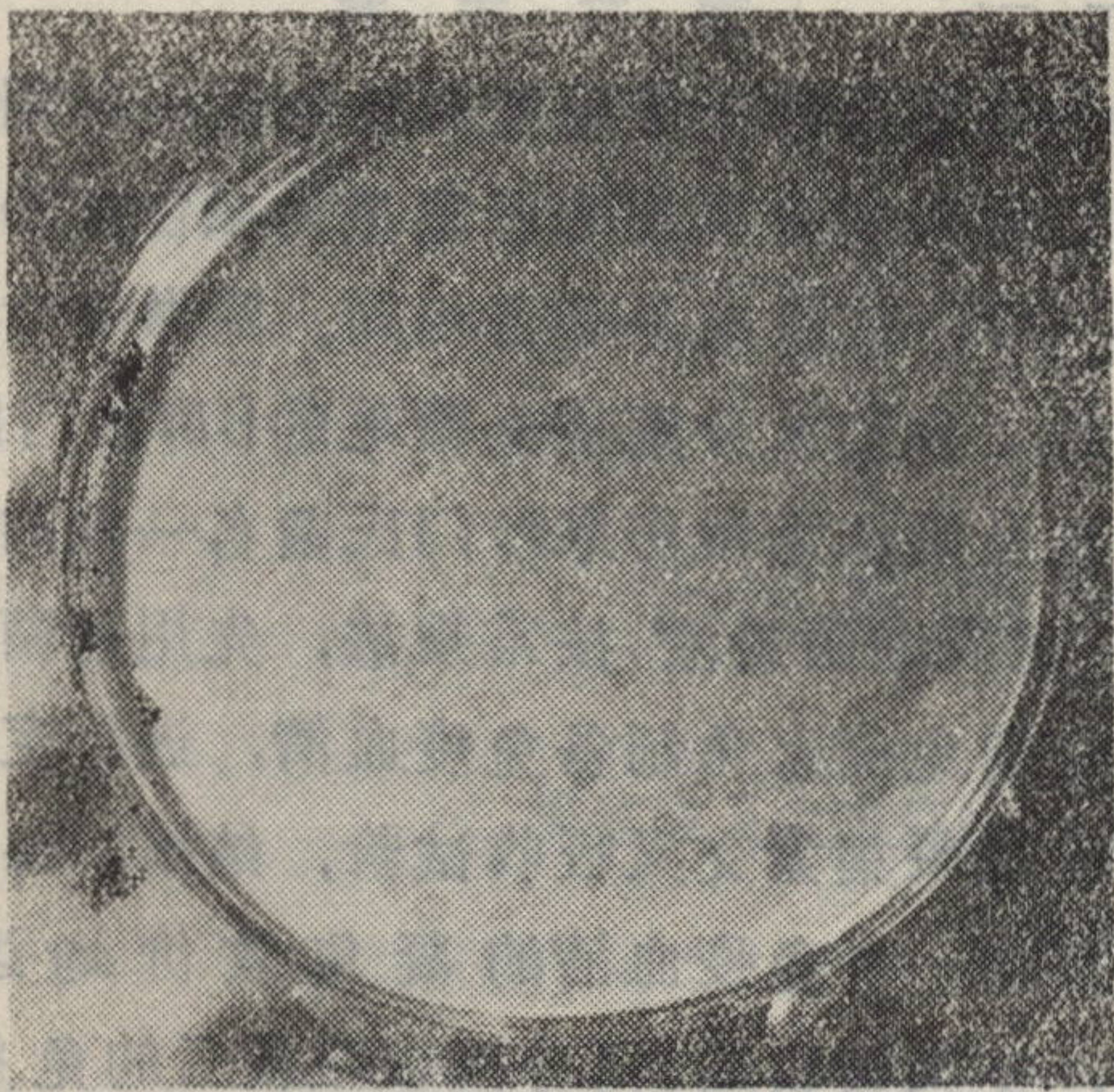
三、动力“返祖诱导”试验:

将两株无鞭毛变异株分别接种0.3%半固体及0.3%半固体“U”形管,0.7%琼脂平皿,普通肉汤中连续进行十次传代诱导,均未见有动力发生,同时应用小白鼠体内传代诱导,每代用鼠两只,连续传代十次,亦未见动力发生。

四、噬菌体转导试验:

为获得转导噬菌体,首先测定两株被检菌的溶原性。我们采用了紫外线照射诱导法。该方法是将被检菌的16~18小时(37°C)肉汤培养物置于含3~4毫升生理盐水的平皿中,混匀,用紫外线(30W)照射处理,照距30~40厘米,时间2分钟。照射后,将菌液移入浓缩肉汤内,

于37°C下培养3小时,然后置56°C水浴处理30分钟,离心后取上清液备用。另取0.7%琼脂5毫升,加热融化后,稍冷却并保温于50°C下,加入上述上清液1毫升及0.1毫升的培养6~12小时的指示菌(鼠伤寒沙门氏菌LT₂株,该菌已知为非溶原性,由卫生部生物制品检定所分与)肉汤培养物,充分混匀后,立即倾注于普通琼脂平板的表面,俟凝固后,置37°C下培养12~18小时。结果两株被检菌均证明为溶原性菌株,即具有单个噬斑存在,表现为毛玻璃样混浊,见照片(系J8102号菌株溶原性鉴定结果)。



附图 J8102号菌株溶原性测定图

为制取转导噬菌体,在上述琼脂平板(即J8102号菌株)上,加5毫升普通肉汤,盖皿后用手轻旋摇匀约5~10分钟后,吸取肉汤,用中速离心以除去细菌及琼脂等碎裂物,取其上清液(称噬菌体原液),继用LT₂株在其中增殖,经滤过除菌,确认无菌后,取滤液供转导试验用。取上述滤液即噬菌体液1毫升,加入被检菌的纯培养物少许,混匀,置37°C水浴中经两小时后接种于0.3%半固体中及含有0.3%半固体的“U”形管内,同时接种被检菌原株为对照,于37°C下培养过夜,结果被检菌原株仍表现无动力而经噬菌体处理过的两株被检菌中J8102株经一次转导处理后出现动力,

经血清学鉴定,其“H”抗原分别与H—i及H—2因子血清凝集而另一J8105株,经同样滤液处理后,仅呈微弱动力,尚不能与H因子血清呈肉眼可见的凝集,但于再次传代后,首先出现第2相“H”抗原,经用普通肉汤作位相分离诱导培养过夜后,结果方出现第1相“H”抗原。从而使我们分离的两株无鞭毛“B”群沙门氏菌最后鉴定属典型的双相鼠伤寒沙门氏菌。

五、讨论:

关于沙门氏菌属无鞭毛变导株的定型诊断问题,有关文献中有位相分离或诱导的记述,在临床微生物学检验中,它对鉴定分离菌株常少帮助。我们通过噬菌体转导试验,对两株细菌作出血清学定型诊断,确定为鼠伤寒沙门氏菌。我们所用的方法较简便,在一般县、市医院及卫生防疫站是有一定参考价值的。

溶原性细菌虽不含有噬菌体颗粒,但含有前噬菌体(Prophage),从而具有产生噬菌体的潜在能力。它位于菌细胞染色体的一个特定位置上。前噬菌体转为噬菌体,一般可通过自发产生,也可通过诱导作用形成。紫外线照射的作用,可促使宿主菌释放噬菌体颗粒^[1],我们采用此法获得了满意的结果。

制取转导噬菌体可用多种方法,采用琼脂平板法能获得大量噬菌体,本文中采用的肉汤裂解法也获得满意结果。

我们使用的两株可疑种别的沙门氏菌,从患儿分离之日起,经过在实验室中及动物体内传代诱导达10次以上,始终未见自动获得动力,从这一现象看来这两个菌株其遗传性是相对稳定的。

从临床标本中分离的失去鞭毛的鼠伤寒沙门氏菌的变异株,国内报道的不多,陈、辜等氏曾于内蒙分离17株^[2],我们在锦州地区于锦州医学院附属医院儿科病房内发生两起鼠伤寒沙门氏菌院内交叉感染,从两例患肺炎兼有腹泻的患儿粪便中发现了两株抗原性异常的鼠伤寒沙门氏菌。此类变异细菌无论从临床诊断、医

疗预防以及流行病学中有关人间传播上都具有一定意义,因此提出供临床及预防医学工作者参考。

摘 要

1981年锦州医学院附属医院儿科病房发生两起鼠伤寒沙门氏菌院内交叉感染,我们从2例患肺炎兼有腹泻的病儿粪便中分离出两株无鞭毛“B”群沙门氏菌。经常规检验,不能确定其型别。但经采用紫外线照射以诱导菌株释放噬菌体,并侵染鼠伤寒沙门氏菌LT₂株进行增殖,用此噬菌体为转导媒介,处理两株无鞭毛菌株后,终于确定两株无鞭毛细菌为典型的双相鼠伤寒沙门氏菌。

ABSTRACT

In 1981, 2 outbreaks of nosocomial infections due to *Salmonella typhimurium* occurred in the pediatric ward of an affiliated hospital of Jinzhou Medical College. Two strains of non-motile *Salmonella* group B microorganisms were isolated con-

currently from 2 Patients suffering from pneumonia complicated with diarrhea. These 2 strains could not be further identified to species by routine examinations. Applying the technic of induction by ultraviolet irradiation from the prophage carried by these microbes, we got appropriate bacteriophages released from these Lysogenic strains. After being cultivated together with a known-strain of *Salmonella typhimurium*(LT₂), the phages were found to be proliferating. After treating the non-motile strains mentioned above with the phage particles, we finally succeeded in identifying these species of *Salmonella* strains to be typical 2-phased *Salmonella typhimurium*.

参 考 文 献

1. 司樨东、陈廷祚等译:噬菌体,第194页,江苏噬菌体研究室,南京,1979。
2. 陈家炽、辜清吾等:流行病学杂志,1(3):162,1980。

(本文承蒙中国医学科学院流行病学微生物学研究所刘秉阳教授审阅文稿,卫生部药品生物制品检定所辜清吾大夫大力协助,谨致谢忱)

乌鲁木齐地区中小學生(6~14岁)风湿热(心)的调查报告

新疆医学院第一附属医院 何秉贤 肉孜阿吉 洪秀芳

1981年5~7月,根据全国风湿热与风心病流行病学调查研究协作组的规划方案,对乌鲁木齐地区中小學生(6~14岁)风湿热(心)作了调查,共普查1,496人,普查率为所在学校学生的100%。在普查期间未见风湿热活动期的患者,发现风湿性瓣膜病15例,患病率为10%,高于内地已普查的省市。患病率在各民族

和两性之间并无显著性差别。认为在乌鲁木齐地区风心病患病率较高的原因与冬季较长咽峡炎易于流行有关,也许还与冬季较长新鲜食物较少,维生素丙缺乏有关。

(本文全文曾在1982年全国心血管流行病及人群防治科研协作会上交流)

自9921份腹瀉病人糞便檢出不凝集霍亂弧菌的分析

湖北省黃岡地區衛生防疫站 雷人民

为了解不凝集霍亂弧菌(NAG)在我区的分布情况,我们于1981年6至10月在我区广济、黄梅、鄂城三地对门诊腹瀉病人和有接触史的健康人共采取糞便样本9921人份,分离出NAG47株,阳检率为0.47%。工人、农民的阳检数共占总检出数的80.85%,学生

和干部为4.25%和6.38%。以0~7岁组检出率最高为0.93%。

47株NAG除1株未作生化反应外,其余46株分布在I至VI群中(按海格氏分群法)。群别率以II、VI、III为高,IV群检出率最低,未分离到VII、VIII两群。