

# 1 株与志贺氏菌生化相似、抗原相同的大肠埃希氏菌

朱惠芳 黄巧萍

作者单位: 214185 无锡市, 无锡市北塘区疾病预防控制中心

**【摘要】** 目的 为正确鉴定肠侵袭型大肠埃希氏菌与志贺菌提供参考。方法 对采集到的 1 份感染性腹泻标本进行致病菌分离, 对初步鉴定为志贺氏菌的可疑菌进行进一步生化鉴别试验及血清学诊断试验。结果 检出 1 株一般生化特性符合志贺氏菌, 并与其诊断血清发生交叉凝集反应的肠侵袭型大肠埃希氏菌。结论 肠侵袭型大肠埃希氏菌与志贺氏菌有极其相似的生化特征, 相同的抗原成分, 在分离志贺氏菌时, 为避免鉴定错误应当使用最经典可靠的生化试验方法, 以确保菌株鉴定的准确性。

**【关键词】** 志贺氏菌; 肠侵袭型大肠埃希氏菌; 交叉凝集; 生化试验

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.019

2013 年 11 月, 我中心从辖区内 1 例感染性腹泻病患者肛拭标本中检出 1 株与志贺氏菌一般生化特征相同、具有福氏 2a 型志贺氏菌相同抗原的肠侵袭型大肠埃希氏菌, 现将分离鉴定情况及结果分析报告如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 标本来源** 2013 年 11 月 15 日, 我中心辖区内社区卫生服务中心送检感染性腹泻患者肛拭标本 1 份。患者女, 14 岁, 因腹痛、腹泻就诊。

**1.1.2 培养基与试剂** 志贺氏菌增菌肉汤、亚硝酸盐脱氨酸增菌液、碱性蛋白胨水增菌液、沙门氏菌显色培养基、志贺氏菌显色培养基、弧菌显色培养基、三糖铁 (triple sugar iron, TSI) 琼脂、动力-吲哚-鸟氨酸 (motility indole ornithine, MIO) 培养基、麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂; 醋酸钠、葡萄糖铵利用试验试剂、黏质酸盐产酸试验试剂由广东环凯微生物科技有限公司生产; API.20E 肠杆菌和其他非苛养革兰氏阴性杆菌生化鉴定系统由法国梅里埃公司生产。所有培养基与试剂均鉴定合格, 在有效期内使用。

**1.1.3 诊断血清** 志贺氏菌诊断血清 (1 ml×26 瓶)、肠侵袭型大肠埃希氏菌诊断血清 (11 种)、肠毒素型大肠埃希氏菌诊断血清 (10 种)、O157:H7 大肠埃希氏菌诊断血清, 均由宁波天润生物药业有限公司生产; 肠致病型大肠埃希氏菌诊断血清 (15 种) 由兰州生物制品有限公司生产。诊断血清用已知阳性菌株鉴定合格, 在有效期内使用。血清凝集试验按照操作说明进行。

## 1.2 方 法

**1.2.1 病原菌分离与鉴定方法** 参照《细菌性和阿米巴性痢疾诊断标准 (WS287-2008)》<sup>[1]</sup>、《感染性腹泻诊断标准 (WS271-2007)》<sup>[2]</sup>、《临床微生物学与检验》<sup>[3]</sup>进行。对分离到的可疑菌进行染色镜检、生化试验及血清学鉴定。

## 2 结 果 与 分 析

**2.1 形态染色与培养特性** 该菌在志贺氏菌增菌肉汤中呈均匀浑浊生长, 直接转种志贺氏菌显色培养基置于 36.5℃ 培养 24 h, 可疑菌菌落为白色 1~3 mm 小菌落, 周围培养基为紫红色, 为典型志贺氏菌菌落特征; 在麦康凯琼脂上见菌落直径为 1~3 mm 的无色不透明小菌落, 伊红美蓝琼脂上见无色不透明直径 1 mm 左右的无金属光泽小菌落, 在麦康凯及伊红美蓝琼脂上均不分解乳糖, 不符合大肠埃希氏菌的菌落特征, 但与志贺氏菌在麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂上的菌落特征相符, 将麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂上的可疑菌进行革兰氏染色, 均为革兰阴性无芽胞短小杆菌。按照《感染性腹泻诊断标准》<sup>[2]</sup>的要求需进行生化初筛试验。

**2.2 生化初筛试验** 取志贺氏菌显色培养基、麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂上的可疑菌进行生化初筛试验, 将三种选择性培养基上的可疑菌转到 TSI 琼脂、MIO 培养基、枸橼酸盐溶液、尿素酶溶液和氧化酶溶液。三种选择性培养基上的可疑菌初筛生化试验结果相同, 均为在 TSI 琼脂中斜面红色, 底层黄色, 硫化氢阴性, 不产气; 在 MIO 半固体培养基中动力、靛基、鸟氨酸均为阴性; 尿素酶阴性、枸橼酸盐阴性、氧化酶阴性, 初步判定三种选择性平板上生长的为同一种菌。

**2.3 血清学鉴定** 分别取三支 TSI 琼脂上疑似志贺氏菌培养物与志贺氏菌诊断血清进行血清学鉴定(玻片凝集法),鉴定结果为四种多价凝集(++++)、福氏多价凝集(++++)、福氏 II-凝集(++++)、福氏 3.4 群凝集(++++)、生理盐水不自凝,其余痢疾、鲍氏、宋内氏相关因子血清均不凝集。

**2.4 初步结论** 通过分离培养、形态染色、生化初筛试验、血清学鉴定等操作,得出初步结论,该可疑菌为福氏志贺菌属 2a 型。

**2.5 病原菌进一步鉴定** 按照《细菌性和阿米巴性痢疾诊断标准(WS287-2008)》<sup>[1]</sup>操作规程,可疑菌经过上述一系列操作步骤后,还需选用符合国家或国际质量认可的市售生化反应板或卡做进一步的鉴定试验进行系统生化鉴定,以确定菌种。我中心选用法国梅里埃公司的 API.20E 肠杆菌生化鉴定条进行进一步的鉴定试验。通过 API.20E 肠杆菌系统生化鉴定,结果为大肠埃希氏菌 2 型(大肠埃希氏菌 2 型为不活泼型大肠埃希氏菌),各生化反应结果见表 1。

**2.6 鉴别试验** 由于与初步鉴定得出的结论福氏志贺菌属 2a 型不相符合,需要开展进一步的鉴别试验,以确定病原菌。

**2.6.1 血清学分型** 根据不同的血清型别、毒力和所致临床症状的不同,致腹泻的大肠埃希氏菌分为肠毒素型大肠埃希氏菌、肠致病型大肠埃希氏菌、肠侵袭型大肠埃希氏菌、肠出血型大肠埃希氏菌、肠凝聚型大肠埃希氏菌 5 种类型。分离培养后须通过血清分型或特殊的毒力检测试验加以鉴别,我中心通过血清学玻片凝集试验对致泻型大肠埃希氏菌进行分类,以确定为何种致泻型大肠埃希氏菌。

用四种致泻型大肠埃希氏菌诊断血清按照操作说明进行凝集试验(肠凝聚型大肠埃希氏菌没有侵袭力,不能用 O:H 血清分型),结果为肠侵袭型大肠埃希氏菌 OK 多价 1 血清玻片凝集(++++)、肠侵袭型大肠埃希氏菌 O<sub>25</sub>:K 血清玻片凝集(++++)、生理盐水不自凝,其余相关因子血清均不凝集,判断该菌为肠侵袭型大肠埃希氏菌。

**2.6.2 生化鉴别试验** 由于肠侵袭型大肠埃希氏菌与志贺

氏菌有极其相似的生化特征,有相同的抗原成分,血清凝集有交叉反应,参照《临床微生物学与检验》<sup>[3]</sup>,两者主要通过醋酸钠、葡萄糖铵利用试验、黏质酸盐产酸试验加以鉴别,三项试验均呈阳性者为大肠埃希氏菌,三项试验均呈阴性者为志贺氏菌。生化鉴别试验显示,醋酸钠、葡萄糖铵利用试验、黏质酸盐产酸试验三项鉴别试验均呈阳性结果。因此,最终鉴定该菌为肠侵袭型大肠埃希氏菌。同时送检市级疾控中心进行 PCR 基因测序,鉴定结果为肠侵袭型大肠埃希氏菌,与我中心鉴定结果相符。

### 3 讨论

肠侵袭型大肠埃希氏菌能直接侵犯肠黏膜,在黏膜上皮细胞内增殖,引起发热、腹痛、腹泻等症状,出现黏液脓血便,引起的肠炎类似于志贺氏菌,临床上常易误诊。在实践中,对于疑似细菌性痢疾的标本,初步鉴定为志贺氏菌的还需进行进一步系统生化鉴定、血清学鉴定及正确的鉴别试验,以便最终鉴定为何种病原菌。

本文研究的由腹泻患者肛拭标本中分离出的细菌,根据菌落特征、形态染色、初步生化试验及血清学凝集试验初步判定为福氏志贺菌属 2a 型,后经系统生化鉴定(API)、血清分型、生化鉴别试验最终鉴定为肠侵袭型大肠埃希氏菌。目前,临床上从粪便中检测志贺氏菌的常规方法是在 SS 或伊红美蓝培养基上不发酵或迟缓发酵乳糖的菌落接种到 TSI 琼脂上,为了提高检出率,我实验室直接将志贺氏菌显色培养基替代 SS 或伊红美蓝培养基,然后根据 TSI 琼脂上符合志贺氏菌生化反应(即斜面呈红色,底层呈黄色、不产气,硫化氢阴性,氧化酶阴性)的菌落,再用志贺氏菌诊断血清进行玻片凝集试验,如出现相应凝集即报告检出志贺氏菌。然而,这与部分不发酵或迟缓发酵乳糖的不活泼型大肠埃希氏菌在 TSI 上的反应相同,且肠杆菌科细菌之间存在许多血清交叉反应,大多数血清的志贺氏菌的菌体抗原与大肠埃希氏菌的菌体抗原完全相同或相似<sup>[4]</sup>,极易将不活泼型大肠埃希氏菌鉴定为志贺氏菌。肠侵袭型大肠埃希氏菌属于不活泼型大肠埃希氏

表 1 API.20E 生化鉴定结果

生化项目	结果	生化项目	结果	生化项目	结果
β 半乳糖苷酶	+	色氨酸脱氨酶	-	山梨醇	-
精氨酸双水解酶	-	脲基质	-	鼠李糖	-
赖氨酸脱羧酶	+	V-P	-	蔗糖	-
鸟氨酸脱羧酶	-	明胶液化	-	密二糖	-
柠檬酸利用试验	-	葡萄糖	+	苦杏仁苷	-
硫化氢	-	甘露醇	+	阿拉伯糖	+
脲酶	-	肌醇	-	-	-

菌,和所有志贺氏菌一样均携带一个非结合型大质粒,编码多种侵袭性相关外膜蛋白,DNA 相关性很高,与志贺氏菌在生化特征上难以鉴别,在血清学上有交叉凝集反应,极易导致将大肠埃希氏菌错误鉴定为志贺氏菌<sup>[5-7]</sup>。两者的鉴别试验是醋酸钠、葡萄糖铵利用试验、黏质酸盐产酸试验,大肠埃希氏菌三者均呈阳性,而志贺氏菌三者均呈阴性<sup>[3]</sup>。

因此,为减少错误鉴定,在完成生化初筛、血清学鉴定后,必须进行系统全面的生化鉴定,必要时加做正确的鉴别试验。这样不但能极大地提高诊断的正确率,还能使微生物的检验技术和检验工作质量不断提高。

#### 4 参考文献

- 1 吴江,张瑾,王勤环,等.细菌性和阿米巴性痢疾诊断标准(WS287-2008).中华人民共和国卫生部,2008.
- 2 汪华,阚飙,方肇寅,等.感染性腹泻诊断标准(WS271-2007).中华人民共和国卫生部,2007.
- 3 倪语星,尚红,刘文恩,等.临床微生物学与检验.北京:人民卫生出版社,2007:112,123.
- 4 徐建国,梁国栋,邢来君,等译.临床微生物学手册.北京:科学出版社,2005,658.
- 5 郭丹桂.一株具有福氏 6 型志贺菌相同抗原的大肠埃希氏菌.职业与健康,2008,24:1394-1395.
- 6 冯景强.一株侵袭性大肠埃希氏菌误诊为志贺氏菌的浅析.广西医科大学学报,1999,16:1492-1493.
- 7 高雯洁,张建平,沈志英,等.一株与福氏志贺氏菌 1a 交叉凝集的低活性大肠埃希菌.中国卫生检验杂志,2007,17:2115-2116.

(收稿日期:2014-05-30)

(本文编辑:李霖)

## 2015(第二届)生物样本库与临床研究论坛

随着“十二五”国家科技计划的推进,我国的生物样本库建设也蓬勃发展,其中注重临床研究的疾病样本库和流行病学研究的人群队列样本库备受重视。在生物样本库的建设过程中,国际上生物样本库有哪些可借鉴的经验,国内的建设情况、遇到问题和困难,如何保证生物样本库质量和安全管理体系等,如何利用生物样本库与临床研究结合,为转化医学提供有力的支持,都是我们面临的一系列现实问题。

本次会议由生物谷主办,将邀请来自医院临床、高校和科研院所、制药企业等领域的专家学者,就我国生物样本库建设及应用领域的发展进行探讨和交流。

### 1 会议目的

- 样本库的转化医学应用实现各种应用的全覆盖
- 样本库的队列研究应用形成完整的版块
- 样本库数据处理建立特色

### 2 会议内容

- 样本库的建设与管理
- 样本库的大数据处理
- 样本库用于转化医学研究
- 样本库用于登记数据库研究

### 3 演讲嘉宾

- 常英军(北京大学人民医院)
- 王从容(上海交通大学附属第六人民医院)
- 褚嘉佑(中国医学科学院)
- 王金武(上海交通大学医学院附属第九人民医院)

崔东红(上海交通大学医学院附属精神卫生中心)

王伟业(上海交通大学医学院附属新华医院)

杜祥(复旦大学附属肿瘤医院)

徐沪济(第二军医大学附属长征医院)

范锦立(上海医药临床研究中心)

张军(上海交通大学医学院附属新华医院)

葛明华(浙江省肿瘤医院)

张学军(安徽医科大学)

刘雷(复旦大学生物医学研究院)

张勇(深圳华大基因研究院/国家基因库)

卢晓梅(新疆医科大学第一附属医院)

周彩存(同济大学附属上海市肺科医院)

吕有勇(北京大学肿瘤医院)

周钢桥(军事医学科学院放射与辐射医学研究所)

### 4 会议时间及地点

会议时间:2015-01-22 至 2015-01-23

会议地址:中国上海好望角大饭店(上海市徐汇区肇嘉浜路 500 号)

### 5 联系方式

联系人:苗红

电话:021-64879183-626

手机:15221422089

传真:86(21)64879221

E-mail:hong.miao@bioon.com