

1744
医学科学译丛

食物中毒-嗜盐菌感染专辑

1964

上海市医学科学技术情报研究站 編
食物中毒译丛編譯委员会筹备会



上海市科学技术編譯館

医学科学译丛

食物中毒—嗜盐菌感染专辑

1964

上海市医学科学技术情报研究站
食物中毒译丛编译委员会筹备会 編

上海市科学技术编译馆

編 者 的 話

上海市于 1957 年发现了致病性嗜盐菌引起的食物中毒，并自 1962 年开始有論文报道以来，沿海某些地区已相继有本病或本菌发现。在各地的細菌性食物中毒事件中，嗜盐菌病所占的比重逐渐增高，有的地区在查明病原菌的食物中毒事件中、本病已达 80% 以上。各地医务界对本病及其病原体的注意和研究，特別对本病在国外的发生历史及研究情况迫切需要介紹。因此，特編譯《嗜盐菌感染》这一本，提供給医学界参考。

本專輯共有論文 28 篇，按照内容大体上分为五类。

第一类有十二篇，是細菌学检查和研究方面的論文。其中第一篇善养寺氏的文章，是在日本医学杂志中出版最近的文章，文內对致病性嗜盐菌的目前情况作了全面的介紹，特別就新的 K 抗原型与 O 抗原型相結合的分类方法作了說明。第二篇坂崎氏的細菌“检查要領”，是日本致病性嗜盐菌讲习会上的一个重要学习材料。瀧川氏及上田氏的两篇論文着重探討了蔗糖发酵菌株的致病性問題。天明氏及瓜生氏从預防观点作了細菌学实验。从我妻氏的文章中，可以看出他的血清学分型的概况。堀氏及富平氏分別从海产品及海水檢驗了嗜盐菌。我妻氏、相磯氏及善养寺氏都就动物实验作了报告。

第二类有六篇，是关于嗜盐菌食物中毒具体事例的調查研究报道。第一篇福田氏文章中介紹了生食海产品引起的所謂漁村型的嗜盐菌病及当时新发现的菌型。其余五篇都作了动物实验，为第一类論文增添了实验資料。我們又特地选譯了藤野氏及野坂氏的两篇最初发表的原始性論文，以供难于找到原文的讀者参考。

第三类有三篇，是流行病学方面的材料。其中高野氏介紹了 1960 年日本全国的嗜盐菌病发生情况。

第四类包括两篇瀧川氏綜述性报道和一篇关于本病的座談会記錄，都具有全面性的参考价值。瀧川氏的綜述最适宜于初接触本病的讀者閱讀。

第五类是关于这个新的病原菌的分类学方面的四篇論文。其中坂崎氏根据病原菌对弧菌抑制剂 0/129 的感受性及其他特性，将本菌命名为“副溶血性弧菌”，这在文內有詳尽的分析和叙述，是重要的理論性的参考資料。

在翻譯、核校和审閱的过程中，每篇譯稿都曾作了反复的推敲和修改。虽然我們尽力去做了，但因限于編譯工作的經驗和水平，可能还存在着錯誤或不妥当之处，希望讀者給我們提出宝贵意见，帮助我們改进。

本專輯在选题、补充选题，审校，統一譯名，編排目录的工作中，承张孝秩医师的大力支持。特此致謝。

編 者

1964 年 4 月

目 录

一、細菌学检查和研究

1. 致病性嗜盐菌的分类和检查法.....李祖蔚譯(1)
2. 致病性嗜盐菌检查要領.....陈希声譯(9)
3. 嗜盐菌——1961 年流行状况及关于蔗糖分解性和致病性的若干討論.....徐君佩譯(15)
4. 引起食物中毒的鯽魚及其海水的致病性嗜盐菌检查.....顏 零譯(20)
5. 关于防止发生“瀧川氏肠炎假单胞菌”食物中毒的实驗研究.....林濬哲譯(22)
6. 嗜盐菌在蒸餾水和低浓度食盐水中的死灭情况.....林濬哲譯(27)
7. 关于致病性嗜盐菌的研究 第三篇 主要关于 1959 年发生的食物中毒患者
检出的菌种研究.....周頌凡譯(30)
8. 致病性嗜盐菌的細菌学調查.....林濬哲譯(40)
9. 致病性嗜盐菌食物中毒的病因学研究 第二篇 以嗜盐菌为主的假单胞菌
属在海产魚貝类中的分布情况和其生物学特性.....李 伟譯(45)
10. 海水假单胞菌属的研究.....徐君佩譯(52)
11. 关于致病性嗜盐菌食物中毒——本菌对于实驗动物的致病性与引起肠炎的
起炎性.....陈希声譯(60)
12. 致病性嗜盐菌的致病性及由其引起的食物中毒的病理.....徐君佩譯(62)

二、食物中毒事例的調查研究

13. 致病性嗜盐菌食物中毒的研究.....周頌凡譯(65)
14. 魚貝类食物中毒和嗜盐菌.....李 伟譯(69)
15. 竹筴魚食物中毒的調查研究 第一篇 “肠炎假单胞菌”及致病性海水假单
胞菌种的检查.....孔祿卿譯(75)
16. 嗜盐菌所致食物中毒的病因学研究 第一篇 实际事例的流行病学和細菌
血清学研究.....李 伟譯(81)
17. 咸沙丁魚食物中毒的細菌学研究.....张孝秩譯(87)
18. 被认为由某种嗜盐菌引起的食物中毒，特别是关于病原体的研究(初步报告).....徐君佩譯(91)

三、流行病学調查

19. 致病性嗜盐菌食物中毒的研究.....叶秀端譯(96)
20. 咸鯨肉引起的食物中毒及其污染原的調查.....孔祿卿譯(104)
21. 致病性嗜盐菌食物中毒流行病学調查参考指南.....陈希声譯(107)

四、綜述性資料

22. 嗜盐菌食物中毒.....林梦日譯(110)
23. 关于肠炎假单胞菌.....王义忱譯(115)
24. 嗜盐菌食物中毒(座談会記錄).....王义忱譯(124)

五、分类学研究

25. 致病性嗜盐菌——細菌学特性及分类学上的位置.....徐君佩譯(133)
26. 所謂“致病性嗜盐菌”的过去和将来(第二篇).....徐君佩譯(138)
27. 目前列为弧菌种的某些細菌的分类学研究.....张孝秩譯(145)
28. 气单胞菌属及弧菌属細菌应用抗菌素磺胺药及弧菌抑制剂 O/129 的鉴别研究.....张孝秩譯(160)

一、細菌学检查和研究

1. 致病性嗜盐菌的分类和检查法

作者 善养寺 浩

譯自日本“临床病理”1963, 11 (8): 400~406 (日文)

1955年横浜国立病院发生腌菜中毒,瀧川氏等拟以致病性嗜盐菌作为这次食物中毒的原因。从此以来,特別对生的海产魚貝类所致的食物中毒,終于发现致病性嗜盐菌是主要的病原菌,而受到了食品卫生界的广泛重視。目前对于本菌的致病性,可以說已没有什么疑問。在瀧川氏等要确定本菌在食物中毒病原菌的地位的5年以前,藤野氏等从大阪的小沙丁魚中毒时所分离出的細菌,在生物化学方面,完全与现在所称的致病性嗜盐菌相一致。最近采用本菌O抗原分类法,区別了藤野氏分离的細菌,作为O-1型;瀧川氏分离的細菌,作为O-2型。

近几年来,从致病性嗜盐菌的研究历史来看,絕大部份是由与食物中毒有关的微生物学家和流行病学家所进行的。最近,广泛的内科界的医师們,还把本菌作为肠炎病原菌的研究对象。特別在检不出痢疾杆菌时,可把本菌作为腹泻的病原菌进行检索。从肠炎病原菌来說,本菌的重要性,仅次于痢疾杆菌而已。本文首先叙述嗜盐菌病的临床症状和病理概要,其次叙述本菌的分类,細菌学方面的問題,以及检查方法的要点。

一、临床症状与病理

由致病性嗜盐菌感染的肠炎是属于小肠炎,几乎全是通过食物中毒的方式而出现。潜伏期在9~30小时之間,平均約为13小时,其次发生腹泻和腹痛。潜伏期的长短虽与感染菌量和个人感受性有关;但不会象菌痢的潜伏期那样为数小时~数天。迄今还不知道有再感染的例子。腹痛是必发的症状,以上腹痛为主,激烈时所訴的腹痛象胃痙攣。又因腹痛与白細胞增多,被誤診为闌尾炎者已发现有几个例子;这时的腹泻不显著。腹泻虽是常发的症状,但个别例子只有腹痛沒有腹泻。反之,只有腹泻沒有腹痛者亦間或有之。腹泻物象泥糊状或象菌痢的粘液血样大便。腹泻激烈时,1天有10多次;但輕症占多数,在几次軟便之后就不泻了。发热、头痛約占35%。訴恶心、呕吐者虽有而較少。經過一般良好,在几天后恢复正常。重症者泻下粘液血样大便,有的能繼續达7天以上。有时,腹泻和腹痛在倾向好轉时,突然出现休克样症状而死者也有。本病的死亡病例,多以这样的症状而告終,这是值得注意的。

关于本病的病理变化,据奥平氏等的剖检所见:主要病变为整个小肠的水肿性变化和輕度充血,在这个范围内,看不出有糜烂和潰瘍。病变不涉及大肠。从小肠的組織学改变来說,是以粘膜下組織的高度水肿为特征的一种弥漫性变化,这个变化侵袭到肌层和浆膜。此外,可看到肠系膜淋巴結的急性炎症,肝脏的脂肪性变;但这里还看不出本病的病变特征。总之,本病是由細菌感染所致的小肠炎,这就是腹痛和腹泻的原因。

二、細菌学的各种特性

这里要說的致病性嗜盐菌的特性和分类等,主要是依据1963年4月由“致病性嗜盐菌特別会”决定的“致病性嗜盐菌食物中毒检查要領”。这个特別会是由厚生省*食物中毒对策協議会所召开的。

* “厚生”包括福利、卫生;“省”来自古时我国“中书省”的“省”字。所以“厚生省”亦可譯为“福利卫生部”。——譯者注

(一) 形态学上的特性

属于致病性嗜盐菌范畴的细菌,如图 1 照片所示,原则上是在一端有单根鞭毛的革兰氏阴性杆菌;但常呈多形性,表现为长杆状以至球状的各种形态。关于分类学上成为问题的气单胞杆菌 (*Aeromonas*) 与弧菌之间的异同点,从形态学的特征来看,则如表 1 所示。

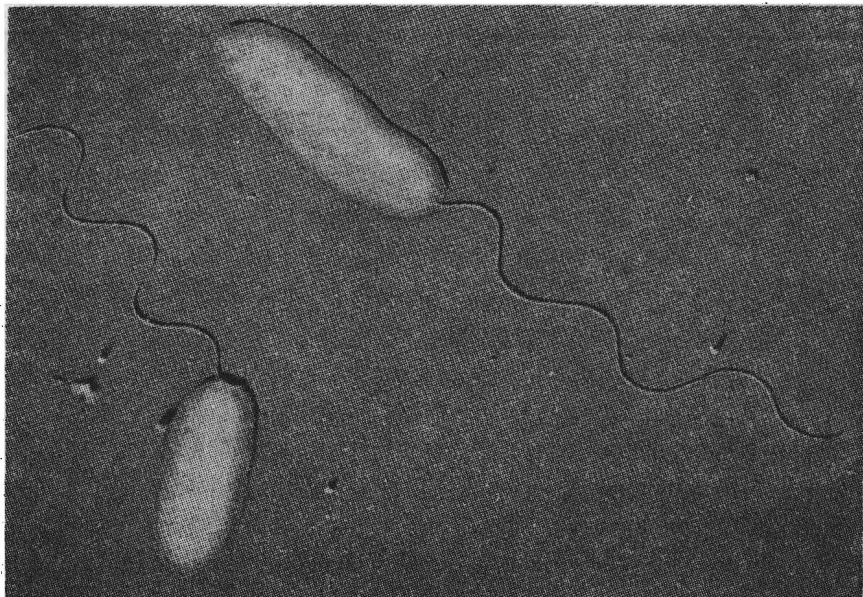


图 1 致病性嗜盐菌的电子显微镜照片

表 1 致病性嗜盐菌与近缘菌的生物学特性

性 状	致病性嗜盐菌	弧 菌 属		嗜水气单胞杆菌
		霍乱弧菌	水弧菌	
多 形 性	+	+	+	—
球 状 体	+	+	+	—
菌 体 弯 曲	—	不定	—	—

关于表中球状体 (spheroplast) 用语的是否恰当,虽还缺少说明,难于讨论;但许多革兰氏阴性菌,因青霉素或其他药剂的作用,使细菌的细胞壁在形成时,有一部分受到阻碍而呈现球形,这时就冠以起诱导作用的药名,称曰青霉素球状体等。这与霍乱菌因溶菌酶 (lysozyme) 的作用而形成球状体的机制是相似的。从作者已有的经验来说,本菌是容易形成球状体的。因此,可认为本菌具有易于形成球状体的特性。不拘怎样,就用通常方法培养的本菌,亦能形成球状体。这点在与气单胞杆菌鉴别上,成为可靠的依据。

(二) 培养方面的特性

致病性嗜盐菌属兼性厌氧菌,钠、钾及镁对本菌的发育是特别需要的。在一般培养基上,几乎完全不繁殖;但加上食盐 3%,其生长就会旺盛起来。嗜盐性的幅度有一定的界限,倘食盐浓度达 12% 以上,是不繁殖的。如在这样高的浓度仍能发育的,称曰耐盐菌,那就不是嗜盐菌。两者之间是有区别的。本菌的嗜盐性可因培养温度、培养基条件等而有相当的变动。例如:在血琼脂、脑心浸液等培养基里,虽不加食盐,也发育得好。

致病性嗜盐菌的生长最适温度 30~37°C。而本菌以外的海水性嗜盐菌生长最适温度是 27°C,这点是有差异的。再将培养温度降低到 25°C,嗜盐性就不明显了。当然在 25°C 其生长是缓慢的。生长最适的 pH 在 7.5~8.8 之间;但在 9.4 还能生长。一般在酸性条件下的生长能力是薄弱的。

固体培养基上的菌落,通常呈圆形而隆起,稍混浊而不透明,表面有光泽而湿润;但常因传代而呈现各种有特征的菌落。可是,从腹泻病人的初代分离菌来看,所形成的菌落大部分是典型的;而发生扩散(Swarming)的现象也是少有的。从菌落形态来看,尽管用食盐加普通琼脂也还可以,但为便于鉴别,不如用加3%食盐的溴麝香草酚蓝(BTB)乳糖琼脂。用实体显微镜来看,可区别菌落型为9型。就是用肉眼来看,也与其他肠道细菌一样,可区别为M,S,R的3型。从粪便等进行直接分离时,在加3%食盐的BTB乳糖琼脂平皿上的菌落特征是:3%食盐会相当抑制大肠菌的生长,而本菌在18小时内形成具有绿色特征而又发育良好的菌落。在平皿上各型的特征是:M型的菌落显著混浊、不透明而且肥厚,菌落的边缘尽是肥厚而混浊的样子,整个菌落带些白色的样子。S型虽然是稍稍混浊不透明的,但是整个菌落呈鲜明的绿色,边缘部分比M型为明了,看不出菌落有全白的样子。边缘为正圆形。在K、O抗原的分析时,就非用这种菌落不可。就在S型的边缘部也带些白色的样子,周围的透明部分有所扩散。成脐形的中心部呈绿色时,则近似R型。从这样的菌落状态来看,有的是边缘不整齐,有的是粗糙型,也有呈折皱状等,在R型化时呈现多样的菌落形态。当然这时抗原的分析,对检查生物化学的特性和致病性都是不适当的,特别是本菌由于传代容易引起R型化,虽在同一平皿上,也可见有各型的移行型菌落。因此,在选择菌落时,必须加以注意。从食品等进行分离时,起初R型等占多数。而且在本菌中,有的会象变形杆菌一样发生扩散,为了阻止扩散,久保田氏用阻止变形杆菌菌落扩散的办法,即用加有Teepol*(系从石油炼制后的残渣中所提出)的培养基。曾经为阻止扩散的目的用加胆酸盐的培养基,也稍有阻止本菌生长的倾向。

表 2 致病性嗜盐菌的生物学特性

吡噪	+	霍乱红	有时弱阳性
甲基红	+	葡萄糖	+
V. P. 二氏试验	d	自葡萄糖产生气体	-
枸橼酸盐(Simmon氏)	+	阿拉伯糖	不定
硫化氢(三糖硫酸)	-	纤维二糖	-
硝酸钾	+	乳糖	-
PPA**	-	麦芽糖	+
尿素	-	鼠李糖	-
丙二酸盐	-	蔗糖	不定
明胶	+	海藻糖	+
酪蛋白	+	木糖	-
皮粉***	+	甘露醇	+
壳糖(chitin)	+	侧金盏花醇	-
卵磷脂	+	卫矛醇	-
K. P. 二氏枸橼酸盐	-	肌醇	-
过氧化氢酶	+	山梨醇	-
K. P. 二氏右旋酒石酸盐	+	水杨甙	-
细胞色素氧化酶	+	淀粉	+
Hugh-Leifson 二氏培养基	发酵		

注: 1. 上表表示糖分解试验在24小时培养后的结果。
2. K. P. 二氏枸橼酸盐和K. P. 二氏d酒石酸盐是Kauffmann-Petersen二氏的有机酸盐培养基。

用3%食盐液体培养法,在发生均匀混浊的同时,大多数菌株形成菌膜。R型菌发生沉淀。

(三) 生化的特性

生化的特性,如表2所示。本菌与近缘的嗜水气单胞杆菌(A. hydrophila)的主要鉴别点,是由葡萄

* Teepol: 由石油衍生的一种较高分子的仲烷基硫酸钠盐,通常用作去垢剂;
** PPA: 会不会是Phenyl propion amid的缩写,还有待于今后的追究;
*** 皮粉:是从hide powder译出的。——译者注

糖产生气体、右旋酒石酸盐的利用、皮粉和壳糖的分解、以醋酸作为碳源的利用、在 pH 9.0 条件下的繁殖等等。致病性嗜盐菌对这些試驗都是阳性。与此相反,嗜水气单胞杆菌为阳性。而且本菌在 S.S.* 培养基不生长,而嗜水气单胞杆菌发育得好,做篩选試驗是有用的。

三、分类学上的位置

确认致病性嗜盐菌为食物中毒的原因,是由瀧川氏开始的。他把本菌列为假单胞杆菌而命名为肠炎假单胞杆菌。另一方面,推定本菌与食物中毒有关系的是藤野氏,他把本菌命名为副溶血性巴斯德氏菌。此后,宫本氏等把本菌列入气单胞杆菌的亚属,新設海洋单胞杆菌(*Oceanomonas*) 这个名目,而提倡把本菌归入这个亚属。可是根据坂崎氏等的研究,本菌已經明确属于弧菌属,按现在国际命名规定,服从于最初发现者的命名,以副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*) 作为学名而被广泛地使用着。这个学名在經過国际的承认后,现在用致病性嗜盐菌的名称作为行政上的用語来代替学名。

四、生物学的型別

现在作为致病性嗜盐菌处理的全部菌株,在生物学上和在致病性上,其特性还没有完全一致。在海水中存在有与本菌极类似的菌株,在致病性嗜盐菌的检查上,这些菌株的型別和分类更成为病因論上的問題。从来列入致病性嗜盐菌类的菌株,据坂崎氏按生物型(biotype)分为 1、2、3 的 3 型,可是现在如表 3 所示,把生物型 3 作为鳗弧菌(*V. anguillarum*),从生物型分开另成一种。致病性嗜盐菌从表 3 所列的性状来看,其生物型包含有 2 型。致病性嗜盐菌与鳗弧菌之間的正确区别方法在于食盐耐受性,从表 3 可以看得相当清楚,而且从食盐耐受性来区别生物型 1 与 2 也是相当明显的。通常在蛋白胨水里加入食盐,制成各种浓度后去做食盐耐受性試驗,其結果如图 2,是相当易于鉴别的。

其次,关于致病性嗜盐菌的生物型与致病性的关系,概括到现在为止的研究来說,从病人的大部分的分离株,是属于生物型 1,对小白鼠致死作用也是强的;对家兔小肠的結扎部做接种試驗(De 氏試驗)亦必出現阳性,所以从人引起肠炎的特性来說,是証明了的。另一方面,生物型 2 的大部分是从海水、魚貝类分离的菌

表 3 致病性嗜盐菌与类似菌的生物学特性

性 状	病 原 性 嗜 盐 菌		鳗 弧 菌
	生物型 1	生物型 2	
食盐耐受性			
7%	+	+	-
10%	-	+	-
VP 二氏反应	-	+	-
蔗糖分解性	-間或+	+間或-	-
阿拉伯糖分解性	+間或-	-間或+	-
纖維二糖分解性	-	-	+間或-

注:糖分解試驗是培养 24 小时后的結果。

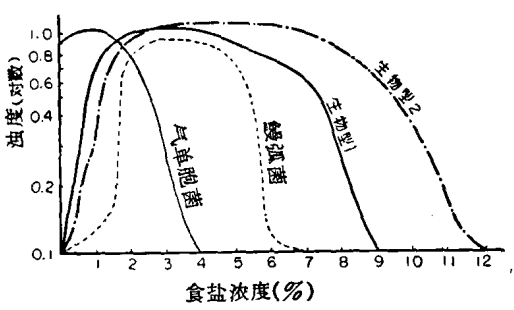


图 2 致病性嗜盐与类似菌的食盐耐受性 (坂崎氏 1963)

株,有时也有因生物型 2 引起的肠炎病例报告,对小白鼠的致死作用也較强,De 氏試驗也常是阳性,从这几点来看,还应考虑生物型 2,也会因宿主的条件而能成为“起炎菌”。可是,鳗弧菌只存在于海水中,从病人或食品能分离出的話,那是极少的,而且在实验上,得不到肯定的致病效果,也沒有引起肠炎的特性。

五、抗原构造

不拘致病性嗜盐菌的生物型如何,用 O 抗原来分类可分为 12 型。虽然瀧川氏最初报告本菌在血清学上的型別可能是用 K 抗原的分类法,分到 26 型为止。此后,由坂崎氏等确立了 O 抗原的分类法,这个分类法现

* S.S. 培养基: Salmonella-Shigella medium——譯者注

在已被广泛使用。但 O 抗原分类法与瀧川氏分类法并用时,虽是同一 O 抗原的菌株,在 K 抗原方面仍有明显的差异。因此,迫切需要对 K 抗原分类法再进行研究;但在 1963 年厚生省公布的本菌检查指南里,对 K 抗原分类这一点有所明确,就是把 K 抗原分为 29 型。表 4 表明了 O、K 抗原与瀧川氏血清型之间的关系。今后要用 O、K 抗原的配合方式来定菌型。

表 4 致病性嗜盐菌的血清型

血 清 型		瀧川氏的血清型	血 清 型		瀧川氏的血清型
O 抗 原	K 抗 原		O 抗 原	K 抗 原	
1	1	14	5	15	13
2	2	2	5	16	—
2	3	—	6	17	8
2	29	—	6	18	—
3	4	3	7	19	11
3	5	21	7	20	12
3	6	—	8	21	25
3	7	—	8	22	—
4	8	6	9	23	—
4	9	17	9	24	—
4	10	19	10	25	7
4	11	22	11	26	9
4	12	26	11	27	23
4	13	—	12	28	24
4	14	—			

注： 表示瀧川氏血清型中没有相当的例子。

六、检 查 法

致病性嗜盐菌的检查,除用 3% 食盐培养基以外,一般与肠道细菌的检查是一样的,没有特别的困难。而且本菌和大肠菌的生长受阻酸盐所抑制的程度也是同样的,虽在加 3% 食盐的 S.S. 琼脂上也能生长;然而在麦康盖 (MacConkey) 氏琼脂上也受到相当的抑制,所以作为分离培养基是不够满意的。

本菌从分离到鉴定结束为止的要点如表 5 所示。可是作为分离培养基和增菌培养基来说,在市场上虽有各种配方的成品出售,但也尽量就手边的培养基加以改变使其完全合用,并把这类培养基列入表内如第 1 种,此外,也把市售的、分离效果好而价格便宜的培养基,列入表内如第 2 种。兹将检查方法按表 5 说明如下。

将病人的大便,随后把估计为引起食物中毒的可疑食品作为检查的对象。由本菌引起的菌血症还不曾有报告。因此,除去体温特别高的特殊病例,血液不必检查。呕吐剧烈时,不但对呕吐物要分离细菌,还要对引起中毒的可疑食品和大便分离细菌,作为分离菌株异同对比的观察资料;但在轻度呕吐时,从呕吐物检出细菌是有困难的。

表中所列的两种培养基都可以用来进行分离培养。两种培养基都在 24 小时内,如有 4% 食盐的存在,能明显地抑制大肠菌类的生长。在培养 1 夜后,挑选生长较大的绿色菌落,就可以用于作纯培养。在 BTB* Teepol 琼脂中,所加的是蔗糖不是乳糖。所分离的,具有蔗糖分解性的致病性嗜盐菌,间或形成黄色的菌落。虽然如此,由于本菌的菌落较大,与大肠菌之间是不会弄错的。从病人分离的菌株,几乎没有发生扩散的细菌,所以不必担心;但在食品方面,有时有表现出扩散性状的细菌存在,所以从食品方面分离细菌,以使用 Teepol 琼脂或 WA** 琼脂(参看文后附录)为有利。此外,象分离痢疾杆菌时用 S.S. 琼脂平皿一样,可以

* BTB: 是 Bromthymol blue 的缩写;
** WA:是水蓝 Waterblue 和茜素黄 Alizarin 的缩写。——译者注

表5 致病性嗜盐菌食物中毒的检查顺序

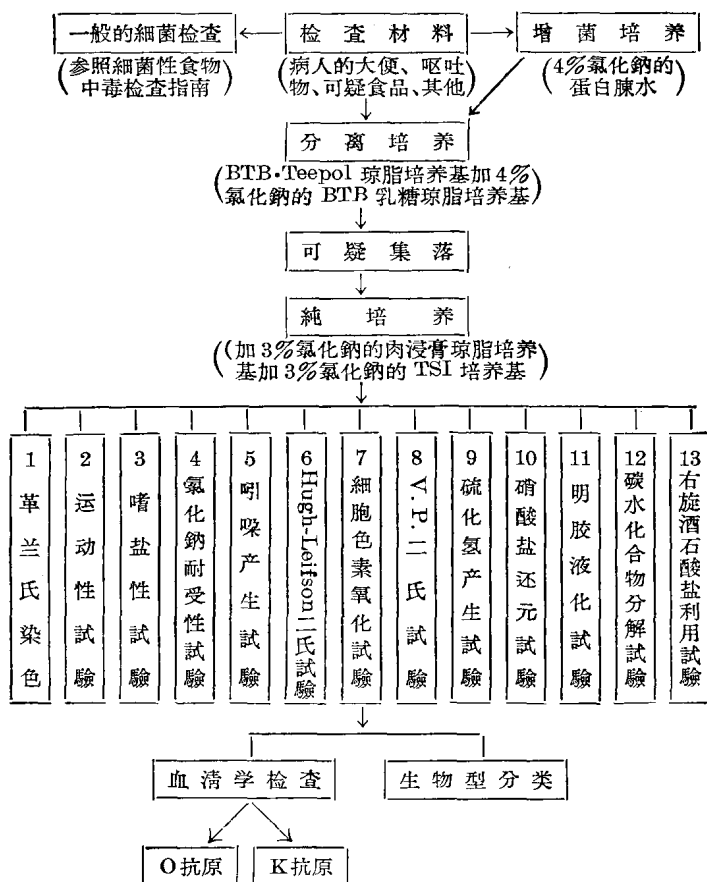
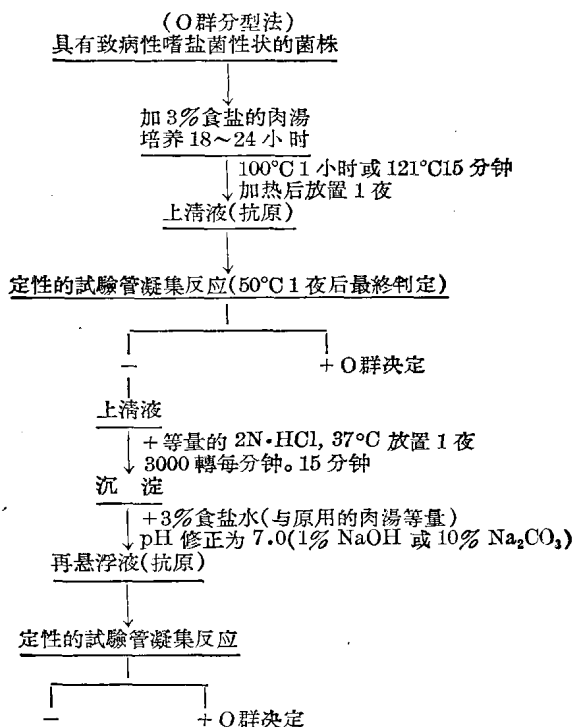


表6 致病性嗜盐菌的血清学特性检查法



大量的大便涂抹于分离致病性嗜盐菌专用的市售 TCBS* 琼脂之上。按情况需要能使用它是好的。

对大便除做直接涂抹分离培养以外，还把剩下的，用加 4% 食盐的蛋白胨水增菌 6~18 小时后，再进行分离；但增菌超过 24 小时，不管怎样是没有意义的。

以纯培养的细菌来检定细菌的特性。如按表中 1、2、3、5、6、各项进行试验，就能够确定是不是致病性嗜盐菌。然后检查本菌的生物型分类，即根据上述食盐耐受性等情况，区别出生物型 1 或 2。同时进行 O、K 抗原的型别试验，以决定菌型。对于不能决定生物型的菌型的细菌，则作完整的生物学特性检查。从检查结果，把与致病性嗜盐菌的特性相一致的细菌，参考临床症状，凡需要重新考虑菌型的菌株送往预防研究所，接受再检查和鉴定是应当的。生化学特性试验用的培养基，除加以 3% 食盐以外，与一般肠道细菌所用的方法是相同的。BTB Teepol 琼脂，TCBS 琼脂，都是市售品。其他如 WA 琼脂也是市售品，亦适合于分离之用。

决定生物型是在蛋白胨水或肉汤内，加入规定浓度的食盐，经 18 小时培养，如法比较细菌的生长程度。

血清学的分型法：

O 与 K 血清以用市售品为便利。现在 O 血清有日本荣养和血清研究所的出品；K 血清有北里研究所、东芝血清研究所，以及日本荣养和血清研究所的出品。

(一) O 群分型法

方法大致如表 6。先挑选 S 型菌落，移植于 O 抗原用肉汤（参看文后附录），对培养 18~24 小时的细菌加热，以其上清液作抗原用。加热时沉淀显著的不能用。

操作方式：用试管定性试验法。

(1) 将市售各型血清的效价稀释至 1:100（例如 O 的效价为 1:1,000，以加有 50% 甘油的 3% 食盐水平释 10 倍，效价即成 1:100），对各型的每 1 试验管，按 1 滴的分量注入，接着加入抗原液 0.5 毫升，使其好好地混合。

(2) 判定反应须在 50°C 水浴箱或保温箱内放置 1 夜后进行。在加热抗原不能判定时，如表上对细菌用盐酸处理后进行同样的试验。

(3) 对两种以上 O 血清凝集时，进行定量凝集反应，选取凝集价高的作为 O 型。

(二) K 抗原的型别

操作方式：

(1) 抗血清可全用市售品。抗原菌液的制法是：在 K 抗原用培养基（如文后附录）上挑选典型的 S 型菌落，在同样的斜面培养基上，经 37°C 培养 1 夜。由此把菌落取下，悬浮于 1.0 毫升的 3% 食盐水中，作成浓厚菌液。

(2) 凝集反应用普通的载物片法，将各个 K 血清稀释液与菌液各 1 滴混合后看反应。凝集弱的不作为阳性。

(3) 在试验凝集反应时，以阳性 K 血清的号数作为被检菌的抗原型。

七、結 語

作为食物中毒起病菌而已被详细研究的致病性嗜盐菌，最近成为仅次于菌痢的，重要的肠炎致病菌，传染病院那是不用说，而且成为一般医院的检查对象而被重视起来。本文叙述了从细菌分离到菌型决定为止的一系列方法，所述的也是检查食物中毒原因时，在医院试验室内所进行的必不可少的程序。如能做到没有错误的程度，则应把致病性嗜盐菌的检查工作做好。检查本菌用的培养基，市售的有好几种，几乎有多不胜收之感；但要点在于利用本菌在 3% 食盐浓度中生长最好的性质去选用培养基，则本菌虽在简单配方的培养基上亦能生长，是容易检查的。

关于抗菌素对于本菌的作用的研究还少，结论性的话不能谈；但氯霉素和四环素，在试管内及活体内均有效；但卡那霉素和链霉素对本菌来说，没有什么多大的抗菌作用。只在抗菌素用药期间能阻止排菌，在重

* TCBS: 是 Thiosulfate, Cholic acid, Bromthymol, Sugar 的缩写。——译者注

症者的腹泻与腹痛会持续几天。要检出细菌,如不在有症状的早期内去进行,那是不易达到目的。轻症者排菌二、三天就好了,持久保菌者几乎还未看到过。所以,对检验材料必须在直接分离的同时进行增菌培养。

对作为行政用语的“致病性嗜盐菌”的学名,最后决定用副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*),其生物化学的特性虽然已经明确起来,但若单用学名则颇多不便之点,所以希望能有适当的日本名称。目前虽尚未完全解决;但据文部省*举办的本菌研究班福见氏的建议,是要称它为“肠炎弧菌”。也许今后有可能采用这个日本名称,附记于此。

〔附录〕 下列五种培养基中,除一、二以外,其它都在市面上已有成品出售。

(1) O抗原用培养基

Ehrlich 氏肉浸膏	2 克
多价蛋白胨(Polypeptone)	10 克
氯化钠	30 克
精制水	1,000 毫升

pH 6.8~7.0

将各种成分加温溶解,修正 pH 后在 120°C 灭菌 15 分钟。制成本培养基时,可以肉汁代替肉浸膏,并注意不使 pH 达 7.0 以上。

(2) K 抗原用培养基

酵母浸膏	5 克
多价蛋白胨	10 克
甘油	50 毫升
氯化钠	30 克
Teepol	5 毫升
琼脂	15 克
精制水	1,000 毫升

pH 7.8

将各种成分加温溶解,修正 pH 后在 120°C 灭菌 15 分钟。甘油须用纯品。

(3) BTB Teepol 琼脂培养基

普通琼脂培养基	1,000 毫升
氯化钠	25 克
蔗糖	10 克
Teepol	2 毫升
0.2% 溴麝香草酚蓝	40 毫升

pH 7.8

将普通琼脂培养基加温溶解后,加上列各种成分使之混和溶解,立即倒入 Petri 氏培养皿制成平皿。

(4) WA Teepol 琼脂培养基

普通琼脂培养基	1,000 毫升
氯化钠	25 克
蔗糖	10 克
Teepol	2 毫升
1% 水蓝溶液	2 毫升
茜素黄饱和溶液	2 毫升

pH 7.2

将普通琼脂培养基加温溶解后,加入上列各种成分使之混和溶解,立即倒入 Petri 氏培养皿制成平皿。

* 文部省等于教育部。——译者注

(5) TCBS 琼脂培养基

酵母浸膏	5 克
蛋白胨	10 克
枸橼酸钠	10 克
枸橼酸铁铵	1 克
硫代硫酸钠($5H_2O$)	10 克
氯化钠	10 克
牛胆汁粉	5 克
蔗糖	10 克
胆酸钠	3 克
琼脂	15 克
0.2% 麝香草酚蓝	20 毫升
0.2% 溴麝香草酚蓝	20 毫升
精制水	1,000 毫升
pH 8.4	

将各种成分加温溶解后,立即倒入 Petri 氏培养皿制成平皿。

(李祖蔚译 张孝秋审核)

2. 致病性嗜盐菌检查要领

作者 坂崎利一

译自日本“食品卫生研究”1961,11(8):12~20(日文)

一、前 言

近年魚貝类引起的食物中毒,其中一部分是由于嗜钠盐性的一群細菌所致,业渐闡明,这事引起了人們很大的注意。此类細菌分布在海洋中,象是附着在近海魚类的体表上,随而引起人类感染的。但是非致病性的类属菌却是很多,无论在細菌学上或是在流行病学上,今后还留下不少需要調查研究的问题。

本檢驗方法提要是遇到此类細菌群引起的食物中毒,在进行綜合性調查时,为了使檢驗方法比較有系統,以免因技术而发生結果的差異,同时可使檢驗結果的統計和分析比較容易一些。以下姑将此类作为对象的細菌群称之为“致病性嗜盐菌”,一般以具有如下各种性状的細菌作为此类細菌:

(一) 形态学特性

这是有运动性的革兰氏阴性菌,屢呈多形性,有一根鞭毛。

(二) 培养特性

这是兼性厌氧菌,在一般培养基中通常几乎不能或完全不能增殖。如在其中加3%左右的食盐,就呈旺盛的发育。大部分的細菌并不为低浓度(0.1%上下)的胆酸盐抑制其发育。多数細菌在加有3%食盐的普通琼脂培养基上引起所謂扩散(Swarming)的傾向頗强,而在加有胆酸盐的培养基上,則此种特性被抑制而形成孤立的菌落。

发育的适宜温度为37°C,在pH 7.5至8.0发育得最好。固体培养基上的菌落,通常隆起作圓形,稍微不透明,表面光滑;但是在多数菌株,菌落的解离頗为明显。在繼續传代菌株,則多半混有不正圓形的大粗糙型的菌落或灰白色不透明的粘液型菌落。

在一般培养基上产生色素不明显,但是在特殊的培养基(如 King 氏培养基)上有出現螢光色素的。

(三) 生化特性

本菌群的細菌有如下的生化特性:

吡噪	形成	明胶	液化
甲基紅反应	阳性	尿素	不能利用
V. P. 二氏反应	阴性	硝酸盐	还原
枸橼酸鈉	能利用	亚甲蓝	还原
硫化氢(用 Kligler 氏培养基)	阴性	触酶	产生
細胞色素氧化反应	阳性	糊精	产酸
葡萄糖	产酸	糖原	产酸
果糖	产酸	水杨甙	不分解
半乳糖	产酸	甘露醇	产酸
甘露糖	产酸	山梨醇	不定
麦芽糖	产酸	卫矛醇	不定
海藻糖	不定	肌醇	不分解
阿拉伯糖	不定	侧金盞花醇	不分解
木糖	不分解	甘油	不定
乳糖	不定	葡萄糖产气	阴性
蔗糖	不定	牛乳	凝固液化
淀粉	产酸		

(四) 对人类的致病性

迄至现在所調查的范围所知,因致病性嗜盐菌引起的急性胃肠炎的症状如下:

潜伏期只有数小时以至十数小时,一般发病很急,以发热、呕吐、腹泻、腹痛等为主要症状,特别是以上腹部的疼痛为特征。里急后重很少。腹泻有一日达十数次的,粪便通常是水样,有时有弥漫性混着血液的。不同年龄或不同性别的发病率不见有何差异。致病食物如果是魚貝类时,幼年者較少因生食而发生,这或許是因幼儿不喜生食,致未吃下致病食物之故。

疾病的經過是一过性,通常 2~3 日即见恢复,预后大致是良好的。

二、檢驗标本的采取和处理

当檢驗致病性嗜盐菌时,应采的标本为病人的粪便、呕吐物、血液以及可疑的致病食物,按以下的要点采样:

(一) 病人的粪便及呕吐物

粪便尽可能要在发病后 2~3 日以内采取,如能在腹泻最厉害的时期采取則最好。采便希望能在刚排便之后,如果排出的粪便不能即行利用时,尽可能在排便后短時間內采取 3 克或 3 毫升;呕吐物也是采 3 克。

(二) 病人的血液和血清

血液用无菌手續采取 5 毫升以上,取 1~2 毫升分別放在灭菌試管内,斜放試管使血液凝固,便于采取血清。同时剩余部分,对每 4 份血液加 1 份 3.8% 枸橼酸鈉水溶液(灭菌的)以防凝固,供檢驗細菌用。为細菌檢驗用时,与粪便同样,希望能在发病早期采取;血清也以能在发病时、一星期后和二星期后連續三次采驗为佳。

(三) 可疑致病食物

一般常須对发病前两日內食品中剩余的可疑食物、原材料等,分別进行采集。如材料中包括有魚类,則需采取魚身的一部分体表作为标本,采取量原則如下: 如为固体物质則为 200 克,液体物质則为 200 毫升以上。必要时接触可疑致病食物的容器、器皿和包装也要作为檢驗的对象。以灭菌生理盐水蘸湿的灭菌脱脂棉仔細揩拭后作为檢驗标本。

不論何種檢驗标本都要用灭菌器具采取并用灭菌容器盛装。

(四) 檢驗标本的处理

檢驗标本采取后,要尽可能迅速地用于檢驗,如檢驗时期已被耽擱,或是标本必需运送时,标本(除血清

外)都要分为两半,一半放入加有4%食盐的蛋白胨水中,放在一般外界温度中;另一半要用冷藏运送。无论何种情况都要密封,避免干燥及漏出,

三、分离培养

致病性嗜盐菌的分离培养,虽然要按下述方法进行,不过当食物中毒检验时,不能只注意致病性嗜盐菌,应以腹泻检验方针为基础,也须尽力检索其他致病菌。

(四) 应用培养基

1. 加胆酸盐的3%食盐琼脂培养基

肠道细菌和其他一般革兰氏阴性杆菌的生长,可为本培养基的高浓度的食盐所抑制。另一方面其中同时所含有的胆酸盐能阻止革兰氏阳性菌的发育,并能抑制嗜盐菌的扩散(Swarming),使能形成孤立的菌落。因此,本培养基作为致病性嗜盐菌的选择性分离培养基是很合适的。

应用的胆酸盐如去氧胆酸钠、胆酸钠、阿朴胆酸钠(sodium apocholate),以及S.S.琼脂培养基用的胆酸盐都可用,其添加量在0.1%上下最适宜。因此,作肠道细菌检验时,常用的MacConkey琼脂培养基或去氧胆酸盐琼脂培养基中,如添加3%的氯化钠,即适于作致病性嗜盐菌分离用的培养基。在此等培养基上致病性嗜盐菌形成无色或稍带粉红色(pink)的比较大的菌落。

致病性嗜盐菌在加有溴麝香草酚蓝(简称BTB),伊红等色素的培养基上,可形成这些色素所强度染色的菌落,因此,也可利用此种性状的分离用琼脂培养基,例如在BTB乳糖琼脂培养基中加有3%的氯化钠和0.1%胆酸盐时,可以用作致病性嗜盐菌的培养基。在此培养基上生长的致病性嗜盐菌的集落染成蓝绿色而发育。又为此目的所制成的水蓝-茜素黄(Waterblue-Alizarin,简称WA)琼脂培养基,就是加有3%食盐的乳糖琼脂培养基中,再加胆酸盐、水蓝和茜素黄而制成的,在这上面致病性嗜盐菌形成染有黄色的混浊菌落。

2. 4%食盐蛋白胨水

蛋白胨水内加食盐到4%,可用于疑为致病性嗜盐菌很少的检验标本,例如病人的血液、疑为致病食物等的选择性增菌培养基。标本中有致病性嗜盐菌存在时,通常只数小时即呈显明的混浊。

(二) 分离培养法

1. 病人的粪便

采一至数铂环接种于分离用琼脂培养基,直接作分离培养。在已进入恢复期的病人以及曾摄取同一致病食物而呈不显性经过的人,其粪便可设想含致病性嗜盐菌很少,此时须采取粪便约1克,放入加4%食盐的蛋白胨约10毫升中,放置37°C中培养6~18小时后,取其1个铂环移种在分离用琼脂培养基上。

2. 病人的呕吐物

可并用直接分离培养和增菌后分离培养,其方法同粪便检验。

3. 病人的血液

取血1~2毫升,加入增菌培养基约10毫升,放37°C中一夜培养后,将其一至数铂环移种在分离用琼脂平皿培养基上。

4. 食品

取一定量放在灭菌搅碎器或灭菌乳钵中研细后,按1、2法进行分离培养。又将接触食物的器皿,用脱脂棉拭子进行揩拭以后按3法作细菌学检验。

四、形态学和生化学特性的检验

分离琼脂培养基上的可疑菌落,移种在加3%食盐的普通琼脂培养基斜面,在37°C中培养一夜后,按如下的要点进行形态学的及生化学的性状检验。

(一) 革兰氏染色

(二) 运动性检验

在加有3%食盐的半流动培养基或加3%食盐的SIM培养基中作穿刺培养,在37°C中培养18小时

后,判讀結果。如培养基全部混浊的即作为阳性。

(三) 嗜盐性試驗

自普通蛋白胨水和加3%食盐的蛋白胨水各采一鉋环作划綫培养。在37°C中培养18小时后,比較两培养基中的发育程度来判定。

(四) 吲哚形成試驗

加3%食盐的蛋白胨水中放37°C培养18小时后,如滴下 Ehrlich 氏試药或 Kovacs 氏試药,照常法进行判定。本項試驗也可在加3%食盐的 SIM* 培养基中进行。

(五) 硝酸盐还原試驗

接种于加3%食盐的硝酸盐培养基中,在37°C中培养18小时后,按常法加試药1和試药2的等量混合液后判定結果。

(六) 明胶液化試驗

接种在加3%食盐的明胶培养基中,放37°C中培养2日以上后取出,再放冰箱內約30分钟,然后进行观察,阳性者培养基不再凝固。

(七) 細胞色素氧化試驗

接种在加3%食盐的蛋白胨水約5毫升中,放37°C培养18小时后,加1%α-萘酚酒精溶液0.2毫升和1%对氨基二甲苯胺草酸盐水溶液0.3毫升,剧烈振荡約30秒钟,在30秒钟以内变蓝色的作为阳性。

(八) 碳水化合物分解試驗

1. 葡萄糖分解試驗: 加3%食盐的 Hugh-Leifson 氏培养基2支作穿刺培养;一支用灭菌流动石蜡重疊,放37°C培养18小时,培养基变黄者作为产酸;又培养基中发生气泡或龟裂者作为产气。

2. 其他碳水化合物分解試驗

用加3%食盐的改良 Barsiekow 氏培养基**进行試驗,放37°C培养观察一星期。

(九) 硫化氢产生試驗

加3%食盐的 SIM 培养基中作穿刺培养,放37°C 18小时培养后判定結果。培养基有变化的作为阳性。但是市场上出卖的 SIM 培养基有质量不良的,如使用此类培养基,致病性嗜盐菌也有产生硫化氢的,故須注意。

(十) 枸橼酸盐利用試驗

加3%食盐的 Simmons 氏的枸橼酸盐培养基中37°C培养48小时后观察,凡細菌生长,培养基变蓝色者作为阳性。

参考事項:

以上的生化特性檢驗中某些項目也可按下面方法进行。

(1) 明胶液化試驗

Kohn 氏法(参考 J. Clin. Path. 6, 249, 1953)

Clark 氏法(参考 J. Clin. Path. 6, 246, 1953. 培养基中要使含食盐3%,胆酸盐0.2%)。

(2) 吲哚形成試驗,硝酸盐还原試驗,糖类(葡萄糖除外)分解試驗。

坂崎氏法(参考 モダンメディア [Modern Media], 5, 114, 1959), 但是稀释液不用水而改用3%食盐水。

五、血清学特性檢驗

免疫血清制造方法

* S 为 H_2S (硫化氢), I 为 Indol (吲哚), M 为 Motility (运动性)。此培养基由肉浸膏0.3克,多价蛋白胨3.0克,盐酸胱氨酸0.02克,1% 硫代硫酸鈉0.5毫升,5% 枸橼酸鉄鉍水溶液1.0毫升,琼脂粉0.3~0.5克,蒸馏水100毫升配合而成;

** Barsiekow 氏培养基是供糖酵解檢驗用的蛋白胨水,其中根据需要可加不同种类的碳水化合物。——譯者注