

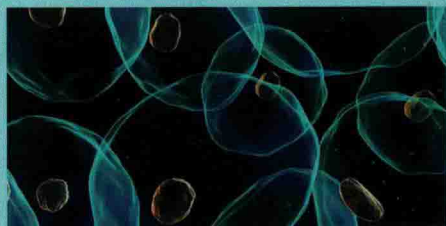
# 鼠伤寒沙门菌

腺苷酸环化酶和cAMP受体蛋白缺失株的特性

SHUSHANGHANSHAMENJUN

XIANGANSUANHUANHUAMEI HE cAMP SHOUTIDANBAIQUESHIZHU DE TEXING

廖成水 著



# 鼠伤寒沙门菌

腺苷酸环化酶和cAMP受体蛋白缺失株的特性

SHUSHANGHANSHAMENJUN

XIANGANSUANHUANHUAMEI HE cAMP SHOUTIDANBAIQUESHIZHU DE TEXING

廖成水 著



中国原子能出版社  
China Atomic Energy Press

## 图书在版编目(CIP)数据

鼠伤寒沙门菌腺苷酸环化酶和 cAMP 受体蛋白缺失株的特性 / 廖成水著. -- 北京:中国原子能出版社,2016. 11

ISBN 978-7-5022-7635-5

I. ①鼠… II. ①廖… III. ①沙门氏杆菌属—腺苷酸环化酶—研究②沙门氏杆菌属—蛋白质—研究 IV. ①Q939.121

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 271566 号

## 鼠伤寒沙门菌腺苷酸环化酶和 cAMP 受体蛋白缺失株的特性

---

出 版 中国原子能出版社(北京市海淀区阜成路 43 号 100048)

责任编辑 蒋焱兰 邮箱:ylj44@126.com QQ:419148731

印 刷 河南承创印务有限公司

经 销 全国新华书店

开 本 710mm × 1010mm 1/16

印 张 8.5

字 数 135 千字

版 次 2016 年 11 月第 1 版 2016 年 11 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5022-7635-5

定 价 35.00 元

---

出版社网址:<http://www.aep.com.cn> E-mail:atomep123@126.com

发行电话:010-68452845

版权所有 侵权必究

## 前 言 / Preface

---

鼠伤寒沙门菌属于沙门菌属 B 群,是一群宿主非特异性肠道致病菌,具有广泛的宿主谱,存在于许多家禽(鸡、鸭、鸽等)、家畜(猪、牛、羊、马、狗、猫等)、鼠类、飞鸟及人类的肠道中。根据糖发酵和酒石酸盐利用实验,可将本菌分成 38 个生物型,利用噬菌体可将其分为 207 个噬菌体型。在鸡白痢已控制的地区,本菌是鸡群中最多见的沙门菌感染菌型之一。它具有极广泛的致病性,能致各种畜禽、特种经济动物、试验动物及人的副伤寒,表现为胃肠炎或败血症。这些年来,副伤寒发病率逐年增高,在牛、羊和马中所致的流产及急性胃肠炎的频率已超过都柏林沙门菌和马流产沙门菌。由沙门菌引起的副伤寒不仅给养殖业造成很大经济损失,而且菌体污染肉类食品,继而进入人类食物链而引起人类的食物中毒,成为人类沙门菌感染的潜在来源,临床上以急性发热、恶心、呕吐和腹泻为主要症状,并且常引起医院内婴幼儿感染,严重危害人类健康。因此,鼠伤寒沙门菌在公共卫生方面具有重要意义。

目前,临床上常采用药物控制的方法来减轻沙门菌的危害。但是多次反复用药不仅使成本上升,而且带来了耐药性和药物残留等食品安全问题,这表明仅仅依赖药物控制不是治疗该病的上选对策。由于多重耐药沙门菌不断出现以及基于食品安全方面的考虑,疫苗接种免疫预防沙门菌病是一个理想的选择。尽管常规灭

活疫苗一直在使用,但由于其产生的保护水平低且持续时间短以及免疫途径不方便等原因,使得常规疫苗的使用效果不理想。

与灭活疫苗和亚单位疫苗不同,减毒沙门菌活疫苗能更有效地激发宿主的体液免疫、细胞免疫以及局部黏膜免疫反应。据报道,用减毒或无毒活菌注射或口服免疫动物,效果优于灭活菌苗。目前针对动物鼠伤寒沙门菌病的疫苗主要有鼠伤寒沙门菌灭活疫苗和鸡用鼠伤寒沙门菌活疫苗 Zoosaloral H、牛用鼠伤寒沙门菌活疫苗 Zoosaloral R 及鸽用鼠伤寒沙门菌活疫苗 Zoosa T。Zoosaloral H、Zoosaloral R 和 Zoosa T 是利用甲基硝基亚硝基胍经化学诱变方法得到的一种鼠伤寒沙门菌 DT009 株腺嘌呤(Ade<sup>-</sup>)和组氨酸(His<sup>-</sup>)营养突变体。另外一种鸡用鼠伤寒沙门菌活疫苗 AviPro<sup>®</sup> Salmonella vac T 是鼠伤寒沙门菌 415 株的代谢漂移突变株。人的鼠伤寒沙门菌病尚无疫苗供预防使用。

与沙门菌致病性密切相关的毒力因子主要有脂多糖、肠毒素、细胞毒素、侵袭力等。人们已通过各种基因工程手段构建了多种沙门菌的基因突变株,其缺失突变株毒力降低,丧失了对动物的致病力,但仍保留良好的侵袭力和免疫原性,并对黏膜组织有很强嗜性。目前,基因缺失研究的靶标基因主要有 *galE*、*aro*、*pur*、*ompR*、*cya*、*crp*、*asd*、*dam*、*phoP/phoQ*、*sop* 等。

*crp* (cAMP receptor protein) 基因和 *cya* (adenylate cyclase) 基因分别编码 cAMP 受体蛋白和环化腺苷酸合成酶,这两种蛋白是细菌中一些其他基因转录、营养运输和分解代谢所必需的,*cya* 基因和 *crp* 基因的突变株影响参与碳水化合物和氨基酸代谢的基因表达和菌毛与鞭毛外膜蛋白的合成,它们是研究较深入的沙门菌毒力调节基因。

1978 年 Alper 通过 P22 转座方法得到一系列鼠伤寒沙门菌 LT2 株的 *crp* 及 *cya*

的突变株,这些突变株能抵抗 22 种抗生素,可被 29 种正常细菌的燃料类似物或碳源抑制。1987 年 Curtiss 用 Tn10 转座得到鼠伤寒沙门菌 SR-11 株的 *crp* 与 *cya* 突变株能在普通培养基上生长,但由于 *crp* 缺失,不能合成 cAMP 受体蛋白,又缺失 *cya* 基因,亦不能从宿主体内摄取 cAMP 以供己用,并且 *cya* 和 *crp* 在染色体上相隔 11 min,所以 2 个基因恢复成野生型的可能性很小。该突变株因丧失代谢碳水化合物、氨基酸和小肽的能力,因而生长比较缓慢。突变株的生化特性不同于野生型鼠伤寒沙门菌,虽然不能合成 I 型菌毛,但表达鞭毛抗原,因而保留了运动性,不能利用柠檬酸盐和甘油,对多数糖类不发酵,不产生硫化氢。*crp* 与 *cya* 突变后对小鼠无毒性,能抵抗  $10^9$  CFU 突变株的口服接种,能像野生型一样具有在肠相关淋巴组织吸附、入侵和生存的能力,但到达肠淋巴结和脾脏的能力减弱。具有良好的免疫原性,小鼠口服免疫 10 天后能完全保护野毒的攻击,部分抵抗 SR-11  $10^3 \sim 10^4$  LD<sub>50</sub> 的攻击。另有研究表明,鼠伤寒沙门菌 *crp*、*cya* 突变株对猪和鸡均有保护力,可保护 1 日龄、两周龄以及成年鸡抵抗野生型鼠伤寒沙门菌攻击感染。有报道称鼠伤寒沙门菌 SL1344 株和 UK-1 株的 *crp*<sup>-</sup>、*crp*<sup>-</sup> *cdt*<sup>-</sup> 缺失株对小鼠均没有毒力,都能有效地定殖在肠相关淋巴组织,但 *cdt* 缺失的菌株定殖在深层组织如脾脏、肝脏、血液的能力较 *cdt*<sup>+</sup> 缺失株和野毒株明显降低。SL1344 的 *crp*<sup>+</sup> *cdt*<sup>-</sup>、*crp*<sup>-</sup> *cdt*<sup>-</sup> 缺失株免疫鼠对  $10^4$  LD<sub>50</sub> 的 SL1344 的攻击产生完全保护。

我国沙门菌的致弱方面的研究相对落后,目前国内利用减毒沙门菌作为载体表达外源基因的报道较多,但基本上是从国外引进的一全套系统,很少有学者去研究沙门菌减毒。

用于构建沙门菌基因缺失弱毒疫苗株的常规基因工程手段存在不少缺陷。例如,利用转座子介导的突变方法存在随机性,只适合于表型发生明显变化突变子的

筛选,而不导致明显表型变化的突变菌株就不能通过这些方法获得;传统的利用同源重组导致靶基因突变方法虽然精确,但获得的突变菌株最后往往含有抗性标记,由于不符合生物安全性要求不能作为疫苗株用于疫苗生产。

已有研究报道鼠伤寒沙门菌 *cya*、*crp* 双基因缺失株的毒力明显降低,但保留了良好的免疫原性。基于 *crp*、*cya* 基因的已知序列,本书试图利用运用重组自杀性质粒介导细菌的等位基因交换技术获得鼠伤寒沙门菌 SL1344 株 *crp* 和 *cya* 缺失突变菌株,并对其生物学特性进行比较研究。

最后,谨希望本书的出版能够让沙门菌减毒疫苗及活载体的研究得到更多的科研工作者所关注。未来需要更多的相关科学研究进一步探索 *crp*、*cya* 基因作为沙门菌活疫苗或者作为活载体携带外源基因的可能性。同时,因知识和能力有限,虽然做了最大的努力,本书仍然存在许多错误的地方,望广大专家和读者批评指正。

廖成水

河南科技大学

2016年9月16日



## 第一章 绪 论

1.1 鼠伤寒沙门菌及其危害 .....	001
1.1.1 主要生物学特点 .....	003
1.1.2 流行病学 .....	007
1.1.3 诊断与防治 .....	008
1.2 减毒鼠伤寒沙门菌 .....	011
1.2.1 减毒沙门菌的研究背景 .....	011
1.2.2 用于鼠伤寒沙门菌减毒的相关致病因子 .....	012
1.2.3 鼠伤寒沙门菌的减毒 .....	019
1.2.4 减毒鼠伤寒沙门菌的入侵与免疫机制 .....	025
1.3 减毒鼠伤寒沙门菌作为活载体研究 .....	028
1.4 展 望 .....	031

## 第二章 鼠伤寒沙门菌缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344 和 $\Delta cya$ SL1344 的构建与鉴定

2.1 材 料 .....	036
2.1.1 细菌菌株、质粒和培养条件 .....	036
2.1.2 主要试剂和培养基 .....	038
2.1.3 主要培养基及抗生素的配制 .....	038
2.1.4 主要试剂的配制 .....	039



2.1.5	主要实验器材 .....	040
2.2	方 法 .....	040
2.2.1	PCR 引物的设计与合成 .....	040
2.2.2	细菌的活化 .....	047
2.2.3	细菌基因组 DNA 的制备 .....	048
2.2.4	质粒的制备 .....	048
2.2.5	大肠杆菌感受态细胞的制备(氯化钙法) .....	049
2.2.6	细菌或重组质粒的 PCR 鉴定 .....	050
2.2.7	重组质粒的酶切鉴定 .....	050
2.2.8	PCR 产物或酶切产物的回收与纯化 .....	051
2.2.9	目的片段的连接及其产物的转化 .....	052
2.2.10	鼠伤寒沙门菌 SL1344 株 <i>crp</i> 及 <i>cya</i> 基因的克隆与鉴定 ...	052
2.2.11	重组自杀性质粒 pRE $\Delta$ <i>cya</i> 的构建 .....	053
2.2.12	鼠伤寒沙门菌缺失菌株 $\Delta$ <i>crp</i> SL1344、 $\Delta$ <i>cya</i> SL1344 的构建 .....	054
2.3	结果与分析 .....	055
2.3.1	SL1344 株 <i>crp</i> 、 <i>cya</i> 基因的克隆与序列分析 .....	055
2.3.2	重组自杀性质粒 pRE $\Delta$ <i>cya</i> 的构建 .....	056
2.3.3	缺失菌株 $\Delta$ <i>crp</i> SL1344、 $\Delta$ <i>cya</i> SL1344 的筛选 .....	059
2.4	讨 论 .....	063
2.4.1	重组自杀性质粒的特性及应用 .....	063
2.4.2	靶标基因的选择及其缺失意义 .....	065
2.5	小 结 .....	066

### 第三章 鼠伤寒沙门菌缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344 和 $\Delta cya$ SL1344 生物学特性比较研究

3.1 材 料 .....	067
3.1.1 菌株、试剂和培养基 .....	067
3.1.2 实验动物与药敏纸片 .....	068
3.1.3 主要培养基及试剂配制 .....	068
3.1.4 主要实验器材 .....	069
3.2 方 法 .....	070
3.2.1 沙门菌的特异性 PCR 鉴定 .....	070
3.2.2 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 的表型鉴定 .....	070
3.2.3 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 遗传稳定性测定 .....	071
3.2.4 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 耐药性检测 .....	071
3.2.5 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 生长特性鉴定 .....	071
3.2.6 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 的毒力测定 .....	071
3.3 结果与分析 .....	072
3.3.1 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 的表型鉴定 .....	072
3.3.2 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 耐药性检测 .....	075
3.3.3 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 遗传稳定性测定 .....	076
3.3.4 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 生长特性鉴定 .....	077
3.3.5 缺失菌株 $\Delta crp$ SL1344、 $\Delta cya$ SL1344 的毒力测定 .....	078
3.4 讨 论 .....	080
3.4.1 基因缺失对表型的影响 .....	081
3.4.2 基因缺失对毒力的影响 .....	082
3.5 小 结 .....	083

## 第四章 鼠伤寒沙门菌缺失株 $\Delta$ cyaSL1344 的免疫保护研究

4.1	材 料	086
4.1.1	菌株、试剂和培养基	086
4.1.2	实验动物	086
4.1.3	主要培养基及试剂配制	086
4.1.4	主要实验器材	087
4.2	方 法	087
4.2.1	雏鸡沙门菌的免疫程序	087
4.2.2	免疫接种对雏鸡生长发育的影响	087
4.2.3	缺失菌株在体内的存活时间检测	087
4.2.4	免疫雏鸡细胞免疫水平检测	088
4.2.5	免疫雏鸡 ELISA 抗体检测	088
4.2.6	$\Delta$ cyaSL1344 缺失菌株对鼠伤寒沙门菌强毒株攻击雏鸡的保护性评价	088
4.2.7	$\Delta$ cyaSL1344 缺失疫苗对鸡白痢沙门菌强毒株攻击雏鸡的保护性评价	088
4.3	结果与分析	088
4.3.1	缺失菌株 $\Delta$ cyaSL1344 免疫接种对雏鸡的生长发育的影响	088
4.3.2	缺失菌株 $\Delta$ cyaSL1344 缺失菌株在体内的存留时间	089
4.3.3	缺失菌株 $\Delta$ cyaSL1344 免疫雏鸡后细胞免疫水平检测	089
4.3.4	缺失菌株 $\Delta$ cyaSL1344 免疫雏鸡后 ELISA 抗体检测	090
4.3.5	$\Delta$ cyaSL1344 缺失菌株对鼠伤寒沙门菌强毒株攻击雏鸡的保护性评价	090

4.3.6 $\Delta cya$ SL1344 缺失疫苗对鸡白痢沙门菌强毒株攻击雏鸡的保护性评价 .....	091
4.4 讨 论 .....	091
4.5 小 结 .....	095

## 第五章 展 望

参考文献 .....	100
------------	-----

## 附 录

附录一 英文缩写词表 .....	114
附录二 <i>cya</i> 碱基序列 .....	116
附录三 <i>cya</i> 氨基酸序列 .....	118
附录四 <i>crp</i> 碱基序列 .....	118
附录五 <i>crp</i> 氨基酸序列 .....	119
附录六 pBluscriptII SK(+)载体氨基酸序列 .....	119

后 记 .....	122
-----------	-----

# 第一章 绪 论

## 1.1 鼠伤寒沙门菌及其危害

沙门菌(*Salmonella*)为肠杆菌科沙门菌属成员,该菌呈全球性分布,绝大多数沙门菌对人和动物有致病性<sup>[1,2]</sup>,能引起人和各种动物的多种不同临床表现的沙门菌病,是最常见人兽共患的重要病原菌。沙门菌是肠杆菌科沙门菌属的细菌,是一大群形态、培养和生化特性相似的寄生于人和动物肠道内的一种革兰氏阴性兼性厌氧无芽孢的球杆菌。为纪念1885年美国微生物学家 Daniel E. Salmon 于猪霍乱病流行时分离到猪霍乱杆菌。1990年将此类细菌命名为 *Salmonella*(沙门菌)。沙门菌有2 500多个血清型,几乎包括所有对人和动物致病的血清型菌株。它能引起人和动物的多种不同临床表现的沙门菌病,并为人类食物中毒的主要病原之一,在医学、兽医学和公共卫生学上均十分重要。

根据对宿主嗜性不同,可将沙门菌分为三个群:第一群是专嗜性沙门菌或宿主特异性沙门菌,只对特定动物或人产生特定的疾病,属于该群的不多。如鸡白痢沙门菌(*Salmonella pullorum*, *S. pullorum*)和鸡伤寒沙门菌(*Salmonella gallinarium*, *S. gallinarium*)具有高度宿主特异性,多数情况下仅感染家禽和某些鸟类。猪伤寒沙门菌(*Salmonella typhisuis*, *S. typhisuis*)仅对猪致病;马流产沙门菌(*Salmonella abortusequi*, *S. abortusequi*)、牛流产沙门菌(*Salmonella abortusbovis*, *S. abortusbovis*)和羊流产沙门菌(*Salmonella abortusovis*, *S. abortusovis*)分别对马、牛、羊致病。第二群是在一定程度对特定动物的偏嗜性沙门菌,仅见于个别血清型,如对猪致病的猪霍乱沙门菌(*Salmonella choleraesuis*, *S. choleraesuis*)和对牛羊致病的都柏林沙门

菌(*Salmonella dublin*, *S. dublin*)。第三群是泛嗜性沙门菌或宿主非特异性沙门菌,能引起人和各种动物的沙门菌病,具有重要的公共卫生意义,这群血清型占本属的大多数,主要代表血清型为鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*)和肠炎沙门菌(*Salmonella enteritidis*, *S. enteritidis*)。

以前一个血清型一个种的概念已明显过时。正确的表示方法应为:*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium* (肠炎沙门菌肠炎亚种鼠伤寒血清型)。但考虑到上述表达方式比较繁琐,有人建议采用 *Salmonella serotype (ser) Typhimurium*,甚至更简化为 *Salmonella Typhimurium* 或 *S. Typhimurium*。但不能书写成 *Salmonella typhimurium*。不过中文仍可书写为鼠伤寒沙门菌。但需要指出的是许多沙门菌不作具体命名,仅用抗原式表示。沙门菌抗原式的书写方式为:O 抗原:H 抗原第1相:H 抗原第2相。每个比号相隔部分如有多个抗原因子相互之间可用逗号分开。如 1,4,5,12:i:1,2。

鼠伤寒沙门菌属于沙门菌属 B 群,是一群宿主非特异性肠道致病菌,具有广泛的宿主谱,存在于许多家禽(鸡、鸭、鸽等)、家畜(猪、狗、猫、牛、羊、马等)、飞鸟、鼠类及人类的肠道中。本菌是目前世界各国分离率最高的沙门菌菌型之一<sup>[3]</sup>。据德国历年所分离的 1 万多株沙门菌中,最高年份该菌占分离总数的 79%,最低为 42%。它具有极广泛的致病性,能致各种畜禽、试验动物、特种经济动物及人的副伤寒,表现为胃肠炎或败血症。近年来,动物副伤寒发病率逐年增高,在牛、羊和马中所致的流产及急性胃肠炎的频率已超过都柏林沙门菌和马流产沙门菌。

沙门菌是引起人类细菌性食物中毒的主要致病菌之一。在世界各地的食物中毒中,沙门菌引起的中毒病例占第一位或第二位<sup>[4]</sup>,占细菌性食物中毒的 42.6% ~ 60%,在中国被列为人类食源性病原菌之首<sup>[5,6]</sup>。为此,WHO 将沙门菌列入具有严重危害和中等危害的食物传播性病原。以急性发热、恶心、呕吐和腹泻为主要临床症状。1953 年瑞典发生由猪肉中鼠伤寒沙门菌引发的一起世界上最大沙门菌食物中毒,造成 7 717 人中毒,90 人死亡。2009 年 1 月美国发生的“花生酱污染事

件”,致多人死亡,波及43个州,最后在污染花生酱中证实了致病鼠伤寒沙门菌的存在。同时鼠伤寒沙门菌也是医院内交叉感染的重要病原菌,常引起医院内婴幼儿感染,可在妇产科和儿科婴幼儿病房流行,2岁以内患者占半数以上,6个月内患病人数更多,严重影响我国儿童的身体健康。由鼠伤寒沙门菌引起的副伤寒不仅给养殖业造成很大经济损失,而且菌体污染肉类食品,继而进入人类食物链而引起人类食物中毒,成为人类沙门菌感染的潜在来源,严重危害人类健康。另外,本菌极易产生耐药性,使常规抗菌药物治疗效果较差,病程迁延不愈,成为临床治疗的难点。因此,鼠伤寒沙门菌在兽医、医学和公共卫生方面具有重要意义。

### 1.1.1 主要生物学特点

沙门菌属是一群革兰氏阴性无芽孢直杆菌,自从1885年 Salmon 和 Smith 从患猪瘟的猪体内分离到猪霍乱沙门菌以来,很多具有共同特征的细菌相继被发现,迄今为止已确定2500多个沙门菌血清型<sup>[7]</sup>,在我国已发现200多个菌型<sup>[8]</sup>。本属大多数细菌的培养特性与埃希氏菌属相似。但鸡白痢、鸡伤寒、猪伤寒等菌在普通琼脂上生长较差,形成较小的菌落,菌落直径2~4 mm。在加有血清的培养基上生长良好。沙门菌在肉汤琼脂上生长贫瘠,形成较小的菌落。在肠道菌鉴别或选择性培养基上,大多数菌株因不发酵乳糖而形成无色菌落。在SS琼脂(18~24 h)上,伤寒沙门菌:黑色菌落,大肠杆菌:红色菌落。一般不发酵乳糖和蔗糖。大多产生 $H_2O_2$ (*E. coli*)。对葡萄糖、麦芽糖和甘露醇发酵产酸产气(伤寒沙门菌除外)。

1892年, Loffler 氏从自然发生发热、寒战等伤寒样反应的鼠类分离获得的病原菌,称为鼠伤寒沙门菌。1893年在 Breslan 城首次证实鼠伤寒沙门菌可引起食物中毒,使人们认识到本菌可使人、鼠共同致病。后来发现本菌存在许多动物中,并对多种动物具有致病性。

#### (1) 培养特性与生化特性

鼠伤寒沙门菌为无芽孢、无荚膜的革兰氏阴性兼性厌氧菌,本菌具有鞭毛,能运动,但其O型变种或经反复传代的菌株无鞭毛长出。本菌在镜下所见与本属细



菌在形态上无特殊之处。菌体两端钝圆,大小约为 $(0.7 \sim 1.5) \mu\text{m} \times (2 \sim 5) \mu\text{m}$ 。根据糖发酵和酒石酸盐利用实验,可将本菌分成 38 个生物型,利用噬菌体可将其分为 207 个噬菌体型<sup>[8]</sup>。

本菌最适培养温度为 37 ℃,生长对营养要求不高,在普通琼脂培养基上能生长,形成中等大小、无色半透明的 S 型菌落;在 SS 琼脂培养基上生长良好,菌落呈透明、光滑、中等大小。但鼠伤寒沙门菌 O 型变种在伊红兰培养基上形成半透明、光滑、边缘整齐、呈圆形稍隆起的无色或略带粉红色菌落;在肉汤中则为混浊生长。

鼠伤寒沙门菌的生化反应与本属其他沙门菌大致相同,能分解含硫氨基酸,在三糖铁琼脂上产生硫化氢;因不能分解色氨酸而不产生靛基质;可分解葡萄糖、甘露醇产酸产气;能发酵阿拉伯胶糖、木胶糖、麦芽糖、鼠李糖、卫矛醇、山梨醇;不发酵乳糖、蔗糖、水杨素和肌醇;部分菌株还能分解蕈糖;能利用柠檬酸盐、枸橼酸盐和还原硝酸盐;不能水解尿素或明胶。赖氨酸、左旋酒石酸、消旋酒石酸、右旋酒石酸钾钠、葡萄糖铵盐、枸橼酸钠、黏液酸试验均为阳性。MR 试验为阳性;VP 试验为阴性;吡啶试验为阴性;苯丙氨酸和丙二酸试验均为阴性。

## (2) 抗原结构特性

沙门菌抗原主要有 O 抗原、H 抗原和 Vi 抗原,O 和 H 抗原是其主要抗原,构成绝大部分沙门菌血清型鉴定的物质基础,其中 O 抗原又是每个菌株必有的成分。

O 抗原是沙门菌细胞壁表面的为脂多糖,性质稳定。100 ℃,2.5 h 不被破坏,不被乙醇或 0.1% 石炭酸破坏,它的特异性依赖于细胞壁脂多糖侧链多糖的组成。一个菌体可有几种 O 抗原成分,以 1、2、3 等阿拉伯数字表示。例如乙型副伤寒杆菌有 4、5、12 三个。鼠伤寒杆菌有 1、4、5、12 四个;猪霍乱杆菌有 6、7 二个。其中有些 O 抗原是几种菌所共有,如 4、5 为乙型副伤寒杆菌和鼠伤寒杆菌共有,将具有共同 O 抗原(群因子)的各个血清型菌归入一群,以大写英文字母表示。目前已发现的全部沙门菌可分为 A, B, C1 ~ C4, D1 ~ D3, E1 ~ E4, F, G1 ~ G2, H……Z 和 O51 ~ O63 以及 O65 ~ O67 计 51 个 O 群,包括 58 种 O 抗原。我国已发现 26 个菌组、161 个血

清型。由人及哺乳动物分离到的沙门菌,绝大多数属于 A ~ E 群。O 抗原可刺激机体产生 IgM 型抗体。

沙门菌经酒精处理破坏鞭毛抗原后的菌液,即为血清反应用的 O 抗原,与 O 血清做凝集反应时,经过较长时间,可以出现颗粒状不易分散的凝集现象。

H 抗原是蛋白质性鞭毛抗原,共有 63 种,对热不稳定,60 °C 加热 30 ~ 60 min 及酒精作用均可破坏其抗原性。具有鞭毛的细菌经甲醇液固定后,其 O 抗原全部被 H 抗原遮盖,而不能与相应抗 O 抗体反应。H 抗原的特异性取决于多肽链上氨基酸的排列顺序和空间构型。

沙门氏杆菌的 H 抗原有两种,称为第 1 相和第 2 相。第 1 相特异性高,又称特异相,用 a、b、c 等表示,第 2 相特异性低,为数种沙门氏杆菌所共有,也称非特异相,用 1、2、3 等表示。具有第 1 相和第 2 相 H 抗原的细菌称为双相菌,仅有一相者称单相菌。每一组沙门氏杆菌根据 H 抗原不同,可进一步分种或型。H 抗原刺激机体主要产生 IgG 抗体。

运动活泼的沙门菌新培养物经甲醛处理后,即为血清学上所使用的抗原,此时鞭毛已被固定,而且能将 O 抗原全部遮盖,故不能被 O 抗体凝集。此抗原若与 H 血清相遇,则在 2 h 之内出现疏松、易于摇散的絮状凝集。

少数菌中尚有一种表面包膜抗原,功能与大肠杆菌的 K 抗原类同,因与毒力(virulence)有关而命名为 Vi 抗原。由聚 - n - 乙酰 - d - 半乳糖胺糖醛酸组成。不稳定,经 60 °C 加热、石炭酸处理或人工传代培养易破坏或丢失。新从患者标本中分离出的伤寒杆菌、丙型副伤寒杆菌等有此抗原。Vi 抗原存在于细菌表面,可阻止 O 抗原与其相应抗体的反应。Vi 抗原的抗原性弱。当体内菌存在时可产生一定量抗体;细菌被清除后,抗体也随之消失。故测定 Vi 抗体有助于对伤寒带菌者的检出。

鼠伤寒沙门菌基因组结构与其他沙门菌基本相同,具有菌体抗原(O)、鞭毛抗原(H)、菌毛抗原。O 抗原有 1, 4, 5, 12;H 抗原单相为 i,双相为 1, 2。即抗原结