

肠道传染病防治资料汇集

山东医药卫生学会

1963年5月

青島市痢疾病原學調查研究

- 一、前言
- 二、菌型分布情況
 1. 材料與方法
 2. 實驗結果
 3. 討論
- 三、藥物敏感試驗
 1. 材料與方法
 2. 實驗結果
- 四、摘要

青島市衛生防疫站

魯開國

青島市1961年—1962年痢疾病原學調查研究

檢驗科——魯開國

痢疾病原學的調查研究可以查明各菌型分布的情況和各種志賀氏菌的各種特性的規律，從而為痢疾的診斷、流行病學和細菌免疫學工作者提供改進工作和調查研究的資料，故引起國內學者的日益注意；近幾年來國內各地有關這方面的報告日見增多，這無疑對痢疾防治工作的改善起了一定的作用。我市歷年來也均有痢疾的發生，但有關痢疾病原學方面的調查報告尚少，解放前僅賴氏（1927—28）曾作過痢疾菌型的調查，其他人的報告尚未查到。筆者等於1961—1962年調查研究了本市痢疾病原學的情況，現將資料整理報告如下。

菌型分布情況（第一部分）

材料與方法

一、標本的來源：所檢之標本主要是疑似痢疾患者的糞便。其中包括我市各醫院的臨床標本，及分離的菌種和採自流行地區的患者糞便及病蟲蒼蠅。

所有糞便標本均保存於無菌30%甘油鹽水緩沖液內送驗（其中一部分曾用本站試制的痢疾保存液存之）共檢出痢菌206株。

二、分離與菌型鑑定：大便標本係直接分離於EMB基平板和SS（自制）平板上；培養蒼蠅係將体表（吻、節肢）和體內分別培養。處理方法是：先將蠅體浸於5毫升無菌生理鹽水內振盪洗滌之，然後再將吻、節肢剪下於洗滌液中研磨之，取此混懸液直接分離於伊紅美蘭及SS琼脂培养基，此作体表培養，體內培養時將上述洗滌後之蠅體於75%酒精中，浸泡5分鐘以殺滅体表菌，取出後用無菌生理鹽水洗去酒精，再將蠅體剖檢取出腸管，放

无菌研钵内加1毫升无菌生理盐水研磨：使成混悬液。即取此混悬液亦直接划线分离于伊红美兰及SS琼脂培养基上，此作体内培养。经37°C培养24小时后，挑取可疑菌落3—5个接种于肠系杆菌多糖复合鉴别基上，培养后初步筛选，凡疑似痢疾菌的反应者，继续作进一步的生化、血清学鉴定。所作的生化反应，对其中的糖类的发酵情况均观察4日，以定其最后的结果。血清学鉴定所用血清共有二组，一是成都生物制品研究所出品的志贺氏菌属33种分型血清；另是中央生物制品检定所给予我站的痢疾分型血清18种，其中包括鲍氏菌1—10型，志贺氏菌1—7型及宋内氏菌抗血清。应用时以成都生物制品研究所出品血清为主，中央生物制品检定所血清作复验用。遇有生化反应典型与抗血清不凝集者，则将菌液煮沸1小时破坏其K抗原后再作凝集试验。对于抗血清凝集但生化反应不典型的菌株，则将其进行传代作稳定性的检查，以恢复其菌株的本来特性。同时应用试管凝集试验来测定其汇集效价的高低。因无甚多的标准菌株，故未进行交互凝集吸收试验。

二、致病力的试验：对于分离之非典型菌株及少见的痢疾菌型分别进行致病力的试验，试验法係採用家兔眼结膜感染法。试验係选择健康家兔（体重在1800—2500克）并且外眼无任何疾患者。感染方法是以无菌的取菌环刮取痢菌脂斜面培养物半环，轻轻的涂于家兔上眼睑结膜穹窿部，然后将眼脸上下闭合数次使细菌均匀分布于眼球外部，试验时并以典型痢疾菌株和大肠菌株作对照试验。感染后的家兔每天检查结膜、角膜、前房、虹膜和瞳孔等病变情况。检查角膜溃疡係用荧光素染色检查法。

实 验 结 果

一、菌型分布：实验结果表明青島地区痢疾流行性病例和散发性病例在菌型分布上颇有不同。看来在流行病例中菌型似乎较

单纯，而在散在性病例中菌型则较复杂，由表1中可以看出流行病例中患者粪便与病家苍蝇体内和检出痢疾菌均为志贺氏菌1型，而在散在病例中痢疾菌各亚群都有检出，且各亚群的比例亦有所不同。

表1 1961—1962痢疾流行病例与散在性病例检出菌型比较

标本种类	分 数	分离出 痢疾菌 株数	型 别						
			痢疾志贺氏菌			福氏 志贺氏 菌	鲍氏 志贺氏 菌	宋内氏 志贺氏 菌	非典 型痢疾
			志1型	志2型	志7型				
流行病例患者大便	38	20	20	—	—	—	—	—	—
流行地区病家苍蝇体表	20组	4	4	—	—	—	—	—	—
流行区内病家苍蝇体内	20组	3	3	—	—	—	—	—	—
散在性病例患者大便	500	143	25	13	3	80	1	6	15
送 验 菌 种	40	36	—	2	—	25	—	4	5
总 计	618	206	52	15	3	105	1	10	20

由表2中看出1961—1962两年中散在病例中各亚群及各菌型所占比例：福氏菌在1961年占50.74%，1962年升为53.39%，两年中均居第一位；志贺氏菌在1961年占37.31%，1962年降为16.07%，两年中均居第二位；鲍氏菌及宋内氏菌1961年各占1.49%，而1962年宋内氏菌则上升为8.04%。但未再检出鲍氏菌。非典型菌株在两年中占8.95—12.5%，比例较高，占第三位。在各亚群中各菌型在两年内亦有变化，其中尤以志贺氏菌变化较为明显。1961年以志贺氏菌1型最高占本亚群的96%，而1962年志贺氏菌1型则显著下降，仅占5.55%，而代之以志贺氏菌2型上升占本亚群的77.77%，除上述外，尚检出了志贺氏菌7型(Q902)，进行血清学鉴定时该菌株与中央生物制品研究所出品之Q902血清凝集很好，但不与成都生物制品研究所出品之志贺

氏菌7型(Q902)血清凝集(该血清是否失效未用标准菌株证实),仅对志贺氏菌3—7型多价有轻度凝集。该菌株是在冬季,由某单位一起暴发型痢疾病例中检出的,在福氏志贺氏菌中 γ 变种在数量上最多,两年中占29.40—46.48%,均居首位; α 变种1962年占28.17%,较1961年有所提高。1962年尚检出了1961年来未检出的福3型,4型和6型;在1961年仅检出一株鲍氏菌5型,1962年则未再检出鲍氏菌,在非典型菌株中检出的多是生化反应典型而不与现有痢疾抗血清凝集的菌株,另外尚检出与痢疾抗血清凝集但生化反应不属典型的菌株。

三生化反应:所有检出的痢疾菌株均分解葡萄糖,对测金盞花醇、肌醇均不分解,均不产生硫化氢,不分解尿素,不液化明胶,不利用枸橼酸盐,均无动力。

由表3中得知志贺氏菌1型、2型、7型对乳糖、水相素、卫矛醇、甘露醇基粉均不能分解,绝大多数志贺氏菌1型不产生鞣基质,流行性病例痢疾志贺氏菌1型中有2株能产生鞣基质的志贺氏菌2型绝大多数能分解鼠李粉和较少部分菌株能分解木胶粉、山梨醇,所有志贺氏菌2型菌株都能产生鞣基质;志贺氏菌1型和7型均不分解鼠李粉和木胶粉,有2株志贺氏菌7型能生鞣基质。

福氏菌各菌型的生化反应情况可由表4中得知,97株福氏志贺氏菌均不分解乳糖、蔗糖和卫矛醇,绝大多数菌株能分解甘露醇,福氏菌1型、6型、 α 变种和 γ 变种及未定型的菌株均有甘露醇阴性变种,其中尤以 γ 变种最多,福氏菌未定型的菌株则全部为甘露醇阴性变种。绝大多数 α 变种能分解鼠李粉,而其他菌型则均不分解鼠李粉,仅福氏菌3型和未定型的菌株能分解木胶粉,余者各型菌株均不分解木胶粉,福氏菌各型对阿拉伯胶粉、麦芽粉呈不规则的分解,鞣基质亦是不规律的产生。无甚鉴别

意义。

鲍氏菌一株的反应与标准菌株的反应无异。

10株宋内氏菌的生化反应情况是均不分解卫矛醇、水胍粉、山梨醇和水相素，全部菌株均能分解阿拉伯胶粉、甘露醇和麦芽粉，全部菌株6—10天内分解乳粉，大多数菌株可分解鼠李粉，少数菌株能分解蔗糖，所有菌株均不产生靛基质。

三、非典型菌株的鉴定：

此次鉴定非典型菌株可分二种类型，一种是在已知的痢疾菌抗血清中凝集，但其生化反应不属典型者，另一种是生化反应符合典型痢菌之反应，但不与现有的痢疾菌属抗血清凝集，其鉴定结果如下：

20株非典型菌株中经初步玻片凝集试验，有7株能与痢疾菌抗血清凝集，其中有3株（青159）与志贺氏菌3型抗血清凝集，3株（青152）与鲍氏菌9型抗血清凝集，1株（青168）与鲍氏菌6型抗血清凝集。青159、青152、青168的生化反应可从表5得知。这些菌株的生化反应，经传代（15代）后，与初分离时都有所不同，青159初分离时，乳粉能迟缓分解，并对所分解之粉类能产酸产气。经传代后则对乳粉变为阴性，青152菌株初分离时对蔗糖不发酵，能分解山梨醇，传代后则能分解蔗糖，而不再分解山梨醇。青168菌株初分离时不分解蔗糖、水相素，传代后则能分解蔗糖、水相素。

青152菌株与鲍氏菌9型作试管凝集试验时，其凝集效价为1:80，仅达到血清效价的八分之一，青168菌株与鲍氏菌抗血清的试管凝集试验效价为1:200，仅相当于血清效价的三十二分之一。从试管凝集试验结果来看，青159具有强烈的志贺氏菌3型的反应，而青152、青168均系交叉汇集反应。因无标准的志贺氏菌3型，鲍氏9型和6型菌株，故未进行交叉吸收凝集

試驗，以进一步加以証实。

表5 7株非典型菌株的生化反应

菌株代号	菌株数	处理方法	葡萄粉	乳粉	麦芽粉	蔗糖粉	水相素	淀粉酶	山梨醇	鼠李粉	木糖粉	卫矛粉	甘露醇	阿拉伯粉	肌醇	靛基质
青159	3	初分离	(+)	(+) _x	(+)	-	-	-	(+) _x	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	√
		傳十五代后	(+)	-	(+)	-	-	-	(+) _x	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-
青152	3	初分离	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+x	-	-	+
		傳十五代后	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+x	-	-
青168	1	初分离	+	+x	+x	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
		傳十五代后	+	+x	+x	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+

血清学鑑定：有159菌株与志賀氏菌3型抗血清试管凝集，試驗效价达1:1280，其凝集价达到抗血清效价(见表6)

表6 3株青159菌株与志賀氏菌3型抗血清试管汇集反应

血清稀釋度 菌种	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	及价 1:1280	抗原对照
青159	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—

关于14株不凝集的而生化反应典型的菌株，其反应大体可分两种类型，一种为甘露醇阴性组，另一种为甘露醇阳性组。多似福氏菌、鲍氏菌类的反应。其中青163菌株生化反应似福氏菌，初分离时曾于福氏菌多价血清中呈依度凝集反应，经数次傳代后即失去对福氏菌多价血清凝集的能力，但经感染家兔眼结膜后，自感染部位分离出之菌株再与福氏菌多价血清作凝集反应时，则又恢复凝集能力，且凝集现象也較明显。

四 致病力試驗：为了研究非典型菌株和少见痢疾菌型的病及性问题，笔者等对于所分离之非典型菌株青159、青152、青

163和少見菌型志賀氏菌7型，进行家兔眼結膜感染試驗，其結果見表7。

試驗結果表明：青159及志賀氏菌7型和對照中的志賀氏菌2型，均于感染24小時后出現典型結膜炎、角膜炎症狀，但其中青159所致症狀較輕些，青163和對照組的福氏菌(X、Y、Jb)均于感染后第四天出現典型結膜炎、角膜炎症狀，其中青163所致症狀亦較輕。至于青152、青168則与對照組中的大腸菌、宋內氏菌、志賀氏菌1型、均于感染后2周內无任何變化。

进行家兔被感染部位的帶菌檢查時，可以看見未引起眼結膜、角膜炎症狀的菌株于48小時即不能再檢查該菌的存在。而引起症狀的菌株則于1周內都能檢查該菌的存在。

討 論

一、本文實驗結果證明青島地區痢疾菌型分佈甚為複雜，痢菌各亞群都有檢查，其中尤以福氏菌及志賀氏菌檢查較多，非典型菌株亦為數不少。在痢疾流行病例中和痢疾散在病例中所檢查菌型比例上的差異反映了不同菌型在流行病學上具有不同的意義。看來似乎志賀氏菌1型在痢疾流行病例中較多發現，此与志賀氏菌1型的生物學特性及毒力是否有着某種關係，尚無定論。上述的觀察是否正確還須更多的實驗資料加以驗證。

关于志賀氏菌在痢疾菌型中所占的比例，由國內各地報到中可以看出近年來已逐漸下降，这其中以志賀氏菌1型最為顯著，但本文實驗結果證明青島地區1961年志賀氏菌所占比例甚高(37.3%)居第二位，而其中主要是志賀氏菌1型，1962年志賀氏菌占比例仍然很高(16.7%)，但其中志賀氏菌1型則顯著地下降，代之升高的是志賀氏菌2型(舒)，同時檢查了志賀氏菌7型即Large Sachs氏菌Q 902型，這一菌型據筆者所見在國內文獻

中很少报导，值得注意的是这些菌株是自一起爆发型痢疾中检出的，在散发性病例中尚未检出这一菌型。故对其在流行病学上的意义应加以注视。

二、非典型痢菌菌株在检出比例上如此之多，令人注意，对这些菌株的来况，生化及血清学特性和致病性等问题本文作了初步探讨。本文所述的非典型痢菌菌株都是我站实验室自疑似痢疾患者大便中检出的。就文中所提出的青159菌株来看该类菌株具有强烈的志贺氏菌3型抗原，但其生化特性与典型志贺氏3型菌株的生化反应则极不相符。而与大肠菌的反应颇相似，考虑大肠菌0124志贺氏菌3型有相同的抗原，青159菌株初认为是大肠菌0124，但用青159菌株感染家兔眼结膜时于24小时后，家兔则发生急性结膜炎和角膜炎的症状。这一试验结果表明青159菌株是具有致病性的，且该菌株经传十五代后即不在分解乳糖。因该菌株是自临床疑似痢疾患者大便中检出的。与痢疾的病理学有极密切的关系，故对该菌株可认为是志贺氏菌3型的生化变种。当然也曾考虑到可能为致病性的0124大肠菌，但国内外学者都曾指出大肠菌是不能引起家兔或豚鼠急性眼结膜，角膜炎的，仅有时能引起轻度的结膜炎，但病程较短。这一结论，笔者在实验中已观察证实。

关于用家兔或豚鼠结膜感染的的方法来区别痢疾菌和非痢疾菌的问题，国内外许多学者早有研究，并已有成果。笔者等用典型痢疾菌株作对照组进行家兔结膜感染时，志贺氏菌1型和宋内氏菌未获得阳性结果，分析其原因，可能系菌种传代次数过多及保存较久之故。Sereny氏曾指出试验时使用大量的细菌及新分离的菌株是产生典型症状的必要条件。Cyrako氏也指出粗糙宋内氏菌及多次传代的福氏菌能丧失引起炎症的能力。

至于青152和青168因不具有对动物的致病性，且与鲍9型

鮑 δ 型抗血清凝集价很低，文献中指出，大腸菌0102和076与鮑氏菌9型、 δ 型，有a、b—c、c的交互凝集关系。故认为青152、青168是不产气的中间大腸埃西氏菌。

四、关于生化典型而不与现有志贺氏菌血清凝集的菌株，国内各地报导甚多，分析这类菌株的本性可能多係福氏菌的抗原性消失变异的菌株。文中提及的青163就是一株抗原性消失变异的福氏菌，这一结论在实验中得以证实。

至于上述不凝集性菌株中有否新的血清出现的问题，尚待将来更多的研究加以证实。进行痢菌动物致病力试验结果表明痢菌在生化及血清学的变异后并不伴有明显的毒力改变，因此尚不能看出生化及抗原性的变异与致病力的强弱有何种关系。所以在检验中，鉴定非典型的菌株是很重要的，尤其是进行必要的致病力鉴定更具有探讨病原学方面的价值。致于非典型菌株在流行病学上的意义有待今后更多的研究资料加以证实。

五、福氏菌中检出的不具群抗原而仅有型抗原的菌株不少，这些菌株可能係群抗原消失变异的菌株。本文述及的福1(I:—)、福3(III:—)、福4(IV:—)、福5(V:—)均是这类菌株。另外，福氏菌中 γ 变种及 α 变种检出比例甚高。Body氏(1938年)等许多学者都认为 γ 或 α 变种均系不同的福氏菌型脱变而来。但是这当中有否新的血清型存在，尚不能作出定论，因笔者未通过交互吸收凝集试验加以证实，这一问题有待进一步加以实验研究。

六、苍蝇在传播痢疾上的作用，早被许多学者所证实。文中所述在流行地区苍蝇体内体外均检出带菌者，且型别与患者大便中检出的菌型相同，即都是志贺氏菌1型。这进一步说明了苍蝇在传播痢菌上的机制，不仅是机械带菌，尚有排菌的可能性。至于痢菌在蝇体内能否繁殖发育及存活期限等问题尚未进一步研究。

痢菌药物敏感试验 (第二部分)

取前述痢菌 155 株进行药物敏感试验，其情况如下：

材料与方 法：

一、药品种类及配制浓度：

氯霉素——1000 微克 / 毫升 (水溶液)

合霉素——1000 微克 / 毫升 (水溶液)

链霉素——1000 微克 / 毫升 (水溶液)

磺胺嘧啶钠——1000 微克 / 毫升 (水溶液)

呋喃西林——1000 微克 / 毫升 (水溶液)

中药中除大蒜外均系称取 10 克加水约 200 毫升，煮沸半至 1 小时，过滤后取滤液蒸发浓缩至 10 毫升，便成 100% 的溶液，大蒜的配制是以不加热为妥则配制时将大蒜去皮，然后用 75% 酒精消毒后。然后放无菌研钵中研磨，加等量的无菌蒸馏水，浸泡一小时后，取此浸液应用。

1. 平板凹孔法：将肉膏营养琼脂平板用直径 6 毫米的打孔器，钻 4—6 个圆孔，然后用无菌手续将溶化的无菌肉膏琼脂滴少许于孔内，使凝固于孔底，此时再用白金耳取 18 时痢菌营养琼脂斜石培养物，均匀涂布于正个凹孔平板表面，然后再将所示药物滴一滴于孔内即可，然后将平皿倒置于 37°C 温箱内培养 18 小时，观察结果。

2. 纸碟法：係常用方法，此处从略。

三、结果判断法：用带毫米的刻度尺量取药物抑菌圈直径毫米数，并记录之，根据抑菌圈大小判断抑菌程度高低，无抑菌圈者即为抗药菌株。

实 验 结 果

由表 8 和图 1 中可看出，抗药素中以氯霉素抑菌率最高，达

98.31%，仅有1.29%的抗药菌株；合霉素仅次于，敏感菌株占98.06%，抗药菌株占1.94%，链霉素抗菌最差，敏感菌株仅占85.15%，有14.85%的菌株抗药。呋喃西林抗菌效果亦很好，敏感菌株占98.06%，抗药菌株仅占1.94%，磺胺嘧啶钠抗菌效果则很差，仅有45.80%的敏感菌株，而抗药菌株竟达54.20%。

由表8中亦可看出痢菌对中药的敏感情况，六种中药中以大蒜抗菌效果最大，且无抗药菌株出现，此外有柯子皮抗菌率达96.77%五倍子抗菌率达91.62%，效果亦较好，其他几种中药抗菌效果则较差。

表9和图2中表明各种药物对敏感菌株抗菌圈大小所占的比例可以看出抗菌作用，最强的要数氯霉素、大蒜和合霉素。抗菌圈大于30毫米以上者氯霉素占47.50%，大蒜和合霉素则占25.02—26.20%。在上述三种药物中，敏感菌株均系高度的敏感。呋喃西林抗菌力亦较好，其抗菌圈直径在25—30毫米之间者占37.20%，且所有敏感菌株对呋喃西林均系中度以上的敏感。磺胺剂链霉素与其他数种中药抗菌力则较差，且抗药菌株较多，尤以磺胺剂最为显著。

摘 要

一、本文报导了青岛市1961—1962年痢疾流行病例和散在性病例中菌型分布的情况，结果表明痢疾流行病例中菌型较单纯，全为志贺氏菌1型。痢疾散在病例中菌型分布则较为复杂，各亚群都有检出，其中尤以福氏菌最多，占50.60—63.40%，志贺氏菌次之，占37.3—46.70%，非典型菌株居第三位，占8.9—12.5%，此外在志贺氏菌中尚检出了国内少见的志贺氏菌7型。

二、非典型菌株中检出了志贺氏菌3型生化变种及福氏菌抗

毒性消失变异的菌株，且证实具有致病性，并初步讨论了非典型菌株的病理学意义。

三、对福氏菌中的血清学变异菌种作了一般的讨论。

四、指出了在流行性痢疾中苍蝇体内均可带菌。

五、155株痢菌药物敏感试验结果表明，以氯霉素、大蒜、合霉素抑菌作用最强，呋喃西林次之，其他如磺胺剂、链霉素、柯子皮、五倍子等抑菌作用则较差，且抗药菌株较多，其中尤以磺胺剂最为显著，抗菌率达54.20%。

参 考 文 献

1. 程知义编著：细菌性痢疾的实验室诊断。
2. P. R. 爱德華著，郝士海等译：腸杆菌科的鑑定 122-161。
3. 黄雄著：家兔眼结膜对痢杆菌的实验性感染和治疗的观察，微生物学报 8(2) 1960。
4. 谢少文辑：医学微生物学的进展 104-105。

表 3.

70 株 A 群志贺氏菌生化反应情况

菌株来源及型别	生化种类		菌株数	反应情况	葡萄糖	乳糖	甘露醇	水杨素	山梨醇	鼠李粉	水胶粉	卫矛醇	阿拉伯	散基质
	+	-												
流行性痢疾志贺氏菌 1 型	27		27		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
散在性痢疾志贺氏菌 1 型	25		25		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
散在性痢疾志贺氏菌 2 型	15		15		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
爆发型痢疾病例志贺氏菌 7 型	3		3		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-

