

260127

沙门氏菌及其实验室诊断

李 福 田 編 著
葛 世 义 校 阅



开封市医学科学研究所

社会、祖国、生活、科学、技术、知识、力量。有它，就能对四个现代化做出贡献。

在党的三中全会精神鼓舞下，近年来我国对沙门氏菌调查和研究工作，取得了令人可喜的成就。李福田主管技师，多年从微生物检验工作和科研工作，在沙门氏菌检验和鉴定方面，积累了一定实践经验。他在1978、1979年先后在开封市分离出两株沙门氏菌，在有关兄弟单位协助下，确定为沙门氏菌国际新菌型。这标志着我国对沙门氏菌的调查和研究工作达到了新的水平。

《沙门氏菌及其实验诊断》一书，系作者根据多年从事微生物检验和科研实践经验，参考国内外有关文献及自己的资料在业余时间撰写而成的。本书比较全面地介绍了沙门氏菌的有关知识，包括肠杆菌科与沙门氏菌的分类，沙门氏菌的基本知识，分离和鉴定，抗原分析与新菌种、疑难菌种处理方法，培养基等。我相信这样一本内容比较丰富实用，理论联系实际的书，不仅对卫生防疫、食品卫生、环境卫生、商品检验、细菌教学和科研工作者会有参考价值，而且在对外交流工作上，维护我国声誉也有着其重要政治意义。

我以先睹为快，觉得他完成了一件有意义的工作。故愿意向读者推荐。

开封市医学科学研究所 葛世义

一九八二年五月一日于开封

内 容 简 要

导 言.....	(1)
第一章 肠杆菌科及沙门氏菌的分类方法.....	(3)
(1) 细菌分类和命名的准则.....	(3)
(2) 肠杆菌科的定义.....	(5)
(3) 肠杆菌科的分类及鉴定概要.....	(8)
(4) 肠杆菌科各菌属的鉴定概况.....	(12)
艾希氏菌族.....	(13)
志贺氏菌属.....	(13)
艾希氏菌属.....	(15)
枸橼酸杆菌属.....	(17)
克雷伯氏菌族.....	(18)
克雷伯氏菌属.....	(18)
肠杆菌属.....	(20)
沙雷氏菌属.....	(20)
变形杆菌族.....	(21)
关于爱德华氏菌属.....	(24)
关于李文氏菌属.....	(25)
(3) 沙门氏菌的分类现状:	(25)
第二章 沙门氏菌的基本知识:	(29)
(1) 定义:	(29)
(2) 培养特性.....	(33)

(3)	生化特性·····	(33)
	生化学鉴别试验的理论基础·····	(33)
	生化学反应·····	(42)
	关于生化非典型菌株·····	(53)
	关于沙门氏菌出现生化不典型的原因。···	(60)
(4)	沙门氏菌的抗原特性·····	(61)
	O抗原的特性和变异·····	(61)
	H抗原的特性和变异·····	(84)
	K抗原的特性和变异·····	(93)
	M抗原·····	(94)
	T抗原·····	(95)
第三章	沙门氏菌的分离和鉴定·····	(97)
(1)	标本的采集·····	(97)
(2)	增 菌·····	(99)
(3)	增菌的时间和温 度·····	(104)
(4)	分离与菌落挑 选·····	(106)
(5)	生化学的初步 筛选·····	(108)
(6)	全生化学 鉴定·····	(112)
(7)	微量生化学 鉴定·····	(114)
(8)	血清学鉴定及菌型诊 断·····	(115)
(9)	荧光抗体检查沙门氏 菌·····	(121)
(10)	培养基及生化学鉴定的观察方 法·····	(125)
第四章	沙门氏菌血清学技术及疑难菌株的处理·····	(148)
	抗原分析·····	(148)
	O多价血清的组合·····	(162)
	H多价血清的组合·····	(166)

O 单子血清和H 单大子血清的组合设计···	(170)
菌型鉴定中几种疑难情况的处理·····	(231)
附录(一)16412株沙门氏菌分型结果·····	(240)
附录(二)氯化镁—孔雀绿培养基对沙门氏菌增菌	
效果的观察 (1979)·····	(251)
附录(三)沙门氏菌增菌血清学的应用	
(1982)·····	(258)
附录(四)K.S培养基对沙门氏菌分离效果的观察	
(1981)·····	(265)
附录(五)四种培养基对沙门氏菌分离效果的比较	
(1982)·····	(275)
附录(六)沙门氏菌的一个新菌型~开封沙门氏菌	
(S.kaufeng) (1980)·····	(288)
附录(七)一株沙门氏菌的新菌型~龙亭沙门氏菌	
(S.longting)的鉴定报告 (1980)·····	(294)
编后·····	(300)

导 言

沙门氏菌是肠杆菌科中的一个重要的菌属，它是一大群在形态、生化学及血清学相关的细菌。此类细菌菌型颇多，广泛存在于自然界中，沙门氏菌引起的伤寒和付伤寒是我国常见的多发病，其危害性已被人们所共知。细菌性食物中毒的病原菌，大多数为沙门氏菌。所以，沙门氏菌对于食品卫生管理有着重要的意义。由于该菌属可以引起在动物间流行，它与家畜、家禽的饲养管理也有着密切的关系。随着我国社会主义事业的发展，对外贸易不断地增大，而进口国家对于食品中要求检查沙门氏菌，这对于外贸工作维护我国声誉有更直接的联系。因此，沙门氏菌是在多方面值得研究的一个菌属。

沙门氏菌是1885年Salmon与Smith二氏分得猪霍乱杆菌(*S. cholera*——*Suis*)，并认为是猪霍乱的病原菌，此菌为沙门氏菌的最早发现菌。

1888年Garther氏在德国居民食物中毒病死者脾脏中分得肠炎杆菌(*S. Enteritidis*)。

1892年Eoffcer氏于小鼠伤寒状疾病分得鼠伤寒杆菌(*S. typhi*——*murium*)

1896年Gwyn氏，1900~1901年Schottmüller氏，1902年Brion与Kayser二氏于人体肠热症分得甲型付伤寒杆菌(*S. paratyphi A*)，1896年Achard与Bensaub二氏1900~

1901年、Schoettmüller氏于人体肠热症分得乙型付伤寒杆菌(S. paratyphi B)，1911年Hirschfeld氏分得丙型付伤寒杆菌(S. paratyphi C)。

1900年Aignieres氏为了对E. Salmon氏的崇敬，将这类细菌命名为沙门氏菌(Salmonella见沙门氏菌小组委员会1934年报告)，依照国际命名规则优先权的规定，这个菌属已被国际间协议采纳，并自1933年普遍使用，任何立法团体不得加以更变。

1880年Eberth氏所发现的伤寒杆菌(S. typhosa)也归入沙门氏菌属。

半个多世纪以来，国外学者对于沙门氏菌的分类学、生物学特性、血清学以及抗原结构的分析，进行了大量的研究工作。1929年英国学者怀特(White)氏以鞭毛抗原分析为基础发表了沙门氏菌抗原组成表。相继德国学者考夫曼(Kauffmann)氏1931年以菌体抗原为基础发表了他归纳的抗原表。

1933年国际沙门氏菌小组委员会成立。1934年根据Kauffmann氏与White氏的协议，发表了Kauffmann—White抗原表(考夫曼—怀特抗原表)，最初确认的沙门氏菌共计有44个血清型、变异性和生化型。国际沙门氏菌小组委员会并规定，新发现的菌体抗原从11开始，鞭毛抗原从Z₁开始排列。之后菌型不断增加，1941年Kauffmann氏列出了104个血清型和生化型。1951年有211个血清型和生化型。1954年达309个型，1961年达659个型，1966年的K—W诊断抗原表中列出了962个血清型，到1978年底被国际公认的沙门氏菌共有2300余个种或菌型(包括血清型、生化型和变种)。

我国对于沙门氏菌的调查和科研工作，解放前由于旧社

会的反动统治，从不把科学工作放在重要的位置，因此对此工作只是个别人从事点零星工作。解放后，在共产党和毛主席的领导下，在50~60年代我国的沙门氏菌的调查及科研工作已经开展、配合了防病灭病、对外贸易以及食品卫生管理，在这些方面我国的水平与国外先进水平相比差距并不太大。但是前些年确停顿了，存在着调查和科研工作开展的单位甚少，专业人员对沙门氏菌的分离和鉴定技术不普及。生产诊断用品的各生物制品研究单位与使用单位存在一定的相脱节。最近几年我国组成了全国沙门氏菌菌型调查及选种工作协作组，参加的单位三十余个，协作单位在协作组（区）的统一安排下，做了大量的工作，已取得可喜的成果。作者深信，我国的沙门氏菌科研水平，在不太长的时间中，将会赶上或超过世界先进水平。

第一章 肠杆菌科的分類 及沙门氏菌分類方法

1、细菌分类和命名的准则：

肠杆菌科和沙门氏菌的分类在国际上由于对种的概念不同，形成了分歧，目前仍未趋向统一，为了正确掌握分类以便提供细菌鉴定依据，现将细菌分类和命名的准则介绍如下：

各类细菌的分类是按细菌的形态、染色、动力、发酵及其他生化反应、化学组成及DNA的类似型血清学反应、代谢产物、噬菌体，致病性以及临床特性、流性病学特点等

等为依据进行分类的。目前肠杆菌科的各菌属主要是根据生化反应及血清学特征而分类的。

分类和命名是分类的两个方面。正确、科学地命名有赖于合理的分类，只有合理的分类，才有取得合理的命名。因此，分类是命名的前提，它在分类学中起着主导作用，而命名则居于次要从属地位。命名只不过是指出人们公认的标记。

目前国际上对于细菌的分类基本上是按照动植物规约，分类系统是垂直的。即界、门、纲、目、科、属、种。种是最低的分类单位(taxon)，在种还可以有亚单位。近年来对于沙门氏菌的分类，尤其是怎样分到种一级，国际分歧意见颇大，Kaufmann氏根据他自己对种提出了一个理论(现实学说)并就细菌学命名规约作出了以下10条新的简化指导原则：

(1)细菌学规约是独立于植物学规约、动物学规约和病毒学规约的一种规约，它适用于细菌。

(2)科学命名的目的是取得永久的名称，应避免或划去引起谬误和混淆的命名。

(3)命名的目的不在于表达细菌的特征，而在于有一个指标的方法。

(4)作为指标的方法，不仅要有名称，而且允许用字母、数字、抗原式或其它代号。

(5)没有重大理由，名称或记号不应更改。

(6)先取权的日期为1900年。

(7)种只应用科学的命子来称号，但也要有一个确实的血清学诊断。

(8)文献中所用的种名，大多数应予划去，因为这些名称只是根据生化反应(发酵反应)来定的。这适用于例如

Bergey氏手册中大多数的名称，而这些名称，或者是一些不习见的种的生化型，或者是一些不习见的亚属生化型。

(9) “命名规则即不决定分类单位的划分，又不决定其间的相互关系，规则也限制分类的自由，其主要作用在于保证对分类单位命名的正确性。”(国际细菌学规约)

(10) 命名应符合基于现实的现代分类，因为种是存在自然界的唯一类别，并且总的分类不是垂直的，而是横向定位的。

2、肠杆菌科的定义：

如何给肠杆菌科一个较为确切的定义，这也是一个逐步认识的过程。

早在1948年，Beigey鉴定细菌学手册中曾给予肠杆菌科一个定义，这个定义归纳起来可分为下述五条：

- 1、革兰氏阳性无芽胞杆菌。
- 2、具有周鞭毛或无鞭毛。
- 3、在普通培养上生长。
- 4、能还原硝酸盐为亚硝酸盐。
- 5、分解葡萄糖产酸产气。

此定义曾被沿用了很久，在Kauffmann氏所著的“肠杆菌科”(1954)和Edwards和Ewing二氏所著的“肠杆菌科鉴定”(1955)及1958年肠杆菌科小组委员会的报告均采用了此定义。

这个定义并不十分严密，因为真细菌目中的无色杆菌科也是革兰氏阴性无芽胞杆菌，具有周鞭毛或无鞭毛，能在普通培养基上生长。它们有的能还原硝酸盐为亚硝酸盐，有的不能。有的分解葡萄糖产酸但不产气，有的不分解糖类。因

此，利用这个定义无色杆菌科和肠杆菌科无明显区分。

...随着人们对细菌认识的不断深入，在细菌学检验中先后出现了下述两种试验方法。

1、Hwgeil: R和Leiliono、E氏(1953)提出了检查细菌对糖类的分解是发酵反应还是氧化反应的试验。这种方法可将细菌对糖类的分解情况分为三个型。即氧化型、发酵型和产碱型。

具体方法如下:

培养基:	蛋白胨	2克
	NaCl	5克
	磷酸氢二钾	0.3克
	琼脂	3克
	1% B.T.B溶液	3毫升
	蒸馏水	1000毫升
	调PH到7.1	

将上述基础液分装于发酵管中，每管3~4毫升，121℃蒸气灭菌15分钟，然后每管中加入除菌过滤的10%葡萄糖，使其最终浓度为1%。

试验方法：每个培养物接种两管，其中一管加入一层(10毫米)灭菌凡士林或液体石蜡，37℃培育每天观察，共4天。

结果：糖分解类型：

未封口	封口	糖分解类型
产酸	—	氧化型
—	产酸	发酵型
—	—	产碱型

2、Kovals氏(1956)提出了一种测定细菌氧化酶(细菌色素氧化酶)的试验方法,利用这种方法,可将氧化酶阴性和阳性的细菌分开,具体作法如下:

将1%二甲基对苯酚二胺(Dimethyl—P—Phenylene—diamine)水溶液(保存于茶色瓶中)滴在一张洁净的平皿中心的滤纸上,使滤纸刚好湿润,将18—24h斜面培养物用白金耳或玻棒取少许菌苔涂抹于湿润的纸上。在10分钟内菌苔或其边缘呈红色为阳性,30分钟内呈红色为弱阳性。不出现或30分钟后出现为阴性。

注意:

- ① 滤纸不要过湿,否则易出现假阳性。
- ② 不要用镍、铬、铁丝挑取菌苔,否则易出现假阳性。
- ③ 以新配管的溶液为宜,如冰箱保存不易超过三周。

常见革兰氏阴性杆菌在普通培养基上的生长情况及对上述两种试验结果的区分如下:

常见革兰氏阴性杆菌检索表

菌 科	普通培养基生长情况	氧化酶试验	糖分解类型
假单胞菌科	生长良好	+	氧化型或产碱型
弧菌科	‘	+	发酵型
无色杆菌科	‘	-	氧化型或产碱型
肠杆菌科	‘	-	发酵型
布氏杆菌科	生长不良或不生长	通常+	

鉴于上述情况,1962年肠杆菌科小组委员会对原定义重新作了修改,新定义的内容可归纳如下六条:

- 1、革兰氏阴性无芽胞杆菌。
- 2、具有周鞭毛或无鞭毛。
- 3、在普通培养基上生长。
- 4、还原硝酸盐为亚硝酸盐。
- 5、分解糖类系发酵反应。
- 6、氧化酶试验阴性。

此定义在Kauffmann氏的“肠杆菌科细菌学”(1966)，Ewing和Edwards二氏的“肠杆菌科鉴定”(1972)和Bergey“鉴定细菌学手册”中(1974)均已采用。

3、肠杆菌科的分类及鉴定概要：

目前采用的肠杆菌科的分类原则是国际微生物学会命名委员会肠杆菌科小组委员会于1950年在里约热内卢会议上决定的。把生化学特性上相关的菌株组成许多中心称为群(group)，这些群中可分若干亚群(Subgroup)和有别O、k和H抗原的型(trpe)或直接分为许多型。

3—1，在1950年将肠杆菌科分为9个菌群：

沙门氏菌群 (Salmonella)

亚利桑那菌群 (Arizona)

巴勒鲁普—比塞斯达菌群 (Ballera—Bathesda)

艾希氏菌群 (Escherichia)

志贺氏菌群 (Shigella)

发碱—殊异菌群 (Alcaeescens—Dispar)

克雷伯氏菌群 (Klebsiella)

变形杆菌群 (Proteus)

普罗菲登斯菌群 (Providencia)

同时也提高到了沙雷氏菌 (Serratia) 和欧文氏 (Erw

nia) 菌。

3—2, 1963年肠杆菌科小组委员会的报告将肠杆菌科分为10个菌群:

沙门氏菌群 (Salmonella)

亚利桑那菌群 (Arizona)

枸橼酸杆菌群 (Citrobacter)

志贺氏菌群 (Shigella)

艾希氏菌群 (Escherichia)

克雷伯氏菌群 (Klebsiella)

肠杆菌群 (Enterobacter)

哈夫尼亚菌群 (Hafnia)

沙雷氏菌群 (Serratia)

变形杆菌——普罗非登氏菌群 (Proteus—Providencia)

此菌群分为4个亚群

变形杆菌 (Proteus)

摩根氏菌 (Morganella)

雷极氏菌 (Rettgera)

普罗非登斯菌 (Providencia)

3—3、近年来对肠杆菌科Kauffmann氏(1955、1966) Ewing氏和Edwards氏(1960、1972)都提出了个人的分类, 现将他们的分类列表如下:

肠杆菌科分类(Kauffmann 1966,1972)

族	属
A、艾希氏菌族	1、艾希氏菌属 2、志贺氏菌属 3、沙门氏菌属 4、枸橼酸杆菌属
B、克雷伯氏菌族	1、克雷伯氏菌属 2、肠杆菌属 3、哈夫尼亚菌属 4、沙雷氏菌属
C、变形杆菌族	1、变形杆菌属 2、摩根氏菌属 3、雷极氏菌属 4、普罗非登斯菌属

注1、按Kauffmann氏的分类，亚利桑那菌为沙门氏菌属的亚属Ⅲ。

2、Ewing氏等(1965)报道的爱德华菌属应归为艾希氏菌族。

Edwards和Ewing二氏(1972)将肠杆菌科分为五个菌

族，即：艾希氏菌族、爱德华菌族、沙门氏菌族、克雷伯氏菌族和变形杆菌族。各菌族所包含的菌属如表。

肠杆菌科分类(Edwards和Ewing 1972年)

菌 族	菌 属
艾希氏菌族	艾希氏菌属
	志贺氏菌属
爱德华菌族	爱德华菌属
沙门氏菌族	沙门氏菌属、亚利桑那菌属、枸橼酸杆菌属
克雷伯氏菌族	克雷伯氏菌属
	肠杆菌属(阴沟杆菌、气杆菌、哈夫尼亚、液化肠杆菌)、果胶菌属、沙雷氏菌属
变形杆菌族	变形杆菌属、普罗菲登斯菌属

1973年Ewing氏在“肠杆菌科生化反应的鉴别”一书中，根据Tennor氏等的建议和液化肠杆菌的生化特性，将该菌归入沙雷氏菌属，并名之为溶化沙雷氏菌，并在肠杆菌属内增加了一个新的菌聚集肠杆菌(*Enterobacter agglomerans*)，同时提出沙雷氏菌属应包括粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)，液化沙雷氏菌(*Serratia liquefaciens*)和红色沙雷氏菌(*Serratia rubidaea*)并重新将欧文氏菌归入肠杆菌科名之为欧文氏菌族(*Erwinia*)，该菌族除包含欧文氏菌属(*Erwinia*)外，并根据桌

胶菌属和欧文氏菌属的DNA关系密切，因而从克雷伯氏菌族中去掉而归入欧文氏菌族。

另外，1974年Bergey“鉴定细菌学手册”第八版也提出了肠杆菌科分类，其中族和属的划分基本类似于Kauffman氏的分类，现引述如下：

肠杆菌科分类（Bergey鉴定细菌学手册 1974）

菌 族	菌 属
艾希氏菌族	艾希氏菌属、志贺氏菌属、沙门氏菌属、枸橼酸杆菌属、爱德华菌属
克雷伯氏菌族	克雷伯氏菌属、肠杆菌属、哈夫尼亚菌属、沙雷氏菌属
欧文氏菌族	欧文氏菌属
耶尔辛氏菌族	耶尔辛氏菌属
变形杆菌族	变形杆菌属

前面已经提到，肠杆菌科小组委员会对族属的划分和种的定义至今未取得一致的意见，致使对本菌科的分类和命名也出现一些分歧。下面就各菌属简单情况及分争之点略加引述。

4、肠杆菌科各菌属的鉴定概况：

为了使介绍系统化，本书着重以Kauffmann氏的分类意见作描述。