

螢光血清在伤寒菌及痢疾菌 診斷上的应用

И. Ф. 米哈依洛夫 李 俐

I. 前 言

螢光血清的方法是微生物学和免疫学中最新的实验方法之一，最初由 Coons, Greech, Jones, Kaplan^(1,2) 提出的。螢光血清方法除具有形态学的特点之外，还具有高度的免疫反应的特异性及螢光分析的敏感性，因此能广泛的用于解决科学研究以及化驗室检查工作中的很多問題。最近，很多学者以这一方法进行了很多研究工作，扩大了螢光血清使用的可能性。使用这个方法在較短時間內于螢光显微镜下观察各种标本，可見到发光的螢光抗体吸

附在相应的抗原上。

螢光血清方法現在已成功的应用在解决免疫理論方面的某些爭論的問題，以及用于研究某些疾病的发病机制。最近的研究証明，此法亦可用来检查病毒^(3,4,5,6)、細菌^(8,9,10,11,12) 和原虫。此外，螢光血清在化驗室实际工作方面也可以用于許多病原菌的早期診斷^(7,8,10,11,12)。

本文目的在于探討螢光血清在伤寒菌及痢疾菌診斷上的使用問題。

II. 材料 与 方法

在我們的試驗里使用的是結合有 Isocyanat-fluorescein 的免疫血清。用伤寒菌及福氏二型痢疾菌按下表的次序給兩組家兔作了免疫措施。

注射抗原次数	間隔時間	抗原种类	1 ml 中的 抗原浓度	抗 原 量 毫升(ml)	注射 部位
I	5 天	加热抗原	10 亿	1.0 毫升	皮 下
II	5 天	加热抗原	10 亿	0.5 毫升	靜脉內
III	5 天	活菌	10 亿	0.2 毫升	靜脉內
IV	5 天	活菌	10 亿	0.5 毫升	靜脉內
V	5 天	活菌	10 亿	1.0 毫升	靜脉內
VI	5 天	活菌	10 亿	2.0 毫升	靜脉內

最后一次注射后 7—10 天，将所有家兔全抽血。所得血清之凝集价为 1:25,000—1:50,000。从免疫血清中制取球蛋白的

方法，是用半飽和的硫酸銨溶液，在 2—4 °C 下，讓球蛋白沉淀 2 次。將沉淀物溶解在等于原血清量 $\frac{1}{10}$ 的生理盐水中，然后用透析膜进行透析；透析膜外是 0.85% 生理盐水。用 Neisler 指示剂检查硫酸銨 (NH₄ 游子) 是否透析干淨。制成的伤寒血清球蛋白每毫升中含 8.36 毫克蛋白，痢疾血清球蛋白含 10.05 毫克。为检查原血清及球蛋白是否与其他菌发生交叉凝集，將血清和球蛋白由 1:20 起作不同的稀释，用于下列細菌：大腸菌、副大腸菌、普通变形菌、福氏三型痢疾菌、志賀氏痢疾菌、金黄色葡萄状球菌进行了凝集試驗。

伤寒血清及其球蛋白 (1:80—1:100)

除葡萄球菌外，不凝集上列所試驗的各种細菌。痢疾血清稀釋 1:400 可凝集福氏三型及志賀氏痢疾菌。

螢光色素 (Isocyanat-fluorescein) 是由黃衡祿教授及李汝宜同志按 Coons 和 Kaplan 的方法合成的。吳蔚副教授與黃耀煌同志按上述兩者的方法，將球蛋白與螢光色素結合在一起。未結合的 Isocyanat-fluorescein 及 amino-fluorescein 用透析方法完全去掉。透析是用緩沖生理鹽水 (pH8.2) 在 2—4°C 下進行 4 天，直到周圍溶液在紫外綫照射下不發螢光為止。

與球蛋白結合的 Isocyanat-fluorescein 量是用光电比色計測定的。1 毫克傷寒蛋白結合有 5.5% Isocyanat-fluorescein，其凝集效價是 1:1,600；1 毫克痢疾球蛋白結合有 3.7%，其凝集效價是 1:1,280。

III. 实 驗

1. 用螢光血清进行細菌染色的方法

對傷寒和痢疾純菌液以及與大腸菌的混合菌液進行了染色。從琼脂表面（培養一晝夜）用生理鹽水把細菌洗下，而後以每分鐘 3,500 轉的速度离心沉淀 20 分鐘。向离心沉淀物中加一滴水稀釋的血清，然後置于 37°C 溫箱中 15 分鐘。此後將沉淀物用生理鹽水洗 3 次，把未結合的螢光血清清除淨。最後一次洗完的上清液，在紫外綫照射下不發螢光才可。經相應的螢光血清染色後的傷寒和痢疾菌沉淀物，呈黃色，而大腸菌呈白色。用鹽水在玻片上把細菌沉淀物作成混懸液，上面放一復蓋玻片。為了工作方便及標本的保存，將復蓋玻片周圍用石蜡封好。這樣，在玻片上的細菌呈凝集塊。為了便於觀察結果，把經

檢查螢光血清的特異性時，未發現非特異性染色的現象，因此未用吸附物處理血清。

我們使用的螢光顯微鏡是 Reichert 牌的，光源是 80W 的 Philips 水銀石英燈泡。試驗過程中使用了紫外綫和藍色光綫。用藍色光綫鏡檢時，使用 CC-8 藍色玻璃濾光板，在目鏡上放一相應的黃色濾光板。為了增強標本發光強度，我們除用由標本下面反射上來的藍色光綫外，同時也使用了通過 (Опак-иллюминатор) 由側方折射來的藍色光綫照射標本。由側方折射的光源是 6V5A 照明用燈泡。照象是用 35mm 全色底片 (180ГОСТ)。

整個研究工作和標本攝影是用螢光顯微鏡和比相顯微鏡同時進行的。

為了闡明我們製取的螢光血清對傷寒及痢疾菌有特異性染色，以及在這兩種細菌診斷上的應用，進行了下列研究。

傷寒和痢疾血清處理後的大腸菌洗過之後，再用一滴稀釋的大腸菌血清處理。此時大腸菌在標本中也呈凝集塊狀。在螢光顯微鏡下觀察時，傷寒和痢疾菌凝集塊發出明顯的黃綠色螢光，而大腸菌凝集塊僅有微弱的灰藍色螢光；特別是以上述方法作成的傷寒菌與大腸菌，或痢疾菌與大腸菌的混合標本，螢光強度的差別看得更為清楚。這一點本文中的照片可以証實。第一張照片中可見到傷寒菌凝集塊有明顯的螢光，而大腸菌凝集塊的螢光很弱。第二、三張照片是傷寒菌凝集塊與大腸菌混合製成的標本；第四、五張照片是痢疾菌凝集塊與大腸菌混合製成的標本，照片是分別在螢光顯微鏡及比相顯微鏡下攝成的。從這裡能更明顯地看出特異性染色的



图 1 伤寒菌及大腸菌凝集块用伤寒螢光血清染色后,伤寒菌发出明显螢光;大腸菌凝集块的螢光甚弱(即图下方之灰暗部分)(90×5)



图 2 有明显螢光的伤寒菌凝集块和大腸菌(螢光显微镜, 90×5)



图 3 伤寒菌凝集块及大腸菌(比相显微镜, 90×5 , 与上图对照)

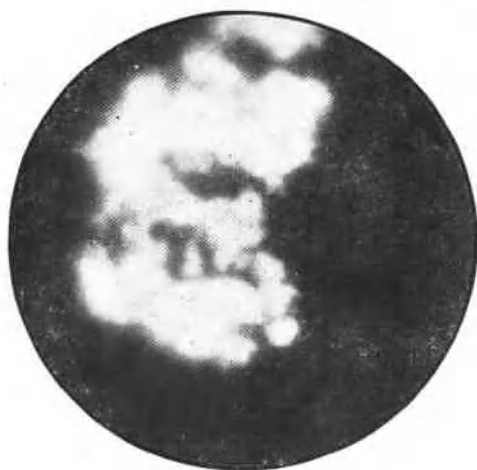


图 4 有明显荧光的痢疾菌凝集块和大腸菌(螢光顯微鏡, 90×5)

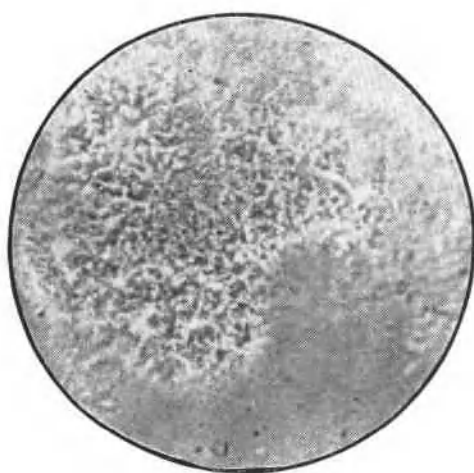


图 5 痢疾菌凝集块和大腸菌(比相顯微鏡, 90×5 , 与上图相对照)

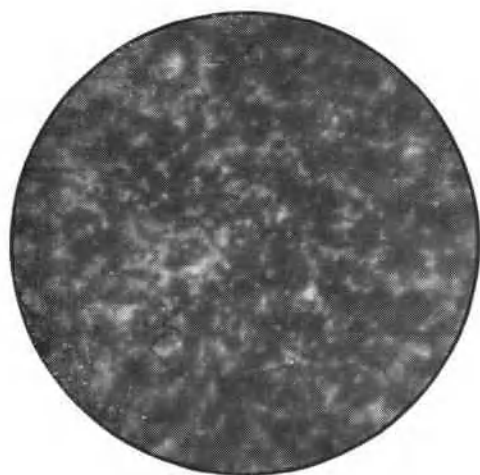


图 6 用伤寒螢光血清染色的伤寒菌涂片(螢光顯微鏡, 90×5)

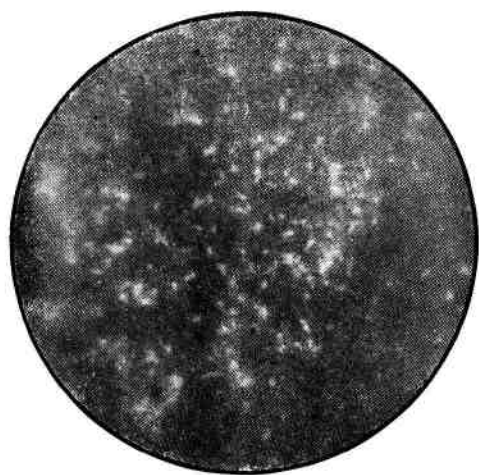


图7 用痢疾螢光血清染色的痢疾菌塗片
(螢光显微镜, 90×5)

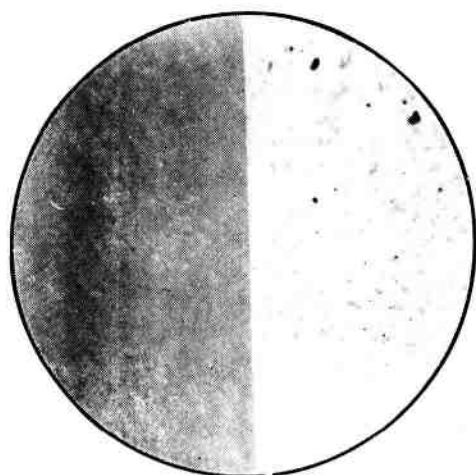


图8 用伤寒螢光血清染色的大腸菌塗片
(90×5)

左: 螢光显微镜下摄影
右: 比相显微镜下摄影

左 右

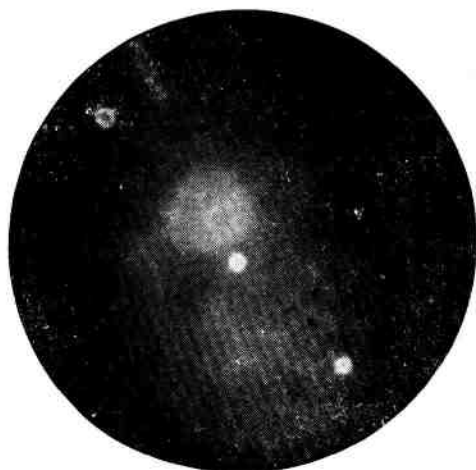


图9 在滤膜上培养7小时的伤寒菌及大腸菌菌落, 用伤寒螢光染色后, 伤寒菌落发出明显的螢光, 而大腸菌螢光甚弱(螢光显微镜, 20×5)

差別。被檢菌液濃度大時，可見到大片的凝集塊。隨着菌液的稀釋，細菌凝集塊變小，而且數量也減少。菌液高倍稀釋之後，在視野里只能見到發螢光的單個菌體。因此，我們也研究了在玻片上以各種方法固定的細菌塗片用螢光血清染色單個細菌的問題。

2. 以螢光血清對細菌塗片染色的方法

塗片是用培養一晝夜的傷寒菌、福氏二型痢疾菌和大腸菌制成的；並對這些細菌的不同菌株進行了研究。用甲醇、乙醇和加熱三種方法固定。用任何一種方法固定，經相應的螢光血清染色，均可見到特异性染色。因此，在我們的實驗中採用了簡單加熱的固定。染色的方法是：在固定後經水洗又行乾燥的塗片上，加一滴螢光血清，將此塗片放在平皿內；為防止乾燥，在平皿內放置含水的棉花塊。染色時間長短不一（1，5，15，30分鐘和一小時）。染色之後，用緩衝生理鹽水（pH8.2）洗淨未結合的血清。塗片乾燥後，滴一滴含9份甘油1份緩衝生理鹽水（pH8.2）的液體。然後加蓋復蓋玻璃，並用石蠟封好。

染色時間雖長短不一，但細菌着色程度大體相同；以後我們所採用的染色時間均為5分鐘。此外我們觀察了不同稀釋度的螢光血清使細菌着色的程度，其結果如下所示。

菌種	血 清	以不同稀釋度螢光血清 染色後細菌發光程度				
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
傷寒菌	傷寒螢光血清	卅	卅	卅	+	+
大腸菌	傷寒螢光血清	—	—	—	—	—
痢疾菌	痢疾螢光血清	卅	卅	卅	+	+
大腸菌	痢疾螢光血清	—	—	—	—	—

在我們的實驗中，是用不稀釋的螢光血清染色的。對傷寒、痢疾的純菌塗片及

其與大腸菌的混合塗片進行染色，在螢光顯微鏡下觀察（40×5和90×5），可見到傷寒菌和痢疾菌發出明顯的螢光，而大腸菌則看不出。

上述實驗說明，這個方法可以用在各種檢查材料制成的塗片上，直接鑑定傷寒菌和痢疾菌。以低倍鏡觀察時也有一定優點，可在較大視野里看到發螢光的細菌。

我們也曾作過試驗，將吸附於紅血球上的傷寒與痢疾菌半抗原用螢光血清染色，但未得出一定結果。用螢光血清處理吸附在O型人血球上的半抗原，在顯微鏡下觀察時，紅血球發出極微弱的螢光；而且只在吸附大量半抗原時才有這種螢光。

3. 用螢光血清對培養在火棉膠濾膜上的幼小菌落進行染色的方法

用螢光血清直接染細菌標本，只能使我們得到被檢材料中有無相應細菌的初步概念；細菌的最後鑑定還須要作純菌分離，並研究其各種特性（形態、生化、血清學特性）。在鑑別培養基上，要經14—24小時方可看到可疑菌落；再將可疑菌落接種於糖酸發酵管和各種鑑別用多糖培養基時，不可避免地總有一部分細菌被丟失。用這種方法分離純菌是較繁複的。使用螢光血清對培養在濾膜上的細菌進行染色，一方面可得出初步結論，另一方面可簡化手續，且縮短分離純菌的時間。染色方法如下：

將傷寒菌和大腸菌（每毫升含1,000個菌體）的混合菌液，用№3火棉膠濾膜過濾。把膜放在肉湯瓊脂平皿上培養，在瓊脂表面上加1毫升含1%葡萄糖肉湯。培養6，7，8小時後，將濾膜取下，放在37°C溫箱內烤干。用1滴未稀釋的血清，將濾膜染2—3分鐘，然後把濾膜放在蔡氏濾器上，用100毫升無菌緩衝鹽水（pH8.2）沖洗。這樣，螢光血清吸附在傷寒

菌菌落上，而大腸菌菌落上的血清被洗掉；部分血清吸附在滤膜上。滤膜干燥后，用无螢光的鏡油或甘油使滤膜变为透明，在显微镜下（ 10×5 ， 20×5 ）观察菌落。由于滤膜本身也发螢光，因此观察小菌落有困难。为了克服这一缺点，可将已经螢光血清染色处理过的滤膜，放在含有

1:4,000美兰溶液的琼脂平皿上再次染色，则滤膜上的螢光就可去掉。在鏡下观察时，生长7小时的菌落看得最清楚。在暗底里可見到中心稍暗周围很亮的伤寒菌落，而大腸菌落較大且光暗。螢光血清染色并不影响細菌的生长，因此可以从菌落采菌，进行純菌分离和鉴定。

IV. 結 論

上述材料証明，螢光血清法，給腸道細菌化驗室诊断提出了一个新的方法。此方法可对被检材料中的細菌，用直接染色

进行快速诊断；同时也能縮短分离純菌和鉴定的時間。

參 考 文 獻

- (1) Coons, A. H. Grech, H. J., Jones, R. N.: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 47: 200—202, 1947.
- (2) Coons, A. H., Kaplan, M. H.: *J. Exp. Med.*, 91: 1—13, 1950.
- (3) Watson, P. K.: *J. Exp. Med.*, 96: 653—663, 1952.
- (4) Watson, B. K., Coons, A. H.: *J. Exp. Med.*, 99: 419—428, 1954.
- (5) Liu Chien: *J. Exp. Med.*, 101: (6) 665—686, 1955.
- (6) Hobson, P. N., Mackay S. M., Mann S. O.: *Research*, (6): 8, 1955.
- (7) Liu Chien: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 92: (4) 883—887, 1958.
- (8) Tomason, B. H., Moody, M. D., Coldman, M.: *J. Bact.* 74: (4) 525—532, 1957.
- (9) Silverstein, A. H.: *J. Histochem. and Cytochem.* 5: (1) 94—95, 1957.
- (10) Дашкевич, И. О. и Михайлов, И. Ф.: *Ж.М. Э. И.* (6) 66-72, 1957.
- (11) Кабанова, Е. А. и Глубокина, А. И.: *Ж.М. Э. И.* (1) 5-8, 1958.
- (12) Левина Е. Н.: *Ж. М. Э. И.* (1) 9-15, 1958.

（本文曾載“軍事医学杂志”第1卷第2期，1958）

部队中沙門氏菌型的分布

程知义 王 琪* 陈瑾亚** 张存山*** 郭从厚****

自从 1885 年 Solmon 氏和 Smith 氏⁽¹⁾ 由猪霍乱病分离出第一株沙門氏菌以后,

表1 国内沙門氏菌型分布情况

菌型	报告者 地点 菌株数	上海巴斯德	张湘云等	Fournier J. 等	周斌等	防疫站 上海市卫生	刘秉揚	郝士海等	郝士海等	滨野滿雄	王金城	陸頌慈等	方景灿等	濱野滿雄 华中北东	廖子哲	富仁寿等	濱野滿雄	共計
		上海 (10)	上海 (9)	上海 (11)	上海 (16)	上海 (15)	北京 (8)	北京 (17)	北京 (18)	东北 (13)	东北 (12)	东北 (14)	东北 (19)	华中北东 (13)	貴阳 (20)	成都 (21)	台湾 (13)	
A	S. paratyphi A	64	9		8	213				+	127	23	16	+	11	5	+	476
B	S. kisangani							2										2
	S. paratyphi B	47	19		16	239				+	29	9	13	+	64	2	+	438
	S. stanley					1								4			1	6
	S. derby	5	3			142				2			2	4	3	7	11	179
	S. essen									1								1
	S. typhimurium	3	1		1	18			1	8	4		12	14	1	11	5	79
C1	S. san juan								1									1
	S. paratyphi C	12	1		15	25				26		29		30			2	140
	S. cholera suis	22			18	144			42	105	30	45	39	52	108	21	7	633
	S. typhi suis									1								1
	S. montevideo									1								1
	S. thompson	12				122				1				2				137
	S. potsdam	3												1				4
	S. virchow	1																1
C2	S. newport	3				51							4		1		1	60
	S. bovis morbificans									1			1					2
D	S. sendai	1				6				3				48			12	70
	S. durban					5												5
	S. onarimon					7				1	1							9
	S. typhi	403			50	1511				+	501	69	270	+	97		+	2901
	S. enteritidis	11				2	23			8	1		1	58	1		4	109
	S. blegdam	24		13						8	7			123				175
	S. dublin					72								2	1			75
	S. moscow													3				3
	S. gallinarum-pullorum												2			3		5
E1	S. anatum	6	2			204				2			2	2		15		233
	S. meleagridis									3								3
	S. zanzibar									1								1
	S. london	2																3
E4	S. senftenberg									1		2					1	3
F	S. aberdeen	1	1			1								1				4
I	S. shanghai	1																1
共計		621	36	13	108	2763	23	2	44	173	700	177	362	344	287	64	44	5761

§: 未分型

* ××衛生防疫檢驗所; ** ××總醫院; *** ××衛生防疫檢驗所; **** ××衛生防疫檢驗所。

不同的菌型时有发现。迨至 White 氏⁽²⁾ 和 Kauffmann 氏⁽³⁾ 对本菌属的抗原问题研究成功而为它的分类提供了有利条件后, 新的菌型方始顺利地和不间断地被逐一列入 Kauffmann-White 二氏抗原表解中去。迨至 1953 年为止, 这一表解已发展到 306 型之多⁽⁴⁾; 目前, 仍在有增无已。

过去, 我国关于沙門氏菌型的文献报道为数不多。最早的当推龙毓莹氏⁽⁵⁾ 报告的 175 例伤寒和副伤寒, 李振颺氏⁽⁶⁾ 的 1 例腸炎杆菌引起的敗血症, 和諸福棠氏等⁽⁷⁾ 的 65 例儿童伤寒和副伤寒。自此以后,

这方面的报道虽然增多, 但内容都偏重在临床材料; 关于分型的材料, 实属不可多得⁽⁸⁻¹¹⁾。自解放以来, 由于党和政府对卫生保健事业的重视和支持, 沙門氏菌因子血清已能自制, 沙門氏菌分型的工作, 乃逐步获得展开⁽¹²⁻²¹⁾。今将我国有关沙門氏菌分型的文献资料综合于表 1, 以供参考。

本文就作者等 1954 年以来, 从部队腸道病患者和带菌者体内分离和各兄弟单位送检的沙門氏菌 275 株的細菌学分型结果, 进行分析和讨论, 予以报道。

材 料 和 方 法

本文所报告沙門氏菌株大部分来自南京、苏州、上海、福建、新疆、西藏和东北等地区的各兄弟单位。这些菌株經初步诊断为沙門氏菌或疑似沙門氏菌后, 送我院检定和分型; 其中的一小部分, 则为我院自行分离的。

所有菌株都經移种在鉴别性琼脂平板

(或普通琼脂平板) 上分純后, 再进行生化試驗和玻片凝集反应。然后, 根据生化反应和血清学两项结果予以定型。

沙門氏菌属因子血清是我院自制的。必要时, 并用大连生物制品所出品和我院保存的丹麦哥本哈根国立血清研究所的过期血清互相对照作检定。

結 果

275 株沙門氏菌中, 自患者分出的 142 株, 从带菌者分出 130 株; 另有 3 株是从啮齿动物体内检出。根据它们的生化反应和血清学检定结果, 可分做 25 个型别; 計属于甲群的, 1 型, 24 株; 乙群的, 8 型, 69 株; 丙⁽¹⁾ 群的, 7 型, 28 株; 丙⁽²⁾ 群 3 的, 型, 18 株; 丁群的, 3 型, 56 株; 戊群的, 3 型, 70 株。另有未能确认的 10 株。詳情列于表 2。

报告各型沙門氏菌在形态上都是无芽胞的革兰氏阴性杆菌, 除大多数 V 型伤寒沙門氏菌外, 都有运动力, 在鉴别性或普通琼脂平板上, 都呈典型的菌落: 无色、光滑、圆整, 半透明和中等大小。各型菌株

都能分解葡萄糖、麦芽糖、甘露醇和蔗糖, 产酸。除伤寒沙門氏菌和亥达尔哥沙門氏菌不产气的生化变种外, 都能产气; 但不分解乳糖、蔗糖、水楊素和福寿草醇。其他生化反应和它的血清学反应列于表 3。兹就各菌株在检定过程中出现的一些特殊情况記述如后:

肌醇的作用 在几种特殊的糖中, 肌醇的鉴别价值最大。它可用来区别紐波特沙門氏菌和科特部斯沙門氏菌 (*S. Kot-tbus*, 6, 8: eh: 1, 5), 波那雷恩沙門氏菌和达可拉迪沙門氏菌 (*S. takoradi*, 6, 8: i: 1, 5), 以及鴨沙門氏菌, 伐里沙門氏菌 (*S. vejle*, 3, 10: eh: 1, 2), 明斯特沙門

表 2

从部队中分出的沙門氏菌型

菌 群	菌 型	菌 株		上海	苏州	南京	福建	东北	新疆	西藏	其他	总 計									
		实数	%	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶	患 帶								
A	甲种副伤寒沙門氏菌 S. paratyphi A	24	8.7	1		1	2	8		12			3	21							
B	乙种副伤寒沙門氏菌 S. paratyphi B	18	6.5		1	5			3	5	2		2	13	5						
	斯坦萊沙門氏菌 S. stanley	1	0.4	1										1							
	圣保尔沙門氏菌 S. saint paul	1	0.4						1*						1						
	里丁沙門氏菌 S. reading	1	0.4				1								1						
	彻斯特沙門氏菌 S. chester	1	0.4					1							1						
	德爾比沙門氏菌 S. derby	27	9.8	2		2	8	8	5	1			1	5	22						
	鼠伤寒沙門氏菌 S. typhimurium	19	7.0	4	2					5	6		2	12	7						
	德克薩斯沙門氏菌 S. texas	1	0.4										1		1						
C1	猪霍乱沙門氏菌 S. cholera-suis	15	5.4				7		2	6				15							
	罗米他沙門氏菌 S. lomita	1	0.4				1							1							
	布兰得卢普沙門氏菌 S. braenderup	2	0.7					1	1					1	1						
	蒙特維多沙門氏菌 S. montevideo	7	2.5		6		1								7						
	湯卜遜沙門氏菌 S. thompson	1	0.4					1							1						
	巴布亞沙門氏菌 S. papuana	1	0.4					1							1						
	姆班達卡沙門氏菌 S. mbandaka	1	0.4				1								1						
C2	紐波特沙門氏菌 S. newport	8	2.9			2	1			1	4				2	6					
	波拉雷恩沙門氏菌 S. bonariensis	6	2.1	2				4							2	6					
	亥达尔哥沙門氏菌 S. hidalgo	4	1.4									3	1		3	1					
D	伤寒沙門氏菌 S. typhi	45	16.3	5	2	3	4	3	4		2	3		8	8	3	27	18			
	腸炎沙門氏菌 S. enteritidis	9	3.2	5					1		3					5	4				
	都柏林沙門氏菌 S. dublin	2	0.7				2											2			
E	鴨沙門氏菌 S. anatum	59	21.4	3			10	8	3	2		4	26			3		42	17		
	火雞沙門氏菌 S. meleagridis	10	3.6					3	6	1								4	6		
	倫敦沙門氏菌 S. london	1	0.4				1												1		
	未確認者 S. Unidentified	10	3.6				1	2	3	2			1			1		6	4		
	总 計	275		23	10	6	31	32	41	8	8	10	38	35		11	1	17	4	142	133

* 從齧齒動物体内分出的有聖保尔沙門氏菌，腸炎沙門氏菌和鴨沙門氏菌各一株。

氏菌 (*S. muenster*, 3, 10: eh: 1,5) 1,7) 等菌；特别是当它們仅呈現第一相抗和紐堡沙門氏菌 (*S. nyborg*, 3, 10: eh: 原的时候。此外，肌醇的作用在某些沙門

表 3 部队中分出沙門氏菌型的主要生化反应

菌群	菌 型	菌株数	抗原组成	列	卫	肌	鼠	山	木	H ₂ S	枸	动
A	<i>S. paratyphi</i> A	24	1,2,12: a:—	+	+ ¹⁻³	—	+	+ ¹⁻³	+ ⁴⁻⁹	—/+	—	+
B	<i>S. paratyphi</i> B	18	1,4,5,12: b: (1,2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. stanley</i>	1	4,5,12: d: 1,2	+	+	—	+	+	+	+	+	+
	<i>S. sanit paul</i>	1	1,4,5,12: e,h: 1,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. reading</i>	1	4,12: e,h: 1,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. chester</i>	1	4,5,12: e, h: e, n, x	+	+	—	+	+	+	+	+	+
	<i>S. derby</i>	27	1,4,12: f,g:—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. typhimurium</i>	19	1,4,5,12: i: (1,2)	+	+	+	+	+	+	+/—	+	+
	<i>S. texas</i>	1	4,5,12: k: (e, n, z ₁₅)	+	+	—	+	+	+	+	+	+
C1	<i>S. choleraesuis</i> #	15	6,7: (c): (1,5)	+	+	—	+	+	+	+/—	+ ¹⁻⁴	+
	<i>S. lomita</i>	1	6,7: e,h: 1,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. braenderup</i>	2	6,7: e,h: e, z ₁₅	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. montevideo</i> §	7	6,7: g,m,s:—	+	+	—/+	+ ¹⁻⁴	+	+	+	+	+
	<i>S. thompson</i>	1	6,7: k: 1,5	+	+	—	+	+	+	+	+	+
	<i>S. papuana</i>	1	6,7: r: e, z ₁₅	+	+ ³	—	+ ⁴	+	+	—	+	+
	<i>S. mbandaka</i>	1	6,7: z ₁₀ : e, z ₁₅	+	+	—	+	+	+	+	+	+
C2	<i>S. newport</i>	8	6,8: e,h: (1,2)	+	+	—	+	+	+	+	+	+
	<i>S. bonariensis</i>	6	6,8: i: e,n,x	+	+	—	+	+	+	+	+	+
	<i>S. hidalgo</i> *	4	6,8: r: e,n, z ₁₅	+	+	—	+	+	+	+	+	+
D	<i>S. typhi</i> *	45	9,12: (Vi):d:—	—	—	—	—	+/-	+/-	+/-	—	+/-
	<i>S. enteritidis</i>	9	1,9,12: g,m:—	+	+ ¹⁻⁵	—	+	+	+	+	+	+
	<i>S. dublin</i>	2	1,9,12: g,p:—	+	+ ²⁻¹⁰	—	+ ¹⁻³	+ ¹⁻⁴	+ ¹⁻⁷	+/-	+	+
E	<i>S. anatum</i>	59	3,10: e,h: (1,6)	+	+	—	+	+	+ ¹⁻⁹	+	+	+
	<i>S. meleagridis</i>	10	3,10: e,h: 1,w	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S. london</i>	1	3,10: 1,v: 1,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ 24小时内发酵，或阳性反应；— 培养30日无作用，或阴性反应；+²⁻¹⁰，+¹⁻⁹ 第2—10日，第1—9日内发酵；+₁—多数菌株24小时内发酵，少数菌株培养30日无作用；或多数菌株呈阳性反应，少数菌株为阴性反应；# 孔城道夫变种菌株；§ 内蒙特維多1型2株，2型5株；* 不产气；() 部分菌株不含弧内抗原。

氏菌型中较为稳定，而在另一些型别中却相反。前者如甲种副伤寒沙門氏菌、伤寒沙門氏菌、鸭沙門氏菌等，常为肌醇阴性；

而乙种副伤寒沙門氏菌、德尔比沙門氏菌、鼠伤寒沙門氏菌，却常为肌醇阳性；而后者如蒙特維多沙門氏菌却根据对肌醇的作

用,分为两个生化亚型:不分解肌醇的为蒙特維多沙門氏菌1型;分解肌醇的为蒙特維多沙門氏菌2型。

不典型反应 在这次检定过程中,遇有几种不典型反应的菌株。(1)甲种副伤寒沙門氏菌一般是不产生硫化氢和不分解木胶糖的,而本文所报告的24株甲种副伤寒沙門氏菌中,能产生硫化氢的有10株,在第4—9日分解木胶糖的占5株。(2)4株亥达尔哥沙門氏菌分解酯类仅产酸,不产气,且不分解肌醇。(3)1株不产生 H_2S 的鼠伤寒沙門氏菌。

动力 动力一般被利用在区别伤寒菌等沙門氏菌和痢疾菌的特性。但在检定过

程中,发现伤寒沙門氏菌,特别是初分离或具有Vi抗原的V型菌株中,它們的动力往往极不活泼,甚至不能被观察到。当同“d”因子血清作凝集試驗时,也常呈阴性反应。

离解现象 在检定一株湯卜遜沙門氏菌的过程中,曾发现这菌从琼脂斜面上的母株离解出另一株生化变种。这一变种不分解卫矛醇和山梨醇,不产生硫化氢,也不能利用枸橼酸盐;而在血清学上則与母菌株无异。这一生化变种虽經多次传代后,仍能保持它新获得的特性;而母株經传代后,却未再发生这种变化。二者的菌落形态在肉眼观察下,并无差别。

討 論

由表2可以看到,除一般較常見的伤寒、甲、乙种副伤寒沙門氏菌以外,鴨沙門氏菌、德尔比沙門氏菌和鼠伤寒沙門氏菌的存在,实很普遍,患者和带菌者中均有相当数字的发现。这些菌型主要引起腹泻症状,其中尤以小儿患者較多見。因此,它們的传染径路乃成为一个有兴趣的問題,值得流行病学工作者引为注意。

猪霍乱沙門氏菌所引起的感染类型很多,如食物中毒、腸热病、敗血症、心內膜炎等。由于此菌对机体的侵袭力极强,所以常可从患者的血流或內脏中分出。由表1和表2可以看出,此菌在国内的分布也极为普遍。但饒有兴趣的是本文所报告的15株猪霍乱沙門氏菌中,没有一个从带菌者分出,而130株从带菌者分得的沙門氏菌系来自3万余正常人体中,也未能发现一株猪霍乱沙門氏菌。这一結果并非偶然;因为Edwards氏和Bruner氏⁽²²⁾, Seligmann氏, Saphra氏和 Wassermann氏⁽²³⁾也曾获得同样結果。

关于沙門氏菌屬各菌型的不同生化变种的发现,文献中时有报告。不产气的生化变种最早为Bainbridge氏⁽²⁴⁾所报告的一株不产气的猪霍乱沙門氏菌。此后,Warren氏和Iredale氏⁽²⁵⁾, Nabih氏⁽²⁶⁾, Bornstein氏等⁽²⁷⁾, Saniford氏⁽²⁸⁾, 和Bruce氏和Dascomb氏⁽²⁹⁾先后报告有不产气的乙种和丙种副伤寒沙門氏菌,鼠伤寒沙門氏菌和腸炎沙門氏菌。本文所描述的4株不产气的亥达尔哥沙門氏菌中的3株系从食物中毒病人中分离,另一株則为带菌者体中所分出。

除亥达尔哥沙門氏菌外,工作中还遇有其他生化变种;共計有木胶糖晚发酵的甲种副伤寒沙門氏菌5株,和不产生硫化氢的鼠伤寒沙門氏菌一株。这些生化变种在文献上还很少报道。值得提出的还有一株湯卜遜沙門氏菌。它在检定的移种过程中,突然从母株离解出另一株在血清学上没有改变,但不分解卫矛醇和山梨醇,不产生硫化氢,也不能利用枸橼酸盐的生化

变种。这一现象产生的原因，颇不明了，还有待今后工作中多予以注意。

必須指出：本文所报告的275株沙門氏菌中，还有不能确认的10株，約占总数的3.6%。这一事实说明，我部队中，甚

而至于在全国范围内的沙門氏菌型一定不限于所报告的二十余种。若有更多和更完备的因子血清和有关条件时，新菌型的发现决不是不可能的事。

总 結

从部队腸道病患者和正常带菌者体内分出的275株沙門氏菌，根据生化反应和血清学試驗結果，共可分做25个菌型。屬甲群的1型，24株或8.7%；乙群的8型，69株，25.1%；丙₁群的7型，28株，10.1%；丙₂群的3型，18株，6.5%；丁群的3型，56株，20.3%；和戊群的3型，70株，25.4%。另有未經确认的10株，就是3.6%。各菌型中，以鴨沙門氏菌为最多，有59株，21.4%；依次为伤寒沙門氏菌（45株，16.3%），德尔比沙門氏菌（27株，9.8%），甲种副伤寒沙

門氏菌（24株，8.7%），鼠伤寒沙門氏菌（19株，7.0%），乙种副伤寒沙門氏菌（18株，6.5%），猪霍乱沙門氏菌（15株，5.4%）。其他各型菌自3.6%以至于仅有1株細菌。

文中描述了一些沙門氏菌型的生化变种。

文中还对带菌者中未检出猪霍乱沙門氏菌的事实进行了討論。

本工作系在細菌系菌种室全体同志协助下进行的，特志謝意。

参 考 文 献

- (1) Salmon, E. and Smith, T.: *Ann. Rep Bureau Animal Industry*, 1885, P. 184, 引自 *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*, P. 731, 1945 (3rd edition)
- (2) White, P. B.: *J. Path. Bact.*, 32: 85, 1929
- (3) Kauffmann, F.: *Z. Hyg. Infektr.* 110: 537, 1929
- (4) Kauffmann, F.: *"Enterobacteriaceae"* 2nd Ed. 1954. Munksgaard
- (5) Lung, Y. Y. (龙毓瑩) and Foster, J. H.: *Nat. Med. J. China*, 9: 185, 1923
- (6) Li, C. P. (李振騷) and Ni, Y. Y.: *J. Infect. Dis.*, 42: 226, 1928
- (7) Chu, F. T. (諸福棠) and Tso, Ernest: *Nat. Med. J. China*, 16: 572, 1930
- (8) Liu, P. Y. (刘秉揚): *chinez Med. J. supplement*, 2: 279, 1938
- (9) Chang, S. Y. (张湘云), Fournier, J. and Sung, C.: *Chinese Med. J.*, 67: 291, 1949
- (10) 上海巴斯德研究院 1949 年度年刊, 13 面
- (11) Fournier, J. 等: *Chinese Med. J.*, 68: 63, 1950
- (12) 王金城: "Salmonella 菌疾症及流行性脑脊髓膜炎之临床学的及細菌学的研究", 1951 年, 人民軍医社出版
- (13) 滨野滿雄: 微生物学譯报, 2: 142, 1955
- (14) Lu, S. T., (陆頌慈) and Yeh, T. T. (叶自儔): *Chinese Med. J.*, 73: 412, 1955
- (15) 上海市卫生防疫站: 1955—56, 未发表

- (16) 周斌, 孔宪涛, 龔启泉: 人民軍医, 9: 52, 1956
- (17) 郝士海, 周桂蓮, 戴寅: 中国医学科学院科学論文摘要, 2: 83, 1956
- (18) 郝士海, 戴寅, 周桂蓮: 中华卫生杂志, 5: 104, 1957
- (19) 方景灿, 罗兴祖, 馬占瑞: 生物制品通訊, 2: 160, 1957
- (20) 廖子哲: 中华医学杂志, 43: 431, 1957
- (21) 富仁寿等: 中华内科杂志, 5: 618, 1957
- (22) Edwards, P. R. and Bruner, D. W.: *J. Infect. Dis.*, 72: 58, 1943
- (23) Seligmann, E., Saphra, I. and Wassermann, M.: *Amer. J. Hyg.*, 38: 226, 1943
- (24) Bainbridge, F. A.: *J. Path. Bact.*, 13: 443, 1909
- (25) 引自29
- (26) Nabih, M. S.: *J. Hyg.*, 41: 43, 1943
- (27) 引自29
- (28) Saniford, B. R.: *J. Path. Bact.*, 56: 254, 1944
- (29) Bruce, R. A. and Dascomb, H. E.: *J. Infect. Dis.*, 72: 157, 1943

(本文曾載“軍事医学杂志”第1卷第2期, 1958)

499例細菌性痢疾病原学的研究

程知义 鍾文蓬

引言

細菌性痢疾的病原学是一个极其复杂的问题。不特新的痢疾菌型在源源地被发现,而且已有菌型的比重也在不断地发生变化。前者如1953年国际分类法⁽¹⁾中又增多了5个新的菌型:599-52,112,1296/7,430,和34等型;而后者如近年以来,某些地区的宋内氏菌的比重有显著增多和福氏菌的比重却相对的减少的趋势⁽²⁻⁴⁾;至于志贺氏菌则在大部分地区内近于绝迹⁽²⁻¹²⁾。除此以外,关于痢疾菌型的分布

与自然地理条件的关系,菌型与年龄的关系等一系列的问题,处处都在吸引着我們流行病学、微生物学和临床工作者的注意。

1957年夏秋之交,我們在上海市传染病院进行腸道培养基比較工作的同时,对痢疾病原学上的某些问题的有关资料作了彙集和注意。今就这些材料的分析和討論介紹如后,供同道們参考。

方法

临床诊断为菌痢的499例患者的1,368份大便标本,經记录患者年龄、服药情况与大便性状等有关资料后,分別接种在参加比較的各种培养基^(13,14)上,置37°C恒温箱培养24小时后,挑取可疑菌落移种于

双糖培养基。第三日將具有痢疾菌典型反应之双糖管,逐一用自制的多价及单价痢疾血清,包括福氏痢疾菌的因子血清,进行玻片凝集試驗,发现阳性反应的菌株,立即报告。

結果

I. 檢出率

499例临床诊断为細菌性痢疾的患者中,共檢出阳性标本266例,阳性率为53.3%。由于每一患者先后检查1—5次以上不等,共計检查1,368份标本,檢出阳性菌445株。而檢出率的高低,显然与

大便性状有极其密切的关系。計于82件脓血便中檢出阳性菌株50株(60.97%);363件粘液便中檢出阳性菌株145株(39.94%);和923件稀便或成形便中檢出阳性菌株250株(27.08%)。詳情列示于表1。

表1 檢出率與大便性狀之關係

菌 型	膿血便 (82)	粘液便 (363)	稀-成 形便 (923)	總 計 (1,368)
痢疾志賀氏菌 2 型	2	1	2	5
福氏志賀氏菌 2a 型	23	63	71	157
福氏志賀氏菌 3 型	9	22	29	60
福氏志賀氏菌 4 型	1	5	5	11
福氏志賀氏菌 5 型	—	—	3	3
福氏志賀氏菌 6 型	3	9	28	40
福氏志賀氏菌 x 變種	1	—	5	6
福氏志賀氏菌 y 變種	—	4	5	9
鮑氏志賀氏菌 2 型	—	—	1	1
宋內氏志賀氏菌	11	41	101	153
共 計	50	145	250	445

表1除指出膿血便和粘液便的檢出率較高于稀-成形便外,至少还可表明:福氏菌在膿血便和粘液便中出現較之稀-成形便中為多;前者為74%,後者為58.4%;而宋內氏菌則反是,在膿血便中為22%,在稀-成形便中為40.4%。

II. 菌型分布及和年齡的關係

1. 菌型分布情況

從266例陽性患者中,共檢出痢疾桿菌281株(包括15株自混合感染患者分出的陽性菌)。其中以福氏志賀氏菌最多,共171株或60.72%;宋內氏志賀氏菌居次,106株或37.87%。此外,痢疾志賀氏菌2型(即舒密茨氏桿菌)3株(1.06%)和鮑氏志賀氏菌2型1株(0.35%)。171株福氏菌中以福氏志賀氏菌2a型占優勢,91株或32.30%;3型,40株或14.2%;4a型(Ⅳ:3)1株或0.35%;4型(Ⅳ:—)8株或2.85%;5型,2株或0.71%;6型(新城型)24株或8.54%;變種x,3株或1.06%;和變種y,2株或0.71%。

2. 菌型與年齡關係

受檢的499例患者中,檢出之痢疾菌型表明與患者年齡有關。于171株福氏志賀氏菌中,自10歲以下兒童患者分出者,57株(33.3%),自11歲以上患者分出者,114株(66.6%);而于106株宋內氏志賀氏菌中,自10歲以下兒童患者分出者,52株(49.1%),自11歲以上的患者分出者,54株(50.9%)。換言之,福氏菌檢出的比例是隨年齡的增長而加多。10歲以下的兒童患者中,福氏菌與宋內氏菌的比例為1:1;而11歲以上的患者中,二菌的比例則為2:1。成人患者中的福氏菌適為兒童患者中的兩倍。

III. 混合感染問題

腸道病原菌的混合感染是早經公認的事實^(5,15)。在我們的工作中,也遇到同樣的情形。在多種培養基比較的過程中,從16例患者標本中,先後或同時分出兩種不同的菌型來,占被檢人數的3.2%。這種不同的菌型,或系從同一標本不同的培養基上分得,或在同一培養基上同時分出。這種情況不僅出現于某一種培養基上,有時在參加比較的7種培養基上幾乎同時出現。16例混合感染中,除1例屬傷寒桿菌和福氏志賀氏菌x變種外,其餘15例包括:先後分出福氏志賀氏菌2a型和3型者4例;先後和同時分出福氏志賀氏菌2a型和宋內氏志賀氏菌者,各2例;先後和同時分出福氏志賀氏菌6型(新城型)和2a型者,各1例;先後分出福氏志賀氏菌3型和宋內氏志賀氏菌者,2例;先後分出福氏志賀氏菌3型和2a型,5型和宋內氏志賀氏菌,以及同時分出福氏志賀氏菌6型(新城型)和3型者,各1例。今舉數例,列示于表2。

表2 混合感染中菌型出現情況

例	菌型 培养基种类		1	2	3	4	5	6	7
	发病日期	分离日期							
一	8月25日	8月26日	F2a	F2a	F2a	—	F2a	F2a	—
		8月27日	—	F3	F3	F3	F3	—	—
二	9月2日	9月4日	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	—
		9月5日	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	—
		9月9日	S	S	S	—	S	S	S
三	8月27日	8月30日	—	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	—
		9月2日	F2a+S	F2a+S	F2a	F2a	F2a	—	—
		9月6日	—	—	F2a	—	—	—	—
四	9月7日	9月8日	S	S	—	S	F2a	F2a	—
		9月10日	F2a	—	—	—	—	—	—
五	9月1日	9月2日	—	F6	—	F6+F2a	F6+F2a	F6+F2a	—
		9月6日	—	F6	—	F6	—	—	—
六	9月3日	9月4日	—	F6	—	F6	—	F6	—
		9月5日	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	F2a	—
		9月6日	F6	F6	F6	F6	F6	F6	F6
七	9月15日	9月15日	F6	F6	F6	F6	F6	F6	F6
		9月17日	F6	F6	F3	F6	F6+F3	F3	F6+F3
		9月18日	—	—	—	—	F3	F3	F3
		9月19日	—	—	F3	F3	—	—	—
		9月21日	—	—	F3	F3	—	—	—

注：F2a, F3, F6 指福氏志賀氏菌 2a 型, 3 型和 6 型（新城型）；S 指宋內氏志賀氏菌。

討 論

本文所述及的菌痢病原學諸問題中，最能引起我們注意的當推混合感染問題。文獻中所引述的腸道病患者的混合感染問題的材料為數雖不在少，然未見有深入的研究和討論。在這以前，作者等在工作中亦曾有所見⁽⁵⁾，但由於當時條件所限，

也未能將它們嚴格地與重複感染加以區別。根據本文所描述的材料，顯然可以看出，混合感染的可能性是較大的。混合感染的現象，在一般常規工作中，由於工作目的性不同，以及工作條件，如培養基的質量不高與種類不多等因素所限，不可能