

SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF SALMONELLA-SPECIES

沙门菌属

血清型诊断

朱超 许学斌 编著



同济大学出版社
TONGJI UNIVERSITY PRESS

Serological Diagnosis of Salmonella-Species

沙门菌属血清型诊断

朱 超 许学斌 编著



同济大学出版社
TONGJI UNIVERSITY PRESS

内 容 提 要

本书第1~第6章主要对沙门菌属(内)的生化特征、分类学和血清型的命名法则、抗原变异与抗原鉴定和诊断血清的制备等作了描述;第7~第8章主要从实际应用的角度总结了沙门菌检测和监测中的心得体会;第9~第11章主要除列出了最新版的沙门菌血清型中英文对照表外,还汇总了国内1911—2007年已检出的血清型分类和地区分布与分离来源,并总结了国内食物中毒主要流行菌型和我国检出的沙门菌国际新型。本书是各级疾控中心、食品卫生部门、动物疾病预防控制中心、出入境检验检疫部门、临床医院从事细菌检验人员的实用型工具书,以及医学细菌学教学和科研人员的良好参考读物。

图书在版编目(CIP)数据

沙门菌属血清型诊断/朱超,许学斌编著. —上海:同济大学出版社,2009.7

ISBN 978-7-5608-3967-7

I. 沙… II. ①朱…②许… III. 沙门氏杆菌属—血清诊断 IV. R378.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 028201 号

沙门菌属血清型诊断

编 著 朱 超 许学斌

责任编辑 赵 黎

责任校对 徐春莲

封面设计 潘向葵

出版发行 同济大学出版社 www.tongjiupress.com.cn

(地址:上海市四平路 1239 号 邮编:200092 电话:021-65985622)

经 销 全国各地新华书店

印 刷 苏州望电印刷有限公司

开 本 850mm×1168mm 1/32

印 张 12.875

印 数 1—3 100

字 数 330 000

版 次 2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5608-3967-7

定 价 42.00 元

本书若有印装质量问题,请向本社发行部调换 版权所有 侵权必究

序言 1

在欣悉朱超和许学斌二位沙门菌专家行将出版这本书之时,我谨表示衷心的祝贺。这是一本反映沙门菌最新理论和指导实践兼容并包的读物,又是人兽医务、防疫和生物制品部门、出入境和进出口行业检验和检疫以及医学教育科研人员的实用手册,一定会受到广大读者的欢迎和赞赏。

由于我和沙门菌血清学分型的权威 F. Kauffmann 有过一段时间的接触,或者说,曾经受教于他的门下,以及我在大连卫生研究所和成都生物制品研究所曾经为推动沙门菌产品的研发起到过一些微不足道的促进作用,所以我不妨摆一摆有关这件事的龙门阵。

1. Kauffmann 简历:他于 1978 年 9 月 27 日在哥本哈根去世,享年 80 岁。

他 1922 年春在汉堡通过国家医学考试,此后从事肠杆菌科细菌的研究 50 年(1923—1933 年在柏林 R. Koch 研究所工作,1933 年以后,在哥本哈根国家血清研究所工作),并担任 International Salmonella Center 主任二十余年(1938—1965)。由于他是犹太族裔,要不是在希特勒掌权之初及时离开柏林,他的结局必将会与阿司匹林发现人 A. Eichengrün 一样,遭受纳粹党徒的蹂躏与欺诈,后者最终于 1949 年含冤去世。

2. 我怎么会去哥本哈根深造的?蒋介石为了实现他撰写的《中国之命运》一书的抱负,于 1946 年命令教育部长朱家骅在全国范围内举行自民国以来唯一的一次规模最大的出国留学学生公开选拔考试。留学的国别主要有美、英、法,其次是丹麦(6 人)、瑞士(4 人)、瑞典(3 人)、荷兰和意大利(各 1 人),全都是西方发达国家

家。招生名额 150 名,其中有 6 名分配给细菌学的项目(最后入选的国别是法国 2 人,丹麦 2 人,英、美各 1 人),尤为引人注目。这可能是因为,朱家骅的当年顾问们,有鉴于英国弗莱明对青霉素的发现和在世界范围内各国抗生素科研和产业的兴起,以及国内时疫,特别是终年流行伤寒、痢疾等疾症,几乎到了无法控制的地步,因此,对沙门菌的研究情有独钟。

当我在 1947 年夏抵达丹麦后,得知我将被分配到哥本哈根大学病理学研究所成为 K. A. Jensen 教授的研究生时,我的心头一下子就凉了半截,因为我在国内学的专业是生物制品和微生物学,怎么又叫我改学病理学呢!尽管我在上海就读医学院,毕业后曾经在重庆歌乐山的中央医院内科做了将近两年的内科医生。由于对当时医院检验工作的落后状态很不满意,我就去了昆明西山脚下的中央防疫处改学细菌学和生物制品。这就是我从事微生物学经历的背景。

其实,我的这些想法全都错了。其原因是:一,欧洲当时的病理学包括的范围很广。二,K. A. Jensen 教授是一位国际上知名的结核杆菌学者和卡介苗(BCG)专家。我到病理所报到后,教授叫我先到国家血清研究所(State Serum Institute)去熟悉一下 BCG 的知识和基本操作,然后再到他那里搞科研。

我在血清所 BCG 室呆了 4 个月,接触了好多专家、学者,并获悉该所是与巴黎巴斯德研究所齐名的一个搞微生物学和生物制品的研究所,它有几种全球顶尖的产品和科研项目。这才使我恍然大悟,若能在血清所学习下去,要比在病理所单独学习结核杆菌一门科目,将来回国之后,更能适合我国国情的实际需要。因为中国当年急迫需要的是通才,而不是像博士或硕士那样的专才。

血清所有哪些独领风骚的项目呢?简而言之,除了一般菌苗、疫苗(沿用我国老的称谓法,指由病毒制成的产品)和各种抗血清外,该所有 F. Kauffmann 领衔的 Salmonella 血清学分群分型的研究。还有 WHO 在该所设立的两个世界级的中心,即国际沙门菌中心和国际抗毒素标准化中心。标准化中心的主任是 N. K. Jerne,他后来在 1955 年由于提出克隆选择说而获得了诺贝尔

奖。此外,该所在 Kauffmann 的影响和带动之下,在大肠埃希菌、肺炎球菌、钩端螺旋体以及淋球菌的血清学和分型方面,也做了很多的工作。一个不足 400 万人口的小国和一个成立仅仅 45 年(1902—1947 年)、只有一百多名人员的血清所,居然能够做出这些突出的成就,确实是一个奇迹。

正因为受到这些耳闻目睹的影响,如前所述,我才醒悟过来,心也动了。于是,我硬着头皮,去到病理所向 Jensen 教授坦露我的愿望及讲述了我国国情,请求他允许我留在血清所,多学一些实用知识和技术,以利于我回国后,在生物制品方面能够应对各种生物制品的生产。他同意我的请求,不在他那里读什么博士、硕士之类的学位了。因此,我在血清所 BCG 室呆了 4 个月后,接着于 1947 年底就去了向往已久的 Kauffmann 的国际沙门菌中心。然后,再到其他科室,包括上面提到的几个知名的科室以及血清所自己研发改良的 Cohn 抗毒素精制法、抗毒素标准化中心等科室,轮流学习,一呆就是两年。

3. 我进入殿堂。在沙门菌中心,我学习到了血清吸收法、因子血清制造、4 种抗原(O 和 H 抗原、Vi 抗原和 M 抗原)和 5 种形体变异(O-H 变异、O 变异、S-R 变异、相位变异和 V-W 变异)方面的知识和检查鉴定,以及 Kauffmann-White 抗原表的运用。20 世纪 40 年代的抗原表中血清群型数目少得可怜:AB 群有 25 个型,C 群有 26 个型,D 群有 14 个型,E 群有 18 个型,其他群有 24 个型,共 107 个型。在本书中,经过 60 年的演变,使我惊诧不已。形体变异有 10 种之多。Vi 抗原和 M 抗原已被并入 K 抗原。尤其是新的抗原表已发生了令人惊诧的变化,新的血清型现已增至 2 500 多个,而在我国,现已检出 322 个不同的型别,包括我国新发现的十多个。之所以发生这么大的变化,当然是由于科学技术的进步和人民生活水平的提高。回想起当年我在抗日战争年代的重庆,一年四季内科病房里的患者大约有 1/4 是患伤寒、痢疾的患者。而现在的情况完全变了,门诊常见的是由于沙门菌引发的食物中毒,或是肠胃炎的病例。

4. 回国之后,一心想搞生物制品的研发。我是经大连医学院的魏曦教授推荐,应沈其震院长之聘,于 1950 年初来到大连大学

下属的大连卫生研究所工作的。这个所原先是日本于1924年创办的一个生物制品所。在日军侵华期间,它是关东军石井下属的731部队搞细菌战的基地。

魏曦教授是我在上海时就读医学院的恩师和在昆明防疫处的老领导。他曾经向沈院长介绍过我在国外学习的经历,因而被当时的大连卫生研究所的领导安排我当科长而不是室主任。这下子,我开始明白了——在中国的科研单位里,科和室是有区别的,科是有官职或官衔的行政建制,不能干具体技术工作或科研了。后来,我向魏教授反映我的意愿。他劝我先干一段以后再说。他希望我发挥在国外学习的特长,乘势协助领导把大连所办成一个有特色、有尊严的科研所。例如,我们可以在沙门菌、志贺菌、斑疹伤寒、乙脑、气性坏疽等方面更好地做些实实在在的工作。

哪知在这个“先干一段再说”以后,我的“官职”、“权力”变得越来越大了,由检定科长变为生产科长,直至卫生部任命为总技师。这一来,我和科研工作彻底绝缘或者说决裂了。魏教授当时哪里知道,我改变了我的工作性质。

5. 成都所沙门菌专业实验室的设立。彼时彼刻,我没有灰心丧气,还是一心想协助领导把大连所办好。在这儿,我只想说一说,所里4个专业实验室成立的根由。这是我在20世纪80年代初,在北京由中科院召开的一次会议上,我未经请示自作主张承担的,其中就包括沙门菌专业实验室和志贺菌专业实验室。这几个专业实验室之所以能够得以成立,我应该特别感谢当时的所长,老红军朱锦忠同志。他在各方面都给我以大力的支持和鼓励。朱超同志是第一任的沙门菌专业实验室主任,兼国际上委托成都所经办的中国金黄色葡萄球菌噬菌体分型实验室主任。若干年来,他为成都所的这两个专业实验室的建设和制品的研发费了不少的心血,做了很多的工作,并取得了值得人们称赞的成就。

陈廷祚

成都 于汶川地震余震中写就

2008年5月

序言 2

沙门菌是世界上食源性腹泻最常见的病原菌之一。全球每年估计发生 13 亿因沙门菌导致的急性胃肠炎病例,其中 300 万患者死亡。沙门菌广泛地存在于自然界,能引起多种动物感染,宿主动物包括哺乳类、两栖类、爬行类、鸟类和昆虫。在工业化国家,受污染的动物肉类和蛋类食品是人沙门菌病的主要感染源,其次是受污染的牛奶、奶酪、鱼、贝、新鲜水果和果汁、调味品、巧克力和蔬菜。人患沙门菌病在发展中国家的主要感染源的情况由于缺乏相关信息而了解较少。

迄今世界上已鉴定出 2 500 多个不同的沙门菌血清型。血清型的正确鉴定对确定人和动物沙门菌病的感染源及控制减少发病率具有重要意义。为此,许多国家和地区采取了众多措施以正确鉴定来自不同国家和地区、不同动物和外环境的沙门菌血清型。为应对日趋重要的食源性疾病问题和提高实验室鉴定水平,WHO 于 2000 年创建了全球沙门菌监测项目,旨在建立沙门菌和其他肠道食源性感染性疾病的全球监测网络。WHO 分别就沙门菌分离、鉴定、血清分型、药敏试验、分子鉴定等实验室技术和本病暴发流行时的流行病学调查研究和监测系统等的改进开办了培训班,中国是积极参加国之一,WHO-GSS 已为中国省级市疾控中心提供了 6 个不同级别的培训课程。

本书提供了沙门菌的分类、鉴定、血清分型、分布和其他有实用价值的信息。作者列出了最新 WKLM 血清分型表(White-Kauffmann-Le Minor Serotyping Scheme),并详尽介绍了中国抗血清的生产、质控、保存和使用方法。尤为重要的是,作者总结了

自 1911 年以来中国鉴定的所有沙门菌血清型在人、食品、动物、饲料和外环境中的地区分布,以及中国暴发的食源性感染的主要血清型。这些信息对公共卫生从业人员、研究人员和学生具有重要价值。

赵邵华 博士
美国食品药品监督管理局
WHO-GSS 专家组成员
2008 年 12 月

前 言

沙门菌病是我国及世界各地的常见病和多发病,欧美地区发病率在(10~83例)/10万人口。美国1996—1999年居7种细菌性食物中毒的第二位(33%),我国多年来一直居细菌性食物中毒的首位(64%),日本1989—1990年沙门菌分离数占全国肠道病原菌的首位。沙门菌病使全球遭受巨大的经济损失,美国每年损失数亿至数十亿美元,英国损失约3500万美元。1980—2000年,欧洲和北美很多国家沙门菌感染肠炎发病率增加了20倍,1982—1996年,其耐药率上升了35%,给人类提出了危险信号。许多国家已建立了沙门菌鉴定中心,我国于1979年建立中国医学细菌中心沙门菌专业实验室,负责开展国际学术交流和国内相关业务技术咨询及相关菌株的鉴定。1976—1980年,我国组建协作组,举办菌型鉴定培训班,在全国范围内收集鉴定了沙门菌27000多株,对该菌在我国人群、动物、食品、饲料及外环境等感染和污染情况有了基本了解。我国解放前仅检出28个不同的血清型,截止2007年,已检出322个不同的血清型,其中包括国际新型十余株。沙门菌食物中毒最大的一次是1953年发生于瑞典,因吃了污染鼠伤寒沙门菌的猪肉使7717人中毒,死亡90人。随着改革开放的深入发展,国际交流日益频繁,进出口贸易迅速增长,国内外重大群体性沙门菌食物中毒事件时有发生。2000年,WHO为应对日趋重要的食源性疾病预防和提高实验室鉴定水平,创建了沙门菌感染全球监测(GSS)项目,使实验室之间有了网络联系,这是人类防治疾病的又一项全球性计划。2003年,我国颁布了《特发公共卫生事件应急条例》,并参加这个联网监测。

沙门菌有 2 500 多个不同的血清型,抗原变异多,菌型鉴定耗时。由于 20 世纪 70~80 年代 DNA 相关度的研究和噬菌体裂解试验应用于细菌分类,使原有分类发生了新的改变,长期争论的亚利桑那菌的归属问题,于 1986 年 6 月圆满结束,并作为沙门菌属亚种Ⅲa 和Ⅲb 列入了沙门菌属抗原表。目前出版适合实验室需用的指导用书,甚为必要。上海市疾病预防控制中心的许学斌医生参与了 GSS 中国的监测工作,还完成对沙门菌新抗原表的翻译,并在沙门菌的检测中总结了许多方法学的经验,我作了增补修订并增写了沙门菌属分类和命名新进展、生化鉴别、血清学变异、抗原鉴定、诊断血清制备与使用以及我国沙门菌地区分布和主要流行型别及目前所有已知菌型的检索表等章节,编著成本书。编写本书旨在与国际接轨和提高我国对沙门菌的检验水平。衷心希望本书的出版能使广大细菌检验人员带来有益的帮助,不妥之处,希望读者批评指正。对本书编写过程中予以大力支持、帮助的各级领导和专家,在此谨表示衷心的感谢。

朱 超

2009 年 1 月

于成都生物制品研究所

目 录

序言 1

序言 2

前言

1 肠杆菌科常见菌属的生化区别	1
2 沙门菌属的命名和分类	7
2.1 沙门菌属的定义	7
2.2 沙门菌属的分类	10
2.3 沙门菌属血清型的命名与书写方式	14
3 沙门菌属的生化反应	16
3.1 沙门菌属与枸橼酸杆菌属的生化区别	17
3.2 肠道沙门菌各亚种的生化反应	18
3.3 沙门菌属抗原式相同血清型的生化区别	21
4 沙门菌属血清学变异现象	24
4.1 形体变异	24
4.2 HO-O 变异	26
4.3 S-R 变异	26
4.4 M-N 变异	26
4.5 由噬菌体诱导的抗原变异	27
4.6 V-W 变异	27

4.7	位相变异	28
4.8	R 相	29
4.9	多位相和不可逆转的变异	29
4.10	无纤毛-有纤毛变异	30
5	沙门菌属的抗原	31
6	沙门菌分型用诊断血清	34
6.1	制备血清所用菌种	34
6.2	诊断血清的检定与质量标准	47
6.3	诊断血清的保存方法	48
6.4	诊断血清的使用方法	48
7	沙门菌的检测	52
7.1	沙门菌检测的增菌液的应用	52
7.2	沙门菌选择性分离平板的应用	59
7.3	沙门菌株的血清分型鉴定	63
7.4	沙门菌株的快速检测技术	68
8	沙门菌的监测	86
8.1	背景	86
8.2	食品沙门菌的监测	87
8.3	基于临床病例的 GSS	93
8.4	沙门菌的耐药性监测	98
8.5	脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型	103
8.6	脉冲场凝胶电泳(PFGE)应用分析	115
9	我国沙门菌感染和血清型地区分布	132
9.1	人群沙门菌感染	133
9.2	动物沙门菌感染	137

9.3 我国沙门菌的地区分布	138
9.4 我国沙门菌分离来源和菌群与血清型分布	138
9.5 我国检出的国际新血清型	140
9.6 我国检出的沙门菌目前分类	140
9.7 近年检出的沙门菌血清型	141
10 沙门菌属诊断抗原表	143
10.1 Kauffmann-White 抗原表简史	143
10.2 White-Kauffmann-Le Minor 抗原表	145
10.3 使用 WKLM 表注意事项	288
11 沙门菌型检索表	293
附录 上海市沙门菌病监测方案	368
参考文献	395

沙门菌广泛分布于自然界,寄生于人和动物体内,亦常见于污染的蛋、奶及其制品、肉类、食品、饲料、水产品和污水等外环境。沙门菌是人和动物常见的病原菌,如可引起人类伤寒、副伤寒和食物中毒、胃肠炎、败血症和局部感染等许多疾病;有些血清型可致妊娠动物流产或鸡白痢、鸡伤寒等。沙门菌污染对人和动物健康危害较大,直接影响工农业和畜牧业发展,使全球遭受巨大的经济损失。1996~1999年,美国沙门菌病居7种细菌(包括空肠弯曲菌、大肠埃希菌 O157:H7、李斯特菌、沙门菌、志贺菌、霍乱弧菌和小肠结肠炎耶尔森菌)性疾病的第二位,共11 225例(33%);1989~1990年,日本沙门菌检出数居肠道病原菌的首位;我国沙门菌食物中毒多年来居细菌性食物中毒的首位,2005年共发生沙门菌食物中毒24起,1 358人中毒,居细菌性食物中毒人数的首位,死亡2人。近年来,我国城乡因婚、丧宴席或学校食堂卫生差等原因发生多起群体性沙门菌食物中毒。在国外,最近有英国吉百利巧克力事件、美国的花生酱事件、墨西哥产辣椒酱事件、莫斯科建筑工地300多人食物中毒事件,以及匈牙利400多人甜食中毒事件,等等,均系沙门菌污染所致。因此,沙门菌与临床医学、食品卫生、环境卫生、畜牧兽医、出入境检验检疫等密切相关,早已引起各国重视,并将其列为出入境检验检疫的法定检查项目。

1

肠杆菌科常见菌属的生化区别

沙门菌属是肠杆菌科中与人类密切相关的重要菌属之一,它与肠杆菌科其余重要菌属的区别见表1-1~表1-4。表1-1提供了各种肠道病原菌在8种常用分离培养基上的生长特征。沙门菌在麦康凯(Mac)、伊红美蓝(EMB)、脱氧胆酸盐枸橼酸盐琼脂平板(DHL)上生长呈无色菌落,在Hektoen琼脂平板(HE)上

表 1-1 肠杆菌科在分离培养基上的菌落特征

菌属	Mac	EMB	HE	XLD	SS	DC	BS	BG
大肠埃希菌 乳糖+	扁平;红或暗淡 红色;有胆汁 沉淀环围绕	黑红有金 属光泽 ^①	黄-橙色	黄色	淡红色	深红-淡 红色	通常不生长	通常不生长
乳糖-	无色	无色	黄-橙或 绿色	黄色	无色	无色	通常不生长	通常不生长
克雷伯菌属	淡红色;发黏	紫色	黄-橙色	黄色	淡红色	淡红色	通常不生长	通常不生长
肠杆菌属	淡红;不发黏	紫色	黄-橙色	黄色	淡红色	淡红色	通常不生长	通常不生长
枸橼酸杆菌、 沙雷菌、哈夫 尼亚菌、普罗 菲登斯菌	淡红色或无色	淡紫色 或无色	无色	红色、黄 色 无色;有或 无黑心	无色	无色	通常不生长	通常不生长
变形杆菌、摩 根菌、爱德 华菌	无色	无色	无色	红、黄色 无色, 有或无 黑心	无色	无色	通常不生长	通常不生长

续表

菌属	Mac	EMB	HE	XLD	SS	DC	BS	BG
沙门菌属	无色	无色	绿色或蓝绿色	淡红-红色, 有黑心	无色有黑心或无黑心	无色	墨绿色	浅淡红色不透明, 煌绿色培养基围绕
志贺菌属	无色	无色	绿色或蓝绿色	无色	无色	无色	通常不生长	通常不生长
耶尔森菌	无色-孔雀色	无色或紫色 ^②	鲑肉色	黄色	无色	无色	通常不生长	通常不生长

注: ①不是所有菌株产生金属光泽, 其他肠杆菌(例如, 小肠结肠炎耶尔森菌)可产生光泽; ②小肠结肠炎耶尔森菌不发酵乳糖, 能发酵蔗糖在EMB琼脂上呈无色和在含有蔗糖的(Holt-Harris Teague)改良配方培养基上产生紫色(引自: Kenneth D. Clinical Laboratory Medicine [M]. 2nd ed. McClatchey, 2002.)