

# 从家猫肝中分离韦太夫雷登沙门氏菌的生物学性状

梁俊勳

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁)

从家猫的肝脏内分离到一株韦太夫雷登沙门氏菌(*Salmonella weltevreden*), 经鉴定该菌株具有典型的生化和血清学特性, 其抗原式为 3,10:r:Z<sub>6</sub>, 属于 Kauffmann-White 氏血清型 E<sub>1</sub> 群内。在 pH 9.0 以上仍可生长; 经 60℃ 水浴处理 15 分钟全部被灭活; 对数生长期为 20—25 个小时, 继代时间约为 42 分钟。韦太夫雷登菌是一种引起多种疾病的微生物, 能损害动物的肝脾脏器及消化系统, 从而导致多种野生啮齿动物发病死亡。

**关键词** 家猫; 韦太夫雷登沙门氏菌; 生物学性状

沙门氏菌属 E<sub>1</sub> 群的韦太夫雷登沙门氏菌, 在我国除曾从人、猪和蛋中先后分离到外, 但尚未见到从家猫分离到此菌的报告。因此, 作者除对从家猫分离到的菌株 GB742 进行了鉴定外, 并对其生理生化特性及其对多种野栖啮齿动物的致病性和毒力半数致死量 (LD<sub>50</sub>)<sup>[1]</sup> 以及动物中的病理特征等进行了初步观察。

## 材料和方法

### (一) 菌株

分离菌株编号为 GB742, 系 1974 年 2 月自广东省海康县一濒死家猫的肝组织内分离的; 对照菌株 0257, 均由广东省湛江地区卫生防疫站供给。

### (二) 实验动物

野栖动物小家鼠 (*Mus musculus*) 捕自新疆玛纳斯地区; 高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*) 捕自青海天峻地区; 黄毛鼠 (*Rattus losea*) 捕自广东湛江; 小白鼠取自本所饲养室; 家兔和鸡自居民中收购。实验动物均经饲养一周以上选健康者使用。

### (三) 生理生化和血清学试验

按 Edwards<sup>[2]</sup> 的方法制备生化培养基并进行试验, 糖类发酵 14 天, 明胶液化 (22℃) 观察 30 天。生长温度和 pH 试验以及生长曲线的测定均按中国科学院微生物研究所和北京大学制药厂的方法<sup>[1,4]</sup>, 鞭毛染色采用上海市卫生防疫站的方法<sup>[3]</sup>。

细菌在液体培养基内的生长量是用 72 型分光光度计在波长 550nm 下测定吸光度 (A)。活菌数以对数值 (lg) 表示。标准沙门氏菌诊断血清系成都生物制品研究所 1978 年出品。分离菌的抗血清按常规法免疫家兔制备, 效价 3,200。

### (四) 致病力和免疫血清保护作用试验

1. 致病力试验: 使用含菌量为 2.5 或 5.0 亿/ml 的菌液, 或用 24 小时肉汤培养物分别对动物进行腹内和皮下感染。

2. 被动保护力作用: 用分离菌株的抗血清, 通过皮下注射免疫小白鼠, 经 60 分钟后, 用该菌的肉汤培养物对小白鼠再进行皮下注射或感染, 计算死亡时间、死亡率及保护系数。

### (五) 病理特征观察

实验动物无论死亡或存活均进行解剖, 观察外形或脏器内外的病变, 并切取肝脾组织, 在 10% 福尔马林中固定, 随后进行切片和染色, 镜检观察。

## 结 果

### (一) 形态和培养特征

GB742 菌株为革兰氏阴性杆菌, 0.5—

本文于 1982 年 6 月 24 日收到。

细菌鉴定承成都生物制品研究所李景学大夫指导; 显微病理由我所王玉琴同志提供; 黄毛鼠的试验在湛江地区卫生防疫站协助下进行, 特此一并致谢。

0.7×1.5—2.0 $\mu\text{m}$ , 有些菌体呈两极浓染, 多成双或多个或成无规则排列。鞭毛可见。具有动力。在普通琼脂上生长丰厚, 半固体穿刺呈乳头状生长, 向四周扩散, 呈薄雾状。在斜面上沿划线生长。菌落半透明, 乳白色, 中心低突起, 光滑, 边缘整齐, 24 小时直径 1.5—2.0mm。老培养物的菌落直径可达 3—6mm, 菌苔变厚, 边缘近内层有可见的碟状圈。肉汤培养物呈均匀混浊, 菌膜不明显, 有少量沉淀物。在 SS 琼脂上不生长或生长不明显, 在 EMB 上生长较弱, 菌落细小。在麦康凯琼脂上生长, 但在嗜盐琼脂上不生长。

## (二) 生理特征

在 2—4 $^{\circ}\text{C}$  下培养 7 天, 不生长。在 22 $^{\circ}\text{C}$  下可见生长, 45 $^{\circ}\text{C}$  不生长, 最适生长温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 。

在不同 pH 下 37 $^{\circ}\text{C}$  培养试验结果表明, 在 pH 5.0 细菌初始生长, pH 7.0 生长菌量最高, 在 pH 9.0 以上仍能生长。培养 2—3 天, pH 5.5 和 pH 7.0 的菌量基本相同。

对温度的敏感性试验: 将生理盐水菌悬液分装成每管 2ml, 取其中一管计算菌量作对照, 其余各管按不同温度在水浴中处理 15 分钟, 随后取定量菌液移种琼脂平板, 在 37 $^{\circ}\text{C}$  培养 2 和 7 天计算菌落数。细菌在 35 $^{\circ}\text{C}$  时的存活数为 8.85 (lg/ml, 下同), 与对照管一致; 45 $^{\circ}\text{C}$  同样处理 15 分钟被灭活近半数; 60 $^{\circ}\text{C}$  15 分钟细菌全部被灭活。

分离菌株的生长曲线是在 pH7.4 的肉汤中于 37 $^{\circ}\text{C}$  培养后测定的。在零时肉汤内的细菌数为 7.25, 吸光度 0.053, 以此作对照。其后每隔 5 小时取样测定菌量和吸光度。由生长曲线可见, 细菌的生长迟滞期在 0—5 小时内; 5—25 小时为其繁殖最盛的对数期, 此时菌量达 10.38; 从 25—50

小时起细菌进入恒定生长期, 菌量维持在 10.15; 至 55 小时后呈现衰亡期。同时, 根据在零时和 7 小时的生长繁殖菌量计算世代时间, 依据计算公式<sup>[1]</sup>该菌株的世代时间约为 42 分钟。

## (三) 生化和血清学试验

生化试验结果列于表 1。该菌株能发酵多种糖类产酸产气, 利用柠檬酸盐较弱, 赖氨酸脱羧酶阳性, 氰化钾生长迟缓且弱, 明胶液化、胨基质和 VP 反应呈阴性。结

表 1 GB742 菌株的生化反应结果

Table 1 The biochemistry tests of GB742 strains

生化试验	菌 株	
	GB742	0257
葡萄糖	⊕	⊕
阿拉伯糖	⊕	⊕
卫矛醇	⊕	⊕
鼠李糖	+	+
肌醇	-	(+)
蔗糖	⊕	⊕
木糖	+	+
甘油品红	+	+
硫化氢	+	+
明胶	-	-
右旋酒石酸钾钠	+	+
柠檬酸钠	(+)	+
侧金盞醇	-	●
麦芽糖	+	●
水杨苷	-	●
乳糖	-	●
蔗糖	-	●
甘露醇	⊕	⊕
尿素	-	●
硝酸盐	+	+
胨基质	-	-
VP 反应	-	-
MR 反应	+	+
丙二酸钠	-	-
苯丙氨酸脱氨酶	-	●
氰化钾	(+)	●
赖氨酸	+	-
精氨酸	-	-

注: ⊕=产酸产气; +=阳性; -=阴性; (+)=4 天以上迟缓或弱阳性; ●=未做。

果与 Edwards<sup>[1]</sup> 和 Kauffmann<sup>[6]</sup> 所述的韦太夫雷登沙门氏菌的生化特性相一致。

分离菌株的血清学鉴定, 首先用 A-F 多效价 O 和 H 血清作玻片凝集反应。结果为阳性时, 再取该多效价 (800) 血清所包含的单因子血清, 再做玻片凝集试验。对具有 “+++” 号凝集度的因子血清则做定量试验, 结果列于表 2。

由表 2 可见, 分离菌对 O<sub>3,10</sub>, H<sub>r</sub> 和

HZ<sub>6</sub> 的凝集效价均在 1:1,600 以上, 其他血清无反应。因此, 该菌株的抗原结构是和韦太夫雷登沙门氏菌相同的。

#### (四) 对动物的致病力和保护作用

表 3 为用分离菌株对动物进行腹腔和皮下感染的致病作用。该菌株对小白鼠、小家鼠和高原鼠兔均具有明显的致死作用, 多数动物在感染后 120 小时即可死亡。然而, 该菌株对鸡和黄毛鼠则不表现致病

表 2 GB742 菌株的血清鉴定

Table 2 Serological identification of GB742 strain

菌 株	试 管 凝 集 (1:)											
	O-3,10(320)				H-r(3200)				H-Z <sub>6</sub> (6400)			
	400	800	1600	3200	200	400	800	1600	200	400	800	1600
GB742 0257	#	#	+++	++	#	#	+++	++	#	#	+++	++
	#	#	+++	++	#	#	+++	++	#	#	+++	++
GB742	玻 片 凝 集											
	OA(800)		+++		Hc(800)		+++		HE(1600)		++	
	3,10(320)		+++		k(3200)		-		1,2(6400)		-	
	10(320)		++		r(3200)		+++		Z <sub>6</sub> (6400)		+++	
	3,15(640)		-		1,v(3200)		-		1,5(6400)		-	
	19		-		Z <sub>4</sub>		-		1,7		-	

\* 注: 表内的括号内数字系该诊断血清的效价。

表 3 GB742 菌株对动物的致病力试验

Table 3 Test of pathogenic on animals of GB742 strain

实 验 动 物	感 染 途 径	感 染 剂 量		感 染 动 物 数 (只)	动 物 死 亡 数 (只)		
		菌 液 (亿/0.5ml)	肉汤培养物 (ml)		1-5	6-10 (天)	11-14
小 白 鼠	腹 腔		0.5	5	5		
	皮 下		0.5	5	4	1	
小 家 鼠 ( <i>Mus musculus</i> )	腹 腔	2.5		10	4	5	1
	皮 下	2.5		10	3	5	1
高 原 鼠 兔 ( <i>Ochotona curzoniae</i> )	腹 腔	2.5		5	4	1	
	皮 下	2.5		5	2	3	
黄 毛 鼠 ( <i>Rattus losea</i> )	腹 腔	5.0		5	0	0	0
	皮 下	5.0		5	0	0	0
家 兔	腹 腔	2.5		5	1	1	
鸡	腹 腔	2.5		5	0	0	0

性,对家兔可以发病和致死。

分离菌株对小白鼠的血清保护作用试验结果列于表 4。由表 4 可以看出,GB742 菌株对本菌株仅具有微弱的保护作用,而对 0257 菌株则作用不明显。同时,0257 菌株对本菌株和 GB742 菌株均显示出一定的保护作用。

### (五) 病理特征观察

对动物的解剖结果列于表 5。由表 5 可见分离菌侵入动物机体后对动物的肝、脾脏器的损害最为严重,尤其是被直接感

染的动物,不但呈现肝、脾肿大,而且常发现有坏死斑和瘀血,消化道内常有肠积液,充气或呈糜烂样病变。由组织切片的观察可见,死亡动物的肝脏呈多灶性脓肿和肝浊肿的现象极为明显,由于这些不可逆的病变,因而导致被感染动物死亡。而对对照组动物的肝、脾则无病理现象。

## 讨 论

从本文分离菌株的来源看,认为韦大夫雷登沙门氏菌在目前的分布似仅限于我

表 4 GB742 菌株对小白鼠的保护力试验

Table 4 Protection test on mouse of GB742 strain

抗血清	抗血清量 (ml)	攻击菌株	肉汤培养物 (ml)	攻击动物数 (只)	每只动物死亡时间(小时)					死亡率 (%)	保护指数
					1	2	3	4	5		
GB742 对照	0.3	GB742	0.5	5	65	74	96	190	—	80	18.2
	0.3	0257	0.5	5	77	79	139	150	175	100	19.6
	0	GB742	0.5	5	50	62	77	96	108	100	30.3
0257 对照	0.3	0257	0.5	5	74	82	101	259	—	80	14.8
	0.3	GB742	0.5	5	86	101	120	240	—	80	17.4
	0	0257	0.5	5	46	70	72	86	120	100	30.3

注:“—”表示不死亡。

表 5 动物的病理观察结果

Table 5 Observation of pathogenic on animals

实验动物	感染途径	死亡动物数(只)/ 实验动物数(只)	病 理 解 剖								显微病理观察
			毛被	皮下	肝脏	脾脏	鼠腺淋巴结	十二指肠	肠系膜	其他	
小白鼠	皮下 腹腔	5/6	4	3	1	1	2	3	3		未 镜 检
		5/6	4	3	1	1	2	3	3	5	
小家鼠	皮下 腹腔	8/10	4	3	1	1	1	3	3		(1) 肝呈多灶性脓肿 (2) 肝浊肿
		10/10	4	3	1	1	1	3	3		
高原鼠兔	皮下 腹腔	9/10	4	3	1	1	1	3	3		(1) 肝呈多灶性脓肿 (2) 肝浊肿 (3) 肝窦瘀血
		10/10	4	3	1	1	1	3	3	5	
黄毛鼠	皮下 腹腔	0/10 0/10		3		1	1				无明显病变
家兔	腹腔	2/5			2	2	2	3	3		未镜检

注:表内各实验组的对照动物,经解剖观察无病变。

病理解剖下所列数字 1=肿大; 2=稍肿大; 3=充血; 4=松散; 5=腹腔内积液。

国南方,这一看法似乎是有事实依据的。

韦太夫雷登沙门氏菌的生理特性主要是,该菌在 2—4°C 时不生长,在 22°C 下生长可见,最适生长温度是 37°C。细菌经 45°C 处理后约有半数细胞被灭活,60°C 时全部死亡。分离菌株在 pH 5.0 条件下初始生长,但当 pH 超过 9.0 时仍能生长良好。此外,它在 pH 7.4 下于 37°C 培育,其生长对数期大约从第 5 小时开始。该菌株的继代时间约为 42 分钟。这些生理特性可使韦太夫雷登沙门氏菌较适宜于在 37°C 左右的动物机体内寄生和繁殖。因此,它对小白鼠和多种野鼠呈现明显的致病力,使被感染动物在一周左右发病死亡。GB 742 菌侵入机体后能够在动物脏器和消化道内大量繁殖,致使动物肝、脾肿大、瘀血和浊肿,并使脏器发生不可逆转的肝多灶

性脓肿病变而死亡。所以,韦太夫雷登沙门氏菌不仅是对人、猪、蛋,而且也是对家猫和多种野栖啮齿动物等,具有明显病原特征的微生物。

### 参 考 文 献

- [1] 梁俊勤:《灭鼠和鼠类生物学研究报告》第四集,科学出版社,北京,35—42,1981。
- [2] Edwards, P. R. & W. Hewing: *Identifi. of Enterobac.* 3rd ed., London, 1972.
- [3] 中国科学院微生物研究所细菌分类组:《一般细菌常用鉴定方法》,科学出版社,北京,187—190,1978。
- [4] 北京大学制药厂:《微生物学通报》,3(3): 33—38, 1976。
- [5] 上海市卫生防疫站:《卫生防疫检验——细菌检验》,上海科学技术出版社,上海,470—471, 1979。
- [6] Kauffmann, F. (方景燧等译):《肠杆菌科》,人民卫生出版社,北京,第 36 页,1964。

## IDENTIFICATION OF STRAIN OF *SALMONELLA WELTEVREDEN* ISOLATED FROM CAT AND STUDY OF ITS BIOLOGICAL CHARACTERISTICS

Liang Junxun

(Northwest Plateau Institute of Biology, Academia Sinica, Xining)

A strain of *Salmonella weltevreden* isolated from the liver of a cat. This strain reacted positively in certain biochemical and serological tests, and the antigen system was found to be 3, 10:r:Z<sub>6</sub>, and belong to E<sub>1</sub> group.

The bacteria could grow over pH 9.0 and they all have non-activity at 60°C. As showing in growth curve, the reproduction time of bacteria could continue in phase logarithmic for 20—25 hours. The

time of a generation was 42 minutes.

*S. weltevreden* is a pathogenic microorganism which may bring about a variety of diseases and death of some wild rodents by injuring the liver, spleen and digestive system of those animals.

### Key words

Cat; *Salmonella weltevreden*; Biological characteristics