

## 沙门氏菌的营养缺陷型菌株——琼雷株的鉴定

宋元钺 何晓青

(江西省卫生防疫站, 南昌)

梁俊勳

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁)

从海南岛和雷州半岛的自毙鼠体内分离到两株沙门氏菌, 经鉴定为无动力的营养缺陷型, 定名为琼雷株。该菌株在普通肉膏汤琼脂上生长不良, 在 Davis' 基本培养基上不生长, 不能利用无机铵作为氮源。经试验, 为谷氨酸营养缺陷型, 仅能在加有 0.5 mg/ml 谷氨酸的基本培养基内生长, 在加入其他氨基酸和 B 族维生素的基本培养基内则不能生长。但可在加入组氨酸、缬氨酸、蛋氨酸和脯氨酸 4 种混合氨基酸的基本培养基内生长。维生素 B<sub>1</sub> 有促进生长的作用。两菌株的生化特性相同, 符合肠杆菌科和沙门氏菌属的定义, 能被沙门氏菌 O-1 噬菌体裂解, 血清学试验证明为 C<sub>1</sub> 群沙门氏菌, 抗原式为 6<sub>1</sub>, 6<sub>2</sub>, 7:-:-。

**关键词** 沙门氏菌 C<sub>1</sub> 群; 沙门氏菌琼雷株; 谷氨酸营养缺陷型

沙门氏菌是肠道的重要病原菌, 菌型复杂, 分布广泛。1984 年全世界已有 2,107 个菌型<sup>[1]</sup>, 但无动力的沙门氏菌的营养缺陷型菌株则较少见。我们对两株无动力的沙门氏菌营养缺陷型菌株进行了鉴定, 现将结果报告如下。

### 材料与方 法

#### (一) 菌株来源

MC 7 菌株系广东省湛江地区卫生防疫站于 1968 年 8 月从海南岛的陵水县自毙的针毛鼠 (*Rattus flavipectus*) 体内分离; MC 21 菌株系广东省廉江县安铺鼠防站于 1979 年 9 月从安铺镇自毙的黄胸鼠 (*Rattus flavesceus*) 体内分离。

营养缺陷型试验对照用的维沙门氏菌 (*S. pullorum*)、猪霍乱沙门氏菌 (*S. choleraesuis*) 和汤卜逊沙门氏菌 (*S. thompson*) 均由中国药品生物制品检定所供给。鼠伤寒沙门氏菌 (*R. typhimurium*)、肠炎沙门氏菌 (*S. enteritidis*)、伦敦沙门氏菌 (*S. london*) 和施腾达沙门氏菌 (*S. steindal*) 均为本实验室所保存。

#### (二) 血清和噬菌体

26 种和 144 种沙门氏菌因子血清系由成都

生物制品研究所供给。沙门氏菌 O-1 噬菌体 (Cherry, 1954)<sup>[2]</sup> 系由中国药品生物制品检定所从国外引进, 由本站生产制备, 效价为 10<sup>7</sup> RTD, 1.5 × 10<sup>11</sup> pfu/ml。

#### (三) 营养缺陷型试验培养基

1. 基础液: 采用 Davis' 基本培养基<sup>[3]</sup>, 即 1 L 重蒸馏水中含有 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.3g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3.2g, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.8g, NaNO<sub>3</sub> 1.0g, 葡萄糖 2.0g, pH 7.0—7.2。

2. 氨基酸和 B 族维生素: L-谷氨酸、L-脯氨酸、L-赖氨酸、L-精氨酸、L-组氨酸、DL-色氨酸、L-苯丙氨酸、L-酪氨酸、L-缬氨酸、L-胱氨酸、甘氨酸、DL-丝氨酸、DL-亮氨酸、DL-丙氨酸、L-天冬氨酸、L-异亮氨酸、L-天冬酰胺、DL-蛋氨酸、DL-苏氨酸和羟脯氨酸共 20 种。维生素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub> (吡多醇)、PP (烟酰胺) 和叶酸, 共 5 种。

3. 氨基酸和维生素用量: 各种氨基酸用量按 Davis' 和 Solowey 等人<sup>[4]</sup> 的均为 0.5 mg/ml。4 种和 20 种混合氨基酸用量亦为每种 0.5 mg/ml。各种 B 族维生素用量均为 0.01 mg/ml。各种培养基配好后, 调 pH 7.0—7.2, 分装中试管 5 ml/支。

本文于 1986 年 6 月 4 日收到。

8 磅 15 分钟灭菌,备用。

(四) 菌株鉴定方法

按常规方法进行。生化试验参照 Edwards 等的方法<sup>[3]</sup>。

(五) 营养缺陷型试验

1. 菌液: 试验用菌株分别接种于含 1% 豚豚的普通琼脂斜面上, 37℃ 培养 18—24 小时, 取斜面菌苔 1—2 环, 用无菌盐水制成悬液, 离心, 用生理盐水洗涤 3 次, 再制成菌悬液进行比浊计数, 最后用盐水稀释成含菌量 3,000 个/ml。

2. 培养: 将上述菌液接种含氨基酸和维生素的培养基, 每管 0.1 ml, 并以肉汤和未加营养成分的 Davis' 基本培养基作对照。接种后置 37℃ 培养 24—48 小时, 观察生长结果。

结 果

(一) 形态与染色

革兰氏阴性短杆菌, 无荚膜、无芽胞、无鞭毛, 不能运动。为了确定其鞭毛的有

无, 用肝浸液及其琼脂斜面, 肝浸液与其半固体交替等三种方法, 分别连续传 10 代及用软琼脂诱导, 均未见有动力, 经电镜观察已证实, 未发现有鞭毛。

(二) 培养特性和营养缺陷类型

MC 7 和 MC 21 在普通营养琼脂和肉膏汤琼脂平板上生长不良, 37℃ 18—24 小时肉眼看不见菌落生长, 或仅接种处有很薄的菌苔生长; 在肝浸液琼脂平板上生长良好, 37℃ 18—24 小时菌落直径达 2 mm 大小, 呈圆形, 边缘整齐, 光滑湿润, 无色半透明; 在 SS 琼脂上, 37℃ 18—24 小时不生长, 延至 48 小时后可见很小的菌落。在肉汤中生长缓慢; 在肝浸液中生长旺盛, 37℃ 18—24 小时呈均匀混浊。在 Davis' 基本培养基中不生长, 而对照用的 B-F 群常见的沙门氏菌则生长旺盛 (见表 1)。说明 MC 7 和 MC 21 菌株不能利用铵盐作为氮源。

表 1 在 Davis' 基本培养基上的生长结果

Table 1 Results of growth in Davis' minimal medium

菌 株 Strain tested	Davis' 基本培养基 Davis' minimal medium	不含葡萄糖的 Davis' 基本培养基 Davis' minimal medium free from glucose	肉膏汤培养基 Meat extract broth medium
MC 7	—	—	+
MC 21	—	—	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	+	—	+
<i>S. choleraesuis</i>	+	—	+
<i>S. thompson</i>	+	—	+
<i>S. enteritidis</i>	+	—	+
<i>S. london</i>	+	—	+
<i>S. stendal</i>	+	—	+

为了进一步探明两菌株对有机营养物质的需要和营养缺陷类型, 用 20 种氨基酸和 5 种 B 族维生素, 以单种或多种混合加入 Davis' 基本培养基内, 观察生长情况, 并以维沙门氏菌(无动力)和汤卜逊沙门氏菌作对照, 结果见表 2。由表 2 看出, MC7 和 MC 21 菌株在氨基酸和维生素中, 只能

在加有谷氨酸的 Davis' 基本培养基内生长, 而在加入其他氨基酸和 B 族维生素的基本培养基内则不能生长, 证明两菌株为谷氨酸缺陷型。此外, 可在加有组氨酸、缬氨酸、蛋氨酸和脯氨酸 4 种混合氨基酸的基本培养基内生长, 说明该混合氨基酸可以代替谷氨酸, 而这 4 种氨基酸分别代

表 2 MC 7 和 MC 21 菌与对照菌的营养需要

Table 2 Nutrition requirement of MC 7 and MC 21 compared with reference *Salmonella* strains

Davis' 基本培养基含有下列氨基酸或维生素 Davis' medium containing:		MC 7	MC 21	<i>S. pullorum</i>	<i>S. thompson</i>
L-谷氨酸	L-Glutamic acid	+	+	-	+
L-脯氨酸	L-Proline	-	-	-	+
L-赖氨酸	L-Lysine	-	-	-	+
L-精氨酸	L-Arginine	-	-	-	+
L-组氨酸	L-Histidine	-	-	-	+
DL-色氨酸	DL-Tryptophan	-	-	-	+
L-苯丙氨酸	L-Phenylalanine	-	-	-	+
L-酪氨酸	L-Tyrosine	-	-	-	+
L-缬氨酸	L-Valine	-	-	-	+
L-胱氨酸	L-Cystine	-	-	-	+
甘氨酸	Glycine	-	-	-	+
DL-丝氨酸	DL-Serine	-	-	-	+
DL-亮氨酸	DL-Leucine	-	-	-	+
DL-丙氨酸	DL-Alanine	-	-	-	+
L-天冬氨酸	L-Aspartic acid	-	-	-	+
L-异亮氨酸	L-Isoleucine	-	-	-	+
L-天冬酰胺	L-Asparagine	-	-	-	+
DL-蛋氨酸	DL-Methionine	-	-	-	+
DL-苏氨酸	DL-Threonine	-	-	-	+
L-羟脯氨酸	L-Hydroxyproline	-	-	-	+
4 种氨基酸	4 of amino acids*	+	+	-	+
20 种氨基酸	20 of amino acids	+	+	-	+
维生素 B <sub>1</sub>	Vitamin B <sub>1</sub>	-	-	-	+
维生素 B <sub>2</sub>	Vitamin B <sub>2</sub>	-	-	-	+
维生素 B <sub>6</sub>	Vitamin B <sub>6</sub>	-	-	-	+
维生素 PP	Vitamin PP	-	-	-	+
叶酸	Folic acid	-	-	-	+
5 种维生素	5 of vitamins	-	-	-	+
199 培养基	199 medium	+	+	+	+
肉膏汤	Meat extract broth	+	+	+	+
Davis' 基本培养基	Davis' minimal medium	-	-	-	+

\* i. e. L-histidine, L-valine, DL-methionine and L-proline.

表芳香及组氨酸族、丙酮酸族、天冬氨酸族和谷氨酸族 4 个不同的氨基酸族。对照的维沙门氏菌其营养需要更为复杂, 在 20 种氨基酸和 5 种 B 族维生素内均不能生长, 只能在复杂的 199 组织培养液内生长。

从表 1、2 结果看出, 对照的其他沙门氏菌的生长无需有机生长因子, 说明一般的沙门氏菌可利用葡萄糖作碳源、铵盐作

氮源生长。此外, 经试验证实, MC 7 和 MC 21 在单种维生素培养基内不能生长, 但在含谷氨酸的 Davis' 基本培养基内加入维生素 B<sub>1</sub> 则生长很好, 表明 B<sub>1</sub> 对该菌株生长有促进作用。

### (三) 生化特性

生化试验结果表明两株菌的生化反应特性相同。氧化酶阴性, O/F 试验为发酵

型。发酵葡萄糖产酸产气,能发酵甘露醇、麦芽糖和迟缓发酵阿拉伯糖、木糖和山梨醇。不发酵乳糖、蔗糖、卫矛醇、侧金盏花醇、肌醇、鼠李糖、蕈糖、纤维二糖、棉子糖、菊糖、水杨苷和七叶苷。 $\beta$ -半乳糖苷酶试验阴性。硝酸盐还原和甲基红试验阳性。V. P、靛基质、 $H_2S$  (TSI)、尿素酶、KCN 生长、明胶液化、丙二酸盐、柠檬酸盐、甘油品红和苯丙氨酸脱氨酶、赖氨酸及鸟氨酸

脱羧酶、精氨酸双水解酶均为阴性。 $\alpha$ -酒石酸盐、L-酒石酸盐和 i-酒石酸盐阴性,粘液酸阳性。符合肠杆菌科和沙门氏菌属的定义。

根据 MC 7 和 MC 21 菌株的主要生化特性与  $C_1$  群沙门氏菌 88 个菌型和常见的  $C_1$  群的丙型副伤寒沙门氏菌、猪霍乱沙门氏菌及猪伤寒沙门氏菌相比较<sup>[6]</sup>, 它们的生化特性均不相同 (表 3)。

表 3 MC 7 和 MC 21 菌株与  $C_1$  群常见的沙门氏菌的主要生化特性比较

Table 3 Biochemical characteristics of MC7 and MC21 compared with  $C_1$  group *Salmonella* serotypes

特 性 Characteristic	$C_1$ 群 88 个菌型 88 serotypes of $C_1$ group	丙型副伤寒 沙门氏菌 <i>S. paratyphi</i> C	猪霍乱沙门氏菌 <i>S. choleraesuis</i>	猪伤寒 沙门氏菌 <i>S. typhisuis</i>	MC 7, MC 21
阿拉伯糖 Arabinose	+97.8	d	—	+	+ <sup>1</sup>
卫矛醇 Dulcitol	+95.6	+	×	×	—
肌醇 Inositol	d 33.0	—	—	—	—
鼠李糖 Rhamnose	+100.0	+ <sup>1-3</sup>	+	+ <sup>1-3</sup>	—
蕈糖 Trehalose	+98.7	+ <sup>1-3</sup>	—	+ <sup>1-3</sup>	—
木糖 Xylose	+100.0	+	+	+	+ <sup>1</sup>
甘油 Glycerol, Stern's	+91.0	—	—	—	—
硫化氢 $H_2S$ , TSI	+97.8	+	d	—	—
明胶 Gelatin	d 23.0	—	—	—	—
d-酒石酸盐 d-Tartarate	+95.6	+ <sup>1-2</sup>	+	—	—
L-酒石酸盐 L-Tartarate	d 77.2	×	—	—	—
i-酒石酸盐 i-Tartarate	d 41.1	—	×	—	—
柠檬酸钠 Sodium citrate	+98.9	+	+ <sup>1-3</sup>	—	—
粘液酸 Mucate	+92.3	—	×	—	+ <sup>2</sup>

注 + 1 天阳性; +<sup>1-3</sup> 1—3 天阳性; — 14 天阴性; × 迟缓或不规则阳性或阴性; d 不同生化型。

+ Positive in 1 day. +<sup>1-3</sup> Positive in 1—3 days. —Negative in 14 days. × Late or irregularly positive or negative. d Different biochemical types.

#### (四) 噬菌体裂解试验

用沙门氏菌 O-I 噬菌体与 MC 7 和 MC 21 菌株的肉汤培养物作 200 倍稀释后进行点斑和铺菌法裂解试验, 结果呈完全融合性裂解。

#### (五) 血清学特性

MC 7 和 MC 21 与沙门氏菌属的 A-F  $O$  群多价血清和  $O_{6_1}$ 、 $O_{6_2}$  及  $O_7$  因子血清进行玻片凝集试验, 结果可达 (+++). 用  $O_{6_1}$ 、 $O_{6_2}$  和  $O_7$  因子血清作试管定

量凝集试验, 结果其凝集效价均达到原血清效价的 1/2, 即  $O_{6_1}$  血清 1:640++ (原血清效价 1:1,280)、 $O_{6_2}$  血清 1:80++ (原血清效价 1:160) 和  $O_7$  血清 1:640++ (原血清效价 1:1280)。

为了进一步证明其  $O$  抗原的结构, 以 MC 21 菌株为代表, 免疫家兔制备免疫血清。然后与标准的汤卜逊沙门氏菌 ( $6_1$ ,  $6_2$ , 7:k:1.5) 加热菌液 (100℃ 2.5 小时) 免疫家兔制备的  $O$  血清进行交互吸收试

表 4 MC 21 与汤卜逊沙门氏菌血清交互凝集吸收试验结果

Table 4 Cross agglutination and cross absorption between MC 21 and *Salmonella thompson*

抗 原 Antigen for agglutination	MC 21 血 清 Anti MC 21 sera		汤卜逊沙门氏菌(O) 血清 Anti <i>S. thompson</i> sera	
	未 吸 收 Unabsorbed	经汤卜逊沙门氏菌吸收 Absorbed by <i>S. thompson</i>	未 吸 收 Unabsorbed	经 MC 21 吸收 Absorbed by MC 21
MC 21	1280	—*	2560	—
<i>S. thompson</i>	1280	—	2560	—

\*— 1:40 阴性 (negative)

验, 结果两菌均能吸尽 (见表 4)。证明两菌的 O 抗原相同。MC 7 和 MC 21 具有  $6_1, 6_2$  和 7 抗原, 属 C 群沙门氏菌, 抗原式为  $6_1, 6_2, 7:-:-$ 。

#### (六) 对动物致病力

根据梁俊勤的试验结果<sup>[7]</sup>, 证实被检菌株对草原兔尾鼠、灰仓鼠和檉柳沙鼠有很强的致病力。以 0.5 ml 菌液 (含 2.5 亿个菌) 作腹腔注射进行感受性试验, 并以生理盐水作对照。结果 3 种鼠分别于感染后 2、4 和 7 天内死亡, 而对照组动物均存活。

MC 7 和 MC 21 菌株的形态、培养特征、生化特性、噬菌体裂解和血清学反应均相同。两菌株的生化特性符合肠杆菌科和沙门氏菌属的定义, 它们是无动力、血清学属 C 群的沙门氏菌, 且为谷氨酸的营

养缺陷型菌株。因此, 将此菌株定名为琼雷株 (Qionglei strain)。

#### 参 考 文 献

- [1] WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*: Antigenic Formulae of the *Salmonella*, 1984.
- [2] Cherry, W. B. et al.: *J. Lab. Med.*, 44: 51, 1954.
- [3] Davis, D. B.: *J. Biochemistry*, 165: 381, 1949.
- [4] Davis, F. and M. Soloway: *J. Bacteriol.*, 59: 361, 1950.
- [5] Edwards, P. R. et al: *Identification of Enterobacteriaceae*, 3rd ed., Burgess Publishing Co., 1972.
- [6] Kauffmann, F.: *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*, Munksgaard Copenhagen, pp. 156—163, 1966.
- [7] 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, 第 35—42 页, 1981。
- [8] Krieg, N. R. et al.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, Williams and Wilkins, pp. 427—458, 1984.

## AN AUXOTROPHIC ( $\text{Glu}^-$ ) MUTANT, QIONGLEI STRAIN, OF GENUS *SALMONELLA*

Song Yuanti    He Xiaoqing

(Jiangxi Hygienic and Anti-epidemic Station, Nanchang)

Liang Junxun

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

Two non-motile *Salmonella* cultures, MC7 and MC21, biochemically identical, belong to  $\text{C}_1\text{O}$ -serogroup, isolated from *Rattus flavipectus* in Hainan Island and from *Rattus flavescens* in Leizhou Peninsula respectively, both auxotrophic in glutamic acid defective ( $\text{Glu}^-$ ), and named Qionglei strain by the authors' suggestion, are reported in present paper.

These two cultures showed poor growth on meat extract agar, no growth in Davis' minimal medium. Ammonium salts are not utilized as the sole nitrogen source. Testing by 20 of amino acids, 5 of group B vitamins,

only growth in the minimal medium containing 0.5mg/ml glutamic acid alone, no growth in medium containing other amino acid and group B vitamins. But growth appeared in the medium containing composed amino acids of histidine (aromatic and histidine group), valine (pyruvic group), methionine (aspartic group), proline (glutamic group). Growth could to be promoted by vitamin  $\text{B}_{12}$ .

### Key words

$\text{C}_1$  group of *Salmonella*; Qionglei strain;  
Auxotrophic ( $\text{Glu}^-$ ) mutant