

# 食蟹猴肠道志贺氏菌的分离和鉴定

邱索平, 凌华枢, 陈文 (从化出入境检验检疫局, 广东从化510900)

**摘要** [目的] 为志贺氏菌流行病学的调查和相关疾病的防治提供依据。[方法] 从2~3岁的健康食蟹猴的230份新鲜粪便样品中分离可疑菌株, 并对分离到的菌株进行氧化酶实验、血清型分型和生化实验。[结果] 从230份食蟹猴新鲜粪便样品中分离出3株可疑菌株, 阳性检出率为1.3%。通过形态学观察、生化实验和血清学检测, 3株可疑菌株均被鉴定为志贺氏菌B群, 其中2株血清型为2型, 1株血清型为Y变种, 属于主要流行菌群。3株可疑菌株的生化反应结果符合志贺氏菌的生化反应特点。[结论] 该研究可保证出口试验猴无感染志贺氏菌的要求。

**关键词** 食蟹猴; 志贺氏菌; 生化反应; 血清型

中图分类号 Q503 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)33-10730-01

## Isolation and Identification of Shigella from the Intestinal Faeces of Macaca fascicularis

QIU Suo-ping et al. (Conghua Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Conghua, Guangdong 510900)

**Abstract** The aim of the research was to provide basis for the epidemiological investigation of Shigella and the control of the correlative diseases. Suspicious strains were isolated from 230 fresh dejecta samples of 2~3-year-old health Macaca fascicularis. And oxidase test, serotyping test and biochemical test were conducted on the isolated strains. 3 suspicious strains were isolated from 230 fresh dejecta samples of M. fascicularis and the positive detection rate was 1.3%. According to morphological observation, biochemical test and serological detection, 3 suspicious strains were all identified as Shigella group B, among which the serotype of 2 strains was 2a type and that of 1 strain was Y variation. They belonged to the main epidemic bacterial colonies. The biochemical reaction results of 3 suspicious strains accorded with the biochemical reaction characteristics of Shigella. The research can ensure the requirement that the exported test monkey should be not infected by Shigella.

**Key words** Macaca fascicularis; Shigella; Biochemical reaction; Serotype

食蟹猴(Macaca fascicularis)较猕猴体形小,具有性情温顺、价廉等优点,主要用于人类急性疾病(食物相关疾病)、繁殖相关的癌症(乳腺癌、子宫癌等)、心血管疾病、糖尿病、药物成瘾性、骨质疏松症、繁殖功能、各种感染性疾病模型(包括结核和AIDS)等方面的研究。

志贺氏菌(Shigella)是人和灵长类的肠道致病菌,为乙类传染病。全球每年因志贺氏菌感染的死亡人数估计为40万人<sup>[1]</sup>。我国1994~2003年每年死亡人数在144~521例。病人(发病动物)和带菌者(动物)是主要的传染源,传播途径主要为粪-口传播。志贺氏菌发病所需细菌总数较低,只需10~100个细菌就可以导致发病<sup>[2]</sup>。

志贺氏菌可分为4个群:A群,痢疾志贺氏菌;B群,福氏志贺氏菌;C群,鲍氏志贺氏菌;D群,宋内氏志贺氏菌<sup>[3]</sup>。A群致病强烈而迅速,B群和D群是痢疾的主要流行菌型,C群主要见于印度,其他国家出现C群的感染常见于输入病例。

志贺氏菌在食蟹猴体内存在无症状带菌现象,是潜在的危险源,危害动物和实验室人员的健康,影响实验结果的可靠性,污染环境。出口实验猴要求无志贺氏菌感染,该实验从待出口的2~3岁的健康食蟹猴新鲜粪便样品中进行志贺氏菌分离鉴定,从230份样品中分离到3株可疑菌株。实验保证了出口实验猴无感染志贺氏菌的要求,同时也为志贺氏菌流行病学的调查和疾病防治提供了有价值的材料。

## 1 材料与方 法

**1.1 食蟹猴** 均来自广东某动物养殖场。

**1.2 试剂和仪器** HE培养基、麦康凯营养琼脂(M<sub>AC</sub>)、三糖铁琼脂(TSI)、肠杆菌科生化鉴定管、氧化酶试纸均购自广州环凯,恒温培养箱(上海浦东荣丰),高压锅(广州华南医疗器械有限公司),志贺氏菌多价血清(兰州生物制品厂),志贺氏

菌属分型因子血清(兰州生物制品厂),普通光学显微镜(重庆光学仪器厂)。

**1.3 样品采集** 将高压灭菌后的棉拭子用无菌生理盐水液浸润后直肠采样或肛外采集新鲜粪便,采样后的棉拭子放入装有4 ml甘油盐水缓冲液的试管保存,共采样230份。

**1.4 细菌分离培养** 将采集好的样品直接涂布在HE琼脂平板(中选择性)和MAC琼脂平板(低选择性)上,(36±1)恒温培养18 h。挑取可疑单个菌落同时接种三糖铁斜面和葡萄糖半固体管各1管,(36±1)恒温培养18 h。根据培养情况初步判定是否为志贺氏菌。为防止漏检挑取4~5个可疑菌落,如果平板上可疑菌落总数少于5个,则挑取所有可疑菌落作确认。

**1.5 革兰氏染色检查和氧化酶实验** 三糖铁斜面培养基和葡萄糖半固体管都判作志贺氏菌阳性的,挑取三糖铁斜面培养基上的菌落做常规革兰氏染色后镜检,同时将挑取的菌落作氧化酶实验。

**1.6 血清型分型** 革兰氏染色和氧化酶实验均为阴性者,挑取三糖铁斜面培养基上的培养物作玻片凝集实验。志贺氏菌多价血清作凝集实验,如果K抗原存在而不出现凝集,应将菌液100 中隔水煮沸1 h再作凝集实验;出现凝集者,则用相对应的单价血清作玻片实验,确定其血清型。

**1.7 生化实验** 在血清型分型的同时,作进一步生化实验,即葡萄糖铵、西蒙氏柠檬酸盐、赖氨酸和鸟氨酸脱羧酶、pH值7.2尿素、氰化钾生长、以及水杨苷和七叶苷的分解。生化反应相符者,进一步作5%乳糖发酵、甘露醇、棉子糖和甘油发酵和靛基质实验。

## 2 结果与分析

**2.1 猴肠道志贺氏菌检出结果** 从230份猴肛门拭子中分离出3株志贺氏菌临床分离株,分别命名CZ1、CZ2、CZ3。阳性检出率为1.3%。

**作者简介** 邱索平(1977-),男,安徽天长人,硕士,助理兽医师,从事进出口实验猴检验检疫和实验室方面的研究工作。

收稿日期 2007-06-20

(下转第10736页)

(上接第10730页)

**2.2 分离培养结果** 分离的3株临床可疑菌落在HE琼脂培养基上(36±1) 恒温培养18 h 形成光滑、圆形、无色半透明、直径1.5 mm左右的露珠状菌落。三糖铁斜面培养基斜面不变色(不发酵乳糖和蔗糖), 底层发酵葡萄糖产酸变黄, 不产气。葡萄糖半固体管产酸变黄无动力。

**2.3 革兰氏染色检查和氧化酶实验结果** 3株临床分离株均为革兰氏阴性, 无芽孢, 呈短杆菌状, 大小均匀, 两端钝圆。

氧化酶实验呈阴性。

**2.4 血清型分型结果** 3株临床分离株与志贺氏多价血清均在30 s内出现凝集现象, 生理盐水对照不出现凝集现象。用志贺氏菌属分型因子血清分型, 3株临床分离株均为志贺氏菌B群, CZ1和CZ2为B群2型, CZ3为B群y变种。

**2.5 生化鉴定结果** 临床可疑菌株作常规生化鉴定, 生化反应结果符合志贺氏菌生化反应特点(表1)。

表1

3株志贺氏菌临床分离株生化反应结果

生化试剂	西蒙氏柠檬酸盐	赖氨酸脱羧酶	鸟氨酸脱羧酶	葡萄糖铵	尿素	氰化钾	水杨苷	七叶苷	5%乳糖	甘露醇	棉子糖	甘油	靛基质
CZ1(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)
CZ2(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)
CZ3(Y变种)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

注:“+”阳性,“-”阴性。(+)培养72 h。

### 3 讨论

从HE和M<sub>AC</sub>琼脂平板上挑选出可疑菌落, 在经三糖铁斜面、葡萄糖半固体管筛选, 结合血清学实验和生化鉴定, 最终从230份健康食蟹猴粪便中分离并鉴定3株志贺氏菌, 临床分离株CZ1和CZ2均为B群2型, CZ3为B群y变种, 属于主要流行菌群。

杨宇容<sup>[4]</sup> 调查表明, 1~3岁的食蟹猴感染率最低, 感染率为4.6%。该实验所选食蟹猴由于出口要求, 其年龄均在2~3岁, 感染率为1.3%, 低于杨宇容的报道结果, 可能是该猴场猴群的饲养管理较为规范、科学, 另外该实验的食蟹猴均为经过临床观察后挑选的健康活泼的食蟹猴, 不能代表普通猴群。

许多学者<sup>[4-6]</sup> 报道了从健康食蟹猴体内分离到志贺氏菌, 说明该菌在食蟹猴多见无症状带菌现象。该次检测也是从健康食蟹猴体内检测到志贺氏菌。人群对菌痢普遍易感, 病后免疫力持续时间较短, 不同型别菌株间无交叉免疫, 短

时间内也可能再次发生感染。人类该病发病率高, 其中急性中毒型菌痢容易误诊, 危及生命。志贺氏菌带菌猴与正常食蟹猴无异样, 但粪便中含有大量志贺氏菌, 感染其他健康食蟹猴, 感染饲养员和实验员, 污染环境。受应激刺激或者继发感染, 会导致猴群大面积菌痢暴发, 危害严重。

### 参考文献

- [1] KOILOFF K L, WINICKOFF J P, IVANOFF B, et al. Global burden of *Shigella* infections: Implications for vaccine development and implementation of control strategies[J]. *Bull World Health Organ*, 1999, 77: 651 - 666.
- [2] TREVEJO R T, ABBOTT S L, WOLFE M I, et al. An untypeable *Shigella flexneri* strain associated with an outbreak in California[J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37: 2352 - 2353.
- [3] HALE T L. Genetic basis of virulence in *Shigella* species[J]. *Microbiol Rev*, 1991, 55: 206 - 224.
- [4] 杨宇容. 食蟹猴肠道志贺氏菌感染情况的调查[J]. *中国实验动物学报*, 2000, 8(1): 31 - 35.
- [5] 胡传活, 符明泰, 韦毅, 等. 广西食蟹猴志贺氏菌感染率、血清型调查及药物敏感实验[J]. *畜牧与兽医*, 2002, 34(5): 33 - 34.
- [6] 盘宝进, 罗兆飞, 符明泰, 等. 出口食蟹猴志贺氏菌的分离和初步鉴定[J]. *广西畜牧兽医*, 2002, 18(2): 6 - 7.