

# 蛇源变形杆菌的分离鉴定\*

## Isolation and Identification of *Proteus* from Diseased Snakes

李方青      曾维铭\*\*      周维官\*\*      陈业良\*\*  
Li Fangqing    Zeng Weiming    Zhou Weiguan    Chen Yeliang  
杨 萍      韦 平\*\*\*      毕朝斌\*\*\*\*      李振林  
Yang Ping      Wei Ping      Bi Chaobin      Li Zhenlin

(广西卫生管理干部学院微生物实验室 南宁 530021)  
(Laboratory of Microbiology, Guangxi Health Administration College, Nanning, 530021)

**摘要** 取广西南宁、河池和柳州等地 140 条病死及濒死蛇的心血等作细菌培养。结果分离出细菌 232 株；分类鉴定发现 79 株为变形杆菌，占检出菌的 34.1%；种的分类表明，63 株为普通变形杆菌，16 株为奇异变形杆菌；随机抽取其中 5 株进行毒素测定，均发现有肠毒素产生；做动物试验可致小白鼠死亡；做回归试验，可见蛇血带菌。说明，此变形杆菌具有一定的毒力，是造成蛇感染的常见菌之一，为人兽共患病的传染源，不可忽视。

**关键词** 蛇 变形杆菌 分离 鉴定 肠毒素

中图法分类号 Q 939.122

**Abstract** 232 bacteria were isolated from the heart blood samples of 140 die of illness or dying snakes collected in Nanning, Hechi and Liuzhou of Guangxi; The results of identification and classification revealed that 79 bacterial isolates belonged to the genus of *Proteus*, among them *P. vulgaris* was the dominant species with 63 isolates, and *P. mirabilis* with 16 isolates. Toxin test with 5 randomly chosen isolates showed positive. Pathogenicity tests with mouce and snake resulted in death and bacteremia respectively. The results demonstrated that proteus as a conditioned pathogen is an important agent in zoonosis.

**Key words** snake, proteus, isolation, identification, enterotoxin

变形杆菌广泛存在于人和动物的粪便、污水、土壤、空气及临床标本中。它们属于腐生菌和肠道寄生菌，在特殊条件下可引起某些疾病。近年来，国内外学者陆续发现变形杆菌引起犊牛、绵羊、狗、鹿、灰鼠的腹泻，牛和猪的败血症，鼠类肺炎<sup>[1]</sup>；鸡传染性眼炎，化脓性

2000-04-13 收稿, 2000-06-19 修回。

\* 广西自然科学基金项目(桂科自 9912016)和广西科学院科技基金项目(桂科院研 9808)。

\*\* 广西科学院生物研究所, 南宁, 530003(Institute Biology, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, 530003)。

\*\*\* 广西大学动物科技学院, 南宁, 530005(Veterinary College, Guangxi University, Nanning, 530005)。

\*\*\*\* 广西畜牧局兽医处, 南宁, 530022(Division of Veterinary, Guangxi Animal Husbandry Bureau, Nanning, 530022)。

骨髓炎、败血症<sup>[2]</sup>；变形杆菌与其他细菌混合感染鳖，引起鳖的穿孔病和白斑病<sup>[3]</sup>，而这些动物大多数又均与人类的生活密切有关。目前人工养殖蛇除部分作为药用外，相当部分供应于饮食。但有关变形杆菌在蛇体中的带菌情况的报道颇为鲜见。作者在蛇细菌性疾病诊断中，分离和收集了来自心血的变形杆菌菌株，并对其分离鉴定，现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 病蛇

供试蛇 140 条，主要表现为表皮化脓或（和）鳞片间皮下出血，有的口吐白沫。其中王锦蛇 40 条，灰鼠蛇 100 条，均来自广西区内的南宁、柳州和河池等地养蛇场。

### 1.2 实验动物

小白鼠 12 只，体重 20 g~25 g，家兔 2 只，2 000 g 左右，均由广西医科大学动物实验中心提供；健康灰鼠蛇 12 条，体重 100 g~200 g，由广西某养蛇场提供。

### 1.3 培养基及药敏纸片

培养基由上海市医学化验所试剂厂提供，生化鉴定管和药敏纸片由浙江省军区后勤部卫生防疫检验所生产。

### 1.4 细菌的分离培养与鉴定

无菌操作取病死及濒死蛇的心血，用营养肉汤增菌后再分别接种于鲜血琼脂和 SS 平板上。37℃ 培养 24 h 后，挑取平板上生长的菌落参照文献 [4] 和文献 [5] 进行细菌生化试验并鉴定到种，然后从被检出的变形杆菌中随机抽取 5 株作人工感染试验。

### 1.5 人工感染试验

#### 1.5.1 小白鼠感染试验

将上述 5 株菌分别接种于营养肉汤中 37℃ 培养 24 h 后，用比浊法测定其含菌量为 20 亿个/毫升，分别接种小白鼠腹腔，每组 2 只，每只 0.2 ml，共 5 组。另取小白鼠 2 只作为对照组，均腹腔注射无菌生理盐水 0.2 ml。以上各组分别饲养观察，对出现症状及死亡的动物逐一进行细菌分离。

#### 1.5.2 健康蛇回归试验

将 12 条健康灰鼠蛇分为 6 组，每组 2 条，把上述 5 株菌，37℃ 培养 24 h 后，各取 1 ml 进行腹腔接种。对照组 2 条腹腔注射无菌肉汤（1 毫升/条）。对接种的动物按组隔离箱养、观察。对出现症状及死亡情况逐一记录并进行细菌分离。

### 1.6 肠毒素试验

将上述 5 株菌液用滤膜过滤后，各取 2 ml 滤液及 2 ml 无菌肉汤进行家兔肠段结扎试验。

### 1.7 药物敏感试验

随机抽取 2 株普通变形杆菌和 2 株奇异变形杆菌，采用 K-B 纸片扩散法进行药敏试验。按抑菌圈直径大小和各抗菌药物的具体标准评定为敏感、中敏和耐受。

## 2 结果

### 2.1 变形杆菌的分离率

从 140 条被检蛇中共分离出细菌 232 株，其中变形杆菌 79 株，分离率为 34.1%，其他细菌 1~25 株，分离率均小于 15%。在变形杆菌中普通变形杆菌为 63 株，奇异变形杆菌为

16 株。

### 2.2 病原鉴定

纯培养菌为 G<sup>-</sup> 的短小杆菌，无芽胞和荚膜，有周身鞭毛。在血平板上进行纯培养时呈迁徙生长现象，在 SS 平板上呈无色半透明或产 H<sub>2</sub>S 现象。生化试验结果详见表 1。

以《伯杰细菌鉴定手册》(第 9 版)中变形杆菌属各个种的生化鉴别指标为依据。确定 A 类分离菌株为普通变形杆菌，B 类分离菌株为奇异变形杆菌。

### 2.3 变形杆菌的致病性试验

分别接种 5 株菌液的小白鼠于 8 h~36 h 相继死亡，取其心血作细菌培养，均分离到原接种菌。对照组的小白鼠正常存活。

### 2.4 健康蛇回归动物试验

在回归试验中，有一组的 2 条蛇于接种菌液后 72 h 死亡，取其心血作细菌培养，均分离到原接种菌。其余 5 组饲养 15 天后均未见异常，经处死，分别取其心血作细菌分离培养，其中试验的 4 组均分离到原接种菌，而对照组未分离到细菌。

### 2.5 肠毒素试验

注射细菌滤液的肠段积液均显示阳性反应(即每厘米>1 ml)，说明这些细菌均能产生肠毒素，而注射无菌肉汤的肠段显示阴性反应。

### 2.6 药敏试验

供试的 2 株普通变形杆菌和 2 株奇异变形杆菌对奈啶酸和丁胺卡那霉素均敏感；对妥布霉素、氟哌酸和氯霉素表现为中敏或高敏；而对呋喃妥因、青霉素、杆菌肽和多粘菌素均耐受，对其他 8 种抗菌药物则表现出较大的菌株间差异性，见表 2。

表 1 分离菌株的生化特性

试 剂	A 类	B 类
葡萄糖	+	+
乳 糖	-	-
麦芽糖	+	-
尿素酶	+	+
接触酶	+	+
氧化酶	-	-
H <sub>2</sub> S	+	+
葡萄糖酸盐	-	-
苯丙氨酸脱氨酶	+	+
鸟氨酸脱羧酶	-	+
吲 哚	+	-

表 2 4 株变形杆菌对 15 种抗菌药物的敏感性

抗菌药物	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>
奈啶酸	++	++	++	++
呋喃妥因	-	-	-	-
庆大霉素	-	+	++	-
妥布霉素	+	+	++	++
丁胺卡那霉素	++	++	++	++
卡那霉素	-	-	++	-
链霉素	+	+	++	-
氟哌酸	+	+	++	+
头孢噻肟钠	++	++	++	-
环丙沙星	-	-	++	-
羟苄青霉素	-	-	+	-
青霉素 G 钾	-	-	-	-
氯霉素	+	++	++	+
杆菌肽	-	-	-	-
多粘菌素	-	-	-	-

a<sub>1</sub> 和 a<sub>2</sub> 为奇异变形杆菌，b<sub>1</sub> 和 b<sub>2</sub> 为普通变形杆菌。  
++ 为敏感，+ 为中敏，- 为耐受。

## 3 讨论

本次实验在 140 条病、死蛇中分离出 79 株变形杆菌，占检出菌的 34.1%，表明蛇携带此菌很常见。从分离率及回归试验的结果看，所有试验组的蛇均在血中分离出变形杆菌，说明变形杆菌具有一定的侵袭力，以致蛇引起败血症。但在健康蛇回归试验中仅有 2 条灰鼠蛇致病死亡，这是否是作回归试验的健康蛇数过少，抑或是被检的患病蛇体内还可能还有其他病原体如病毒的原发性感染，而本病则引起继发性感染，使蛇发病死亡，有待于进一步探讨。

被检的普通变形杆菌和奇异变形杆菌的药敏试验结果显示，不同菌株对抗菌药的敏感性