

从食品从业人员中分离到产志贺样毒素 且具侵袭力的大肠埃希菌

湖南省郴州安仁卫生防疫站(423600) 刘巧突 谭 徽 张曼禾 李美兰 陈 金
中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 徐建国 黄力保 张 瑾

摘要 自一食品从业人员粪便标本中,分离到 1 株 ESIEC,该菌生化反应符合大肠杆菌特性,IMVC 反应 + + - -,与 Inv 及 SLT2DNA 探针杂交,对 HEp-2 细胞呈集聚状粘附。符合 ESIEC 的典型特征。该菌株对昆明小鼠有较强的致病性。在所检测到的 20 余种抗生素中,仅对复达欣、丁按卡那、呋喃妥因敏感,为多重耐药株。

关键词 大肠埃希菌 食品 腹泻

产志贺样毒素且具侵袭力在大肠埃希菌(entero-SLTs-Producing and invasive E. coli, EsIEC),是一种新发现的腹泻病原菌,对人和试验动物有致病力[1, 2]。1995 年 2 月,在对食品从业人员体检中,从一粪便标本中分离出一株 ESIEC,现将结果报道如下。

材料与方 法

1. 培养基:SS、EMB、TCBS、GN、SF、药敏琼脂、KIA 等购自浙江省军区卫生检验所,按说明制作,其它培养及化学试剂按文献自备[3]。

2. 菌株来源:自食品从业人员粪便标本分离所得。

3. 生化反应:采用肠杆菌科细菌微量生化管法。由浙江省军区卫生检验所提供。

4. DNA 探针分析:按文献方法进行[2]。

5. 动物毒力试验:取试验菌株的 1% NaCl 胨水的 37℃ 8 小时培养液 0.3ml,腹腔接种 5 只体重 18-20g 昆明小白鼠,观察 48 小时。另取正常人非致病大肠菌株 1% NaCl 胨水 37℃ 8 小时培养液 0.3ml 接种 4 只昆明小白鼠作对照组 A;对照组 B 小鼠 4 只,腹腔接种同批次 1% NaCl 胨水。

6. HEp-2 细胞粘附试验:按文献方法

进行[4]。

7. 药敏试验:采用 K-B 纸片法,含抗生素的纸片由上海医化所提供。

结 果

1. 菌株分离和鉴定:将肛试标本接种 SS、EMB 及 GN、SF 增菌液,挑取 SS、EMB 上呈纯培养的菌株,18 种生化试验结果见表 1。表 1 结果表明,符合大肠埃希氏菌基本特征,但不与 EPEC、EIEC 的诊断血清凝集。

表 1 ESIEC 生化反应

项目	结果	项目	结果
氧化酶	-	侧金盏花醇	-
尿素酶	-	乳糖	+
靛基质	+	肌醇	-
甲基红	+	卫矛醇	-
V-P	-	丙二醇	-
枸橼酸盐	-	阿拉伯糖	-
H ₂ S	-	葡萄糖	+
动力	+	KCN	-
山梨醇	+	笨丙氨酸	-

2. DNA 探针杂交和 HEp-2 细胞粘附试验:提取试验菌株 DNA,用地高辛标记的特异性 DNA 探针,斑点杂交方法,发现分离

菌株和 Inv 及 SLT2 探针杂交。用 HEp-2 细胞粘附试验证明该菌对 HEp-2 细胞具有集聚性粘附作用。

3. 动物致病性: 试验组小白鼠经腹腔注射感染该菌后, 表现活动减少、厌食、倦卧、耸毛、畏光, 继而呼吸急促、抽搐震颤、眼湿、有脓性分泌物、稀便, 于 8~30 小时陆续死亡。解剖可见肺有点状出血、肝脾肿大, 有暗红或紫色点状或斑状出血, 肠系膜毛细血管变粗, 肠壁变薄, 肠粘膜脱落, 水肿明显, 肠腔膨大, 肠腔内有大量黄棕色粘稠液。取心血、肝脾及肠腔内容物, 可分离到攻击菌株。而两组接种正常大肠杆菌和蛋白胨水的对照组动物, 除接种 6 小时后稍有活跃性降低外, 无其它异常反应。

4. 抗生素敏感试验: 菌株对丁胺卡那、复达欣、呋喃妥因敏感, 对新霉素、卡那霉素、先锋必中度敏感。其余全部耐药, 为多重耐药, 见表 2。

表 2 分离菌株的抗生素药敏试验

药物	抑菌环直径 (毫米 mm)	药物	抑菌环直径 (毫米 mm)
氨苄青霉素	0	庆大霉素	12
羧苄青霉素	0	新霉素	14
苯唑青霉素	0	麦迪霉素	0
卡那霉素	13	先锋必	13
丁胺卡那	21	呋喃妥因	17
红霉素	0	链霉素	0
四环素	0	氟哌酸	0
SD	0	复达欣	20
SMZ + TMP	0	强力霉素	0
氧哌嗪青霉素	0	痢特灵	0

讨 论

根据对细菌毒力和致病机理的分子生物

学研究, 目前国际上将致泻性大肠埃希氏菌分为五类: 肠产毒性大肠杆菌(ETEC)、肠致病性大肠杆菌(EPEC)、肠侵袭性大肠杆菌(EIEC)、肠出血性大肠杆菌(EHEC)、肠集聚粘附性大肠杆菌(EAggEC)。1994 年徐建国等报道从北京市腹泻病人粪便标本分离的大肠杆菌与侵袭性大肠杆菌特异探针(Inv)和志贺样毒素(SLT2、SLT1)探针发生阳性反应的菌株, 将其命名为产志贺样毒素且具侵袭力的大肠埃希氏菌(ESIEC)。ESIEC 对试验动物有毒力, 能在志愿者中产生典型的腹泻症状[5]。从食品从业人员粪便标本中分离到 ESIEC, 在国内尚属首次。抗生素敏感试验表明, 该菌株仅对丁胺卡那、复达欣、呋喃妥因敏感, 对本地常用肠道药物全部耐药。

大肠埃希氏菌营养要求条件低, 在自然界可以相对较常时间的生存, 与人类健康关系密切。资料表明, ESIEC 的分离率有可能高于 EPEC、EIEC、ETEC、EHEC[5], 而至今许多人仍将 ESIEC 和肠道正常菌群同等看待。从食品从业人员中分离到多重耐药性 ESIEC 菌株, 说明 ESIEC 有可能通过食品传染, 具有一定的流行病学意义。

参考文献

- 徐建国, 程伯鲲, 吴艳萍等. 首次发现一种产志贺样毒素且具侵袭力的大肠杆菌, 疾病监测, 1994, 9(10):271.
- 徐建国, 赖心河, 刘志奇等. 肠产志贺毒素且具侵袭力的大肠杆菌(ESIEC)菌株 F171 的志愿者试验, 中华流行病学杂志, 1994, 15(6-A):9-13.
- 刘恭植主编. 《微生物学及微生物检验》全国高等医学院校教材、北京人民卫生出版社(第二版)
- Natoro JP, et al. Patterns of adherence of diarrheagenic Escherichia coli to HEp-2 cells. *Pediatr Infect Dis J.* 1987, 6:829
- 吴艳萍、祁国明、徐建国. ESIEC 菌株 EF/1 菌毛的分子生物学研究. *中华流行病学杂志* 1994, 15(6-A):14

(1996 年 7 月 24 日收稿, 10 月 4 日修定)

A Strain of Entero - SLTs - Producing and Invasive E. Coli(ESIEC) Isolated from a Personnel Engaged in Food Processing

Liu Qiaotu, et al

(Sanitartion and Anti - Epidemic Station of Anren County of, Hunan province, Anren 423600)

Abstract A strain of ESIEC was isolated from the stool of the personnel who was engaged in food processing. This bacterial biochemical reaction accorded with the characteristic of the E. coli IMVC revealing + + - -, the DNA of this strain was hybridized with Inv and SLT₂ DNAs. The strain was also showed that it has aggregating adhesion to Hep - 2 cell. Both two characteristics were consistent with ESIEC. This strain has a strong pathogenic effect in Kunming mouse. The result of antibiotics susceptibility test showed that it was only sensitive to three of the twenty antibiotics tested, they were nitrofurantoinum, amikacin and fusidic acid.

Key words ESIEC Isolation Diarrhea