

# 黑龙江省自流行性腹泻病人粪便分离出产肠毒素大肠菌的实验报告

黑龙江省卫生防疫站 谢奉瑜 魏 革 王 哲

自1968年Gorbach及Sack氏在印度加尔各答地区自疑似霍乱患者粪便分离出产肠毒素大肠菌以来,就有人陆续提出由该菌引起旅游者腹泻、成人腹泻及儿童腹泻的报告[2,7],也有由该菌引起腹泻的集体爆发及食物中毒的报告[2,7]。现在产肠毒素大肠菌是引起腹泻的重要病因之一已被公认,并引起了世界各国的重视。

为进一步调查我省成人流行性腹泻的病因,我们于1983年1~4月,对鸡西市及哈尔滨市两地区成人原因不明流行性腹泻进行了病原学调查。兹报告如下:

### 流行病学特点

本次成人流行性腹泻的特点为:传播快,涉及面广,时间较集中,发病率高,发病季节为冬春季,无性别、年龄和职业差异。两地的疫情是:鸡西市于1983年1~3月流行腹泻,发病3000人,粪检71人;而哈尔滨市是同年3月,一铁路工人家属去山东探亲归来而发腹泻,并传染其家属、亲戚6人发病,其中1人住院治疗时粪检。两地共粪检72份。

调查得知,此两地疫情主要是人与人接触感染[1]。流行病学调查证实,主要是病人的排泄物污染了环境,经粪→口途径感染传播而致扩散(如哈尔滨)或爆发流行(如鸡西市)。

### 临床特征

本次成人流行性腹泻的临床特征为:起病突然,以腹泻为主,一日数次或数十次,稀水样便,无脓血,腹部不适;伴有恶心、呕吐、

口渴,多数患者不发烧;少数有微热、头昏、耳鸣,腓肠肌痉挛。病程约3~5日,个别达7日以上[1]。

### 检验材料

一、被检材料系来自鸡西及哈尔滨两地区成人流行性腹泻者粪便,保存在Cary-Blair运送培养基中,于48小时送交实验室。

二、产肠毒素培养基系采用CAYE培养基。

三、产肠毒素阳性标准菌株M<sub>408</sub> LT/ST株及阴性对照标准菌株tox(-)株,为世界卫生组织(WHO)赠给。

四、作肠毒素测定用家兔及乳鼠系购自中国农业科学院哈尔滨兽医研究所动物室,家兔为2公斤白色、雄性、10周龄的健康家兔。乳鼠为2~4日龄未断奶的健康乳鼠。

五、诊断用分型血清购自中国农业科学院哈尔滨兽医研究所。

### 鉴定方法

#### 一、形态学鉴定:

1. 普通显微镜常规检查。

2. 电镜检查法:将被检菌18小时肉汤培养物一滴置于石蜡凹孔中,取Formvar膜载网,膜朝液面吸附二分钟,待稍干后放3%磷钨酸染液滴表面上染色二分钟,用滤纸吸去多余染液置室温干燥,用JEM-100cx电镜观察、拍照,加速电压80kv放大一万倍。

二、菌株的分离及鉴定:将保存于Cary-Blair氏运送培养基中的采便棒放于1毫升灭菌

PBS液中,充分洗涤做成粪便悬液,取一滴于麦康开琼脂平板上,划线分离培养37℃18~24小时,挑选分解乳糖的典型大肠菌菌落5个,分别接种于TSI培养基内,37℃培养18~24小时,观察初步生化结果,对初步判定为大肠艾希氏菌菌株,进一步做全面生化鉴定。

三、肠毒素的测定:产肠毒素大肠菌能产生耐热性肠毒素(ST)及不耐热性肠毒素(LT)。目前测定肠毒素的方法很多,我们采用下述方法进行:

1.LT的测定方法:将被检菌株接种于CAYE肠毒素培养基中,放37℃温箱摆成斜面,并稍稍拧松棉塞,培养48小时后,于4℃条件下,10000转/分离心30分钟,取上清液以孔径为450nm的滤膜过滤,取此滤液,以家兔肠段结扎法做肠毒素测定。肠段结扎时以每5厘米为一段,以2厘米为间隔段,每段注入肠毒素培养上清滤过液1毫升,注入后18小时观察结果,测量肠积液量,以肠段长度和肠积液量之比为 $\geq 1.0$ 时,判定为阳性[2~4]。

2.ST的测定方法:将被检菌株接种于CAYE肠毒素培养基中置37℃温室振荡培养(110次/分)18~24小时,再以高速离心机10000转/分离心30分钟,取上清液1毫升加1%伊文思兰两滴,注入2~4日龄乳鼠胃内3只各0.1毫升,3~4小时后处死乳鼠,开腹观察乳鼠肠内是否有积液,并摘出肠子称重,再称除肠子以外的其余部分重量,并计算肠重和体重

之比(肠重/体重),以三只乳鼠肠重和体重的比值 $\geq 0.083$ 时,判定为阳性[4,5]。

四、血清学分型鉴定:经生化鉴定及肠毒素鉴定阳性的菌株,接种普通肉汤,于37℃培养18~24小时后,加热100℃1小时后加甲醛至0.5%,再以大肠艾希氏菌分型血清做试管凝集反应,以效价 $\geq 1:1600$ 者为阳性。

### 结 果

用上述方法在鸡西及哈尔滨两地区成人流行性腹泻72份粪便标本中检出产肠毒素大肠菌2株,检出率为2.77%,结果如下:

一、此二株产肠毒素大肠菌,用普通显微镜检查均为革兰氏阴性,中等大杆菌,用电镜放大10,000倍观察时,菌体周围有浓密的菌毛,并可见有2~3个菌粘附到一起的现象(图1)。

二、此二株菌经生化鉴定,结果均分解葡萄糖、乳糖、甘露醇、蔗糖,并产酸产气,不分解肌醇、侧金盏花醇,产生靛基质,MR(+),V-P(-),H<sub>2</sub>S(-),有动力的典型大肠艾希氏菌。

三、此二株菌用家兔肠段结扎法作LT肠毒素测定,肠段长度和肠积液量之比均 $> 1.0$ ,与WHO赠给的标准阳性菌株M<sub>408</sub> LT/ST的结果相一致。用乳鼠灌胃法作ST肠毒素测定,结果肠重与体重之比均 $\geq 0.083$ ,符合WHO要求,并与标准阳性对照菌株相一致。故此二株菌均为LT/ST阳性株(附表,图2)。

附表

产肠毒素大肠菌检验结果

编 号	姓 名	年 龄	性 别	住 址	临 床 诊 断	家兔肠段结扎法(LT)			乳鼠灌胃法(ST)			判 定	血 清 型
						肠段长度 (cm)	肠积液量 (ml)	积液/肠长	肠重 (克)	体重 (克)	肠重/体重		
83002	沈××	19	女	哈市	腹泻	5	10	2.0	0.69	8.3	0.083	LT/ST	O <sub>78</sub>
83004	康××	成	男	鸡西	腹泻	5	7	1.4	0.72	7.46	0.096	LT/ST	O <sub>78</sub>
M408 ①						5	12	2.4	0.46	4.65	0.098	LT/ST	
tox(-) ②						5	-	-	0.35	4.5	0.078	-	

①为LT/ST阳性对照株;②为阴性对照株。注:此二病人的主要症状均为腹痛、腹泻(水样便)。

四、此二株菌,经卫生部药品生物制品检定所检定,结果亦确认此二菌株为产肠毒素大

肠菌。

五、此二株菌,用“O”抗原做血清学鉴

定结果均为O<sub>78</sub>血清型。

### 讨 论

一、由产肠毒素大肠菌引起的腹泻，多发生于热带及亚热带国家，主要流行于夏季，约占腹泻病因的20~50%。近年来WHO对腹泻病因的研究很重视，并认为产肠毒素大肠菌是腹泻的重要病因之一。

国内除1983年6月3日人民日报报道上海市卫生防疫站首次成功的分离出一株产肠毒素大肠菌外，至今似乎未见其它兄弟省市的报道。

我省此次流行性腹泻主要发生于冬春季，发病人数较多，流行面较广，经病原学检查，在72份腹泻患者粪便标本中，检出两株产肠毒素大肠菌，未检出其它肠道致病菌。由此看出，即使在冬春季腹泻中产肠毒素大肠菌也是不可忽视的病因之一，应引起今后工作的重视。

二、目前测LT肠毒素方法较多，有生物学方法、免疫学方法及细胞法等。我们采用家兔肠段结扎法做LT肠毒素测定，该方法虽然手续繁琐，但仍不失为有效的方法。此二株产肠毒素大肠菌，经卫生部药品生物制品检定所检定，与我们的检验结果完全一致，从而首次在我省证明了产肠毒素大肠菌是腹泻的重要病因之一。

三、据有关文献报道〔6〕，由于不同的地理分布，产肠毒素大肠菌往往限于少数血清型。我们这次分离的两株产肠毒素大肠菌用O抗原

做血清学鉴定均为O<sub>78</sub>血清型。

(本文图1、2见插图第4页)

### 摘 要

本文报告了1983年1~4月，对黑龙江省鸡西市及哈尔滨市两地区成人流行性腹泻病人的72份粪便标本做了肠道致病菌检查，检出产肠毒素大肠菌2株，检出率为2.77%。未检出其他肠道致病菌。此二株产肠毒素大肠菌经测定均为LT、ST阳性株。用O抗原做血清学鉴定结果均为O<sub>78</sub>血清型。

### ABSTRACT

An etiological investigation on epidemic adult diarrhoea was carried out in the cities of jixi and Harbin, Heilongjiang province from January to April, 1983. Out of 72 stool samples examined for identifying enteropathogens, 2 (2.77%) strains of *Enterotoxigenic E Coli* were detected and identified as LT and ST positive strains both belonged to serotype O<sub>78</sub>. No other enteropathogens were found.

### 参 考 文 献

1. 黑龙江省卫生防疫站：流行性腹泻资料汇编，内部资料，1983。
2. 本田武司等：コレラ菌と肠毒素大肠菌の検査法，菜根出版，第1版，47~85，1981。
3. 山田登夫等：毒素原性大肠菌の検査法，モダンメディア，26(11)：545~557，1980。
4. 急性肠道感染的试验室诊断规程，35~37页，国家腹泻讲习班讲义，1982。
5. 中丹培训中心讲义：肠道感染的诊断，第10部分，1983。
6. 许新强：国外医学，流行病学传染病学分册，(3)：111，1983。
7. 辽宁省卫生防疫站译：关于肠毒素性大肠菌研究的现状和今后课题，内部资料，1981。

### (上接封四)

加热2分钟，相当多的芽胞即死亡；从14份骨粉中分离炭疽芽胞，别的实验室做6份，加热80°C，结果全部阴性，Jones用65°C加热5分钟后分离，14份中有11份阳性，故主张降低温度到65°C。我们体会使用60~65°C加热30分钟，既能杀灭较多的非芽胞杂菌，又能尽量保留炭疽芽胞不使灭活，较为合适。

据悉1962年“暂行标准”系参照苏联标准方法制订的。由此看出，一切要通过试验，不可盲目搬用，“标准”中的原则性错误急需修订更正。

为了提高检出率，有利用洗涤剂加强洗涤效果(5)，选择性平板抑制众多杂菌(6,7)等方法。较彻底

的方法是将皮毛类产品进行环氧乙烷消毒，杀灭其中炭疽芽胞，以培养法检查消毒效果。

(本试验承汪美先教授指导，特此致谢)

### 参 考 文 献

1. 中华人民共和国对外贸易部：“暂行标准”绒类WMB，12~56，北京，1962。
2. Swann MBR: J Path Bact, 27: 130, 1924.
3. Fernelius AL: J Bact, 79: 755, 1960.
4. Jones ER: J Path Bact, 54: 307, 1942.
5. Beigeleisen JZ Jr et al: Am J Hyg, 75: 230, 1962.
6. Morris EJ: J Gen Microbiol, 13: 456, 1955.
7. 中华人民共和国卫生部：食品卫生检验方法(微生物学部分)，151页，1976。

# 黑龙江省自流行性腹泻病人粪便分离出产肠毒素大肠菌的报告

(正文见206页)

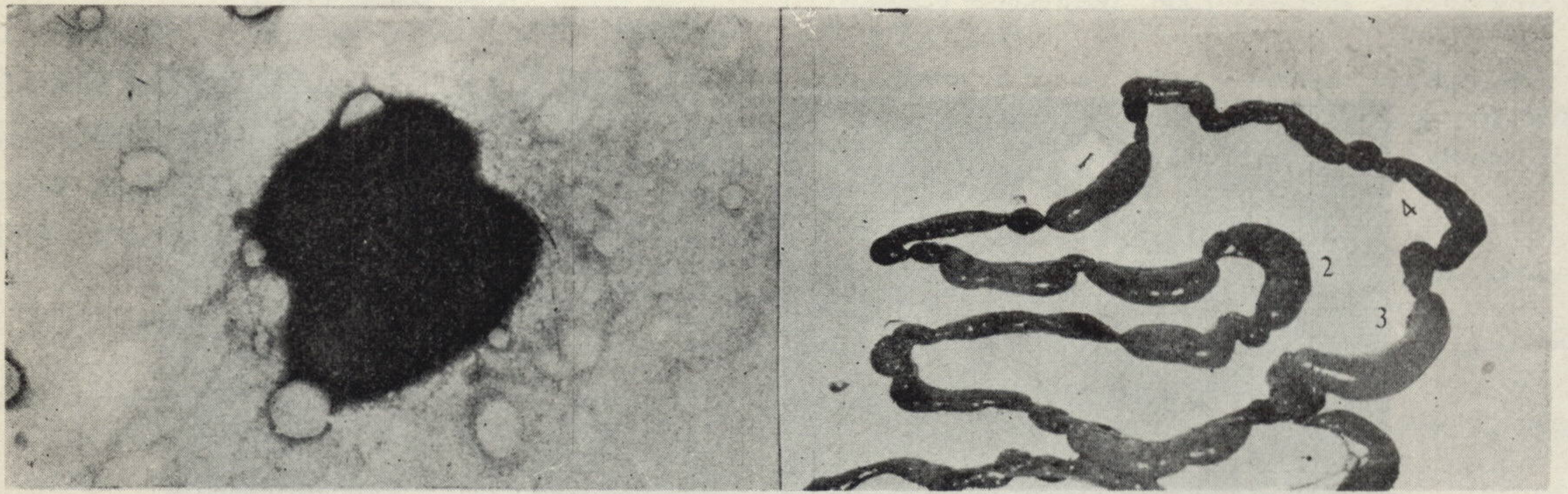


图1 自鸡西市流行性腹泻病人康某粪便检出之产肠毒素大肠菌。×20000

图2 肠段结扎试验结果。“1”为鸡西市流行性腹泻病人康某之产肠毒素大肠菌肠毒素呈阳性；“2”为哈尔滨同种病人沈某大肠菌肠毒素呈阳性；“3”为阳性对照；“4”为阴性对照。

## 郑州市人群风疹抗体水平调查

郑州市卫生防疫站

为了解郑州市人群风疹抗体水平，我们于1983年春，以间接血凝法作了调查。共查801人，阳性621人，阳性率为77.5%，GMT<sub>1</sub>: 20.87。阳性率市区79.7%，农村71.4%。性别比、地区比，均无显著性差异。801人中，最小3个月，最大67岁。抗体阳性百分率，0~4岁56.8，5~9岁64.9，10~14岁70.6，15~20岁78.1，20~24岁83.2，25~29岁88.6，30~34岁92.0，≥35岁95.8。

一般认为，受先天性风疹综合症威胁的人群为首胎怀孕妇女。为了解这一特定人群，我们对1983年2月登记结婚的妇女332人进行婚前检查（年龄为21~31岁），检出抗体阴性43人，即13%为风疹易感者。与国外某些国家报道相似，但比国内其它地区为高。国内某些地区报道5岁风疹抗体阳性已达90%以上，但郑州缓慢，30岁以后始≥90%。见于郑州市育龄妇女风疹易感率高，今后应加强监测。

## 产肠毒素大肠艾希氏菌引致食物中毒一例

河南省新郑县防疫站

马治中 孙阔

赵某，男，46岁，系河南省新郑县某公社农民。于1983年9月23日18时食入猪肉水饺，凌晨4时（食后10小时）突然发病，腹泻剧烈，呈喷射性乳白色淘米水样便，伴轻度腹痛。继而出现呕吐，次频量多，亦为米泔水样。起病14小时内即呕吐20多次，腹泻30余次。有腓肠肌痉挛。排泻无脓血及粘液，无里急后重。临床检查：体温正常，脉搏87次/分，血压92/50 mmHg，神清，语低，眼窝凹陷，口唇干燥，皮肤

弹性差，心音低钝，腹凹陷，下腹压痛，肠鸣音弱，膝腱反射减弱。呈中度脱水，经抢救，病程三日而愈。

实验室检查：取粪便做细菌学检查，霍乱弧菌阴性。将新鲜粪便标本接种SS、麦康凯，转种克氏双糖，作生化反应，血凝试验，最后定型，结果：培养出致病性大肠艾希氏菌（多价O<sub>B</sub><sub>1</sub>血清凝集）。