

赖氨酸脱羧酶试验筛测侵袭性大肠杆菌的研究

卫生部药品生物制品检定所 杨正时 王晓新 钟 熙

侵袭性大肠杆菌(EIEC)也称为志贺氏菌样大肠杆菌,是引起人类痢疾样腹泻的主要病原之一。由于需要以豚鼠角膜炎试验来确定大肠杆菌的侵袭力,给检测工作带来了困难。国外报道了EIEC若干生化特征^[1,2],本文比较了某些生物学特征与豚鼠角膜炎间的关系,初步建立了赖氨酸脱羧酶试验作为侵袭性大肠杆菌的初筛工具,以便从大量的腹泻临床标本中快速、有效、经济的检出EIEC菌株。

材料与方 法

一、菌种:共比较观察了大肠杆菌382株。其中158株是O抗原分型用的标准株,由丹麦φrskov教授赠送;224株系1984年以来从国内腹泻临床标本中分离的大肠杆菌。这些菌株均经全面生化学检查后,在半固体或鸡蛋斜面培养基上保存。

二、检定方法和程序:保存菌株在普通营养琼脂斜面上传代二次后作下述试验:

1.赖氨酸脱羧酶试验:Falkow法^[3]。新鲜制备,上封液体石蜡,其厚度在0.5厘米,观察四天,伴有对照;以变为黄色为阴性,紫色为阳性反应。

2.动力:在含0.2%琼脂的U形管中测定。以生长物呈均浊向前推进、端面整齐的判为阳性,均浊游长到另臂顶部的也以阳性计。在37℃培养后未见动力者,放室温二天后再作观察。

3.产气:在放置室温二天的带德汉氏小管的葡萄糖发酵管内进行试验。接种前检查发酵管内应未见气泡,37℃培养过夜后,观察产气

与否,不计气量。

4.诊断血清凝集:用我所制备的EIEC诊断血清作玻片凝集。其中包括:O28ac:H-, O29:H-, O112ac:H-, O124:H-, O136:H-, O143:H-, O144:H-, O152:H-, O164:H-。这些血清均用福尔马林杀死的菌液作免疫原免疫家兔,并经肠道致病性大肠杆菌吸收其有关的交叉凝集素而制备。

5.豚鼠角膜炎试验:直接从新鲜斜面培养物上刮取菌苔涂抹豚鼠结膜囊内,每只豚鼠左、右二眼分别接种二株菌株;以角膜发炎为阳性特征,观察七天。

结 果

根据对赖氨酸脱羧酶试验、动力、产气、与EIEC血清的凝集性以及豚鼠角膜炎的差异,382株大肠杆菌可分为15个不同的生物反应模式(附表)。

赖氨酸阳性菌株在158株标准菌株中有146株,计92%。由于标准菌株是从世界不同地区分离的,型别也不相同,具有一定的代表性。附表表示反应模式15中的119株,几乎都是取材于同一次爆发流行中,而其它分离株都来自全国各地的散发病例;在反应模式1~14的263株中,赖氨酸阳性菌株也为92%。绝大多数(95%)的赖氨酸阳性菌株是产气的,凡是赖氨酸阳性的菌株均不引起角膜炎,即使这些菌株是不产气,也无动力,甚至与已知的EIEC血清发生凝集,其血清型别属于侵袭性大肠杆菌之列,也无侵袭性毒力。

赖氨酸阴性菌株在一般状态下,其检出率

附表 大肠杆菌侵袭力与某些特性的关系

反应 模式	试验名称					标准 株数	分离 株数	总株 数
	赖氨 酸	动 力	产 气	血清 凝集	角膜 炎			
1	+	+	+	-	-	104	69	173
2	+	-	+	-	-	29	15	44
3	+	+	-	-	-	7	1	8
4	+	-	-	-	-	3	0	3
5	+	+	+	+	-	2	9	11
6	+	-	+	+	-	1	3	4
7	+	-	-	+	-	0	1	1
8	-	+	+	-	-	4	4	8
9	-	+	-	-	-	1	0	1
10	-	-	+	-	-	1	1	2
11	-	+	+	+	-	1	0	1
12	-	-	+	+	-	0	1	1
13	-	-	+	+	+	2	2	4
14	-	-	-	+	-	2	0	2
15	-	-	-	+	+	1	118	119
总计						158	224	382

约在 8% 左右，仅仅那些无动力、并和 EIEC 诊断血清凝集的那些菌株才能引起角膜炎，虽然这些菌株中大多数是不产气菌株，但反应模式 13 中，产气菌株也可角膜炎阳性，因此，产气与否不是决定性因素。有二株无动力、不产气的赖氨酸阴性菌株和 EIEC 血清凝集，不产生角膜炎，这二株都是实验室长期保存的标准株，可能已丧失了毒力。这种模式的新分离株 119 株均为角膜炎阳性。

讨 论

侵袭性大肠杆菌的致病性酷似痢疾杆菌。虽然二者间有密切的抗原关系，但生物化学上仍能把这二种细菌予以鉴别。大多数 EIEC 株不发酵或迟缓发酵乳糖、不产气、无动力。在临床检验上，这些特征很易和痢疾杆菌相混淆。我们也已发现了一些和 EIEC 血清强凝集的迅速发酵乳糖和产气的菌株，却具有高度的上皮细胞侵袭力，因此乳糖发酵的速缓以及产气的与否则不再成为所有 EIEC 的鉴别特征。从发生学角度与 DNA-DNA 分子杂交试验来分析，大肠埃希氏菌与痢疾杆菌应为同一菌属，但由于致

病性上的差异和临床习惯上的原因，目前仍为二个菌属。实际上，EIEC 是大肠杆菌和志贺氏菌的过渡型，所有的痢疾杆菌，其赖氨酸脱羧酶试验阴性；90% 以上的大肠杆菌则为阳性，而赖氨酸阴性菌株中，具有志贺氏菌另一个特征——无动力的菌株，则偏向于志贺氏菌。

Regina 氏分析了 1,335 株大肠杆菌赖氨酸脱羧酶、动力和角膜炎的关系^[4]。凡是赖氨酸阳性、有动力的菌株均无侵袭性；赖氨酸阴性，无动力的菌株，几乎均有侵袭性（除外 1 株 O164）；赖氨酸阴性、有动力的菌株，产生角膜炎的仅为 O124:H30 血清型菌株。作者以往在陕西省一次由 EIEC 引起的食物中毒中分离到 O124 菌株，能致角膜炎，该菌株的血清型也为 O124:H30^[5]。其它 EIEC 有动力血清型，均为角膜炎试验阴性，本文的试验结果也证实了这一点。因此，赖氨酸和动力试验可作为一个初筛 EIEC 的工具。

粪便标本在麦康凯平板上分离，按常规接种双糖或三糖铁斜面，然后作赖氨酸和动力试验，根据反应作出的初步诊断，再决定是否进行动物试验，如赖氨酸阳性菌株即可予以否定。因此 90% 的大肠杆菌可以免去进一步试验，赖氨酸阴性的有动力株与 EIEC 血清凝集阴性的也可排除；只有赖氨酸阴性无动力株才可初步诊断，并有进一步做 EIEC 血清玻片凝集和豚鼠角膜试验的必要。因此赖氨酸脱羧酶试验和动力是一种较为方便、经济、有效的初筛方法，值得今后在现场试验中进一步考核与应用。

摘 要

本文观察比较了 382 株大肠杆菌的赖氨酸脱羧酶试验、动力、产气、EIEC 血清凝集等与引起豚鼠角膜炎关系。发现 92% 的大肠杆菌为赖氨酸阳性，均无侵袭力；只有赖氨酸阴性、无动力菌株才产生角膜炎。因此作者认为赖氨酸试验和动力可以作为初筛 EIEC 的工具。

A Study on Lysine Decarboxylase Test Screening Enteroinvasive *Escherichia Coli* Yang Zhongshi, et al. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing

The relations between lysine decarboxylase, motility, gas from glucose, diagnostic serum agglutination and causing keratoconjunctivitis in guinea pigs were studied in 382 strains of *Escherichia coli*. Lysine decarboxylase was positive in 92% of strains which were non-invasive. The strains cause keratoconjunctivitis which were non-motility and inability to decarboxylate lysine. Authors suggested that lysine decarboxylase test and motility might act as a stool for screening *Enteroinvasive*

Escherichia Coli.

参 考 文 献

1. Toledo MRF, et al. New Invasive *Escherichia coli* Strains. *J Clin Microbiol* 1980;11:422.
2. Silva RM, et al. Biochemical and Culture Characteristics of Invasive *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1980;11:441.
3. 爱德华, 等: 肠杆菌科鉴定(郝士海等译) 1978; 卫生部药品生物制品检定所出版。
4. Regina M, et al. Correlation between Biochemical and Serological Characteristics of *Escherichia coli* and Results of the Sereny Test. *J Clin Microbiol* 1983;17:419.
5. 杨正时, 等. 大肠杆菌血清学分型的研究. *微生物学报* 1979;19(2):187.

成人急性黄疸型病毒性肝炎的血清学分型及流行病学

李建基¹ 黄国超¹ 沈超² 沈家宝³ 朱科伦⁴

本文对1983年11月至84年7月在广州市传染病院、市第一人民医院和广州医学院附属一院住院的90例16岁以上急性病毒性肝炎病人进行病因分型。病人均有乏力、胃纳差、黄疸等症状，肝大，SGPT超过正常值2倍以上，既往无肝炎病史。于发病后1月内采血，用美国ABBOTT公司的试剂盒检测抗-HAV IgM、HBsAg、抗-HBs、抗-HBc(SPRIA)和抗-HBcIgM(ELISA)。抗-HAV IgM阳性、抗-HBcIgM阴性诊断为甲肝。抗-HBcIgM阳性、抗-HAV IgM阴性诊断为乙肝。上述两种IgM抗体均阴性，考虑为非甲非乙型肝炎。

病因分型结果，90例病人，甲肝37.8%，乙肝32.2%，非甲非乙型肝炎28.9%，甲乙肝混合感染1.1%。34例甲肝病人，76.5%抗-HBc阳性，26.5%HBsAg阳性。29例乙肝病人，89.7%HBsAg阳性。本组有3例血清抗-HBs阳性，其P/N值分别为4.9、6.5和15.9，但抗-HBc IgM和抗-HBc亦同为阳性。故仍判为急性乙肝。26例抗-HAV IgM及抗-HBcIgM均阴性的病人，46.2%HBsAg阳性，但HBV DNA杂交试验阴性，故仍考虑为非甲非乙型肝炎。三型肝炎病人的流行病学特征如下：

1. 年龄性别：甲肝男、女各17例，年龄16~53岁，平均 26.2 ± 1.5 岁；乙肝男10例女19例，年龄18~51岁，平均 29.2 ± 1.6 岁；非甲非乙型肝炎男18例女8例，年龄19~67岁，平均 38.1 ± 2.8 岁。乙肝女性为

男性的1.9倍，非甲非乙型肝炎则男性为女性的22.5倍，平均年龄比甲、乙型肝炎患者大9岁以上($P < 0.05$)。

2. 职业：病人主要是工人，分别占甲肝的55.9%，乙肝的65%和非甲非乙型肝炎的57.7%。干部占非甲非乙型肝炎的15.4%。学生各占甲、乙肝的8.8%，待业青年各占甲、乙肝的6.9%。

3. 肝炎密切接触史：90例中有8例(其中甲肝2例，乙肝4例，非甲非乙型肝炎2例)于发病前半年内有同肝炎病人密切接触史。

4. 乙肝和非甲非乙型肝炎经血传染可能危险因素分析：甲肝经血液传播的可能性极少，本文把甲肝组作为对照，比较三型肝炎患者发病前6个月内有接受输血、注射血制品、手术、拔牙、针灸、注射等经血传染的一些可能危险因素。凡有一种以上危险因素者，只统计其中对感染危险性最大的一种。结果甲肝组危险因素出现频率20.6%，乙肝组27.6%，非甲非乙型肝炎组15.4%，三组无统计学显著差异($\chi^2 = 1.23, P > 0.05$)，提示经血途径传播可能不是本文乙肝和非甲非乙型肝炎的主要传播途径。

- 1 广东省流行病防治研究所
- 2 广州市第一人民医院
- 3 广州市传染病院
- 4 广州医学院附属一院