

## · 综述 ·

## 中国小肠结肠炎耶尔森氏菌病研究进展

于恩庶

【作者简介】于恩庶,男,1918 年生于辽宁省。主任医师、研究员。农工民主党党员。1944 年毕业于满州医科大学。现任福建省卫生防疫站技术顾问,兼任《中国人兽共患病杂志》主编。主要贡献:长期从事人兽共患病学研究,是我国人兽共患病学科带头人之一;在我国首先发现弓形虫,成为我国弓形虫病的开拓者和带头人;在钩端螺旋体病研究方面,提出新的流行形式和临床分型,优于国际上原有的分型法;发现各型钩端螺旋体在试管内的型间拮抗现象;在恙虫病方面发现许多新的传播媒介和动物宿主,提出一套有效的防治方案;在小肠结肠炎耶尔森氏菌病方面,筛选出噬菌体用于菌株鉴定,对“毒力质粒”提出新的解释,找到一种新的鉴别 O:9 型小肠结肠炎耶尔森氏菌与布鲁氏菌血清学交叉反应的方法;学术论文获奖 34 项,其中全国科学大会奖 3 项,省部级科技进步奖和成果奖 25 项。主要著述:主编学术著作 11 本,合编 12 本,发表 280 篇论文。

小肠结肠炎耶尔森氏菌病(耶氏菌病)是 80 年代才受到重视的一种新的肠道传染病,世界各大洲均有发现,是欧洲某些国家腹泻的主要病种,不少地区耶氏菌引起的胃肠炎和严重腹泻,比痢疾还多。除肠道症状外,还能引起呼吸道、心血管系统、骨骼、结缔组织和全身疾病,出现败血症时病死率达 30% 以上。1981 年我国才发现此病,引起全国重视,并开展了全国性调查和研究,分别从人群、动物和外环境分离出病原菌,证明耶氏菌病在我国的分布是非常广泛的。

本文为我刊庆祝建国 50 周年特邀系列综述第 38 篇

作者单位 350001 福州,福建省卫生防疫站

## 一、人群流行概况

我国耶氏菌病的流行形式多为散发,也发现有暴发流行。

1. 暴发流行:我国目前已发现 O:3 和 O:9 两型耶氏菌引起的流行。

(1)由 O:3 型耶氏菌引起的流行:1986 年甘肃省兰州市一个奶牛场,因食用死牛肉,发病 107 人,占食用人数的 52.2%,同一人群未食用者无一人发病。从患者和剩余牛肉均分离出同样的 O:3 型耶氏菌,为生物 3 型,具有很强的毒力,在原始平板上为绝对优势菌,恢复期患者血清测出 O:3 型耶氏菌抗体。

(2)由 O:9 型耶氏菌引起的流行:1987 年辽宁省沈阳市某中学食堂,因食自制小菜,发病 352 人,发病人数占食用该小菜的 49.8%,从病人分离出生物 3 型、血清 O:9 型耶氏菌,初代培养在 SS 琼脂上生长出单一大量的菌落,患者血清 O:9 型耶氏菌抗体滴度为 1:160~1:1280,GMT 为 655,而同批健康人均在 1:40 以下。

2. 散发病例:腹泻是耶氏菌病最常见的症状,一年四季均有发生,而以春冬两季为多,这与耶氏菌嗜冷的特性有关。

## 二、家畜耶氏菌腹泻的暴发流行

耶氏菌引起猪腹泻病,是我国首次发现和报道。国外认为耶氏菌不会引起猪腹泻病,这与两地耶氏菌株不同有关。我国引起猪腹泻为血清 O:3 型和生物 3 型,而国外 O:3 型耶氏菌多为生物 4 型。

1. 福建猪腹泻暴发流行:1981 年福建省莆田一些地区,发生一种猪腹泻病,常年不断,冬季较严重,原因不明。经粪便直接培养,发现耶氏菌 O:3 血清型菌落,在琼脂平板上如同纯培养一样,粪便电镜检查未发现轮状病毒和其他腹泻病毒。病猪血清检测,早、晚期耶氏菌抗体 4 倍以上增长,或由阴转阳,用分离株感染健康猪,可以引起与自然感染相同的

症状。

2. 湖南猪腹泻暴发流行:1985 年至 1986 年湖南省湘潭某猪场发生一起猪耶氏菌腹泻病流行,发病猪占 88%,并有死亡,病猪 O:3 型耶氏菌抗体全部在 1:320 以上,而健康猪抗体没有超过 1:80,从 30% 多的病猪粪便分离出耶氏菌,均为血清 O:3 型和生物 3 型。

3. 牛犊腹泻暴发流行:1983 年北京某奶牛场发生一起牛犊腹泻病流行,63 头牛犊有 50 头患腹泻病,经检查证明为 O:5 型和 O:3 型耶氏菌所致。

## 三、各种动物感染情况

我国已发现 40 多种动物感染各种血清型耶氏菌,包括家畜、家禽、啮齿动物、爬行动物、水生动物和动物园观赏动物。在这些动物中,与人群感染有重要传染源关系的有如下几种。

1. 猪:全国从猪分离出 30 多型耶氏菌,大多为人群致病的 O:3 型和 O:9 型,感染率高者达 50%,并可致猪腹泻病和流行。

2. 牛:感染率虽不及猪高,但牛奶中常带有 O:5、27 型耶氏菌,对人致病,并可引起牛的腹泻病。

3. 鼠类:全国各地共检查家、野鼠 4 643 只,耶氏菌携带为 3%~8%,对人致病强的血清型均有携带,其中 O:3、O:9、O:5、O:6、O:8 等型占 60%。

## 四、昆虫的媒介作用

关于昆虫传播耶氏菌问题,国外文献几乎没有报道,仅有一份日本学者从苍蝇分离到耶氏菌的报道,但对其体内存活情况及传播机制没有进行研究。国内对苍蝇、蟑螂和革螨的染菌情况进行调查,证明苍蝇和蟑螂有明显传播作用。

1. 蟑螂:在从福建自然界捕获蟑螂分离出 O:3 型耶氏菌,并且经过人工感染试验证明,在蟑螂体内带菌一个月以上,并能从粪便排出,可以看出蟑螂既可

作为本菌携带者,亦可作为传播媒介。

2. 苍蝇:国外只有一次从苍蝇分离出耶氏菌的报道,但多数为非致病性的,只有 4 株为 O:3 型。我国的调查证实,苍蝇感染耶氏菌非常普遍,感染率在 1%~2% 左右,多为 O:3 型毒力株,体内带菌比体表带菌时间长,亦具有传播作用。

#### 五、各种食品、蔬菜和环境标本的染菌情况

从冷库存放的各种冻肉和鲜肉均有检出耶氏菌,以猪肉和猪舌染菌率最高。从各种水产品、蛋类、牛羊奶以及市售糕点、饮料均有查出耶氏菌,其中不少是对人类有致病性的血清型。如果煮熟不够或生食,或在同一菜板切割生、熟食品,均可造成人的感染。各种蔬菜和水等外环境标本也检出耶氏菌,尤以蔬菜染菌率为高。因此,生食蔬菜和水果,要彻底洗净,以防耶氏菌感染。冰箱保存食品不能杀死耶氏菌,反而有利于耶氏菌繁殖。

#### 六、病原研究

1. 血清型:我国已发现 58 个血清型,其中 11 个型是国际上首次报道,它们是 O:7, 19, O:7, 8, 19, O:10, 16, O:17, 19, O:18, 19, O:26, 35, O:25, 45, O:29, O:36, 46, O:42, 51。我国经证实对人有毒力的血清型有 O:3, O:9, O:5, 27, O:6, 30, O:7, 8, O:15, O:40, 与国外报道相同,唯有 O:8 型在国外是毒力很强的,而我国目前分离到的菌株均缺乏毒力因子。

2. 生物型:共有 5 型,1 型和 5 型多为非致病株,2、3、4 型为致病株。我国分离到 O:3 和 O:9 血清型菌株均为生物 3 型,而国外分别为生物 4 型和 2 型,构成国内外致病性的差异。

3. 噬菌体:我国 1981 年分离出第一株耶氏菌噬菌体,1983 年又分离出 42 株噬菌体,这些噬菌体是以 O:3 型耶氏菌为指示菌分离的,裂解范围很狭窄,在 15℃ 只裂解 O:3 型耶氏菌,其他 47 个血清型均不裂解,对鼠疫耶氏菌、假结核耶氏菌、大肠菌、志贺氏菌、沙门氏菌也不裂解。以后以 48 型耶氏菌为指示菌,从 231 份猪便,分离出 110 株噬菌体,这些噬菌体裂解范围各不相同,其中两株噬

菌体(JA 和 HB)裂解范围广,两者混合后,可裂解各型耶氏菌的 97%,而对 580 株其他肠道菌的裂解率不到 1%,故可作为耶氏菌的初步诊断和鉴定用。

(1) 噬菌体对增菌培养的影响。耶氏菌分离常用增菌培养法,以提高检出率。如被检标本中有噬菌体存在,则会降低检菌率,反而不如直接平板培养法高。

(2) 噬菌体作用下典型耶氏菌向非典型耶氏菌转变。据报道,32 株 O:3 型耶氏菌经本型菌噬菌体作用后,有 3 株再生菌生化反应发生变化,能分解鼠李糖、蔗糖,不分解蜜二糖。根据 Brenner 等(1980 年)分类法,这 3 株转变为弗氏耶氏菌(*Yersinia frederiksenii*),这种情况在自然界和体内都可能存在。

4. 耶氏菌毒力研究:耶氏菌血清型很多,根据其毒力,可分为两大类:一类对人有致病力;另一类对人类无致病力,大部分血清型属于后者。但近年的研究证明,属于致病性血清型的菌株中,也有丧失致病力的。国外报道的测毒方法有 V<sub>w</sub> 抗原、自凝性、质粒、刚果红、肠毒素、Sereny 试验、小鼠眼球后测毒等法。这些方法在我国都有试用过,获得的结果表明这些方法都是比较敏感和特异的,但常见不一致的情况。

(1) V<sub>w</sub> 抗原与自凝因子:是国内外鉴别耶氏菌毒力株与无毒株常用的方法,两法都很敏感和特异,符合率也很高,可作为测毒方法之一,但比较麻烦费时。

(2) V<sub>i</sub> 抗原:为我国首次报道,与菌株毒力密切相关,与 V<sub>w</sub> 抗原和自凝因子符合率很高,属于种特异性,各种血清型是共同的,即用一种血清型的 V<sub>i</sub> 抗血清,可把各型菌株的毒力株都查出来,1 min 内即可得结果,重复性强,是一种最简便快速的优秀测毒方法,可以代替 V<sub>w</sub> 抗原和自凝因子测毒法。

(3) 毒力质粒:耶氏菌含有大小不同的质粒,其中(40~50)×10<sup>6</sup> 质粒,与菌株毒力有关。国外文献称其为毒力质粒。我国研究证明携带(40~50)×10<sup>6</sup> 质粒的菌株,并非都是毒力株,要视菌株是否含有分子量为 200×10<sup>3</sup> 温度依赖的

外膜蛋白而定。即含有 200×10<sup>3</sup> 左右的外膜蛋白者为毒力株,测不出 200×10<sup>3</sup> 外膜蛋白者为无毒株。由此可见,一个菌株检测出(40~50)×10<sup>6</sup> 质粒,就认为是毒力株是不全面的。

景怀奇等(1996 年)研究了含质粒和不含质粒菌株对上皮细胞(Hep-II)粘附、侵袭、细胞毒性作用的差异。结果表明有无质粒对上皮细胞的侵袭性没有明显影响,对粘附和细胞毒性作用有较为明显的差异。朱忠等(1987 年)研究了毒力质粒与胞内寄生性的关系,结果表明 O:8 型耶氏菌毒力质粒阳性株可在小鼠体内脾细胞中生长,阴性则不生长。但在腹腔巨噬细胞内两种菌株均不能生长。

景怀奇等(1996 年)用随机引物 RAPD<sub>2</sub> 对两株不同地区的 O:3 型耶氏菌进行扩增,具有不同的 RAPD 图谱,以及用其他 4 对引物扩增,其 DNA 片段大小也不相同,表明它们染色体和质粒上遗传物质的差异。不同血清型菌株之间的 RAPD 亦有较大差异。这说明血清型相同仅反应出该菌株脂多糖 O 侧链的调节基因有同源性,并不能代表细菌的全貌,只有把血清型、DNA 特征及生化代谢谱联系起来,才能找到在致病过程中起主要作用的致病机理。

5. 外膜蛋白结构及调控基因的分子克隆:张上等(1989 年)利用“鸟枪法”将 O:3 型耶氏菌毒力质粒的 Bam HI 片段克隆到 *E. coli* C600,获得一株重组子,限制内切酶分析表明,该重组质粒是由 O:3 型耶氏菌毒力质粒的 Bam HI 片段与 *E. coli* C600 构建而成,揭示该片段带有外膜蛋白的结构和调控基因。

不同宿主耶氏菌分子流行病学调查:陈扬等(1998 年)从耶氏菌流行严重的福建地区人、猪、鼠和鸡中分离到的 O:3 型耶氏菌毒力质粒 DNA,用限制性内切酶 Bam BI, Eon BI, Hind III 进行酶切分析,结果三种酶切图各具特征性,但不同菌株间无异常,具有同源性,表明它们可能来自共同的起源。景怀奇等(1998 年)对从福建、浙江、沈阳等地分离的 18 个血清型的 115 株耶氏菌用随机扩增多态性 DNA(RAPD)方法进行了分析,将其

分为 22 个型别,但看不出这些型别对追踪传染源有何关联。

七、O:9 型耶氏菌与布鲁氏菌抗体的鉴别

这两种菌的血清学交叉反应,国外早有报道,国内亦有数篇报道。曾试图采用各种方法加以鉴别,直到现在均未获满意结果。严延生等(1988 年)以 O:9 型耶氏菌外膜蛋白为抗原的免疫印迹法,可明显地鉴别 O:9 型耶氏菌和布鲁氏菌两种抗体。于恩庶等(1991 年)进一步以 O:3 型耶氏菌质粒编码的电泳性和免疫原性与 O:9 型耶氏菌相同,故改用 O:3 型代替 O:9 型耶氏菌外膜蛋白为抗原的免疫斑点试验或免疫印迹试验鉴别 O:9 型耶氏菌和布鲁氏菌两类抗体更为明确。采用这种方法纠正了用布病常规血清学方法错判的布病患者和布病疫源地。鲁齐发等(1993 年)也证明采用 SAT、ELISA 及 DIBA 分别对 6 种布鲁氏菌及耶氏菌 O:9 型感染兔血清抗体,无论用布鲁氏菌 104 M、耶氏菌 O:9 型凝集抗原做 SAT 检查,或用布鲁氏菌 16 M 超声波破碎抗原做 ELISA 检查,均无鉴别意义,而用 16 M 可溶性蛋白抗原、外膜蛋白抗原以及用耶氏菌 O:3 型可溶性蛋白抗原、外膜蛋白抗原做 ELISA 或 DIBA 均能鉴别布鲁氏菌与耶氏菌 O:9 型两种抗体,在实际检测时,以同时用 10 M 及 O:3 型外膜蛋白做 ELISA 检查为宜。

#### 八、我国耶氏菌研究的创新点

1. 我国耶氏菌病最主要的病原菌是 O:3 和 O:9 血清型,这与欧洲和日本等国家是相同的,但其生物型则完全不同,即我国 O:3 和 O:9 两种血清型,均以生物 3 型为主,而国外前者以生物 4 型为主,后者以生物 2 型为主。致病力也有差异,我国 O:3 型菌株致病力强,国外报告的菌株弱。

2. 我国 O:3 型耶氏菌能引起猪腹泻,已发现两次猪耶氏菌腹泻的暴发流行,而国外认为猪系正常带菌,不致病。

3. 我国 O:8 型耶氏菌无致病力,各种毒力因子检测均为阴性,而美国和加

拿大 O:8 型菌毒力强,豚鼠角膜试验呈强反应。

4. 我国从人群分离出不少被认为是无毒的血清型菌株,如 O:15、O:16、29、O:40 证明有毒力。

5. 日本报告鼠类携带的耶氏菌以 O:6 型为主,很少 O:3 和 O:9 型,故认为鼠类不是人类耶氏菌病的主要传染源。而我国鼠类携带率高,60% 以上菌株为人类致病的 O:3 和 O:9 血清型,而且鼠与猪接触频繁相互传播机会多,具备主要传染源的条件。

6. 昆虫的传播作用:在国外被忽视,缺乏这方面的资料。我国的调查研究证实,苍蝇和蟑螂体内带菌时间相当长,并能通过粪便向外排出,污染外部环境和食品,起到了传播作用。

7. 发现一种新的毒力决定体—Vi 抗原,不论何种血清型凡有该抗原者均为毒力株,这是一种非常简便的测毒方法。

8. 文献上均把耶氏菌(40~50)×10<sup>6</sup> 质粒视为毒力质粒。我国的研究证实,苍蝇和蟑螂体内带菌时间相当长,并能通过粪便向外排出,污染外部环境和食品,起到了传播作用。

9. 文献上有噬菌体分型的报道,未见用于诊断和鉴定的资料:我国筛选出两株噬菌体(JA 和 HB),两者混合液,可裂解各型耶氏菌株的 97%,而对其他肠道菌包括极常见的大肠菌、沙门氏菌、痢疾杆菌等的裂解率不到 1%,可作为耶氏菌初筛的鉴定用。

10. 研究出一种新的免疫学方法——酶免疫斑点试验:能把耶氏菌属的 3 个致病菌(鼠疫、假结核和小肠结肠炎耶尔森氏菌)的毒力株都能测出来,此乃耶氏菌属的一种简便、快速、共同的测毒方法。

#### 参 考 文 献

1 于恩庶,蔡珠钦,张宝英,等.猪小肠结肠炎耶氏菌病的爆发流行.中国兽医杂志,

1983,9:8.

2 陈贻锴,蔡珠钦,于恩庶,等.小肠结肠炎耶氏菌 V<sub>w</sub> 抗原有关质粒 DNA 的检测.中华微生物学免疫学杂志,1983,2:395-396.

3 于恩庶,李功惠,翁士珍.小肠结肠炎耶氏菌诊断噬菌体(J+H)溶菌谱的进一步研究.中国人兽共患病杂志,1986,2:6-10.

4 陈贻锴,于恩庶,李功惠,等.小肠结肠炎耶氏菌毒力株血清学鉴定的进一步评价.中华流行病学杂志,1986,7:324-326.

5 于恩庶,翁士珍,李功惠.小肠结肠炎耶氏菌 V<sub>i</sub> 抗原的研究.微生物学通报,1987,14:14-16.

6 严延生,于恩庶,陈贻锴.小肠结肠炎耶氏菌外膜蛋白与毒力质粒关系的研究.中华微生物学免疫学杂志,1987,7:61-64.

7 于恩庶,严延生,姚虹,等.O:3 型小肠结肠炎耶氏菌外膜蛋白用于布氏菌与 O:9 型耶氏菌感染的鉴别诊断.中国人兽共患病杂志,1991,7:2-4.

8 余菲菲,包幼迪.小肠结肠炎耶氏菌毒力相关基因探针的制备.中国人兽共患病杂志,1992,8:13-14.

9 鲁齐发,武素怀,王晓英,等.布鲁氏菌和 O:9 型小肠结肠炎耶氏菌两种抗体鉴别的实验研究.中华流行病学杂志,1993,14:283-286.

10 潘敏楠,余家辉,于恩庶.4 头猪耶氏菌感染误诊为布氏菌感染.中国人兽共患病杂志,1995,11:57-58.

11 景怀奇,邵祝军,张维研,等.PYV 质粒对小肠结肠炎耶氏菌粘附侵袭上皮细胞及细胞毒性作用的影响.中国人兽共患病杂志,1996,12:7-9.

12 朱忠,苏东辉,王依星,等.耶氏菌毒力质粒与胞生寄生性的关系.中国人兽共患病杂志,1997,13:18-19.

13 赵阳青,景怀奇,徐建国,等.小肠结肠炎耶氏菌随机扩增多态性 DNA 的分析.中国人兽共患病杂志,1998,14:10-13.

14 景怀奇,姜淑贤,赵维贤,等.不同来源 O:3 血清型小肠结肠炎耶氏菌的生物特性研究.中华微生物学免疫学杂志,1998,18:354.

15 景怀奇,马焯,徐建国,等.致病性耶尔森氏菌 PCR 扩增多态性的研究.中华微生物学免疫学杂志,1998,18:314-317.

(收稿日期:1999-12-25)