

小肠结肠炎耶氏菌肠毒素的研究

福建省流行病研究所 于恩庶 黄育默

有报告指出, 小肠结肠炎耶氏菌某些型株在试管内产生的肠毒素, 与大肠菌耐热性肠毒素相似^[1-3]。但这些作者认为此种肠毒素仅在室温产生, 在37°C不能产生, 同样在体内或厌氧条件下, 也未证明有肠毒素产生, 因此, 怀疑此种肠毒素的致病意义。此后Kapperud (1980)首先证实了O:28型小肠结肠炎耶氏菌在37°C和22°C都能产生肠毒素, 但在37°C产生肠毒素者都是从外环境(包括动物)分离的人类很少见的血清型, 如O:1, O:11, O:28和不凝集菌株。在人类常见的O:3血清型则没有一株产生肠毒素^[4]。

本文研究了O:3型或与O:3型有共同抗原成分的小肠结肠炎耶氏菌产生肠毒素的情况, 并且发现在37°C也可产生肠毒素, 这对阐明小肠结肠炎耶氏菌肠毒素的致病作用, 有十分重要意义。

材料和方法

一、菌株来源: 本试验使用的菌株系从腹泻病猪及其接触猪分离的, 属于O:3型或与O:3型有共同抗原成分, 其生物型属wauters 3型。

二、肠毒素制备: 用3%豚豚水(pH7.4)或加0.6%酵母浸膏, 接种被检菌后, 白天在室温振荡培养, 然后放25°C温箱内连续培养2天或者在25°C或37°C温箱内连续培养2天。之后用3000转/分离心30分钟, 沉下菌体, 取上清接种动物, 进行测定。

三、肠毒素测定: 使用乳鼠基本按Dean等^[5]和Kapperud等^[4]的方法进行。为判定是否注入胃内, 被检材料内加入适量美兰。乳鼠龄多为2~3天, 个别试验扩大到1~5天。注入量为0.1毫升, 每份材料注射3~5只。

注射后在25°C放置4小时后解剖。从鼠体取出全部肠称重, 并计算肠重与鼠体其余部分重量之比值, ≥ 0.083 为肠毒素阳性。

结 果

一、肠毒素测定结果: 使用乳鼠法测定了24株小肠结肠炎耶氏菌的肠毒素产生情况, 结果有5株阳性, 占20.8%。5株阳性者分别为P⁷——0.083, P₁₀——0.086, P₁₆——0.101, P₂₈——0.083, P₉₁——0.085。其余19株皆在0.080以下。上述结果是在3%豚豚水培养2天后测定的。以后在培养基内添加0.6%酵母浸膏, 对肠毒素产生未见明显改变。

此外又用两个菌株试验了25°C培养和37°C培养产生肠毒素的情况, 结果证明在37°C亦可产生肠毒素(表1)。但此种肠毒素活性在4°C冰箱冷凝器内很快丧失。

表1 培养方法与肠毒素产生的关系

编号	培 养 方 法			肠毒素产生 (肠重/余体重)	
	温度 (°C)	培养 天数	振荡 时间	P ₁₀	P ₁₆
①	25	2	白 天	0.084	0.097
②	25	2	不振荡	0.077	0.104
③	37	2	白 天	0.111	0.104
④	25	4	白 天	0.063	0.067
⑤	25	4	不振荡	0.061	0.080
⑥	37	4	"	0.071	0.064

二、耐热性试验: 取P₉₁株在3%豚豚水或添加0.6%酵母浸膏, 培养2天后, 离心取上清分成两份; 一份不加热, 一份加热100°C15分钟, 同时用乳鼠测定肠毒素, 结果未见加热前后有明显改变(表2)。

三、肠毒素产生的波动: 取P₉₁株在3%豚豚水(添加0.6%酵母浸膏者)多次培养, 测定的肠毒素结果不完全一致, 波动于0.080~

0.120之间(表3)。

表2 加热100℃15分对肠毒素活性的影响

试验培养基	肠毒素活性	
	不加热	加热
I 3%豚豚水	0.083	0.094
3%豚豚水加0.6%酵母浸膏	0.099	0.080
II 3%豚豚水	0.088	0.084
3%豚豚水加0.6%酵母浸膏	0.082	0.088

表3 肠毒素测定结果的波动情况

测定次数	1	2	3	4	5	6	7
乳鼠数	2	3	4	3	3	4	3
肠毒素产生 (肠重/余体重)	0.080	0.089	0.120	0.084	0.090	0.081	0.082

四、鼠龄与肠毒素产生的关系：从表4结果看，生后一天至六天乳鼠均可用于肠毒素测定。

表4 乳鼠体重与肠毒素产生关系

乳鼠龄(日)	体重(克)	肠毒素(肠重/余体重)
1~2	1.30	0.153
2~3	1.57	0.089
3~4	2.12	0.146
5~6	3.29	0.111
平均	2.12	0.121

讨 论

小肠结肠炎耶氏菌的肠毒素产生株，在人、动物和外环境中甚广。这种肠毒素与大肠菌耐热性肠毒素有许多相似点：两者在乳鼠测定和家兔肠结扎试验，均能产生肠液滞留，但不能引起组织培养细胞的形态改变；可附于细胞表面的受体，不影响小鼠肠悬液的腺苷酸环化酶的活性，但能激活鸟苷酸环化酶，对热和酸的抵抗性以及分子量大小均相似。肠毒素的产生，增加了小肠结肠炎耶氏菌的毒力，造成腹泻[3]。但有人认为此种肠毒素仅在室温产生，在37℃不能产生，而怀疑这些菌株肠毒素的意义。以后虽然有人证明小肠结肠炎耶氏菌在37℃和22℃都可产生肠毒素，但都是人类少见

的血清型和不凝集菌株[4]。而在人类常见的血清如O：3，O：9等菌株，尚未证明有产生肠毒素者。本文证明O：3型及其类似菌株在37℃也能产生肠毒素。鉴于这些菌株是从腹泻病猪及其接触者分离的，和当地从人和鼠类分离的菌株，在生物型和血清型相同，实验还证明在小白鼠和猪均能产生腹泻(将于另文报告)，可见其临床意义是很明显的。

本耶氏菌产生肠毒素的频率，与菌株来源和血清型别有关。Kapperud(1980)检查48个人源株有60%有肠毒素；检查331个外环境株(包括猪株)，仅有19%产生肠毒素。Pai等(1978)检查从加拿大分离的人源株414株，有64.7%产生肠毒素与Kapperud结果相似。Mors等(1980)报告产生肠毒素株更多，达到91%[6]。本文检出的肠毒素产生株占20.8%与Kapperud检查的外环境株(包括猪源株)相近，比人源株为低。不同血清型菌株，产生肠毒素亦有一定差异。Pai等(1978)检查414株中，有159株是人类常见的血清型O：3，O：8，O：9，除1株外全部产生肠毒素，其次重要的血清型如O：5，27；O：6，31；O：7，8；O：13，7；O：16等也有部分株产生肠毒素，其他血清型很少有肠毒素产生[1]。

用乳鼠检查小肠结肠炎耶氏菌，耐热性肠毒素的阳性标准，定为肠重/余体重≥0.083，这是根据大肠菌的标准而提出的。但这两种菌究竟有所不同，一般说大肠菌的耐热性肠毒素的活性更强些，不能完全套用。还有肠毒素产生不十分稳定，根据本文试验的波动范围在0.08~0.120之间，因此，把标准改为0.080较为适宜，对此尚应进一步积累资料验证。

摘 要

本文用乳鼠法检查属于O：3型或与O：3型有共同抗原成分的，24株小肠结肠炎耶氏菌有5株(20.8%)产生肠毒素，此种肠毒素为耐热性，加热100℃15分钟活性不改变。肠毒素产生不十分稳定，在同样条件下其波动范围在0.080~0.120之间。2个肠毒素阳性株(P10、P16)在25℃、37℃培养均产生肠毒素。

ABSTRACT

By means of inoculating suckling mice 5 out of 24 strains (possessing common antigenic components of O:3 or cross-reacting antigen) were found to produce enterotoxin. One of the characteristics of enterotoxin was heat stable and its activities appeared to remain stable even after heating at 100°C for 15 minutes.

The yield of enterotoxin was variable with range of fluctuation between 0.080~0.120 under identical conditions. Experiments confirmed that 2 strains (P10 and P16) of enterotoxin producing *Yersinia enterocolitica* were found to

produce enterotoxin no matter whether they were incubated at 25°C or 37°C.

参 考 文 献

1. Pai CH et al: Infect Immun, 19: 908-911, 1978.
2. Boyce JM et al: Infect Immun, 25: 532-537, 1979
3. Robins-Browne RM et al: Infect Immun, 25: 680-684, 1979
4. Kapperud G et al: Acta Path Microbiol Scand Sect B, 88: 65-67; 287-291, 1980.
5. Dean AG et al: J Infect Dis, 125: 407-411, 1972.
6. Mors V and Pai CH: Infect Immun, 28(1): 292-294, 1980.

从鼠类分离出小肠结肠炎耶氏菌

福建省流研所 林金瑞 于恩庶

莆田地区防疫站 余家辉

小肠结肠炎耶氏菌作为人群胃肠炎的一种新的重要致病菌, 已为许多学者所证实。猪、狗、猫等家畜被疑为可能的传染源, 但鼠类作为传染源的问题, 尚有不同看法。我们从鼠类分离出病人常见的O:3型小肠结肠炎耶氏菌, 进一步证实鼠类作为人畜传染源的意义。

1981年莆田城关一个养猪场, 在猪群中发生一次小肠结肠炎耶氏菌的流行。当时在猪栏附近捕鼠检查, 取盲肠内容物接种于磷酸缓冲液, 4°C增菌, 然后在孔雀绿SS琼脂平板上分离培养。共检查24只鼠, 分离出本菌3株, 阳性率为12.5% (表1)。

表1 各种鼠类分离耶氏菌结果

鼠 种	检 查 数	阳 性 数
黄 毛 鼠	16	2
臭 鼯 鼠	5	1
褐 家 鼠	3	0

3个菌株的生化性状相同, 属于典型菌株, 按

Wauters分型法, 应定为生物3型。

血清型鉴定: 3个株与国际参考株O:3型5230株 (卫生部药品生物制品检定所提供) 呈终末相互凝集效价, 与O:9型无交叉反应。取其中1株(R30)进一步用吸收试验证明与O:3为同一型 (表2)。

表2 吸收试验

免疫血清	吸收菌株	试验抗原	凝集效价
R30株	—	R30	1:5120
"	—	52301	1:5120
"	52301	52301	—
"	52301	R30	—
52301	—	52301	1:2560
"	—	R30	1:2560
"	R30	R30	—
"	R30	52301	—

根据上述鉴定结果: 3个来源于鼠类的耶氏菌株均为生物3型, 血清型均含有O:3抗原因子, 其中1株经吸收试验, 确定为O:3型。

被猫咬伤致狂犬病一例

沈阳市传染病院 赵春媛

胡×芝, 女, 24岁, 系沈阳市郊桃仙公社交利井大队社员, 1981年3月4日清晨, 在床上睡觉, 小孩在怀中吃奶, 邻居家的猫突然将其右耳垂及右中指各咬破一小口, 出血不多, 伤口未处理, 自愈。此前此猫曾咬伤一小孩。因其常来胡家捉老鼠, 每次来去不为人注意。

胡×芝被咬伤后20天起病, 手脚麻木, 听力下降; 次日畏风恐水, 住进我院, 病情急剧恶化, 恐怖, 烦躁, 大汗, 而后渐趋麻痹, 死于第3病日。

1980年以来, 我院共收治因猫咬伤而致狂犬病者4例, 我们的经验是:

一、防猫咬人要跟防犬咬人应有同样的警惕; 遇有猫行为异常或咬人, 应将猫立即处死!

二、凡猫咬伤应一律按狂犬咬伤处理, 彻底冲洗和清创, 立即注射血清和疫苗。

三、狂犬病疫区内应普遍对狗接种疫苗, 以期控制疫情, 免得传染给猫。