

首次发现O:9血清型小肠结肠炎耶尔森氏菌引起的腹泻爆发流行

沈阳市卫生防疫站

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所*

提要 本文首次报告由O:9血清型、生物3型小肠结肠炎耶尔森氏菌引起的一起食物源性急性腹泻爆发流行。发病率为64.44%、病人的主要临床表现为腹痛(95.17%)、腹泻(56.25%)、头昏、头痛(53.40%)及发热(29.29%)。从33名病人粪便标本中分离出13株O:9血清型小肠结肠炎耶尔森氏菌。这些菌株具有典型的生化反应,大多数具有病原性。病人恢复期血清抗体滴度多在1:160以上。

关键词 小肠结肠炎耶尔森氏菌 爆发流行 O:9血清型

小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*,下称耶氏菌)为新近发现的人类肠道致病菌。自1964年,Carlsson等^[1]证实耶氏菌对人的致病性以来,世界已有许多国家报道本病的存在^[2]。1973年,Zen-Yoji^[3]和Asakawa^[4]报道了日本小学和幼儿园发生了三次爆发流行,有近1000人患病;1977年,Anon^[5]报道了纽约州的耶氏菌胃肠炎爆发流行;美国纽约州一所小学因食污染的巧克力牛奶发生了218例耶氏菌肠炎^[6],因此引起了各国学者的重视。近年来,关于耶氏菌病爆发流行的报道逐渐增多。如医院内爆发^[7]、家庭内爆发^[8],另外,美国的田纳西州、阿肯色州和密西西比州由于进食同一工场生产的食品同时发生耶氏菌肠炎爆发流行^[9]。

本文报告,1987年3月6日至3月17日,沈阳市某中等专科学校在集体食堂就餐者,有352人发病,经病原学证实,此爆发系由O:9血清型、生物3型耶氏菌所致。目前尚未见由该血清型引起爆发流行的其它报道。

材料和方法

一、流行病学调查:询问每一例患者,按

规定填写个案调查表格,同时以肛拭法取患者粪便,置Cary-Blair运输培养基中,3小时内送实验室。由于发病期间的食物已全部处理,采取一些新制备的食品进行检验。

二、病原学检查:按有关文献^[2]的方法进行,包括病原分离、生化鉴定和菌株毒力检测。生物型按Wauter's法划分。

三、血清型划分:采用卫生部生物制品药品检定所生产之49型抗O兔血清,以玻片凝集法判定结果。

四、患者恢复期血清抗体检查:采用常规试管凝集反应。将由病人粪便新分离的菌株接种在普通琼脂斜面上,25℃培养48小时,用1%福尔马林盐水制成20亿/ml菌悬液做为抗原。

调查结果

一、流行病学调查:

1.流行强度:该校共有教职工和学生722人,发病352人,发病率48.75%,其中学生505人,发病341人,发病率67.52%,职工192人,只有1人发病,发病率0.52%,炊事员

*参加工作的有:贾明和 肖东楼 王晓春 陆桂珍

25人, 发病10人, 发病率40.00%。

2. 流行时间: 3月6日爆发开始, 数日内达高峰。3月9日至3月12日发病240人, 占发病总数的68.18%, 以后发病人数逐渐减少, 至3月17日疫情终止。整个爆发持续11天, 经采取综合性防疫措施后, 疫情很快被控制。

3. 性别、年龄分布: 全校共有男性318人, 发病201人, 发病率63.21%, 女性307人, 发病157人, 发病率49.19%。经卡方测验 $P < 0.01$, 男性多于女性, 据调查可能与男同学早餐购买和食用小菜数量有关。由于发病者多为学生, 故发病年龄集中在20~25岁。

4. 流行因素的调查分析:

(1) 调查在食堂就餐人员545人, 发病者351人, 发病率64.44%, 未在食堂就餐者253人, 仅1人发病。经统计学处理, 两者有高度显著性差异, 提示发病与在学校食堂就餐有关。进一步追查发现, 发病与进早餐关系密切, 在食堂进食早餐者505人, 发病351人, 未进早餐者253人, 1人发病, 两者差异高度显著 ($\chi^2 = 320, P < 0.01$)。调查提示, 患者发病前均有进食共同食物的饮食史, 由对病人发病前的饮食种类与发病关系的调查得知, 食堂自制的小菜与发病之间存在很强的联系 ($RR = 2.56$)。食用小菜者302人, 发病201人, 发病率66.6%, 未食小菜者14人, 发病4人, 发病率28.6%。

(2) 调查提示, 食堂制造小菜过程中各环节均受到污染, 炊事员切洗小菜置竹编大筐内, 存放在水泥地上, 菜板暴露于空间, 切好的小菜放在大盆内, 每日的剩菜添加在新制作的小菜中再卖出, 造成反复污染的机会。

(3) 追溯本次爆发的传染来源, 以食用被污染的蔬菜或由于炊事员带菌(10名炊事员检出耶氏菌, 9人血清抗体滴度为1:80~1:1280)反复污染食物所致, 推测后者比前者的可能性大。

(4) 该校饮用水系市政供水, 水质检验结果符合国家饮用水标准, 故可排除水作为传

播因素的可能。

二、临床表现:

在352例病人中, 绝大多数有腹痛(95.17%), 头昏头痛(53.40%), 腹泻(56.25%)。腹泻以稀便为主(80.80%), 其次为粘液便(16.17%), 水样便(13.13%), 脓血便较少(3.03%)。大便次数多为每日2~3次(67.17%), 部分病人4~6次(29.29%), 仅7人每日腹泻7次以上(3.53%)。部分患者发烧, 多表现为低热, 少数病例达39~40℃。腹痛部位主要为下腹部(40.00%), 其次为脐周(37.61%)、上腹部(22.38%)。恶心呕吐较少见。本次爆发的主要临床表现见表1。

另外, 对腹泻与无腹泻者的临床特点做了比较, 两者均以腹痛为主, 其次为头昏头痛, 四肢无力。其差异主要表现为, 腹泻组出现症状阳性率较无腹泻组明显增高, 经统计学处理两者有显著差异。

表1 352例耶氏菌病主要临床症状

症状	例数	%
发 热	86	24.43
腹 痛	335	95.17
腹 泻	198	56.25
头昏头痛	188	53.40
四肢无力	176	50.00
头 痛	164	46.59
恶 心	77	12.89
呕 吐	15	4.26

三、实验室检查:

1. 病原体分离: 选择未服抗菌素的腹泻病人, 用肛拭法采取粪便标本, 送实验室划线接种在SS平板上, 置33℃24小时培养, 长出几乎单一圆形、光滑、半透明、不发酵乳糖而稍隆起的菌落, 类似纯培养。取该菌接种克氏双糖, 底层产酸变黄, 斜面部分无颜色改变。经普通斜面纯培养, 镜检发现革兰氏阴性的卵圆形球杆菌, 接种半固体27℃48小时有动力, 37℃无动力, 尿素阳性, 氧化酶阴性。从33份病人粪便标本中, 获得阳性13份。

2. 分离菌株的鉴定:

生化特征和生物分型: 耶氏菌的鉴定和生物分型, 主要依赖其生化特征。按常规法制备生化培养基, 接种后置25℃观察72小时, 分离株对甲基红、乳糖OF氧化, 鸟氨酸和ONPG均为阳性反应, 能发酵葡萄糖(3株微产气) 蔗糖、木糖、麦芽糖和甘露醇, 卵磷脂酶、赖氨酸和精氨酸脱羧反应、VP(37℃)和苯丙氨酸脱氨酶均为阴性反应, 不发酵鼠李糖、密二糖, 卫茅醇和水杨苷。不产生H₂S, 还原硝酸盐为亚硝酸盐。以上鉴定结果符合耶氏菌生化特征。按Wauters生物分型标准, 根据靛基质、乳糖OF氧化、不产生卵磷脂酶和发酵木糖等项反应, 将分离菌株划分为耶氏菌生物三型。

3. 血清学和噬菌体试验: 用分离株与诊断血清做玻片凝集反应, 确定为0:9型(++) , 盐水对照(-)。13个分离菌株反应相同。

许多学者证明耶氏菌噬菌体具有高度特异性, 不裂解耶氏菌属的其它细菌及沙门氏菌属、志贺氏菌属、巴氏菌属等菌株。用这种特异性噬菌体在25℃下观察噬菌试验, 发现13个分离株均呈阳性结果。

4. 分离菌株毒力检查: 耶氏菌可分为毒力型和非毒力型菌株, 只有毒力型菌株才能引起

人类疾病。我们检查了分离株的自凝性、VW抗原测定, 毒力质粒检查、毒力因子血凝检查、豚鼠角膜试验和耐热肠毒素检查等6项指标。结果见表2。

表2 13株0:9型生物3型耶氏菌测毒方法比较

	自凝	VW 抗原	质粒	毒力 因子 血清	豚鼠 角膜 试验	肠毒素
阳性	9	11	6	13	3	3
%	60.2	84.6	46.1	100	23.1	23.1

上述结果说明, 此次腹泻爆发是由耶氏菌0:9血清型生物3型菌株引起。13个分离菌株中, 11株为典型毒力株。

5. 药物敏感试验: 分离菌株分别密集划线于营养琼脂平板, 用上海第六人民医院提供的药敏纸片贴于平板琼脂表面, 置27℃48小时培养。共做10种抗生素的敏感试验: 红霉素, 氨苄青霉素、氯霉素、链霉素、磺胺嘧啶、复方新诺明、丁胺卡那、羧苄苯唑青霉素及新霉素。其中最敏感者为复方新诺明、丁胺卡那, 其次为链霉素和新霉素, 余均抗药。

四、血清流行病学调查: 取患者病后2~3周血清30份, 健康人血清30份做为对照, 采用试管凝集反应测定抗体, 结果见表3。

表3

耶氏菌病患者与健康人血清抗体滴度

标本数	血清抗体滴度									GMT
	<1:20	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:5160	
患者 30	—	—	—	1	3	5	11	7	1	655.3
健康人 30	28	1	1	—	—	—	—	—	—	10.75

由表3得知, 30名病人血清抗体滴度均达到诊断标准(≥1:80), 仅1人为1:80, 多数患者均在1:640以上, 个别可达1:5160, GMT(几何平均滴度)为1:655.3。健康对照30份血清滴度均在1:80以下, GMT为1:10.75, 两组有显著差异, 进一步说明此次为耶氏菌病爆发流行。

讨论与分析

一、于恩庶、贾明和等^[2]提出, 在发病的

基础上, 根据粪便中耶氏菌的分离和高效价血清抗体(≥1:80), 即可做出耶氏菌病的诊断。我们从27名病例的粪便中分离出13株耶氏菌, 均属于0:9血清型、生物3型, SS培养基上出现典型耶氏菌落, 且血清抗体效价达1:80~1:5160, GMT为655.3(健康对照GMT10.7)。患者多表现有耶氏菌病的临床症状和体征。以上几点说明, 耶氏菌为本次腹泻爆发的病原菌。

二、已报道的资料表明,耶氏菌病爆发流行多为食物型,主要发生在集体就餐的人群中,国外多数是因食用牛奶及奶制品所致〔5,4,9~11〕,也有因食用其它食物引起爆发者〔3,4〕。

本次爆发的传染来源为被污染的蔬菜。耶氏菌在外环境中生活力强,在4℃下,有些耶氏菌可存活达18个月〔8〕。Kappeerud(1981)观察了20株耶氏菌在3~6℃环境中具有肠毒素活性,故认为部分耶氏菌在污染食品后仍有产生肠毒素的能力。另外,由于炊事员带菌而反复污染食物导致该次爆发的可能性亦不能完全排除。

三、此次爆发流行病例的临床症状以腹痛、腹泻、头昏头痛为主,出现腹泻者占病例总数的56.25%,有43.75%的人无腹泻而以全身中毒症状为主,可能与耶氏菌毒素的作用有关。

四、能导致人类腹泻的耶氏菌有20个血清型,其中主要有0:3、0:5、0:8、0:9和06、30血清型,欧洲和亚洲以0:3和0:9血清型为主,美国则以0:8血清型为主。世界上几次爆发流行菌株均为0:3和0:8血清型。我市检出的13株耶氏菌均为0:9血清型,首次证实了该血清型能引起爆发流行。

五、耶氏菌对青霉素及其衍生物和新霉素普遍耐药,绝大多数菌株对链霉素、四环素、氯霉素、磺胺嘧啶及庆大霉素敏感,国内福建省南部的检出菌株除对青霉素有耐药性外,对磺胺嘧啶、红霉素亦耐药,但对土霉素、金霉素、氯霉素、庆大霉素、卡那霉素、链霉素及呋喃妥因均敏感。该次爆发菌株的耐药情况与国内外相比略有差别,对复方新诺明、丁氨卡那最为敏感,其次为链霉素和新霉素,余均耐药。

First Report of Outbreak Caused by *Yersinia enterocolitica* Serotype 0:9 in Shengyang
Shengyang Sanitary and Anti-epidemic Station

An acute diarrhoeal outbreak of 351 cases with the infection of *Yersinia enterocolitica*, serotype 0:9, biotype 3 occurred in 722 students and faculties at the polytechnic school of Shengyang from March 6 to 17, 1987. The epidemiological evidences showed that the infection was related to having breakfast at the school cafeteria in which 545 persons had meal and 351 of them got the disease with 64.44% of incidence while there was 1 patient among 253 persons who didn't have the breakfast in the control group. The geometrical titer of antibody against *Yersinia enterocolitica* from the patients' sera was 1:160. And 13 strains with the typical biochemical characteristics were isolated from the stools of 33 patients, and most of them are pathogenic.

Key Words *Yersinia enterocolitica*
Outbreak Serotype 0:9

参 考 文 献

1. Carlsson MG, et al. A case of human infection with *Pasteurella pseudotuberculosis* X. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1964; 62:128.
2. 于恩庶, 贾明和等. 耶氏菌病和弯曲菌病. 福州:福建科技出版社, 1986; 78~79.
3. Zen-yoji H, et al. An Outbreaks of Enteritis due to *Yersinia enterocolitica* Occurring at a Junior School. *Jap J Microbiol* 1973; 17:220.
4. Asakava Y, et al. Two community outbreaks of human infection with *Yersinia enterocolitica*. *J Hyg Cambridge* 1973; 71:715.
5. Anon. *Yersinia enterocolitica* outbreak. New York morbidity and mortality weekly report 1977; 26:53.
6. Black RE, et al. Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk. *New Engl J Med* 1978; 298:76.
7. Ratnam S, et al. A nosocomial outbreak of diarrheal disease due to *Yersinia enterocolitica* serotype 0:5 biotype .1. *J Infect Dis* 1982; 145(2):242.
8. Martin T, et al. Family outbreak of *Yersiniosis*. *J Clin Microbiol* 1982; 16(4):622.
9. Tacket CO, et al. A multistate outbreak of infection caused by *Yersinia enterocolitica* transmitted by Pasteurized milk. *JAMA* 1984; 251(4):483.
10. Morse DL, et al. Epidemiologic investigation of a *Yersinia camp* outbreak linked to a food handler. *Am J Pub Health* 1984; 74(6):589.
11. Shayzani M, et al. Microbiology of a major foodborne outbreak of gastroenteritis caused by *Yersinia enterocolitica* serogroup 0:8. *J Clin Microbiol* 1982; 17(1):35.