

国内所见侵袭性大肠杆菌血清型

中国药品生物制品检定所 杨正时 王晓新 钟 熙
厦门市卫生防疫站 林炳辉

提要 本文报告1984~85年间,国内13个省市送检的侵袭性大肠杆菌(EIEC)的鉴定与血清学分型结果。受检的276株中,确定为EIEC的77株(27.9%)。其中能引起豚鼠角膜炎的有毒力菌株68株(88.3%),11.7%菌株在较短时间内丧失了毒力(EIEC, Inv⁻)。77株EIEC分布于7个O抗原的8个血清型,其中O_{28ac}:H-占49.2%, O₁₆₄:H-为22.1%, O₁₂₄有二个侵袭性血清型H-和H₃₀,占11.7%。O₂₉:H-, O_{112ac}:H-, O₁₃₆:H-, O₁₅₂:H-也占有一定比例。

在本文中,作者提出了侵袭性大肠杆菌的诊断标准与侵袭性大肠杆菌毒力丧失株的概念以及鉴别特征,并作了详细的讨论。

关键词 侵袭性大肠杆菌 血清型

侵袭性大肠杆菌(EIEC)可引起痢疾样的症状,是感染性腹泻的主要病原菌。自1984年9月由作者(杨正时)协助有关部门(健康报1984年10月25日,第一版)在北京确定了该菌引起的一次大规模食物中毒后,国内卫生防疫和临床检验部门开展了对该菌的检测。应用我所大肠埃希氏菌专业实验室提供的诊断血清进行血清学分型的研究。一些单位将初步检定为EIEC的菌株送到作者的实验室要求复核与进一步检定。有关EIEC的分型,国内仅见少数菌株的零星报道,有的仅以玻片凝集为度,未作毒力及与毒力有关的生化反应,因此可靠性差。本文将综合报道1984~85年间各地送检的EIEC分型结果。由于这些菌株来自国内不同地区,菌株数量相对较多,其来源具有一定的代表性,因此本文基本上概括了国内EIEC目前在国内的主要流行血清型。

材料与方法

一、菌种:1984~1985年间,由国内13个省市22个单位送检。除个别菌株是从外环境(水)分离,个别单位从健康带菌者中分离的

以外,均从腹泻患者粪便中分离的。1984年9月北京铁小食物中毒113株均为同一血清型,没有列入,总后直属防疫队的一次中等规模食物中毒,分离了三株,除此以外,其余菌株均从散发性病例中分离。并已初步检定为EIEC,共计276株(表1)。

二、检定方法和程序:送检菌株经麦康凯琼脂平板分离纯化后作以下试验:

1. 赖氨酸脱羧酶试验;
2. 动力;
3. 观察葡萄糖发酵管内产气;
4. 玻片血清凝集试验,诊断血清包括 O_{28ac}, O₂₉, O_{112ac}, O₁₂₄, O₁₃₆, O₁₄₃, O₁₄₄, O₁₅₂, O₁₆₄ 菌株的OK血清。
5. 豚鼠角膜炎试验。

上述试验严格按文献^[1]进行。在一些菌株做较全面的生化试验,大多数菌株尚测定乳糖发酵与醋酸钠培养基上生长试验。对玻片血清凝集良好,赖氨酸脱羧,或有动力的菌株测定效价,并与制备血清的标准株作对照,对其中一些代表性型别菌株尚用凝集素吸收技术以确定血清型。达到本菌效价的1/2以上者列

表1 1984~85年间收检EIEC概况

地区	送检单位	分离地点	株数
北京	总后直属防疫队	北京	3
	宣武区站	北京	10
	西城区站	北京	2
天津	天津市站	天津	11
江苏	镇江市站	镇江	5
安徽	省站与蚌埠市站	蚌埠	16
福建	厦门市站	厦门	69
	南平市站	南平	7
广西	自治区站	南宁	5
贵州	遵义地站	遵义	5
湖南	怀化地站	怀化	9
	岳阳市站	岳阳	2
河南	郑州铁路防疫站	郑州	4
陕西	省站	西安	42
	安康地站	安康	3
宁夏	自治区站	银川	60
辽宁	省站	沈阳	9
	沈阳铁路防疫站	沈阳	9
黑龙江	省站	哈尔滨	2
	平房区站	哈尔滨	3
共计			276

为相同的血清型。玻片凝集虽然强烈，但试管效价低于本菌效价二分之一的，仍作不能定型计。

三、EIEC判断标准：EIEC应具有侵入上皮细胞的能力(包括组织培养细胞)，但有些菌株在保存、传代、输送过程中丧失了毒力，故本文EIEC判断标准如下：

1. 能引起豚鼠角膜炎(而不是结膜炎)、不论具有何种生化反应特征的任何O抗原群或血清型的大肠杆菌；

2. 赖氨酸脱羧酶试验阴性、无动力，能与EIEC诊断血清呈强阳性的玻片凝集反应。即使不引起豚鼠角膜炎，也归属于EIEC，谓侵袭性大肠杆菌毒力丧失株(EIEC, Inv⁻)；

3. 赖氨酸脱羧酶试验阴性，无动力，不与EIEC诊断血清凝集的大肠杆菌，作为非侵袭性大肠杆菌计(引起角膜炎的，则以上述第1项计，谓新的EIEC血清型)。

4. 与EIEC诊断血清呈强凝集而赖氨酸脱羧酶试验阳性，无动力的菌株，以非侵袭性大

肠杆菌计；

5. 与EIEC诊断血清呈强凝集、赖氨酸脱羧酶试验阴性、有动力的菌株，除O₁₂₄:H₃₀外，均可作非侵袭性大肠杆菌计。

结 果

受检的276株中，确定为侵袭性大肠杆菌77株，占受检菌株的27.9%。外单位的平均误诊率约在三分之二以上，个别单位可能还要高些。其中能引起豚鼠角膜炎的有毒力菌株68株，占88.3%。11.7%菌株在较短时间内丧失了毒力，成为侵袭性大肠杆菌无毒力株，失去了对上皮细胞的侵袭力(Inv⁻)。

77株EIEC，分布于7个O抗原的8个血清型中。O₁₂₄有二个血清型，无动力株为O₁₂₄:H⁻，有动力株的H抗原均为H₃₀，为O₁₂₄:H₃₀。其余各O抗原菌株均无动力。虽也收到过初诊为O₁₄₃和O₁₄₄的菌株，但经反复检查后均予以否定。8个血清型中，O_{28ac}:H⁻的菌株约占一半，在发现EIEC的地区，几乎均能检出O_{28ac}菌株。其次为O₁₆₄:H⁻，占22.1%。O₁₂₄的二个血清型菌株占11.7%。因此，O_{28ac}，O₁₆₄和O₁₂₄三个O群最为常见，占有EIEC菌株的83.2%。O₂₉:H⁻，O_{112ac}:H⁻，O₁₃₆:H⁻和O₁₅₂:H⁻也均有一定比例，详见表2。

讨 论

一、侵袭性大肠杆菌的确定标准

在研究侵袭性大肠杆菌血清学分型时，首先要确定什么样的大肠杆菌谓侵袭性大肠杆菌。从理论上讲，侵袭性大肠杆菌就是以上皮细胞侵入性为特征的大肠杆菌。这是一群生物学性状接近志贺氏菌的特殊血清型菌株[2]。目前已报告[3~6]的有O_{28ac}:H⁻；O₂₉:H⁻；O_{112ac}:H⁻；O₁₂₄:H⁻，H₃₀；O₁₃₆:H⁻；O₁₄₃:H⁻；O₁₄₄:H⁻；O₁₅₂:H⁻；O₁₆₄:H⁻。还曾报道过O₃₂:H⁻和O₄₂:H⁻[7]，近年发现的具有侵袭力的圣保罗大肠杆菌已正式定名为O₁₆₇:H⁻[8,9]，共计有12个O抗原，13个血清型。由

表 2

国内侵袭性大肠杆菌血清与其分布

	血 清 型							共计	
	O28ac:H-	O29:H-	O112ac:H-	O124:H-	O124:H30	O136:H-	O152:H-		O164:H-
北 京	7			1(1)			1(1)	1	10(2)
福建厦门	6	1		3	1		2(1)		13(1)
福建南平				1(1)				4	5(1)
江苏镇江						1	1	1	3
安徽蚌埠	2							1	3
湖南怀化	3	1(1)	2		1		1		8(1)
湖南岳阳			1	1					2
河南郑州	3								3
陕西西安								3	3
宁夏银川	1	1(1)			1				3(1)
辽宁沈阳	11							7	18
黑龙江哈尔滨	3								3
天 津	2(2)	1(1)							3(3)
共 计	38(2)	4(3)	3	6(2)	3	1	5(2)	17	77(9)
百 分 率	49.4%	5.2%	3.9%	7.8%	3.9%	1.3%	6.5%	22.1%	100%

()内数字为EIEC无毒株

于大肠杆菌间具有广泛的O、K抗原关系，而目前出品的EIEC诊断血清仅与市场上供应的EPEC血清菌株作交叉凝集素吸收。因此EIEC诊断血清就有可能与其它大肠杆菌具有交叉凝集反应，所以仅仅依靠玻片凝集试验的凝集与否来确定EIEC是不可靠的。

测定大肠杆菌侵入豚鼠角膜上皮细胞或组织培养细胞的能力是确定有侵袭力菌株的可靠指标。现在已知侵袭性大肠杆菌的侵袭力是由140Md的大质粒所控制的^[10]，但菌株在保存、传代、培养和输送等过程中，常常丢失质粒或质粒上的一些基因片断而丧失毒力。作者也发现一些单位送检时报告为角膜炎阳性，而复检时为阴性，或初试时阳性，在保存一段时间后转阴。这些失去了侵袭力的菌株，其血清学反应没有变化。这些菌株与失去致角膜炎能力，而仍和志贺氏菌诊断血清发生良好凝集的无毒痢疾杆菌是一样的，因此，仍应归属于EIEC。

失去侵袭力而和EIEC血清保持凝集能力的菌株怎么与EIEC血清有交叉凝集的非侵袭性大肠杆菌相区别呢？作者以往的资料^[1]证明了大肠杆菌的侵袭力与不具有赖氨酸脱羧酶

及无动力有关。菌株在丧失毒力以后，赖氨酸脱羧酶试验仍保持阴性，仍为无动力。而非侵袭性大肠杆菌（绝大多数）在二者中至少必有其一是阳性，因而为上述菌株的鉴别提供了生化学和生物学基础。所以凡是赖氨酸脱羧酶试验阴性，无动力，与EIEC诊断血清发生良好凝集的豚鼠角膜阴性的大肠杆菌菌株，作者认为此类菌株仍应归属于EIEC之列，谓EIEC毒力丧失株。

二、侵袭性大肠杆菌误诊的原因

虽然目前细菌分类学日趋以分子生物学为基础，特别以DNA的相关度为指标。但在临床细菌检定中，仍习以应用生化反应。肠杆菌科细菌血清学诊断都必须在用生化反应确定其分类学地位后进行才能有效。EIEC也和志贺氏菌、沙门氏菌一样，只有在用生化反应确定其菌株属性后，才能用相应的分型血清进行血清诊断。已知大肠杆菌有170个O抗原，远比沙门氏菌和志贺氏菌为复杂，因而只有在用上述的赖氨酸脱羧酶和动力试验，排除了非侵袭性大肠杆菌的可能性，初步确定为EIEC之后，再作血清学试验才有诊断意义。假如先进行玻

片凝集试验, 其凝集阳性反应的菌株必须要用赖氨酸脱羧酶试验和动力测定来予以证实。毒力检查尚需用动物试验或细胞组织培养法证实之。误诊者多数忽视了动力试验。在送检为无动力的菌株中, 经作者用0.2%琼脂半固体U形管检查, 往往发现有高达50%的误诊率。琼脂浓度不应超过0.3%, 在三糖铁琼脂上确定动力是不可靠的。赖氨酸脱羧酶试验以48小时计较为合适。

三、侵袭性大肠杆菌国内流行菌型

国内最常见的EIEC血清型是 $O_{28ac} : H^-$ 。 O_{28ac} 是 O_{28} 的一个亚型, 在人群中尚普遍存在着 O_{28} 的另一个亚型 O_{28ab} 。由于 O_{28ab} 与 O_{28ac} 诊断血清具有强烈的交叉反应而往往被误诊为 O_{28ac} , 但 O_{28ab} 菌株不具有侵袭力, 可幸的是这些菌株为赖氨酸脱羧酶阳性或具有动力, 与 O_{28ac} 血清的效价也不及原血清效价的1/2。相似的情况也见于 O_{112ac} 。假如对有交叉凝集的其他菌株作详尽的血清学研究, 则会可能发现更多的相似情况。 O_{28ac} 菌株不但常见于散发腹泻病例, 而且已在国内引起集团性食物中毒的发生。 O_{164} 虽然发现较久, 但仅在近年才确立其分类学地位, 菌落多变异, 易粗糙。 O_{124} 也为国内常见型别, 幼儿、成人均可检出, 唯独具有动力的该O抗原菌株也可有毒力, 而且仅为 H_{30} 。其它O抗原虽也可见, 但均为少数。值得一提的是与 O_{152} 血清凝集的其他大肠杆菌较多, 常易误诊。在亚洲国家中, O_{167} 菌株较为常见, 由于在我国诊断血清中尚未包括在内, 因此在实际工作中也需注意不凝集的新型EIEC存在的可能性。

Serotypes of Enteroinvasive Escherichia coli in China. Yang Zheng-shi, et al., National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing, China

The results of identification and serotyping of enteroinvasive escherichia coli (EIEC) from 13

provinces in China in 1984-85 were reported. 77 among 276 detected strains (27.90%) were EIEC. 66 strains (88.3%) can cause keratoconjunctivitis in guinea pigs. 11.7% strains of EIEC lost virulence (EIEC, Inv) during a short period. 77 strains of EIEC distributed in eight serotypes among sever O antigen groups. O_{28ac} occupied 49.2% and O_{164} 22.1% respectively. There were two serotypes H- and H_{30} in O_{124} . O_{114} occupied 11.7%, the remained are the others.

In this paper, Authors suggested that the diagnostic standard of EIEC, concept about virulence-losing strains of EIEC and their characteristics for identification.

Key Words Enteroinvasive escherichia coli Serotype

参 考 文 献

1. 杨正时, 等. 赖氨酸脱羧酶试验筛测侵袭性大肠杆菌的研究 中华流行病学杂志 1986; 7(4): 249.
2. 杨正时, 痢疾样大肠杆菌 O_{164} 国外医学参考资料 医用微生物学分册 1978; 1: 11.
3. Toledo MRF, et al. Invasive strains of Escherichia coli belonging to O group 29. J Clin Microbiol 1979; 9: 288.
4. Sakazaki R, et al. Enteropathogenic Escherichia coli associated with diarrhea in children and adults. Jpn J Med Sci Biol 1967; 20: 387.
5. Redey B, et al. The detectation of unknown enteric pathogens by conjunctival infection of guinea pigs. Acta Microbiol Acad Sci Hung 1960; 7: 11.
6. Rowe BR, et al. Proposal to recognize serovar (sic) 145/46 (synonyms: 147, Shigella 13, Shigella Sofia and Shigella manovii) as a new Escherichia coli O group O_{164} . Int J Syst Bacteriol 1977; 27: 15.
7. Voros S, et al. Antigenic Structure of a new enteropathogenic E. coli strain. Acta Microbiol Acad Sci Hung 1964; 11: 125.
8. Toledo MRF, et al. New invasive Escherichia coli strain. J clin Microbiol 1980; 11: 422.
9. Gross HJ, et al. Enterotoxigenic and enteroinvasive Escherichia coli strains belonging to a new O group O_{167} . J Clin Microbiol 1983; 17: 521.
10. Harris JR, et al. High-molecular-weight plasmid correlates with Escherichia coli enterovasiveness. Infect Immun 1982; 37: 1295.