

· 实验研究 ·

恙虫病东方体 56 kDa 抗原基因片段
在不同载体的表达

邓艳琴 严延生 何似 翁育伟 陈亮

【摘要】 目的 构建恙虫病东方体 56 kDa 表面抗原基因(sta56)片段在不同载体的重组表达质粒,在 *E. coli* 中表达 sta56 重组抗原并比较不同表达系统对 sta56 的表达效果。方法 从含有恙虫病东方体 Karp 株 sta56 基因的重组克隆,扩增出不同长度的截短的 sta56 片段,定向插入 pPROEX HTb 及 pET30a 载体,转化大肠埃希菌 DH5 α 或 BL21(DE3),IPTG 诱导表达,应用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)观察重组蛋白表达情况,应用蛋白印迹(WB)方法分析重组抗原的活性。结果 成功构建含 sta56 不同长度片段的重组表达质粒 pHTbOt957、pHTbOt498、pHTbOt342 和 pETOt957、pETOt498、pETOt342,各重组子均可在 *E. coli* 中以融合蛋白的形式有效表达,SDS-PAGE 显示各表达重组子表达不同分子量的重组蛋白,WB 证实各重组蛋白均能被恙虫病患者阳性血清所识别。结论 恙虫病东方体 Karp 株 sta56 基因可在大肠埃希菌获得高效表达,pET30a 对 sta56 的表达效果优于 pPROEX HTb;重组蛋白具有免疫反应性,纯化后可用作免疫诊断抗原。

【关键词】 恙虫病东方体; 抗原; 蛋白表达

Expression of truncated 56 kDa antigen gene of *Orientia tsutsugamushi* in different vectors DENG Yan-qin, YAN Yan-sheng, HE Si, WENG Yu-wei, CHEN Liang. Fujian Centers for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China

Corresponding author: YAN Yan-sheng, Email: yysh@publ.fz.fj.cn

【Abstract】 Objective To construct recombinant plasmids containing the truncated gene of the major surface antigen sta56 of *Orientia tsutsugamushi* (Ot.) Karp strain for expression antigen in *E. coli* so as to compare the expression efficiency in different systems. **Methods** From the recombinant plasmid TOPO-sta56 containing sta56 of *Orientia tsutsugamushi* Karp strain, several truncated genes of sta56 with different length were amplified and subcloned into the expression vectors pPROEX HTb and pET30a. These genes were expressed in *E. coli* DH5 α and BL21(DE3) respectively when induced by IPTG. The expressed recombinant proteins were analyzed by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot. **Results** Six recombinant plasmids containing truncated sta56 genes of different length were constructed as follow: pHTbOt957, pHTbOt498, pHTbOt342 and pETOt957, pETOt498, pETOt342. The recombinant sta56 proteins were highly expressed as 6 \times His fusion proteins in *E. coli* DH5 α and BL21(DE3) respectively. The fusion proteins showed as different bands of different molecular weight respectively when analyzed with SDS-PAGE. Western blot demonstrated that the recombinant proteins were recognized by the positive serum of Ot. patients. **Conclusion** The sta56 gene of *Orientia tsutsugamushi* Karp strain could be highly expressed in *E. coli* and its expression showed better efficiency in pET30a than in pPROEX HTb. The recombinant sta56 antigen with immunoreactivity could be used as diagnostic reagent for Ot. infection.

【Key words】 *Orientia tsutsugamushi*; 56 kDa antigen; Protein expression

恙虫病是由恙虫病东方体 (*Orientia tsutsugamushi*, Ot) 引起的以发热、皮疹、虫咬溃疡(焦痂)和浅表淋巴结肿大为主要特征的发热性疾病,

虫咬溃疡是其特异性的体征,但由于虫咬溃疡大都部位隐蔽,数量少,对其检出率的报道各地差异较大^[1],因此必须辅以实验室检查以便及时确诊。恙虫病东方体 56 kDa 表面抗原 (scrub typhus antigen, sta56) 作为恙虫病东方体表面含量最丰富的外膜蛋白,免疫原性强,最常被宿主免疫系统所识别^[2,3]; sta56 可与株特异性单抗和群特异性单抗反应,表明

基金项目:福建省卫生厅青年科研基金资助项目(2001-1-25);
福建省自然科学基金资助项目(C0310032)

作者单位:350001 福州,福建省疾病预防控制中心

通讯作者:严延生,Email: yysh@publ.fz.fj.cn

sta56 存在株特异性表位和群特异性表位^[2,4],因而 sta56 是恙虫病诊断抗原的主要候选者之一。我们参照 Karp 株 sta56 基因序列^[5]自行设计合成数对引物,采用聚合酶链反应(PCR)从含有 Karp 株 sta56 的重组克隆扩增,扩增出编码含丰富亲水氨基酸区域的不同长度 DNA 片段并亚克隆进入两种表达载体,在大肠埃希菌中进行表达。

材料与方 法

1. 质粒与菌株:恙虫病东方体 Karp 株为福建省疾病预防控制中心(FJCDC)保存株,TOPO-sta56 为中心研究室构建的含 Karp 株 sta56 基因的重组克隆;pPROEX HTb 和 pET30a 分别由第二军医大学曾锦章博士和中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所张明诚研究员惠赠;DH5 α 和 BL21(DE3)为 FJCDC 保存菌株。

2. 主要试剂:rTaqase、限制性内切酶、DNA 连接试剂盒、凝胶回收试剂盒、IPTG 为 TaKaRa 公司产品;羊抗人多价 Ig(γ 、 α 、 μ)为 Sigma 公司产品;NBT、BCIP 为华舜生物工程公司产品;蛋白质分子量标准为华美生物工程公司产品;丙烯酰胺、过硫酸铵等为 Amresco 公司产品;其余试剂为国产分析纯。

3. 重组表达质粒的构建:

(1)PCR 引物的设计与合成:Karp 株 sta56 基因序列参照文献^[5]自行设计 4 条引物(表 1),用于扩增截短的 sta56, P₁₁、P₂₁ 为正向引物,添加了 BamH I 酶切位点 gga tcc;P₂₂、P₃₂ 为反向引物,添加了 Hind III 酶切位点 aag ctt 和终止密码子 cta。P₁₁~P₃₂ 相互配对,可组成 4 对引物,扩增 4 条长度不等的 PCR 产物。以上引物由赛百盛公司合成。

表1 研究应用的引物

引物	序 列	方向	定位
P ₁₁	5'-gct gga tcc gaa gaa ggt aaa gaa aag gc-3'	正向	853~881
P ₂₁	5'-gct gga tcc cct agc get tct cct gtc-3'	正向	1312~1338
P ₂₂	5'-cct aag ctt cta tgc tgc tac tgc ttc ttg-3'	反向	1624~1653
P ₃₂	5'-tcc aag ctt cta ctt gca gtc acc ttc ace-3'	反向	1780~1809

注:表中黑体字为人工引入的限制性内切酶识别序列;gga tcc 为 BamH I 酶切位点;aag ctt 为 Hind III 酶切点;定位依据为引物序列在 Karp 株 sta56 的位置

(2)截短的 sta56 基因的扩增:30 μ l 反应体系中重组克隆质粒 TOPO-sta56 40 ng, 200 mmol/L dNTP, 1.5 mmol/L MgCl₂, P₁₁ 和 P₂₂ (或 P₁₁ 和 P₃₂、P₂₁ 和 P₂₂、P₂₁ 和 P₃₂) 引物各 1 μ mol/L, 10 \times 反应缓冲

液 3.0 μ l, 1 U rTaq polymerase。PCR 反应为 94 $^{\circ}$ C 变性 5 min 后,按 94 $^{\circ}$ C 45 s, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1.5 min 循环 35 次,再于 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

(3)重组表达质粒的构建及鉴定:将扩增得到的截短的 sta56 基因及表达载体 pPROEX HTb、pET30a 分别用 BamH I 和 Hind III 双酶切并纯化回收,将目的基因片段与载体连接,转化相应的感受态细胞,筛选阳性克隆,以 Hind III 单酶切, Hind III、BamH I 双酶切对重组表达质粒进行酶切鉴定。

4. 重组蛋白的表达及分析:

(1)重组蛋白的表达:接种含重组表达质粒的单菌落于 5 ml LB(含相应抗生素)液体培养基, 37 $^{\circ}$ C, 250 r/min 振荡培养过夜,次日以 1:100 的比例转种 50 ml LB(含相应抗生素)液体培养基剧烈振荡培养至 A₆₀₀ = 0.6~0.8 左右,加 IPTG 至终浓度 1 mmol/L,继续培养,每隔 1 h 收集菌体,每管 1 ml,离心,弃上清,沉淀于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

(2)对蛋白表达样品进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE):参照文献^[6]制备,分离胶 12%~15%,浓缩胶 5%。使用凝胶分析仪测定重组蛋白表达量。

(3)对重组蛋白进行免疫印迹(WB)试验:将凝胶上的蛋白质电转移至 NC 膜,4 $^{\circ}$ C、5% 牛奶封闭过夜,与经 pProEX HTb/DH5 或 pET30a/BL21 吸收的恙虫病患者阳性或阴性血清(1:300 稀释),室温孵育 1 h 后,NT 洗涤 3 次,每次 10 min;再加入第二抗体(羊抗人多价 Ig, 1:30 000 稀释),室温孵育 1 h 后,NT 洗涤 3 次,加入显色液室温显色后用蒸馏水终止反应。

结 果

1. PCR 产物的获取:以重组质粒 TOPO-sta56 为模板,以 P₁₁、P₂₁、P₂₂、P₃₂ 构成的引物扩增得到不同长度的截短的 sta56 基因(表 2)。

表2 PCR 扩增产物

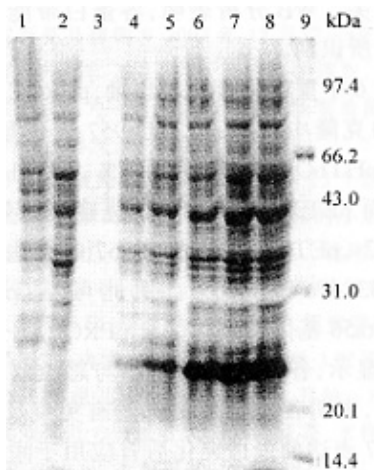
正向引物	反向引物	定位	产物长度 (bp)	表达区域 (aa.)
P ₁₁	P ₃₂	853~1809	957	100~418
P ₂₁	P ₂₂	1312~1653	342	253~366
P ₂₁	P ₃₂	1312~1809	498	253~418

2. 重组表达质粒的酶切鉴定:截短的 sta56 基因有三个片段(957 bp、498 bp、342 bp)被分别亚克隆进入 pPROEX HTb 和 pET30a 载体。提取质粒,

经 HindIII 单酶切, pHTb 重组质粒可得到一条带为 5.12 kb (或 5.28 kb、5.74 kb), pET30a 重组质粒可得到一条带为 5.76 kb (或 5.92 kb、6.38 kb); 经 HindIII、BamH I 双酶切, pHTb 重组质粒可得到大小分别为 4.78 kb、342 bp (或 498 bp、957 bp) 的两条带; pET30a 重组质粒可得到大小分别为 5.42 kb、342 bp (或 498 bp、957 bp) 的两条带, 表明已获得正确的克隆。

3. 重组蛋白的 SDS-PAGE:

(1) pPROEX HTb 重组质粒的 SDS-PAGE: 重组质粒 pHTbOt 以 *E. coli* DH5 α 为宿主菌, 经 IPTG 诱导后, 将菌体蛋白进行 SDS-PAGE, 与不含载体的 DH5 α 菌, 只含空载体的 pPROEX HTb/DH5 α 及未经诱导的 pHTbOt/DH5 α 对照菌比较, 可以清楚地看到诱导菌在约 15.4 kDa、21.1 kDa 和 37.9 kDa 处出现一条明显的蛋白带, 与预期分子量相符; 而未含载体的细菌、只含空载质粒的细菌及未经诱导的对照菌均未显示此带, 说明以 pPROEX HTb 构建的重组质粒可以表达重组的 sta56 抗原 (图 1, 2)。经凝胶分析仪测定, 表达蛋白的含量分别占菌体总蛋白的 9.0%^[7]、16.5% 和 26.3%。

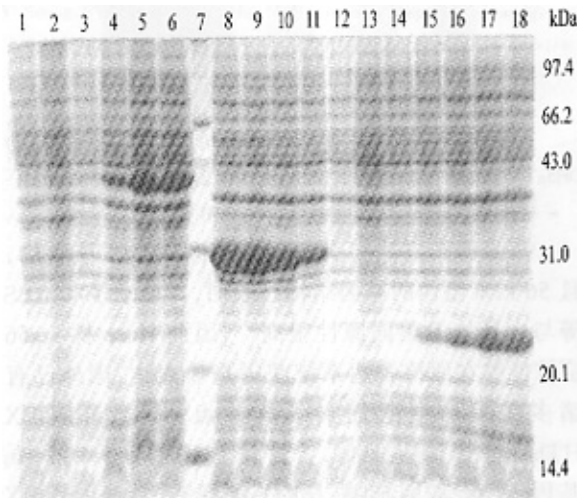


1: DH5 α 菌体蛋白; 2: 含 pPROEX HTb 的 DH5 α 菌体蛋白; 3: 诱导前的重组子 pHTbOt498/DH5 α 菌体蛋白; 4~8: IPTG 诱导 1、2、3、4、5 h 的重组子 pHTbOt498/DH5 α 菌体蛋白; 9: 蛋白质分子量标准

图1 pHTbOt498 表达产物 SDS-PAGE 分析

(2) pET30a 重组质粒的 SDS-PAGE: 重组质粒 pETOt 以 *E. coli* BL21(DE3) 为宿主菌, 经 IPTG 诱导后, 将菌体蛋白进行 SDS-PAGE, 与不含载体的 BL21(DE3) 菌, 只含空载体的 pET30a/BL21(DE3)

及未经诱导 pETOt/BL21(DE3) 的对照菌比较, 可以清楚地看到诱导菌有特异的表达带出现, 但 pETOt342、pETOt498 表达的重组蛋白表观分子量约为 22.3、29.6 kDa, 与预期的分子量 (17.7、23.4 kDa) 不同; pETOt957 重组子在约 40.3 kDa 处出现一条明显的蛋白带, 与预期分子量相符; 而未含载体的细菌、只含空载质粒的细菌及未经诱导的对照菌均未显示此带, 说明以 pET30a 构建的重组质粒可以表达重组的 sta56 抗原 (图 2)。经凝胶分析仪测定, 表达蛋白的含量分别占菌体总蛋白 30%、36% 和 36%^[8]。



1: DH5 α 菌体蛋白; 2: 含 pPROEX HTb 的 DH5 α 菌体蛋白; 3: 诱导前的重组子 pHTbOt957/DH5 α 菌体蛋白; 4~6: IPTG 诱导 1、3、4 h 的重组子 pHTbOt957/DH5 α 菌体蛋白; 7: 蛋白质分子量标准; 8~11: IPTG 诱导 5、4、2、1 h 的重组子 pETOt498/BL21(DE3) 菌体蛋白; 12: 诱导前的重组子 pETOt498/BL21(DE3) 菌体蛋白; 13: BL21(DE3) 菌体蛋白; 14: 诱导前的重组子 pETOt342/BL21(DE3) 菌体蛋白; 15~18: IPTG 诱导 1、2、4、5 h 的重组子 pETOt342/BL21(DE3) 菌体蛋白

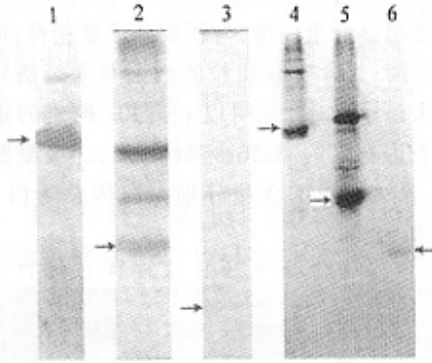
图2 pHTbOt957、pETOt498 和 pETOt342 表达产物 SDS-PAGE 分析

4. 重组蛋白的 WB 分析: WB 显示, 特异的蛋白带能为恙虫病血清所识别; 而不含载体的细菌、只含空载体的细菌或诱导前的细菌的相应位置均未出现此带, 说明表达的 sta56 重组抗原具有免疫反应性 (图 3)。

讨 论

众多研究资料表明, 几乎所有的恙虫病东方体感染血清均表现出与 sta56 蛋白的反应性^[2,3]。因此, 用 sta56 蛋白代替完整的 Ot 全细胞抗原作为检

测试剂成为可能。近年来国外陆续有报道将不同株的恙虫病东方体 sta56 重组抗原应用于 PHA^[3]、间接 ELISA^[9,10]、快速免疫层析法^[11] 等,可检出恙虫病抗体 IgM 和 IgG,均具有良好的敏感性和特异性。



1: pHTbOt957/DH5α; 2: pHTbOt498/DH5α; 3: pHTbOt342/DH5α; 4: pETOt957/BL21; 5: pETOt957/BL21; 6: pETOt957/BL21

图3 各重组蛋白的 WB 分析

恙虫病东方体与大肠埃希菌同属于原核生物,且 56 kDa 蛋白的基因结构已表明,其启动子和 RBS 等与大肠埃希菌同源性很高^[5],因此 Karp 株 sta56 应该能够在原核表达系统获得高效表达,国外已有诸多文献的报道证实了这一点^[12,13]。pPROEX HTb 是原核表达载体,含有色氨酸启动子和 lacIq 基因,克隆基因能被 IPTG 诱导表达。pPROEX HTb 表达的重组蛋白融合 6 个组氨酸,该组氨酸序列位于融合蛋白的氨基端,对 Ni-NTA 树脂有很强的亲和力,有利于亲和层析纯化重组蛋白。在 pET 载体中,目的基因处于噬菌体 T7 转录和翻译信号的强有力控制下,表达则受宿主细胞提供的 T7RNA 聚合酶诱导。T7RNA 聚合酶具有很高的选择性和活性,在充分诱导时,几乎所有的细胞资源都可被用于目的基因表达,因而可获得重组蛋白的高效表达。同时 pET30a 载体也表达融合蛋白,在其 N 端或 C 端均可融合 6 × His tag,有利于后续的纯化。

Stover 等^[5]曾使用 pBR322 对 Karp 株 sta56 全基因在大肠埃希菌 HB101 进行表达,但表达量不高。Stover 认为虽然恙虫病东方体 sta56 基因的启动子(-10 区和-35 区)及 RBS 的序列均与大肠埃希菌的极为相似,但在该菌内过表达完整的 sta56 可能对大肠埃希菌是致死性的。我们对 Karp 株 sta56 的 ORF 进行亲水性分析,选择亲水性好的氨基酸编码区重新合成引物,扩增截短的 sta56 片段

用于重新构建重组表达质粒,以将 Karp 株 sta56 截短的方式对其进行表达,共有 3 个截短的 sta56 片段,长度分别为 342、498 和 957 bp 被插入表达载体 pPROEX HTb 和 pET30a 中,得到 6 个重组表达克隆。

在 pPROEX HTb 中,pHTbOt342、pHTbOt498、pHTbOt957 可以 his-sta56 融合蛋白的形式进行表达,其分别含有 137、189、342 个氨基酸,其中 N 端的 26 个氨基酸来自载体的编码序列。SDS-PAGE 结果分别显示一条 15.4、21.1、37.9 kDa 的特异蛋白表达带, WB 分析表明,各蛋白带能为恙虫病患者血清所识别。

在 pET30a 中,他们仍可以 6 × His-sta56 融合蛋白的形式进行表达,根据插入表达载体的基因片段的长度推定,他们分别含有 161、213、366 个氨基酸,其中 N 端的 48 个氨基酸来自载体的编码序列,表达的重组蛋白的分子量应分别为 17.7、23.4 和 40.3 kDa。但 SDS-PAGE 结果显示,除 pETOt957 表达的重组蛋白分子量与预期相符外,pETOt342、pETOt498 所表达的重组蛋白的表观分子量约为 23.0、31.0 kDa,这种迁移速率的差异可能与蛋白质的构像有关。WB 分析表明,各蛋白带能为恙虫病患者血清所识别。

比较 6 个重组克隆的表达量,pPROEX HTb 载体构建的克隆中只有 pHTbOt957 表达量较高,达 26.3%,pHTbOt342 仅为 9.0%,pHTbOt498 为 16.5%;而 pET30a 载体构建的克隆表达量均较高,pETOt342、pETOt498、pETOt957 的表达量分别为 28.7%、33.4% 和 36.0%。由此可见,pET30a 对 Karp 株 sta56 基因的表达优于 pPROEX HTb。

WB 显示,各重组蛋白均能与恙虫病患者阳性血清反应,表明各重组蛋白都具有免疫反应性,对 pETOt957 表达的蛋白纯化后曾应用于间接 ELISA 检测恙虫病患者血清中的 IgG,获得了良好的效果^[8],但使用截短的重组抗原作为检测试剂仍需更详尽的研究。

参 考 文 献

- 1 魏曦. 医用立克次体学. 上海:上海科学技术出版社,1984. 287-290.
- 2 Ohashi N, Tamura A, Suto T. Immunoblotting analysis of anti-rickettsial antibodies produced in patients of Tsutsugamushi disease. Microbiol Immunol, 1988, 32: 1085-1092.
- 3 Kim IS, Seong SY, Woo SG, et al. Rapid diagnosis of scrub

- typhus by a passive hemagglutination assay using recombinant 56-kilodalton polypeptides. *J Clin Microbiol*, 1993, 31:2057-2060.
- 4 Eisemann CS, Osterman JV. Identification of strain-specific and group-reactive antigenic determinants on the Karp, Gilliam and Kato strains of *Rickettsia tsutsugamushi*. *Am J Trop Med Hyg*, 1985, 34:1173-1178.
 - 5 Stover CK, Marana DP, Carter JM, et al. The 56-kilodalton major protein antigen of *Rickettsia tsutsugamushi*: molecular cloning and sequence analysis of the sta56 gene and precise identification of a strain-specific epitope. *Infect Immun*, 1990, 58:2076-2084.
 - 6 金冬雁, 黎孟枫, 译. 分子克隆实验指南. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1993. 19-21, 845-847, 880-897.
 - 7 邓艳琴, 严延生, 何似, 等. 恙虫病东方体 sta56 部分基因的克隆和表达. *中国人兽共患病杂志*, 2001, 17(6):18-22.
 - 8 邓艳琴, 严延生, 何似, 等. 恙虫病东方体 sta56 抗原的原核表达、纯化及其在间接 ELISA 中的应用. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2003, 23:397-400.
 - 9 Ching WM, Wang H, Eamsila C, et al. Expression and refolding of truncated recombinant major outer membrane protein antigen (r56) of *Orientia tsutsugamushi* and its use in enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1998, 5:519-526.
 - 10 Land MV, Ching WM, Dasch GA, et al. Evaluation of a commercially available recombinant-protein enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies produced in scrub typhus rickettsial infections. *J Clin Microbiol*, 2000, 38:2701-2705.
 - 11 Ching WM, Rowland D, Zhang Z, et al. Early diagnosis of scrub typhus with a rapid flow assay using recombinant major outer membrane protein antigen (r56) of *Orientia tsutsugamushi*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2001, 8:409-414.
 - 12 Choi MS, Seong SY, Kang JS, et al. Homotypic and heterotypic antibody responses to a 56-kilodalton protein of *Orientia tsutsugamushi*. *Infect Immun*, 1999, 67:6194-6197.
 - 13 Seong SY, Park SG, Huh MS, et al. Mapping of antigenic determinant regions of the Bor56 protein of *Orientia tsutsugamushi*. *Infect Immun*, 1997, 65:5250-5256.

(收稿日期:2003-07-09)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

一起肠产毒性大肠埃希菌 O6:LT 致婴幼儿腹泻爆发的调查

杨胜彬 胡昌军 米庆秀 蒲祖伟 杨凡

对湖南省新晃县碧朗乡 2003 年 12 月 12~19 日某村 6 名儿童突发腹泻并死亡 2 例进行了流行病学调查,经临床诊断和实验室检测证实为一起由肠产毒性大肠埃希菌 (ETEC) O6:LT 引起的腹泻爆发;现将结果报道如下。

1. 对象与方法:新晃县碧朗乡某村下辖 13 个组,总人口 750 人。此次发病儿童集中在三个紧密相邻的小组,两面环山,一条小溪从中穿过,人畜粪便流入小溪。饮用水源各户独立,但共用溪水洗衣、洗菜。12 月 12 日,首发患儿(4 月龄)出现呕吐、腹泻症状,经村卫生室用庆大霉素等药物治疗(未输液)效果不好,病情加重,于 15 日凌晨 3 时死亡;随后陆续发病 5 例;6 名患儿皆为男性,年龄 4 月龄~8 岁;第 2 例也因治疗无效而死亡。患者大便均为蛋花、水样便,10~15 次/d,每次 30~50 ml,非喷射状;低热(38.0℃ 以下),血常规正常,大便样常规偶见 WBC 0~1/HP、脂肪球 +/HP。经实验室检测,ETEC 诊断血清(北京东药医学产品科技开发公司)、药敏纸片(北京天坛药物生物技术开发公司)、ETEC 标准株(湖南省疾病预防控制中心提供)。所有粪便样本均

按 GB 4789.6-94 进行分离与鉴定,增菌后分别接种至伊红美兰琼脂平板进行培养。溪水、自家饮用水以无菌瓶采样 450 ml,用吸附法沉淀处理后,按前述方法分离培养。凡血清凝集在“++”以上,符合肠杆菌生化反应的菌即判为 ETEC。耐药性试验,采用 WHO 推荐的改良法,用 MH 培养基,按《美国 NCCLS 药敏试验纸片扩散法规》判定结果。

2. 结果与分析:分别从患儿粪便、溪水双糖铁培养物中各取少许菌苔与 ETEC 多价 1 血清做凝集试验,同时做盐水对照,结果发现凝集都在“++”以上,并与 ETEC 单价 O6 凝集(++),而盐水对照试验为“-”。药敏试验结果表明,对头孢哌酮、阿米卡星敏感;对多粘菌素 B、新霉素、氟哌酸、链霉素、卡那霉素、头孢曲松一般敏感;对杆菌肽、复方新诺明、羟苄青霉素、利福平、氯霉素、庆大霉素、氨卡西林耐药。动物试验结果表明,兔肠段结扎试验和乳鼠灌胃试验均为阴性。综合调查表明,ETEC O6:LT 易导致婴幼儿腹泻,且发病急,特别在医疗条件较差的农村山区,死亡率高。因此,培养良好的卫生习惯,加强农村人畜粪便的管理,改善农村医疗卫生条件对控制 ETEC 的危害意义重大。

(本调查得到湖南省疾病预防控制中心的大力支持与帮助,特此致谢)

(收稿日期:2004-03-25)

(本文编辑:尹廉)

作者单位:418000 湖南省新晃县卫生防疫站(杨胜彬、蒲祖伟、杨凡);怀化医学高等专科学校医学检验系(胡昌军);怀化市疾病预防控制中心(米庆秀)

通讯作者:胡昌军,418000 怀化医学高等专科学校医学检验系