

肠出血性大肠杆菌的临床、检测方法和流行病学特征

徐建国 祁国明

新发现的病原微生物和重新抬头的病原微生物是当前医学界面临的一个新的课题,对人类的健康构成了重大威胁,O157:H7 大肠杆菌就是其中之一,属于肠出血性大肠杆菌(Enterohemorrhagic *E. coli*: EHEC)。1996 年 5~8 月份在日本发生了 O157:H7 血清型大肠杆菌的暴发流行,先后历时近 3 个月,波及 30 多个都府县,9 000 多名儿童感染,近 10 名死亡。在日本这个号称是最干净的国家里引起举国上下的震动。日本内阁曾召开紧急会议,成立了专门机构来处理疫情。这是世界上发生的最大一起 O157:H7 大肠杆菌引起的暴发流行。

一、EHEC 感染的临床表现: EHEC 感染包括无症状感染、轻度腹泻、出血性肠炎(Hemorrhagic colitis, HC)、溶血性尿毒综合症(Hemolytic uremic syndrome, HUS)、血栓性血小板减少性紫癜(Thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)。出血性肠炎的典型临床症状是突发性腹痛、血性粪便、低烧或不发烧。低烧或不发烧、血性粪便是出血性肠炎和其他肠道疾病的主要区别。一部分 EHEC 感染患者可发生 HUS,对肾脏可造成不可逆性病变,患者往往需要肾透析。EHEC 可感染任何年龄组,但儿童和老人比较易感。在老人和儿童中容易发生溶血性尿毒综合症。HUS 的治疗比较困难,死亡率较高,有时可高达 30%以上。EHEC 的暴发往往发生在幼儿园、托儿所、敬老院、学校等^[1,2]。

大约 10% 的 EHEC 感染者可出现呼吸道症状,过去认为这是一种并发症^[3]。赖心河等发现,感染了 O157:H7 大肠杆菌的无特异病原体小鼠的肺脏可出现病理改变,包括支气管上皮细胞的脱落和栓塞。结果提示 EHEC 感染所出现的呼吸道症状是因为感染的细菌所致,而不是并发症^[4]。

EHEC 还可以在猪中引起水肿病样的脑损伤。

作者单位:中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 北京 102206

腹腔接种 O157:H7 大肠杆菌后,可在试验小鼠、新西兰白兔中引起中枢神经系统症状,如共济失调、朝一边斜躺、后肢麻痹等。在小鼠的大脑、中脑、脑干可造成微动脉坏死和软化。软化可涉及白质和灰质。在大脑的病变往往局限在皮质下层。大脑、小脑、延髓可见微动脉坏死。在大脑的各个层次均可见伴有血小板和毛细管样血栓的小出血。脑动脉血管可出现内皮肿胀、坏死、变性和中膜肌细胞坏死。在试验动物中观察到的病理改变和猪水肿病的病理特征基本一样^[1]。

二、EHEC 的定义和特点: EHEC 是因为能引起出血性肠炎而得名,主要包括 O157:H7 血清型菌株,还包括原来认为是属于肠致病性大肠杆菌(Enteropathogenic *E. coli* EPEC)的部分血清型的部分菌株,如 O26:H11、O111:H8、O125:NM、O121:H19、O4:NM、O45:H2、O125:NM、O145:NM、O5:NM、O91:H21、O103:H2、O113:H2 等^[5]。近年来也有关于无动力的 O157 菌株(O157:NM)引起出血性肠炎和溶血性尿毒综合症的报道。

在讨论 EHEC 时应注意与产 VT 毒素大肠杆菌(Vreotoxin producing *E. coli*, VTEC)相区别,VTEC 是指那些产生 VT 毒素的菌株,VT 毒素与志贺样毒素(Shiga-like toxin, SLT)是同意词。一部分 EPEC 的菌株也产生 SLT 毒素,但是并没有证据表明它们应属于 EHEC^[6]。我们发现和命名的产志贺样毒素且具有侵袭力的大肠杆菌也和 SLT 探针杂交,产生一种志贺样毒素 2 的变种^[7]。

三、EHEC 的实验室诊断: EHEC 的诊断方法包括:生化反应、血清学方法、DNA 探针技术、PCR 技术、SLT 毒素检测等。

1. 生化反应:绝大多数 O157:H7 大肠杆菌不发酵山梨醇,而绝大多数其他肠道菌群发酵山梨醇。利用这个特点,将麦康凯琼脂中的乳糖换成山梨醇(1%),挑选出不发酵山梨醇的菌株后,再作血清学鉴定。这种方法简便易行,缺点是不能发现非 O157:H7 血清型的出血性大肠杆菌。此外,一些 O157:

H7 大肠杆菌菌株可发生变异,变成发酵山梨醇的菌株^[8]。

2. 血清学方法:主要是检查菌体抗原 O 157 和鞭毛抗原 H7,包括试管凝集、玻片凝集和针对 O 157 抗原而发展起来的一些其它方法。此类方法同样不能诊断 O 157 血清学的出血性大肠杆菌。

3. DNA 探针技术:由于 EHEC 除 O157:H7 大肠杆菌以外还包括 O26:H11 等血清型的部分菌株,况且用血清学方法鉴定菌株,不适合于大量的流行病学调查。为解决这个问题,根据质粒和致病性有关的假设,发展了 EHEC 特异性 DNA 探针。该探针已被国际公认,并在世界上多数实验室使用,成为鉴定 EHEC 菌株的关键指标。敏感性和特异性可达 99% 以上。DNA 探针是我们和美国马利兰大学医学院菌苗发展中心共同发展的^[5]。

4. PCR 技术:鉴于 DNA 探针的使用结果,我们继而和美国 FDA 的 R. Hall 博士协作,对这个 3.3Kb 的 DNA 探针进行了序列分析,发现其编码 EHEC 溶血素 AB (HlyAB) 基因。EHEC HlyAB 基因与已发表的泌尿道大肠杆菌等的溶血素在 DNA 序列和氨基酸序列有所不同,是 EHEC 菌株所特有的,并以此序列为基础,发展了 PCR 检测方法。PCR 方法特异、敏感、快速,可以在 3~4 个小时左右出试验结果。关于 EHEC 的 PCR 诊断方法和 EHEC 的 HlyAB 的基因序列已经在美国申请了专利^[9]。

国外还有一些 PCR 方法。如检测志贺样毒素 1 和 2 (SLT1、SLT2,又名 VT1、VT2)。由于非 EHEC 菌株,如 EPEC、霍乱弧菌、志贺氏菌、ESIEC 等都可产生志贺样毒素,试验结果的分析就必须结合其他试验资料^[1,2,6]。

5. SLT 毒素的检测:由于 EHEC 菌株产生 SLT1、SLT2 毒素而发展了检测患者粪便中 SLT 的存在和血清中 SLT 抗体的方法,但是检测志贺样毒素的方法需要细胞培养的条件和技术,费时、费力,特异性也不高^[1]。

四、EHEC 的传染源和传播途径: EHEC 感染基本上是一种食源性疾病,牛肉、牛奶、牛肉或牛奶制品、鸡肉、蔬菜、水果、饮料、水均可成为传染源。EHEC 主要通过食品传播,最近发现人与人的密切接触也可传播 EHEC^[1,2,6]。在实验室里, O157:H7 大肠杆菌可以感染小鼠、鸡、兔、猪、牛等动物,并能在试验动物中引起类似于出血性肠炎、溶血性尿毒综合症和中枢神经系统的症状和病理改变。这说明牛、鸡、猪等有可能是 EHEC 的宿主。

1982 年在美国的俄勒冈和密执安州发生的 EHEC 的暴发,根据就医患者的主诉,多数病人在发病前一周左右曾到某快餐连锁店用过餐,主要食品是汉堡包等。由此而怀疑到汉堡包的主要成分牛肉饼等有可能是传染源^[3]。继而从该快餐连锁店某一冷藏库保存的牛肉饼中分离到 O157:H7 血清型大肠杆菌。并根据质粒 DNA 等分析资料认为从患者分离到菌株,和从牛肉饼分离到菌株基本一致。这是在国际上首次证明 EHEC 感染与牛肉有关。美国 1993 年的 EHEC 暴发,也证明与当地某一快餐连锁店供应的被污染的、烹调不足的汉堡包有关^[1,2,6]。

目前已经报道的与 EHEC 暴发有关的食品和饮料有牛肉、牛肝、生牛奶、酸奶、色拉、色拉酱、苹果汁和蔬菜。1989 年在美国发生的一起 240 人水源性的 EHEC 暴发。Keene 等人报道,1991 年在美国的俄勒冈发生了一起 59 人的 EHEC 暴发和游泳有关,怀疑是湖水被粪便污染,游泳者在游泳时可能不慎喝了湖水而感染。如此看来 EHEC 可在水中存活很长的时间。湖水被粪便污染并不少见,特别是儿童。此外,1992 年苏格兰发生的一起 EHEC 感染,流行病学调查发现,一个患病儿童在一个家庭用的供儿童玩耍嬉水的大水盆里玩耍,盆水被污染,用过同一水盆的儿童也先后发病^[10]。

五、EHEC 的感染已经成为世界性问题: 1982 年在美国发生了首次暴发后, O157:H7 大肠杆菌引起的散发病例和小型暴发在美国、英国、加拿大、日本、澳大利亚、德国等地不断发生^[1,2,6]。美国于 1993 年发生了一次涉及到 4 个州 700 余名儿童的 EHEC 暴发,其中 51 例发生了溶血性尿毒综合症,4 例死亡。1993 年以前 10 年间,美国共发生了 30 余起有记录的 EHEC 暴发。1993 年后半年美国开始重视 EHEC 的疾病监测问题(1993 年后半年发现了 15 起暴发流行,1994 年前半年发现了 20 起暴发^[11])。1996 年 5 月至 8 月间在日本发生的 EHEC 暴发流行是世界上最大的,受到了全世界的关注。

在美国、日本、加拿大、英国等发达国家,卫生条件相对较好,大多数肠道传染病已基本得到控制,但 EHEC 感染问题却日益严重,发病率呈逐年上升趋势。这可能与细菌的特性有关,与当地人们的烹调习惯和饮食习惯有关,也可能提示发达国家目前实施的卫生防疫措施还不足以控制或防止 EHEC 的传播, EHEC 感染的问题近年来愈来愈受到世界各国特别是发达国家的重视。

六、EHEC 在我国的情况: 我国自 1987 年以来

已在江苏、山东等地发现了 EHEC 感染患者或发现有 EHEC 菌株^[12]。Kain 等人 1989 年用 DNA 探针对北京地区儿童粪便标本进行了研究,发现约 7% 的粪便标本含有 EHEC,但是该研究没有分离到 EHEC 菌株^[13]。我们用 DNA 探针对北京地区不能鉴定的从腹泻患者粪便标本分离到的大肠杆菌进行了研究,发现在北京、新疆、山东等地约有 2% 左右的不能鉴定的大肠杆菌与 DNA 探针杂交,发现了非 O157:H7 血清型的 EHEC 菌株^[14]。

在我国还没有发现有 EHEC 感染暴发的报道。但是这并不意味着我国没有发生过 EHEC 的暴发,在国内不断有所谓的食物中毒发生,而且往往是原因不明性的,虽然有人从中分离到大肠杆菌,但是由于分离菌株不和 EPEC、ETEC、EIEC 的诊断血清发生凝集,而被认为是肠道正常大肠杆菌而弃置不理,这就不能排除其中有由 EHEC 参与的可能性。从全世界的流行情况来看,基本上是先散发病例,继而小型暴发,然后才有可能发生暴发流行。日本和美国的情况就是典型的例子。我们应该对 EHEC 给以足够的重视,防患于未然。

参 考 文 献

- 1 Karmali, MA. Infection by Verocytotoxin—Producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 1988, 2 : 15-38.
- 2 Riley, LW. The Epidemiologic, Clinical, and Microbiologic Features of Hemorrhagic Colitis. *Ann Rev Microbiol*, 1987, 41 : 383-407.
- 3 Riley, LW, RS Remis and SD Helgerson, et al. Hemorrhagic Colitis Associated with a Rare *Escherichia coli* Serotype. *New Engl J Med*, 1983, 308 : 681-685.
- 4 Lai, Xin-He, Xu Jian-Guo, Liu Bing-Yang. Experimental infection of specific-pathogen-free mice with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7. *Microbiol Immunol* 1991, 35 : 515.
- 5 Levine MM, Xu Jian-Guo, Kaper JB, et al. A DNA Probe to Identify Enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157 : H7 and Other Serotypes That Cause Hemorrhagic Colitis and Hemolytic Uremic Syndrome. *J Infect Dis*, 1987, 156 : 175-182.
- 6 Griffin PM and RV Tauxe. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157 : H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev*, 1991, 13 : 60-98.
- 7 徐建国,程伯鲲,吴艳萍,等.关于产志贺样毒素且具侵袭力的大肠杆菌的研究. *中华流行病学杂志*, 1994, 15 : 333.
- 8 March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157 : H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol*, 1986, 23 : 869-872.
- 9 徐建国,黄力保,吴纪民,一种出血性大肠杆菌的 PCR 检测方法, *中华医学检验杂志*, 1995, 18 : 225.
- 10 Brewster DH, Browne MI, Robertson D, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O157 : H7 associated with a children's paddling pool. *Epidemiol Infect*, 1994, 112 : 441-447.
- 11 Feng P. *Escherichia coli* serotype O157 : H7. *Emerging and Reemerging Infectious Diseases*, 1995, 2 : 47-52.
- 12 Xu Jian-G. Quan Tai-S, Xiao Dong-L, et al. Isolation and Characterization of *Escherichia coli* O157 : H7 Strains in China. *Curr Microbiol*, 1990, 20 : 299-303.
- 13 Kain, KC, Barteluk RL, Kelly MT, et al. Etiology of childhood diarrhea in Beijing, China. *J Clin Microbiol*, 1991, 29 : 90-95.
- 14 Xu Jian-Guo, Chen Bo-Qun, Wu Yan-Ping, et al. Cell adherence patterns and DNA probe types of *E. coli* strains isolated from diarrheal patients in China. *Microbiol Immunol*, 1996, 40 : 89-97.

(收稿: 1996-08-15 修回: 1996-09-05)