

SHIPIN ZHONG XIAOCHANG
JIECHANG YAN
YEERSENSHIJUN
JIQIJANYANJISHU

齐素瑛 郝士海 编著

食品中
小肠结肠炎
耶尔森氏菌
及其检验技术

轻工业出版社

R155.5

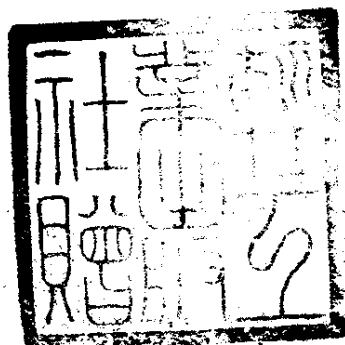
37

3

8107/07

食品中小肠结肠炎 耶尔森氏菌 及其检验技术

齐素瑛 郝士海 编著



工业出版社
501441

内 容 简 介

结肠炎耶尔森氏菌为近年引起国际上普遍重视的一种人畜共患病原菌，是一种食物中毒病原菌。本书综合介绍了本菌的发展简史、生理生化特性、流行病学特征、临床和致病因子等国外新近的研究成果，并重点介绍了著者近年来对食品中本菌的检验方法的实验研究成果和经验，另外还简要介绍了国外关于食品中本菌的检验方法。

本书可供食品卫生细菌检验和管理人员、临床医师、畜牧兽医、各级卫生防疫人员及有关院校师生参考。也可供食品加工厂、家畜饲养厂有关人员参考。

食品中小肠结肠炎耶尔森氏菌 及其检验技术

齐素瑛 郝士海 编著

轻工业出版社出版

(北京广安门南滨河路25号)

通县觅子店印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

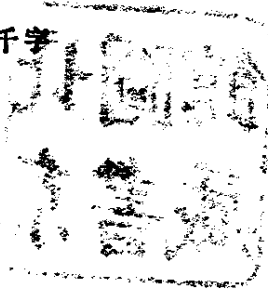
各地新华书店经售

787×1092毫米1/32印张：724/32插页：1字数：167千字

1988年4月 第一版第一次印刷

印数：1—3,500定价：2.30元

ISBN 7-5019-0058-2/TS·0038



前 言

小腸結腸炎耶爾森氏菌雖早在30年代即已被發現，但直至60年代始才逐漸被人們所認識。近十餘年來有關本菌的報道日益增多，已有40多個國家發現本菌，其分布遍及世界各洲，現已被正式命名，歸屬於腸桿菌科的一個菌屬，為現時國際上引起普遍注意的新腸道病原菌之一。由於本菌能在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 下生長發育，臨床上新多樣化表現以及人畜共患等特性，故與腸桿菌科其它菌屬相比，在流行病學、臨床醫學、血清免疫學、預防醫學、食品衛生學以及分離鑑定技術等方面要複雜得多，迄今仍有不少問題有待於進一步探索，因而對它的研究已成為當前國際上的熱門課題。

我國對本菌的調查研究起步較晚，不過數年，雖在少數地區和單位已取得了一些可喜的成果，證實了在我國一些地區，本菌對人和各種家禽以及各種動物性食品的侵染是比較嚴重的，但與一些先進國家相比尚有不少差距，特別是在我國廣大邊遠地區，醫療衛生、畜牧獸醫等有關人員對本菌及其所引起的疾病尚比較生疏甚至一無所知。為了普及有關這方面的知識，引起各方面有關人員的普遍注意和重視，廣泛開展對本菌及其所致疾病的調查研究，加強防治以保障人民健康，我們不揣淺拙，編著了這本小冊子，由於水平所限，錯誤難免，衷心希望讀者予以批評指正。

本書綜合介紹了本菌的發展簡史、生理生化特性、流行病學特征、臨床和致病因子等國內外新近的研究成果，並重點介紹了我們近年來對食品中本菌檢驗方法的實驗研究成果

和经验。

由于资料较多，篇幅有限，有些地方只能作一简略介绍，尚不够详尽。为此尽量列出参考文献，以便读者在必要时进行查找和深入探讨。

本书既是一本专业参考书，也是一本科普书。可供有关大专院校专业科系师生、各级卫生防疫人员、临床医师、畜牧兽医、食品卫生细菌检验和管理人员等学习参考。也可作为一般卫生科普宣传教育及肉类联合加工厂、家畜禽饲养场、食品加工厂以及有关的经营管理人员的科普读物。

本书在编写过程中承蒙陈乃武教授热情支持，惠赠宝贵参考资料，天津商品检验局赵洪根副局长和冯鹤田高级工程师作了认真审阅，在此一并表示衷心感谢。

编著者 1986.9

目 录

第一篇 一般概况.....	(1)
第一章 发展史及其分类学的概述.....	(1)
第二章 一般特性.....	(6)
第一节 形态和染色.....	(6)
第二节 培养温度和 pH 值.....	(6)
第三节 生长速度和营养需要.....	(7)
第三章 生化学特性.....	(9)
第一节 在初步筛选培养基上的反应.....	(9)
第二节 生化反应.....	(9)
第三节 生物分型.....	(24)
第四章 血清学和噬菌体分型.....	(27)
第一节 抗原及血清分群.....	(27)
第二节 交叉反应.....	(32)
第三节 溶原性和噬菌体分型.....	(36)
第五章 流行病学.....	(39)
第一节 分布.....	(39)
一、 在各国的分布.....	(39)
二、 人群中的分布.....	(42)
三、 在环境和动物中的分布.....	(46)
四、 在食品中的分布(表25).....	(54)
五、 在我国的分布.....	(55)
第二节 传染源和传播途径.....	(62)
一、 传染源.....	(63)

1.	人带菌者.....	(63)
2.	动物带菌者.....	(63)
3.	食品和水的污染.....	(65)
二、	传播途径.....	(65)
第三节	流行病学特点.....	(66)
一、	本病的暴发和散发性.....	(66)
二、	季节性.....	(68)
三、	混合感染性.....	(68)
四、	病原体的适应性.....	(69)
第六章	环境因素的影响.....	(70)
第一节	加热.....	(70)
第二节	冷冻.....	(71)
第三节	辐射.....	(72)
第四节	碱类.....	(72)
第五节	抑制剂.....	(74)
第六节	氯化钠.....	(77)
第七节	其 它.....	(78)
第七章	致病性及致病机制.....	(80)
第一节	致病性.....	(80)
一、	在肠道内的病理学定位.....	(80)
二、	对动物的致病性.....	(81)
第二节	临床征候.....	(84)
一、	胃肠炎型耶氏菌病.....	(86)
二、	肠道外感染症.....	(88)
三、	诊断.....	(89)
四、	治疗和预防.....	(89)
第三节	致病机制.....	(90)

一、	肠毒素	(91)
1.	肠毒素的性质	(91)
2.	肠毒素产生的有关因素	(92)
3.	肠毒素的检测方法	(93)
二、	细胞侵入性	(94)
1.	侵入性	(94)
2.	豚鼠角膜结膜炎	(96)
3.	侵入性的测定方法	(96)
三、	VW抗原	(96)
四、	自凝现象	(98)
1.	自凝性	(98)
2.	和VW抗原的关系	(99)
3.	自凝试验的检测方法	(99)
五、	质粒	(100)
1.	毒性质粒与VW抗原及致病性间的关系	(101)
2.	质粒与Ca ²⁺ 依赖的关系	(102)
3.	质粒与血清型的关系	(102)
4.	质粒与菌株侵入性的关系	(103)
5.	质粒与自凝性的关系	(103)
6.	质粒与肠毒素的关系	(103)
7.	质粒的DNA检测方法	(103)
六、	毒力的指征	(104)
第二篇 检验方法		(106)
第一章 检验方法的研究进展		(106)
第一节 样品的制备		(106)
第二节 增菌		(107)

一、增菌培养基及其增菌效能·····	(108)
1. 直接增菌·····	(108)
2. 前增菌·····	(112)
3. 选择性后增菌·····	(112)
4. 碱化直接分离法及碱化 增菌法·····	(113)
二、增菌温度和时间·····	(116)
三、各增菌法增菌效能的比较·····	(118)
第三节 分离·····	(119)
一、分离琼脂培养基及其分离耶氏菌的 效能·····	(129)
1. SS 琼脂·····	(129)
2. SS-D 琼脂·····	(129)
3. Mac Con Key 琼脂·····	(132)
4. MT 琼脂·····	(133)
5. BS 琼脂·····	(135)
6. BST 琼脂·····	(139)
7. 果酸琼脂·····	(140)
8. CIN 琼脂·····	(141)
9. >>Y<< 琼脂·····	(142)
10. CAL 琼脂·····	(142)
11. DYS 琼脂·····	(142)
12. FX 琼脂·····	(142)
二、分离琼脂平板的培养温度和 时间·····	(143)
三、各分离琼脂培养基分离耶氏菌效能 的比较·····	(144)

第四节	初步筛选和生化学试验鉴定·····	(151)
一、	初步筛选·····	(151)
二、	第二步筛选·····	(154)
三、	生化试验鉴定·····	(157)
第二章	检验方法·····	(159)
第一节	出口食品耶氏菌检验方法	
	(专业标准)·····	(159)
第二节	食品卫生检验方法	
	(国家标准)·····	(171)
一、	设备和材料·····	(171)
二、	培养基及试剂(配方略)·····	(171)
三、	检验程序·····	(172)
四、	操作步骤·····	(174)
1.	样品采集和处理·····	(174)
2.	增菌培养·····	(174)
3.	分离培养·····	(174)
4.	三糖铁试验·····	(174)
5.	尿素酶试验和动力观察·····	(174)
6.	染色镜株·····	(175)
7.	生化学特性·····	(176)
8.	血清型鉴定·····	(176)
第三节	美国食品与药物管理局(FDA)	
	微生物学检验方法·····	(176)
第四节	日本“食品卫生微生物检查”	
	的方法·····	(206)
一、	食品中耶氏菌的检验程序·····	(206)
二、	检验方法·····	(207)

第五节 牛奶中耶氏菌检验方法..... (213)

一、Dominque、T.M氏等

(1981) 法 (213)

二、D. A. Schiemann氏等

(1978) 法 (215)

三、Denise hygos氏等

(1981) 法 (215)

第六节 水中耶氏菌检验方法..... (216)

一、叶友松介绍的方法..... (216)

二、Sydney Harrey等法 (217)

第七节 临床样品耶氏菌检查法..... (218)

一、样品..... (218)

二、方法..... (218)

附： 细菌损伤及其恢复的

测定方法..... (219)

一、材料..... (219)

二、方法..... (220)

结 语..... (222)

参考文献..... (224)

第一篇 一般概况

第一章 发展史及其分类学的概述

小肠结肠炎耶尔森氏菌（以下简称耶氏菌）是近年来国际上引起重视的人畜共患的一种病原菌，被称为80年代两个尚未研究清楚的致病菌之一。随着本菌的发现和不断发展，确定了其在分类学上的位置。

1939年(Schleifstein)和Coleman在美国从病人分离出一种新的人类致病菌，与液状杆菌(*Bacterium Liquieri*)和假结核巴氏菌(*Pasteuralla pseudotuberculosis*)相似，当时称为小肠结肠炎杆菌。

1949年 Håssing 等分离出一株菌，因其病理变化部分的性状相似于假结核巴氏菌病，故鉴定为 *Pasteurella Pseudotuberculosis*。后来 Knapp 和 Thal 对这些菌株进行研究，发现该菌在许多生化特性上不同于假结核菌，而认为该菌不是假结核菌株。

1960年早期，有些国家的学者和兽医工作中的一些临床细菌学家分离到一些新的细菌，被命名为“假结核巴氏菌”、“巴氏假结核类似菌”和“巴氏Y菌”。

1963年 Danice 等^[1] 将本菌命名为“*Pasturellax*”，后经DNA杂交试验证明，本菌与肠杆菌科其它属的DNA相

相关度为13~26%，而与巴氏菌属相关度仅为6~13%。

1964年Frideriksen^[2]发现“巴氏x菌”和Hässing菌株与1939年Schleifstein和Coleman分离的菌株是相似的，并建立一个新名称，即小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)，同年Carlson和Mollaret确证了本菌对人的致病性^[3]。

1965年Smith和Thal根据数值分类学研究结果，建议将细胞色素氧化酶反应阴性的鼠疫巴氏杆菌、假结核巴氏杆菌和本菌组成耶尔森氏菌属，从巴氏杆菌属中分出。

1970年，本菌分类得到国际微生物学会细菌分类命名小组委员会承认^[4, 5]。

其后，以Knapp和Thal的报告为基础，结合DNA杂交试验结果，表明耶尔森氏菌属与肠杆菌科其它成员具有有意义的联系，比与多杀性巴氏杆菌之间的联系更为密切，乃改归为肠杆菌科^[4, 5, 6]。

1974年，本菌被Bergey的细菌学鉴定手册”第八版列入肠杆菌科耶尔森氏菌属^[7]，同年世界卫生组织(WHO)小肠结肠炎耶尔森氏菌、假结核耶尔森氏菌国际标准中心指定巴黎巴斯德研究院为国际耶尔森氏菌中心。

1976年，Brenner等^[8]报告了本菌显示有四个不同的DNA同源群，第一群是典型的小肠结肠炎耶尔森氏菌，后三群曾被称之为不典型或类小肠结肠炎耶尔森氏菌^[2]。

1978年Ewing等^[9]把虹鳟鱼和某些其它鱼红口病的病原菌，命名为红嘴菌(*Yersinia ruckeri*)，作为耶尔森氏菌属的一个新种。

1981年，根据DNA相关度的资料和生化及形态特性的相关性，与小肠结肠炎耶尔森氏菌极为密切的三个同源群被

作为耶尔森氏菌的新种而正式命名，并于国际分类细菌学杂志上公布^[10]。这三个新种是弗氏耶尔森氏菌 (*Yersinia frederiksenii*)、中间型耶尔森氏菌 (*Yersinia intermedia*) 和克氏耶尔森氏菌 (*Yersinia Kristensenii*)。

至此，耶尔森氏菌属共有 4 个，亚属：鼠疫耶尔森氏菌 (*Yersinia Pestis*)、假结核耶尔森氏菌 (*Yersinia pseudotuberculosis*)、小肠结肠炎耶尔森氏菌 (*Yersinia enterocolitica*) 和鱼红嘴病耶尔森氏菌 (*Yersinia ruckeri*)。小肠结肠炎耶尔森氏菌现有 4 个种，即典型的小肠结肠炎耶尔森氏菌、弗氏耶尔森氏菌、中间型耶尔森氏菌和克氏耶尔森氏菌，前者被认为是致病性的，而后三种则是非致病性的^[11]。

目前，本菌虽已在很多国家发现，并还有过多次暴发流行报道，但我国对本菌的研究起步较晚。下面将我国有关对本菌的研究介绍如下：

1976年，于恩庶首先发表了“国外一新的肠道传染病——小肠结肠炎耶氏菌病”综述^[12]，将国外的研究情况向国内作了介绍。

1979年，吴光先^[13]对本菌的检测方法作了综述。

1980年，李笃唐^[14, 15]对本菌在人和动物中的感染分布及分离鉴定等作了全面介绍。

1981年，刘宏道^[16]对本菌及其致病性进行了综述。

1982年，本文作者^[17]对食品中本菌的检验方法作了文献综述。

1983年，白常乐^[18]综述了国外耶氏菌病的流行病学近况。

1984年，于恩庶^[19]和吴光先^[20]分别就耶氏菌病的病

原学进展作了全面综述。同年，叶友松^[1]就耶氏菌病及其实验诊断作了综合介绍。

由此可见，本菌在我国正逐渐引起人们的注意，值此，对本菌在我国的感染情况及特征等方面的研究工作也日趋深入，有关报道日渐增多。

1980~1981年，于恩庶氏^[21]首先相继在福建省从腹泻病人、猪、鼠、鸡等中分离出本菌，从而确认了本菌在福建省的存在，随后对本菌的特征（包括生物学、血清学、药敏、肠毒素、VW抗原、自凝性和质粒等）、人畜的感染情况、传染源、临床特征和治疗等方面作了进一步研究^[22]。

1980年开始，我国卫生部药品生物制品检定所制备了本菌分型抗体血清，收集并向国内供应了耶氏菌的标准菌株。目前，江西省科学院微生物研究所和北京流行病研究所等单位也均生产了本菌“0”因子诊断血清，这些都有力地促进了本菌研究工作的开展。

同年，天津商品检验局开始对食品中本菌检验方法进行了较为系统、深入的研究^[23-29]，1982年从猪中分离到本菌，确认了耶氏菌在当地的存在^[30]，1983年，首先在某些加工食品中检出了本菌^[31]。

1985年我国卫生部颁布了食品中本菌的检验方法（国家标准）^[32]，同年天津商品检验局制定了出口食品小肠结肠炎耶尔森氏菌检验方法（专业标准）^[33]。

除此以外，其它各省市自治区也陆续从各种检体中分离到本菌^[34-41]，从而确认了本菌在我国的分布。

本菌分布很广，遍及世界各大洲，目前发现本菌及所致疾病的国家已达40多个。近年来从各种食品中分离到本菌的报道日渐增多，食品和饮水受到本菌的污染，往往是暴发胃

肠炎型耶氏菌病的重要原因。最近在食物中毒的病例中，3%可分离到本菌。耶氏菌在外环境中不仅具有长期保存生命力的特性^[42]，而且可以生长繁殖^[43]，在低温水中可生存长达6个月之久。食品冷藏可防止其它污染的病原菌繁殖，但本菌在0~4℃比大多数其它致病菌易于繁殖，所以保存于4~5℃冰箱中的食品更具有传染的危险性^[44, 45]，因此，在食品卫生工作上，对于这种可通过食物传播而具有嗜冷性的致病菌必须引起足够的重视。

1978年本菌已被美国列入食品与药物管理局(FDA)食品细菌学检验手册中^[46]；1982年日本将本菌列入新的食物中毒原因菌，并注意到了在食品中对本菌的检验。在日本中央法规(1983)中列入了本菌的检验，日本1983年6月第一版印刷的《食品卫生微生物检查》^[47]一书中载有“对有细菌学规格及指导基准的食品(肉食、鲸肉、鱼肉馅制品、禽肉、非加热肉食制品)和无细菌学规格的食品(肘子肉类、一次加工的生肉类、内脏类)需要时要检查本菌”，在食物中毒原因菌等的病原微生物的都道府县指导基准中又列出宫城县规定在鱼贝类、肉制品、鱼肉馅制品、冷冻调理食品等中不得检出本菌。

随着本菌及所致疾病在许多国家的相继发现，日益引起流行病学家和细菌学家及卫生工作者们的普遍重视，但同其它一些致病菌及所致疾病相比，研究的还较少，在某些部门尚未引起应有的注意，因此，有关本菌及所致疾病的一些研究资料仍不十分充分，我们相信，今后随着对本菌的广泛和深入的研究，一定会促进和加速其研究步伐，取得可喜的成绩。

第二章 一般特性

第一节 形态和染色

本菌为革兰氏阴性短小杆菌，呈卵圆形或杆状细胞，单个存在或呈短链，成堆排列，22~25℃生长的幼龄培养物主要为球形，37℃选择性培养基上生长的陈旧培养物呈多形态，大小为 $0.99\sim 3.54\times 0.52\sim 1.27\mu\text{m}$ 。无芽孢，25℃生长的培养物每个细胞有1~18根周鞭毛，生物1~3型的菌株具有活泼动力，可见2~6根鞭毛，多者达18根，生物4~5型菌株动力不活泼，多数细菌只有一根鞭毛，鞭毛的长度平均为 $0.82\sim 2.85\mu\text{m}$ ，平均宽度为 $0.27\sim 0.29\mu\text{m}$ ^[1]，37℃培养时则很少或无鞭毛，30℃以下有动力，37℃无动力。最初分离的为光滑型菌落，直径0.5~2.00mm，再次培养发生变异，常见为R型。曾报道有L型^[7]。普通碱性染料易于着色，美兰染色可显示两端浓染^[7, 13]。

第二节 培养温度和pH值

所有的耶氏菌在4~42℃下均能生长，最适生长温度为28~29℃^[7]。本菌是肠道菌中能在4℃生长的少数细菌之一，丸山務氏(1973)^[45]观察了本菌在0℃、6℃、12℃、20℃、35℃、45℃下的生长曲线，指出本菌可能生长的温度范围为0~44℃，振荡培养的下限温度约为-1~2℃，最适生长温度为30℃左右，在6℃大约经过6h的诱导期后进