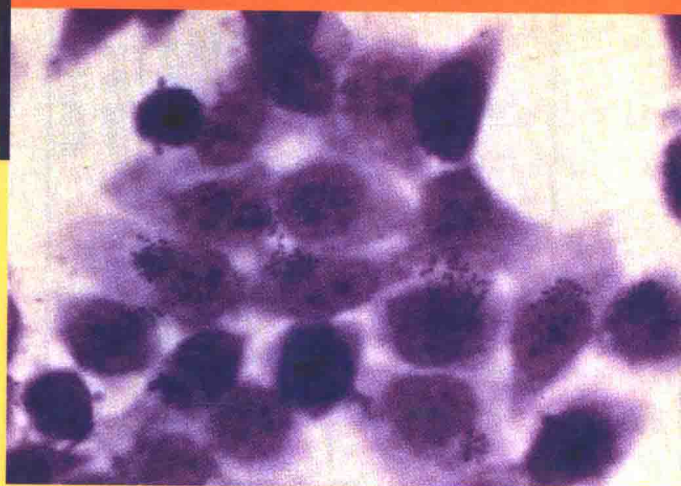


肠道出血性 大肠杆菌 O157

CHANGDAO
CHUXUEXING
DACHANGGANJUN

周志江 主编



军事医学科学出版社

肠道出血性 大肠杆菌 O157

主 编 周志江
副主编 黄上媛 朱 平 郑明光
赵 君 高英杰 卢 强

军事医学科学出版社
·北 京·

图书在版编目(CIP)数据

肠道出血性大肠杆菌 O157/周志江主编.

- 北京:军事医学科学出版社,2002.7

ISBN 7-80121-441-2

I. 肠… II. 周… III. ①大肠杆菌, O157- 研究 ②出血性疾病:大肠杆菌病- 诊疗 IV. ①R378.2 ②R516.1.

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 033100 号

军事医学科学出版社

(北京市太平路 27 号 邮政编码:100850)

新华书店总店北京发行所发行

潮河印刷厂印刷 春园装订厂装订

*

开本:787mm×1092mm 1/32 印张:6 字数:130 千字

2002 年 5 月第 1 版 2002 年 5 月第 1 次印刷

印数:1-3000 册 定价:9.00 元

(本社图书,凡有缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换)

内 容 简 介

全书共十五章,内容包括大肠杆菌 O157 及其他产志贺毒素大肠杆菌的生物学特性、污染状况、致病因子、致病机理和检测方法,还阐述了大肠杆菌 O157 感染症的流行病学、诊断和治疗方法及预防措施,融入了大肠杆菌 O157 研究的最新进展,并写进了我们多年的科学研究成果。本书可作为从事医学、食品科学及兽医学的科研工作者、教师、研究生、大学生、临床检验工作者、食品检验员的参考书。

前 言

尽管 1970 年以来,加拿大已从多起散发性腹泻患者中分离出了大肠杆菌 O157,但是真正认识和把该菌作为人类重要致病菌是在 1982 年,当时从美国俄勒冈州一起食物中毒事件的食物和患者粪便中分离出了该菌。自那时以后,在美洲、欧洲和亚洲的日本等地发生多起重大疾病暴发事件。大肠杆菌 O157 除了引起肠道疾病外,还引起溶血性尿毒综合征及脑症等并发症,死亡率较高,因此和艾滋病、埃博拉出血热等并称为新兴感染症。鉴于大肠杆菌 O157 的重要性,世界卫生组织于 1997 年 4~5 月召开专家会议,讨论防制措施,提出将汉堡包、碎牛肉、生乳、苹果汁、酸奶、奶酪和发酵香肠等列为重点注意的食品。除了大肠杆菌 O157 外,还有一些其他血清型的产志贺毒素大肠杆菌,如 O111 和 O26 等,也已证明对人类有重要致病作用,到目前为止,已发现 100 多个血清型的产志贺毒素大肠杆菌,它们之中大多数的致病性尚未完全得到证实。到目前为止,我国尚未见有大肠杆菌 O157 疾病暴发事件的报道,但自 1987 年以来,已有江苏、北京、山东和香港等地从散发性腹泻患者分离出该菌的报道,也有从牛肉、猪肉及牛粪样品中分离出大肠杆菌 O157 及其他产志贺毒素大肠杆菌的报道。

由于各地医疗及食品卫生部门尚未将该菌列为检测对象,因此其重要性尚未得到确认。但鉴于该菌在世界范围的重要性,我国有关部门和机构及业务部门应采取相应措施,开展对大肠杆菌 O157 的研究工作,加强对病料、食品及环境样品中该菌的检验工作,逐渐认清大肠杆菌 O157 感染症在我国的危害程度,并制定适当防治措施,提高人民的健康水平。

21 世纪是生物科学的世纪,目前生物科学的发展日新月异,大肠杆菌 O157 的研究也是如此,新进展和新成果层出不穷。由于我们的水平有限,书中错漏之处难以避免,欢迎各位同行不吝赐教,给以批评指正。

作 者

2002 年 3 月 20 日于长春

目 录

第一章 大肠杆菌概述	(1)
1.1 分离鉴定	(1)
1.2 抗原结构	(2)
1.3 菌毛、性菌毛和纤维样蛋白结构	(3)
1.4 致病机理	(5)
第二章 STEC 感染暴发严重的国家和地区 区的流行病学	(19)
2.1 美国 STEC 感染的现状和挑战	(19)
2.2 拉丁美洲 EHEC 感染的流行病学	(20)
2.3 欧洲 STEC 感染的流行病学	(21)
2.4 日本 STEC 感染的分子流行病学	(22)
第三章 STEC 感染的暴发及其对策	(24)
3.1 几起典型的食源性疾病暴发事例	(24)
3.2 大肠杆菌 O157 在食品中的污染	(26)
3.3 大肠杆菌 O157 在水中和食品中的存活	(26)
3.4 食品中大肠杆菌 O157 的检验	(29)
3.5 食品中大肠杆菌 O157 的检测程序	(33)
3.6 食品中大肠杆菌 O157 污染的控制	(34)
第四章 大肠杆菌 O157 的致病机理	(40)
4.1 志贺毒素(stx)	(40)
4.2 肠道聚集粘附大肠杆菌耐热肠毒素 1	(42)
4.3 肠溶血素(Enterohemolysin)	(43)
4.4 肠道粘附分子	(43)
4.5 pO157 质粒	(45)

4.6	离子转移	(46)
4.7	其他可能的致病因子	(47)
第五章 志贺毒素的结构、生物特性及对细胞和动物的毒性		
		(48)
5.1	STEC 的特性和 stx 在疾病发生上的作用	(48)
5.2	志贺毒素的特性	(49)
5.3	毒素类型和微生物毒性之间的关系	(53)
5.4	stx2d 的激活	(54)
5.5	小结	(54)
第六章 志贺毒素与其受体糖脂的结合		
		(57)
6.1	stx/Gb3 结合的抑制剂	(58)
6.2	脂质部分在 stx1/Gb3 结合中的作用	(59)
6.3	stx 毒素/Gb3 结合位点的确定	(60)
6.4	stx/Gb3 结合作为一个逆行性转移的探针	(61)
6.5	stx/Gb3 连接作为细胞内环境稳定的探针	(62)
6.6	stx 在细胞生理学上作为 Gb3 作用的探针	(63)
6.7	stx 抗肿瘤形成的可能性	(64)
第七章 志贺毒素和肠道上皮细胞的反应		
		(69)
7.1	问题的提出	(70)
7.2	模型	(71)
7.3	stx 穿过肠道上皮细胞是一个耗能的过程	(71)
7.4	stx1 和 stx2 的转移效率有所不同	(72)
7.5	生长于上皮细胞的细菌产生的 Stx 也能够 穿过上皮	(73)
7.6	在 Ussing 小室试验中 stx 能够穿过未受损伤的 鼠肠粘膜表面	(74)
7.7	结论	(74)

第八章	粘附和擦拭性损伤的肠道组织病理学变化和	
	肠道细胞脱落毒力岛	(77)
8.1	大肠杆菌 O157 感染的肠道病变	(77)
8.2	粘附和擦拭性(attaching and effating, A/Z)	
	损伤	(78)
8.3	肠细胞脱落毒力岛	(81)
8.4	肠道致病模型	(87)
第九章	大肠杆菌 O157 及其他产志贺毒素大肠	
	杆菌的非内膜素粘附机制	(93)
9.1	大肠杆菌 O157 的体外粘附性	(93)
9.2	大肠杆菌 O157 的体内粘附性	(94)
9.3	非 O157 STEC 的粘附性	(95)
9.4	和 STEC 粘附性相关的细菌表面结构	(96)
9.5	糖对粘附的影响	(96)
9.6	60 MDa 质粒在大肠杆菌 O157 粘附上的	
	作用	(97)
9.7	其他可能参与大肠杆菌 O157 粘附的分子	(98)
9.8	总结	(98)
第十章	人对 STEC 感染的免疫反应	(102)
10.1	血清中的 stx 抗体	(103)
10.2	stx1NAb 及患者和正常人群血清中的	
	抗 Stx1IgG	(103)
10.3	患者及健康人群中 stx2 及 stx2c 抗体	(105)
10.4	stx 抗体和保护性免疫反应的关系	(106)
10.5	STEC 脂多糖抗原的血清抗体	(107)
10.6	STEC 肠道定居因子抗体	(108)

10.7	免疫反应和 STEC 及 EPEC 感染的 相互作用	(109)
10.8	结语	(110)
第十一章	溶血性尿毒综合征的病理生理学	(114)
11.1	stx 的生物学	(114)
11.2	肠壁	(115)
11.3	循环中的 stx	(115)
11.4	stx 对内皮细胞的作用	(115)
11.5	单核细胞和白细胞的作用	(117)
11.6	结语	(118)
第十二章	牛的 STEC 感染	(121)
12.1	EHEC 和其他 STEC 在牛的分布状况	(121)
12.2	牛的 STEC 感染	(122)
12.3	新生犊牛的大肠杆菌 O157 感染	(122)
12.4	大肠杆菌 O157 对断奶小牛的感染	(123)
12.5	与牛大肠杆菌 O157 致病性有关的 致病因子	(123)
12.6	结语	(124)
第十三章	STEC 的检测方法	(127)
13.1	样品采集	(127)
13.2	培养检测方法	(128)
13.3	生物、免疫及核酸检测方法	(132)
第十四章	大肠杆菌 O157 感染的症状及治疗	(143)
14.1	大肠杆菌 O157 感染的症状	(143)
14.2	大肠杆菌 O157 感染的治疗	(144)
第十五章	STEC 感染和疾病的免疫预防	(147)
15.1	研究概况	(147)

15.2	类毒素主动/被动免疫法预防 STEC 感染	(150)
15.3	预防和治疗大肠杆菌 O157 和其他原因 引起的 HUS 的菌苗	(156)
15.4	口服减毒活苗预防 STEC 感染	(158)
15.5	动物用产志贺毒素大肠杆菌菌苗	(163)

第一章 大肠杆菌概述

大肠杆菌寄居于人和动物的肠道内,是人和动物消化道占优势地位的需氧共生菌丛,它出现在任何有粪便污染的地方,因此被作为水源、饮水和食品中粪便污染的指标。大肠杆菌通常对人体无害,但是在人体虚弱、免疫力降低或胃肠受损时,即使是非病原性的菌株也能引起感染,而一些大肠杆菌已通过进化获得了对人类的致病能力,因此即使健康的人也会引起感染。

1.1 分离鉴定

大肠杆菌通常具有运动性,有些菌株,特别是那些引起尿道感染的菌株产生多糖荚膜,它们在营养琼脂上于 18 h 培养后,形成光滑、无色、2~3 mm 菌落,在麦康凯琼脂上形成红色菌落;有的菌株在血液琼脂平板上产生溶血作用。大肠杆菌生长温度为 15~45℃,有的菌株对热有抵抗力,可抵抗 60℃ 15 min 或 55℃ 60 min。大肠杆菌和其他肠道菌的主要生化反应的区别见表 1.1。

尽管大部分菌株分解乳糖并于 24~48 h 之内产酸产气,但也有些菌株需长时间培养后才出现这种情况,还有个别菌株不分解乳糖。

表 1.1 肠杆菌科各属细菌的主要生化反应的区别

试验	伤寒沙 门菌	其他沙 门菌 血清型	志贺 菌	大肠 杆菌	柠檬 酸菌	克雷 白菌	肠杆 菌 ^a	变形菌	普罗威 登斯菌
运动性	+	+	-	+	+	-	+	+	+
分解葡萄糖产气	-	+	-	+	+	+	+	v	v
分解乳糖产酸	-	-	-	+	+	+	+	-	-
脲酶	-	-	-	-	-	v	-	+	-
柠檬酸利用	-	+	-	-	+	+	+	v	+
H ₂ S 产生	+	+	-	-	v	-	-	v	-
吲哚	-	-	v	+	v	v	v	v	+
PPA 试验	-	-	-	-	-	-	-	+	+
葡糖酸氧化	-	-	-	-	-	+	+	-	-

+ : 大部分菌株阳性; - : 大部分菌株阴性; v: 变化不定; PPA: 苯丙酮酸;

a: 包括沙雷菌

1.2 抗原结构

大肠杆菌有 160 个以上不同的菌体抗原或 O 抗原, 由于有 K 抗原的包裹, 应于煮沸或高压后做凝集试验才能检测出来。在 O 抗原之间有许多交叉反应, 还和柠檬酸菌、普罗威登斯菌、沙门菌、志贺菌及耶尔森菌的某些菌株的 O 抗原交叉反应。有时不同属细菌的抗原拥有相同的血清型和结构。相比之下, 沙门菌和克雷白菌只产生中性 O-特异多糖, 而大肠杆菌则产生中性或酸性 O-特异多糖, 酸性多糖多为

己糖醛酸。

大肠杆菌有 50 多种 H 抗原,大部分是单相的,也有个别菌株为多相。菌株间只有极少数交叉反应,和肠杆菌科的其他细菌也有少数交叉反应,测定 H 抗原之前应先于半固体培养基上培养进行诱导。

根据热对凝集反应的影响、抗原性和反应原性,大肠杆菌的 K 抗原最初被分为三类,L、A 和 B。而现在 K 抗原则指酸性多糖夹膜抗原,大肠杆菌 K 抗原可以分为两组,Ⅰ和Ⅱ(见表 1.2),基本上和以往的 A、L 抗原相对应。

表 1.2 大肠杆菌的 K 抗原

特 性	Ⅰ 组	Ⅱ 组
分子量	> 100 000	< 50 000
酸性成分	己糖醛酸、 丙酮酸	葡糖醛酸、磷酸盐、KDO、 NeuNac
热稳定性 (100℃, pH6)	稳定	大部分敏感
O 血清型	O8、O9	许多
染色体位点	His	SerA
17 ~ 20℃ 表达	是	非

KDO:脱氧 8 酮;NeuNac:乙酰神经氨酸

1.3 菌毛、性菌毛和纤维样蛋白结构

1.3.1 菌毛(fimbriae)

许多肠杆菌科的细菌都拥有菌毛,菌毛分为性菌毛和普通菌毛,菌毛既出现于有运动性的菌株,也出现于无运动性的

菌株,其数量比鞭毛多得多,每个菌大约有 100 ~ 500 根,呈周身分布,菌毛比鞭毛短而细,长度为 0.1 ~ 1.5 μm ,宽度为 4 ~ 8 nm。菌毛基本为直线状,而不像鞭毛那样呈卷曲状,在光学显微镜下看不到菌毛,只有在电子显微镜下才能看到菌毛。

生长条件对菌毛形成的影响很大,细菌只有在适宜的条件下才能长出菌毛,否则就长不出菌毛。大部分杆菌在有氧条件下于液体培养基中静止培养,长时间或数次传代后都可以长出菌毛,在固体培养基上数次传代后,不长菌毛的菌占大多数。

菌毛很可能是细菌的粘附器官,拥有菌毛可以使细菌牢固地粘附到固体物质的表面,包括动物、植物和真菌细胞,相反,没有菌毛的杆菌则不能粘附到这些物质的表面。细菌的粘附特性也许有利于细菌定居于营养丰富的微环境中。

大部分有菌毛的细菌拥有 I 型菌毛,使它们具有凝集动物红细胞的能力,对豚鼠、禽类、马和猪红细胞的凝集力最强,对人红细胞次之,对羊红细胞很弱、对牛红细胞几乎不凝集。将一滴浓缩的细菌的悬浮物和一滴豚鼠红细胞的悬浮物混合,细菌可将红细胞连接在一起形成团块,使肉眼可以看见。可用这一简单方法检验细菌是否拥有菌毛。

不同类型的菌毛有不同的粘附特性,最常见的 I 型菌毛出现于埃希氏菌、克雷白菌、沙雷菌、沙门菌和志贺菌,直径 8 nm, I 型菌毛的鉴别方法是,向反应混合物中加入少量 D-甘露糖(0.1% ~ 0.5%)就可以完全和特异性的抑制其粘附和血凝作用,因此,将其称为甘露糖敏感粘附作用。一些沙门菌拥有 II 型菌毛,但缺乏血凝和粘附的特性。一些克雷白菌和沙雷菌拥有 III 型菌毛,直径 5 nm,它们不具有凝集红细胞的能力,除非先对其进行热处理,且其粘附作用不受甘露糖的影

响。肠道致病性大肠杆菌(EPEC)拥有Ⅳ型菌毛,具有甘露糖抗性红细胞粘附作用。

在尿路感染中发挥重要作用的大肠杆菌的菌毛有甘露糖抗性血凝作用,它们有相对应的特异受体,如P菌毛是与人红细胞和尿道上皮细胞的P群抗原结合。

1.3.2 性菌毛(sex pili)

性菌毛的结构和菌毛相似,但功能不同。性菌毛比菌毛更长,可以使之与没有性菌毛的细菌发生联系,通过接合作用转移DNA,另外还作为某些噬菌体的受体位点。

一个菌株可能同时拥有性菌毛和一种以上的普通菌毛,在培养中,某些细胞可能拥有许多普通菌毛,但另一些则可能完全没有菌毛,情况可能很复杂,有的处于菌毛相,有的则处于非菌毛相。Ⅰ型菌毛可能与致病性有关,但它在尿路感染中的作用尚存在争论。

1.3.3 纤维样蛋白结构(filamentous protein structures)

在大肠杆菌中还发现了许多纤维样蛋白结构,具有甘露糖抗性血凝作用,它们在腹泻和尿路感染中发挥重要作用。如引起猪肠炎的大肠杆菌菌株的K88抗原,引起犊牛和羔羊肠炎的大肠杆菌菌株的K99抗原,及人源ETEC菌株的定居因子抗原(CAFs)。

1.4 致病机理

大肠杆菌拥有许多致病因子,O、K抗原的多糖可以抵御补体和吞噬作用,但仅有O抗原不能起到这种保护作用,K抗

原也只对 O 抗原抗体有部分保护作用。许多菌株产生溶血素,从人肠道外感染分离的菌株比粪原菌株产生溶血素的比例更高,动物试验表明,产溶血素菌株比不产溶血素菌株的毒性更强,原因可能是产溶血素菌株可以从溶解的宿主红细胞获得铁。在一些感染中,细胞毒活性具有重要作用。一些菌株拥有 Co1V 质粒,它含有与铁吸收系统有关的遗传基因,这也许可以增强其毒力。一些菌株产生毒素,拥有粘附素或定居因子,有的菌株则获得了侵袭能力。总之,大肠杆菌引起的疾病主要有尿路和败血感染及肠道感染,它们的致病机理也各不一样。

1.4.1 尿路和败血感染

大肠杆菌是最常见的急性尿路感染和尿路脓毒症的原因,它也引起新生儿脑膜炎和败血症、手术创的脓毒症和许多器官的脓肿。从新生儿脑膜炎分离的 80% 的菌株及从败血症分离的 40% 的菌株拥有 K1 抗原,拥有 K1 或 K5 抗原的菌株较拥有其他 K 抗原的菌株毒力更强,因为它们的免疫原性很差。需氧菌素介导的离子吸收系统在败血症、肾盂肾炎和尿路感染患者分离的菌株中的分布比从粪便分离的菌株更加广泛。引起尿路感染的大肠杆菌常来自消化道,感染为上行性的,有研究表明尿路感染与大肠杆菌的菌毛有关,而菌毛则与粘附有关。

尿路感染在女性更多,因为其尿路短而宽,难以阻止细菌向膀胱方向的运动,性交往往促进感染的发生,怀孕时因激素的改变及对尿道的压力,影响尿流,使尿路感染的机会增加,尿道梗阻、尿结石、先天性尿道畸形及神经紊乱等都有助于尿路感染的发生。在男性,前列腺增生是最常见的原因,导尿管