

大肠埃希氏菌

Escherichia coli 房海 主编

河北科学技术出版社

大肠埃希氏菌

房 海 主编

河北科学技术出版社

顾问 郝士海 甘孟侯 陈德威

(以下按姓氏笔画排序)

主编 房海

副主编 王世若 汤生玲 何明清 陈陆均 陈章水 陈翠珍
姚国安 崔思列 董国雄

编著者 王世若 王兴龙 王廷富 王洪发 石小英 卢存礼
田在滋 毕世华 刘纯杰 刘晓明 汤生玲 许崇波
李晓燕 芮荣 何明清 沈萍 宋振庭 张玉林
张继东 陈陆均 陈宗贵 陈贵连 陈章水 陈翠珍
房海 胡子信 侯凤云 姚国安 高崧 高山林
郭宝清 崔思列 梁国华 梁维敏 谌南辉 董国雄
焦新安 潘登瀛

审校者 甘孟侯(第四、五、六、七、十、十八章)
陈德威(第十一至十七章)
郝士海(第一、二、三、八、九章及附录)

大肠埃希氏菌

房海 主编

河北科学技术出版社出版发行(石家庄市北马路45号)

河北新华印刷一厂印刷

新华书店经销

787×1092 1/16 31印张 716,000字 1997年12月第1版

1997年12月第1次印刷 印数:1—2,000 定价:68.00元

ISBN 7-5375-1698-7/Q·7

前 言

自从德国医师 Escherich 氏于 1885 年首次从婴儿粪便中分离到大肠埃希氏菌 (*E. coli*, 简称大肠杆菌) 后, 百余年来, 人类对大肠杆菌及其应用范围的研究不断深化和扩大, 并已认识到大肠杆菌是与人类及多种动物生活关系最为密切的肠道细菌, 对其研究也已从细胞水平进入分子水平。

在医学及兽医学领域, 已不仅仅局限于对大肠埃希氏菌能作为人及动物肠道病原菌的认识, 而且也已远远超越了其临床医学的范畴, 进而使其病原学意义、致病因素与范围、发病机理、病理形成、特异防治 (制) 等诸方面逐渐被更清楚地揭示并仍在继续深入研究。在公共卫生方面, 由于大肠杆菌的广泛分布并不断从人及动物体排出, 以致长期以来一直被作为粪源性污染的卫生细菌学指标, 也是国际上公认的卫生监测指示菌。在细菌生理学方面, 人类对细菌的一些重要生理现象的揭示, 许多内容是以大肠杆菌为代表进行研究而获得的, 而且还在不断扩展。近年来的微生态研究, 不仅已知大肠杆菌是人及多种动物肠道正常菌群的重要组成部分, 而且已明确了大肠杆菌在维护肠道微生态平衡、拮抗某些病原肠道菌, 以及合成并为人及动物提供某种所需维生素等有不可替代的重要作用。关于微生物的遗传学, 是 Delbrück 和 Luria (1943) 以大肠杆菌及其噬菌体为材料完成的变量试验 (fluctuation test, 又称波动试验或彷徨试验), 证明了原核生物的性状也是由基因所决定的, 致使微生物遗传学最终确立为一门独立的学科。1946 年, J. Lederberg 等在研究大肠杆菌的营养缺陷型时, 发现了细菌的有性生殖现象, 从而奠定了分子遗传学的基础。自从 1973 年美国斯坦福大学医学院的 S. N. Cohen 等和旧金山大学医学院的 H. W. Boyer 等报告将大肠杆菌中两种不同特性的质粒片段在体外重组, 进而转移到大肠杆菌细胞中, 使重组质粒自我复制并表达双亲质粒遗传信息后, 大肠杆菌在新兴且极富生命力的现代遗传工程科学中更是屡建奇功, 并已成为目前遗传工程

研究中最完善的载体-受体系统。作为实验生物,大肠杆菌在生物科学研究的许多阶段,以及为解决某些重大基础理论和技术方法等问题上起到了关键性的作用,同时又是现代生物学尤其是分子遗传学和生物化学研究中既简单而又极富成果的模式实验系统,也是当今生命科学领域前沿研究的主要实验生物之一。

显然,大肠杆菌在生物科学中占有相当重要的地位,对其研究与应用也颇为广泛且前景广阔。但大肠杆菌至今除了仍作为肠杆菌科细菌的成员之一而被简要记述于有关书籍中以外,尚缺乏专门记述大肠杆菌及反映其研究进展的著作。而无论从对大肠杆菌的进一步深入研究与应用方面,还是出于生物科学领域研究对它的需要,都急需系统编写出版一部大肠杆菌的专著;同时,就目前国内外对大肠杆菌的研究成果来讲,也足以编写一部专著了。因此,为了比较全面系统地展示大肠杆菌的面貌,从而能为广大从事该方面及相关科学领域的教学、研究及其实际工作的科技工作者提供确有价值的参考和带来有益的帮助,并能借以进一步促进对大肠杆菌的深入研究和拓宽其应用领域,以及为提高细菌学研究水平所借鉴,我们编写了《大肠埃希氏菌》这部专著。在即将步入世界新技术革命的21世纪而以生物技术为先导的今天,本书的问世更有其重要的现实意义和长远意义。

本书的编写者和审稿者,分别来自高等院校、科研单位、细菌学检验部门及医院,既有长期从事该方面教学、科研及实验室检验、医学临床等工作并卓有成就的我国老一辈专家教授,又有在该研究领域已崭露头角的后起之秀。在编写内容方面,既有编写者长期从事该方面实际及研究工作的经验体会和成果,又注意选择归纳了国内外的有关新进展和成就;既有丰富的基础理论,又注重了密切联系实践。本书学术理论全面系统、科学先进,技术方法详细准确、具体可行,文献信息广泛精辟、密集实用。同时,书中部分内容,为房海等承担国家自然科学基金资助项目(大肠杆菌新菌毛抗原的研究(编号:39070652))的研究成果。中国天津进出口商品检验局郝士海教授是我的老前辈,中国农业大学甘孟侯教授和陈德威教授是我的老师,三位教授不仅对本书的编写和出版甚为关怀,而且不辞辛劳为本书认真修改目录和审阅书稿,使本书更为谨严和完善。再者,本书的出版得到“河北省教育委员会学术著作出版基金”资助。值此,我谨以本书主编的名义向三位教授,也同时向辛勤撰稿的各位作者、向被引作参考文献的原作(译)者、向国家自然科学基金委员会、向河北省教育委员会、向为本书出版付出努力的河北科学技术出版社编辑和领导、向河北农业技术师范学院领导致以诚挚的谢意。

顺便说明几点,首先是人们对大肠杆菌这一名称比对大肠埃希氏菌更为熟悉和喜欢使用,因此在书中的大部分情况下采用了大肠杆菌而只在特殊需要的情况下才采用了大肠埃希氏菌这一名称,全书未做统一。其次是诸如大肠杆菌的毒素、菌毛等一些内容虽属于大肠杆菌生理学范畴,但考虑到它们均为大肠杆菌的重要致病因素等,相应的研究内容和资料也甚多,为便于系统记述,特分别将其相应内容进行了归类分章记述。此外,为便于读者查阅原始资料,在每章后均列出了主要参考文献,但有的同一章内容是由几位作者分节编写的,各位作者按自己编写的内容列出了主要参考文献,为使体例统一,并

未将这些文献分别列在各位作者所编写内容之后，而是统一编排在了章末，基本是按内容先后顺序编排的，读者查阅时应予以注意。

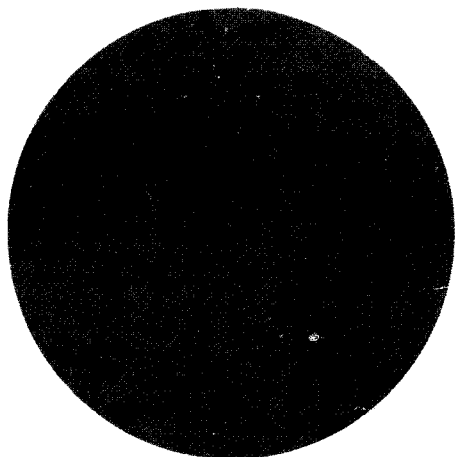
《大肠埃希氏菌》的出版，确实是一件值得欣慰之事。不过，就一种细菌编写一部专著还是首次尝试，加之编著本书涉及多学科、大肠杆菌相应及相关的科技文献浩瀚和时间仓促，本人又学疏才浅，以致难免对某些重要问题也有疏漏和不妥；其次，由于本书为多作者执笔，取材详简及编写风格有所不同，而书中交叉环节和内容又较多，虽在编写中注意了侧重点和全书整体性，又在最后统稿时做了适当调整，但仍有些内容间可能会存在一些难免的重复以及不很协调的现象。这些，还请同行专家及广大读者谅解并提出宝贵的修改意见，以便再版时修订。

房 海

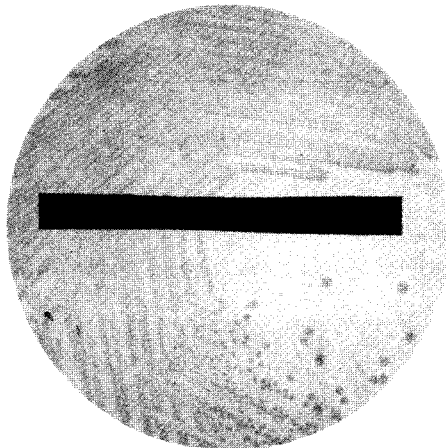
1996年1月8日

图

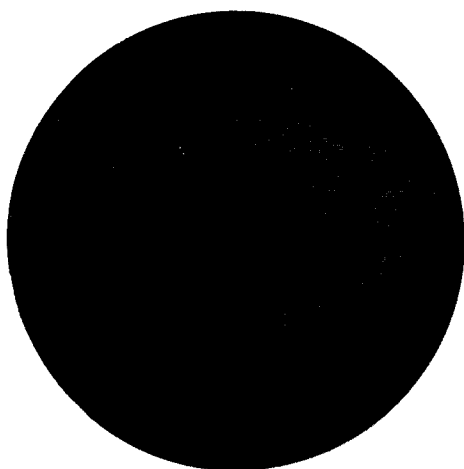
版



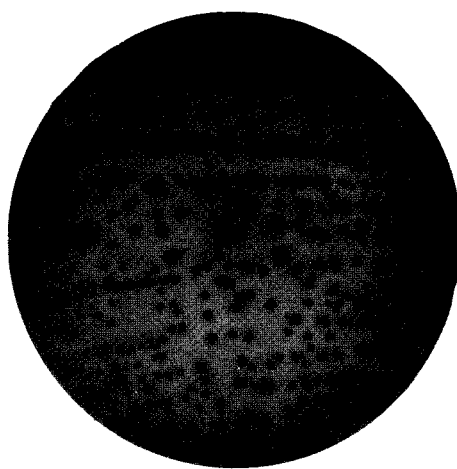
图版 1 *E. coli* 革兰氏染色阴性, $\times 630$



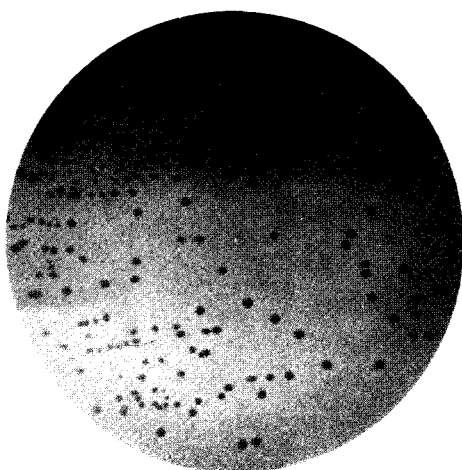
图版 2 *E. coli* 在普通营养琼脂上的菌落



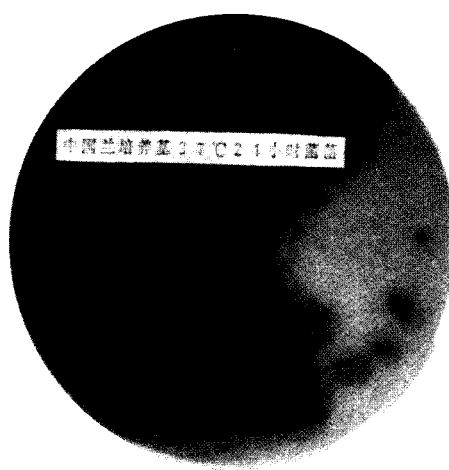
图版 3 *E. coli* 在血液琼脂上呈 β 溶血的菌落



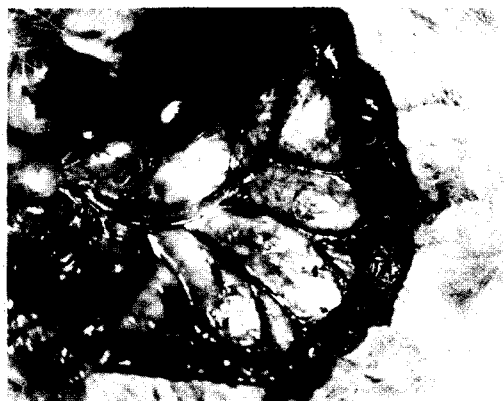
图版 4 *E. coli* 在麦康凯琼脂上的菌落



图版 5 *E. coli* 在伊红美蓝琼脂上的菌落



图版 6 *E. coli* 在中国蓝琼脂上的菌落



图版 7 检查 *E. coli* LT 的兔肠袢结扎试验



图版 8 鸡感染 *E. coli*, 肝脏呈铜绿色



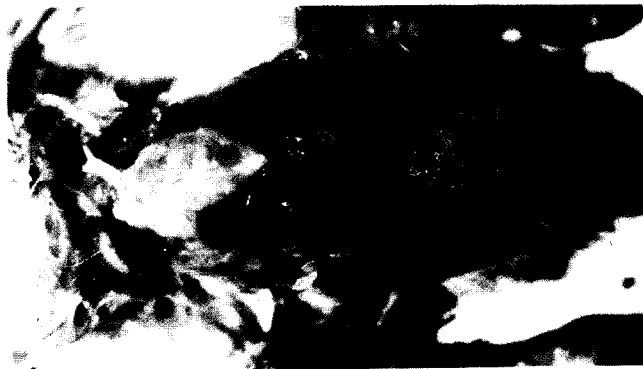
图版 10 鸡感染 *E. coli* 形成的全眼球炎



图版 9 鸡感染 *E. coli* 形成的肝周炎, 注意肝表面纤维索性伪膜



图版 11 鸡感染 *E. coli* 形成的输卵管炎
显示被干酪样物质包裹的卵。



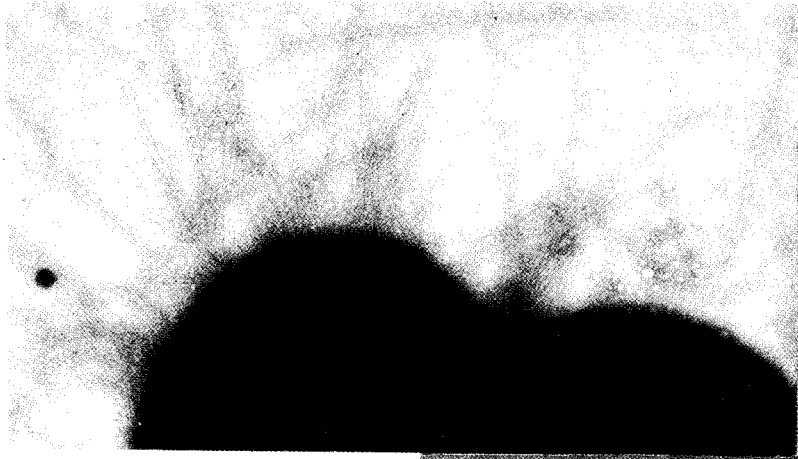
图版 12 鸡感染 *E. coli* 形成的心包炎



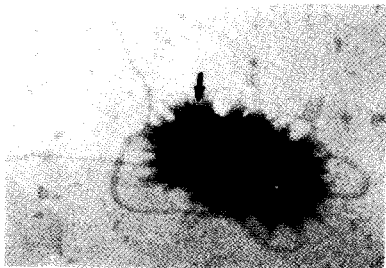
图版 13 家兔感染 *E. coli*
显示蚓突及肠淋巴滤泡等肿胀出血。

图版 14 家兔
感染 *E. coli*
显示稀薄的肠
内容物及气泡。



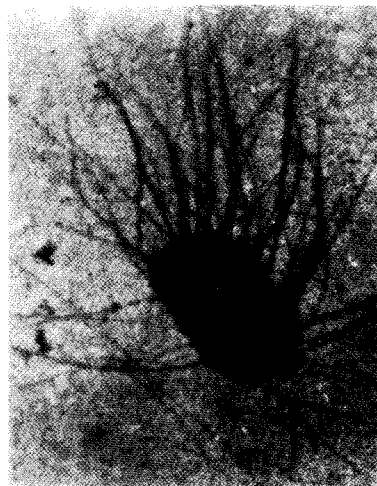


图版 16 *E. coli* 的鞭毛, $\times 32000$



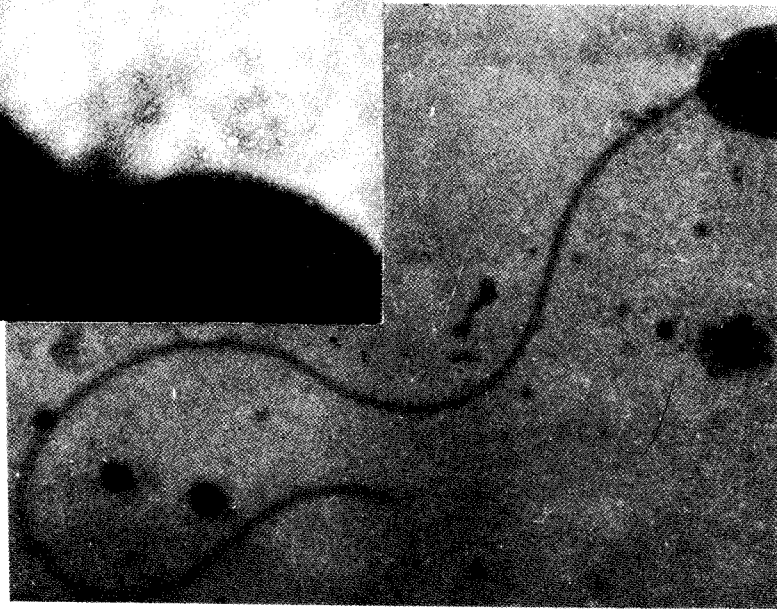
图版 17 FC株 K₉₉、F₄₁ETEC 电镜形态图

箭头示 K₉₉或 F₄₁菌毛(电镜下二者不易区分),图中较粗、长者 为鞭毛。



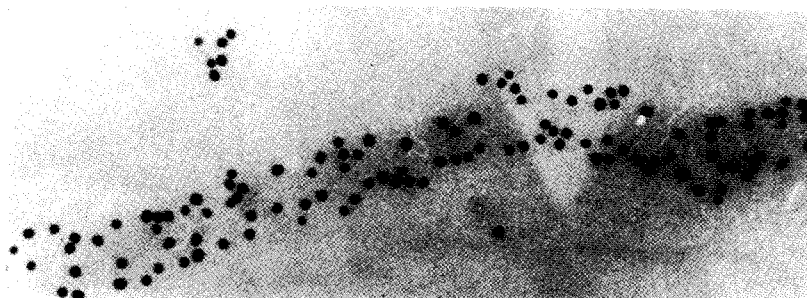
图版 18 987P 菌毛电镜下的 形态, $\times 12000$

图版 15 *E. coli* 的菌毛, $\times 66000$

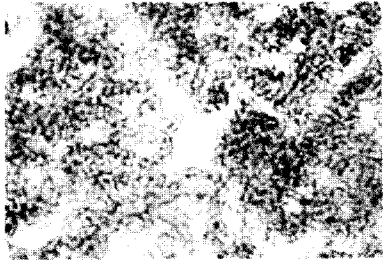


图版 19 EPN₂ 单克 隆 抗 体 对 987P 菌 毛 的 免 疫 胶 体 金 染 色, $\times 40000$

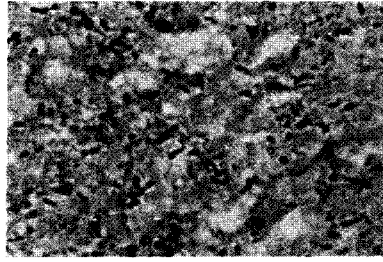
EPN₂单克隆抗体-免 疫 胶 体 金 复 合 物 在 NADC1592(O₃: K₁₀₃, 987P: NM) 株 菌 987P 菌毛上分布的 情况,在每根菌毛上 均分布着10nm的金 颗粒,细菌表面无金 颗粒标记。



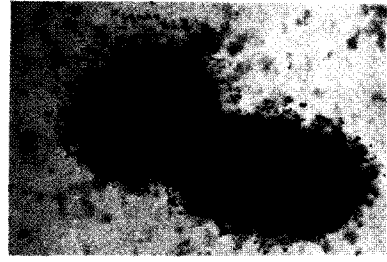
图版 20 EPN₂ 单克隆抗体与 987P 菌毛抗原结合位点的电镜照片, $\times 50000$ 10nm 金颗粒有规律地分布在 987P 菌毛上,该菌毛似乎呈一种螺旋状结构。



图版 21 牛黄切片中见有大量沉积胆红素的 *E. coli*, $\times 500$
氯仿脱色处理的不染色标本。



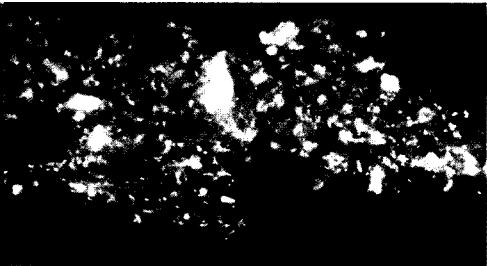
图版 22 牛黄切片中有少数不沉积胆红素的 *E. coli*, $\times 500$
氯仿脱色处理的姬姆萨氏染色标本。



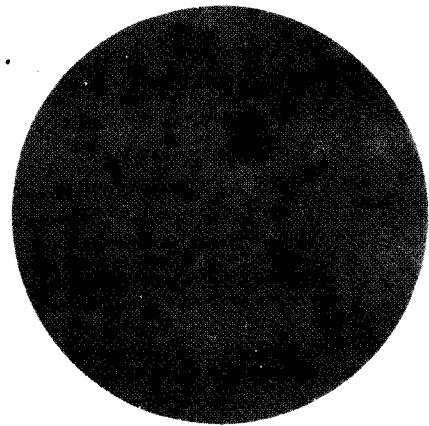
图版 23 胶体金标记的 L_{10} 单克隆抗体与 $B_{41}M$ 菌株上 F_{41} 菌毛特异结合的免疫电镜照片, $\times 35000$



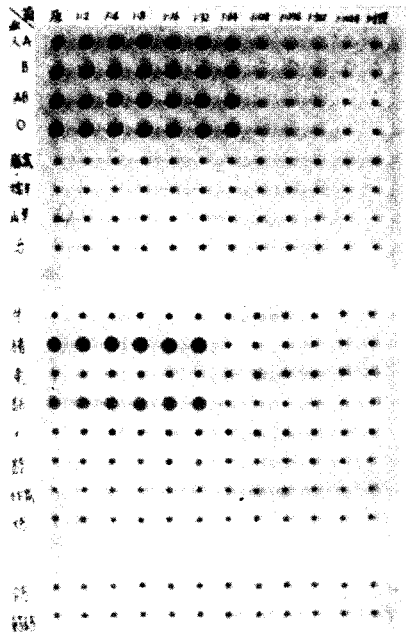
图版 24 WG5 株 ETEC 对猪小肠上皮细胞绒毛粘附的病理切片图, $\times 1000$
姬姆萨氏染色可见绒毛上吸附有一层或多层该株菌细胞。



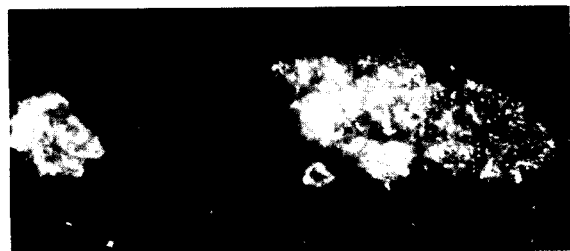
图版 25 K_{88} ETEC 菌株对猪小肠上皮细胞刷状缘的粘附, $\times 400$ (暗视野)



图版 28 人工感染 *E. coli* 菌株 (F_{1987}) 的腹泻猪粪便间接酶标抗体染色照片, $\times 630$



图版 27 *E. coli* 菌毛 (F_{1987}) 的 MRHA 结果



图版 26 K_{88} ETEC 菌株对猪小肠上皮细胞刷状缘的粘附, $\times 400$ (暗视野)

目 录

第一章 大肠杆菌的分类	(1)
一、在肠杆菌科中的分类地位.....	(3)
二、按致病作用分类.....	(12)
三、按噬菌体裂解分类.....	(14)
四、按产肠毒素特性分类.....	(17)
五、按溶血型分类.....	(18)
第二章 大肠杆菌的生理学	(21)
一、大肠杆菌的形态与结构及检查方法.....	(23)
二、大肠杆菌的生长繁殖与代谢.....	(37)
三、大肠杆菌培养特性及其检查方法.....	(51)
四、大肠杆菌生化特性及其检查方法.....	(54)
五、大肠杆菌素及其检查方法.....	(75)
第三章 大肠杆菌抗原	(89)
一、大肠杆菌抗原的种类.....	(92)
二、大肠杆菌抗原的血清学鉴定技术.....	(106)
第四章 大肠杆菌毒素	(131)
一、大肠杆菌肠毒素及其检测方法.....	(133)
二、大肠杆菌内毒素及其检测方法.....	(146)
三、大肠杆菌毒素的基因调控.....	(150)
第五章 大肠杆菌疾病学	(157)
一、大肠杆菌的致病性.....	(159)
二、人大肠杆菌感染症.....	(164)
三、动物大肠杆菌病.....	(172)
四、动物大肠杆菌病灭活疫苗及其应用.....	(194)
五、大肠杆菌疾病学常用的统计知识.....	(195)
第六章 大肠杆菌的抵抗力	(217)
一、对外界环境因素的抵抗力.....	(219)
二、对抗菌类药物的抵抗力.....	(219)

三、耐药质粒及其药物敏感性测定方法	(220)
第七章 大肠杆菌的生态	(229)
一、在自然界的分布及其意义	(231)
二、在人与动物体的分布及其意义	(232)
三、牛胆汁中的大肠杆菌与牛黄形成	(236)
第八章 大肠杆菌的公共卫生学意义	(241)
一、大肠杆菌和大肠菌群及粪大肠菌群的定义	(243)
二、大肠菌群在公共卫生学上的意义	(244)
三、大肠杆菌的损伤与修复	(249)
四、大肠菌群数的测定	(250)
五、食品中的大肠杆菌检验	(264)
第九章 大肠杆菌的分离与鉴定	(269)
一、大肠杆菌的分离培养方法	(271)
二、大肠杆菌的鉴定方法	(275)
第十章 大肠杆菌的遗传学	(293)
一、基因组图谱	(295)
二、G+Cmol%测定及其意义	(306)
三、质粒	(309)
四、在基因工程中的应用	(312)
五、核酸探针技术在检测大肠杆菌中的应用	(317)
第十一章 大肠杆菌的菌毛及其类别	(325)
一、普通菌毛	(328)
二、性菌毛	(332)
三、宿主特异性菌毛黏附素	(336)
四、常见菌毛抗原的分布特点	(348)
五、菌毛的命名原则	(351)
第十二章 大肠杆菌菌毛的提取与纯度鉴定	(357)
一、常规提取方法	(359)
二、菌毛纯化方法	(362)
三、纯度鉴定方法	(363)
第十三章 大肠杆菌菌毛的理化特性及其测定方法	(367)
一、菌毛蛋白质的定性与定量测定	(369)
二、菌毛蛋白质的分子量测定	(370)
三、菌毛蛋白质的等电点测定	(375)
四、菌毛蛋白质的氨基酸组分测定	(377)
五、血凝作用及其血凝谱	(380)

六、细胞黏附作用及其测定·····	(382)
第十四章 抗大肠杆菌菌毛抗体制备技术·····	(389)
一、常规制备技术·····	(391)
二、单克隆抗体制备技术·····	(395)
第十五章 大肠杆菌菌毛的检查方法·····	(409)
一、电子显微镜检查·····	(411)
二、甘露糖抵抗血凝与血凝抑制反应·····	(412)
三、免疫血清学反应·····	(416)
四、其他方法·····	(429)
第十六章 大肠杆菌菌毛的基因调控·····	(433)
一、肠道产肠毒素性大肠杆菌菌毛抗原的基因调控·····	(436)
二、与其他致病性大肠杆菌黏附有关物质的基因调控·····	(441)
第十七章 大肠杆菌菌毛的医学意义·····	(449)
一、菌毛在发病学方面的意义·····	(451)
二、菌毛抗原在疾病预防方面的意义·····	(453)
三、菌毛在大肠杆菌耐药性方面的意义·····	(456)
四、菌毛抗原在大肠杆菌病诊断方面的价值·····	(456)
第十八章 大肠杆菌菌毛抗原的免疫学及其应用·····	(459)
一、免疫学理论与实践·····	(461)
二、菌毛疫苗制备与活性单位测定·····	(463)
三、免疫效果及其测定方法·····	(465)
附录·····	(469)
一、常用计量单位符号·····	(469)
二、常用缩略语·····	(469)
三、中国医学细菌保藏管理中心保藏的大肠杆菌·····	(475)
四、中国兽医微生物菌种保藏管理中心保藏的大肠杆菌·····	(485)

1

第一章

大肠杆菌的分类

大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) 简称大肠杆菌, 是肠杆菌科细菌的模式种 (type species), 为革兰氏染色阴性的直杆菌, 以周生鞭毛运动或无动力, 兼性厌氧, 最适生长温度为 37℃。在营养琼脂上的菌落为光滑型 (S)、低凸起、湿润、灰白色、表面有光泽、边缘整齐, 在生理盐水中易乳化; 亦可为粗糙型 (R) 菌落, 干燥, 在生理盐水中不易乳化; 也有中间型菌落; 亦有黏液型菌落。化能异养菌, 氧化酶阴性, 能以乙酸盐作为唯一碳源, 但不能利用柠檬酸盐。发酵葡萄糖及其他糖类产生丙酮酸, 并可进一步转化为乳酸、乙酸和甲酸, 部分甲酸可被复合的解氢酶系统分解成为等量的 CO₂ 和 H₂。有的菌株不产气。大多数菌株发酵乳糖, 但可迟缓发酵或不发酵。大肠杆菌存在于温血动物肠道下部。DNA 中 G+Cmol% 为 48~52 (热变性温度法, T_m)。

对于大肠杆菌的分类, 主要包括作为革兰氏阴性兼性厌氧细菌在肠杆菌科中的分类、按致病作用分类、按噬菌体裂解分类、按产肠毒素特性分类、按溶血型分类等, 这些分类方法, 常是在特定需要的情况下分别被采用, 并有着重要的实际意义。

一、在肠杆菌科中的分类地位

对肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 细菌的分类及命名, 过去一直比较混乱。在较长的一段时间里, 尽管对本菌群的定义已取得基本一致的意见, 但由于对属、种定义认识的不同, 在科以下的族 (tribe)、属 (genus) 及种 (species) 的划分上, 仍有分歧。1974 年的第八版《伯杰细菌鉴定手册》(Bergey's

Manual of Determinative Bacteriology) 将肠杆菌科的细菌分为 5 个族 12 个属。近年来, 由于核酸技术、共同抗原和噬菌体等方法的发展, 肠杆菌科的属、种已增加。1984 年出版的第九版《伯杰系统细菌学手册》(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) 已列出 20 个属 81 个种 4 个生物型 (表 1-1)。第九版以后到 1988 年, 加上有效发表的肠杆菌科细菌共包括 28 个属 104 个种和 7 个亚种, 还有 6 个未定名的肠道细菌群 (表 1-2、表 1-3、表 1-4)。其中的 6 个未定名的肠道细菌群分别包括肠道细菌群 17、肠道细菌群 41、肠道细菌群 58、肠道细菌群 59、肠道细菌群 60 以及肠道细菌群 68。

表 1-1 《伯杰系统细菌学手册》(第九版) 分类与《伯杰细菌鉴定手册》(第八版) 分类的比较

第九版分类	同种异名 ^a	第八版分类
大肠埃希氏菌 (<i>Escherichia coli</i>)		大肠埃希氏菌 (<i>E. coli</i>)
蟑螂埃希氏菌 (<i>E. blattae</i>)		NL ^b
痢疾志贺氏菌 (<i>Shigella dysenteriae</i>)		痢疾志贺氏菌 (<i>S. dysenteriae</i>)
福氏志贺氏菌 (<i>S. flexneri</i>)		福氏志贺氏菌 (<i>S. flexneri</i>)
鲍氏志贺氏菌 (<i>S. boydii</i>)		鲍氏志贺氏菌 (<i>S. boydii</i>)
宋氏志贺氏菌 (<i>S. sonnei</i>)		宋氏志贺氏菌 (<i>S. sonnei</i>)
迟钝爱德华氏菌 (<i>Edwardsiella tarda</i>)	鳝死爱德华氏菌 (<i>E. anguillimortifera</i>)	迟钝爱德华氏菌 (<i>E. tarda</i>)
鲶鱼爱德华氏菌 (<i>E. ictaluri</i>)		NL
保科爱德华氏菌 (<i>E. hoshinae</i>)		NL
差异柠檬酸杆菌 (<i>Citrobacter diversus</i>)	丙二酸莱文氏菌 (<i>Levinea malonate</i>) 科氏柠檬酸杆菌 (<i>C. koseri</i>)	中间柠檬酸杆菌生物群 b (<i>C. intermedius biogroup b</i>)
无丙二酸柠檬酸杆菌 (<i>C. a-malonate</i>)	无丙二酸莱文氏菌 (<i>Levinea a-malonatidea</i>)	中间柠檬酸杆菌生物群 a (<i>C. intermedius biogroup a</i>)