

2013-2014 年北京市顺义区感染性腹泻病原菌监测分析

邵占涛*王园园*李颖 朱美娟 王彦波

北京市顺义区疾病预防控制中心（北京 101300）

【摘要】目的了解顺义区感染性腹泻的病原菌构成、流行特征及主要致病菌的血清型分布，为本地区感染性腹泻防控提供参考依据。**方法**收集 2013 年 6 月至 2014 年 5 月顺义区 2 家哨点医院肠道门诊腹泻患者的粪便标本，采用分离培养、生化鉴定和血清分型的方法进行致泻大肠埃希氏菌、沙门氏菌、志贺氏菌、副溶血性弧菌的检测，对其流行特征进行分析。**结果** 366 份标本中共分离到 71 株致病菌，检出率为 19.13%，阳性率居首位的是致泻大肠埃希氏菌，占 47.89%，其次为副溶血性弧菌和沙门氏菌，分别占 26.76%和 25.35%。致泻大肠埃希氏菌以产毒大肠埃希氏菌（ETEC）为主，沙门氏菌血清型以肠炎沙门氏菌和山夫登堡沙门氏菌为主要流行血清型。检出率以 6-10 月份较高，青年组显著高于其他年龄组（ $P<0.01$ ），男性显著高于女性（ $P<0.01$ ）。**结论**顺义区感染性腹泻致病菌以致泻大肠埃希氏菌、副溶血性弧菌和沙门氏菌为主，应在高发季节有针对性的加强主动监测，有效防控感染性腹泻。

【关键词】腹泻；致泻大肠埃希氏菌；副溶血性弧菌；沙门氏菌

感染性腹泻是全球性的公共卫生问题，在发展中国家更为严重，是导致死亡的主要病因^[1]。我国的感染性腹泻居法定传染病发病率首位，致病菌种类复杂，耐药性不断加强，多重耐药现象也日趋增多，更加大了感染性腹泻的防控难度^[2]。要真正做到有效控制腹泻病，须要密切监测病原，不断总结，找出病原特点及感染特征，寻找解决问题的思路，尽量做到早期诊断、早期预防和早期治疗^[3]。为了解顺义区感染性腹泻的病原菌构成及流行特征情况，为本地区细菌性腹泻提供防治依据，选取本辖区 2 家哨点医院肠道门诊进行常见致病菌，包括致泻大肠埃希氏菌

（*Diarrheagenic Escherichia Coli*, DEC）、沙门氏菌、志贺氏菌以及副溶血性弧菌的检测，现将

2013 年 6 月至 2014 年 5 月监测结果分析如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

2013 年 6 月至 2014 年 5 月共采集顺义区 2 家哨点医院肠道门诊病人粪便标本 366 份，按照北京市食源性疾病监测工作手册的要求规范采样，样品于 24h 内运送至实验室检测。

1.2 培养基及试剂

SBG 增菌液、3%氯化钠碱性蛋白胨水购自北京友康科技有限公司；MAC 平板、XLD 平板、TCBS 平板、三糖铁斜面琼脂及 3%三糖铁斜面琼脂购自北京陆桥技术有限责任公司；科玛嘉沙门氏菌显色培养基及科玛嘉弧菌显色培养基购自法国 CHROMagar 公司；VITEK 2 compact 全自动微生物鉴定系统及革兰阴性细菌鉴定卡（GN 卡）购自法国梅里埃公司；实时荧光试剂盒购自大连宝生物工程有限公司，以上所有产品均在有效期内使用。

1.3 诊断血清

沙门氏菌及致泻大肠埃希氏菌诊断血清为泰国 S&A 公司产品，所有血清均在有效期内使用。

1.4 分离培养

沙门氏菌用 SBG 增菌液在 37℃ 培养 18 小时后，接种科玛嘉沙门氏菌显色培养基，37℃ 培养 24 小时；副溶血性弧菌用 3%氯化钠碱性蛋白胨水在 37℃ 增菌 16 小时后，接种 TCBS 或科玛嘉弧菌显色培养基，37℃，培养 24 小时；致泻大肠埃希氏菌接种 XLD 和 MAC 平板，37℃ 培养 24 小时。从以上平板挑取可疑菌落接种三糖铁及 3%三糖铁斜面琼脂及营养琼脂，用以进一步分离鉴定。

1.5 细菌核酸提取

采用煮沸法，每个样品从培养 24 小时的 MAC 和 XLD 平板共挑取 5 个可疑致泻大肠埃希氏菌单菌落（粉红色、凸起、光滑、湿润菌落），放入 Eppendorf 管中，100℃ 煮沸 10min，12000r/min 离心 10min，取上清用于 5 种致泻大肠埃希氏菌（EPEC，ETEC，EHEC，EAEC 和 EIEC）的 PCR 初步筛选。阳性样本将对应的每个单菌落分别接种三糖铁斜面琼脂，进行第二次纯
[在此处键入]

菌 PCR 检测，阳性结果用 VITEK 2 compact 进行生化鉴定。

1.6 5 种致泻大肠埃希氏菌荧光 PCR 反应条件

95 °C 30sec ; 95 °C 5 sec; 60 °C 34 sec，40 个循环，在 60℃时检测荧光。

1.7 统计学分析

结果用 SPSS17.0 进行统计学分析。检验水准 $\alpha=0.05$ （双侧）。2. 结果

2.1 病原菌构成

从收集的 366 份病人便标本中共分离致病菌 71 株，阳性率为 19.13%。致泻大肠埃希氏菌 34 株，占 47.89%（34/71），以 ETEC 为主，其次为 EPEC 和 EAEC，ETEC，构成比分别为：73.53%（25/34），17.65%（6/34）和 8.82%（3/34），ETEC 构成比显著高于其余两种（ $P<0.05$ ）；副溶血性弧菌 19 株，占 26.76%（19/71）；沙门氏菌 18 株，占 25.35%（18/71），本次监测未检测到志贺氏菌。

2.2 病原菌检出时间分布

感染性腹泻病原菌检出时间具有明显的季节分布，6 月份到 9 月份为高发期。在 12 个月的监测中，致泻大肠埃希氏菌在 7 个月中均有检出，主要集中在 7-9 月份；副溶血性弧菌仅在 7-9 月份检出，具有显著的季节分布特征；沙门氏菌在 5 月份为唯一检出的病原菌，在 8-10 月份致病菌分布中占主导地位。见表 1。

表 1 顺义区 2013 年 6 月至 2014 年 5 月病原菌检测情况[n（%）]

月份	阳性样本数	致泻大肠埃希氏菌	副溶血性弧菌	沙门氏菌
6	8	8（100.00）	0（0.00）	0（0.00）
7	12	8（66.67）	3（25.00）	1（8.33）
8	18	6（33.33）	10（55.56）	2（11.11）
9	17	7（41.18）	6（35.29）	4（23.53）

10	10	2 (20.00)	0 (0.00)	8 (80.00)
11	2	2 (100.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
12	0	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
1	0	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
2	0	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
3	0	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
4	1	1 (100.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
5	3	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (100.00)

从表 1 可以看出，致泻大肠埃希氏菌在 6-7 月份维持较高水平，之后逐渐降低，除在 8 月份构成比（33.33%）低于副溶血性弧菌（55.56%），10 月份（20.00%）低于沙门氏菌（80.00%）外，其他月份均占主要地位。在 12 月份至 3 月份，所有病原菌均未检出。

2.3 年龄分布

366 份便标本中 20 岁以下的青少年组占 7.10%（26/366）（5 岁以下儿童 4 例，占总数的 1.09%），20-40 岁青年组占 59.29%（217/366），40 岁以上中老年组占 33.61%（123/366）。从表 2 可以看出，检出的致病菌主要分布在 21-40 岁的青年组，≥41 岁的中老年组和≤20 岁的少年组相对较少。各个年龄组中 3 种致病菌均有检出，构成比中均以致泻大肠埃希氏菌为主，其中致泻大肠埃希氏菌和沙门氏菌在青年组分布明显高于其他两组（ $P<0.01$ ）；而副溶血性弧菌青年组明显高于少年组（ $P<0.01$ ），而与老年组差别不明显（ $P>0.05$ ）。

表 2 不同年龄组病原菌构成分布 [n（%）]

年龄组（岁）	阳性标本数（份）	致泻大肠埃希氏菌	副溶血性弧菌	沙门氏菌
--------	----------	----------	--------	------

≤20	3	1 (33.33)	1 (33.33)	1 (33.33)
21-40	53	26 (49.06)	13 (24.53)	14 (26.41)
≥41	15	7 (46.67)	5 (33.33)	3 (20.00)

2.4 性别分布

71 株阳性菌株中，男性为 46 例，占 64.79%，女性为 25 例，占 35.21%，男性检出率显著高于女性 ($P<0.01$)；副溶血性弧菌在男性中检出率显著高于女性 ($P<0.01$)，致泻大肠埃希氏菌和沙门氏菌分布没有明显差异，结果如图 1 所示。

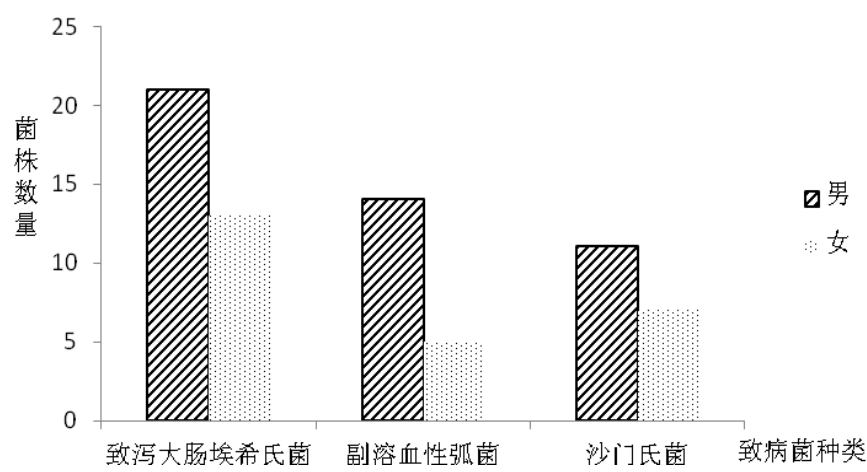


图 1 病原菌性别分布

2.5 病原菌血清型特征

分离到的 19 株沙门氏菌，共有 6 种血清型，以肠炎沙门氏菌和山夫登堡沙门氏菌为主，构成比均为 33.33%，其次为德尔卑沙门氏菌，占 16.67%，结果见表 3。

表 3 沙门氏菌血清型构成[n（%）]

沙门氏菌	血清型构成比
肠炎沙门氏菌	6（33.33）

山夫登堡沙门氏菌	6 (33.33)
德尔卑沙门氏菌	3 (16.67)
鼠伤寒沙门氏菌	1 (5.56)
布伦登沙门氏菌	1 (5.56)
圣保罗沙门氏菌	1 (5.56)

3 讨论

本次监测结果显示，除 12 月份和 1-3 月份未监测到病原菌外，其余月份均有病原菌检出。病原菌以致泻大肠埃希氏菌为主，其次为副溶血性弧菌和沙门氏菌。

全国感染性腹泻病例中以副溶血性弧菌和沙门为主，长期以来北京市病原菌以志贺氏菌为主^{[3][4]}，而北京市其他区县监测结果也呈现不同的病原谱构成（以志贺氏菌和副溶血性弧菌为主）^{[2][5][6]}。造成这一差异的原因主要有自然环境、经济条件、生活方式和人口组成等，我区属北京市的远郊区县，卫生状况参差不齐，可能是导致致泻大肠埃希氏菌为腹泻主要病原菌的原因之一。检测到的 34 株致泻大肠埃希氏菌中，73.53%为 ETEC，其次为 EPEC 和 EAEC，分别占 17.65%和 8.86%，这一构成比与赵雪涛^[7]、慕毅敏^[8]等人报道的 EPEC 为主要类别不同。另一方面，随着人们生活水平的提高，饮食习惯的改变，对海产品的食用量增加，导致感染副溶血性弧菌几率增大。我区本次监测的 12 个月中，没有检测到志贺氏菌，提示我们要收集未使用抗生素的病人便标本，同时要加大脓血便和黏液便样本的采集，实验室在做培养时要挑取脓血和黏液部分，否则菌量少，致病菌培养不出来，影响分离率。

本次监测结果表明，我区夏秋季节仍存在较高的致病菌感染风险，乡村地区要加强卫生知识宣传，降低感染几率；对海鲜类食品应加强主动监测力度，尤其是环境和食品的监测，同时卫生管理部门应加强生产、销售、食用等环节监督和管理。

从人群构成来看，我区感染性腹泻病例中以 21-40 岁的青年组为主，原因可能是这个年龄段为主要的出行就餐群体，感染几率相对较大，成为主要的发病群体。性别构成中，副溶血性弧菌在男
[在此处键入]

性分布中显著高于女性，原因可能是因为夏季烧烤、海鲜等宵夜食品较多，与男性爱好吃夜宵有关。中国疾病控制信息系统“疾病监测信息报告管理系统”收集的感染性腹泻病例报告显示，我国 2008 年感染性腹泻报告病例中，5 岁以下儿童病例数超过 50%^[9]，而我区监测结果中，儿童、婴幼儿病例较少，样本收集量仅占总数的 1.09%，因此在今后工作中应增加哨点医院类别，增大对儿童、婴幼儿病例的监测。

我国沙门氏菌以鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌为主要血清型^[9]，黄芳^[4]等报道结果也与全国构成特征一致，本区沙门氏菌血清型则主要以肠炎沙门氏菌和山夫登堡沙门氏菌为主要流行血清型，存在一定的地域特异性。

由于感染性腹泻病原菌的多样性和复杂性，其防控不仅需要临床机构和疾病监测系统的密切配合，更需要连续、系统开展病原学监测，增强监管力度，扩大监测范围并加强对人们日常饮食卫生的宣传力度，及时采取科学合理的措施，降低发病率，达到有效的防控目的。

参考文献

[1] Ochoa TJ Ruiz J, Molina M, et al. High frequency of antimicrobial drug resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* in infants in Peru[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2009, 81(2):296–301.

[2] 封会茹, 赵伟, 秦萌, 等. 丰台区急性感染性腹泻病原菌分布及耐药性分析[J]. *实用预防医学*, 2013,8 (20): 900-903.

[3] 曲芬, 鲍春梅, 崔恩博, 等. 京地区近 4 年肠道病原菌感染的特点[J]. *传染病信息*, 2004, 1 (17): 26-28.

[4] 黄芳, 邓瑛, 曲梅, 等. 2010 年北京市感染性腹泻病原学监测分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2011, 45 (9): 820-824.

[5] 屈飞飞, 王菊光, 陈海平, 等. 128 份腹泻便病原菌检验结果分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18 (6): 1109-1111.

[6] 董晓根, 耿荣, 赵伟, 等. 北京市丰台区 2010-2011 年感染性腹泻致病菌监测分析[J]. *实用预防医学*, 2012, 19 (6): 887-889.

[7] 赵雪涛, 高昆, 张春华. 2011 至 2012 年徐汇区致泻性大肠埃希菌病原学监测与流行病学研究[J]. *检验医学*, 2013, 28 (8): 671-675.

[8] 慕毅敏, 蔡旭明, 周敬纲, 等. 腹泻症候群致泻性大肠埃希氏菌血清型及毒力基因检测[J]. *中国医学创新*, 2014, 11 (17): 125-127.

[9] 张昕, 高永军, 冯子健, 等. 2008 年全国其他感染性腹泻报告病例信息分析[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17 (32): 3370-3375.