

一起水源性细菌性痢疾暴发疫情的病原学特征及溯源分析

覃迪, 贾华云, 邓志红, 贺子翔, 夏昕, 高立冬, 蔡亮, 张红

湖南省疾病预防控制中心, 湖南省微生物分子生物学重点实验室, 湖南 长沙 410005

摘要: **目的** 分析一起学校水源性细菌性痢疾暴发疫情中病例分离株之间及其环境分离株之间的病原学和分子分型特征及遗传相关性, 追溯传染源。 **方法** 对疫情病例与外环境井水分离到的 29 株志贺菌进行分离鉴定、血清分型和药敏试验, 通过脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 获得电泳图谱, 利用 BioNumerics 软件对图谱进行聚类分析, 探讨菌株间的相关性。

结果 疫情病例和外环境井水中分离的 29 株志贺菌均为宋内 I 相, 29 株志贺菌耐药结果显示产超广谱 β -内酰胺酶菌株占 96.55%。PFGE 方法显示有 3 种脉冲场凝胶电泳图谱, 相似率在 72.8%~100% 之间, 井水中分离的 2 株志贺菌与疫情病例分离的 25 株菌株之间 100% 同源。 **结论** 结合实验室结果和流行病学调查, 可以证实该事件是一起因饮用和使用宋内志贺菌污染的井水而导致的细菌性痢疾暴发疫情。

关键词: 细菌性痢疾; 暴发; 脉冲场凝胶电泳; 溯源

中图分类号: R378.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2016)10-1156-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.002

Pathogenic characteristics and traceability of a water-borne bacillary dysentery outbreak

QIN Di, JIA Hua-yun, DENG Zhi-hong, HE Zi-xiang, XIA Xin, Gao Li-dong, CAI Liang, ZHANG Hong

Hunan Provincial Key Laboratory of Microbial Molecular Biology, Hunan Provincial Center

for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: ZHANG Hong, E-mail: 931525821@qq.com

Abstract: **Objective** To trace the source of a waterborne bacterial dysentery from a school outbreak and to analyze the etiological characteristics and genetic correlation between the patient strains and the isolated environmental strains. **Methods** All the 29 *Shigella* bacteria strains isolated from patients and well water were subject to isolation and identification, serotyping and drug sensitive test. Electrophoresis patterns were obtained by pulsed field gel electrophoresis (PFGE), and then subject to cluster analysis by BioNumerics to study the correlation among the strains. **Results** All the 29 isolates were *Shigella sonnei* Phase I, and 96.55% isolates produced extended spectrum β -lactamases. Three kinds of PFGE patterns were obtained, with similar rates between 72.8%~100%. The 25 isolates from patients and 2 from well water were 100% homologous. **Conclusions** Based on the laboratory results and epidemiological investigation, it is a water-borne bacillary dysentery outbreak caused by drinking or using *Shigella sonnei* contaminated well water.

Key words: Bacillary dysentery; Outbreak; Pulsed-field gel electrophoresis; Traceability

细菌性痢疾 (bacillary dysentery) 简称菌痢, 是由志贺菌属 (*Shigella*) 引起的肠道传染病, 故亦称为志贺菌病 (*shigellosis*)。菌痢主要通过消化道传播, 终年散发, 夏秋季可引起流行。其主要病理变化为直肠、乙状结肠的炎症与溃疡, 主要临床表现为腹痛、排黏液脓血便以及里急后重等, 可伴有发热及全身毒血症症状,

严重者可有感染性休克和 (或) 中毒性脑病^[1]。2015 年 9 月同一大院内的某学校和幼儿园同时发生菌痢暴发疫情, 为了分析引起该起疫情的志贺菌病原学特征, 从分子水平分析所分离志贺菌株的相关性, 追溯传染来源, 通过对这起暴发疫情分离到的志贺菌进行了血清学分型和药敏试验, 并用脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 进行分子分型, 确认该事件是一起因饮用或使用宋内志贺菌污染的井水而导致的细菌性痢疾暴发疫情, 现将相关情况报告如下。

基金项目: 国家科技重大专项 (2013ZX10004-203)

作者简介: 覃迪 (1972-), 女, 湖南邵东人, 主管技师, 主要从事微生物实验室检测与科研工作。

通讯作者: 张红, E-mail: 931525821@qq.com。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2015 年湖南省某小学和幼儿园痢疾暴发疫情分离到的志贺菌株共计 29 株,2 株来自井水,27 株来自病例。

1.2 仪器和试剂

1.2.1 主要仪器 脉冲场凝胶电泳仪为 Bio-Rad CHEF Mapper 系统;凝胶成像仪为 Bio-Rad Gel Doc2000 系统;测定培养细菌浓度(A 值)的光度计为 bioMerieux Vite Colorimeter 公司产品;生化鉴定及药敏试验采用梅里埃 VITEK 2 Compa 全自动细菌鉴定及药敏分析系统。

1.2.2 主要试剂 琼脂糖 SeaKem Gold Agarose 为 Cambraex Bio Science Rockland 产品;限制性内切酶 XbaI 为 TaKaRa 大连宝生物工程有限公司产品;蛋白酶 K 为 MERCK 公司产品;生物分型血清购自丹麦 SSI 公司;生化 GN 鉴定卡购自生物梅里埃,药敏 AST-GN13 购自生物梅里埃。试剂均在有效期内使用。

1.3 实验方法

1.3.1 血清学分型和药敏试验 所有菌株都按照《WS287-2008》^[2]进行分离鉴定和血清分型。标准菌株 H9812 由 PulseNet China 实验室提供。生化鉴定及

药敏试验采用梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统。

1.3.2 脉冲场凝胶电泳 参照 PulseNet China 标准操作方法进行,电泳结束后,将胶块放入 GelRed 溶液染色,然后用纯水脱色,在凝胶成像系统中获取电泳图谱,使用 BioNumericsversion4.0 软件,选择 Dice 相关系数和 UPGMA 方法对 PFGE 图谱进行处理和聚类分析。

2 结果

2.1 疫情概况 2015 年 9 月湖南省某小学和幼儿园同时发生细菌性痢疾暴发疫情,合计发生病例 97 例,其中 2 例重症病例。小学和幼儿园位于同一大院内,相对隔离,使用不同的食堂和水井,但两校的水井相距仅 10 余米,均与大院围墙外的污水沟相距不到 5 m,水井均无防渗漏措施。采集部分病例大便或肛拭子标本及井水开展细菌分离培养,共分离到 29 株志贺菌。

2.2 分离鉴定与血清分型 自病例分离的 27 株和自小学、幼儿园井水中分离的 2 株志贺菌进行 PFGE 分析,29 株志贺菌菌株均为宋内 I 相,基本信息见表 1。

表 1 2015 年湖南省某小学和幼儿园 29 株宋内志贺菌株基本信息

菌株编号	菌株来源环境	菌株来源地区	年龄	性别	菌株编号	菌株来源环境	菌株来源地区	年龄	性别
2015B36	病人	幼儿园	5	女	2015B39-8	病人	学校	12	女
2015B37-1	病人	幼儿园	6	男	2015B39-9	病人	学校	10	女
2015B37-2	病人	学校	7	女	2015B39-10	病人	学校	11	女
2015B37-3	病人	幼儿园	4	男	2015B39-11	病人	幼儿园	5	男
2015B37-4	病人	学校	9	女	2015B39-12	病人	学校	10	男
2015B37-6	病人	幼儿园	4	女	2015B39-13	病人	学校	8	女
2015B37-7	病人	学校	10	女	2015B39-14	病人	学校	9	男
2015B37-8	病人	学校	11	男	2015B39-15	病人	幼儿园	5	男
2015B39-1	井水	学校			2015B39-16	病人	学校	10	男
2015B39-2	井水	幼儿园			2015B39-17	病人	学校	7	男
2015B39-3	病人	幼儿园	4	男	2015B39-18	病人	学校	9	男
2015B39-4	病人	学校	8	男	2015B39-19	病人	学校	10	男
2015B39-5	病人	学校	7	女	2015B39-20	病人	学校	10	男
2015B39-6	病人	学校	8	男	2015B39-21	病人	学校	10	男
2015B39-7	病人	学校	9	女					

2.3 药敏试验 29 株志贺菌,对头孢他啶(CAZ)、厄他培南(ETP)、亚胺培南(IPM)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LET)、呋喃妥因(F)的敏感率为 100%。对氨苄西林(AMP)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、头孢唑林(KZ)、头孢替坦(CTT)、阿米卡星(AK)、庆大霉素(CN)、妥布霉素(TOB)耐药率均为 100%,对头孢曲松(CRO)、复方新诺明(SMZ)的耐药率均为 96.55%,产

超广谱 β-内酰胺酶菌株占 96.55%,见表 2。

表 2 2015 年湖南省某小学和幼儿园 29 株宋内志贺菌药敏试验结果

抗生素	菌株	耐药株	耐药率(%)	敏感株	敏感率(%)
阿米卡星(AK)	29	29	100.00	0	0.00
庆大霉素(CN)	29	29	100.00	0	0.00
妥布霉素(TOB)	29	29	100.00	0	0.00
哌拉西林/他唑巴坦(TZP)	29	29	100.00	0	0.00

续表 2

抗生素	菌株	耐药株	耐药率(%)	敏感株	敏感率(%)
头孢唑啉(KZ)	29	29	100.00	0	0.00
头孢替坦(CTT)	29	29	100.00	0	0.00
氨苄西林(AMP)	29	29	100.00	0	0.00
头孢曲松(CRO)	29	28	96.55	1	3.45
复方新诺明(SMZ)	29	28	96.55	1	3.45
ESBL	29	28	96.55	1	3.45
氨苄西林/舒巴坦(SAM)	29	24	82.76	1	3.45
头孢吡肟(KEP)	29	3	10.34	26	89.66
氨基南(ATM)	29	2	6.70	26	89.66
厄他培南(ETP)	29	0	0.00	29	100.00
亚胺培南(IPM)	29	0	0.00	29	100.00
环丙沙星(CIP)	29	0	0.00	29	100.00
左氧氟沙星(LET)	29	0	0.00	29	100.00
呋喃妥因(F)	29	0	0.00	29	100.00
头孢他啶(CAZ)	29	0	0.00	29	100.00

2.4 PFGE 分型及聚类结果

2.4.1 概况 对 29 株志贺菌进行 PFGE 分型,用 Xba I 酶切后聚类分析发现,被分为 3 种脉冲场凝胶电泳图谱,29 株菌株总的相似率在 72.8%~100%之间。见图 1。

2.4.2 自不同病人分离菌株同源性 来自不同病例的 27 菌株分为 3 种条带,型别呈现多样化。有 25 株菌带型相似度为 100%,占病人分离株的 92.59%,见图 1。

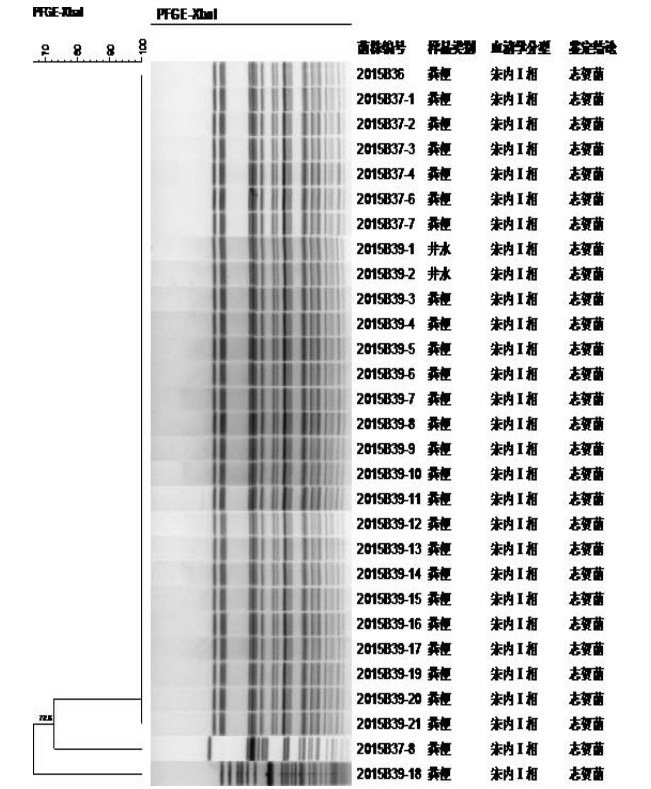


图 1 29 株宋内志贺菌分离株的聚类分析

2.4.3 自井水中分离菌株同源性 小学井水中的分离株(2015B39-1)与幼儿园井水中的分离株(2015B39-2)菌株间 PFGE 带型相似度 100%。

2.4.4 自病例分离菌株与自井水分离菌株同源性 自井水分离的 2 菌株与自病人分离的 25 株菌株间 PFGE 带型相似度 100%,占总分离菌株的 93.10%。

3 讨论

自该起学校细菌性暴发疫情病例和井水标本中共分离志贺菌 29 株,均为宋内志贺菌 I 相,为湖南省细菌性痢疾的主要流行菌型^[3]。药敏试验结果显示 29 株志贺菌对头孢他啶(CAZ)、厄他培南(ETP)、亚胺培南(IPM)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LET)、呋喃妥因(F)敏感率为 100%;对氨苄西林(AMP)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、头孢唑林(KZ)、头孢替坦(CTT)、阿米卡星(AK)、庆大霉素(CN)、妥布霉素(TOB)耐药率均为 100%,对头孢曲松(CRO)、复方新诺明(SMZ)耐药率为 96.55%,产超广谱 β -内酰胺酶菌株占 96.55%,与既往报道的志贺菌耐药模式相似^[4]。该结果提示志贺菌耐药较严重引起高度重视,今后应进一步加强临床所分志贺菌的耐药监测,根据监测结果指导临床医生合理使用抗菌药物,提高治疗效果。

细菌性痢疾是常见的肠道传染病,夏秋季高发,包括中国在内的发展中国家发病率与死亡率一直较高^[5],学校等集体单位通过受污染的饮食和饮水引起的暴发常有报道^[6-7],追溯暴发疫情的感染来源对预防控制疫情具有十分重要的意义。脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis,PFGE)分型技术因其结果能反映菌株全基因组遗传学特征,以其重复性好、分辨率强而被誉为细菌分子分型技术的“金标准”^[8-9],被广泛用于传染病的分子流行病学调查和院内感染调查^[10]。此方法可以从分子水平研究暴发性流行中病原体之间的相关性,分析散发与散发、散发与暴发以及不同暴发之间的联系,查找传染来源,分析传播途径,达到监测和阻断疫情暴发流行的目的。本研究利用 PFGE 检测技术对该起疫情的 29 株菌开展检测,获得 3 种脉冲场凝胶电泳图谱,其中疫情病例中分离到的 25 株菌与外环境中井水株分离到的 2 株菌聚在同一分支,PFGE 带型相似度 100%,从分子生物学水平证明了该起疫情暴发的原因为饮用或使用被宋内志贺菌污染的井水,系一起水源性菌痢暴发疫情;同时亦证明了引起小学和幼儿园暴发疫情的菌株为同一克隆群,是由相同致病因素引起的。另 2 株菌带型不同,可能原因一是井水中有多种志贺菌,二是存在其他的感染来源

北京市小学高年级流动儿童膳食营养行为影响因素研究

王瑜, 张炎

北京市疾病预防控制中心, 北京 100013

摘要: **目的** 初步了解北京市小学 4~6 年级流动儿童膳食营养行为的现状, 分析影响相关行为形成的多方面因素, 为进一步完善针对北京市流动儿童膳食营养行为的健康教育及学校、家庭社会环境等的健康促进工作提供依据与指导。 **方法** 在查阅大量文献的基础上编制自填式问卷; 通过分层整群抽样的方法, 选取 6 所以流动儿童为主要生源的小学, 抽取四、五、六年级户籍为流动人口的学生共 516 名, 由项目组工作人员现场指导学生进行自填式问卷调查。 **结果** 共回收 514 份有效调查问卷, 其中公立小学的流动儿童 59.92%、打工子弟小学 40.08%, 流动儿童的平均年龄为 (11.48 ± 1.125) 岁, 其中男生 53.31%, 女生 46.69%。调查结果显示流动儿童正确的膳食营养行为形成率较低, 行为得分较差 (均数为 75.02 分, 标准差为 13.77, 中位数为 75.67); 统计分析结果显示流动儿童膳食营养行为受性别 ($P=0.030$)、学校类型 ($P<0.001$) 和家庭经济情况 ($P=0.006$) 影响显著。 **结论** 北京市小学高年级流动儿童的膳食营养行为受其性别、学校类型和家庭经济情况影响显著, 提高学校、家长, 特别是打工子弟小学及经济情况较差家庭的家长对膳食营养知识的掌握, 是提高流动儿童营养状况的重要措施。

关键词: 流动儿童; 膳食营养; 影响因素

中图分类号: R153.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2016)10-1159-05 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.003

Factors influencing dietary nutritional behavior in senior-class migrant children in primary schools in Beijing

WANG Yu, ZHANG Yan

基金项目: 国家社科基金 (11CGL080)

作者简介: 王瑜 (1974-), 男, 北京人, 学士, 副主任医师, 主要从事疾病预防控制工作; 张炎 (1977-), 男, 北京人, 硕士, 主管医师, 主要从事营养与食品安全, 健康教育与健康促进工作。两者并列为第一作者。

通讯作者: 张炎, E-mail: zhangyan_s@163.com。

如食物、密切接触传播等, 提示该地区有多样化的宋内志贺菌流行水平和复杂的传染源。

志贺菌的脉冲场凝胶电泳分析, 有助于菌痢的主动监测和传染来源的追踪。湖南省疾病预防控制中心作为 PulseNet China 监测网络的一员, 所提供的湖南省志贺菌 PFGE 指纹图谱及结果分析为实现数据共享建立了良好的基础, 有助于疾病预警监测和跨区域传染源的追踪及传染源溯源。

(志谢: 部分菌株由株洲市及攸县疾病预防控制中心提供, 在此一并表示感谢!)

参考文献

- [1] 杨绍基, 任红, 李兰娟, 等. 传染病学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 172.
- [2] 中华人民共和国卫生部. WS287-2008 细菌性和阿米巴性痢疾诊断标准[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [3] 罗垲炜, 夏昕, 胡世雄, 等. 湖南省 2009-2013 年细菌性痢疾流行病学特征及病原分析[J]. 中国热带医学, 2014, 14(8): 950-952.
- [4] 常海岭, 李月芳, 谢新宝, 等. 儿童志贺菌感染的流行趋势及耐药

模式[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(1): 32-37.

- [5] Youlong G, Stan BF, von Seidlen L, et al. Perceptions of Shigella and of Shigella vaccine among rural Chinese: compatibility with Western models of behavioral change [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2004, 35(1): 2233-2239.
- [6] 周述南, 刘新亮, 刘仁文, 等. 一起宋内志贺菌暴发疫情调查[J]. 实用预防医学, 2014, 21(7): 893-894.
- [7] 唐喜林, 许伦红. 一起水型细菌性痢疾暴发原因调查[J]. 实用预防医学, 2015, 22(8): 975-977.
- [8] Struelens MJ. Molecular epidemiologic typing systems of bacterial pathogens: current and perspectives [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1998, 93(5): 581-585.
- [9] Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, et al. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States [J]. Emerg Infect Dis, 2001, 7(3): 382-389.
- [10] Kam KM, Luey CK, Tsang YM, et al. Molecular subtyping of *Vibrio cholerae* O1 and O139 by pulsed-field gel electrophoresis in Hong Kong: correlation with epidemiological events from 1994 to 2002 [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10): 4502-4511.

收稿日期: 2016-02-19