

山东省腹泻病人携带耶尔森菌 HPI 毒力岛大肠杆菌的调查

崔树玉 温宪芹 孟蔚 孙启华 周国清 程伯鲲 徐建国

【摘要】 目的 了解携带耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌的易感人群、感染率、临床症状、分离率。方法 对 4 个医院 1997 年 6~11 月就诊腹泻患者,进行流行病学调查并收集大便标本,进行细菌分离和鉴定。结果 在 671 例腹泻病人中,共检出 20 个属种 449 株致病菌,志贺菌检出率为 25.48%,致泻性大肠杆菌为 15.05%,对于 176 株疑似产志贺样毒素且具侵袭力大肠杆菌(ESIEC)菌株采用 *irp-2*、*ipaB* 基因探针进行菌落原位杂交,检出 42 株携带 HPI 毒力岛的大肠杆菌。与 42 株携带 HPI 毒力岛的大肠杆菌相关的腹泻病人所表现的临床症状为食欲不振、腹痛、腹泻、寒战、乏力,体温正常或低热,粪便多为粘液便或水样便,日腹泻次数超过 6 次以上者为 33 例,占 78.57%。各年龄组均有感染,10 岁以下儿童为主,占 33.33%。结论 自 671 例腹泻病人的粪便标本中,分离到的志贺菌占首位,致泻性大肠杆菌次之;在致泻性大肠杆菌中以携带耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌为主(6.26%)。

【关键词】 腹泻病;大肠杆菌;毒力岛;耶尔森菌

Study on diarrhea disease and *Escherichia coli* strains harboring HPI pathogenicity island of *Yersinia enterocolitica* in Shandong province CUI Shuyu, WEN Xianqin, MENG Wei, et al. Center for Disease Control, Shandong Province, Jinan 250014, China

【Abstract】 Objective It was found that some *E. coli* strains previously identified as entero SLTs-producing and invasive *E. coli* (ESIEC), harboring HPI pathogenicity island of *Yersinia enterocolitica*. This research was designed to reveal prevalence, susceptible group and clinical features it caused. **Methods** All of the diarrhea patients were from the out-patient units of four hospitals in Shandong province from June to November of 1997. Stool specimen were collected before administration of antibiotics for isolation of enteric bacterial pathogen. Clinical symptoms were recorded at the same time. **Results** A total number of 449 enteric pathogenic bacteria strains were detected among stool samples from 671 patients, with isolation rates of *Shigella* species and diarrheagenic *E. coli* 25.48% and 15.05% respectively. When *irp-2* and *ipaB* gene fragments were used as DNA probes, 42 of 176 un-identifiable strains were found *irp-2*⁺ and *ipaB*⁻, which were identified as HPI-harboring *E. coli*. Typical symptoms of the diarrhea caused by HPI-harboring *E. coli* were described as mild, including abdominal pain, shiver and vapidty. Temperature of the patients was usually normal. Over 6 times of bowel movements per day was frequently observed of which most were unformed stools with mucous. **Conclusion** HPI-harboring *E. coli* was an important diarrheagenic pathogen identified from 671 patients with diarrhea. *Shigella* was found to be the majority strain.

【Key words】 Diarrhea disease; *E. coli*; HPI pathogenicity island; *Yersinia enterocolitica*

目前国际上将致泻性大肠杆菌分为五类:产毒性大肠杆菌(ETEC)、致病性大肠杆菌(EPEC)、侵袭性大肠杆菌(EIEC)、出血性大肠杆菌(EHEC)和粘附集聚性大肠杆菌(EA_{gg}EC)^[1,2]。1994 年我们发现和命名了一种新的腹泻病原菌—产志贺样毒素且具侵袭力大肠杆菌(entero-SLTs-producing

invasive *E. coli* ESIEC)^[3,4]。1998 年发现一部分过去鉴定为 ESIEC 的菌株携带小肠结肠炎耶尔森菌毒力岛^[5,6]。为了解这种大肠杆菌在山东省的情况和临床症状特点,对 1997 年山东省 4 个市(地)级医院(济南市立四院、威海市文登中心医院、临沂市人民医院和莱州市人民医院)6~11 月门诊腹泻病人进行了流行病学调查,并对从患者粪便标本中分离到的大肠杆菌进行了研究。

作者单位 250014 济南,山东省卫生防疫站防疫科(崔树玉、温宪芹、孟蔚、孙启华、周国清);中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所(程伯鲲、徐建国)

材料与方 法

1. 病例 :1997 年 6~11 月在济南市立四院、威海市文登中心医院、临沂市人民医院和莱州市人民医院就诊的腹泻病人 :急性发病 ,病程不超过 2 周 ,24 h 内出现 3 次或 3 次以上的稀便、水样便、血便或其他大便性状改变者。填写腹泻病个案调查表 ,并同时采集腹泻病人大便标本。

2. 标本采集和细菌的培养鉴定 :采集腹泻病人大便约 1 g 放入 Cary-Blair 运送培养基中 ,送实验室分离培养并鉴定。未进行病毒与寄生虫的检测。

对所有采集的粪便标本 ,按常规法^[7,8]进行常见病原菌分离 ,包括沙门菌、志贺菌、致病性弧菌及 EPEC、ETEC、EHEC 等大肠杆菌 ,对用血清学方法不能分类且几乎呈纯培养的大肠杆菌 ,应用 *irp-2* 以及 *ipaB* 基因进行菌落原位杂交 ,以确定 ESIEC 和耶尔森菌 HPI 毒力岛的存在 ,*irp-2* 阳性、*ipaB* 基因探针杂交阴性菌株鉴定为携带 HPI 毒力岛的大肠杆菌。

3. 资料统计分析 :将腹泻病个案调查表统计分析 ,进行 χ^2 检验。

结 果

1. 调查概况 :济南市立四院调查腹泻病人 99 例 ,威海市文登中心医院 398 例 ,临沂市人民医院 56

例 ,莱州市人民医院 118 例 ,以上 4 个单位 6~11 月调查腹泻病人共计 671 例 ,男性 383 例(57.08%) ,女性 288 例(42.92%)。5 岁以下儿童 151 例 ,占 22.50%。其中男性 91 例 ,女性 60 例。7、8、9 月就诊的腹泻病人较多 ,7 月份就诊病人占 34.13%。

2. 病原菌分析 :671 例腹泻病人粪便标本共检出致病菌 449 株 ,检出率为 66.92%。检查常见病原菌 407 株 ,其中志贺菌 171 株(25.48%) ,ETEC 26 株(3.87%) ,EIEC 19 株(2.83%) ,EPEC 14 株(2.09%) ,未分离到 EHEC。致病性弧菌在沿海两单位(威海市文登中心医院和莱州市人民医院)腹泻病人标本中检出 58 株(8.64%) ,见表 1 ;除 88 例(13.11%)细菌培养阴性外 ,还有 176 份腹泻病人粪便标本分离到几乎呈纯培养的大肠杆菌 ,对其进行生化鉴定并与 ESIEC 初筛血清发生凝集。对这 176 株菌进行 *irp-2* 及 *ipaB* 基因检测 ,其中 42 株菌为 *irp-2* 基因探针杂交阳性 ,*ipaB* 基因杂交阴性 ,可鉴定为携带小肠结肠炎耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌。

3. 与携带耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌相关患者的流行病学调查及临床表现分析 :根据流行病学个案调查表进行资料统计分析 ,上述 42 例腹泻病人男性 20 例(47.62%) ,女性 22 例(52.38%) ;5 岁以下儿童 7 例(16.67%) ,其中男性 5 例 ,女性 2 例 ;

表1 671 例腹泻标本检出常见致病菌 407 株的分布

菌 名	年 龄 组 (岁)							合计	构成比 (%)	检出率 (%)
	0~	10~	20~	30~	40~	50~	60~			
志贺菌	76	27	33	13	10	4	8	171	42.01	25.48
致病性弧菌	3	16	23	4	5	2	5	58	14.25	8.64
ETEC	8	4	6	3	3	2	-	26	6.39	3.87
EPEC	6	2	5	1	-	-	-	14	3.44	2.09
EIEC	3	3	5	3	1	2	2	19	4.67	2.83
弗劳地枸橼酸盐杆菌	2	2	11	4	-	2	1	22	5.41	3.28
变形杆菌	10	2	4	2	2	2	-	22	5.41	3.28
沙门菌	2	-	3	4	3	3	-	15	3.69	2.29
阴沟肠杆菌	5	2	3	2	1	-	-	13	3.19	1.94
克雷伯菌	4	4	1	-	1	1	-	11	2.70	1.64
耶尔森菌	7	-	1	-	1	-	-	9	2.21	1.34
普鲁非登斯菌	1	2	2	1	-	-	-	6	1.47	0.89
假单胞菌	1	4	1	1	1	1	-	9	2.21	1.34
摩根摩根菌	-	1	1	1	-	-	1	4	0.98	0.60
液化沙雷菌	-	1	1	-	-	-	1	3	0.74	0.45
聚团肠杆菌	-	-	1	1	-	-	-	2	0.49	0.30
产气肠杆菌	1	-	-	-	-	-	-	1	0.25	0.15
粪肠球菌	1	-	-	-	-	-	-	1	0.25	0.15
哈夫尼亚菌	-	-	-	-	1	-	-	1	0.25	0.15
合 计	130	70	101	40	29	19	18	407	100.00	60.66

各年龄组均有感染者(表 2)。

在 42 例患者表现的临床症状中 ,61.90% 有食

欲不振 ,66.67% 有腹痛 ,100% 患有腹泻 ,50% 寒战乏力 40.48% 体温正常 ,28.57% 有低热。从粪便标本来看 57.14% 是粘液便 ,日腹泻次数在 6 次以上者占 78.57%。

表2 42 例携带小肠结肠炎耶尔森菌 HPI 毒力岛大肠杆菌的病人年龄构成及检出情况

年龄组 (岁)	粪检例数	男 性		女 性		合 计		检出率 (%)
		例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)	
0~	209	10	23.81	4	9.52	14	33.33	6.70
10~	111	2	4.76	2	4.76	4	9.52	3.60
20~	158	2	4.76	5	11.90	7	16.67	4.43
30~	81	3	7.14	7	16.67	10	23.81	12.35
40~	52	0	0.00	2	4.76	2	4.76	3.85
50~	37	2	4.76	2	4.76	4	9.52	10.81
60~	23	1	2.38	0	0.00	1	2.38	4.35
合计	671	20	47.62	22	52.38	42	100.00	6.26

讨 论

毒力岛^[9]是近年来细菌学研究中出现的一个新名词,是指分子量较大的、与细菌毒力有关的、与临近 DNA 片段截然不同的外源性 DNA 分子,与新病原菌的发生密切相关。耶尔森菌有 HPI 毒力岛。和鼠疫耶尔森菌相比,小肠结肠炎耶尔森菌的 HPI 毒力岛缺失了一些片段。*irp-2* 基因是耶尔森菌毒力岛的主要基因之一,1998 年 Schubert 等^[6]报道在 90% 左右的粘附性大肠杆菌中具有耶尔森菌的 HPI 毒力岛。1998 年中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所发现在一部分过去鉴定为 ESIEC 的大肠杆菌中携带 HPI 毒力岛,但这些菌株不和 EA_ggEC 探针杂交,不同于国外报道的粘附性大肠杆菌。那么,这些携带耶尔森菌毒力岛的大肠杆菌在我国腹泻病患者粪便标本中的分离率如何?它们所引起的临床症状如何?为解决上述问题,我们对 1997 年 6~11 月在山东省 4 个医院就诊的腹泻病患者进行了细菌学和临床症状的分析。

调查腹泻病人 671 例,志贺菌的检出率为 25.48%,ETEC、EIEC 和 EPEC 的检出率分别为 3.87%、2.83% 及 2.09%。在 176 株用常规方法不能

鉴定但与 ESIEC 初筛血清发生凝集的大肠杆菌中,发现有 42 株菌携带耶尔森菌 HPI 毒力岛,检出率为 6.26%,高于 ETEC、EIEC、EPEC 等。与 42 株携带耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌相关的腹泻病人中男女病例相近,各年龄组均有感染者,10 岁以下儿童较多,占 33.33%。病人的主要临床症状为:食欲不振、腹痛、腹泻、寒战、乏力等,体温正常或低热,每日腹泻次数在 6 次以上者占 78.57%,粪便主要为粘液便。以上临床症状与志贺菌痢疾不同,脓血便较少,没有里急后重;与 ETEC 引起的腹泻不同,不是以水样便为特征;与 EHEC 感染不同,未见鲜血便。

我们的研究表明,携带耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌在山东省腹泻病患者中的分离率较高,应该引起人们的充分重视。

(本研究参加者还有威海市文登中心医院王淑秀、莱州市卫生防疫站刘宗东、济南市立四院苑广盈及临沂市人民医院朱德全等同志,谨此致谢)

参 考 文 献

- 1 Levine MM, Myron M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J Infect Dis, 1987, 155: 377-389.
- 2 Nataro James and James B Kaper. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Review, 1998, 11: 142-201.
- 3 徐建国,程伯鲲,吴艳萍,等.首次发现一种产志贺样毒素且具侵袭力的大肠杆菌.疾病监测, 1994, 9: 271-272.
- 4 徐建国,程伯鲲,吴艳萍,等.产志贺样毒素且具侵袭力的大肠杆菌的研究.中华流行病学杂志, 1994, 15: 333-338.
- 5 程伯鲲,崔树玉,温宪芹,等.我国腹泻病患者和家畜家禽粪便标本中携带小肠结肠炎耶尔森菌 HPI 毒力岛的大肠杆菌的调查.中华流行病学杂志, 2000, 21: 130-133.
- 6 Schubert S, Rakin A, Karch H, et al. Prevalence of the "high-pathogenicity island" of *Yersinia* species among *Escherichia coli* strains that are pathogenic to human. Infect Immun, 1998, 66: 480-485.
- 7 何晓青,主编.卫生防疫细菌检验,北京:新华出版社,1989. 301-406.
- 8 李蓉,徐迪诚,主编.微生物分类和鉴定技术进展.北京:光明日报出版社,1989. 25-179.
- 9 徐建国.毒力岛和细菌毒力的进化.中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19: 169-171.

(收稿日期 2000-05-11)