

· 现场调查 ·

河南省睢县一起腹泻后并发急性肾功能衰竭爆发的调查

张锦 夏胜利 沈刚健 陈振东 黄培昌 傅炳南 涂光理

【摘要】 目的 调查大肠埃希菌 O157:H7 感染性腹泻的分布特征、临床特点及家畜、家禽的带菌状况和外环境污染程度。方法 用现患调查方法,描述大肠埃希菌 O157:H7 感染性腹泻的发病情况,分析引起流行的原因,用 O157 特异性筛查方法进行病原体分离培养,应用分子生物学、微生物学、细胞学技术进行病人、家畜、家禽的病原学分离、培养、毒素因子测定。结果 睢县是河南省首先发现的疫区,从 3 月 17 日至 7 月 6 日共发生病人 35 例,合并急性肾功能衰竭 32 例,死亡 28 例,病死率 87.50%。60 岁以上发病占 91%;从家畜、家禽分离出 107 株 O157:H7 菌株,从腹泻病人中分离出 48 株,微生物学、分子生物学及细胞学技术鉴定 67 株具有毒素基因;显示有 5 个毒素因子组合型。结论 大肠埃希菌 O157:H7 感染性腹泻并发急性肾功能衰竭是病人死亡的主要原因,家畜、家禽的高带菌率可通过污染水、食物传染给人,亦可通过蝇和日常生活接触感染。睢县疫情是一起大肠埃希菌 O157:H7 感染引起的溶血性尿毒综合征的爆发。

【关键词】 大肠杆菌 O157:H7;溶血性尿毒综合征;聚合酶链反应

A study on acute renal failure after an outbreak of diarrhea in Suixian county, Henan province ZHANG Jin*, XIA Shengli, SHEN Gangjian, CHEN Zhendong, HUANG Peichang, FU Bingnan, TU Guangli. *Henan Provincial Center for Disease Prevention and Control, Zhengzhou 450003, China

【Abstract】 **Objective** To study the distributional feature and clinical characteristics of infectious diarrhea caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, and to understand its pollution to the environment and the carrier status among livestock and poultry. **Methods** To describing the incidence of diarrhea, to isolate and culture the pathogenic bacteria from samples of the patients with diarrhea and livestock or poultry with methods of microbiology, molecular biology and cytology, and then to determine the toxic factors. **Results** In the first epidemic area in Suixian county, Henan province, 35 cases had been found during 17 March and 6 July with 91% of them above age of 60. Of them, 32 were complicated with acute renal failure, including 28 death (death rate: 87.50%). One hundred and seven strains of O157:H7 were isolated from the samples of livestock or poultry and 48 strains were isolated from patients. It was found that 67 strains having toxic gene through microbiological, molecular biological and cytological technologies. Five types of toxic factors were found. **Conclusion** The main factor causing death was the complicated acute renal failure from diarrhea infected by *E. coli* O157:H7. The pathogen from livestock or poultry with high carrying rate might infect people through polluted water, food flies and close contacts. The outbreak of acute hemolytic uremic syndrome in Suixian county was caused by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection.

【Key words】 *Escherichia coli* O157:H7; Hemolytic uremic syndrome; Polymerase chain reaction

20 世纪 80 年代初证明产志贺毒素大肠埃希菌 (Shiga toxinogenic *E. coli*, STEC) 为出血性结肠炎 (HC)、溶血性尿毒综合征 (HUS) 的最重要病原菌后^[1-3], 各国开展了大量该菌感染的流行病学、毒因子和鉴定方法的研究。2000 年 6 月初河南省睢县报告 2 例腹泻后伴有中枢神经系统病变的急性肾功能衰竭 (急性肾衰) 病例后, 立即组成联合调研

组开展 O157:H7 感染的流行病学、微生物学和分子生物学研究, 同时实施食源性腹泻控制, 结果报告如下。

材料与方法

1. 调查对象 调研组先在县、乡医院访问当年是否收治 HC 和急性肾衰病人, 发现 3 月和 4 月已发生 2 例水样腹泻后并发急性肾衰病人, 临床诊断为急性肾衰和格林巴利综合征 (Guillain-Barré syndrome)。6 月上旬, 共发生 6 例急性肾衰病例。

随即对所有已发生和之后发生急性肾衰病例的村庄和附近村庄的腹泻病人进行流行病学问卷调查和医学观察,并对病人、病人家养禽畜及周围畜禽等进行 O157:H7 病原学检查。

2. 大肠埃希菌 O157:H7 分离培养:采用新生霉素的 mEc 肉汤(由上海试剂供应研究中心生产,批号 99-09-23)增菌, O157 特异性的免疫磁珠分离法(IMS)^[4]和科玛嘉色选择琼脂(CHROMagar[®] O157)法分离培养大肠埃希菌 O157,最后用法国自动生化鉴定系统(bioMérieux Vitek, AMS system, GNI+卡)进行系统生化鉴定。

3. 多重聚合酶链反应(multiplex PCR assays):检测编码大肠埃希菌 O157 脂多糖(*rfp*O157 基因)和大肠埃希菌 O111 脂多糖(*rfp*O111 基因);志贺毒素 1(*stx1*)和志贺毒素 2(*stx2*)及其变种和 STEC 相关毒性因子-肠溶血素(*hlyA*)、肠上皮细胞纤毛清除素(*eaeA*)等基因特异性片段的多重 PCR,按 Paton 等^[5]方法。

4. 细胞毒试验:F 系 Vero 传代细胞,由日本国立感染症研究所赠给。基于文献介绍的细胞毒素提取^[6]和 Vero 细胞毒试验法^[7]结合我们的经验,改良成能同时测定细菌分泌和菌体内的细胞毒素方法。

结 果

该县为贫困县,全县人口 76 万,设 24 个乡镇(镇) 546 个行政村、1 169 个自然村。截止 7 月 6 日,全县共发生急性肾衰 32 例,死亡 28 例,急性肾衰病死率 87.5%。

一、急性肾衰病人临床表现

急性肾衰病人发生肾衰前多数出现腹痛、恶心呕吐,均有腹泻史,腹泻多为水样便,其中水样便 16 例,脓血便 11 例,血水便 5 例。经村卫生室或乡镇卫生院用抗生素治疗,症状有所好转,腹泻出现后平均 5 d(1~11 d)出现少尿、无尿等急性肾衰症状(32 例),部分病人(2 例)同时伴有中枢神经系统损害,病程进展迅速,从急性肾衰到死亡平均 4.93 d(1~9 d)。

二、流行病学特征

1. 时间分布:3 月 17 日出现首例急性肾衰病人,7 月 6 日最后 1 例。高发于 6 月份,上旬发病 4 例,中旬 15 例,下旬 9 例。7 月上旬出现 2 例后再无急性肾衰病人发生。

2. 性别、年龄、职业构成:男性 10 例,女性 22 例,男女之比 1:2.2。病人年龄最小 19 岁,最大 93

岁。19 岁有 1 例(3%) 40~59 岁有 4 例(13%),29 例(91%)为 60 岁以上老人,无婴幼儿和少年急性肾衰病例。农民 31 例,市民 1 例。

3. 地区分布:病人呈点状散布在全县各方位的 14 个乡镇,出现 10 例的有 1 个乡,4 例的 1 个乡,3 例的 2 个乡,2 例的 2 个乡,1 例的 8 个乡,30 个行政村、32 户人家。仅有 1 个自然村出现 2 例急性肾衰病人,呈高度散发。病人间未发现有流行病学关联。

4. 腹泻期抗生素使用情况:7 例(22%)未用抗生素,25 例(78%)经抗生素治疗,使用的抗生素有青霉素、氨苄青霉素、氟哌酸、丁胺卡那霉素、庆大霉素、氯霉素。

5. 病原学及血清学检测结果:对检出的菌株,均按法国自动生化鉴定系统,依据 30 项生化反应自动鉴别的提示标注,并结合血清凝集等实验结果。

(1)病原菌检测:32 例急性肾衰病人粪便中未检出大肠埃希菌 O157:H7 和与 O157 抗血清凝集的其他细菌。

(2)血清学检测:11 份急性肾衰病人的血清,经原中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所微生物研究室用 Western blot 测定,8 份具有诊断价值。

(3)腹泻病人监测:自 2000 年监测的 240 例腹泻病人中检出 9 株(2%)与 O157 抗血清凝集、具有 *rfp*O157 基因的大肠埃希菌,但多重 PCR 未检出 *stx1*、*stx2* 毒素和 *hlyA*、*eaeA* 毒性基因。2001 年监测的 304 例腹泻病人检出 39 株(10%)与 O157 抗血清凝集并具有 *rfp*O157 基因的大肠埃希菌,其中 3 株不但与 O157 抗血清凝集、多重 PCR *rfp*O157 基因阳性,且含有 *stx1*、*stx2* 毒素和 *hlyA*、*eaeA* 毒性基因,此为我省首次从腹泻病人中检出具有毒力基因的肠出血性大肠埃希菌 O157:H7。

(4)病人家及家畜家禽检测:从 2 例感染具有毒素基因的大肠埃希菌 O157:H7 的病人家及村中采样 27 份,检出 9 株 O157:H7,阳性率 33%。其中产毒株 8 株(牛 3 株、鸭 2 株、狗、羊、蜣螂各 1 株)。

(5)疫区畜禽病原学检查:90 株各种动物来源 O157:H7 菌株,多重 PCR 鉴定结果含有 *rfp*O157 和 *stx2* 均与 O157 抗血清凝集良好,且 Vero 细胞毒阳性的有 56 株。其余 34 株均含有 *rfp*O157 基因,与 O157 和 H7 抗血清凝集良好,但不含有毒素基因,定为不产志贺毒素的大肠埃希菌 O157:H7(表 1)。

表1 疫区家畜家禽标本大肠埃希菌 O157:H7 检出情况

菌株来源	采样份数	大肠埃希菌 O157:H7		产毒菌株数
		阳性菌株数	阳性率(%)	
波尔山羊粪	161	49	30.4	48
小尾寒羊粪	3	1	33.3	1
本地羊粪	51	13	25.5	7
鹅粪	7	2	28.6	0
鸡粪	57	12	21.1	0
牛粪	15	6	40.0	0
猪粪	30	4	13.3	0
鸭粪	20	2	10.0	0
鸳鸯粪	4	1	25.0	0
狗粪	1	0	0.0	0
鸽粪	3	0	0.0	0
合计	352	90	25.6	56

(6)疫区食品污染情况调查 2001 年从疫区集贸市场 69 份样品中检出大肠埃希菌 O157:H7 8 株 ,阳性率达 12%(表 2)。同时从 25 份蝇中检出 1 株。

表2 疫区食物污染大肠埃希菌 O157:H7 情况

标 本	采样份数	大肠埃希菌 O157:H7	
		阳性菌株数	阳性率(%)
熟 肉	20	3	15
生 肉	20	3	15
蔬 菜	15	2	13
冰激凌	14	0	-
合 计	69	8	12

注 :从食物和蝇共检出 9 株 ,未进行毒素基因测定

讨 论

出血性大肠埃希菌 O157:H7 感染性腹泻是人类新发现的传染病 ,已成为世界关注的公共卫生问题 ,我国已经在 10 多个省市分离到病原菌 ,1999 年与我省毗邻的江苏、安徽省发生了爆发 ,2000 年我省四个市发现疑似病例 ,在豫东地区出现爆发。病例的临床表现和病程进展与伴随腹泻的 HUS 极其相似 ,腹泻(部分伴剧烈腹痛)后 5 天 ,并发急性肾衰 ,少数病人伴中枢神经系统损伤。依据 Moake^[8]的意见 :HUS 和血栓性血小板减少性紫癜(TTP)可能有类似的发病机制 ,即毛细血管内血小板积聚 ,如波及全身 ,特别危及中枢神经系统 ,就可诊断 TTP ,如主要危及肾脏 ,就是 HUS。依此 ,该组病人多为 HUS 5 例可诊断为 TTP ,而呼吸衰竭多由中枢神经系统损伤引起。

伴随腹泻的 HUS 主要由 STEC 感染引起。不少国家大肠埃希菌 O157:H7 为优势流行血清型。支持该次由 O157:H7 感染引起急性肾衰爆发的理由 :①疫区家畜家禽广泛携带病原体 ,阳性率高达

25.6%。②腹泻病人的感染率 8%。③从腹泻病人粪便检出 3 株含有毒素基因大肠埃希菌 O157:H7。④疫区腹泻病人家及所在村的狗、牛、羊、鸭和种羊中分别检出 8 株和 56 株具有 2 型志贺毒素和辅助毒性因子的 O157:H7。⑤8 例急性肾衰病人抗 O157 脂多糖(O157 LPS)抗体阳性。⑥本组病人散发于该县不同方位。91%的急性肾衰病人散居不同村庄 ,居住环境差 ,多数老人与家畜同屋居住 ,家养畜、禽粪便污染严重 ,感染来源很可能是家养畜、禽。这也间接表明当地家养畜、禽可能广泛携带 STEC。⑦从疫区生熟肉、蔬菜中检出大肠埃希菌 O157:H7 8 株 ,蝇标本中检出 1 株 ,进一步证明大肠埃希菌 O157:H7 对周围环境的严重污染。

根据当地家畜携带产 2 型志贺毒素的 56 株大肠埃希菌 O157:H7 ,从腹泻病人中分离出 3 株与之相同的菌株 ,且急性肾衰病人的病程进展与 STEC 引起的 HUS 或 TTP 一致 ,我们认为此次急性肾衰爆发是由当地家养畜、禽携带 O157:H7 血清型的 STEC 引起 ,患者的临床表现符合卫生部制定《全国肠出血性大肠杆菌 O157:H7 感染性腹泻监测方案》的诊断标准 ,遗憾的是未能由急性肾衰病人中分离到 O157:H7 血清型的 STEC ,而无法确证。

参 考 文 献

1 Karmali MA , Steele BT , Petric M , et al. Sporadic cases of hemolytic uremic syndrome associated with faecal cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* ,1983 ,332:619-620.

2 Riley LW , Remis RS , Helgerson SD. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New Engl J Med* ,1983 ,308:681-685.

3 Karmali MA , Petric M , Lim C , et al. The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis* ,1985 ,151:775-782.

4 Karch H , Janetzki-Mittmann C , Aleksic S , et al. Isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 strains from patients with hemolytic-uremic syndrome by using immunomagnetic separation , DNA-based methods , and direct culture. *J Clin Microbiol* ,1996 ,34:516-519.

5 Paton AW , Paton PN. Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1* , *stx2* , *eaeA* , enterohemorrhagic *E. coli hlyA* , *rfbO111* and *rfbO157*. *J Clin Microbiol* ,1998 ,36:598-602.

6 Beutin L , Zimmermann S , Gleier K. Rapid detection and isolation of Shiga-like toxin (Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* by direct testing of individual enterohemolytic colonies from washed sheep blood agar plates in the VTEC-RPLA assay. *J Clin Microbiol* ,1996 ,34:2812-2814.

7 Konowalchuk J , Speris JJ , Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun* ,1977 ,18:775-779.

8 Moake JL. Haemolytic-uraemic syndrome : basic science. *Lancet* 1994 , 343:393-397.

(收稿日期 2001-08-16)

(本文编辑 :张林东)