

2011年德国肠出血性大肠杆菌O104:H4 疫情流行病学调查及启示

黄熙 卢玲玲 邓小玲 黄琼 梁骏华 张永慧 杨杏芬

【关键词】 肠出血性大肠杆菌O104:H4; 食物中毒; 流行病学调查

A notice from epidemiological investigation of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany, 2011 HUANG Xi^{1,2}, LU Ling-ling¹, DENG Xiao-ling¹, HUANG Qiong¹, LIANG Jun-hua¹, ZHANG Yong-hui^{1,2}, YANG Xing-fen^{1,2}. 1 Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510300, China; 2 School of Public Health, Sun Yat-Sen University

Corresponding author: ZHANG Yong-hui, Email: zyh@cdep.org.cn

This work was supported by a grant from the Sub-Project of Health Profession Scientific Research Program MOH (No. 20092009): Research and Application of the Key Technologies for Foodborne Disease Outbreaks Response.

【Key words】 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4; Food poisoning; Epidemiological investigation

2011年5—7月德国发生一起肠出血性大肠杆菌(EHEC)O104:H4感染引起的暴发疫情,并波及欧盟其他13个国家及美国、加拿大等地,报告EHEC感染和溶血性尿毒综合征(HUS)病例4400余例^[1]。自发现疫情以来,德国联邦公共卫生机构罗伯特·科赫研究所(Robert Koch Institute, RKI)联合联邦及有关州卫生部门及医疗、研究机构开展了一系列流行病学调查,掌握了疫情特征,逐步查明病因,为采取控制措施提供了重要依据^[1-3]。

1. 描述性流行病学调查作出初步判断。德国自2001年将EHEC和HUS病例及其病原体纳入法定常规监测。EHEC监测病例定义为24 h内出现腹泻稀水样便≥3次、腹部绞痛、呕吐三种症状之一,并经实验室确诊者;HUS监测病例定义为出现血小板减少(血小板计数<150 000/mm³)、溶血性贫血和急性肾衰竭(有非特异肌酐升高、少尿、无尿、蛋白尿或血尿中任一表现)“三联征”者。在常规监测基础上,该次暴发疫情的病例定义为2011年5月1日后发病的HUS或EHEC感染胃肠炎、且粪便中分离到O104型大肠菌的患者,排除非O104型和无血清分型但1型志贺毒素基因(*Stx1*)阳性者。基于该定义, RKI对搜索到的部分病例进行了分析和前瞻性观察

^[1,2]。病例临床特征以腹泻、腹痛、恶心和呕吐为主,急性感染不显著,HUS病例肾衰竭和溶血性贫血多数在24 h内快速出现,提示感染后迅速发展为HUS;HUS占确诊病例的1/4,随访发现EHEC感染者中有20%(95%CI:11%~33%)进展为HUS,远高于O157:H7感染的比例(美国主动监测提示确诊EHEC O157:H7感染者中仅6%进展为HUS)^[2]。疫情以5月8日为起点,21—23日先后出现HUS和EHEC病例高峰,随后每日报告例数稳定下降^[1];估算疾病潜伏期中位数为8 d,较EHEC O157潜伏期(3~4 d)显著延长^[1,2];使用反向计算法(常用于HIV感染期的反推)估算90%的病例暴露时间在5月5—24日^[1,4]。德国16个联邦州均报告病例,但主要集中在北部地区,调查发现欧盟成员国及其他国家病例大部分报告发病前均有在德国北部旅游史^[1,2]。HUS病例中成人(>17岁)占近90%,<5岁儿童仅占约1%,女性居多(68%),而2001—2010年监测显示HUS报告病例年龄中位数为5岁,女性病例占56%^[1,2]。

临床特征、三间分布及潜伏期等信息均表明暴发疫情的病原体为非O157型大肠菌,随后实验室分离出O104:H4型大肠菌证实该推断^[3,5,6],但该阶段尚未揭示疾病与致病源显著的因果关联,因此RKI又开展了进一步的流行病学调查。

2. 特殊点源暴发调查提出假设。疫情三间分布和对早期病例的初步访谈均提示暴发可能来源于EHEC污染的食物,但与以往导致类似暴发的元凶如生牛奶或生肉不相关^[1,3]。5月9—17日,法兰克福

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.01.024

基金项目: 卫生行业科研专项(20092009)子项目四

作者单位: 510300 广州, 广东省疾病预防控制中心(黄熙、卢玲玲、邓小玲、黄琼、梁骏华、张永慧、杨杏芬); 中山大学公共卫生学院(黄熙、张永慧、杨杏芬)

通信作者: 张永慧, Email: zyh@cdep.org.cn

福一家公司位于两地的60名雇员出现聚集性血性腹泻,其中9例为实验室确诊,18例发展为HUS。当地卫生部门启动调查,收集餐厅5月2—16日食物采购清单,访谈23名病例,根据电子记账单随机抽取35名在该餐厅进餐的健康雇员作为对照并收集数据,随后进行logistic回归分析。23例中有20例(87%)报告曾购买和进食沙拉,单因素分析显示进食者罹患血性腹泻风险是未进食者的6倍,而该餐厅其他食物与发病无显著关联,推断该餐厅供应的沙拉极有可能是暴发来源^[1]。

3. 分析性流行病学调查确定暴发来源。在建立初步假设后,RKI又联合联邦和州卫生与食品安全机构集中在德国北部地区开展了多次连续的病例对照和队列研究,逐步锁定暴发来源(表1)。

表1 2011年5—7月德国EHEC O104:H4感染暴发疫情的流行病学调查结果汇总

| 事件 | 调查方法 | 调查对象 | 调查结果 |
|-------------------|---------|---------------------------------------|---|
| 法兰克福某公司两地餐厅雇员聚集病例 | 病例对照研究 | 病例23例,健康者35人 | 进食沙拉增加罹患血性腹泻风险: 单因素分析 $OR=5.83$, $95\%CI:1.42 \sim 23.88$; 多因素分析 $OR=6.57$, $95\%CI:1.73 \sim 31.39$ |
| 暴发早期 | 病例对照研究 | 5月9—25日发病的25例病例,根据年龄、性别和住址选取96例健康对照 | 生食西红柿、黄瓜和生菜($OR=4 \sim 7$),增加患病风险,均具统计学意义 |
| 收集生食蔬菜信息 | 回顾性队列研究 | 5月12—16日在同一餐厅用餐的顾客本起168人(含31例疫情的患者) | 单因素分析进食芽苗菜增加患病风险($RR=14.2$, $95\%CI:2.6 \sim \infty$, $P<0.01$), 多因素分析证实该结果($RR=14.17$, $95\%CI:2.4 \sim \infty$, $P<0.01$) |
| 验证各种蔬菜与发病的关联 | 病例对照研究 | 26例成年人HUS病例;根据年龄、性别和居住地等以1:3配比选取81名对照 | 单因素分析芽苗菜暴露配对的 $OR=4.35$, $95\%CI:1.05 \sim 18.0$, $P=0.043$ 多因素分析芽苗菜暴露 $OR=5.8$, $95\%CI:1.2 \sim 28.6$, $P=0.032$;黄瓜暴露 $OR=6.09$, $95\%CI:1.1 \sim 31.3$;与发病关联性均有统计学意义;外出就餐生食蔬菜与HUS呈正相关($OR=9.4$, $95\%CI:2.7 \sim 32.8$) |

(1)早期病例对照研究:5月20—26日,RKI与汉堡卫生部共同开展了一次病例对照研究,选取5月9—25日期间发病的25例病例,根据年龄、性别和住址选取96例健康对照进行匹配,使用此前对HUS病例深入访谈获得的食物信息,收集病例发病前和对照接受调查前一周的饮食史。约90%的病例和约60%的对照报告曾生食西红柿、黄瓜和生菜($OR=4 \sim 7$),均具有统计学意义,提示生食蔬菜可疑^[1,3]。因报告的可疑食物来源不同,基本可以排除暴发源于单一的商店或餐厅。在该阶段,RKI认为感染还可能来源于其他一种或多种食物,加上调查仅反映

汉堡地区的情况,尚不考虑通报全国,鉴于疫情仍持续、涉及大量人群,RKI和德国联邦风险评估研究所(Federal Institute for Risk Assessment, BfR)警示公众近期应避免生食蔬菜,尤其在德国北部地区^[3]。

(2)基于食谱的餐厅队列研究:为避免对已调查者重复收集生食蔬菜信息,RKI开展了“基于食谱的回顾性队列研究”,在有关部门协助下或通过餐厅订餐单主动搜索病例和餐厅顾客,获取10组在2011年5月12—16日期间在同一餐厅用餐的顾客名单,排除无法联系且不能提供详细进餐信息、或不能回忆进餐餐次和食物信息者后,纳入168人作为调查对象,其中31人(18%)为血性腹泻或EHEC/HUS患者;使用图片提示被调查者回忆订购的餐次,并向厨师询问各餐次的食物成分和制备方法,获取暴露餐次和食物信息;进而计算顾客在调查时段进食某种食物的相对危险度(RR)。31例均反映在餐厅进食了一道含芽苗菜的食物,单因素分析进食者患病风险是未进食者的14.2倍,多因素分析也证实了该结果。其他生食蔬菜如西红柿、黄瓜等均未增加患病风险^[1]。

进一步调查发现,调查对象就餐时餐厅仅提供一道混合的芽苗菜,均来源于下萨克森州的A公司;随后的全国性溯源调查发现,法兰克福发生点源暴发的公司两个相关餐厅也均通过同一途径购买并供应了A公司生产的芽苗菜,推测A公司提供的芽苗菜可能与暴发相关^[1]。

(3)病例对照研究验证蔬菜与发病的关联:为更准确判断各种蔬菜与疾病间的关系,5月29日至6月4日在德国3个疫情影响最大的城市启动了另一项病例对照研究,选取研究时段内三市各一家医院住院的26例成年(年龄中位数为47.5岁)HUS病例(男性9例,女性17例)作为病例,根据年龄、性别和居住地等因素以1:3的配比,选取811名距病例住址>50m的居民作为对照,重点收集病例发病或对照接受调查前2周进食蔬果的情况。尽管早期访谈仅有25%的HUS病例报告曾进食芽苗菜,仍对芽苗菜的进食情况进行调查,并采用条件logistic回归进行统计分析。25%的病例(6/24)表示在估计的暴露时间内进食了芽苗菜,而80例对照中仅有7例(9%)进食芽苗菜^[1]。对水果和食物因素进行深入的多因素分析发现,芽苗菜和黄瓜与发病关联性均具有统计学意义,但其他食物暴露与发病的关联性均无统计学意义^[1]。研究还发现外出就餐生食蔬菜与HUS呈正相关,各种蔬菜(如沙拉)往往会混合进食,使得病原体可能通过交叉污染传播^[1]。

(4) 聚集病例调查: RKI 根据提供的信息, 在 6 个州识别了 41 组与暴发相关的 300 多例聚集病例, 对病例开展特定食物链和供应链调查可追溯至供应芽苗菜的 A 公司。在推测芽苗菜为可能的暴发来源之前, RKI 就对早期 3 组聚集病例开展队列研究以识别疾病相关的食物, 但并未发现有意义的关联; 而当其他调查提示芽苗菜可疑时, 则对相关餐馆进行回顾性随访研究, 发现此前的病例均曾进食芽苗菜或用芽苗菜作为配菜的菜肴。对供应链的调查也可追溯芽苗菜至下萨克森州的 A 公司^[1]。

(5) 各项调查不同结果的分析验证: 早期调查中, 12 例中仅 3 例报告曾进食芽苗菜, 因分析性调查一般只考虑那些能解释大部分病例的暴露因素, 因此并未持续追踪芽苗菜。然而, 随后分析发现早期调查的部分病例由于饮食习惯谨慎, 对自身进食史非常关注且肯定, 在未考虑混合食品中可能存在交叉污染的情况下, 调查者过早排除了实际与暴发相关的因素(芽苗菜)^[1]。随后重新调查最初否认进食、或未回忆是否曾进食芽苗菜的 8 例病例(33%) 和 37 名对照(46%), 其中 3 例病例(37.5%) 表示曾在可疑暴露时期内进食过芽苗菜, 37 名对照则均未更改首次提供的信息。RKI 认为, 若考虑重新调查结果的校正作用, 估计最初调查的病例中能回忆起曾进食芽苗菜者的比例可达 52%^[1]。

根据流行病学调查结果, 欧盟食品安全局(European Food Safety Agency, EFSA) 联合欧盟有关机构及 RKI 开展了全面的溯源调查, 最终从 A 公司回溯污染来源至由埃及进口的葫芦巴豆种子^[6]。

4. 分析与讨论: 流行病学调查的根本目的在于及时控制疫情蔓延或疾病发展, 确定病因(包括传染源、传播途径、高危人群及危险因素), 以便及时采取针对性措施减轻危害, 控制疫情发展^[7]。在德国 EHEC O104: H4 疫情中, 由于未能从可疑食品中分离到暴发菌株, 流行病学调查在锁定可疑食物载体和指导溯源调查方面发挥了主要作用, 给我国食源性疾病暴发的应对提供了相应的启示。

(1) 重视特定病原体主动监测的意义: 德国根据感染控制法案的要求从 2001 年起建立了 EHEC 的法定监测, 要求实验室将分离到的 EHEC 菌株及其编码基因信息报告公共卫生部门^[2]。美国自 20 世纪 90 年代建立了包括食源性疾病主动监测系统(FoodNet) 和国家食源性疾病监测分子分型网络(PulseNet) 的食源性疾病监测网络, 兼具手段的主动性、内容的针对性、结果的准确性、反应的快捷性等

特点^[8], 在 2008 年多个州由花生酱引起的田纳西沙门菌感染暴发、辣椒引起的大范围圣保罗沙门菌感染暴发等事件的识别和应对中发挥了重要作用^[9,10]。

相比之下, 尽管我国自 2010 年起建立了食品安全风险监测制度, 包括对食品的化学污染物及有害因素、食源性致病菌和食源性疾病的监测^[11], 但对人群食源性疾病的监测仅是在部分医疗机构建立疑似食源性异常病例/异常健康事件监测系统、在疾病预防控制(疾控)系统建立食源性(食物中毒)报告子系统^[12], 还处于起步阶段, 特定病原体监测尚未全面推开, 报告制度也未能有效执行, 早期识别食源性疾病暴发的能力有限。借鉴德、美等国家的经验, 应重视疾病监测体系的作用, 建立完善灵活而敏感的食源性疾病监测体系, 形成疾病暴发的预警基础。

(2) 保障独立于监管之外的调查: 在 EFSA 的架构内, 德国联邦层面有消费者保护、食品和农业部, 负责全国食品安全的统一监管和消费者政策制定职能; 下设 BfR 和联邦消费者保护与食品安全局(Federal Office for Consumer Protection and Food Safety, BVL) 两个专业机构^[13,14]; 而 RKI 是主要负责疾病预防控制以及风险评估、决策咨询的核心研究机构, 隶属联邦卫生部^[5], 该机构在食品安全危机中联合其他食品安全专业机构开展对食品的调查, 并负责人群疾病的调查, 能够相对独立地开展暴发疫情调查工作。

我国的食品安全监管体制, 是由卫生行政部门负责食品安全综合协调, 质量监督、工商行政管理和食品药品监督管理部门分别对食品生产、流通、餐饮服务实施监督管理。在发生食品安全事故后, 各监管部门要在卫生行政部门的协调下分别对相应环节进行调查处理, 疾控机构负责对事故进行流行病学调查^[16,17]。由于拥有行政控制权利, 监管部门参与食品安全事故的调查处理可提高处置效率, 但同时也存在干预调查以规避责任的可能, 这就意味着尽管疾控机构已经作为一个独立于食品安全监管之外的机构而存在, 但其履行事故流行病学调查职责时却无法脱离行政监管手段的影响, 在基层尤为显著^[17]。相比之下, 同样承担人群疾病调查职责的 RKI 显然比我国疾控机构在同类事件中拥有更为独立的调查权和更多的保障。因此, 负责食品安全事故调查工作的机构要能够独立于监管之外, 且要有相应的权利和保障, 才能有效落实食品安全事故的调查处理责任。

(3) 建立多部门合作机制: 在德国 EHEC O104: H4 暴发调查过程中, RKI 与联邦和州层面, 甚至欧盟

其他国家的公共卫生、医疗、研究机构等都建立了密切的合作, 组建 EHEC 工作小组, 联合推动多项流行病学调查、溯源调查和实验室检验。美国在处理突发事件时, 联邦政府也有可互补和相互依赖的食品安全派出机构, 如疾病预防控制中心 (CDC)、国立卫生研究院 (National Institute of Health)、农业部 (USDA) 的农业研究署 (Agricultural Research Service) 等, 在食源性疾病暴发中实现联合应对, 促进调查^[18]。

我国《食品安全法》出台后, 与食品安全事故调查处置配套的法规规章尚不完善, 食品安全事故会同调查机制未建立, 调查处理责任因分段监管职责的不同而尚存争议, 联动调查往往流于形式。因此, 国家和地方层面都应尽快补充和完善食品安全事故应急处置预案、调查处理办法等配套文件, 食品安全综合协调部门切实履行综合协调职责, 建立和完善食品安全事故的联动机制^[17]。

(4) 采用规范全面的调查程序和技术: 本次疫情中 RKI 与德国联邦、有关州的卫生、医疗、研究机构开展流行病学调查, 展现了由浅入深、科学循证、反复验证的思维方式和行为模式; 尽管早期在排除与暴发相关的因素 (芽苗菜) 上影响了调查进度, 却能在随后重新开展调查后校正早期的结果, 体现了扎实的技术和严谨的作风, 提示在调查过程中不但需要循证, 还能够证伪, 以免过早忽略与疫情相关的实际因素。

我国在食物中毒、食源性疾病暴发等流行病学调查方面缺乏规范的工作程序指导, 一方面调查过程粗浅, 往往仅使用固定通用的调查表格和方法开展初步的调查及描述分析, 资料收集不全面, 数据挖掘不深入, 不善于运用分析性流行病学验证假设^[19]; 另一方面循证基础不足, 信息利用不够, 调查结论常常仅依靠流行病学调查或实验室检验, 而实验室检验往往不能得出阳性结果或与流行病学调查结论相矛盾时, 则难以溯源, 这种现象在基层部门更为普遍。要切实履行《食品安全法》赋予疾控机构的职责, 应当全面规范食品安全事故流行病学调查程序和技术。

德国 EHEC O104:H4 疫情的流行病学调查, 无论是在工作机制还是技术应用方面, 都是一个很好的范例。借鉴其经验, 我国亟需进一步推进包括食源性疾病主动监测和报告在内的基础体系建设, 完善食品安全事故的多部门联合应对机制和事故调查处理保障机制, 建立适用于流行病学调查机构的工作规范和详尽的技术指南, 以全面提高我国对同类事件应对能力。

(感谢中国疾病预防控制中心中国现场流行病学培训项目办公室马会来老师、疾病控制与应急管理办公室高水军博士在资料分析中提供的帮助)

参 考 文 献

- [1] Robert Koch Institute. EHEC/HUS O104:H4 Outbreak, Germany, May/June 2011: Technical Report. Berlin: Robert Koch Institute, 2011: 6-25.
- [2] Frank C, Werber D, Cramer JP, et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany—preliminary report. [2011-06-22]. <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1106483>.
- [3] Frank C, Faber MS, Askar M, et al. Large and ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome, Germany, May 2011. *Euro Surveil*, 2011, 16(21): 1-3.
- [4] Zhou ZM, Tong ZD. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Beijing: People's Medical Publishing House, 2009: 20. (in Chinese)
周祖木, 全振东. 食源性疾病暴发: 调查与控制指南. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 20.
- [5] Bielaszewska M, Mellmann M, Zhang WL, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis*, 2011, 11(9): 671-676.
- [6] European Food Safety Authority. Tracing seeds, in particular fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds, in relation to the Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 outbreaks in Germany and France: Technical Report of EFSA. Parma: EFSA, 2011.
- [7] Wang LD. Field epidemiology: cases analysis. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 13-20. (in Chinese)
王陇德. 现场流行病学: 案例与分析. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 13-20.
- [8] Li SM. Foodborne diseases surveillance systems and characteristics in the United States. *Chin J Health Inspec*, 2005, 12(6): 4. (in Chinese)
李世敏. 美国食源性疾病预防预警系统及其特点. *中国卫生监督杂志*, 2005, 12(6): 4.
- [9] Multistate Outbreak of Salmonella Serotype Tennessee Infections Associated with Peanut Butter—United States, 2006-2007. *MMWR*, 2007, 56(21): 521-524.
- [10] Zhang X, Ou JM, Ran L. *Salmonella saintpaul* outbreak report in multiple US States in 2008. *Chin J Food Hygie*, 2008, 20(5): 3. (in Chinese)
张昕, 欧剑鸣, 冉陆. 2008 年美国圣保罗沙门菌暴发疫情报告. *中国食品卫生杂志*, 2008, 20(5): 3.
- [11] Chen XH. Enhance cognition, fulfill the responsibilities according to law, plan well for the food safety surveillance. *Chin J Health Inspec*, 2010, 17(2): 4. (in Chinese)
陈啸宏. 提高认识, 依法履责, 扎实做好食品安全风险监测工作. *中国卫生监督杂志*, 2010, 17(2): 4.
- [12] Office of Ministry of Health, Office of Ministry of Industry and Information Technology, Office of Ministry of Commerce, etc. Official Document: Plan of National Food Safety Surveillance in 2010. 2010-02-04. (in Chinese)
卫生部办公厅, 工业和信息化部办公厅, 商务部办公厅, 等. 关于印发 2010 年国家食品安全风险监测计划的通知 (卫办监督发[2010]20 号). 2010-02-04.
- [13] Chen GL. Inspiration from food safety supervision in German. *Chin Food Drug Administrat*, 2007(1): 62-63. (in Chinese)
陈光亮. 德国食品安全监管给我们的启示. *中国食品药品监管*, 2007(1): 62-63.
- [14] Li T. Current situation of food safety supervision in Germany. *Chin Food Supervi*, 2008(8): 2. (in Chinese)
李涛. 德国食品安全监管现状. *中国质量技术监督*, 2008(8): 2.
- [15] The Robert Koch Institute, Tasks and Aims of the RKI. [2004-11-10]. http://www.rki.de/cn_151/nn_216782/EN/Content/Institute/General/general_node_en.html?_nnn=true.
- [16] Zhang YW, Wang HM, Hao HY. Disposal of food safety incidents after implementation of Food Safety Law of the People's Republic of China. *Occup Health*, 2010, 26(9): 1008-1010. (in Chinese)
张永伟, 王会敏, 郝海鹰. 《中华人民共和国食品安全法》实施后食品安全事故的处置. *职业与健康*, 2010, 26(9): 1008-1010.
- [17] Liu HW, Ma N. Questions and countermeasures of food safety incidents disposal in primary CDCs. *Pre Med Trib*, 2010, 16(5): 474-476. (in Chinese)
刘汉伟, 马宁. 基层疾控中心处置食品安全事故中存在问题及对策的探讨. *预防医学论坛*, 2010, 16(5): 474-476.
- [18] Lin D, Qu Y. Comparative research on the food safety public management system between US and China. *J Wuhan University of Technol Informat Management Engineer*, 2004, 26(3): 154-158. (in Chinese)
林镛, 曲英. 中美食品安全管理体制比较研究. *武汉理工大学学报 (信息与管理工程版)*, 2004, 26(3): 154-158.
- [19] Cheng XS. Questions and countermeasures in reporting, investigation and disposal of food poisoning. *Shanxi Med J*, 2007, 36(12): 996-997. (in Chinese)
成锡山. 食物中毒事故报告及调查处理存在问题与对策. *山西医药杂志*, 2007, 36(12): 996-997.

(收稿日期: 2011-09-02)
(本文编辑: 张林东)