

· 现场调查 ·

江苏省 1999 年大肠埃希菌 O157:H7 宿主动物带菌情况调查

倪大新 汪华 顾玲 郭喜玲 庄菱 施平 潘浩 史智扬 胡晓抒 刘光中

【摘要】 目的 了解江苏省不同地区大肠埃希菌 O157:H7 宿主动物带菌情况及其毒力基因阳性率。方法 在不同流行强度的地区分别设立监测点,采集猪、鸡、羊、牛等家畜家禽粪便标本,用免疫磁珠法进行病原菌分离培养,并用多重引物聚合酶链反应进行毒力基因分析。结果 6 个监测点共采集猪、鸡、羊、牛等家畜家禽粪便标本 1 767 份,共检出大肠埃希菌 O157:H7 170 株,总带菌率为 9.62%。其中,以牛、羊带菌率较高,分别为 19.05% 和 12.01%。对 85 株菌进行 *SLT1*、*SLT2*、*eaeA* 和 *hly* 4 种毒力基因的检测,56.47% 的菌株毒力基因阳性,且以同时带有 *SLT2*、*eaeA* 和 *hly* 3 种毒力基因最为常见,占带毒菌株的 79.17%。结论 宿主动物带菌率与当地疾病流行强度有关,即有确诊病人的地区宿主动物带菌率及菌株毒力基因阳性率最高,其次为仅有零星病例的地区,而无相关病例的地区最低。提示加强宿主动物大肠埃希菌 O157:H7 监测,对疫情的分析和疫情预测具有重要意义。

【关键词】 大肠杆菌 O157:H7; 宿主动物; 带菌率; 毒力基因

Surveillance of *Escherichia coli* O157:H7 among animals in Jiangsu province in 1999 NI Daxin, WANG Hua, GU Ling, GUO Xiling, ZHUANG Ling, SHI Ping, PAN Hao, SHI Zhiyang, HU Xiaoshu, LIU Guangzhong. Jiangsu Provincial Center for Disease Prevention and Control, Nanjing 210009, China

【Abstract】 Objective To understand the *Escherichia coli* O157:H7 carrier rate of host animals and the toxic gene of the strains in different areas in Jiangsu province. **Methods** Surveillance spots were set up in different areas, to collect feces of pigs, chickens, sheep, cattle to culture for O157:H7 with immunomagnetic separation as well as detection of toxic gene of the strain with MPCR were both carried out. **Results** One hundred and seventy strains of O157:H7 were separated from 1 767 feces of different animals in six spots, with a overall positive rate 9.62%. The positive rates of cattle and sheep were 19.05% and 12.01% respectively. Among 85 strains *SLT1*, *SLT2*, *eaeA* and *hly* toxic genes were detected. In which, 56.47% of the strains were positive culturely while 79.17% of them carried *SLT2*, *eaeA* and *hly* gene simultaneously. **Conclusion** The positive rate of O157:H7 in animals and the positive rates of strains were correlated to the incidence of the area. The highest rates were seen in areas where there had been O157:H7 epidemic, followed by the areas where there were only scattered cases identified while the lowest was in areas with no patients. Data indicated that it was important to enforce the surveillance of O157:H7 in animals to better predict and control of the disease.

【Key words】 *Escherichia coli* O157:H7; Host animal; Carrier rate; Toxic gene

1999 年夏秋季节,在我省淮北黄泛平原部分地区发生一起大肠埃希菌(大肠杆菌)O157:H7 感染性腹泻并发急性肾功能衰竭为主要特征的爆发性流行。大肠埃希菌 O157:H7 的传染源主要是动物,为了掌握我省大肠埃希菌 O157:H7 在宿主动物中的带菌率及菌株毒力情况,我们在不同地区设立监测点开展大肠埃希菌 O157:H7 宿主动物带菌情况调查,现将调查结果报道如下。

材料与方法

1. 调查对象:选择疾病高发的 A、B 两县,出现零星或疑似病人的 C、D 两县,以及非发病的 E、F 两市(县级市),设立 6 个监测点开展宿主动物带菌情况调查。具体调查对象为居民家饲养的猪、鸡、羊、牛等家禽、家畜,对部分养殖场也进行了采样。在发病高发地区,分别设立内对照(指与大肠埃希菌 O157:H7 病例同村但无腹泻病人发生的家庭)、外对照(指远离大肠埃希菌 O157:H7 病例的村)。

2. 材料:检测菌株由全省监测点培养所获,大肠

埃希菌 O157:H7 血清型参考菌株 882364 和日本株 9CVa 分别由原中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所和上海医科大学惠赠 ,引物由上海生物工程公司合成。

3.方法 采集各种家禽家畜新鲜粪便标本 ,每份不少于 5 g ,于采样 4 ~ 6 h 内送实验室进行病原菌分离培养 ,方法为免疫磁珠法。

针对志贺样毒素(*SLT1* 和 *SLT2*) 粘附抹平因子(*eaeA*)和溶血素基因(*hly*)共 4 种毒力基因设计多重引物 ,采用聚合酶链反应(*MPCR*)方法^[1 2] ,对分离自 6 个不同地区、不同宿主动物的大肠埃希菌 O157:H7 菌株进行毒力基因测定。

结 果

1.总体检出情况 :本次调查在 6 个监测点共采集猪、鸡、羊、牛等各种家禽家畜粪便标本 1 767 份 ,共检出大肠埃希菌 O157:H7 170 株 ,总带菌率为 9.62%。

2.不同地区检出情况 :各地各种宿主动物总带菌率分别为 A 县 19.43%(89/458) B 县 8.28%(37/447) C 县 5.53%(12/217) D 县 3.24%(7/216) E 市 5.29%(11/208) F 市 6.47%(13/201) ;另外在疫区某种羊养殖场采集羊粪标本 20 份 ,检出 1 株 ,带菌率 5.00%。

3.不同动物检出情况 :各种动物大肠埃希菌携带率分别为猪 7.54%(41/544) 鸡 7.75%(43/555) 羊 12.01%(61/508) 牛 19.05%(24/126) 其他标本 2.94%(1/34)。

4.不同类型家庭宿主动物大肠埃希菌检出情况 :A 县和 B 县采样时分别按照病家(包括感染大肠埃希菌 O157:H7 的病例及其所在村的腹泻病人家庭) 内对照和外对照进行分组 结果表明 :宿主动物带菌率分别为病家 17.79% ,内对照 12.94% ,外对照 11.07% 病家宿主动物带菌率显著高于外对照 ($\chi^2 = 5.44$, $P = 0.02$) ,而病家与内对照 ($\chi^2 = 2.74$, $P = 0.10$) 及内对照与外对照 ($\chi^2 = 0.50$, $P = 0.48$) 之间差异均无显著性 ,三组总的比较 ($\chi^2 = 5.97$, $P = 0.05$) ,处于显著性的临界水平。其中 A 县的病家和外对照 ($P = 0.01$) 内对照和外对照 ($P = 0.04$) , B 县的病家和内对照 ($P = 0.03$) 宿主动物带菌率有统计学差异 ,其余各组之间比较差异均无显著性。详见表 1。

表1 江苏省不同类型家庭宿主动物大肠埃希菌 O157:H7 带菌情况				
县别	家庭类别	采样数	检出数	带菌率(%)
A 县	病 家	154	37	24.03
	内对照	154	33	21.43
	外对照	150	19	12.67
	小 计	458	89	19.43
B 县	病 家	144	16	11.11
	内对照	155	7	4.52
	外对照	148	14	9.46
	小 计	447	37	8.28
合 计	病 家	298	53	17.79
	内对照	309	40	12.94
	外对照	298	33	11.07
	小 计	905	126	13.92

5.菌株毒力基因检测分析 :对分离菌中的 85 株进行 *SLT2*、*SLT1*、*eaeA*、*hly* 4 种毒力基因 *MPCR* 检测 结果详见表 2 3。

表2 不同地区分离大肠埃希菌 O157:H7 菌株毒力基因分布及阳性率						
地区	菌株数	阳性数	<i>SLT2</i> + <i>hly</i>	<i>SLT2</i> + <i>eaeA</i> + <i>hly</i>	<i>SLT2</i> + <i>SLT1</i> + <i>eaeA</i> + <i>hly</i>	阳性率 (%)
A 县	21	17	0	17	0	80.95
B 县	21	19	0	12	7	90.48
C 县	7	5	2	3	0	71.43
D 县	12	5	0	4	1	41.67
E 市	11	2	0	2	0	18.18
F 市	13	0	0	0	0	0.00
合计	85	48	2	38	8	56.47

表3 不同宿主动物分离大肠埃希菌 O157:H7 菌株毒力基因分布及阳性率						
动物种类	菌株数	阳性数	<i>SLT2</i> + <i>hly</i>	<i>SLT2</i> + <i>eaeA</i> + <i>hly</i>	<i>SLT2</i> + <i>SLT1</i> + <i>eaeA</i> + <i>hly</i>	阳性率 (%)
羊	23	19	1	14	4	82.61
牛	24	13	0	12	1	54.17
鸡	19	7	0	6	1	36.84
猪	18	8	1	5	2	44.44
兔	1	1	0	1	0	100.00
合计	85	48	2	38	8	56.47

所有 48 株毒力基因阳性菌株都带有 *SLT2* 和 *hly* ,*SLT1* 和 *eaeA* 的阳性率分别为 95.83%(46/48) 和 16.67%(8/48)。

讨 论

家禽家畜等动物是大肠埃希菌 O157:H7 的主要传染来源 ,本次江苏省 6 个监测点宿主动物调查 ,大肠埃希菌 O157:H7 总带菌率达 9.62% 较国内外绝大多数报告为高^[3-6] ,说明大肠埃希菌 O157:H7 在我省猪、鸡、羊、牛等宿主动物中带菌率是比较高的。

宿主动物带菌率的高低与大肠埃希菌 O157:H7 相关病例的发生有关。调查结果表明 ,在发生感染

性腹泻并发急性肾衰较多的 A、B 两县宿主动物带菌率高,分别为 19.43% 和 8.28%,而仅有零星病例和疑似病例发生或无大肠埃希菌 O157:H7 相关病例发生的其他四县(市)则宿主动物带菌率较低,为 3.24%~6.47%。另外,不同家庭宿主动物调查结果也表明,病家宿主动物带菌率最高,内对照和外对照较低,这也从一个侧面证明了大肠埃希菌 O157:H7 感染性腹泻伴肾衰病例发生与宿主动物带菌之间的相关关系。

毒力基因检测结果表明,我省分离的菌株带毒阳性率达 56.47%,不同地区的分离株带毒阳性率有所不同,最高的达 90.00% 以上,而最低的则未检测到带毒菌株。带毒阳性率的高低与不同地区发病率的高低有平行的关系,疾病高发地区,菌株带毒阳性率高,有零星病例或疑似病例发生的地区,菌株带毒阳性率也较低,而从无相关病例报告的地区分离的菌株,则带毒率低或不带毒。本次分离菌株的毒力谱主要以 *SLT2* + *eaeA* + *hly* 为主,其次为 *SLT2* + *SLT1* + *eaeA* + *hly* 及 *SLT2* + *hly*,这些菌株均有 *SLT2* 和 *hly*,绝大多数菌株有 *eaeA*,少数菌株有 *SLT1* 基因。大肠埃希菌 O157:H7 产生的毒素在疾病的发展过程中起着重要的作用,研究认为^[7,8],*SLT* 是目前发现的毒力最强的毒素之一,*SLT2* 的半数致死量约为 *SLT1* 的 1/400,*SLT2* 阳性菌株能引起更加严重的症状和组织病理学改变,可见大肠埃希菌 O157:H7 分离株带毒基因阳性率高,且普遍带有 *SLT2*,这

是导致我省局部地区发生爆发性流行,并造成大量发病和死亡的根本原因所在。

由于大肠埃希菌 O157:H7 在宿主动物中大量存在,而且不同地区、不同动物均有一定的检出比例,这将给我省以后的防治工作提出严峻的挑战。继续加强全省的大肠埃希菌 O157:H7 监测工作,掌握宿主动物和人群中大肠埃希菌 O157:H7 的带菌率和菌株毒力基因的状况及动态变化,针对性地采取有效的防治措施,对于做好我省今后的防治工作将具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Louie M, Read S, Simor AE, et al. Application of multiplex PCR for detection of non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in bloody stools: identification of serogroups O26 and O111. *J Clin Microbiol*, 1998, 36: 3375-3377.
- 2 Bonnet R, Souweine B, Gauthier G, et al. Non-O157:H7 Stx2-producing *Escherichia coli* strains associated with sporadic cases of hemolytic-uremic syndrome in adults. *J Clin Microbiol*, 1998, 36: 1777-1780.
- 3 徐建国,景怀奇. 中国 1997-1998 年 O157:H7 大肠杆菌检测情况分析. *疾病监测*, 1999, 14: 176-178.
- 4 封幼玲. O157:H7 大肠杆菌食源性疾病的流行、监测与控制. *江苏预防医学*, 1998, 9: 7-8.
- 5 郭维植,林成水,程发稷,等. 福建省家畜、家禽 O157 大肠杆菌初查. *中国人兽共患病杂志*, 1998, 14: 3-6.
- 6 WHO. Consultation on the prevention and control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* infections. Geneva, Switzerland 28 April-1 May, 1997.
- 7 徐建国. O157:H7 大肠杆菌知识问答. 北京:科学普及出版社, 1997. 19-28.
- 8 Karpman D, Connell H, Svensson M, et al. The role of lipopolysaccharide and Shiga-like toxin in a mouse model of *Escherichia coli* O157:H7 infection. *J Infect Dis*, 1997, 175: 611-620.

(收稿日期 2001-11-10)

(本文编辑:尹廉)

· 短篇报道 ·

一起猩红热爆发的调查

哈布德勒 帕克扎 朱马汗 阿恒 巴哈提古丽

2001 年 5 月 15 日,我们接到哈巴河县卫生防疫站发生“麻疹”的电话疫情报告,遂赶赴萨尔布拉克乡寄宿学校现场调查处理。

患者系 43 例学生,男 21 例,女 22 例,主要表现为发热 38~39℃,咽痛,颈部及颌下淋巴结肿大,面、颈及躯干有红色斑丘疹,大小不等,无畏光、喷嚏、干咳等症状,7 例患者可见口腔白色黏膜疹。患者接触史不详,大部分学生有麻疹免疫史,对 26 例患者检测麻疹 IgM 及风疹 IgM 抗体均为

阴性,血常规 25 例患者白细胞总数在 $(10 \sim 20) \times 10^9/L$ 之间,同时采患者及其密切接触者咽拭子进行细菌培养,有 21 例患者检出乙型溶血性链球菌,阳性率为 80.76% (21/26),据此,本次发病诊断为猩红热。本次病例没有“草莓舌”、“口周苍白圈”等猩红样症状,不易与风疹、麻疹相区别,给初步诊断带来困难。因此,要求实验室能以最快的速度为流行病学调查提供诊断依据。还要加强对基层医务人员传染病知识的培训,使他们掌握更多应急处理知识,及时准确地采取措施,预防和控制传染病。

(收稿日期 2001-12-17)

(本文编辑:杨莲芬)

作者单位 836500 新疆维吾尔自治区阿勒泰地区卫生防疫站计划免疫科(哈布德勒、帕克扎),哈巴河县卫生防疫站(朱马汗、阿恒、巴哈提古丽)