

调查研究

2015—2017年河南省食源性疾病致泻大肠埃希菌监测情况分析

邱正勇,张濛,吴玲玲,炊慧霞,张秀丽

(河南省疾病预防控制中心,河南 郑州 450016)

摘要:目的 了解河南省食源性疾病致泻性大肠埃希菌(DEC)的致病型和分布情况,为食源性疾病的防控提供参考数据。方法 对哨点医院食源性疾病患者的粪便标本进行DEC检测,确定致病型和毒力基因。结果 4 137份粪便标本有215份DEC阳性,阳性检出率为5.2%,其中有4份标本是不同类型的DEC混合感染。共分离DEC菌株219株,其中肠聚集性大肠埃希菌(EAEC)156株,产肠毒素大肠埃希菌(ETEC)28株,肠致病性大肠埃希菌(EPEC)28株,肠出血性大肠埃希菌(EHEC)2株,肠侵袭性大肠埃希菌(EIEC)5株。215例阳性病例中,5岁以下儿童有95例,占比为44.2%。DEC病例在6月和10月有一个发病的高峰,在其他月份均有检出。可疑暴露食品中,由肉与肉制品、乳与乳制品引发的病例分别为34和31例,占比分别为17.3%(34/196)和15.8%(31/196)。结论 河南省食源性疾病DEC基因型中,EAEC占比最高,感染以5岁以下儿童为主,全年均有检出,夏秋季多发,肉与肉制品、乳与乳制品引发病例较多。

关键词:食源性疾病;致泻大肠埃希菌;毒力基因;食源性致病菌;暴露食品

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2019)05-0445-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.05.009

Surveillance of diarrheogenic *Escherichia coli* in foodborne diseases in Henan, 2015-2017

QIU Zhengyong, ZHANG Meng, WU Lingling, CHUI Huixia, ZHANG Xiuli

(Henan Center for Disease Prevention and Control, Henan Zhengzhou 450016, China)

Abstract: Objective To investigate the pathogenic types and distribution of diarrheogenic *Escherichia coli* (DEC) from foodborne diseases in Henan Province, and provide reference data for the prevention and control of foodborne diseases.

Methods Fecal specimens from patients with foodborne diseases in sentinel hospitals were examined for DEC to determine pathogenic and virulent genes. **Results** 215 of 4 137 stool specimens were positive, and the positive rate was 5.2%. Four of them were mixed DEC infection of different types. 219 strains of DEC were isolated, including 156 strains of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC), 28 strains of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), 28 strains of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), 2 strains of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), and 5 strains of enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). 95 cases of patients were between 0 and 5 years old, with the proportion of 44.2%. DEC cases had a peak in June and October, but was found all year round. In terms of suspicious food exposure, 34 cases were caused by meat and meat products, 31 cases by milk and dairy products, accounting for 17.3% (34/196) and 15.8% (31/196) respectively. **Conclusion** The genotype of DEC in foodborne diseases in Henan was mainly EAEC. Infection was mainly in children under 5 years old. It occurs frequently in summer and autumn. Meat and meat products, milk and dairy products caused more cases.

Key words: Foodborne diseases; diarrheogenic *Escherichia coli*; virulence gene; foodborne pathogens; exposed food

致泻大肠埃希菌(diarrheogenic *Escherichia coli*, DEC)可以引起食源性疾病,是重要的细菌性腹泻病

原体。根据其携带毒力基因的不同将其分为5类:肠聚集性大肠埃希菌(enteroaggregative *Escherichia coli*, EAEC)、产肠毒素大肠埃希菌(enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)、肠致病性大肠埃希菌(enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC)、肠出血性大肠埃希菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC)、肠侵袭性大肠埃希菌(enteroinvasive *Escherichia coli*, EIEC)^[1]。本研究以河南省4家综

收稿日期:2019-09-06

基金项目:河南省科技攻关项目(162102310310)

作者简介:邱正勇 男 技师 研究方向为微生物检验

E-mail:496641560@qq.com

通信作者:张秀丽 女 主任技师 研究方向为食品安全风险监控

E-mail:zhangxl@hncdc.com.cn

合医院和3家儿童医院为监测点,通过对2015—2017年食源性疾病DEC感染情况进行监测,了解河南省DEC的致病型和分布情况,为食源性疾病的防控提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源

选择河南省内7家哨点医院,研究对象为由于食品或怀疑由食品引起食源性疾病的门诊就诊患者,病例定义为由食品或怀疑由食品引起的,以腹泻症状为主诉的就诊病例,其中腹泻是指每日排便3次或3次以上。由门诊医生填写病例信息,包括患者基本信息、临床症状和食物暴露史等信息。采集食源性疾病患者的粪便或肛拭子标本,填写标本信息。1h内送往实验室进行病原检测,1h内无法进行检验的用Cary-Blair运送培养基冷藏保存。2015—2017年7家哨点医院共采集4137份标本进行DEC检测。

1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定分析系统(法国梅里埃)、恒温恒湿培养箱、聚合酶链式反应(PCR)仪(德国耶拿)、全自动毛细管电泳仪(德国Qiagen)。麦康凯选择性平板(郑州博赛生物公司)、三糖铁琼脂(TSI,北京陆桥公司)、五种致泻大肠试剂盒(北京卓诚惠生公司),以上均在有效期内使用。

1.2 方法

1.2.1 分离培养

用接种环直接挑取标本接种划线至大肠埃希菌显色培养基,(36±1)℃培养18~24h。挑取大肠埃希菌显色培养基上的可疑菌落,分别接种至TSI和营养琼脂,置于(36±1)℃培养18~24h,凡是TSI斜面产酸或不产酸、底层产酸、不产生硫化氢(H₂S)的菌株,从营养琼脂斜面挑取菌株进行IMViC系列生化试验,鉴定为大肠埃希菌的,进一步用试剂盒做PCR鉴定。

1.2.2 PCR及扩增

按照试剂盒说明书进行PCR提取、PCR反应体系配制和PCR程序扩增。扩增结果分析采用Qiagen QIAxcel Advanced毛细管电泳仪。

1.3 统计学分析

用SPSS 17.0软件进行统计学分析,率的比较用 χ^2 或Fisher确切概率值检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DEC阳性病例检出情况

2015—2017年7家哨点医院共采集4137份标本,共分离DEC菌株219株,检出DEC阳性病例215例,检出率为5.2%,其中有4例为EAEC+EPEC的混合感染。EAEC占71.2%(156/219),EPEC占12.8%(28/219),EPEC占12.8%(28/219),同时检出河南省较为少见的EHEC(2株)和EIEC(5株)。2015—2017年DEC阳性病例检出率分别为5.4%(67/1236)、5.3%(76/1439)、4.9%(72/1462)。三年的检出率之间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.366$, $P > 0.05$)。

2.2 DEC毒力基因携带情况

215例DEC阳性病例中共分离出219株DEC菌株,毒力基因携带情况见表1。EAEC中*astA*毒力基因的占比最大(69.9%,109/156),EPEC中非典型的EPEC比例较高(96.4%,27/28)。

表1 219株DEC菌株毒力基因携带情况

Table 1 Virulence gene carrier of 219 DEC strains

型别	毒力基因	菌株数	占比/%
EAEC(<i>n</i> = 156)	<i>astA</i>	109	69.9
	<i>aggR</i>	1	0.6
	<i>pic</i>	9	5.8
	<i>astA, pic</i>	13	8.3
	<i>aggR, pic</i>	13	8.3
	<i>astA, aggR, pic</i>	11	7.1
ETEC(<i>n</i> = 28)	<i>elt</i>	13	46.4
	<i>elt, estIa</i>	1	3.6
	<i>elt, estIb</i>	2	7.1
	<i>estIa</i>	1	3.6
	<i>estIb</i>	7	25.0
EPEC(<i>n</i> = 28)	<i>estIa, estIb</i>	4	14.3
	<i>escV</i>	27	96.4
EHEC(<i>n</i> = 2)	<i>bfpB, escV</i>	1	3.6
	<i>escV, stx1</i>	1	50.0
EIEC(<i>n</i> = 5)	<i>stx1</i>	1	50.0
	<i>invE</i>	5	100.0

2.3 DEC阳性病例年龄分布特征

DEC阳性病例中≤5岁占44.2%(95/215),EAEC的阳性病例最多,占77.9%(74/95),且在各个年龄段均有分布。EPEC在13~44岁分布较多,占50.0%(14/28),见表2。

2.4 DEC阳性病例发病时间分布

2015—2017年河南省食源性疾病DEC病例1~12月的病例数见图1。DEC病例在6月和10月有一个发病的高峰,其他月份均有检出。

2.5 DEC阳性病例暴露食品

215例DEC阳性病例中,196例有可疑暴露食品信息,占91.2%。其中肉与肉制品所占比例最大(17.3%,34/196),其次是乳与乳制品(15.8%,

表2 DEC阳性病例年龄分布特征

Table 2 Age distribution characteristics of diarrheogenic *Escherichia coli* positive cases

年龄/岁	EAEC 阳性病例数	EPEC 阳性病例数	EHEC 阳性病例数	EIEC 阳性病例数	EAEC+EPEC 病例数	合计
<1	38	8	1	0	0	47
1~5	36	4	7	0	1	48
6~12	1	0	0	0	1	2
13~44	49	7	14	2	1	76
45~59	21	4	6	0	1	34
≥60	7	1	0	0	0	8
合计	152	24	28	2	4	215

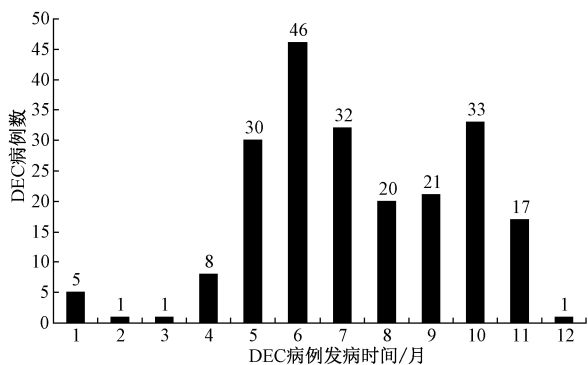


图1 2015—2017年DEC阳性病例发病时间分布

Figure 1 Monthly distribution of diarrheogenic *Escherichia coli* infection cases in 2015-2017

31/196)、水果类及其制品(14.3%,28/196)、粮食类及其制品(12.8%,25/196),少数DEC阳性病例的可疑暴露食品为蛋与蛋制品、饮料与冷冻饮品、蔬菜类及其制品、水产动物及其制品。

3 讨论

DEC是引起食源性疾病的主要病原体之一^[2],2015—2017年河南省食源性疾病DEC检出率为5.2%,低于河南省2010—2012年(7.2%)^[3]和2013年(12.1%)^[4]的检出率。DEC基因型方面,EAEC占比较高,说明EAEC是河南地区流行的优势型别。由DEC引发的食物中毒事件时有发生,河南省某高校曾发生一起由EAEC引起的食物中毒^[5]。同时发现4例DEC的混合感染,并且均是EAEC+EPEC的基因型,表明这两种优势基因型在某种情况下可以同时感染患者。

EPEC中非典型EPEC比例较高,和曲梅等^[2]的研究类似,之前研究表明,典型EPEC是引起发展中国家婴幼儿腹泻的病原菌,非典型EPEC是引起发达国家婴幼儿腹泻的病原菌^[6-7],近年来在发展中国家也发现了大量非典型EPEC的感染病例^[8],本研究也证实了这一发现,提示在流行的过程中,EPEC的优势亚型发生了改变,典型EPEC有可能丢失了**bfpB**毒力基因而成为非典型EPEC。之前关于河南省的DEC研究中未检出EHEC^[4],本研究检

出2例EHEC的阳性病例,EHEC菌株分泌志贺菌肠毒素,引起出血性肠炎,病情较为严重。EIEC也有少量检出,EIEC的致病机制与志贺菌基本一致,能够引起严重的腹泻,需要引起重视。

DEC感染病例中5岁以下儿童较多,这个年龄段的人群抵抗力较弱,这一分布与之前河南省的研究^[3]一致,需要重点关注这一年龄段的人群,防范食源性疾病的发生。在这个年龄段的病例中,EAEC基因型占77.9%,EAEC最早是在智利一名患有顽固性腹泻的儿童体内分离得到^[9],能引起婴幼儿和儿童的腹泻。EAEC以携带**astA**毒力基因为主,**aggR**和**pic**基因也有检出,**astA**是EAEC的质粒上编码耐热聚集黏附性肠毒素的基因序列,**aggR**和**pic**基因与丝氨酸蛋白酶活性和聚集黏附性菌毛表达调节有关^[10-12]。

河南省DEC阳性病例全年均有检出,在夏秋季较为流行,提示对DEC要进行季节性防控。DEC阳性病例的可疑暴露食品中,肉与肉制品所占比例最高,其次是乳与乳制品、水果类及其制品,因此在食品加工工程中,肉类和乳制品等易被病原菌污染的食品应彻底加热,煮透后食用。生食水果和蔬菜应认真清洗,生熟分开,降低食品安全风险。

参考文献

- [1] MULLER D, GREUNE L, HEUSIPP G, et al. Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR[J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(10): 3380-3390.
- [2] 曲梅,张新,钱海坤,等.北京地区腹泻病患者致泻性大肠埃希菌感染类型及其流行特征[J].中华流行病学杂志,2014,35(10):1123-1126.
- [3] 赵嘉咏,朱敏,谢志强,等.河南省5种致泻性大肠埃希菌病原学监测[J].中国病原生物学杂志,2015,10(10):924-927.
- [4] 赵嘉咏,张白帆,苏佳,等.2013年河南省致泻性大肠杆菌病原学与分子分型研究[J].中华预防医学杂志,2016,50(6):525-529.
- [5] 栾旭波,王小龙,史晓娟.一起细菌性食物中毒的病原学检测分析[J].河南预防医学杂志,2018,29(3):225-226.
- [6] TRABULSI L R, KELLER R, TARDELLI GOMES T A. Typical

and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* [J]. Emerg Infect Dis, 2002, 8 (5): 508-513.

[7] AFSET J E, ANDERSEN E, BRUANT G, et al. Phylogenetic backgrounds and virulence profiles of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains from a case-control study using multilocus sequence typing and DNA microarray analysis [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(7): 2280-2290.

[8] OCHOA T J, BARLETTA F, CONTRERAS C, et al. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2008, 102 (9): 852-856.

[9] NATARO J P. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis [J]. Curr Opin Gastroen, 2005, 21(1): 4-8.

[10] FRUTH A, PRAGER R, TIETZE E, et al. Molecular epidemiological view on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* causing human disease in Germany: diversity, prevalence, and outbreaks [J]. Int J Med Microbiol, 2015, 305(7): 697-704.

[11] KOLENDA R, BURDUKIEWICZ M, SCHIERACK P. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli* [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2015, 5: 23.

[12] HU J, TORRES A G. Enteropathogenic *Escherichia coli*: foe or innocent bystander [J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21 (8): 729-734.

· 资讯 ·

加拿大拟修订环溴虫酰胺等 5 种农药的最大残留限量

2019 年 8 月 29 日,加拿大卫生部发布 MRL2019-23、MRL2019-24、MRL2019-25、MRL2019-26、MRL2019-27 和 MRL2019-28 号通知,有害生物管理局拟修订环溴虫酰胺 (cyclaniliprole)、氟氯吡啶酯 (halauxifen-methyl)、乙虫腈 (ethiprole)、解草酮 (benoxacor) 和乙基多杀菌素 (spinetoram) 在部分食品中的最大残留限量。具体拟修订内容如下:

通用名称	食品	拟修订的最大限量/ppm
	茶叶	5
	叶类蔬菜(作物组 4-13)	10
	灌木类浆果(作物亚组 13-07B)	1.5
	小型攀藤类水果,除了葡萄,亚组 13-07E	1.0
	蔓越橘(作物亚组 13-07A);芸苔属头茎类蔬菜组(作物组 5-13)	0.8
环溴虫酰胺	核果类水果(作物组 12-09)	0.7
	葡萄	0.6
	矮生浆果类,不包括矮灌木蓝莓(作物亚组 13-07G)	0.4
	葫芦科蔬菜(作物组 9)	0.1
	树坚果(作物组 14-11)	0.02
	块茎和球茎类蔬菜(作物亚组 1C)	0.01
氟氯吡啶酯	干大豆、非甜质玉米	0.01
乙虫腈	生咖啡豆	0.1
解草酮	布什西红柿、椰子、醋栗番茄、龙葵、枸杞、地樱桃、树番茄、奎东茄、龙珠果、黏果酸浆	0.01
乙基多杀菌素	留兰香顶部、薄荷顶部	3.5

(来源食品伙伴网,相关链接:<http://news.foodmate.net/2019/08/532158.html>)