

2015~2019年北京市海淀区食源性腹泻患者致泻大肠埃希氏菌型别分布和耐药性分析

刘伟, 白婧, 尹可欣, 韩喜荣, 施丽飞 (北京市海淀区疾病预防控制中心, 北京 100094)

摘要: **目的** 分析北京市海淀区食源性腹泻患者致泻大肠埃希氏菌 (*diarrheagenic Escherichia coli*, DEC) 的感染状况、型别分布和耐药情况, 为致泻大肠埃希氏菌的防控和临床合理用药提供科学依据。**方法** 对2015~2019年海淀区食源性腹泻监测哨点医院送检的1 810份腹泻患者粪便标本直接划线接种在麦康凯培养基上培养, 挑取可疑菌落进行生化鉴定、毒力基因测定, 对确认为致泻大肠埃希氏菌的菌株进行药敏检测。**结果** 1 810份粪便标本中检出致泻大肠埃希氏菌214株, 检出率为11.8%, 各年度的检出率差异有统计学意义 ($\chi^2=10.858$, $P=0.028$)。检出的致泻大肠埃希氏菌共有4种型别, 其中集聚性大肠埃希氏菌 (EAEC) 96株 (44.9%), 产肠毒素大肠埃希氏菌 (ETEC) 89株 (41.6%), 肠道致病性大肠埃希氏菌 (EPEC) 24株 (11.2%), 肠道侵袭性大肠埃希氏菌 (EIEC) 5株 (2.3%)。在12种抗生素的药敏试验中, 70株 (32.7%) 全部敏感, 144株 (67.3%) 耐药; 氨苄西林的耐药率最高 (54.7%), 其次是四环素 (38.8%) 和复方磺胺 (36.9%), 对3种及以上抗生素的多重耐药率为46.3%。**结论** 北京市海淀区2015~2019年致泻大肠埃希氏菌感染以EAEC和ETEC为主, 耐药菌株的多重耐药谱广。应加强对抗生素的使用管理, 延缓耐药株的产生和传播。

关键词: 致泻大肠埃希氏菌; 毒力基因; 型别分布; 耐药

中图分类号: R378.21; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 06-188-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.041

Type Distribution and Drug Resistance of Diarrheagenic *Escherichia coli* in Patients with Foodborne Diarrhea in Haidian District, Beijing, 2015~2019

LIU Wei, BAI Jing, YIN Ke-xin, HAN Xi-rong, SHI Li-fei

(Haidian Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100094, China)

Abstract: **Objective** To analyze the infection status, type distribution and drug resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* from foodborne diarrhea in Haidian District of Beijing, so as to provide scientific basis for prevention and control of *Escherichia coli* and clinical rational drug use. **Methods** 1 810 fecal samples of diarrhea patients from Haidian District Foodborne Disease Surveillance Sentinel Hospital from 2015 to 2019 were directly inoculated on McConkey culture medium. The suspicious colonies were selected for biochemical identification and virulence gene determination, and the strains identified as diarrhoeal *Escherichia coli* were tested for drug sensitivity. **Results** 214 strains of diarrhoeal *Escherichia coli* were detected in 1 810 fecal samples, with a detection rate of 11.8%, the difference of detection rate in each year was statistically significant ($\chi^2=10.858$, $P=0.028$). Four types of diarrhoeal *Escherichia coli* were detected, including 96 strains of EAEC (44.9%), 89 strains of ETEC (41.6%), 24 strains of EPEC (11.2%) and 5 strains of EIEC (2.3%). In the drug sensitivity test of 12 antibiotics, 70 strains (32.7%) were sensitive, 144 strains (67.3%) were resistant. The resistance rate to ampicillin was the highest (54.7%), followed by tetracycline (38.8%) and compound sulfanilamide (36.9%). The multi resistance rate to three or more antibiotics was 46.3%. **Conclusion** EAEC and ETEC were the main diarrheagenic *Escherichia coli* infections in Haidian District of Beijing from 2015 to 2019, the multidrug resistance spectrum of drug-resistant strains was wide. Should strengthen the use and management of antibiotics to delay the emergence and spread of drug-resistant strains.

Keywords: diarrheagenic *Escherichia coli*; virulence gene; type distribution; drug resistance

致泻大肠埃希氏菌 (*diarrheagenic Escherichia coli*, DEC) 是一类能引起人体以腹泻症状为主的大肠埃希氏菌, 可经过污染食物引起人类发病。常见的DEC主要包括肠道致病性大肠埃希氏菌 (EPEC)、肠道侵袭性大肠埃希氏菌 (EIEC)、产肠毒素大肠埃希氏菌 (ETEC)、产志贺毒素大肠埃希氏菌

(STEC) [包括肠道出血性大肠埃希氏菌 (EHEC)] 和肠道集聚性大肠埃希氏菌 (EAEC) [1], 为了解海淀区DEC的型别分布特点和耐药性情况, 为食源性疾病的防控和治疗提供参考, 我们将2015~2019年海淀区开展食源性腹泻监测的2家哨点医院送检的1 810份腹泻病人粪便标本进行了DEC的分离培

养、生化鉴定、多重实时荧光 PCR 毒力基因测定和药敏检测,检测结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2015~2019 年海淀区开展食源性疾病监测的 2 家哨点医院送检的 1 810 份腹泻病人粪便标本,病例定义为由食品或怀疑由食品引起的,以腹泻为主要症状的病例,每日腹泻 ≥ 3 次且粪便性状异常的就诊患者。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂:麦康凯、三糖铁、营养琼脂购自北京陆桥技术有限责任公司,GN 细菌生化鉴定卡购自美国生物梅里埃公司,五种致泻大肠埃希氏菌核酸多重实时荧光 PCR 检测试剂盒购自北京卓成惠生生物科技股份有限公司;革兰阴性需氧菌药敏检测板购自上海星佰生物技术有限公司,所有试剂均在有效期内使用。

1.2.2 仪器:VITEK 2 compact 全自动微生物生化鉴定系统由美国生物梅里埃公司生产,7500fast 实时荧光定量 PCR 仪器由美国 AB 公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 DEC 检测方法:将粪便直接划线接种在麦康

凯培养基上培养,挑选 5 个以上可疑菌落进行生化鉴定,然后用五种致泻大肠埃希氏菌核酸多重实时荧光 PCR 检测试剂盒对菌株进行特征性基因检测。

1.3.2 药敏试验方法:对确认为 DEC 的菌株用微量肉汤稀释法测定其药物敏感性,用商品化药敏板进行检测,肉眼对药敏板进行判读,得到最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 值。对照美国临床实验室标准化委员会 (CLSI) 的相应标准获得相应敏感 (S)、中度敏感 (I) 和耐药 (R) 的结果。选择大肠埃希氏菌 ATCC 25922 作为药敏试验质控菌株。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件对数据进行统计分析,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 1 810 份腹泻病人粪便标本 DEC 检出情况 见表 1。1 810 份粪便标本检出 DEC 214 株,检出率为 11.8%,各年度检出率差异有统计学意义 ($\chi^2=10.858$, $P=0.028$)。检出 DEC 共有四种型别,分别为 EAEC 96 株 (44.9%), ETEC 89 株 (41.6%) EPEC 24 株 (11.2%), EIEC 5 株 (2.3%)。

表 1 2015~2019 年各种 DEC 分布情况 [株 (%)]

年份	标本量 (株)	EAEC	ETEC	EPEC	EIEC	合计
2015	397	7(1.8)	18(4.5)	6(1.5)	0(0.0)	31(7.8)
2016	339	31(9.1)	11(3.2)	7(2.1)	1(0.3)	50(14.7)
2017	368	20(5.4)	24(6.5)	4(1.1)	3(0.8)	51(13.9)
2018	369	26(7.0)	11(3.0)	3(0.8)	0(0.0)	40(10.8)
2019	337	12(3.6)	25(7.4)	4(1.2)	1(0.3)	42(12.5)
合计	1 810	96 (5.3)	89 (4.9)	24 (1.3)	5 (0.3)	214 (11.8)

2.2 药敏试验结果 见表 2。药敏检测结果显示 214 株菌株除对亚胺培南无耐药外,对其余 11 种抗生素均有不同程度的耐药。

表 2 214 株 DEC 对 12 种药物敏感检测结果 [株 (%)]

抗生素	耐药株	中介株	敏感株
氨苄西林 (AMP)	117 (54.7)	3 (1.4)	94 (43.9)
氨苄西林/舒巴坦 (AMS)	52 (24.3)	40 (18.7)	122 (57.0)
四环素 (TET)	83 (38.8)	8 (3.7)	123 (57.5)
氯霉素 (CHL)	17 (7.9)	6 (2.8)	191 (89.3)
头孢唑林 (CFZ)	66 (30.8)	43 (20.1)	105 (49.1)
复方磺胺 (SXT)	79 (36.9)	-	135 (63.1)
环丙沙星 (CIP)	38 (17.8)	64 (29.9)	112 (52.3)
头孢他啶 (CAZ)	11 (5.1)	16 (7.5)	187 (87.4)
亚胺培南 (IMP)	0 (0.0)	2 (0.9)	212 (99.1)
头孢西丁 (CFX)	12 (5.6)	6 (2.8)	196 (91.6)
头孢噻肟 (CTX)	53 (24.8)	0 (0.0)	161 (75.2)
庆大霉素 (GEN)	28 (13.1)	5 (2.3)	181 (84.6)

注: - 表示该药物只有耐药和敏感判断结果,无中介判断结果

2.3 214 株 DEC 各年度耐药率 见表 3。结果显示头孢西丁、头孢他啶和氯霉素呈现较低的耐药性,而氨苄西林、复方磺胺、头孢噻肟和四环素均呈现较严重的耐药性。

2.4 多重耐药性结果 214 株 DEC 中,70 株 (32.7%) 全部敏感,有 144 株 (67.3%) 耐药。在耐药株中,28 株 (19.4%) 单耐药,17 株 (11.8%) 双耐药,3 种到 9 种抗生素多重耐药株有 99 株 (68.8%)。有 63 种耐药谱,单耐药谱 AMP 有 15 株 (10.4%),然后依次是 AMP-CXT-CFZ 耐药谱 11 株 (7.6%)、TET-SXT 耐药谱 8 株 (5.6%), TE, AMP-TET-SXT, AMP-AMS-TET-SXT, AMP-TET-GEN-SXT 这 4 种耐药谱各 5 株菌 (3.5%),其它耐药谱的菌株数在 1~4 株不等。AMP, TET, AMS 等抗生素在三种及三种以上的多重耐药谱中出现的次数最多。

3 讨论

本研究结果显示 5 年来北京市海淀区 DEC 的总检出率同北京市怀柔区^[2]2014~2018 年检出率 (11.6%)

相近,与北京市丰台区^[3]2017年(12.43%)、北京市顺义区^[4]2013~2015年(8.55%)检出率相比略有差异。同其他省份地区相比高于淮安市^[5]2014~2015年(7.10%)和沈阳地区^[6]2012~2014年(6.65%)的检出率,低于济南市^[7]2014~2018年(28.55%)和贵阳市^[8]2010年(34.65%)的检出率。海淀区检出的DEC以EAEC和ETEC为优势型别,其次是EPEC,与济南市^[7]检出的各型别DEC排序完全一致,优势型别方面与淮安市^[5]、沈阳地区^[6]、贵阳市^[8]一致,与北京市其它区^[2-4]和上海市宝山区^[9]

存在差异。说明不同地区DEC检出率以及优势型别分布各不相同,出现这种情况的原因可能与各地区所处的环境条件、卫生状况、居民卫生安全意识有关,农村和城乡结合部地区的检出率可能就会高于城市,同时各个实验室的检测能力和检测手段也可能导致检测结果出现差异。另外有资料^[10]显示DEC可疑暴露食物种类阳性检出率最高的饮料冷冻饮品、肉类制品和水果类制品与DEC常污染的食物相一致。

表3 214株DEC各年度耐药率[n(%)]

抗生素	2015 (n=31)	2016 (n=50)	2017 (n=51)	2018 (n=40)	2019 (n=42)	合计
氨苄西林 (AMP)	23 (74.2)	30 (60.0)	30 (58.8)	10 (25.0)	24 (57.1)	117 (54.7)
氨苄西林/舒巴坦 (AMS)	23 (74.2)	24 (48.0)	12 (23.5)	1 (2.5)	2 (4.8)	52 (24.3)
四环素 (TET)	14 (45.2)	27 (54.0)	21 (41.2)	10 (25.0)	11 (26.2)	83 (38.8)
氯霉素 (CHL)	0 (0.0)	5 (10.0)	8 (15.7)	1 (2.5)	3 (7.1)	17 (7.9)
头孢唑林 (CFZ)	15 (48.4)	19 (38.0)	14 (27.5)	1 (2.5)	17 (40.5)	66 (30.8)
复方磺胺 (SXT)	17 (54.8)	19 (38.0)	22 (43.1)	9 (22.5)	12 (28.6)	79 (36.9)
环丙沙星 (CIP)	4 (12.9)	19 (38.0)	10 (19.6)	2 (5.0)	3 (7.1)	38 (17.8)
头孢他啶 (CAZ)	3 (9.7)	3 (6.0)	3 (5.9)	0 (0.0)	2 (4.8)	11 (5.1)
亚胺培南 (IMP)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
头孢西丁 (CFX)	1 (3.2)	3 (6.0)	1 (2.0)	0 (0.0)	7 (16.7)	12 (5.6)
头孢噻肟 (CTX)	11 (35.5)	15 (30.0)	12 (23.5)	0 (0.0)	15 (35.7)	53 (24.8)
庆大霉素 (GEN)	6 (19.4)	7 (14.0)	9 (17.6)	3 (7.5)	3 (7.1)	28 (13.1)

药敏结果显示,检出的DEC除有2株中介外,其余212株均对亚胺培南(IMP)敏感,与北京市丰台区^[3]报道的全部敏感基本一致,说明IMP对治疗本地区DEC感染非常有效。头孢他啶、氯霉素和头孢西丁的药敏结果提示在临床治疗时可以在这几种抗生素做适当的选择。在耐药性方面,不同菌株的耐药情况差别很大,种类繁多的耐药谱为临床医生的治疗选择带来压力。在各种多重耐药谱中AMP-CXT-CFZ耐药谱所占的比例最大。所有耐药株中对氨苄西林耐药性最高,其次是四环素和复方磺胺,对3种及以上抗生素产生多重耐药的菌株达68.8%,最严重的耐药株对9种抗生素产生多重耐药。检测数据提示海淀区DEC耐药情况不容乐观,而且多重耐药谱广,给临床合理选择抗生素以及合理联合用药带来了挑战。

本研究通过对DEC毒力基因测定来确定各种DEC型别的分布以及对菌株的耐药性检测,为DEC的流行、溯源和临床治疗参考提供了可靠的数

据,同时也提示要加强对抗生素的合理使用及管理,延缓耐药株的产生和传播。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理局. 中华人民共和国国家标准-GB4789: 食品微生物学检验致泻大肠埃希氏菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016:6. National Health and Family Planning Commission of PRC, National Medical Products Administration. National Standards of the People's Republic of China GB 4789: Microbiological examination of food hygiene--Examination of diarrheogenic *Escherichia coli*[S]. Beijing: China Standards Press, 2016: 6.
- [2] 卢丽彬, 闫雪, 赵明星, 等. 2014~2018年北京市怀柔区食源性疾病监测中致泻性大肠埃希菌流行特征分析[J]. 职业与健康, 2020, 36(9):1213-1217. LU Libin, YAN Xue, ZHAO Mingxing, et al. Analysis on epidemic characteristics of diarrheic *Escherichia coli* from foodborne disease surveillance in Huairou District of Beijing from 2014~2018 [J]. Occupation and Health, 2020, 36(9):1213-1217.

- [3] 王兆娥, 石婧, 尉秀霞, 等. 北京市丰台区腹泻患者中致泻大肠埃希氏菌感染状况及病原学分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2018, 29(6):66-70.
WANG Zhaoe, SHI Jing, WEI Xiuxia, et al. Infection status and etiological analysis of diarrheal *Escherichia coli* in diarrhea patients in Fengtai District, Beijing [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2018, 29(6):66-70.
- [4] 朱美娟, 李颖, 王彦波. 2013~2015年北京市顺义区947份感染性腹泻病原菌监测结果分析[J]. 现代预防医学, 2017, 44(4):734-737, 754.
ZHU Meijuan, LI Ying, WANG Yanbo. Analysis on the 947 pathogens in infectious diarrhea in Shunyi District in Beijing from 2013 to 2015[J]. Modern Preventive Medicine, 2017, 44(4):734-737, 754.
- [5] 李双姝, 刘纯成, 李兵兵, 等. 2014~2015年淮安市腹泻患者致泻大肠埃希氏菌病原学特征分析[J]. 职业与健康, 2016, 32(24):3353-3358.
LI Shuangshu, LIU Chuncheng, LI Bingbing, et al. Analysis on pathogenic characteristics of diarrheogenic *Escherichia coli* in diarrhea patients of Huai'an City from 2014-2015[J]. Occupation and Health, 2016, 32(24):3353-3358.
- [6] 于淼, 王卓, 冯立, 等. 沈阳地区2012年~2014年致泻性大肠埃希菌耐药性监测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(24):4301-4303.
YU Miao, WANG Zhuo, FENG Li, et al. Surveillance and analysis of antimicrobial resistance of diarrheogenic *Escherichia coli* in Shenyang during 2012-2014 [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2015, 25(24):4301-4303.
- [7] 杨丽, 刘铁诚, 李健, 等. 济南市哨点医院食源性致泻大肠埃希氏菌感染病例流行特征分析[J]. 现代预防医学, 2020, 47(4):595-598.
YANG Li, LIU Tiecheng, LI Jian, et al. Epidemiological characteristics of foodborne diarrheogenic *Escherichia coli* infection in sentinel hospital of Jinan City [J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(4):595-598.
- [8] 韦小瑜, 游旅, 田克诚, 等. 贵阳地区夏秋季腹泻病例中致泻性大肠杆菌监测分析[J]. 医学动物防制, 2016, 32(1):35-37, 41.
WEI Xiaoyu, YOU Lü, TIAN Kecheng, et al. Surveillance and analysis on diarrheogenic *Escherichia coli* for infectious diarrhea cases in summer and fall in Guiyang Districts [J]. Journal of Medical Pest Control, 2016, 32(1):35-37, 41.
- [9] 姚利利, 何平, 沈先标, 等. 2015~2018年上海市宝山区食源性疾病病原监测结果分析[J]. 职业与健康, 2020, 36(1):38-41.
YAO Lili, HE Ping, SHEN Xianbiao, et al. Analysis on monitoring results of foodborne disease pathogens in Baoshan District of Shanghai from 2015-2018 [J]. Occupation and Health, 2020, 36(1):38-41.
- [10] GALLI L, BRUSA V, RODRÍGUEZ R, et al. *Escherichia coli* in Food Products [M]// TORRES A G. *Escherichia coli* in the Americas. Cham: Springer International Publishing, 2016: 173-203.

收稿日期: 2020-12-03

修回日期: 2021-05-10

(上接第187页)

- [16] 王晶, 东星, 张学军, 等. 血清及胎盘中脂蛋白相关磷脂酶A2水平与妊娠期高血压疾病的关系[J]. 武警医学, 2020, 31(9):805-808.
WANG Jing, DONG Xing, ZHANG Xuejun, et al. Relationship of Lp-PLA2 levels in maternal serum and placenta with hypertensive disorder of pregnancy [J]. Medical Journal of the Chinese People's Armed Police Forces, 2020, 31(9):805-808.
- [17] 国春蕾, 姚水平, 李宁. 血清Nesfatin-1及炎症因子水平对妊娠期糖尿病的早期临床预测价值[J]. 现代免疫学, 2020, 40(5):391-395, 407.
GUO Chunlei, YAO Shuiping, LI Ning. Early clinical predictive value of nesfatin-1 and inflammatory cytokines in gestational diabetes mellitus [J]. Current Immunology, 2020, 40(5):391-395, 407.
- [18] XIAO Wei, YANG Yi, SHI Jiao, et al. The diagnostic efficacy and predictive value of combined lipoprotein laboratory indexes for atherosclerosis [J]. The Journal of the Pakistan Medical Association, 2020, 70(special(9)):115-119.
- [19] JACKISCH L, KUMSAIYAI W, MOORE J D, et al. Differential expression of Lp-PLA2 in obesity and type 2 diabetes and the influence of lipids [J]. Diabetologia, 2018, 61(5):1155-1166.
- [20] 李薪, 魏力强. 2型糖尿病患者血清中脂蛋白相关磷脂酶A2检测的临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(6):85-88.
LI Xin, WEI Liqiang. Clinical significance of detection of lipoprotein associated phospholipase A2 in serum of patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(6):85-88.
- [21] 韩媛, 王爽, 黄超, 等. 急性缺血性脑卒中患者血清Lp-PLA2与HCY、hsCRP及生化指标的相关性分析[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(8):1026-1028.
HAN Yuan, WANG Shuang, HUANG Chao, et al. Correlation analysis of serum Lp-PLA2 with HCY, hsCRP and biochemical indexes in patients with acute ischemic stroke [J]. Chinese Journal of Emergency Medicine, 2019, 28(8):1026-1028.
- [22] 卫华, 段思柳, 冯香艳, 等. 妊娠期糖尿病患者产后血清相关细胞因子与糖代谢异常的关系[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(9):837-840.
WEI Hua, DUAN Siliu, FENG Xiangyan, et al. Relationship between postpartum serum related cytokines and abnormal glucose metabolism of patients with gestational diabetes [J]. Chinese Journal of Family Planning, 2018, 26(9):837-840.

收稿日期: 2021-01-19

修回日期: 2021-06-28