

# 灌南县腹泻病例中致泻性大肠埃希氏菌检出情况分析

相海燕<sup>1\*</sup>, 朱晓露<sup>2</sup>, 徐晓红<sup>1</sup>

(1. 灌南县疾病预防控制中心, 灌南 222500; 2. 连云港市疾病预防控制中心, 连云港 222000)

**摘要:** **目的** 了解灌南县 2024 年腹泻症候群患者中致泻性大肠埃希氏菌(diarrheagenic *Escherichia coli*, DEC)的检出情况。**方法** 收集 2024 年全县腹泻病人粪便标本进行多病原核酸检测和分离培养、药敏试验。**结果** 225 份样本中 DEC 多病原核酸检出阳性 130 份, 分离培养检出 20 株菌株, 其中肠集聚性黏附性大肠埃希菌(enteroaggregative *Escherichia coli*, EAEC) 17 株, 肠道致病性大肠埃希菌(enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC) 2 株, 弥散黏附性大肠埃希氏菌(diffusely adherent *Escherichia coli*, DAEC) 1 株。DEC 核酸检测中在年龄组、性别分布上均无差异, 8—10 月检出率最高, DEC 对氨苄西林耐药率最高(60%)。**结论** DEC 的感染不容忽视, 其中 EAEC 为感染优势菌, 夏季是感染高峰期, 对 DEC 的监测工作应加强, 不可松懈。**关键词:** 腹泻病例; 致泻性大肠埃希氏菌; 核酸检测; 耐药

## 0 引言

致泻性大肠埃希氏菌(diarrheagenic *Escherichia coli*, DEC)也可称其为大肠杆菌, 是一类能引起人类腹泻、胃肠炎等症状的大肠杆菌<sup>[1]</sup>。依据 DEC 毒力基因的不同, 通常可以将其分为 5 种, 即肠道致病性大肠埃希菌(enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC)、肠产毒性大肠埃希氏菌(enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)、肠道侵袭性大肠埃希菌(enteroinvasive *Escherichia coli*, EIEC)、肠出血性大肠埃希菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC)以及肠集聚性黏附性大肠埃希菌(enteroaggregative *Escherichia coli*, EAEC)<sup>[2]</sup>。DEC 可以通过“粪-口”途径传播, 其在腹泻患者中的检出率始终处于较高态势。因此, 本研究针对 2024 年灌南县临床腹泻症候群监测工作所收集的样本, 通过多病原核酸检测和分离培养、分子分型以及药敏鉴定等方法进行检测, 分析本县的致泻大肠埃希氏菌流行情况和耐药情况, 为 DEC 导致的腹泻病例治疗提供参考数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

收集 2024 年 4—12 月每周全县卫生室和一、二级医

院送检腹泻病人粪便, 共 225 份。

营养肉汤、肠道增菌液肉汤(杭州滨和微生物试剂有限公司); 大肠杆菌显色培养基(上海科马嘉微生物技术有限公司)。各种培养基均按其产品说明书制备, 于 4 °C 保存备用。

革兰染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司); BD 接种培养液、BD 生化鉴定板(美国 BD 医疗器械有限公司); 肠杆菌药敏检测试剂盒(疾病预防控制定制, 郑州安图生物工程有限公司); 腹泻症候群致病菌预混核酸检测试剂盒(江苏硕世生物科技股份有限公司, 广州达安生物技术有限公司); 核酸提取或纯化试剂盒(西安天隆科技有限公司); 6 种 DEC 核酸检测试剂盒(山东美正生物技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

NP968-C 全自动核酸提取仪、Gentier96R 实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(西安天隆科技有限公司); GHP-9160 隔水式恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司); PhoenixTM 全自动微生物生化鉴定仪(美国 BD 公司); AutoMic-i600 全自动微生物生化药敏鉴定仪(郑州安图生物工程有限公司); TD6M 离心机(盐城市凯特实验仪器有限公司)。

### 1.3 方法

依据《江苏省国家致病菌识别网监测工作方案(2024版)》对 225 份样品进行检测。

#### 1.3.1 多病原核酸检测

标本处理: 挑取 2 g 粪便放入加有 2.5 mL 生理盐水管中, 振荡, 混匀, 3000 r/min 离心 3 min, 取 300  $\mu$ L 上清液进行全自动核酸提取, 将提取好的核酸加入腹泻症候群致病菌预混核酸检测试剂 PCR 反应管中进行荧光 PCR 扩增, 约 2 h 后观察结果。

#### 1.3.2 细菌的分离培养

(1)增菌。挑取适量的粪便标本加入营养肉汤中于 36  $^{\circ}$ C 培养 6 h, 取 10  $\mu$ L, 接种于肠道增菌肉汤管内, 于 42  $^{\circ}$ C 培养 18 h; (2)分离。挑取上述增菌液接种大肠埃希氏菌显色培养基, 36  $^{\circ}$ C 20 h 培养后挑取可疑菌落(蓝绿色菌落); (3)分纯。挑取可疑蓝绿色菌落革兰染色鉴定为阴性杆菌后进行纯化培养; (4)生化鉴定。将纯化的培养物利用 BD 全自动生化分析仪进行生化鉴定, 鉴定为大肠埃希氏菌的进行下一步 PCR 检测; (5)PCR 确认试验。刮取 1 环大肠埃希氏菌菌落, 重悬在 200  $\mu$ L 0.85% 灭菌生理盐水中, 充分打散制成菌悬液, 进行全自动核酸提取, 取样本核酸 5  $\mu$ L, 采用 6 种 DEC 核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)进行扩增, 大约 2 h 后观察结果。

#### 1.3.3 药敏试验

利用微量肉汤稀释法原理结合氧化还原方法进行药敏试验, 试验操作方法和结果判定参考肠杆菌药敏检测试剂盒(疾控定制)说明书。抗菌药物包括氯霉素、复方新诺明、多黏菌素 E、厄他培南、美罗培南、头孢噻肟、头孢他啶、头孢他啶/阿维巴坦、四环素、替加环素、环丙沙星、

萘啶酸、阿米卡星、链霉素、氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦共 16 种抗生素<sup>[3]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 致泻性大肠埃希氏菌按性别分布情况

按性别分析, 多病原核酸检测 DEC 核酸阳性率男性(57.01%, 61/107)与女性(58.47%, 69/118)无差异( $\chi^2=0.049$ ,  $P=0.824$ ); DEC 分离培养女性阳性率(13.56%, 16/118)高于男性(3.74%, 4/107) ( $\chi^2=6.68$ ,  $P=0.010$ )。DEC 核酸检测阳性率(57.78%, 130/225) 高于分离培养(8.89%, 20/225) ( $\chi^2=121.000$ ,  $P<0.05$ )。见表 1。

### 2.2 致泻性大肠埃希氏菌按年龄分布情况

按年龄组划分, 各年龄段腹泻症候群病例 DEC 核酸阳性率无差异( $\chi^2=0.188$ ,  $P>0.05$ )、分离培养阳性率无差异( $\chi^2=0.797$ ,  $P>0.05$ )。见表 2。

### 2.3 致泻性大肠埃希氏菌按地区分布情况

按地区分组划分, 各乡镇腹泻症候群病例 DEC 核酸阳性率较高前 3 个乡镇分别是堆沟镇(77.78%, 14/18)、新集镇(75.00%, 12/16)和田楼镇(71.42%, 15/21); 后 3 个分别是北陈集镇(16.67%, 1/6)、李集镇(33.33%, 3/9)和新安镇(43.64%, 24/55) ( $\chi^2=19.501$ ,  $P=0.034$ )。DEC 分离培养阳性率前 3 个乡镇分别是李集镇(33.33%, 3/9)、百禄镇(20.83%, 5/24)和孟兴庄镇(18.18%, 4/22); 阳性率后 3 个分别是新安镇(0.00%, 0/55)、北陈集镇(0.00%, 0/6)和三口镇(5.00%, 1/20) ( $\chi^2=21.063$ ,  $P=0.021$ )。见表 3。

表 1 灌南县 2024 年 DEC 在腹泻患者性别分布情况

分组	核酸检测					分离培养				
	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	$P$	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	$P$
男	107	61	57.01			107	4	3.74		
女	118	69	58.47	0.049	0.824	118	16	13.56	6.68	0.010
合计	225	130	57.78			225	20	8.89		
$\chi^2$						121.000				
$P$						<0.05				

表 2 DEC 年龄组分布情况

分组/岁	核酸检测					分离培养				
	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	$P$	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	$P$
0~5	5	3	60.00			5	1	20.00		
5~65	171	100	58.48	0.188	0.910	171	15	8.77	0.797	0.671
$\geq 65$	49	27	55.10			49	4	8.16		

表3 DEC 阳性病例地区分布情况

乡镇	核酸检测					分离培养				
	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	<i>P</i>	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	<i>P</i>
堆沟港镇	18	14	77.78	19.501	0.034	18	1	5.56	21.063	0.021
田楼镇	21	15	71.42			21	3	14.29		
新集镇	16	12	75.00			16	1	6.25		
孟兴庄镇	22	14	63.64			22	4	18.18		
新安镇	55	24	43.64			55	0	0.00		
三口镇	20	11	55.00			20	1	5.00		
北陈集镇	6	1	16.67			6	0	0.00		
张店镇	18	12	66.67			18	1	5.56		
汤沟镇	16	8	50.00			16	1	6.25		
百禄镇	24	16	66.67			24	5	20.83		
李集镇	9	3	33.33			9	3	33.33		

## 2.4 致泻性大肠埃希氏菌按时间分布情况

按时间分组划分,各月份腹泻症候群病例 DEC 核酸阳性率较高前3个月份分别是10月(78.26%, 18/23)、8月(71.43%, 20/28)和9月(70.27%, 26/37);后3个分别是12月(0%, 0/11)、4月(33.33%, 8/24)和11月(34.78%, 8/23) ( $\chi^2=35.884$ ,  $P<0.001$ )。DEC 分离培养阳性率各月份间无差异( $\chi^2=3.536$ ,  $P=0.021$ )。见表4。

## 2.5 致泻性大肠埃希氏菌抗菌药物检测结果

抗菌药物检测结果显示,抗菌药物耐药占比从高到

底依次是氨苄西林(60%, 12/20)、四环素(50%, 10/20)、复方新诺明(45%, 9/20)、萘啶酸(35%, 7/20)、氨苄西林/舒巴坦(25%, 5/20)、氯霉素(15%, 3/20)、头孢他啶(10%, 2/20)。抗菌药物中介占比从高到低依次是氨苄西林/舒巴坦(15%, 3/20)、氯霉素(10%, 2/20)、头孢他啶(5%, 1/20)、环丙沙星(5%, 1/20)。多黏菌素 E、厄他培南、头孢噻肟、头孢他啶/阿维巴坦、替加环素、阿米卡星和链霉素对所有 DEC 分离株均敏感。见表5。

表4 月份分布情况

月份	核酸检测					分离培养				
	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	<i>P</i>	总病例数/例	阳性病例数/例	阳性率/%	$\chi^2$	<i>P</i>
4月	24	8	33.33	35.884	<0.001	24	2	8.33	3.536	0.831
6月	42	25	59.52			42	4	9.52		
7月	37	25	67.57			37	4	10.81		
8月	28	20	71.43			28	3	10.71		
9月	37	26	70.27			37	5	13.51		
10月	23	18	78.26			23	1	4.35		
11月	23	8	34.78			23	1	4.35		
12月	11	0	0			11	0	0		

表5 20株 DEC 抗菌药物检测结果

抗生素名称	耐药		中介		敏感	
	菌株数/株	占比/%	菌株数/株	占比/%	菌株数/株	占比/%
氯霉素	3	15	2	10	15	75
复方新诺明	9	45	0	0	11	55
多黏菌素 E	0	0	0	0	20	100
厄他培南	0	0	0	0	20	100

表 5(续)

抗生素名称	耐药		中介		敏感	
	菌株数/株	占比/%	菌株数/株	占比/%	菌株数/株	占比/%
头孢噻肟	0	0	0	0	20	100
头孢他啶	2	10	1	5	17	85
头孢他啶/阿维巴坦	0	0	0	0	20	100
四环素	10	50	0	0	10	50
替加环素	0	0	0	0	20	100
环丙沙星	0	0	1	5	19	95
萘啶酸	7	35	0	0	13	65
阿米卡星	0	0	0	0	20	100
链霉素	0	0	0	0	20	100
氨苄西林	12	60	0	0	8	40
氨苄西林/舒巴坦	5	25	3	15	12	60

### 3 讨论与结论

2024 年灌南县腹泻病例中, DEC 检出 EAEC、EPEC 和 DAEC, 检出率分别为 7.56% (17/225)、0.89% (2/225)、0.44% (1/225), EAEC 检出率最高( $\chi^2=24.901$ ,  $P<0.001$ ), 低于本市连云区 2015—2018 年结果(45.24%, 38/84) ( $\chi^2=10.250$ ,  $P=0.001$ )<sup>[4]</sup>。DEC 检出率为 8.89% 低于连云区 13.23% (84/638) ( $\chi^2=2.871$ ,  $P=0.090$ )<sup>[4]</sup>, 可能因为本次研究开展时间较短, 样本量偏少, 所以存在一定的差异<sup>[5]</sup>。

腹泻症候群致病菌核酸检测中, DEC 在性别、年龄分布上无差异, 与 2020—2024 年江苏省 DEC 的监测情况分析一致<sup>[6]</sup>, 而分离培养结果女性检出率明显高于男性。在地区分布上堆沟镇(77.78%, 14/18)、新集镇(75.00%, 12/16)和田楼镇(71.42%, 15/21)检出率较高( $\chi^2=19.501$ ,  $P<0.034$ ), 但是分离培养阳性率较高的却是李集镇(33.33%, 3/9)、百禄镇(20.83%, 5/24)和孟兴庄镇(18.18%, 4/22)。分离培养方法作为微生物检测的金标准, 检出率较高地区的 DEC 的人群感染值得引起关注。腹泻症候群多病原核酸检测方法作为食物中毒应急中常用的方法, 腹泻症候群核酸检测结果和分离培养结果的差异, 对于突发事件的应急处置防控方案的开展实施均有较大的影响。因此, 后续需要更详尽全面的检测方案来确认这种差异出现的原因。

从时间来看, 阳性率较高前 3 个月份分别是 10 月(78.26%, 18/23)、8 月(71.43%, 20/28)和 9 月(70.27%, 26/37), 原因可能在于夏季天气炎热, 其天然环境有利于细菌的生长和繁殖, 故 DEC 的感染率增加, 出现感染高峰<sup>[7]</sup>。郭小梅<sup>[8]</sup>的研究进一步证实了此观点, 即夏季气温高, 感染性腹泻进入高发期, 且以细菌感染为主。因此, 对 DEC 的监测在夏季应该更加严密, 不可松懈。

本次试验中, 20 株 DEC 中共检出 EAEC 17 株, 占比 85%。药敏试验发现 20 株 DEC 对氨苄西林耐药率最高, 为

60%, 低于 2018—2019 年江苏省(71.85%)<sup>[9]</sup>和 2019、2020、2021 年北京延庆区(63.9%、75.0%、62.5%)<sup>[10]</sup>的致泻大肠对氨苄西林的耐药率, 近几年国家严令管控抗生素的使用, 所以耐药率有所降低。

以上是对 2024 年灌南县 DEC 的感染情况大致分析, 从检出率来看 DEC 的感染形势不容忽视, 需持续强化对它的监测力度。由于此项监测开展时间较短, 数据不够完善, 存在一定的局限性, 所以还应充实后续的监测研究, 更加全面地分析本县腹泻症候群中 DEC 的感染情况, 为 DEC 的流行病学预警提供更严谨的数据支撑。

### 参考文献

- [1] GB 4789.6—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验[S].
- [2] NATARO JP, KAPER JB. Diarrheagenic *Escherichia coli* [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 1998, 11(1): 142-201.
- [3] 丁延辉, 李成, 王圣涵, 等. 一起肠炎沙门氏菌感染的食源性疾病暴发事件的溯源分析及药敏检测[J]. *实验室检测*, 2024, 2(2): 98-101.
- [4] 朱晓露. 连云区腹泻人群致泻性大肠埃希氏菌感染和分子分型特征分析[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(12): 2292-2295.
- [5] 傅伟欣, 陈伟伟, 叶素贞, 等. 2019 年福建省哨点医院腹泻患者中致泻大肠埃希菌感染状况及病原学特征分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(5): 539-543.
- [6] 曹会, 沈赞, 郑东宇, 等. 2020—2024 年江苏省致泻大肠埃希菌的监测情况分析[J/OL]. *中国人兽共患病学报*, 1-7. [2026-03-28]. <https://link.cnki.net/urlid/35.1284.R.20260203.0857.006>
- [7] 段胜钢, 齐辰, 陆冬磊, 等. 2018—2020 年上海市致泻大肠埃希氏菌感染的流行病学特征分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2022, 34(4): 773-779.
- [8] 郭小梅. 夏季感染性腹泻的预防[J]. *开卷有益-求医问药*, 2024(8): 26.
- [9] 秦思, 沈赞, 马恺, 等. 2018—2019 年江苏省食源性疾病中致泻大肠埃希氏菌流行特征及耐药性分析[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(21): 3884-3888.
- [10] 李晶晶, 崔玉娟, 张莹. 腹泻病例致泻性大肠埃希氏菌感染状况及耐药性分析[J]. *食品安全导刊*, 2025(3): 45-48, 94.