



## Outbreak, Surveillance and Investigation Reports

Field Epidemiology Training Program, Bureau of Epidemiology

Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand

Tel: +6625901734-5, Fax: +6625918581, Email: osireditor@osirjournal.net, http://www.osirjournal.net

### 中国西南部城市一起由多耐药性产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) 引起的新生儿腹泻暴发, 2012

陈曦<sup>1,2</sup>, 袁伟<sup>1,3</sup>, 张丽杰<sup>1\*</sup>, 李群<sup>2</sup>, 张正东<sup>2</sup>, 王红<sup>2</sup>, 孙亚军<sup>1,4</sup>

1 中国现场流行病学培训项目, 中国疾病预防控制中心, 北京, 中国

2 自贡市疾病预防控制中心, 四川省, 中国

3 四川省疾病预防控制中心, 四川省, 中国

4 珠海市疾病预防控制中心, 广东省, 中国

\* 通讯作者, 电子邮件地址: cfetpzlj@126.com

Translated version of "Chen X, Yuan W, Zhang LJ, Li Q, Zhang ZD, Wang H, et al. An outbreak of multi-drug resistant enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infection among infants in a city of southwest China, 2012. OSIR. 2015 Sep;8(3):8-14. <<http://osirjournal.net/issue.php?id=84>>".

The article is translated by Dr. Xi Chen and reviewed by Dr. Huai Yang.

#### 摘要

多耐药 (MDR) 致泻性大肠杆菌在全世界广泛分布, 是发展中国家控制腹泻性疾病的严峻考验。本研究是一次新生儿病房的重症腹泻暴发调查, 暴发从 2012 年 4 月 1 日持续到 7 月 3 日, 涉及 60 名疑似病例。为找到可能的感染源, 我们开展了病例对照研究。研究结果显示每人工喂养 1 升牛奶, 发病风险上升 4.6 倍 (OR = 4.6, 95%CI = 1.50-14.70)。18 份粪便或纸尿裤拭子样本中 14 份致病性大肠杆菌阳性, 其中 13 株血清型为 O128:H45, 包含毒力基因 st1b, 具有多耐药性。这是一次由多耐药性大肠杆菌引起的新生儿腹泻暴发, 传播途径可能为人工奶粉喂养。此次调查提示当疾病暴发中病人普遍表现出霍乱样临床症状, 并未检出其他常见肠道病原时应考虑产肠毒素大肠杆菌感染。

关键词: 多耐药性, ETEC, 医院内获得性感染

#### 前言

产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) 是引起特别是发展中国家新生儿腹泻的主要病原。<sup>1,2</sup> ETEC 产生 1 类或同时产生 2 类毒素: 热敏感毒素和热稳定毒素, 可能引起从轻度腹泻到霍乱样严重腹泻的疾病, 症状包括水样便, 腹部痉挛、发烧、恶心、寒战、食欲不振、头痛、肌痛甚至因大量液体丢失而导致脱水。

ETEC 可引起保护性的免疫反应, 儿童发病率最高, 随着年龄增长发病率逐渐降低。<sup>4,5</sup> 人们通常因食用被污染的食品或饮用被污染的水而感染 ETEC, 母乳喂养可为新生儿提供一定防护。中国对于 ETEC 的研究显示腹泻病人的感染率为 4%-6%。

2012 年 6 月 24 日, 自贡市疾病预防控制中心接到 A 医院报告其新生儿病房接收了 3 名严重腹泻的病人。病人症状与霍乱类似, 其中 2 人进展为严重脱水。粪便标本培养和

轮状病毒检测阴性, 经验性抗生素疗法 (阿莫西林, 头孢噻肟和哌拉西林) 无效。3 例病例中 2 例在发病前曾在 B 医院住院。为确定是否为传染病暴发事件并确定病原和感染来源, 当地卫生局组织开展了调查并采取了防控措施, 调查组包括流行病学、儿科、医院感染控制和检验专家。

#### 方法

##### 初步调查和病例定义

自贡市是中国西南部的一座工业城市 (图 1), 人口约 300 万。自贡市共有 4 所医院设有新生儿病房, 调查组通过查阅自贡市所有新生儿病房 2012 年 4 月以来的病历进行病例搜索。

疑似病例定义为: 自贡市 2012 年 4 月 1 日-7 月 30 日的住院新生儿 (年龄 < 28 天), 且 24 小时内出现 > 7 次稀便或 > 1 次水样便。

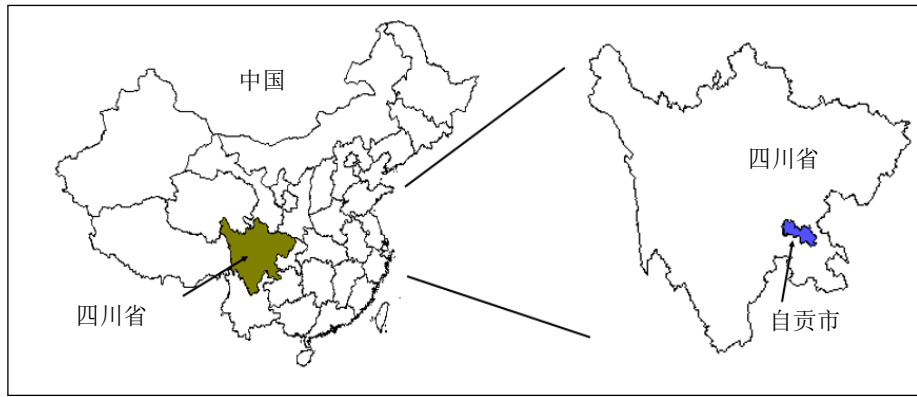


图 1. 自贡市地理位置

确诊病例定义为：疑似病例中粪便标本检测大肠杆菌 O128: H45 阳性者。因为病例可能有超过 1 次的住院史，为明确暴露医院，我们将发病前 12-48 小时定义为暴露时间。据此，病例均只暴露于 1 所医院。

### 环境与流行病学调查

调查组查看了奶粉和水的供应记录，采集了奶粉标本（包括开封与未开封的）进行微生物检测。调查组在医院 B 新生儿病房内检查了病房的布局，观察了备奶，人工喂养过程及护士手卫生的执行情况。

### 病例对照研究

调查组查看病历后通过病例住院日期匹配病例，开展病例对照研究。对照定义为在所匹配的病例暴露期内在新生儿病房住院，之后未出现腹泻症状的新生儿。每名病例匹配 2 名对照，研究变量包括性别、年龄、出生体重和食奶量。

### 实验室微生物检测

调查组同时采集了病例、护士及医生的临床样本和医院新生儿病房环境样本。采集标本立即送往市疾控中心进行检测。

我们根据中国检测规范<sup>9</sup>对粪便和纸尿裤拭子做了致病性大肠杆菌、单核细胞增生李斯特菌、阪崎肠杆菌、蜡样芽胞杆菌、沙门氏菌、志贺杆菌、霍乱弧菌和副溶血性弧菌检测，对医院 A、B、C 和 D 新生儿病房的环境样本进行了细菌计数和致病性大肠杆菌检测。此外，我们对所采集的奶粉使用中国北京路桥技术有限公司生产的胰酪胨大豆肉汤做了细菌培养。

致病性大肠杆菌分离使用 CHROMagar ECC 培养基(中国郑州 biocell 生物技术有限公司生产)，所分离菌株的毒力基因鉴定使用 API 20E 生物化学鉴定系统（有法国 bioMérieux 公司生产）。所分离的菌株采用 O 和 H 诊断血清分型（首次采用中国天瑞生物技术有限公司血清分型，之后采用丹麦血清学研究所血清确认）最后，采用大肠杆菌毒力基因 *stx1*, *stx2*, *eaeA*, *lt*, *stlb*, *aggR*, *ipaH*, *rrs* 为探针进行聚合酶链反应（PCR）。<sup>10</sup> 此外，采用 Etest 方法，根据临床和实验室研究所标准 2009<sup>11</sup> 对菌株耐药性做了检测。

### 数据分析

数据采用 Epi Info 7<sup>12</sup> 进行录入和分析，方法采用 Fisher 确切概率法和 logistic 回归（线性回归，前进法，根据匹配组分层）。

### 结果

调查组发现 4 月 1 日-7 月 30 日共有 532 名病例曾在 4 所医院新生儿病房住院，其中有 60 名疑似病例和 13 名确诊病例。疑似病例中，38 例（63.3%）24 小时内腹泻大于 7 次，48 例（80.0%）出现水样便，1 例（1.7%）腋温大于 38℃，没有病例出现粘液便。医院 B 住院病例中发现疑似病例 44 例（73.3%），罹患率明显高于自贡市基线水平和的其他 3 所医院（表 1）。病例的居住地分散分布于自贡市及相邻 2 所城市。

表 1. 自贡市病例地理分布，四川省，中国，2012 年 4 月 1 日-7 月 30 日

医院	新生儿数	病例数	罹患率 (%)	相对危险度(95%CI)
B	285	44	15.4	228.5 (110.3-473.3)
A	57	2	3.5	45.5 (9.6-215.5)
C	161	1	0.6	7.8 (1.0-61.7)
D	29	0	0	-
未住院	11272*	9 <sup>#</sup>	0.2	参考值

\* 2010 年自贡市平均人口增长为每月 2818 人

<sup>#</sup> 4 例在暴露期无住院史的病例居住在自贡市以外

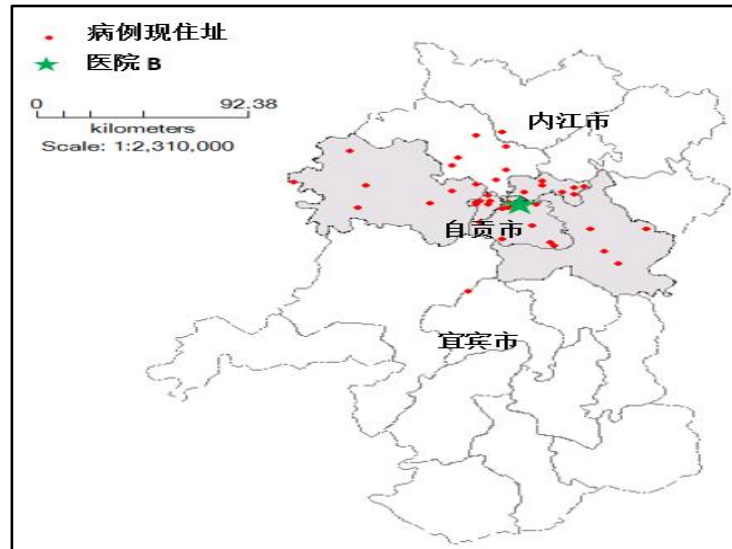


图 2. 自贡市病例居住地地理分布，四川省，中国，2012 年 4 月 1 日-7 月 30 日

B 医院的 44 例病例中，男性 23 例 (52.3%)，平均出生体重 3.2 公斤 (中位数 3.1 公斤，范围 2.1-4.3 公斤)，发病时平均年龄 10.4 天 (中位数 9 天，范围 3-28 天)。

### 环境与流行病学调查

调查组在新生儿病房的新生儿温箱按键、水槽边缘和床号牌发现了超过允许标准 ( $<5 \text{ CFU/m}^2$ )<sup>13</sup> 的细菌污染。

配奶室、新生儿浴室和厕所相连，使用同一供水和排污管道 (图 3)。护士在量杯中混合开水以及预冷的开水后添加奶粉。护士使用裸手护理新生儿，在转换护理对象时候使用清洗液洗手。1 名护士在 1 次当班工作中可能承担照料病人的多种职责，例如配奶、人工喂奶和为新生儿洗澡。因为隔离病房被普通病例所占用，腹泻新生儿并未被隔离。

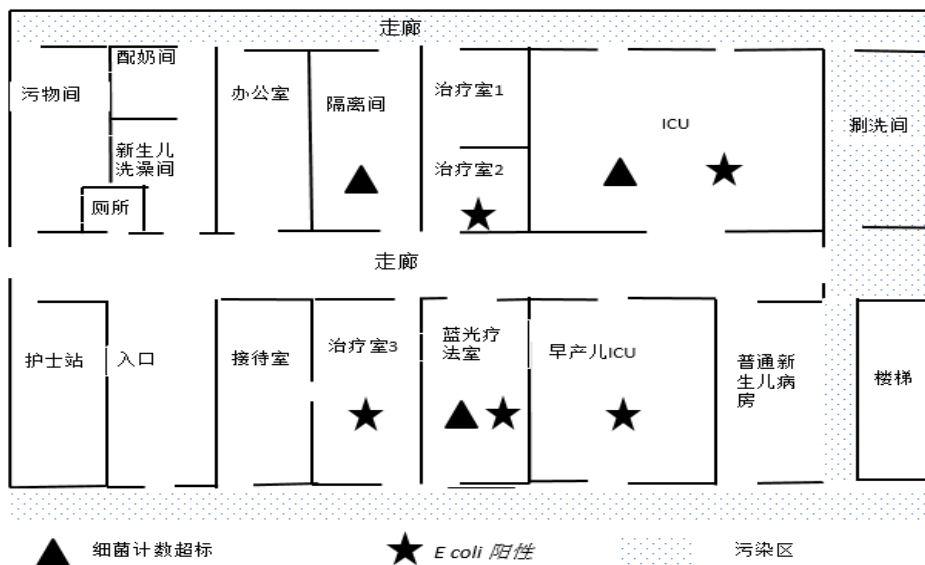


图 3. 医院 B 新生儿病房布局和细菌污染情况，自贡市，四川省，中国，2012 年 4 月 1 日-7 月 30 日

### 病例对照研究

病例对照中，44 例病例与 82 例对照进行了匹配。研究显示每人工喂养 1 升牛奶，发病风险上升 4.6 倍 (OR=4.6, 95%CI=1.50-14.70) (表 2)。传播链研究显示大部分病例 (93.2%, 41/44) 的暴露期与至少 1 例病例的腹泻期相重合。

### 实验室微生物检测

调查组从 18 份粪便或纸尿裤拭子样本 (医院 B 采集 15 份，医院 A 采集 1 份，医院 C 采集 1 份) 中分离到 14 株致病性大肠杆菌。在这些菌株中，13 株血清分型为 O128:

H45，其中 11 份来源于 B 医院，2 份分别来自于医院 A 和 C。我们从 13 株菌株中均检出热稳定性毒力基因 *stIIb*。这些菌株对阿莫西林、哌拉西林、头孢噻吩、头孢噻肟、复方新诺明耐药；对头孢他啶中等耐药；对阿莫西林克拉维酸合剂、唑巴坦、头孢菌素噻吩、头孢吡肟、美洛培南、亚胺培南、庆大霉素、卡那霉素、阿米卡星、妥布霉素、诺氟沙星、左氧氟沙星、四环素和氯霉素敏感。奶粉的物理性质符合中国相关标准，细菌培养阴性。医院 B 新生儿病房的 11 份医生和护士粪便或肛拭子标本致病性大肠杆菌均阴性。

表 2. 医院 B 新生儿病房病例对照研究, 自贡市, 四川省, 中国, 2012 年 4 月 1 日-7 月 30 日

	平均值		OR	95% CI	P
	病例	对照			
体重 (公斤)	3.2	2.8	2.9	1.30-6.20	<0.01
食奶量 (升/24 小时)	0.6	0.4	4.6	1.50-14.70	<0.01
年龄 (天)	10	9	1	0.98-1.11	>0.05
性别比 (男性)	1.3	1.1	1.2	0.60-2.40	>0.05

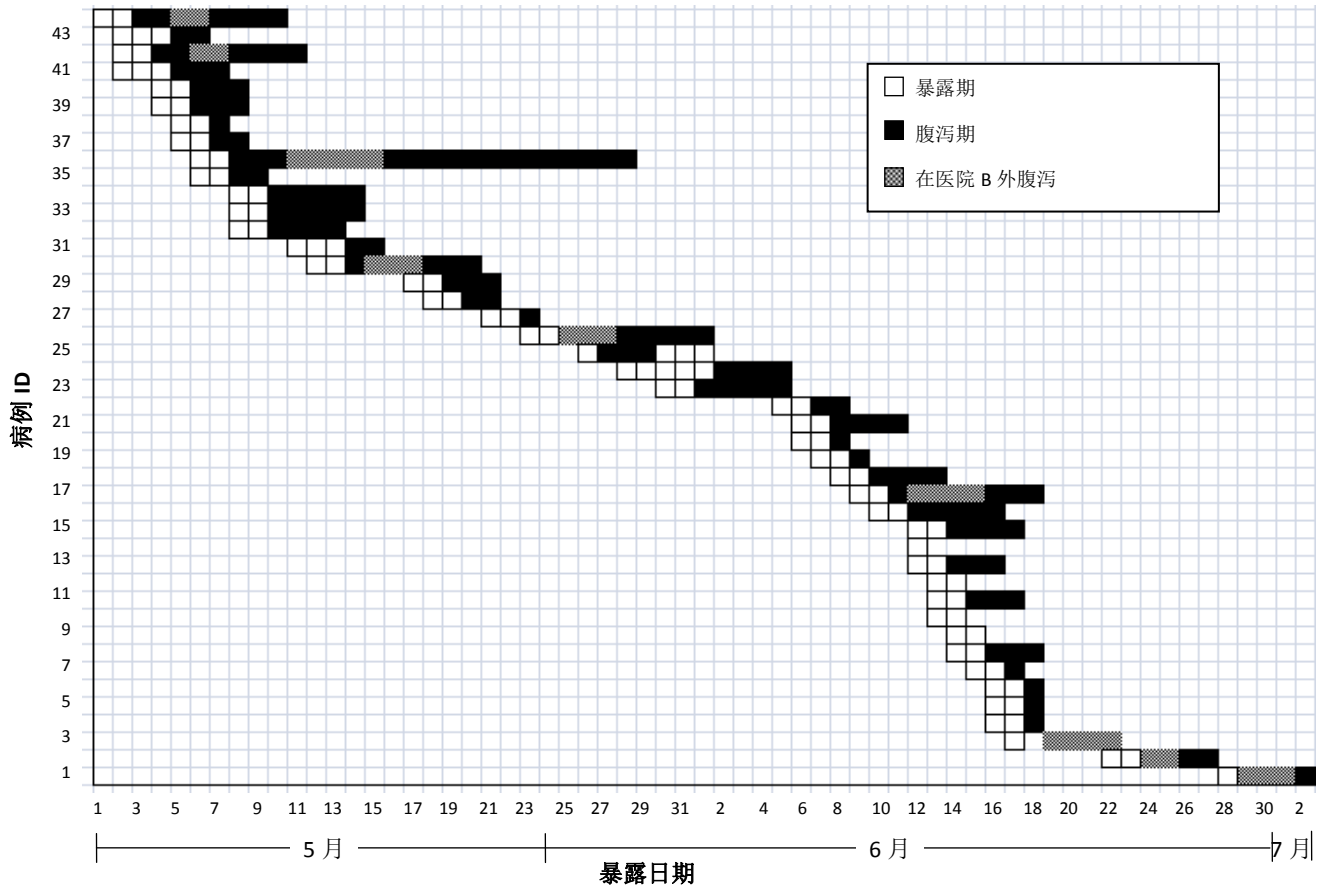


图 4. 医院 B 新生儿病房病例暴露和腹泻期, 自贡市, 四川省, 中国, 2012 年 4 月 1 日-7 月 30 日

### 暴发处置

医院 B 在 2012 年 5 月上旬观察到了新生儿病房腹泻病例的异常上升, 因此加强了手卫生管理, 更换了奶粉品牌并将水源由自来水更换为桶装水。尽管如此, 新的病例仍然不断增加。在补液的同时, 医院 B 使用了抗生素和抗病毒药物, 但治疗效果不佳。医院 B 在 2012 年 6 月初减少了喂奶量, 病例的腹泻频率因此减少。发病数在 2012 年 6 月 15 日达到峰值, 医院 B 新生儿病房从 2012 年 6 月 19 日起不再接收新的腹泻病人。自此之后, 病例数迅速下降。(图 5)

流行病学调查于 2012 年 6 月 25 日开始, 当地卫生局在调查组建议下于 2012 年 6 月 26 日开始实施防控措施。防控措施包括对病例给予头孢他啶 (50-100 mcg/kg) 进行治疗, 建立隔离病房, 将每个新生儿病房的护士分为两组, 1 组专门照料腹泻新生儿, 对医院 B 新生儿病房的配奶间

重新装修并彻底消毒。所有病例迅速痊愈, 最后一名病例出现于 2012 年 7 月 1 日。

### 讨论

急性感染性腹泻在发展中国家儿童常见死亡原因居第 2 位。<sup>3</sup> ETEC, 诺如病毒、副溶血性弧菌和志贺杆菌每年造成约 1 百 50 万儿童死亡。<sup>14,15</sup> 诊断 ETEC 依赖复杂且昂贵的毒力基因检测。自贡市的 4 所医院实验室均未将 ETEC 纳入日常检测项目, 导致确定病原滞后。此次暴发病例的临床症状与新生儿常见的腹泻有明显不同, 但医院 B 在现场流行病学调查开展前未将病案记录做系统整理分析从而通过症状推断病原。建议在面对霍乱样腹泻病例聚集时, 医生可优先考虑 ETEC 感染鉴别诊断。

针对耐药性报道和讨论在 ETEC 防控中非常普遍。<sup>16,17</sup> 本次暴发中, 因为抗生素治疗效果不显著, 引起暴发的 ETEC 菌株的多耐药特征不仅阻碍了病例治疗, 而且还误

导调查组将病毒感染作为主要考虑的发病因素。尽管引起本次暴发的 ETEC 菌株实际上中等耐受头孢他啶, 调查组的儿科医生们根据病案资料, 在实验室确定病原前, 使用大剂量头孢他啶来治疗病例并取得了立竿见影的效果。值得一提的是对于产志贺样的菌株, 例如肠出血性大肠杆菌 (EHEC), 抗生素治疗可能促进毒素的释放, 从而增加

产生溶血性尿毒综合征 (HUS) 的风险, 儿科医生们根据本次暴发中病例发热程度低, 无粘液便的特点, 推断引起症状的原因因为外毒素, 因此在进行抗生素治疗前首先排除了发生 HUS 的风险。在 ETEC 鉴定方法尚未建立的情况下, 高剂量的新型抗生素疗法或许可作为治疗霍乱样腹泻儿童的可行方法。

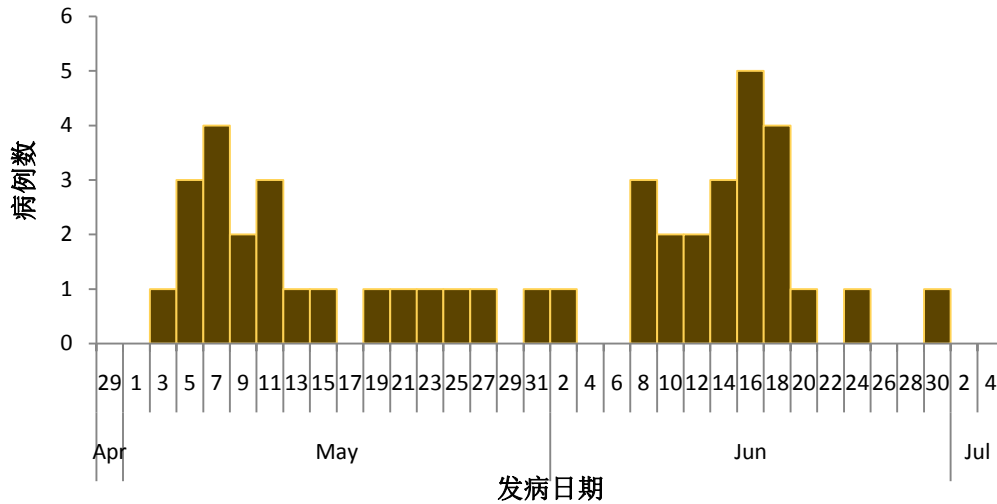


图 5 医院 B 每日发病数, 自贡市, 四川省, 中国, 2012 年 4 月 29 日-7 月 4 日

ETEC 通常通过食物和水传播。<sup>3</sup> 医院更换了水源和奶粉品牌并未终止暴发, 提示水源和奶粉不是污染的来源。ETEC 感染剂量较高 ( $10^6$ - $10^{10}$  CFU), 低剂量下致病性较低。<sup>18</sup> 虽然对照定义未能完全避免纳入轻症的 ETEC 感染者, 病例对照研究仍然强烈提示发病与人工奶粉喂养相关, 特别是发现体重沉的病例 (通常对病原体抗力更强但食奶量更多) 的罹患率显著高于体重轻的病例。考虑到新生儿病房配奶间与洗澡间紧密相连, 护士使用预冷水和开水混合进行配奶, 配奶量杯温度不足以杀死细菌, 因此 ETEC 的主要污染源可能为混合冷热水和奶粉的量杯。

仅人工奶粉喂养环节污染并不能完全解释医院 B 多次卫生强化工作未能控制暴发以及在医院 A 和 C 出现的确诊病例。报道指出 ETEC 可通过接触传播。<sup>19</sup> 虽然新生儿未被隔离在单独的房间, 但他们被放置在各自的新生儿保育箱中, 没有相互直接接触。我们排除了水源和奶粉的污染, 所剩仅有护士及护理设备可能成为大肠杆菌传播的途径, 提示控制大肠杆菌医院内获得性感染不仅需要隔离病人还应隔离照料腹泻病例的护士。虽然如医院 B 一样停止接收病人以控制腹泻病例密度不失为阻断传播链的一个方法, 但可能迫使病例转而进入其他医院住院, 扩大暴发范围, 增加引起社会问题的风险。

因为新生儿生理性腹泻常见并可能频繁住院, 本次暴发调查最大的挑战是确定病例定义和暴露医院。本次调查中值得借鉴的是流行病学专家在咨询调查组内部及调查医院内的儿科专家意见的基础上制定了病例定义, 从而解决了这一问题。

本次调查的主要局限性在于, 虽然此 ETEC 菌株表现出多耐药性, 提示菌株可能在医院 B 或其他抗生素丰富的环境中进化而来, 但调查组未能追溯到菌株是医院 B 原生还是由病人从外界带入。另外, 因为 2012 年 6 月中旬医院 B 已经做了多次消毒并更换了配奶间所有用具, 调查组未能发现奶污染的直接证据。

新生儿病房是一个相对封闭的环境, 病例又极为脆弱, ETEC 暴发可能引起严重后果。设立新生儿病房的医院应建立 ETEC 的实验室鉴定方法。

## 致谢

我们感谢中国现场流行病学培训项目的指导和自贡市卫生局、检验人员、医生和护士在控制此次暴发中的工作。

## 经费支持

作者袁伟和孙亚军的住宿和交通费受到中国现场流行病学培训项目支持。

## 参考文献

1. Qadri F, Das SK, Faruque AS, Fuchs GJ, Albert MJ, Sack RB, et al. Prevalence of toxin types and colonization factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated during a 2-year period from diarrheal patients in Bangladesh. *J Clin Microbiol.* 2000 Jan; 38(1):27-31.
2. Rao MR, Abu-Elyazeed R, Savarino SJ, Naficy AB, Wierzba TF, Abdel-Messih I, et al. High disease burden of diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli* among rural Egyptian infants and

- young children. *J Clin Microbiol.* 2003 Oct; 41(10):4862-4.
3. Qadri F, Svennerholm AM, Faruque AS, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Jul. 18(3):465-83.
  4. Black RE, Merson MH, Huq I, Alim AR, Yunus M. Incidence and severity of rotavirus and *Escherichia coli* diarrhea in rural Bangladesh. Implications for vaccine development. *Lancet.* 1981 Jan;1(8212):141-3.
  5. Qadri F, Wenneras C, Ahmed F, Asaduzzaman M, Saha D, Albert MJ, et al. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated enterotoxigenic *Escherichia coli* plus cholera toxin B subunit vaccine in Bangladeshi adults and children. *Vaccine.* 2000 Jun; 18(24):2704-12.
  6. Holmgren J, Svennerholm AM, Lindblad M. Receptor-like glycoconjugates in human milk that inhibit classical and El Tor *Vibrio cholerae* cell adherence (hemagglutination). *Infect Immun.* 1983 Jan; 39(1):147-54.
  7. Jingsong Y, Yuyan L, Hui L, Lin J, Chaochen L. Pathogenic *Escherichia coli* surveillance result analysis in Fujian Province, 2010-2012. *Preventive Medicine Forum.* 2014;3:161-2.
  8. Kun G, Xuetao Z, Qian H, Huitin H. Pathogenic *Escherichia coli* test and epidemic state analysis on intestinal infection. *International Journal of Laboratory Medicine.* 2014;7:853-4.
  9. National Health and Family Planning Commission. China diagnostic criteria and principles of management of infectious diarrhea. 1997 Oct 6 [cited 2015 Aug 1]. <<http://www.nhfpc.gov.cn/zwgkzt/s9491/201212/34041.shtml>>.
  10. Brandal LT, Lindstedt BA, Aas L, Stavnes TL, Lassen J, Kapperud G. Octaplex PCR and fluorescence-based capillary electrophoresis for identification of human diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella spp.* *J Microbiol Methods.* 2007 Feb;68(2):331-41.
  11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
  12. Centers for Disease Control and Prevention. Epi Info™ 7.1.5 [cited 2015 Aug 1]. <<http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/7/>>.
  13. National Health and Family Planning Commission. Hygienic standards for disinfection in hospitals. 1997 Oct 6 [cited 2015 Aug 1]. <<http://www.moh.gov.cn/zwgkzt/s9488/201410/0e39d3b287e347ccb317a16ae2a4899f.shtml>>
  14. Huilan S, Zhen LG, Mathan MM, Mathew MM, Olarte J, Espejo R, et al. Etiology of acute diarrhea among children in developing countries: a multicentre study in five countries. *Bull World Health Organ.* 1991; 69(5):549-55.
  15. Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrheal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ.* 2003; 81(3):197-204.
  16. Sack DA, Kaminsky DC, Sack RB, Itotia JN, Arthur RR, Kapikian AZ, et al. Prophylactic doxycycline for travelers' diarrhea. Results of a prospective double-blind study of Peace Corps volunteers in Kenya. *N Engl J Med.* 1978 Apr; 298(14):758-63.
  17. Sack RB, Froehlich JL, Zulich AW, Hidi DS, Kapikian AZ, Orskov F, et al. Prophylactic doxycycline for travelers' diarrhea: results of a prospective double-blind study of Peace Corps volunteers in Morocco. *Gastroenterology.* 1979 Jun; 76(6):1368-73.
  18. Levine MM, Nalin DR, Hoover DL, Bergquist EJ, Hornick RB, Young CR. Immunity to enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1979 Mar; 23(3):729-36.
  19. Black RE, Merson MH, Rowe B, Taylor PR, Abdul AAR, Gross RJ, et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: acquired immunity and transmission in an endemic area. *Bull World Health Organ.* 1981;59(2):263-8.