

空肠弯曲菌的流行病学调查及其在夏季腹泻患者中的检出率

袁敏, 曾永鸿, 陈志国, 李晶, 赵欣

袁敏, 陈志国, 李晶, 南阳理工学院张仲景国医学院 河南省南阳市 473004
曾永鸿, 信阳职业技术学院医学院解剖教研中心 河南省信阳市 464000
赵欣, 浙川县教体局 河南省浙川县 474450
作者贡献分布: 此课题由袁敏与曾永鸿设计; 资料搜集与整理由陈志国、李晶及赵欣完成; 数据分析和论文写作由袁敏与曾永鸿完成。
通讯作者: 袁敏, 讲师, 473004, 河南省南阳市长江路80号, 南阳理工学院张仲景国医学院. ymin37@163.com
电话: 0377-62071310
收稿日期: 2014-06-08 修回日期: 2014-06-25
接受日期: 2014-07-01 在线出版日期: 2014-08-28

Epidemiological investigation of *Campylobacte jejuni* and its detection in patients with summer diarrhea

Min Yuan, Yong-Hong Zeng, Zhi-Guo Chen, Jing Li, Xin Zhao

Min Yuan, Zhi-Guo Chen, Jing Li, Zhangzhongjing Traditional Chinese Medicine College, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, Henan Province, China
Yong-Hong Zeng, Xinyang Vocational and Technical College, Xinyang 464000, Henan Province, China
Xin Zhao, Education Bureau of Xichuan, Xichuan 474450, Henan Province, China
Correspondence to: Min Yuan, Lecturer, Zhangzhongjing Traditional Chinese Medicine College, Nanyang Institute of Technology, 80 Changjiang Road, Nanyang 473004, Henan Province, China. ymin37@163.com
Received: 2014-06-08 Revised: 2014-06-25
Accepted: 2014-07-01 Published online: 2014-08-28

Abstract

AIM: To analyze the detection of *Campylobacte jejuni* in patients with diarrhea.

METHODS: The detection of *Campylobacte jejuni* in patients with diarrhea was analyzed retrospectively. The clinical characteristics including patient sex, age, area for examination, and month distribution were analyzed.

RESULTS: The positive rate of *Campylobacte jejuni* was higher than that of *Campylobacter coli* in the years of 2012 and 2013 (6.14% vs 0.16%, 6.20% vs 0.14, $P < 0.05$). There was no significant difference

for the detection rate of *Campylobacte jejuni* between the years of 2012 and 2013 (6.14% vs 6.20%, $P > 0.05$). The positive rates of *Campylobacte jejuni* in males were higher than those in females in patients with summer diarrhea in the years of 2012 and 2013, but the differences were not significant (6.46% vs 5.60%, 6.52% vs 5.62%, $P > 0.05$). The detection of *Campylobacte jejuni* in patients with summer diarrhea in the years of 2012 and 2013 was mainly distributed in the age groups of < 1 and 16-45 years, although there were no significant differences in the positive rates between different age groups (9.33%, 3.31%, 6.25%, 6.60%, 2.44% vs 2.17%; 9.36%, 2.84%, 6.35%, 6.72%, 1.96% vs 0.00%, $P > 0.05$). The positive rates of *Campylobacte jejuni* in the years of 2012 and 2013 were significantly higher in out-patients than in inpatients (7.56% vs 2.37%, 7.82% vs 2.40%, $P < 0.05$). The positive rates of *Campylobacte jejuni* in the years of 2012 and 2013 showed no significant differences among different months (6.00%, 6.28% vs 6.14%; 6.09%, 6.33% vs 6.17%, $P > 0.05$). The positive rates of *Campylobacte jejuni* in summer in the years of 2012 and 2013 were significantly higher than those in the winter of 2012 (1.82%, 6.14% vs 1.82%, 6.20% vs 1.82%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: *Campylobacte jejuni* was one of the major pathogens of summer diarrhea.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Campylobacte jejuni*; Summer diarrhea; Epidemiological

Yuan M, Zeng YH, Chen ZG, Li J, Zhao X. Epidemiological investigation of *Campylobacte jejuni* and its detection in patients with summer diarrhea. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(24): 3705-3709 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i24.3705>

摘要

目的: 探讨空肠弯曲菌在夏季腹泻患者中的检出情况。

背景资料

弯曲菌是常见细菌性肠道病原菌, 主要包括空肠弯曲菌和结肠弯曲菌, 可引起腹泻、急性肠炎以及格林巴利综合征等多种疾病。空肠弯曲菌引起的腹泻具有一定季节性, 多发于夏季。空肠弯曲菌是世界性导致腹泻发病的重要病原菌之一, 尤其对于发展中国家, 婴幼儿因感染空肠弯曲菌引发腹泻发生率较高。由于空肠弯曲菌病死率低、临床监测技术要求较高, 因此目前国内尚未形成有效的空肠弯曲菌监测系统, 对其流性传播缺乏有力控制手段。

同行评议者

李君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

■ 研究前沿

由于病历资料限制,本研究并未对引发空肠弯曲菌感染的相关危险因素进行深入分析。但大量国内外相关报道指出食用未煮熟的鸡肉、饮用生牛奶或不洁净水以及携带猫、狗等宠物,尤其是有腹泻症状的宠物均为引发空肠弯曲菌感染的重要因素。

方法: 回顾性分析南阳理工学院附属医院2012与2013年收治的夏季腹泻患者空肠弯曲菌的检出情况,分析空肠弯曲菌阳性患者性别、年龄、诊区及月份分布特点。

结果: 2012与2013年空肠弯曲菌阳性率均显著高于结肠弯曲菌(6.14% vs 0.16%, 6.20% vs 0.14%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 2012与2013年空肠弯曲菌阳性率比较(6.14% vs 6.20%), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 2012与2013年夏季腹泻患者男性空肠弯曲菌阳性率均高于女性(6.46% vs 5.60%, 6.52% vs 5.62%), 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 2012年与2013年夏季腹泻患者空肠弯曲菌阳性率年龄分布主要集中于<1岁和16-45岁, 但不同年龄段阳性率比较(9.33%, 3.31%, 6.25%, 6.60%, 2.44% vs 2.17%, 9.36%, 2.84%, 6.35%, 6.72%, 1.96% vs 0.00%), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 2012与2013年夏季腹泻患者门诊部空肠弯曲菌阳性率均显著高于住院部(7.56% vs 2.37%, 7.82% vs 2.40%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 2012、2013年夏季腹泻患者不同月份间空肠弯曲菌阳性率比较(6.00%, 6.28% vs 6.14%, 6.09%, 6.33% vs 6.17%), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 2012与2013年夏季腹泻患者空肠弯曲菌阳性率均显著高于南阳理工学院张仲景国医学院2012年临床资料中冬季患者空肠弯曲菌阳性率(6.14% vs 1.82%, 6.20% vs 1.82%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 空肠弯曲菌为引起夏季腹泻的主要致病菌之一, 其流行病学分布具有多样性和复杂性。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 空肠弯曲菌; 夏季腹泻; 流行病学

核心提示: 研究中共检测2626份粪便样本, 其中2012年夏季1238份, 2013年夏季1388份, 两年空肠弯曲菌阳性率分别为6.14%和6.20%, 表明空肠弯曲菌为引起腹泻的常见致病菌。通过对空肠弯曲菌阳性患者流行病学分布情况进行分析, 结果显示: 男性腹泻患者空肠弯曲菌阳性率普遍高于女性, 但二者并无统计学差异。

袁敏, 曾永鸿, 陈志国, 李磊, 赵欣. 空肠弯曲菌的流行病学调查及其在夏季腹泻患者中的检出率. 世界华人消化杂志 2014; 22(24): 3705-3709 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i24.3705>

0 引言

弯曲菌是常见细菌性肠道病原菌, 主要包括空肠弯曲菌和结肠弯曲菌, 可引起腹泻、急性肠炎以及格林巴利综合征等多种疾病^[1]。空肠弯曲菌引起的腹泻具有一定季节性, 多发于夏季^[2]。现回顾性分析南阳理工学院张仲景国医学院2012-2013年收治的夏季腹泻患者空肠弯曲菌的检出情况, 探讨夏季腹泻患者空肠弯曲菌检测结果的性别、年龄等分布情况, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012年夏季(6-8 mo)和2013年夏季南阳理工学院张仲景国医学院门诊部和住院部收治的急性腹泻患者作为研究对象。排除入选前已使用抗生素治疗的患者。其中2012年1238例, 男774例, 女464例, 年龄为6 mo-75岁, 平均年龄为20.66岁±12.33岁, 900例来自门诊部, 338例来自住院部; 2013年1388例, 男890例, 女498例, 年龄为6 mo-75岁, 平均年龄为21.57岁±13.21岁, 972例来自门诊部, 416例来自住院部。所有患者均采用灭菌棉拭采集粪便样品插入Carry-Blair运送培养基中24 h内送检^[3]。空肠弯曲菌标准菌株(ATCC33291)和结肠弯曲菌标准菌株(ATCC43478)均由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所惠赠。

1.2 方法

1.2.1 空肠弯曲菌和结肠弯曲菌的分离培养: 使用灭菌棉拭将粪便样本涂于CCDA平板后使用接种环划线, 在恒温培养箱中分离培养48 h, 培养温度为42 °C, 观察可疑菌落^[4]。可疑菌落初步判断标准: 菌落形态为灰色、扁平、湿润、边缘完整、有金属光泽, 一般直径为1-2 mm^[5]。若未发现可疑菌落需继续培养5-6 d。挑取可疑菌落后使用接种环转划于哥伦比亚血平板上进行分纯^[6]。

1.2.2 空肠弯曲菌和结肠弯曲菌的PCR鉴定: 空肠弯曲菌引物序列: jun1: 5'-CATCTCCCTAGT-CAAGCCT-3', jun2: 5'-AAGATATGGCACTAG-CAAGAC-3'; 结肠弯曲菌引物序列: Col1: 5'-AGGCAAGGGAGCCTTTAATC-3', Col2: 5'-TATCCCTATCTACAAATTCGC-3'^[7]。取灭菌超纯水制备200 μL菌悬液, 在100 °C干式恒温器上加热10 min, 使用12000 r/min离心机离心10 min, 取上清液分装于Eppendorf管中, 作为扩增反应的DNA粗模板^[8]。反应总体积为25 μL, 体系中含dNTP mixtures各0.4 mmol/L, 10×Buffer

表 1 2012年与2013年夏季腹泻患者弯曲菌检测

弯曲菌	2012年			2013年		
	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)
空肠弯曲菌	1238	76	6.14	1388	86	6.20
结肠弯曲菌	1238	2	0.16	1388	2	0.14
合计	2416	78	6.30	2776	88	6.34

表 2 2012年与2013年夏季腹泻患者不同性别空肠弯曲菌阳性率分布

性别	2012年			2013年		
	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)
男性	774	50	6.46	890	58	6.52
女性	464	26	5.60	498	28	5.62
合计	1238	76	6.14	1388	86	6.20

表 3 2012年与2013年夏季腹泻患者不同年龄空肠弯曲菌阳性率分布

年龄(岁)	2012年			2013年		
	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)
<1	386	36	9.33	470	44	9.36
1-15	242	8	3.31	282	8	2.84
16-30	224	14	6.25	252	16	6.35
31-45	212	14	6.60	238	16	6.72
46-60	82	2	2.44	102	2	1.96
61-75	92	2	2.17	44	0	0.00
合计	1238	76	6.14	1388	86	6.20

■创新盘点

本研究采用国际标准检测方法, 通过PCR技术对南阳理工学院张仲景国医学院门诊和住院部收治的夏季腹泻患者进行了空肠弯曲菌检测, 为掌握空肠弯曲菌的流行病学特点提供了参考。

2.5 μL, TaKaRaTaq 1.25 U, 引物各10 μmol/L, 细菌DNA粗制模板1 μL^[9]. PCR循环参数为: 94 °C 预变性5 min, 94 °C 1 min、59 °C 1 min、72 °C 1 min, 循环35次, 72 °C 延伸5 min, 然后取扩增产物5 μL在1%琼脂糖凝胶上电泳, 使用Gel Doc XR凝胶成像系统照相^[10].

1.2.3 观察指标: 观察2012-2013年夏季腹泻患者弯曲菌检测结果, 分析空肠弯曲菌阳性患者性别、年龄、诊区及月份分布特点。

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean±SD表示计量资料, 采用*t*检验, 用百分比表示计数资料, 采用χ²检验, *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2012-2013年夏季腹泻患者弯曲菌检测 2012年夏季共检测1238份粪便样本, 弯曲菌阳性78份(6.30%), 其中空肠弯曲菌阳性76份, 占

97.44%; 2013年夏季共检测1388份粪便样本, 弯曲菌阳性88份(6.34%), 其中空肠弯曲菌阳性86份, 占97.73%, 两年空肠弯曲菌阳性率均显著高于结肠弯曲菌, 差异具有统计学意义(*P*<0.05), 提示由弯曲菌引起的夏季腹泻病例中空肠弯曲菌为主要致病菌; 2012与2013年空肠弯曲菌阳性率比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1)。

2.2 2012与2013年夏季腹泻患者不同性别空肠弯曲菌阳性率分布 2012与2013年夏季腹泻患者男性空肠弯曲菌阳性率均高于女性, 但差异无统计学意义(*P*>0.05)(表2)。

2.3 2012与2013年夏季腹泻患者不同年龄空肠弯曲菌阳性率分布 2012与2013年夏季腹泻患者空肠弯曲菌阳性率年龄分布主要集中于<1岁和16-45岁, 但不同年龄段阳性率比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表3)。

2.4 2012与2013年夏季腹泻患者不同诊区空肠弯曲菌阳性率分布 2012与2013年夏季腹泻患者

同行评价

本文通过培养和PCR技术验证了南阳理工学院张仲景国医医院收治的2012、2013夏季腹泻患者中空肠弯曲菌的检出率,结果一致,有一定的临床指导意义。

表 4 2012年与2013年夏季腹泻患者不同诊区空肠弯曲菌阳性率分布

诊区	2012年			2013年		
	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)
门诊部	900	68	7.56 ^a	972	76	7.82 ^a
住院部	338	8	2.37	416	10	2.40
合计	1238	76	6.14	1388	86	6.20

^a $P < 0.05$ vs 住院部。

表 5 2012年与2013年夏季腹泻患者不同月份空肠弯曲菌阳性率分布

月份	2012年			2013年		
	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性	阳性率(%)
6月	400	24	6.00	460	28	6.09
7月	382	24	6.28	442	28	6.33
8月	456	28	6.14	486	30	6.17
合计	1238	76	6.14	1388	86	6.20

门诊部空肠弯曲菌阳性率均显著高于住院部,差异具有统计学意义($P < 0.05$); 2013年不同诊区空肠弯曲菌阳性率较2012年均略有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)(表4)。

2.5 2012与2013年夏季腹泻患者不同月份空肠弯曲菌阳性率分布 2012与2013年夏季腹泻患者不同月份间空肠弯曲菌阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$); 2013年不同月份空肠弯曲菌阳性率较2012年均略有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$); 2012-2013年夏季腹泻患者空肠弯曲菌阳性率均显著高于南阳理工学院张仲景国医学院2012年临床资料中冬季患者空肠弯曲菌阳性率1.82%,差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表5)。

3 讨论

空肠弯曲菌是世界性导致腹泻发病的重要病原菌之一,尤其对于发展中国家,婴幼儿因感染空肠弯曲菌引发腹泻发生率较高^[11]。由于空肠弯曲菌病死率低、临床监测技术要求较高,因此目前国内尚未形成有效的空肠弯曲菌监测系统,对其流性传播缺乏有力控制手段^[12]。本研究采用国际标准检测方法,通过PCR技术对南阳理工学院张仲景国医学院门诊和住院部收治的夏季腹泻患者进行了空肠弯曲菌检测,为掌握空肠弯曲菌的流行病学特点提供了参考。

本研究中共检测2626份粪便样本,其中2012年夏季1238份,2013年夏季1388份,两年空肠弯曲菌阳性率分别为6.14%和6.20%,表明空肠弯

曲菌为引起腹泻的常见致病菌。通过对空肠弯曲菌阳性患者流行病学分布情况进行分析,结果显示:男性腹泻患者空肠弯曲菌阳性率普遍高于女性,但二者并无统计学差异,与Adzitey等^[13]的研究结果相似;夏季腹泻患者空肠弯曲菌阳性率年龄分布主要集中于<1岁和16-45岁两个年龄段,分析原因可能为<1岁婴幼儿免疫能力较差而16-45岁患者由于生活习惯不良或接触小动物及其他细菌感染途径机会较多^[14];门诊部空肠弯曲菌阳性率显著高于住院部,分析原因可能为门诊部患者尚未应用抗生素进行相关治疗,而住院部患者可能已经接受了抗生素经验性用药,起到了一定的临床效果;2012与2013年夏季腹泻患者空肠弯曲菌阳性率均显著高于南阳理工学院张仲景国医学院2012年临床资料中冬季患者空肠弯曲菌阳性率,与春季和秋季空肠弯曲菌阳性率比较也略有升高,表明夏季为空肠弯曲菌感染所致腹泻的多发季节,与相关文献报道结果相符^[15]。

另外,由于病历资料限制,本研究并未对引发空肠弯曲菌感染的相关风险因素进行深入分析。但大量国内外相关报道指出食用未煮熟的鸡肉、饮用生牛奶或不洁净的水以及携带猫、狗等宠物,尤其是有腹泻症状的宠物均为引发空肠弯曲菌感染的重要危险因素^[16]。控制空肠弯曲菌感染相关危险因素对人类健康具有积极意义。

总之,空肠弯曲菌为引起夏季腹泻的主要致

病菌之一, 其流行病学分布具有多样性和复杂性, 采取有效措施加强对食源性和宠物源性危险因素进行控制能够有效降低空肠弯曲菌感染引起的腹泻发生率, 对空肠弯曲菌感染的防控具有积极意义。

4 参考文献

- 1 谢永强, 周珍文, 魏艳, 邓秋连, 黄勇. 广州地区儿童空肠弯曲菌感染的病原学研究. *中国当代儿科杂志* 2009; 11: 422-424
- 2 张昕, 高永军, 冯子健, 王子军, 冉陆. 2008年全国其他感染性腹泻报告病例信息分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3370-3375
- 3 Chen X, Naren GW, Wu CM, Wang Y, Dai L, Xia LN, Luo PJ, Zhang Q, Shen JZ. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. *Vet Microbiol* 2010; 144: 133-139 [PMID: 20116182 DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.12.035]
- 4 徐义刚, 李丹丹, 田长永, 刘志梅, 李苏龙, 张国财. 应用DNA环介导恒温扩增技术快速检测空肠弯曲菌. *中国农业科学* 2012; 45: 2751-2757
- 5 Khan IU, Gannon V, Loughborough A, Jokinen C, Kent R, Koning W, Lapen DR, Medeiros D, Miller J, Neumann N, Phillips R, Robertson W, Schreier H, Topp E, van Bochove E, Edge TA. A methods comparison for the isolation and detection of thermophilic *Campylobacter* in agricultural watersheds. *J Microbiol Methods* 2009; 79: 307-313 [PMID: 19818368 DOI: 10.1016/j.mimet.2009.09.024]
- 6 Wiczorek K, Kania I, Osek J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from poultry carcasses in Poland. *J Food Prot* 2013; 76: 1451-1455 [PMID: 23905805 DOI: 10.4315/0362-028X]
- 7 徐君怡, 曹际娟, 郑秋月, 裴轶君, 于珂. 多重PCR-变性高效液相色谱检测食品中空肠弯曲菌和结肠弯曲菌. *中国预防兽医学报* 2009; 31: 207-212
- 8 孟凡亮, 张茂俊, 何利华, 张建中. 格林巴利综合征相关及单纯腹泻相关空肠弯曲菌细胞毒作用分析. *中国人兽共患病学报* 2010; 26: 10-12
- 9 Sivadon-Tardy V, Orlikowski D, Porcher R, Ronco E, Caudie C, Roussi J, Fauchère JL, Mégraud F, Tabor H, Sharshar T, Annane D, Raphaël JC, Gaillard JL. Detection of *Campylobacter jejuni* by culture and real-time PCR in a French cohort of patients with Guillain-Barre syndrome. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2278-2281 [PMID: 20410350 DOI: 10.1128/JCM.00381-10]
- 10 李彩金, 谢永强, 周珍文, 邓秋连, 黄钰君, 何艳明. 2008-2011年广州地区腹泻儿童空肠弯曲菌感染情况及耐药性变迁. *热带医学杂志* 2012; 12: 730-732
- 11 田辉. 肠道致病菌群体感应研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 879-884
- 12 廖和壮, 林玫, 周凌云, 梁大斌, 黄君. 广西南宁市腹泻人群空肠弯曲菌流行状况调查. *应用预防医学* 2013; 19: 132-134
- 13 Adzitey F, Rusul G, Huda N, Cogan T, Corry J. Prevalence, antibiotic resistance and RAPD typing of *Campylobacter* species isolated from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia. *Int J Food Microbiol* 2012; 154: 197-205 [PMID: 22285201 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.006]
- 14 林玫, 周凌云, 王鸣柳, 廖和壮, 黄君, 农志新, 农良伟, 梁大斌, 权怡, 方锦嵩, 张茂俊. 广西空肠弯曲菌和结肠弯曲菌流行病学调查. *中国人兽共患病学报* 2012; 28: 1143-1147
- 15 翟海华, 王娟, 王君伟, 盖文燕, 黄秀梅, 曲志娜. 空肠弯曲菌的致病性及致病机制研究进展. *动物医学进展* 2013; 34: 164-169
- 16 Yamazaki W, Taguchi M, Kawai T, Kawatsu K, Sakata J, Inoue K, Misawa N. Comparison of loop-mediated isothermal amplification assay and conventional culture methods for detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in naturally contaminated chicken meat samples. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 1597-1603 [PMID: 19139242 DOI: 10.1128/AEM.02004-08]

编辑 田滢 电编 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

