

参考文献

- [1] Kodama H. Trace elements deficiency in infants and children[J]. JMA J, 2004, 47(3): 376-381.
- [2] 陈文强. 微量元素锌与人体健康[J]. 微量元素与健康研究. 2006, 23(1): 62.
- [3] 宋继军, 岳晓红, 周莉. 郑州市不同年龄段儿童血液 5 种元素的检测结果[J]. 职业与健康, 2008, 24(6): 556-557.
- [4] 刘春芳. 郑州地区 32 例婴幼儿血液微量元素调查分析[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(12): 1668-1670.
- [5] 吴绍晶, 徐丹. 在托儿童全血 5 种元素水平检测结果分析[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(6): 932-933.
- [6] International Organization for Standardization. ISO15189: medical laboratories-particular requirements for quality and competence[S]. Geneva, Swiss: ISO, 2003.
- [7] 开海涛, 苏明, 崔永生, 等. 江苏省淮安市楚州区儿童发中部分矿物质含量调查分析[J]. 中国卫生统计, 2009, 26(4): 400-401.
- [8] 张伟淳. 微量元素锌在儿童生长发育中的作用[J]. 当代医学, 2011, 17(1): 41.
- [9] 全桃玲, 张大凤, 孙茜. 微量元素锌与儿童智力发育相关分析[J]. 中国误诊学杂志, 2012, 10(13): 3102-3103.
- [10] 李梅君. 锌制剂辅助治疗小儿腹泻的临床效果及其对患儿免疫功能的影响[J]. 中国当代医药, 2015, 22(2): 118-120.
- [11] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007.
- [12] Walton RM. Establishing reference intervals: health as a relative concept[J]. Semin Avian Exot Pet Med, 2006, 10(1): 67-68.

(收稿日期: 2016-10-06 修回日期: 2016-12-07)

肠道感染中 ETEC 流行病学特征及相关因素分析

高 昆¹, 赵雪涛²

(1. 上海市徐汇区大华医院检验科 200237; 2. 上海市徐汇区疾病预防控制中心 200237)

摘要:目的 研究产毒性大肠埃希菌(ETEC)感染的流行病学特征及感染者的相关因素, 为有效控制 ETEC 引起的腹泻提供依据。**方法** 对腹泻病例使用 PCR 方法检测 ETEC, 对 ETEC 阳性病例进行流行病学分析, 并统计阳性病例的其他相关实验室数据。**结果** 共检出 ETEC 阳性菌株 65 株, 阳性率为 10.59%。20~39 岁年龄组阳性率最高, 为 14.60%, 6~8 月和 11、12 月分离的阳性菌株最多, 同时检出 2 株沙门菌。阳性菌株的患者中, 粪标本异常的为 10.77%, 血液中白细胞计数异常的为 28.33%, C 反应蛋白异常的为 34.00%。**结论** ETEC 是引起感染性腹泻的重要致病菌, 呈分散分布, 有其他肠道致病菌的混合感染, 应引起临床的足够重视。

关键词: 感染性腹泻; 产毒性大肠埃希菌; 流行病学; 混合感染

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)07-0963-03

大肠埃希菌是人体肠道中的正常菌群, 当机体抵抗力下降或细菌侵入肠外部位时, 可成为条件致病菌而引起感染, 如尿路感染、菌血症、伤口感染和肺炎等。有些肠道内的大肠埃希菌通过质粒传递等方法携带致病毒力基因, 可引起胃肠功能紊乱而造成腹泻, 称致泻性大肠埃希菌(diarrheagenic escherichia coli, DEC)。产毒性大肠埃希菌(enterotoxigenic escherichia coli, ETEC)携带不耐热肠毒素(heat labile toxin, LT)和耐热肠毒素(heat stable toxin, ST), 可引起恶心、腹痛、低热以及急性发作的水样腹泻, 是最为常见的一种致泻性大肠埃希菌, 常规的细菌培养与鉴定方法检出率低^[1]。本研究使用分子生物学的方法检测 LT 和 ST, 同时对阳性患者收集其他相关实验室数据, 以了解 ETEC 感染的流行情况, 患者感染时的身体情况, 为 ETEC 感染的防治和感染患者的个性化治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 上海徐汇区大华医院 2014 年 1—12 月急诊及肠道门诊以腹泻、肠炎等为特征的患者, 共 614 例, 其中男 296 例, 女 318 例, 年龄 18~84 岁, 患者同时进行志贺沙门菌培养、霍乱弧菌培养和致泻性大肠埃希菌培养、鉴定, 并进行血常规、CRP 和粪常规等相关检查。

1.2 试剂及仪器 HE 平板、克氏双糖铁和营养琼脂平板等培养基为上海伊华公司产品。PCR 引物、探针及 Taq 酶和 dNTP 等试剂均由上海赛百盛生物技术有限公司合成与提供。荧光定量 PCR 仪为 BIO-RAD IQ5。血球计数仪为 Symex-XS

800i 及配套试剂。C 反应蛋白(CRP)检测仪为深圳国赛公司产品。志贺菌和沙门菌诊断血清为宁波天润产品。

1.3 细菌培养鉴定 标本接种于 HE 平板, 35 ℃ 18~20 h, 首先选取绿色或淡绿色的、中等大小或中心黑色的、透明或半透明的菌落, 接种克氏双糖铁斜面, 孵育 18~24 h 后, 生化反应为乳糖不发酵、葡萄糖发酵的菌株, 使用志贺菌和沙门菌诊断血清进行志贺菌和沙门菌的鉴定。然后选取单个橙红色、中等大小、透明或半透明、发酵乳糖菌落转种营养琼脂, 按照文献[2]进行大肠埃希菌鉴定, 对部分不典型菌株用 API20E 确认, 对确认为大肠埃希菌的菌株进行 ETEC 的鉴定。

1.4 DNA 制备 粪标本中分离的大肠埃希菌, 转种营养琼脂平板, 35 ℃ 孵育 18~20 h, 选取数个分纯的菌落, 放入含有 0.1% triton X-100 及 0.5 mmol/L EDTA 配制溶液 100 μL 悬浮, 浓度约为麦氏浊度 2 个单位, 100 ℃ 金属浴 5 min, 12 000 g 离心 5 min, 取上清液作为 DNA 模板用于 PCR 检测。

1.5 ETEC 的检测 采用 PCR 的方法检测 ETEC 的 ST 和 LT。用 Premier 公司 Beacon designer7.9 软件获取基因编号序列, 用软件选取上下游引物和探针, 见表 1。PCR 反应体系: Mg²⁺ 浓度为 5 mmol/L, 上下游引物浓度为 0.25 μmol/L, 探针浓度为 0.15 μmol/L, dNTPs 各 0.2 mmol/L, Taq 酶为 2 IU, 模板为 3 μL, 用 dH₂O 补足总体积为 30 μL。PCR 反应条件: 37 ℃ 2 min, 94 ℃ 3 min, 1 循环; 94 ℃ 10 s, 60 ℃ 40 s, 40 循环; 60 ℃ 测定荧光值。

表 1 ETEC 的引物和探针序列

毒力基因	引物和探针	序列(5'-3')	片段长度	位置	基因库编号
LT	LT-F	GCC ATT GAA AGG ATG AAG	89 bp	457-545	X83966 ^[3]
	LT-R	GGG GTT TTA TTA TTC CAT ACA			
	LT-tq	AAG AAT CAC ATA TCT GAC CGA GAC CAA			
ST	ST-F	GCT GTG AAC TTT GTT GTA	101 bp	461-561	M25607 ^[3]
	ST-R	TCA GCA CCA ATA CAT ATA ATA TAG			
	ST-tq	TCC TGC CTG TGC TCC ATG TTA TTA			

1.6 质控菌株 肠产毒性大肠埃希菌 44 824 为阳性对照菌株,大肠埃希菌 25 922 和临床分离的鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌等本实验室分离菌株作为阴性对照,检测方法和临床标本检测方法相同。

1.7 统计学处理 使用 SPSS20.0 统计相关数据。

2 结 果

2.1 ETEC 检测结果 2013 年共计送检腹泻病例 614 例, ETEC 阳性 65 株,阳性率为 10.59%。检出阳性菌株呈分散情况,除 2、3 月未见阳性菌株外,其余月份均有阳性菌株分离,阳性率最高时是 8 月,其次为 7 月、11 月和 12 月。阳性菌株数最多的是 7 月,其次为 8 月、11 月和 12 月,与阳性率相仿。具体情况见图 1。

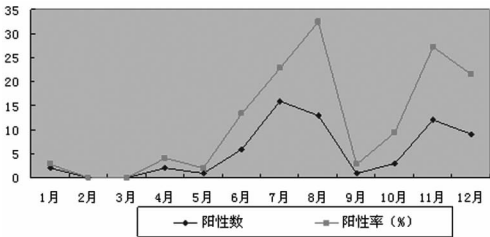


图 1 阳性菌株和阳性率情况

2.2 年龄分布 614 例患者的年龄在 18~84 岁,按照不同年龄分组,20~39 岁年龄组阳性率最高,为 14.60%,40~59 岁年龄组最低,为 6.98%,具体见表 2。

表 2 各年龄组 ETEC 检出情况

年龄(岁)	检测数	阳性数	阳性率(%)
16~19	46	4	8.70
20~39	226	33	14.60▲
40~59	172	12	6.98▲
≥60	170	16	9.41
合计	614	65	10.59

注:▲ $P<0.05$,两两比较,20~39 岁年龄组和 40~59 岁年龄组阳性率有差异,20~39 岁年龄组阳性率高于 40~59 岁组,差异有统计学意义。

2.3 ETEC 肠毒素类型 65 株 ETEC 中,ST 阳性 35 株,LT 阳性 23 株,ST/LT 阳性 7 株。ST 阳性最多。

2.4 其他结果 65 株 ETEC 阳性患者中同时检出 2 株沙门菌,1 株为德比沙门菌,1 株为阿哥纳沙门菌。65 株阳性患者其他实验室检查中:粪标本大多为稀糊状,有 7 份标本显微镜下检测到红细胞和或白细胞,阳性率为 10.77%;在血常规和 CRP 检测中,以白细胞计数大于 $10\times 10^9/L$ 和 CRP 检测大于 8 mg/L 为阳性,阳性率分别为 28.33%(17/60)、34.00%(17/50),二者共同阳性为 12.00%(6/50)。

3 讨 论

大肠埃希菌由于携带致病毒力基因,能引起轻微腹泻至霍

乱样严重腹泻,并能引起致死性并发症如溶血性尿毒综合征等,主要为 ETEC、致病性大肠埃希菌、侵袭性大肠埃希菌等,由于形态与普通大肠埃希菌相似,在培养平板上的表现及生化反应和普通大肠埃希菌均相似,血清凝集方法因为血清类型众多而阳性率偏低,给临床诊断带来了困难。近年来,国内外已有学者依据不同菌株致病毒力基因差异使用分子生物学的方法来进行鉴定^[4-6]。分子生物学的灵敏度和特异性高于血清学方法,而且,由于一些携带毒力基因的质粒片段可在不同菌株之间相互传递,检测菌株的毒力基因,能真实反映菌株的致病因子,及时发现新的变异菌株,因此,分子生物学的方法已成为鉴定致泻性大肠的常规方法。

ETEC 是本地区 DEC 中阳性菌株数最多的一种^[7-8],本研究收集 2014 年 1—12 月 ETEC 阳性的菌株共 65 株,阳性率为 10.59%。ETEC 一直被认为是引起儿童和旅游者腹泻的重要致病菌^[9],本研究监测发现,腹泻阳性病例主要集中在 20~39 岁年龄组,占总阳性病例的 50.77%(33/65),该年龄组的阳性率也为最高,为 14.60%,这提示该年龄组的人群为重点监测的人群。该年龄组人群一般交际广泛,经济条件较好,外出就餐、旅游机会较多,身体状况较好,不太注意卫生条件,增加了感染的机会。

经过 1 年监测发现,ETEC 呈现全年散发的情况,除了 2 月、3 月没有发现阳性病例外,其他月份都有阳性检出,阳性主要集中在 6—8 月和 11 月、12 月,这和以往报道有所不同^[10]。这可能是每年 ETEC 流行情况有所不同,不仅要肠道传染病高发的 6—9 月监测,对 11—12 月也要加强监测。

统计分析 ETEC 阳性患者的其他试验结果发现,粪便标本大多呈水样、糊状,只有 10% 的发现有白细胞、红细胞等异常细胞,血常规和 CRP 结果异常的也仅约 30%,这说明患者一般情况较好,中毒症状较轻。文献报道,发病时间一般 3~4 d,对症治疗大多好转,在旅行者腹泻中尤为多见^[11-12]。但是,我们在监测中发现,患者人群相对固定,大多为医院周边的居民,同时,发现两例同时感染沙门菌的患者,这提示肠道感染有混合感染的现象,这在以往的监测中很少出现,这是否表明肠道感染出现混合感染的趋势,需要我们进一步观察。

总之,近年来由于气候和人员流动较为频繁的原因,肠道传染病的流行发生变化,提示今后不仅要的 7—9 月对致泻性大肠埃希菌的监测,还要在 11—12 月第二高峰期加强监测。同时,在检测致 DEC 时,还要加强其他肠道传染病的病原菌检测,了解肠道致病菌混合感染的情况,为肠道传染病的预防和控制提供实验室的依据。

参考文献

[1] 陈爱平,陈建辉,杨劲松,等. 分子生物学技术在肠致泻性大肠杆菌诊断中的应用[J]. 中国人兽共患病学报,2011, 27(9):808-811.

- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:801-802.
- [3] Jun Y,Shioko S,Yoshimichi M,et al. Characterization of Atypical Enteropathogenic Escherichia coli Strains Harboring the eastA Gene That Were Associated with a Waterborne Outbreak of Diarrhea in Japan[J]. J Clin Microbiol,2003,41(20):2033-2039.
- [4] 张小飞,张召军,张广州,等. 产肠毒素大肠埃希菌快速检测方法的建立与评价[J]. 中国实验动物学报,2013,21(1):31-35.
- [6] Lozer DM, Souza TB, Monfardini MV, et al. Genotypic and phenotypic analysis of diarrheagenic Escherichia coli strains isolated from Brazilian children living in low socio-economic level communities[J]. BMC Infect Dis,2013,13(4):418.
- [6] Gonzales L, Sanchez S, Zambrana S, et al. Molecular characterization of enterotoxigenic Escherichia coli isolates recovered from children with diarrhea during a 4-year period (2007 to 2010) in Bolivia. [J] J Clin Microbiol. 2013,51(4):1219-1225.
- [7] 赵雪涛,高昆,张春华. 2011 至 2012 年徐汇区致泻性大肠埃希菌病原学监测与流行病学研究[J]. 检验医学,2013,• 临床研究 •
- 28(8):671-675.
- [8] 高昆,赵雪涛,韩倩,等. 肠道感染中致泻性大肠埃希菌的检测及流行情况分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(8):853-854.
- [9] Gomez-Duarte OG, Romero-Herazo YC, Paez-Canro CZ, et al. Enterotoxigenic Escherichia coli associated with childhood diarrhoea in Colombia, South America[J]. J Infect Dev Ctries,2013,7(5):372-381.
- [10] 张春华,赵雪涛,张俊婕,等. 上海市徐汇区 2011 年感染性腹泻病原学及流行病学特征分析[J]. 上海预防医学,2013,25(1):11-14.
- [11] Rodas C, Mamani R, Blanco J, et al. Enterotoxins, colonization factors, serotypes and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) strains isolated from hospitalized children with diarrhea in Bolivia [J]. Braz J Infect Dis,2011,15(2):132-137.
- [12] Arenas-Hernández MM, Martínez-Laguna Y, Torres AG. Clinical implications of Enteroadherent Escherichia coli [J]. Curr Gastroenterol Rep,2012,14(5):386-394.

(收稿日期:2016-09-05 修回日期:2016-11-06)

临产孕妇凝血三项和血栓弹力图检测的临床意义

戴 隽

(上海市浦东新区周浦医院检验科 201318)

摘 要:目的 探讨孕妇在临产期间凝血功能相关指标的变化及其临床意义。方法 采用 Stago STA Compact 全自动凝血分析仪、TEG-5000 血栓弹力图分析仪,对 82 例临产孕妇和 40 例非孕健康妇女(健康对照组)的血中凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、凝血反应时间(R)、凝血形成时间(K)和最大振幅(MA)进行检测和比较分析。结果 临产孕妇的 PT、APTT、R 和 K 显著低于健康对照组,两组差异具有统计学意义($P < 0.05$)。而临产孕妇的 FIB 含量和 MA 振幅显著高于健康对照组,两组差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 妊娠中、晚期由于凝血功能增强、抗凝及纤溶功能减弱,造成临产孕妇的血液具有高凝性状,孕妇在临产之前测定机体的凝血功能,可以预防临产孕妇在分娩过程中及产后可能出现的大出血以及预防弥散性血管内凝血(DIC)的发生和及时治疗,同时对于降低临产孕妇 DIC 的发生率和病死率具有重要的临床价值。

关键词:凝血酶原时间; 活化部分凝血活酶时间; 纤维蛋白原; 凝血反应时间; 凝血形成时间; 最大振幅

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)07-0965-03

目前,凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、凝血反应时间(R)、凝血形成时间(K)和最大振幅(MA)等凝血功能的检测项目应用于血栓形成的判断、抗凝效果的疗效,同时用于诊断机体病理的出血和凝血系统的变化,是重要的初筛凝血性疾病的术前指标。检测结果的准确性对疾病的诊断及疗效具有重要的临床意义。妇女在妊娠期间,具有特殊的生理变化使其血液具备相对稀释和高度凝集的两重性,随着凝血系统内源性和外源性的水平提升,FIB 的水平也同步增高,有效地防止孕妇出现产后大出血的可能,表明在妊娠的晚期孕妇血液中通常会出现凝血的症状,是造成弥散性血管内凝血(DIC)最直接的因素^[1]。动态监测临产孕妇和健康非孕妇女的 PT、APTT、FIB、R、K、MA 等凝血项目对 DIC 的预防、治疗以及合理用药等方面具有重要的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 82 例临产孕妇是住院的患者,年龄 23~31

岁,平均年龄 26 岁,该样本组均具有正常的基本生理功能,无血液系统疾病史,无出血性疾病史。健康对照组来源于本院健康体检非孕妇女 40 例,年龄 23~33 岁,平均年龄 27 岁,该样本组的基本生理功能均正常。

1.2 仪器与试剂 仪器是 Stago STA Compact 全自动凝血分析仪,Stago 公司提供配套试剂和质控品。TEG-5000 血栓弹力图分析仪,是美国 Haemoscope 公司产品,采用进口试剂与配套质控品。

1.3 方法 采集 1.8 mL 静脉血,放入有 0.2 mL 浓度为 109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝剂试管(9:1)内充分均匀,把标本置于离心机内离心 15 min,转速是 3 000 r/min,将血浆分离^[2-3],黄疸、脂肪血和溶血现象均未出现在本研究中的样本血浆中。全程严格遵守仪器操作规程的各项规定并规范操作,在 2 h 内所有的样本必须完成血浆分离和测定 PT、APTT、FIB、R、K、MA 的全过程。