

· 论 著 ·

544 例急性腹泻门诊病例粪便的细菌菌谱及药敏分析

杨焕章, 严育忠, 范慧清, 徐 英
(上海市浦东医院检验科, 上海 201300)

摘要:目的 了解急性腹泻患者粪便细菌菌群分布及其抗菌药物耐药情况, 为临床合理使用抗菌药物提供科学依据。方法 对该院 2011 年 1 月至 2012 年 12 月 544 例肠道门诊患者的粪便标本进行分离鉴定和药物敏感试验。结果 544 份粪便标本共分离到 97 株致病菌, 总检出率为 17.83%, 其中致泻性大肠埃希氏菌属、非伤寒沙门氏菌属、弯曲菌属、副溶血性弧菌、其他气单胞菌、类志贺邻单胞菌、志贺氏菌属和嗜水气单胞菌的检出率分别为 4.78%、3.68%、2.57%、2.39%、1.84%、1.28%、0.92% 和 0.37%。药敏试验结果为致泻性大肠埃希氏菌、沙门氏菌和副溶血性弧菌对氧氟沙星、阿莫西林、头孢他啶、氟喹诺酮、头孢吡肟、庆大霉素较为敏感, 敏感率均在 80% 以上, 腹泻常见致病菌对各种常用抗菌药物均产生了不同程度的耐药性, 其中, 氨苄青霉素、茶啶酸耐药性最为明显。结论 致泻性大肠埃希氏菌、非伤寒沙门氏菌、弯曲菌及副溶血性弧菌是主要病原菌, 条件致病菌出现增多的趋势, 且对各种抗菌药物均出现了不同程度的耐药性, 临床医师应根据药敏结果合理选择抗菌药物, 避免经验用药, 从而提高感染性腹泻的疗效。

关键词: 腹泻; 细菌菌群分布; 分离鉴定; 药敏试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.019

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)12-1682-03

Analysis bacterial culture, identification and antibiotics resistance of 544 stools specimens of acute diarrhea outpatients

Yang Huanzhang, Yan Yuzhong, Fan Huiqin, Xu Ying

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Pudong Hospital, Shanghai 201300, China)

Abstract: Objective To investigate the bacterial spectrum and antimicrobial resistance of pathogens isolated from stool of acute diarrhea outpatients, and provide scientific evidence for clinic rational use of antibiotics. Methods Bacteria was detected by conventional feces culture method, including separation and biochemistry appraisal sure strains. The predominant bacteria were conducted antimicrobial resistance testing in acute diarrhea outpatients. Results 544 stool specimens were collected from acute diarrhea outpatients from January 2011 to December 2012. The total positive rate was 17.83%. Positive rates of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Other Aeromonas*, *Shiga Plesiomonas*, *Shigella* and *Aeromonas hydrophila* were 4.78%, 3.68%, 2.57% and 2.39%, 1.84%, 1.28%, 0.92% and 0.37%, respectively. *Salmonella*, *Campylobacter* and *Vibrio parahaemolyticus* were susceptible to Ofloxacin, Amoxicillin, Cefazidime. They were different resistance to conventional antibiotics, which were commonly used by clinic, and the most serious resistance are ampicillin and nalidixic acid. Conclusion *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Campylobacter* and *Vibrio parahaemolyticus* are predominant bacteria pathogens. It is important to better understand pathogens spectrum and antimicrobial resistance of bacteria for controlling infection in acute diarrhea outpatients.

Key words: diarrhea; bacterial spectrum; isolation and identification; antimicrobial resistance

腹泻是临床上十分常见的一种症状, 其中由病原菌感染引起的感染性腹泻最为多见^[1], 是严重危害人民身体健康的多发病, 是全球的公共卫生问题之一^[2]。近年来, 随着抗菌药物的广泛使用, 耐药现象越来越明显, 临床上还出现了各种新的肠道病原菌^[3]。为了解本院就诊的急性腹泻患者大便的细菌菌群分布和对抗菌药物的耐药情况, 为临床合理应用抗菌药物提供参考, 特对 2011 年 1 月至 2012 年 12 月来本院肠道门诊就诊的 544 例急性腹泻患者的粪便标本进行细菌培养、分离鉴定和药敏试验。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 腹泻病例定义为 24 h 内大便次数大于或等于 3 次、且大便性状有改变(呈稀便、水样便、黏脓便或脓血便等)的门诊病例。选取 2011 年 1 月至 2012 年 12 月来本院肠道门诊就诊的部分急性腹泻患者作为研究对象, 对选取患者的粪便标本均进行了致病菌培养、分离和鉴定。

1.2 仪器与试剂 ATB1525 自动微生物鉴定及药敏分析仪(法国生物梅里埃股份有限公司); SS 琼脂、TCBS 琼脂、血琼脂

培养基、麦康凯培养基等; 志贺氏菌以及沙门氏菌的诊断血清(宁波天润生物药业有限公司); 药敏纸片(杭州天和微生物试剂有限公司)。

1.3 细菌检测分离与鉴定方法 置于 Cary-Blair 半固体培养基内的粪便标本, 增菌后接种不同培养基作霍乱弧菌、致泻性大肠埃希氏菌属(致病性大肠杆菌 EPEC、肠毒素性大肠杆菌 ETEC、侵袭性大肠杆菌 EIEC、出血性大肠杆菌 EHEC、黏附性大肠杆菌 EAEC)非伤寒沙门氏菌属、志贺氏菌属、小肠结肠炎耶尔森氏菌、副溶血弧菌、嗜水气单胞菌和类志贺邻单胞菌等细菌分离培养、生化鉴定和血清分型。将 544 份粪便标本依次接种到血琼脂平板、TCBS、SS 琼脂平板、碱性蛋白胨水等, 于 36 °C 的条件下, 培养 16~24 h, 采用 ATB 自动微生物鉴定及药敏分析系统与常规生化微量管相结合的方法, 对所有粪便标本进行鉴定和药敏相关试验。仪器操作按照仪器的相关操作进行。肠道病原菌的检验技术方案和规程按照中国疾病预防控制中心制定的腹泻症候群监测方案执行。由于本实验主要为研究致病菌和菌群中的异常优势生长的条件致病菌, 因此

除检出致病菌外的由菌群失调导致优势生长的条件致病菌也一并纳入。

1.4 药敏试验 对检测阳性的致泻性大肠埃希氏菌、沙门氏菌、副溶血性弧菌、弯曲菌和志贺菌进行氨苄西林、阿莫西林、头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、链霉素、四环素、氯霉素、茶啶酸、氧氟沙星、甲氧嘧啶、磺胺甲基异恶唑(复方磺胺甲噁唑)/甲氧苄氨嘧啶等 12 种抗菌药物药敏检测,采用临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的 Kirby-Bauer 纸片扩散法进行药敏试验,判断标准参照 CLSI 2010 年颁布的标准^[4]。

2 结 果

2.1 病原菌检出情况 选取 544 例急性腹泻患者作为研究对象,其中男性患者 289 例,女性患者 255 例,年龄 25 d 至 92 岁,年龄中位数为 42.8 岁。544 份腹泻患者标本检出病原菌 97 株,检出率为 17.83%,其中霍乱弧菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌未检出,其他各致病菌型检出情况,见表 1。

表 1 2011~2012 年浦东医院急性腹泻患者致病菌检出情况

病原菌	检出菌株数(n)	检出率(%)	构成比(%)
嗜水气单胞菌	2	0.37	2.06
志贺氏菌属	5	0.92	5.15
类志贺邻单胞菌	7	1.28	7.22
其他气单胞菌	10	1.84	10.32
副溶血性弧菌	13	2.39	13.40
弯曲菌属	14	2.57	14.43
非伤寒沙门氏菌属	20	3.68	20.62
致泻性大肠埃希菌属	26	4.78	26.80
合计	97	17.83	100.00

2.2 病原菌的季节检出情况 4~9 月份检出菌株占全年的 79.27%,其中 7~9 月份占 43.78%,4~6 月份占 35.49%,说明夏秋季为细菌性腹泻的高发季节,见表 2。

表 2 2011~2012 年浦东医院各季节病原菌检出情况

月份	菌株数(n)	构成比(%)
1~3 月	8	7.83
4~6 月	34	35.49
7~9 月	43	43.78
10~12 月	12	12.90
合计	97	100.00

2.3 药敏检测情况 对致泻性大肠埃希氏菌属、沙门氏菌属、副溶血性弧菌及志贺菌属 4 种病原菌进行了 12 种抗菌药物的药敏检测。各种病原菌对抗菌药物的敏感度为致泻性大肠埃希氏菌对氧氟沙星最为敏感,敏感率为 96%,对阿莫西林、头孢他啶、氯霉素、头孢吡肟、庆大霉素较为敏感,敏感率分别为 92%、92%、92%、88%、88%,对氨苄西林、茶啶酸、甲氧嘧啶、链霉素都有不同程度耐药;沙门氏菌对氧氟沙星最为敏感,敏感率为 100%,对阿莫西林、头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、甲氧嘧啶、复方磺胺甲噁唑和氯霉素较为敏感,敏感率分别为 95%、95%、95%、95%、90%、85%和 85%,对茶啶酸、氨苄西林、链霉素、四环素均有不同程度耐药,见表 3(见《国际检验医

学杂志》网站主页“论文附件”);志贺菌对头孢他啶和氧氟沙星较为敏感,敏感率为 80%,对氨苄西林、甲氧嘧啶、茶啶酸 100%耐药,对复方磺胺甲噁唑、四环素和庆大霉素的耐药也较为严重;副溶血性弧菌对头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、四环素、氯霉素、复方磺胺甲噁唑最为敏感,敏感率均为 100%,对阿莫西林、氧氟沙星、头孢吡肟较为敏感,敏感率分别为 92%、92%、77%,对阿米卡星和环丙沙星较不敏感。

3 讨 论

本研究显示,致泻性大肠埃希氏菌、非伤寒沙门氏菌、弯曲菌和副溶血性弧菌为急性腹泻患者的主要优势病原菌,这与上海市其他区县以及邻近地区近年研究结果相似^[5-7]。致病性弧菌中主要为副溶血性弧菌,检出率超过志贺氏菌,弯曲菌属中以空肠弯曲菌为主,亦成为本地区的引起腹泻的主要病原菌。这与宋洁等^[8]报道的烟台市成人感染性腹泻 533 例病原学及药敏分析结果接近。有研究报道,全国腹泻病病原菌中位居前列的是志贺菌、大肠埃希菌和空肠弯曲菌,沙门菌亦是重要的病原体,但多在食物中毒患者中检出^[9],本区 2011 年检测结果显示沙门菌阳性率较高,提示可能存在较多的食源性腹泻病例。此外,副溶血弧菌多通过食用带菌的海产品感染,因此沿海地区检出率较高^[7,10-11],而夏季本地居民多喜食生冷海鲜,可能是导致 7~9 月该病原菌阳性率明显升高的主要原因,浦东新区 2011 年检测结果亦体现这一特点^[12]。

目前细菌耐药已成为治疗细菌性感染最为关注的问题。综合我国部分地区的药物敏感性研究结果可见,各地的耐药率存在较大差异^[13-16]。我国各地区的沙门菌多重耐药现象已较为严重,且耐药谱较广,尤其是对茶啶酸等抗菌药物耐药非常明显,目前的发展趋势是对喹诺酮及头孢类的耐药性不断增强,多重耐药性上升,需引起高度重视,研究中发现沙门菌对茶啶酸耐药率较高外,对其他喹诺酮、头孢类药物的敏感性保持较高的水平。对有报道提出副溶血弧菌也可能存在超级耐药株^[17],本次研究还未发现副溶血弧菌多重耐药菌株,分离株仅对氨苄西林有极高的耐药性,对其余抗菌药物仍保持较高敏感性,副溶血弧菌可能存在先天对氨苄西林耐药机制,该菌主要源于海洋水产,相对人工养殖,未受到饲料添加抗菌药物的生存压力。志贺氏菌耐药谱呈现多重性的复合耐药。志贺菌属耐药抗菌药物的种类和耐药率均较 20 世纪 80~90 年代有大幅度上升,提示耐药问题日趋严重,应引起临床用药的高度重视。本研究中,志贺菌属对临床常用的肠道抗菌药物药物如氨苄青霉素、甲氧嘧啶、茶啶酸等产生了较大的耐药性,因此,在治疗感染性腹泻时,临床医师应尽量根据药敏试验结果合理选择抗菌药物,防止出现更加严重的耐药性^[18]。

综上所述,本研究的结果充分显示了肠道感染性腹泻的致病菌群已产生了较大的变化,同时,腹泻患者由于免疫力低下等各种原因,条件致病菌的比例逐渐增高,因此,临床医师应根据药敏结果进行有针对性地用药,避免经验用药,从而提高感染性腹泻的疗效。

参考文献

[1] 王九平,汪定成,聂青和,等. 496 例腹泻患者粪便细菌培养与耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2009, 8(6): 413-416.
 [2] 段立华,何雅青,杨洪,等. 深圳市婴幼儿急性胃肠炎的病毒病原研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2001, 17(5): 107-108.
 [3] Ghidan A, Dobay O, Kaszanyitzky EJ, et al. Vancomycin resistant enterococci (VRE) still persist in slaughtered (下转第 1685 页)

表 1 两组 hs-CRP 水平比较

组别	样本数(n)	hs-CRP($\bar{x} \pm s$, mg/L)
观察组		
稳定型心绞痛	31	7.87 ± 1.97*
不稳定型心绞痛	37	9.69 ± 2.01*△
心肌梗死	9	12.85 ± 2.45△○
对照组	75	3.01 ± 1.52

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; △: $P < 0.05$, 与稳定型心绞痛比较; ○: $P < 0.05$, 与不稳定型心绞痛比较。

表 2 治疗前后 hs-CRP 水平比较

项目	样本数(n)	hs-CRP($\bar{x} \pm s$, mg/L)	
		治疗前	治疗后
稳定型心绞痛	31	7.87 ± 1.97	4.72 ± 1.58*
不稳定型心绞痛	37	9.69 ± 2.01	6.90 ± 1.57*
心肌梗死	9	12.85 ± 2.45	9.73 ± 2.07*

*: $P < 0.05$, 与治疗前比较。

3 讨 论

ACS 是国际上中老年人常见的冠心病的一种。ACS 患者大多数是由于动脉粥样硬化斑块的不稳定性所致,少数由于其他因素(动脉炎、血栓、外伤或介入手术并发症)所致^[6]。其症状同其他类型心脏相关疾病,表现为胸痛、胸闷。ACS 的发病具有老龄化的特点^[7]。男性的发病率较女性高,女性通常发病于绝经后。临床辅助检查上主要依靠实验室检查、心电图、心动图及影像学检查,而实验室检查又是可以提供早期诊断依据并指导治疗^[8]。

本研究对 hs-CRP 指标进行测定,健康体检者的 hs-CRP 指标基本在正常范围,而 ACS 患者的指标则明显高于健康人群,结合患者自身的发病症状及心电图表现可以明确诊断。在 ACS 患者中不稳定型心绞痛的 hs-CRP 指标明显高于稳定型心绞痛的指标,心肌梗死的指标又明显高于不稳定型心绞痛。

可以看出 hs-CRP 指标的变化可以明确反映出 ACS 的发展趋势,对于明确 ACS 的分型及疗效的判定有很好的指导意义。

不仅仅在心血管疾病领域,在妇科疾病、急性感染、呼吸道疾病、外伤及肿瘤等领域,hs-CRP 指标的指示作用也非常的明显。当前 hs-CRP 的研究还在进一步深入,为提高高血压等高危人群的预防意识,指导心血管疾病的临床治疗提供了理论支持。hs-CRP 的普及检测对预防心血管疾病,甚至包括机体其他器官疾病提供了良好的帮助,应当在临床上得到广泛的推广。

参考文献

- [1] 王坤,王文明,盛玉国,等.超敏 C 反应蛋白在短暂性脑缺血发作患者临床转归中的应用[J].当代医学,2011,17(22):14-15.
- [2] 宋宣.超敏 C 反应蛋白检测对急性心肌梗死的诊断价值[J].武警后勤学院学报,2012,21(11):911-912.
- [3] 李甲芬,张静,周红岩,等.超敏 C 反应蛋白、心脏型脂肪酸结合蛋白、肌酸激酶同工酶、肌红蛋白及肌钙蛋白联合检测对急性心肌梗死的诊断价值[J].中国基层医药,2012,19(6):885-886.
- [4] 杨贞文,刘和录,江勇,等.超敏 C 反应蛋白、心肌肌钙蛋白 I 和乳酸对急性病毒性心肌炎的早期诊断价值[J].中国医师进修杂志,2012,35(10):62-63.
- [5] 王伟.检测血清超敏 C 反应蛋白在冠心病、心肌梗死中的临床意义[J].中国社区医师医学专业,2011,13(36):206-208.
- [6] 黄金.血清超敏 C-反应蛋白在急性心肌梗死中的应用价值[J].海南医学院学报,2012,18(5):620-621.
- [7] 徐庆东,贺光辉,宋磊,等.颈动脉粥样硬化和超敏 C-反应蛋白与无症状性脑梗死的关系[J].中国全科医学,2010,13(1):49.
- [8] 宋玉莲,韩波.同型半胱氨酸、超敏 C-反应蛋白、脂蛋白(a)的检测在急性冠状动脉综合征中的临床应用[J].国际检验医学杂志,2010,31(3):290-292.

(收稿日期:2015-01-08)

(上接第 1683 页)

poultry in hungary 8 years after the ban on avoparcin[J]. Acta Microbiol Immunol Hung,2008,55(4):409-417.

- [4] Clinical and Laboratory standards institute. M100-S20 performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [5] 宋黎黎,姚宗蓓,朱斌,等.1997~2002 年上海市卢湾区细菌性腹泻病原谱分析[J].上海预防医学,2003,15(11):546-548.
- [6] 杨丽华,陈秀华,吴菊英,等.上海市闵行区细菌性腹泻病患者病原谱分析[J].上海预防医学,2004,16(8):383-384.
- [7] 徐佩华,周晓红,吴海平,等.海盐县细菌感染性腹泻主要病原菌调查研究及耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2008,18(6):1187-1188.
- [8] 宋洁,蒲增惠,赵茂茂,等.烟台市成人感染性腹泻 533 例病原学及药敏分析[J].公共卫生与临床医学,2010,6(3):219-221.
- [9] 张静.中国感染性腹泻监测策略的思考与建议[J].疾病监测,2007,22(8):505-507.
- [10] Hardegen C, Messler S, Henrich B, et al. A set of novel multiplex Taqman real-time PCRs for the detection of diarrhoeagenic Escherichia coli and its use in determining the prevalence of EPEC and EAEC in a university hospital[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2010, 9(1):5.
- [11] 陈双红,巴剑波,徐雄利,等.厦门海域优势致病性弧菌对抗生素敏感性调查研究[J].中华疾病控制杂志,2008,12(4):406-408.

- [12] 傅益飞,孙乔,朱渭萍,等.2011 年上海市浦东新区社区居民急性腹泻病原谱监测分析[J].中华疾病控制杂志,2013,17(3):246-250.
- [13] 刘元,李国华,张秋香,等.感染性腹泻 151 例病原监测分析[J].中国药物与临床,2008,20(5):410-412.
- [14] 李波.深圳市 1998~2001 年腹泻病原菌监测分析[J].华南预防医学,2004,30(1):79.
- [15] 石亚素,周缀琴.舟山海岛急性腹泻患者病原性弧菌监测分析[J].疾病监测,2000,15(10):380-382.
- [16] 林梅.沙门菌耐药性现状分析[J].医学研究生学报,2012,30(4):427-429.
- [17] 谭海芳,丁丽娜,林凤,等.肇庆市副溶血性弧菌血清分型和耐药性研究[J].实用预防医学,2010,20(2):349-352.
- [18] Weill FX, Guesnier F, Guibert V, et al. Multidrug resistance in Salmonella enterica serotype Typhimurium from humans in France (1993 to 2003)[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(3):700-708.

(收稿日期:2015-02-18)

