

496 例腹泻患者粪便细菌培养与耐药性分析

王九平,汪定成,聂青和,王平忠,黄志中

(第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心,陕西 西安 710038)

[摘要] **目的** 分析西安地区第四军医大学唐都医院 2004—2008 年腹泻患者粪便标本分离的细菌种类及耐药性。**方法** 采用 Microscan WalkAway-40 全自动微生物分析仪对上述标本菌株进行鉴定及药敏分析,药敏试验采用 K-B 纸片扩散法,结果根据美国临床实验室标准化研究所 2006 年版标准判定。**结果** 粪便致病菌及异常优势菌培养阳性率为 36.63%。检出的 496 株细菌中,革兰阳性(G^+)菌 163 株(32.86%),革兰阴性(G^-)菌 299 株(60.28%),真菌 34 株(6.85%); G^+ 菌以肠球菌属(154 株,94.48%)为主, G^- 菌以志贺菌属(136 株,45.48%)为主。肠球菌属对利奈唑胺和万古霉素有较高敏感性,敏感率为 96.10%~100.00%;志贺菌属对亚胺培南、头孢哌酮、头孢曲松和庆大霉素有较高敏感性,敏感率为 81.62%~100.00%。**结论** 了解腹泻患者粪便病原菌的分布特征及其耐药性,对有效控制感染及耐药菌株的产生具有十分重要的临床意义。

[关键词] 腹泻;粪便培养;病原菌;抗药性;微生物;抗菌药物

[中图分类号] R378.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2009)06-0413-04

Bacterial culture on stools in 496 patients with diarrhea and antimicrobial resistance

WANG Jiu-ping, WANG Din-cheng, NIE Qing-he, WANG Ping-zhong, HUANG Zhi-zhong
(The Chinese PLA Centre of Diagnosis and Treatment for Infectious Diseases, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the species and antimicrobial resistance of pathogens isolated from stool of patients with diarrhea in Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University in Xi'an between 2004 and 2008. **Methods** Microscan WalkAway-40 system was used to identify bacteria and analyze antimicrobial susceptibility. Antimicrobial susceptibility tests were performed with Kirby-Bauer method, results were judged according to the standard of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) in 2006. **Results** Positive rate of stool culture was 36.63%. Among 496 isolated bacteria strains, 163 (32.86%) were gram-positive bacteria, 299 (60.28%) were gram-negative bacteria, and 34 (6.85%) were fungus. The main gram-positive bacteria were *Enterococci* (154 strains, 94.48%), the main gram-negative bacteria were *Shigella* (136 strains, 45.48%). *Enterococci* were highly susceptible to linezolid and vancomycin, which was 96.10% to 100.00%; while *Shigella* were highly susceptible to imipenem, cefoperazone, ceftriaxone and gentamycin, which was 81.62% to 100.00%. **Conclusion** It is of great importance to understand the distribution characteristics and antimicrobial resistance of bacteria in stool for controlling infection and emergence of antimicrobial-resistant strains.

[Key words] diarrhea; stool bacterial culture; pathogen; drug resistance, microbial; antimicrobial agents

[Chin Infect Control, 2009, 8(6): 413-416]

为掌握西安地区腹泻病的发生、流行特征、变化趋势及细菌性病原分布特点,为制定预防措施和临床治疗提供参考依据,我们对西安地区第四军医大

学唐都医院(院内设有传染病分院、全军感染病诊疗中心)2004年1月—2008年12月收治的2221例腹泻患者中送检的1354份粪便细菌培养标本进行

[收稿日期] 2009-04-15

[作者简介] 王九平(1961-),女(汉族),陕西省西安市人,副教授,主要从事感染病学研究。

[通讯作者] 聂青和 E-mail: nieqinghe@hotmail.com

病原菌检测,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 所有标本均为西安地区第四军医大学唐都医院 2004 年 1 月—2008 年 12 月住院腹泻患者送检标本(致病菌或菌群培养),共 1 354 份;其中男性患者 813 例,女性患者 541 例,年龄 1 月龄~90 岁。

1.2 仪器与材料 Microscan WalkAway-40 全自动微生物分析仪,美国 DADE 公司产品;血琼脂平板、M-H 琼脂、TCBS 琼脂、SS 琼脂、克氏双糖铁琼脂、麦康凯培养基,OXOID 公司产品;志贺菌属、沙门菌属诊断血清,宁波天润公司产品。

1.3 药敏纸片与质控菌株 药敏纸片:利奈唑胺、万古霉素、红霉素、利福平、氯霉素、青霉素、氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、头孢唑林、头孢哌酮、头孢曲松、亚胺培南、环丙沙星、罗米沙星、复方磺胺甲噁唑、庆大霉素,均为英国 OXOID 公司产品;质控菌株:粪肠球菌 ATCC 29212、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213、大肠埃希菌 ATCC 25922,购自卫生部生物鉴定所。

1.4 菌株分离与鉴定 将 1 354 份粪便标本分别接种于 TCBS 琼脂平板、SS 琼脂平板、血琼脂平板、麦康凯培养基、碱性蛋白胨水,35℃ 培养 18~24 h,采用 Microscan WalkAway-40 全自动微生物分析仪及其配套的革兰阴性(G⁻)菌、革兰阳性(G⁺)菌鉴定和药敏综合反应板进行细菌鉴定与药敏试验。严格按照仪器操作规程进行操作。由于本实验主要为研究致病菌和菌群中异常优势生长的条件致病菌,因此,只有检出致病菌以及由菌群失调导致优势生长的条件致病菌才发出报告。

1.5 药敏试验 采用 K-B 纸片扩散法进行药敏试验。针对不同细菌分别选择 10 种抗菌药物进行药敏试验,根据美国临床实验室标准化研究所(CLSI) 2006 年版标准判定结果。

2 结果

2.1 菌株总数及分布 1 354 份粪便标本共分离病原菌 496 株,阳性率 36.63%,其分布见表 1。

表 1 1 354 份粪便标本病原菌检出率及分布

Table 1 Detection rates and distribution of pathogens from 1 354 stool samples

| 细菌种类 | 株数 | 检出率(%) | 构成比(%) |
|--------------|-----|--------|--------|
| 致病菌 | | | |
| 志贺菌属 | 136 | 10.04 | 27.42 |
| A 群志贺菌 | 8 | 0.59 | 1.61 |
| B 群福氏志贺菌 | 125 | 9.23 | 25.20 |
| D 群宋内志贺菌 | 3 | 0.22 | 0.61 |
| 致病性大肠埃希菌 | 44 | 3.25 | 8.87 |
| 产肠毒素致病性大肠埃希菌 | 6 | 0.44 | 1.21 |
| 其他 | 38 | 2.80 | 7.66 |
| 沙门菌属 | 35 | 2.58 | 7.06 |
| 伤寒沙门菌 | 8 | 0.59 | 1.61 |
| 鼠伤寒沙门菌 | 27 | 1.99 | 5.45 |
| 条件致病菌 | | | |
| 肠球菌属 | 154 | 11.37 | 31.05 |
| 屎肠球菌 | 78 | 5.76 | 15.73 |
| 粪肠球菌 | 49 | 3.62 | 9.88 |
| 铅黄肠球菌 | 27 | 1.99 | 5.43 |
| 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 | 9 | 0.66 | 1.82 |
| 克雷伯菌属 | 57 | 4.21 | 11.49 |
| 产酸克雷伯菌 | 10 | 0.74 | 2.02 |
| 臭鼻克雷伯菌 | 3 | 0.22 | 0.61 |
| 肺炎克雷伯菌 | 19 | 1.40 | 3.83 |
| 植生克雷伯菌 | 25 | 1.85 | 5.04 |
| 柠檬酸杆菌属 | 15 | 1.11 | 3.02 |
| 变形杆菌属 | 12 | 0.89 | 2.42 |
| 真菌 | 34 | 2.51 | 6.85 |
| 白假丝酵母菌 | 26 | 1.92 | 5.24 |
| 热带假丝酵母菌 | 8 | 0.59 | 1.61 |
| 合计 | 496 | 36.63 | 100.00 |

2.2 病原菌对抗菌药物的耐药率 见表 2~3。

表 2 肠球菌属对抗菌药物的耐药率(耐药株数,%)

Table 2 Drug-resistant rates of *Enterococcus* to antimicrobial agents (drug-resistant strain, %)

| 抗菌药物 | 屎肠球菌 (n = 78) | 粪肠球菌 (n = 49) | 铅黄肠球菌 (n = 27) |
|------|------------------|------------------|-------------------|
| 利奈唑胺 | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) |
| 万古霉素 | 3 (3.85) | 3 (6.12) | 0 (0.00) |
| 红霉素 | 57 (73.08) | 38 (77.55) | 19 (70.37) |
| 环丙沙星 | 58 (74.36) | 28 (57.14) | 17 (62.96) |
| 利福平 | 37 (47.44) | 20 (40.82) | 15 (55.56) |
| 氯霉素 | 25 (32.05) | 31 (63.27) | 14 (51.85) |
| 罗米沙星 | 56 (71.79) | 31 (63.27) | 18 (66.67) |
| 庆大霉素 | 61 (78.21) | 34 (69.39) | 19 (70.37) |
| 氨苄西林 | 56 (71.79) | 17 (34.69) | 21 (77.78) |
| 青霉素 | 64 (82.05) | 21 (42.86) | 24 (88.89) |

表 3 G⁻ 杆菌对抗菌药物的耐药率(耐药株数,%)

Table 3 Drug-resistant rates of gram-negative bacilli to antimicrobial agents (drug-resistant strain, %)

| 抗菌药物 | 志贺菌属 (n = 136) | 克雷伯菌属 (n = 57) | 致病性大肠埃希菌 (n = 44) | 沙门菌属 (n = 35) | 柠檬酸杆菌 (n = 15) | 变形杆菌 (n = 12) |
|----------|-------------------|-------------------|----------------------|------------------|-------------------|------------------|
| 亚胺培南 | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 2 (4.55) | 2 (5.71) | 0 (0.00) | 0 (0.00) |
| 头孢曲松 | 18 (13.24) | 5 (8.77) | 14 (31.82) | 12 (34.29) | 3 (20.00) | 4 (33.33) |
| 氨苄西林/舒巴坦 | 31 (22.79) | 5 (8.77) | 7 (15.91) | 9 (25.71) | 1 (6.67) | 3 (25.00) |
| 头孢哌酮 | 17 (12.50) | 7 (12.28) | 12 (27.27) | 4 (11.43) | 4 (26.67) | 2 (16.67) |
| 哌拉西林 | 63 (46.32) | 57 (100.00) | 44 (100.00) | 35 (100.00) | 9 (60.00) | 11 (91.67) |
| 氨苄西林 | 136 (100.00) | 57 (100.00) | 43 (97.73) | 35 (100.00) | 8 (53.33) | 11 (91.67) |
| 复方磺胺甲噁唑 | 76 (55.88) | 57 (100.00) | 34 (77.27) | 2 (5.71) | 4 (26.67) | 12 (100.00) |
| 环丙沙星 | 107 (78.68) | 2 (3.51) | 30 (68.18) | 17 (48.57) | 10 (66.67) | 3 (25.00) |
| 庆大霉素 | 25 (18.38) | 57 (100.00) | 21 (47.73) | 4 (11.43) | 4 (26.67) | 6 (50.00) |

3 讨论

腹泻分为感染性腹泻和非感染性腹泻两大类。广义上讲,感染性腹泻病是一组由细菌、病毒、原虫等多种病原体因素引起的肠道传染病,对人类尤其是儿童健康危害严重,是发展中国家的重要公共卫生问题。细菌性痢疾发病数位于我国甲、乙类法定传染病发病数的第 3 位,其他感染性腹泻居丙类法定传染病发病数的首位^[1]。最常见的肠道致病菌有志贺菌属、沙门菌属、弯曲菌、霍乱弧菌、副溶血性弧菌、致泻性大肠埃希菌、梭状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌及耶尔森菌等^[1-5]。本资料中致腹泻菌居第 1 位的是肠球菌属(154 株,31.05%)。肠球菌属细菌是肠道内的正常定植菌,属条件致病菌,在患者免疫力低下时可以引起尿路、肺等部位感染;其是耐药优势菌群之一,对一些常用抗菌药物天然耐药(如头孢类、克林霉素、磺胺类、低浓度氨基糖苷类),还可以通过基因突变或质粒/转座子接受外来耐药基因而获得耐药性^[6]。本组资料中,肠球菌属细菌对利奈唑胺无耐药性,对万古霉素耐药率低,≤6.12%。自 20 世纪 70 年代出现耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染后,临床上选用万古霉素治疗的频率增加,导致耐万古霉素肠球菌(VRE)形成^[7]。VRE 的出现给临床治疗带来很大困难,使感染控制难度加大。一般情况,粪肠球菌多于屎肠球菌,而本组相反,可能与本院应用万古霉素多有关。因此,建议临床慎用万古霉素,以预防 VRE 株的产生。

在发展中国家和发达国家,志贺菌属细菌依然是引起急性感染性腹泻的重要病原菌之一^[8]。在我们的调查资料中,检出志贺菌属细菌 136 株(27.42%),居第 2 位。志贺菌属细菌以 B 群福氏

占优势,这与全国历年来流行病学调查结果^[9]相符。志贺菌属 B 群为西安地区主要流行菌群,一般认为它引起的临床症状轻、对抗菌药物易产生耐药性、无症状带菌者多以福氏菌为主。本组志贺菌属细菌对传统的抗菌药物如氨苄西林(100.00%)、环丙沙星(78.68%)、复方磺胺甲噁唑(55.88%)、哌拉西林(46.32%)已出现严重的耐药性,对庆大霉素、第三代头孢菌素耐药性也逐渐增加,后者也不宜用于肠道感染的治疗,故治疗细菌性痢疾,临床应根据近期药敏试验结果选择用药。值得注意的是,G⁻ 菌对氨苄西林/舒巴坦的耐药率多在 26% 以下,其肠道浓度高,是腹泻患者宜选的药物。

肺炎克雷伯菌一般认为是非致病性肠道杆菌,它广泛存在于人体肠道、呼吸道、体表及食物中。本组检出克雷伯菌属 57 株(11.49%),多见于小儿,表明克雷伯菌属细菌是本地区小儿腹泻不可忽视的病原。因此,在小儿感染性腹泻的诊治中,应注意对克雷伯菌属的鉴定。

本组所分离的肠道致病菌均来自临床腹泻患者,其中肠球菌属、克雷伯菌属、变形杆菌和柠檬酸杆菌均为条件致病菌,此类患者在临床上排除了其他因素所致的腹泻。我们认为,在特殊人群中,这些条件致病菌仍可能成为肠道病原菌,虽未进行细菌纯培养和毒力鉴定,但笔者认为这种优势生长所致腹泻可能是现代腹泻病演变的趋势之一。了解这种变化对临床诊断、治疗工作有一定的参考价值及实际意义。

本资料中,致病性大肠埃希菌占 8.87%(44 株),其中检出产肠毒素致病性大肠埃希菌 6 株。致病性大肠埃希菌有 8 类,其中 5 类致泻^[10]。这些菌涉及的致病因子互不相同,一是黏附因子,促使大肠埃希菌特异性地黏附在肠黏膜;二是毒素,可阻断正

常肠黏膜的分泌与吸收(分泌毒素),破坏肠细胞(细胞毒素)^[11]。变形杆菌引起的急性腹泻与食物放置时间过长,污染食物中变形杆菌大量繁殖产生肠毒素有关^[12]。沙门菌属以鼠伤寒沙门菌为主(27 株)。由于临床上常将氟喹诺酮类抗菌药物作为治疗沙门菌属感染的首选药物,造成了对其敏感性的下降^[13-14],本次调查耐药率为 48.57%;而对庆大霉素及复方磺胺甲噁唑敏感。从以上分析可以看出,作为临床医生,经验用药已不能适应现代化抗感染治疗的需要,而是应根据药敏结果合理选择抗菌药物,这对有效控制感染及耐药菌株的产生具有重要的临床意义。

[参 考 文 献]

- [1] 聂青和. 感染性腹泻病[M]. 北京:人民卫生出版社,2000;1-30.
- [2] 聂青和. 感染性腹泻的研究现状[J]. 传染病信息,2007,20(4):193-196.
- [3] Viswanathan V K, Hodges K, Hecht G. Enteric infection meets intestinal function: how bacterial pathogens cause diarrhoea[J]. Nat Rev Microbiol,2009,7(2):110-119.
- [4] 聂青和. 感染性腹泻病中的特殊类型——旅行者腹泻[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(10):1210-1215.
- [5] 聂青和. 感染性腹泻病原及诊断程序[J]. 世界华人消化杂志,2001,9(8):925-926.

- [6] Borchardt M A, Chyou P H, DeVries E O, et al. Septic system density and infectious diarrhea in a defined population of children[J]. Environ Health Perspect, 2003, 111(5):742-748.
- [7] Ghidán A, Dobay O, Kaszanyitzky E J, et al. Vancomycin resistant *Enterococci* (VRE) still persist in slaughtered poultry in Hungary 8 years after the ban on avoparcin[J]. Acta Microbiol Immunol Hung,2008,55(4):409-417.
- [8] Sharma A, Singh S K, Kori L. Molecular epidemiological characteristics of *Shigella spp.* isolated from river Narmada during 2005-2006[J]. J Environ Health,2009,71(6):61-66.
- [9] 聂青和. 感染性腹泻的发病机制研究进展及治疗指导[J]. 中华实验和临床感染病杂志,2007,1(3):181-184.
- [10] Hacker J. *Escherichia Coli*. In: Hacker J, Heeseman J. Molecular infection between microorganism and cells [M]. Berlin: Wiley AJ & sons, Inc and Spektrum akademischer Verlag Co-Publication,2002;255-230.
- [11] Navaneethan U, Giannella R A. Mechanisms of infectious diarrhea[J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol,2008,5(11):637-647.
- [12] 聂青和. 细菌性食物中毒研究进展[J]. 继续医学教育——系列培训专刊,2006,2(1):26-33.
- [13] 王宇明,顾长海. 感染病学新进展[M]. 北京:人民卫生出版社,2001;1523-1541.
- [14] Weill F X, 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.

(上接第 446 页)

- [5] 苏志鹏,严杰,茅夏娃,等. 杭州地区健康献血员输血传播病毒的检测及部分阳性标本的核苷酸序列分析[J]. 浙江大学学报(医学版),2002,31(5):359-362.
- [6] 王丽莉,丁庆. 献血员血清输血传播病毒抗体及 DNA 检测结果及意义[J]. 江苏大学学报(医学版),2003,13(1):33-34.
- [7] Simmonds P, Davidson F, Lycett C, et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products[J]. Lancet, 1998, 352(9123):191-195.
- [8] Kato T, Mizokami M, Orito E, et al. High prevalence of TT virus infection in Japanese patients with liver diseases and in blood donors[J]. J Hepatol, 1999,31(2):221-227.
- [9] Giménez-Barcons M, Fornés X, Ampurdanés S, et al. Infection with a novel human DNA virus (TTV) has no pathogenic significance in patients with liver diseases[J]. J Hepatol, 1999,30(6):1028-1034.
- [10] 王长奇,陈燕萍,文海萍,等. 13 例输血后 TTV 动态观察[J]. 中国输血杂志,2000,13(3):197-199.
- [11] 刘杰,田玮,陈银霞,等. 血液病患者输血与输血传播病毒感染

的研究[J]. 陕西医学杂志,2003,32(12):1047-1048.

- [12] 赵桂兰,戎广亚,周继文,等. 乙型、丙型和非甲~戊型肝炎患者血清 TTV 抗体的研究[J]. 实用肝脏病杂志,2000,5(3):140-141.
- [13] Hafez M M, Shaarawy S M, Hassan A A, et al. Prevalence of transfusion transmitted virus (TTV) genotypes among HCC patients in Qalubia governorate[J]. Virol J, 2007, 4(1):135-140.
- [14] Lefrere J J, Roudot-Thoraval F, Lefrere F, et al. Natural history of TTV infection through follow-up of TTV DNA-positive multiple-transfused patients[J]. Blood, 2000, 95(1):347-349.
- [15] 李建国,周元平,姚春兰,等. TTV 在性病高危人群中的感染状况[J]. 中国医师杂志,2000,2(4):203-204.
- [16] Zandieh T, Babaahmadi B, Pourfathollah A, et al. Transfusion transmitted virus (TTV) infection in Thalassaemic patients [J]. Iranian J Publ Health, 2005,34(4):24-28.