

广州地区儿童空肠弯曲菌感染的病原学研究

谢永强,周珍文,虢艳,邓秋连,黄勇
(广州市儿童医院,广东 广州 510120)

[摘 要] 目的 了解广州地区腹泻儿童空肠弯曲菌(CJ)的感染及耐药情况,为临床及时、合理诊断和治疗提供实验室依据。方法 对 2005 年 7 月至 2008 年 6 月该院门诊 3 351 份腹泻患儿的粪便标本进行 CJ 的分离培养,并对分离菌株进行 Lior 分型及耐药试验。结果 3 351 份腹泻患儿粪便标本共检出 267 株 CJ,分离率为 8.0%;婴幼儿(1 个月至 1 岁)是 CJ 的易感人群,占 91.0%(243/267);夏秋季是高发季节,占 76.8%(205/267)。该菌对亚胺培南、阿米卡星、头孢哌酮/舒巴坦和氯霉素敏感,对大环内酯类和林可霉素类耐药率 <5%,对氨苄西林、喹诺酮类和四环素耐药率在 20%~40% 之间,对复方新诺明和头孢哌酮均耐药。Lior 分型以 I 型为主,占 75.3%(201/267)。结论 CJ 是婴幼儿腹泻的重要病原菌,其耐药形势日趋严重,应引起重视。临床应结合药敏试验结果选择抗菌药物治疗 CJ 感染。 [中国当代儿科杂志,2009,11(6):422-424]

[关键词] 空肠弯曲菌;感染性腹泻;病原菌;儿童
[中图分类号] R379.6 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)06-0422-03

Investigation of campylobacter jejuni infection in children with diarrhea in Guangzhou

XIE Yong-Qiang, ZHOU Zhen-Wen, GUO Yan, DENG Qiu-Lian, HUANG Yong. Guangzhou Children's Hospital, Guangzhou 510120, China (Email: xngyyy@hotmail.com)

Abstract: Objective To investigate the incidence of campylobacter jejuni (CJ) infection and the drug resistance of CJ in children with diarrhea in Guangzhou. **Methods** The fecal samples of 3 351 children with diarrhea between July 2005 and June 2008 were collected for CJ culture. The species of CJ strains were identified by Lior methods. The drug susceptibility tests were performed by the Kirby-Bauer method. **Results** Two hundred and sixty-seven CJ strains (8.0%) were isolated from 3 351 samples. The children at age of 1 month to 1 year were susceptible to CJ, accounting for 91.0%. A higher incidence of CJ infection (76.8%) was found in summer and autumn. The CJ strains were susceptible to imipenem, amikacin, cefoperazone/sulbactam, chloramphenicol, macrolides and lincomycins. Parts of CJ strains (20%-40%) were resistant to ampicillin, quinolones and ambramycin. All CJ strains were resistant to sulfamethoxazole/trimethoprim and cefditoren. Two hundred and one strains (75.3%) were CJ biotype I. **Conclusions** CJ is an important pathogen of diarrhea in children from Guangzhou. CJ is resistant to some antibiotics used often in clinical practice, and so it is thus important to use antibiotics based on the results of drug susceptibility tests in children with CJ infection.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (6):422-424]

Key words: Campylobacter jejuni; Infectious diarrhea; Pathogen; Child

空肠弯曲菌(campylobacter jejuni, CJ)是目前世界上普遍存在的重要食源性病原菌,也是引起儿童急性腹泻的重要病原菌^[1],人类常因摄入被 CJ 污染的食物和饮用水而被感染。为了解广州地区儿童 CJ 肠炎的发生情况以及 CJ 的耐药现状,提高对 CJ 的认识,现对本院 2005 年 7 月至 2008 年 6 月从 3 351 份腹泻患儿的粪便标本中分离出的 267 株 CJ 进行检测和分析,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 病例资料

1.1.1 一般资料 267 例患儿中男 149 例,女 118 例;发病年龄 1 个月至 3 岁,其中 <3 个月 45 例,3 个月~198 例,1~3 岁 24 例。发病季节:春季 45 例,夏季 113 例,秋季 92 例,冬季 17 例。腹泻次数不等,每天 <5 次 149 例,5~10 次 112 例, >10 次 6 例;伴有腹痛 213 例;急性腹泻 223 例,迁延性腹泻 44 例。

[收稿日期]2008-12-04;[修回日期]2009-01-30
[作者简介]谢永强,男,大学,副主任技师。主攻方向:感染性疾病的临床微生物检验及病原菌的耐药性监测。

1.1.2 实验室检查 粪便常规:镜检(高倍视野)RBC(少量~+)104例,(++)43例;WBC(少量~+)88例,(++)73例;潜血(OB)试验阳性196例;正常59例。血常规:WBC $>12\times10^9/L$ 151例,中性粒细胞增高145例。

1.2 病原菌培养与鉴定

1.2.1 培养基和试剂 Cary-Blair 运送培养基为杭州天和微生物试剂有限公司产品,改良 CCDA 培养基、改良 Campy-BAP 弯曲菌培养基及 13 种药敏纸片均为英国 Oxoid 公司产品,微需氧袋和 API CAMPY 生化鉴定试剂条为法国生物梅里埃公司产品。

1.2.2 采样方法 将无菌棉签在灭菌生理盐水中润湿沾取患儿粪便的黏液或脓血部分,立即置于 Carry-Blair 运送培养基中送检。

1.2.3 病原菌分离培养 标本送至实验室后立即划线接种于改良 CCDA 弯曲菌培养基,封装在微需氧袋 42℃ 培养 48 h,挑取不溶血、灰色、有光泽,并从接种线向外有扩散倾向的菌落或边缘完整、发亮的水滴样单个菌落进行革兰染色镜检,若菌体为革兰阴性,呈 S 形、螺旋状或纺锤形则接种到哥伦比亚血琼脂平板进行纯培养,42℃ 微需氧培养 48 h。

1.2.4 病原菌鉴定和分型

1.2.4.1 病原菌的鉴定 将纯培养物进行氧化酶和过氧化氢酶(触酶)试验,如为阳性可初步鉴定为弯曲菌。将初步鉴定为弯曲菌的纯培养物制成 6 麦氏单位的菌液,按要求滴加到 API CAMPY 生化鉴定试剂条上,培养后按操作说明判读结果。

1.2.4.2 病原菌的生物分型 采用 Lior 分型法,即利用快速马尿酸钠水解试验、硫化氢试验和 DNA 酶水解试验将 CJ 分成 4 种生物型。快速马尿酸钠水解试验:将细菌接种在 0.4 mL 含 1% 马尿酸钠的培养基中,37℃ 水浴 2 h,徐徐加入 3.5% 茆三酮试剂,放置 10 min 后观察结果,深紫色为阳性;快速硫化氢试验:取适量细菌悬浮于快速硫化氢半固体琼脂上半段,37℃ 水浴 2 h,细菌周围出现黑色为阳性;DNA 酶水解试验:将细菌点种于 DNA 酶甲基绿琼脂平板上,微需氧培养 3~5 d,菌苔周围出现无色透明环为阳性。

1.3 病原菌药敏试验

采用 2005 年美国临床实验室标准化研究所(CLSI)推荐使用的琼脂扩散(Kirby-Bauer)法。将被检菌制成 0.5 麦氏单位的菌悬液,均匀涂抹在不含抗菌药物、不加血、厚度为 4 mm 的 Campy-BAP 培养基上,42℃ 平衡 10 min,贴抗生素纸片,置微需氧袋 42℃ 孵育 48 h 后按照 CLSI/NCCLS 标准判读结

果,抑菌环的边缘以肉眼见不到细菌明显生长为限。

1.4 质量控制

采用 ATCC33560 空肠弯曲菌标准菌株作为整个试验过程的质量控制,符合要求。

2 结果

2.1 病原菌检出情况

对感染性腹泻患儿的 3 351 份粪便标本进行 CJ 分离培养,共检出病原菌 267 株,检出率为 8.0%。

2.2 病原菌耐药性分析

267 株 CJ 对 13 种抗菌药物的药敏试验表明,CJ 对亚胺培南、氨基糖甙类、酶抑制剂、氯霉素、大环内脂类和林可霉素类等抗菌药物较为敏感(耐药率 $<5\%$),对氨苄西林、喹诺酮类和四环素有较强耐药性(耐药率在 20%~40%之间),对复方新诺明和头孢菌素类表现为耐药,见表 1。

表 1 267 株空肠弯曲菌对常用抗菌药物的药敏试验结果 [株数(%)]

抗菌药物	耐药	中敏	敏感
亚胺培南	0 (0.0)	0 (0.0)	267 (100)
阿米卡星	0 (0.0)	0 (0.0)	267 (100)
头孢哌酮/舒巴坦	0 (0.0)	5 (1.9)	262 (98.1)
氯霉素	0 (0.0)	11 (4.1)	256 (95.9)
阿奇霉素	11 (4.1)	4 (1.5)	252 (94.4)
克林霉素	11 (4.1)	7 (2.6)	249 (93.3)
红霉素	12 (4.5)	9 (3.4)	246 (92.1)
氨苄西林	64 (23.9)	21 (7.9)	182 (68.2)
环丙沙星	75 (28.1)	9 (3.4)	183 (68.5)
氧氟沙星	77 (28.8)	10 (3.8)	180 (67.4)
四环素	97 (36.3)	9 (3.4)	161 (60.3)
头孢哌酮	267 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)
复方新诺明	267 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)

2.3 生物分型结果

对经 API CAMPY 生化鉴定试剂条鉴定为 CJ 的 267 株菌株进行 Lior 生物分型,分型判断标准及分型结果见表 2。结果显示,生物 I 型 201 株,占 75.3%,是导致本地区儿童 CJ 肠炎的主要生物型。

表 2 空肠弯曲菌 Lior 生物分型判断标准及结果

型别	马尿酸钠 水解试验	硫化氢 试验	DNA 酶 水解试验	符合菌 株数	所占比例 (%)
I 型	+	-	-	201	75.3
II 型	+	-	+	49	18.4
III 型	+	+	-	11	4.1
IV 型	+	+	+	6	2.2

注: + 示阳性, - 示阴性

3 讨论

CJ广泛存在于储存宿主家禽、家畜以及鸟类的肠道内,在水、牛奶中能存活较长时间,对酸碱有较强耐受力,人和动物的胃肠道环境适合其生存,被CJ污染的肉、奶、蛋以及水源是人类感染CJ的主要传染源^[1]。该菌主要经粪口途径传播,引起急性肠炎和食物中毒,而且可以导致许多相关疾病,新近的研究表明CJ是临床症状严重和预后较差的格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome, GBS)最常见的前驱感染,是导致轴索型GBS的主要原因^[2,3]。还有研究证明CJ的感染与反应性关节炎、败血症、心肌炎等密切相关^[4]。CJ肠炎是儿童急性感染性腹泻的重要类型之一,感染人群以婴幼儿为主,夏秋季是高发季节。本研究结果显示<3岁小儿急性腹泻CJ检出率为8.0%,婴幼儿(<1岁)占有CJ感染病例的91.0%(243/267),夏秋季病例占全部病例的76.8%(205/267),与文献报道相符^[5]。

CJ感染机体后,细菌通过直接侵袭、黏附、产生肠毒素及细胞毒素而致病。临床表现复杂多样,主要表现为急性肠炎,多数可引起局部溃疡甚至出血(OB阳性196例,占73.4%)。其所致肠炎一部分为轻、中型,全身症状轻微,且具有自限性,常可在1周左右自然缓解,只用维持水和电解质平衡而不需抗菌药物;有些患儿症状较重,病情迁延,腹泻可持续2~3周,甚至引发肠道外感染,中毒症状较重,对这类患儿需要及时抗菌治疗^[6]。临床上常规采用大环内酯类或喹诺酮类治疗CJ肠炎,但该类药物可能有恶心、呕吐等较强的胃肠道反应甚至肝功能损害等不良反应,发生率高达90%,而且目前对CJ大环内酯类和喹诺酮类的耐药问题日趋严重,有人建议采用 β -内酰胺类加舒巴坦型复合制剂治疗,可以取得良好疗效而又减轻胃肠道不良反应^[7]。本研究药敏试验结果表明,广州地区儿童感染的CJ对氨基糖苷类、碳青霉烯类、头孢哌酮/舒巴坦和氯霉素无耐药,对大环内酯类和林可霉素类耐药率较低(<5%),对传统治疗CJ感染用氨苄西林、喹诺酮类和四环素均有不同程度耐药(20%~40%),对复方新诺明和头孢哌酮耐药率达100%,与国外

Wardak等^[8]的报道相似。除复方新诺明和头孢哌酮外,其他抗菌药物的耐药率明显低于许海燕等^[9]的报道,可能由于地域差异或研究人群的不同。

目前尚无正式应用于临床的CJ疫苗^[4,10],对CJ感染的防治主要是加强对CJ的监测,控制疫源动物的传播,防止人和动物排泄物污染水源和食物。病原体的分离培养是CJ感染确诊的金标准,但目前开展对此项检测的医院并不多,建议对疑似患者在使用抗菌药物前采集腹泻标本及时进行病原菌检测,对确诊患者按消化道传染病采取合适的隔离措施和及时有效的抗菌治疗。耐药菌株的出现和耐药形势的复杂给预防和治疗带来了许多困难,为延缓CJ耐药性的产生,防止CJ的暴发流行,临床应用抗菌药物治疗CJ感染时,应结合病原菌的检测和其药敏试验结果选择高敏药物或联合用药,而不能简单凭经验用药。

[参 考 文 献]

- [1] 吴蜀豫,张立实,冉陆. 弯曲菌及弯曲菌病的流行现状[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(1):58-61.
- [2] 吴铮,范文辉. GBS与空肠弯曲菌感染[J]. 神经科学通报, 2005, 21(1):87-90.
- [3] 李冰,杨立彬,黄铁栓,陈黎,胡雁,廖建湘. 急性感染性多发性神经根炎患儿空肠弯曲菌感染与抗神经节苷脂GM1抗体关系[J]. 中国当代儿科杂志, 2003, 5(6):533-536.
- [4] Newell DG. *Campylobacter concisus*: an emerging pathogen[J]. Eur J Gastroenrol Hepatol, 2005, 17(10):1013-1014.
- [5] 沈和萍,吴蔚. 小儿空肠弯曲菌肠炎534例分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2006, 14(6):640-641.
- [6] Moore JE, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, Lucey B, Matsuda M, et al. *Campylobacter*[J]. Vet Res, 2005, 36(3):351-382.
- [7] 陈小旦,陈波. 非大环内酯类抗生素治疗空肠弯曲菌肠炎效果观察[J]. 浙江预防医学, 2007, 19(5):74.
- [8] Wardak S, Szych J, Zasada AA, Gierczynski R. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* clinical isolates from Poland[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(3):1123-1125.
- [9] 许海燕,黄金林,包广宇,高玉,张弓,苏洁,等. 扬州市腹泻人群空肠弯曲菌和结肠弯曲菌流行状况及耐药性分析[J]. 中国人畜共患病学报, 2008, 24(1):58-62.
- [10] 郑惠,蔡方成,钟敏,邓兵,李欣,张晓萍,等. 壳聚糖-DNA疫苗预防空肠弯曲菌感染的实验研究[J]. 中华预防医学杂志, 2007, 41(5):375-379.

(本文编辑:徐福兰)