

2014 年济南市医院感染性腹泻常见病原菌检测与分析

靳晓红, 马凤龙, 戚金荣, 刘大伟, 刘元东

济南军区联勤部疾病预防控制中心, 山东 济南 250014

摘要: **目的** 了解腹泻高发期引起腹泻病的主要致病菌的种类与分布, 指导临床医生合理用药, 为流行病学研究及疾病的有效预防控制提供依据。 **方法** 收集 2014 年济南 456 医院、中心医院 5 月-10 月门诊腹泻病人便标本, 通过增菌、培养、生化分析、血清凝集实验进行菌株鉴定, 同时填写流行病学调查表, 了解病人信息。 **结果** 共收集腹泻高发期 5-10 月腹泻病人标本及信息表 899 份, 初步分离主要致病菌株 182 份, 其中致泻大肠埃希菌占 48.35%, 沙门菌占 26.37%, 志贺菌占 25.27%。病人主要集中在青年组(15~30 岁), 占 43.60%, 发病时间主要在 6、7 月份。 **结论** 医院感染性腹泻病人发病具有季节、年龄分布的不同, 病原菌种类复杂多样, 应加强夏季腹泻病病原菌的监测与分析。

关键词: 腹泻; 病原菌; 检测分析

中图分类号: R442.2 文献标识码: B 文章编号: 1006-3110(2017)01-0065-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.01.019

Common pathogenic bacteria detection of infectious diarrhea in hospitalized diarrheal patients in Jinan City, 2014

JIN Xiao-hong, MA Feng-long, QI Jin-rong, LIU Da-wei, LIU Yuan-dong

Joint-service Department, Jinan Military Region Center for Disease Control and Prevention, Jinan, Shandong 250014, China

Corresponding author: LIU Yuan-dong, E-mail: 13361037623@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the species and distribution of the main pathogenic bacteria causing infectious diarrhea in high occurrence period of diarrhea, to guide rational use of drugs in clinical practice so as to provide evidence for epidemiological study and effective prevention and control of the disease. **Methods** Stool specimens were collected from diarrhea outpatients hospitalized in the 456th Hospital of PLA and Jinan Central Hospital from May to October, 2014. Enteric multiple pathogens were detected by the isolation culture, biochemical identification and serotyping methods. The epidemiological questionnaire was used to survey the patients' information. **Results** A total of 899 specimens and questionnaires were collected from the diarrhea outpatients in high occurrence period of diarrhea. 182 strains of main pathogenic bacteria were preliminarily isolated, including diarrhea-genic *Escherichia coli* (48.35%), *Salmonella* (26.37%) and *Shigella* (25.27%). Most of the patients were the youth aged 15-30 years, accounting for 43.60%. The epidemic peaks appeared in June and July. **Conclusions** The epidemics of infectious diarrhea in the outpatients show different season and age distribution and various pathogenic bacteria; and hence, it is necessary to intensify the surveillance and analysis of pathogenic bacteria causing diarrhea in summer.

Key words: Diarrhea; Pathogenic bacteria; Detection and analysis

感染性腹泻流行面广, 发病率高, 是全球备受关注的公共卫生问题, 特别是对于发展中国家更为严重, 每年有 250 万人死于急性感染性腹泻^[1]。我国感染性腹泻的发病率一直处于传染病的前列, 特别是夏秋季由于人们卫生意识差, 喜欢吃路边烧烤、冷饮或不经高温

基金项目: 国家重大专项课题基金 (2013ZX10004203-001-006)

作者简介: 靳晓红 (1966-), 女, 山东济南人, 副研究员, 主要从事微生物学检验研究工作。

通信作者: 刘元东 (1962-), 男, 主任医师, 主要从事流行病学研究工作, E-mail: 13361037623@163.com。

消毒的海产品等不良饮食习惯, 使腹泻病发生和传播的几率和危险大大增加^[2-3], 而多数腹泻病人的诊断主要靠临床症状及简单的血常规检测, 并开始服药治疗, 而病原菌分离鉴定往往被忽略, 而且由于肠道内本身就有几十种正常菌类, 因此给检测工作带来了困难, 易造成漏诊和误诊及细菌耐药性的产生^[4]。引起腹泻病的病原体有很多, 其中细菌是一类重要的致病菌, 由于不同地区气候、地理环境、人们的饮食习惯的差异, 病原菌的种类、分布出现很大的不同^[5-7]。本文对济南医院腹泻病细菌性病原菌进行了监测分析, 为探讨病原体的变异和流行规律提供依据。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2014 年腹泻高发期 5-10 月三级综合性医院济南 456 医院、中心医院腹泻病人便标本 899 例。病例标准:以每日腹泻>3 次,粪便形状改变的患者为腹泻病例。

1.2 主要材料 麦康凯培养基、SS 培养基、TCBS 培养基、营养肉汤、克氏双糖琼脂(KIA)、碱性蛋白胨水、B-半乳糖苷、氧化酶试纸均为杭州天和微生物试剂有限公司产品。致泻大肠埃希菌(DEC)诊断血清,志贺菌属诊断血清、沙门菌属诊断血清,霍乱弧菌诊断血清均为宁波天润生物药业有限公司产品,均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采集到医院就诊的腹泻病人便标本 10 g 于灭菌的便盒中,低温转运至实验室,病人同时填写个案调查登记表。

1.3.2 细菌分离 SS 琼脂主要用于沙门菌属、志贺菌属的分离培养,麦康凯琼脂主要用于致泻大肠埃希菌属的分离培养,霍乱弧菌主要采用 TCBS 琼脂进行分离培养,按照《全国临床检验操作规程》^[8]进行操作,培养后观察菌落形态,挑取典型单菌落进行生化鉴定。

1.3.3 生化鉴定 挑取可疑单菌落,接种克氏双糖(KIA)试管中,培养 18~24 h,使用生物梅里埃公司的 ATB 细菌鉴定仪进行细菌的生化鉴定分析。

1.3.4 血清凝集 根据菌株生化鉴定的结果,与相应菌属的标准血清进行进一步的血清型分析。方法为用接种环将待检菌落于清洁玻片上与标准血清混匀,轻轻摇动玻片,1 min 内肉眼判断结果,以生理盐水溶液作为对照。于 1 min 内呈明显凝集者为阳性,确定血清型。呈均匀浑浊者为阴性。

1.4 质量控制 参加了全国实验室细菌检测质控考核,并取得合格。质控菌株为:大肠埃希菌 ATCC 25922,金黄色葡萄球菌 ATCC 25923。

2 结果

2.1 腹泻病例流行特征分析 收集到 899 份腹泻病人流行病学调查表及标本,其中男性 615 例,女性 284 例;从年龄分布看,14 岁以下儿童 171 例,占 19.02%,15~30 岁青年组 392 例,占 43.60%,31~60 岁中年组 279 例,占 31.03%,60 岁以上,老年组病例最少为 57 例,占 6.34%。

病人中出现呕吐症状的 195 人,占 21.69%(195/899),平均每天腹泻次数为 5 次,就诊前平均腹泻天数 2 d;就诊前服用抗生素的 201 人,占 22.36%。病人中急诊病例 193 例,门诊病例 660 例,住院病例 48 例。标本以水样便为主,为 552 份,占 61.49%。

2.2 病原菌检验鉴定 通过对收集的 899 份标本,进行培养、生化鉴定及血清凝集实验,初步分离主要致病菌株 182 份,菌株分离率 20.24%。其中有 180(98.90%)份标本是感染一种病原菌,2 份标本同时感染 2 种病原菌。致病菌中沙门菌 48 份,占 26.37%;志贺菌 46 份,占 25.27%(其中,福氏志贺菌 26 份,占 56.52%,痢疾志贺菌 13 份,占 28.26%,宋内氏志贺菌 6 份,鲍氏志贺菌、索氏志贺菌各 1 份)。致泻大肠埃希菌 88 份,占 48.35%(其中产毒大肠埃希菌 45 份,占 51.13%,血清型主要是 O15:K?(L)、O25:K19(L)、O7:K1(L)、O85:K15 型;侵袭大肠埃希菌 21 份,占 23.86%,血清型主要是 O112:K66、O28:K73、O29:K? 型;致病大肠埃希菌 22 份,占 25.00%,血清型主要是 O15:K?(L)、O125:K70、O44:K74、O86:K61(B7)型。未检出霍乱弧菌。

2.3 病原菌的分布情况 从发病情况及菌株分离情况可见,6 月份菌株分离率较高,62 份,分离率占 39.74%(62/156),7 月份 81 份,35.06%(81/231)。不同病原菌时间分布略有不同,如致泻大肠埃希菌主要分布在 6 月份,沙门菌在 7 月份检出率较高,结果见表 1。

表 1 2014 年 5-10 月病原菌检出情况

时间	标本数	沙门菌数	阳性率(%)	志贺菌数	阳性率(%)	致泻大肠埃希菌数	阳性率(%)	菌株合计	阳性率(%)
5 月	114	4	3.51	3	2.63	7	6.14	14	12.28
6 月	156	8	5.13	15	9.62	39	25.00	62	39.74
7 月	231	24	10.39	21	9.09	36	15.58	81	35.06
8 月	191	11	5.76	5	2.62	3	1.57	20	10.47
9-10 月	207	1	0.48	2	0.97	3	1.45	6	2.90

不同年龄组的病人中菌株的分布情况可见,0~14 岁,分离菌株 8 份,分离率较低,为 4.68%;15~30 岁 89 份,分离率占 27.71%;30~60 岁 72 份,分离率占 25.81%;60 岁以上标本数较少,分离病原菌 13 份,为

22.81%。其中 15~30 岁年龄段病人最多,分离菌种也最多。各年龄组中,致泻大肠埃希菌占主要比例,其次是志贺菌和沙门菌,结果见表 2。

表 2 不同年龄组病原菌检出情况

年龄	标本数	沙门菌数	阳性率(%)	志贺菌数	阳性率(%)	致泻大肠埃希菌数	阳性率(%)	菌株合计	阳性率(%)
0~	171	4	2.34	1	0.58	3	1.75	8	4.68
15~	392	23	5.87	20	5.10	46	11.73	89	27.71
30~	279	20	7.17	22	7.89	30	10.75	72	25.81
60~	57	1	1.75	3	5.26	9	15.79	13	22.81

不同性别病原菌检出情况,615 例男性,菌株检出率为 20.65%,284 例女性,检出率 19.72%,差异无统计学意义($\chi^2=0.1041,P=0.7469$)。结果见表 3。

表 3 不同性别病原菌检出情况

性别	标本数	沙门菌数	阳性率(%)	志贺菌数	阳性率(%)	致泻大肠埃希菌数	阳性率(%)	菌株合计	阳性率(%)
男	615	34	5.53	29	4.72	63	10.24	127	20.65
女	284	14	4.93	17	5.99	25	8.80	56	19.72

3 讨论

引起人类腹泻病的原因很多,主要分为感染性腹泻与非感染性腹泻,引起感染性腹泻的病原菌也十分复杂,有病毒、细菌、寄生虫等,而仅仅是细菌性感染就有几十种,有的腹泻病人也不仅仅是由一种病原菌引起。但不同地区、不同季节、不同时期,病原菌菌群的分布也有很大的不同,在地域分布来看,总体上内地城市流行菌群为志贺菌属,其中以福氏志贺菌为主,沿海城市以弧菌,特别是副溶血弧菌,但不同地区差异较大^[9],如北京地区在 1991 年以志贺菌为主,感染率达到 82.6%,近年来,2000 年感染率下降为 65.1%,病原谱又发生了变化,志贺菌的比例减少,致泻大肠埃希菌及副溶弧菌感染率大幅提高^[10]。

本研究在腹泻病高发期收集的 5-10 月份的 899 份病人标本,进行了病原菌的分离鉴定,初步分离到主要致病菌 182 株,细菌检出率为 20.47%,与文献报道相当^[11]。但在病原菌种类及分布上有所不同,本地区医院以致泻大肠埃希菌为主要的致病菌,感染率为 48.35%,其次为沙门菌 26.37%,志贺菌 25.27%,与我国北方地区志贺菌为主^[12]、南方沙门菌为主^[13]的报道略有不同。在血清型中,志贺菌以福氏志贺为主,文献报道一致^[12];致泻大肠埃希菌中以产毒大肠埃希菌占主要比例,可能与济南人们的饮食习惯,特别是卫生条件的改善,生活水平的提高,使志贺菌、沙门菌的感染率有较大的下降,而以往由于 DEC 的检测中,其菌落形态与普通大肠埃希菌没有很大的区别,而检测程序较为复杂,血清亚型分类较多,临床上常常忽略 DEC 的检测,容易造成漏诊,加强 DEC 检测之后,使检出率有较大提高。

本次研究中,发病年龄在 15~30 岁年龄组腹泻病例最多,占 43.60%,男性明显高于女性,发病主要集中在 6、7 月份,病原菌的检出率也最高,可能与夏季炎

热,人们的饮食习惯,喜欢吃凉菜、烧烤、喝扎啤等有关,而这些食物的易出现清洗不净、加热不充分、操作中出现交叉污染的现象,特别是男性更多的喜欢出来吃宵夜,增加了感染的机会。此次检测中,没有检测到霍乱弧菌。了解医院病原菌的分布及流行规律是一个长期的监测过程,特别是腹泻病原谱广,种类复杂,病原菌的监测繁琐,增加了难度和工作量,下一步工作中将建立细菌学及分子生物学检测方法,增加腹泻病病原菌的监测种类,提高主动检测及疾病的预警能力,不断完善病原谱的变异规律,采取有效的防控措施,降低发病率。

参考文献

[1] Fabio B, Maria AB, Gerardo N, et al. Focus on acute diarrhoeal disease [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(27): 3341-3348.

[2] Zhonghua, Liu HX, Zhang J, et al. Analysis of reported infectious diarrhea (other than cholera, dysentery, typhoid and paratyphoid) in China in 2011 [J]. Chin J Prevent Med, 2013, 47(4): 328-332.

[3] 陈敬鸿, 钟秀珠, 林洁敏. 汕头市 2012-2013 年病毒性腹泻监测结果分析 [J]. 实用预防医学, 2015, 22(9): 1121-1123.

[4] 娄静, 李杰, 阚飒, 等. 我国省级疾病预防控制中心实验室主要腹泻病原菌检测能力调查分析 [J]. 疾病监测, 2012, 27(5): 340-345.

[5] Huang F, Deng Y, Qu M, et al. Etiological surveillance and analysis of infection diarrhea in Beijing in year 2010 [J]. Chin J Prevent Med, 2011, 45(9): 921-927.

[6] 董路宁, 刘栓奎, 吴静, 等. 乌鲁木齐地区 2010 年腹泻病原菌耐药性监测分析 [J]. 传染病信息, 2011, 24(2): 85-87.

[7] 王伟, 李晓光, 胥婕. 某三级综合性医院肠道门诊夏季急性腹泻患者疾病谱及病原菌检测的意义 [J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(4): 689-693.

[8] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 第 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 801-821.

[9] 王大刚, 跑春梅, 陈素明, 等. 中国近 10 年肠道菌群分布及耐药特点 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(9): 2385-2390.

[10] 孙宝春, 尤元海, 张建中. 2005 年山东胜利油田腹泻病原谱分析 [J]. 预防医学论坛, 2010, 16(9): 843-844.

[11] 张巍巍, 冯宝立, 郑兰紫, 等. 2014 年北京市密云县腹泻患者病原菌监测结果 [J]. 职业与健康, 2015, 41(18): 236-239.

[12] 封会茹, 曲梅, 耿荣, 等. 2010-2012 年北京丰台区感染性腹泻病原菌分布及耐药性分析 [J]. 疾病监测, 2013, 28(2): 96-100.

[13] 陈辉, 李博, 鞠长燕, 等. 深圳市南山区 2013-2014 年感染性腹泻病原体监测结果 [J]. 中国热带医学, 2015, 15(7): 839-841.