

一例由阪崎肠杆菌感染引起的婴儿腹泻调查

龙奇志¹, 何志敏¹, 陈友群¹, 林伟², 王岚³, 胡世雄³, 彭文伏¹, 贾华云³

1. 株洲市芦淞区疾病预防控制中心, 湖南 株洲 412002; 2. 株洲市中心医院; 3. 湖南省疾病预防控制中心

摘要: **目的** 对一例 9 月龄反复腹泻婴儿进行流行病学调查和实验室检测, 为诊断提供依据。 **方法** 根据流行病学调查, 采集患儿粪便、奶粉、米粉等食品及奶瓶等可疑样本, 进行常见肠道病原菌的分离培养, 对检出的病原菌进行脉冲场凝胶电泳分子分型和药敏实验。 **结果** 患儿断奶后以某品牌羊奶粉为主食, 出现发热伴腹泻症状, 反复近半个月, 后经头孢噻肟和维生素 C 治疗得到康复。患儿的粪便、羊奶粉及两个奶瓶经检测均检出阪崎肠杆菌。分离菌株 PFGE 分型显示奶粉 (1 株) 和奶瓶洗脱液样品中 (2 株) 的 3 株阪崎肠杆菌具有相同的 PFGE 带型, 与患者粪便中的分离株 (1 株) 相似度为 64.3%。药敏实验显示 4 株阪崎肠杆菌对氨苄青霉素、氯霉素、环丙沙星、阿奇霉素、亚胺培南、头孢西丁、庆大霉素、萘啶酸、复方磺胺甲恶唑和四环素 10 种抗生素敏感实验结果均为敏感。 **结论** 婴幼儿配方羊奶粉中阪崎肠杆菌的污染不容忽视, 存在严重潜在危险。

关键词: 阪崎肠杆菌; 婴幼儿; 感染; 溯源; 药敏实验

中图分类号: R183.4 文献标识码: B 文章编号: 1006-3110(2017)08-0954-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.08.017

One case of infant diarrhea induced by *Enterobacter sakazakii* infection

LONG Qi-zhi*, HE Zhi-min, CHEN You-qun, LIN Wei, WANG Lan, HU Shi-xiong, PENG Wen-fu, JIA Hua-yun

*Lusong District Center for Disease Control and Prevention, Zhuzhou, Hunan 412002, China

Corresponding author: JIA Hua-yun, E-mail: jiahuayun@126.com

Abstract: **Objective** To trace and detect the pathogen causing repeated diarrhea in a 9-month-old infant, and to provide evidence for the diagnosis of the illness. **Methods** According to the epidemiological survey, the infant's stool, goat milk powder, rice flour and feeding bottles were sampled for the isolation and cultivation of common enteric pathogenic bacteria, and the isolated strains were subjected to pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and antimicrobial susceptibility testing. **Results** After weaning, the infant drank goat milk as the staple food. Then he appeared repeated fever with diarrhea symptoms about half a month, and recovered after treatment with cefotaxime and vitamin C. Four strains of *Enterobacter sakazakii* were isolated from the stool sample, goat milk powder and two feeding bottles of the infant. The PFGE results showed that 3 strains of *Enterobacter sakazakii*, including 1 strain isolated from goat milk powder and 2 strains from eluent samples of the 2 feeding bottles, shared the same PFGE pattern, which had 64.3% similarity with 1 strain isolated from the stool sample. Antimicrobial susceptibility testing indicated that the 4 strains of *Enterobacter sakazakii* were all sensitive to 10 antibiotics tested, including ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, azithromycin, imipenem, ceftazidime, gentamicin, nalidixic acid, compound sulfamethoxazole and tetracycline. **Conclusions** The pollution of *Enterobacter sakazakii* in infant formula goat milk powder should not be ignored, which may cause serious potential risk.

Key words: *Enterobacter sakazakii*; infant; infection; trace; antibiotic susceptibility test

阪崎肠杆菌 (*Enterobacter sakazakii*) 是一种革兰阴性、无芽胞的兼性厌氧杆菌。它以前被认为是黄色阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*), 到 1980 年更名为阪崎肠杆菌^[1]。因阪崎肠杆菌包括多个基因种, 现将它定义为肠杆菌科的一个新属—克罗诺杆菌属 (*Cronobacter spp.*)。该菌是一种条件致病菌, 它能引起严重的新生

儿脑膜炎、小肠结肠炎和菌血症, 并且可能引起神经功能紊乱, 造成严重的后遗症和高死亡风险, 死亡率达 50% 以上, 而成人感染不患病或症状轻微^[2]。本实验室从某医院送来的腹泻监测项目样本中检出阪崎肠杆菌, 随后进行流行病学调查, 并采集相关样品进行检测, 现将结果报告如下。

基金项目: 湖南省卫计委科研项目 (C2016030)

作者简介: 龙奇志 (1974-), 女, 湖南攸县人, 本科学历, 主管技师, 主要从事微生物检测工作。

通信作者: 贾华云, E-mail: jiahuayun@126.com。

1 资料与方法

1.1 资料 收集患儿基本信息及就诊相关医疗机构病历、临床实验室检测结果。

1.2 样本 采集患儿粪便标本 1 份,同一品牌的袋装(未开封)和罐装(食用剩余)婴幼儿配方羊奶粉各 1 份,120 ml 奶瓶洗脱液 1 份,240 ml 奶瓶洗脱液 1 份,米粉 1 份,清亲葆 1 份。

1.3 仪器与试剂 缓冲蛋白胨水琼脂(BPW)、改良月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤-万古霉素(mLST-Vm)、胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)、阪崎肠杆菌显色培养基琼脂、木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂(XLD)、磺胺增菌液琼脂(SGB)、CIN-1 培养基琼脂、沙门显色培养基琼脂、麦康凯琼脂(MAC)、改良磷酸盐缓冲液琼脂(PSB)等由北京陆桥技术有限公司提供;API 20E 生化鉴定试剂盒由梅里埃诊断产品有限公司提供,以上试剂均在有效期内使用。

1.4 方法

1.4.1 病原学分离鉴定 患儿粪便样本直接划线接种 XLD 平板、MAC 平板、阪崎显色平板和 CIN-1 平板分离沙门菌、志贺菌、致泻性大肠埃希菌、阪崎肠杆菌和小肠结肠炎耶尔森菌。将剩余样本分别接种 SGB 增菌液、PSB 和 mLST-Vm 进行增菌培养后分别接种沙门菌显色培养基、CIN-1 培养基和阪崎肠杆菌显色培养基分离沙门菌、小肠结肠炎耶尔森菌和阪崎肠杆菌。奶粉、奶瓶洗脱液、米粉、清亲葆等按食品微生物学检验 GB 4789 进行沙门菌、志贺菌、致泻性大肠埃希菌、阪崎肠杆菌检测。

1.4.2 脉冲场凝胶电泳 按照美国疾病预防控制中心公布的阪崎肠杆菌脉冲场电泳标准分型方法^[3]。沙门菌经琼脂糖固定、蛋白酶 K 裂解、洗涤后,包埋的 DNA 在 37 ℃ 水浴中使用 40 U 的 Xba I 酶切 2.5 h。然后使用 Chef Mapper 脉冲场凝胶电泳分型,电泳缓冲液为 0.5×TBE,电泳时间为 18.5 h,电泳温度为 14 ℃,脉冲时间为 2.16~63.8 s。凝胶使用 GelRed 染色后成像。电泳图谱使用 BioNumerics 6.6 软件分析,采用组间非加权的几何平均数(unweighted pair group

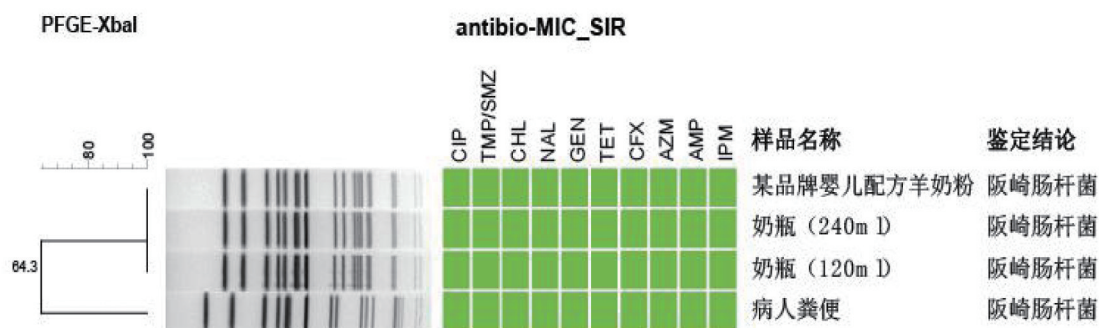
method using arithmetic averages, UPGMA)方法进行聚类分析,基于条带比较的 Dice 系数衡量 PFGE 带型之间的相似度,相似度为 100%被视为相同型别。

1.4.3 药敏实验 采用微量肉汤稀释法测定抗生索的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),实验抗生素包括:氨苄青霉素(AMP),氯霉素(CHL),环丙沙星(CIP),阿奇霉素(AZM),亚胺培南(IPM),头孢西丁(CFX),庆大霉素(GEN),萘啶酸(NAL),复方磺胺甲恶唑(TMP/SMZ),四环素(TET),结果判断参照美国临床实验室标准化研究所(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)出版的药物敏感试验指南^[4]。

2 结果

2.1 患儿基本信息及发病诊疗情况 患儿 9 月龄,体质偏瘦。2015 年 8 月 1 日开始,患儿家长实施断奶,开始以某品牌羊奶粉为主食,并辅以米粉、米粥及清火用品。8 月 14 日开始出现反复发热症状,最高体温 39.1 ℃,18 日出现腹泻,黄色水样便;血常规无异常,大便常规检出白细胞、红细胞。先后多次就医,医院给予阿莫西林抗感染、美林(布洛芬混悬滴剂)退热治疗,仍反复水样便腹泻。8 月 29 日经某医院头孢噻肟和维生素 C 治疗得到康复。患儿常用奶瓶家长清洗时仅用热水冲洗,从未进行煮沸消毒,奶瓶口及瓶内清晰可见发黄的奶渍。患儿家中用水为自备井水,患儿食用饮水为白开水,未饮用过生水。患者居住所在村环境一般,未发现其他类似病例。

2.2 病原菌检出情况 共检测 7 份样品,其中 2 份奶瓶洗脱液、1 份袋装奶粉(未开封)和 1 份粪便样本在阪崎显色培养基上均有可疑菌落生长,挑取可疑菌落纯化,使用 API 20E 生化鉴定,生化反应均符合阪崎肠杆菌。7 份样品均未检出沙门菌、志贺菌、致泻大肠埃希菌、小肠结肠炎耶尔氏菌等。



注:antibio-MIC-SIR 图中绿色代表敏感,黄色代表中介,红色代表耐药。

图 1 4 株阪崎肠杆菌分离株 PFGE 聚类分析及耐药结果图

2.3 PFGE 分型结果 从患儿粪便样本、奶粉及奶瓶洗脱液样品中分离的 4 株阪崎肠杆菌经包埋、裂解、XbaI 酶切后进行脉冲场凝胶电泳,对电泳图谱进行聚类分析,结果显示,奶粉和 2 份奶瓶洗脱液样品中的 3 株阪崎肠杆菌具有相同的 PFGE 带型,与患者粪便中分离的阪崎肠杆菌相似度为 64.3%,见图 1。

2.4 药敏实验结果 从患儿粪便样本、奶粉及奶瓶洗脱液中分离的 4 株阪崎肠杆菌对氨苄青霉素、氯霉素、环丙沙星、阿奇霉素、亚胺培南、头孢西丁、庆大霉素、萘啶酸、复方磺胺甲恶唑和四环素 10 种抗生素敏感实验结果均为敏感,见图 1。

3 讨论

随着各国对新生儿阪崎肠杆菌感染事件的相继报道,国际上对阪崎肠杆菌越来越关注,逐步认识到婴儿配方奶粉是新生儿阪崎肠杆菌感染的主要渠道^[5]。此外,有研究认为冲调环境和器皿的污染也是重要的传染源^[6]。本研究流行病学调查显示,患儿一直使用某品牌羊奶粉,且患儿家长卫生观念淡薄,自述奶瓶每次使用前只用开水进行简单冲洗而从未经过煮沸消毒处理。实验室检测结果显示,患儿使用的 2 个奶瓶均检出阪崎肠杆菌,且与未开封婴儿配方羊奶粉中检出的阪崎肠杆菌 PFGE 型别一致,说明婴儿配方羊奶粉是该患儿感染阪崎肠杆菌和奶瓶污染阪崎肠杆菌的主要来源。患儿食用剩余的奶粉中虽未检出阪崎肠杆菌,但因奶瓶已被污染而未消毒彻底,导致该患儿患病时间较长,反复感染,反复就医。

因婴幼儿在选择使用抗生素等药物时较为慎重,因此及时地分离病原菌并进行药物敏感性实验,在婴幼儿感染性腹泻中指导临床用药尤为重要。国内不但有阪崎肠杆菌耐药的报道,还有多重耐药的报道^[7]。本研究中的 4 株阪崎肠杆菌对实验的七大类抗生素均为敏感,患儿在指导用药并对奶瓶消毒处理后,迅速康复。

近年来在群众密切关注牛奶健康时,羊奶异军突起逐渐进入了消费者的视野。自 2013 年 6 月国家出台文件,首次明确羊乳可作为婴幼儿配方乳粉原料后,婴幼儿配方羊奶粉纷纷上市。但因羊奶粉的标准仍未

出台,同时也缺乏羊奶粉的标准方法和技术,这制约着羊奶粉行业的发展,也给羊奶粉的安全带来隐患。国内有多篇关于羊奶粉中检出阪崎肠杆菌的报道^[8],本研究亦在未开封的袋装奶粉中检出阪崎肠杆菌,但因样品中微生物的不均匀性,食用剩余的罐装奶粉中未检出阪崎肠杆菌。

本实验结果表明婴幼儿配方羊奶粉阪崎肠杆菌的污染问题不容忽视,存在潜在危险,让人担忧。提醒有关部门应对配方羊奶粉中阪崎肠杆菌的风险进行评估,并加强对这类产品的监督检测力度,在最大程度上控制阪崎肠杆菌的污染。湖南省对婴幼儿配方食品的监测中也有检出阪崎肠杆菌的报道^[9-10],鉴于阪崎肠杆菌对婴幼儿的危害,建议生产企业找到污染源和污染环节,加强生产质量管理,监管部门加强婴幼儿配方食品质量安全管理。从而在最大限度上避免阪崎肠杆菌对婴幼儿的危害,保障消费者的健康。

参考文献

- [1] Farmer JJ, Asbury MA, Hickman FW, et al. The enterobacteriaceae study group (USA). *Enterobacter sakazakii*: a new species of "Enterobacteriaceae" isolated from clinical specimens [J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1980, 30:569-584.
- [2] Sheri K. Dennison, Joseph Morris. Multiresistant *Enterobacter sakazakii* wound infection in an adult [J]. *Infections in Medicine*, 2002, 19 (11):533-535.
- [3] PulseNet. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Cronobacter* Species [EB/OL]. (2010-07-21) [2016-6-10]. <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/cronbacter-pfge-protocol-508c.pdf>.
- [4] 范虹,李彦锋.国产微量肉汤稀释法药敏试剂检测常见多重耐药菌[J].*国际检验医学杂志*,2013,20(34):2735-2737.
- [5] 刘秀梅. 阪崎肠杆菌-食品安全控制的新目标[J]. *中国食品卫生杂志*, 2004, 5(1):385-388.
- [6] 杨小蓉,黄伟峰,谢晓丽,等.一例由阪崎肠杆菌感染引起腹泻患儿的溯源分析[J]. *疾病监测*, 2014, 29(10):794-796.
- [7] 崔晶花,杨小蓉,杜小莉,等.60株克罗诺杆菌的药敏分析[J]. *疾病监测*,2012,27(5):409-411.
- [8] 张欣强,庞杏林,刘俊华,等.广州市售国产婴幼儿配方粉中阪崎肠杆菌污染调查[J]. *中国卫生检验杂志*,2010,20(1):183-185.
- [9] 陈蓉,唐旭辉.2011年永州市食源性致病菌监测[J]. *实用预防医学*,2012,19(7):1032-1034.
- [10] 杨柳青,宋克云,苏良.2010年长沙市食源性致病菌监测分析[J]. *实用预防医学*,2011,18(5):859-860.

收稿日期:2017-01-22