

南京地区儿童肠道感染致病性 大肠埃希菌血清型的分布及耐药性

徐 飞 迟富丽 谈 华 刘雪梅 阳艳丽 钟天鹰

[摘要]目的:了解南京地区儿童细菌性腹泻中致病性大肠埃希菌(*Escherichia coli* *E. coli*)的主要血清型和对抗生素的敏感性。方法:对5 409例粪便标本进行分离培养并用血清学方法鉴定*E. coli*血清型,采用纸片扩散法测定*E. coli*对常用抗生素的敏感性。结果:5 409例粪便标本中分离出633株*E. coli*,检出率为11.70%;血清学分型共检出12种血清型,产超广谱 β -内酰胺酶菌株的检出率达82.15%。结论:*E. coli*是引起儿童细菌性腹泻的一种重要致病菌,且多重耐药情况严重;临床应开展对*E. coli*的检测并根据药敏试验结果合理选用抗菌药物治疗*E. coli*感染。

[关键词] 大肠埃希菌;血清型;微生物敏感性试验

[中国图书资料分类法分类号] R 378.21 [文献标识码] A

Analysis of serotype and antibiotic sensitivity of enteropathogenic *Escherichia coli* infected in children

XU Fei ,CHI Fu-li ,TAN Hua ,LIU Xue-mei ,YANG Yan-li ,ZHONG Tian-ying

(Department of Clinical Laboratory ,Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University ,Nanjing Jiangsu 210008 ,China)

[Abstract] **Objective:** To survey the serotype and antibiotics resistance of enteropathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) in children with diarrhea in Nanjing area. **Methods:** Five thousand four hundred and nine cases of feces samples were cultured ,isolated *E. coli* strains were indentified by serotyping and the antibiotic susceptibility was determined by disk diffusion test. **Results:** Six hundred and thirty-three strains of *E. coli* were isolated (11.70%) and 12 serotypes were detected. The incidence of ESBLs was 82.15% in the isolated strains. **Conclusions:** *E. coli* is an important pathogen leading to infant diarrhea ,and highly resistant to many antibiotics; we should identify *E. coli* and select correct antibiotics according to the results of susceptibility test.

[Key words] *Escherichia coli*; serotype; microbial sensitivity tests

在正常情况下,大肠埃希菌(*Escherichia coli* *E. coli*)是人类肠道中一种有益的寄生菌,但某些血清型*E. coli*却能导致人类疾病^[1]。致病性*E. coli*是导致婴幼儿腹泻的主要病原菌,在发展中国家每年导致近100万名儿童病死。该菌侵入肠道后,主要在十二指肠、空回肠上段黏膜大量繁殖,使微绒毛刷状缘破坏、绒毛萎缩、上皮细胞功能受损,导致严重腹泻。随着抗菌药物,尤其是第三代头孢菌素在临床上的广泛应用,*E. coli*耐药菌株亦不断增加,甚至出现多重耐药菌株^[2-4],给临床的治疗带来很大困难。为了解本地区*E. coli*的血清型分布及耐药情况,现对我院5 409例腹泻患儿的肛拭标本临床分离*E. coli*进行分析,旨在对*E. coli*感染的流行病学调查、疫苗制备及经验性治疗提供指导作用。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集2008~2010年我院肠道门诊就诊及消化科住院的5 409例腹泻患儿的肛拭标本。

1.2 细菌的分离培养与鉴定 按照《全国临床检验操作规程》(第3版)进行肠道致病菌检验,即将肛拭标本接种于中国蓝培养基,35℃培养18~24h,挑选病原菌接种肠道鉴别培养基进行初步鉴定。最后用致病性*E. coli*12种诊断分型血清(宁波天润生物制品研究所生产)进行玻片凝集试验,由血清学反应将*E. coli*定到种、群或血清型。

1.3 药敏试验 采用K-B纸片扩散法对分离的*E. coli*进行药敏试验,15种抗菌药物为氨苄西林、哌拉西林、阿莫西林/克拉维酸、氨基糖苷类、头孢唑啉、头孢他啶、头孢噻肟、头孢吡肟、头孢西丁、亚胺培南、氧氟沙星、复方磺胺甲噁唑、舒巴坦/头孢哌酮、庆大霉素、阿米卡星。按照2007年美国临床实验室标准协会标准判读结果。药敏纸片和培养基均为英国

[收稿日期] 2011-06-14

[作者单位] 南京医科大学附属南京儿童医院 检验科,江苏 南京 210008

[作者简介] 徐 飞(1975-)男,硕士,主管技师。

Oxoid 公司产品,采用 *E. coli* ATCC25922 进行药敏质量控制。

1.4 产超广谱 β -内酰胺酶(extended spectrum beta-lactamases, ESBLs) 检测 将筛选出的 *E. coli* 接种在血琼脂平板经 37 °C 培养 18 ~ 24 h,制成 0.5 麦氏单位的菌液并涂布于 M-H 平板,然后在 M-H 平板上贴入药物纸片,纸片分别为头孢他啶(30 μ g)及头孢他啶/克拉维酸(30 μ g/10 μ g)组合、头孢噻肟(30 μ g)及头孢噻肟/克拉维酸(30 μ g/10 μ g)组合,各纸片相距至少 24 mm。培养 16 ~ 18 h 后测量抑菌环的大小,当克拉维酸与头孢他啶或头孢噻肟组合的抑菌环直径较无克拉维酸时的抑菌环直径增加至少 5 mm 时,判断 ESBLs 为阳性。

2 结果

2.1 *E. coli* 分离结果及血清型 5 409 例腹泻患儿的肛拭标本中分离出 633 株 *E. coli*,检出率为 11.70%。血清学分型检测结果见表 1, O142K86 型构成比最高,为 25.73%,其次为 O127K63 与 O44K74,各为 13.28% 与 10.37%。

表 1 633 株 *E. coli* 血清学分型

血清型别	株数	构成比(%)
O142K86	163	25.75
O127K63	84	13.27
O44K74	66	10.42
O126K71	66	10.42
O86K61	63	9.95
O55K59	55	8.69
O26K60	37	5.85
O111K58	34	5.37
O125K70	32	5.06
O128K67	13	2.05
O114K90	13	2.05
O119K69	7	1.12
合计	633	100.00

2.2 药敏试验结果及 ESBLs 检出情况 分离的 633 株 *E. coli* 对氨苄西林高度耐药达 97.78%,对三、四代头孢菌素、磺胺类复方磺胺甲噁唑耐药率为 70% ~ 90%,对氨基糖苷类、氟喹酮类、 β 内酰胺/ β 内酰胺酶抑制剂复合物耐药率 < 65%,对碳青霉烯类亚胺培南敏感率为 100%(见表 2)。633 株 *E. coli* 中产 ESBLs 菌株的检出率为 82.15%(520/633)。

表 2 633 株 *E. coli* 的药敏试验结果

抗生素	敏感(株)	耐药(株)	耐药率(%)
氨苄西林	14	619	97.78
哌拉西林	39	594	93.84
阿莫西林/克拉维酸	257	376	59.40
氨曲南	70	563	88.94
头孢唑啉	58	575	90.83
头孢他啶	176	457	72.19
头孢噻肟	79	554	87.52
头孢吡肟	123	510	80.57
头孢西丁	80	553	87.36
亚胺培南	633	0	0.00
氧氟沙星	288	345	54.50
复方磺胺甲噁唑	166	467	73.77
舒巴坦/头孢哌酮	524	109	17.22
庆大霉素	239	394	62.24
阿米卡星	536	97	15.32

3 讨论

E. coli 是一种引起儿童腹泻的重要致病菌,严重时可导致患儿死亡。自从 1945 年首次报道此菌致病以来,大家对此菌引起的婴幼儿严重性和持续性腹泻给予了高度关注。

对 *E. coli* 的鉴定是研究其致病性和流行病学的基础。常用的鉴定方法很多,但临床上以血清学方法的应用最为广泛,也是鉴定的最终依据。本研究通过血清学方法共分离到 *E. coli* 633 株,其检出率为 11.7%,远高于广州地区的 2.47%^[5],低于温州地区的 14%^[6]。我们对 *E. coli* 的血清型研究发现,本地 O142K86 血清型最为多见(25.75%),其次是血清型 O127K63(13.28%)和 O44K74(10.37%),与温州、安徽等^[2-4,7]地报道的 O86K61 分别占 31.3%、50.0% 存在较大差异,提示 *E. coli* 血清型分布存在较大的地域差异,在流行病学调查及疫苗研究时应予以重视。

近年来有大量文献^[8-10]报道,*E. coli* 对临床常用抗生素的耐药性不断增加,对氨苄西林的耐药率已高达 74.1% ~ 93.6%,对复方磺胺甲噁唑、氯霉素及四环素等的耐药率也较高,且多重耐药菌株逐渐增多,使得对该菌感染的治疗成为一个非常棘手的问题。本研究结果显示,*E. coli* 的产 ESBLs 阳性率高达 82.15%,远高于任春阳等^[11]的报道(45%),同时药敏试验发现,*E. coli* 对青霉素和第 (下转第 1384 页)

映肾小球受损非常灵敏的标志物。

本研究中肾病患者血清 Cys C 的检测采用颗粒增强透射免疫比浊法,既方便又准确,可以避免肌酐清除率检测过程的繁琐及不易正确留取标本而影响检测结果的可靠性^[11]。为此,我们建议对肾病患者在常规的 BUN、SCr 的基础上联合 Cys C 的检测,对于临床的早诊断、早治疗有很大的帮助。

[参 考 文 献]

- [1] 周新,涂植光.临床生物化学和生物化学检验[M].北京:人民卫生出版社,2003:261.
- [2] Morgan C, Senthilselvan A, Bamforth F *et al.* Correlation between cystatin C-and renal scan-determined glomerular filtration rate in children with spina bifida [J]. *Pediatr Nephrol*, 2008, 23(2): 329-332.
- [3] National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation classification, and stratification [J]. *Am J Kidney Dis*, 2002, 39(2 Suppl): S1-S266.
- [4] Chinese eGFR Investigation. Modified glomerular filtration rate

estimating equation for Chinese patients with chronic kidney disease [J]. *Am Soc Nephrol*, 2006, 17(29): 37-44.

- [5] 陆永绥,张伟民.临床检验管理与技术规程[M].杭州:浙江大学出版社,2005:278.
- [6] 叶应妩.全国临床检验操作规程[M].南京:东南大学出版社,2006:463-466.
- [7] 王学晶,徐国宾,李海霞,等.血清肌酐和半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 及估算的肾小球滤过率在评价慢性肾病患者肾小球滤过功能中的比较研究[J].*中华检验医学杂志*, 2007, 30(4): 415-418.
- [8] 沈颖,孟群.小儿急性衰竭诊断标准及治疗进展[J].*实用儿科临床杂志*, 2008, 23(17): 1391-1392.
- [9] 李熙建,谭同均,朱国文,等.胱抑素 C 与尿微量蛋白及尿酶联合检测在不同程度肾病中的应用价值[J].*现代检验医学杂志*, 2008, 23(6): 70-73.
- [10] 侯镇江,魏明竟.胱抑 C 及其研究方法研究进展[J].*国际检验医学杂志*, 2007, 28(11): 1013-1015.
- [11] 王亚平,姜宇海,余伟,等.胱抑素 C 在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J].*临床检验杂志*, 2006, 24(3): 240.

(本文编辑 章新生)

(上接第 1381 页)

一、二、三、四代头孢菌素的耐药率都比较高(80%~90%),但碳青霉烯类的亚胺培南是对产 ESBLs 菌株高度稳定的抗菌药物,其敏感率为 100%。另外, *E. coli* 对喹诺酮类和氨基糖苷类(阿米卡星、庆大霉素)的耐药率相对较低(15%~60%),但由于氨基糖苷类的副作用较大,故临床应用受到了一定的限制;而对舒巴坦/头孢哌酮比较敏感,耐药率仅为 17.26%。因此,临床上治疗儿童 *E. coli* 感染性腹泻时应结合药敏试验结果,选用敏感的抗生素,舒巴坦/头孢哌酮可作为本地区治疗儿童 *E. coli* 感染的经验用药。

鉴于日益严峻的耐药现状以及 *E. coli* 在小儿腹泻中的重要地位,我们应重视对此致病菌的检测,并积极寻找快速、准确的鉴定方法,及时提供药敏试验结果,以指导临床治疗,力求达到良好的治疗效果。

[参 考 文 献]

- [1] 聂青和.感染性腹泻病[M].北京:人民卫生出版社,2000:142.
- [2] 时全,黄新明,李朝阳,等.致泻大肠埃希菌感染在腹泻病中地位的研究[J].*中国卫生检验杂志*, 2005, 15(1): 5-8.
- [3] Alikhani MY, Mirsalehian A, Aslani MM. Detection of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) in Iranian children with and without diarrhoea [J]. *J Med Microbiol*, 2006,

55(Pt 9): 1159-1163.

- [4] Vignoli R, Varela G, Mota MI *et al.* Enteropathogenic *Escherichia coli* strains carrying genes encoding the PER-2 and TEM-116 extended-spectrum β -lactamases isolated from children with diarrhea in Uruguay [J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(6): 2940-2943.
- [5] 万根平,黄勇,邓秋连,等.儿童肠道感染致病性大肠埃希菌血清型分布及耐药性研究[J].*实用医学杂志*, 2010, 26(2): 310-311.
- [6] 李向阳,杨锦红,陶红群,等.肠致病性大肠埃希菌的直接基因鉴定[J].*中国公共卫生*, 2002, 18(7): 788-789.
- [7] 杨锦红,任春阳,王军.肠致病性大肠埃希菌血清型分布及耐药性分析[J].*实验与检验医学*, 2008, 26(2): 143-144.
- [8] 谢永强,邓秋连,万根平,等.广州地区儿童感染性腹泻的病原学研究[J].*中国当代儿科杂志*, 2009, 11(2): 107-109.
- [9] 赵兰兰,朱朝敏,张爱华.1997~2006年重庆地区儿童细菌性腹泻病原菌分布与药敏结果分析[J].*中国实用儿科杂志*, 2008, 23(1): 45-49.
- [10] 陈晶,杨春莉,裘宇蓉,等.武汉社区腹泻病人粪便中致病菌的构成与耐药性研究[J].*热带医学杂志*, 2007, 7(4): 326-329.
- [11] 任春阳,李向阳,杨锦红,等.致病性大肠埃希菌血清型分布及对抗生素的敏感性分析[J].*中国微生态学杂志*, 2007, 19(4): 379-380.

(本文编辑 章新生)