

·短篇论著·

鼠伤寒沙门菌致幼儿腹泻的病例检测与调查分析

周永明 张顺先 古文鹏 尹建雯 张京云 周晓农 阚飙 徐闻 李利

【关键词】 沙门菌; 鼠伤寒; 腹泻; 婴儿

Epidemiological and laboratory investigations on an infant case with diarrhea caused by *salmonella enterica* serovar typhimurium

Zhou Yongming*, Zhang Shunxian, Gu Wenpeng, Yin Jianwen, Zhang Jingyun, Zhou Xiaonong, Kan Biao, Xu Wen, Li Li. Institute of Infectious Disease Control and Prevention, Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China

Corresponding author: Li Li, Email: erklili@sina.com

【Key words】 *Salmonella typhimurium*; Diarrhea; Infant

腹泻是危害儿童身体健康和生命安全的重要公共卫生问题之一。据估计 2011 年全球约有 70 万儿童死于腹泻^[1], 在一些发展中国家迁延性腹泻所致死亡占儿童腹泻死亡的比例高达 50% 以上^[2]。国内外调查显示, 沙门菌感染是 5 岁以下儿童急性腹泻的主要原因之一^[3-4]。本研究于 2014 年在云南昆明某综合医院儿科开展腹泻监测时, 从 1 例迁延性腹泻患儿粪便标本中先后 3 次检出鼠伤寒沙门菌。本研究对患儿进行了回顾性调查、随访和实验室检测, 对其发病情况、诊治经过、病原特征和转归等进行了综合分析。

材料与方法

1. 材料: 于 2014 年, 以云南省昆明市某综合医院儿科为监测点, 开展 5 岁以下儿童腹泻监测。其间, 发现 1 例迁延性腹泻患儿, 采用自行设计的病例个案调查表和随访记录表对其母亲进行当面访谈, 采集患儿粪便标本, 进行沙门菌及其他常见腹泻病原检测。同时, 本研究对患儿母亲和家庭保姆进行粪便标本采集, 仅进行沙门菌检测。本研究通过云南省 CDC 伦理委员会审核, 患儿母亲签署了知情同意书。

2. 腹泻定义: 指 24 h 内大便次数 ≥ 3 次且伴有排便性状改变, 迁延性腹泻是指腹泻持续时间 ≥ 14 d^[5]。

3. 沙门菌检测: 按传统分离鉴定方法操作, 用一次性粪便标本采集器收集患儿大便标本 3~5 g, 4 h 内送至实验室。用无菌棉签挑取适量粪便标本接种木糖赖氨酸脱氧胆

酸钠培养基(XLD, 英国 Oxoid 公司)后, 再用一次性接种环按四区法划线分离; 同时接种 1 支亚硒酸盐磺绿增菌液(SBG, 英国 Oxoid 公司), 增菌培养 18 h 后划线接种 XLD 培养基^[6]。从 XLD 平板上挑取无色半透明中等大小的菌落接种于三糖铁琼脂(北京陆桥公司, TSI), 将符合沙门菌特征的菌株转种到普通营养琼脂培养, 再用 Vitek AM-60 自动生化鉴定仪(法国生物梅里埃公司)鉴定, 最后用沙门菌诊断血清(兰州生物制品研究所)进行血清分型。

4. 药敏试验: 按照美国临床和实验室标准协会(CLSI)发布的抗菌药物敏感性试验执行标准进行^[7], 选择了 10 类 11 种抗生素(氨苄西林、阿莫西林克拉维酸、头孢西丁、头孢克肟、氨基糖苷、亚胺培南、阿米卡星、左旋氧氟沙星、萘啶酸、四环素和磺胺甲氧嘧啶), 采用纸片扩散法(英国 Oxoid 公司)开展试验。药敏试验使用的米歇尔-海顿琼脂(MH)购自北京陆桥公司。

5. PFGE 分型和聚类分析: 依照文献[8]进行。内切酶为 *Xba* I(大连宝生物工程有限公司), 电泳参数为脉冲时间 2.2~63.8 s、电压梯度 6 V/cm、电场夹角 120°、电泳时间 19 h。用 Gel Doc 2000 拍摄图像, PFGE 图像利用 BioNumerics 5.01 软件进行处理, 经校准后, 使用非加权配对算术评价法(UPGMA)进行聚类分析, 构建聚类树, 分析菌株间的相似性。

6. 其他病原检测: 用 Real-time PCR 方法对粪便进行其他病原菌的检测, 志贺菌检测的基因是 *ipaH*, 致泻性大肠杆菌检测的基因包括 *eae*、*stx1*、*stx2*、*elt*、*STh*、*STp*、*aggR* 和 *virB*, 致病性弧菌检测的基因是 *ropA*。采用 A 组轮状病毒抗原检测试剂盒(胶体金, 广州辉康生物科技有限公司)进行轮状病毒检测, 采用镜检法检测粪便中的蓝氏贾第鞭毛虫、隐孢子虫和溶组织阿米巴原虫。

结 果

1. 患儿基本情况: 男性, 14 月龄, 昆明市主城区常住人

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2015.11.019

基金项目: “十二五”科技重大专项(2012ZX10004212)

作者单位: 650022 昆明, 云南省疾病预防控制中心急性传染病预防所(周永明、古文鹏、尹建雯、徐闻); 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所(张京云、阚飙), 寄生虫病预防控制所(张顺先、周晓农); 云南省第一人民医院儿科(李利)

通信作者: 李利, Email: erklili@sina.com

口。患儿 7 个月之前系母乳喂养,之后为混合喂养,就诊时身高 78 cm,体重 10 kg。患儿与父母和保姆共同居住在昆明市中心城区,家庭人均居住面积大于 35 m²,患儿父母的文化程度较高。患儿的父母和保姆有良好的卫生习惯,家庭内未饲养任何宠物。患儿发病前 7 d 和患病期间均未接触过腹泻患者,也未进食过生冷食物。

2. 发病及诊治:(1)发病:2014 年 8 月 10 日,患儿无明显诱因出现腹泻,大便次数 5~6 次/d,性状为水样便。家长自行让患儿口服蒙脱石散和枯草杆菌二联活菌颗粒治疗,服药 2~3 d 后大便次数减少且性状改变,但停止服药后不超过 1 d 患儿大便又增加到 5~6 次/d,如此反复约 3 次。(2)诊治:8 月 28 日,大便次数增加到 7~8 次/d,同时出现呕吐症状,家长遂带患儿到医院就诊,医院给予酪酸梭菌二联活菌胶囊替代枯草杆菌二联活菌颗粒、增加口服头孢克肟和秋泻灵合剂的治疗方案。患儿服药第 4 天出现药疹便自行停止服用酪酸梭菌二联活菌胶囊、头孢克肟和秋泻灵合剂。停药 4 d 后服用黄连素和双歧杆菌乳杆菌三联活菌片。9 月 9 日,前往另一家医院就诊,并被给予头孢西丁静脉注射治

疗,但患儿家长拒绝执行医嘱,仅口服蒙脱石散和双歧杆菌乳杆菌三联活菌片。9 月 10—16 日,患儿大便性状发生明显改变,大便中混有大量黏液,且先后两次大便常规检出白细胞,遂又回医院就诊,并按照医嘱从 9 月 16 日起口服阿莫西林克拉维酸钾。治疗至 9 月 22 日,大便次数减少至 2~3 次/d,且性状好转。9 月 23 日起,患儿大便次数恢复到 1~2 次/d 且性状恢复正常(表 1)。

3. 沙门菌分离鉴定:9 月 10 日,云南省 CDC 实验室首次收集到患儿粪便标本,并检出沙门菌。9 月 16 日,实验室再次收到标本,XLD 培养基检出沙门菌且其占有菌落>90%;后 Mac 培养基复核发现,沙门菌占有菌落的构成比>90%。9 月 23 日、9 月 28 日、10 月 8 日和 10 月 13 日连续采集 4 标本进行沙门菌分离显示,仅 9 月 28 日的标本经 SBG 增菌后检出沙门菌。9 月 10 日、9 月 16 日和 9 月 28 日采集的 3 份标本中检出的沙门菌均为鼠伤寒沙门菌。

4. 药敏试验:3 株菌均对氨苄西林、萘啶酸、四环素和磺胺甲基异噁唑耐药,对阿莫西林克拉维酸钾、头孢西丁、头孢克肟、氨曲南、亚胺培南、阿米卡星和左旋氧氟沙星均

表 1 云南省 1 例儿童迁延性腹泻病例的主要临床表现和诊治情况

时间	大便次数 (次/24 h)	就诊经过	大便常规	治疗措施										
				蒙脱石散	枯草杆菌二联活菌颗粒	酪酸梭菌二联活菌胶囊	头孢克肟	秋泻灵	黄连素	头孢西丁	阿莫西林克拉维酸钾	双歧杆菌乳杆菌三联活菌片	中医推拿	
8月10—27日	5~6	自行治疗		●	●									
8月28日	7~8	西医首诊	白细胞 (阳性) 红细胞 (阴性)	●		●	●	●						
8月29—31日	7~8			●		●	●	●						
9月1日	7~8	西医复诊	白细胞 (阳性) 红细胞 (阴性)	●										
9月2—4日	7~8	药疹停药		●										
9月5—8日	7~8			●					●				●	
9月9日	7~8	中医首诊		●						○			●	
9月10日	7~8	西医复诊	白细胞 (阳性) 红细胞 (阴性)	●									●	
9月11—15日	7~8			●									●	
9月16日	7~8	西医复诊	白细胞 (阳性) 红细胞 (阳性)	●							●		●	
9月17—21日	7~8			●							●		●	
9月22日	2~3			●							●		●	
9月23日	2~3	中医复诊		●									●	●
9月24日	2~3			●									●	
9月25日	2~3			●									●	
9月26—27日	2~3			●									●	
9月28日	1~2			●									●	
9月29日—10月7日	1~2			●									●	
10月8日	1~2	停止治疗												
10月9—12日	1~2													
10月13日	1~2													
10月15日	1~2	停止随访												

注:“●”表示口服给药;“○”表示医院开了处方但家长未执行

敏感。

5. PFGE 分型和聚类分析: 3 株鼠伤寒沙门菌的 PFGE 指纹图谱完全一致, 与云南省近年监测到的其他鼠伤寒沙门菌株 PFGE 指纹图谱差异较大, 在中国病原菌分子分型实验室监测网络 (PulseNet China) 全国沙门菌 PFGE 数据库中搜索比对也未发现与该菌株一致指纹图谱菌株 (图 1)。

6. 其他病原检测: 对患儿粪便进行志贺菌、致泻性大肠杆菌、致病性弧菌和轮状病毒的核酸检测结果显示, 均为阴性。粪便镜检未检出蓝氏贾第鞭毛虫、隐孢子虫和溶组织阿米巴原虫。

7. 密切接触者沙门菌检测: 9 月 28 日采集与患儿接触最为密切的患儿母亲和保姆的粪便标本, 用同样方法进行沙门菌检测, 结果均为阴性。

讨 论

当前中低收入国家大多数迁延性腹泻病例病因是不明确的^[9]。据估计我国每年非伤寒副伤寒沙门菌所致急性胃肠炎发病多达 987.4 万人次^[10]。腹泻病例病原监测结果显示, 我国流行的非伤寒副伤寒沙门菌中鼠伤寒沙门菌是最常见血清型之一, 而儿童是鼠伤寒沙门菌感染率最高的人群^[11]。相对于年龄较大儿童和成年人, 2 岁以下儿童更易发生迁延性腹泻, 肠道持续感染和腹泻急性期使用抗生素不当是婴幼儿迁延性腹泻的重要原因。

本例患儿 8 月 10 日开始腹泻, 病程长达约 40 d, 虽然发病初期未采样进行病原检测, 但鼠伤寒沙门菌感染可能是该患儿腹泻的主要病因, 依据包括: 患儿发病初期为水样便, 大便常规提示该患儿腹泻早期即有肠道感染; 患儿粪便标本中先后 3 次检出鼠伤寒沙门菌, PFGE 结果显示 3 株菌为同一克隆; 患儿腹泻症状最重时粪便标本未经增菌即可轻易检出鼠伤寒沙门菌; 经敏感抗生素规范治疗之后患儿腹泻症状明显好转; 患儿可排除长期营养不良和蛋白不耐受等迁延性腹泻原因; 患儿粪便未检出志贺菌、轮状病毒和致泻性大肠杆菌等其他常见病原。流行病学调查发现患儿家庭经济条件和卫生条件均较好, 饮水安全有保障, 无腹泻患者接触史, 日常照料患儿的保姆和患儿母亲不是带菌者,

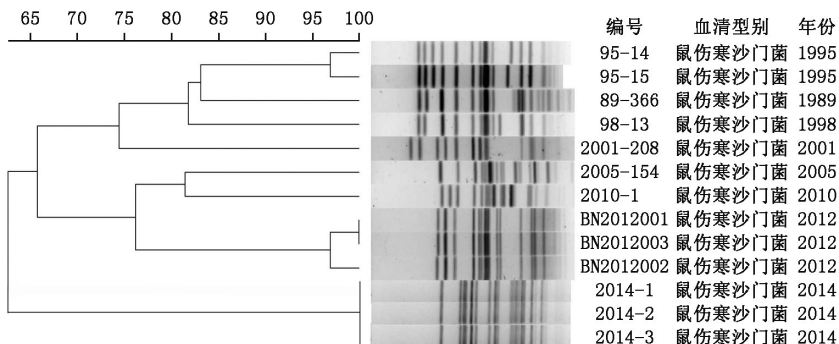
患儿所在家庭未饲养任何宠物, 因此可初步排除通过饮水和密切接触感染的可能。由于非伤寒副伤寒沙门菌在肉蛋中广泛存在且是引起食源性疾病的重要病原, 鉴于我国食品安全现状, 该患儿通过食物感染鼠伤寒沙门菌的可能性最大。该患儿腹泻症状持续约 40 d 且粪便标本中持续检出鼠伤寒沙门菌。出现这种情况的原因可能主要是就医不及时且治疗不规范, 即腹泻早期忽略了较为关键的补液和微量元素补充^[9], 而肠道感染明显时期又因药物过敏而致抗生素治疗不规范, 以致使用的抗生素不仅没有彻底清除患儿肠道内的病原菌, 可能还反而加剧了患儿肠道微生态失衡。

参 考 文 献

- [1] Walker CL, Rudan I, Liu L, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhea[J]. Lancet, 2013, 381(9875): 1405-1416.
- [2] Rahman AE, Moinuddin M, Molla M, et al. Childhood diarrhoeal deaths in seven low-and middle-income countries[J]. Bull World Health Organ, 2014, 92(9): 664-671.
- [3] Karambu S, Matiru V, Kiptoo M, et al. Characterization and factors associated with diarrhoeal diseases caused by enteric bacterial pathogens among children age five years and below attending Igembe District Hospital, Kenya[J]. Pan Afr Med J, 2013, 16: 37.
- [4] 黄芳, 邓瑛, 曲梅, 等. 2010 年北京市感染性腹泻病原学监测分析[J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(9): 820-824.
- [5] USAID, UNICEF, World Health Organization. Diarrhoea treatment guidelines including new recommendations for the use of ORS and zinc supplementation for clinic-based healthcare workers [EB/OL]. [2015-02-01]. http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/a85500/en/.
- [6] 周永明, 陈秀华, 徐闻, 等. 沙门菌常规检测方法分段控制技术在网络实验室构建中基础作用的评估[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(11): 1105-1110.
- [7] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-third informational supplement [EB/OL]. [2015-02-14]. <http://www.38.zippyshare.com/v/2314084/file.html>.
- [8] Ribot EM, Fair MA, Gautam R, et al. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet[J]. Foodborne Pathog Dis, 2006, 3(1): 59-67.
- [9] Abba K, Sinfield R, Hart CA, et al. Pathogens associated with persistent diarrhoea in children in low and middle income countries: systematic review[J]. BMC Infect Dis, 2009, 9: 88.
- [10] 毛雪丹, 胡俊峰, 刘秀梅. 用文献综述法估计我国食源性非伤寒沙门氏菌疾病负担[J]. 中华疾病控制杂志, 2011, 15(7): 622-625.
- [11] Li Y, Xie X, Xu X, et al. Nontyphoidal salmonella infection in children with acute gastroenteritis: prevalence, serotypes, and antimicrobial resistance in Shanghai, China[J]. Foodborne Pathog Dis, 2014, 11(3): 200-206.

(收稿日期: 2015-02-14)

(本文编辑: 梁明修 吕相征)



图中编号 2014-1、2014-2 和 2014-3 为本病例粪便标本中检出的菌株, 其余为云南省近年监测到的菌株

图 1 3 株鼠伤寒沙门菌与云南省近年同类菌株 PFGE 带型聚类分析图