

2018 ~ 2020 年西安地区儿童食源性腹泻病原菌分布特征和耐药性及鼠伤寒沙门菌聚类分析

王 维¹, 王 林²(1. 西安市儿童医院检验科, 西安 710003; 2. 西安市第一医院检验科, 西安 710002)

摘要:目的 研究西安地区儿童食源性腹泻流行病学特点、病原菌分布及耐药情况, 为预防和治疗儿童食源性疾病提供依据。方法 收集西安市儿童医院2018年8月~2020年8月门诊及住院食源性腹泻患儿粪便标本进行细菌培养, 分离的致病菌行基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectroscopy, MALDI-TOF MS)鉴定聚类分析、血清学鉴定及药物敏感性试验。结合临床病例对阳性结果患儿的年龄分布、患病季节性差异、病原菌血清学分布、耐药情况及同源性进行回顾性分析。结果 食源性腹泻患儿送检标本1435例, 致病菌阳性标本117例, 阳性分离率8.15%, 其中检出较多的是沙门菌, 占90.60%(106/117), 鼠伤寒沙门菌50.43%(59/117), 肠炎沙门菌27.35%(32/117); 食源性腹泻患儿发病主要集中于两个年龄段, 其中2岁以下婴幼儿致病菌检出率5.92%(29/490), 3~6岁学龄前期儿童致病菌检出率高达12.35%(61/494)。致病菌于夏季(7~9月份)检出率最高13.16%(55/418), 其季节性分离率差异有统计学意义($\chi^2=23.970$, $P<0.05$); 儿童分离的沙门菌对三、四代头孢菌素普遍敏感, 其中头孢他啶、头孢噻肟、头孢吡肟的耐药率均 $<25.00\%$, 喹诺酮类中环丙沙星多数表现为中介, 比例高达91.55%, 儿童常用氨苄西林(88.15%)及复方新诺明(71.36%)耐药率较高; 采用质谱聚类分析59株鼠伤寒沙门菌同源情况, 发现该院患儿食源性腹泻分离的鼠伤寒沙门菌主要为两大簇(I型和II型)及3个亚小簇(Ia, Ib, IIa)。结论 儿童食源性腹泻病的主要致病菌为鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌, 夏季3~6岁学龄前期儿童病原菌分离率较高。沙门菌对三、四代头孢菌素敏感率均较高, 可针对儿童食源性腹泻病行降阶梯治疗。聚类分析显示该地区的鼠伤寒沙门菌的同源性较低, 亲缘关系相对分散。临床及感控部门应高度警惕儿童食源性腹泻病, 加强对沙门菌流行病学监测力度。

关键词: 食源性腹疾病; 儿童腹泻; 沙门氏菌; 耐药性; 同源性

中图分类号: R378.22; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2021)04-0051-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.04.011

Analysis of Pathogen Distribution and Drug Resistance of Food-Borne Diarrhea in Children of Xi'an Area from 2018 to 2020

WANG Wei¹, WANG Lin²(1. Department of Laboratory Medicine, Xi'an Children Hospital, Xi'an 710003, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Xi'an NO.1 Hospital, Xi'an 710002, China)

Abstract: **Objective** To study the epidemiological characteristics, pathogen distribution and drug resistance of foodborne diarrhea in children from Xi'an Children's Hospital, so as to provide basis for the prevention and treatment of foodborne diarrhea in children. **Methods** Fecal samples of foodborne diarrhoeal disease in Xi'an Children Hospital from 2018 to 2020 were collected for pathogen culture, MALDI-TOF MS identification, serological identification and drug sensitivity test. The age distribution, seasonal differences, serological distribution and drug resistance of the children with positive results were analyzed retrospectively. **Results** A total of 1 435 cases of foodborne diarrhea were collected through the food-borne disease monitoring and reporting system, and 117 cases were detected pathogenic bacteria, with a positive isolation rate of 8.15%. The detection rate of *Salmonella* was 90.60% (106/117). Among them, *Salmonella typhimurium* 50.43% (59/117) and *Salmonella enteritis* 27.35% (32/117) were more detected. Pathogenic bacteria detection rate was the highest in 3~6 years old group (12.35%), and followed by ≤ 2 years old (5.92%). The detection rate of pathogenic bacteria was the highest in summer (from July to September), which counted 13.16% (55/418), and the difference of seasonal separation rate was statistically significant($\chi^2=23.970$, $P<0.05$). The drug resistance rates of *Salmonella* to third and fourth generation cephalosporins were $<25\%$. The intermediary percentage of ciprofloxacin was 91.55%. The drug resistance rates of *Salmonella* to ampicillin and cotrimoxazole were 88.15%.

基金项目: 陕西省重点研发计划(编号: 2017SF-119)。

作者简介: 王维(1987-), 女, 硕士, 主管检验师, 检验医师, 研究方向: 临床检验诊断学, 主要从事微生物检验及耐药研究, E-mail: doctordian.dian@163.com。

通讯作者: 王林, 男, 硕士, 主管检验师, 检验医师, 研究方向: 微生物及分子诊断, E-mail: 719332278@qq.com。

and 71.36%, respectively, and these were commonly used antibiotics in children. Cluster analysis showed that 59 strains of *Salmonella typhimurium* was divided into two clusters (I and II) and three small clusters (I a, I b, II a). **Conclusion** The main pathogenic bacteria of foodborne diarrhea in children were *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritis*. In summer, the isolation rate of pathogenic bacteria in preschool children aged 3~6 years was relatively high. The drug resistance rates of *Salmonella* to cephalosporin in the third and fourth generations were <25%. These drugs can be used to treat children's foodborne diarrhoeal diseases by descending stairs. Cluster analysis showed that the homology of *Salmonella typhimurium* in this region was low and the genetic relationship was relatively dispersed. Clinicians and infection control staff should pay more attention to the increasing resistance of *Salmonella* species. Epidemiological surveillance should be strengthened for *Salmonella* in clinical settings.

Keywords: foodborne diseases; diarrhoea in children; salmonella; drug resistance; homology

食源性疾病 (foodborne diseases) 是摄入有病原体的食品后导致的中毒性或感染性疾病。据世界卫生组织报告显示, 每年全球儿童食品源性腹泻病达上亿例, 约 200 万儿童因不能及时救治而死亡^[1-2]。近年来, 我国对儿童食品安全高度重视, 儿童腹泻 1/3 病例为食源性腹泻, 特别是学龄前儿童发病率较高^[3-4]。致泻性细菌(沙门菌、志贺菌、弧菌等)是引起儿童胃肠炎最常见的食源性病原菌, 其血清型多达千余种, 且不同种类致病力存在差异。此类细菌多具有传染性, 食用污染的肉、蛋、奶或接触感染的患者均可致病, 临床症状可表现为腹泻、肠热症(伤寒或副伤寒)、败血症等类型。婴幼儿由于其年龄小、免疫力低、接触乳制品多、流行病学史模糊等, 常易误诊漏诊^[5,6]。

随着现代社会信息化发展, 我国已建立食源性疾病监测网络^[7], 从不同地区、不同年份, 不同人群来分析食源性腹泻病原体检出的差异性。我院作为国家儿童区域医疗中心, 是首批承担儿童食源性疾病哨点医院监测工作单位。本研究通过对门诊及住院送检的食源性病例标本进行细菌培养, 分离致病菌以了解儿童食源性腹泻病流行病学特点、病原菌分布及耐药情况, 为临床疾病预防和诊治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2018年8月~2020年8月在西安市儿童医院门诊及住院以急性腹泻为主诉, 排便次数 ≥ 3 次/天, 有可疑食品暴露史, 被临床纳入食源性疾病范畴的患儿为研究对象。去除重复病例标本, 收集临床病例及患儿异常粪便(黏液便、水样便、脓血便) 1 435 份。

1.2 仪器与试剂 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱仪(德国布鲁克公司); 药敏板卡 AST-GN13(法国梅里埃生物制品有限公司); 培养基(广州迪景微生物科技有限公司); 诊断血清(宁波天润生物药业有限公司); 全自动微生物鉴定及药敏分析系统 VITEK2 Compact(法国梅里埃生物制品有限公司); 细菌培养箱(日本索尼公司)。

1.3 方法

1.3.1 分离培养及细菌鉴定: 将食源性粪便培养标本, 接种于 SS 琼脂平板、麦康凯平板、弧菌平板、沙门菌增菌液中培养 18~24 h, 操作严格按照《全国临床检验操作规程》进行, 得到的单个菌落采用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱仪进行鉴定。

1.3.2 血清学试验及药敏试验: 分离的沙门菌及志贺菌使用血清凝集试剂(宁波天润生物药业有限公司)对其进行凝集试验, 依据说明书确定分离菌的血清型别。法国梅里埃 Vitek 2-Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统进行药敏 MIC 法试验, 药敏结果采用 CLSI2019 标准进行判断, 质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

1.3.3 同源性分析: 利用 MALDI-Biotyper 数据库软件初步对鼠伤寒沙门菌的同源性进行聚类分析。

1.4 统计学分析 数据采用 SPSS 20.0 进行统计分析。计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 儿童食源性腹泻病病原菌检出率及沙门菌血清学分布情况 见表 1。本研究对临床诊断为食源性腹泻病患儿 1 435 例粪便标本进行分离培养, 发现致病菌阳性标本 117 份, 阳性分离率为 8.15%。其中检出较多的是沙门菌占 90.60% (106/117), 鼠伤寒沙门菌 50.43% (59/117), 肠炎沙门菌 27.35% (32/117), 明显高于其他致病菌; 其他致病菌如嗜水气单胞菌、志贺菌、小肠结肠炎耶尔森菌、副溶血弧菌等检出率较低。

2.2 儿童食源性腹泻病患儿病原菌检出年龄分布及季节性流行情况 食源性腹泻病患儿致病菌检出年龄主要集中在 3~6 岁学龄前期, 检出率为 12.35% (61/494), 其次为 0~2 岁幼儿期, 检出率为 5.92% (29/490), 6~12 岁学龄期 6.12% (20/327) 及 13~17 岁青春期 5.65% (7/124) 检出率较低, 3~6 岁学龄前期较其他年龄阶段儿童致病菌分离率高,

差异有统计学意义 ($\chi^2=17.730, P<0.05$)。致病菌因季节不同, 检出率差异较大, 研究结果显示各季节致病菌检出率分别为春季 8.31% (32/385)、冬季 3.92% (6/153)、秋季 5.01% (24/479)、夏季 13.16% (55/418), 夏季食源性腹泻患儿致病菌检出率最高, 较其他季节致病菌检出率差异有统计学意义 ($\chi^2=23.970, P<0.05$)。

表1 儿童食源性腹泻病粪便培养病原菌分布及构成比 (n=117)

病原菌	株数 (n)	构成比 (%)
鼠伤寒沙门菌	59	50.43
肠炎沙门菌	32	27.35
斯坦利沙门菌	3	2.56
汤普逊沙门菌	2	1.71
猪霍乱沙门氏菌	1	0.85
分类不明的沙门菌	9	7.69
福氏志贺菌	2	1.71
嗜水气单胞菌	4	3.42
小肠结肠炎耶尔森菌	4	3.42
副溶血弧菌	1	0.85

2.3 儿童食源性腹泻标本沙门菌耐药情况分析见表2。对儿童食源性腹泻标本分离的 106 株沙门菌耐药情况进行分析, 氨苄西林及氨苄西林/舒巴坦耐药率较高, 分别为 88.6% 和 79.2%; 沙门菌对三、四代头孢敏感性较好, 耐药率均小于 25.0%; 喹诺酮类抗生素中左氧氟沙星和环丙沙星耐药率均小于 10.0%, 但中介率较高 (81.1% 和 83.0%), 该类药物有敏感率普遍降低的趋势; 磺胺类抗生素耐药率也较高, 复方新诺明耐药率达 38.6%; 碳青霉烯类抗生素敏感性较好, 仅发现 1 例耐碳青霉烯类抗生素的鼠伤寒沙门菌。

2.4 儿童食源性腹泻标本中鼠伤寒沙门菌聚类分析见图1。MALDI-TOF MS 方法对 59 株鼠伤寒沙门菌进行聚类分析, 结果所示, 树枝状图分为 2 大簇 (I 型 32 株, II 型 27 株), I 型中有 2 个亚小簇出现 (I a 14 株, I b 13 株), II 型有 1 个聚集性小簇 (II a 15 株)。说明本地区的鼠伤寒沙门菌的同源性较低, 亲缘关系相对分散。

3 讨论

食源性腹泻病是通过污染的食品和水源, 引起人类感染, 已发展为一个全球性的公共卫生问题。我国每年约有 4 万例儿童发生腹泻, 因其免疫功能低下, 发病后可迅速引发电解质紊乱、脱水、休克, 进而造成全身急性感染^[8]。了解儿童食源性腹泻病的流行病学特征、病原菌分布及耐药情况, 可及时实施针对性治疗干预措施, 避免延误治疗最佳时机。

表2 儿童食源性腹泻标本中 106 株沙门菌耐药情况分析 (%)

抗生素	耐药率	中敏率	敏感率
氨苄西林	88.6	0	11.4
头孢噻肟	20.5	0.3	79.2
头孢曲松	21.2	0.8	78.0
复方新诺明	38.6	1.1	60.3
头孢吡肟	23.7	0.7	75.6
氨曲南	39.7	17.7	42.6
左氧氟沙星	8.9	81.1	10.0
环丙沙星	7.3	83.0	9.7
头孢他啶	20.1	18.7	22.9
氨苄西林/舒巴坦	79.2	8.4	12.4
哌拉西林/他唑巴坦	4.1	9.6	86.3
亚胺培南	1.0	0	99.0
美罗培南	1.0	0	99.0

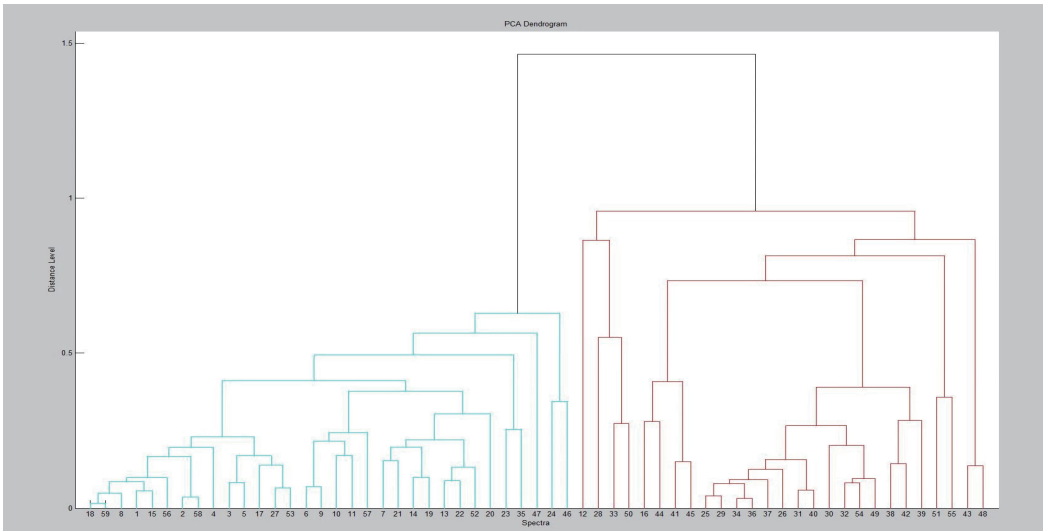


图1 59 株鼠伤寒沙门菌 MALDI-TOF MS 蛋白质系统同源性分析图

该研究通过对西安市儿童医院2018~2020年门诊及住院收治的食源性腹泻患儿粪便标本进行分离培养、质谱鉴定、血清学分型、药物敏感性检测等试验,以了解西安地区儿童食源性腹泻病流行病学特征、病原菌分布及耐药情况。结果显示,沙门菌是引起儿童食源性腹泻病最常见病原菌,其中鼠伤寒沙门菌及肠炎沙门菌分离率远高于其他细菌(志贺菌、气单胞菌、小肠结肠炎耶尔森菌、副溶血弧菌),此结果与国内成人食源性腹泻报道一致^[9-10],沙门菌已成为食源性腹泻病致病菌的重点监控细菌。结合病例综合分析儿童食源性标本病原菌检出情况,结果显示3~6岁学龄前期的儿童,阳性检出率高达12.35%,较其他年龄段明显增高($P<0.05$),此与其他地区研究结果一致^[3],区别于成人患者外出就餐较为频繁,感染暴露机会较多,学龄前期(3~6岁)儿童阳性率高可能与其免疫力低、胃肠道抵抗力弱,良好摄食卫生习惯未完全养成且处于幼托阶段,初步开始集体生活有关。此外,0~2岁幼儿期,致病菌检出率也较高(5.92%),处于本年龄段儿童胃肠道脆弱且处于母乳奶粉交替及母乳辅食交替阶段,因此较易出现病原菌感染。发病季节差异性统计发现夏季较其他季节病原菌阳性分离率高,差异显著,与其他报道一致^[11]。该研究结果提示儿童食源性感染与季节关系密切,夏季(6~8月)气温高,有利于肠道致病菌繁殖,同时夏季易食用凉拌食物会增加病原菌感染的机会。

儿童食源性腹泻标本分离的沙门菌对常用抗生素氨苄西林耐药率高达89%,因儿童食源性腹泻标本鼠伤寒沙门菌分离率最高,该结果与报道的鼠伤寒沙门菌对氨苄西林耐药率达90%以上结果一致;沙门菌对三、四代头孢耐药率均小于25%,众所周知,头孢类抗生素目前仍为儿童沙门菌治疗首选,但其耐药也给临床医生经验治疗重症感染带来一定的挑战性^[12-13];环丙沙星最低抑菌浓度(MIC)试验是评估沙门菌对氟喹诺酮敏感性的首选药物,该研究发现环丙沙星耐药率均小于10%,但中介率高达81%,说明该类药物有敏感率普遍降低的趋势,与成人耐药情况一致^[14-15];碳青霉烯类抗生素敏感性较好,本研究已检出1株耐碳青霉烯类药物的鼠伤寒沙门菌,应引起临床高度警惕。MALDI-TOF MS技术是近几年发展起来的一种全新的用于微生物鉴定和分型的方法,具有操作简便、快速、高通量等特点,且检测成本低,已越来越多地用于微生物的检测、分类及耐药表型的研究。此方法可快速对沙门菌进行种属水平鉴定^[16-18],且通过聚类分析可以对鉴定菌株进行比较,查看一致性,这对传染病的监测、追踪及调查有非常重要的意义。本研究

采用MALDI-TOF MS方法对59株鼠伤寒沙门菌进行聚类分析,结果本院食源性腹泻标本分离的鼠伤寒沙门菌的同源性较低,亲缘关系相对分散,此现象可能与本院作为国家区域中心医院,收治患儿范围较广有关。

综上所述,儿童食源性腹泻病致病菌以沙门氏菌感染为主,发病年龄多集中于3~6岁学龄前期儿童,且以夏季为主要暴发季节。对于儿童沙门菌感染抗生素的耐药趋势临床医生应高度警惕,鉴于儿童使用的局限性,食源性腹泻病应以预防为主,同时需加强饮食,注意环境卫生以切断传播途径。儿童食源性腹泻病监测对流行因素、菌群菌型变迁动态及抗生素耐药趋势进行全面掌握,为临床治疗提供了有利证据。

参考文献:

- [1] HAVELAAR A H, KIRK M D, TORGERSON P R, et al. World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010[J]. PLoS Medicine, 2015, 12(12): e1001923.
- [2] TORGERSON P R, DEVLEESSCHAUWER B, PRAET N A, et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: a data synthesis[J]. PLoS Medicine, 2015, 12(12): e1001920.
- [3] 陈留萍, 闵向东, 董海燕, 等. 2018~2019年云南省沙门氏菌感染引起食源性腹泻状况分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(13): 4253-4257.
CHEN Liuping, MIN Xiangdong, DONG Haiyan, et al. Analysis of food-borne diarrhea caused by *Salmonella* infection in Yunnan province from 2018 to 2019 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(13): 4253-4257.
- [4] 刘素芬, 梁骏华, 黄琼, 等. 一起检出多种致病菌的食源性疾病暴发调查与病因探讨[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(1): 100-104.
LIU Sufen, LIANG Junhua, HUANG Qiong, et al. An investigation and discussion on an outbreak caused by multiple foodborne pathogens [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2017, 29(1): 100-104.
- [5] 方盼盼, 杨俊文, 杨俊梅, 等. 儿童感染性腹泻中沙门菌血清型及耐药性分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2020, 31(1): 96-99.
FANG Panpan, YANG Junwen, YANG Junmei, et al. Analysis of *Salmonella* serotype and drug resistance of children with infectious diarrhea [J]. Chinese Journal of Woman and Child Health Research, 2020, 31(1): 96-99.
- [6] 宋灿磊, 刘天, 杜荐如, 等. 金山区某学校一起诺如病毒感染性腹泻疫情流行病学调查[J]. 实用预防医学, 2017, 24(4): 429-432.
SONG Canlei, LIU Tian, DU Jianru, et al. Epidemiological investigation on an outbreak of Norovirus-induced infectious diarrhea in a primary school in Jinshan District[J]. Practical Preventive Medicine, 2017, 24(4): 429-432.

(下转第80页)