

61 例抗生素相关性腹泻患者失调菌群耐药性分析

崔国辉¹, 梁 陶², 林 湛², 袁汉尧² (1. 广东医学院检验学院, 广东湛江 524023; 2. 广东医学院附属医院检验科, 广东湛江 524001)

【摘要】 目的 了解抗生素的使用对患者肠道菌群的影响, 以及失调菌群的耐药性。**方法** 采用粪便细菌培养进行分析, 同时对相应患者通过查病历了解其抗生素使用情况。**结果** 2010 年 5 月至 2011 年 12 月共发现相关患者 61 例, 主要发病人群为老年人、婴幼儿以及重症患者。61 例相关腹泻患者大便培养, 培养出念珠菌 24 例, 肠球菌 22 例, 奇异变形杆菌 8 例, 葡萄球菌 5 例, 铜绿假单胞菌 2 例。其中白色念珠菌对各种抗真菌药保持较好的敏感性, 而非白色念珠菌耐药性明显高于白色念珠菌。粪肠球菌和类粪肠球菌对利奈唑胺、呋喃妥因和万古霉素耐药性较低, 通过比较可知粪肠球菌和类粪肠球菌对呋喃妥因、利奈唑胺、利福平、青霉素 G、万古霉素的耐药率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而两者对链霉素 2000、莫昔沙星、庆大霉素、左旋氧氟沙星耐药率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 对特殊患者进行粪便培养检查是实验室诊断抗生素相关性腹泻较好的方法, 可以给临床提供实验依据, 防止抗生素的滥用。

【关键词】 抗生素; 菌群失调; 耐药性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 16. 008 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)16-1935-02

Analysis on the drug resistance of dysbacteriosis of patients with antibiotic associated diarrhea in 61 cases CUI Guo-hui¹, LIANG Tao², LIN Zhan², YUAN Han-yao² (1. Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524001, China)

【Abstract】 Objective To understand the influence of antibiotics on intestinal flora of patients, and the drug resistance of dysbacteriosis. **Methods** We analyzed the fecal bacterial culture, and understood the situation of using antibiotic by investing the case history. **Results** During May 2010 to Dec 2011, 61 patients were found with the antibiotic associated diarrhea, especially in the elder, infants and critical patients. After the stool culture of the 61 samples, there were 24 cases of candida, 22 cases of enterococcus, 8 cases of proteus mirabilis, 5 cases of ureus, 2 cases of pseudomonas aeruginosa were found. Candida albicans had a high sensitivity to various antifungal agents, but the drug resistances of other albicans were significantly higher than the candida albicans. Enterococcus faecalis and class of enterococcus faecalis had low drug resistance to linezolid, nitrofurantoin, and vancomycin. By comparing the data, we found that the drug resistance of Enterococcus faecalis and class of Enterococcus faecalis in nitrofurantoin, linezolid, rifampicin, penicillin G, vancomycin had no significant difference ($P > 0.05$), and the drug-resistance in streptomycin, Tamoxifen, gentamicin, levofloxacin had significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** The stool culture test was a better way to diagnose antibiotic associated diarrhea, it could provide experimental basis for clinical and prevent the abuse of antibiotics.

【Key words】 antibiotics; dysbacteriosis; drug resistance

肠道菌群间互相保持着共生或拮抗的关系, 以宿主摄取的食物和分泌于消化道内的机体成分作为营养, 从而不断地增殖和被排泄, 它们与宿主的健康、疾病有着极其密切的联系^[1]。临床抗生素大量不合理的使用, 令肠道菌群的数量与比例发生变化, 引起肠道功能的紊乱, 其中典型的临床表现为腹泻。抗生素相关性腹泻 (antibiotic-associated diarrhea, AAD) 日益受到关注。研究表明 5%~30% 的患者在抗生素治疗早期或治疗结束后两个月内会发生 AAD^[2-3]。为了解广东医学院附属医院抗生素所致的菌群失调以及菌群的耐药性, 对 2010 年 5 月至 2011 年 12 月粪便培养为阳性的腹泻患者 61 例进行研究, 现分析结果如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2010 年 5 月至 2011 年 12 月广东医学院附属医院住院 61 例患者粪便细菌培养未生长沙门及志贺菌, 生长除大肠埃希菌以外的细菌。

1.2 细菌培养 粪便培养及涂片检查按《全国临床检验操作规程》第 3 版进行, 挑取脓血便或黏液便分别接种血平板、中国兰平板、沙保平板、SS 平板, 将接种好的平板置 35℃ 恒温培养箱培养 18~24 h, 观察生长情况, 并挑取可疑细菌进行鉴定和药物敏感试验。

1.3 仪器 采用法国梅里埃生物公司的全自动微生物分析仪 VITEK-C32 进行鉴定与药物敏感试验。

1.4 质量菌株 ATCC25922 大肠埃希菌、ATCC25923 金黄色葡萄球菌。

1.5 统计学处理 细菌耐药性分析采用 WHONET5.4 软件, 两种细菌间的耐药性比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 一般资料 共从粪便中分离有价值患者 61 例, 查找培养阳性患者病历资料发现, 其中老年 39 例, 基础病不一; 青年 8 例, 基础病多为白血病; 少儿 14 例, 基础病多为小儿肠炎, 其次

为败血症。症状体征表现轻重不一,多有腹痛、腹泻,常伴发热等。大便性状多样化,可见软便、水样便、黏液便、脓血便,大便次数3~10余次不等。

2.2 抗生素使用情况 61例患者中发生菌群失调前使用庆大霉素17例;头孢他啶、哌拉西林各11例;头孢唑肟8例;利福平、头孢哌酮各5例;其余还有左旋氧氟沙星、依诺沙星、头孢替安、头孢克肟等。单一用药5例,占8.2%,两联或以上用药56例,占91.8%。

2.3 实验室培养结果 61例AAD患者的粪便培养中,真菌检出率最高,为24例(39.3%),其中白色念珠菌20株,非白色念珠菌4株;其次为肠球菌22例(36.1%),其中粪肠球菌7株,类粪肠球菌15株;余下为奇异变形杆菌8例(13.1%),葡萄球菌5例(8.2%),铜绿假单胞菌2例(3.3%)。

2.4 菌群耐药性 选取念珠菌和肠球菌作药物敏感分析。非白色念珠菌与白色念珠菌耐药性比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),白色念珠菌对各种抗真菌药保持较好的敏感性,而非白色念珠菌对弗利康唑、氟胞嘧啶、氟康唑、伊曲康唑以及两性霉素B的耐药性明显高于白色念珠菌,要引起临床的重视(表1)。粪肠球菌和类粪肠球菌耐药性比较,粪肠球菌和类粪肠球菌对利奈唑胺、呋喃妥因和万古霉素耐药性较低,对多种抗生素耐药率已达70%以上。通过两者比较可知,粪肠球菌和类粪肠球菌对呋喃妥因、利奈唑胺、利福平、青霉素G、万古霉素的耐药率比较差异没有统计学意义($P > 0.05$),而两者对链霉素2000、莫昔沙星、庆大霉素500、左旋氧氟沙星耐药率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

表1 白色念珠菌与非白色念珠菌耐药性比较

抗真菌药物	白色念珠菌		非白色念珠菌		P 值
	耐药性(%)	敏感性(%)	耐药性(%)	敏感性(%)	
弗立康唑	4	96	28	72	<0.05
氟胞嘧啶	17	83	40	60	<0.05
氟康唑	4	96	57	43	<0.05
两性霉素 B	0	100	14	86	<0.05
伊曲康唑	5	95	43	57	<0.05

表2 粪肠球菌与类粪肠球菌耐药性比较

抗生素	粪肠球菌		类粪肠球菌		P 值
	耐药性(%)	敏感性(%)	耐药性(%)	敏感性(%)	
呋喃妥因	13	87	13	87	>0.05
利奈唑胺	0	100	0	100	>0.05
利福平	91	9	87	13	>0.05
链霉素 2000	9	37	68	32	<0.05
莫昔沙星	83	17	93	7	<0.05
青霉素 G	83	17	100	0	>0.05
庆大霉素 500	31	14	92	8	<0.05
四环素	78	22	87	13	>0.05
万古霉素	4	96	7	93	>0.05
左旋氧氟沙星	87	13	100	0	<0.05

3 讨 论

正常情况下,肠道菌群、宿主和外部环境建立起一个动态

的生态平衡,对人体的健康起着重要作用。但随着现代医学的迅速发展,广谱抗生素的广泛应用导致AAD的发生也越来越多。这使得粪便培养由原来的主要病原菌沙门菌和志贺菌变成现在的真菌和球菌为主,这不得不引起临床注意。本研究显示,AAD的发生与下面几个因素密切相关。

3.1 菌群失调与年龄关系 导致AAD发生的主要是中老年患者及婴幼儿患者,与有关报道相符^[4]。这可能是由于老年人免疫功能低下,基础疾病多样化,加之胃酸较少,小肠蠕动较慢或使用抗生素,具有发生菌群失调的高度危险性^[5],而婴幼儿胃酸度低,免疫系统发育不完善,血清免疫球蛋白和胃肠分泌型IgA较低,补体水平低,对外界环境变化耐受力差,使用抗生素后容易发生AAD^[6]。

3.2 菌群失调与抗生素的使用 据相关资料显示,几乎所有抗生素可引起AAD,广谱抗生素更易发生。有报道称广谱抗生素引起AAD的概率是窄谱抗生素的10~70倍^[5]。患者多为广谱抗生素联合用药,占所分析AAD患者中的91.8%。多为庆大霉素与第二代、第三代头孢联用,这些药物主要是杀死革兰阴性杆菌,致使这种细菌数量急剧减少,革兰阳性球菌及真菌、厌氧菌的数量相对增多,并得以大量繁殖^[7]。

3.3 细菌耐药性 从本实验室对粪便菌群失调所筛选出细菌耐药性分析可见,肠球菌属(包括粪肠球菌和类粪肠球菌)对青霉素、利福平、喹诺酮类(包括左旋氧氟沙星和莫昔沙星)和四环素耐药率已达70%以上,这跟所查AAD患者病历资料所使用的抗生素基本相符合。这些患者由于这几种抗生素的大量使用,使得肠道筛选出耐这些抗生素的肠球菌大量繁殖,导致AAD的发生。另外,从所检出的念珠菌可见,非白色念珠菌与白色念珠菌耐药性有明显差异($P < 0.05$),白色念珠菌对各种抗真菌药保持较好的敏感性,而非白色念珠菌对各种抗真菌药已有较高的耐药率,特别是氟康唑,耐药率已达57%。这也提示临床对于二度以上的菌群失调的治疗,不能盲目地使用抗生素,必须根据粪便细菌培养的结果选择敏感的药物,从而减少患者的经济负担,减轻患者的痛苦。临床上必须使用抗生素时,首先要选用窄谱抗生素,慎用广谱抗生素。一旦发生伪膜性肠炎,要立即停用原来的抗生素,然后根据致病菌种类的不同,通过药物敏感试验选择用药。一般在停用抗生素3d后临床症状缓解,研究表明大约22%的腹泻患者与难辨梭状芽孢杆菌有关^[8]。治疗此类腹泻可采用口服甲硝唑250mg,每日4次,或者口服万古霉素125mg,每日4次,并加强隔离措施,防止院内感染^[9-10]。

以上资料表明,AAD是由于临床上大量使用抗生素所造成患者额外承担的一种痛苦,它不但延长患者住院时间,而且大大增加了患者经济负担。通过粪便细菌培养,可对临床鉴别和治疗AAD提供重要依据。

参考文献

[1] 代群威,董发勤,邓建军. 正常菌群与菌群失调[J]. 生物磁学,2005,5(1):32.
 [2] Winstrom J, Norrby SR, Myhre EB, et al. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 47(1): 43-50.
 [3] 杨勇,曾吉,江汉珍. 住院患者康复期相关性腹泻的调查[J]. 华中医学杂志, 2004, 28(1): 25-26.
 [4] 孟拥军,朱蓓德. 178例住院患者抗生素(下转第1938页)

率 3.69%；TRUST 法检测阳性 136 例，阳性率 2.06%。

2.2 用 TPPA 法检测出的 244 份阳性标本中 ELISA 法均为阳性，有 3 例 ELISA 法阳性标本 TPPA 法检测结果为阴性，符合率 98.78%，两种方法检出率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。而 TRUST 法检测的阳性为 136 份，与 ELISA 法的符合率为 55.06%，TRUST 法与 ELISA 法检出率比较，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 对 TPPA 确证的 244 份阳性标本，用 TRUST 法检测出 136 份阳性，符合率 55.74%。TRUST 法与 TPPA 法检出率比较，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

梅毒检测早已被卫生部列为输血前必须筛查的项目之一。近年来，梅毒的发病率逐年增高，已经成为主要的性传播疾病及传染病高发病种。本文研究也发现本院住院患者输血前筛查和性病门诊的梅毒阳性率高达 3.69%，比文献报道的偏高^[3]。其可能为本院性病门诊是性病、艾滋病监测哨点，疑似患者占相当大比例的原因。

梅毒 TRUST 试验是采用牛心中提取的心磷脂、胆固醇及卵磷脂组成的性病抗原重悬于含有特制的甲苯胺红溶液制成，用于检测患者血清或血浆中的非特异性抗体，是非特异性梅毒筛查试验，易受某些传染病及自身免疫性疾病等因素的干扰。此类抗体一般在硬下疳出现 1~2 周后可检出，二期梅毒及晚期梅毒的阳性率可达 100%，但不适合早期或潜伏期梅毒检测。本文结果显示 TRUST 法与 ELISA 法、TPPA 法符合率分别为 55.06% 和 55.74%，在 108 份 ELISA 法和 TPPA 法检测为阳性的标本，TRUST 法检测为阴性，可认为是梅毒非活动期或部分患者治疗后转阴。由于 TRUST 试验在梅毒诊断上出现较高的假阳性和假阴性结果，容易导致误诊或漏诊，故 TRUST 试验不适用于梅毒的筛查试验^[4]。但在临床治疗方面，TRUST 试验滴度与病程有关，当感染者在接受治疗后或处于非活动期时，其滴度下降或出现阴性结果，而梅毒复发或治疗无效时，滴度会因此而升高，所以通常检测其滴度变化以作为疗效观察、复发或再感染的指标。

ELISA 法是利用人工合成的基因重组抗原检测梅毒螺旋体特异性抗体，与 TPPA 法一样均为检测患者血清特异性梅毒螺旋体 IgG 抗体，其临床应用价值与 TPPA 法一致，理论上两者的符合率应该一致，但各自所用抗原并非完全相同，因此两者的结果存在一定的差异^[5]。本文 247 份 ELISA 阳性标本中，用 TPPA 法确证试验有 244 份与 ELISA 法符合，符合率为 98.78%，3 份 ELISA 法阳性标本 TPPA 法和 TRUST 法均为阴性，其 S/CO 值均在临界值之上但小于 2.00，处于灰区之间，假阳性率为 1.22%。由此可以看出 ELISA 法的敏感性和

特异性均较高，适合作为大批量人群进行梅毒筛查的首选方法，但要确诊是否为梅毒螺旋体感染，仍需做 TPPA 确证试验，以排除假阳性和假阴性结果发生。

TPPA 试验由于使用密螺旋体的抗原成分被固相或致敏红细胞和明胶颗粒，其敏感性和特异性很高，所以本试验一旦阳性，无论患者治疗与否均对检测结果无影响，是目前公认的梅毒抗体确证方法。但 TPPA 阳性结果也只能提示所检测标本中含有类脂抗体/抗密螺旋体抗体的存在，不能作为患者感染梅毒的绝对依据，检测结果必须结合患者的临床情况综合判断。所以 TPPA 法不能作为疗效观察及判愈的指标，但对于梅毒早期感染的确诊具有重要的临床意义^[6]。

综上所述，梅毒的血清学检查项目多，各试验项目的敏感性和特异性也不尽相同。所以在进行梅毒的临床血清学诊断中，首先应同时进行 ELISA 法和 TPPA 法检测，排除 ELISA 试验中的假阳性和假阴性结果，以便临床医师根据检测结果并结合临床，对患者是否感染梅毒进行确诊判断，避免造成部分患者的误诊和漏诊。其次，对确诊为梅毒感染的患者再用 TRUST 试验检测其滴度，临床上可以根据其滴度变化有助于判断梅毒复发及再感染，在观察病程和疗效方面有着重要的参考价值。因此，在梅毒的血清学诊断过程中，临床上有必要根据不同的情况联合 TRUST 法、ELISA 法和 TPPA 法对梅毒抗体进行检测，从而在避免梅毒的漏诊、误诊以及防范医疗纠纷等方面都有着重要的临床价值。

参考文献

- [1] 叶顺章. 性传播疾病的实验室诊断[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [2] 何寿国, 黄进梅. 三种梅毒血清学检测方法的比较与应用评估[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(4): 384-385.
- [3] 丁双双, 沈霞. 梅毒螺旋体血清学筛查和确证试验的临床应用[J]. 检验医学, 2007, 22(6): 681-683.
- [4] 王露楠, 邓巍, 李金明. 梅毒螺旋体感染不同血清学诊断方法的临床评价[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(6): 352-353.
- [5] 唐淑霞, 朱安友, 王凤超, 等. ELISA 法筛查联合 TRUST, TPPA 在梅毒诊断中的应用价值[J]. 实用全科医学, 2006, 5(6): 545-546.
- [6] 徐龙珍, 毕永春. 不同梅毒血清学检测方法的联合应用评价[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(3): 111-112.

(收稿日期: 2011-03-01)

(上接第 1936 页)

- 相关性腹泻的调查分析[J]. 药物警戒, 2008, 5(3): 155-156.
- [5] 王亚丽, 林静. 抗生素相关性腹泻的临床分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(7): 1393-1394.
 - [6] 梅忠卓. 婴幼儿抗生素相关性腹泻临床分析[J]. 药物流行病学杂志, 2006, 15(5): 272-273.
 - [7] Chernukha M, Avetisian LR, Alekseeva GV, et al. Antibiotic resistance and putative origin of *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella* strains isolated from the children with intestinal dysbacteriosis[J]. Zh Mikrobiol Epidemiol Im-

munobiol, 2005, 5(5): 66-70.

- [8] Schroeder MS. Clostridium difficile-associated diarrhea [J]. Am Fam Physician, 2005, 71(5): 921-928.
- [9] Lewis S, Burmeister S, Cohen S, et al. Failure of dietary oligofructose to prevent antibiotic-associated diarrhoea [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2005, 21(4): 469-477.
- [10] Krause R, Reisinger EC. Candida and antibiotic-associated diarrhoea [J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(1): 1-2.

(收稿日期: 2011-03-03)