

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2016.04.014

· 论 著 ·

汕头地区 4 例散发创伤弧菌感染的实验室诊断

陈乐川¹, 朱红军¹, 周泽妍², 柯永坚¹, 陈钊文¹

(1 汕头市中心医院, 广东 汕头 515031; 2 汕头潮南民生医院, 广东 汕头 515144)

[摘 要] **目的** 了解汕头市某院创伤弧菌(VV)感染患者的病原微生物学特征及药物敏感性。**方法** 回顾性分析汕头市某院 2013 年 6 月—2014 年 6 月收治的 4 例 VV 感染患者, 采集患者血标本进行培养, 采集患者疱液或棉拭子采集伤口分泌物接种于血平板、麦康凯平板及 TCBS 平板, 对分离的菌株进行鉴定和药敏试验。**结果** 4 例 VV 感染患者, 其中死亡 3 例, 治愈 1 例; 分别因进食腌蟹、蒸扇贝或外伤后接触海产品, 而引起原发性败血症及下肢感染。患者 A、B 疱液, 患者 C 伤口分泌物, 患者 D 血培养均分离出氧化酶阳性、TCBS 平板上生长呈绿色的革兰阴性菌, 均鉴定为 VV。VV 对头孢唑林耐药或中介, 对头孢替坦均为中介, 1 株 VV 对头孢吡肟耐药。**结论** 4 例 VV 感染患者病死率高(3/4), 疱液或伤口分泌物培养阳性率较血培养高; 及时就诊、尽早开始抗菌药物治疗及积极清创有助于治疗该病。

[关 键 词] 创伤弧菌; 药敏试验; 抗药性; 微生物; 耐药性; 食源性感染; 伤口感染

[中图分类号] R378 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2016)04-0272-05

Laboratory analysis on 4 cases of sporadic *Vibrio vulnificus* infection in Shantou City

CHEN Le-chuan¹, ZHU Hong-jun¹, ZHOU Ze-yan², KE Yong-jian¹, CHEN Chuan-wen¹
(1 Shantou Central Hospital, Shantou 515031, China; 2 Shantou Chaonan Minsheng Hospital, Shantou 515144, China)

[Abstract] **Objective** To analyze characteristics of pathogenic microbiology and antimicrobial susceptibility of *Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*) causing infection in patients at a hospital in Shantou City. **Methods** Four patients with *V. vulnificus* infection admitted to a hospital between June 2013 and June 2014 were analyzed retrospectively, blood specimens of patients were collected for culture, blister fluid and wound secretion were taken and inoculated on blood agar plates, MacConkey agar plates, and thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS) plates, isolated strains were identified and performed antimicrobial susceptibility testing. **Results** Among 4 patients with *V. vulnificus* infection, 3 died, 1 was cured; patients developed primary septicemia and lower extremity infection because of eating pickled crab, steamed scallop, or contacting with seafood products after trauma. Blister fluid from patients A and B, wound secretion from patient C, and blood from patient D were all isolated oxidase-positive gram-negative bacteria which produced green colonies on TCBS plate, these strains were identified as *V. vulnificus*, which were resistant or intermediate to cefazolin, intermediate to cefotetan, and 1 strain was resistant to cefepime. **Conclusion** Four patients infected with *V. vulnificus* have high mortality rate (3/4), positive rates of blister fluid and wound secretion are higher than blood; timely medical consultation, early antimicrobial therapy, and active debridement will help to cure the disease.

[Key words] *Vibrio vulnificus*; antimicrobial susceptibility testing; drug resistance; microbial; drug resistance; foodborne infection; wound infection

[Chin J Infect Control, 2016, 15(4): 272-276]

[收稿日期] 2015-03-18

[作者简介] 陈乐川(1983-), 男(汉族), 广东省汕头市人, 主管技师, 主要从事临床微生物研究。

[通信作者] 朱红军 Email: zhugdzt@163.com

创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*, VV)为嗜温、嗜碱、低度嗜盐、嗜铁的革兰阴性(G^-)菌,广泛存在于近海环境及多种海产品中,可引起人原发性败血症(病死率超过 50%)和严重伤口感染(病死率约 25%)^[1]。感染者多为免疫功能低下或原有基础疾病者,通过进食未经煮熟的甲壳类海产品(尤其是生牡蛎),以及开放性伤口、破损皮肤暴露于带菌海水而感染。自 1976 年首次被美国疾病控制与预防中心(CDC)鉴定并命名以来,世界多地及国内沿海地区如浙江、台湾等地均有散在病例报道,潮汕地区罕见。本院于 2013 年 6 月—2014 年 6 月共诊治 VV 感染患者 4 例,现将其临床特点及微生物实验室鉴

定过程予以报告。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2013 年 6 月—2014 年 6 月诊治的 4 例 VV 感染患者,其中死亡 3 例,治愈 1 例。4 例患者起病均表现为发热、畏寒,继发下肢肿胀、疼痛,并出现散在水泡及瘀斑似烫伤样皮肤改变。病情进展迅速,3 例双下肢感染者(患者 A、B、D)出现感染性休克,2~11 d 因多器官功能衰竭而死亡;1 例(患者 C)左下肢受累,经清创换药 1 月余并行创面清创植皮术后治愈。见表 1。

表 1 VV 感染患者临床基本资料
Table 1 Basic clinical characteristics of patients infected with *V. vulnificus*

患者	性别	年龄 (岁)	职业	既往史	接触史	发病 日期	就诊 时间	主要临床表现				
								发热 畏寒	感染部位及表现			胃肠道 症状
									红肿疼痛	瘀斑	水疱	
A	男	70	无	乙型肝炎、原发性肝癌待排	3 d 前食用腌蟹	2013/6/2	发病 1 周后	有	双下肢	-	双下肢	-
B	男	54	厨师	乙型肝炎、慢性肾功能不全	当天手指外伤后清洗海虾	2013/8/1	发病 2 d 后	有	双下肢	双侧大腿	双侧小腿	稀便
C	男	87	无	高血压、右肾囊肿、前列腺肥大	连续 3 d 食用蒸扇贝	2014/6/1	发病 2 d 后	有	左足背、左小腿	左足、左小腿	左足、左小腿	呕吐
D	男	31	渔民	轻度脂肪肝(酒精性)	4、6 d 前曾分别被蟹、鱼刺伤手指	2014/5/6	发病 4 d 后	有	双下肢	双下肢、臀、腰部	左腘窝、右下肢	呕吐、排水样黑便

1.2 仪器与试剂 法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动鉴定及药敏分析仪、血培养仪 BACT/ALERT 3D。血琼脂平板、麦康凯平板购自江门凯林贸易有限公司;TCBS 平板由本实验室新鲜配制(TCBS 琼脂购自北京陆桥技术股份有限公司),微量生化反应管购自杭州天和微生物试剂有限公司,血培养瓶为法国生物梅里埃公司产品。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 标本均由临床医生采集,用无菌注射器采集 A、B、D 患者水/血疱穿刺液密封送检,用无菌棉签采集 C 患者下肢感染伤口的脓性分泌物,置无菌管保湿送检;同时,用需氧、厌氧瓶采集患者血标本进行培养。

1.3.2 标本染色镜检及细菌分离 采用无菌注射器采集疱液标本转至无菌管中,2 500 r/min 离心 15 min,以及采用棉拭子采集感染伤口脓性分泌物直接接种于血平板、麦康凯平板、TCBS 平板,置 37℃ CO₂ 培养箱中培养 24 h,观察结果,同时涂片行革兰染色。血培养瓶置血培养仪培养,阳性者行

涂片革兰染色并转种于上述培养基。

1.3.3 菌株鉴定及药敏试验 于平板上挑取菌落制成 0.5 麦氏单位浊度悬液,采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动鉴定及药敏分析仪,按仪器操作说明进行,结果判断采用美国临床实验室标准化协会(CLSI)2013 年标准。

2 结果

2.1 染色及培养结果 直接染色镜检:疱液及伤口分泌物标本均检出少量 G^- 杆菌,部分呈逗点状(白细胞 ++ ~ ++++,上皮细胞未见)。见图 1。疱液、伤口分泌物标本 37℃,CO₂ 培养箱中培养 24 h 后,血平板上长出灰黄色、扁平、湿润、不透明菌落;麦康凯平板上无细菌生长或生长不良;TCBS 平板上长出绿色湿润菌落。见图 2。挑取菌落涂片染色镜检,为 G^- 杆菌,氧化酶阳性。与血培养阳性标本转种培养基上的菌落生长情况基本相同。

2.2 细菌学鉴定结果 所分离菌株经 VITEK 2

Compact 全自动鉴定及药敏分析仪鉴定为创伤弧菌。见表 2。

2.3 药敏试验结果 VV 对头孢唑林耐药或中介，对头孢替坦均为中介，1 株 VV 对头孢吡肟耐药，而对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、氨曲南、头孢他啶、头孢曲松、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、环丙沙星、左氧氟沙星、庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素、呋喃妥因、复方磺胺甲噁唑等均敏感。见表 3。

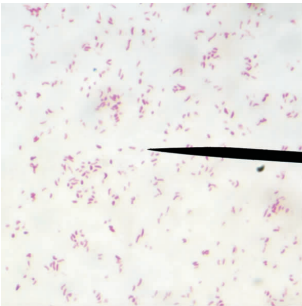
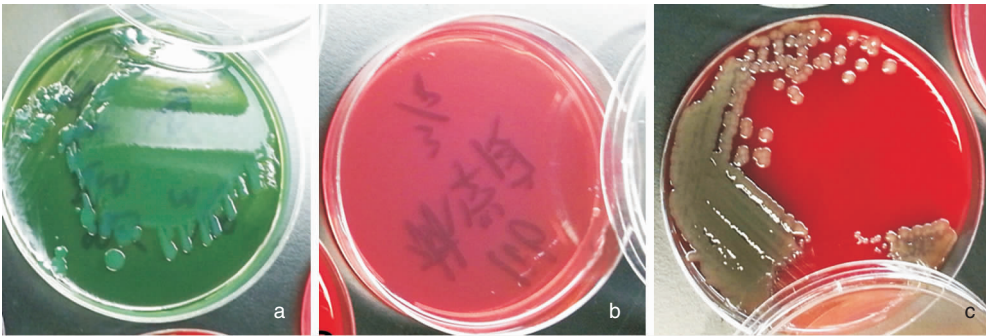


图 1 疱液及伤口分泌物细菌革兰染色镜下形态(×1 000)
Figure 1 Microscopic morphology of gram staining bacteria from blister fluid and wound secretion (×1 000)



a :TCBS 平板;b:麦康凯平板;c:血平板

图 2 患者疱液标本在各营养培养平板上菌落生长情况
Figure 2 Colonial growth of bacteria isolated from blister fluid on all kinds of culture media

表 2 不同患者标本培养鉴定结果

Table 2 Identification results of bacteria from different patients' specimens						
患者	标本类型	采集时间	送检形式	涂片染色	鉴定结果	鉴定编码
A	水泡穿刺液	就诊 37 h	注射器	G ⁻ 杆菌	创伤弧菌	5625711140505000
B	水泡穿刺液	就诊 10 h	注射器	G ⁻ 杆菌	创伤弧菌	5625711140701001
C	伤口分泌物	就诊 0.5 h	棉拭子	G ⁻ 杆菌	创伤弧菌	5625711140707201
D	血	就诊 0.5 h	血培养瓶	G ⁻ 杆菌	创伤弧菌	5625711140507021

3 讨论

VV 或称海洋弧菌,隶属弧菌属第五群,G⁻ 菌、兼性厌氧、单极端单鞭毛,无芽孢、无异染颗粒、有荚膜,按生化反应特征可分为生物 1、2 和 3 型,引起人类感染的主要为生物 1 型。自然环境中该菌只能在盐度为 0.7%~1.6%、温度>20℃的水中生长^[2];抵抗力不强,冷冻或煮沸可被杀灭。通常环境分离株常无致病性,临床分离株有致病性。感染病例多分布于热带和亚热带沿海地区,3~11 月好发,夏季(海面水温 23~29℃)是发病高峰期^[3]。其致病机制尚不明确,目前认为荚膜多糖(CPS)、运动鞭毛、

Rtx 毒素、铁获取能力等是必须的致病因子,脂多糖(LPS)、IV 型菌毛、溶细胞素、金属蛋白酶等亦可能发挥重要作用^[1]。

本组 4 例 VV 感染患者,其中食源性感染 2 例(1 例治愈),伤口感染 2 例。发病时间均为夏季,均表现为急起发热伴畏寒,继发下肢特征性大疱性皮炎,并肝、肾、心、呼吸、循环功能不全,结合患者均有长期吸烟史、长期饮酒史(除患者 B 外),存在基础疾病,并有海产品或海水接触史等可作初步诊断,患者血、疱液、伤口分泌物等培养分离出 VV 而确诊。抗菌药物治疗前及时采集的 D 患者血培养,分离出 VV,而于其余 3 例患者(抗菌药物治疗后)采集的血标本均培养阴性。A、B 患者疱液,以及

表 3 4 例感染患者分离的 VV 药敏试验结果(μg/mL)
Table 3 Antimicrobial susceptibility testing results of *V. vulnificus* isolated from 4 infected patients (μg/mL)

抗菌药物	A		B		C		D	
	结果	MIC 值	结果	MIC 值	结果	MIC 值	结果	MIC 值
氨苄西林	S	≤2	S	≤2	S	≤2	S	≤2
氨苄西林/舒巴坦	S	≤2	S	≤2	S	≤2	S	≤2
哌拉西林/他唑巴坦	S	≤4	S	≤4	S	≤4	S	≤4
头孢唑林	R	32	I	16	R	32	I	16
头孢他啶	S	≤1	S	≤1	S	≤1	S	≤1
头孢曲松	S	≤1	S	≤1	S	≤1	S	≤1
头孢吡肟	S	≤1	S	≤1	S	≤1	R	= 64
头孢替坦	I	32	I	32	I	32	I	32
氨曲南	S	4	S	4	S	4	S	8
亚胺培南	S	≤1	S	≤1	S	≤1	S	≤1
庆大霉素	S	2	S	2	S	≤1	S	4
阿米卡星	S	8	S	8	S	4	S	16
环丙沙星	S	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25
左氧氟沙星	S	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25	S	≤0.25
妥布霉素	S	2	S	4	S	2	S	4
呋喃妥因	S	≤16	S	≤16	S	≤16	S	≤16
复方磺胺甲噁唑	S	≤20	S	≤20	S	≤20	S	≤20

S:敏感;I:中介;R:耐药

C 患者的伤口分泌物均分离出 VV,阳性率高,适用于已应用抗菌药物治疗、血培养阴性者。实验亦证实,经伤口感染 VV 的小鼠,其血培养(12 h)阳性率仅为 20%,而伤口分泌物培养阳性率为 100%,感染 6 h 后即可在 小鼠伤口分离出 VV,并持续 12~72 h^[4]。标本保温送检并及时接种,棉拭子保湿送检,培养基置室温复温均影响细菌存活和培养阳性率。注射器抽取的疱液标本宜离心取沉淀物接种,以提高阳性率,或注入血培养瓶送检。送检同时告知必要的临床资料,以及标本直接涂片的染色镜检,有助于实验室选择合适的培养基并采取有针对性的鉴定程序,缩短报告时间。镜检发现 G⁻ 杆菌且氧化酶阳性、TCBS 平板上生长呈绿色菌落,判断分离到致病性弧菌,应作为危急值及时通知临床。

本组 VV 对多种抗菌药物敏感性较好,而对头孢唑林耐药或中介,对头孢替坦均为中介,仅 1 例对头孢吡肟耐药,与韦俊超等^[5]报道的(分离自脓性分泌物)相近,与潘军航等^[6]报道(分离自粪便样本)结果存在差异,后者对氨基糖苷类抗生素(如阿米卡星、庆大霉素)耐药;王志刚等^[7]报道的临床分离株对庆大霉素、妥布霉素、氨曲南和头孢唑林耐药。VV 表型复杂,不同来源分离株的耐药表型差异,抗菌药物治疗应结合药敏试验结果进行选择。同时,

环境分离株的耐药现状不容乐观,海域分离株、患病鱼的分离株、部分海/水产品分离株等对多种抗菌药物,如青霉素类、磺胺类、头孢菌素类、氨基糖苷类抗生素耐药^[4,8~9]。

及时就诊并尽早使用抗菌药物治疗是影响患者预后的关键。本组患者所应用抗菌药物,如亚胺培南/西司他丁、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦等均为敏感药物,因就诊时机不同而治疗效果出现差异。出现感染性休克者抗菌药物治疗不佳,患者 A、B、D 分别于 2、11 d 后死亡;患者 C 起病 2 d 后就诊,予头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦等治疗有效。卢中秋等^[10]认为,早期使用各类抗菌药物治疗均有效,但感染中晚期或严重感染时疗效较差。

由于患者一般情况差,血小板降低及凝血功能障碍等不利于截肢手术,控制局部感染灶,并清创去除坏死组织尤为重要。患者 C 起病后自行使用消毒剂(具体不详)频繁清洗患处,入院后经积极清创换药,局部敷聚维酮碘,病情逐渐稳定,于第 47 天行清创植皮术后痊愈。文献^[5,11]报道,VV 感染患者单纯行创口换药 1 个多月后好转,或经头孢曲松静脉滴注、呋喃西林局部湿敷治疗 20 d 后痊愈。一周后患者 B 下肢伤口分泌物、痰分别多次分离出鲍曼不动杆菌和白假丝酵母菌,提示应预防合并其他细菌及真菌感染。

铁是 VV 生长的必须营养,环丙沙星联合铁螯合剂和铁调素激动剂体外实验^[12-13]提示,通过降低血清铁水平,可抑制 VV 生长,利于改善感染预后。输注压积红细胞的患者亦应及时去铁。

临床微生物实验室应熟练掌握 VV 培养特性、鉴定要点及流行特点,同时应提高送检意识,规范标本采集和送检程序。汕头地区素有食生腌贝甲类海鲜的习惯,应加强 VV 感染的科普宣教,规范海产品餐饮加工处理过程。对相关易感因素应采取有效防护措施,谨慎处理暴露于海水或接触海产品的患者伤口,并及时就诊。临床及水产养殖中应避免抗菌药物滥用,并加强 VV 耐药性监测。

[参 考 文 献]

[1] Jones MK, Oliver JD. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis[J]. Infect Immun, 2009, 77(5): 1723-1733.
[2] Nakafusa J, Misago N, Miura Y, et al. The importance of serum creatine phosphokinase level in the early diagnosis, and as a prognostic factor, of *Vibrio vulnificus* infection[J]. Br J Dermatol, 2001, 145(2): 280-284.

[3] Klontz KC, Lieb S, Schreiber M, et al. Syndromes of *Vibrio vulnificus* infections. *Clinical and epidemiologic features in Florida cases, 1981 – 1987*[J]. *Ann Intern Med*, 1988, 109 (4): 318 – 323.

[4] 马骢,郭建巍,郝秀红,等. 中国海域分离的创伤弧菌的致病性及其对抗生素的敏感性研究[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(6):493 – 496.

[5] 韦俊超, 潘军航,李月华. 一株新 MLST 型创伤弧菌的分离鉴定[J]. 中国卫生检验杂志, 2014,24(8):1109 – 1115.

[6] 潘军航,叶菊莲,朱敏,等. 腹泻样本中创伤弧菌的检测分析[J]. 疾病监测, 2012,27(1):59 – 61.

[7] 王志刚,邵平扬,吴晓燕,等. 创伤弧菌的培养鉴定及其对抗菌药物的敏感性[J]. 中华临床感染病杂志, 2009, 2(5): 293 – 296.

[8] 赵典惠,孙际芳,王海芳,等. 创伤弧菌的药物敏感性[J]. 中国人兽共患病学报, 2007,27(12):1207 – 1211.

[9] 虞艳,潘军航,石亚素,等. 多株创伤弧菌的基因分型和药敏试

验[J]. 疾病监测, 2013,28(2):136 – 139.

[10] 卢中秋,洪广亮. 创伤弧菌脓毒症诊治进展[J]. 临床外科杂志, 2011,19(3): 159 – 163.

[11] 缪心军,蔡平平,陈玉熹,等. 原发性创伤弧菌脓毒症救治成功三例[J]. 天津医药, 2006,34(2): 136 – 137.

[12] Neupane GP, Kim DM. In vitro time-kill activities of ciprofloxacin alone and in combination with the ironchelator deferasirox against *Vibrio vulnificus*[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29(4): 407 – 410.

[13] Arezes J, Jung G,Gabayan V, et al. Hepcidin-induced hypoferremia is a critical host defense mechanism against the siderophilic bacterium *Vibrio vulnificus*[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17 (1): 47 – 57.

(本文编辑:李春辉)

(上接第 271 页)

[3] 王效然,张舟. 发挥临床药师作用促进抗菌药物合理使用[J]. 山西医药杂志,2013,42(6):706 – 707.

[4] 买金荣,李煜. 临床药师干预抗菌药物使用强度控制的实践体会[J]. 新疆医学,2013,43:137 – 140.

[5] 于磊,张蕊,徐珽. 临床药师通过 PDCA 模式干预外科围手术期抗菌药物应用管理[J]. 中国药业,2013,22(16):62 – 63.

[6] 李潇,张卫东,程立华. 行政干预对住院患者抗菌药物合理应用的影响[J]. 中国药业,2013,22(21):46 – 48.

[7] 吴彬. 采取干预措施前后抗菌药物应用分析[J]. 中国感染控制杂志,2007,6(5):351 – 352.

[8] Duguid M, Crulckshank M. Antimicrobial stewardship in Australian hospital 2011 [M]. Sydney: Australian Commission on Safety and Quality in Health Care,2011:15 – 25.

[9] Ho PL, Wong SY. Reducing bacterial resistance with IMPACT

[M]. 4th Ed. Hongkong Hongkong: Hospital Authority, 2005: 87 – 102.

[10] Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship[J]. *Clin Infect Dis*,2007,44(2):159 – 177.

[11] Owens RC Jr. Antimicrobial stewardship: concepts and strategies in the 21st century[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 61(1) : 110 – 128.

(本文编辑:刘思娣)