

效应持续一周以上。这与日本的相关研究一致^[4]。可能的原因是长日照使环境干燥,不适宜肠道病毒繁殖和活动。气象因素对不同传染病的作用机制尚不完全清楚。有研究表明 EV71 和 CA16 等肠道病毒在 22 ℃ 的污水环境中存活 36 d,在干燥环境中的活力迅速下降^[5]。此外,气象变化还会影响人们日常生活和社会活动,这也可能导致人群对传染病暴露风险的波动。所以,高温有可能是广州地区手足口病的危险因素,而长日照条件下手足口病发病风险下降。

[本研究得到中国适应气候变化项目(ACCC)的部分支持,该项目由英国国际发展部、瑞士发展合作署及英国能源与气候变化部联合资助,一并致谢]

参 考 文 献

[1] WHO/WPRO. Communicable disease surveillance and response.

More information on HFMD: WHO, 2010.

[2] Sun LM, Zheng HY, Zheng HZ, et al. An enterovirus 71 epidemic in Guangdong province of China, 2008: epidemiological, clinical, and virogenic manifestations. *Jpn J Infect Dis*, 2011, 64(1):13-18.

[3] Gasparrini A, Armstrong B, Kenward MG. Distributed lag non-linear models. *Stat Med*, 2010, 29(21):2224-2234.

[4] Urashima M, Shindo N, Okabe N. Seasonal models of herpangina and hand-foot-mouth disease to simulate annual fluctuations in urban warming in Tokyo. *Jpn J Infect Dis*, 2003, 56(2):48-53.

[5] Yeager JG, O'Brien RT. Enterovirus inactivation in soil. *Appl Environ Microbiol*, 1979, 38(4):694-701.

(收稿日期:2011-09-06)

(本文编辑:尹廉)

腹泻患者粪便中非脱羧莱克勒菌的分离和鉴定

姜玉芳 刘宗东 陈晓君 王多春 刁保卫 阚颀

【关键词】 非脱羧莱克勒菌; 腹泻

Isolation and characterization of *Leclercia adecarboxylata* strains from feces of diarrhea patients JIANG Yu-fang¹, LIU Zong-dong¹, CHEN Xiao-jun¹, WANG Duo-chun², DIAO Bao-wei², KAN Biao². 1 Microorganism Examination Laboratory, Laizhou Center for Disease Control and Prevention of Shandong Province, Laizhou 261400, China; 2 Institute for Infectious Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: JIANG Yu-fang, Email: jiangyufang2011@126.com

【Key words】 *Leclercia adecarboxylata*; Diarrhea

非脱羧莱克勒菌(*Leclercia adecarboxylata*)可见于由多病原引起的伤口感染^[1];而该菌单独感染则见于血液感染标本以及免疫低下患者^[2]。目前,粪便标本中有关非脱羧莱克勒菌的研究报道较少。本研究于2010年10月自2例腹泻患者粪便中分离到非脱羧莱克勒菌,现就其特性进行分析鉴定。

1. 对象与方法:

(1)病例和标本:2例腹泻病例均为女性,82岁,分别于2010年10月16和18日就诊,就诊前均腹痛、腹泻(水样便),粪便标本在服药前采集。

(2)病原分离培养和生化检测:粪便标本直接划沙门志贺属琼脂(SS)、麦康凯(MAC)、硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗

糖琼脂(TCBS)和伊红美蓝琼脂(EMB)平板进行分离培养,挑可疑菌落(霍乱弧菌、志贺菌、沙门菌、致病性大肠杆菌、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌等)转种克氏双糖铁琼脂(KIA)斜面 and 动力、靛基质、尿素(MFU)培养基,37 ℃培养24 h,菌株经革兰染色和氧化酶试验后,使用API 20E生化鉴定系统(法国生物梅里埃公司)进行生化鉴定。

(3)16S rDNA 基因鉴定:DNA的制备使用天根生化科技(北京)有限公司细菌基因组提取试剂盒,按说明书操作。16S rDNA的扩增采用肠杆菌科16S rDNA通用引物,FP:5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3',RP:5'-ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT-3',扩增长度约1515 bp;序列扩增在美国MJ公司PCT-100型扩增仪上进行。PCR和电泳使用的组分购自大连宝生物工程有限公司,PCR产物送公司测序。将分离株与GenBank中非脱羧莱克勒菌种代表性16S rDNA序列进行比对,用Mega 4.0软件构建进化树。

(4)PFGE:方法参照文献[3]。脉冲场电泳仪为CHEF DRIII(美国Bio-Rad公司),电泳图谱分析软件为BioNumerics,分子量参考菌株为沙门菌Breanderup H9812。

(5)抗菌药物耐药实验:按临床实验室标准化协会(CLSI)标准,采用琼脂稀释法。抗菌药物包括氨苄西林、头孢噻吩、链霉素、庆大霉素、卡那霉素、四环素、诺氟沙星、氯霉素、红霉素和多粘菌素B。结果判断以抑制细菌生长的最低药物浓度为MIC。药敏质控菌株为*E. coli*(ATCC 25922)和金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)。

2. 结果:

(1)菌株形态和培养特征:从2例患者粪便标本中分离到2株形态和培养特征一样的菌,分别命名为LZ11-3和LZ16-7。2株菌均为革兰染色阴性、无芽孢、两端钝圆、细小短状杆菌。在SS平板上菌落粉红色、圆形、凸起;在MAC平

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.02.028

作者单位:261400 莱州,山东省莱州市疾病预防控制中心检验室(姜玉芳、刘宗东、陈晓君);中国疾病预防控制中心传染病预防控制所(王多春、刁保卫、阚颀)

通信作者:姜玉芳, Email: jiangyufang2011@126.com

板上菌落桃红色、圆形、湿润;在EMB平板上菌落深紫色、有金属光泽;在营养琼脂平板上48 h产生黄色色素。

(2)生化特性:在KIA斜面和MIU培养基上显示,分解葡萄糖、乳糖产酸产气,动力和靛基质阳性,尿素酶、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、氧化酶均为阴性,肠杆菌科7种噬菌体(O1、C、SH、E、CE、E4、ENT)均不裂解。经API 20E对菌株进行生化鉴定,API 20E的对比编号为1044173,鉴定为非脱羧莱克勒菌。

(3)16S rDNA 序列分析:本研究分离的2株非脱羧莱克勒菌与 GenBank 中的非脱羧莱克勒菌(ATCC23216 和 ATCC23216T)聚为一群(图1)。

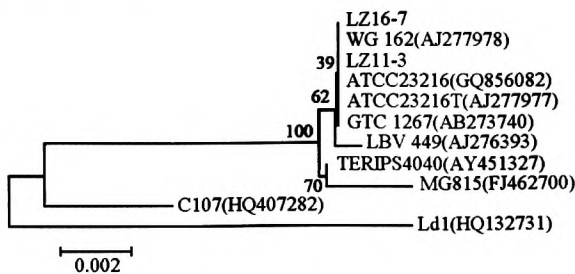
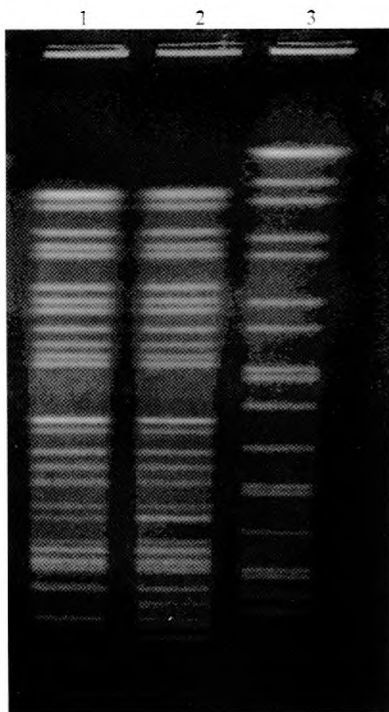


图1 本研究分离株与 GenBank 中非脱羧莱克勒菌的 16S rDNA 进化分析

(4) PFGE:如图2所示,LZ11-3 和 LZ16-7 的 PFGE 电泳图谱一致,说明患者感染同样的细菌。



注:1. LZ11-3; 2. LZ16-7; 3. Marker(沙门菌 Braenderup H9812)
图2 本研究分离株 LZ11-3 和 LZ16-7 的 PFGE 图谱

(5)药敏试验:菌株 LZ11-3 和 LZ16-7 的耐药谱相同,对红霉素和甲氧苄胺嘧啶耐药,对氨苄西林、奥格门丁(阿莫西林克林维酸钾)、头孢噻肟、头孢三嗪、头孢他啶、头孢噻吩、氯霉素、环丙沙星、庆大霉素、奈定酸、链霉素、磺胺甲恶唑、复方新诺明和四环素敏感。

3. 讨论:本研究从2例腹泻患者粪便中分离到非脱羧莱克勒菌,其生化反应与文献报道一致^[4],但与从药品中检出的非脱羧莱克勒菌比较^[5],氧化钾和丙二酸生化不一致,由于该菌在临床上分离的报道较少,产生生化特性不同的机制有待进一步研究。从16S rDNA 进化发育树发现,本研究分离的2株非脱羧莱克勒菌虽然与 GenBank 中的非脱羧莱克勒菌(ATCC 23216 和 ATCC 23216T)聚为一群,但同样是非脱羧莱克勒菌的 C107 和 Ld1 分别聚为单独的一群,提示菌株 C107 和 Ld1 在 16S rDNA 序列上有着种水平的差异。目前非脱羧莱克勒菌在肠杆菌科莱克勒菌属中只有惟一的一个种, C107 (GenBank: HQ407282.1) 和 Ld1 (GenBank: HQ132731.1) 分别分离自家蝇和甲虫类媒介,该2株菌是否为肠杆菌科莱克勒菌属中新的种有待进一步研究。本研究中的2株非脱羧莱克勒菌来自腹泻患者粪便标本,流行病学调查未发现其与腹泻之间具有相关性,但 PFGE 具有相同的图谱,考虑可能有共同的感染来源,但本研究未得到明确的信息。本研究在2名患者粪便标本中检出非脱羧莱克勒菌,未检出其他常见病原菌,在腹泻治愈后30 d 又对2例患者的粪便标本做细菌分离培养,未检出非脱羧莱克勒菌和其他病原菌。结合本研究中的2株菌具有相同的 PFGE 图谱,提示非脱羧莱克勒菌可能不是进入机体后在肠道内经过的偶发带菌现象,可能会引起腹泻,其致病和流行病学意义以及致病性有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Martínez MM, Sánchez G, Gómez J, et al. Isolation of *Leclercia adecarboxylata* in ulcer exudate. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 1998, 16(7):345.

[2] Temesgen Z, Toal DR, Cockerill FR 3rd. *Leclercia adecarboxylata* infections: case report and review. *Clin Infect Dis*, 1997, 25(1): 79-81.

[3] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*, 1995, 33:2233-2239.

[4] He XQ. Health and Epidemic Prevention Bacteriological Examination. Beijing: Xinhua Publishing House, 1989:247-248. (in Chinese) 何晓青. 卫生防疫细菌检验. 北京: 新华出版社, 1989:247-248.

[5] Zhu XL, Su DM. Report of testing *Leclercia adecarboxylata* from a drug. *Chin Pharmaceutic Affairs*, 2004, 18(10): 637-639. (in Chinese) 祝锡林, 苏德模. 从药品中检出不(非)脱羧莱克勒菌报道. *中国药事*, 2004, 18(10): 637-639.

(收稿日期:2011-08-18)
(本文编辑:万玉立)