

896 例儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌分型及耐药情况调查

冯祖辉,董红卫,程军喜,邢浩杰

济源市疾病预防控制中心,河南 济源 459000

摘要: **目的** 分析儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌分型及耐药性情况,为预防和治疗儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌提供依据。**方法** 选择 2017 年 6 月—2020 年 8 月河南省济源市疾病预防控制中心收集的 896 例呼吸道感染儿童痰液标本,采用 V 因子、V+X、X 因子需求试验鉴定流感嗜血杆菌,采用玻片凝集法进行血清学分型,统计流感嗜血杆菌感染分型情况。采用 K-B 纸片扩散法进行流感嗜血杆菌药物敏感性检验,采用头孢硝噻吩显色法检测不可分型流感嗜血杆菌感染菌株中 β -内酰胺酶表型,并分析其耐药率。**结果** 896 例患儿共分离出 98 株流感嗜血杆菌,分离率为 10.94% (98/896),98 株中不可分型流感嗜血杆菌 62 株,可分型流感杆菌 36 株(其中 a 型 1 株、b 型 2 株、c 型 4 株、d 型 26 株、e 型 0 株、f 型 3 株)。896 例患儿中男性 574 例,女性 322 例,其中感染流感嗜血杆菌男性 58 例(10.10%)、女性 40 例(12.42%),不同性别呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.138, P=0.286$);896 例患儿中年龄<1 岁 438 例,1~3 岁 246 例,>3 岁 212 例,分离出流感嗜血杆菌分别为 56 例(12.79%)、32 例(13.01%)、10 例

作者简介:冯祖辉(1972-),男,河南济源人,本科,副主任医师,主要从事疾病预防控制与职业病防治工作。

感染呈正相关^[8]。本研究中 BV 感染率阳性组较阴性组明显增加,SNa 阳性比例在阳性组中明显升高;VVC、TV 及衣原体感染统计结果无意义,考虑阴道感染多为混合感染,单一感染可能不易检出,需加大样本量进一步证实。本研究中 pH 及清洁度异常比阳性组较阴性组明显升高,说明反复的阴道炎症导致防御功能减弱、菌群失调进而导致微生态平衡遭到破坏。 H_2O_2 可作为阴道微生态是否正常的良好指标,本研究 H_2O_2 阳性比在 HPV 阳性组中明显升高,说明 HPV 阳性组中存在明显的菌群失调和病原体感染,更加证实二者具有相关性;LE 分布无统计学意义认为与育龄期女性性生活相对活跃有关。微生态三项指标有一项阳性比在 HPV 阳性组明显高于阴性组,进一步证实阴道微生态环境受损或处于炎症期有利于病毒侵入宿主细胞、增加 HPV 感染率^[10-11]。

综上所述,阴道微生态失衡是 HPV 感染的协同因素之一,长期阴道炎症使阴道微生态失衡、容易导致 HPV 感染,而 HPV 持续感染更加进一步破坏微生态环境,周而复始导致宫颈病变的发生发展。因此应重视女性健康教育,倡导优生优育及性知识教育,积极治疗阴道炎症、开展微生态检测、全面评估阴道炎症具体类型,为维持阴道微生态平衡及预防 HPV 感染提供临床思路及指导^[12]。

参考文献

[1] 张建海,王前,王巍,等.北京市大兴区 2 117 例女性宫颈人乳头

瘤病毒感染基因亚型状况分析[J].实用预防医学,2019,26(4):468-470.

- [2] 刘建华,王耀玲.阴道微生态变化与宫颈人乳头瘤病毒感染及相关病变的关系[J].中国实用妇科与产科杂志,2017,33(8):807-809.
- [3] 郭桂芝,杨拉,蒙震霞,等.宫颈高级别鳞状上皮内病变患者阴道微生态状况分析[J].吉林医学,2019,8(40):1684-1686
- [4] Brusselaers N, Shrestla S, Vande Wijert J, et al. Vaginal dysbiosis and the risk of human papilloma virus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis[J]. Am J Obstet Gynecol, 2019, 221(7): 9-18.
- [5] 周美华,张莉.子宫颈上皮内瘤变患者治疗前后高危人乳头瘤病毒感染及阴道微生态变化研究[J].山西医药杂志,2019,13(48):1572-1575.
- [6] 苑晓微,张雯,何平,等.人乳头状瘤病毒感染与阴道微生态环境之间的关系研究[J].中国性科学,2019,28(1):106-109.
- [7] 顾丽萍.探讨白带常规联合 BV 三项检测对检测妊娠妇女阴道微生态的临床价值[J].中国处方药,2019,12(17):113-114.
- [8] 唐春芳,陈友国,尤凤坚,等.137 例高危型人乳头状瘤病毒感染患者的阴道菌群分布分析[J].实用预防医学,2020,27(2):207-209.
- [9] 彭海玉.城中区女性高危型 HPV 感染因素分析[J].医学信息,2020,33(6):134-135.
- [10] 李东燕,郝敏.阴道微生态平衡与高危型 HPV 感染分析[J].中国微生态学杂志,2016,28(5):594-597.
- [11] Zheng JJ, Song JH, Wang PC, et al. Difference in vaginal microecology, local immunity and HPV infection among childbearing-age women with different degrees of cervical lesions in Inner Mongolia[J]. BMC Womens Health, 2019, 19(1):109-117.
- [12] 薛珍,叶仕英,杜婉燕,等.健康管理对感染高危型 HPV 妇女健康行为的影响[J].实用预防医学,2017,24(4):446-449.

收稿日期:2021-04-13

(4.72%),不同年龄呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌检出率比较差异有统计学意义($\chi^2=11.039, P=0.004$)。可分型流感嗜血杆菌和不可分型流感嗜血杆菌对阿莫西林-克拉维酸、氧氟沙星、利福平、氨苄青霉素-舒巴坦的耐药率均为 0.00%;62 株不可分型流感嗜血杆菌中, β -内酰胺酶阳性菌株 42 株,检出率为 67.74%, β -内酰胺酶阴性菌株 20 株, β -内酰胺酶阳性菌株对甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑、四环素、氨苄西林的耐药率比 β -内酰胺酶阴性菌株高(均 $P<0.05$)。结论 济源地区儿童呼吸道感染中可分型流感嗜血杆菌以 d 型为主,临床用药时应根据药敏结果合理选用抗菌药物,减少耐药菌株的产生。

关键词: 儿童呼吸道感染;流感嗜血杆菌;血清学分型;耐药性

中图分类号:R725.7 **文献标识码:**B **文章编号:**1006-3110(2021)12-1535-04 **DOI:**10.3969/j.issn.1006-3110.2021.12.034

呼吸道感染是一种临床上常见的疾病,好发于小儿,具有发病率高、迁延难愈的特点,严重影响患者的生命健康^[1]。流感嗜血杆菌作为一种无运动力、多形态的革兰阴性短小杆菌,菌体可寄生在人体的上呼吸道黏膜表面,造成化脓性感染、呼吸道感染等^[2]。相关研究指出^[3],小儿自身免疫力较低,且呼吸道感染患儿早期临床症状并不明显,给诊断治疗带来较高难度,容易错失最佳治疗时机。近年来,抗菌药物的大量应用,使流感嗜血杆菌的耐药性逐渐上升^[4]。为有效指导呼吸道感染患儿合理应用抗菌药物,本研究对河南省济源市疾病预防控制中心收集的 896 例呼吸道感染儿童痰液标本,进行流感嗜血杆菌检测和分型,并分析其耐药性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 本研究经济源市疾病预防控制中心医学伦理委员会批准,选择 2017 年 6 月—2020 年 8 月济源市疾病预防控制中心收集的 896 例呼吸道感染患儿痰液标本进行流感嗜血杆菌检测和分型及药敏实验。纳入标准:①均为呼吸道感染患儿;②年龄小于 12 岁;③患儿家属均签署知情同意书;④痰液标本合格者。排除标准:①伴有严重的肝、肾等脏器功能不全者;②伴有慢性肺疾病;③临床资料缺失者;④近 3 d 内接受抗生素药物治疗者;⑤伴有严重先天性心脏病者;⑥伴有其他全身性感染者。

1.2 方法

1.2.1 样本采集及检测 禁食 4 h 后采集所有患儿痰液标本,采用漱口口水将患儿口腔进行清洁,取半卧位,用压舌板将舌根固定,之后在患儿咽部插入一次性无菌吸痰管进行吸痰,采用 0.9%氯化钠注射液漂洗分泌物标本,并将标本接种于流感嗜血杆菌选择性平板及哥伦比亚血琼脂平板(均购自法国生物梅里埃公司),于 35℃ 条件下,放置在 5%二氧化碳培养箱中 21 h 左右,待孵育结束时,以似露液状、无色透明的微小菌落作为可疑菌落,之后采用革兰氏染色,染色结果显示为革兰氏阴性短小杆菌于血琼脂平板实施卫星实

验,若结果为阳性,采用 V 因子、V+X、X 因子需求试验^[5],上述因子均购自法国生物梅里埃公司。流感嗜血杆菌的鉴定方法:只有 V+X 因子周边生长的菌落即为流感嗜血杆菌^[5]。

1.2.2 血清学分型 对上述分离的流感嗜血杆菌采用玻片凝血法行血清学分型,取流感嗜血杆菌菌液 10 μ l 于载玻片上,将其与各分型的流感嗜血杆菌荚膜型特异性抗血清(日本生研株式会社)混匀,若 1 min 肉眼可见上述混匀液体凝集,则为可分型流感嗜血杆菌,可判定对应的血清分型(a、b、c、d、e、f 型);若均不凝集,则为不可分型流感嗜血杆菌^[5]。

1.2.3 药敏试验 用 K-B 纸片扩散法^[6]进行药敏实验,按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2016 年版标准^[7]判定药敏结果。使用的抗生素包括头孢克洛、头孢曲松、阿莫西林-克拉维酸、甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑、氧氟沙星、利福平、氨苄西林、头孢噻肟、氨苄青霉素-舒巴坦、克拉霉素、氯霉素、四环素、亚胺培南。使用的质控菌株为流感嗜血杆菌 ATCC49766, ATCC49247。

1.2.4 β -内酰胺酶表型检测方法 采用头孢硝噻吩显色法^[8]检测上述不可分型流感嗜血杆菌中 β -内酰胺酶表型情况,用无菌去离子水浸润头孢硝噻吩纸片(购自法国生物梅里埃公司),之后蘸取不可分型流感嗜血杆菌菌落,10 min 观察结果,若 60 min 内未见颜色变化即为 β -内酰胺酶阴性,阴性对照质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25923;若 60 min 内可见颜色变化即为 β -内酰胺酶阳性,阳性对照质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 18.0 软件进行数据分析,以例数(%)表示计数资料,采用检验或 Fisher 确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流感嗜血杆菌分离情况 896 例患儿共分离出 98 株流感嗜血杆菌,分离率为 10.94%(98/896),其中不可分型流感嗜血杆菌 62 株,可分型流感杆菌 36 株

(其中 a 型 1 株、b 型 2 株、c 型 4 株、d 型 26 株、e 型 0 株、f 型 3 株)。

2.2 不同年龄、性别呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌分离率比较 不同性别呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌分离率比较差异无统计学意义($P>0.05$),不同年龄呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌分离率比较差异有统计学意义($P<0.05$),且年龄<1 岁、1~3 岁呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌分离率高于>3 岁患儿($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同年龄、性别呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌分离率比较

项目	检测例数	流感嗜血杆菌阳性		χ^2 值	P 值
		株数	分离率(%)		
年龄(岁)					
<1	438	56	12.79 ^a	11.039	0.004
1~3	246	32	13.01 ^a		
>3	212	10	4.72		
性别					
男	574	58	10.10	1.138	0.286
女	322	40	12.42		

注:与年龄>3 岁比较,a 为 $P<0.05$ 。

2.3 可分型流感嗜血杆菌和不可分型流感嗜血杆菌对不同药物的耐药率 可分型流感嗜血杆菌和不可分型流感嗜血杆菌对阿莫西林-克拉维酸、氧氟沙星、利福平、氨苄青霉素-舒巴坦的耐药率均为 0.00%;可分型流感嗜血杆菌对头孢克洛、头孢曲松、阿莫西林-克拉维酸、氧氟沙星、利福平、头孢噻肟、氨苄青霉素-舒巴坦、克拉霉素、氯霉素、四环素、亚胺培南的耐药率均<10%;不可分型流感嗜血杆菌对阿莫西林-克拉维酸、氧氟沙星、利福平、头孢克洛、头孢曲松、头孢噻肟、氨苄青霉素-舒巴坦、克拉霉素、亚胺培南的耐药率均<10%,见表 2。

表 2 分析可分型流感嗜血杆菌和不可分型流感嗜血杆菌对不同药物的耐药率

抗菌药物	可分型流感嗜血杆菌 (n=36) 耐药率(%)	不可分型流感嗜血杆菌 (n=62) 耐药率(%)	χ^2 值	P 值
头孢克洛	1(2.78)	0(0.00)		0.367 ^a
头孢曲松	0(0.00)	1(1.61)		0.632 ^a
阿莫西林-克拉维酸	0(0.00)	0(0.00)	-	-
甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑	12(33.33)	34(54.84)	4.229	0.039
氧氟沙星	0(0.00)	0(0.00)	-	-
利福平	0(0.00)	0(0.00)	-	-
氨苄西林	4(11.11)	12(19.35)	1.133	0.287

续表 2

抗菌药物	可分型流感嗜血杆菌 (n=36) 耐药率(%)	不可分型流感嗜血杆菌 (n=62) 耐药率(%)	χ^2 值	P 值
头孢噻肟	0(0.00)	1(1.61)		0.632 ^a
氨苄青霉素-舒巴坦	0(0.00)	0(0.00)	-	-
克拉霉素	1(2.78)	2(3.23)		0.696 ^a
氯霉素	2(5.56)	8(12.90)		0.317 ^a
四环素	4(4.11)	13(20.97)	1.543	0.214
亚胺培南	0(0.00)	1(1.61)		0.632 ^a

注:a 为 Fisher 确切概率法。

2.4 不可分型流感嗜血杆菌中 β -内酰胺酶阳性和阴性菌株对抗菌药物的耐药率 62 株不可分型流感嗜血杆菌中, β -内酰胺酶阳性菌株 42 株,检出率为 67.74%, β -内酰胺酶阴性菌株 20 株, β -内酰胺酶阳性菌株对甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑、四环素、氨苄西林的耐药率比 β -内酰胺酶阴性菌株高($P<0.05$),见表 3。

表 3 不可分型流感嗜血杆菌中 β -内酰胺酶阳性和阴性菌株对抗菌药物的耐药率

抗菌药物	β -内酰胺酶阳性菌株 (n=42) 耐药率(%)	β -内酰胺酶阴性菌株 (n=20) 耐药率(%)	χ^2 值	P 值
头孢克洛	0(0.00)	0(0.00)	-	-
头孢曲松	1(2.38)	0(0.00)	-	0.677 ^a
阿莫西林-克拉维酸	0(0.00)	0(0.00)	-	-
甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑	30(71.43)	4(20.00)	14.469	<0.001
氧氟沙星	0(0.00)	0(0.00)	-	-
利福平	0(0.00)	0(0.00)	-	-
氨苄西林	11(26.19)	1(5.00)		0.044 ^a
头孢噻肟	1(2.38)	0(0.00)	-	0.677 ^a
氨苄青霉素-舒巴坦	0(0.00)	0(0.00)	-	-
克拉霉素	1(2.38)	1(5.00)		0.544 ^a
氯霉素	7(16.67)	1(5.00)		0.258 ^a
四环素	12(28.57)	1(5.00)		0.030 ^a
亚胺培南	1(2.38)	0(0.00)	-	0.677 ^a

注:a 为 Fisher 确切概率法。

3 讨论

呼吸道感染属于一种临床上常见的呼吸道疾病,其病原体复杂多样,对机体影响较大的为流感嗜血杆菌,严重影响患儿的生命健康^[9-10]。目前,抗菌药物的广泛使用,使得流感嗜血杆菌对抗菌药物产生较高的耐药率,在一定程度上增加了临床治疗难度。因此,研

究呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌感染分型及药敏情况对于提高呼吸道感染患儿的治疗效果具有重要意义。

本研究结果显示,896 例患儿共分离出 98 株流感嗜血杆菌,分离率为 10.94%,与既往研究结果^[11]类似。有研究^[12]指出,可分型流感杆菌以 b 型为主,而本研究结果显示,可分型流感杆菌 36 株以 d 型为主,可能与地区生活环境、样本量不同等有关。年龄 < 1 岁、1~3 岁呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌分离率高于年龄 > 3 岁,与既往研究结果^[13]相符,可能与低龄患儿自身免疫功能较低,更容易感染流感嗜血杆菌等有关。相关研究指出^[14],流感嗜血杆菌是引起小儿严重细菌感染的主要致病菌之一,当呼吸道感染患儿机体免疫功能降低时,可诱发肺部感染,在一定程度上会加重患者病情。近年来,氨苄西林的广泛使用,随后不断检出耐药菌,且各地耐药率不同,甚至存在很大差异,目前临床上已产生耐氨苄西林的流感嗜血杆菌,在很大程度上增加了感染控制难度,因此临床治疗感染流感嗜血杆菌的呼吸道感染患儿应慎用氨苄西林^[15]。本研究结果显示,流感嗜血杆菌对阿莫西林-克拉维酸、氧氟沙星、利福平、氨苄青霉素-舒巴坦的耐药率均较低,临床上针对感染流感嗜血杆菌的呼吸道感染患儿可给予阿莫西林-克拉维酸、氧氟沙星、利福平、氨苄青霉素-舒巴坦治疗。既往研究指出^[16],若菌株 β -内酰胺酶阳性,提示该菌株对氨苄西林存在一定的耐药率,因此对 β -内酰胺酶表型进行检测可快速预测对相关抗菌药物的敏感性。本研究结果显示,62 株不可分型流感嗜血杆菌中, β -内酰胺酶阳性菌株 42 株,检出率为 67.74%, β -内酰胺酶阴性菌株 20 株, β -内酰胺酶阳性菌株对甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑、四环素、氨苄西林的耐药率比 β -内酰胺酶阴性菌株高,因此对 β -内酰胺酶阳性菌株临床用药时应慎重,选择低耐药率的抗菌药物。

综上所述,896 例呼吸道感染儿童感染的可分型流感嗜血杆菌以 d 型为主,临床上针对呼吸道感染患儿,应预先明确流感嗜血杆菌的感染情况及对抗菌药物的耐药情况,合理选用抗菌药物,减少耐药菌株的产生,确保治疗效果。

参考文献

- [1] 施婷婷,卢根. 儿童呼吸道过敏性疾病与感染[J]. 中华实用儿科临床杂志,2021,36(6):452-456.
- [2] 董叶青,董春富,俞增仙,等. 金华武义社区耐氨苄西林流感嗜血杆菌的流行现状及耐药性研究[J]. 实用预防医学,2019,26(8):1012-1015.
- [3] 任康轶,任洛,邓昱,等. 2013—2018 年重庆地区 2 066 例急性下呼吸道感染住院患儿呼吸道合胞病毒流行特征分析[J]. 中国当代儿科杂志,2021,23(1):67-73.
- [4] Ozaras R, Cirpin R, Duran A, et al. Influenza and COVID-19 coinfection: report of six cases and review of the literature[J]. J Med Virol, 2020, 92(11):2657-2665.
- [5] 杨耀锋,徐兰飞,金洪星,等. 呼吸道感染患儿不可分型流感嗜血杆菌分离率和耐药性分析[J]. 儿科药学杂志,2020,26(8):41-45.
- [6] 王战豪,王晓蕾,胡俊,等. K-B 法对自动化检测流感嗜血杆菌对氨苄西林药敏误差的校正作用[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(4):385-388.
- [7] Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, et al. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(4):1934-1937.
- [8] 陆瀚文,周万青,张之烽,等. 金黄色葡萄球菌 β -内酰胺酶表型检测方法比较[J]. 检验医学,2019,34(2):169-172.
- [9] de Steenhuijsen PW, Binkowska J, Bogaert D. Early life microbiota and respiratory tract infections[J]. Cell Host Microbe, 2020, 28(2):223-232.
- [10] Lin CY, Hwang D, Chiu NC, et al. Increased detection of viruses in children with respiratory tract infection using PCR[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(2):564.
- [11] 闫文芳. 住院患儿痰培养流感嗜血杆菌耐药性分析[J]. 中国基层医药,2021,28(2):232-235.
- [12] 代子瑞,栾琳,田健美,等. 苏州地区 b 型流感嗜血杆菌结合疫苗对减少儿童住院肺炎有效性的观察性研究[J]. 中华疾病控制杂志,2021,25(2):192-197.
- [13] 骆晓凤,朱叶飞,赵水娣,等. 呼吸道及非呼吸道流感嗜血杆菌感染特征及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2021,18(9):1231-1234.
- [14] 马玉帅,陈蕊,赵颖,等. 不可分型流感嗜血杆菌致病机制及耐药[J]. 中国细胞生物学学报,2020,42(2):379-384.
- [15] 王姜琳,孙杰,杨慧健,等. 儿童耐氨苄西林流感嗜血杆菌耐药机制及同源性研究[J]. 检验医学,2020,35(6):513-518.
- [16] 杨耀锋,徐兰飞,金洪星,等. 呼吸道感染患儿不可分型流感嗜血杆菌分离率和耐药性分析[J]. 儿科药学杂志,2020,26(8):41-45.

收稿日期:2021-07-12