

北京地区健康小儿咽部流感嗜血杆菌 带菌情况的研究

刘 绮 高 薇 李 艳 顾 岑 袁 林 沈叙庄 杨永弘 江载芳

摘要 为了解健康小儿上呼吸道流感嗜血杆菌(HI)带菌情况,作者对115名正常小儿进行咽拭子培养和细菌学、血清学鉴定。结果表明,32.2%(37/115)小儿咽部发现不定型HI。带菌率无季节、年龄、性别差异。抗生素敏感试验表明,某些分离的不定型HI菌株对氨苄青霉素和四环素耐药,大多数菌株(21/34)对复方新诺明耐药。由于不定型HI为上呼吸道感染及中耳炎的主要病原之一,药敏结果对临床选用抗生素有参考价值。

关键词 流感嗜血杆菌

流感嗜血杆菌(HI)为呼吸道致病菌,可寄生于上呼吸道。在机体抵抗力降低时,引起局部感染,如咽炎、中耳炎等;或入侵血流,引起小儿败血症、脑膜炎等严重全身感染。后者多为b型(Hib),前者多为不定型^[1]。国外关于HI疾病的研究进展很快,并已有相应菌苗预防^[2]。国内由于诊断手段的提高,近年来也逐渐对HI疾病引起重视^[3,4]。尽管如此,HI在小儿上呼吸道的存在、增殖和消失情况,以及如何引起局部和全身感染,尚不清楚。了解正常小儿上呼吸道HI带菌情况有助于阐明致病机理^[5]。我们于1989年12月和1990年5月,采集健康小儿咽部拭子进行特殊培养和细菌鉴定,了解HI带菌情况。现总结如下。

对象和方法

一、对象:北京地区某两个幼儿园正常健康小儿115名。其中男50名,女65名。体检无异常,取标本前3天无上呼吸道感染征象。调查当时该两幼儿园均无感冒流行,每年龄组随机抽样检查15~20个儿童,分别于冬、春两季进行。

二、标本采集和处理:清晨空腹,用消毒咽拭子取小儿咽侧壁和后壁分泌物。专人操

作,力求部位准确。咽拭子置本院改良之XV因子培养基肉汤^[6]中,在1小时内置CO₂孵箱内培养。

三、菌株分离和鉴定:咽拭子肉汤培养18~20小时,液体变混则表示细菌生长。选取可疑菌落再转种在平皿中,培养分离和鉴定。适宜HI生长的条件为:培养基中含脑心浸液及XV因子,环境有5%~10%CO₂,36℃左右。典型的HI菌落呈乳白色粟粒大小,表面光滑,有一种特殊气味。显微镜下HI为革兰氏阴性短杆菌。除生化反应外,XV因子需要试验及卫星试验可用于HI鉴定。玻片凝集进行分型。XV纸片购自BBL和Difco公司,分型用特异性抗血清由美国国立卫生研究院Robbins博士和瑞典哥德堡大学医学院细菌研究所Lagergard博士赠送。

四、药敏试验:分离出的菌株作抗生素药敏试验,采用纸片扩散法(K-B法)^[7]。判断按WHO推荐的美国NCCLS所制定的药敏试验标准化资料。培养基采用MH琼脂培养基中加入本院自制之改良XV因子原液,标准质控菌株为美国疾病控制中心Broome博士提供的

本文作者单位:北京儿童医院 100045

本课题得到世界卫生组织和国家自然科学基金资助

金黄色葡萄球菌ATCC 25923。药敏纸片从卫生部药品生物制品检定所购得。

结 果

一、健康小儿咽部HI带菌情况：本组115例健康学龄前小儿咽部HI带菌情况见表1所示。37例发现HI，带菌率为32.2%。菌型鉴定均为不定型。男(14/50)、女(23/65)之间、12月(22/62)与5月(15/53)之间及各年龄组之间带菌率均无明显统计学差异($P > 0.05$)。

表1 115例健康小儿HI带菌情况

年龄(岁)	检查例数	阳性例数(%)
2~3岁	23	7(30.4)
~4岁	27	12(44.4)
~5岁	32	9(28.1)
~6岁	33	9(27.3)
总计	115	37(32.2)

二、药敏试验结果：37株HI中，34株作了药敏试验。其判断标准及结果见表2、3所示。基于当时纸片来源问题，我们只作了部分抗生

表2 药敏试验判断标准(抑菌圈直径mm)

	氨苄青霉素	庆大霉素	链霉素	四环素	红霉素	复方新诺明
耐 药	<19	<12	<11	<14	<13	<10
中度敏感		13~14	12~15	15~16	14~17	11~15
敏 感	>20	>15	>15	>17	>18	>16

表3 34株不定型HI药敏试验结果

	氨苄青霉素	庆大霉素	链霉素	四环素	红霉素	复方新诺明
耐 药	5	0	0	4	0	21
中度敏感		3	5	16	2	3
敏 感	29	31	29	12	32	10

素药敏试验。结果表明，大多数菌株对复方新诺明耐药，少数菌株对四环素及氨苄青霉素耐药，对红霉素、庆大霉素及链霉素无耐药菌株。

讨 论

一、HI培养和鉴定：HI甚为娇嫩，在不适宜生长条件下，数小时内死亡。生长需XV因子(血晶质和辅酶I)。国内细菌培养阳性率甚低，象小儿化脑这种明显细菌感染性疾病，较高一级医院CSF培养的阳性率也不到20%^[3]。其原因是多方面的，培养基不适宜为很重要的原因。我院微生物免疫室改良的XV因子培养基适合HI生长^[6]。

根据菌落形态、镜检及生化反应可以初步

确定HI。嗜血杆菌属不同种，对XV因子需要不同，可以据此鉴别并确定为HI。分型则根据型特异血清凝集试验结果。a-f六型抗血清均不凝集则为不定型。

二、健康小儿咽部HI带菌及与疾病的关系：HI可以引起全身或局部感染。Hib是小儿败血症、脑膜炎和肺炎的重要病原菌，不定型则主要侵犯局部引起上呼吸道感染和中耳炎。作为人体呼吸道生态系中最常见的微生物之一，HI在正常人群中带菌率可高达60%~80%^[8]。我们的结果表明，我国北方健康小儿冬春季不定型HI带菌率达32.2%。

HI可定居在上呼吸道，在机体全身抵抗力降低或局部微生态平衡失调时，入侵人体引起疾病^[5, 8]。其致病与局部菌丛特性、年龄和季节等因素有关，亦有人认为鼻咽部不同细菌之间及细菌与病毒之间的相互作用在上呼吸道感染发病中起重要作用。其机制尚待进一步研究。一周内随访观察，本组HI阳性带菌者发生上呼吸道感染人数(2/34)与HI阴性者(4/81)之间无明显统计学差异($P > 0.05$)。

三、分离HI菌株的药敏特点：根据药敏试

验结果, 34株HI对红霉素、庆大霉素及链霉素敏感, 大多数菌株对复方新诺明耐药, 少数菌株对四环素及氨苄青霉素耐药。提示临床应用复方新诺明防治上呼吸道感染, 可能效果不好。

国内严重存在滥用抗生素的情况, 根据最近我们的调查, 凡我院门诊诊断为上呼吸道感染的患儿, 98.2%处方给予抗生素治疗。滥用抗生素的结果, 一方面破坏微生态平衡, 诱发细菌感染; 另一方面使耐药菌株不断增加, 给临床治疗带来困难。亟待克服这一弊端。

A Study on the Carrier State of Haemophilus influenzae in Pharynx of Healthy Children in Beijing Area Liu Yi, et al., Beijing Children's Hospital, Beijing 100045

One hundred and fifteen healthy children in 2 kindergartens of Beijing City were enrolled in a study for carrier state of *Haemophilus influenzae* (HI) in pharynx. Nontypable HI flora was found in 32.2% (37/115) in this group. There were no significant differences of carrier state in sex, age, and season in these children. Antibiotic sensitivity test showed that some HI strains isolated were resistant to ampicillin and tetracycline (5/34 vs 4/34),

most strains resistant to SMZ Co (21/34).

Key words *Haemophilus influenzae*

参 考 文 献

- 1 Heyward WL, et al. Prospects for the prevention of *Haemophilus influenzae* type b diseases. In: Moss AJ. Pediatrics Update, review for physicians. ed 1, New York: Elsevier, 1987. 35~37.
 - 2 Robbins JB, et al. Polysaccharide-protein conjugates: a new generation of vaccines. J Infect Dis 1990, 161: 821.
 - 3 沈叙庄, 等. 对流免疫电泳方法在小儿化脓性脑膜炎病原学诊断中有意义, 中华儿科杂志, 1990, 28: 210.
 - 4 杨永弘, 等. CIE检测流感嗜血杆菌抗原辅助肺炎病因学诊断. 中华儿科杂志, 1991, 29: 97.
 - 5 McIntosh BS. Selective primary health care: strategies for control of diseases in the developing world, XXI, acute respiratory infections. Rev Infect Dis 1985, 7: 674~691.
 - 6 傅曙光, 等. 细菌性脑膜炎培养基的选择与制备. 生物制品学杂志, 1990, 3(3): 189.
 - 7 WHO Regional Office for the Western Pacific. Acute respiratory infection laboratory manual of bacteriological procedures. World Health Organization 1986. 71~83.
 - 8 康白主编. 微生物学. 大连出版社, 1988. P245页.
- (收稿: 1992-12-15 修回: 1993-01-30)

普氏立克次体17-KDa蛋白抗原基因的扩增及其克隆

张远富 毕德增 蔡虹

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所实验中所用的引物(按我们的编号为第三对引物)是根据编码立氏立克次体(落矶山斑点热病原体)17-KDa蛋白抗原基因的核苷酸序列合成的(引物3-1, GGAATTCATGAACTATTATCT, 引物3-2, CGGGATCCCTCAATTCACAACCTTG)。以普氏立克次体Brein1株DNA为模板, 用这对引物通过PCR技术扩增出普氏立克次体17-KDa抗原基因。将此基因重组在一个载体质粒上, 转化至大肠杆菌中。经PCR扩增法鉴定, 确实含有普氏立克次体17-KDa

抗原基因的质粒DNA片段。经微量补体结合和微量免疫荧光分析, 表明能产生普氏立克次体抗原, 能与抗普氏立克次体的兔血清产生阳性反应。由于我们在设计引物时, 加入了特定的限制性内切酶位点, 使扩增出的DNA片段容易定位组入特定的载体中, 使分子克隆过程大为简化。

(收稿: 1992-12-07)

本文作者单位: 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 102206 北京