

· 临床研究 ·

## 海口市流感嗜血杆菌感染流行病学与病原学特征分析\*

林 种<sup>1</sup>, 苏应仙<sup>1</sup>, 吴多荣<sup>2</sup>, 王旭明<sup>3</sup>, 吴至成<sup>4</sup>, 林明冠<sup>1</sup>

(1. 海南省农垦总医院检验科, 海口 570311; 2. 海南省海口市人民医院检验科 570208;

3. 海南省人民医院检验科 570102; 4. 海南医学院附属医院检验科, 海口 570311)

**摘要:**目的 分析海口市流感嗜血杆菌(Hi)感染流行病学与病原学特征。方法 对海口各医院送检的咽拭子、痰、脑脊液标本进行 Hi 培养和鉴定, 并对分离的菌株进行血清和生物学分型、 $\beta$ -内酰胺酶和耐药性检测。结果 238 例标本中 Hi 的阳性率为 26.1%(62/238), 其中咽拭子、痰、脑脊液的阳性率分别为 35.7%(45/126)、18.6%(13/70)、9.5%(4/42), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。男、女患者阳性率分别为 24.3%(25/103)、27.4%(37/135), 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。 $\leq 14$  岁、14~30 岁、31~50 岁、 $\geq 50$  岁年龄组 Hi 阳性率分别为 48.4%(45/93)、17.1%(6/35)、14.7%(5/34)、7.9%(6/76), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。分离出的 62 株 Hi 中有 45 株(72.6%)为不可分型菌株, 其余 17 株(27.4%)为可分型菌株。在可分型的 17 株菌株中, 以 d、e 两种血清型为主, 分别为 23.5%(4/17)和 47.1%(8/17)。共检出 8 个生物型, 以 II、III 两种生物型为主, 分别占 35.5%(22/62)和 30.6%(19/62)。62 株 Hi 对氨苄西林的耐药率最高, 其耐药率为 25.8%(16/62), 而对头孢唑林和氧氟沙星敏感, 敏感率均为 100.0%(62/62)。62 株 Hi 的  $\beta$ -内酰胺酶阳性率为 16.1%(10/62)。结论 海口市 Hi 感染在儿童中常见, 分离的菌株以不可分型、d、e 血清型和 II、III 生物型为主, 对头孢唑林和氧氟沙星敏感。

**关键词:**嗜血菌, 流感; 细菌分型技术; 耐药性;  $\beta$ -内酰胺酶类

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.29.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)29-3038-03

## Epidemiological and etiologic characteristics of haemophilus influenza infection in Haikou\*

Lin Chong<sup>1</sup>, Su Yingxian<sup>1</sup>, Wu Duorong<sup>2</sup>, Wang Xuming<sup>3</sup>, Wu Zhicheng<sup>4</sup>, Lin Mingguan<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Nongken Chief Board Hospital of Hainan Province, Haikou, Hainan 570311, China;

2. Department of Clinical Laboratory, The People's Hospital of Haikou City, Haikou, Hainan 570208, China;

3. Department of Clinical Laboratory, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570102, China;

4. Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570311, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the epidemiological and etiologic characteristics of Haemophilus influenza(Hi) infection in Haikou. **Methods** Hi was cultured and identified in tested samples (throat swab, sputum and cerebrospinal fluid) of hospitals in Haikou, and the detection (serotype, biotype,  $\beta$ -lactamase and drug resistance) was performed in isolated strains. **Results** The positive rate of Hi infection was 26.1%(62/238) in 238 samples. The positive rate was 35.7%(45/126), 18.6%(13/70), 9.5%(4/42) in throat swab, sputum, cerebrospinal fluid samples respectively, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). The positive rate was 24.3%(25/103), 27.4%(37/135) in male, female patients respectively, the difference was not significant ( $P > 0.05$ ). The positive rate was 48.4%(45/93), 17.1%(6/35), 14.7%(5/34), 7.9%(6/76) in  $\leq 14$  years, 14-30 years, 31-50 years,  $\geq 50$  years respectively, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). There were 45 non typable strains (72.6%) and 17 typable stains (27.4%) in 62 isolated strains. The d and e type were predominant serotype in 17 typable stains, account for 23.5%(4/17) and 47.1%(8/17) separately. Eight biotypes were detected among 62 Hi strains with biotype II and III predominant, account for 35.5%(22/62) and 30.6%(19/62) separately. 62 Hi strains were resistant to ampicillin, the resistant rate was 25.8%(16/62). The strains were sensitive to cefazolin and azithromycin, the sensitive rate was both for 100.0%(62/62). The positive rate of  $\beta$ -lactamase was 16.1%(10/62) in 62 Hi strains. **Conclusion** The children are common population of Hi infection in Haikou. The most strains is non typable, d and e serotype, II and III biotype in isolated strains, and the strains are sensitive to cefazolin and azithromycin.

**Key words:** haemophilus influenza; bacterial typing techniques; drug resistance;  $\beta$ -lactamases

流感嗜血杆菌(haemophilus influenza, Hi)除引起脑膜炎外, 还常引起儿童中耳炎、会厌炎、蜂窝组织炎、脓毒性关节炎、心包炎、肺炎等疾病。其中 b 型流感嗜血杆菌(haemophilus influenzae type b, Hib)常引起脑膜炎和部分重症肺炎<sup>[1-2]</sup>。Hi 也是目前国内儿童社区获得性呼吸道感染最主要的病原菌之一, 有 24.7%~29.0% 的急性下呼吸道感染由 Hi 感染所致<sup>[3]</sup>。近年的研究发现, Hi 肺炎发生率明显增加, 约占社区获得性肺炎的 8%~20%<sup>[4]</sup>。目前, 肺炎是中国儿童住院及死亡

的首位病因。有报道 Hi 还引起成年人上呼吸道感染<sup>[4]</sup>。根据其荚膜有无分为 2 个类型, 其中侵袭人体引起症状的多为荚膜型。Hi 根据荚膜多糖抗原的不同可分为 6 个独特的血清型, 分别为 a、b、c、d、e、f 型。其中 b 型毒力最大, 是儿童化脓性脑膜炎、肺炎、败血症、关节炎及蜂窝组织炎的主要致病菌, f 型次之<sup>[5]</sup>。发病最高的年龄段为 8~9 个月, 大于 40% 的病例小于 1 岁, 60%~70% 的病例发生在 18 个月之前, 90% 病例在 5 岁以前。在经济发达国家, 患者主要表现为脑膜炎, 而在发

\* 基金项目: 海南省卫生厅科研基金资助项目(琼卫 2010-33 号)。

展中国家以急性呼吸道感染尤其是肺炎为多见<sup>[6]</sup>。在 Hib 疫苗使用之前,美国 Hib 引起细菌性脑膜炎的发病率为 47/10 万<sup>[7]</sup>,在澳大利亚和北美的土著居民中高达 500/10 万~1 000/10 万<sup>[8]</sup>,而包括中国在内的发展中国家相关报道很少。在过去的 60 多年,很多国家已广泛开展了对 Hib 的研究。目前,国内外对在 Hi 菌株分型方面所进行的研究表明其有多型性和变异性的特点,国内多采用生物学和血清学方法进行分型,但因 Hi 的上述特点在分辨率上往往得不到满意的结果,从而影响相关方面的研究。氯霉素和四环素是治疗感染的主要抗菌药物,但因越来越严重的耐药性的产生以及药品本身不良反应的问题,目前临床医疗上已很少使用。氨苄西林被广泛应用到感染性疾病的治疗中,随着氨苄西林长期广泛的使用导致产 β-内酰胺酶的耐氨苄西林菌株逐渐增多,耐药程度也逐渐严重<sup>[9]</sup>。不同地区在使用抗菌药物的品种、剂量和方法上的不同,导致细菌耐药特征上的不同,耐药情况在不同地区、不同时期也有较大差异。为了解海口市 Hi 感染的流行病学与病原学特征,本文对海口市各医院临床送检的 238 例咽拭子、痰、脑脊液标本进行培养鉴定,对分离的菌株进行血清和生物学分型、β-内酰胺酶和耐药性检测,并对结果进行分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 标本来源 收集海口市各医院(海南医学院附属医院、海南省人民医院、海口市人民医院、海南省农垦医院、海南省妇幼保健院、海南省妇幼保健院等)临床送检的咽拭子、痰、脑脊液标本 238 例,其中男 103 例,女 135 例;年龄为 6 个月至 72 岁,其中小于或等于 14 岁者 93 例,14~30 岁者 35 例,31~50 岁者 34 例,大于或等于 50 岁者 76 例。

1.1.2 试剂与仪器 流感嗜血杆菌专用巧克力培养基(HAE)、药敏纸片,E-test 试条,V+X、V、X 因子诊断纸片,头孢硝噻吩试剂,流感嗜血杆菌血清型鉴定试剂等均购自英国 Oxoid 公司。生物分型试剂(吡啶、脲酶和鸟氨酸脱羧酶 3 种细菌微量生化反应管)等购于杭州微生物试剂有限公司。微生物鉴定仪有 VITEK 2-compact 型全自动细菌分析系统(法国生物梅里埃公司产品)及美华微生物鉴定药敏分析系统(MA120)。

1.2 实验方法

1.2.1 Hi 菌株分离、鉴定 从临床送检的鼻咽拭子、痰、脑脊液等标本中分离 Hi,培养基用嗜血杆菌专用巧克力培养基(HAE),置 5% CO<sub>2</sub>,37℃ 培养过夜,培养后挑取平皿上单个可疑菌落进行革兰染色,形态符合者做金黄色葡萄球菌卫星试验及 V、X 因子试验,结果完全符合者定为 Hi,并用生化反应进行生物分型,购买流感嗜血杆菌国际标准菌株 ATCC 49247/ATCC 49766 为质控菌株。

1.2.2 Hi 临床分离株的血清型鉴定 取上述分离获得的 Hi,用 a、b、c、d、e、f 型抗血清以玻片凝集法进行血清分型,发生凝集反应的为阳性。

1.2.3 Hi 临床分离株的 β-内酰胺酶的检测 β-内酰胺酶测定采用头孢硝噻吩纸片(Cefinase),实验步骤按说明书进行。

1.2.4 Hi 临床分离株的耐药性检测 用纸片扩散法检测 Hi 对常用抗菌药物的敏感性,包括氨苄西林、氯霉素、四环素、复方新诺明、头孢唑林、氧氟沙星、阿奇霉素等。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件处理数据。采用 χ<sup>2</sup> 检验分析不同性别、年龄、标本来源的 Hi 阳性率情况。上述

假设检验为双侧检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hi 分离情况 238 例标本中 Hi 的阳性率为 26.1%(62/238),其阳性率与标本来源和年龄有关系(P<0.05),而与性别不相关(P>0.05),见表 1。

表 1 238 例标本中 Hi 的阳性率情况[n(%)]

项目	n	阳性	阴性	χ <sup>2</sup>	P
样本来源					
咽拭子	126	45(35.7)	81(64.3)	14.096	0.001
痰	70	13(18.6)	57(81.4)		
脑脊液	42	4(9.5)	38(90.5)		
性别					
男	103	25(24.3)	78(75.7)	0.298	0.585
女	135	37(27.4)	98(72.6)		
年龄(岁)					
≤14	93	45(48.4)	48(51.6)	40.804	0.001
14~30	35	6(17.1)	29(82.9)		
31~50	34	5(14.7)	29(85.3)		
≥50	76	6(7.9)	70(92.1)		

2.2 Hi 分型结果 分离出的 62 株 Hi 中有 45 株(72.6%)为不可分型菌株,其余 17 株(27.4%)为可分型菌株。在可分型的 17 株菌株中,以 d、e 两种血清型为主,分别为 23.5%(4/17)和 47.1%(8/17),见表 2。共检出 8 个生物型,以 II、III 两种生物型为主,分别占 35.5%(22/62)和 30.6%(19/62),见表 3。

表 2 62 株 Hi 的血清分型情况

血清分型	阳性数	占总菌株(%)	占可分型菌株(%)
NTHi	45	72.6	—
a 型	1	1.6	5.9
b 型	0	0.0	0.0
c 型	2	3.2	11.8
d 型	4	6.5	23.5
e 型	8	12.9	47.1
f 型	2	3.2	11.8

—:表示无数据。

表 3 62 株 Hi 的生物分型情况

生物分型	菌株数	占总菌株(%)
I 型	9	14.5
II 型	22	35.5
III 型	19	30.6
IV 型	2	3.2
V 型	3	4.8
VI 型	2	3.2
VII 型	3	4.8
VIII 型	2	3.2

表 4 Hi 对常见 7 种抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	耐药株数	中介株数	敏感株数
氨苄西林	16(25.8)	2(3.2)	44(71.0)
氯霉素	7(11.3)	1(1.6)	54(87.1)
四环素	9(14.5)	0(0.0)	53(85.5)
复方新诺明	10(16.2)	2(3.2)	50(80.6)
头孢唑林	0(0.0)	0(0.0)	62(100.0)
氧氟沙星	0(0.0)	0(0.0)	62(100.0)
阿奇霉素	5(8.1)	0(0.0)	57(91.9)

**2.3 Hi  $\beta$ -内酰胺酶和耐药性检测** 62 株 Hi 对氨苄西林的耐药率最高,而对头孢唑林和氧氟沙星敏感,见表 4。62 株 Hi 的  $\beta$ -内酰胺酶阳性率为 16.1%(10/62)。

### 3 讨 论

Hi 是临床上一种重要的条件致病菌,其呼吸道致病性已经引起医务人员的高度重视。研究表明,Hi 已成为儿童呼吸道感染的重要致病菌之一<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,Hi 在呼吸道感染的咽拭子标本中检出率较高,其阳性率为 35.7%,说明咽拭子可以较好地检测 Hi 的感染情况,同时不同年龄组中,以小于或等于 14 岁的阳性率(48.4%)最高,说明 Hi 感染常见于儿童。

本研究分离出的 62 株 Hi 中有 45 株为不可分型菌株,其余 17 株为可分型菌株。说明本地 Hi 感染无荚膜的不可分型株占重要地位,提示无荚膜 Hi 也是 Hi 感染的重要致病菌。国内外研究表明 Hi 感染血清分型以 Hib 占多数,本研究结果以 d、e 两种血清型为主,分别为 23.5%和 47.1%,而 Hib 没有发现,说明 Hib 不是本地区目前侵袭性 Hi 感染的主要血清型。在前苏联和台湾,以 I、II、III 生物型占多数(80%~85%)<sup>[11]</sup>,而本研究中则以 II、III 两种生物型为主,分别占 35.5%和 30.6%。造成这一差异的原因,除可能与地理分布有关外,很可能与菌株来源有关。作者在血清学分型中发现 5 个血清型,8 个生物型;而 Zheng 和 Lu<sup>[12]</sup>只发现 2 个血清型和 4 个生物型。这种差异很可能与作者所用菌株过少(18 株)有关。因而,很有必要收集不同地区、不同来源的大量菌株做进一步的研究。

随着抗菌药物的广泛应用,Hi 的耐药性状况也越来越受到重视。氨苄西林作为治疗 Hi 感染的常用药物,在世界范围内其耐药率也达到很高水平,2007 年国内 7 家综合性医院和 2 所儿童医院的多中心监测结果显示该菌对氨苄西林的耐药率也达到 30.1%<sup>[13]</sup>。对于头孢唑林和氧氟沙星,Hi 则显示高度敏感性;而非  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物,如四环素、氯霉素,由于不良反应较大,目前临床已很少应用。因此,目前临床用药还应以头孢类药物作为首选治疗药物。 $\beta$ -内酰胺酶产生是 Hi 耐药的主要机制。据报道,美国 Hi 产  $\beta$ -内酰胺酶的比率为 34.5%,法国为 29.3%,英国为 21.2%,中国香港为 20.2%<sup>[14]</sup>。中国不同地区 Hi 的  $\beta$ -内酰胺酶产酶率有较大差异,从 3.2%~50.0%不等<sup>[15]</sup>。本资料检出的 62 株 Hi 的  $\beta$ -内酰胺酶阳性率为 16.1%,介于其中。

### 参考文献:

[1] Rahman M, Hossain S, Baqui AH, et al. Haemophilus influenzae type-b and non-b-type invasive diseases in urban children(<5 years) of Bangladesh; implications for therapy and vaccination[J]. J Infect, 2008, 56(3): 191-196.

[2] Hu HL, Hu YY, He LJ, et al. Study on haemophilus influenzae type b; data from autopsy of community acquired pneumonia among children[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2005, 26(8): 604-607.

[3] Huang C, Wang XL, Zhang L, et al. Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in children with lower respiratory tract infection from Chengdu Children's Hos-

pital between 2001 and 2006[J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2008, 10(1): 17-20.

[4] Hu H, He L, Dmitriev A, et al. The role of haemophilus influenzae type b in fatal community-acquired pneumonia in Chinese children[J]. Pediatr Infect Dis J, 2008, 27(10): 942-944.

[5] Rubach MP, Bender JM, Mottice S, et al. Increasing incidence of invasive haemophilus influenzae disease in adults, Utah, USA [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(9): 1645-1650.

[6] Kelly DF, Moxon ER, Pollard AJ. Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines[J]. Immunology, 2004, 113(2): 163-174.

[7] Anonymous. Global programme for vaccines and immunization(GPV). The WHO position paper on haemophilus influenzae type b conjugate vaccines[J]. Wkly Epidemiol Rec, 1998, 73(1): 64-68.

[8] Ferreccio C, Ortiz E, Astroza L, et al. A population-based retrospective assessment of the disease burden resulting from invasive Haemophilus influenzae in infants and young children in Santiago, Chile[J]. Pediatr Infect Dis J, 1990, 9(7): 488-494.

[9] Tristram S, Jacobs MR, Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in haemophilus influenzae [J]. Clin Microbiol Rev, 2007, 20(2): 368-389.

[10] Khetsuriani N, Tong S, Lu X, et al. Systemic infection with enteric adenovirus in immunocompetent child with Haemophilus influenzae disease[J]. Emerg Infect Dis, 2009, 15(2): 355-357.

[11] Teng LJ, Ho SW, Lee GS, et al. Serotypes, biotypes, and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Haemophilus influenzae[J]. Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi, 1989, 22(1): 68-74.

[12] Zheng XT, Lu J. Study on the typing and sensitivity of antibiotic in Haemophilus influenzae[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 1989, 12(2): 102-103.

[13] Zhao RZ, Zheng YJ, Deng JK. Study on the infection condition and resistance genes of type b of hemophilus influenza isolated in children with community acquired pneumonia in Shenzhen[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2009, 30(3): 303-304.

[14] Craiq WA. The hidden impact of antibacterial resistance in respiratory tract infection. re-evaluating current antibiotic therapy[J]. Respir Med, 2001, 95(1): 12-19.

[15] Huang XQ, Xiao ZY, Deng L, et al. Surveillance of antimicrobial susceptibility of streptococcus pneumoniae and Hemophilus influenzae isolated from children in Guangzhou area between 2003 and 2004[J]. Zhonghua Er Ke Za Zhi, 2006, 44(6): 441-443.