

· 调查报告 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.26.022

## 广州健康儿童鼻前庭定植金黄色葡萄球菌危险因素研究\*

傅锦坚<sup>1</sup>, 叶小华<sup>2</sup>, 樊燕平<sup>2</sup>, 陈思东<sup>2△</sup>

(1. 广西壮族自治区柳州市妇幼保健院检验科 545001;

2. 广东药学院广东省分子流行病学重点实验室, 广州 510006)

**[摘要]** **目的** 了解社区健康儿童鼻前庭定植金黄色葡萄球菌及其危险因素。**方法** 采用横断面调查研究方法, 收集广州市荔湾区 1 012 名健康小学生的相关资料及鼻拭子样本, 对细菌进行分离鉴定后, 使用聚合酶链反应(PCR)法检测金黄色葡萄球菌 16 SrRNA 及 *mecA* 基因。**结果** 小学生鼻前庭甲氧西林敏感性金黄色葡萄球菌(MSSA)定植率为 38.9%, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)定植率为 1.2%。MSSA 定植主要与过去 1 年曾有过抗生素暴露史及皮肤软组织感染史有关( $P < 0.05$ ), MRSA 定植主要与过去 1 年曾有医院/门诊看病史有关( $P < 0.05$ )。**结论** 广州荔湾区在校健康儿童 MSSA 鼻前庭定植率较高而 MRSA 鼻定植率较低, MSSA 流行主要与抗生素使用史和皮肤软组织感染史有关, MRSA 流行主要与过去 1 年有医院暴露史有关。

**[关键词]** 金黄色葡萄球菌; 鼻定植; 儿童; 危险因素

**[中图分类号]** R725

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)26-3669-03

### Analysis on risk factors of *staphylococcus aureus* nasal vestibule colonization Among Guangzhou healthy children\*

Fu Jinian<sup>1</sup>, Ye Xiaohua<sup>2</sup>, Fan Yanping<sup>2</sup>, Chen Sidong<sup>2△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Liuzhou Municipal Maternity and Child Health Care Hospital, Liuzhou, Guangxi 545001, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Molecular Epidemiology,

Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

**[Abstract]** **Objective** To understand the *staphylococcus aureus* nasal vestibule colonization situation and its risk factors among the community children. **Methods** The cross-sectional survey study method was adopted, the related data and the nasal swab samples from 1 012 healthy elementary school students in the Liwan district of Guangzhou city were collected. The 16Sr RNA and *mecA* gene were detected by PCR method after bacterial isolation and identification. **Results** The nasal vestibule colonization rate of methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* (MSSA) was 38.9% and which of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) was 1.2%. The MSSA colonization was related with the antibiotic exposure history in the past 1 year and the skin soft tissue infection( $P < 0.05$ ). The MRSA colonization was mainly related with the history of visiting to clinic during the past 1 year( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The nasal vestibule colonization rate of MSSA among healthy children at school in the Liwan district of Guangzhou city is higher, while which of MRSA is lower. The prevalence of MSSA is mainly related with the antibiotic use history and skin soft tissue infection, while which of MRSA is mainly related with the hospital exposure history in the past 1 year.

**[Key words]** *staphylococcus aureus*; nasal colonization; children; risk factors

金黄色葡萄球菌(*staphylococcus aureus*, SA)简称金葡萄菌是重要的条件致病菌, 可定植于健康人群的鼻前庭<sup>[1-2]</sup>, 健康儿童鼻前庭定植金葡萄菌较常见, 已有文献表明鼻定植金葡萄菌, 特别是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin resistant *staphylococcus aureus*, MRSA)与随后的内源性感染存在必然的联系<sup>[3-4]</sup>。儿童可以担当载体, 在社区和医院环境传播金葡萄菌<sup>[5]</sup>。在美国甚至有社区相关 MRSA (community-associated MRSA, CA-MRSA)菌株导致社区健康儿童死亡的报道<sup>[6]</sup>, 而这些健康儿童并无任何医院相关危险因素暴露。

多项调查表明, 学校儿童是金葡萄菌定植的高危人群, 尽管有多项研究表明学校是金葡萄菌传播的有利场所, 但尚未清楚这些细菌是如何通过常规的传播途径在学校范围内放大传播。为此, 通过对广州社区健康儿童鼻携带金葡萄菌进行主动监测, 能使我们了解金葡萄菌、特别是 MRSA 在本地健康儿童群体的

流行情况, 并揭示金葡萄菌鼻携带的危险因素, 及早对监测阳性人群采取相应控制措施(如隔离 MRSA 阳性定植者, 对毒力较强菌株定植者及时进行治疗以达到消除 MRSA 定植的目的), 为控制金葡萄菌在社区儿童的流行提供重要信息。

### 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 2011 年 3~5 月抽取广州市荔湾区部分健康小学生。家长签署知情同意书, 由经过培训的调查员现场进行鼻拭子采样, 问卷以天记名的方式由学生家长独立完成。纳入标准: 采样前 14 d 未服用/注射抗生素, 采样当天未发生急性疾病, 并且在校的健康小学生。

**1.2 研究设计** 采用横断面研究, 根据研究目的以及实际情况, 采用方便抽样方法, 在广州市荔湾区的小学抽取一间学校作为代表性样本。样本含量的估算根据现况研究的公式来计算。由于此前全球范围内报道的儿童金葡萄菌鼻腔定植率为

20%~30%<sup>[1-2]</sup>, 选取 30% 作为金黄色葡萄球菌定植现患率, 根据流行病学现况调查研究, 使用以下公式计算样本含量<sup>[7]</sup>

$$(n): n = \frac{pq}{(d/Z\alpha)^2}。其中检验显著水平 \alpha = 0.05, 设计功效 =$$

1.5,  $Z = 1.96$ ,  $d$  为容许误差,  $d = 0.1 \times p$ ,  $p$  为预期现患率, 这里取  $p = 0.3$ ,  $q = 1 - p$ 。计算得出  $n = 896$ , 考虑到有效问卷情况, 增加 10% 调查对象, 因此至少需 986 名儿童来分析学校儿童金黄色葡萄球菌定植的危险因素。

**1.3 研究内容** 研究内容包括三大部分: 基本人口学资料; 与社区相关的因素; 与医院相关的直接暴露因素, 以及间接暴露于医疗环境因素。调查表于调查前提前发放, 并于采样当天收回。

**1.4 鼻拭子标本的采集** 由经过培训的调查员对每个儿童的双侧鼻前庭进行采样, 标注样品编号, 在采样后 6 h 内送到广东药学院广东省分子流行病学重点实验室进行培养。

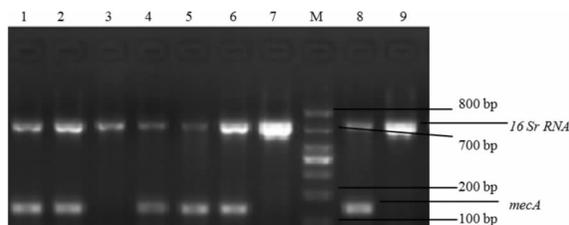
**1.5 金葡菌分离鉴定** 按金黄色葡萄球菌鉴定的标准操作规程<sup>[8]</sup>, 对上述采样后的试管经 7.5% 氯化钠肉汤增菌、甘露醇氯化钠琼脂培养基初步鉴定分离后, 对疑似阳性单菌落进行革兰染色、触酶、耐热核酸酶、甲苯胺蓝 DNA 酶、血浆凝固酶及溶血试验, 将上述试验全阳性的菌落保存。采用聚合酶链反应确定金黄色葡萄球菌及 *mecA* 基因, 引物的设计及 PCR 反应体系参考张坤炎教授报道的文献进行<sup>[9]</sup>。

**1.6 统计学处理** 剔除资料不完整的调查表, 在 Epidata 3.0 建立数据库, 对调查表的数据进行双人双录入, 一致性检验后, 将数据导入至 SPSS17.0 软件, 并进行数据分析。样本率的比较用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 一般情况** 剔除资料不完整的调查表后, 一共有 1 012 名小学儿童接受了本次调查, 这些儿童的年龄 7.0~12.5 岁, 平均 (10.25±1.79) 岁。

**2.2 金葡菌的定植情况** 经过生化鉴定后, 采用 PCR 检测金葡菌特征性基因 16Sr RNA, 其条带为 756 bp, MRSA 特征性基因 *mecA*, 其条带为 147 bp, ATCC 25923 (MRSA) 和 ATCC 29213 (MSSA) 用做质控。结果如图 1 所示。金葡菌在广州健康儿童人群中的鼻前庭定植率达 40.1% (406/1 012)。其中 1.2% (12/1 012) 为 MRSA, 38.9% (394/1 012) 为甲氧西林敏感性金黄色葡萄球菌 (methicillin susceptible *staphylococcus aureus*, MSSA)。



1~7: 金葡菌样本; M: Marker; 8: MRSA 质控; 9: MSSA 质控。

图 1 金黄色葡萄球菌 16Sr RNA、*mecA* 基因检测

**2.3 金葡菌的危险因素分析** 小学中 MSSA 定植相关的危险因素是: 过去 1 年内曾有皮肤软组织破损感染 ( $P = 0.015$ )、过去 1 年内有抗生素暴露史 ( $P = 0.020$ )。小学中 MRSA 流行与儿童过去 1 年内有医院暴露史有关 ( $P = 0.021$ ), 具体结果见表 1。

表 1 MSSA 和 MRSA 在小学健康儿童的分布特征分析 [ $n = 1 012, n(\%)$ ]

研究变量	MSSA 定植				MRSA 定植			
	阳性	阴性	$\chi^2$	$P$	阳性	阴性	$\chi^2$	$P$
人口学特征								
性别								
男	215 (41.3)	305 (58.7)	2.62	0.106	6 (1.2)	514 (98.8)	0.01	0.923
女	179 (36.4)	313 (63.6)			6 (1.2)	486 (98.8)		
社区相关因素								
参加体育运动								
是	310 (39.0)	485 (61.0)	0.01	0.939	10 (1.3)	785 (98.7)	0.16	1.000
否	84 (38.7)	133 (61.3)			2 (0.9)	215 (99.1)		
儿童过去 1 年内使用过抗生素								
是	165 (43.5)	214 (56.5)	5.40	0.020	7 (1.8)	372 (98.2)	2.26	0.133
否	229 (36.2)	404 (63.8)			5 (0.8)	627 (99.2)		
过去 1 年内皮肤软组织感染史								
是	79 (47.3)	88 (52.7)	5.90	0.015	3 (1.8)	164 (98.2)	0.64	0.425
否	315 (37.3)	530 (62.7)			9 (1.1)	836 (98.9)		
皮肤过敏性疾病								
有	64 (35.0)	119 (65.0)	1.47	0.225	1 (0.5)	182 (99.5)	0.78	0.705
无	330 (39.8)	499 (60.2)			11 (1.3)	818 (98.7)		
家人过去 1 年内使用过抗生素								
是	170 (41.5)	240 (58.5)	1.86	0.173	4 (1.0)	406 (99.0)	0.26	0.610

续表 1 MSSA 和 MRSA 在小学健康儿童的分布特征分析 [n=1 012,n(%)]

研究变量	MSSA 定植				MRSA 定植			
	阳性	阴性	$\chi^2$	P	阳性	阴性	$\chi^2$	P
否	224 (37.2)	378(62.8)			8(1.3)	594(98.7)		
医院相关因素								
儿童过去 1 年内门诊看病史								
有	188(37.5)	314(62.5)	0.92	0.337	10(2.0)	492(98.0)	5.53	0.021
无	206(40.4)	304(59.6)			2(0.4)	508(99.6)		
儿童过去 1 年内住院史								
有	5(41.7)	7(58.3)	0.04	0.845	0(0.0)	12(100.0)	0.15	1.000
无	389(38.9)	611(61.1)			12(1.2)	988(98.8)		
儿童过去 1 年内手术史								
有	5(29.4)	12(70.6)	0.66	0.417	0(0.0)	17(100.0)	0.21	1.000
无	389(39.1)	606(60.9)			12(1.2)	983(98.8)		
家人是医务人员								
是	45(46.9)	51(53.1)	2.81	0.093	2(2.1)	94(97.9)	0.73	0.393
否	349(38.1)	567(61.9)			10(1.1)	906(98.9)		

3 讨 论

在中国台湾和美国,已有广泛的关于社区儿童 MRSA 鼻定植的研究<sup>[6,10]</sup>,在中国大陆,儿科 ICU 病房常有相同型别 MRSA 导致小规模病例感染的报道<sup>[11]</sup>。尽管尚未有关于儿童及青少年群体中暴发 MRSA 感染的报道,但有研究证据表明,MRSA 早已在中国儿童群体中传播并成为一种重要的病原体<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,金葡菌及 MRSA 在儿童群体中的定植率分别为 40.1%、1.2%,国外对相同年龄组人群进行金葡菌携带率的流行病学调查研究显示,MRSA 在健康儿童人群的流行率较低(约为 0.2%~2%)<sup>[2,6]</sup>,本研究结果与其相近。最近的几个研究均表明 MRSA 在亚洲健康儿童鼻前庭的携带率在不断上升,如台湾健康儿童鼻前庭 MRSA 携带率达 6.2%~9.2%<sup>[11]</sup>,韩国儿童鼻前庭 MRSA 的携带率甚至达到 9.3%<sup>[12]</sup>。成都幼儿园儿童金黄色葡萄球菌携带率为 18.4%,而 MRSA 的携带率为 1.1%<sup>[13]</sup>。表明了 MRSA 在中国社区健康儿童人群流行率处于中等水平。

了解危险因素暴露与定植菌株情况的关系,在金葡菌无症状携带人群中显得尤为重要。本研究结果表明,在儿童人群中定植的 MSSA 及 MRSA 菌株与危险因素暴露情况不一致。流行于学校健康儿童群体中数量最多的金葡菌为 MSSA,它与儿童过去 1 年有过皮肤软组织感染及抗生素暴露史有关,这些社区因素影响着 MSSA 在健康儿童群体中的流行情况。事实上,本研究发现,有将近 40% 的儿童在过去 1 年内使用过抗生素。而中国大陆的抗生素滥用情况严重,早期的报道显示,通常在抗生素药敏结果出来之前,儿科医生已开具青霉素、红霉素、克林霉素等去治疗儿童感染性疾病<sup>[11]</sup>。有文献报道在儿童医院流行的金黄色葡萄球菌与皮肤软组织感染有关,甚至有研究表明,儿童鼻定植金黄色葡萄球菌可导致随后的皮肤软组织感染发生率增高<sup>[14]</sup>。而从分子生物学角度及流行病学角度出发,可解释此菌株在学校环境中流行的情况,MSSA 可通过各种途径定植在儿童人群中,高度拥挤的环境有利于金黄色葡萄球菌在校内传播。拥挤的环境、常常有密切接触、卫生条件差、使用被细菌污染的体育器材以及儿童本身的免疫因素等均促进 MSSA 在学校环境进行传播。事实上,早就有关

于学校是获得及传播 MSSA 的有利场所及幼儿长时间待在托儿所容易定植 MSSA 的报道<sup>[10]</sup>。有报道指出杀白细胞素(PVL)可引起健康儿童及运动员发生皮肤软组织感染及坏死性筋膜炎等<sup>[15-16]</sup>。本研究结果表明健康儿童携带 MSSA 的一个危险因素之一是过去一年有皮肤软组织感染史。究竟是否由携带杀白细胞素的金葡菌引起,由于尚未做 PVL 基因检测,结果有待进一步的实验研究证实。

儿童鼻前庭易定植 MRSA 可解释为其与医疗机构有密切接触。对全球有关社区获得性 MRSA 感染与定植的危险因素随机对照试验进行汇总的 Meta 分析报告表明,有医院暴露史(如近期住院史、长期入住健康护理院及与医务人员接触、近期有手术或侵入性操作)是社区获得性 MRSA 感染与定植的危险因素<sup>[17]</sup>。综合之前的文献报道,及有证据支持在我国,无论是社区或是住院儿童群体中流行的 MRSA 菌株,优势株均为 CA-MRSA (ST59-MRSA-IV a/V)<sup>[11,13]</sup>,作者推测,小学生其鼻前庭易定植 MRSA 与其间接暴露于在医院环境传播的优势株有关,这些细菌可能由有医院接触的儿童从医院看病后带回学校,从而增加了学校儿童感染医院流行 MRSA 菌株的机会。

综上,在中国广州市荔湾区,社区健康儿童 MSSA 鼻定植较高,已出现 MRSA 定植者。MSSA 流行主要与抗生素使用史和皮肤软组织感染史有关,MRSA 流行主要与过去一年有医院暴露史有关。

参考文献

[1] Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks[J]. Clin Microbiol Rev, 1997, 10(3):505-520.

[2] Gorwitz RJ, Kruszon-Moran D, McAllister SK, et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004[J]. J Infect Dis, 2008, 197(9):1226-1234.

[3] Creech CB, Talbot TR, Schaffner W. (下转第 3698 页)

过程中稳定的麻醉,对减少 IRI 也有一定的帮助<sup>[8]</sup>。

MVTVX 是一个复杂的手术,技术难度大<sup>[9]</sup>,代表了腹腔脏器移植的最高水平。传统外科手术无法切除的腹腔内肿瘤,如肝外胆管癌、壶腹部癌、胰腺癌、小肠癌、肠系膜的硬纤维瘤、胃肠道间质瘤、广泛的胃肠道多发性息肉伴恶变等,以及胃肠道神经性疾病、坏死性小肠炎或结肠炎、肠衰竭、肠系膜血管或腹腔动脉完全栓塞等疾病,均为该术式的手术适应证,具有广泛的患者群。所以,建立一个稳定的动物实验模型,能为更好、更广泛地在临床开展全腹腔脏器移植奠定良好的基础,通过对该实验模型的初探,作者总结出了一些有益的经验,尤其是在防止和减轻 IRI 方面,当然,建立更加稳定的 MVTVX 动物实验模型,还需要进一步探索和研究。

#### 参考文献

- [1] Tzakis AG, Kato T, Levi DM, et al. 100 multivisceral transplants at single center[J]. *Ann surg*, 2005, 242(2): 480-493.
- [2] Madariaga JR, Reyes J, Mazariegos G, et al. The long-term efficacy of multivisceral transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2000, 32(6): 1219-1220.
- [3] Chen HX, Yin L, Peng CH, et al. Abdominal cluster trap-

plantation and management of perioperative hemodynamic changes[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2006, 15(1): 28-33.

- [4] 潘明新,孔凡东,吴志峰,等. 缺血预处理对小型猪肝移植的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(3): 250-253.
- [5] 黄汉飞,宋飞,张玉君,等. 缺血后处理在大鼠肝移植缺血再灌注损伤中的作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(34): 3627-3631.
- [6] Komokata T, Nishida S, Ogata S, et al. Abdominal multivisceral transplantation in pigs[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2000(7): 188-192.
- [7] 谢云飞,徐亮. 小肠缺血再灌注研究进展[J]. *西南军医*, 2012, 14(1): 90-92.
- [8] David AI, Chida VV, Lee AD, et al. Multivisceral transplantation in pigs: a model for research and training[J]. *Einstein*, 2011, 9(3 Pt 1): 372-376.
- [9] Zhu Y, Furukawa H, Nakamura K, et al. Multivisceral allotransplantation in pigs[J]. *Transplant Proc*, 1996, 28(5): 2725.

(收稿日期:2015-03-15 修回日期:2015-06-26)

(上接第 3671 页)

- Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; the way to the wound is through the nose [J]. *J Infect Dis*, 2006, 193(2): 169-171.
- [4] Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with staphylococcus aureus[J]. *Am J Med*, 2008, 121(4): 310-315.
- [5] Palanduz A, Guler N, Yalcin I. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the children of hospital staff[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2003, 22(7): 672-673.
- [6] Fortunov RM, Hulten KG, Hammerman WA, et al. Community-acquired staphylococcus aureus infections in term and near-term previously healthy neonates[J]. *Pediatrics*, 2006, 118(3): 874-881.
- [7] 张朝武. 细菌学检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006.
- [8] 詹思延. 流行病学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2012.
- [9] Zhang K, McClure JA, Elsayed S, et al. Novel multiplex PCR assay for simultaneous identification of community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus strains USA300 and USA400 and detection of mecA and Panton-Valentine leukocidingenes, with discrimination of staphylococcus aureus from coagulase-negative staphylococci[J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(3): 1118-1122.
- [10] Lo WT, Wang CC, Lin WJ, et al. Changes in the nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children: 2004-2009 [J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e15791.
- [11] Wang L, Liu Y, Yang Y, et al. Multidrug-resistant clones of community-associated methicillin-resistant *Staphylococ-*

*cus aureus* isolated from Chinese children and the resistance genes to clindamycin and mupirocin[J]. *J Med Microbiol*, 2012, 61(9): 1240-1247.

- [12] Choe YJ, Lee SY, Sung JY, et al. A review of *Staphylococcus aureus* infections in children with an emphasis on community-associated methicillin-resistant *S. aureus* infections[J]. *Korean J Pediatr Infect Dis*, 2009, 16(2): 150-161.
- [13] Fan J, Shu M, Zhang G, et al. Biogeography and virulence of *Staphylococcus aureus* [J]. *PLoS One*, 2009, 4(7): e6216.
- [14] 李云珠,马琳,孔繁荣. 脓疱疮患儿鼻腔与皮损分离金黄色葡萄球菌的同源性[J]. *中国医学科学院学报*, 2009, 31(1): 10-12.
- [15] Lo WT, Lin WJ, Tseng MH, et al. Risk factors and molecular analysis of panton-valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in healthy children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2008, 27(8): 713-718.
- [16] Rebollo-Pérez J, Ordoez-Tapia C, Herazo-Herazo C, et al. Nasal carriage of Panton Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy preschool children[J]. *Rev Salud Publica*, 2011, 13(5): 824-832.
- [17] 章锐锋,万欢英. 社区获得性 MRSA 感染与定植的危险因素分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2008, 7(18): 938-940.

(收稿日期:2015-04-08 修回日期:2015-06-21)