维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)02－0166－03

儿童呼吸道苛养菌分离培养及药敏分析

刘 岚，刘昌林，朱 军

(重庆医科大学儿科学院检验科，重庆 400014)

【摘 要】目的:分析儿童呼吸道苛养菌的感染率及常用抗生素的耐药状况。方法:采用儿童呼吸道 2050 份咽拭子及痰标本进行苛养菌分离培养与鉴定，并对其中 617 株苛养菌做了药敏试验。结果:显示 275 株肺炎链球菌，耐药率较高的有红霉素 81.1%、苯唑西林 76.9%、复方磺胺甲噁唑 76.9%、四环素 65.4%；104 株流感嗜血杆菌、184 株副流感嗜血杆菌、54 株卡他莫拉菌对氨苄西林耐药率分别为 17.6%、28.9%、64.9%，对亚胺培南/西司他丁耐药率分别为 16.4%、16.5%、0，同时复方磺胺甲噁唑的耐药率也分别高达 56.7%、56.7%、64.9%。结论:提示苛养菌在儿童呼吸道感染中占有重要的地位，及时掌握这类细菌的耐药动态，对合理使用抗生素、延缓耐药株的产生有极其重要的临床意义。

【关键词】儿童;呼吸道;苛养菌;体外药敏试验;

【中国图书分类法分类号】R915 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－04－09

Study on the separated cultivation and drug sensitivity of respiratory tract fastidious bacteria in chidren

LIU Lan, et al

(*Department of Lab Medicine, College of Pediatrics, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To analyse the infection rate and antibiotic susceptibility of respiratory tract fastidious bacteria in children. *Method*: The fastidious bacteria were isolated and identified which came from the pharynx－swabs and sputum specimen. 2050 in total. of children's repiratory tracts. Furthermore, the drug sensitirity tests were done on 617 strains of them. *Results*: The resistance rates of streptococcus Pneumoniae(275 strains) to erythromycin, oxacillin, SMZ－co and tetracycline were 81.1%, 76.9%, 76.9%, 65.4%, respectively. The resistance rates of H influenzae(104 strains), H parainfluenzae(184 strains), M catarrhalis(54 strains) to ampicillin were 17.6%, 28.9%, 64.9%, respectively; to imipenem/cilastatin were 16.4%, 16.5%, 0; respectively; to SMZ－TMP were 56.7%, 56.7%, 64.9%, respectively; *Conclusion*: Fastidious bacteria possess a very important position in children's respiratory tract infection. In order to use antibiotics reasonably and postpone the drug resistance, it is necessary to control the development of drug resistance of fastidious bacteria. This is important to the clinical use of antibiotics.

【Key words】 Children; Respiratory tract; Fastidious bacteria; Drug sensitivitg test

苛养菌由于营养要求高，且需要 X 因子、V 因子的共同参与，并在一定浓度的 CO_2 条件下才能生长，常规的细菌培养阳性率普遍较低，给临床诊断和治疗带来了一定的困难。呼吸道苛养菌是儿童感染的常见致病菌，致病性强，是院外呼吸道感染的主要病原菌。有研究表明[1]:肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌及卡他莫拉菌，可引起咽炎、喉炎、气管炎、肺炎、中耳炎，若随血流侵入组织内部，还可引起脑膜炎，且耐药性逐年有所增加。为了解苛养菌在儿科病房的分布及其耐药情况，我们对 2000 年 7 月～2001 年 6 月从本院住院患儿 2050 份呼吸道标本中分离出的苛养菌 617 株进行了培养鉴定及耐药性分析，现报告如下。

作者介绍:刘 岚(1960－)，女，副主任技师，主要研究方向:细菌耐药性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取本院 2000 年 7 月～2001 年 6 月住院患儿中伴有呼吸道感染的患儿为研究对象，年龄 0～12 岁，男 1080 例，女 970 例，采集其呼吸道标本共 2050 份，共培养出苛养菌 617 株。

1.2 材料

分离培养基为哥伦比亚血平板、5%兔血巧克力平板；药

维普资讯 http://www.cqvip.com

敏试验采用 M－H 血平板 HTM 琼脂平板(天津金章医用新技术研究所生产)。药敏纸片采用法国(生理梅里埃)公司生产的,有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 培养鉴定及药敏方法 送检标本立即同时接种于血平板及巧克力平板,在 35℃、5%～7% CO_2 浓度孵箱内培养 24h,在巧克力平板上挑取可疑菌落并按全国临床操作规程进行鉴定及药敏试验。判断标准以 NCCLS1999 年公布的药敏试验分界点为准。质控菌株肺炎链球菌 ATCC49619、嗜血杆菌 ATCC49247,ATCC49766。

1.3.2 疑为肺炎链球菌 挑取细小、凹陷有溶血环的可疑菌落,在血平板上用奥普托欣确认,再将细菌配制成相当于 0.5%麦氏单位的菌液在含有 5%绵羊血 M－H 琼脂平板做药敏试验。

1.3.3 疑为流感嗜血杆菌 挑取露滴样菌落,用 X、V、X+V 因子在 M－H 琼脂平板做卫星实验。阳性者用 HTM 琼脂做药敏试验。

1.3.4 疑为卡他莫拉菌 选取可疑菌落,用含有 3－乙酰吲哚的干燥纸片,滴加生理盐水浸湿固定在玻片上,涂 1、2 个待检菌落,观察颜色变化,在 3min 内出现兰绿色为阳性(参照生产厂家说明书操作)。阳性者再用 HTM 琼脂做药敏试验。

2 结 果

2.1 各病区苛养菌发布(见表 1)

2.2 常用抗生素对苛养菌的耐药率(%)(见表 2)

表 1 各病区呼吸道苛养菌分布情况

细菌名称	肺炎链球菌		流感嗜血杆菌		副流感嗜血杆菌		卡他莫拉菌	
	菌株数	百分率(%)	菌株数	百分率(%)	菌株数	百分率(%)	菌株数	百分率(%)
新生儿科	123	19.9	6	0.97	8	1.3	1	0.16
呼吸科	99	16.01	61	9.87	122	19.77	42	6.80
血液科	23	3.72	22	3.57	28	4.54	5	0.81
心内科	4	0.64	4	0.65	7	1.34	1	0.16
神内科	11	1.78	4	0.65	9	1.46	3	0.48
肾脏科	3	0.48	1	0.16	4	0.65	—	0
普外科	2	0.32	3	0.49	2	0.32	—	0
骨科	5	0.81	2	0.32	—	0	2	0.32
心外科	1	0.16	1	0.16	3	0.48	—	0
PICU	4	0.64	—	0	1	0.16	—	0
总计	275	44.6	104	16.8	184	29.8	54	8.75

表 2 常用抗生素对苛养菌的耐药率(%)

病原菌	测试株	构成比(%)	红霉素	苯唑西林	氧氟沙星	四环素	万古霉素	氯霉素	利福平	氨苄西林	复方磺胺甲噁唑	头孢噻肟	头孢曲松	头孢呋新	阿齐霉素	氨曲南	头孢克洛	环丙沙星	亚胺培南	氯霉素
肺炎链球菌	275	44.6	81.1	76.9	16.6	65.4	0	26.4	41.6		76.9									
流感嗜血标题菌	104	16.8								17.6	56.7	17.7	17.7	17.7	3.3	13.1	15.7	6.7	16.4	15.4
副流感嗜血杆菌	184	29.8								28.9	56.7	16.5	16.5	16.5	3.3	16.0	18.3	3.3	16.5	10.7
卡他莫拉菌	54	8.75								64.9	64.9	0	2.8	5.7	19.4	27.6	5.7	13.5	0	8.8

3 讨 论

肺炎链球菌感染所引起的疾病,在世界各地均导致很高的发病率和死亡率[2],已引起医学界广泛的关注。表 1、2 资料表示,本院呼吸道苛养菌分布主要亦以肺炎链球菌为主,占总检出数的 44.6%,该细菌感染在新生儿科占 19.9%,其次是呼吸科 16.1%、血液科 3.72%、神内科 1.78%等;而其耐药率较高的分别是红霉素(81.1%)、与香港 1998 年报道[3]的 78.5% 相近,以下依次为苯唑青霉素(76.4%)、复方磺胺甲噁唑(76.9%)、四环素(65.4%),其中肺炎链球菌对苯唑青耐药率均高于国内王辉[3]报道的 58%,应引起临床的高度重视。其主要原因可能与本地区频繁使用这些抗生素有关,因为耐青霉素的基因是逐步形成的,随着连续基因的突变,耐药性也逐渐增多,因此,抗生素使用无疑是导致耐药性的原因之一。另一方面,较高的耐药率与检测方法也有一定的关系,本实验中耐青霉素性肺炎链球菌采用的是纸片 κ－B 法,因此,在有条件时,肺炎链球菌实际耐药率还应采用试管双倍

维普资讯 http://www.cqvip.com

稀释法(MIC 法)以排除假耐药部分,来满足临床诊断和治疗的需要。

流感嗜血杆菌是较为常见的下呼吸道寄居菌之一。所致疾病的免疫性以体液免疫为主,婴幼儿血清中缺乏流感嗜血杆菌抗体,故感染率和发病率较高。本实验室采用含有 5% 的兔血巧克力琼脂培养基进行培养,分别含有嗜血杆菌生长需要的 X 因子(血红素)和 V 因子。从表 2 资料显示:流感、副流感嗜血杆菌检出率为 46.6%,对氨苄西林耐药率分别为 17.6%,28.9%,与国外的报道基本一致[4,5],氨苄西林在 70 年代曾作为治疗嗜血杆菌的首选药物,但现在一些国家和地区的耐药率已高达 35% 以上,并有逐年上升的趋势。对复方磺胺甲噁唑耐药率较高,均为 56.7%,对其它抗生素也有一定的耐药。故流感嗜血杆菌耐药性的监测不容忽视。

卡他莫拉菌又称卡他布兰汉菌,是呼吸道的正常菌群,过去一直认为无致病性,但 80 年代以来的观察发现已成为一种常见的致病菌,该菌可引起急性中耳炎、鼻窦炎、支气管肺部感染、脑膜炎、心内膜炎和败血症等各种感染,具有一定的耐药性,此种耐药与质粒无关,由染色体介导[5]。本资料表明,本院呼吸科检出 42 株,占苛养菌的 6.8%,对氨苄西林、复方磺胺甲噁唑也有较高的耐药率,均为 64.4%,在小儿呼吸道感染的细菌培养中应当引起高度重视。

总之,随着抗生素的广泛应用,呼吸道感染中肺炎链球菌、流感、副流感嗜血杆菌以及卡他莫拉菌的检出率与日俱增,且对多种抗生素耐药,加之这些细菌培养条件苛刻,一般医院未做常规分离培养与药敏,故给治疗带来了一定的困难,且又会造成新的耐药菌株的产生与流行。为克服上述弊端,医院应对上述苛养菌开展常规的分离培养与药敏试验,以指导临床医生正确选用抗生素,并可防止新的耐药菌株的产生与流行。

参 考 文 献

[1] 胡翼云. 儿童呼吸道病原菌的抗生素耐药问题[J]. 国外医学儿科学,1996;(23)2:57-60.

[2] 金发光. 肺炎球菌感染性疾病的研究进展[J]. 重庆医学,2001;23(4):363-365.

[3] 王 辉,谢秀丽,徐英春,等. 79 株肺炎链球菌的耐药测定[J]. 中华微生物和免疫杂志,1998;18(4):309-310.

[4] 李光辉. 耐药流感杆菌研究进展[J]. 国外医学内科学分册,1996;23:288-289.

[5] 李光辉. 呼吸道常见病原菌的耐药性及其机制[J]. 国外医学内科学分册,1997;4(5):188-189.

(上接第 126 页)机体抗结核杆菌感染的免疫主要依赖细胞免疫,MPT64 又称 MPB64,存在于结核分枝杆菌早期分泌蛋白之中,分子量为 24Kda,能诱导机体产生保护性细胞免疫应答,尤其是能诱导产生特异性 CD_8^+ CTL[4~6],是抗结核新型疫苗的侯选抗原之一,一些 BCG 菌株中缺乏该蛋白。本研究成功地构建了 MPT64 真核表达质粒,DNA 序列测定无碱基突变。重组质粒在 COS-7 细胞中表达,ELISA 和斑点印迹分析证实了其抗原性,这为进一步研究 MPT64 在抗结核杆菌感染中的免疫保护作用奠定了基础。由于未作 G418 压力筛选阳性克隆,表达量低,用 SDS-PAGE 未能检测到 MPT64 的表达。

参 考 文 献

[1] Centers for Disease Control and Prevention. Development of new vaccines for tuberculosis. Recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis (ACET) [J]. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 1998;47:1-6.

[2] Fine P. E. Variation in protection by BCG: implications of and for heterologous immunity [J]. Lancet, 1995; 345: 1339-1345.

[3] Li H, Ulstrup JC, Jonassen TO, et al. Evidence for absence of the MPT64 gene in some substains of mycobacterium bovis BCG [J]. Infect Immun, 1993; 61: 1730-1734.

[4] Feng CG, Blanchard TJ, Smith GL, et al. Induction of CD_8^+ T-lymphocyte responses to a secreted antigen of Mycobacterium tuberculosis by an attenuated vaccinia virus [J]. Immunol Cell Biol, 2001; 79(6): 569-575.

[5] Kamath AT, Feng CG, Macdonald M, et al. Differential protective efficacy of DNA vaccines expressing secreted proteins of Mycobacterium tuberculosis [J]. Infect Immun, 1999; 67(4): 1702-1707.

[6] Roche P. W, Feng C. G, Britton W. J. Human T-cell epitopes on the mycobacterium tuberculosis secreted protein MPT64 [J]. Scand. J. Immunol, 1996; 43: 662-670.