

• 论 著 •

贵阳市发热呼吸道症候群病例常见 细菌性病原体检测与分析*

马 青¹, 杨 敏², 刘 英¹, 王 月¹, 李世军^{1△}

1. 贵州省疾病预防控制中心, 贵州贵阳 550004; 2. 贵阳市云岩区卫生健康局, 贵州贵阳 550004

摘 要:目的 对贵阳市发热呼吸道症候群病例标本进行检测, 了解其常见呼吸道病原体的感染情况, 探讨细菌性病原谱及其特征, 为预防和控制呼吸道传染病提供参考依据。方法 对贵阳市 4 家哨点医院符合监测病例定义的痰液和全血标本进行 6 种目标菌的分离培养和鉴定, 并采用实时荧光定量 PCR 法对疑似目标菌核酸进行检测。对鼻咽拭子标本采用实时荧光定量 PCR 法进行肺炎衣原体和肺炎支原体核酸检测。将数据导入 SPSS22.0 软件进行分析, 采用 χ^2 检验对不同标本病原体核酸检出情况、不同性别、年龄病例的病原体核酸检出情况的差异进行分析。结果 155 例患者病原体核酸总检出率为 14.19% (22/155); 其中, 88 份痰液标本中 15 份检出病原体核酸, 检出率为 17.05%, 检出病原体以肺炎克雷伯菌、肺炎链球菌和铜绿假单胞菌为主; 138 份全血标本中检出 1 株金黄色葡萄球菌核酸; 155 份鼻咽拭子标本中检出 6 份肺炎支原体核酸。该疾病的感染人群以 0~6 岁和 >68 岁人群多见, 男性病例和女性病例的病原体核酸检出率分别为 16.09% (14/87) 和 11.76% (8/68)。结论 贵阳市发热呼吸道症候群病例常见细菌性病原体以肺炎克雷伯菌、肺炎链球菌和铜绿假单胞菌为主, 感染人群以学龄前儿童和老年人群多见, 不同性别病例病原体检出率未见差异。

关键词: 发热呼吸道症候群; 病原谱; 细菌; 贵阳市

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.17.009

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2023)17-2092-04

文献标志码: A

Detection and analysis of common bacterial pathogens in patients with febrile respiratory syndrome in Guiyang*

MA Qing¹, YANG Min², LIU Ying¹, WANG Yue¹, LI Shijun^{1△}

1. Guizhou Center for Disease Control and Prevention, Guiyang, Guizhou 550004, China;

2. Health Bureau of Yunyan District, Guiyang, Guizhou 550004, China

Abstract: **Objective** To detect the samples of cases of febrile respiratory syndrome in Guiyang, understand the infection of common respiratory pathogens, explore the original spectrum and characteristics of bacterial diseases, and provide reference for the prevention and control of respiratory infectious diseases. **Methods** The sputum and whole blood samples from 4 sentinel hospitals in Guiyang were isolated, cultured and identified for 6 target bacteria. Further, the nucleic acid of 6 target bacteria was detected by real-time quantitative PCR. The nucleic acid of chlamydia pneumoniae and mycoplasma pneumoniae in nasopharyngeal swabs was detected by real-time quantitative PCR. Data were imported into SPSS22.0 software for analysis, and chi-square test was used to analyze the differences in nucleic acid detection of pathogens of different specimens, gender and age. **Results** The total detection rate of pathogen in 155 cases was 14.19% (22/155). Among the 88 sputum samples, pathogen nucleic acids were found in 15 samples, with a detection rate of 17.05%. The pathogens were mainly Klebsiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa. Only 1 strain of Staphylococcus aureus was cultured from 138 whole blood samples. Among the 155 nasopharyngeal swab samples, Mycoplasma pneumoniae nucleic acids were found in 6 samples. The infected population was mainly aged 0 to 6 years old and over 68 years old. The pathogen nucleic acid detection rates in male and female cases were 16.09% (14/87) and 11.76% (8/68). **Conclusion** Klebsiella pneumoniae,

* 基金项目: 国家科技重大专项课题(2017ZX10103010-005)。

作者简介: 马青, 女, 副主任技师, 主要从事病原微生物检测方向的研究。△ 通信作者, E-mail: zjumedjun@163.com。

Streptococcus pneumoniae and *Pseudomonas aeruginosa* are the main bacterial pathogens detected in patients with febrile respiratory syndrome in Guiyang. The infected population is mainly preschool children and the elderly. The difference of detection rate in gender is not observed.

Key words: febrile respiratory syndrome; pathogenic spectrum; bacteria; Guiyang

发热呼吸道症候群(FRS)是一类由呼吸系统急性感染引起的以发热及呼吸道症状为主要临床表现的疾病,其病原体复杂,流行广泛,易感人群众多,发展迅速,部分危重患者可发展为急性呼吸窘迫综合征甚至呼吸衰竭,最终死亡^[1-3]。呼吸道感染的病原体种类繁多,除了常见的甲、乙型流感病毒之外,还有细菌、真菌、支原体、衣原体等,其病原谱受到年龄、性别、地域、气候、经济情况、卫生条件等多方面因素的影响,常见的细菌性感染性疾病是临床常见的感染性疾病,常根据临床经验诊断和用药^[4]。因为不合理使用抗菌药物及介入性治疗增多,条件致病菌引起的呼吸道感染增多,感染程度随着细菌谱的变迁和其对抗菌药物的耐药性不断地增高,因此对呼吸道传染病的主要病原体进行准确及时地分析和检测十分重要^[5-7]。本研究旨在对近年来贵阳市 FRS 病例细菌性病原体及其特征开展研究,分析病原谱的构成和病原体流行特征,为呼吸道传染病的预防和控制提供科学依据,提高呼吸道传染病的防控能力。

1 材料与方法

1.1 标本来源 采集来自贵阳市妇幼保健院、贵阳市肺科医院、清镇市第一人民医院和贵阳市第五人民医院 4 家监测哨点医院,2018 年 9 月至 2019 年 12 月 FRS 患者的标本,采集 155 例患者共计 381 份标本,其中全血 138 份、痰液 88 份、鼻咽拭子 155 份。全血标本和痰液标本用于检测 6 种目标菌,鼻咽拭子标本用于肺炎支原体和肺炎衣原体的检测。

1.2 全血、痰液标本的细菌性病原学检测 根据国家传染病监测技术平台项目《发热呼吸道症候群监测技术方案》,将全血培养液和痰液标本分别接种到血琼脂培养基、巧克力琼脂培养基和麦康凯琼脂培养基,经 5% CO₂ 培养箱放置 24~48 h 后,将可疑的目标菌(肺炎链球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、流感嗜血杆菌和 A 组乙型链球菌)进行纯培养,再根据菌落形态、革兰染色镜检、氧化酶试验、触酶试验等进行初步鉴定,最后通过实时荧光定量 PCR 法对疑似目标菌核酸进行鉴定。所用试剂盒为深圳生科原生物有限公司生产的肺炎链球菌核酸测定试剂盒、金黄色葡萄球菌核酸测定试剂盒、肺炎克雷伯菌核酸测定试剂盒、铜绿假单胞菌核酸测定试剂盒、A 组乙型链球菌核酸测定试剂盒和流感嗜血杆

菌核酸测定试剂盒。

1.3 鼻咽拭子标本的核酸检测 运用 TaKaRa 宝生物工程有限公司的 MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver. 4.0 试剂盒提取核酸,然后用深圳深科原有限公司生产的肺炎支原体和肺炎衣原体核酸测定试剂盒对人体鼻咽拭子标本中的病原体核酸进行实时荧光定量 PCR 法检测。

1.4 统计学处理 使用 Excel2019 进行实验数据的整理,采用 SPSS22.0 软件对数据进行分析。计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基本情况 155 例 FRS 患者中,男 87 例,女 68 例,分别占患者总数的 56.13%和 43.87%,男女性别比为 1.28:1.00。将 155 例患者按年龄分为 5 个年龄段:婴幼儿(0~6 岁)52 例;青少年(>6~17 岁)9 例;青年(>17~45 岁)11 例;中年(>45~68 岁)36 例;老年(>68 岁)47 例。155 例患者共采集到 381 份标本,其中有 88 例患者均采集到 3 种标本(全血、痰液、鼻咽拭子);有 50 例患者均采集到血液和鼻咽拭子标本;有 17 例只采集到鼻咽拭子标本。

2.2 不同标本病原体核酸检出情况 从 155 例患者采集到的 381 份标本中,未发现患者有混合感染的情况。88 份痰液标本中 15 份检出病原体核酸,检出率为 17.05%;138 份全血标本中检出 1 株金黄色葡萄球菌核酸,且与痰液标本中检出的金黄色葡萄球菌不是来自同一例患者。155 份鼻咽拭子标本中检出肺炎支原体核酸 6 份;不同标本的病原体核酸检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=28.047, P<0.05$),以痰液标本病原体核酸检出率最高,为 17.05%,全血标本病原体核酸检出率最低,为 0.72%。见表 1。

表 1 不同标本病原体核酸检出率比较				
标本类型	<i>n</i>	病原体核酸检出(<i>n</i>)	检出率(%)	构成比(%)
全血	138	1	0.72	36.22
痰液	88	15	17.05	23.10
鼻咽拭子	155	6	3.87	40.68

2.3 各类病原体核酸检出情况 138 份患者标本(88 例患者同时采集到全血和痰液,50 例患者只采集到血液)应用分离培养方法进行检测,病原体核酸总检出

率为 11.59%(16/138);其中肺炎克雷伯菌核酸检出率最高,为 4.35%;肺炎链球菌和铜绿假单胞菌核酸检出率均为 2.17%,流感嗜血杆菌和金黄色葡萄球菌核酸检出率均为 1.45%。155 份鼻咽拭子标本中 6 份检出肺炎支原体核酸,检出率为 3.87%,未检出肺炎衣原体核酸。贵阳市 FRS 患者细菌性病原体核酸的检出主要以肺炎克雷伯菌(4.35%)、肺炎链球菌(2.17%)和铜绿假单胞菌(2.17%)为主。见表 2。

2.4 不同性别、年龄患者的病原体核酸检出情况
从性别分布来看,男性患者病原体核酸检出率为 16.09%(14/87),女性患者病原体核酸检出率为 11.76%(8/68),不同性别患者病原体检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.587,P>0.05$),但不同性别患者的构成比不同,男性患者较女性患者多。从年龄分布来看,不同年龄组患者病原体核酸检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=3.182,P>0.05$)。但各年龄组患者的构成比不同,病原体核酸检出情况也不同;以

0~6 岁和>68 岁的患者数最多;以 0~6 岁年龄病原体核酸检出率最高,为 21.15%,以肺炎支原体、肺炎克雷伯菌和肺炎链球菌为主;其次,>68 岁年龄段病原体核酸检出率较高,为 12.77%,病原体检出以肺炎支原体为主。见表 3。

表 2 FRS 患者各类病原体核酸检出情况			
标本类型	n	病原体核酸检出(n)	检出率(%)
血液、痰液			
金黄色葡萄球菌	138	2	1.45
流感嗜血杆菌	138	2	1.45
A 组乙型链球菌	138	0	0.00
肺炎链球菌	138	3	2.17
肺炎克雷伯菌	138	6	4.35
铜绿假单胞菌	138	3	2.17
鼻咽拭子			
肺炎衣原体	155	0	0.00
肺炎支原体	155	6	3.87

表 3 FRS 患者不同年龄病原体检出情况

年龄 (岁)	n	流感嗜血杆菌 阳性(n)	肺炎链球菌 阳性(n)	肺炎克雷伯菌 阳性(n)	铜绿假单胞菌 阳性(n)	金黄色葡萄 球菌阳性(n)	肺炎支原体 阳性(n)	检出 (n)	检出率 (%)
0~6	52	1	2	3	0	1	4	11	21.15
>6~17	9	1	0	0	0	0	0	1	11.11
>17~45	11	0	0	0	1	0	0	1	9.09
>45~68	36	0	0	1	1	0	0	3	8.33
>68	47	0	1	1	1	1	2	6	12.77
合计	155	2	3	6	3	2	6	22	14.19

3 讨 论

呼吸道症候群患者的常见病原体为肺炎支原体和肺炎衣原体,其均为苛养菌,培养环境条件苛刻,甚至不能进行培养^[8],因此本研究直接采用实时荧光定量 PCR 法对人体鼻咽拭子标本中的病原体核酸进行检测。实时荧光定量 PCR 法检测过程中没有引物、探针之间的拮抗,检测结果更加准确可靠,样品的扩增和实时的测定都基本在一个完全封闭的检测体系中进行和完成,很大程度上降低了被细菌污染的可能性,并且对于扩增后的样品无需额外进行电泳等操作^[9],为临床鉴别诊断和治疗细菌性呼吸道传染病提供了更多的病原学依据,与常用的传统检测方法相比灵敏度和特异度更高,对检测肺炎衣原体与肺炎支原体这些难以培养的苛养菌优势也更加显著^[10]。

本研究结果显示,88 份痰液标本中 15 份检出目标菌;138 份全血标本中检出 1 株金黄色葡萄球菌且与痰液标本中检出金黄色葡萄球菌的患者不是同一

例;155 份鼻咽拭子标本中 6 份检出肺炎支原体核酸。不同标本病原体核酸检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=28.047,P<0.05$),以痰液标本病原体核酸检出率最高,为 17.05%,痰液标本的病原体核酸检出率明显高于全血标本,全血标本病原体核酸检出率最低,为 0.72%。鼻咽拭子标本核酸检出率为 3.87%,检出病原体以肺炎支原体为主,明显高于 2012—2013 年贵阳市同类研究报道^[11]。儿童社区获得性肺炎和呼吸道感染常见的两种病原体为肺炎支原体和肺炎衣原体,且这两种病原体的联合检测在早期鉴别和诊断社区获得性肺炎中有一定的参考价值,应进一步引起临床的重视^[12]。

138 份患者标本(88 例患者同时采集到全血和痰液,50 例患者只采集到血液)中,病原体核酸总检出率为 11.59%(16/138);其中肺炎克雷伯菌检出率最高,为 4.35%;肺炎链球菌和铜绿假单胞菌检出率均为 2.17%,流感嗜血杆菌和金黄色葡萄球菌检出率均为

1.45%。155 份鼻咽拭子标本中共检出 6 份肺炎支原体,检出率为 3.87%。通过分析各类病原体的检出结果可知 FRS 患者细菌性病原体的检出以肺炎克雷伯菌(4.35%)、肺炎链球菌(2.17%)和铜绿假单胞菌(2.17%)为主。与之前 2012—2013 年贵阳市的调查报道^[11]显示的病原体检出率不同,呼吸道细菌性病原体核酸检出率前 3 位的结果也不太一致,提示该疾病的病原谱结构可能发生了变化。

从性别分布来看,不同性别患者病原体核酸检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.587, P>0.05$),但男性患者较女性患者多。从年龄分布来看,不同年龄组患者病原体核酸检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=3.182, P>0.05$)。但各年龄组患者的构成比不同,病原体检出情况也不同;以 0~6 岁和>68 岁的患者数最多;以 0~6 岁年龄病原体核酸检出率最高,为 21.15%,且该年龄段病原体感染种类较复杂,以肺炎支原体、肺炎克雷伯菌和肺炎链球菌为主;其次,>68 岁年龄段病原体核酸检出率较高,病原体检出以肺炎支原体为主。社区获得性肺炎可发生于任何年龄阶段,其中以低年龄段儿童及老年群体多发^[13]。本研究中,肺炎支原体主要在 0~6 岁和>68 岁患者中被检出,本研究也印证了以往研究结果^[13]。肺炎支原体与肺炎衣原体是小儿肺炎的主要病原体,它们若长期在患儿体内没有得到及时清除,严重时可导致心肌炎、脑膜炎等严重疾病,提示该类病原体在免疫力低下群体中检出率高,临床治疗中应特别重视这类群体的病原体检测^[14-15]。

综上所述,贵阳市 2018 年 9 月至 2019 年 12 月 FRS 患者常见细菌性病原体以肺炎克雷伯菌、肺炎链球菌和铜绿假单胞菌为主。该疾病的感染人群以 0~6 岁和>68 岁人群多见,不同性别患者病原体检出率未见差异。通过分析贵阳市 4 家哨点医院监测 FRS 患者细菌性病原体结果,可以在一定程度上反映全市 FRS 患者发病特征和规律,为 FRS 病例监测和临床救治提供科学依据。

参考文献

[1] 李映来,王曼,冯志锋,等.广东省中山市急性发热呼吸道

- 症候群病毒病原学研究[J]. 中国热带医学, 2020, 20(12):1179-1182.
- [2] 石鑫,许军,周广恩,等.黑龙江省发热呼吸道症候群病原学研究[J]. 中国公共卫生管理, 2020, 36(6):821-823.
- [3] 袁艳,刘新风,汪丽娟,等.甘肃省发热呼吸道症候群哨点医院监测结果分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2020, 24(11):1287-1291.
- [4] 陆颖晖,黎湘娟,卢玲敏. 2019 年广西口岸入境人员发热伴呼吸道症候群细菌病原谱监测情况[J]. 口岸卫生控制, 2020, 25(5):55-57.
- [5] 曾金武,郝青林,徐鸥,等.下呼吸道感染患者痰培养和药敏结果分析[J]. 云南医药, 2007, 28(6):524-526.
- [6] 张锐,杨再国. 2007—2008 年呼吸道感染的细菌谱及耐药性变化的比较分析[J]. 西部医学, 2010, 22(4):651-653.
- [7] 郭丽珍,蒋建清,林月霞. 院内下呼吸道感染 108 例临床分析[J]. 福建医药杂志, 2000, 22(1):145-146.
- [8] 祁晓东,贾清,汪春翔,等. 2010—2011 年西宁市呼吸道细菌多重 PCR 检测结果分析[J]. 医学动物防制, 2012, 28(9):998-1000.
- [9] 王冬玲,于爱红. 2013 年张掖市发热呼吸道症候群细菌多重 PCR 检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(23):3407-3408.
- [10] 郭文涛,徐爱玲,加洛,等. 常规 PCR 与实时荧光定量 PCR(qPCR)技术敏感性比较[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2020, 50(1):7-9.
- [11] 马青,刘英,王月,等. 2012—2013 年贵阳市发热呼吸道症候群病例常见细菌性病原学调查与分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(8):979-981.
- [12] 杨红梅,占建波,方斌,等. 400 例流感样病例非病毒性病原谱研究[J]. 中华预防医学杂志, 2015, 49(6):567-570.
- [13] 陈李好. 2 305 例呼吸道疾病患儿肺炎支原体和肺炎衣原体联合检测的分析[J]. 中国医药指南, 2014, 12(35):142.
- [14] 马颖. 174 例社区获得性肺炎患者肺炎支原体、肺炎衣原体联合检测结果分析[J]. 首都食品与医药, 2020, 27(3):133-134.
- [15] 苑鑫,金欣,牛文凯,等. 肺炎支原体肺炎快速评分法对社区获得性肺炎病原学的辅助诊断价值[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2015, 38(7):497-500.

(收稿日期:2023-01-11 修回日期:2023-05-06)