

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000618

241例重庆地区急性呼吸道感染患儿肺炎链球菌耐药性分析

崔建邦¹, 郑玉强², 景春梅², 杨春梅¹, 燕莎¹, 朱静¹, 田杰³, 余道澄¹

(重庆医科大学附属儿童医院 1. 儿童发育与疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室;

2. 检验科; 3. 心血管内科, 重庆 400014)

【摘要】目的:了解重庆地区儿童急性呼吸道感染肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*, SP)的耐药情况。**方法:**采集重庆医科大学附属儿童医院 2014 年 1~3 月、9~11 月急性呼吸道感染患儿呼吸道标本(痰、支气管肺泡灌洗液), 分离培养, 得到 SP 进行药敏检测。**结果:**共收集 241 株 SP, 红霉素耐药率最高, 达 97.10%, 四环素 91.70%、克林霉素 89.63%, 未检出万古霉素耐药株; 利奈唑胺、氯霉素、泰利霉素、左旋氧氟沙星、莫西沙星敏感率较高, 达 90%以上; 青霉素、美洛培南、头孢吡肟的不敏感率分别为 47.3%、81.74%、67.22%; 主要耐药模式为美洛培南+红霉素+克林霉素+复方新诺明+四环素(21.16%); 青霉素敏感菌株和青霉素不敏感菌株相比, 红霉素、阿莫西林、头孢吡肟、头孢噻肟、美洛培南、复方新诺明、克林霉素不敏感率差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**重庆地区红霉素、四环素、克林霉素耐药率较高, 不宜用于儿童 SP 感染的治疗; 青霉素和头孢类抗生素不敏感率较高, 应慎重用于经验治疗。临床应根据药敏试验结果合理用药, 防止耐药菌株流行播散。

【关键词】肺炎链球菌; 耐药性; 分析**【中图分类号】**R378.1+4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2015-01-29Analysis of antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* among 241 children with acute respiratory infections in ChongqingCui Jianbang¹, Zheng Yuqiang², Jing Chunmei², Yang Chunmei¹, Yan Sha¹, Zhu Jing¹, Tian Jie³, Yu Daocheng¹

(1. Ministry of Education Key Laboratory of Developmental Diseases in Childhood, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing; 2. Department of Clinical Laboratory; 3. Cardiovascular Department; the Children's Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate and understand the resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children with acute respiratory infections in Chongqing. **Methods:** The respiratory tract specimens (sputum, bronchoalveolar lavage fluid) from January to March, September to November in 2014 in the Children's Hospital of Chongqing Medical University were collected, and *Streptococcus pneumoniae* were isolated and cultured, finally the drug sensitivity test results were achieved. **Results:** A total of 241 strains of *Streptococcus pneumoniae* were isolated, erythromycin had the highest resistance rate, reaching 97.1%, followed by tetracycline 91.7%, clindamycin 89.63%. No drug-resistant strains of vancomycin was detected. Linezolid, chloramphenicol, telithromycin, levofloxacin, moxifloxacin were more sensitive, being more than 90%; Penicillin, meropenem, cefepime were not sensitive, being respectively 47.3%, 81.74%, 67.22%. The main patterns of resistance were meropenem+erythromycin+clindamycin+cotrimoxazole+tetracycline (21.16%). Compared with penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae* and penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae*, the nonsusceptible rates of erythromycin, amoxicillin, cefepime, cefotaxime, meropenem, cotrimoxazole, clindamycin had statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion:** Erythromycin, tetracycline, clindamycin should not be used in children infected with *Streptococcus pneumoniae* because of their higher resistance rates in Chongqing; and penicillin and cephalosporins should be carefully used in empirical treatment due to their high non-sensitive rates. The clinical medication should pay more attention to the bacterial culture, and rational use of antibiotics should be based on susceptibility test results, so as to prevent the spread and prevalence of drug resistant strains.

【Key words】*Streptococcus pneumoniae*; drug resistance; analysis

作者介绍: 崔建邦, Email: 2245445148@qq.com,

研究方向: 医学微生物检验与耐药研究。

通信作者: 余道澄, Email: 694730699@qq.com。

基金项目: 重庆市卫生局医学科研发资助项目(编号: 2012-2-106)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150405.2108.017.htm>

(2015-04-05)

肺炎链球菌(*streptococcus pneumoniae*, SP)是儿童急性呼吸道感染的重要致病菌,可引起儿童脑膜炎、败血症、肺炎等严重感染性疾病^[1]。据世界卫生组织统计,肺炎链球菌性疾病每年在全球造成160万人死亡,其中5岁以下儿童约100万。随着抗生素的长期使用或滥用,在世界范围内有关SP耐药菌株的报道不断增多,耐药现象日趋严重,常常导致临床经验用药治疗无效。为了解重庆地区儿童呼吸道感染SP的耐药情况和流行病学特点,现对重庆医科大学附属儿童医院SP临床分离株进行研究,为临床合理使用抗生素提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集2014年1~3月、9~11月在我院住院治疗的重庆地区急性呼吸道感染患儿的呼吸道标本(痰、支气管肺泡灌洗液),分离培养得到241株SP,同一患者同种标本只分析第一株。

1.2 仪器与试剂

Phoenix-100全自动细菌鉴定/药敏系统(包括仪器、软件、配套试剂、生化鉴定和药敏试验板)(BD公司)、血平板和optochin纸片(重庆庞通医疗器械有限公司)。

1.3 质控菌株

SP标准菌株ATCC 49619作为质控菌株。

1.4 方法

1.4.1 标本采集 按照《全国临床检验操作规程》进行标本(痰、支气管肺泡灌洗液)的采集。

1.4.2 细菌培养和鉴定 将标本接种到血平板后置于37℃、5%CO₂培养箱中培养18~48h后观察培养结果。挑选血平板上细小而扁平、周围有绿色溶血环的可疑菌落做optochin试验,分离株上机鉴定。

1.4.3 药敏试验 由全自动细菌鉴定/药敏系统进行药敏检测,自动按照美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)标准判读药敏结果,以SP ATCC 49619作为质控菌株。

1.5 统计学方法

用Excel表进行细菌药物敏感性结果统计,数据统计分析应用SPSS 19.0。有关率的比较用卡方检验或Fisher精确概率法,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 性别、年龄分布

剔除同一患儿相同部位的重复分离菌株后共241株,其中161株分离自男性患儿,80株分离自女性患儿;年龄分布

为:241株菌株中新生儿组(0~28 d)2株;婴儿组(<1岁)90株;幼儿组(1~3岁)86株;学龄前期组(3~6岁)53株;学龄后期组(6~14岁)12株,可见SP检出最多的年龄组为婴、幼儿组。

2.2 SP的药敏率

见表1。分离出的241株SP对红霉素、四环素、克林霉素具有较高耐药性,其中红霉素和四环素的耐药率均>90%;对 β -内酰胺类抗生素中美洛培南的耐药率>50%,不敏感率>80%,头孢吡肟、青霉素、阿莫西林的不敏感率均>40%;对氯霉素、泰利霉素的敏感率高,均>90%;未发现万古霉素、利奈唑胺、左旋氧氟沙星、莫西沙星耐药株。

表1 SP的药敏率

Tab.1 Antimicrobial susceptibility rates of SP

抗生素	敏感(%)	中介(%)	耐药(%)	不敏感(%)
	(S)	(I)	(R)	(I+R)
红霉素	6(2.49)	1(0.41)	234(97.10)	235(97.51)
四环素	12(4.98)	8(3.32)	221(91.70)	229(95.02)
克林霉素	23(9.54)	2(0.83)	216(89.63)	218(90.46)
复方新诺明	30(12.45)	58(24.07)	153(63.49)	211(87.55)
美洛培南	44(18.26)	69(28.63)	128(53.11)	197(81.74)
头孢吡肟	79(32.78)	126(52.28)	36(14.94)	162(67.22)
青霉素	127(52.70)	106(43.98)	8(3.32)	114(47.30)
阿莫西林	143(59.34)	63(26.14)	35(14.52)	98(40.66)
头孢噻肟	170(70.54)	32(13.28)	39(16.18)	71(29.46)
氯霉素	225(93.36)	0(0.00)	16(6.64)	16(6.64)
泰利霉素	236(97.93)	0(0.00)	5(2.07)	5(2.07)
莫西沙星	240(99.59)	1(0.41)	0(0.00)	1(0.41)
左旋氧氟沙星	241(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
万古霉素	241(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
利奈唑胺	241(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)

2.3 SP的耐药模式

见表2。SP主要耐药模式为美洛培南+红霉素+克林霉素+复方新诺明+四环素,占21.16%;其次为红霉素+克林霉素+四环素,占14.52%;红霉素+克林霉素+复方新诺明+四环素,占12.03%。多重耐药菌株为217株,占90.04%。

2.4 青霉素敏感性不同时对其他抗生素的敏感性

见表3。青霉素敏感菌株(penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae*, PSSP)和青霉素不敏感菌株(penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae*, PNSSP)不敏感率比较:红霉素、阿莫西林、头孢吡肟、头孢噻肟、美洛培南、复方新诺明、克林霉素差异具有统计学意义($P<0.05$),提示SP对青霉素不敏感时对以上抗生素的不敏感可能性大;而莫西沙星、泰利霉素、氯霉素、四环素差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 SP 的耐药模式

Tab.2 The resistance pattern of SP

耐药模式	株数	百分比 (%)
MEM+ERY+CLI+SXT+TET	51	21.16
ERY+CLI+TET	35	14.52
ERY+CLI+SXT+TET	29	12.03
MEM+ERY+CLI+TET	16	6.64
AMX+MEM+FEP+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	15	6.22
ERY+CLI	9	3.73
ERY+CLI+CHL+SXT+TET	8	3.32
MEM+ERY+SXT+TET	7	2.9
MEM+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	7	2.9
ERY+TET	5	2.07
AMX+MEM+ERY+CLI+SXT+TET	5	2.07
MEM+FEP+ERY+CLI+SXT+TET	4	1.66
ERY+CLI+CHL+TET	4	1.66
AMX+MEM+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	4	1.66
TET	3	1.24
MEM+FEP+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	3	1.24
ERY+CLI+SXT	3	1.24
无	2	0.83
MEM+ERY+CLI+SXT	2	0.83
FEP+CTX+ERY+CLI+TET	2	0.83
ERY	2	0.83
AMX+PEN+MEM+FEP+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	2	0.83
AMX+PEN+ERY+CLI+TEL+TET	2	0.83
AMX+MEM+FEP+ERY+CLI+SXT+TET	2	0.83
SXT+TET	1	0.41
PEN+MEM+ERY+CLI+SXT+TET	1	0.41
MEM+TET	1	0.41
MEM+FEP+CTX+ERY+CLI+SXT	1	0.41
MEM+ERY+TET	1	0.41
MEM+ERY+CLI+TEL+SXT+TET	1	0.41
FEP+ERY+CLI+TET	1	0.41
FEP+ERY+CLI+CHL+TET	1	0.41
FEP+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	1	0.41
FEP+CTX+ERY+CLI+CHL+SXT+TET	1	0.41
ERY+SXT+TET	1	0.41
ERY+SXT	1	0.41
ERY+CLI+TEL+TET	1	0.41
ERY+CHL+TET	1	0.41
AMX+PEN+MEM+FEP+ERY+CLI+SXT+TET	1	0.41
AMX+PEN+MEM+FEP+CTX+ERY+CLI+TET	1	0.41
AMX+PEN+MEM+CTX+ERY+CLI+SXT+TET	1	0.41
AMX+MEM+FEP+CTX+ERY+CLI+CHL+TET	1	0.41
AMX+MEM+ERY+CLI+TEL+SXT+TET	1	0.41
总计	241	100

注: AMX: 阿莫西林, PEN: 青霉素, MEM: 美洛培南, FEP: 头孢吡肟, CTX: 头孢噻肟, ERY: 红霉素, CLI: 克林霉素, CHL: 氯霉素, TEL: 泰利霉素, SXT: 复方新诺明, TET: 四环素, 无: 对所有抗生素均不耐药

表 3 PSSP 与 PNSSP 对不同抗菌药物的不敏感率

Tab.3 Comparison on drug non-sensitive rates between PSSP strains and PNSSP strains

抗生素	PSSP (127)		PNSSP (114)		χ^2 值	P 值
	株数	不敏感率 (%)	株数	不敏感率 (%)		
莫西沙星	1	0.79	0	0	—	1.000
泰利霉素	1	0.79	4	3.51	—	0.192
氯霉素	11	8.66	5	4.39	1.772	0.183
四环素	118	92.91	111	97.37	2.520	0.112
红霉素	121	95.28	114	100	—	0.031
阿莫西林	13	10.24	85	74.56	103.021	0.000
头孢吡肟	60	47.24	102	89.47	48.620	0.000
头孢噻肟	9	7.09	62	54.39	64.674	0.000
美洛培南	85	66.93	112	98.25	39.478	0.000
复方新诺明	101	79.53	110	96.49	15.862	0.000
克林霉素	106	83.46	112	98.25	15.204	0.000
左旋氧氟沙星	0	0	0	0	—	—
万古霉素	0	0	0	0	—	—
利奈唑胺	0	0	0	0	—	—

注: 株数包括中介株和耐药株, 不敏感率包括中介率和耐药率

3 讨 论

SP 是一种常见的革兰阳性机会致病菌, 通常寄居在人的鼻咽部。儿童特别是婴幼儿, 因其免疫力低下及特殊的呼吸道解剖结构, 易成为 SP 的主要致病人群。青霉素自问世以来, 便成为治疗 SP 感染的首选药物。随着抗生素的大量使用或滥用, 青霉素耐药株持续增加, 国内外关于青霉素耐药 SP 的报道越来越多见。Michael Brandon 等^[2]报道称欧洲 SP 对青霉素的耐药率为 34.4%; 俞桑洁等^[3]报道北京儿童医院于 2013 年 3 月到 2014 年 2 月分离出的 SP, 青霉素耐药率为 11%, 青霉素不敏感率为 67%; 胡付品等^[4]报道 2013 年上海地区儿童 SP 非脑膜炎分离株中青霉素耐药率为 27.7%, 中介率为 15.6%; 林倍州等^[5]报道广东地区 2012 年 SP (非脑膜炎分离株) 对青霉素耐药率为 2.6%, 中介率为 7.3%。SP 对青霉素的耐药情况随地区不同有所差异。

本研究分离的 SP 显示对青霉素耐药形势严峻, 耐药率为 3.32%, 但不敏感率为 47.30%, 较俞桑洁等报道的青霉素耐药率、不敏感率低, 但明显高于胡付品与林倍州等报道的青霉素不敏感率, 这可能与菌株来源于不同的地区、群体和不同的抗生素使用习惯有关; 与牛司强等^[6]报道的 2012 年重庆市

SP 青霉素不敏感率 26% 相比不敏感率显著增高,与张在亭等^[7]报道的 2004 年本院 SP 青霉素耐药率 66.8% 相比明显降低,这可能与 2008 年 CLSI 修改了青霉素对 SP 的折点有关,也可能与临床上根据药敏结果选择性使用抗生素有关。

本研究 SP 对红霉素、四环素、克林霉素的耐药率较高,分别为 97.10%、91.70%、89.63%,已不适用于治疗 SP 引起的感染;对美洛培南、复方新诺明、头孢吡肟的不敏感率分别为 81.74%、87.55%、67.22%;对氯霉素、泰利霉素、利奈唑胺、万古霉素、喹诺酮类抗生素敏感性高,说明此类抗生素对 SP 的抗菌能力强。

青霉素主要通过与其青霉素结合蛋白 (Penicillin binding proteins, PBPs) 结合,从而阻断细菌细胞壁的合成,达到杀菌效果。SP 对青霉素的耐药机制为:获得产 β -内酰胺酶的基因产生酶水解青霉素;pbp 基因突变致 PBPs 变异,与青霉素结合能力减弱产生耐药性。据报道 PBP2x 和 PBP2b 为原耐药抗性决定簇,它们的变异可导致低水平耐药^[8];而本研究中青霉素耐药率低,中介率却较高,达 43.98%,推测 pbp2x、pbp2b 基因突变可能与该现象有关。

SP 对红霉素、克林霉素耐药与 ermB 基因有关^[9-10],ermB 基因编码的甲基化酶催化 23S rRNA 甲基化,引起红霉素作用靶位改变,从而导致对大环内酯类和林可酰胺类耐药^[11]。本研究中红霉素和克林霉素同时耐药的菌株数为 216 株,即所有对克林霉素耐药的菌株对红霉素均耐药,占总菌株的 89.63%,推测大部分 SP 携带有 erm 基因与其对红霉素、克林霉素的高度耐药性有关。

碳青霉烯类抗生素抗菌谱广、抗菌活性强,对多种 β -内酰胺酶高度稳定,对革兰氏阳性菌、阴性菌及厌氧菌都有强大的抗菌活性,国内少有关于 SP 对此类抗生素耐药及其机制研究的报道。然而本研究中 SP 对美洛培南的耐药率高达 53.11%,高于张波等报道的 46.2%^[12],与 Michael Brandon 等报道的亚太地区耐药率为 52.7% 相当。Asako Doi 等报道了 1 例对美洛培南耐药的 SP^[13],该菌的 pbp1a、pbp2x、pbp2b 基因均发生变异,具体机制并未报道。因此,对 SP 耐碳青霉烯类抗生素的现象应加以重视,并应深入研究其耐药机制。

本研究中多重耐药 SP 比例高,占 90.04%;表 3 显示,随着青霉素敏感性降低,细菌对其他 β -内酰胺

类抗生素的敏感性也降低,提示药物间耐药性有一定关联,可能与相关耐药基因的水平传递有关。以上现象表明,SP 抗生素耐药问题严峻,应深入对其耐药机制的研究,以发现和预防耐药菌株的大规模流行。

参 考 文 献

- [1] Yao KH, Yang YH. Streptococcus pneumonia diseases in Chinese children: past, present and future [J]. Vaccin, 2008, 26(35): 4425-4433.
- [2] Brandon M, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among Gram-positive organisms collected from pediatric patients globally between 2004 and 2011: results from the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(7): 2371-2378.
- [3] 俞桑洁, 高 薇, 史 伟, 等. 上呼吸道感染儿童鼻咽部携带肺炎链球菌状况及血清型和耐药性研究 [J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(10): 988-992.
- [4] 胡付品, 朱德妹, 汪 复, 等. 2013 年上海市细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(6): 461-473.
- [5] 林倍州, 肖书念, 卓 超. 广东 2012 年临床常见细菌耐药性监测分析 [J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(5): 321-326.
- [6] 牛司强, 阳 苹, 张莉萍. 2012 年重庆市细菌耐药性检测 [J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(5): 338-343.
- [7] 张在亭, 刘恩梅, 刘 岚, 等. 肺炎链球菌临床分离株耐药性与耐药机制研究 [J]. 中国实用儿科杂志, 2008, 23(2): 136-138.
- [8] Izdebski R, Rutschmann J, Fiett J, et al. Highly variable penicillin-resistance determinants PBP 2x, PBP 2b, and PBP 1a in isolates of two Streptococcus pneumonia clonal groups, poland 23F-16 and poland 6B-20 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008(52): 1021-1027.
- [9] Mosleh MN, Gharibi M, Alikhani MY, et al. Antimicrobial susceptibility and analysis of macrolide resistance genes in Streptococcus pneumoniae isolated in Hamadan [J]. Iran J Basic Med Sci, 2014, 17(8): 595-599.
- [10] Megged O, Assous M, Weinberg G, et al. Inducible clindamycin resistance in β -hemolytic streptococci and Streptococcus pneumoniae [J]. Isr Med Assoc J, 2013, 15(1): 27-30.
- [11] 潘树根, 杨银梅, 郭海波. 肺炎链球菌对大环内酯-林可酰胺-链阳菌素的耐药监测及耐药机制研究 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 1(4): 238-240.
- [12] 张 波, 陈 瑶, 刘智勇, 等. 91 株肺炎链球菌的血清型分布及耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(20): 4619-4621.
- [13] Doi A, Iwata K, Takegawa H, et al. Community-acquired pneumonia caused by carbapenem-resistant Streptococcus pneumoniae: re-examining its prevention and treatment [J]. Int J Gen Med, 2014, 21(7): 253-257.

(责任编辑: 冉明会)