

肺炎链球菌临床分布情况及药敏分析

尹亚非, 史梦, 陆玲, 周勇

(四川省成都市第二人民医院检验科 610017)

[摘要] 目的 了解肺炎链球菌(SP)临床标本分布情况及药敏结果,对 SP 感染在临床诊断、治疗及预防提供依据。方法 将 2010—2015 年分离出的非重复菌株 416 株 SP,采用 ATB Express 细菌鉴定系统进行鉴定及药敏试验,结果按 CLSI 2014 年版标准进行判读。结果 6 年中,SP 在冬春 2 季呈分离高峰;呼吸道标本检出达 90%以上;以幼儿和老年人为主;对青霉素、阿莫西林等仍然保持高度敏感性,但其敏感率与非敏感率比较差异有统计学意义($P < 0.05$);而克林霉素、红霉素等呈现高水平不敏感,其敏感率与非敏感率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 虽然青霉素等 β -内酰胺类抗菌药物仍可作为 SP 感染治疗的首选,但青霉素中介的 SP(PISP)及耐青霉素的 SP(PRSP)有逐年上升趋势;应根据药敏试验结果选择抗菌药物。

[关键词] 肺炎链球菌感染;药物监测;药物敏感试验

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)07-0913-03

Analysis of clinical distribution of streptococcus pneumoniae and drug susceptibility test results

Yin Yafei, Shi Meng, Lu Ling, Zhou Yong

(Department of Clinical Laboratory, Chengdu Municipal Second People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610017, China)

[Abstract] **Objective** To understand the clinical distribution situation of streptococcus pneumoniae (SP) and drug susceptibility test results to provide a basis for the clinical diagnosis, treatment and prevention of SP infection. **Methods** Totally 416 non-repeat strains of SP were isolated during 2010 to 2015. Their identification and drug susceptibility test were performed by using the ATB Express bacterial identification system. The results were interpreted according to the standard of CLSI 2014 edition. **Results** In these 6 years, SP showed the isolation peak in spring and winter; the detection rate of respiratory tract specimens reached more than 90%; the young children and elderly people were predominant; SP maintained high sensitivity to penicillin, amoxicillin, etc., the difference in the sensitivity rate and non-sensitivity rate had statistical significance ($P < 0.05$); but SP showed high level non-sensitivity to clindamycin, erythromycin, etc., the difference in the sensitivity rate and non-sensitivity rate had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** Although β -lactam antibiotics such as penicillin can still be used as the first choice of therapy, but PISP and PRSP show the increasing trend year by year; therefore the antibacterial drugs should be selected according to the drug susceptibility test results.

[Key words] streptococcus pneumoniae infections; drug monitoring; drug susceptibility test

肺炎链球菌(streptococcus pneumoniae, SP)为口鼻咽部正常菌群,一般不致病。当机体抵抗力下降时,寒冷刺激、感冒和麻疹等,可引起大叶性肺炎、化脓性脑膜炎、中耳炎、菌血症等。SP 的侵袭力主要是荚膜,失去荚膜其毒力减弱或丧失,其溶血素、神经氨酸酶也是主要致病因子^[1]。SP 是我国社区获得性肺炎(CAP)最常见的致病菌之一^[2]。据统计,全球每年有数以百万计儿童和老年人死于由 SP 引起的肺炎、菌血症及脑膜炎等感染性疾病。特别是耐青霉素 SP 的出现及广泛传播,使得临床治疗 SP 感染越发困难,为临床医生经验用药一大挑战。作者对本院 2010—2015 年临床送检标本分离的 SP 进行分析,了解 SP 的标本分布、患者分布情况及 SP 的药敏变化趋势,为 SP 感染治疗提供流行病学的的数据支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日本院临床送检标本:血液、脓液及分泌物、高质量的痰液(显微镜检查每低倍视野上皮细胞数小于 10 个,白细胞大于 25 个)、气管内抽吸液、肺泡灌洗液等。共分离出 467 株 SP,筛除重复株后为 416 株。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 ATB Express 半自动微生物细菌鉴定仪

及 ATB STREP 5 试剂盒购自梅里埃公司;CO₂ 电热恒温培养箱购自上海力新医疗器械厂;5%哥伦比亚绵羊血琼脂平板等购自重庆庞通医疗器械有限公司;SP 质控菌株 ATCC49619。

1.2.2 药物敏感(药敏)检测方法 临床标本按第四版《全国临床检验操作规程》,2 h 内接种于 5% 哥伦比亚绵羊血平板、HIN 巧克力平板等培养基,置 5% CO₂ 培养箱内孵育 18~24 h。孵育后,从血平板选可疑菌落染色,做触酶试验、奥普托欣敏感试验、胆汁溶菌试验,再经 ATB Express 半自动微生物鉴定仪进行鉴定及药敏试验。药敏结果判读依照临床实验室标准化协会(CLSI)文件 2014 年版^[3]。

1.3 统计学处理 采用 WHO 细菌耐药性监测中心提供的 WHONET 5.6、SPSS17.0 及 Graphpad Prism 5.0 软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法计算,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 送检标本及各季度 SP 患者年龄分布情况 标本分布:血液标本检出 16 株(3.85%);脓液 21 株(5.05%);以耳鼻喉科及眼科的脓液及分泌物为主;咽拭子 39 株(9.38%),痰液及纤支镜标本 210 株(81.73%)。呼吸道分离的 SP 共占 91.11%(579/416)。2010—2015 年全院分离病原菌株数(筛去重复株)

表 1 各季度 SP 及 SP 感染年龄分布情况(株)

年份	季度					年龄				
	1 季度	2 季度	3 季度	4 季度	合计	0~<12 岁	12~<60 岁	60~70 岁	>71 岁	合计
2010	16	3	3	9	31	3	2	4	22	31
2011	11	7	5	24	47	13	3	8	23	47
2012	21	8	8	17	54	12	5	9	28	54
2013	34	15	20	29	98	37	11	10	40	98
2014	19	18	22	25	84	23	11	18	32	84
2015	23	22	22	35	102	28	19	17	38	102
合计	124	73	80	139	416	116	51	66	183	416

表 2 2010—2015 年 SP 的敏感(S)、耐药(R)、中敏(I)药敏结果(%)

抗菌药物	2010			2011			2012			2013			2014			2015			P
	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	
青霉素	80.60	3.20	16.20	93.60	0.00	6.40	81.50	0.00	18.50	73.50	5.10	21.40	79.50	4.40	16.10	70.80	6.60	22.60	0.04
阿莫西林	86.20	13.80	0.00	97.80	2.20	0.00	94.30	5.70	0.00	83.50	16.50	0.00	87.50	7.80	4.70	72.60	22.10	5.30	0.00
头孢噻肟	71.00	16.10	12.90	80.90	2.10	17.00	83.30	7.40	9.30	70.40	9.20	20.40	78.40	10.80	10.80	83.40	7.80	8.80	0.22
左氧氟沙星	96.80	3.20	0.00	95.70	4.30	0.00	98.10	1.90	0.00	97.90	2.10	0.00	98.80	0.00	1.20	97.00	1.00	2.00	0.86
万古霉素	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	/
氯霉素	80.60	19.40	0.00	89.40	10.60	0.00	87.00	13.00	0.00	87.80	12.20	0.00	87.70	12.30	0.00	93.10	6.90	0.00	0.46

表 3 2010—2015 年 SP 的敏感(S)和非敏感(NS)药敏结果(%)

抗菌药物	2010		2011		2012		2013		2014		2015		P
	S	NS											
奎奴普汀/达福普	87.10	12.90	91.50	8.50	90.70	9.30	89.80	10.20	87.50	12.50	87.60	12.40	0.99
四环素	12.90	87.10	14.90	85.10	24.10	75.90	11.20	88.80	24.10	75.90	19.60	81.40	0.19
复方磺胺甲噁唑	6.90	93.10	12.80	87.20	24.10	75.90	18.40	81.60	25.60	74.40	30.70	69.30	0.03
克林霉素	16.10	83.90	8.50	91.50	14.80	85.20	7.10	92.90	12.50	87.50	15.40	84.60	0.67
红霉素	9.70	90.30	6.40	93.60	5.60	94.40	3.10	96.90	5.30	94.70	4.30	95.70	0.60

分别为 2 360、2 211、2 742、3 204、3 472、4 046 株,共计 15 293 株,2010 年检出 SP 31 株,占全院分离菌的 1.31%(31/2 236);2011 年检出 SP 47 株,占全院分离菌的 2.13%(47/2 211);2012 年检出 SP 54 株,占全院分离菌的 1.97%(54/2 742);2013 年检出 SP 98 株,占全院分离菌的 3.06%(98/3 204);2014 年检出 SP 84 株,占全院分离菌的 2.42%(84/3 472);2015 年检出 SP 102 株,占全院分离菌的 2.52%(102/4 046);6 年共检出 416 株,占全院分离菌的 2.72%(416/5 293)。其中,1 季度及 4 季度共检出 263 株 SP,占 6 年检出的 63.22%(263/416),患者年龄分布:0~<12 岁检出 116 株(27.88%),12~<60 岁检出 51 株(12.26%),60~70 岁检出 66 株(15.87%),>70 岁检出 183 株(43.99%)。各季度 SP 及 SP 感染年龄分布情况,见表 1。

2.2 2010—2015 年 SP 的药敏结果 2010—2015 年未检出万古霉素不敏感菌株。SP 对青霉素、阿莫西林、头孢噻肟、左氧氟沙星、氯霉素等几种抗菌药物仍保持较高的敏感性(70%~100%)。但对四环素、复方磺胺甲噁唑、克林霉素、红霉素呈现高度的不敏感性,大于 75%。对青霉素类中的 SP 有一定上升趋势,2015 年最高达 22.60%。以上检测的抗菌药物敏感株与非敏感株经 χ^2 检验,青霉素、阿莫西林、复方磺胺甲噁唑差异

有统计学意义($P<0.05$);其余几种抗菌药物差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2、3。

3 讨论

SP 为革兰阳性球菌,触酶阴性,营养要求较高,菌落呈现草绿色溶血,可产生荚膜多糖,培养 18~24 h 菌落中央塌陷,呈典型“脐窝”状菌落或者黏液样菌落。用奥普托欣敏感试验、胆汁溶菌试验和菊糖发酵试验^[1]易鉴定出。但 SP 在实验室分离率较低,原因如下:(1)对大多数抗菌药物敏感,多数患者入院前已服用抗菌药物;(2)SP 培养条件较苛刻;(3)实验室不能及时处理送检标本影响检出等。

本院是综合性三级医院,本研究结果显示,2010—2015 年 SP 分离株数有一定上升,2010 年分离率最低(1.31%),其余几年为 1.97%~3.06%,与国内同级别规模的医院数据相似^[2-3]。虽然儿科在综合性医院所占床位数份额较少,仍有 27.88% 的菌株从 0~<12 岁患者中检出;59.86% 的菌株从 60 岁及以上的老年患者分离出,其中大于 70 岁老年患者为 43.99%。显示老年患者及幼儿^[4]为易感人群,且冬春季呈现分离高峰期的特点,因这两个年龄段人群免疫力均较低,在冬春季易发生呼吸道感染。SP 在鼻咽部有定植现象,数据也显示检出标本以呼吸道为主,高达 90% 以上。如何区分非

侵袭性菌株(主要是鼻咽部、痰标本分离株)引起感染和定植的问题,临床和微生物实验室需要注意几方面:(1)尽量留取合格的检验标本,革兰染色镜检见有白细胞吞噬或相关的阳性呈链状的球菌;(2)根据患者的临床表现及结合血液细胞指标、特征影像学检查,对判断感染和定植可有明确的作用;(3)由于 SP 培养阳性率低,也可通过检测 SP 的尿抗原快速确诊,其灵敏度可达 50%~80%,特异性为 90%^[5],故多种检测方法结合对诊断更准确,为临床治疗提供更有可靠的依据。另外对于侵袭性 SP 感染更应高度重视,如血流感染、脑脊液感染;其患者临床往往表现更高危象。

CLSI 推荐使用苯唑西林纸片扩散法或肉汤稀释法检测 SP 对青霉素的敏感性,判断标准分脑膜炎分离株及非脑膜炎分离株^[6]。本研究采用梅里埃半自动 ATB Express 微量肉汤稀释法,具有简便易行、结果易判读等优点,但存在一些不足:如青霉素、阿莫西林、头孢噻肟等 6 种抗菌药物的最低抑菌浓度(MIC)检测结果能准确区分敏感、中介、耐药菌株;而其他 5 种抗菌药物只能判读出敏感及非敏感菌株,是因为板条孔位设计有限,导致浓度稀释梯度不够,且未设置碳青霉烯类及噁唑烷酮类的抗菌药物检测^[7],对检测的准确性有一定限制。适当增加 Etest 法测定准确的 MIC 浓度是最佳的药敏方法,但是因为成本高,在基层医院不易开展。所以各实验室应结合自身的实际情况选择抗菌药物药敏试验方法。

目前针对 SP 感染,青霉素等 β -内酰胺类抗菌药物仍是经验治疗的首选药物。从本院数据来看,SP 对青霉素等 β -内酰胺类及其他几类抗菌药物仍保持较高的敏感性,在 70~90%左右,与 CHINET 耐药监测网及国内调查数据相近^[8-10],可以作为经验治疗药物选择。但青霉素中介的 SP(PISP)及耐青霉素的 SP(PRSP)有逐年上升的趋势,本院 PRSP 虽保持在较低水平,但 2015 年上升到 6.60%,对青霉素中介的 SP 有上升的趋势,2015 年达最高 22.60%,与国内有关研究数据相似^[8-10]。尤其对阿莫西林中介的 SP 前 4 年均未检出,从 2014 年开始检出,2015 年上升到 5.30%,应引起重视。青霉素、阿莫西林、复方磺胺甲噁唑等 3 种抗菌药物的敏感性与非敏感性的 χ^2 检验差异有统计学意义($P < 0.05$),可能与临床经验治疗选用抗菌药物习惯、SP 耐药机制有关。目前其耐药机制研究主要有以下几方面:(1)对青霉素类抗菌药物主要是青霉素结合蛋白 PBPS 的改变。(2)对红霉素类大环内酯类抗菌药物耐药机制涉及多个方面,包括靶位改变、主动外排系统和 rRNA 和(或)核糖体蛋白突变 3 种,其中靶位改变是主要的耐药机制,其耐药基因为 erm 基因,包括 ermA、ermB、ermC 和 ermTR^[11-13];携带不同的耐药基因导致的耐药表型会有不同,如某些基因型可诱导克林霉素耐药;且存在明显的地区差异。本院 SP 对四环素、复方磺胺甲噁唑、克林霉素、红霉素呈现高度的不敏感性,其中对红霉素类大环内酯类抗菌药物更是表现高度不敏感,与近年来国内的研究结果一致^[9-10],所以此类抗菌药物不应用于经验治疗 SP 感染^[12-13]。

随着对 SP 荚膜、细胞壁、蛋白等结构的研究,研制了多种疫苗:如多糖疫苗、结合疫苗、蛋白疫苗等品种,虽然各有优缺点^[14],有研究报道,接种 SP 疫苗是现今最有效、直接的预防手段,可成功减少 SP 疾病的发病率和相关血清型菌群的耐药性^[14-15]。所以对免疫功能较低的药物及老年人接种 SP 疫苗

对预防其感染及并发症发生有重要意义。

SP 是 CAP 的重要致病菌之一,随着抗菌药物的长期过度使用,对抗菌药物的耐药性有一定的上升趋势,故对 SP 的分离及耐药性情况等等进行流行病学监测,并且进行综合全面分析和解读对某个医院及地区的合理使用抗菌药物有积极的指导作用。

参考文献

- [1] 陈东科,孙长贵.实用临床微生物学检验与图谱[M].北京:人民卫生出版社,2011:208-210.
- [2] 闫少珍,孙自鏞,陈中举,等.2005~2014 年华南科技大学同济医学院附属同济医院细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(2):165-178.
- [3] 谢强,曹明杰,陈玲,等.安徽省滁州市第一人民医院 2014 年临床分离菌的细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(2):208-213.
- [4] 黄小翠,常莉,王泓,等.儿童肺炎链球菌感染的临床特征及药敏结果分析[J].检验医学与临床,2015,12(15):2142-2144.
- [5] 王辉,任健康,王明贵.临床微生物学检验[M].北京:人民卫生出版社,2015:387-389.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards For antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplements: M100-S23[S]. Wayne PA: CLSI, 2014: 80-84.
- [7] 肖亚雄,彭宇生,王鹏,等. ATB STREP 5 对肺炎链球菌药敏试验结果判读的缺陷性分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(7): 915-916, 918.
- [8] 赵春江,王辉,褚云卓,等. 2010 年中国 12 所教学医院革兰阳性球菌耐药性研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(2): 113-119.
- [9] 刘又宁,陈民钧,赵铁梅,等. 中国城市成人社区获得性肺炎 665 例病原学多中心调查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(1): 3-8.
- [10] 王传清,王爱敏,张泓,等. 2009 年中国 CHINET 链球菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(6): 426-429.
- [11] 赵铁梅,刘又宁. 肺炎链球菌对红霉素的耐药表型及耐药基因[J]. 中华内科杂志, 2004, 43(5): 329-332.
- [12] 陈蓉,赵根明. 肺炎链球菌对大环内酯类抗生素耐药的研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(3): 230-233.
- [13] 康悦,吴菊芳,徐晓刚,等. 成人耐大环内酯类抗生素肺炎链球菌的实验研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(1): 54-58.
- [14] 王丽婵,侯启明,张庶民. 肺炎链球菌致病因子及其疫苗的研究进展[J]. 中华微生物学系免疫学杂志, 2013, 33(6): 474-479.
- [15] 薛新娜,陈茶. 肺炎链球菌疫苗的研究进展[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 127-130.

(收稿日期:2016-09-01 修回日期:2016-11-19)