

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2013.05.014

• 实验研究 •

一所大型教学医院临床分离肺炎链球菌耐药性分析

陈伟, 刘文恩, 李艳明, 李虹玲, 简子娟, 李艳华, 彭婉婵, 谷秀梅

(中南大学湘雅医院, 湖南长沙 410008)

[摘要] 目的 了解一所大型教学医院临床分离的肺炎链球菌临床分布及耐药情况, 为临床合理使用抗菌药物, 预防和控制感染提供依据。方法 收集中南大学湘雅医院 2010 年 11 月—2012 年 11 月临床标本分离的肺炎链球菌 192 株, 均经全自动细菌鉴定仪鉴定。采用 K-B 法检测其对常用 14 种抗菌药物的敏感性, 琼脂稀释法检测青霉素的最低抑菌浓度(MIC)。结果 肺炎链球菌主要分离自儿科(36.98%), 标本主要为痰液(64.07%); 患者年龄呈双峰分布, 以 <5 岁和 >50 岁的感染者较多。肺炎链球菌对红霉素、氯霉素、四环素、克林霉素耐药率均 >80%。192 株肺炎链球菌青霉素 MIC 范围为 0.015~≥32.0 μg/mL, 其中 MIC₅₀ 为 2.0 μg/mL, MIC₉₀ 为 16.0 μg/mL。非侵袭性肺炎链球菌耐药性高于侵袭性肺炎链球菌。结论 该院肺炎链球菌耐药情况较为严重, 在临床上对肺炎链球菌的治疗应重视青霉素耐药菌株的出现。

[关键词] 肺炎链球菌; 抗药性; 微生物; 青霉素; 最低抑菌浓度; 合理用药

[中图分类号] R378.1⁺4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2013)05-0373-04

Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in a large teaching hospital

CHEN Wei, LIU Wen-en, LI Yan-ming, LI Hong-ling, Jian Zi-juan, LI Yan-hua, PENG Wan-chan, GU Xiu-mei (Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the characteristics of distribution and drug resistance of *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) in a large teaching hospital, and provide the basis for the rational use of antimicrobial agents in the clinic. **Methods** 192 clinical isolates of *S. pneumoniae* from Xiangya Hospital between November 2010 and November 2012 were identified by Vitek-2 system. Susceptibility of these isolates to 14 kinds of commonly used antimicrobial agents were determined by Kirby-Bauer method, the minimum inhibitory concentration (MIC) of *S. pneumoniae* to penicillin was determined by agar dilution method. **Results** *S. pneumoniae* were mainly from pediatric department (36.98%), sputum was main specimen (64.07%); patients' age showed bimodal distribution, mainly <5 and >50 years old. The resistance rates of *S. pneumoniae* to erythromycin, chloramphenicol, tetracycline, and clindamycin were all >80%. MIC range of penicillin to all *S. pneumoniae* was 0.015 - ≥32.0 μg/mL, MIC₅₀ and MIC₉₀ was 2.0 μg/mL and 16.0 μg/mL respectively. The resistance rates of non-invasive *S. pneumoniae* was higher than invasive one. **Conclusion** Antimicrobial resistance of *S. pneumoniae* in this hospital is serious, the emergence of penicillin-resistant *S. pneumoniae* should be paid attention during clinical treatment.

[Key words] *Streptococcus pneumoniae*; drug resistance, microbial; penicillin; minimum inhibitory concentration; rational drug use

[Chin Infect Control, 2013, 12(5): 373-376]

肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, SP) 广泛存在于自然界, 是临床最常见的条件致病菌之

[收稿日期] 2012-12-20

[作者简介] 陈伟(1987-), 女(汉族), 湖南省益阳市人, 研究生, 主要从事临床微生物检验研究。

[通讯作者] 刘文恩 E-mail: liuwenen@gmail.com

一,可引起肺炎、脑膜炎、菌血症等严重侵袭性疾病。SP 的主要危害对象为儿童和老年人,世界卫生组织(WHO)估计每年约有 160 万人死于 SP 引起的疾病;在发展中国家,每年约 80 万 < 5 岁的儿童死于 SP 感染^[1]。抗菌药物的应用和疫苗接种是治疗和预防 SP 感染的重要手段,但随着抗菌药物的广泛应用,SP 的耐药性日益增加,对磺胺类、四环素类、氯霉素耐药率普遍较高,甚至有耐氟喹诺酮类菌株出现。自 1967 年首次报道耐青霉素肺炎链球菌(penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, PRSP)以来,PRSP 发生率逐年提高,给临床抗感染治疗带来极大的挑战。不同地区不同医院因抗菌药物的选择压力不同,细菌耐药性存在明显差异,及时准确地掌握医院细菌耐药性的变迁,对指导临床合理应用抗菌药物及制订合理有效的防治策略具有十分重要的意义。现对中南大学湘雅医院 2010 年 11 月—2012 年 11 月临床分离的 192 株 SP 的分布及耐药性进行分析,以期为医院感染控制和临床合理使用抗菌药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集中南大学湘雅医院 2010 年 11 月—2012 年 11 月各类临床标本(痰、支气管灌洗液、全血、脑脊液、分泌物等)分离的 SP 192 株,均经全自动细菌鉴定仪鉴定,同一患者相同部位分离的同一病原菌取首次分离株。菌株置于无菌脱脂牛奶管中,于 -70℃ 保存。

1.2 仪器与试剂 青霉素 G(化学对照品)购自中国食品药品检定研究院,14 种药敏纸片均购自英国 OXOID 公司,M-H 琼脂为杭州天和微生物试剂公司产品,Vitek-2 全自动微生物分析仪为法国生物梅里埃公司生产。

1.3 细菌的分离、培养及鉴定 按《全国临床检验操作规程》(第 3 版)中常规方法进行细菌的分离培养,根据菌落形态(有草绿色溶血环、细小、灰色、表面光滑、呈脐窝状)、革兰染色、奥普托欣(Optochin)试验及触酶试验进行初选,再用 Vitek-2 全自动微生物分析系统 GP 鉴定卡进行鉴定。

1.4 药物敏感性试验 K-B 法检测 SP 对万古霉素、利奈唑胺、苯唑西林、氨苄西林、头孢曲松、环丙沙星、美罗培南、庆大霉素、氯霉素、红霉素、四环素、克林霉素、左氧氟沙星、氧氟沙星的敏感性,琼脂稀释法检测青霉素的最低抑菌浓度(MIC)。质控菌株

采用肺炎链球菌 ATCC 49619,购自卫生部临床检验中心。所有药敏结果均按美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2012 版标准^[2]进行判断,以敏感(S)、中介(I)和耐药(R)报告结果。

1.5 统计学处理 将患者资料及 14 种药物抑菌环直径输入 WHONET 5.4 及 SPSS 18.0 软件进行处理及分析。计数资料采用 χ^2 检验,比较两个独立样本间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SP 分布特点 分离的 SP 主要来自儿科、呼吸科、重症医学科及神经内科。标本主要为痰、支气管分泌物或灌洗液、血及脑脊液。患者的年龄呈双峰分布,以年龄 < 5 岁和 > 50 岁的感染者较多,分别占 31.77%、45.83%。其标本及科室分布见表 1~2。

表 1 192 株 SP 来源科室分布

Table 1 Department distribution of sources of 192 *S. pneumoniae* isolates

科室	菌株数	构成比(%)
儿科	71	36.98
呼吸内科	25	13.02
重症医学科	22	11.45
神经内科	16	8.33
心血管内科	13	6.77
心胸外科	13	6.77
神经外科	10	5.21
普通外科	6	3.13
感染病科	6	3.13
其他科	10	5.21
合计	192	100.00

表 2 192 株 SP 标本来源

Table 2 Specimen sources of 192 *S. pneumoniae* isolates

标本	菌株数	构成比(%)
痰液	123	64.07
支气管分泌物或灌洗液	26	13.54
血液	24	12.50
脑脊液	12	6.25
创面分泌物	3	1.56
脓肿穿刺液	2	1.04
胃引流液	1	0.52
眼分泌物	1	0.52
合计	192	100.00

2.2 SP 的耐药率 SP 对抗菌药物的耐药情况见表 3。SP 对红霉素、氯霉素、四环素、克林霉素耐药性非常严重,耐药率均 > 80%;对万古霉素、利奈唑

胺、环丙沙星、美罗培南、庆大霉素、左氧氟沙星、氧氟沙星的敏感性较高,均 > 80%。其中 103 株 (53.64%) SP 为青霉素不敏感株 (penicillin non-susceptible *Streptococcus pneumoniae*, PNSP)。青

霉素敏感 SP (penicillin susceptible *Streptococcus pneumoniae*, PSSP) 组与 PNSP 组对氨苄西林、头孢曲松、红霉素、氯霉素、四环素、克林霉素的耐药性比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3 192 株 SP 对抗菌药物的药敏情况

Table 3 Antimicrobial susceptibility test result of 192 *S. pneumoniae* isolates

抗菌药物	R		I		S	
	株数	%	株数	%	株数	%
万古霉素	8	4.17	0	0.00	184	95.83
利奈唑胺	5	2.60	0	0.00	187	97.40
苯唑西林	-	-	-	-	89	46.35*
氨苄西林	77	40.10	39	20.31	76	39.59
头孢曲松	56	29.17	45	23.44	91	47.39
左氧氟沙星	6	3.12	12	6.25	174	90.63
氧氟沙星	8	4.17	22	11.46	162	84.37
环丙沙星	13	6.77	22	11.46	157	81.78
美罗培南	5	2.60	33	17.19	154	80.21
庆大霉素	11	5.73	18	9.37	163	84.90
红霉素	165	85.94	7	3.64	20	10.42
氯霉素	154	80.21	22	11.46	16	8.33
四环素	156	81.25	21	10.94	15	7.81
克林霉素	168	87.50	14	7.29	10	5.21

*:按照 CLSI 2012 版标准,SP 对青霉素的药敏纸片法敏感性试验采用苯唑西林测试,抑菌圈直径 ≥ 20 mm 为敏感;对于青霉素不敏感 (耐药和中介)SP 需测定其 MIC

2.3 SP 对青霉素的耐药性 192 株 SP 青霉素 MIC 范围为 0.015 ~ ≥ 32.0 $\mu\text{g/mL}$,其中 MIC₅₀ 为 2.0 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 为 16.0 $\mu\text{g/mL}$ 。按照 CLSI 2012 年的耐药结果判断标准,12 株来自于脑脊液的 SP 对青霉素敏感率为 66.67%,耐药率为 33.33%;来源于其他标本的 180 株菌对青霉素敏感率为 69.23%,中介率为 8.89%,耐药率为 21.11%。SP 的 MIC 分布见表 4。

表 4 192 株 SP 青霉素 MIC 分布

Table 4 MIC of penicillin to 192 *S. pneumoniae* isolates

MIC 值($\mu\text{g/mL}$)	菌株数	构成比 (%)
≤ 0.015	3	1.56
0.031	6	3.12
0.062	21	10.94
0.125	11	5.73
0.25	10	5.21
0.5	27	14.06
1.0	7	3.65
2.0	53	27.60
4.0	16	8.33
8.0	15	7.81
16.0	13	6.77
≥ 32.0	10	5.21
合计	192	100.00

比较 本研究中侵袭性 SP (SP 侵入无菌部位如血液循环、脑脊液等)和非侵袭性 SP (细菌播散到鼻窦或吸入下呼吸道)分别为 43 株和 149 株,其中非侵袭性 SP 对万古霉素、环丙沙星、红霉素、氯霉素、四环素、克林霉素的耐药性显著高于侵袭性 SP ($P < 0.05$);对氨苄西林、头孢曲松、左氧氟沙星、氧氟沙星、美罗培南、庆大霉素等的耐药性,二者之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见表 5。

表 5 侵袭性与非侵袭性 SP 对抗菌药物的耐药率 (耐药株,%)

Table 5 Antimicrobial resistance of invasive and non-invasive *S. pneumoniae* (No. of drug-resistant isolates, %)

抗菌药物	侵袭性 SP (n = 43)	非侵袭性 SP (n = 149)
万古霉素	0(0.00)	8(5.37)
利奈唑胺	2(4.65)	3(2.01)
氨苄西林	15(34.88)	62(41.61)
头孢曲松	11(25.58)	45(30.20)
左氧氟沙星	1(2.33)	5(3.36)
氧氟沙星	3(6.98)	5(3.36)
环丙沙星	0(0.00)	13(8.72)
美罗培南	1(2.33)	4(2.68)
庆大霉素	2(4.65)	9(6.04)
红霉素	21(48.84)	144(96.64)
氯霉素	28(65.12)	126(84.56)
四环素	26(60.47)	130(87.25)
克林霉素	30(69.77)	138(92.62)

2.4 侵袭性和非侵袭性 SP 对抗菌药物的耐药率

3 讨论

本组资料显示,中南大学湘雅医院分离的 SP 主要来源于痰液(64.07%),其次是支气管分泌物或灌洗液(13.54%)、血液(12.50%)及脑脊液(6.25%);主要分布于儿科(36.98%)、呼吸内科(13.02%)、重症医学科(11.45%)及神经内科(8.33%);患者的年龄呈双峰分布,以年龄 <5 岁和 >50 岁的感染者较多,分别占 31.77%、45.83%,其原因可能为 SP 是上呼吸道定植菌,是一种条件致病菌,当人体免疫力低下时,可侵入支气管、肺,甚至穿越黏膜屏障进入血液,引起相应的临床症状,而且它可通过飞沫、分泌物传播,也可以在呼吸道自体转移。

随着抗菌药物的滥用,SP 的耐药性也逐年增强。SP 对青霉素等 β -内酰胺类抗生素的耐药机制主要由青霉素作用靶位青霉素结合蛋白(PBP)变异,导致与抗菌药物的亲和力下降所致^[2]。在检测的 14 种抗菌药物中,PNSP 的分离率高达 53.65%,高于朱旭慧等^[3]的报道,这可能与本院广谱抗菌药物的广泛应用有关,或者与地域差异有关。SP 对 β -内酰胺类抗生素的耐药性并不表现为同步性,如对青霉素耐药不一定对氨苄西林、头孢曲松耐药^[4]。本研究发现有万古霉素、利奈唑胺耐药株,国内虽未见报道,但国外 Sanaei 等^[5]报道 SP 中万古霉素耐药率为 1.5%,其具体的耐药机制还有待进一步研究,可能与质粒的传递有关(获得了 *VanA* 基因)或者是染色体上多位点渐进突变的结果,也可能是多个因素综合参与。本研究显示,SP 对红霉素耐药率达到 85.94%,略高于全国细菌耐药性监测网报道的 82.72%^[6],低于国外^[7]、国内^[8]有关报道,但其耐药性仍然很严重,所以大环内酯类药物已经不能作为本院 SP 的经验用药,应根据药敏试验结果加以选择。SP 对大环内酯类抗菌药物的耐药机制存在多种,如靶位改变、主动排外系统以及 24S rRNA 和(或)核糖体蛋白 L4 突变^[9]。本资料显示,SP 对克林霉素的耐药率高达 87.50%,可能是因为我国 SP 对红霉素的耐药主要是以 *ermB* 基因介导,而 *ermB* 基因对林可霉素类和链阳菌素类抗生素呈交叉耐药^[10]。从本研究中还可以看出,SP 对四环素和氯霉素的耐药率均在 80%以上,临床应严格根据药敏试验结果选择用药。

为进一步了解本院 SP 对青霉素的耐药水平,本研究采用微量肉汤稀释法检测青霉素的 MIC,以进行定量分析。结果发现 192 株 SP 青霉素 MIC 范围为 0.015~ ≥ 32.0 $\mu\text{g/mL}$,其中 MIC ≥ 32.0 $\mu\text{g/mL}$ 有 10 株(5.21%),MIC = 16.0 $\mu\text{g/mL}$ 有 13 株(6.77%),说明本院 SP 对青霉素存在高水平的耐药,应引起重视。MIC₅₀ 为 2.0 $\mu\text{g/mL}$,MIC₉₀ 为 16.0 $\mu\text{g/mL}$,比国内相关报道^[9]有较大幅度提高,提示 SP 对青霉素的耐药程度有加重的趋势,临床应合理用药。非侵袭性 SP 对万古霉素、环丙沙星、红霉素、氯霉素、四环素、克林霉素的耐药性显著高于侵袭性 SP($P<0.05$),临床应引起重视。

综上所述,中南大学湘雅医院 SP 主要分布于儿科与呼吸内科,以 <5 岁和 >50 岁的感染者较多,其耐药情况较为严重。临床上对 SP 的治疗应重视青霉素耐药菌株的出现,特别是药物 MIC 的测定,对指导临床科学、合理地用药提供帮助。

[参考文献]

- [1] O'Brien K L, Wolfson L J, Watt J P, et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates [J]. Lancet, 2009, 374(9693): 893-902.
- [2] 吴佳学. 青霉素敏感和耐药肺炎链球菌耐药性比较及基因型分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(3): 178-181.
- [3] 朱旭慧, 孙自镛, 刘彩林, 等. 2000-2009 年同济医院肺炎链球菌的耐药性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(1): 46-49.
- [4] 林雪峰, 周文斐, 江丹英, 等. 儿童肺炎链球菌对青霉素耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(9): 1881-1883.
- [5] Sanaei Dashti A, Abdinia B, Karimi A. Nasopharyngeal carrier rate of *Streptococcus pneumoniae* in children: serotype distribution and antimicrobial resistance [J]. Arch Iran Med, 2012, 15(8): 500-503.
- [6] 王进, 尚永红. Mohnar 在 2006 年-2007 年度报告: 革兰阳性菌耐药监测结果[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(10): 592-596.
- [7] Perez-Trallero E, Martin-Herrero J E, Mazon A, et al. Antimicrobial resistance among respiratory pathogens in Spain: latest data and changes over 11 years (1996-1997 to 2006-2007) [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(7): 2953-2959.
- [8] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2009 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(5): 325-334.
- [9] 徐丽慧, 王贤军, 王敏敏, 等. 肺炎链球菌介导大环内酯类及四环素双重耐药性相关元件的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(2): 215-217.
- [10] 朱兆生, 姚磊. 肺炎链球菌感染及耐药机制研究的新讨论[J]. 基础医学论坛, 2009, 13(3): 251-253.