·论　著·　DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.01.008

某院下呼吸道流感嗜血杆菌耐药分析*

王小龙,汪永强,袁平宗,张淑霞,黄作富,杨玉霖
(四川省内江市第二人民医院检验科　641000)

摘　要:目的　了解某院 2013－2016 年下呼吸道流感嗜血杆菌分离率与耐药率变迁,为下呼吸道感染的治疗提供参考。**方法**　收集下呼吸道感染病例临床资料及其痰液或肺泡灌洗液标本,27 578 份使用嗜血型巧克力培养基(CAH)进行病原菌分离培养,可疑菌落使用 VITEK 2 compact 系统鉴定,使用头孢硝噻吩纸片检测 β-内酰胺酶,药敏试验使用 ATB HAEMO 板条并根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)M100-S26 文件判读结果。**结果**　分离出流感嗜血杆菌 736 株,检出率为 2.7%(736/27 578),历年检出率有增高的趋势。≤7 岁儿童检出率为 4.5%(610/13 656),高于成年组[0.3%(33/9 551)]及老年组[2.1%(93/4 371)]($P<0.05$)。药敏结果显示 β-内酰胺酶检出率为 45.7%(336/736);氨苄西林、复方磺胺甲噁唑、头孢克诺及头孢呋辛敏感率低于 50%,对阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟、利福平、氧氟沙星、氯霉素和四环素的敏感率均高于 80%。**结论**　流感嗜血杆菌分离率逐年增高,≤7 岁儿童是流感嗜血杆菌的主要易感人群。常用的经验性抗菌药物出现不同程度的敏感性降低,产酶株分离率变化不大,儿童社区获得性肺炎经验性治疗可以选择阿莫西林/克拉维酸,但应根据药敏报告及时调整用药。

关键词:肺炎;　流感嗜血杆菌;　药物敏感试验

中图法分类号:R446.5　　**文献标志码:**A　　**文章编号:**1672-9455(2018)01-0027-04

Analysis of drug resistance of *Haemophilus influenzae* in lower respiratory of a hospital*

WANG Xiaolong,WANG Yongqiang,YUAN Pingzong,ZHANG Shuxia,HUANG Zuofu,YANG Yulin
(*Department of Laboratory,the Second People's Hospital of Neijiang,Neijiang,Sichuan* 641000,*China*)

Abstract:Objective　To investigate the changes of the isolation and drug-resistance rates of *Haemophilus influenzae* isolated from 2013 to 2016 in a hospital and provide clinical reference for the treatment of lower respiratory infection(LRI). **Methods**　The datum of cases were collected and their specimens from lower respiratory were cultured to isolate pathogen with chocolate agar for haemophilus(CAH). Suspicious colonies were identified with VITEK 2 compact system,β-lactamase was detected by nitrocefin slips and the antibiotic sensitivity tests(AST) were done with ATB HAEMO card,the results were interpreted according to CLSI M100S-26 file. **Results**　27 578 clinical data and samples were collected and 736 strains of *Haemophilus influenzae* were isolated. The detection rate was 2.7%(736/27 578) and the rate was increasing year by year. Detection rate of children under the age of 7 was 4.5%(610/13 656),it was high than adults(0.3%,33/9 551) and elders(2.1%,93/4 371)($P<0.05$). The positive rate of β-lactamase was 45.7%(336/736);The sensitive rates of the strains for ampicillin,trimethoprim/sulfamethoxazole,cefaclor and cefuroxime were all less than 50% while that for amoxicillin/clavulanic acid,cefotaxime,rifampicin,ofloxacin,chloramphenicol and tetracycline were all higher than 80%. **Conclusion**　The separation rate of *Haemophilus influenzae* is increasing year by year,and the main susceptible population is children under 7 years old. The sensitivities of commonly used antibiotic are decreasing in different degree,strains with β-lactamase remain stable. Amoxicillin/clavulanic acid can be empirical used for treatment of community acquired pneumonia(CAP) in children,but this must be adjusted according to the report of AST results.

Key words:pneumonia;　*Haemophilus influenzae*;　drug sensitivity test

流感嗜血杆菌是一种无动力的革兰阴性苛养菌,可定植于健康人体上呼吸道表层,致病力较弱,属于人体正常菌群的一部分,当机体免疫力低下时引起人类呼吸道机会性感染,是儿童肺炎、成人社区获得性

* **基金项目:**国际医学研究基金(亚洲区)临床微生物学专项基金项目(CNSC-J2011-A3300)。

作者简介:王小龙,男,主管技师,主要从事临床微生物感染及耐药机制研究。

呼吸道感染的常见病原菌,与卡他莫拉菌和肺炎链球菌并称为"社区获得性肺炎三大病原菌"[1]。除呼吸道感染以外,该菌也可引起血流感染、结膜炎及中耳炎等疾病[2]。本菌体外培养营养要求较高,需使用含有Ⅹ因子和Ⅴ因子的巧克力培养基并在5%～10%的 CO_2 环境中才能生长良好,在普通血平板等常规平板上不生长,但能围绕在金黄色葡萄球菌菌落周围生长而产生特殊的"卫星现象",可用于本菌的初步鉴定。从 20 世纪 70 年代以来,氨苄西林一直是抗流感嗜血杆菌感染的首选药物。但随着时间推移,像其他各种细菌一样,流感嗜血杆菌对氨苄西林及其他一些抗菌药物逐渐出现了耐药性,且耐药率不断上升[3]。本研究收集了某院 2013－2016 年于临床标本中分离到的 736 株流感嗜血杆菌的病例信息及药敏试验数据进行统计分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集四川省内江市第二人民医院 2013 年 1 月 1 日至 2016 年 12 月 31 日收治入院的下呼吸道感染患者病例资料。纳入标准:(1)出现脓痰或痰液性状改变。(2)肺部影像学显示渗出、阴影等改变。(3)咳嗽、呼吸窘迫等气道刺激表现。出现以上两种或两种以上表现者入选本研究,采集病例痰液标本或肺泡灌洗液标本进行病原微生物检测。共收集到符合条件病例资料 27 578 例,2013－2016 年分别收集到病例资料 6 814 例、7 186 例、6 657 例、6 921 例;男 17 122 例,女10 456例,男女比例 1.64∶1.00;年龄 1 d 至 98 岁,平均(33.8±22.5)岁;≤7 岁儿童 13 656 例,>7～60 岁 9 551 例,>60 岁4 371例。

1.2 方法

1.2.1 病原菌分离与初筛 肺泡灌洗液及质控合格的痰液标本接种于嗜血型巧克力培养基(CAH)上培养 18～24 h,气体条件为含 CO_2(5.0±0.1)%。根据流感嗜血杆菌标准菌株生长形态挑取光滑湿润似水滴状菌落进行"卫星试验",在血平板(BA)上菌落围绕金黄色葡萄球菌生长而在水解酪蛋白平板(MH)上不产生此现象则判定为疑似流感嗜血杆菌,其他生长情况视为非流感嗜血杆菌。以上平板均购自郑州安图,在有效期内使用。标准菌株为金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、流感嗜血杆菌(ATCC9007),均购自美国典型菌种保藏中心(ATCC)。

1.2.2 生化鉴定 挑取可疑菌落使用生理盐水调整浊度至 2.7～3.3 McF,使用梅里埃 VITEK 2 compact 鉴定仪、嗜血杆菌及布兰汉菌鉴定卡(NH)上机鉴定,按照标准操作规程及仪器使用说明书操作,鉴定结果为流感嗜血杆菌且概率大于 86%认为是流感嗜血杆菌,进行药敏试验。

1.2.3 药敏试验 所有流感嗜血杆菌菌株使用梅里埃 ATB-HAEMO 药敏测试板进行药敏试验,根据 CLSI M100S26 标准判读结果,使用头孢哨噻吩纸片(购自重庆庞通)检测菌株 β-内酰胺酶。该板条有 10 种抗菌药物可读取结果,分别为氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢呋辛、头孢克诺、头孢噻肟、利福平、氧氟沙星、氯霉素、四环素及复方磺胺甲噁唑。

1.3 统计学处理 使用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义;线性趋势分析采用 Armitage 趋势检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 流感嗜血杆菌检出率比较 分离到流感嗜血杆菌 736 株,检出率 2.7%(736/27 578)。2013－2016 年检出率分别为 1.8%(120/6 814)、2.3%(166/7 186)、2.9%(194/6 657)、3.7%(256/6 921),通过 Armitage 趋势检验,可以认为流感嗜血杆菌检出率有逐年增高的趋势($\chi^2=54.605$,$P<0.05$)。≤7 岁组分离到 610 株,检出率 4.5%(610/13 656),菌株构成比82.9%(610/736),其中≤1 岁儿童检出率达到 44.6%;>7～60 岁组分离率为 0.3%(33/9 551),菌株构成比为4.5%(33/736);>60 岁组分离率为2.1%(93/4 371),菌株构成比12.6%(93/736)。≤7 岁组的菌株分离率明显高于>7～60 岁组及>60 岁,且>60 岁组的分离率高于>7～60 岁组($P<0.01$)。男性患者共分离到 469 株流感嗜血杆菌,女性患者分离到 267 株,检出率分别为 2.7%(469/17 122)及2.6%(267/10 456),差异无统计学意义($\chi^2=0.861$,$P=0.353$)。见表 1。

表 1 流感嗜血杆菌在不同年龄人群的检出数(n)

年度	年龄(岁)							小计
	≤1	>1～3	>3～7	>7～16	>16～30	>30～60	>60	
2013 年	63	22	17	2	0	1	15	120
2014 年	78	45	16	1	0	5	21	166
2015 年	78	51	29	3	0	8	25	194
2016 年	109	66	36	0	2	11	32	256
合计	328	184	98	6	2	25	93	736

2.2 流感嗜血杆菌对抗菌药物的敏感率比较 本研究统计了流感嗜血杆菌对 10 种抗菌药物的敏感情况,对复方磺胺甲噁唑、氨苄西林和头孢克诺的敏感率较低,在 30%左右,且这 3 种药物敏感率差异无统计学意义($\chi^2=4.387$,$P=0.112$)。该菌对头孢呋辛敏感率不足 50%,对阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟、四环素、氧氟沙星的敏感率差异较小,均在 80%～90%,且阿莫西林/克拉维酸与头孢噻肟的敏感率差异无统计学意义($\chi^2=0.005$,$P=0.942$),二者用于治

疗时有效率相近;对氯霉素、利福平的敏感率高于 90%。见表 2。

2.3 β-内酰胺酶检测结果　使用显色头孢硝噻吩法检测出流感嗜血杆菌 β-内酰胺酶产酶率为 45.7%(336/736),其中 2013 年该菌 β-内酰胺酶产酶率为 40.8%(49/120),2014 年为 44.6%(74/166),2015 年为 45.4%(88/194),2016 年为 48.8%(125/256),2016 年相比 2013 年产酶株分离略有增加,但差异无统计学意义($\chi^2=2.101$,$P=0.147$);同时,对该菌历年产酶率通过 Armitage 线性趋势检验,$\chi^2=2.134$,$P>0.05$,流感嗜血杆菌 β-内酰胺酶产酶率没有随年份增加而增高的趋势,而是保持相对稳定的比率。

表 2　**流感嗜血杆菌对抗菌药物的敏感率比较[%(n)]**

抗菌药物	2013 年(n=120)	2014 年(n=166)	2015 年(n=194)	2016 年(n=256)	合计(n=736)
复方磺胺甲噁唑	27.5(33)	29.5(49)	29.4(57)	22.7(58)	26.8(197)
氨苄西林	30.8(37)	31.9(53)	29.4(57)	24.6(63)	28.5(210)
头孢克诺	38.3(46)	41.6(69)	30.4(59)	23.1(59)	31.7(233)
头孢呋辛	59.2(71)	61.4(102)	47.4(92)	36.7(94)	48.8(359)
阿莫西林/克拉维酸	80.8(97)	83.1(138)	87.1(169)	85.9(220)	84.8(624)
头孢噻肟	88.3(106)	88.1(146)	84.5(164)	81.6(209)	84.9(625)
四环素	93.3(112)	79.5(132)	91.2(177)	90.2(231)	88.6(652)
氧氟沙星	90.8(109)	89.1(148)	92.8(180)	86.7(222)	89.5(659)
氯霉素	92.5(111)	87.3(145)	92.8(180)	91.8(235)	91.1(671)
利福平	96.7(116)	98.2(163)	99.5(193)	97.3(249)	97.9(721)

3　讨　论

流感嗜血杆菌广泛寄居于人类上呼吸道中,常在免疫力低下的人群中引起感染,特别对儿童具有较强的致病能力,可引起急性支气管炎、肺炎、中耳炎等[2]。本研究显示本院≤1 岁儿童检出率达到 44.6%,≤7 岁儿童累积检出率达到82.9%,而>7～60 岁人群仅检出 4.5%,该菌对儿童及老年人的致病性较高,与国内外相关报道情况相似[2-3],有文献认为这可能与人群免疫状态有关[4]。另外,我国流感嗜血杆菌多分离自呼吸道感染标本,如痰液、肺泡灌洗液,少量分离自血液、生殖道及脓液[5],而发达国家多从脑膜炎患者血液、脑脊液标本中分离到该菌[4],国内外研究存在差异,原因值得进一步分析。

对于该菌的治疗,氨苄西林由于其高效低毒的特点一直是作为首选药物列于相关标准及指南中,然而到目前为止,该菌对氨苄西林的敏感率不断下降,从 10 年前的接近 70%到目前的不足 60%,这其中即有产 β-内酰胺酶的原因,也有青霉素结合蛋白表达异常的原因[6-7]。不仅如此,随着抗菌药物使用越来越广泛,流感嗜血杆菌对其他常用抗菌药物如复方磺胺类、头孢类抗菌药物也产生了耐药性。研究表明流感嗜血杆菌的耐药机制非常复杂,可通过多种方式对多种抗菌药物产生耐药,如质子介导、外排泵等[8]。本研究发现,该院近 4 年中流感嗜血杆菌对常用药物的敏感率均呈下降趋势,对氨苄西林和复方磺胺甲噁唑的敏感率均在 30%左右,可以认为这两种药物已经不适用于临床经验性治疗。较为常用的第 1、2 代头孢耐药率均在 50%左右,其应用价值也逐年降低。有学者认为这种情况的产生与这些类别的抗菌药物易于获得而容易滥用有关[9]。流感嗜血杆菌对第 3 代头孢、氧氟沙星、氯霉素、四环素及利福平敏感率较高,但因其对儿童有不良反应而临床应用受限,同时,阿莫西林/克拉维酸显示出高效低毒的优势,这一点目前已被我国儿科感染性疾病专家所认可,目前已被推荐为治疗儿童呼吸道感染的道选药物。产 β-内酰胺酶是流感嗜血杆菌主要耐药机制,产酶株不仅对氨苄西林、阿莫西林显示耐药性,而且对其他 β-内酰胺类抗菌药物敏感率也较低[9]。相关文献分析显示,目前该菌在国内对氨苄西林和复方磺胺甲噁唑的耐药率均排列前两位,而对四环素、利福平等抗菌药物耐药率均较低[10-11],说明流感嗜血杆菌耐药率的提高并不只存在于某一地区或某一医院,而是一个全国性的普遍问题。细菌耐药性的产生是一个复杂的多方面因素综合形成的结果,抗菌药物的使用频率、时间及剂量均可能与耐药率的提高有关。

目前一般认为细菌耐药率的提高主要是由于抗菌药物的不规范使用,治疗细菌感染均应该获得病原菌药敏试验数据的支持,减缓细菌耐药性的发展关键在于规范抗菌药物的使用。

参考文献

[1] 王颖童.河北省健康人群脑膜炎奈瑟菌、(下转第 33 页)

treatment on the alpha-synuclein content in serum exosomes of Parkinson's disease patients[J]. Exp Ther Med, 2016,12(3):1373-1376.

[5] CHUNG S J,KIM J M,KIM J W,et al. Switch from oral pramipexole or ropinirole to rotigotine transdermal system in advanced Parkinson's disease:an open-label study [J]. Expert Opin Pharmacother,2015,16(7):961-970.

[6] 马丽华.帕金森病的诊断[J].国外医学(护理学分册), 2004,23(11):505-507.

[7] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组.中国帕金森病治疗指南:第二版[J].中华神经科杂志, 2009,42(5):352-355.

[8] 洪雁.帕金森病常用评分量表[J].中国现代神经疾病杂志,2002,2(5):277-277.

[9] ZHANG H,GU Z Q,SUN L,et al. Clinical manifestation of parkinson's disease in association with rapid eye movement sleep behavior disorder onset[J]. Eur Neurol,2016, 76(3/4):154-160.

[10] ELBAZ A. Prodromal symptoms of Parkinson's disease: Implications for epidemiological studies of disease etiology[J]. Rev Neurol(Paris),2016,172(8/9):503-511.

[11] AMOSOVA N A,SMOLENTSEVA I G,GUSEINOVA P M,et al. Sleep disorders in the early stage of Parkinson's disease in untreated patients[J]. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova,2016,116(6):77-81.

[12] GARLOVSKY J K,OVERTON P G,SIMPSON J. Psychological predictors of anxiety and depression in parkinson's disease:a systematic review[J]. J Clin Psychol, 2016,72(10):979-998.

[13] TROEUNG L,GASSON N,EGAN S J. Patterns and predictors of mental health service utilization in People with parkinson's disease[J]. J Geriatr Psychiatry Neurol, 2015,28(1):12-18.

[14] FERREIRA T,PRABHAKAR S,KHARBANDA P S. Sleep disturbances in drug naive Parkinson's disease(PD) patients and effect of levodopa on sleep[J]. Ann Indian Acad Neurol,2014,17(4):416-419.

[15] FRAMPTON J E. Pramipexole Extended-Release:A review of its use in patients with parkinson's disease[J]. Drugs,2014,74(18):2175-2190.

[16] BELOUSOV D,AFANASIEVA E. Cost-Effectiveness analysis of pramipexole extended release monotherapy in early parkinson's disease[J]. Value Health,2015,18(7): A757-A761.

[17] SILINDIR M,OZER A Y. The benefits of pramipexole selection in the treatment of Parkinson's disease[J]. Neurological Sciences,2014,35(10):1505-1511.

[18] 吴桂英,师聪红.普拉克索治疗帕金森病的疗效分析[J].中国医药导报,2011,8(7):73-74.

(收稿日期:2017-07-29　修回日期:2017-10-09)

(上接第29页)

流感嗜血杆菌、肺炎链球菌带菌情况调查研究[D].北京:中国疾病预防控制中心,2013.

[2] TORUN M M,TOKMAN H B,DEMIRCI M,et al. *Haemophilus influenzae* infections with abscess formation in adults:a retrospective study covering an eleven-year period[J]. Clin Lab,2015,61(7):845-849.

[3] 乔海霞,张彦霞,常月立,等.儿童呼吸道流感嗜血杆菌感染128例流行特征分析[J].中国实用儿科杂志,2013,28(11):845-847.

[4] WHITTAKER R,ECONOMOPOULOU A,DIAS J G,et al. Epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* diaease,Europe,2007-2014[J]. Emerg Infect Dis,2017,23(3):396-404.

[5] 吴敏,徐浩.流感嗜血杆菌致老年社区获得性肺炎的危险因素与耐药状况分析[J].中国卫生检验杂志,2016,26(24):3636-3638.

[6] GIUFRE M,DAPRAI L,CARDINES R,et al. Carriage of *Haemophilus influenzae*. in the oropharynx of young children and molecular epidemiology of the isolates after fifteen years of H. influenzae type b vaccination in Italy [J]. Vaccine,2015,33(46):6227-6234.

[7] SHIRO H,SATO Y,TOYONAGA Y,et al. Nationwide survey of the development of drug resistance in the pediatric field in 2000-2001,2004,2007,2010,and 2012:Evaluation of the changes in drug sensitivity of *Haemophilus influenzae* and patients' background factors[J]. J Infect Chem other,2015,21(4):247-256.

[8] LAM T T,CLAUS H,ELIAS J,et al. Ampicillin resistance of invasive *Haemophilus influenzae* isolates in Germany 2009-2012[J]. Int J Med Microbiol,2015,5(7):748-755.

[9] 王海磊,马娜,娄春艳.儿科患者感染流感嗜血杆菌耐药基因检测及耐药性分析[J].中国病原生物学杂志,2015,10(11):1031-1034.

[10] 牛翠,张辉,杨启文,等.2008-2011年北京协和医院流感嗜血杆菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2013,13(6):476-480.

[11] 孙燕,孔菁,张泓,等.2005－2014年CHINET流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(2):153-159.

[12] 陈淑娟,李国铀,林丽容.流感嗜血杆菌的分布及耐药性分析[J].中国实用医药,2014,9(29):190-191.

(收稿日期:2017-07-20　修回日期:2017-09-14)