

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.12.015

2018 年铜川地区儿童嗜血杆菌耐药监测分析

任亚文,张甲龙,贺 蕾,张碧莹,张 娜[△]

铜川市人民医院检验科,陕西铜川 727000

摘要:目的 监测铜川地区儿童嗜血杆菌的耐药情况,为儿科嗜血杆菌感染患儿合理使用抗菌药物提供科学依据。方法 收集该院 2018 年 1 月 1 日至 12 月 31 日儿科住院患儿送检的合格痰样本并分离得到 114 株嗜血杆菌,采用纸片扩散法测定其抗菌药物抑菌圈直径,参照相关标准判定该细菌对抗菌药物的敏感率、耐药率,统计分析其耐药特点、年龄分布及生物学分型等。结果 铜川地区流感嗜血杆菌生物学流行株主要为 II 型(32.00%)和 III 型(30.00%),副流感嗜血杆菌生物学流行株以 III 型(38.46%)为主。流感嗜血杆菌与副流感嗜血杆菌对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢呋辛、阿奇霉素和复方磺胺甲噁唑敏感率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 该地区嗜血杆菌耐药情况在儿童中颇为严重,应根据药敏试验结果合理使用抗菌药物。

关键词:儿童; 嗜血杆菌; 耐药

中图分类号:R725.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)12-1717-03

Monitoring and analysis of drug resistance of haemophilus in children in Tongchuan area in 2018REN Yawen, ZHANG Jialong, HE Lei, ZHANG Biying, ZHANG Na[△]Department of Clinical Laboratory, Tongchuan People's Hospital,
Tongchuan, Shaanxi 727000, China

Abstract: Objective To monitor the drug resistance of haemophilus in children in Tongchuan area, and to provide scientific basis for rational use of antibiotics in pediatric patients with haemophilus infection. **Methods** The sputum samples of pediatric inpatients from January 1 to December 31, 2018 were collected and 114 strains of haemophilus were isolated. The diameters of antibacterial zone were determined by paper diffusion method. The susceptibility rate and resistance rate of the bacteria to antimicrobial agents were determined according to relevant standards, and the characteristics of antimicrobial resistance, age distribution and biological classification were statistically analyzed. **Results** The main biological epidemic strains of haemophilus influenzae in Tongchuan area were II type (32.00%) and III type (30.00%), and the main biological epidemic strains of haemophilus parainfluenzae were III type (38.46%). There was statistical significance in the sensitivity of haemophilus influenzae and haemophilus parainfluenzae to ampicillin, amoxicillin/clavulanate, cefuroxime, azithromycin and sulfamethoxazole ($P < 0.05$). **Conclusion** The drug resistance of haemophilus is very serious in children in this area, and antibiotics should be used rationally according to the results of drug sensitivity test.

Key words: children; haemophilus; drug resistance

嗜血杆菌是儿童呼吸道感染的常见病原菌,其中流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌居多。流感嗜血杆菌是一种机会致病菌,可引起多种感染,包括中耳炎、会厌炎、鼻窦炎和肺炎^[1-2]。流感嗜血杆菌的传播主要通过直接接触携带者的呼吸道飞沫。新生儿可能会因吸入羊水或接触含有活菌的生殖道分泌物而感染^[3-4]。如果未能及时有效治疗,流感嗜血杆菌感染可能会危及生命,例如引起菌血症和脑膜炎^[5]。副流感嗜血杆菌为呼吸道正常菌群,但是人体免疫力下降时可能引起急慢性呼吸道感染或其他疾病。青霉素类、头孢菌素类及大环内酯类抗菌药物是治疗儿童呼吸道感染的主要经验性用药,近年来,随着临床抗菌药物广泛应用,嗜血杆菌的耐药菌株不断增多,给临

床治疗带来很大困难^[6-7]。本研究旨在收集 2018 年临床住院患儿中分离的 114 株嗜血杆菌进行调查研究,以期临床合理应用抗菌药物提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 临床住院患儿(0~14 岁)送检的合格痰液样本,对其进行涂片镜检,每个低倍镜视野内鳞状上皮细胞少于 10 个,白细胞多于 25 个,视为合格痰液样本。选取 114 株嗜血杆菌分离自 2018 年 1 月 1 日至 12 月 31 日儿科住院患儿的合格痰液样本。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 培养基来源 嗜血杆菌巧克力平皿(用于分离)购自郑州安图公司,药敏 HTM 培养基购自温州康泰公司。

作者简介:任亚文,男,主管技师,主要从事临床微生物检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: 563149514@qq.com。

本文引用格式:任亚文,张甲龙,贺蕾,等. 2018 年铜川地区儿童嗜血杆菌耐药监测分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(12): 1717-1719.

1.2.2 鉴定和药敏纸片 鉴定用 Vitek2 Compact 及配套 NH(VITEK 2 NH Test Card, NH) 奈瑟菌/嗜血杆菌鉴定卡。用于测定 β-内酰胺酶检测的头孢硝噻吩试剂和药敏试验选用的 12 种抗菌药物纸片：氨苄西林(10 μg)、阿莫西林/克拉维酸(20/10 μg)、阿奇霉素(15 μg)、头孢曲松(30 μg)、亚胺培南(10 μg)、哌拉西林/他唑巴坦(100/10 μg)、美罗培南(10 μg)、头孢呋辛(30 μg)、复方磺胺甲噁唑(25 μg)、头孢噻肟(30 μg)、头孢他啶(30 μg)、左氧氟沙星(5 μg) 购自温州康泰公司。血清学分型所用生化管购自温州康泰公司。

1.3 方法

1.3.1 细菌培养及鉴定 按照《全国临床检验操作规程(4 版)》^[8] 进行操作,将各种以划线分离法接种于嗜血杆菌巧克力平皿,孵箱(5% CO₂, 35 °C)培养 18~24 h。自嗜血杆菌巧克力平皿挑取呈无色、透明、表面光滑、边缘整齐、似露滴状的湿润可疑菌落,

进行革兰染色,分纯后菌落配 3.0 麦氏浊度菌液上 NH 卡鉴定,根据鉴定结果选取流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌,并接种蔗糖、木糖和甘露糖生化管进行血清学分型,35 °C 孵育 24 h。

1.3.2 药敏试验 根据美国临床和实验室标准化协会《抗微生物药物敏感试验执行标准》进行药敏试验和结果判定,温州康泰公司的标准菌株 ATCC49247 为质控菌株,使用纸片扩散法对 12 种抗菌药物进行药敏试验。β-内酰胺酶测定用头孢硝噻吩纸片^[9],根据试剂说明书进行检测,并判断阴阳性。10 min 内变红表示 β-内酰胺酶阳性,不变色表示其为阴性。β-内酰胺酶测定阳性质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213,阴性质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.3.3 嗜血杆菌生物学分型结果判断标准 流感嗜血杆菌根据吲哚、脲酶试验及鸟氨酸脱羧酶试验,分为 8 个生物分型,见表 1。

表 1 嗜血杆菌生物学分型结果判断标准

项目	流感嗜血杆菌								副流感嗜血杆菌							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
吲哚	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
鸟氨酸脱羧酶	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-
脲酶	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-

1.4 统计学处理 采用 WHONET 5.6 分别统计流感与副流感嗜血杆菌菌株耐药性情况,采用 SPSS 22.0 软件统计分析不同年龄段患者之间耐药率, P < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同年龄段患者菌株分离情况 本地区流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、埃及嗜血杆菌分离情况见表 2。

表 2 不同年龄段患者菌株分离情况(n)

年龄	n	流感嗜血杆菌	副流感嗜血杆菌	埃及嗜血杆菌
0~<1 岁	49	26	22	1
1~<3 岁	43	24	18	1
3~≤14 岁	22	13	9	0

2.2 菌株的生物学分型 铜川地区流感嗜血杆菌生物学流行株主要为 II 型(32.00%)和 III 型(30.00%),副流感嗜血杆菌生物学流行株以 III 型(38.46%)为主。见表 3。

表 3 嗜血杆菌生物学分型(%)

项目	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
流感嗜血杆菌	0.00	32.00	30.00	12.00	0.00	4.00	16.00	6.00
副流感嗜血杆菌	2.56	15.38	38.46	2.56	7.69	0.00	17.95	15.38

2.3 药敏情况比较 流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌对左氧氟沙星、美罗培南、亚胺培南和哌拉西林/他唑巴坦这 4 种抗菌药物敏感率均较高,未检测出耐药菌株。流感嗜血杆菌与副流感嗜血杆菌对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢呋辛、阿奇霉素和复方磺胺甲噁唑敏感率比较,差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 4。经过头孢硝噻吩纸片试验,β-内酰胺酶阳性株 78 株,占比 68.42%,阴性 36 株中,氨苄西林耐药 6 株,占比为 16.67%。

表 4 流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌对抗菌药物的耐药情况(%)

抗菌药物	流感嗜血杆菌 (n=63 株)		副流感嗜血杆菌 (n=49 株)	
	耐药率	敏感率	耐药率	敏感率
氨苄西林	68.06	8.06	73.17	8.94
头孢噻肟	2.11	97.89	0.85	99.15
阿莫西林/克拉维酸	32.39	67.61	38.14	61.86
头孢呋辛	31.21	53.90	24.17	65.83
复方磺胺甲噁唑	69.85	24.26	66.67	25.00
头孢曲松	2.38	97.62	0.00	100.00
左氧氟沙星	0.00	100.00	0.00	100.00
美罗培南	0.00	100.00	0.00	100.00
阿奇霉素	14.29	85.71	16.96	83.04

续表 4 流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌对抗菌药物的耐药情况(%)

抗菌药物	流感嗜血杆菌 (n=63 株)		副流感嗜血杆菌 (n=49 株)	
	耐药率	敏感率	耐药率	敏感率
亚胺培南	0.00	100.00	0.00	100.00
哌拉西林/他唑巴坦	0.00	100.00	0.00	100.00
头孢他啶	3.26	96.74	3.26	96.74

3 讨 论

本研究结果显示,嗜血杆菌感染主要为 0~<1 岁患儿,这与孙曹玮^[10]和文献^[11]报道结果相符。流感嗜血杆菌是引起婴幼儿呼吸系统感染的常见病原菌之一,并在健康婴幼儿鼻咽部具有较高的定植率。免疫系统发育尚未健全,是婴幼儿流感嗜血杆菌感染率高的原因之一^[12]。

本研究发现,2018 年铜川地区流感嗜血杆菌菌株生物学分型以 II 型(32.00%)和 III 型(30.00%)为主,这与胡俊等^[13]报道结果不同,提示其可能存在地区间差异性。副流感嗜血杆菌菌株生物学分型以 III 型为主,这与文献^[11]报道结果不同。这提示不同地区之间嗜血杆菌流行株不同。迄今为止,流感嗜血杆菌生物学分型与其毒力和耐药的关系尚不十分清楚,尚待进一步研究。氨苄西林作为治疗嗜血杆菌感染的首选药物,随着使用的增加,该菌对其的耐药率也逐年上升^[14]。本研究中流感嗜血杆菌对氨苄西林的耐药率为 68.06%,低于温晓峥等^[15]报道结果,但明显高于孙燕等^[16]报道结果。副流感嗜血杆菌对氨苄西林的耐药率为 73.17%。

本研究发现,嗜血杆菌对氨苄西林耐药率和 β-内酰胺酶阳性率均超过 50.00%,说明本院嗜血杆菌对氨苄西林的耐药机制主要以产 β-内酰胺酶为主。另外,本研究中 114 株嗜血杆菌中 β-内酰胺酶阴性嗜血杆菌对氨苄西林耐药占 16.67%,高于秦惠宏等^[17]报道结果,可能是青霉素结合蛋白结构发生改变,导致其对氨苄西林的亲和力下降及外膜蛋白发生改变^[18]。

综上所述,目前产 β-内酰胺酶的嗜血杆菌分离株占比较高,表明氨苄西林已不能作为临床一线药物,而且儿童感染的嗜血杆菌对常用抗菌药物的耐药性已十分严重。因此,对嗜血杆菌的耐药性进行监测从而指导临床合理使用抗菌药物具有重要意义。但是,本次研究样本量偏小,来源单一,且抗菌药物与菌种的匹配度亦有待完善,故上述结论尚有待大样本、多中心的前瞻性研究来予以验证。

参考文献

[1] 胡亚美,江载芳,申昆玲,等. 诸福棠实用儿科学[M]. 北

京:人民卫生出版社,2015.

[2] TSANG R S W,ULANOVA M. The changing epidemiology of invasive Haemophilus influenzae disease: emergence and global presence of serotype a strains that may require a new vaccine for control[J]. Vaccine, 2017, 35(33):4270-4275.

[3] 丁燕玲,谭丽丽,徐少林,等. 柳州地区儿童感染流感嗜血杆菌及肺炎链球菌的情况分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(14):3185-3187.

[4] WEN S,FENG D,CHEN D, et al. Molecular epidemiology and evolution of Haemophilus influenzae[J]. Infect Genet Evol, 2020, 80(1):104205.

[5] BUTLER D F,MYERS A L. Changing epidemiology of Haemophilus influenzae in children[J]. Infect Dis Clin North Am, 2018, 32(1):119-128.

[6] SU P Y,HUANG A H,LAI C H, et al. Extensively drug-resistant Haemophilus influenzae-emergence, epidemiology, risk factors, and regimen[J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1):102.

[7] YANADA S,SEYAMA S,WAJIMA T, et al. β-Lactamase-non-producing ampicillin-resistant Haemophilus influenzae is acquiring multidrug resistance[J]. J Infect Public Health, 2020, 13(4):497-501.

[8] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2014.

[9] 周庭银,章强强. 临床微生物学诊断与图解[M]. 上海:上海科学技术出版社,2017.

[10] 孙曹玮. 儿童流感嗜血杆菌分布特点及耐药性研究[J]. 中国疗养医学, 2020, 29(1):53-55.

[11] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2014 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5):401-410.

[12] 王爱华. 流感嗜血杆菌感染与耐药[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 13(4):256-258.

[13] 胡俊,王晓蕾,许峰,等. 流感嗜血杆菌阳性住院患儿回顾性流行病学调查[J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(6):596-601.

[14] 刘华伟,王晓蕾,郭元彪,等. 成都地区成人下呼吸道感染嗜血杆菌感染的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 11(11):865-870.

[15] 温晓峥,苏惠婷,崔亚利. 2014—2019 年我院儿童患者临床分离病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国药房, 2020, 31(6):724-728.

[16] 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.

[17] 秦惠宏,王春,潘芬,等. 儿童分离流感嗜血杆菌的耐药性及 β-内酰胺酶基因分型术[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(1):48-50.

[18] 张韬,倪孟祥,邵雷,等. β-内酰胺抗生素作用机制的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(10):785-790.