

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.05.026

肺炎链球菌的不同形态观察及临床药敏分析

麦婉湘, 文宏宇, 黄亚薇

广西壮族自治区桂林市中医医院检验科, 广西桂林 541002

摘要:目的 分析肺炎链球菌的非黏液型和黏液型菌落形态、标本类型、临床分布和耐药状况, 以加强对肺炎链球菌不同菌落形态的认识, 提高检出率, 并为临床合理用药提供经验和数据。方法 对 2019—2020 年该院住院及门诊患者的临床标本进行培养分离, 使用奥普托欣试验、胆汁溶菌试验和珠海迪尔生物工程有限公司 DL-96STREP 试剂板鉴定出 93 株肺炎链球菌, 观察其形态特点及临床分布, 并进行药敏试验, 用 WHONET 5.6 软件分析药敏数据。结果 93 株临床标本分离出的肺炎链球菌标本类型以痰液为主, 占 93.5%; 病例以儿童和老年人为主, 儿童占 67.7%, 老年人占 21.5%; 临床分布以儿科(65.6%)、心肺病科(9.7%)为主; 非黏液型菌落占 95.7%, 黏液型菌落占 4.3%; 黏液型菌落均分离自儿童痰液标本, 在同期 61 例儿童标本中占 6.6%; 红霉素、克林霉素、四环素耐药率 > 90%, 复方磺胺甲噁唑、头孢呋辛耐药率 > 60%, 青霉素、头孢曲松、利福平耐药率 < 10%, 阿莫西林/克拉维酸、左氧氟沙星、美罗培南耐药率 < 5%, 未检出利奈唑胺、万古霉素耐药菌株。结论 肺炎链球菌引起的感染多见于老年人和儿童的呼吸道感染, 菌落形态以非黏液型多见, 但黏液型仍有一定的检出率, 黏液型肺炎链球菌在儿童病例中的分离率和对抗菌药物的耐药率值得关注。

关键词:肺炎链球菌; 非黏液型; 黏液型; 药敏分析

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)05-0673-04

肺炎链球菌可作为定植菌定植于鼻咽部, 也可引起感染, 人类是其唯一宿主, 通过人的飞沫和呼吸道分泌物传播, 可引起败血症、脑膜炎、肺炎、中耳炎等。据世界卫生组织报道, 肺炎链球菌每年大约造成 160 万人死亡, 以发展中国家占多数, 2018 年的研究数据显示, 全球因为感染肺炎链球菌而死亡的 < 5 岁的儿童有 29.4 万名^[1], 且中国儿童肺炎链球菌感染呈增加趋势^[2]。抗菌药物仍是治疗肺炎链球菌感染的主要手段, 青霉素为肺炎链球菌经验治疗的首选药物, 但随着广谱抗菌药物的广泛使用, 肺炎链球菌的耐药率不断上升, 加强对抗菌药物耐药率的监测, 及时发现耐药率的改变, 熟悉本地区该菌的药敏特点对临床诊疗和合理应用抗菌药物有重大意义。本文从临床病例分离出的肺炎链球菌的菌落形态特点、临床分布、耐药率等方面进行回顾性分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2019—2020 年本院住院及门诊病例的临床标本(包括痰液、血液、肺泡灌洗液、脓液、分泌物等)进行常规分离培养, 剔除同一患者同一部位重复分离株, 共 93 株肺炎链球菌纳入分析。

1.2 仪器与试剂 血琼脂平板(郑州安图生物工程有限公司), 奥普托欣(Optochin)药敏纸片(温州市康泰生物科技有限公司), 10% 去氧胆酸钠溶液(杭州天和微生物试剂有限公司), DL-96STREP 试剂板(珠海迪尔生物工程有限公司), 肺炎链球菌质控菌株

ATCC49619(国家临床检验中心)。

1.3 方法 各类标本严格按临床检验操作规程进行常规分离培养, 其中, 痰液标本需直接涂片进行质量评估, 白细胞 > 25 个/每低倍视野、鳞状上皮细胞 < 10 个/每低倍视野为合格痰液, 直接涂片镜下呈革兰阳性球菌, 矛头状相对, 与白细胞伴行、聚集或者被白细胞吞噬的标本需作为有效信息记录下来, 接种培养后, 选择可疑菌落(痰液标本需结合涂片信息情况)做 Optochin 试验、胆汁溶菌试验和珠海迪尔生物工程有限公司 DL-96STREP 试剂板的鉴定和药敏试验, Optochin 试验敏感、胆汁溶菌试验阳性且 DL-96STREP 试剂板鉴定为肺炎链球菌的菌株共计 93 株, 药敏结果判定使用美国临床和实验室标准协会 CLSI2019 标准。

1.4 统计学处理 采用 WHOET5.6 软件对数据进行统计分析, 计数资料以例数或百分率表示。

2 结果

2.1 性别年龄分布 男性多于女性, 男性 58 例(62.4%), 女性 35 例(37.6%); 以老年人和儿童为主, 老年人和儿童总体占 89.2%, 60 岁以上老人 20 例(21.5%), 14 岁以下儿童 63 例(67.7%), 其中 4 岁以下的婴幼儿 53 例, 占同期儿童病例的 84.1%。

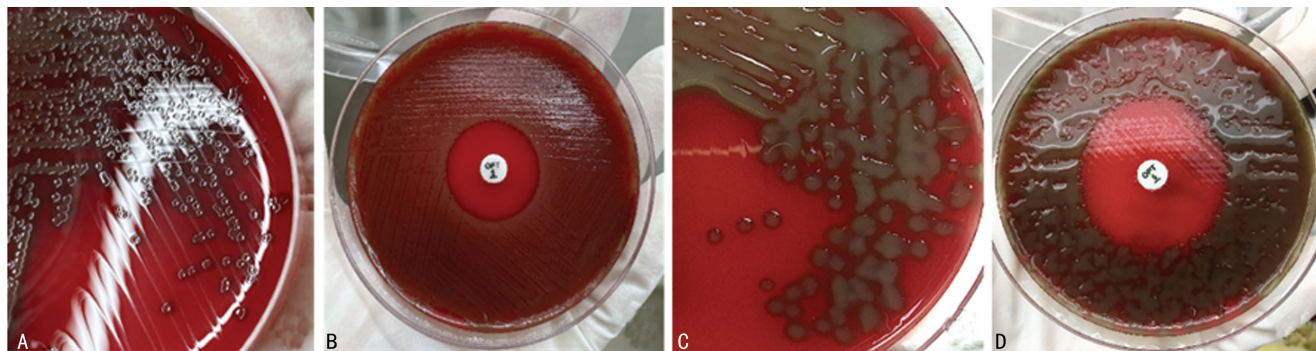
2.2 标本类型分布 93 株肺炎链球菌中, 痰液占 93.5%, 血液占 3.2%, 肺泡灌洗液、耳分泌物、脓液各占 1.1%, 见表 1。

2.3 形态观察 93 株肺炎链球菌中,非黏液型菌落 89 株,占 95.7%,黏液型菌落 4 株,占 4.3%,均分离自儿童痰液标本。分离出该菌的痰液标本原始涂片镜下可见肺炎链球菌呈现矛头状,有荚膜,引起感染状态下与白细胞呈现吞噬或伴行的相关性。在血平板上,有两种不同的菌落形态,常见形态为非黏液型,呈中央凹陷似“脐窝”状,草绿色溶血,边缘整齐;黏液

型不常见,仍有草绿色溶血,呈水状,圆形或边缘融合。两种形态菌落 Optochin 试验均为敏感,见图 1。

表 1 93 株肺炎链球菌的标本类型分布

标本种类	数量(n)	构成比(%)	标本种类	数量(n)	构成比(%)
痰液	87	93.5	耳分泌物	1	1.1
血液	3	3.2	脓液	1	1.1
肺泡灌洗液	1	1.1			



注:A 为非黏液型菌落,呈中央凹陷状;B 为非黏液型菌落 Optochin 试验敏感;C 为黏液型菌落;D 为黏液型菌落 Optochin 试验敏感。

图 1 肺炎链球菌在血平板上不同的菌落形态及 Optochin 试验

2.4 菌株科室分布 93 株肺炎链球菌中,以儿科(65.6%)和心肺病科(9.7%)为主,急诊科占 5.4%,康复医学科、脑病科、脾胃病科各占 3.2%,肾病科、重症医学科、门诊各占 2.2%,内分泌科、创伤科、外科各占 1.1%,见表 2。

表 2 93 株肺炎链球菌的临床科室分布

科室	数量(n)	构成比(%)	科室	数量(n)	构成比(%)
儿科	61	65.6	肾病科	2	2.2
心肺病科	9	9.7	重症医学科	2	2.2
急诊科	5	5.4	门诊	2	2.2
康复医学科	3	3.2	内分泌科	1	1.1
脑病科	3	3.2	创伤科	1	1.1
脾胃病科	3	3.2	外科	1	1.1

2.5 药敏试验结果 93 株肺炎链球菌中,对红霉素的耐药率为 95.7%,四环素的耐药率为 93.3%,克林霉素的耐药率为 90.3%,头孢呋辛的耐药率为 77.4%,复方磺胺甲噁唑的耐药率为 60.2%,头孢曲松的耐药率为 9.7%,利福平的耐药率为 6.7%,美罗培南的耐药率为 4.3%,阿莫西林/克拉维酸的耐药率为 3.2%,左氧氟沙星的耐药率为 2.2%,青霉素的耐药率为 1.1%,利奈唑胺、万古霉素无耐药数据,见表 3。4 株黏液型肺炎链球菌对头孢曲松、利福平、美罗培南、阿莫西林/克拉维酸、左氧氟沙星、青霉素、利奈唑胺、万古霉素均敏感,对红霉素、克林霉素、四环素均耐药,头孢呋辛耐药 1 株、中介 2 株、敏感 1 株,复

方磺胺甲噁唑中介 1 株、敏感 3 株,见表 4。

表 3 93 株肺炎链球菌(非脑脊液)的药敏试验结果分析(%)

抗菌药物	耐药率	中介率	敏感率
红霉素	95.7	—	4.3
四环素	93.3	—	6.7
克林霉素	90.3	—	9.7
头孢呋辛	77.4	—	22.6
复方磺胺甲噁唑	60.2	18.3	21.5
头孢曲松	9.7	21.5	68.8
利福平	6.7	—	93.3
美罗培南	4.3	9.7	86.0
阿莫西林/克拉维酸	3.2	15.1	81.7
左氧氟沙星	2.2	2.2	95.7
青霉素	1.1	2.2	96.8
利奈唑胺	—	—	100.0
万古霉素	—	—	100.0

注:—表示该项无数据。

表 4 4 株黏液型菌株药敏试验结果(%)

抗菌药物	耐药率	中介率	敏感率
红霉素	100.0	—	—
四环素	100.0	—	—
克林霉素	100.0	—	—
头孢呋辛	25.0	50.0	25.0
复方磺胺甲噁唑	—	25.0	75.0
头孢曲松	—	—	100.0
利福平	—	—	100.0
美罗培南	—	—	100.0
阿莫西林/克拉维酸	—	—	100.0
左氧氟沙星	—	—	100.0
青霉素	—	—	100.0
利奈唑胺	—	—	100.0
万古霉素	—	—	100.0

注:—表示该项无数据。

3 讨 论

肺炎链球菌为咽喉部的定植菌,在机体低免疫状态下可致病,常引起呼吸道感染,也可引起侵袭性感染,是全球<5 岁儿童和>65 岁老年人的常见感染菌,也是导致上述人群死亡的重要原因,是一个严重的公共卫生问题^[2]。本研究中老年人和儿童病例总体占比为 89.2%,可见儿童可能存在的未健全免疫系统、不良营养状况,老年人基础疾病状态及组织器官功能的退化等是该菌致病的主要条件。痰液是该菌检出的主要标本类型,但在临床标本检验流程中,应对痰液标本进行质量评估,严格检验流程,结合临床,对该菌的定植或致病状态做出正确判断。

肺炎链球菌引起的感染从临床表现上无法确定感染源,诊治水平与实验检测水平在不同地区、医院差异较大^[3],在培养鉴定过程中,检验人员必须对该菌的菌落特点和鉴定流程有充分的认识和鉴别能力,才能准确快速分离出该菌。本研究分离的两种菌落形态中,非黏液型常见,呈中央凹陷似“脐窝”状,边缘整齐,黏液型菌落较少见,仍有草绿色溶血,但表面呈水状,圆形或连接成片,容易被误认为是铜绿假单胞菌等其他黏液型菌落,需加强对黏液型肺炎链球菌的认识和警觉,还需结合直接涂片中镜下是否有符合革兰阳性、成双、矛头状等特点的菌体,以及是否与白细胞呈相关性等进行综合分析,才能避免误检、漏检。黏液型菌落有厚荚膜并产生大量透明酸荚膜多糖,其致病性很强,93 株肺炎链球菌中,黏液型 4 株均分离自儿童痰液标本,与国内报道均分离自成人不同,在同期儿童标本 61 例中占 6.6%,高于文献报道^[4-5],黏液型肺炎链球菌在儿童病患中的分离率值得关注。

本研究药敏试验结果显示,肺炎链球菌对红霉素的耐药率最高,达 95.7%,肺炎链球菌对大环内酯类抗菌药物的耐药机制主要为靶位的改变,即核糖体 50s 亚单位改变,由 *ersB* 基因介导^[6]。欧美国家的数据表明,肺炎链球菌对红霉素的耐药率达 50% 以上^[7],在我国该类耐药情况更为严重,应避免经验用药。对克林霉素、四环素也同样呈高耐药状态,耐药率>90%,复方磺胺甲噁唑耐药率>60%,与耐药监测网统计数据相近^[8]。而本研究中肺炎链球菌对头孢呋辛的耐药率高于全国耐药监测网和国内其他报道^[9-12],可能与菌株的地区流行及本地区用药习惯有关。对利福平、头孢曲松的耐药率<10%,阿莫西林/克拉维酸、左氧氟沙星、美罗培南的耐药率均<5%,与国内研究一致^[13],有较高的敏感率,可根据药敏试验结果及临床患者情况选择及调整抗菌药物的使用。肺炎链球菌对青霉素耐药率较低,为 1.1%,可作为肺炎链球菌感染治疗的首选药物,但国内有较高耐药率

的报道^[14],耐青霉素肺炎链球菌的机制是 6 种青霉素结合蛋白(pbp)发生改变,使得与青霉素的结合力下降,耐药率升高的情况与抗菌药物的过度使用有关^[15],应持续关注耐青霉素肺炎链球菌的耐药率并加强耐药监测。利奈唑胺、万古霉素敏感率较高,耐药菌株尚未检出,在临床上可用于治疗重症感染患者。

黏液型肺炎链球菌的耐药分析报道较少,因为荚膜较厚,有较强的致病性,不容易产生耐药性^[4-5]。本研究中的 4 株分离自儿童病例的黏液型肺炎链球菌药敏结果显示:对头孢曲松、利福平、美罗培南、阿莫西林/克拉维酸、左氧氟沙星、青霉素、利奈唑胺、万古霉素均敏感,但对红霉素、克林霉素、四环素均耐药,与本地区肺炎链球菌对该 3 类抗菌药物高度耐药相近,复方磺胺甲噁唑敏感 3 株、中介 1 株,头孢呋辛耐药 1 株、中介 2 株、敏感 1 株,其耐药的情况高于国内其他文献报道^[4,5],尽管样本量小,但黏液型肺炎链球菌的耐药率值得关注和探讨。

综上所述,检验人员必须对肺炎链球菌的形态,特别是对非常规的形态和特征提高认识,规范鉴定流程,才能提高检出率,及时准确找出感染源,避免误检漏检。本研究的药敏试验结果显示,肺炎链球菌对红霉素、克林霉素、四环素有较高的耐药率,应避免经验用药,对青霉素、阿莫西林/克拉维酸、左氧氟沙星、美罗培南有较高的敏感率,建议根据具体药敏结果调整使用,利奈唑胺、万古霉素耐药菌株未发现,可用于重症感染的治疗。肺炎链球菌耐药率在不同地区有差异,跟本地区的流行情况、医院类型、用药习惯等有关,临床应对本地区肺炎链球菌的药敏情况有更多的了解和分析,积极检测病原菌,及时做药敏试验,加强耐药监测,才能为肺炎链球菌引起的各类感染性疾病提供更精准的抗感染治疗,遏制耐药趋势和高耐药水平菌株的出现。本研究中 4 株黏液型肺炎链球菌均分离自儿童病例,对部分抗菌药物的耐药情况比国内其他报道的耐药率高,其在儿童病患中的分离率及耐药率值得关注和探讨。近年来的研究显示,肺炎链球菌可以在毒力因子作用下存活于细胞内,抗感染更为艰巨和严峻^[16],疫苗接种是预防肺炎链球菌感染的有效手段。

参考文献

- [1] WAHL B, O'BRIEN K L, GREENBAUM A, et al. Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: global, regional, and national estimates for 2000-2015[J]. *Lancet Glob Health*, 2018, 6(7): e744-e757.
- [2] 姚开虎. 中国肺炎链球菌性疾病负担概况[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(42): 3363-3366.

- [3] 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心, 国家儿童医学中心, 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 等. 中国儿童肺炎链球菌性疾病诊断、治疗和预防专家共识[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020, 34(7): 485-505.
- [4] 张小倩, 李辉, 胡玥, 等. 2 种形态肺炎链球菌感染特点和耐药性分析[J]. 现代预防医学, 2016, 43(2): 325-326.
- [5] 华春珍, 尚世强, 李建平, 等. 黏液型肺炎链球菌的表型和遗传学特征[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(12): 996-999.
- [6] 张倩, 庞立强, 毕晓琴. 肺炎链球菌对大环内酯类抗生素耐药机制研究[J/CD]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(28): 93.
- [7] YAHIAOUI R Y, DEN HEIJER C D J, VAN BIJNEN E M, et al. Prevalence and antibiotic resistance of commensal *Streptococcus pneumoniae* in nine European countries [J]. Future Microbiol, 2016, 11(6): 737-744.
- [8] 全国细菌耐药监测网. 2014—2019 年细菌耐药性监测报告[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(1): 15-31.
- [9] 黄亮, 潘华, 朱齐燕. 某院 2017—2019 年间儿童各标本中肺炎链球菌感染的病原菌分布特点及其耐药性分析[J]. 抗感染药学, 2020, 17(4): 87-89.
- [10] 张文波, 程宝金. 呼吸道感染住院患儿鼻腔及口咽部位肺炎链球菌定植状况与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(10): 1553-1556.
- [11] 付燕, 屠银芳, 王卫华, 等. 肺炎链球菌感染的临床分布, 耐药性变化趋势与抗菌药物的相关性分析[J]. 云南医药, 2019, 40(5): 401-404.
- [12] 陶建萍, 蔡永林. 梧州市红十字会医院 2015—2018 年肺炎链球菌的临床分布及耐药情况分析[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(12): 8-10.
- [13] 王哲, 刘丹, 于波心, 等. 某院肺炎链球菌感染的临床分布及耐药性分析[J]. 安徽医药, 2019, 23(6): 1250-1253.
- [14] 汪倩钰, 李从荣, 郭静, 等. 2016—2018 年儿童呼吸道感染病原菌谱与耐药监测[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(12): 1182-1187.
- [15] 刘丹华, 张晓伟, 张翀. 抗生素滥用与超级细菌[J]. 国外医药(抗生素分册), 2019, 40(1): 1-4.
- [16] 周梦兰, 于淑颖, 杨启文, 等. 肺炎链球菌鼻咽部定植及胞内感染的致病机制研究进展[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(5): 530-533.

(收稿日期: 2021-04-10 修回日期: 2021-10-15)

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.05.027

TGAb 联合 TPOAb 用于妊娠期自身免疫性甲状腺疾病筛查的临床价值

罗华明, 文 波, 郝 霞, 袁雅婷, 万 涛[△]

重庆市万州区妇幼保健院检验科, 重庆 404100

摘要:目的 探讨甲状腺球蛋白抗体(TGAb)联合甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)用于妊娠期自身免疫性甲状腺疾病(AITDs)筛查的临床价值。方法 随机选取在该院进行孕检的妊娠妇女 300 例作为孕期组, 其中包含孕早期、孕中期和孕晚期妇女各 100 例, 另选取同期非妊娠期健康妇女 100 例作为对照组。检测研究对象血清促甲状腺激素(TSH)、游离甲状腺素(FT₄)、TGAb 和 TPOAb 水平, 比较两组甲状腺疾病发病率, 绘制受试者工作特征曲线分析 TGAb 和 TPOAb 诊断 AITDs 的价值, 采用直线回归分析 TGAb 和 TPOAb 的相关性。结果 孕期组的甲状腺疾病的总发病率(17.00%)高于对照组(13.00%), 在所有研究对象中以亚临床甲状腺功能减退和单纯抗体阳性的发病率最高, 分别为 7.50% 和 3.50%。TGAb 诊断 AITDs 的曲线下面积(AUC)为 0.778, TPOAb 诊断 AITDs 的 AUC 为 0.895, 二者联合检测的 AUC 为 0.985。TGAb 和 TPOAb 不具有线性相关性。结论 TGAb 和 TPOAb 在 AITDs 的诊疗过程中不可相互替代, 且通过联合检测可以提高其对于 AITDs 的诊断价值, 有助于加强妊娠期甲状腺疾病的防治, 避免不良妊娠结局及产后甲状腺炎的发生。

关键词: 甲状腺球蛋白抗体; 甲状腺过氧化物酶抗体; 妊娠期; 自身免疫性甲状腺疾病**中图分类号:** R446.62**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2022)05-0676-04

自身免疫性甲状腺疾病(AITDs)是临床中常见的自身免疫性疾病之一, AITDs 可能导致甲状腺组织进行性破坏, 从而引起促甲状腺激素(TSH)水平的升

高, 进而发展为甲状腺功能减退(简称甲减)或亚临床甲状腺功能减退(简称亚临床甲减)。其发病机制可能与甲状腺球蛋白抗体(TGAb)结合甲状腺过氧化物

[△] 通信作者, E-mail: 12116225@qq.com。

本文引用格式: 罗华明, 文波, 郝霞, 等. TGAb 联合 TPOAb 用于妊娠期自身免疫性甲状腺疾病筛查的临床价值[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(5): 676-679.