

厦门地区呼吸道感染患儿嗜血杆菌的临床分布及耐药性分析

徐和平, 马晓波[△], 郑燕青, 黄江山(福建省厦门大学附属第一医院检验科 361003)

【摘要】目的 了解厦门地区呼吸道感染患儿分离的嗜血杆菌对抗菌药物的耐药情况, 为临床用药提供依据。**方法** 收集 2010 年儿童患者下呼吸道标本分离的 90 株嗜血杆菌。细菌的鉴定采用 VITEK-2 compact 微生物分析系统及配套的鉴定卡, 药物敏感试验使用 ATB Haemo 试条。 β -内酰胺酶检测使用头孢硝噻吩纸片, 数据录入 WHONET 5.4 软件分析。**结果** 在患儿下呼吸道病原中, 嗜血杆菌占第 3 位, 主要包括流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌。嗜血杆菌对复方新诺明和氨苄西林的耐药率相对较高, 分别为 38.9% 和 26.7%, 对头孢克洛、四环素、利福平、氟康唑和头孢呋辛的耐药率分别为 20.0%、20.0%、13.3%、13.3% 和 10.0%, 对阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟、氧氟沙星的敏感率在 95.0% 以上。 β -内酰胺酶阳性率为 24.4%。**结论** 嗜血杆菌是儿童呼吸道感染重要的病原菌之一, 临床上应加强对其分离培养, 其对氨苄西林、复方新诺明的耐药率高, 已不宜再作为临床治疗的首选药物。

【关键词】 嗜血杆菌; 耐药性; 呼吸道; β -内酰胺酶

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.004 文章编号: 1672-9455(2011)16-1927-02

Distribution and antibacterial susceptibility of Haemophilus strains isolated from children with respiratory tract infection in Xiamen XU He-ping, MA Xiao-bo[△], ZHENG Yan-qing, HUANG Jiang-shan (Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Xiamen University, Fujian 361003, China)

【Abstract】Objective To investigate antibacterial susceptibility of Haemophilus strains isolated from children with respiratory tract infection, and provide evidence for antimicrobial therapy. **Methods** A total of 90 strains of Haemophilus were collected from lower respiratory tract among children during 2010. Identification and susceptibility were performed by Vitek-2 compact automated system and ATB Haemo susceptibility test strip. β -lactamase was screened by Nitrocefin disk. Data analysis was carried out by WHONET 5.4. **Results** Haemophilus species was the third infectious pathogen of lower respiratory tract isolated from children, including H. influenzae and H. parainfluenzae. The resistance rates of Haemophilus to trimethoprim-sulfamethoxazole and ampicillin were 38.9% and 26.7%, respectively, and the resistant rates of Haemophilus to cefuroxime, chloramphenicol, rifampicin, cefaclor and tetracycline were 20.0%, 20.0%, 13.3%, 13.3% and 10.0%. However, the sensitive rates of Haemophilus to amoxicillin-clavulanic, ceftaxime and ofloxacin were higher than 95.0%. The positive rate of β -lactamase was 24.4%. **Conclusion** Haemophilus species is the main pathogen of lower respiratory tract infection in children. Trimethoprim sulfamethoxazole and ampicillin are not considered for first choice of antimicrobial therapy.

【Key words】 Haemophilus; resistance; respiratory tract; β -lactamase

嗜血杆菌(Haemophilus)常定植于上呼吸道, 是儿童呼吸道感染的重要病原菌之一。由于其对分离培养的条件有严格要求, 且不同地域的分离情况及耐药率不尽相同^[1-3]。本研究对 2010 年自患儿中分离到的嗜血杆菌及其耐药情况进行分析, 报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株来源 2010 年 1~12 月本院及部分社区呼吸道感染患儿自痰液及肺泡灌洗液标本中分离的嗜血杆菌 90 株。

1.1.2 培养基试剂 血平板和嗜血杆菌专用巧克力平板为郑州安图生物技术股份有限公司产品; 痰消化液购自 Oxoid 公司; 细菌鉴定和药物敏感试验分别采用仪器配套的 NH 卡和 ATB Haemo 药物敏感试验试条(法国 Biomérieux 公司); 用于 β -内酰胺酶检测的头孢硝噻吩纸片为 Oxoid 公司产品。

1.1.3 仪器及设备 细菌培养采用 M3111 型二氧化碳孵箱(美国 Thermo 公司)及的 MCO-15A 型二氧化碳培养箱(日本

Sanyo 公司)。细菌鉴定采用 VITEK-2 compact 全自动微生物分析系统(法国 Biomérieux 公司),

1.1.4 标准菌株 流感嗜血杆菌 ATCC 49247。

1.2 方 法

1.2.1 嗜血杆菌的分离鉴定与药物敏感试验 将痰或肺泡灌洗液先行涂片染色进行标本合格的评估, 合格标本加入等量的痰消化液, 35℃ 消化 20~30 min, 待痰液完全消化后, 接种于血平板和嗜血杆菌专用巧克力平板上, 置 CO₂ 浓度为 5% 的孵箱中培养 24~48 h。细菌的分离参见《临床检验操作规程》。

新鲜的纯菌落采用 VITEK-2 compact 分析系统鉴定, 并采用试条检测细菌对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢克洛、头孢呋辛、头孢噻肟、四环素、利福平、氟康唑、氧氟沙星、复方新诺明等药物的敏感性。同时头孢硝噻吩纸片变红色者为 β -内酰胺酶阳性。

1.2.2 数据统计分析 药物敏感试验判读标准采用美国临床实验室标准化协会(2010 版) M100-S20^[4]。数据录入 WHO-

[△] 通讯作者, E-mail: maxiaoboxm@126.com。

NET 5.4 软件,并纳入非重复株进行分析。

2 结 果

2.1 一般资料 自患儿痰标本的临床分离菌中,嗜血杆菌仅次于金黄色葡萄球菌和肺炎克雷伯菌居第 3 位,占 13.6%,见图 1。90 株嗜血杆菌构成中,流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、副溶血嗜血杆菌、溶血嗜血杆菌分别为 67 株(74.4%),18 株(20.0%),3 株(3.3%),2 株(2.2%)。

表 1 流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌对抗生素的敏感试验结果

抗菌药物	流感嗜血杆菌(67 株)			副流感嗜血杆菌(18 株)		
	敏感率(%)	中介率(%)	耐药率(%)	敏感率(%)	中介率(%)	耐药率(%)
氨苄西林	40(59.7%)	8(11.9%)	19(28.4%)	12(66.7%)	3(16.7%)	3(16.7%)
阿莫西林/克拉维酸	65(97.0%)	0	2(3.0%)	18(100.0%)	0	0
四环素	48(71.6%)	5(7.5%)	14(20.9%)	13(72.2%)	3(16.7%)	2(11.1%)
复方新诺明	21(31.3%)	22(32.8%)	24(35.8%)	6(33.3%)	5(27.8%)	7(38.9%)
利福平	52(77.6%)	10(14.9%)	5(7.5%)	11(61.1%)	0	7(38.9%)
氯霉素	54(80.6%)	4(6.0%)	9(13.4%)	14(77.8%)	3(16.7%)	1(5.6%)
头孢呋辛	51(76.1%)	10(14.9%)	6(9.0%)	15(83.3%)	2(11.1%)	1(5.6%)
头孢克洛	42(62.7%)	11(16.4%)	14(20.9%)	16(88.9%)	0	2(11.1%)
头孢噻肟	65(97.0%)	0	2(3.0%)	18(100%)	0	0
氧氟沙星	67(100.0%)	0	0	18(100%)	0	0

流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌的药物敏感试验结果见表 1。结果显示,三代头孢菌素、复合制剂和氟喹诺酮类药物均表现出良好的体外活性,敏感性高于 95%。而细菌对复方新诺明和氨苄西林的耐药率相对较高,此外副流感嗜血杆菌和流感嗜血杆菌对利福平的耐药率存在差异。

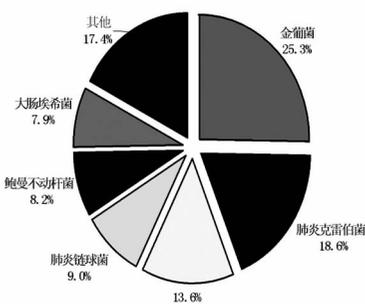


图 1 患儿呼吸道标本的细菌分离构成

2.4 溶血嗜血杆菌和副溶血嗜血杆菌的药物敏感试验分析 5 株溶血和副溶血嗜血杆菌中,对氨苄西林、四环素、复方新诺明、氯霉素、头孢呋辛、头孢克洛耐药者均为 2 株,对利福平、头孢噻肟、阿莫西林/克拉维酸、氧氟沙星均为敏感。

2.5 细菌产 β-内酰胺酶情况 纸片法结果显示,22 株细菌检出 β-内酰胺酶,阳性率 24.4%。其中流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、溶血嗜血杆菌和副溶血嗜血杆菌产 β-内酰胺酶菌株分别为 17 株、3 株、1 株和 1 株,均对氨苄西林耐药而阿莫西林/克拉维酸敏感。2 株流感嗜血杆菌 β-内酰胺酶实验为阴性,而对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟均耐药的菌株。

3 讨 论

嗜血杆菌是引起急性呼吸道感染的常见病原菌之一,但由于嗜血杆菌对生长条件要求高,需要 X、V 因子和 5% CO₂ 环境,特别是呼吸道标本中的嗜血杆菌在初代培养时,受到革兰阳性细菌的抑制(营养竞争和菌素作用),菌落细小不易与其他

2.2 嗜血杆菌对抗菌药物的药物敏感情况 结果显示,复方新诺明和氨苄西林对嗜血杆菌的体外活性相对较差,耐药率分别为 38.9%和 26.7%。超过 1/4 的嗜血杆菌表现为耐药,四环素、头孢克洛、头孢呋辛、利福平、氯霉素的耐药率分别为 20.0%、10.0%、20.0%、13.3%、13.3%,对阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟、氧氟沙星的敏感率在 97.8%。

2.3 流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌的药物敏感试验分析

细菌相区别,是造成临床上嗜血杆菌分离率低的直接原因^[5]。所以在提供 X、V 因子和 5% CO₂ 环境的生长环境同时,须用选择性培养基来抑制革兰阳性菌生长的干扰,在巧克力平板中加入万古霉素和杆菌肽等抗生素来抑制革兰阳性菌的生长,而嗜血杆菌菌落较大,容易识别,提高了分离率。本实验中痰标本接种前均涂片染色,进行合格性评估筛查,去除一些明显不合格标本的干扰,同时用酶消化液对痰液消化,并接种在含万古霉素和杆菌肽等抗菌药物的选择性培养基中,适当延长培养时间到 48 h,嗜血杆菌的分离率明显提高。本组资料显示,引起急性呼吸道感染的病原体中,嗜血杆菌仍然是主要的致病因素之一,嗜血杆菌检出比占患儿下呼吸道临床分离株的第 3 位,为 13.6%。

氨苄西林曾经是治疗嗜血杆菌感染的首选药物,但自 1972 年在欧洲发现流感嗜血杆菌对氨苄西林耐药后,世界各地相继报道了其耐药性,并呈现出明显地区差别,中国各地报道不一,在 4.8%~40.2%^[6]。本研究结果显示,厦门地区的嗜血杆菌中氨苄西林耐药率为 26.7%,其中流感嗜血杆菌对氨苄西林的耐药率为 28.4%。流感嗜血杆菌对氨苄西林耐药的主要机制是产生 β-内酰胺酶,包括质粒介导的 TEM-1 和 ROB 两种酶。本研究结果显示对氨苄西林耐药的流感嗜血杆菌中有 91.7%(22/24)检出 β-内酰胺酶,表明在本地区产 β-内酰胺酶仍然是导致流感嗜血杆菌对氨苄西林耐药的主要因素。流感嗜血杆菌对氨苄西林耐药的另一机制是细胞壁上青霉素结合蛋白突变导致与亲和力下降,即 β-内酰胺酶阴性耐药菌株(β-lactamas-negative and ampicillin-resistant, BLNAR),这些菌株对 β-内酰胺酶类型的抗菌药物表现出一定抵抗性。本研究中有 2 株 BLNAR,说明青霉素结合蛋白突变导致的氨苄西林耐药在本地区亦存在,但还有待进一步研究证实。

结果显示,嗜血杆菌对复方新诺明的耐药率相对较高,接近 40%,不推荐用于嗜血杆菌感染的经验治疗,其耐药机制主要是染色体介导的二氢叶酸还原酶的过量产(下转第 1930 页)

阴性组年龄 (36.9 ± 11.7) 岁, 无明显差异, $P = 0.50$ ($P > 0.05$)。HLA-B27 阳性患者男性年龄 (35.3 ± 12.3) 岁, 女性 (43.0 ± 10.5) 岁, 进行 F 检验, 结果 $F = 0.73$, $P = 0.19$, $P > \alpha$ ($\alpha = 0.1$)。因此, 不认为两组年龄的总体方差相等, 进一步的 t 检验分析的 $P = 0.008$ ($P < 0.05$), 故两组 HLA-B27 相关性葡萄膜炎患者的年龄分布有差异, 男性患者年龄较女性患者小。

表 2 不同性别的葡萄膜炎患者 HLA-B27 阳性率比较

性别	HLA-B27	HLA-B27	合计 (n)	阳性率 (%)
	阳性(n)	阴性(n)		
男性	46	16	62	74.2
女性	27	26	53	50.9
合计	73	42	115	63.5

注: $\chi^2 = 6.66$, $P < 0.05$ 。

3 讨 论

HLA-B27 相关性葡萄膜炎的主要临床表现为急性单侧或双交替性前葡萄膜炎, 在前葡萄膜炎患者中, HLA-B27 阳性率约为 80%, 而本研究中葡萄膜炎患者 HLA-B27 阳性率为 63.5%, 分析原因可能是在大多数西方国家, 前葡萄膜炎占葡萄膜炎的 50%~82%, 而在亚洲, 比例相对较低, 约 28%~50%^[3]。研究表明, 葡萄膜炎发病年龄差异较大, 70 岁以下人群均有可能发病, 尤以 20~40 岁为高发期, 其中 HLA-B27 阳性患者比阴性患者发病更早^[4]。但本研究认为葡萄膜炎患者中 HLA-B27 阳性组与阴性组的年龄分布无明显差异, 而在 HLA-B27 相关性葡萄膜炎患者即 HLA-B27 阳性组中, 男性的平均年龄比女性患者小, 可能提示在 HLA-B27 相关性葡萄膜炎患者中男性比女性发病更早, 这与国外报道不一致^[5]。在中国, HLA-B27 阳性的人群发病率仅 2%^[6], 而在 HLA-B27 阳性人群中, 男性发生 HLA-B27 相关性前葡萄膜炎的风险是 HLA-B27 阳性女性的 1.5~2.5 倍, 在 HLA-B27 阴性人群中前葡萄膜炎的发生并无性别差异。本研究结果显示在葡萄膜炎患者中, 男性发生 HLA-B27 相关性葡萄膜炎的风险是 HLA-B27 阳性女性的 1.45 倍。由于两组葡萄膜炎患者的 HLA-B27 阳性率有差别, 提示性别与 HLA-B27 可能共同参与葡萄膜炎的发生。在前葡萄膜炎中, HLA-B27 阳性患者和阴性患者的临床表现亦有不同, HLA-B27 阳性的前葡萄膜炎患者较临床阴性患者症状出现早, 程度重^[7-8]。本研究亦证实

男性是 HLA-B27 相关性葡萄膜炎发生的危险因素, 且男性患者的发病年龄明显早于女性患者。因此, 对男性的葡萄膜炎患者检测 HLA-B27, 有助于临床更好的诊断疾病和采取及时的治疗措施。同时, 推测男性和 HLA-B27 可能共同参与葡萄膜炎的发生, 两者在非感染性葡萄膜炎中的相互作用机制仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] Loh AR, Acharya NR. Incidence rates and risk factors for ocular complications and vision loss in HLA-B27-associated uveitis[J]. Am J Ophthalmol, 2010, 150(4): 534-542.
- [2] de Valk HW, de Boer J. Human leukocyte antigen-B27-associated uveitis; long-term follow-up and gender differences [J]. Am J Ophthalmol, 2008, 145(3): 472-479.
- [3] Chang JH, Wakefield D. Uveitis; a global perspective[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2002, 10(4): 263-279.
- [4] Monnet D, Breban M, Hudry C, et al. Ophthalmic findings and frequency of extraocular manifestations in patients with HLA-B27 uveitis; a study of 175 cases[J]. Ophthalmology, 2004, 111(4): 802-809.
- [5] Agnani S, Choi D, Martin TM, et al. Gender and laterality affect recurrences of acute anterior uveitis[J]. Br J Ophthalmol, 2010, 94(12): 1643-1647.
- [6] 刘湘源, 肖玉兰, 李胜光, 等. B27 相关性葡萄膜炎[J]. 中华风湿病学杂志, 2006, 10(4): 244-247.
- [7] Park SC, Ham DI. Clinical features and prognosis of HLA-B27 positive and negative anterior uveitis in a Korean population[J]. J Korean Med Sci, 2009, 24(4): 722-728.
- [8] Tuncer S, Adam YS, Urgancioglu M, et al. Clinical features and outcomes of HLA-b27-positive and HLA-B27-negative acute anterior uveitis in a Turkish patient population[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2005, 13(5): 367-373.

(收稿日期: 2011-02-27)

(上接第 1928 页)

生。本研究结果还提示嗜血杆菌对氯霉素、四环素、头孢呋辛、头孢克洛等抗菌药物也存在一定的耐药性, 因此临床上有必要加强其耐药性的监测。嗜血杆菌对阿莫西林/克拉维酸、氧氟沙星、头孢噻肟的敏感性均在 97.8% 以上, 可以用来作为首选药物使用。但对于呼吸道感染患者, 由于氟喹诺酮类抗菌药物在肺泡组织中的药物浓度明显低于血药浓度, 尤其是儿科患者对氯霉素、氟喹诺酮类、四环素类抗菌药物是临床使用禁忌, 所以有必要加强嗜血杆菌的检测和药物敏感试验, 积极的指导临床用药, 而避免仅仅凭经验用药, 而加快了多重耐药菌株筛选和扩散。

参考文献

- [1] 张泓, 李卫华, 王传清, 等. 2007 中国 CHINET 流感嗜血杆菌耐药性分析[J]. 中国抗感染与化疗杂志, 2009, 9(3): 207-209.
- [2] 刘家云, 徐修礼, 樊新, 等. 2006~2007 年度中国西北地区

十家临床教学医院嗜血杆菌耐药性监测[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(6): 74-76.

- [3] 王运中, 陶云珍, 吾金彪, 等. 急性呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌感染的分布及耐药性分析[J]. 实验与检验医学杂志, 2010, 28(10): 353-354.
- [4] Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). M100-S20. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20th informational supplement [S]. Pennsylvania: CLSI, 2010.
- [5] 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: 469-478.
- [6] 中华医学杂志编委会. 第二届全国细菌耐药性与抗感染化疗药物临床应用学术会议纪要 [J]. 中国抗感染化疗杂志, 2005, 5(5): 297-300.

(收稿日期: 2011-03-01)