

儿童肺炎链球菌感染的临床特征及药敏结果分析^{*}

黄小翠, 常 莉, 王 泓, 王 霞, 周 伟, 崔亚利[△] (四川大学华西第二医院检验科, 成都 610041)

【摘要】 目的 了解肺炎链球菌感染患儿的临床特征及药敏结果, 为进一步研究临床肺炎链球菌的定植、治疗及预防提供依据。**方法** 回顾性分析 2012 年 1~12 月四川大学华西第二医院 172 例肺炎链球菌感染的临床及微生物学资料, 并以年龄、性别匹配的健康儿童作为对照组, 比较 2 组患儿的炎性反应特征差异。**结果** 172 例患者标本主要来源于痰液(96.5%), 以男性患儿为主(68.0%), 中位年龄为 14 个月(0~109 个月), 11 种临床常用抗生素均出现耐药现象, 其中红霉素、克林霉素、四环素、复方磺胺甲噁唑等药物耐药率均高达 90% 以上, 左氧氟沙星、氯霉素、万古霉素等敏感性较高。与同年龄组健康体检儿童相比, 肺炎链球菌感染患儿均出现程度不一的炎性反应。**结论** 肺炎链球菌感染以 3 岁以下男性患儿(占 80.8%) 为主, 且急性期炎性反应特征明显, 临床分离株对大多数抗生素有耐药现象, 甚至已经出现耐万古霉素的菌株。

【关键词】 肺炎链球菌; 感染特征; 药敏分析; 炎性反应

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.15.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)15-2142-03

Analysis of clinical characteristics and drug susceptibility test results in children patients with Streptococcus pneumonia infection* HUANG Xiao-cui, CHANG Li, WANG Hong, WANG Xia, ZHOU Wei, CUI Ya-li[△] (Department of Clinical Laboratory, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinical characteristics and drug susceptibility test results in the children patients with Streptococcus pneumoniae infections to provide the basis for further study of colonization, treatment and prevention of clinical Streptococcus pneumoniae. **Methods** The retrospective analysis was carried out on the clinical and microbiological data in 172 children cases of Streptococcus pneumoniae infection in our hospital from January to December 2012. At the same time, the age- and sex- matched healthy children were taken as the control group, the differences of inflammatory responses were compared between the two groups. **Results** The specimens in 172 patients were mainly derived from sputum(96.5%), the male children patients(68.0%) were predominant. The median of age distribution in all the patients was 14 months(0—109 months). 11 kinds of commonly used antibacterial drugs appeared the resistance phenomena, in which the resistance rates of erythromycin, clindamycin, tetracycline, sulfamethoxazole, etc. reached to more than 90%. But some antibacterial drugs showed higher susceptibility, such as levofloxacin, chloramphenicol, vancomycin, etc. Compared with the healthy children undergoing healthy physical examination in the same age group, the children patients with Streptococcus pneumoniae infection presented varying degrees of inflammation responses. **Conclusion** Clinical Streptococcus pneumoniae infection is dominated by male children under 3 years old(80.8%) with typical acute inflammatory responses characteristics. The clinically isolated Streptococcus pneumoniae strains are resistant against most antibacterial drugs, and even vancomycin-resistant strains appear.

【Key words】 Streptococcus pneumoniae; infection characteristics; drug susceptibility analysis; inflammatory response

肺炎链球菌是引起细菌性肺炎、脑膜炎和败血症的主要致病菌, 尤其在婴幼儿患者中具有较高的致病率及致死率。现有研究表明, 全球每年由肺炎链球菌感染引起的儿童死亡患儿在 7 万至 10 万, 约占所有 1~59 个月儿童死亡人数的 11%^[1-2]。此外, 随着耐药菌株的不断出现, 肺炎链球菌感染的治疗也面临越来越多的问题, 其致病机制及预防策略的研究逐渐成为关注的焦点^[3-6]。然而, 对于儿童患者肺炎链球菌的感染特征及感染后患者产生的炎性反应特征的差异的研究则相对较少。本研究旨在通过对四川大学华西第二医院 2012 年儿童患者肺炎链球菌感染的特征及感染早期患者的炎性反应特征进行研究, 为进一步研究肺炎链球菌临床菌株的致病、治疗及预防提

供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1~12 月四川大学华西第二医院诊断为肺炎链球菌感染的患儿作为感染组; 收集患儿的相关临床资料, 包括人口统计学资料、血细胞计数、C 反应蛋白(CRP) 及微生物培养等实验室检测结果。同时, 按照年龄和性别配对, 随机抽取同期来本院进行体检的健康儿童作为对照组, 收集对照组儿童血细胞计数及 CRP 的检测结果, 比较 2 组儿童的炎性反应特征之间的差异。

1.2 诊断标准 肺炎链球菌感染患者均需符合以下诊断标准之一: (1) 有呼吸道感染的临床表现和肺部影像学改变, 痰培养

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81301399); 四川省卫生厅课题(120262)。

作者简介: 黄小翠, 女, 检验技师, 本科, 主要从事临床检验工作。 △ 通讯作者, E-mail: 59387451@qq.com。

肺炎链球菌阳性;(2)有颅内感染的表型,脑脊液培养肺炎链球菌阳性;(3)外周血培养肺炎链球菌阳性。对照组儿童需符合以下诊断标准:(1)无局部及全身感染的临床症状和体征;(2)无贫血、营养不良等慢性疾病及遗传、传染病史;(3)近 1 周内无药物服用史。

1.3 微生物学检测 细菌的分离鉴定以无菌方法采集临床标本后立即送微生物室进行培养检测。血液、脑脊液标本置于专门的培养瓶内,用 BACT/ALERT 3D-120 全自动血培养仪(梅里埃,法国)培养;其余标本按照《全国临床检验操作规程》,直接分区划线接种于血培养基(BLA)及巧克力培养基(CCH),置于 30℃ 孵箱培养 24~48 h。对于培养阳性的标本,挑选可疑菌落利用 Optochin 敏感试验及 VITEK-32 微生物鉴定药敏分析仪(梅里埃,美国)对分离菌进行鉴定,阳性菌株药敏试验直接接种 PNEUMO ATB 试剂盒(梅里埃,美国)测定其最小抑菌浓度(MIC)值,利用卫生部提供的标准菌株 ATCC 49619 进行质量控制。

1.4 白细胞计数、分类及 CRP 测定 治疗前收集 2 组研究对象的乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血,利用 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪(希斯美康,日本)检测静脉全血中白细胞分类及计数,QuikRead CRP 分析器检测全血细胞 CRP 水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 及 GraphPad Prism5.0 软件进行统计分析。计量资料进行正态性检验后,用 $\bar{x} \pm s$ 或中位数表示。正态分布的资料采用单因素方差分析,非正态分布的资料采用非参数秩和检验。计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法计算。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

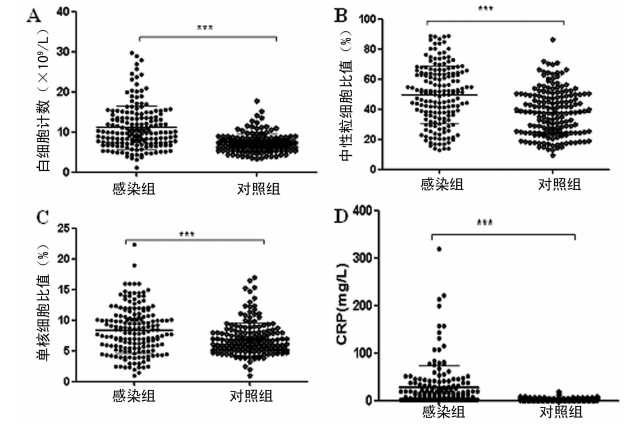
2.1 一般情况 本研究共纳入 172 例肺炎链球菌感染患儿,男 117 例,女 55 例,年龄 0~109 个月,中位年龄为 14 个月;感染者以小于 3 岁的婴幼儿多见,约占 80.8%。<12 个月的患儿 77 例(44.8%),12~36 个月 62 例(36.0%),<36~60 个月 24 例(14.0%),>60 个月 9 例(5.2%)。

2.2 病原菌分布 本次纳入的 172 例感染的患儿共分离出肺炎链球菌 172 株,其中有 17 例患儿表现为双重感染,除肺炎链球菌外还分离到其他病原菌。具体的标本来源为痰液 166 例(96.5%),血液 2 例(1.7%),脑脊液 2 例(1.2%),脓性分泌物 1 例(0.6%)。

表 1 临床分离肺炎链球菌药敏分析结果[n(%)]			
抗生素/敏感率	敏感	耐药	中介
青霉素	143(83.1)	8(4.7)	21(12.2)
阿莫西林	129(75.0)	9(5.2)	33(19.8)
头孢噻肟	133(77.4)	15(8.7)	24(13.9)
红霉素	4(2.3)	168(97.7)	0(0.0)
奎奴普丁/达福普汀	163(94.8)	9(5.2)	0(0.0)
克林霉素	5(2.9)	167(97.1)	0(0.0)
四环素	17(9.9)	155(90.1)	0(0.0)
左氧氟沙星	167(97.1)	5(2.9)	0(0.0)
氯霉素	157(91.2)	12(7.0)	3(1.8)
万古霉素	169(98.3)	3(1.7)	0(0.0)
复方磺胺甲噁唑	9(5.2)	157(91.3)	6(3.5)

2.3 药敏分析结果 通过药敏试验发现,本研究中分离出的肺炎链球菌菌株对万古霉素、左氧氟沙星、奎奴普丁/达福普汀敏感性较高,分别达到了 98.3%、97.1%、94.8%,但均出现了不同程度的耐药现象,对各种抗生素的敏感性耐药率。见表 1。

2.4 感染者炎性反应特征 感染组白细胞计数为 $(10.99 \pm 5.36) \times 10^9$,对照组 $(7.47 \pm 3.35) \times 10^9$,感染组明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);感染组中性粒细胞比值、单核细胞比值及 CRP 水平均较对照组儿童升高 [$(49.07 \pm 19.35)\%$ vs. $(43.6 \pm 18.14)\%$ 、 $(8.32 \pm 3.81)\%$ vs. $(5.9 \pm 2.7)\%$ 、 $(27.11 \pm 47.96)\text{mg/L}$ vs. $(6.3 \pm 7.7)\text{mg/L}$],差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 1。



注:*** $P < 0.01$ 。
图 1 肺炎链球菌培养阳性患儿与同年龄组非感染儿童静脉血白细胞分类计数及 C 反应蛋白水平分布图

3 讨 论

肺炎链球菌病是由肺炎链球菌引起的感染性疾病,包括肺炎、脑膜炎、败血症、急性中耳炎等恶性疾病,可引发呼吸衰竭、心肌损伤等严重后果,甚至导致死亡。肺炎链球菌病主要由定植引起,这种现象在儿童中尤其常见,临床常见同一患者鼻咽部发生多种血清型肺炎链球菌同时定植的现象,细菌直接从患者鼻咽部转移至血液导致菌血症,引起常见于婴幼儿肺炎链球菌定植的并发症^[7]。

本研究结果显示,儿童患者临床分离肺炎链球菌阳性菌株标本主要为痰标本,提示临床菌株在患者鼻咽部定植的现象普遍存在,然而临床菌株在患者鼻咽部定植的具体机制及清除定植的有效措施仍需进行大量的基础研究。培养阳性患者中 3 岁以下患儿比例高达 80% 以上,提示肺炎链球菌作为条件致病菌,更容易侵犯年龄较小的婴幼儿,推断可能是由于其免疫系统发育尚不完全所致,然而,是否还存在其他因素的影响仍需进一步的分析研究。

肺炎链球菌感染机体是一个较为复杂的过程,需经过黏附、侵袭、繁殖和转移等步骤才能导致宿主感染,其在鼻咽部黏膜定植是引发侵袭性疾病的前提条件,也是人群中传播肺炎链球菌感染的重要来源,在一定的条件下,肺炎链球菌通过其毒力因子的协同作用,逃避宿主早期的免疫应答,从上呼吸道扩散到无菌的下呼吸道并引起肺炎。同时,患者的天然免疫系统对控制病原菌的定植并预防侵袭性疾病具有重要作用,天然免疫系统存在多种模式识别受体(PRRs),如跨膜的 Toll 样受体(TLRs)、胞浆 NOD 样受体(NLRs)及 DNA 感应器等,可识别病原菌,通过征集炎性细胞,如中性粒细胞及单核/巨噬细胞聚集,调控炎性介质的产生,组织感染细胞及附近非感染细胞发

生免疫反应,产生炎性介质,如肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-L、干扰素(IFN)- α/β 、形成细胞(KC)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)等,进而刺激核转录因子 κ B 抵御病原菌的侵袭^[8-9]。

本研究结果显示,与同年龄健康儿童相比,肺炎链球菌感染患者出现了较高水平的白细胞计数、中性粒细胞比值、单核细胞比值及 CRP 水平,众所周知,中性粒细胞是宿主抵御细菌感染时重要的一线免疫细胞效应因子,在病原菌侵袭患者早期发挥重要作用,而单核/巨噬细胞系统对病原菌的清除也起重要作用,提示婴幼儿患者受到肺炎链球菌侵袭后也可在一定程度上激发天然免疫反应,抵御病原菌的侵袭;而 CRP 作为急性时相反应蛋白,在炎性反应中具有积极作用,提示患者对病原菌具有非特异性抵抗力。

尽管肺炎链球菌感染在儿童患者中普遍存在,抗生素耐药乃至交叉耐药现象的不断加重使得肺炎链球菌感染的治疗面临越来越严峻的问题,利用有效的疫苗进行预防为解决肺炎链球菌感染刻不容缓的手段。虽然目前已经有商品化的多糖疫苗及结合疫苗,然而其保护效果均不理想。因此,保护效果更好,针对人群更广的肺炎链球菌疫苗研发可能成为降低人群中肺炎链球菌携带率及其在人群中传播的最终措施^[10-11]。

参考文献

- [1] O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, 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] Zhao H, Kang CI, Rouse MS, et al. The role of IL-17 in the association between pneumococcal pneumonia and allergic sensitization [J]. Int J Microbiol, 2011, 9 (16): 709509.
- [3] 姚开虎,王立波,赵根明,等. 四家儿童医院住院肺炎病例 (上接第 2141 页)
57(1):53-62.
- [9] Wells SK, Gutter AE, Soike KF, et al. Encephalomyocarditis virus; epizootic in a zoological collection[J]. Zoo Wild Med, 1989, 20(3):291-296.
- [10] Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, et al. Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses sixth report of the international committee on taxonomy of viruses[J]. Springer Berlin, 1995, 12(10):329-336.
- [11] Papaioannou N, Billinis C, Psychas V, et al. Pathogenesis of encephalomyocarditis virus (EMCV) infection in piglets during the viraemia phase: a histopathological, immunohistochemical and virological study[J]. J Comp Pathol, 2003, 129(3):161-168.
- [12] Koenen F, De Clercq K, Lefebvre J, et al. Reproductive failure in sows following experimental infection with a Belgian EMCV isolate[J]. Vet Microbiol, 1994, 39(1):

肺炎链球菌分离株的耐药性监测[J]. 中国当代儿科杂志, 2008, 10(3):275-279.

- [4] 黄勇, 万根平, 周珍文, 等. 儿童呼吸道感染肺炎链球菌耐药性及 pbp2B 与 TEM 基因的研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2009, 11(8):623-626.
- [5] Novak R, Henriques B, Charpentier E, et al. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae* [J]. Nature, 1999, 399(16):590-593.
- [6] Shapiro ED, Berg AT, Austrian R, et al. The protective efficacy of polyvalent pneumococcal polysaccharide vaccine[J]. N Engl J Med, 1991, 325(21):1453-1460.
- [7] Davis KM, Nakamura S, Weiser JN. Nod 2 sensing of lysozyme-digested peptidoglycan promotes macrophage recruitment and clearance of *S. pneumoniae* colonization in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(9):3666-3676.
- [8] Zhang Z, Clarke T, Weiser J, et al. Cellular effectors mediating Th17-dependent clearance of pneumococcal colonization in mice[J]. J Clin Invest, 2009, 119(7):1899-1909.
- [9] Kimberly MD, Shigeki N, Jeffrey NW. Nod 2 sensing of lysozyme-digested peptidoglycan promotes macrophage recruitment and clearance of *S. Pneumoniae* colonization in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(9):3666-3676.
- [10] Cui Y, Zhang X, Gong Y, et al. Immunization with DnaJ (hsp40) could elicit protection against nasopharyngeal colonization and invasive infection caused by different strains of *Streptococcus pneumoniae* [J]. Vaccine, 2011, 29 (9):1736-1744.
- [11] Michael R. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology and patterns of resistance [J]. Am J Med, 2004, 117(3):3-15.

(收稿日期:2015-02-28 修回日期:2015-04-15)

111-116.

- [13] Maurice H, Nielen M, Brocchi E, et al. The occurrence of encephalomyocarditis virus (EMCV) in European pigs from 1990 to 2001 [J]. Epidemiol Infect, 2005, 133(3): 547-557.
- [14] Kirkland PD, Gleeson AB, Hawkes RA, et al. Human infection with encephalomyocarditis virus in New South Wales [J]. Med J Aust, 1989, 151(3):176-178.
- [15] Gajdusek DC. Encephalomyocarditis virus infection in childhood [J]. Pediatrics, 1955, 16(6):902-906.
- [16] 王宪文, 王新卫. 兽医生物制品制备技术 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2007:59.
- [17] 董艳娇, 黄金海, 王晶钰, 等. 猪脑心肌炎病毒抗体间接 Elisa 方法的建立及应用 [J]. 中国动物检疫, 2008, 25(7): 30-33.

(收稿日期:2015-02-25 修回日期:2015-03-15)