

儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌耐药分析

潘强, 劳金泉, 李荣杰, 谢向铤

(广西医科大学第四附属医院儿科, 广西 柳州 545005 E-mail: 122592309@qq.com)

摘要:目的 研究我院2014~2017年儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌(Hi)对常用抗生素的敏感性、产 β -内酰胺酶阳性率,为儿科临床合理用药提供依据。**方法** 对2014~2017年我院儿童呼吸道感染的临床标本进行流感嗜血杆菌分离培养,用VITEK MS及VITEK 2 COMPACT流感嗜血杆菌进行9种抗生素的耐药分析,采用 β -内酰胺酶快速检测试剂盒检测 β -内酰胺酶。**结果** 2014~2017年我院儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌产 β -内酰胺酶阳性率由10.00%上升至43.91%,产 β -内酰胺酶阳性率明显增高($P < 0.001$);流感嗜血杆菌对头孢克洛、复方新诺明耐药率分别由35.56%、52.22%均上升至100%,存在明显耐药($P < 0.001$),对氯霉素、阿莫西林/棒酸、头孢呋辛、氨苄西林耐药率分别由2.96%、12.59%、25.56%、48.52%上升至10.90%、65.71%、84.62%、83.97%,存在明显耐药($P < 0.001$ 或 $P < 0.01$)。对头孢噻肟、氧氟沙星的耐药率,未见明显差异,近3年无明显耐药,对四环素耐药率总体比较低,耐药最高的2015~2016年也只有2.80%。**结论** 流感嗜血杆菌耐药形势严峻,流感嗜血杆菌对头孢克洛、氨苄西林、复方新诺明、头孢呋辛耐药率明显升高,对头孢噻肟、氧氟沙星、四环素有较高的敏感性。

关键词: 儿童;呼吸道感染;流感嗜血杆菌;耐药性

中图分类号: R517.6;R378.41

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2018)02-0153-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2018.02.015

Analysis of drug resistance of Haemophilus influenzae in children with respiratory tract infection

Pan Qiang, Lao Jinquan, Li Rongjie, Xie Xiangxin

(Pediatric Department, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, Guangxi E-mail: 122592309@qq.com)

Abstract: **Objective** To study the sensitivity of Haemophilus influenzae (Hi) to commonly use antibiotics and the positive rate of the producing β -lactamases in children with respiratory tract infection treated in our hospital from 2014 to 2017 so as to provide evidences for clinical rational drug use in pediatrics. **Methods** Haemophilus influenzae was isolated and cultured from clinical specimens collected from children with respiratory tract infection treated at our hospital from 2014 to 2017. VITEK MS and VITEK 2 COMPACT were used to analyze the drug resistance of Haemophilus influenzae to 9 antibiotics. β -lactamases were detected by β -lactamase rapid detection kit. **Results** The positive rate of β -lactamase produced by Haemophilus influenzae increased from 10.00% to 43.91% in children with respiratory tract infection treated in our hospital from 2014 to 2017, and the positive rate of producing β -lactamase was significantly increased ($P < 0.001$). The drug resistance rates of Haemophilus influenzae to cefaclor and compound sulfamethoxazole increased from 35.56% and 52.22% to 100% and 100% respectively, and there were obvious drug resistances ($P < 0.001$). The drug resistance rates of Haemophilus influenzae to chloramphenicol, amoxicillin/clavulanate, cefuroxime and ampicillin increased from 2.96%, 12.59%, 25.56%, 48.52% to 10.90%, 65.71%, 84.62% and 83.97% respectively, and there were obvious drug resistances ($P < 0.001$ or $P < 0.01$). There was no significant difference between the drug resistance rates of Haemophilus influenzae to cefotaxime and to ofloxacin, and there was no obvious drug resistance in recent three years. The overall resistance rate of Haemophilus influenzae to tetracycline was relatively low, and the highest resistance rate of Haemophilus influenzae to tetracycline was 2.80% from 2015 to 2016. **Conclusion** The drug resistance of Haemophilus influenzae is severe. The drug resistance rates of Haemophilus influenzae to cefaclor, ampicillin, compound sulfamethoxifen and cefuroxime increased significantly, and Haemophilus influenzae has high sensitivity to cefotaxime, ofloxacin and tetracycline.

Key words: children; respiratory tract infection; Haemophilus influenzae; drug resistance

流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*, Hi)主要引起幼儿肺炎、急性鼻炎、咽炎、喉炎、中耳炎、脑炎及脑脓肿等疾病,是儿童急性呼吸道感染中最常见的细菌之一,占儿童呼吸道细菌感染前5位^[1]。近年来,儿童呼吸道感染Hi呈上升趋势,耐氨苄西林(Amp)、产 β -内酰胺酶阳性率也逐年上升。随着临床大量使用及滥用抗生素,病原菌的构成及药物敏感处于不断变化的过程中,因此了解该地区某一段时间病原菌的耐药性变化,对临床经验用药有重要参考价值。我们将2014~2017年分离的Hi进行常用9种抗生素的药物敏感性检测,同时检测 β -内酰胺酶,结果报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 菌株来源 867株Hi分离自2014年6月~2017年6月住院儿童呼吸道感染患儿,其中男性520例,女性347例,1个月~1岁195例,1~3岁417例,3~5岁167例,5~15岁88例,标本采用一次性鼻导管深插气管,负压吸取痰液,咽拭子,做细菌培养。纳入标准:①根据第8版《儿科学》呼吸道感染诊断标准^[2],明确诊断呼吸道感染;②发病年龄1个月~15岁;③入院前病程大于3d;④入院前未给抗生素治疗;⑤入院后未使用抗生素,6h内完成标本采集。排除标准:①年龄小于1个月,或大于15岁;②入院前病程小于3d;③伴有基础疾病如免疫缺陷、血液肿瘤等系统疾病或合并其他多系统疾病者;④入院前已给予抗生素治疗;⑤合并其他明确细菌、真菌、支原体或病毒感染。

1.1.2 鉴定仪器及试剂 VITEK MS(VITEK Mass Spectrometry, VITEK 质谱仪),VITEK 2 COMPACT;VITEK MS-CHCA 基质(主要成分: α -氰基-4-羟基肉桂酸);VITEK 2 NH 鉴定卡。法国梅里埃公司的ATB HAEMO药敏板,bioMerieux,sa公司的 β -内酰胺酶快速检测试剂盒 Cefinase TM(CEF-F)。

1.2 检测方法

1.2.1 细菌培养与鉴定 标本接种于专门的嗜血巧克力平板,置于5%~10%的二氧化碳培养箱(35℃)培养18~24h,挑取灰白色、扁平、较小、无色透明似露滴状的菌落直接上VITEK MS鉴定或用VITEK 2上VITEK 2NH Test Card 鉴定。

1.2.2 β -内酰胺酶检测 β -内酰胺酶检测采用 β -内酰胺酶快速检测试剂盒检测。

1.2.3 药敏试验 采用法国梅里埃公司的ATB HAEMO药敏板条,根据美国临床与实验室标准化协会(CLSI)2016年判断标准^[3]进行药敏结果判断。

1.3 统计学方法 采用世界卫生组织(WHO)提供的WHO-NET 5.6软件进行耐药性统计分析,耐药率比较采用SPSS 11.0软件进行 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流感嗜血杆菌产 β -内酰胺酶阳性检出情况 2014~2017年我院儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌产 β -内酰胺酶阳性率:2014~2015年检出27例(10.00%),2015~2016年检出45例(15.79%),2016~2017年检出137例(43.91%),产 β -内酰胺酶阳性率明显增高($\chi^2 = 107.026, P < 0.05$)。

2.2 流感嗜血杆菌对抗生素的敏感性检测情况 流感嗜血杆菌对头孢克洛、复方新诺明耐药率分别由35.56%、52.22%均上升至100%,存在明显耐药($P < 0.001$),对氯霉素、阿莫西林/棒酸、头孢呋辛、氨苄西林耐药率分别由2.96%、12.59%、25.56%、48.52%上升至10.90%、65.71%、84.62%、83.97%,存在明显耐药($P < 0.001$ 或 $P < 0.01$)。对头孢噻肟、氧氟沙星,未见明显差异,近3年无明显耐药。对四环素耐药率最高的2015~2016年也只有2.80%,说明耐药少见。见表1、表2。

表1 2014~2017年流感嗜血杆菌药物敏感性检测情况 (n)

| 抗生素 | 2014~2015年 ($n = 270$) | | | 2015~2016年 ($n = 285$) | | | 2016~2017年 ($n = 312$) | | |
|---------|-----------------------------|----|-----|-----------------------------|----|-----|-----------------------------|----|-----|
| | 耐药 | 中介 | 敏感 | 耐药 | 中介 | 敏感 | 耐药 | 中介 | 敏感 |
| 头孢克洛 | 96 | 15 | 159 | 142 | 37 | 106 | 312 | 0 | 0 |
| 头孢噻肟 | 0 | 0 | 270 | 0 | 0 | 285 | 0 | 0 | 312 |
| 复方新诺明 | 141 | 0 | 129 | 190 | 0 | 95 | 312 | 0 | 0 |
| 氯霉素 | 8 | 0 | 262 | 19 | 0 | 266 | 34 | 35 | 243 |
| 阿莫西林/棒酸 | 34 | 10 | 226 | 50 | 0 | 235 | 205 | 0 | 107 |
| 氨苄西林 | 131 | 0 | 139 | 193 | 0 | 92 | 262 | 0 | 50 |
| 头孢呋辛 | 69 | 12 | 189 | 131 | 37 | 117 | 264 | 0 | 48 |
| 氧氟沙星 | 0 | 0 | 270 | 0 | 0 | 285 | 0 | 0 | 312 |
| 四环素 | 4 | 3 | 263 | 8 | 10 | 267 | 0 | 36 | 276 |

表2 2014~2017年流感嗜血杆菌耐率及产 β -内酰胺酶阳性率比较 (n,%)

| 抗生素 | 2014~2015年耐药率 (n=270) | 2015~2016年耐药率 (n=285) | 2016~2017年耐药率 (n=312) | χ^2 | P |
|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------|--------|
| 头孢克洛 | 96(35.56) | 142(49.82) | 312(100.00) | 293.087 | <0.001 |
| 头孢噻肟 | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | | |
| 复方新诺明 | 141(52.22) | 190(66.67) | 312(100.00) | 184.890 | <0.001 |
| 氯霉素 | 8(2.96) | 19(6.67) | 34(10.90) | 14.020 | 0.001 |
| 阿莫西林/棒酸 | 34(12.59) | 50(17.54) | 205(65.71) | 231.370 | <0.001 |
| 氨苄西林 | 131(48.52) | 193(67.72) | 262(83.97) | 83.066 | <0.001 |
| 头孢呋辛 | 69(25.56) | 131(45.96) | 264(84.62) | 212.689 | <0.001 |
| 氧氟沙星 | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | | |
| 四环素 | 4(1.48) | 8(2.81) | 0(0.00) | 8.625 | 0.013 |

3 讨论

流感嗜血杆菌(Hi)是嗜血杆菌属中对人有致病性的最常见的细菌,需氧或兼性厌氧,最适生长温度为35.0~37.0℃,生长要求特殊,需加新鲜血液成分(主要含V和V因子)才能生长,大小为宽0.3~0.4 μm ,长1.0~1.5 μm 。无鞭毛或芽孢,多数有菌毛,有些菌株有荚膜。Hi荚膜多糖抗原均有型特异性,据此分为a~f 6个血清型,其中b型流感嗜血杆菌致病性最强。另有荚膜缺陷型称为非分型流感嗜血杆菌^[4]。流感嗜血杆菌通过自身的黏附素入侵鼻、咽和喉等部位的上皮细胞,同时通过改变外膜蛋白逃逸巨噬细胞和中性粒细胞的吞噬,从而在上呼吸道长期定植^[5]。流感嗜血杆菌是儿童呼吸道感染常见病原体,耐药率在逐渐上升,各地区有明显差异,因此,流感嗜血杆菌感染近年来受广大儿科医师关注,监测各地区耐药情况,对儿科临床用药有极大指导作用。2003年一项全球性耐药监测显示,Hi对氨苄西林耐药率为1.80%~64.70%^[6]。2009年美国一项研究报道,儿童分离Hi的耐药率为42.00%^[7],中国台湾达55.00%^[8]。2007年国内7所综合性医院和2所儿童医院多中心监测显示,其耐药率为30.10%^[9]。2009~2010年国内17座城市17所综合性医院、1所儿童医院和1所妇女儿童医疗中心监测显示,其耐药率为21.60%^[10]。 β -内酰胺类抗菌药物[如阿莫西林和氨苄西林(AMP)]是治疗流感嗜血杆菌感染的首选药物^[11]。1997年,在欧洲首先出现对AMP耐药的流感嗜血杆菌菌株,随后在全球范围内均有相关报道^[12-13]。目前,国内的研究报道显示流感嗜血杆菌对AMP的耐药率不断提升,且不同地区间存在一定的差异^[14-15]。产 β -内酰胺酶是流感嗜血杆菌对AMP产生耐药性的主要机制^[16]。有研究证实,质粒介导产生的TEM型酶是流感嗜血杆菌的主要耐药酶, β -内酰胺酶阳性菌株可能对AMP、阿莫西林和青霉素均耐药,且绝大多数AMP、阿莫西林耐药株可产生blaTEM型 β -内酰胺酶^[17]。本研究

显示2014年6月至2017年6月,流感嗜血杆菌耐药形势严峻,流感嗜血杆菌对氨苄西林、阿莫西林/棒酸耐药率分别由12.59%、48.52%上升至65.71%、83.97%,耐药明显高于中国CHINET细菌耐药性监测2013年数据分析968株流感嗜血杆菌对氨苄西林的耐药率39.30%^[18],产 β -内酰胺酶阳性率由10.00%上升至43.91%,与甄杨等报道^[19]产 β -内酰胺酶阳性率53.10%及任晓艳等报道^[20]产 β -内酰胺酶阳性率为52.80%相当,高于龚松迪等报道^[21]产 β -内酰胺酶阳性率26.70%以及陶云珍等^[22]报道产 β -内酰胺酶阳性率30.80%。对头孢呋辛耐药率上升趋势尤为明显,由25.56%上升至84.62%,对头孢克洛、复方新诺明耐药率分别由35.56%、52.22%变为完全耐药,明显高于国内相关流感嗜血杆菌耐药报道^[22-25],对氯霉素耐药率由2.96%上升至10.90%,与王爱华报道^[26]我国儿童分离Hi菌株对氯霉素耐药性较低,2000年至2012年间维持在10.00%左右相近。对四环素有少许耐药,2014-2016年发现12例,2016~2017年未见耐药病例,可能与四环素近期少用于儿童有关。本研究一方面说明流感嗜血杆菌耐药存在地域性差异,与各地的用药习惯有关,另一方面说明氨苄西林、阿莫西林/棒酸、头孢呋辛、头孢克洛、复方新诺明在该地区已存在明显耐药($P < 0.001$),不宜作为该地区抗流感嗜血杆菌一线用药。同时产 β -内酰胺酶流感嗜血杆菌比例明显增加($P < 0.001$),产 β -内酰胺酶是流感嗜血杆菌耐药增加的重要机制。对头孢噻肟(头孢三代)、氧氟沙星近3年未发现有耐药菌株,对四环素有较高的敏感性,与王爱华报道相近^[26]。结合儿童用药安全性,目前头孢三代是该地区抗流感嗜血杆菌儿童适宜选择用药。

控制儿童Hi感染的最有效措施是疫苗预防,世界范围内已有近90个国家和地区应用Hib疫苗,免疫人群主要为2岁以下的婴幼儿,明显降低了Hib导致的儿童感染,严重侵袭性感染病例减少更为明显^[26]。耐

药菌株的出现和不断上升的耐药水平造成了临床治疗的失败,给患者和社会造成了严重的负担。对耐药状况的持续监测,深入了解各种药物的耐药机制十分必要。通过掌握流感嗜血杆菌耐药流行情况,指导临床医师合理用药;耐药机制的阐明,便于研制出新的抗菌药物,也有利于临床医生为合理地联合用药提供可靠依据^[27],使儿科医师有指征使用抗生素,合理使用抗生素,有条件可行病原体检测,避免滥用抗生素,对减少相关药物耐药,以及减慢 β -内酰胺酶菌株产生可能有一定作用。

参考文献:

- [1] 覃平良,汤丽霞,龙显科. 325例儿童呼吸道感染的病原菌种类及耐药分析[J]. 右江民族医学院学报, 2014, 36(4): 609-611.
- [2] 王卫平. 儿科学[M]. 8版. 北京:人民卫生出版社, 2013: 264-286.
- [3] 张雅薇,王辉. 2016年CLSIM100S(第26版)主要更新内容解读[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(3): 165-169.
- [4] 张力平. 嗜血杆菌属[M]//贾文祥. 医学微生物学. 2版. 北京:人民卫生出版社, 2010: 195-197.
- [5] Polat E, Duman U, Duman M, et al. Diagnostic value of preoperative serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 in colorectal cancer [J]. Curr Oncol, 2014, 21(1): e1-7.
- [6] Kohno S, Hoban D, Protekt Surveillance Study Group. Comparative in vitro activity of telithromycin and beta-lactam antimicrobials against bacterial pathogens from community-acquired respiratory tract infections: data from the first year of PROTEKT(1999-2000)[J]. J Chemother, 2003, 15(4): 335-341.
- [7] Harrison CJ, Woods C, Stout G, et al. Susceptibilities of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, including serotype 19A, and *Moraxella catarrhalis* paediatric isolates from 2005 to 2007 to commonly used antibiotics [J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(3): 511-519.
- [8] Jean SS, Hsueh PR, Lee WS, et al. Nationwide surveillance of antimicrobial resistance among *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* in intensive care units in Taiwan [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009, 28(8): 1013-1017.
- [9] 张泓,李万华,王传清,等. 2007年中国CHINET流感嗜血杆菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(3): 207-209.
- [10] 李耘,吕媛,薛峰,等. 我国2009至2010年MOHNARIN项目临床分离常见病原菌的耐药监测[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(1): 67-87.
- [11] Skaare D, Lia A, Hannisdal A, et al. *Haemophilus influenzae* with Non-Beta-Lactamase-Mediated Beta-Lactam Resistance: Easy To Find but Hard To Categorize [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(11): 3589-3595.
- [12] Strausbaugh LJ. *Haemophilus influenzae* infections in adults: a pathogen in search of respect [J]. Postgrad Med, 1997, 101(2): 191-192, 195-196, 199-200.
- [13] Tristram S, Jacobs MR, Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae* [J]. Clin Microbiol Rev, 2007, 20(2): 368-389.
- [14] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2014年CHINET中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
- [15] Xiao Y, Wei Z, Shen P, et al. Bacterial-resistance among outpatients of county hospitals in China: significant geographic distinctions and minor differences between central cities [J]. Microbes Infect, 2015, 17(6): 417-425.
- [16] Cherkaoui A, Diene SM, Emonet S, et al. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates in Geneva: serotype antimicrobial susceptibility and β -lactam resistance mechanisms [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015, 34(10): 1937-1945.
- [17] San Millan A, Santos-Lopez A, Ortega-Huedo R, et al. Small-plasmid-mediated antibiotic resistance is enhanced by increases in plasmid copy number and bacterial fitness [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(6): 3335-3341.
- [18] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 365-374.
- [19] 甄杨,宋文琪,董方,等. 儿童患者中分离350株流感嗜血杆菌的分布和耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(6): 658-662.
- [20] 任晓艳,卯建. 2012至2015年昆明医科大学第一附属医院流感嗜血杆菌耐药性监测[J]. 昆明医科大学学报, 2017, 38(10): 45-49.
- [21] 龚松迪,华春珍,李建平,等. 浙江大学医学院附属儿童医院2007—2014年546株流感嗜血杆菌耐药模式及流行特点研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2016, 31(12): 915-919.
- [22] 陶云珍,王运中,吾金彪,等. 苏州地区2011—2012年儿童感染流感嗜血杆菌耐药新特征[J]. 临床儿科杂志, 2013, 31(9): 845-849.
- [23] 田磊,陈中举,李丽,等. 2008—2010年湖北省流感嗜血杆菌标本分布及耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(2): 125-127.
- [24] 曾国强,唐曼娟,易红根. 453株流感嗜血杆菌的耐药性分析[J]. 实用预防医学, 2014, 21(7): 864-865.
- [25] 熊冰,吴小娟,黄文红. 146株流感嗜血杆菌的分离培养与耐药分析[J]. 国际检验学杂志, 2016, 37(6): 792-794.
- [26] 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, 31(4): 256-258.
- [27] 桂和翠,王中新,沈纪录. 流感嗜血杆菌的耐药性及耐药机制[J]. 安徽医药, 2011, 15(12): 1471-1474.

收稿日期:2017-12-21;修回日期:2018-04-15