

## 2004—2009年益阳市中心医院临床分离肺炎链球菌的血清型/群分布及耐药性监测

张雪华

益阳市中心医院 药剂科, 湖南 益阳 413000

**摘要:** **目的** 了解近5年益阳市中心医院临床分离肺炎链球菌的血清型/群分布及耐药趋势, 为临床合理使用抗生素提供参考。**方法** 以2004—2009年期间临床分离的822株肺炎链球菌为研究对象, 采用荚膜肿胀试验进行血清分型/群, E-test检测菌种对青霉素、头孢呋辛、头孢地尼、头孢克罗、红霉素、四环素、左氧氟沙星、万古霉素等8种抗生素的敏感性。**结果** 2004年青霉素不敏感肺炎链球菌(PNSP)的分离率为49.4%, 并呈逐年上升趋势, 至2006年PNSP分离率高达67.8%, 2009年下降至51.5%。822株肺炎链球菌最常见的型/群是19群, 其次是23、6、14、3群和其他。PNSP在6种血清型/群中所占的比例在2004—2009年期间无显著性变化( $P>0.05$ )。肺炎链球菌对其他 $\beta$ 内酰胺类抗生素的非敏感趋势类似青霉素, 对红霉素、四环素的非敏感率始终在60%以上, 其中青霉素耐药肺炎链球菌(PRSP)对红霉素和四环素几乎100%耐药, 对左氧氟沙星、万古霉素的非敏感率均 $<3\%$ 。**结论** 临床分离肺炎链球菌以19、23、6、14、3群常见; 对 $\beta$ 内酰胺类抗生素的非敏感率自2007年呈下降趋势, 且对左氧氟沙星、万古霉素始终具有较高的敏感性。

**关键词:** 肺炎链球菌; 血清型/群; 耐药性; 抗生素; 荚膜肿胀试验

中图分类号: R378.1 R915 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)02-0101-04

## Serotype/serogroup distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated from clinical patients and surveillance on antimicrobial resistance in 2004—2009

ZHANG Xue-hua

Department of Pharmacy, Yiyang City Central Hospital in Hunan Province, Yiyang 413000, China

**Abstract: Objective** To investigate serotype/serogroup distribution and the trend of antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients hospitalized for pneumonia in Yiyang City Central Hospital, so as to provide the guidance for rational clinical treatment. **Methods** Eight hundred and twenty two strains of *S. pneumoniae* were collected from 2004 to 2009. The isolates were serotyped/serogrouped with the quellung reaction, and minimal inhibition concentrations (MIC) of Penicillin, Cefuroxime, Cefdinir, Cefaclor, Erythromycin, Tetracycline, Levofloxacin, and Vancomycin were determined by E-test. **Results** The prevalence of Penicillin-nonsusceptible *S. pneumoniae* (PNSP) isolates increased gradually from 49.4% in 2004 to a statistical peak in 2006 (67.8%), then decreased to 51.0% in 2009. Among 822 strains of *S. pneumoniae*, the most prevalent serotypes/serogroups are groups 19, 23, 6, 14, 3, and others. The distribution of six serotypes in PNSP isolates was not statistically different during the years ( $P>0.05$ ). The prevalence of *S. pneumoniae* isolates nonsusceptible to other  $\beta$ -lactam antibiotics was similar to Penicillin. The prevalence of strains nonsusceptible to Erythromycin and Tetracycline was consistently  $>60\%$ . Almost all PRSP were resistant to both Erythromycin and Tetracycline throughout the period. The prevalence of strains resistant to Levofloxacin and Vancomycin were  $<3\%$  over the period. **Conclusion** Serotype/serogroup 19, 23, 6, 14, and 3 are the common groups in *S. pneumoniae* isolated from clinic patients. Decreased prevalence of  $\beta$ -lactam resistant strains has been occurring since 2007, and these *S. pneumoniae* strains are highly sensitive to Levofloxacin and Vancomycin consistently.

**Key words:** *Streptococcus pneumoniae* (Klein) Chester; serotype/serogroup; antimicrobial resistance; antibiotics; quellung reaction

肺炎链球菌 *Streptococcus pneumoniae* (Klein) Chester 是社区获得性肺炎、脑膜炎、中耳炎等的常见致病菌, 根据其荚膜多糖不同的抗原性, 分为 46

个血清群和 90 个血清型, 且其分布具有地域差异性<sup>[1]</sup>。长期以来, 青霉素等  $\beta$  内酰胺类抗生素是治疗肺炎链球菌感染的首选药物, 但从 20 世纪 70 年

收稿日期: 2010-12-30

作者简介: 张雪华 Tel: 13875380450 E-mail: zhicq1212@126.com

代, 南非、西班牙报道分离出耐青霉素肺炎链球菌以来, 对青霉素不敏感的菌株呈现不断增长的趋势<sup>[2]</sup>。同时, 世界各地有关肺炎链球菌对 3 种或 3 种以上抗菌药同时耐药的多重耐药菌株的研究报道明显增加<sup>[3]</sup>。近年来, 国内也有多个肺炎链球菌的耐药性监测报道, 其对青霉素不敏感率存在一定差异, 且对儿童分离菌株血清型/群的研究较多。因此, 本研究将 2004 年 1 月至 2009 年 12 月收集的从益阳市中心医院住院肺炎成人患者临床分离的肺炎链球菌 822 株进行血清学分型及临床常用抗菌素的药敏测定, 用以指导临床合理用药。

## 1 材料与方法

### 1.1 细菌来源与鉴定

2004 年 1 月至 2009 年 12 月收集的从益阳市中心医院住院肺炎成人患者临床分离的肺炎链球菌 822 株。菌株标本来源包括: 769 株从痰液培养分离, 38 株从血液培养分离, 3 株从脑脊液分离, 12 株取自分泌物。所有菌株均采用法国生物梅里埃公司的 API 细菌鉴定系统进行鉴定。

### 1.2 药敏试验

采用 E 试验最小抑菌浓度 (MIC) 法对分离的菌株进行 8 种抗生素药敏试验, 包括青霉素、头孢呋辛、头孢地尼、头孢克罗、红霉素、四环素、左氧氟沙星、万古霉素。药敏培养基为 Mueller-Hinton (英国 Oxoid 公司) 加 5% 脱脂羊血, 25 mL、90 mm 平皿。判断标准按照美国临床实验室标准化研究所 (CLSI) M100—A20 标准执行 (表 1), 根据青霉素敏感性分为青霉素敏感肺炎链球菌 (PSSP)、青霉素中介肺炎链球菌 (PISP) 和青霉素耐药肺炎链球菌 (PRSP), PISP 和 PRSP 合称青霉素不敏感肺炎链球菌 (PNSP)。药敏质量控制株为肺炎链球菌 ATCC49619。

表 1 肺炎链球菌 MIC 值解释标准/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

Table 1 Standard of MIC value of *S. pneumoniae* / ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

抗生素	敏感 (S)	中介 (I)	耐药 (R)
青霉素	$\leq 0.06$	0.12~1	$\geq 2$
头孢呋辛	$\leq 0.5$	1	$\geq 2$
头孢地尼	$\leq 0.5$	1	$\geq 2$
头孢克罗	$\leq 1$	2	$\geq 4$
红霉素	$\leq 0.25$	0.5	$\geq 1$
四环素	$\leq 2$	4	$\geq 8$
左氧氟沙星	$\leq 2$	4	$\geq 8$
万古霉素	$\leq 1$	—	—

### 1.3 血清型分型

通过荚膜肿胀反应 (quellung reaction) 对其进行血清学分型, 诊断血清购自丹麦 Statens Serum Institute。

### 1.4 统计学处理

耐药性分析采用世界卫生组织细菌耐药性监测中心推荐的 Whonet 5.4 软件, 非敏感率及血清型/群构成比的比较采用 SPSS17.0 软件  $\chi^2$  检验进行统计学分析。

## 2 结果

### 2.1 肺炎链球菌对青霉素的敏感性

2.1.1 各年度 PNSP 分离构成比 2004 年 PRSP 的分离率为 23.9%, 并逐年升高, 2006 年高达 36.2%, 之后有所下降, 到 2009 年 PRSP 的分离率为 16.7%; PISP 呈现持续上升的趋势; 2004—2009 年 PNSP (PRSP+PISP) 在本院临床分离肺炎链球菌株中的构成比有显著差异性 ( $\chi^2=13.39$ ,  $P=0.02$ ), 其中 2006 年的分离率明显高于 2004 年和 2009 年 (分别  $\chi^2=11.25$ ,  $P=0.00$ ;  $\chi^2=7.23$ ,  $P=0.007$ ), 结果见表 2。

表 2 2004—2009 年 PNSP 分离构成比

Table 2 Separation constituent ratio of PNSP in 2004—2009

年份	总数/株	PRSP/株 (%)	PISP/株 (%)	PNSP(PRSP+PISP)/株 (%)
2004	176	42(23.9)	45(25.5)	87(49.4)
2005	100	27(27.0)	27(27.0)	54(54.0)
2006	152	55(36.2)	48(31.6)	103(67.8)
2007	140	41(29.3)	42(30.0)	83(59.3)
2008	152	39(25.7)	47(30.9)	86(56.6)
2009	102	17(16.7)	35(34.3)	52(51.0)
合计	822	221(26.9)	244(29.7)	465(56.6)

2.1.2 各年度肺炎链球菌血清型/群分布构成比 2004—2009 年, 本院临床分离的肺炎链球菌在血清型/群构成比上有显著性差异 ( $\chi^2=42.94$ ,  $P=0.01$ ), 其中以 19 群最为常见, 占 23.6%, 其次是 6 群 (19.7%)、23 群 (16.8%)、3 群 (15.5%)、14 群 (5.1%), 其他血清型 (19.3%), 但 PNSP 在 6 种血清型/群中所占的比例在 2004—2009 年期间无显著性变化 ( $\chi^2=34.45$ ,  $P=0.099$ ), 见表 3。

### 2.2 肺炎链球菌对其他抗菌药物的敏感性

2004—2009 年, 本院临床分离的肺炎链球菌对其他  $\beta$  内酰胺类抗生素, 包括头孢呋辛、头孢地尼、

头孢克罗的非敏感(耐药+中介)趋势类似青霉素, 三者比较无统计学差异( $\chi^2=11.87, P=0.689$ ), 对红霉素和四环素的非敏感率较高, 各年度均在60%以上, 二者比较亦无统计学差异( $\chi^2=9.79, P=$

0.83), 但显著高于其他 $\beta$ 内酰胺类抗生素( $\chi^2=35.7, P=0.00$ )。肺炎链球菌对左氧氟沙星和万古霉素一直保持着较高的敏感性, 各年度其非敏感率均 $<3\%$ 。见表4。

表3 2004—2009年肺炎链球菌血清型/群分布

Table 3 Serotype/serogroup distribution of *S. pneumoniae* in 2004—2009

年份	菌株血清型/群分布*						合计
	3	6	14	19	23	其他	
2004	0/36	20/26	1/1	32/44	22/26	12/43	87/176
2005	0/6	16/26	7/8	11/25	11/15	9/20	54/100
2006	0/19	20/30	4/13	36/36	30/34	13/20	103/152
2007	0/26	20/30	4/6	32/37	18/20	9/21	83/140
2008	1/26	30/33	8/9	21/30	17/24	9/30	86/152
2009	0/14	9/17	1/5	18/22	15/19	9/25	52/102
合计	1/127	115/162	25/42	150/194	113/138	61/159	465/822

\* PNSP/SP

表4 肺炎链球菌对8种抗生素的非敏感率比较

Table 4 Prevalence of *S. pneumoniae* nonsusceptible to eight antibiotics

年份	株数	非敏感率/%							
		青霉素	头孢呋辛	头孢地尼	头孢克罗	红霉素	四环素	左氧氟沙星	万古霉素
2004	176	49.4	30.7	15.9	42.6	75.0	72.7	1.1	0
2005	100	54.0	36.0	15.0	52.0	87.0	92.0	1.0	0
2006	152	67.8	44.1	34.9	62.5	79.6	72.4	0	0.6
2007	140	59.3	47.1	25.0	50.0	70.7	80.7	1.4	0
2008	152	56.6	33.6	30.2	61.4	96.1	91.4	0.7	0.7
2009	102	51.0	33.3	20.6	46.1	85.3	77.5	0	0
合计	822	56.6	37.5	24.1	52.6	81.8	80.4	0.7	0.2

### 3 讨论

肺炎链球菌是社区获得性肺炎、中耳炎、鼻窦炎、脑膜炎的主要病原菌, 对人类健康构成了一定的威胁, 长期以来, 青霉素等 $\beta$ 内酰胺类抗生素是治疗肺炎链球菌感染的首选抗生素, 但随着抗生素的大量使用和临床医生凭经验用药, 导致耐青霉素菌株和多重耐药菌株持续增加, 亚洲地区耐药性病原监测网(ANSORP)的监测结果表明, 中国PNSP从1997年的9.8%增加到2001年的43.2%, 增长幅度明显, 应予以重视<sup>[3]</sup>。

通过对益阳市中心医院住院肺炎成人患者分离的肺炎链球菌连续6年的抗生素耐药监测, 结果表明, 2004—2009年PNSP的分离率为56.6%, PRSP分离率为26.9%, PISP分离率为29.7%, 与Song

等<sup>[4]</sup>对亚州11个国家14个临床中心收集的肺炎链球菌的青霉素非敏感率(55%)结果接近。董一山等<sup>[5]</sup>报道重庆地区2006—2008年临床分离143株肺炎链球菌药敏结果显示, 对青霉素不敏感菌株占58.1%, 其中高耐药菌株12.6%, 中介菌株45.5%, 与本研究结果接近。对其他 $\beta$ 内酰胺类抗生素, 包括头孢呋辛、头孢地尼、头孢克罗的非敏感(耐药+中介)趋势类似青霉素, 三者比较无统计学差异( $\chi^2=11.87, P=0.689$ )。三代头孢菌素如头孢地尼的敏感性有所下降, 但根据体外药敏试验, 仍可作为临床治疗肺炎链球菌感染的肺炎成人患者的首选药, 而二代头孢菌素头孢呋辛和头孢克罗的耐药率较高。特别是头孢呋辛已达52.6%, 不宜作为临床治疗肺炎链球菌感染的肺炎成人患者的一线药

物。随着大环内酯类抗生素的广泛应用,对其耐药的肺炎链球菌 (macrolides resistance *Streptococcus pneumoniae*, MRSP) 比例越来越高。国内2000—2001 年对上呼吸道感染儿童鼻咽部肺炎链球菌耐药监测显示 MRSP 分别为北京 87.9%、上海 84%、广州 78%、西安 96.7%<sup>[1]</sup>, 赵瑞珍等<sup>[6]</sup>报道临床分离的 90 株肺炎链球菌对红霉素的耐药率高达 98.8%。本研究结果显示,对红霉素和四环素的非敏感率分别为 81.8%、80.4%,以上结果表明,大环内酯类和四环素类药物已经不能作为肺炎链球菌感染的治疗药物。研究资料表明<sup>[7-8]</sup>,肺炎链球菌通常对万古霉素 100%敏感,但本研究中,2006 年和 2008 年各分离出一株耐万古霉素的菌株,并经过重复检测验证。当前肺炎链球菌对喹诺酮类药物具有较高的敏感率,本研究对左氧氟沙星的敏感率为 99%,高于董一山等<sup>[5]</sup>报道的 95.8%。

本研究结果显示,2004—2009 年本院住院肺炎成人患者的血清型/群以 19、23、6、14、3 群常见,分别占 23.6%、16.8%、19.7%、15.5%、5.1%,其他血清型占 19.3%。张璟等<sup>[9]</sup>对武汉地区 2004 年的 152 株临床分离肺炎链球菌进行研究分析,其常见血清型为 19、23、6、15 和 14 群,分别占 25.66% (39 株)、19.08% (29 株)、13.82% (21 株)、7.24% (11 株)、4.61% (7 株),与本研究中的分型有一定的差异,这可能与标本的来源及样本量有一定的关系。进一步分析发现,各年度临床分离的肺炎链球菌在血清型/群构成比上有显著性差异 ( $\chi^2=42.94$ ,  $P=0.01$ ),但 PNSP 在 6 种血清型/群中所占的比例在 2004—2009 年期间无显著性变化 ( $\chi^2=34.45$ ,  $P=0.099$ )。提示血清型/群不仅存在地域差异,而且要对其进行连续性监测,密切监测血清型/群的变化,以便能准确地应用疫苗。至于各血清型对其他抗菌药物的敏感性分析,有待进一步探讨。

总之,随着肺炎链球菌对多种抗菌药物的耐药现象日益加重,作为医务工作者应严格按照细菌培养和体外药敏试验结果,灵活合理的应用抗生素。

#### 参考文献

- [1] 姚开虎, 陆 权, 邓 力, 等. 2000—2002 年三家儿童医院分离的肺炎链球菌血清型分布及其对  $\beta$  内酰胺类抗生素敏感性的变化 [J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(12): 928-932.
- [2] Suzuki K, Nishimaki K, Okuyama K, *et al.* Trend in antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in the Tohoku District of Japan: A longitudinal analysis from 1998 to 2007 [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2010, 220: 47-57.
- [3] 丁晶晶, 施 毅. 耐青霉素肺炎链球菌的研究进展 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(1): 68-71.
- [4] Song J H, Jung S I, Ki H K, *et al.* Clinical outcomes of *Pneumococcal pneumonia* caused by antibiotic resistant strains in asian countries: a study by the asian network for surveillance of resistant pathogens [J]. *Clin Infect Dis*, 2004, 38(11): 1570-1578. .
- [5] 董一山, 黄文祥, 章 成, 等. 重庆地区临床分离肺炎链球菌血清型及耐药分析基因多态性 [J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(1): 59-64.
- [6] 赵瑞珍, 郑跃杰, 邓秋莲, 等. 广东省深圳社区获得性肺炎患儿肺炎链球菌的血清群/型的分布及其耐药性 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(3): 205-208.
- [7] Noguchi N, Tano J, Nasu Y, *et al.* Antimicrobial susceptibility and distribution of resistance genes for beta-lactama and macrolides in *Streptococcus pneumoniae* isolated between 2002 and 2004 in Tokyo [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2007, 29(1): 26 -33.
- [8] 姚开虎, 王立波, 赵根明, 等. 四家儿童医院住院肺炎病例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.
- [9] 张 璟, 孙自镛, 马 越, 等. 152 株肺炎链球菌的耐药性及血清分型研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(4): 468-471