

明显,22 项药敏试验结果有 13 项明显改变,9 种药物对奴卡菌 R 型 无抑菌环,而奴卡菌变异株 S 型均有较大的抑菌环,纵观药敏实验结果,发现奴卡菌对抗菌药物敏感性较差,而变异株敏感很好。导致变异株生物学性状改变的机制是什么;药物、生长环境、营养条件能否引起其变异;这种变异对奴卡菌病的诊断、治疗影响如何等问题尚待进一步研究。

参考文献

[1] 苍金荣,任健康,王华,等. 唑类抗真菌药物诱导白色念珠菌 L 型的实验研究[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(5):42.
[2] 苍金荣,任健康,王华,等. 临床分离类细菌样变异念珠菌的实验诊断[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(1):59.

• 经验交流 •

[3] 苍金荣,任健康,王华,等. 变异念珠菌常见菌落和菌体形态[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(2):12-14.
[4] 王华,苍金荣,任健康,等. 类细菌样念珠菌变异株对普通抗菌药物敏感性观察[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(4):45-47.
[5] 王华,任健康,苍金荣,等. 白色念珠菌 L 型的生化实验观察[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(5):48-49.
[6] 王华,苍金荣,任健康,等. 类细菌样念珠菌变异株真菌保守基因检测[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(3):39-40.
[7] 蓝珂,覃善芳,岳静. 获得性免疫缺陷综合征合并奴卡菌病误诊为结核病复发一例[J]. 中华结核和呼吸杂志,2012,35(8):623-624.

(收稿日期:2013-05-26)

青岛部分老年患者呼吸道感染嗜血杆菌感染及耐药分析

江秀爱¹,刘淑慧²,赵自云¹

(1. 山东省青岛市中心医院检验科,山东青岛 266042;2. 山东省即墨市第三人民医院检验科,山东即墨 266200)

摘要:目的 了解山东省青岛部分老年患者呼吸道感染中临床分离流感嗜血杆菌的耐药性,为临床合理用药提供依据。方法 用手工法和 Mic SCAN4 半自动细菌鉴定分析仪,HNID 鉴定板对分离培养的 119 株流感嗜血杆菌进行菌种鉴定。用纸片琼脂扩散(K-B)法进行药敏试验,采用头孢硝噻吩纸片法进行β内酰胺酶检测。结果 临床分离流感嗜血杆菌 119 株,β内酰胺酶株产酶率为 36.1%。药敏结果显示对美罗培南、头孢呋辛、头孢噻肟的耐药率较低,均小于 5%,是治疗流感嗜血杆菌的首选药物。结论 青岛部分老年患者呼吸道感染嗜血杆菌感染可选美罗培南、头孢呋辛、头孢噻肟作为治疗流感嗜血杆菌的首选药物。

关键词:流感嗜血杆菌; 药物耐受性; 呼吸道感染; β内酰胺酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.063 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2013)17-2330-02

流感嗜血杆菌是革兰阴性小杆菌,属苛养性细菌,是口腔、鼻咽部的正常菌群,也是重要的机会致病菌,是健康人鼻咽部常见菌之一,引起感染的机会与机体的免疫有关。当老年人机体免疫力下降时,可引起局部和侵入性感染如中耳炎、会厌炎、脑膜炎和支气管炎、肺炎及其他呼吸道疾病^[1]。由于老年人的生理特点,该菌引起的在老年人呼吸道感染发病中占重要地位。因此,对老年人呼吸道感染嗜血杆菌的感染及耐药情况进行分析,为临床治疗提供实验室的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 10 月至 2012 年 9 月自青岛市中心医院、青岛市肿瘤医院、青岛市职业病防治院、四方区及李沧区周边的社区医院采集 5 682 份门诊及住院呼吸道感染老年患者的痰液和咽拭子标本,共检出 119 株,其中痰液标本 5 416 份,检出流感嗜血杆菌 116 株,咽拭子标本 266 份,检出流感嗜血杆菌 3 株,患者年龄 60~99 岁,剔除同一患者同一部位分离的重复菌株。

1.2 抗菌药敏纸片 氨苄西林、头孢噻肟、阿奇霉素、氯霉素、头孢呋辛、左氧氟沙星、美罗培南、复方磺胺甲噁唑、阿莫西林-克拉维酸抗菌药敏纸片均为英国 OXOID 公司产品。头孢硝噻吩纸片为法国生物梅里埃公司产品。

1.3 培养基 哥伦比亚琼脂、流感嗜血杆菌药敏试验培养基(HTM)和营养补充剂 SRO158E 均为英国 OXOID 公司产品。

1.4 方法

1.4.1 痰标本质量控制 痰标本留取晨痰,患者清晨漱口后深部咳痰,留取于无菌痰杯内,立即送检,对排痰困难或机械通气的患者采用一次性吸痰管或纤维支气管镜从气道内吸痰留取,直接涂片革兰染色镜检,白细胞大于 25 个/低倍视野,上皮细胞小于 10 个/低倍视野,为合格痰培养标本。

1.4.2 咽拭子标本 清晨漱口后,将咽拭子在咽后壁或悬雍垂后侧涂抹数次,勿接触口腔和舌黏膜,立即送检接种,经培养后为优势菌或纯培养,考虑为呼吸道感染的病原菌。

1.4.3 嗜血杆菌分离及鉴定 根据《临床检验操作规程》第 3 版^[2]的要求,取临床送检的合格标本立即接种在巧克力平皿及血平皿上,在 5%~10% CO₂ 环境中 35℃ 培养 18~24 h,挑取在血平皿上不生长,巧克力平皿上生长的表面光滑、细小、透明或半透明、有光泽似露滴状的菌落,进行革兰染色,镜检为革兰阴性小杆菌(多形性)。然后将该菌与金葡菌 ATCC 25923 共同接种在羊血平皿及 M-H 平皿上,观察有无“卫星现象”,如血平皿上卫星试验阳性,M-H 平皿上卫星试验阴性者,为流感嗜血杆菌。再将纯分的革兰阴性杆菌用 Mic SCAN4 半自动细菌鉴定分析仪,HNID 鉴定板进行菌种鉴定。

1.4.4 抗菌药物敏感性试验 采用纸片扩散法(Kirby-Bauer 法),以 HTM 琼脂为培养基,并根据 CLSI 2009 年标准判定结果。质控菌株为流感嗜血杆菌 ATCC 49247。

1.4.5 β内酰胺酶检测试验 采用头孢硝噻吩纸片法,按照说明书操作,纸片变红表示β内酰胺酶试验阳性,不变色为阴性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计学软件进行处理。所有数据均采用χ²检验对各组数据进行统计学分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 呼吸道感染患者流感嗜血杆菌的分离情况 5 682 份呼吸道感染老年患者的痰液及咽拭子标本中共分离出流感嗜血杆菌 119 株,检出率为 2.09%,痰液标本 116 株占 97.5%,咽拭子 3 株占 2.5%。119 株流感嗜血杆菌,其中住院患者分离出 114 株,占 95.8%,门诊患者分离出 5 株,占 4.2%。这与门

诊患者送检率低有关。流感嗜血杆菌在痰的分离率为 2.14% (116/5 416) 高于咽拭子的分离率 1.13% (3/266), 两者比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.2 流感嗜血杆菌的耐药性 119 株流感嗜血杆菌对氨苄西林敏感率为 63.9%, 对阿莫西林-克拉维酸、头孢噻肟、头孢呋辛、美罗培南、阿奇霉素、左氧氟沙星和氯霉素的敏感率均达 80% 以上, 对甲氧苄啶-磺胺甲噁唑的敏感率为 47.1%。119 株流感嗜血杆菌中, 对 3 种以上抗菌药物耐药的共 9 株 (7.5%); 而产生 β 内酰胺酶 43 株中, 对 3 种以上抗菌药物耐药的共 4 株 (3.4%), 而 β 内酰胺酶阴性菌株 76 株中对 3 种以上抗菌药物耐药只有 2 株 (1.7%); 两者比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 119 株流感嗜血杆菌对 9 种抗菌药物的药敏试验结果 (%)

抗菌药物	耐药	敏感
氨苄西林	36.1	63.9
阿莫西林-克拉维酸	18.4	81.6
头孢噻肟	3.4	96.6
头孢呋辛	2.5	97.5
氯霉素	7.6	92.4
阿奇霉素	6.7	93.3
左旋氧氟沙星	7.6	92.4
复方磺胺甲噁唑	52.9	47.1
美罗培南	0.0	100.0

2.3 β 内酰胺酶的检测 119 株流感嗜血杆菌经头孢硝噻吩纸片法检测, 结果显示共检出产 β 内酰胺酶 43 株, 产酶率为 36.1%。在该组试验中, 凡是氨苄西林不敏感菌株, β 内酰胺酶检测均为阳性, 未发现 β 内酰胺酶阴性氨苄西林耐药 (BL-NAR) 菌株。

3 讨 论

流感嗜血杆菌是苛养菌, 对生长环境、营养要求高, 抵抗力较弱, 培养较困难, 在普通培养基上不生长, 只有在含有 V、X 因子的新鲜血液和 5%~10% CO₂ 条件下生长, 检出率通常较低。本调查中流感嗜血杆菌的检出率为 2.09%, 明显低于国内报道^[3]。这可能与区域性以及老年患者留取标本前多数是使用过抗菌药物等有关。在流感嗜血杆菌的分离培养中, 标本的采集培养、培养基的营养成分、生长环境以及对杂菌的抑制, 检验工作者对菌落的认真识别, 对提高检出率非常重要, 因此, 需要加强对各个环节的质量进行监测, 以提高其检出率。

老年患者常患有多种基础疾病, 且免疫功能低下, 组织器官退化, 带菌状态增多, 成为感染性疾病的易感人群^[4]。老年患者呼吸道感染的概率高, 其易感性原因指机体的老化、低营养状态、恶性肿瘤、长期使用糖皮质激素引起免疫功能低下, 呼吸净化功能的减弱引起感染防御能力降低, 造成细菌滋生而致。本资料感染的老年患者多存在一种或一种以上基础疾病, 如各种恶性肿瘤、血液病、糖尿病、尘肺、石棉肺、脑卒中等中枢神经系统疾病。老年患者组织器官发生退行性改变, 机体的防

御力与抵抗力均下降, 并且有频繁的侵入性操作, 损害机体的屏障功能, 极易当免疫功能低下时易使流感嗜血杆菌趁机侵入造成感染, 其耐药性亦逐年上升。因此, 首先应提高老年患者的机体免疫力, 加强老年患者的营养与支持疗法, 合理使用抗菌药物, 预防和检测院内感染的发生。

流感嗜血杆菌对各种抗菌药物的耐药性与其他细菌相比虽处于较低水平, 但也在不断上升。长期以来氨苄西林和阿莫西林是治疗流感嗜血杆菌感染的首选药物, 近年来随着广谱抗菌药物的广泛应用, β 内酰胺酶菌株的不断增加, 氨苄西林耐药菌株随之逐年上升趋势。流感嗜血杆菌对氨苄西林的主要耐药机制是产生 β 内酰胺酶, 编码 β 内酰胺酶的基因主要存在于质粒 DNA 上, 少部分位于染色体 DNA 上。在流感嗜血杆菌中, 质粒介导的 β 内酰胺酶耐药基因目前证实有 TEM-1 和 ROB-12 种, 其中 90% 以上为 TEM-1 型^[5]。本资料 β 内酰胺酶的检出率为 36.1%, 而国内有报道其检出率为 30.77%~44.0%^[3,6]。本资料是以 60 岁以上老年人为主, 多数患者有基础疾病, 同时又有使用过抗菌药物治疗史, 其药敏结果显示, 流感嗜血杆菌对氨苄西林的耐药率为 36.1%, 高于国内报道^[3,6] (30.77%, 25.5%), 比国内有的报道低 (38.1%)^[7], 这可能与本地区临床用药有关, 本组流感嗜血杆菌对 9 种抗菌药物的耐药率从小到大依次为: 美罗培南、头孢呋辛、头孢噻肟、阿奇霉素、左旋氧氟沙星、氯霉素、阿莫西林-克拉维酸、氨苄西林、复方磺胺甲噁唑。其中美罗培南、头孢呋辛、头孢噻肟的耐药率较低, 均小于 5%, 是治疗流感嗜血杆菌的首选药物。而复方新诺明的耐药率也高达 50% 以上, 说明其已不适合用作为首选药物。对于暂无药敏的老年患者, 对阿奇霉素、左旋氧氟沙星、阿莫西林-克拉维酸等应慎用。

目前, 老年患者呼吸道感染日益增多, 患病率居老年感染性疾病之首。而流感嗜血杆菌为老年患者感染常见的细菌, 但由于该菌是苛氧菌, 生长条件比较严格, 常规培养不易检出。因此需要探索比较适合该菌生长的简便、经济的培养方法, 使其培养分离能普及, 有利于指导临床加强治疗。

参考文献

[1] 臧焕平, 赖国祥. 老年人流感嗜血杆菌相关呼吸道疾病研究进展 [J]. 医学综述, 2007, 13(2): 119-121.

[2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版 南京: 东南大学出版社, 2006: 744-745.

[3] 李云. 老年人呼吸道流感嗜血杆菌的感染及耐药分析 [J]. 西北国防医学杂志, 2009, 30(5): 345-347.

[4] 蔡璇, 李从荣, 施金玲, 等. 老年患者医院感染产超广谱 β 内酰胺酶肺炎克雷伯菌的随机多态 DNA 分型研究 [J]. 中华老年医学杂志, 2003, 22(2): 119-120.

[5] 袁瑾懿, 杨帆, 徐晓刚, 等. 临床分离流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌耐药性研究 [J]. 中华传染病杂志, 2009, 27(5): 262-267.

[6] 张淑芳, 杨广民, 吴多荣, 等. 老年患者呼吸道嗜血杆菌的分离及耐药性分析 [J]. 中国老年学杂志, 2007, 8(27): 1474-1475.

[7] 李智山, 邓三季. 老年患者下呼吸道医院感染病原菌分布及体外耐药监测 [J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(4): 458-460.