

• 论 著 •

179 株无乳链球菌的标本分布及耐药性分析*

林宇岚¹, 陈守涛¹, 荀振², 张泽佳², 闫翔宇², 郭少英², 留玉芬², 高丽钦¹, 甘龙杰¹, 黄尔¹, 欧启水¹, 杨滨^{1△}
(1. 福建医科大学第一临床医学院检验科, 福建福州 350004; 2. 福建医科大学医学检验系, 福建福州 350004)

摘要:目的 分析临床分离无乳链球菌的标本分布和对常用抗菌药物的耐药性。方法 收集不同来源标本, 在 VITEK II 微生物分析仪上采用 GPI 卡和 GP67 卡进行菌种鉴定和药敏实验, 红霉素、美罗培南的药敏实验及 D-试验采用 K-B 纸片法检测。结果 共收集无乳链球菌 179 株, 标本的主要来源为中段尿(63.1%)、生殖道(7.8%)和伤口分泌物(6.7%)。来源患者年龄大于 50 岁的 110 例(61.5%), 女性患者 113 例(63.1%), 孕妇 12 例(6.7%), 母婴垂直感染 3 例(1.7%), 肿瘤、手术、放化疗、糖尿病、结核等患者 82 例(45.8%)。无乳链球菌对青霉素的耐药率除 2008 年之外均小于 10%, 对四环素的耐药率均大于 80%, 对红霉素的耐药率为 42.9%~93.3%, 对克林霉素的耐药率为 41.9%~80.0%, D 实验阳性率为 4.1%。未发现对万古霉素、美罗培南的耐药株, 偶见喹奴普丁/达福普丁耐药株。结论 成年人感染无乳链球菌中最常见的是泌尿生殖系统感染和软组织感染, 女性患者比例高于男性; 青霉素和其他 β -内酰胺类药物仍可作为无乳链球菌感染经验用药的首选药物; 四环素、红霉素、克林霉素的抗菌作用是有限的, 必须有实验室药敏实验结果作为使用依据。

关键词:药敏实验; 耐药性监测; 无乳链球菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.10.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)10-1376-03

Clinical distribution and drug resistance of 179 isolates of Streptococcus agalactia*

Lin Yulan¹, Chen Shoutao¹, Xun Zhen², Zhang Zejia², Yan Xiangyu², Guo Shaoying², Liu Yufen²,
Gao Liqin¹, Gan Longjie¹, Huang Er¹, Ou Qishui¹, Yang Bin^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350004, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350000, China)

Abstract: **Objective** To investigated the clinical distributions and antimicrobial susceptibility of Streptococcus agalactia strains isolated from the patients. **Methods** The identification and susceptibility of the strains were mainly measured by automatic VITEK-II system, the K-B disc diffusion tests were used for the resistance test of erythromycin, meropenem, and D-test. **Results** The isolates were mainly from urine (63.1%), genital tract(7.8%) and wound secretion(6.7%). They were obtained from patients in different situations, including 110 patients who were older than 50 years old(61.5%), 113 female patients(63.1%), 12 gravidas(6.7%), 3 vertical transmitted newborns(1.7%), and 82 patients with cancer, undergoing chemo radiotherapy, with diabetes, tuberculosis or after operations(45.8%). The resistant rates of the isolated Streptococcus agalactia to erythromycin and clindamycin were 42.9%—93.3% and 41.9%—80.0% respectively. The positive rate of D-test was 4.1%. The strains were highly resistant to tetracycline(>80%), while the resistance to penicillin was below 10% except in 2008. All isolates were susceptible to vancomycin and meropenem. Only one strain was resistant to Quinupristin-dalfopristin. **Conclusion** Streptococcus agalactia infection in adults mostly cause genitourinary tract, skin and soft tissue infections. There were more females than males with Streptococcus agalactia infection. Penicillin and β -lactams are still the first choice for the treatment. Erythromycin, clindamycin and tetracycline should be used with caution under the guidance of laboratory susceptibility test results.

Key words: drug susceptibility test; drug resistance surveillance; Streptococcus agalactia

无乳链球菌(*Streptococcus agalactia*)又称 B 群链球菌(GBS),主要来自牛和人。牛型 GBS 是牛乳腺炎的病原菌,而人型毒力更强,常可引起肺炎、泌尿系统感染、软组织感染,并与早产、胎膜早破有关,甚至导致产褥感染、新生儿肺炎、脑膜炎和败血症等严重疾病^[1-2]。了解 GBS 的临床特点及耐药性,对临床合理应用抗菌药物、有效控制院内感染具有重要意义。现对 2008~2013 年福建医科大学第一临床医学院 GBS 临床分离株分析如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

2008 年 1 月至 2013 年 12 月从门诊及住院患

者各种标本中分离到的 GBS,剔除同一患者的相同菌株。标本按《全国临床检验操作规程》^[3]的要求进行接种和培养。

1.2 仪器和试剂 GBS 显色培养基由郑州安图绿科生物工程有限公司提供;哥伦比亚血平板、血 MH 营养琼脂平板、VITEK II 全自动微生物分析仪及配套的革兰阳性球菌鉴定卡(GPD)和药敏卡(GP67)均为法国生物梅里埃公司产品;红霉素、克林霉素和美罗培南药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定 选择 GBS 显色培养基上的紫红色可疑菌落,转种哥伦比亚血琼脂平板,挑取 β 溶血的革兰阳性球菌、触

* 基金项目:福建医科大学省级大学生创新创业训练计划项目(201310392068)。 作者简介:林宇岚,女,主管检验技师,主要从事临床微生物学与检验的研究。△ 通讯作者,E-mail:christin57190@126.com。

酶阴性、CAMP 试验阳性，在 VITEK II 微生物分析仪上采用 GPI 卡将细菌最终鉴定到种。

1.3.2 药敏实验 红霉素和美罗培南采用 K-B 纸片法检测，其他药物在 VITEK II 微生物分析仪上采用 GP67 卡检测，依据美国临床和实验室标准协会(CLSI)《抗菌药物敏感性试验指南(M100-S23)》进行操作和折点判断，质控菌株为肺炎链球菌 ATCC49619。

1.3.3 大环内酯类诱导耐药表型筛选试验(D 试验) 按常规 K-B 纸片法进行细菌接种，将红霉素、克林霉素贴在相邻的位置，间距 15~26 mm。在红霉素相邻侧抑菌圈边缘出现截平(如 D 字)即为诱导克林霉素耐药阳性，报告 D 试验阳性，并将仪器法检测的克林霉素“敏感”结果修正为“耐药”。

1.4 统计学处理 WHONET5.5 软件对药敏结果进行统计分析，百分率的比较采用卡方检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 标本分布情况 临床共分离得到 179 株 GBS，主要的临床科室来源分布及标本来源分布见表 1、2，来自儿科的 6 株 GBS 中明确为母婴垂直感染的为 3 株。

表 1 2008~2013 年 179 株 GBS 的主要临床科室分布

来源科室	株数及构成比[n(%)]
肾内/泌尿科	47(26.3)
内分泌科	16(8.9)
消化内科	13(7.3)
产科	12(6.7)
皮肤科	10(5.6)
儿科	6(3.4)

表 2 2008~2013 年 179 株 GBS 的临床标本来源分布

标本类型	株数及构成比[n(%)]
中段尿	113(63.1)
生殖道分泌物	14(7.8)
皮肤伤口分泌物	12(6.7)
下呼吸道标本	10(5.6)
脓液	10(5.6)
血液	7(3.9)
关节液	4(2.2)
羊水	2(1.1)
腹水	2(1.1)
胃液	2(1.1)
胸水	1(0.6)
脑脊液	1(0.6)
十二指肠引流液	1(0.6)

2.2 患者情况 患者年龄的中位数为 55 岁(1 h 至 91 岁)，> 50 岁患者共占 61.5%(110/179)。女性共占 63.1%(113/179)，女性患者比例高于男性，差异有统计学意义($P<0.05$)。50 岁以下患者中女性占 68.1%(49/69)，而 50 岁及以上为 59.1%(65/110)。围产期女性占 6.7%(12/179)，其他成人感染患者占 90.0%(161/179)。另肿瘤、手术、放化疗、糖尿病、结核等患者占 45.8%(82/179)，出现结石、梗阻、增生、囊肿等泌尿系结构改变的患者占 14.0%(25/179)。

2.3 GBS 的耐药性趋势分析 见表 3。

表 3 2008~2013 年 GBS 对抗菌药物的耐药率和敏感率(%)

抗菌药物	2008 年(n=9)			2009 年(n=22)			2010 年(n=22)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
青霉素	11.1	0.0	88.9	0.0	0.0	100	4.5	0.0	95.5
红霉素	77.8	0.0	22.2	78.6	0.0	21.4	42.9	0.0	57.1
克林霉素	77.8	0.0	22.2	60.0	0.0	40.0	44.1	0.0	55.9
左氧氟沙星	17.8	0.0	82.2	23.5	5.9	70.6	33.3	0.0	66.7
四环素	100.0	0.0	0.0	95.4	0.0	4.6	82.8	0.0	17.2
美罗培南	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
万古霉素	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
利奈唑胺	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
喹奴普丁/达福普丁	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0

续表 3 2008~2013 年 GBS 对抗菌药物的耐药率和敏感率(%)

抗菌药物	2011 年(n=31)			2012 年(n=46)			2013 年(n=49)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
青霉素	7.1	0.0	92.9	2.2	0.0	97.8	4.1	0.0	95.9
红霉素	66.7	0.0	33.3	77.5	0.0	22.5	93.3	0.0	6.7
克林霉素	41.9	0.0	58.1	55.0	0.0	45.0	80.0	0.0	20.0
左氧氟沙星	24.0	0.0	76.0	21.7	0.0	78.3	25.0	4.2	70.8
四环素	84.7	0.0	15.3	80.4	6.5	13.1	86.0	0.0	14.0
美罗培南	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
万古霉素	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
利奈唑胺	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
喹奴普丁/达福普丁	0.0	0.0	100.0	2.2	0.0	97.8	0.0	0.0	100.0

R:耐药率;I:中介率;S:敏感率。

3 讨 论

GBS 是除 A 群溶血性链球菌外最常见的致病性链球菌,近 27% 的 β 溶血性链球菌菌血症是由 GBS 引起的,也是新生儿早发型血流感染的主要病原菌^[4-5]。CHINET 数据显示近年来其临床分离比例逐渐增多(0.79%~1.25%)^[6-10],2008~2013 年本院 GBS 的临床分离率也从 0.11% 增至 0.32%,与 CHINET 的变化趋势是一致的,但每年的分离率均明显低于 CHINET 水平,存在地区差异。且其中围产期女性患者仅 12 例(6.7%),其中 3 例为患儿发病后送检。为了进一步提高 GBS 的分离率,同时减少母婴垂直传播的危险性^[11-12],该地区对于围产期女性 GBS 的常规筛查工作仍需强化和普及。

标本的主要来源为中段尿、生殖道和伤口分泌物,其次是呼吸道与各种体液标本,提示目前 GBS 的分布规律并没有明显改变,成人感染 GBS 最易引起的仍是泌尿系感染和软组织感染。

数据显示患者中女性的比例明显高于男性。这一差异的原因可能是 GBS 作为女性泌尿生殖道正常菌丛中的共生者,一旦出现泌尿生殖道微生态的严重失调,更易造成 GBS 的感染,再间接引起其伴侣尿道标本中 GBS 的分离率增高。但随着年龄的增长及泌尿系统疾病等男性患者自身易感因素的增加,提高了老年男性患者发病率。

除了年龄及性别差异之外,45.8% 的患者合并有糖尿病、肿瘤、手术治疗、结核、放化疗治疗,因此推测机体免疫功能的降低可能是造成 GBS 致病的主要危险因素。

GBS 通常被认为对多数抗菌药物较敏感,也无需常规进行对青霉素和其他 β -内酰胺类药物的敏感试验。但数据显示:GBS 对四环素的耐药率均大于 80%,没有实验结果支持不推荐用于 GBS 的治疗;青霉素的耐药率除 2008 年之外,均小于 10%,氨苄西林和头孢曲松的耐药率更低^[6-10],说明 GBS 对青霉素和其他 β -内酰胺类药物的耐药趋势没有明显变化,虽略高于历年来 CHINET 的平均水平($<5\%$),仍可作为 GBS 感染经验用药的首选药物,但是应该持续监测其耐药水平;左氧氟沙星的耐药率均小于 33.3%;未见万古霉素、美罗培南的耐药株,偶见喹奴普丁/达福普丁耐药株(2012 年 1 株),与 CHINET 一致。但万古霉素具有一定的肝肾毒性,不适用于孕妇及新生儿感染的治疗,而左氧氟沙星对新生儿的软骨发育又有一定影响,应视患者情况合理选用。

红霉素或克林霉素可作为预防性治疗 GBS 的二线药物,推荐用于高风险青霉素过敏者。国外研究表明 1990 年以前 GBS 对红霉素的耐药率低于 3%,1995 年以后已升至 25%~30%^[13-14]。但 CHINET 数据显示国内 GBS 对红霉素和克林霉素耐药率都已超过 50%,本研究中 GBS 对红霉素的耐药率为 42.9%~93.3%,克林霉素为 41.9%~80.0%,两者的耐药性具有较高的一致性并有不断增加的趋势。2013 年 D 实验阳性率为 4.1%(2/49),仅 2 株克林霉素敏感株被修正为耐药,还需要增加病例数以获得更为准确的结果。以上数据表明这两种药物的抗菌作用是有限的,即使要使用红霉素或克林霉素治疗 GBS 感染,也必须要有实验室药敏实验结果作为参考。此外由于抗菌药物压力不同,不同地区 GBS 对红霉素的耐药表型存在差异^[15],本课题组将对本地区 GBS 对大环内酯类抗

菌药物的耐药机制进行更详细的研究以探究其耐药率快速增长的原因。

GBS 作为医院感染的病原菌之一,分离率在不断增加,对某些抗菌药物的耐药率也在逐渐升高,临床在进行抗感染治疗时,仍应以分离菌株的体外抗菌药物敏感性为依据,合理选用抗菌药物,预防 GBS 感染和新耐药菌株的发生。

参考文献

[1] 时春艳,曲首辉,杨磊,等. 妊娠晚期孕妇 B 族链球菌带菌状况的检测及带菌对妊娠结局的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45 (1):12-16.

[2] Cagno CK, Pettit JM, Weiss BD. Prevention of perinatal group B streptococcal disease; updated CDC guideline[J]. Am Fam Physician, 2012, 86(1):59-65.

[3] 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, 2006:763-770.

[4] Schugk J, Harjola VP, Sivonen A, et al. A clinical study of beta-haemolytic groups A, B, C and G streptococcal bacteremia in adults over an 8-year period[J]. Scand J Infect Dis, 1997, 29(3): 233-238.

[5] 黄小艺,刘志伟. 妇幼保健院新生儿早发型血流感染分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(11):2329-2332.

[6] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5):321-329.

[7] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2009 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(5):325-334.

[8] 朱德妹,汪复,胡付品,等. 2010 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(5):321-329.

[9] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5):321-329.

[10] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5):321-330.

[11] 史兴泉,吴文华,王莹超. 围产期孕妇泌尿生殖道无乳链球菌耐药性分析及临床意义[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(8):966-968.

[12] Lindahl G, Stlhammar-Carlemalm M, Areschoug T. Surface proteins of Streptococcus agalactiae and related proteins in other bacterial pathogens[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(1):102-127.

[13] Granizo JJ, Aguilar L, Casal J, et al. Streptococcus pyogenes resistance to erythromycin in relation to macrolide consumption in Spain (1986-1997) [J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 46(6): 959-964.

[14] Heelan JS, Hasenbein ME, Mcadam AJ. Resistance of group B streptococcus to selected antibiotics, including erythromycin and clindamycin[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(3):1263-1264.

[15] Alós JI, Aracil B, Oteo J, et al. High prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin/miocomycin-susceptible (M phenotype) Streptococcus pyogenes: results of a Spanish multicentre study in 1998. Spanish Group for the Study of Infection in the Primary Health Care Setting[J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 45(5): 605-609.