

- 析[J]. 中国药物警戒,2016,13(10):609-613.
- [8] 袁珍娥,郭清文,朱淑萍,等. 病区医嘱中药注射剂不合理应用分析[J]. 现代诊断与治疗,2013,24(13):2980-2981.
- [9] 梁晓美. 康艾注射液与5种输液配伍的稳定性[J]. 医药导报,2013,32(6):805-806.
- [10] 秦丽莉,郝东霞,刘亚丽. 中药注射剂不合理使用情况分析[J]. 中国药物与临床,2017,17(3):357-359.
- [11] 蔡德珺,蒋晓松,林高. 90例康艾注射液联合化疗治疗晚期结肠癌的有效性[J]. 北方药学,2015,12(8):184-184.
- [12] 张丽娜,汪园园,邱超平,等. 康艾注射液联合 FOLFIRI 方案治疗结直肠癌的 Meta 分析[J]. 中国当代医药,2017,24(13):4-8.
- [13] 张丹,吴嘉瑞,刘施,等. 基于 Meta 分析的康艾注射液辅助治疗结直肠癌临床评价研究[J]. 药物流行病学杂志,2017,26(11):751-756.
- [14] 张丹,刘施,吴嘉瑞. 康艾注射液联合化疗治疗胃癌的系统评价[J]. 药物流行病学杂志,2016,25(8):486-492.
- [15] 狄剑士,关雅萍,毕经旺,等. 康艾注射液联合化疗对胃癌疗效的 Meta 分析[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2013,20(4):468-474.
- [16] 吕行,宁鹏,赵强,等. 康艾注射液联合化疗方案治疗对中晚期食管癌免疫功能的影响[J]. 中医药导报,2014,20(14):36-38.
- [17] 王伟华,陈前,江道文. 康艾注射液联合放疗治疗中晚期食管癌的临床研究[J]. 现代药物与临床,2014,29(9):1032-1035.
- [18] 张宏博,单丽珠,张洁,等. 康艾注射液联合化疗对胰腺癌患者免疫功能的影响[J]. 山西中医,2013,29(9):23-24.
- [19] 栾尚峰,范雯,吕登钦. 康艾注射液对晚期胰腺癌患者生存质量的影响[J]. 医学综述,2011,17(1):153-155.
- [20] 张鹤,单丽珠,张洁,等. 康艾注射液联合化疗治疗胰腺癌因性疲劳[J]. 中国中西医结合外科杂志,2012,18(5):438-440.
- [21] 武俊平,陈婷婷,宋文华,等. 康艾注射液联合多西他赛及泼尼松治疗激素抵抗性前列腺癌的临床效果及安全性[J]. 临床误诊误治,2018,31(3):81-84.
- [22] 林雪颖. 康艾注射液超说明书用药情况调查及合理性分析[J]. 今日药学,2017,27(2):134-136.
- [23] VENTOLA CL. Off-label drug information: regulation, distribution, evaluation, and related controversies [J]. PT, 2009, 34(8):428-440.
- [24] 刘利军,肖龙华,李睿,等. 超说明书用药认识问题及管理对策研究[J]. 中国医院用药评价与分析,2014,14(4):361-364.

(收稿日期:2018-04-24,修回日期:2018-05-30)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.07.054

◇ 医院药学 ◇

儿童医院肺炎 157 例痰液病原菌分布及耐药性分析

宋彬容

作者单位:绵阳市中心医院儿科,四川 绵阳 621000

摘要:目的 分析医院 ICU 病房肺炎小儿痰液病原菌分布及耐药特征,为临床合理用药提供科学依据。方法 对 2016 年 10 月至 2017 年 10 月绵阳市中心医院 157 例患肺炎的小儿痰液中分离的细菌进行鉴定,K-B 法进行药敏分析,PCR 检测相关耐药基因。结果 157 例小儿痰液,其中 3 例各分离出 2 株细菌,其余 154 例均各分离出 1 株细菌,共 160 株。鉴定后发现, G^+ 菌占总分离菌 46.88%,以金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌为主; G^- 菌占 53.12%,以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主。分离的病原菌对氨苄西林和阿莫西林普遍耐药,对庆大霉素、左氧氟沙星和万古霉素敏感。 G^+ 菌对红霉素高度耐药,耐药基因 *mefA* 和 *ermB* 阳性检出率高。结论 医院 ICU 病房肺炎小儿痰液以金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和肺炎链球菌感染为主,对部分抗生素耐药严重。了解小儿肺炎痰液耐药情况,可为临床合理用药提供参考。

关键词:肺炎; 抗生素; 耐药; 耐药基因; 儿童

Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in sputum of 157 children with pneumonia in ICU ward

SONG Binrong

Author Affiliation: Department of Paediatrics, The Central Hospital of Mianyang, Mianyang, Sichuan 621000, China

Abstract: Objective To analyze the distribution and drug resistance of pathogens in sputum of children in ICU wards in our hospital and provide a scientific basis for clinical rational drug use. **Methods** The bacteria isolated from the sputum of 157 children with pneumonia from October 2016 to October 2017 in Mianyang Central Hospital were identified. Drug susceptibility analysis was carried out by the KB method and the related resistance genes were analyzed by PCR. **Results** A total of 160 bacteria were isolated, of which 157

strains were identified. Two bacteria were isolated from the three children's sputum, respectively, and one bacterium was isolated from other 154 case of children's sputum. Gram-positive bacteria accounted for 46.88% of the total isolates, primarily *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. Gram-negative bacteria accounted for 53.12%, dominated by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The isolated pathogens were generally resistant to Ampicillin and Amoxicillin and sensitive to Gentamicin, Levofloxacin and Vancomycin. Gram-positive bacteria are highly resistant to Erythromycin, and the proportion of drug-resistant genes *mefA* and *ermB* were high.

Conclusion The main pathogens in sputum of children in ICU wards in our hospital were *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Streptococcus pneumoniae*, which had a serious resistance to some antibiotics. To get clear information about the sputum drug resistance in children with pneumonia in our hospital could provide some knowledge for the rational use of drugs.

Key words: Pneumonia; Antibiotics; Drug resistance; Resistance gene; Child

儿童因自身免疫系统发育不完全,容易受外界病原菌侵袭感染。肺炎是儿科最常见的呼吸系统疾病之一,以病原菌感染为主,对儿童生命健康的威胁不容忽视^[1-2]。近年来因为临床抗菌药物的不规范使用,甚至滥用,导致病菌耐药性问题突出,再加之儿童抗菌药物使用的局限性,使得儿童肺炎的治疗十分困难。为了给临床治疗儿童肺炎合理用药提供科学依据,本研究对绵阳市中心医院 ICU 病房肺炎小儿痰液的病原菌分布及耐药情况进行检测分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取 2016 年 10 月至 2017 年 10 月绵阳市中心医院确诊为肺炎的 ICU 病房小儿 157 例,其中男 86 例(54.78%)、女 71 例(45.22%);年龄 1 月至 1 岁共 96 例(61.15%)、1~3 岁共 39 例(24.84%)、3~7 岁共 18 例(11.46%)、7~≤13 岁共 4 例(2.55%)。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。小儿监护人或近亲属知情同意,签署了知情同意书。

1.2 标本采集与鉴定 无菌吸痰管负压采集小儿痰液后注入无菌试管,立即送至实验室检测。将痰液接种到普通细菌培养基,35℃恒温培养箱(福玛电热恒温培养箱 DPX-9082B-2)培养 24~48 h,筛选疑似致病菌,利用 ATB 细菌鉴定分析仪(法国生物梅里埃)鉴定。采用卫生部质控菌株,ATCC700603(肺炎克雷伯菌)、ATCC25922(大肠埃希菌)、ATCC29213(金黄色葡萄球菌)、ATCC27853(铜绿假单胞菌)。

1.3 药敏试验 药敏试验采用 K-B 法(药敏纸片购自杭州微生物),无菌操作,参照药敏纸片说明书判定结果。

1.4 红霉素耐药基因检测 结合细菌分离鉴定结果,选择其中具有代表性的致肺炎病原菌,进行红霉素耐药基因检测。试剂盒(天根生化)提取细菌 DNA,PCR 检测红霉素耐药基因 *mefA* 和 *ermB*。引物参照文献设计,*mefA* 和 *ermB* 基因产物长度分别

为 346 bp 和 533 bp,引物序列见表 1^[2-3]。

表 1 *mefA* 和 *ermB* 引物序列

基因名称	上下游引物	引物序列
<i>mefA</i>	P1	5'-AGTATCTATTAATCACTAGTGC-3'
	P2	5'-TTCTTCTGCTACTAAAAGTGG-3'
<i>ermB</i>	P1	5'-GAAAAGGTACTAAACCAAATA-3'
	P2	5'-AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC-3'

2 结果

2.1 细菌检出情况 从 157 例肺炎小儿痰液共分离 160 株细菌。鉴定出 G⁻ 菌 85 株, G⁺ 菌 75 株,分别占总分离菌株数的 53.12% 和 46.88%。G⁻ 菌以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主, G⁺ 菌仅分离鉴定出金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌,以金黄色葡萄球菌为主,见表 2。

表 2 肺炎小儿 157 例痰培养致病菌分布情况

细菌	株数	构成比/%
G ⁻ 菌	85	53.12
大肠埃希菌	45	28.13
肺炎克雷伯菌	35	21.87
铜绿假单胞菌	3	1.87
鲍曼不动杆菌	2	1.25
G ⁺ 菌	75	46.88
金黄色葡萄球菌	67	41.88
肺炎链球菌	8	5.00

2.2 病原菌耐药分析

2.2.1 G⁻ 菌耐药情况 药敏结果显示大肠埃希菌对氨苄西林、阿莫西林、复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、庆大霉素和头孢呋辛耐药率依次降低,分别为 71.1%、46.7%、22.2%、20.0%、17.8% 和 17.8%,对头孢西丁均敏感。肺炎克雷伯菌对阿莫西林耐药率高达 80.0%,对庆大霉素均敏感。分离的 3 株铜绿假单胞菌对复方新诺明全部耐药,但对苯唑西林、头孢西丁和左氧氟沙星均敏感。2 株鲍曼不动杆菌均对头孢西丁耐药,对苯唑西林、复方新诺明、左氧氟沙星和庆大霉素均敏感,见表 3。

表3 G⁻菌对抗生素耐药率/耐药株(%)

抗生素	大肠埃希菌 (n=45)	肺炎克雷伯菌 (n=35)	铜绿假单胞菌 (n=3)	鲍曼不动杆菌 (n=2)
氨苄西林	32(71.1)	24(68.6)	2(66.7)	1(50.0)
阿莫西林	21(46.7)	28(80.0)	1(33.3)	1(50.0)
苯唑西林	—	—	0(0.0)	0(0.0)
头孢西丁	0(0.0)	2(5.7)	0(0.0)	2(100.0)
头孢呋辛	8(17.8)	3(8.6)	1(33.3)	1(50.0)
复方新诺明	10(22.2)	1(2.9)	3(100.0)	0(0.0)
左氧氟沙星	9(20.0)	1(2.9)	0(0.0)	0(0.0)
庆大霉素	8(17.8)	0(0.0)	1(33.3)	0(0.0)

注:“—”表示未检测

2.2.2 G⁺菌耐药情况 肺炎链球菌对红霉素耐药率高达87.5%,其次为复方新诺明为75%,但该菌对左氧氟沙星和万古霉素均敏感。金黄色葡萄球菌对红霉素耐药率最高,为73.1%,仅对万古霉素全部敏感,其余药物耐药率介于之间,见表4。

表4 G⁺菌对抗生素耐药率/耐药株(%)

抗生素	肺炎链球菌 (n=8)	金黄色葡萄球菌 (n=67)
氨苄西林	—	42(62.7)
阿莫西林	—	34(50.7)
苯唑西林	—	5(7.5)
头孢呋辛	3(37.5)	—
复方新诺明	6(75.0)	6(9.0)
左氧氟沙星	0(0.0)	3(4.5)
庆大霉素	—	8(11.9)
万古霉素	0(0.0)	0(0.0)
红霉素	7(87.5)	49(73.1)
利福平	1(12.5)	9(13.4)

注:“—”表示未检测

2.3 耐药基因分析 以本次分离的致病菌占比最高的金黄色葡萄球菌和肺炎的重要致病菌之一肺炎链球菌作为对象,检测红霉素耐基因 *mefA* 和 *ermB*。结果表明,红霉素耐药的7株肺炎链球菌, *mefA* 和 *ermB* 的阳性率分别为71.4%和100.0%;红霉素耐药的49株金黄色葡萄球菌, *mefA* 和 *ermB* 的阳性率分别为55.1%和73.4%,见图1,表5。

表5 耐药基因检出率/(%)

基因名称	肺炎链球菌		金黄色葡萄球菌	
	所有菌株中 检出率	耐药菌株中 检出率	所有菌株中 检出率	耐药菌株中 检出率
<i>mefA</i>	62.5(5/8)	71.4(5/7)	43.3(29/67)	55.1(27/49)
<i>ermB</i>	87.5(7/8)	100.0(7/7)	55.2(37/67)	73.4(36/49)

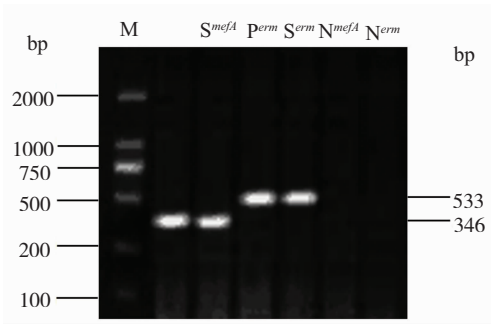


图1 红霉素耐药基因 *mefA* 和 *ermB* 电泳图, P为阳性对照,S为结果阳性,N为结果阴性

3 讨论

肺炎是儿科常见呼吸系统疾病,严重甚至可导致小儿死亡,据报道有近一半的小儿肺炎由病原菌感染导致^[4]。研究结果显示,从本次ICU病房肺炎小儿痰液样本分离的G⁻菌占总分离菌株数的53.12%,略高于G⁺菌的46.88%。本次收集的痰液样本,分离到两种G⁺菌:金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌,分别占分离菌株总数的41.88%和5.00%。分离的G⁻菌以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌分布最多,分别占总菌株数的28.13%和21.87%;铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌分布较少,占比分别为1.87%和1.25%。虽然本次检测发现铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌检出率不高,但此两种菌均为临床重症感染的主要病原菌^[5-7],在治疗小儿肺炎时依然须足够重视。

临床上,抗生素依然是治疗小儿肺炎的常用药物,因此致病菌耐药性考察十分有必要,对临床指导合理用药意义重大。本院ICU病房肺炎小儿痰液中检出的G⁻菌对β-内酰胺类抗生素中的氨苄西林和阿莫西林普遍严重耐药,对苯唑西林、头孢西丁和头孢呋辛呈现不同程度耐药:苯唑西林是铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌的敏感药物,耐药率均为0.0%;头孢西丁是大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和肺炎克雷伯菌敏感药物,耐药率均较低,分别为0.0%、0.0%、5.7%;头孢呋辛是肺炎克雷伯菌的相对敏感药物,耐药率为8.6%。有报道G⁻菌对β-内酰胺类抗生素耐药机制可能是因为抗生素被细菌染色体或质粒介导的AmpC酶水解,从而使细菌敏感性降低^[8-9]。除了β-内酰胺类抗生素,分离到的4种G⁻菌中,除了大肠埃希菌对喹诺酮类的左氧沙星有耐药率达20.0%,其余3种细菌对左氧氟沙星普遍较为敏感。磺胺类药物复方新诺明和氨基糖苷类的庆大霉素均是肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌的敏感药物。综合考虑,对于革兰阴性菌感染导致的肺炎,头孢西丁、庆大霉素、左氧氟沙星、复方

新诺明均可作为临床推荐用药,但需结合具体病原菌种类选择最合适抗生素。需特别注意,复方新诺明毒性反应^[10],以及左氧氟沙星可能对小儿软组织造成影响,导致小儿关节病变^[11],所以在对小儿使用上需谨慎。不论使用何种抗生素,使用过程中,需要注意细菌耐药性的动态变化,因此有必要坚持定期进行病原分析及耐药性分析。

本次痰液样本共分离了两种 G^+ 菌,分别为肺炎链球菌和金黄色葡萄球菌,以金黄色葡萄球菌为主。从药敏实验分析,两种 G^+ 菌对红霉素均耐药最严重,耐药率分别为 87.5% 和 73.1%。此外,金黄色葡萄球菌对 β -内酰胺的氨苄西林和阿莫西林耐药率也相对较高,分别为 62.7% 和 50.7%。有报道, G^+ 菌对 β -内酰胺耐药机制可能是细菌自身青霉素结合蛋白(PBPs)发生了改变,降低了抗生素的亲合力^[12-13]。分离的肺炎链球菌和金黄色葡萄球菌对万古霉素均敏感,但由于其对小儿肝肾功能 and 听力系统有较大的副作用,所以小儿慎用^[14-15]。综合分析,苯唑西林、庆大霉素、左氧氟沙星是临床建议选择的药物。

本文以本次分离的致病菌占比最高的金黄色葡萄球菌和肺炎的重要致病菌之一肺炎链球菌作为对象,进一步检测了其红霉素耐药基因 *mefA* 和 *ermB*。*ermB* 基因表示因编码的靶位改变介导耐药为主,*mefA* 基因表示因编码的外排系统介导耐药^[16]。本次分离鉴定了 7 株耐红霉素的肺炎链球菌,其中 5 株 *mefA* 阳性,占比 71.4%;7 株全部 *ermB* 阳性;49 株耐红霉素的黄色葡萄球菌中,27 株 *mefA* 阳性,占比 55.1%,36 株 *ermB* 阳性,占比 73.4%。结果表明从本院小儿肺炎病人痰液分离的金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌耐药基因表型中,以 *ermB* 介导编码的靶位改变最多,同时 *mefA* 介导编码的外排亦较高。

本院 ICU 病房肺炎小儿痰液致病菌以金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和肺炎链球菌为主。总体上,分离菌株对红霉素、氨苄西林和阿莫西林耐药相对严重。苯唑西林、头孢西丁、左氧氟沙星等,均可作为临床推荐用药。对两种 G^+ 菌红霉素耐药基因检测结果显示,*ermB* 和 *mefA* 基因普遍呈现阳性检出。综上所述,定期耐药性检测十分有必要,在临床治疗小儿肺炎时应根据致病菌种类及其耐药特征,合理用药,降低临床用药的耐药率,提高治疗效果。

参考文献

- [1] 李长春,朱玉林,王亚亭,等. 509 例患儿社区获得性肺炎病原体及临床特征分析[J]. 安徽医药,2016,20(4):699-702.
- [2] 张巧丽,吕一枝,王珊珊,等. 肺炎链球菌分离株的耐药性与毒力基因研究[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(23):5288-5291.
- [3] 温国明,曹雪莲,刘姜伶,等. 深圳市孕妇 B 族链球菌的携带与耐药性分析[J]. 中华疾病控制杂志,2017,21(11):1181-1183.
- [4] 郭玮,张文馨,邱晨,等. 重症肺炎患儿病原学调查及病原菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(21):4998-5001.
- [5] C JUAN, C PEÑA, A OLIVER, et al. Host and Pathogen Biomarkers for Severe *Pseudomonas aeruginosa* Infections [J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2017, 215 (suppl):44.
- [6] GONG Y, SHEN X, HUANG G, et al. Epidemiology and resistance features of *Acinetobacter baumannii* isolates from the ward environment and patients in the burn ICU of a Chinese hospital [J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 54(8):551-558.
- [7] ZM DJORDJEVIC, MM FOLIC, ND FOLIC, et al. Risk factors for hospital infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2016, 10(10):1073.
- [8] 王保存,丁力,张峰,等. 小儿心脏监护病房病原菌分布及超广谱 β -内酰胺酶阳性菌的耐药性分析[J]. 安徽医药,2016,20(8):1530-1533.
- [9] 王晓丽,葛亮,李兴华,等. 产超广谱 β -内酰胺酶和头孢菌素酶肺炎克雷伯菌的分布及耐药特征分析[J]. 中华医院感染学杂志,2018,21(1):5-9.
- [10] YAN Z, YANG Q, JIANG W, et al. Integrated toxic evaluation of sulfamethazine on zebrafish: Including two lifespan stages (embryonal and adult) and three exposure periods (exposure, post-exposure and re-exposure) [J]. *Chemosphere*, 2018, 195:784-792.
- [11] 刘丽梅,袁拥华,谢梦瑶,等. 左氧氟沙星全身给药患儿骨关节不良事件的系统评价[J]. 中国循证儿科杂志,2015,10(3):193-197.
- [12] ZHANG H, YANG Q, LIAO K, et al. Antimicrobial Susceptibilities of Aerobic and Facultative Gram-Negative Bacilli from Intra-abdominal Infections in Patients from Seven Regions in China in 2012 and 2013 [J]. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 2015, 60(1):245.
- [13] 陈领弟. β -内酰胺类抗生素的耐药机制及其酶抑制剂的临床应用[J]. 安徽医药,2005,9(3):227-227.
- [14] ZASOWSKI EJ, MURRAY KP, TRINH TD, et al. Identification of vancomycin exposure-toxicity thresholds in hospitalized patients receiving intravenous vancomycin [J]. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 2017, 62(1):e01684-17. DOI: 10.1128/AAC.01684-17.
- [15] 王欣怡,张忠银. 用蒙特卡罗模拟优化耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的肾功能不全低龄患儿万古霉素的给药方案[J]. 安徽医药,2017,21(11):2057-2061.
- [16] 雷亚兰,刘克辛. 外排型转运体介导的抗肿瘤药物多药耐药的研究进展[J]. 药物评价研究,2018,41(1):14-22.

(收稿日期:2018-04-10,修回日期:2018-06-02)