

# 肺炎链球菌药物敏感试验的研究

叶人邦 杜宗利 孙亚萍 肖 磊 丁绍卿

(中国药品生物制品检定所,北京)

**摘要** 采用 11 种抗生素药物纸片法,对 1981 年至 1983 年从我国分离出的 295 株肺炎链球菌进行药物敏感试验。结果证实这些菌株对红霉素和头孢霉素 II 最敏感,达 99% 以上,其次是氯霉素、庆大霉素和青霉素,而对新霉素、金霉素和卡那霉素最不敏感,耐药菌株达 96% 以上。

不同地区,不同标本来源和不同血清型的菌株对青霉素,氯霉素和庆大霉素的耐药性不同。四川省、上海市及云南省的菌株对青霉素都敏感,没有耐药菌株,而安徽省和沈阳市的菌株耐青霉素者 63% 以上。从胸水和腹水中分离出的菌株对这三种抗生素耐药者较多,其次是从血液中分离出的菌株,而从中耳液中分离出的菌株都较敏感。从脑脊髓液中分离出的菌株对庆大霉素耐药者较青霉素和氯霉素多。我国常见的 1、2、5、6、14、19 和 23 型(群)等七个型的菌株对青霉素的敏感性无明显差异。5 型

---

标准抗生素由本所吴荃付研究员惠赠,特致谢忱。

菌对氯霉素和庆大霉素耐药者较多,各占 82.35% 和 94.12%,而 6 群菌对氯霉素较敏感,耐药者仅 20.00%。

**关键词** 肺炎链球菌;药物敏感试验;耐药;敏感;抗生素

肺炎链球菌是引起肺部感染,婴幼儿及儿童急性化脓性中耳炎和细菌性脑膜炎的重要病原菌,该菌的严重感染会引起较多的死亡<sup>[1-4]</sup>。而对抗生素药物耐药菌株的出现,给临床治疗造成了困难<sup>[4-6]</sup>。为了研究我国的肺炎链球菌对常用抗生素药物的敏感性和耐药程度,对于从 1981 年至 1983 年从病人脑脊髓液,血液和中耳液等体液中分离出的 295 株肺炎链球菌,进行了对 11 种抗生素的药物敏感试验。现将结果报告如下。

## 材 料 和 方 法

### (一) 菌株

受检菌株是 1981—1983 年由 18 个省、市、自治区的医院从病人脑脊髓液,血液和中耳液等标本中分离出的 295 株肺炎链球菌。收到各医院送来的菌株后用冷冻真空干燥方法保存。试验前进行菌株的生长特性,形态,生化及生理特性,胆汁溶菌试验,Optochin 敏感试验及荚膜染色等检查,确定是典型的肺炎链球菌,并用荚膜肿胀试验确定型别后,再用于药物敏感试验。

### (二) 药物敏感试验质控

用目前 WHO 规定的质量控制菌,大肠埃希菌 ATCC 25922 株,金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 株,绿脓假单胞菌 ATCC 27853 株作对照。

### (三) 培养基

5% 脱纤维新鲜羊血琼脂培养基(简称羊血琼脂培养基),2% 兔血清肉水培养基。

### (四) 药物敏感试验纸片的制备

选用我国临床中常用抗生素 11 种及 Optochin,参考 WHO 的标准剂量及上海市医学化验所纸片制备方法<sup>[7,8]</sup>,用定量滤纸制成直径 6mm 的圆形纸片,灭菌后加入定量抗生素,让纸片充分浸泡使之达到饱和,经 37℃ 烘干而

成,保存在 4℃ 冰箱内备用。每个纸片分别含抗生素的含是红霉素 15 μg,头孢霉素 II 30 μg,青霉素 20IU,氯霉素 30 μg,庆大霉素 10 μg,链霉素 10 μg,卡那霉素 30 μg,四环素 30 μg,土霉素 30 μg,金霉素 20 μg,新霉素 10 μg 及 Optochin 5 μg。

### (五) 药物敏感试验

启开冷冻真空干燥保存的菌种,接种在羊血琼脂斜面培养基上,35℃ 的 10% CO<sub>2</sub> 环境培养 18—20 小时后,再转种在兔血清肉水培养基中,35℃ 10% CO<sub>2</sub> 环境培养 6 小时。将 6 小时培养物 0.1ml 放入无菌平皿中(90 mm 直径),再加入冷至 45℃ 左右的羊血琼脂培养基 15ml,立即摇动平皿,使菌液和培养基充分混匀,置实验台上,待琼脂凝固后放 37℃ 培育箱内 30 分钟,用无菌小镊子取抗生素纸片一张放在上述琼脂平板表面上,每个平皿内放入四张不同的抗生素纸片,置 37℃ 培育箱过夜,测量抑菌圈的直径判定结果。每株菌的各种抗生素纸片试验各作两个平板,以两个平板抑菌圈的大小平均值计算结果。

表 1 WHO 药物敏感试验标准

抗 生 素	纸片含量 (μg)	抑菌圈直径 (mm)		
		耐 药	中 敏	敏 感
红霉素	15	≤13	14—17	≥18
头孢霉素 II	30	≤14	15—17	≥18
青霉素*	10	≤20	21—28	≥29
氯霉素	30	≤12	13—17	≥18
庆大霉素	10	≤12	13—14	≥15
链霉素	10	≤11	12—14	≥15
卡那霉素	30	≤13	14—17	≥18
四环素	30	≤14	15—18	≥19
土霉素	30	≤12	13—15	≥16
金霉素	20	≤12	13—15	≥16
新霉素*	30	≤12	13—16	≥17
Optochin	5	≤11	12—14	≥15

\* 本次试验青霉素纸片含量 20 μg,新霉素含量 10 μg,与 WHO 标准不同。

试验结果的判定标准: 参考 WHO 1981 年制定的抗生素药物敏感试验纸片法的标准进行判定<sup>[7]</sup>, 参见表 1。

## 结 果

### (一) 295 株肺炎链球菌对 11 种常用抗生素及 Optochin 的药物敏感试验(表 2)

表 2 295 株肺炎链球菌药物敏感试验结果

抗生素	纸片含量(μg)	耐 药		中 敏		敏 感	
		株数	%	株数	%	株数	%
红霉素	15	1	0.34	14	4.75	280	94.91
头孢霉素 II	30	1	0.34	5	1.69	289	97.97
青霉素	20	92	31.19	125	42.37	78	26.44
氯霉素	30	82	27.80	82	27.80	131	44.40
庆大霉素	10	156	52.88	44	14.92	95	32.20
链霉素	10	268	90.85	20	6.78	7	2.37
卡那霉素	30	290	98.30	3	1.02	2	0.68
四环素	30	265	89.83	9	3.05	21	7.12
土霉素	30	208	70.51	45	15.25	42	14.24
金霉素	20	285	96.61	8	2.71	2	0.68
新霉素	10	291	98.64	4	1.36	0	
Optochin	5	3	1.02	29	9.83	263	89.15

从表 2 结果证实, 295 株肺炎链球菌对 11 种常用抗生素药物敏感性各有不同。对红霉素和头孢霉素 II 最敏感, 除 1 株菌耐药外, 其余 294 株菌都敏感, 占 99.66%; 对 Optochin 的敏感者占 98.98%, 其次是氯霉素, 青霉素和庆大霉素, 分别占 72.20%, 68.81% 和 47.12%。最不敏感的是卡那霉素, 新霉素, 金霉素, 链霉素, 四环素和土霉素, 其耐药菌株分别占 98.30%, 98.64%, 96.61%, 90.85%, 89.83% 和 70.51%。这是临床治疗上值得重视的问题。

### (二) 不同地区分离出的肺炎链球菌对临床上常用的三种抗生素耐药(表 3)

从表 3 结果说明, 不同地区分离出的菌株对青霉素, 氯霉素和庆大霉素等三种抗生素的耐药性有所不同。四川省、上海市和云南省分离出的菌株对青霉素最敏感, 无耐药菌株。南京市的 54 株菌中只有 5 株耐青霉素, 占 9.30%。安徽省、沈阳市和天津市的菌株则耐青霉素的较多, 分别是 63.16% (12/19)、63.16% (12/19)

表 3 不同地区的肺炎链球菌对三种抗生素耐药结果

地 区	菌株数	青 霉 素		氯 霉 素		庆 大 霉 素	
		株数	%	株数	%	株数	%
北京市	107	26	24.30	27	25.23	53	49.53
南京市	54	5	9.30	11	20.37	25	46.30
天津市	27	14	51.85	8	29.63	20	74.07
武汉市	23	7	30.44	6	26.09	11	47.82
安徽省	19	12	63.16	9	47.37	13	68.42
沈阳市	19	12	63.16	8	42.11	10	52.63
四川省	12	0	0	3	25.00	4	33.33
上海市	8	0	0	3	37.50	3	37.50
云南省	8	0	0	1	12.50	4	50.00

和 51.85% (14/27), 其次是武汉市和北京市的菌株, 分别占 30.44% (7/23) 和 24.30% (26/107)。云南省、南京市、四川省、北京市、武汉市和天津市的菌株对氯霉素耐药者较少, 只有 12.50—29.63%, 而安徽省和沈阳市的菌株耐氯霉素者较多, 分别占 47.73% 和 42.11%。上述九个省市分离出的菌株对庆大霉素均有较多的耐药者, 尤以天津市和安徽省菌株耐药者最多, 分别占 74.07% 和 68.42%。

### (三) 不同标本中分离出的肺炎链球菌对三种常用抗生素的耐药(表 4)

表 4 不同来源的肺炎链球菌对三种抗生素耐药结果

菌种来源	菌株数	青 霉 素		氯 霉 素		庆 大 霉 素	
		株数	%	株数	%	株数	%
脑脊髓液	91	33	36.26	31	34.07	63	69.23
血 液	35	15	42.86	11	31.43	15	42.86
中耳液及鼻腔分泌物	110	28	25.45	23	20.91	45	40.91
胸水、腹水	20	10	50.00	12	60.00	11	55.00
其他*	37	4	10.81	6	16.22	19	51.35

\* 包括眼分泌物, 脓汁, 脑硬膜下积液, 关节积液, 乳汁分泌物, 肺泡液和气管分泌物等标本。

从表 4 结果证实, 不同标本来源的肺炎链球菌对青霉素、氯霉素和庆大霉素的耐药情况不同。从脑脊髓液分离出的菌株对三种抗生素耐药者较多, 占 34.07—69.23%。从血液中分离出的菌株对三种抗生素耐药者次之, 占 31.43—42.86%。从中耳液和鼻腔分泌物分离出的菌株对三种抗生素耐药者较少, 只占 20.91—40.91%。从其他标本中分离出的菌株

表 5 不同年代的肺

年 代	菌 株 数	头孢霉素 II		红 霉 素		青 霉 素		氯 霉 素		庆大霉素	
		株数	%	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%
9182	87	0	0	0	0	38	43.67	22	25.29	51	58.62
9183	202	1	0.50	1	0.50	54	26.73	57	28.22	100	49.50

表 6 常见血清型菌株对

抗 生 素	血清型 菌 株 数	1 型			2 型			5 型		
		总株数	耐药数	%	总株数	耐药数	%	总株数	耐药数	%
青 霉 素		26	9	34.62	18	8	44.44	17	8	47.06
氯 霉 素		26	12	46.15	18	8	44.44	17	14	82.35
庆大霉素		26	15	57.69	18	15	83.33	17	16	94.12

对青霉素和氯霉素较敏感,耐药菌株是 10.81—16.22%,对庆大霉素有 51.35% 耐药。胸水和腹水中分离出的菌株对三种抗生素耐药者高达 50.00—60.00%。

#### (四) 不同年代分离出的肺炎链球菌对 11 种抗生素的耐药性(表 5)

表 5 结果说明,不同年代分离出的肺炎链球菌对青霉素和庆大霉素的耐药性有差异。对青霉素耐药 1982 年为 43.67% (38/87), 1983 年则是 26.73% (54/202)。对庆大霉素耐药 1982 年是 58.62%, 1983 年则是 49.50%。对其余九种抗生素的耐药性则不同年代分离出的菌株无明显差别。

#### (五) 肺炎链球菌常见的血清型对三种抗生素的耐药性的比较

1981 年至 1983 年从我国分离出的肺炎链球菌常见的七个血清型是 1 型, 2 型, 5 型, 6 群, 14 型, 19 群和 23 群。这七个血清型菌株对三种抗生素的耐药性比较见表 6。

从表 6 结果看出,七个常见血清型菌株对青霉素的敏感性无明显差异。5 型菌株对氯霉素和庆大霉素的耐药较多,各占 82.35% 和 94.12%。6 群菌株对氯霉素耐药较少,占 20.00%。14 型菌株耐庆大霉素者占 76.92%。19 群和 23 群菌株耐氯霉素者占 18.75% 和 11.11%。2 型菌株耐庆大霉素较强,占 83.33%。

## 讨 论

药物敏感试验常用纸片法,琼脂稀释法,肉水稀释法,以及微量稀释法等。由于试验方法的不同,培养基及接种量等条件亦不同,所以药物敏感试验的结果不宜比较。为此我们建议使用 WHO 推荐的标准化试验方法<sup>[7]</sup>。

本文报告的 295 株肺炎链球菌对红霉素、头孢霉素 II 最敏感,对青霉素、氯霉素和庆大霉素等也比较敏感。但值得重视的是对几种常用的抗生素出现了较多的耐药菌株,给临床治疗造成了困难。

从我国不同地区,不同标本来源及不同血清型菌株都出现了耐青霉素、氯霉素和庆大霉素的结果。天津市分离出的菌株有较多的耐青霉素和庆大霉素。从胸水和腹水中分离出的菌株对青霉素、氯霉素及庆大霉素的耐药性较强,从血液中分离出的菌株次之。从脑脊液液中分离出的菌株对庆大霉素的耐药性较对青霉素和氯霉素强,从中耳液中分离出的菌株对青霉素和氯霉素较敏感。6 群, 19 群和 23 群菌株对氯霉素较敏感, 5 型对青霉素比氯霉素及庆大霉素敏感。为提高临床治疗效果,降低病死率,对从病人分离出的肺炎链球菌进行对抗生素的药物敏感试验是至关重要的,它能为临床选择用药提供科学依据。建议有条件的医院能把药

### 炭链球菌的耐药结果

链霉素		卡那霉素		四环素		土霉素		金霉素		新霉素	
株数	%	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%	株数	%
81	93.10	86	98.85	77	88.51	59	67.81	83	95.40	87	100.00
182	90.10	198	98.02	183	90.59	144	71.30	196	97.03	197	97.52

### 三种抗生素的耐药结果

6 群			14 型			19 群			23 群		
总株数	耐药数	%	总株数	耐药数	%	总株数	耐药数	%	总株数	耐药数	%
35	12	34.29	13	6	46.15	16	8	50.00	18	7	38.89
35	7	20.00	13	6	46.15	16	3	18.75	18	2	11.11
35	13	37.14	13	10	76.92	16	7	43.75	18	10	55.56

物敏感试验列为常规。

### 参 考 文 献

- [1] Austrian, R.: *J. Infect. Dis.*, 131: 474, 1975.
- [2] Fraser, D. W. et al.: *Amer. J. Epidemiol.*, 102: 394, 1975.
- [3] Fetzlaf, T. R. et al.: *Pediatrics*, 59: 827, 1977.
- [4] 丁绍卿: 国外医学(生物制品分册), 5: 197, 1980.
- [5] White, A. R. et al.: *Br. Med. J.*, 1: 131, 1977.
- [6] Kislak, J. W. et al.: *N. Engl. J. Med.*, 276: 852, 1967.
- [7] WHO: Requirements for Antimicrobial Susceptibility tests, WHO/BS/81, 1337, 1981.
- [8] 上海市第六人民医院检验组: 快速检验诊断资料汇编, p. 105, 人民卫生出版社, 1973.