

36.6% 和 34.1%; 同时出现了对美罗培南耐药的菌株, 其耐药率为 26.8%。但尚未检测出对厄他培南、万古霉素、利奈唑胺、及喹诺酮类抗菌药物耐药的菌株。表明 SPN 感染的患儿不应选择红霉素和青霉素进行治疗, 但可以选择阿莫西林、第三代头孢菌素和喹诺酮类(限成人患者)进行治疗; 对于严重 SPN 感染的患者, 应根据药敏试验结果选择万古霉素、厄他培南、利奈唑胺或喹诺酮类。

综上所述, 儿童肺炎链球菌对常用抗菌药物青霉素和红霉素的耐药率较高, 不应作为肺炎链球菌治疗的主要药物。目前阿莫西林及第三代头孢菌素类抗菌药物对 PSSP 的敏感性仍较好, 但对于 PRSP 菌株, 其耐药性显著升高; 对于 PRSP 感染的患儿可以选择万古霉素或去甲万古霉素进行治疗或根据药敏试验结果选择敏感的抗菌药物进行治疗, 成人患者还可以选择喹诺酮类抗菌药物进行治疗。随着细菌耐药性的不断升高, 在经验性使用抗菌药物治疗前应尽量采集标本行细菌培养, 并根据药敏试验结果制定个体化治疗方案, 减少细菌耐药性的产生。

参考文献:

- [1] 郭磊, 丁效国. 儿童社区获得性肺炎病原学调查分析[J]. 儿科药学杂志, 2014, 20(7): 42-45.
- [2] 刘翠兰, 刘成军. 儿童细菌性重症肺炎病原菌的临床分析[J]. 儿科药学杂志, 2010, 16(2): 44-46.
- [3] 肖富明. 我院 200 例下呼吸道感染患儿肺炎链球菌临床分离情况及耐药性分析[J]. 儿科药学杂志, 2014, 20(5): 50-52.
- [4] STEVENSON L W. Left ventricular assist devices as destination therapy for end-stage heart failure [J]. Cardiovascular medicine, 2004, 6(6): 471-479.
- [5] 林雪峰, 周文斐, 江丹英, 等. 儿童肺炎链球菌对青霉素耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(9): 1811-1883.
- [6] 孟爱华, 张帅, 张淑明, 等. 肺炎链球菌药物敏感性分析[J]. 中国临床医生, 2014, 42(3): 36-37.
- [7] 钟天鹰, 迟富丽, 王惠云, 等. 324 株儿童感染肺炎链球菌耐药情况的分析[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(6): 408-411.
- [8] 金国强, 吴俭, 陈晓, 等. 儿童呼吸道感染肺炎链球菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(18): 4452-4454.

(编辑: 杨丹)

(收稿日期: 2015-08-06 修回日期: 2015-09-07)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.04.015

· 论 著 ·

2013-2014 年三门县儿童呼吸道流感嗜血杆菌生物分型及耐药性分析

丁正祥, 王义长, 徐小红 (浙江省三门县人民医院, 浙江台州 317100)

[摘要] 目的: 探讨浙江省三门县儿童呼吸道流感嗜血杆菌(Hi)的生物分型及耐药性。方法: 回顾性分析 2013 年 1 月至 2014 年 12 月在浙江省三门县人民医院儿科门诊与住院部治疗的呼吸道感染患儿 7 140 例, 采用无菌负压吸引法采集新鲜痰液, 进行流感嗜血杆菌培养、分离, 进行生物分型, 使用生物鉴定仪、鉴定卡、药敏试剂盒进行药敏试验并对其 β -内酰胺酶进行检测。结果: 7 140 例儿童呼吸道感染患儿分离出 337 株 Hi; 生物学分型以 II 型和 III 型所占比例最大, 二者占全部 Hi 菌株的 91.4%; 337 株 Hi β -内酰胺酶阳性率为 32.64% (110/337); Hi 的各类抗菌药物耐药性检测中氨苄西林的耐药率最高; Hi 对阿莫西林/克拉维酸、四环素、头孢噻肟、利福平、氯霉素等的敏感率均大于 90%, 对氧氟沙星、头孢唑肟、头孢克洛等敏感率均大于 80%。结论: 2013 年—2014 年三门县儿童呼吸道 Hi 生物学分型以 II 型、III 型为主, 且 II 型产 β -内酰胺酶的比率最高, Hi 对氨苄西林的耐药率最高, 对阿莫西林/克拉维酸、四环素、头孢噻肟、利福平、氯霉素等的敏感率均大于 90%, 阿莫西林/克拉维酸是治疗 Hi 感染的首选药物。

[关键词] 儿童; 流感嗜血杆菌; 耐药性; 生物学分型

[中图分类号] R725.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)04-0040-04

Biological Typing and Drug Resistance of the *Haemophilus Influenzae* of Children with Respiratory Infections in Sanmen County from 2013 to 2014

Ding Zhengxiang, Wang Yichang, Xu Xiaohong (Sanmen People's Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang Taizhou 317100, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the biological typing and drug resistance of *Haemophilus influenzae* (Hi) in children with respiratory infections in Sanmen area. **Methods:** Analyzed the clinical data of 7, 140 cases of children with respiratory tract infection from January

作者简介: 丁正祥 (1962.12~), 男, 大学专科, 主要从事临床微生物检验工作, E-mail: youdali@163.com。

2013 to December 2014 in pediatric outpatient and the inpatient of Sanmen Ppeople's Hospital of Zhejiang Province retrospectively, aseptic pressure suction method was adopted to collect fresh sputum, Hi was cultured, separated, biological classified, used the biological identification, identification card, susceptibility kits for drug sensitive test and the β -lactamase was tested. **Results:** A total of 337 strains of Hi were isolated in 7,140 cases of children with respiratory tract infection. Biological type II and type III accounted for the largest proportion, 91.4% of all Hi. β -actamase positive rate was 32.64% (110/337). Resistance rate to benzyl chloride methicillin was the highest in all kinds of antibacterial drug resistance to Hi, the sensitivity rate to amoxicillin/clavulanate acid, tetracycline, cefotaxime, rifampicin, chloramphenicol of Hi were greater than 90%, the sensitivity rate to ofloxacin, cefuroxime, cefaclor of Hi were greater than 80%. **Conclusion:** Biological type II and type III of Hi accounted for the largest proportion in children with respiratory infections from 2013 to 2014 in Sanmen county children, and type II produced β -lactamase, the resistance rate to benzyl chloride methicillin was the highest, the sensitivity rate to amoxicillin/clavulanic acid, tetracycline, cefotaxime cefotaxime, rifampicin, chloramphenicol were greater than 90%. So amoxicillin/clavulanic acid is the choice for treatment of Hi infection.

[**Keywords**] children; *Haemophilus influenzae*; drug resistance; biological typing

流感嗜血杆菌 (*haemophilus influenzae*, Hi) 是导致儿童严重细菌感染的主要致病菌,特别是社区获得性肺炎,Hi 为其重要病原菌。文献[1-2]报道显示,Hi 的耐药菌株不断增加且其耐药机制也具有多样化,通常寄生于儿童呼吸道之内,可导致患儿发生细菌性肺炎及多种原发性与继发性感染,包括关节炎、骨髓炎与化脓性脑膜炎等,其中又以支气管肺炎在临床上最为多见。为明确流感嗜血杆菌在浙江省三门地区儿童呼吸道感染中的生物学分型和耐药性,本研究对 2013-2014 年浙江省三门地区儿童痰标本中分离的流感嗜血杆菌的相关资料进行分析,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 1 月至 2014 年 12 月在浙江省三门县人民医院儿科门诊和住院部治疗的呼吸道感染患儿 7 140 例,年龄为 4 个月~11 岁[(6.4 $\pm$ 3.8)岁]。流感抗体阳性 2 927 例,共分离出 Hi 337 株,分离率为 4.72%,排除同一例患儿在 72 h 内重复分离出的菌株。

1.2 方法

1.2.1 标本采集和细菌鉴定 患儿就诊时或入院 24 h 内使用一次性导管经鼻腔进入 7~10 cm,利用负压吸引法吸取痰液 1~2 mL,使用无菌生理盐水 2 mL 冲洗导管立即送检,具体操作按照《全国临床检验操作规程》^[3]中的相关标准进行标本的留取与接种,检测使用的仪器与试剂均为法国生物梅里埃公司出品。分离到的疑似菌株经卫星试验证实为嗜血杆菌属菌种后,使用奈瑟菌、嗜血杆菌鉴定卡(VITEK2 NH Test Card),采用 VITEK2-compact 的生物鉴定仪进行确认。(1)流感抗体检测:采用微量半致敏血凝抑制试验,以能完全抑制鸡红血球凝集的血清稀释倍数为 Hi 效价,Hi 效价 $\geq$ 1:20 为阳性。(2)奈瑟菌、嗜血杆菌鉴定卡的操作规程为:首先将嗜血杆菌巧克力琼脂培养基(HAE2)上菌落使用 0.45% 氯化钠溶液配制成浓度为 3 麦氏单位的 3 mL 菌悬液,然后将 NH 卡片导管插入配制好的菌悬液里一并放入 VITEK2-compact 生物鉴定仪填充箱内进行填充、自动封

口和读卡,录入菌株编号等相关信息并保存后,仪器自动定时检测、读数、记录并进行分析直至完成,通常在 6~8 h 内得到流感嗜血杆菌的鉴定结果。此外,同时进行手工药敏试验,首先配制 0.5 麦氏单位浊度菌液,配制完成后吸取 50 μ L 将其加入 7 mL 的 S 培养基的安瓿中小心混匀,然后吸取该菌液加入药敏试验条各孔内,每孔 135 μ L。在试验条上盖上孵育盖,在 35~37 $^{\circ}$ C 二氧化碳环境中孵育 18~24 h 读取药敏结果。(3)药敏试验:按照 CLSI(临床和实验室标准化研究所)文件要求及判定标准^[4]进行耐药性检测,药敏试剂盒采用嗜血杆菌和布兰汉药敏试剂盒(ATB HAEMO)进行试验。(4) β -内酰胺酶检测: β -内酰胺酶采用头孢噻吩纸片方法进行检测,将纸片进行湿润后蘸取 Hi 菌落并在 10 min 之内对其结果进行观察,产 β -内酰胺酶的标准为纸片颜色由黄色转变为红色,此时判定为阳性,纸片不变色则判定为阴性。(5)Hi 的生物学分型分布检测方法:参照 API NH 生化检测条上流感嗜血杆菌对吡啶、尿素和鸟氨酸脱羧酶的反应情况进行分型,API NH 生化反应条为法国生物-梅里埃产品,检测操作按照操作说明书进行。

1.2.2 Hi 感染与定植 感染菌:患者具有感染症状且根据药敏结果用药后治疗有效。定植菌:患者无感染症状或有感染症状但根据药敏结果用药治疗后无效。

1.3 观察指标及评定标准

观察分离出的 Hi 的生物型分布情况、各生物型产 β -内酰胺酶的株数及耐药性检测结果等。耐药性检测结果分为敏感(S)、非敏感(NS)、中介(I)和耐药(R),检测的抗菌药物种类包括头孢噻吩、氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、四环素、氧氟沙星、复方磺胺甲噁唑、头孢呋辛、头孢克洛、头孢噻肟、利福平及氯霉素等。

1.4 统计学方法

应用 SPSS19.0 统计软件,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,非参数检验使用秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hi 生物学分型

337 株 Hi 的生物学分型可分为 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII 型 8 个生物型, 所占比例对应分别为 8 株 (2.4%)、136 株 (40.4%)、172 株 (51.0%)、3 株 (0.9%)、8 株 (2.4%)、6 株 (1.8%)、3 株 (0.9%)、1 株 (0.3%), 其中 II 型和 III 型所占比例最大, 二者占全部 Hi 菌株的 91.4%。2013 年和 2014 年生物学分型比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 提示 2013 年、2014 年生物学分型比较稳定。见表 1。

表 1 2013-2014 年生物学分型分布

年份	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Z	P
2013	4	72	84	1	3	3	2	0	0.963	>0.05
2014	4	64	88	2	5	3	1	1		

2.2 各生物分型产 β -内酰胺酶分布情况

337 株 Hi 总的 β -内酰胺酶的阳性率为 32.64% (110/337), 其中 II 型和 III 型产 β -内酰胺酶阳性率分别为 41.18% 和 26.74%。见表 2。

表 2 337 株流感嗜血杆菌各型产 β -内酰胺酶情况

项目	分型							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Hi 生物学分型/株	8	136	172	3	8	6	3	1
β -内酰胺酶阳性/株 (%)	0(0)	56(41.18)	46(26.74)	1(33.33)	5(62.5)	1(16.67)	1(33.33)	0(0)

2.3 Hi 对各类抗菌药物的耐药性检测情况

Hi 的各类抗菌药物耐药性检测中, 对氨苄西林的耐药率最高; Hi 对阿莫西林/克拉维酸、四环素、头孢噻肟、利福平、氯霉素等的敏感率均大于 90%; Hi 对氧氟沙星、头孢呋辛、头孢克洛等敏感率分别为 84.6%、87.5%、83.1%。见表 3。

表 3 Hi 对常用抗菌药物的药敏试验结果

抗菌药物种类	敏感(S)	非敏感(NS)	中介(I)	耐药(R)
头孢噻吩	133(39.5)	135(40.0)	12(3.6)	57(16.9)
氨苄西林	229(68.0)	1(0.3)	0(0)	107(31.8)
阿莫西林/克拉维酸	326(96.7)	0(0)	0(0)	11(3.3)
四环素	310(91.9)	0(0)	4(1.2)	23(6.8)
氧氟沙星	285(84.6)	0(0)	0(0)	52(15.4)
复方磺胺甲噁唑	155(46.0)	135(40.0)	2(0.59)	45(13.4)
头孢呋辛	295(87.5)	1(0.3)	13(3.9)	28(8.3)
头孢克洛	280(83.1)	1(0.3)	13(3.9)	43(12.8)
头孢噻肟	330(97.9)	0(0)	2(0.59)	5(1.5)
利福平	330(97.9)	0(0)	2(0.59)	5(1.5)
氯霉素	312(92.6)	1(0.3)	5(1.48)	19(5.6)

3 讨论

呼吸道感染是儿童常见的感染性疾病, 也是儿童住院治疗的主要原因。流感嗜血杆菌 (Hi) 是目前国内儿童社区获得性呼吸道感染最主要的病原菌之一。儿童机体免疫低下, 是 Hi 的易感人群, Hi 感染与机体杀菌抗体水平密切相关, 因此提高婴幼儿免疫能力是预防 Hi 感染的根本途径, 接种 Hi 疫苗是预防儿童呼吸道感染的有效措施^[3]。在本研究中, 浙江省三门地区 Hi 检出率为 4.72%, 低于景春梅等^[4]报道的重庆地区检出率 8.8%, 高于吴军华等^[5]报道的苏州地区检出率 4.4%。说明 Hi 检出率存在较大的地区差异。

Hi 的生物学分型可分为 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII 型等 8 个生物型, 该分型能反映 Hi 的来源和生物学特

性。本研究结果显示, 浙江省三门地区 Hi 主要以生物 II 型和 III 型为主, 两者占全部菌株 91.4%, 与肖航等^[6]报道相似。2013 年和 2014 年生物分型比较无明显变化, 说明在三门地区 Hi 的生物学分型比较稳定。Hi 生物 II 型和 III 型多见于呼吸道感染, 说明引起本地区儿童呼吸道感染主要为 II 型和 III 型, 提示我们在临床治疗过程中选择针对 II 型和 III 型的药物会使治疗效果更好。Hi 治疗过程中比较棘手的是治疗过程出现耐药, Hi 耐药性的产生主要与 β -内酰胺酶有密切关系。有文献^[7]报道, 在美国 Hi 产 β -内酰胺酶的比例为 34.5%, 在法国 Hi 产 β -内酰胺酶的比例为 29.3%, 在英国 Hi 产 β -内酰胺酶的比例为 21.2%。我国不同地区 Hi 产 β -内酰胺酶的比例差异比较大, 从 3.2% 至 50.0% 不等^[8]。本资料显示, 337 株 Hi 总的 β -内酰胺酶的阳性率为 32.64%, 介于文献报道的结果之间。II 型产 β -内酰胺酶阳性率明显高于其他生物型, 与文献^[9]报道相似, 提示 Hi 生物型与 β -内酰胺酶阳性率有一定的关系。

氨苄西林和阿莫西林曾经是治疗 Hi 感染的首选药物, 随着这两个药物的广泛使用, Hi 对其耐药性也不断增高^[10]。2010 年中国 CHINET 耐药性监测中, Hi 对氨苄西林的耐药性达到 31.7%^[11]。本研究耐药检测结果为 31.8%, 与全国水平相似, 提示在浙江省三门地区儿童呼吸道流感嗜血杆菌感染治疗中不能将氨苄西林作为经验用药。本研究结果显示, Hi 对阿莫西林/克拉维酸、四环素、头孢噻肟、利福平、氯霉素等的敏感率均 > 90%, Hi 对氧氟沙星、头孢呋辛、头孢克洛等敏感率均 > 80%, 提示这些药物对浙江省三门地区儿童呼吸道流感嗜血杆菌感染仍保持较高的敏感性, 阿莫西林/克拉维酸可以作为治疗的首选药物。

综上所述, 由于 Hi 的耐药性在不同的国家或同一个国家不同地区存在明显的差异, 因此, 不同国家或地区应该重视开展本地区的 Hi 耐药性监测, 根据耐药监测结果选择合适的治疗药物, 对指导当地临床治疗 Hi 感染具有重要意义。

参考文献:

- [1] 贾晓芸, 金玉. 小儿下呼吸道感染常见致病菌及其耐药性分析[J]. 国际儿科学杂志, 2012, 39(4): 414-418.
- [2] 于春冬, 牟文凤, 刘晶, 等. 儿童下呼吸道感染流感嗜血杆菌的分离及耐药性分析[J]. 中国实用医药, 2014, 9(23): 158-159.
- [3] 钱夏婧, 华春珍, 景伟兴, 等. 流感嗜血杆菌耐药模式监测及耐药机制研究[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(3): 262-264.
- [4] 景春梅, 王偲. 2009-2013 年重庆地区儿童感染流感嗜血杆菌的耐药性及血清型分[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(23): 2400-2403.
- [5] 吴军华, 季伟, 陶云珍. 2006-2007 年苏州地区儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌分布及耐药性分析[J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(2): 131-134.
- [6] 肖航, 吴祥林, 姚伟, 等. 儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌的耐药性分析[J]. 热带医学杂志, 2014, 14(12): 1599-1601.
- [7] 杨晓华, 谭南, 林爱心, 等. 儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌的耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014(5): 436-439.
- [8] 刘东华, 胡艳华. 儿童呼吸道不可分型流感嗜血杆菌感染及耐药现状[J]. 中华全科医学, 2014, 12(8): 1304-1305, 1308.
- [9] 常璿. 呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌的生物分型与耐药性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(21): 2922-2923.
- [10] 陈淑娟, 李国铀, 林丽容, 等. 流感嗜血杆菌的分布及耐药性分析[J]. 中国实用医药, 2014(29): 190-191.
- [11] 史梦, 保勇, 尹亚非, 等. 儿科患者呼吸道感染常见病原菌及耐药性分析[J]. 中国医学创新, 2014, 11(23): 112-114, 115.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2015-06-29 修回日期:2015-11-16)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.04.016

• 临床(药事)管理与规范 •

儿科人群药物临床试验技术指导原则

国家食品药品监督管理总局(2016 年 3 月 1 日发布)

[中图分类号]R954

[文献标识码]C

[文章编号]1672-108X(2016)04-0043-05

1 概述

儿童不是成人的缩影。儿科人群的脏器结构和生理功能与成人不同,即使在儿科人群的不同年龄段,其躯体和心理特征也存在一定差异,难以利用成人临床试验数据证明儿科人群用药的安全性和有效性,甚至在同属儿科人群范围内,多数情况下也不能完全由大年龄段人群的数据直接推导出小年龄段人群,特别是新生儿。对于支持批准用于特定年龄段儿童的药品,应有相应的儿科人群临床试验数据予以支持。因此,规范儿科人群药物临床试验的关键环节,对于保护受试者的权益,获得质量良好的研究数据,确保儿科患者用药的有效性和安全性十分重要。

另一方面,与成人临床试验相比,儿科人群临床试验在伦理学考虑、入选操作和评价方法等诸多方面具有特殊性,并存在一定的困难,特别在儿科患者中开展大规模的临床试验难度更为突出。因此,充分利用已有的成人研究数据,采用新的研究方法,例如基于模型和模拟等,按照数据特征的同质性从成人向目标儿科人群逐步外推,可以最大程度减少儿科人群不必要的重复研究,获得最大信息量的知识,用于支持全面的科学评价。

为此,我们制定本指导原则,阐述了开展儿科人群药物临床试验的特殊关注,说明了新研究方法的应用,提出了从成人数据向儿科人群数据外推的原则和要求,

以及针对儿科临床试验设计中常见问题的考虑并进行了系统分析。力求通过本指南的制定,进一步规范我国儿科人群药物临床试验,提高研究质量,为我国儿科人群用药的有效性和安全性提供更加充分可靠的数据支持。

本指导原则适用于我国研发用于儿科人群新药(包括已上市药物增加儿科适应症)的临床试验。参考本指导原则时,应同时结合药物临床试验质量管理规范(GCP)、人用药品注册技术规范国际协调会(ICH)和国内外其他相关指南要求。

本指导原则不具有强制性的法律约束力,仅代表药品监管部门当前的观点和认识,根据科学研究的进展不断完善本指导原则中的相关内容。鼓励申办者、研究者与药品监管部门积极沟通和讨论,促进我国儿科药物的研发,满足儿童用药需求。

2 伦理学考虑

设计儿科人群药物临床试验时,在满足评价要求的前提下,尽可能遵循“样本量最小、标本最少、痛苦最小”的原则。如必须采用侵入性检测时,应对操作方法和频率进行严格规定,尽量减少重复的有创性的检测步骤。

应对已获得的受试药物的非临床和临床安全性数据进行分析,对潜在风险进行预估,特别是那些在成人试验中不常被考虑的风险,如恐惧、疼痛、与父母家庭分