

2004~2009 年肺炎克雷伯菌的耐药性变迁

刘海霞(湖南省永州市人民医院检验科 425100)

【摘要】 目的 分析永州市人民医院 2004~2009 年肺炎克雷伯菌的耐药变迁,以指导临床合理应用抗菌药物。**方法** 对永州市人民医院 2004~2009 年 595 株肺炎克雷伯菌的产酶和耐药情况进行了回顾性分析。**结果** 2004~2009 年肺炎克雷伯菌的产酶率呈逐年增高的趋势,超超广谱 β -内酰胺酶(SSBL)从 2004~2005 年的 0.00% 上升到 2009 年的 6.67%,碳青霉烯类抗菌药物开始产生耐药,并有上升趋势,从 2008 年的 4.2% 至 2009 年的 10.4%。**结论** 永州市人民医院肺炎克雷伯菌的产酶率逐渐增高,并对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性有上升趋势,因此及时准确地进行耐药性分析,为临床合理应用抗菌药物提供依据。

【关键词】 肺炎克雷伯菌; 耐药性变迁; 超超广谱 β -内酰胺酶; 碳青霉烯类抗菌药物
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.21.016
中图分类号:R969.4 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)21-2335-02

Exploration of the changes of the antibiotic resistance of klebsiella pneumoniae in 2004~2009 LIU Hai-xia. Clinical Laboratory, Yongzhou People's Hospital Yongzhou, Hunan 425100, China

【Abstract】 Objective To analyze the antibiotic resistance changes of Klebsiella pneumonia in 2004~2009 in Yongzhou people's hospital, in order to guide the rational use of antibiotics clinically. **Methods** From 2004 to 2009 in Yongzhou people's hospital, 595 Klebsiella pneumoniae producing enzymes and drug resistance were analyzed retrospectively. **Results** In 2004~2009 the production of the enzyme of Klebsiella pneumoniae was increased by a great deal, and SSBL from 0% in 2004-2005 risen to 6.67% in 2009, and carbapenem antibiotic begins to produce resistance, and has an upward trend, from 4.2% in 2008 to 10.4% in 2009. **Conclusion** Klebsiella pneumoniae enzyme production rate gradually increased, and resistance to carbapenem antibiotics have an upward trend in Yongzhou people's hospital, so accurate and timely analysis of clinical drug-resistance becomes very important in order to provide the basis for rational use of antibiotics.

【Key words】 klebsiella pneumoniae; antibiotic resistance changes; SSBL; carbapenem antibiotics

肺炎克雷伯菌是医院感染及社区获得性感染的重要病原菌,近年来,随着广谱抗生素的大量使用,肺炎克雷伯菌出现了严重的多重耐药性,给临床治疗造成了相当大的困难。为了解本院肺炎克雷伯菌的耐药趋势,更好地为临床抗感染治疗提供依据,本文回顾性分析了 2004~2009 年肺炎克雷伯菌的耐药情况,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 2004 年 1 月至 2009 年 12 月本院门诊及住院患者标本分离得到肺炎克雷伯菌 595 株。肺炎克雷伯菌(ATCC 700603)为产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)质控菌株、阴沟肠杆菌(029 M)为 AmpC 酶质控菌株。

1.2 细菌鉴定和药敏试验 用美国德灵公司的 walkaway-96 全自动微生物分析仪分析鉴定及药敏试验。

1.3 ESBLs 检测 按美国临床实验标准化委员会推荐的标准纸片扩散法测定 ESBLs,采用头孢噻肟(CTX, 30 μ g)及头孢噻肟/克拉维酸(CTXL, 30 μ g/10 μ g)组合、头孢他啶(CAZ, 30 μ g)及头孢他啶/克拉维酸(CAZL, 30 μ g/10 μ g)组合。任一组药敏试验的抑菌环直径相差大于或等于 5 mm 时判定 ESBLs

阳性。以质控菌株肺炎克雷伯菌(ATCC 700603)为 ESBLs 阳性对照。

1.4 AmpC 酶检测 采用酶提取物三维试验方法,参考文献[1]操作。挑取血平板上过夜培养的数个待测菌落,加入 30 mL 胰蛋白大豆肉汤中,35 $^{\circ}$ C 恒温振荡培育 7 h,4 $^{\circ}$ C 4 000 r/min 离心 30 min,取沉淀置-80 $^{\circ}$ C 反复冻融 5 次。加入 1.5 mL 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)旋涡混匀,4 $^{\circ}$ C 13 000 r/min 离心 15 min,取上清液,即为酶提取物。将 0.5 麦氏浊度的阴沟肠杆菌(ATCC 25922)菌液密涂于 MH 琼脂平板,稍干后在平板中心贴一 30 微克/片的头孢西丁纸片。用无菌刀片在离纸片边缘 5 mm 处放射状地切一条狭缝,用微量加样器取 20 μ L 酶提取物加入狭缝内,避免酶液溢出狭缝,待酶液稍干后置 35 $^{\circ}$ C 孵箱过夜。若在狭缝与抑菌圈的交界处出现扩大的长菌区域,判为三维试验阳性,即 AmpC 酶阳性。以标准菌株阴沟肠杆菌(029 M)的酶粗提物为阳性对照。

1.5 统计学方法 用 WHONET 5.3 软件进行统计。

2 结 果

2.1 肺炎克雷伯菌的产酶情况 见表 1。

表 1 2004~2009 年肺炎克雷伯菌的产酶情况(%)

项目	2004 年(n=66)	2005 年(n=74)	2006 年(n=89)	2007 年(n=113)	2008 年(n=118)	2009 年(n=135)
单 ESBLs 阳性	10 (15.20)	23 (31.20)	33 (37.10)	42 (37.20)	67 (56.80)	65 (48.10)
单 AmpC 阳性	0 (0.00)	0 (0.00)	4 (4.49)	4 (3.54)	10 (8.47)	11 (8.15)
二者同时阳性	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (1.12)	4 (3.54)	8 (6.78)	9 (6.67)

2.2 肺炎克雷伯菌的耐药情况 见表 2。

表 2 2004~2009 年肺炎克雷伯菌对 18 种抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	2004 年(n=66)	2005 年(n=74)	2006 年(n=89)	2007 年(n=113)	2008 年(n=118)	2009 年(n=135)
阿莫西林/克拉维酸	51.2	54.1	60.7	61.9	55.1	56.3
哌拉西林	48.5	54.1	44.9	44.2	84.7	66.7
哌拉西林/他唑巴坦	0.0	0.0	5.62	7.1	15.3	14.8
头孢唑林	75.8	67.6	67.4	61.9	76.3	74.1
头孢噻肟	18.2	33.9	44.9	44.2	76.3	74.1
头孢曲松	15.2	35.1	44.9	45.1	73.7	63.7
头孢他啶	15.2	31.2	44.9	44.2	73.7	63.7
头孢吡肟	15.2	31.2	38.2	40.7	63.6	54.8
左氧氟沙星	19.7	20.3	28.1	35.4	42.4	44.4
替卡西林/克拉维酸	13.6	9.5	10.1	13.3	16.9	22.2
头孢西丁	0.0	0.0	5.6	7.1	15.3	14.8
亚胺培南	0.0	0.0	0.0	0.0	4.2	10.4
氨曲南	18.2	35.1	44.9	45.1	76.3	63.7
庆大霉素	13.6	20.3	38.2	35.4	25.4	44.4
阿米卡星	13.6	18.9	20.2	27.4	23.7	22.2
复方新诺明	19.7	54.1	67.4	61.9	73.7	63.7
环丙沙星	18.2	31.2	28.1	40.7	42.4	44.4
氨苄西林/舒巴坦	1.5	6.7	7.8	18.6	22.3	29.6

3 讨 论

近年来,肺炎克雷伯菌多重耐药菌株越来越常见,已成为医院感染的主要病原菌。本研究结果显示,肺炎克雷伯菌对β-内酰胺酶类、喹诺酮类等抗生素的耐药性均有不同程度的增高,肺炎克雷伯菌对β-内酰胺酶类抗生素的耐药机制主要是产ESBLs、AmpC酶及同时产ESBLs和AmpC。

ESBLs是由质粒介导的能水解青霉素类、第1~4代头孢菌素类、单环内酰胺类抗生素的耐药性酶,由于作用底物广泛而称之,并可在菌株间转移和传播^[2]。AmpC酶又称诱导酶,通常情况下其表达水平较低,且无临床意义,但在β-内酰胺类抗生素等诱导剂的作用下则大量产生,导致其对多种β-内酰胺类抗生素耐药^[3]。SSBL细菌即同时产生ESBLs和质粒型AmpC,具有ESBLs和AmpC耐药性,对青霉素类,第1~4代头孢菌素类、单环酰胺类、头霉素类及含酶抑制剂的药物均高度耐药。由表1可见,2004~2009年肺炎克雷伯菌的产酶率呈逐年增高的趋势。特别是SSBL从2004~2005年的无到2009年的6.67%,说明SSBL已在本院肺炎克雷伯菌感染中占了很大比例,这将使细菌感染的控制更加棘手。

值得关注的是,肺炎克雷伯菌已对作为肠杆菌感染治疗最后一道防线的碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南产生了耐药,而且在本院有上升趋势,从2008年的4.2%增至2009年的10.4%。由质粒介导碳青霉烯霉基因blaKPC是肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯类抗菌药物的重要原因^[4-5],KPC型碳青霉烯酶可水解碳青霉烯类、青霉素类、头孢菌素类和氨曲南等抗菌药物。及时、准确地检测AmpC与ESBLs菌株,为临床提供细菌的耐药性分析,指导临床合理应用抗生素,延缓耐药菌的产生,控制耐药

菌株传播等具有十分重要的意义。

参考文献

[1] Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Proteus mirabilis isolates at a veterans medical center[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38 (5):1791.

[2] 余炯, 凌保东, 雷军. 某院产超广谱β-内酰胺酶临床分离革兰阴性杆菌的耐药性及基因型分析[J]. 中国药房, 2007, 18(1):25-27.

[3] 周铁丽, 陈俐丽, 潘钦石, 等. 革兰阴性菌中超广谱β-内酰胺酶和AmpC酶的检测分析[J]. 温州医学院学报, 2003, 33(6):87.

[4] Gülmez D, Woodford N, Palepou MF. Carbapenem-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(6):523-526.

[5] Zhang R, Zhou HW, Cai JC, et al. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolysing {beta}-lactamase KPC-2 in carbapenem-resistant Serratia marcescens isolates from Hangzhou, China[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(3): 574-576.