

# 产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌药敏分析

马丽萍(华中科技大学同济医学院附属协和医院西区检验科,湖北武汉 430056)

**【摘要】** 目的 了解产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌的分离率及其耐药情况,为临床治疗提供依据。**方法** 收集 2007 年 1 月至 2009 年 12 月临床送检患者标本分离出的肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌,采用常规生化方法和梅里埃 API20E 系统鉴定、纸片扩散确证试验检测 ESBLs,药敏试验采用纸片扩散法。**结果** 281 株大肠埃希菌和 174 株肺炎克雷伯菌确证试验产 ESBLs 阳性率分别为 36.2% 和 40.9%,产 ESBLs 菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药高度耐药,对阿米卡星、头孢西丁、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、替卡西林/克拉维酸耐药性在 5.4%~25.6%,对环丙沙星、复方新诺明和庆大霉素耐药率较高,为 65.1%~88.9%,未发现耐亚胺培南产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌。**结论** 产 ESBLs 菌的问题日益严重,临床及时了解它们的耐药特点和变化趋势,对合理应用抗菌药物、延缓细菌耐药性的产生,控制播散菌株的流行具有重要的意义。

**【关键词】** 产超广谱内  $\beta$  酰胺酶; 大肠埃希菌; 肺炎克雷伯菌; 抗药性,细菌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)05-0526-02

**Drug sensitivity analysis of extended spectrum  $\beta$  lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*** MA Li-ping (Department of Clinical Laboratory, West Branch, Wuhan Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430056, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the antimicrobial resistance and the isolating rate of extended spectrum  $\beta$  lactamases(ESBLs)-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* to rationalize clinical medication. **Methods**

To collect the samples of isolated *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from January 2007 to December 2009 and to identify with common biochemistry and Marcel API20E system. To detect ESBLs by disk diffusion confirmation test. The drug sensitivity test was performed by disk diffusion method. **Results** 281 strains of *Escherichia coli* and 174 strains of *Klebsiella pneumoniae* were verified to produce ESBLs, the positive rates were 36.2% for *Escherichia coli* and 40.9% for *Klebsiella pneumoniae* respectively. ESBLs-producing bacteria were highly resistant to antibiotics with  $\beta$  lactamases, 5.4%~25.6% to amikacin, cefoxitin, cefoperazone-sulbactam, piperacillin-tazobactam, amoxicillin-clavulanic acid, ticarcillin-clavulanic acid, and 65.1%~88.9% to ciprofloxacin, centamicin and SMZ-TMP. There were no ESBLs-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with resistance to imipenem. **Conclusion** The problem of ESBLs-producing bacteria is getting more serious. Clinical physicians ought to understand the drug-resistance characteristics and the change trend of ESBLs-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, which is important to use antibiotics rationally, delay the production of bacterial drug-resistance and control the spread of drug-resistant strains.

**【Key words】** extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing; *escherichia coli*; *klebsiella pneumoniae*; drug resistance, bacterial

近年来,产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)是革兰阴性菌的重要耐药问题,主要由大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产生、质粒介导<sup>[1-3]</sup>,对  $\beta$ -内酰胺类药物耐药(包括青霉素类、头孢菌素类和氨基糖苷等),但对碳青霉烯类药物敏感,对酶抑制剂敏感,但使用酶抑制剂复合药物不一定有效。本文对本院 2007 年 1 月至 2009 年 12 月临床分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌进行 ESBLs 检测和耐药性分析,现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验菌株** 来自本院 2007 年 1 月至 2009 年 12 月从临床送检标本如痰液、咽拭子、尿液、胸腔积液、腹水及胆汁等分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌共 455 株,其中大肠埃希菌 281 株,肺炎克雷伯菌 174 株,均经常规生化和梅里埃公司生产的 API20E 系统鉴定。

**1.2 药敏纸片** 共 18 种,其中 17 种抗菌药纸片为北京天坛生物制品检定所产品,包括头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、头

孢西丁、庆大霉素、阿米卡星、环丙沙星、复方新诺明、氨苄西林、哌拉西林、奈替米星、哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、头孢哌酮/舒巴坦、替卡西林/克拉维酸、头孢噻肟/克拉维酸、头孢他啶/克拉维酸,另一种抗菌药亚胺培南为杭州默沙东制药有限公司产品。

**1.3 培养基** M-H 琼脂为杭州天和科技有限公司产品。

**1.4 质控菌株** 大肠埃希菌(ATCC25922)为阴性对照,肺炎克雷伯菌(ATCC700603)为阳性对照,菌株均购自杭州天和科技有限公司。

**1.5 药敏试验** 采用 K-B 纸片扩散法,选择 2006 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的抗菌药物,并按照其标准进行判断<sup>[4]</sup>。

**1.6 ESBLs 筛选试验** 将临床分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌进行药敏试验,按 2006 年 CLIS 标准,如果头孢他啶抑菌圈小于或等于 22 mm,头孢噻肟抑菌圈小于或等于 27 mm,

氨曲南抑菌圈小于或等于 27 mm, 有其中之一者, 疑为产 ESBLs 菌株, 应进行确证试验, 以确证是否为产 ESBLs 菌株。

**1.7 ESBLs 菌株确证试验** 将待检菌液均匀涂布于 M-H 琼脂平板, 将头孢噻吩和头孢噻吩/克拉维酸、头孢他啶和头孢他啶/克拉维酸 4 张药敏纸片均匀贴在 M-H 平板上, 35 °C 孵育培养 18 h, 测量抑菌环直径, 两对或其中一对直径相差大于或等于 5 mm 即可确证为产 ESBLs 菌株。

**1.8 统计分析** 用 Whonet5.4 软件统计分析耐药率。

**2 结 果**

**2.1 产 ESBLs 率** 2007~2009 年产 ESBLs 菌株数呈逐年增长趋势, 大肠埃希菌从 32.6% 上升至 40.9%, 肺炎克雷伯菌从 37.3% 上升至 43.8%。具体情况见表 1。

表 1 2007~2009 年菌株数分布及产 ESBLs 阳性率

年度	大肠埃希菌		肺炎克雷伯菌	
	株数	ESBLs(%)	株数	ESBLs(%)
2007	78	32.6	52	37.3
2008	98	35.2	59	41.6
2009	105	40.9	63	43.9
合计	281	36.2	174	40.9

**2.2 耐药率** 非产酶菌株对第 3 代头孢类、氨曲南、阿米卡星、奈替米星、亚胺培南等呈现较高的敏感率, 且无明显增加的趋势。产酶菌株对头孢菌素、青霉素类几乎完全耐药, 对喹诺酮类、氨曲南及庆大霉素耐药率增大, 对头孢西丁、阿米卡星及含酶抑制剂耐药率较低。产酶菌株与非产酶菌株耐药率差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。具体见表 2。

表 2 2007~2009 年大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对 16 种抗菌药耐药率 (%)

抗菌药	大肠埃希菌		肺炎克雷伯菌	
	ESBLs 阴性	ESBLs 阳性	ESBLs 阴性	ESBLs 阳性
	(n=281)	(n=97)	(n=174)	(n=68)
头孢噻吩	3.1	90.7	5.2	91.2
头孢他啶	3.3	91.3	3.6	93.2
头孢吡肟	0.0	76.3	0.0	80.3
头孢西丁	6.2	22.6	6.3	26.3
氨曲南	0.0	82.3	0.0	86.1
哌拉西林	46.3	93.2	51.3	94.9
亚胺培南	0.0	0.0	0.0	0.0
庆大霉素	45.3	65.1	49.6	65.2
阿米卡星	4.9	14.8	7.1	15.2
环丙沙星	67.6	82.6	69.8	88.9
复方新诺明	60.3	78.6	62.3	77.8
奈替米星	4.1	19.5	5.1	19.8
阿莫西林/克拉维酸	7.9	24.8	7.2	25.3
头孢哌酮/舒巴坦	0.6	19.2	0.9	18.3
哌拉西林/他唑巴坦	1.5	5.4	1.3	5.2
替卡西林/克拉维酸	18.2	23.8	16.8	25.6

**3 讨 论**

目前, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶是对  $\beta$ -内酰胺类药物产生耐药性的主要原因。超广谱  $\beta$ -内酰胺酶是丝氨酸蛋白酶的衍生物, 存在于细菌中, 是细菌染色体外的蛋白质。它水解抗生素中的  $\beta$ -内酰胺环而使抗生素失活, 尤其是广谱的头孢菌素, 青霉素及单环菌素等, 它由质粒介导<sup>[5]</sup>, 在细菌之间形成传播。超广谱  $\beta$ -内酰胺酶细菌是目前革兰阴性细菌耐药的主要原因<sup>[6]</sup>, 在临床抗菌治疗上造成日益严重的问题。

本院 ESBLs 菌株 4 年来分离率呈上升趋势, ESBLs 大肠埃希菌从 32.6% 上升至 40.9%, ESBLs 肺炎克雷伯菌从 37.3% 上升至 43.9%, 这在其他地区也有近似报道。说明产 ESBLs 的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌分离率已上升至一定比例, 应引起临床高度重视。本研究结果显示, 产酶株比非产酶株耐药率显著上升, 肺炎克雷伯菌比大肠埃希菌耐药率高。产酶株对  $\beta$ -内酰胺类药物均显示高度耐药, 同时对氨基糖苷类、喹诺酮类、磺胺类等药物的耐药也有增加, 说明产 ESBLs 菌株存在着广泛、多重耐药现象。如确证为 ESBLs 阳性菌株, 无论体外药敏试验是否敏感, 均应对所有青霉素类、头孢菌素类和氨曲南按耐药处理(根据 2006 年美国临床实验室标准化协会要求)。此两种细菌产酶株对环丙沙星、复方新诺明和庆大霉素耐药率较高, 为 65.1%~88.9%, 对阿米卡星、头孢西丁和含酶抑制剂类抗菌药耐药率较低, 为 5.4%~25.6%, 在临床治疗过程中可选择这些敏感的药物, 亚胺培南一直保持十分敏感, 对于重症患者建议首选该种药物。

为了控制医院中 ESBLs 阳性菌株的感染, 应把 ESBLs 的检测纳入常规, 掌握耐药特性, 对指导临床合理用药、延缓细菌耐药性的产生、控制播散菌株的流行具有十分重要的意义。

**参考文献**

[1] 林宁, 孙海平, 金辉. 多重耐药大肠埃希菌的耐药基因谱及菌株亲缘性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(12): 1673-1676.

[2] 罗艳萍, 张秀菊, 徐雅萍. 产超广谱  $\beta$  内酰胺酶肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌的分布及其耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(1): 101-104.

[3] 林宁, 孙海平, 金辉. 多重耐药大肠埃希菌整合子、转座子遗传标志研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(10): 1361-1363.

[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. CLSI documents M100-S16[S]. Wayne, Pennsylvania: CLSI, 2006.

[5] 卓超. 广州地区产 CTX-M 型超广谱  $\beta$  内酰胺酶大肠埃希菌谱和肺炎克雷伯菌的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(11): 1117-1119.

[6] Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D, et al. Prevalence of virulence genes in Escherichia coli strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases[J]. J Cell Mol Med, 2001, 5: 303-310.