

汉中地区 2010 年细菌耐药性监测分析

汤 进, 黄晓霞, 高小文, 孔花娟, 陈 皎(陕西省汉中市中心医院检验科 723000)

【摘要】 目的 了解 2010 年在该院就诊患者临床分离细菌的耐药情况, 指导抗生素的合理使用。**方法** 分离菌采用美国德灵 WalkAway 40SI 全自动细菌鉴定仪和法国梅里埃 API 手工鉴定系统进行鉴定; 药物敏感性实验的 MIC 法采用美国德灵 WalkAway 40SI 全自动细菌鉴定仪自动分析, 纸片扩散法按美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 推荐的纸片扩散法进行; 判读标准依据 2009 年 CLSI 的抗菌药物敏感性实验执行标准 M100-S19。**结果** 2010 年 1~12 月门诊及住院患者细菌培养标本 8 792 例中收集的非重复临床分离菌株 2 745 株, 其中革兰阴性菌占 72%, 革兰阳性菌占 28%。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 检出率 48.4% 和 46.3%; 金黄色葡萄球菌 (MRSA) 检出率 12.7%; 凝固酶阴性葡萄球菌 (MRCNS) 检出率 44.4%。未分离到万古霉素不敏感的葡萄球菌和肠球菌。**结论** 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 ESBLs 产生率较高而葡萄球菌中的 MRSA 和 MRCNS 产生率低; 对于肺炎链球菌红霉素和阿奇霉素耐药率为 100%, 是本地区耐药监测的特点, 整体监测结果与全国和其他地方有很多相似之处, 但又存在差异, 所以各自区域的耐药监测是必要的。

【关键词】 细菌耐药性; 耐药监测; 抗菌药物

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.004 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)14-1672-03

Monitoring and analysis of the antibiotic resistance of bacteria in Hanzhong district TANG Jin, HUANG Xiao-xia, GAO Xiao-wen, KONG Hua-juan, CHEN Jiao (Department of Clinical Laboratory, Hanzhong Central Hospital, Hanzhong, Shanxi 723000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the antibiotic resistance status of bacteria isolated from our hospital in 2009, and guide the rational use of antibiotics. **Methods** Bacterial identification and antibiotic testing were carried out using MicroScan WalkAway 40 system and Bio-Merieux API manual identification, complemented by K-B method according to CLSI (M100-S19, 2009). **Results** A total of 2 745 non-duplicated bacteria were isolated from 8 792 samples in the out-patient department from January 2009 to December 2009. Gram-negative bacteria accounted for 72%, while gram-positive bacteria accounted for 28%. The ESBLs detection rates of *E. coli* and *K. pneumoniae* were 48.4% and 46.3% respectively, MRSA accounted for 12.7%; whereas the isolated rate of MRCNS was 44.4%. There was no vancomycin insensitive isolates of staphylococcus aureus and enterococcus. **Conclusion** The trend of bacterial resistance is still on rise, In Gram-positive cocci, with the characteristics of *S. pneumoniae* resistant to erythromycin and azithromycin. And the detection rate of MRSA and MRCNS is low. In Gram negative bacilli, the percentage of ESBLs production is high, The study confirmed this kind of surveillance should be continued to guide the local clinical antimicrobial therapy.

【Key words】 bacterial resistance; drug resistance monitoring; antibacterial drugs

耐药菌所致感染已构成新世纪抗感染治疗的巨大挑战。细菌耐药监测是世界卫生组织“控制细菌耐药的全球性策略”^[1]。细菌的耐药情况日趋严重, 加强对病原菌的耐药监测指导合理使用抗生素具有重要意义^[2]。本文收集汉中地区 2010 年在本院的临床分离菌株进行药敏试验, 现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 收集本地区门诊及住院患者 2010 年 1~12 月在本院细菌培养标本 8 792 例中分离的非重复菌株 2 745 株。

1.2 仪器与试剂 鉴定药敏系统: 所有分离菌株采用美国德灵 WalkAway 40SI 全自动细菌鉴定仪和法国梅里埃 API 手工鉴定系统进行鉴定。药敏纸片: 抗菌药物纸片为英国 Oxoid 公司产品。培养基: 药敏实验用 MH 琼脂, HTM 琼脂, 血 MH 琼脂均选用英国 Oxoid 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 药物敏感性实验 MIC 法采用美国德灵 WalkAway

40SI 全自动细菌鉴定仪自动分析, 纸片扩散法按美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 推荐的纸片扩散法进行。质控菌株为大肠埃希氏菌 (ATCC25922)、铜绿假单胞菌 (ATCC27853)、金黄色葡萄球菌 (ATCC25922、ATCC29213)、粪肠球菌 (ATCC29212)、肺炎链球菌 (ATCC49619)、流感嗜血杆菌 (ATCC49247), 药敏方案依据 CLSI 规定制定。

1.2.2 超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 的检测 采用 CLSI 推荐的 ESBLs 的纸片扩散法确诊实验。

1.2.3 耐甲氧西林葡萄球菌的检测 采用 CLSI 推荐的使用 30 μ g 头孢西丁纸片进行纸片扩散法进行检测。

1.2.4 药敏结果的判读 依据 2009 年 CLSI 的抗菌药物敏感性实验执行标准 M100-S19。

1.3 统计学方法 数据统计分析采用 Whonet5.4 中文版软件结合手工统计。

2 结果

2.1 标本来源及分离率 本院 2010 年 1~12 月门诊及住院

患者细菌培养标本 8 792 例中收集的非重复临床分离菌株 2 745 株,总分离率为 31.2%。其中痰标本为 4 241 例占标本总数的 48.2%,分离 1 424 株占总分离株的 51.9%,分离率 33.6%;全血标本 787 例占标本总数的 9%,分离 76 株占总分离株 2.8%,分离率为 9.7%;其中分泌物标本为 1 710 例占标本总数 19.5%,分离 879 株占总分离株 32%,分离率 51.4%;大便标本 512 例占标本总数的 5.8%,分离 59 株占总分离株的 2.1%,分离率为 11.5%;尿液标本 361 例占标本总数 4.1%,分离 136 株占总分离株 5%,分离率为 37.7%;体液标本 203 例占标本总数 2.3%,分离 47 株占总分离株的 1.7%,分离率为 23.2%;其他标本 978 例占标本总数的 11.1%,分离 124 株占总分离株 4.5%,分离率为 12.7%。

2.2 细菌 在分离出 2 745 株细菌中,白色念珠菌 477 株占到 17.3%,前 10 位细菌分别为大肠埃希菌 297 株、肺炎克雷

伯菌 203 株、铜绿假单胞菌 158 株、金黄色葡萄球菌 149 株、阴沟肠杆菌 123 株、鲍曼不动杆菌 118 株、肺炎链球菌 55 株、粪肠球菌 55 株、草绿色链球菌 49 株、表皮葡萄球菌 47 株;其分别占分离总株数的 10.8%、7.4%、5.8%、5.4%、4.5%、4.3%、2%、2%、1.8%、1.7%;共占分离总株数的 45.7%。其中革兰阴性菌占 72%,革兰阳性菌占 28%。痰标本分离前 10 位的细菌分别是肺炎克雷伯菌 174 株、大肠埃希菌 144 株、铜绿假单胞菌 100 株、鲍曼不动杆菌 84 株、阴沟肠杆菌 79 株、金黄色葡萄球菌 76 株、肺炎链球菌 44 株、产气肠杆菌 15 株、流感嗜血杆菌 13 株、黏质沙雷菌 12 株;血培养分离前 10 位细菌为大肠埃希菌 14 株、草绿色链球菌 8 株、表皮葡萄球菌 8 株、人型葡萄球菌 8 株、肺炎克雷伯菌 8 株、金黄色葡萄球菌 3 株、粪肠球菌 2 株、肺炎链球菌 2 株、鲍曼不动杆菌 2 株、尿肠球菌 2 株。

表 1 常见肠杆菌科细菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=297)	肺炎克雷伯菌 (n=203)	阴沟肠杆菌 (n=123)	产酸克雷伯菌 (n=28)	弗劳地枸橼酸杆菌 (n=22)	奇异变形杆菌 (n=18)
加替沙星	63.9	7.5	9.8	15.4	14.3	14.3
氨苄西林	79.2	88.0	98.1	88.9	85.7	28.6
环丙沙星	64.5	10.0	17.0	15.6	41.4	14.3
左氧氟沙星	64.3	7.5	11.8	—	38.5	14.3
庆大霉素	63.6	25.0	28.8	14.8	17.6	14.6
复方新诺明	76.4	31.3	32.7	15.4	57.1	28.6
头孢噻肟	49.4	46.7	38.5	11.0	26.9	14.2
头孢他啶	45.8	45.5	40.4	10.0	41.4	14.2
头孢三嗪	48.8	46.3	45.1	11.0	29.5	14.2
亚胺培南	0	1.3	1.9	0	0	0
头孢吡肟	42.4	40.6	25.0	0	9.6	0
头孢西丁	20.2	23.1	100	15.4	85.7	—
阿米卡星	4.5	2.5	5.8	4.5	3.5	—
妥布霉素	62.7	8.8	30.8	16.8	23.3	14.3
头孢哌酮/舒巴坦	1.9	2.1	17.3	0	9.5	—
哌拉西林	79.2	14.0	48.1	11.1	71.4	14.2
阿莫西林/克拉维酸	—	—	100	23.1	85.7	—
氨曲南	—	—	44.0	0	71.4	—
头孢唑啉	—	—	100	77.8	85.7	28.6
哌拉西林/他唑巴坦	2.7	2.5	—	3.7	22.9	0

注:—表示无数据。

表 2 常见非发酵细菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	铜绿假单胞菌 (n=100)	鲍曼不动杆菌 (n=84)	嗜麦芽窄食单胞菌 (n=22)	木糖氧化产碱杆菌 (n=19)
环丙沙星	26.4	74.0	NA	50.0
左氧氟沙星	23.6	56.0	10.0	38.0
庆大霉素	30.6	76.0	NA	100
哌拉西林/他唑巴坦	18.1	—	NA	25.0
复方新诺明	100	72.0	10	50.0
头孢噻肟	36.1	70.0	NA	87.5
头孢他啶	11.1	72.0	80	25
头孢三嗪	48.6	70.0	NA	87.5
亚胺培南	5.6	8.5	NA	12.5
头孢吡肟	16.7	74.0	NA	87.5
阿米卡星	23.6	58.1	NA	87.5

续表 2 常见非发酵细菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	铜绿假单胞菌 (n=100)	鲍曼不动杆菌 (n=84)	嗜麦芽窄食单胞菌 (n=22)	木糖氧化产碱杆菌 (n=19)
妥布霉素	26.4	72.0	NA	87.5
头孢哌酮/舒巴坦	6.9	8.3	NA	—
哌拉西林	26.4	70.0	NA	—
氨基曲南	11.1	NA	NA	100
四环素	—	30.0	NA	0
多粘菌素 B	0	0	NA	—

注：— 表示无数据；NA 为 CLSI 未提供药敏折点。

2.3 细菌的耐药性分析

2.3.1 革兰阴性杆菌抗菌药物耐药性,本研究主要分析了肠杆菌科细菌和非发酵细菌分离的前几位细菌,肠杆菌科细菌包括了大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、产酸克雷伯菌、弗劳地枸橼酸杆菌、奇异变形杆菌的耐药率(表 1);非发酵包括铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱杆菌的耐药率(表 2)。

2.3.2 革兰阳性球菌,主要分析了葡萄球菌和链球菌分离的前几位细菌,葡萄球菌包括金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌(表 3);链球菌包括肺炎链球菌、粪肠球菌、草绿色链球菌(表 4)。

其中在分离的大肠埃希菌 297 株中产 ESBLs 的有 144 株,占 48.4%;分离的肺炎克雷伯菌 203 株中产 ESBLs 的有 94 株,占 46.3%。分离的金黄色葡萄球菌 149 株中耐甲氧西林(MRSA)19 株,占 12.7%;分离的凝固酶阴性葡萄球菌 81 株中耐甲氧西林(MRCNS)36 株,占 44.4%。未分离到万古霉素不敏感的葡萄球菌和肠球菌。

表 3 常见葡萄球菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	金黄色葡萄球菌 (n=149)	表皮葡萄球菌 (n=47)	溶血葡萄球菌 (n=21)
四环素	36.6	23.5	23.1
红霉素	84.5	94.1	84.6
庆大霉素	32.4	52.9	92.3
头孢唑啉	25.4	94.1	100
环丙沙星	23.9	47.1	100
阿莫西林/克拉维酸	25.4	94.1	100
左氧氟沙星	19.7	23.5	84.6
万古霉素	0	0	0
复方新诺明	0	64.7	15.4
氨苄西林	96.0	99.8	—
利奈唑胺	0	0	0
利福平	19.7	11.8	0
克林霉素	43.7	35.3	53.8
氯霉素	4.2	11.8	7.7

注：— 表示无数据。

表 4 常见链球菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	肺炎链球菌 (n=55)	粪肠球菌 (n=55)	草绿色链球菌 (n=49)
四环素	52.6	71.4	—
红霉素	100	57.1	92.3
环丙沙星	NA	7.1	NA

续表 4 常见链球菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	肺炎链球菌 (n=55)	粪肠球菌 (n=55)	草绿色链球菌 (n=49)
左氧氟沙星	6.7	7.1	30.8
万古霉素	0	0	0
氨苄西林	—	7.1	—
利奈唑胺	—	0	—
利福平	—	50.0	NA
氯霉素	—	28.6	—
青霉素	—	7.1	30.8
复方新诺明	94.7	NA	NA
苯唑西林	33.3	NA	NA
阿奇霉素	100	NA	—
头孢噻肟	—	NA	21.4
克林霉素	—	NA	91.7

注：— 表示未统计；NA 为 CLSI 未提供药敏折点。

3 讨论

通过以上结果可以看出,菌株在标本中的分布以痰标本为主占 51.9%,略高于广州地区的 48.2%^[3];其次为分泌物 19.5%,尿 5%。标本分离率前 3 位的为分泌物 51.4%,尿 37.7%,痰 33.6%。血培养分离率为 9.7% 低于文献报道的 10%~20%^[4-5];分析原因为采血时机掌握不好及在使用抗生素后采血。从分离菌来看白色念珠菌占首位,这与文献所报道的近 10 年来条件致病性真菌感染显著上升,其中念珠菌感染居首位一致^[6]。细菌还是以革兰阴性杆菌为主,其中又以肠杆菌科细菌为多,其中大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 ESBLs 产生率为 48.4%和 46.3%,均高于全国和广州报道水平^[3,6]。其中金黄色葡萄球菌(MRSA)占 12.7%,凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)占 44.4%,都大大低于广州地区水平^[3]和全国水平^[7-8];分析其原因是本研究分离的葡萄球菌大多来自于社区和本院儿科。监测未分离到万古霉素不敏感的葡萄球菌和肠球菌。ESBLs 产生率较高而 MRSA 和 MRCNS 产生率低是本院耐药监测的一个特点。

从监测来看大肠埃希菌耐药率最低的分别为亚胺培南(0%)、头孢哌酮/舒巴坦(1.9%)、哌拉西林/他唑巴坦(2.7%)、阿米卡星(4.5%);肺炎克雷伯菌头为孢哌酮/舒巴坦(0%)、亚胺培南(1.3%)、哌拉西林/他唑巴坦(2.5%)、阿米卡星(2.5%)与全国报道一致^[8]。对于监测的肠杆菌科其他几种细菌以上几种药物耐药率均在 25% 以下,特别是阿米卡星在 10% 以下。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对于头孢噻肟、头孢三嗪、头孢他啶、头孢吡肟的耐药率均在 40%(下转第 1677 页)

实验所使用的离心速度偏低,或离心时间不够,沉淀剂和缓冲液的效果未能达到最佳,而导致乙肝病毒颗粒的浓缩程度达不到检测的有效范围。上述的推测均有待作进一步研究。

综上所述,浓集离心的预处理方法使乙肝病毒颗粒得到浓缩,可以有效地提高血清学检测方法对部分隐匿型乙肝患者的检出率。

参考文献

[1] 王霞,陈常云,张加军,等. 隐匿性乙型肝炎病毒感染的检测及临床特点分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2007, 34(4): 243-245.

[2] Honarkar Z, Alavian SM, Samiee, et al. Occult hepatitis B among chronic liver disease patients [J]. Saudi Med J, 2005, 26(4): 601-606.

[3] Ergunay K. Occult hepatitis B infection [J]. Mikrobiyol Bul, 2005, 39(2): 241-249.

[4] 陈晓东,陶志华,王忠永,等. PEG 沉淀提取法在提取 HBV DNA 中的应用[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(4): 219.

[5] 顾炳权,郭粉雪,庄国忠,等. 聚乙二醇超速离心清除丙种球蛋白制剂中的乙型肝炎病毒[J]. 第四军医大学学报, 1992, 13(1): 22.

[6] Takahashi T, Nakagawa S, Hashimoto T, et al. Large-scale isolation of DANE particles from plasma containing hepatitis B antigen and molecule extruding directly from their cores [J]. J Immunol, 1976, 117(4): 1392-1397.

[7] Conjeevaram HS, Lok AS. Occult hepatitis B virus infection; a hidden menace [J]. Hepatology, 2001, 34(5): 204-206.

[8] 李建民,苟凝虹,陈金元,等. 乙肝病毒 Dane 颗粒的纯化

及形态学观察[J]. 临床输血与检验, 2007, 9(4): 322-324.

[9] Hou J, Wang Z, Cheng J, et al. Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in non-immunized surface antigen-negative Chinese carriers [J]. Hepatology, 2001, 34(5): 1027-1034.

[10] Koyanagi T, Nakamuta M, Saka H, et al. Analysis of HBs antigen negative variant of hepatitis B virus: unique substitution Glu129 to Asp and Gly 145 to Ala in the surface antigen gene [J]. Med Sci Monit, 2000, 6(6): 1165-1169.

[11] Chu CM, Yeh CT, Liaw YF, et al. Low level viremia and intracellular expression of HBsAg in HBsAg carriers with concurrent hepatitis C virus C [J]. J Clin Microbiol, 1995, 36(7): 2084-2086.

[12] Tsuji H, Shimomura H, Fujio K, et al. Relationship of serum markers of hepatitis B and C virus replication in coinfecting patients [J]. Acta Med Okayama, 1996, 50(3): 113-144.

[13] Zervou EK, Dalekos GN, Boumba DS, et al. Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of HBV infection; results of a 32 year prospective study in North-western Greece [J]. Transfusion, 2001, 41(5): 652-658.

[14] McClary H, Koch R, Chisari FV, et al. Inhibition of hepatitis B virus replication during Schistosoma Mansoni infection in transgenic mice [J]. Exp Med, 2000, 192(2): 289-294.

[15] 杨飞飞,卢洪洲,尹有宽,等. HBsAg 阴性慢性肝炎患者肝穿刺的临床意义[J]. 肝脏, 2005, 10(1): 30-31.

(收稿日期: 2011-02-25)

(上接第 1674 页)

以上,高于广州报道水平^[3];大肠埃希菌对于环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率达到了 60% 以上,这要引起临床高度重视。

非发酵菌中铜绿假单胞菌耐药率最低的是多黏菌素 B (0%)、亚胺培南(5.6%)、头孢哌酮/舒巴坦(6.9%)、头孢他啶(11.1%)、氨基曲南(11.1%);鲍曼不动杆菌耐药率最低的是多黏菌素 B(0%)、头孢哌酮/舒巴坦(8.3%)、亚胺培南(8.5%)。对于嗜麦芽窄食单胞菌复方新诺明(10%)和左氧氟沙星(10%)保持较低的耐药率。

在葡萄球菌中未分离到万古霉素和利奈唑胺不敏感的葡萄球菌,其中氯霉素的耐药率都在 15% 以下。监测的肺炎链球菌对于红霉素和复方新诺明耐药率达到了 100% 和 94.7%,高于文献报道的 87.5% 和 43.8%^[8],红霉素类的阿奇霉素耐药率也为 100%,这也是本院耐药监测的另一个特点。在其他链球菌中未发现万古霉素不敏感株。

通过监测本研究发现本区域细菌的耐药性与全国和其他地方有很多相似之处,但是又体现出很多差异,所以针对各自区域的耐药监测尤为重要。区域的监测结果对于本区域临床合理使用抗生素又更加直接的指导作用。

参考文献

[1] 朱德妹. 进一步加强细菌耐药监测 [J]. 中华检验医学杂

志, 2006, 29(10): 865-866.

[2] 黄东标,周茂亮,李嫦珍,等. 2005~2009 年临床分离病原菌分布及耐药性变迁 [J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(6): 1216-1219.

[3] 卓超,苏丹虹,钟南山. 2007 年广州地区耐药性监测分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(4): 397-402.

[4] 何学贤,王显扬. 血培养 3 250 份标本结果分析 [J]. 中华检验医学杂志, 1999, 22(2): 96-97.

[5] 杨敬芳,李继红,王鑫,等. 6 445 份血培养分离菌的分布特征及耐药谱型研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(6): 575-577.

[6] 李光辉,汪复. 重视与加强深部真菌感染的临床研究 [J]. 中国抗感染化疗杂志, 2005, 5(4): 193-194.

[7] 李家泰,李耘,齐慧敏. 2002~2003 中国革兰阴性细菌耐药性研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(1): 19-29.

[8] 杨启文,王辉,徐英春,等. 中国 14 家教学医院院内菌血症与肺炎和腹腔感染病原菌的抗生素耐药监测 [J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(12): 1367-1375.

(收稿日期: 2011-02-19)