

苏州地区 2006~2010 年儿童耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的监测分析

陶云珍, 丁云芳, 王运中, 吾金彪, 邵雪君 (苏州大学附属儿童医院检验科, 苏州 215003)

【摘要】 目的 监测苏州地区儿童耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的感染趋势,了解其多重耐药状况,研究红霉素及克林霉素的耐药机制,以指导临床合理用药。**方法** 对 2006~2010 年该院临床标本中分离的 1 325 株金黄色葡萄球菌(SAU)采用琼脂纸片扩散(K-B)法和最小抑菌浓度(MIC)法进行药敏试验(对其中的 836 株进行 D 试验),用苯唑西林和头孢西丁纸片测定 MRSA。**结果** 1 325 株 SA 中,测得 MRSA 133 株,检出率为 10.0%。2006~2010 年 MRSA 检出率分别为 6.7%、9.6%、8.0%、10.3%、12.7%。MRSA 对青霉素、红霉素、克林霉素、复方磺胺甲恶唑(SMZ+TMP)、万古霉素、利奈唑胺、利福平、庆大霉素、环丙沙星的耐药率依次为 100.0%、92.5%、48.0%、10.5%、0.0、2.3%、12.8%、15.0%。对红霉素耐药的 MRSA 中,由 *msrA* 基因编码的占 2.1%,由 *erm* 基因编码的占 88.4%,其中对克林霉素诱导型耐药(D-试验阳性)和结构型耐药分别为 36.8%和 51.6%。**结论** 该地区儿童 MRSA 的感染远低于成人,但呈现出逐年递增稳步上升的趋势。由 *msrA* 基因编码的红霉素耐药在该地区很少发生,红霉素耐药的 MRSA 对克林霉素耐药以 *erm* 结构型多于诱导型耐药。开展 D-试验可帮助临床医生正确使用林可酰胺类药物。

【关键词】 儿童; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; D-试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.01.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)01-0014-03

Analysis and monitoring on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) caused infection among children from 2006 to 2010 in Suzhou TAO Yun-zhen, DING Yun-fang, WANG Yun-zhong, WU Jin-biao, SHAO Xue-jun (Clinical Laboratory, the Children Hospital Affiliated of University, Suzhou, Jiangsu 215003, China)

【Abstract】 Objective To monitor the possible trend of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* caused infection among children in Suzhou, and to realize the multi-drug resistance status and to find out the resistant mechanism of erythromycin and clindamycin and give insight into the potential clinical therapy. **Methods** 1 325 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from Clinical specimens during 2006 to 2010 were collected and made drug sensitivity test by K-B and MIC methods (of which 836 strains were tested by D-test). MRSA was detected by Oxacillin and Cefoxitin. **Results** 133 strains MRSA were detected among 1325 strains of SA, of which the detectable rate was about 10.0%. The isolated rates were 6.7%, 9.6%, 8.0%, 10.3%, 12.7% from 2006 to 2010 respectively. The drug-resistance rates of MRSA to penicillin, erythromycin, clindamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, linezolid, rifampin, gentamicin, ciprofloxacin, were 100.0%, 92.5%, 48.0%, 10.5%, 0.0, 2.3%, 12.8%, 15.0%. In addition, 2.1% and 88.4% erythromycin-resistant MRSA were caused by *msrA* and *erm* gene, in which the induced resistance and structure resistance to clindamycin were 36.8% and 51.6% respectively. **Conclusion** Although the infection rate of MRSA in children was far less than in adult, it showed an annually rising trend. The *msrA* gene encoded erythromycin resistance was rare in this area. The structure resistance to clindamycin was more than induced resistance encoded by *erm*. The D-test is greatly helpful in clinical lincosamides therapy.

【Key words】 children; the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; D-test

金黄色葡萄球菌(SAU)是医院和社区获得性感染的重要病原菌之一,该菌感染力强,可通过多种途径侵入机体,导致皮肤或器官的严重感染,甚至败血症。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)由于对临床上多种抗菌药物耐药,因此由它所致的感染易呈流行或暴发流行,治疗困难且病死率高,成为临床治疗的一大难题。为了解儿童 MRSA 的感染及耐药情况,对本院 2006~2010 年儿童感染的 SAU 进行监测分析,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 监测菌株为本院 2006 年 1 月至 2010 年 12 月门诊及住院患者各种临床标本中分离的金黄色葡萄球菌共

1 325 株(同一患者相同部位的分离株不重复计数)。其中 864 株来自肺炎患儿的呼吸道分泌物(患者入院次日利用负压气管抽吸)、165 株来自外科门诊及住院患者的皮肤软组织感染的脓液及伤口分泌物、243 株来自化脓性中耳炎患者的耳脓标本、30 株来自各病区住院患者的血液、14 株来自新生儿患儿的眼分泌物、9 株来自尿液、胸腔积液等其他标本。

1.2 仪器与试剂 配制血平板和巧克力平板的哥伦比亚琼脂为英国 Oxoid 产品,细菌鉴定相关试剂由杭州天和微生物试剂有限公司提供。实验所用 M-H 琼脂和抗菌药物纸片均为英国 Oxoid 公司产品,质控菌株:金黄色葡萄球菌 ATCC25923、大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 测试合

格。使用法国梅里埃 VITEK-32 测定细菌的最小抑菌浓度 (MIC),药敏板条用金黄色葡萄球菌 ATCC29213 测试合格。标准菌种购于卫生部临床检验中心。

1.3 方法

1.3.1 细菌分离及鉴定 各种标本均接种于血平板和巧克力平板进行分离,35℃ 孵育 16~20 h 后,根据菌落特征、革兰染色、触酶试验、血浆凝固酶、甘露醇发酵、DNA 酶结果进行菌株鉴定。操作及判断标准按《全国临床检验操作规程》^[1] 进行。

1.3.2 药敏试验 2006~2009 年采用琼脂纸片扩散 (K-B) 法,按临床和实验室标准化协会 (CLSI) 的选药原则,选择所测抗菌药物,结果按照 CLSI 2005 版 (逐年更新) 的标准进行判断。2010 年由 VITEK-32 检测细菌 MIC,同一患者相同部位的分离株,统计首次出现的药敏结果。

1.3.3 MRSA 的确认 将待检菌接种于添加 NaCl 的 M-H 平板上,同时测定苯唑西林和头孢西丁结果,二者不一致时,用头孢西丁结果去修正苯唑西林结果。按照 CLSI 2005 版的标准进行判断。

1.3.4 D-试验 在进行药敏试验时,将常规用的红霉素纸片 (每片 15 μg)、克林霉素纸片 (每片 2 μg) 贴在邻近的位置,间距 15 mm,35℃ 孵育 18~24 h 后观察结果。如靠近红霉素纸片侧克林霉素纸片的抑菌环出现“截平”现象,视为 D-试验阳性,即诱导耐药阳性。

2 结 果

2.1 2006 年 1 月至 2010 年 12 月金黄色葡萄球菌检出情况 各种临床标本中分离的 SAU 共 1 325 株,其中 133 株为 MRSA,MRSA 的检出率为 10.0%,每年的详细分离情况见表 1。

表 1 2006~2010 年 MRSA 的检出情况

年份	SAU(<i>n</i>)	MRSA[<i>n</i> (%)]
2006	209	14(6.7)
2007	166	16(9.6)
2008	213	17(8.0)
2009	319	33(10.3)
2010	416	53(12.7)
合计	1 325	133(10.0)

2.2 临床各科室各种标本中 MRSA 的检出情况 各种临床标本中检出金黄色葡萄球菌 1 325 株,MRSA 共 133 株。其中痰液标本检出金黄色葡萄球菌 864 株,MRSA 93 株 (10.8%),59 株来自呼吸科,20 株来自新生儿科,14 株来自急救科。脓液标本检出金黄色葡萄球菌 165 株,MRSA 16 株 (9.7%),12 株来自外科,其中 9 株来自外科病房,3 株来自外科门诊。耳鼻喉科的耳脓标本检出金黄色葡萄球菌 243 株,MRSA 18 株 (7.4%)。血液标本检出金黄色葡萄球菌 30 株,MRSA 4 株 (13.3%),其中 2 株来自外科病房,1 株来自急救科,1 株来自肾脏科。详见表 2 和表 3。

2.3 MRSA 在各临床科室的检出情况 133 株 MRSA 中 61 株来自呼吸科 (10.5%),20 株来自新生儿科 (7.8%),18 株来自耳鼻喉科 (7.4%),14 株来自外科 (11.3%),16 株来自急救科 (17.0%),2 株来自血液科 (25.0%),2 株来自肾脏科 (为同一患者的血液和骨髓)。详见表 3。

2.4 2006~2010 年金黄色葡萄球菌中 MRSA 和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA) 的药敏结果 见表 4。

2.5 D-试验结果 在分离到的 1 325 株金黄色葡萄球菌中,836 株进行了 D-试验,D-试验阳性有 306 株,占 36.6%。95 株 MRSA 进行了 D-试验,阳性有 35 株,占 36.8%、MSSA 741 株,D-试验阳性 271 株,占 36.6%。D-试验结果和可能的基因型见表 5。

表 2 2006~2010 年 MRSA 在各种临床标本中的检出情况

标本	SAU(<i>n</i>)	MRSA[<i>n</i> (%)]
痰	864	93(10.8)
脓	165	16(6.7)
耳脓	243	18(7.4)
血液	30	4(13.3)
眼分泌物	14	0
其他	9	2(22.2)

表 3 2006~2010 年 MRSA 在各临床科室的检出情况

科室	SAU(<i>n</i>)	MRSA[<i>n</i> (%)]
呼吸科	582	61(10.5)
新生儿科	256	20(7.8)
耳鼻喉科	242	18(7.4)
外科门诊	25	3(12.0)
外科病房	99	11(11.1)
急救科	94	16(17.0)
血液科	8	2(25.0)
其他科室	19	2(10.5)

表 4 2006~2010 年 MRSA 和 MSSA 的药敏试验结果[*n*(%)]

抗菌药物	MRSA(<i>n</i> =133)	MSSA(<i>n</i> =1 192)	SAU(<i>n</i> =1 325)
苯唑西林	133(100.0)	0(0.0)	133(10.0)
青霉素	133(100.0)	1 141(95.7.0)	1 274(96.2)
红霉素	123(92.5)	736(61.7)	859(64.8)
克林霉素	64(48.1)	367(30.8)	431(32.5)
复方新诺明	14(10.5)	95(8.0)	109(8.2)
万古霉素	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
利奈唑胺	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
利福平	3(2.3)	21(1.8)	24(1.8)
环丙沙星	17(12.8)	118(9.9)	135(10.2)
庆大霉素	20(15.0)	121(10.2)	141(10.6)

注:(1)438 株金黄色葡萄球菌使用 VITEK-32 测定 MIC,同时显示呋喃妥因全部敏感,喹诺酮类莫西沙星和左氧氟沙星有 30 株中介或耐药,占 6.8%,四环素有 85 株为中介或耐药,占 19.4%,氨苄西林/舒巴坦对 MSSA 全部敏感。(2)监测到对 4 种抗菌药物多重耐药菌共 16 株,其中呼吸科和新生儿科分别为 6 株和 5 株,耳鼻喉科 3 株,血液科和门诊外科各 1 株。(3)监测到对 5 种及以上抗菌药物多重耐药菌共 13 株,其中来自呼吸科和急救科各 5 株,2 株来自外科,1 株来自耳鼻喉科。

表 5 D-试验结果和可能的基因型[n(%)]

表型			可能的基因型	MRSA	MSSA	合计
红霉素	克林霉素	D 试验				
敏感	敏感	—	无	9 (9.5)	341(46.0)	350(41.9)
耐药	敏感	+	erm 诱导	35(36.8)	271(36.6)	306(36.6)
耐药	敏感	—	msrA	2(2.1)	4(0.5)	6(0.7)
耐药	耐药	—	erm 结构	49(51.6)	125(16.9)	174(20.8)

注:进行 D-试验的细菌 99 株为 2008 年的 SAU,737 株为 2009~2010 年的 SAU。

3 讨 论

3.1 表 1 显示,在 2006~2010 年间儿童感染的 SAU 中 MRSA 的检出率为 10.0%,远远低于李美忠等^[2]和魏旭和周强^[3]报道的成人 63.9%和 62.6%的结果,与邓秋连等^[4]报道的儿童检出率较接近。5 年中呈现出逐年递增稳步上升的趋势,为了扼制 MRSA 的快速增长,在分离出 MRSA 的临床科室,应加强消毒隔离,防止局部蔓延。

3.2 本资料提示,血液科和急救科患儿是 MRSA 感染的危险人群,多重耐药的 MRSA 主要集中在急救科、呼吸科和新生儿科。儿科医生应重视这一点,对这类患者应加强隔离,严格消毒,并且注意临床标本的早期微生物培养,以便尽早监测 MRSA,合理使用抗菌药物,控制 MRSA 的扩散。外科病房 MRSA 的检出数已超过呼吸科,提示外科医生应加强围术期的合理用药。耳鼻喉科患儿 MRSA 的检出基本上代表了社区^[5] MRSA 的检出情况,提示社区 MRSA 的检出已达到一定水平。

3.3 表 4 显示,儿童感染 SAU 耐药主要集中在青霉素类、红霉素、克林霉素,MRSA 的耐药也表现在这些抗菌药物上,利福平的耐药率低,万古霉素和利奈唑胺无耐药,喹诺酮类、庆大霉素的耐药率较低。CLSI 提示,MSSA 对 β-内酰胺酶稳定的青霉素类、相关的头孢菌素类、β-内酰胺酶抑制剂复合物和碳青霉烯类敏感,而 MRSA 对所有青霉素类、头孢菌素类、β-内酰胺酶抑制剂复合物和碳青霉烯类,可在体外显示活性,但临床上治疗无效。因此,在进行药敏试验时,作者取消了对头孢菌素类、β-内酰胺酶抑制剂复合物和碳青霉烯类的测定。临床上对 MSSA 的治疗可选择合适的头孢菌素类、β-内酰胺酶抑制剂复合物,而对 MRSA 的治疗才需考虑选用万古霉素或利奈唑胺。可见,早期微生物培养尽早测定 MRSA 的重要性。

3.4 SAU 对大环内酯类抗菌药物的耐药机制有能量依赖的主动泵出和核糖体靶位改变。前者由 msrA 基因编码,对大环内酯及链阳霉素类药物耐药;后者与 erm 基因有关,由 erm 基因编码产生的红霉素核糖体甲基化酶导致 23 S rRNA 甲基化,降低了抗菌药物与核糖体结合而耐药。由 erm 基因介导的耐药有诱导型和结构型两种。诱导型表现为对红霉素耐药而对克林霉素敏感,必须借助 D-试验,D-试验测出阳性后修正

报告克林霉素耐药,结构型表现为对这两种抗菌药物都耐药。本资料中,MRSA 菌株 D-试验阳性(即诱导型耐药)占 36.8%,而结构型耐药占 51.6%,由 msrA 基因编码的耐药仅占 2.1%,与文献^[4]报道有明显不同,可能是地域差异所致。表 5 提示 MSSA 主要表现为对红霉素和克林霉素都敏感,其耐药表现为结构型低于诱导型。可见由 msrA 基因编码的红霉素耐药在本地区很少发生,红霉素耐药的 MRSA 对克林霉素耐药以 erm 结构型多于诱导型耐药,而在 MSSA 中则相反。检测 D-试验,弥补了克林霉素药敏表型之不足,可帮助临床医生正确使用克林霉素避免因不恰当使用而导致的治疗失败。

随着广谱、超广谱抗菌药物的不断应用,MRSA 的检出也将日趋严重,所以临床医生应尽力控制 MRSA 医院感染相关危险因素^[6],积极采取相应的预防措施,及早送检各种标本进行微生物培养,了解细菌的耐药机制,正确选用抗菌药物,加强对 MRSA 感染患儿的消毒隔离,这样既可有效地治疗患者,又可延缓细菌耐药性的产生。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社,1997:67.

[2] 李美忠,史伟峰,王玉月. 2007~2009 年金黄色葡萄球菌耐药性变迁分析[J]. 实用医技杂志,2009,17(11):1021.

[3] 魏旭,周强. 广州地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 MRSA 表型及 mecA 基因型的研究[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(2):81-82.

[4] 邓秋连,邓力,谢永强,等. 儿童感染金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志,2008,7(1):39-43.

[5] 李春辉,吴安华. 社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染研究进展[J]. 中国感染控制杂志,2008,7(6):430-434.

[6] 马兰荣,郭丽敏. MRSA 医院感染相关危险因素及预防措施[J]. 天津护理,2009,1(2):103-104.

(收稿日期:2012-05-30 修回日期:2012-11-12)

(上接第 13 页)

流感嗜血杆菌耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2007,4(6):474-475.

[17] Gutmawn L,Williamson R,Collatg E,et al. Mechanisms of betaiactam resistance in Haemophilus influenzae[J]. EurJ Clin Microb infect Dis,1988,79(50):610-615.

[18] Jones RN,Jacobs MR,Washington JA,et al. A1994-95 survey of Haemophilus influenzae susceptibility to ten or-

rally administer edagents. A 187 clinical laboratory center sample in the United States[J]. Diagn Microbio Infect Dis,1997,27(3):75-83.

[19] 王枢群,张邦燮. 医院感染学[M]. 重庆:科学技术文献出版社重庆分社,1990:284.

(收稿日期:2012-05-16 修回日期:2012-11-15)