

产超广谱 β 内酰胺酶大肠埃希菌耐药性分析*

陈灿锋, 周 伟, 梁有卓(广东省深圳市宝安区西乡人民医院检验科 518102)

【摘要】 目的 了解深圳地区 2011~2013 年住院患者产超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌的感染情况, 为临床治疗及预防产 ESBLs 大肠埃希菌引起的感染提供警示。**方法** 对 2011 年 5 月至 2013 年 3 月感染大肠埃希菌的住院患者采集临床资料, 进行药敏试验, 并进行统计学分析。**结果** 深圳市宝安区西乡人民医院在 2011 年 5 月至 2013 年 3 月住院患者中检出大肠埃希菌 328 株, ESBLs 158 株, 阳性率为 48.17%, 产 ESBLs 大肠埃希菌检出较多的科室为泌尿外科 28 株, 17.72%; 标本最多的为尿液 71 株, 占 44.94%。ESBLs 阳性菌株中, tem 基因检出 85 例, 检出率 53.80%, 其中 TEM-1 检出 63 例, 占 74.12%。产 ESBLs 大肠埃希菌对各种抗菌药物均产生耐药。**结论** 产 ESBLs 大肠埃希菌耐药明显, tem 基因型以 TEM-1 为主。

【关键词】 超广谱 β -内酰胺酶; 大肠埃希菌; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.014 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)23-3116-02

Analysis about the drug resistance of e. coli producing extended spectrum β lactamase* CHEN Chan-feng, ZHOU Wei, LIANG You-zhuo (Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Xixiang, Shenzhen, Guangdong 518102, China)

【Abstract】 Objective To understand the status of effection with e. coli producing extended spectrum β lactamase(ESBLs) about the hospitalized patients in Shenzhen city, in order to provide basis for clinical treatment and prevention. **Methods** The clinical data and drug sensitive test result of the hospitalized patients infected with e. coli were collected and analyzed from May in 2011 to March in 2013. **Results** Between the results in our hospital in hospitalized patients, detected 328 cases of e. coli, ESBLs 158 example, the positive rate of 48.17%, produce ESBL e. coli detected more department of urology(28 cases, 17.72%), the largest specimens was urine(71 cases, 44.94%); During the ESBLs positive strains, TEM genes detected in 85 cases, the positive rate of 53.80%, of which TEM-1 detected in 63 cases, accounting for 74.12%; were resistant to various antibiotics. **Conclusion** E. coli producing ESBLs resistance is apparent, should be took seriously.

【Key words】 extended spectrum β lactamase; escherichia coli; drug resistance

大肠埃希菌是革兰阴性杆菌中常见的病原菌。超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)能水解青霉素、广谱头孢类以及单环类等抗菌药物, 同时由质粒介导, 通过结合转移引起水平传播, 因此, ESBLs 细菌易引起医院感染的暴发流行。伴随目前广谱抗菌药物的广泛使用, ESBLs 细菌更容易引起感染, 特别是产生 ESBLs 的大肠埃希菌更是为临床治疗提出重大挑战。近年来, 国内有关 TEM 型 ESBLs 报道不断增多, 并发现了许多新的亚型, 但目前尚少见深圳地区该酶的分子流行病学研究报道。本文对产 ESBLs 大肠埃希杆菌进行相关调查, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 328 株大肠埃希菌分离自本院 2011 年 5 月至 2013 年 3 月的各种临床标本, 肺炎克雷伯菌(ATCC 700603)为产 EsBh 标准菌株, 作为 ESBLs 阳性对照, 大肠埃希菌(ATCC 25922)作为 ESBLs 阴性对照。药敏试验质控菌为大肠埃希菌(ATCC 25922)和(ATCC 35218)。

1.2 试剂和抗菌药物药敏纸片 所需的抗菌药物药敏纸片及水解酶蛋白琼脂均为英国 Oxoid 公司产品。

1.3 大肠埃希菌培养、鉴定及 ESBLs 检测 大肠埃希菌分离及鉴定遵照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)。ESBLs 检测

采用纸片扩散法(K-B), 通过测量抑菌圈直径来判断。当头孢他啶小于或等于 22 mm 或氨曲南小于或等于 27 mm 或头孢噻肟或头孢曲松小于或等于 25 mm 时, 怀疑为产 ESBLs 菌株, 确证试验采用美国临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的方法, 头孢他啶/克拉维酸的抑菌环直径比头孢他啶大 5 mm 或头孢噻肟/克拉维酸的抑菌环直径比头孢噻肟大 5 mm 判定为 ESBLs 阳性。

1.4 tem 基因检测 参考既往文献报道方法, 采用 TEM 型 β -内酰胺酶基因通用引物对临床分离的产 ESBLs 大肠埃希菌进行检测, 聚合酶链反应阳性产物委托上海生工生物技术有限公司完成测序, GenBank 比对测序结果以分辨 tem 基因型。

1.5 药敏试验 采用 K-B 法测定所需抗菌药物的抑菌环直径, 结果按美国临床实验室标准化协会标准判定敏感、中介或耐药。

1.6 统计学方法 细菌耐药性应用软件 WHONET5 分析。

2 结 果

2.1 产 ESBLs 大肠埃希菌检出结果 所采集的临床标本中大肠埃希菌检出 328 株, 其中产 ESBLs 阳性 154 株, 阳性率为 48.17%。

2.2 产 ESBLs 大肠埃希菌科室分布情况 见表 1。

* 基金项目: 广东省深圳市宝安区 2011 年科技立项(20110464)。

表 1 2011~2013 年院内产 ESBLs 主要科室分布				
科室	总例数(<i>n</i>)	产 ESBLs (<i>n</i>)	不产 ESBLs (<i>n</i>)	阳性率(%)
泌尿外科	45	28	17	62.22
重症监护室	40	23	17	57.50
神经外科	32	16	16	50.00
肾内科	26	8	18	30.77
内分泌科	24	11	13	45.83
综合内科	19	11	8	57.89
妇产科	16	7	9	43.75
骨科	15	4	11	26.67
肝胆外科	13	6	7	46.15
消化内科	11	3	8	27.27
其他科室	87	41	46	47.12
总计	328	158	170	48.17

2.3 产 ESBLs 标本分布结果 328 株大肠埃希菌标本中,尿液标本最多,为 138 株,其次为痰液 61 株,血培养 45 株,检出标本情况见表 2。

表 2 主要检出标本情况				
标本	总例数(<i>n</i>)	产 ESBLs (<i>n</i>)	不产 ESBLs (<i>n</i>)	阳性率(%)
尿液	138	71	67	51.45
痰液	61	28	33	45.90
血液	45	26	19	57.78
分泌物	25	8	17	32.00
浓汁	19	7	12	36.84
引流物	12	7	5	58.33
其他	28	11	17	39.28
总计	328	158	170	48.17

2.4 产 ESBLs 菌株 tem 基因和药敏检测情况 见表 3。在 158 株产 ESBLs 阳性菌株中,tem 基因检出 85 株,检出率为 53.80%,其中 TEM-1 检出 63 株,检出率为 74.12%;TEM-2 检出 18 株,检出率为 21.18%;TEM-166 检出 4 株,检出率 4.70%。

表 3 产 ESBLs 菌株对抗菌药物的耐药结果[n(%)]				
抗菌药物	产 ESBLs	TEM-1	TEM-2	TEM-166
头孢噻肟	150(94.94)	62(98.41)	17(94.44)	4(100.00)
头孢他啶	118(74.68)	60(95.24)	15(83.33)	4(100.00)
头孢吡肟	101(63.92)	53(84.13)	11(61.11)	3(75.00)
氨苄西林/舒巴坦	146(92.40)	61(96.83)	13(72.22)	4(100.00)
哌拉西林/他唑巴坦	12(7.59)	8(12.70)	3(16.67)	1(25.00)
阿米卡星	8(5.06)	8(12.70)	3(16.67)	1(25.00)
庆大霉素	91(57.59)	52(82.54)	12(66.67)	4(100.00)
左氧氟沙星	121(76.58)	60(95.24)	13(72.22)	3(75.00)
环丙沙星	133(84.18)	62(98.41)	14(77.78)	4(100.00)

续表 3 产 ESBLs 菌株对抗菌药物的耐药结果[n(%)]				
抗菌药物	产 ESBLs	TEM-1	TEM-2	TEM-166
复方磺胺甲恶唑	121(76.58)	59(93.65)	14(77.78)	3(75.00)
美罗培南	3(1.90)	2(3.17)	1(5.56)	0(0.00)
亚胺培南	4(2.53)	2(3.17)	1(5.56)	1(25.00)

3 结 果

随着头孢类抗菌药物在临床上的广泛应用,出现了对第 3 代头孢类抗菌药物耐药的产 ESBLs 菌株,产 ESBLs 菌株由于对大多数抗菌药物都会产生耐药性,因而给临床工作带来了极大挑战,甚至会因为质粒介导而易造成医院内部病原菌的感染及流行。本研究对深圳地区感染大肠埃希菌的 328 例住院患者进行了研究,经过细菌培养鉴定检出产 ESBLs 大肠埃希菌患者共 158 例,阳性率为 48.17%,与国内学者做的临床调查相似^[1]。

本研究进一步对产 ESBLs 大肠埃希菌的科室分布进行研究提示,产 ESBLs 大肠埃希菌并无特异性,在各个科室的病房都能发现,可见其是医院感染的常见病原菌之一,其中产 ESBLs 大肠埃希菌检出数最高的科室为泌尿外科 28 株(17.72%),其次为重症监护室 23 株(14.56%),神经外科 16 株(10.13%),ESBLs 在所有标本中都能检测出,说明其感染无特殊性。本研究结果显示,产 ESBLs 大肠埃希菌存在的标本数最多的为尿液 71 株(44.93%),其次为痰液 28 株(17.72%),血液 26 株(16.45%)。因此,这与产 ESBLs 大肠埃希菌的科室分布相一致,考虑这可能是泌尿道主要致病菌之一,同时也说明泌尿系统感染能使大肠埃希菌产 ESBLs 的概率增高。在重症监护室和神经外科检出率增高,则考虑与科室患者病情较重、卧床时间长、免疫低下而导致院内感染概率增加等有关,而与长期泌尿道插管、气管切开和呼吸机使用等因素也有关系。因而也多在痰液和血液中能检测到产 ESBLs 大肠埃希菌。

由于携带 ESBLs 的耐药质粒上可同时携带对其他抗菌药物(如氨基糖苷类和喹诺酮类)耐药的基因,故产 ESBLs 大肠埃希菌还同时表现出对多种药物(如庆大霉素和氨基曲南等)耐药,但对头霉素、碳青霉烯及酶抑制剂敏感^[2]。本研究结果显示,产 ESBLs 大肠埃希菌对亚胺培南与美罗培南的耐药率最低,分别为 2.53%和 1.90%,因此碳青霉烯类药物是此类产 ESBLs 大肠埃希菌的敏感药物,可以作为此类感染的首选药物,但应注意避免临床上滥用而导致耐药率增高。在以往研究中,产 ESBLs 大肠杆菌对酶抑制剂的抗菌药物敏感,可以作为碳青霉烯类药物的替代药物^[3]。本研究中哌拉西林/他唑巴坦的耐药率为 7.59%,氨苄西林/舒巴坦的耐药率达 92.40%,因此基本上不考虑作为治疗性药物使用,究其原因是否由于细菌的耐药基因产生突变,还是因为样本量较少而产生局限性,有待进一步扩大样本量进行深入研究。第 3 代头孢类药物、喹诺酮类药物、氨基糖苷类药物由于细菌质粒上耐药基因存在而存在较高的耐药率,因此可能存在临床治疗效果不明显,这与国内其他学者的研究结果相一致^[4]。

在产 ESBLs 大肠埃希菌中耐药亚型 TEM 主要包括 TEM-1 型和 TEM-2 型。其中 TEM-1 型 ESBLs 是革兰阴性菌最常见的 β-内酰胺酶。既往文献报道 90%以上大肠埃希菌对氨苄西林耐药是由 TEM-1 型 ESBLs 所介导。(下转第 3119 页)

导联线前1~2 极的部分涂无菌液体石蜡,将食道电极经鼻插入食道后,常规记录 12 导联心电图和食道导联心电图。采用 S1S1 分钟级递增刺激法,以频率高于自身心率 10 次/分钟刺激,刺激时间 30 s,每次刺激间隔 1 min,记录从停止刺激到恢复窦性心律的时间。取测得最大值为 SNRT,通过窦房结对心房早搏刺激反应推算 SACT, $SACT = [(A2 - A3) - (A1 - A1)] / 2$ (早搏前窦性 P 波为 A1,在每 8~10 个稳定窦性心搏后 A1A1 发放一个进行性提前的房性早搏为 A2,早搏后的 P 波为 A3), CSNRT 为 SNRT-自身窦性周期^[6]。食道电生理检查对 SSS 的判断标准:(1)SNRT>2 000 ms 时可以诊断 SSS。(2)快速起搏终止后心率常明显减慢,一般需较长时间才能恢复至对照检查时水平,部分患者出现交界或室性逸搏性心律,需数分钟或数小时才能恢复窦性心律。(3)SNRT 测量中出现继发性延长(继发性延长指一般快速刺激停止后第 1 个恢复的窦性周期最长,但是有时快速停止刺激后第 1 个窦性恢复周期不是最长的,而以后的第 2~10 个窦性周期长于第 1 个窦性恢复周期,称继发性延长)^[6]。继发性延长在普通人群中占 11.4%,但在 SSS 患者中占 41%~68%,并发窦房阻滞者可达 91.7%。

2 结 果

50 例患者 DCG 监测中出现长 R-R 间期大于 1 500 ms,其中 1 500~1 900 ms 28 例,>1 900~3 000 ms 有 14 例,>3 000 ms 有 8 例,达 6 000 ms 的 1 例。心率 40 次/分钟以下 35 例,其中 22 例夜间最低心率仅为 30 次/分钟。并发窦性停搏、窦房阻滞 10 例,单纯窦性心动过缓 5 例。50 例患者均行食道电生理检查(窦房结功能测定),SNRT 延长者 45 例,其中大于 2 000 ms 者 38 例,可明确诊断为 SSS,仅有 5 例 SNRT 为 1 450 ms。

3 讨 论

SSS 是窦房结本身及其周围组织的器质性病变,或由于各种外在因素的影响导致窦房结冲动形成或冲动传出障碍而产生多种心律失常和临床症状的综合征^[7]。仅凭 12 导联常规心电图和患者症状不容易诊断,作者认为,应用 DCG 和食道电生理检查(窦房结功能测定)相结合进行诊断。DCG 监测对患者来说经济方便,无痛苦,可以检测患者症状是与心动过缓还是心动过速有关,以便对心动过缓或心动过速(慢-快综合征)采取相应的治疗^[8]。本组 50 例患者平时均有不同程度的晕厥、

黑矇症状,而常规心电图检查并未发现窦房阻滞,窦性停搏应行 DCG 监测。DCG 检查均发现有窦房结病变,并有显著窦性心动过缓,多在 40 次/分钟以下,并出现窦性停搏及窦房传导阻滞。因此作者认为,常规 12 导联心电图未见异常但有黑矇、晕厥的患者应先行 DCG 监测。如 DCG 监测显示窦性心动过缓、窦房传导阻滞、窦性停搏者应行窦房结功能测定^[9]。窦房结功能测定是 SSS 的一项重要检查方法,可以检查 SNRT、CSNRT、SACT^[10-11]。DCG 可反映自发状态下窦房结自律与传导的异常,而食道电生理检查(窦房结功能测定)指激发状态下的窦房结功能,二者相结合是诊断 SSS 的较好方法。

参考文献

- [1] 彭丁,刘仁光.病态窦房结综合征诊治进展[J].辽宁医学院学报,2013,34(1):73-76.
- [2] 何妍.动态心电图在病态窦房结综合征(SSS)诊断中的应用价值[J].求医问药:下半月,2012,10(3):62.
- [3] 黄东.动态心电图用于病态窦房结综合征诊断的临床价值[J].中国老年学杂志,2012,32(24):5518-5519.
- [4] 郭长磊,张少利.动态心电图对病态窦房结综合征的诊断价值[J].中国实验诊断学,2012,16(8):1475-1476.
- [5] 陆再英,钟南山.内科学[M].北京:人民卫生出版社,2008:147-148.
- [6] 赵建红.心宝丸治疗病态窦房结综合征 31 例[J].陕西中医,2012,33(1):46-47.
- [7] 汪金寰,陶红.动态心电图对病态窦房结综合征的诊断及临床意义[J].实用心电学杂志,2010,19(2):126.
- [8] 杨俊,何世平,田青,等.十二导联动态心电图在阵发性房颤中的应用[J].临床心电学杂志,2011,3(3):184-187.
- [9] 李颖,姜玉蓉,吕建琼,等.动态心电图在老年心律失常诊断中的应用[J].临床心电学杂志,2011,15(3):188-191.
- [10] 吴文典.24 h 动态心电图检测 38 例临床分析[J].中国社区医师:医学专业,2013,15(5):236.
- [11] 阮锡勇,陆健,黄流强.动态心电图对老年冠心病并发病态窦房结综合征的诊断价值[J].陕西医学杂志,2013,42(4):459-461.

(收稿日期:2013-05-01 修回日期:2013-07-11)

(上接第 3117 页)

TEM-1 型 ESBLs 能够水解青霉素以及头孢类抗菌药物,从而导致细菌耐药。TEM-2 型是由 TEM-1 型单个氨基酸的替换衍生而来,其后又有研究报道了大量 TEM-1 型衍生物(如 SHV 和 OXA 等)^[5]。本研究结果表明,深圳地区产 ESBLs 大肠埃希菌 tem 基因型以 TEM-1 为主,其次是 TEM-2,携带 tem 基因的菌株对多种抗菌药物均产生耐药,对碳青霉烯类相对较敏感。

参考文献

- [1] 安新,曹鸿霞,熊自忠.临床分离产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌及其耐药性检测[J].安徽医药,2006,10(11):855-856.

- [2] 陈旭,李建华,张艳,等.呼吸系统产超广谱 β -内酰胺酶细菌的临床调查[J].中华医院感染学杂志,2003,13(4):373-374.
- [3] 李耕,李家泰.ESBLs 在大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌中的检出率及耐药情况比较[J].中国抗菌药物杂志,2005,30(3):151-158.
- [4] 寇新明,潘靖,吴金英,等.大肠埃希菌耐药性及耐药基因检测[J].中华医院感染学杂志,2008,18(10):1357.
- [5] 郝维敏.大肠埃希菌的耐药监测及其分析[J].蚌埠医学院学报,2005,30(6):561-562.

(收稿日期:2013-04-25 修回日期:2013-07-15)