

超广谱 β -内酰胺酶大肠杆菌院内感染分布及耐药性研究^{*}

杨小影¹, 宋惠萍¹, 杨萍芝¹, 吴洪秋² (1. 广东省珠海市金湾区妇幼保健院检验科 519040; 2. 广东省珠海市妇幼保健院检验科 519000)

【摘要】 目的 了解该院大肠杆菌产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的现状并分析其耐药性,以指导临床合理使用抗菌药物。**方法** 采用 K-B 法对临床分离的 87 株大肠杆菌进行药敏试验,并回顾性分析其在临床的分布情况,使用 WHONET 5.4 分析菌株药敏情况。**结果** 87 株大肠杆菌检出 41 株产 ESBLs,占 47.26%(41/87);标本主要来自尿液、伤口分泌物(包括恶露)、痰液、血液;药敏试验显示,亚胺培南、美罗培南的敏感率为 100%,哌拉西林/他唑巴坦敏感率为 90.25%,阿米卡星敏感率为 82.93%,呋喃妥因敏感率为 73.16%,其他药物的敏感率均小于 50.00%。**结论** 该院大肠杆菌产 ESBLs 的阳性率处于较高水平,对亚胺培南、美罗培南以外的 16 种药物均存在不同程度的耐药性,医院要加强抗菌药物的分级使用管理,临床医师应结合菌株的药敏试验选择最佳的抗菌药物,以减少医院感染的发生。

【关键词】 超广谱 β -内酰胺酶; 大肠杆菌; 耐药性; 妇幼保健院

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.12.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)12-1613-02

Research for distribution and resistance of ESBLs YANG Xiao-ying¹, SONG Hui-ping¹, YANG Ping-zhi¹, WU Hong-qiu² (1. Department of Laboratory, Jinwam Maternal and Child Health Care Hospital, Zhuhai, Guangdong 519040, China; 2. Department of Laboratory, Zhuhai Maternal and Child Health Care Hospital, Zhuhai, Guangdong 519000, China)

【Abstract】 Objective To understand status of the ultra broad spectrum beta lactamase(ESBLs) of MCH, and analyze its drug resistance, and to provide guidance to clinical for reasonable use antibiotics. **Methods** By the method of K-B, 87 strains of e. coli were tested for their their clinical distribution and drug sensitive. Strains of antibiotic susceptibility was analyzed by WHONET5.4. **Results** 41 strains of producing extended-spectrum β -lactamases were detected in the 87 strains of e. coli, 47.26%(41/87); specimens mainly come from urine, wound secretion(including lochia), sputum and blood; Susceptibility testing shows sensitive rate of imipenem and meropenem were 100%, Piperacillin / tazobactam was 90.25%, amikacin was 82.93%, Nitrofurantoin was 73.16%, others are less than 50%. **Conclusion** Positive rate of beta lactamase(ESBLs) from the ultra broad spectrum of MCH is in a relatively high level, it has different drug resistance to 16 kinds of drug except imipenem and meropenem, the use and classification management of antimicrobial drugs should be Strengthened in hospital. In order to reduce the incidence of nosocomial infection. Clinicians should combine with strain susceptibility testing to choose the most suitable antimicrobial.

【Key words】 extended-spectrum β -lactamases; escherichia coli; drug resistance; MCH

大肠杆菌是临床常见的条件致病菌,也是医院感染常见病原菌,随着抗菌药物的广泛使用,产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的大肠杆菌不断增加,这给临床用药带来困难^[1]。为了解该院大肠杆菌产 ESBLs 的阳性率及其耐药性,现对 2012 年 1 月至 2013 年 7 月检出的 87 株大肠杆菌进行研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 1 月至 2013 年 7 月该院住院患者及门诊患者送检标本中分离的 87 株大肠杆菌,同一患者同一部位只取第 1 次分离的标本。所有菌株采用法国生物梅里埃公司 VITEK-32 全自动微生物分析仪鉴定到种,质控菌株为

大肠杆菌 ATCC25922。

1.2 仪器与试剂 VITEK-32 全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司);DB-920 全自动血培养仪。分离鉴定培养基, M-H 琼脂干粉和 18 种抗菌药物药敏纸片(均购自英国 OXOID 公司),在有效期内使用并进行严格质控。

1.3 方法

1.3.1 药敏试验 按 K-B 法将待测菌液接种 M-H 平皿上,贴上抗菌药物纸片,35℃培养 18~24 h,检测抑菌圈直径,判断结果依据美国 CLSI 2012 标准^[2],为敏感率(S)、中介率(I)、耐药率(R),共采用 18 种抗菌药物。

1.3.2 ESBLs 判定 采用纸片协同法,将 0.5 麦氏单位的待

^{*} 基金项目:广东省珠海市科工贸信局科研课题(2013281)。

作者简介:杨小影,女,本科,副主任技师,主要从事细菌耐药机制研究。

检菌液涂抹于 M-H 琼脂平板上,晾干后,把含 10 微克/片阿莫西林/克拉维酸(CLA)纸片贴于 M-H 琼脂中央,在克拉维酸纸片周围分别粘贴头孢他啶(CAZ)、头孢噻肟(CTX)、头孢曲松(CRO)、氨曲南(ATM)、头孢伯肟(CPD)纸片(纸片中心距离为 20~40 mm),于 35 ℃培养过夜,观察有无协同现象,CLA 与任何一种超广谱 β -内酰胺类抗菌药物有协同现象者,可疑为产 ESBLs 菌株。

1.4 统计学处理 采用 WHONET 5.4 软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 产 ESBLs 菌株阳性率 87 株大肠杆菌中产 ESBLs 共有 41 株,阳性率为 47.13%(41/87)。

2.2 41 株产 ESBLs 大肠杆菌的临床分布 41 株产 ESBLs 大肠杆菌在临床的检出率依次为,尿液占 43.4%(18/41)、伤口分泌物(包括恶露)占 36.6%(15/41)、血液占 12.2%(5/41)、痰液占 7.3%(3/41)。

2.3 产 ESBLs 大肠杆菌对 18 种抗菌药物的药敏结果 见表 1。

表 1 41 株产 ESBLs 大肠杆菌对 18 种抗菌药物的药敏试验结果[n(%)]			
抗菌药物	敏感(S)	中介(I)	耐药(R)
头孢吡肟	0(0.00)	0(0.00)	41(100.00)
头孢曲松	0(0.00)	0(0.00)	41(100.00)
头孢唑肟	0(0.00)	0(0.00)	41(100.00)
头孢他啶	0(0.00)	0(0.00)	41(100.00)
氨曲南	0(0.00)	0(0.00)	41(100.00)
氨苄西林	0(0.00)	0(0.00)	41(100.00)
环丙沙星	5(12.20)	1(2.44)	35(85.36)
左氧氟沙星	7(17.08)	0(0.00)	34(82.92)
氨苄西林/舒巴坦	7(17.08)	0(0.00)	34(82.92)
阿莫西林/克拉维酸	7(17.07)	1(2.44)	33(80.49)
复方新诺明	12(29.27)	0(0.00)	29(70.73)
氯霉素	13(31.71)	5(12.20)	23(56.09)
庆大霉素	19(46.34)	1(2.44)	21(51.22)
呋喃妥因	30(73.16)	1(2.44)	10(24.40)
哌拉西林/他唑巴坦	37(90.25)	1(2.44)	3(7.31)
阿米卡星	34(82.93)	2(4.88)	5(12.19)
亚胺培南	41(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
美罗培南	41(100.00)	0(0.00)	0(0.00)

3 讨 论

β -内酰胺酶类抗菌药物是指化学结构式中具有 β -内酰胺环的一大类抗菌药物,包括青霉素类、头孢菌素类、头霉素、单环内酰胺类和碳青霉烯类,这一类抗菌药物具有抗菌活性强、不良反应、临床疗效好等特点,在临床上应用极为广泛。随着新的 β -内酰胺类抗菌药物应用于临床,细菌也产生了多种 β -内酰胺酶,如 ESBLs、质粒介导的 AmpC 酶、碳青霉烯酶等,但其中 β -内酰胺酶的产生是临床常见的细菌耐药的主要原因^[3]。ESBLs 是由质粒介导、水解氧氨基 β -内酰胺酶类抗菌药物,

并可被 β -内酰胺酶抑制剂(如克拉维酸)所抑制的一类酶。本研究 87 株大肠杆菌产 ESBLs 的阳性率为 47.26%,与其他城市的报道比较基本一致,也处于较高的水平^[1,4-5]。41 株阳性菌株的标本主要为尿液占 43.90%,伤口分泌物(包括恶露)占 36.59%,血液占 12.20%,痰液占 7.32%,与其他地区报道有些不同,可能因为该院是珠海市基层妇幼保健院,地处工业区,主要负责该地区的妇女、儿童的保健工作,业务上主要以妇科、产科和当地的急诊为主;该院的病房是属于老式建筑,里面的装修比较陈旧,没有独立的洗手间,一层楼只有一个公共的洗手间;该院服务的对象多为卫生知识比较缺乏的打工人群,所有这些客观的因素增加了患者与患者之间、患者与环境之间交叉感染的概率,所以该院以尿液和伤口分泌物(包括恶露)为主。而其他地区报道的医院均为综合医院,所以尿液、痰液是其主要标本来源^[6]。另外一个原因为该地区虽属郊区,但距离市中心也只有 40 min 的车程,所以该地区生活条件比较好的本地居民及工薪族,其生病时较愿意到条件好的市区大医院就诊,这也是该院痰液标本阳性率比其他医院低的重要原因。

ESBLs 是存在于细菌丝氨酸蛋白酶的衍生物,它能水解 β -内酰胺环,可通过质粒形成在酶之间传播,国外研究表明,耐药细菌质粒介导的产 ESBLs 具有区域特征性,不同的地区有着不同的耐药特征^[7]。从表 1 显示,该地区的 41 株产 ESBLs 阳性菌株的药敏试验中,其对头孢类药物表现为 100%耐药,对碳青霉烯类药物亚胺培南、美罗培南的耐药率为零,对哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星、呋喃妥因的耐药率分别为 7.31%、12.19%、24.40%,对其他常用的抗菌药物的耐药率均大于 50.00%,且存在多重耐药的情况;同样为 β -内酰胺酶抑制剂,他唑巴坦比舒巴坦的抑制作用要强,这与国内报道一致^[8]。结果提示,该地区大肠杆菌耐药状况十分严重,产 ESBLs 大肠杆菌增加可能是多重耐药升高原因之一。

碳青霉烯类抗菌药物是抗菌谱最广、抗菌活性最强的非典型 β -内酰胺抗菌药物,其结构与青霉素类的青霉环相似,不同之处在于噻唑环上的硫原子为碳所替代,且 C2 与 C3 之间存在不饱和双键;另外,其 6 位羟乙基侧链为反式构象^[9-10]。研究证明,正是这个构型特殊的基因,使该类化合物与通常青霉素的顺式构象显著不同,使其具有对 β -内酰胺酶稳定,从而具有超广谱的、极强的抗菌活性,因而成为治疗严重细菌感染最主要的抗菌药物之一,所以本研究的药敏结果提示,该地区对于治疗大肠杆菌感染性疾病应首选碳青霉烯类抗菌药物,其次为哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星等。

总之,该地区产 ESBLs 大肠杆菌的阳性率、耐药性都处于较高的水平,医院要加强抗菌药物分级使用管理,提高抗菌药物的合理应用;临床医师对于感染性疾病的治疗要更重视药敏试验,根据药敏结果选择抗菌药物,以免治疗无效,而造成细菌耐药流行;同时实验室应具备检测产 ESBLs 及其基因检测的能力,及时跟踪该地区产 ESBLs 菌株的流行现状,查明流行的基因型,这样可为临床用药提供依据而具有临床意义。

参考文献

[1] 杨澍,徐强胜,黄雪刚,等.990 株大肠埃希菌的耐药性及 β -内酰胺酶基因的检测[J].中国医院(下转第 1617 页)

售,就按照习惯进行发酵,制成酸奶饮用,再自制成酸奶疙瘩,放在冬天进行食用,没有任何消毒的设备,酸奶及酸奶疙瘩也是其主要饮食。再者,当地牧民的主食是囊,比较硬,长期食用也是造成胃病的一个原因。

因此,建立该地区健康人群 PG 各水平的参考值范围显得尤为重要,也有利于日后进一步开展相关的深入研究。本研究主要目的就是分析健康人群血清中 PG 值的分布规律,从而制定出合理的正常值参考范围。根据研究结果,健康人群血清中 PG 均呈偏态分布,考虑到偏态分布的特征,本组在呈偏态分布的血清 PG 检测结果中选取中位数水平进行统计学分析。此外,为探究血清 PG 的应用价值,必须充分考虑不同地域、不同人群的差异,明确血清 PG 在不同年龄、不同性别的分布也非常重要^[7]。多数研究表明,血清 PG 水平与性别、年龄密切相关^[8-9]。但本组研究中,PG I 和 PG I / II 与性别相关,PG II 与性别无关,PG I、PG II 和 PG I / II 与年龄均不相关。相同性别不同年龄组间的差异无统计学意义($P>0.05$),随着年龄的增加,男性和女性的血清中 PG 值并不随之增高或降低,本研究结果表明本组健康人群血清 PG 参考范围的建立中,血清 PG 水平在人群中的分布并不受年龄的影响。在考虑年龄、性别等因素对血清 PG 的检测,本组确定该地区健康人群血清 PG 的参考范围为 PG I 34.06~301.24 $\mu\text{g/L}$; PG II $\leq 28.35 \mu\text{g/L}$; PG I / II ≥ 3.30 。

此外,在常规体检中胃镜检测具有侵入性,胃镜检测受医师检测水平影响大,费用高,不适用于普查。非侵入性血清 PG 检测方法简单易行,患者普遍可以接受,无创伤、更安全,操作简单,时间短,也不会造成检测人员长时间滞留,费用低廉,更适用于体检普查,易于接受^[10]。因此,联合测定血清 PG I、PG II、PG I / II 比值,正确选用合适的参考范围,有利于将包括浅表性胃炎、糜烂性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、胃癌等各类胃病的高危人群筛查出来,提高对此类疾病的阳性检出率,也有利于在新疆地区推广快速、无创、特异的胃蛋白酶血清学检测,推动 PG 检测在该地区的发展。

(致谢:感谢江苏省无锡市疾病预防控制中心王璐博士在实验数据统计学分析上给予的大力帮助)

参考文献

- [1] 杨胜茹.胃蛋白酶原的研究现状及应用[J].医学综述,2009,15(4):605-606.
- [2] 陈智周,范振符.胃蛋白酶原 I、II 在早期胃癌普查中的意义[J].中华肿瘤杂志,2002,24(1):1-3.
- [3] Sun LP, Gong YH, Wang L, et al. Serum pepsinogen levels and their influencing factors: A population-based study in 6990 Chinese from North China[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(48): 6562-6567.
- [4] Mukoubayashi C, Yanaoka K, Ohala H, et al. Serum pepsinogen and gastric cancer screening [J]. Intem Med, 2007, 46(6): 261-266.
- [5] Samloff IM, Liebman WM. Cellular localization of the group II pepsinogens in human stomach and duodenum by immunofluorescence[J]. Gastroenterology, 1973, 65(23): 36-42.
- [6] 张倍,吴银萍,侯龙敏.血清胃蛋白酶原检测在胃肠疾病诊断中的意义[J].医药论坛杂志,2007,28(5):92-93.
- [7] 孙丽萍,宫月华,王兰,等.辽宁庄河地区居民血清胃蛋白酶原含量[J].中华消化杂志,2006,26(10):649-653.
- [8] 朱岚,黄颺,张珏,等.不同人群胃蛋白酶原水平检测分析[J].中国公共卫生,2009,25(10):1216-1217.
- [8] Hyun YK, Nayoung K, Jung MK, et al. Clinical meaning of pepsinogen test and Helicobacter pylori serology in the health check-up population in Korea[J]. Europ J Gastroenterol Hepatol, 2009, 21(36): 606-612.
- [10] 朱日进,陈云欢.福州地区胃蛋白酶原的检测与分析[J].检验医学与临床,2012,9(15):1912-1913.

(收稿日期:2013-10-21 修回日期:2013-11-29)

(上接第 1614 页)

- 用药评价与分析,2011,11(12):1113-1115.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testings; Nineteenth Informational Supplement, M100-S19-Wayne, PA, U S A: [S]. CLSI, 2012.
 - [3] 杨小影. 112 株铜绿假单胞菌医院获得性感染现状及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(11): 1319-1320.
 - [4] 林艳芳,江振友,陈琛,等.澳门地区产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌基因型分析[J].中山大学学报:医学科学版, 2011, 32(2): 274-278.
 - [5] 李林,赖小美,郭有能,等.大肠埃希菌的耐药特点与产超广谱 β -内酰胺酶基因型分布[J].中华感染学杂志, 2012, 22(15): 3206-3208.
 - [6] 姚炯涛,范世珍,莫莉.产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌临床分布与耐药分析[J].吉林医学, 2012, 33(20): 4359-4360.

- [7] Varaiya AY, Dogra JD, Kulkarni MH, et al. Extended spectrum Beta lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in diabetic foot infections[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2008, 51(3): 370-372.
- [8] 陆青颜,邓文喻. 83 株产 ESBLs 大肠埃希菌 β -内酰胺酶耐药基因检测与药敏结果分析[J].中国卫生检验杂志, 2012, 22(5): 1189-1191.
- [9] Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and characterization of metallo- β -lactamases producing Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran[J]. Iran Biomed J, 2013, 17(3): 129-133.
- [10] Fast W, Sutton LD. Metallo- β -lactamase: inhibitors and reporter substrates[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1834(8): 1648-1659.

(收稿日期:2013-11-07 修回日期:2014-01-12)