

引起尿路感染的大肠埃希菌的耐药谱分析^{*}

蓝惠华, 张 玲, 梅 俊, 王厚照[△] (中国人民解放军第一七四医院中心实验室, 福建厦门 361003)

【摘要】 目的 调查引起患者尿路感染的大肠埃希菌的检出率及其耐药谱, 为临床合理应用抗菌药物提供参考。**方法** 收集分离自 2014 年度本院住院患者的尿培养阳性菌株共 488 株, 采用 VITEK2 全自动微生物分析仪 (法国梅里埃公司) 进行菌种鉴定和药敏试验。超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 菌的检测则采用美国临床和实验室标准协会 (CLSI) 推荐的双纸片法确证试验。**结果** 引起尿路感染的 488 株病原菌中, 共检到大肠埃希菌 235 株 (占 48.16%, 235/488), 其中产 ESBLs 菌株 54 株 (占 23.0%, 54/235)。亚胺培南、替加环素、阿米卡星、哌拉西林钠/舒巴坦钠、哌拉西林/他唑巴坦对产 ESBLs 的大肠埃希菌具有较强的抗菌活性; 产 ESBLs 菌株具有多耐药性, 对氨苄西林、哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢曲松和头孢他啶的耐药率均高于 90%, 对氨曲南、替卡西林/克拉维酸钾、复方新诺明、环丙沙星、庆大霉素、妥布霉素和左氧氟沙星的耐药率均高于 60%, 对头孢吡肟、头孢西丁和呋喃妥因的耐药率为分别为 53.70%、36.00% 和 31.48%, 其耐药率大多明显高于非产 ESBLs 菌株 ($P < 0.05$)。本次研究发现 3 株耐亚胺培南的大肠埃希菌。**结论** 引起尿路感染的大肠埃希菌的耐药现象严重, 尤其是产 ESBLs 菌株, 临床上需及时监测细菌的耐药性变迁, 为临床抗感染药物治疗提供参考依据。

【关键词】 尿路感染; 大肠埃希菌; 耐药谱; 超广谱 β -内酰胺酶

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)05-0590-03

Analysis on drug resistance spectrum of Escherichia coli causing urinary tract infection^{*} LAN Hui-hua, ZHANG Ling, MEI Jun, WANG Hou-zhao[△] (Department of Central Laboratory, 174 Hospital of PLA, Xiamen, Fujian 361003, China)

【Abstract】 Objective To investigate the detection rate and drug resistance spectrum of Escherichia coli causing urinary tract infection to provide reference for rational use of antibacterial drugs. **Methods** A total of 488 strains of pathogenic bacteria isolated from urine culture of hospitalized in our hospital during 2014 year were collected. The VITEK2 compact automatic bacterial identification instrument (France Bio-Merieux company) was employed to identify the bacteria and conduct the drug susceptibility test. The double disk diffusion confirmatory method recommended by CLSI (2005) was adopted to detect ESBLs. **Results** Among 235 strains of pathogenic bacteria causing urinary tract infection, 235 strains (48.16%, 235/488) were Escherichia coli, in which 54 strains were ESBLs-producing strains (23.0%, 54/235). Tigecycline, imipenem, amikacin, piperacillin/sulbactam, piperacillin/tazobactam had strong antibacterial activity against ESBL-producing Escherichia coli; the ESBLs producing strains had multiple drug resistance, the resistance rates to ampicillin, piperacillin, cefazolin, cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime were higher than 90%, which to aztreonam, ticarcillin/clavulanic acid, cotrimoxazole, ciprofloxacin, gentamicin, tobramycin and levofloxacin were higher than 60%, which to cefepime, ceftiofur and nitrofurantoin were 53.70%, 36.00% and 31.48% respectively, and most of them were significantly higher than that of non-ESBL-producing strains ($P < 0.05$). The study found that 3 strains of Escherichia coli were resistant to imipenem. **Conclusion** The drug resistance of Escherichia coli causing urinary tract infection is serious, especially the ESBLs producing strains. In clinic, the changes of bacterial drug resistance need timely to be monitored in order to provide reference for clinical anti-infective drug therapy.

【Key words】 urinary tract infection; Escherichia coli; drug resistance spectrum; extended spectrum β -lactamases

大肠埃希菌是导致尿路感染的最常见病原菌, 随着广谱抗菌药物在临床上的广泛应用, 耐药的大肠埃希菌株也不断增多。为了解引起尿路感染的大肠埃希菌的耐药情况, 本文对分离自本院住院患者的 235 株大肠埃希菌进行耐药分析, 以指导

临床用药。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2014 年 1~12 月本院收治的住院治疗且尿培养阳性的患者, 并剔除同一病例相同部位重复分离菌

^{*} 基金项目: 福建省自然科学基金面上项目 (2013D006)。

作者简介: 蓝惠华, 女, 在读研究生, 初级技师, 主要从事临床血液和微生物检验方面的研究。 [△] 通讯作者, E-mail: wanghouzhao@

株,共 488 例。尿培养阳性标准:(1)未离心新鲜尿液按世界卫生组织推荐方法涂片,每高倍镜视野白细胞数不低于 5 个。(2)革兰阴性杆菌量不低于 10⁵ CFU/mL 或革兰阳性球菌不低于 10⁴ CFU/mL 或真菌不低于 10³ CFU/mL。

1.2 仪器及试剂 生物安全柜(HFSAFE-1200B2),一次性定量接种环,郑州安图的哥伦比亚血琼脂平板,中国蓝平板,CO₂ 培养箱(MCO-15AC),VITEK-2 全自动微生物分析系统(法国梅里埃公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)要求,用无菌尿杯留取清晨首次清洁中段尿,取样前用清洗液及灭菌纱布清洗外阴,且要在抗菌药物使用前或避开抗菌药物使用的血药高峰,在药物半衰期后进行无菌留尿,立即送检,不得超过 2 h。

1.3.2 细菌分离和鉴定及药物敏感试验 用定量接种环取混匀的尿液标本(采用 0.01 mL 的接种量)在血琼脂平板上划线,在 35 ℃ 的孵育箱中培养 24 h 后,计数细菌生长菌落数,将平板菌落数乘以 100(CFU/mL),计算出每毫升生长菌落数,将符合标准的细菌用中国蓝平板分纯后,制成菌悬液直接用 VITEK 鉴定卡和药敏卡孵育,质控菌株分别为大肠埃希菌(ATCC25922),金黄色葡萄球菌(ATCC25923)和铜绿假单胞菌(ATCC27853)。超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)菌的检测则采用 CLSI 推荐的双纸片法,结果按 CLSI 标准进行判读。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件对数据进行处理及统计学分析,计数资料采用百分率表示,耐药率的比较采用 χ² 检验或 Fisher 确切概率法,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 菌株分布及其构成比 引起尿路感染的 488 株病原菌依次为大肠埃希菌 235 株(48.16%)、白假丝酵母菌 41 株(8.40%)、肺炎克雷伯菌 36 株(7.38%)、铜绿假单胞菌 35 株(7.17%)、肠球菌 32 株(6.56%)、铜绿假单胞菌 35 株(7.17%)、变形杆菌 18 株(3.69%)、其他 20 余种病原体 88 株(18.03%)。

2.2 大肠埃希菌的科室分布及其耐药情况 尿培养分离的 235 株大肠埃希菌中,主要来源科室有泌尿外科、肾内科、骨科、内分泌、妇科、肿瘤科,分别检出 52、32、28、18、17、16 株。235 株尿路感染大肠埃希菌中检出产 ESBLs 大肠埃希菌 54 株,占 22.98%(54/235)。产 ESBLs 和非产 ESBLs 的大肠埃希菌对 22 种抗菌药物的耐药情况显示,产 ESBLs 菌株具有多耐药性,对氨苄西林、哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢曲松和头孢他啶的耐药率均高于 90%,对氨基曲南、替卡西林/克拉维酸钾、复方新诺明、环丙沙星、庆大霉素、妥布霉素和左氧氟沙星的耐药率均高于 60%,除复方新诺明(χ² = 2.775, P>0.05)外,其他药物与非产 ESBLs 菌株耐药率的差异均具有统计学意义(χ² = 0.217~54.592, P<0.05)。对头孢吡肟、头孢西丁和呋喃妥因的耐药率为分别为 53.70%、36.00% 和 31.48%,产 ESBLs 大肠埃希菌与非产 ESBLs 大肠埃希菌对哌拉西林钠/舒巴坦钠、哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星的耐药率均较低,差异无统计学意义(χ² = 0.509~0.122, P>0.05)。本研究检出 3 株耐亚胺培南的大肠埃希菌,所有大肠埃希菌对替加环素均敏感。见表 1。

表 1 大肠埃希菌对常用抗菌药物的耐药情况[n(%)]				
抗菌药物	产 ESBLs 菌株(n=54)	非产 ESBLs 菌株(n=181)	χ ²	P
氨苄西林	53(98.15)	150(82.87)	8.250	0.004
哌拉西林	54(100.00)	149(82.32)	—	—
哌拉西林钠/舒巴坦钠	4(7.41)	7(3.87)	0.509	0.475
哌拉西林/他唑巴坦	3(5.88)	4(2.27)	0.661	0.416
阿莫西林/克拉维酸	29(53.70)	68(37.57)	4.467	0.035
替卡西林/克拉维酸钾	33(61.11)	57(31.49)	15.441	0.000
氨基曲南	43(79.63)	44(24.31)	54.592	0.000
亚胺培南	1(1.85)	2(1.10)	—	0.545
复方新诺明	37(68.52)	101(55.80)	2.775	0.096
环丙沙星	43(79.63)	95(52.49)	12.642	0.000
左氧氟沙星	40(74.07)	100(55.25)	6.120	0.013
阿米卡星	3(5.56)	6(3.31)	0.122	0.727
庆大霉素	34(62.96)	79(43.65)	0.217	0.013
妥布霉素	36(66.67)	76(41.99)	10.154	0.001
头孢唑啉	50(92.59)	95(52.49)	28.311	0.000
头孢噻肟	54(100.00)	63(34.81)	—	—
头孢曲松	53(98.15)	75(41.44)	53.938	0.000
头孢他啶	54(100.00)	44(24.31)	—	—
头孢吡肟	29(53.70)	42(23.20)	18.349	0.000
头孢西丁	19(36.00)	23(12.96)	14.317	0.000
替加环素	0(0.00)	0(0.00)	—	—
呋喃妥因	17(31.48)	47(25.97)	0.638	0.424

注:—表示无数据。

3 讨 论

泌尿系统感染是由细菌直接侵入尿路而引起的炎性反应,感染可累及上、下泌尿道,因定位困难统称为尿路感染。尿路感染多为内源性感染,病原菌多为肠道正常菌群,本资料显示,大肠埃希菌是引起尿路感染的主要病原菌,占 48.16%,这与近年来相关文献报道一致^[1]。

通过对 235 株临床尿液分离的大肠埃希菌分析发现,本院大肠埃希菌所引起的尿路感染主要分布在泌尿外科、肾内科、骨科等,多为老年患者并伴有严重的基础性疾病,自身免疫水平低下,这些可能是引起大肠埃希菌尿路感染的因素。据报道,持续较长用药时间以及机械通气、插管等有创性操作可导致大肠埃希菌感染^[2]。

ESBLs 是一类新的 β-内酰胺酶,主要由大肠埃希菌和克雷伯菌属产生,也可由其他肠杆菌科细菌,如沙雷菌属、变形菌属和肠杆菌属等产生,是由细菌质粒介导的能水解第三代头孢菌素如头孢他啶、头孢曲松、头孢噻肟和氨基曲南,并能被克拉维酸所抑制^[3]。通常认为,产 ESBLs 菌的产生是由于大量使用第三代头孢菌素所造成^[4]。本研究中,产 ESBLs 大肠埃希菌检出率为 22.98%,略低于王志勤等^[5]的报道,这可能与本院近年来对抗菌药物的使用管理日益规范,严格遵守国家抗菌药物使用管理规定,尤其对术前预防用药、三代以上头孢菌素使用、联合用药、给药剂量和方式等进行了严格控制有关。

大肠埃希菌的 ESBLs 主要位于细菌质粒上, ESBLs 基因可因耐药质粒自主复制、接合转移特性及转座子转座插入染色体及质粒,在同种或不同种属革兰阴性菌中传播,因此,产 ESBLs 大肠埃希菌常表现出对第三代头孢类抗菌药物、喹诺酮类和氨基糖甙类抗菌药物同时耐药。本研究检出的产 ESBLs 大肠埃希菌呈多重耐药,对氨苄西林、哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢曲松和头孢他啶的耐药率均高于 90%,对氨曲南、替卡西林/克拉维酸钾、复方新诺明、环丙沙星、庆大霉素、妥布霉素和左氧氟沙星的耐药率均高于 60%,对头孢吡肟、头孢西丁和呋喃妥因的耐药率也均高于非产 ESBLs 菌株。因此,临床上对产 ESBLs 大肠埃希菌药物治疗的选择时,一般不选用青霉素类、头孢类、喹诺酮类及氨基糖甙类。本研究检出的所有大肠埃希对哌拉西林钠/舒巴坦钠、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率均较低,表明部分加酶抑制剂类对此类细菌仍具有很高活性;对亚胺培南、替加环素以及阿米卡星敏感率很高,但由于阿米卡星其具有肾毒性、耳毒性,临床应慎重选用。因此,现常用碳青霉烯类或加酶抑制剂类药物联合作为产 ESBLs 大肠埃希菌治疗的首选。另有学者研究发现替加环素联合亚胺培南在抑制大肠埃希菌超广谱 β -内酰胺酶活性具有一定的协同抗菌作用,临床上可以考虑应用替加环素联合亚胺培南来治疗^[6]。值得注意的是,本研究发现 3 株耐亚胺培南的大肠埃希菌,应引起临床的重视,因此对细菌耐药的长期监测是非常重要的。

总之,临床医生应重视尿液的细菌培养,根据药敏结果合理选用抗菌药物,同时应重视耐药菌株的监测,对减少和延缓

耐药菌株的出现具有重要意义。

参考文献

[1] 关新,黄秀红,杨秀娟.我地区泌尿系感染病原菌的分布及耐药性分析[J].中国实验诊断学,2012,16(6):1127-1128.

[2] 刘韶晖,许建成,刘铜军.连续 5 年临床分离大肠埃希菌的耐药变迁[J].中国实验诊断学,2010,14(12):1980-1982.

[3] Brolund A,Edquist PJ,Mäkitalo B,et al. Epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Sweden 2007-2011[J]. Clin Microbiol Infect,2014,20(6):344-352.

[4] 刘成伟,李文桂,郑行萍,等.产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J].中国病原生物学杂志,2006,32(6):382-383.

[5] 王志勤,张晨光,邢志广.泌尿系感染大肠埃希菌的耐药性分析[J].现代预防医学,2014,41(3):523-524.

[6] 余文.替加环素联合治疗方案对多重耐药肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌有效[J].中华医学信息导报,2011,26(23):9.

(收稿日期:2015-06-20 修回日期:2015-09-12)

(上接第 589 页)

铁剂 Hb 明显高于对照组,故认为口服铁剂不能够减少围手术期隐性失血量,但对提高老年股骨转子间骨折患者整个康复疗程的 Hb 水平有明显作用。建议老年股骨转子间骨折应对隐性失血进行全面的评估,了解患者的贫血程度,进行必要的处理,减少因隐性失血所导致的贫血而引起相关的并发症。而口服铁剂是一种有效、经济、安全的治疗方法,可明显改善术后的功能恢复情况,缩短患者康复周期,值得临床推广。

参考文献

[1] 陈远泽,杜云峰.高龄股骨粗隆间骨折股骨近端髓内钉-抗螺旋刀片治疗的临床体会[J].检验医学与临床,2012,24(24):3060-3061.

[2] Davis FM,Woolner DF,Frampton C,et al. Prospective, multi-centre trial of mortality following general or spinal anaesthesia for hip fracture surgery in the elderly[J]. Br J Anaesth,1987,59(9):1080-1088.

[3] 刘胜利,梁春雨.股骨转子间骨折治疗进展[J].中国煤炭工业医学杂志,2014,17(10):1712-1715.

[4] Sehat KR,Evans R,Newman JH. How much blood is really lost in total knee arthroplasty? Correct blood loss management should take hidden loss into account [J]. Knee,2000,7(3):151-155.

[5] 甘琨生,荣绍远,王现海,等.防旋型股骨近端髓内钉与 Gamma 钉治疗老年股骨转子间骨折的疗效观察[J].中国煤炭工业医学杂志,2014,17(6):895-897.

[6] Gross JB. Estimating allowable blood loss;corrected for

dilution[J]. Anesthesiology,1983,58(3):277-280.

[7] McManus KT, Velchik MG, Alavi A, et al. Non-invasive assessment of postoperative bleeding in TKA patients with Tc-99mRNCs[J]. Nuclear Med,1987,28(S1):565-567.

[8] 邓文广,许超,何滨,等.股骨粗隆间骨折 Gamma3 钉内固定的隐性失血分析[J].中国中医骨伤科杂志,2013,21(4):12-14.

[9] 张金花,肖邦,李英,等.股骨骨折术后急性贫血的原因分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(8):1000-1001.

[10] 陆燕,蔡攀,汤明荣,等.围术期输血治疗对老年股骨粗隆间骨折隐性失血的影响[J].检验医学与临床,2013,10(16):2086-2087.

[11] 王宇仁,杨越华,倪斌斌.促红细胞生成素对改善股骨转子间骨折术后贫血的作用[J].临床骨科杂志,2014,17(5):489-492.

[12] Prasad N,Rajamani V,Hullin D,et al. Post-operative anaemia in femoral neck fracture patients: does it need treatment? A single blinded prospective randomised controlled trial[J]. Injury,2009,40(10):1073-1076.

[13] Lawrence VA, Silverstein JH, Cornell JE, et al. Higher Hb level is associated with better early functional recovery after hip fracture repair [J]. Transfusion, 2003, 43(12):1717-1722.

(收稿日期:2015-07-10 修回日期:2015-10-15)