

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.02.018

1 240 株临床分离菌株耐药性监测

杨 夕, 刘利航

(重庆市南川区人民医院检验科 408400)

摘要:目的 分析临床分离菌株构成特点及耐药性,为临床用药提供参考依据。方法 采用 K-B 纸片扩散法或自动化仪器法进行抗菌药物敏感试验,按 CLSI 2013 年标准,采用 WHONET 5.6 软件进行统计分析。结果 2013 年 1~12 月共分离临床细菌 1 240 株,其中革兰阳性菌 406 株,占 32.7%,革兰阴性菌 834 株,占 67.3%;分离菌株前 5 位依次为大肠埃希菌、克雷伯菌属、凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌;分离标本构成前 5 位依次是痰液、尿液、血液、分泌物、大便;葡萄球菌属中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)检出率分别为 17.1%和 74.7%,未发现万古霉素、奎奴普丁/达福普汀、替加环素和利奈唑胺耐药株;肠球菌属细菌未发现万古霉素耐药株;肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物(亚胺培南、厄他培南)保持较好的敏感性,均大于 85%,大肠埃希菌、克雷伯菌属细菌(肺炎克雷伯菌和产酸克雷伯菌)中产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)株分别为 56.7%、18.6%;铜绿假单胞菌对亚胺培南耐药性为 11.9%;不动杆菌属对亚胺培南耐药性为 19.0%。结论 该院住院患者感染部位以呼吸道为主,临床应重视病原菌培养标本送检;临床分离病原菌与重庆市耐药监测网统计前 5 位细菌及耐药状况基本一致。

关键词:细菌;药物耐受性;耐药性监测;甲氧西林耐药葡萄球菌;超广谱 β -内酰胺酶

中图分类号:R446.5

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2015)02-0197-04

Antimicrobial resistance monitoring of 1 240 clinically isolated bacteria

Yang Xi, Liu Lihang

(Department of Clinical Laboratory, Nanchuan People's Hospital, Chongqing 408400, China)

Abstract: Objective To investigate the bacterial distribution and resistance of clinical isolates, so as to provide basis for the clinical medication. Methods The drug susceptibility testing was performed by Kirby-Bauer method or automated system. The results were analyzed by WHONET 5.6 referring to the breakpoints of CLSI 2013. Results Of 1 240 clinical isolates, the gram-positive cocci and gram-negative bacteria accounted for 32.7% and 67.3% respectively. The top five of isolated strains were Escherichia coli, Klebsiella spp, coagulase negative staphylococci, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia; the first five of isolated specimens constitute followed by sputum, urine, blood, secretions and stool. The average prevalence of methicillin-resistant strains in S. aureus (MRSA) and coagulase-negative Staphylococcus (MRCNS) was 17.1% and 74.7%, respectively; no vancomycin, teicoplanin or linezolid-resistant strains were found; no vancomycin-resistant strains were found in Enterococcus spp; Enterobacteriaceae was still highly susceptible to imipenem and meropenem (>85%); extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) producing strains accounted for 56.7% of Escherichia coli, and accounted for 18.6% of Klebsiella pneumonia; the drug resistance rates of Pseudomonas aeruginosa to imipenem was 11.9%. The drug resistance rates of Acinetobacter spp to imipenem was 19.0%. Conclusion The main infection site of patients in this hospital is respiratory tract and attention should be paid to docimastic sample. The top five clinical isolates and drug resistance are roughly the same with the results of Chongqing drug resistance monitoring net.

Key words: bacteria; drug tolerance; resistance monitoring; methicillin-resistant staphylococcus; extended spectrum beta-lactamases

细菌耐药存在明显的区域性和时间性,连续动态监测临床病原菌的耐药特点,可及时掌握细菌耐药现状与变迁,对指导临床合理使用抗菌药物,减少耐药菌株产生,缩短患者住院时间,提高疗效等都有重要意义。本研究对 1 240 株临床分离菌株构成特点及耐药性进行总结,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株 选择本院 2013 年全年从合格标本中分离的菌株,剔除同一患者相同部位的重复菌株。质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC29213、大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853、肺炎链球菌 ATCC49619、铅黄肠球菌 ATCC700327、流感嗜血杆菌 ATCC49619、霍氏肠杆菌

ATCC700323、腐生葡萄球菌 ATCC BAA-750、嗜麦芽窄食单胞菌 ATCC17666 均购自中国菌种工业保存中心。

1.1.2 仪器与试剂 法国生物梅里埃 VITEK 2 Compact 微生物鉴定药敏分析系统及配套板条;链球菌药敏用含 5% 脱纤维羊血 MH 琼脂,流感嗜血杆菌药敏用嗜血杆菌属培养基 (HTM),均购自重庆庞通生物试剂有限公司。

1.2 方法 严格按《全国临床检验操作规程》(第 3 版)进行标本的质量控制、接种及菌株的分离培养,采用 VITEK 2 Compact 微生物鉴定药敏分析系统及配套板条进行菌株的鉴定及药敏试验,链球菌和流感嗜血杆菌用 K-B 法纸片扩散进行药敏试验,以 CLSI 2013 年标准进行结果的判断。

1.3 统计学处理 采用 WHO 提供的 WHONET5.6 软件进

行处理和分析,主要采用统计学描述。

2 结 果

2.1 细菌种类及分布 2013 年本院共收集临床分离细菌 1 240 株,其中革兰阴性细菌 834 株,占 67.3%;革兰阳性细菌 406 株,占 32.7%。分离菌株前 5 位依次是大肠埃希菌、克雷伯菌属,凝固酶阴性葡萄球菌,金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌。834 株革兰阴性菌中,肠杆菌科细菌占 60.3%,其中最多见者依次为大肠埃希菌、克雷伯菌属、宋内志贺菌和肠杆菌属细菌;非发酵糖革兰阴性杆菌占 21.3%,其中最多见者依次为铜绿假单胞菌、不动杆菌属细菌和嗜麦芽窄食单胞菌,革兰阳性菌中检出最多的为凝固酶阴性葡萄球菌 121 株,占 29.8%;其次为金黄色葡萄球菌 98 株,占 24.1%。见表 1。

表 1 临床分离细菌分布构成比

细菌	n	构成比(%)
革兰阴性菌	834	67.3
大肠埃希菌	232	18.7
克雷伯菌属	156	12.6
铜绿假单胞菌	75	6.0
宋内志贺菌	70	5.6
流感嗜血杆菌	67	5.4
不动杆菌属	63	5.1
肠杆菌属	45	3.6
其他	126	10.2
革兰阳性菌	406	32.7
凝固酶阴性葡萄球菌	121	9.8
金黄色葡萄球菌	98	7.9
肺炎链球菌	97	7.8
肠球菌属	61	4.9
其他	29	2.3
合计	1 240	100

2.2 细菌的标本来源及主要菌种构成 菌株主要来源是下呼吸道痰液占 48.1%,其次为尿液(18.1%)、血液(12.6%)、分泌物(7.2%)、大便(6.0%)、无菌体液(5.2%)、脓液(1.8%)、其他(1.1%)。痰液标本中居前 4 位的细菌是肺炎克雷伯菌、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌,分别占 21.0%、15.6%、11.1%、11.1%;尿液标本中居前 4 位的是大肠埃希

菌、肺炎克雷伯菌、尿肠球菌和粪肠球菌,分别占 56.7%、6.3%、5.8%和 5.4%;血液标本中居前 4 位的是凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌,分别占 46.4%、22.4%、9.1%和 4.2%。

2.3 主要革兰阳性菌对抗菌药物的耐药性

2.3.1 葡萄球菌属 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)分离率分别为 17.1%和 74.7%。MRSA 和 MRCNS 对 β -内酰胺类和大环内酯类抗菌药物的耐药性均显著高于甲氧西林敏感株[甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)和甲氧西林敏感凝固酶阴性葡萄球菌(MSCNS)]。未发现对万古霉素、奎奴普汀/达福普汀、替加环素和利奈唑胺耐药株,见表 2。

2.3.2 肠球菌属 肠球菌属以粪肠球菌(57.3%)和屎肠球菌(32.7%)为主。粪肠球菌对青霉素 G、氨苄西林、万古霉素、利奈唑胺和替加环素均无耐药菌株。对喹诺酮类抗菌药物具有较高敏感性,均大于 70.0%(环丙沙星 74.3%、左旋氧氟沙星 77.1%、莫西沙星 77.1%),对红霉素耐药性率较高,为 71.4%,对克林霉素全耐药。屎肠球菌分离菌株不足 30 株,未做分析。

2.3.3 肺炎链球菌 共分离 97 株肺炎链球菌,全来源于非脑膜炎标本。如按非脑膜炎静脉给药标准解释,青霉素耐药性为 47.4%,未检出对万古霉素、利奈唑胺、左旋氧氟沙星、莫西沙星、氧氟沙星和厄他培南耐药的菌株;对四环素和红霉素高度耐药(>85.0%)。

2.4 主要革兰阴性菌对抗菌药物的耐药性

2.4.1 肠杆菌科 肠杆菌科细菌主要为大肠埃希菌、克雷伯菌属、宋内志贺菌和肠杆菌属。大肠埃希菌、宋内志贺菌和克雷伯菌属对碳青霉烯类抗菌药物(亚胺培南、厄他培南)均保持较好的敏感性(>97.4%),对哌拉西林/他唑巴坦、头孢替坦(宋内志贺菌未报)和阿米卡星的耐药性小于 10.0%,对头孢他啶、头孢吡肟和妥布霉素的耐药性小于 30.0%,对其他抗菌药物的耐药性均较高。肠杆菌属对哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南的耐药性均小于 10.0%,对头孢吡肟、厄他培南、氨基糖苷类、喹诺酮类和复方磺胺的耐药性小于 30.0%,见表 3。大肠埃希菌、克雷伯菌属中检出产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株的比例分别为 67.2%(156/232)、18.6%(29/156),肠杆菌科细菌中产 ESBLs 株对多数测试药物的耐药性均比非产 ESBLs 株高^[1],见表 3。

表 2 葡萄球菌属对抗菌药物的敏感性和耐药性(%)

抗菌药物	MSSA(n=82)		MRSA(n=17)		MSCNS(n=31)		MRCNS(n=92)	
	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性
青霉素 G	95.1	4.9	100	0	64.5	35.5	100	0
苯唑西林	0	100	100	0	9.7	90.3	100	0
头孢西丁	0	100	100	0	9.7	90.3	100	0
庆大霉素	12.2	82.9	5.9	94.1	3.2	93.5	14.1	73.9
利福平	0	98.8	5.9	94.1	0	100	4.3	93.5
环丙沙星	13.4	80.5	5.9	94.1	3.2	90.3	42.4	47.8
左旋氧氟沙星	13.4	86.6	5.9	94.1	9.7	90.3	52.2	47.8
莫西沙星	12.2	86.6	5.9	94.1	0	87.1	13.0	47.8
复方新诺明	22.0	78.0	0	100	29.0	71.0	56.5	43.5

续表 2 葡萄球菌属对抗菌药物的敏感性和耐药性(%)

抗菌药物	MSSA(n=82)		MRSA(n=17)		MSCNS(n=31)		MRCNS(n=92)	
	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性
克林霉素	31.7	68.3	76.5	23.5	6.5	87.1	33.7	64.1
红霉素	56.1	43.9	76.5	23.5	61.3	38.7	90.2	9.8
利奈唑胺	0	100	0	100	0	100	0	100
万古霉素	0	100	0	100	0	100	0	100
奎奴普丁/达福普汀	0	100	0	100	0	100	0	100
四环素	24.4	75.6	41.2	58.8	22.6	77.4	30.4	69.6
替加环素	0	100	0	100	0	100	0	100

0: 耐药率为 0% 表示该抗菌药物对该种细菌在本院无耐药情况发生; 敏感率为 0% 表示该抗菌药物对该种细菌全部耐药。

表 3 肠杆菌科细菌对抗菌药物的敏感性和耐药性(%)

抗菌药物	大肠埃希菌(n=232)		克雷伯菌属(n=156)		宋内志贺菌(n=70)		肠杆菌属(n=45)	
	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性
氨苄西林	83.3	16.3	69.0	4.9	—	—	57.5	17.5
氨苄西林/舒巴坦	46.3	30.3	19.2	75.0	2.9	90.0	46.5	39.5
哌拉西林/他唑巴坦	0.9	96.5	1.9	97.4	0	100	6.7	88.9
头孢唑啉	67.6	32.4	56.1	43.9	100	0	100	0
头孢他啶	25.3	73.5	13.0	86.1	10.0	60.0	35.3	61.8
头孢曲松	56.7	43.3	21.3	78.7	—	—	45.5	54.5
头孢吡肟	19.8	78.8	7.0	91.6	1.5	91.0	15.0	82.5
头孢替坦	2.2	97.8	3.2	96.8	—	—	31.8	56.8
氨曲南	38.5	60.5	11.0	88.2	100	0	39.4	60.6
厄他培南	0	100	1.3	97.4	0	100	11.9	85.7
亚胺培南	0	99.6	0.6	99.4	0	100	4.4	88.9
阿米卡星	3.0	97.0	2.6	97.4	0	100	2.2	97.8
庆大霉素	41.4	58.6	13.5	86.5	0	100	20.0	73.3
妥布霉素	11.8	58.3	3.6	84.3	0	100	23.7	71.1
环丙沙星	47.6	51.9	4.5	94.9	0	100	15.6	84.4
左旋氧氟沙星	46.3	52.4	1.3	97.4	0	98.6	13.3	84.4
复方新诺明	54.7	45.3	17.9	82.1	100	0	24.4	75.6

—: 无数据; 0: 耐药率为 0% 表示该抗菌药物对该种细菌在本院无耐药情况发生; 敏感率为 0% 表示该抗菌药物对该种细菌全部耐药。

2.4.2 不发酵糖革兰阴性杆菌 不发酵糖革兰阴性杆菌主要为铜绿假单胞菌和不动杆菌属。铜绿假单胞菌对氨基糖苷类耐药性均小于或等于 10.0% (庆大霉素小于妥布霉素), 对哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、头孢吡肟和亚胺培南的耐药性分别为 12.1%、9.4%、10.1% 和 11.9%。左旋氧氟沙星的耐药性(12.0%) 低于环丙沙星(15.2%)。不动杆菌属较铜绿假单胞菌更为耐药, 对哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南和左旋氧氟沙星的耐药性较低, 分别为 19.0%、19.0% 和 15.9%, 见表 4。

表 4 不发酵糖革兰阴性杆菌对抗菌药物的敏感性和耐药性(%)

抗菌药物	不动杆菌属(n=63)		铜绿假单胞菌(n=75)	
	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性
氨苄西林	62.5	1.8	98.1	1.9
氨苄西林/舒巴坦	49.2	49.2	98.5	1.5
哌拉西林/他唑巴坦	19.0	69.8	12.1	84.8
头孢唑啉	100	0	100	0
头孢他啶	44.4	46.3	9.4	90.6
头孢曲松	46.4	21.4	98.2	1.8

续表 4 不发酵糖革兰阴性杆菌对抗菌药物的敏感性和耐药性(%)

抗菌药物	不动杆菌属(n=63)		铜绿假单胞菌(n=75)	
	耐药性	敏感性	耐药性	敏感性
头孢吡肟	36.1	50.8	10.1	84.1
头孢替坦	98.4	1.6	98.5	1.5
氨曲南	94.7	3.5	18.9	64.2
亚胺培南	19.0	79.4	11.9	82.1
庆大霉素	49.2	49.2	9.5	87.8
妥布霉素	45.8	54.2	10.0	90.0
环丙沙星	50.8	49.2	15.2	78.8
左旋氧氟沙星	15.9	66.7	12.0	78.7
复方新诺明	40.0	60.0	87.9	12.1

2.4.3 流感嗜血杆菌 流感嗜血杆菌对大部分药物的耐药性小于 20.0%^[2], 对氨苄西林的耐药性为 35.8%, 对二代头孢菌素头孢呋辛的敏感性(93.7%) 大于头孢克洛(53.7%), 对三代头孢菌素头孢曲松未检出耐药株。

3 讨 论

本院 2013 年监测的 1 240 株临床分离株中,病原菌的来源以下呼吸道标本痰为主,占 48.4%^[3];革兰阴性杆菌居多,占 67.3%,革兰阳性球菌占 32.7%。临床分离菌株中居首位的是大肠埃希菌(18.7%),其次分别为肺炎克雷伯菌(12.6%)、凝固酶阴性葡萄球菌(9.8%)、金黄色葡萄球菌(7.9%)、肺炎链球菌(7.8%),这与重庆市耐药监测网统计前 5 位细菌及耐药状况基本一致。肺炎链球菌、流感嗜血杆菌较高,原因如下:(1)分离的病原菌有 385 株(31.7%)来源于儿童患者,儿童患者中肺炎链球菌和流感嗜血杆菌占有很大比例;(2)痰液标本占的比重太大,可能会影响检出的致病菌的质量,需要进一步与临床沟通使其增加血液等无菌体液标本的送检。

2013 年 10 月本地区曾发生学生集体食物中毒的事件,从感染患者中分离到 70 株宋内志贺氏菌。这些菌株生化反应及耐药表型都基本一致,选用头孢他啶治疗,开始有效,逐渐产生耐药,后改用头孢吡肟治疗,疫情得到控制,患者痊愈出院。

本研究中 97 株肺炎链球菌有 70 株来自于儿童患者。虽然按静脉注射非脑膜炎判断标准,菌株对青霉素敏感性较西南地区 2011 年水平低^[4],但临床上对于儿童患者首选青霉素来治疗肺炎链球菌性肺炎^[5]。值得注意的是在文献中报道 PNSP 的检出率高达约 80.0%^[6]。对大环内酯耐药性较高,临床需要谨慎应用这类药物治疗感染,但对于利奈唑胺、万古霉素、喹诺酮类药物,肺炎链球菌仍无耐药菌株检出。

肠杆菌科细菌对碳青霉烯类仍保持较高的敏感性,对亚胺培南和美罗培南的敏感性接近全敏感。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中产 ESBLs 的检出率分别为 56.7% 和 18.6%,均比 2011 年西南地区的 71.2% 和 50.3% 低^[7]。出现 36 株碳青霉烯类抗菌药物耐药的菌株,主要是非发酵革兰阴性杆菌。该类细菌常带有多种耐药基因,如 Ambler A、B、D 组 β -内酰胺酶中的碳青霉烯酶基因,某些 ESBLs(如 CTX-M 家族)、Ampc β -内酰胺酶等,外膜孔蛋白低表达或缺失及其他耐药基因,因而往往同时对 β -内酰胺类、 β -内酰胺酶复方抑制剂、氨基糖苷类和喹诺酮类等药物耐药,容易成为多重耐药和泛耐药的细菌,其所致感染罹患率和病死率高,有效治疗药物少,给临床治疗带来很大的困难^[8-10]。流感嗜血菌对广谱青霉素类耐药性较高,但对含 β -内酰胺酶抑制剂的复方制剂敏感性明显高于单药,提示其主要耐药机制是产生 β -内酰胺酶^[11]。

MRSA 具有多重耐药性,是临床抗感染治疗的重点和难点,且具有重要的流行病学意义^[12]。本组资料显示,MRSA 检出率为 17.1%,远低于西南地区 2011 年的 56.9%^[7]。糖肽类、利奈唑胺是治疗 MRSA 感染的有效药物^[13],本监测中未发现对万古霉素、奎奴普汀/达福普汀、替加环素和利奈唑胺不敏感的葡萄球菌属。

2013 年耐药监测结果表明,本院院内感染病原种类复杂,耐药性高,因此如何避免院内感染的发生是一个迫切需要解决的问题^[14]。微生物实验室应当加强医院细菌耐药监测,及时、准确地把监测结果反馈给临床和相关职能部门,为临床合理使用抗菌药物提供试验依据^[15]。而临床在积极治疗的同时应采取更加有效地防止交叉感染和消毒灭菌措施,共同降低院内感

染的可能性。

参考文献:

- [1] 阮慧白,谢锦荣,周壮丽,等.产 ESBLs 大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌耐药性监测[J].中华医院感染学杂志,2013,23(23):5818-5819.
- [2] 胡阳,熊芸,孙静,等.流感嗜血杆菌的培养及耐药性分析[J].吉林医学,2014,35(17):3737-3738.
- [3] 申翠华,徐华,张静,等.2006-2008 年山东省立医院细菌耐药性监测分析[J].中国感染控制杂志,2010,9(3):200-204.
- [4] 陈晓,张伟丽,杨青,等. Mohnarin 2011 年报告:西南地区细菌耐药监测[J].中华医院感染学杂志,2012,22(22):4983-4988.
- [5] Su LH, Wu TL, Kuo AJ, et al. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* at a university hospital in Taiwan, 2000-07: impact of modified non-meningeal penicillin breakpoints in CLSI M100-S18 [J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 64(2): 336-342.
- [6] 李耘,吕媛. Mohnarin 2009 年度报告:非发酵革兰阴性杆菌耐药性监测[J].中国临床药理学杂志,2011,27(5):348-351.
- [7] 肖永红,沈萍,魏泽庆,等. Mohnarin 2011 年报告:全国细菌耐药监测[J].中华医院感染学杂志,2012,22(22):4946-4952.
- [8] Bush K. Alarming β -lactamase-mediated resistance in multi-drug-resistant Enterobacteriaceae [J]. Curr Opin Microbiol, 2010, 13(5): 558-564.
- [9] Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem-resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm [J]. Trends Mol Med, 2012, 18(6): 263-271.
- [10] Hu FP, Chen SD, Xu XG, et al. Emergence of carbapenem-resistant clinical Enterobacteriaceae isolates from a teaching hospital in Shanghai, China [J]. J Med Microbiol, 2012, 61(Pt1): 132-136.
- [11] 吕媛,马序竹,崔兰卿. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测报告:流感嗜血菌与副流感嗜血菌报告 [J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(24): 5144-5146.
- [12] 胡辛兰,陈发林. 院内感染金黄色葡萄球菌的分布及耐药性分析 [J]. 实验与检验医学, 2013, 31(5): 463-464.
- [13] Gosbell IB. Methicillin-resistant staphylococcus aureus [J]. Am J Clin Dermatol, 2004, 5(4): 239-259.
- [14] 罗润齐,林红燕,潘建刚,等. 医院感染病原菌的构成及耐药性分析 [J]. 实用医学杂志, 2013, 29(13): 2208-2211.
- [15] 韩晶. 细菌耐药检测及抗菌药物合理应用分析 [J]. 临床合理用药杂志, 2012, 5(22): 76-77.

(收稿日期:2014-09-06 修回日期:2014-10-01)