

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.08.029

不同临床标本分离的肠杆菌科细菌耐药率的差异

赵 丹,康 梅,何 超,肖玉玲,郭 靓,陈知行,袁 余,谢 轶[△]

(四川大学华西医院实验医学科,成都 610041)

[摘要] 目的 对华西医院 2009~2011 年分离的肠杆菌科细菌进行分析,探讨标本类型对肠杆菌科耐药率的影响。方法 采用 VITEK II Compact,Walkaway 96 SI 进行菌株鉴定和药敏试验,结果解释参照 CLSI M100-S22 标准。结果 共分离非重复肠杆菌科细菌 12 100 株,主要包括埃希菌属(35.7%)、克雷伯菌属(33.9%)和肠杆菌属(18.4%)。痰标本占 52%,非痰标本占 48%。非痰标本菌株对除哌拉西林/他唑巴坦、头孢西丁和亚胺培南抗菌药物耐药性显著高于痰标本菌株($P<0.05$)。结论 非痰标本来源的菌株显示更强的耐药性。

[关键词] 标本;肠杆菌科;耐药率;感染

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)08-1097-03

Comparative analysis of Enterobacteriaceae bacteria resistance between different clinical specimens

Zhao Dan, Kang Mei, He Chao, Xiao Yuling, Guo Liang, Chen Zhixing, Yuan Yu, Xie Yi[△]

(Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolates collected from West China hospital in 2009—2011 and to study the impact of the specimen type on the antibiotic resistance and clinical diagnosis. **Methods** VITEK II Compact and Walkaway 96 SI were employed to identify bacterial isolated from different samples. The antimicrobial resistance were analyzed according to CLSI M100-S22 standards. **Results** A total of 12 100 non-duplicate Enterobacteriaceae isolates were collected, including Escherichia(35.7%), Klebsiella spp (33.9%), Enterobacter(18.4%). Of 52% samples were isolated from sputum and 48% samples were non-sputum. The antibiotic resistance rate of strains isolated from non-sputum samples was significantly higher than strains from sputum specimens in antibiotics except TZP, IPM and FOX($P<0.05$). The antibiotic resistance rate of Escherichia from sputum specimens was significantly higher than strains from non-sputum specimens (except cefoxitin)($P<0.05$). Klebsiella and Enterobacter were opposite of Escherichia. **Conclusion** The strains isolated from sputum specimens were more resistant to antibiotics, Resistance strains were more likely caused infection in clinical than susceptibility strains. Escherichia isolates were more likely to cause infection in sputum than Klebsiella and Enterobacter isolates.

[Key words] sputum; Enterobacteriaceae; antibiotic resistance; infection

临床微生物检验中用于分离病原体的常见标本类型主要包括痰液、血液、尿液、分泌物、脑脊液、胸腹水等。自然采集痰标本时,标本通过患者咽喉部咳出,会受到定植于咽喉部的细菌污染,因此,如果不能正确去除定植菌,会影响痰标本的检出意义^[1-3]。从临床治疗角度,国外认为大多数痰标本缺乏临床检测意义,其研究数据大多来源于血液和无菌体液标本中分离的细菌,即对有诊断意义的分离菌进行耐药监测和统计分析。由于痰标本的易得性和阳性率高^[4-6],国内临床送检的微生物标本中痰标本约占有标本类型的 50%^[7-9]。由于痰标本的培养结果往往受定植菌干扰,因此,进行耐药监测时,如不区分标本类型会影响监测结果的临床应用价值。分析不同标本来源的细菌耐药性,有助于区分定植和感染性菌株的耐药差异,掌握有诊断价值的细菌的耐药规律,为临床提供更准确的感染性菌株耐药数据。本文对 2009~2011 年华西医院临床分离的肠杆菌科细菌的病例资料进行调查分析,区分痰标本来源菌株与非痰标本来源菌株,探讨标本类型对肠杆菌科细菌耐药性的影响,以及非痰标本来源的菌株耐药性监测数据对临床抗菌药物使用的指导意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以华西医院 2009 年 1 月至 2011 年 12 月门诊及住院患者送检标本中分离到的肠杆菌科细菌为数据,对标本种类进行分组,分为痰标本组和非痰标本组。痰标本组,包

括从痰液标本中分离出的肠杆菌科细菌。非痰标本组,即从除痰液标本外的其他标本中分离出的肠杆菌科细菌,非痰标本主要包括尿液、创伤分泌物、血液、脓液、引流液、胆汁、胸腹水、脑脊液等。调查两组肠杆菌科细菌的药敏情况,并排除同一患者同一部位重复菌株。

1.2 方法 用常规方法进行细菌接种、培养、分离鉴定和药敏试验,菌株鉴定和药敏采用 VITEK II Compact 微生物自动鉴定仪(法国生物梅里埃公司),Walkaway 96 SI 微生物自动鉴定仪(德国西门子公司),以及相应复合药敏板卡。必要时用手工生化复核鉴定结果,E-TEST 法、KB 法复核药敏结果。结果解释参照 CLSI M100-S22 标准。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析处理,所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肠杆菌科细菌分布 2009~2011 年华西医院共分离肠杆菌科细菌 12 100 株,其中,埃希菌属分离率最高(35.7%),其次分别为克雷伯菌属(33.9%)和肠杆菌属(18.4%),其余各菌属分离率未超过 5%(图 1)。

2.2 肠杆菌科细菌标本来源分布 2009~2011 年华西医院分离肠杆菌科细菌标本分布为痰标本 52%,非痰标本 48%。非痰标本以尿液(33.2%)、分泌物(24.7%)、血液(14.7%)和

脓液(10.3%)为主,其余标本类型未超过 10%(图 2)。

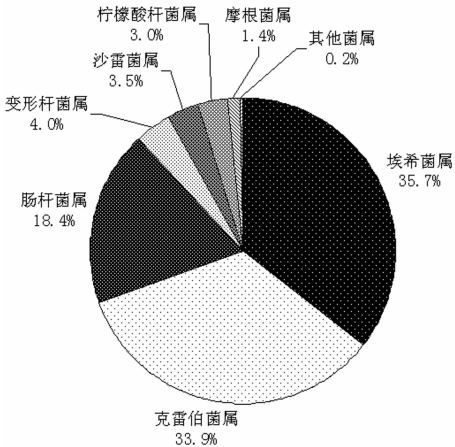


图 1 华西医院临床分离的 12 100 株肠杆菌科细菌分布情况

2.3 不同标本来源肠杆菌科细菌对常用抗菌药物的耐药率
肠杆菌科细菌总体分析显示,除哌拉西林/他唑巴坦、头孢西丁和亚胺培南耐药率为痰标本菌株高于非痰标本菌株外($P<0.05$),其余抗菌药物均为非痰标本菌株耐药率显著高于痰标本分离株,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

肠杆菌科细菌不同菌属分析显示,各属细菌对于常用抗菌药物耐药率随标本类型不同而有各自特点(表 1)。痰标本来源的埃希菌属耐药率显著高于非痰标本菌株(头孢西丁除外),差异有统计学意义($P<0.05$)。克雷伯菌属、肠杆菌属则显示相反结果,除哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南和头孢西丁外,非痰标本菌株耐药率均显著高于痰标本菌株($P<0.05$)。柠檬酸菌属、变形杆菌属中部分抗菌药物(如氨苄西林、环丙沙星)耐药率,非痰标本菌株显著高于痰标本菌株($P<0.05$)。痰标本和非痰标本来源的沙雷菌属和摩根菌属对大部分常用抗菌药物(除环丙沙星和头孢吡肟外)耐药率比较差异无统计学意

义($P>0.05$)。

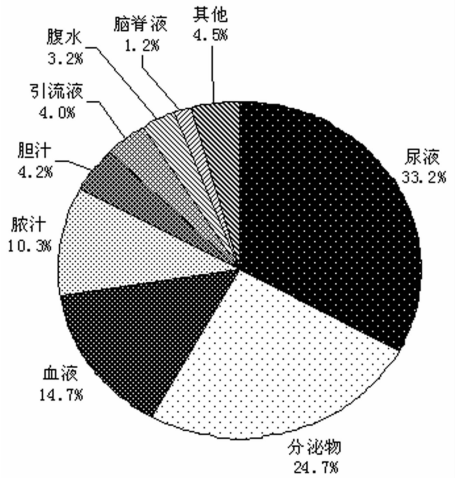
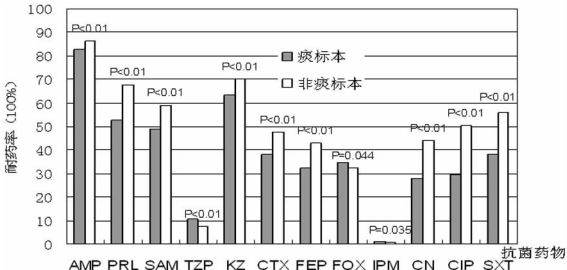


图 2 华西医院分离肠杆菌科细菌非痰液标本来源分布情况



AMP:氨苄西林;PRL:哌拉西林;SAM:氨苄西林/舒巴坦;TZP:哌拉西林/他唑巴坦;KZ:头孢唑林;CTX:头孢噻肟;FEP:头孢吡肟;FOX:头孢西丁;IPM:亚胺培南;CN:庆大霉素;CIP:环丙沙星;SXT:复方新诺明。

图 3 不同标本来源肠杆菌科细菌对常用抗菌药物的耐药率比较

表 1 痰标本和非痰标本分离的肠杆菌科细菌对常用抗菌药物耐药率比较(%)

抗菌药物	埃希菌属		克雷伯菌属		肠杆菌属		变形杆菌属		沙雷菌属		柠檬酸杆菌属		摩根菌属	
	SP	N-SP	SP	N-SP	SP	N-SP	SP	N-SP	SP	N-SP	SP	N-SP	SP	N-SP
氨苄西林	93.9	89.3*	84.0	85.3*	76.3	84.4*	54.7	68.5*	71.2	72.2	72.9	84.8*	100.0	96.8
哌拉西林	91.3	86.4*	51.4	61.3*	33.1	45.1*	31.0	35.7	16.8	13.8	64.3	63.4	30.3	39.8
氨苄西林/舒巴坦	77.7	65.2*	34.9	45.9*	53.6	63.9*	13.1	16.0	62.9	63.0	60.7	71.9*	80.9	77.0
哌拉西林/他唑巴坦	10.2	5.2*	12.4	10.3	8.2	15.5*	0.0	0.6	9.1	3.7	8.6	14.6	6.4	7.2
头孢唑林	81.4	67.2*	35.7	48.9*	96.7	98.6*	39.2	49.3	99.6	98.6	99.0	94.6	100.0	96.7
头孢噻肟	74.0	60.7*	30.8	40.7*	29.2	40.8*	16.0	19.0	22.3	21.5	37.8	39.6	24.2	15.9
头孢吡肟	71.9	57.7*	27.1	35.5*	18.6	23.7*	13.1	12.9	9.8	5.6	21.4	25.1	17.0	8.0*
头孢西丁	16.8	16.9	12.8	20.5*	95.5	96.9	6.0	7.4	34.1	43.1	89.8	90.3	18.2	14.8
亚胺培南	1.0	0.3*	1.4	1.4	1.0	1.4	3.7	1.5	1.6	4.6	2.1	2.3	2.1	2.4
庆大霉素	61.6	56.0*	21.6	28.6*	17.8	26.2*	21.9	28.7	7.6	8.3	35.0	44.3	34.0	40.8
环丙沙星	79.1	66.5*	18.8	28.0*	14.7	26.3*	22.6	39.3*	11.4	4.6*	37.9	58.0*	34.0	30.2
复方新诺明	74.4	68.3*	31.2	42.2*	28.1	32.1*	43.8	53.0	13.9	11.1	38.6	50.7*	46.8	55.2

SP:痰标本;N-SP:非痰标本。*: $P<0.05$,与同一菌属下 SP 组比较。

3 讨 论

标准化的痰标本检验流程较为复杂,往往需经过标本筛

选、标本洗涤、涂片评估、消化接种、结合涂片的生长筛选等步骤才能获取有诊断意义的痰标本检验结果^[10]。由于各医院微

生物实验室技术条件不同,检验人员操作能力各异,因此,难以完全做到痰标本检验标准化操作,常导致痰标本检验结果受循证医学质疑。国内外耐药统计数据中标本构成往往有很大差异,国外数据常以血液及无菌体液标本为主,而国内统计数据约 50%来自痰液标本分离菌株。由于标本来源的差别,可能影响了国内外耐药数据之间的差异,使得数据缺乏可比性。本研究从探讨痰标本与其他标本分离菌株耐药情况入手,研究不同标本类型对耐药数据的影响。2009~2011 年华西医院分离肠杆菌科细菌中埃希菌属(35.7%)、克雷伯菌属(33.9%)、肠杆菌属(18.4%),其他菌属分离率依次递减。标本类型以痰标本为主(52.0%),非痰标本(48.0%)中以尿液(33.2%)、分泌物(24.7%)、血液(14.7%)为主,非痰标本构成与相关报道一致^[11]。肠杆菌科细菌,特别是大肠埃希菌、变形杆菌,在临床上常常是尿路感染的病原菌^[12],严重时引起急性膀胱炎、急性肾盂肾炎等。合格尿液标本定量培养,分离出大于 10^5 CFU/mL 细菌可为临床诊断尿路感染提供依据^[10]。合格的分泌物标本在采集前应对患者病灶局部的皮肤或黏膜表面进行有效消毒以去除定植菌,然后采集靠近组织部分的脓液或病灶深部的分泌物。对于闭锁性脓肿应采集靠近脓肿壁脓液,主张用针管直接抽取,而不用拭子采集。包括血液在内的其他体液标本,如脑脊液、胸腹水、胆汁等,在健康人中均为无菌标本,因此,在此类标本中检出任何病原体都应视为潜在的病原菌。从合格的尿液标本、分泌物标本及体液标本中分离出病原菌的临床意义远远大于从痰标本中分离出病原菌。在排除污染的情况下,从非痰标本中分离出病原菌可以作为感染确诊的标准,而病原菌来自于痰标本时,还需要考虑是否有定植的情况。因此,无论从临床诊断还是检验医学的角度都需要慎重考虑痰标本的诊断价值,痰标本的检验流程需要标准化^[13-14]。

肠杆菌科细菌的耐药数据分析表明,纳入统计的 12 种常用抗菌药物中,非痰标本来源的菌株对其中 75%抗菌药物(氨苄西林、哌拉西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢唑林、头孢噻肟、头孢吡肟、庆大霉素、环丙沙星和复方新诺明)显示更强的耐药性,其中庆大霉素和环丙沙星差异最大,分别升高 15.9%和 21.0%。调查显示,非痰标本菌株对哌拉西林/他唑巴坦、头孢西丁和亚胺培南的耐药率略低于痰液标本菌株。肠杆菌科细菌是临床最常见的条件致病菌,包括埃希菌属、克雷伯菌属、肠杆菌属、变形杆菌属、沙雷菌属、柠檬酸杆菌属、摩根菌属等。按照不同标本类型,进一步分析各菌属间的耐药性可为临床提供更准确的耐药数据,也为临床微生物检验工作提出更细致化的工作要求。在本次调查的 7 个菌属中,克雷伯菌属和肠杆菌属显示出相同的耐药特点,即该属非痰标本来源菌株明显高于痰标本菌株。柠檬酸杆菌属、变形杆菌属中也分别有 4 种抗菌药物(氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、环丙沙星、复方新诺明)和 2 种抗菌药物(氨苄西林、环丙沙星)显示出同样的耐药特点。然而,埃希菌属耐药情况与克雷伯菌属和肠杆菌属相反,即该属痰标本来源菌株明显高于非痰标本菌株。在临床感染中,以大肠埃希菌为代表的埃希菌属是十分常见的条件致病菌。研究数据显示,在痰液标本中检出大肠埃希菌的意义高于其他肠杆菌科细菌,即在痰标本中检出的大肠埃希菌引起感染的可能性大于其他菌属,而痰标本中的肺炎克雷伯菌(克雷伯菌属代表种)和阴沟肠杆菌(肠杆菌属代表种)定植的可能性较大,统计结果有助于临床医生根据标本来源和菌属分类对感染和定

植进行判断。

由于本研究在痰标本和非痰标本中无法根据临床症状区分感染和定植的情况,因此,无论是痰标本还是非痰标本中均有感染和定植的情况存在,对统计结果有一定影响。做好痰标本的标准化操作,评估痰标本质量,结合显微镜检查的培养结果仍是临床微生物检验工作中需要加强的部分。临床医生应正确理解痰标本的微生物检验意义。在病原学阳性报告时,根据患者临床症状和当地耐药统计数据,对感染和定植作出正确判断,对抗菌药物合理使用有重要意义。

参考文献

- [1] 罗效梅,蔡骏,曹均.痰标本细菌学检查诊断下呼吸道感染的作用探讨[J].重庆医学,2011,40(10):1024-1025.
- [2] Brun-Buisson C, Fartoukh M, Lechapt E, et al. Contribution of blinded, protected quantitative specimens to the diagnostic and therapeutic management of ventilator-associated pneumonia[J]. Chest, 2005, 128(2): 533-544.
- [3] Veinstein A, Brun-Buisson C, Derrode N, et al. Validation of an algorithm based on direct examination of specimens in suspected ventilator-associated pneumonia[J]. Intensive Care Med, 2006, 32(5): 676-683.
- [4] 张玉琢.临床标本微生物检验阳性率的流行病学分布现状分析[J].中国保健营养,2012,8(8):398-399.
- [5] 杨柳,郭清莲,申及,等.回顾性分析比较不同临床标本微生物检验的阳性率[J].国际检验医学杂志,2011,32(14):1573-1574.
- [6] 朱秋丽,陈霞.不同临床标本微生物检验的阳性率分析[J].中华医院感染学杂志,2012,22(24):5662-5663.
- [7] 朱德妹,汪复,胡付品,等.2010 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2011,11(5):321-329.
- [8] 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.
- [9] 肖永红,沈萍,魏泽庆,等. Mohnarin 2011 年度全国细菌耐药监测[J].中华医院感染学杂志,2012,22(22):4946-4952.
- [10] 叶应妩,王敏三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:743-745.
- [11] 陈中举,孙自镛,徐英春,等.2010 年中国 CHINET 肠杆菌属细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2012,12(3):167-173.
- [12] 杨青,陈晓,孔海深,等. Mohnarin 2011 年度报告尿标本细菌耐药监测[J].中华医院感染学杂志,2012,22(24):5503-5507.
- [13] 谢懿,曾娟,李瑜珍.综合干预措施提高痰标本质量的效果评价[J].中国感染控制杂志,2012,11(5):370-371.
- [14] 韩鹏,姚武.医生督导留取和送检痰细菌培养标本结果分析[J].当代医学,2012,18(27):16-17.

(收稿日期:2014-10-15 修回日期:2014-12-22)