文章编号:1000-5404(2013)23-2513-03

论著

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的万古霉素最低抑菌浓度漂移研究

张 琴[1],卓 超[1,2],肖书念[2],夏 淑[2],黄增光[2],林倍州[2],钟南山[2] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院呼吸内科[1];510120 广州,广州医科大学附属第一医院,广州呼吸疾病研究所[2])

[摘要] **目的** 逐年分析耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*,MRSA)对万古霉素、替考拉宁及利奈唑胺的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值变化,评估是否存在万古霉素MIC漂移。**方法** 收集6家三甲医院2007-2011年临床分离的MRSA菌株,头孢西丁纸片法确认MRSA,微量肉汤稀释法测定菌株对万古霉素、替考拉宁、利奈唑胺及头孢西丁的MIC,计算MIC_{50}、MIC_{90}、MIC值几何均数、敏感率及耐药率。**结果** 2007-2011年,共收集非重复MRSA 1 219株,所有菌株对万古霉素、替考拉宁及利奈唑胺均敏感。各年MRSA对万古霉素MIC几何均值分别为0.952、0.956、0.947、1.013、1.040 μg/mL,呈渐进性上升趋势($P<0.05$),MIC>1 μg/mL菌株比例分别为23.5%、21.6%、27.8%、30.6%和42.8%,有逐年上升趋势($P<0.05$)。替考拉宁对MRSA菌株几何均值分别为0.739、0.749、0.743、0.768、0.973,也呈渐进性上升趋势($P<0.05$)。利奈唑胺对MRSA菌株几何均值分别为1.414、1.422、1.386、1.410、1.221,无渐进性上升趋势($P>0.05$)。**结论** 我国临床分离株MRSA对万古霉素存在MIC漂移现象,呈逐年上升趋势。

[关键词] 金黄色葡萄球菌;万古霉素;敏感性;MIC漂移
[中图法分类号] R378.11; R915; R978.12 [文献标志码] A

Vancomycin minimum inhibitory concentration creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Zhang Qin[1], Zhuo Chao[1,2], Xiao Shunian[2], Xia Shu[2], Huang Zengguang[2], Lin Beizhou[2], Zhong Nanshan[2]([1]Department of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Guangzhou Institute of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510120, China)

[**Abstract**] **Objective** To assess whether there is vancomycin minimum inhibitory concentration (MIC) creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from 6 large-scale hospitals in China by analyzing the MIC of the bacterium to vancomycin, teicoplanin and linezolid over a 5-year period. **Methods** MRSA isolates were collected from 6 hospitals in China during the period from 2007 to 2011. Their MIC to vancomycin, teicoplanin and linezolid was determined by broth microdilution according to the procedure by the National Committee for Clinical Laboratory Standards. MIC_{50}, MIC_{90} and geometric-mean-MIC were calculated for all isolates in each year. **Results** A total of 1 219 clinical isolates of MRSA were determined in this study, All the isolates were susceptible to vancomycin, linezolid and teicoplanin. Overall, the vancomycin geometric-mean-MIC was 0.952, 0.956, 0.947, 1.013 and 1.040 μg/mL respectively in the 5 consecutive years, with a significantly increased trend over years ($P<0.05$). The percentages of MRSA isolates with a vancomycin MIC above 1 μg/mL (MIC > 1 μg/mL) were 23.5%, 21.6%, 27.8%, 30.6% and 42.8% annually, and increased with time($P<0.05$). The teicoplanin geometric-mean-MIC was 0.739, 0.749, 0.743, 0.768 and 0.973 μg/mL, and also in an increased trend over years($P<0.05$). The linezolid geometric-mean-MIC was 1.414, 1.422, 1.386, 1.410 and 1.221 μg/mL, and MIC trend was not found ($P>0.05$). **Conclusion** Vancomycin MIC creep in MRSA has emerged in China in this study.

[**Key words**] *Staphylococcus aureus*; vancomycin; susceptibility; minimum inhibitory concentration creep

Supported by the Special Fund for Public Welfare Industry of Health (201002021). Corresponding author: Zhuo Chao, E-mail: chaosheep@sina.com

[基金项目] 卫生公益性行业科研专项(201002021)
[通信作者] 卓 超, E-mail: chaosheep@sina.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131022.1553.019.html(2013-10-22)

金黄色葡萄球菌是院内感染的最常见病原菌之一。万古霉素一直是治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*,MRSA)感染的理想药物。随着万古霉素的广泛应用,万古霉素中介的金葡菌(vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*, VISA)和万古霉素耐药的金葡菌(vancomycin resistance *Staphylococcus aureus*, VRSA)相继出现[1]。同时近年发现,对万古霉素敏感的金葡菌,对万古霉素最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值有逐渐增高趋势,称为万古霉素MIC漂移[2]。目前这种金葡菌对万古霉素敏感性下降的现象在美国、欧洲和中国香港均有报道[3-5]。本课题组在前期研究中,对本院2007-2009年分离的金黄色葡萄球菌对万古霉素的耐药性变迁作了一定的分析,发现在这3年中存在一定万古霉素MIC漂移现象[6]。但由于样本量小,难以代表我国MRSA万古霉素MIC的分布及变化情况。本研究收集2007-2011年中国大陆6家医院的MRSA临床分离株,分析其对万古霉素的敏感性变化,同时对替考拉宁及利奈唑胺MIC值变化进行评估,为临床用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

收集2007年1月至2011年10月我国6家三甲医院临床分离的MRSA非重复菌株共1 219株,其中2007年284株,2008年305株,2009年187株,2010年242株,2011年201株。标准质控菌株为金葡菌ATCC25923和ATCC29213。菌株均在-80 ℃保存,测定前复苏,并经API鉴定系统行菌种鉴定。

1.2 试剂及设备

抗菌药物万古霉素、利奈唑胺、替考拉宁及头孢西丁均购自中国药品生物制品检定所,头孢西丁纸片(30 μg/片)为美国BD公司产品,MH肉汤、MH培养基购自Oxiod公司(广州市迪景微生物科技有限公司),多点接种仪及比浊仪购自法国BioMerieux公司。

1.3 实验方法

1.3.1 MRSA检测方法 采用纸片扩散(KB)法,根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)推荐方法[7],在MH琼脂上涂布0.5麦氏浊度的菌悬液,贴上头孢西丁纸片,以ATCC25923作质控,37 ℃培养16~18 h后量取抑菌环,按CLSI标准判定结果,头孢西丁纸片直径≤19 mm为耐药,可确定为MRSA。

1.3.2 药敏实验 药敏实验按照CLSI推荐的微量肉汤稀释法进行,参照Sader等[8]报道的确切滴度稀释法,将万古霉素分为15个浓度,分别是8、4、2、1.75、1.5、1.375、1.25、1.125、1、0.875、0.75、0.625、0.5、0.25、0.125 μg/mL,将替考拉宁分为14个梯度浓度,分别是8、4、2、1.5、1.25、1.125、1、0.875、0.75、0.625、0.5、0.25、0.12、0.06 μg/mL。利奈唑胺按常规2倍稀释法进行,分为7个梯度浓度,分别是16、8、4、2、1、0.5、0.25 μg/mL。按2010年CLSI标准,万古霉素MIC≤2 μg/mL为敏感,利奈唑胺MIC≤4 μg/mL为敏感,替考拉宁MIC≤8 μg/mL为敏感。为保整个实验的准确性,每批实验都加质控菌株ATCC29213。

1.4 统计学分析

采用WHONET 5.4软件分析药敏数据,分别得到MIC_{50}、MIC_{90}和MIC几何均值(geometric-mean-MIC)。采用SPSS 17.0统计软件,检出率比较采用趋势χ^2检验,MIC值组间比较用两样本几何均值t检验,MIC趋势评估采用秩相关。

2 结果

2.1 药敏试验

所有菌株对万古霉素、利奈唑胺及替考拉宁均敏感。2007-2011年,万古霉素对MRSA菌株几何均值呈渐进性上升趋势,有统计学意义($P<0.05$)。利奈唑胺和替考拉宁对MRSA菌株几何均值无渐进性上升趋势($P>0.05$)。见表1。

表1 MRSA菌株对3种药物的敏感性

药物	年份	菌株数	MIC几何均值	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC范围
万古霉素	2007	284	0.952	1.0	1.5	0.25~2
	2008	305	0.956	1.0	1.5	0.25~2
	2009	187	0.947	1.0	1.5	0.375~2
	2010	242	1.013	1.0	1.5	0.375~2
	2011	201	1.040	1.0	1.5	0.125~2
利奈唑胺	2007	284	1.414	1.0	2.0	0.5~4
	2008	305	1.422	1.0	2.0	0.5~4
	2009	187	1.386	1.0	4.0	0.5~4
	2010	242	1.410	1.0	2.0	0.5~4
	2011	201	1.221	1.0	2.0	0.125~4
替考拉宁	2007	284	0.739	0.5	1.0	0.5~2
	2008	305	0.749	0.5	2.0	0.5~4
	2009	187	0.743	0.5	2.0	0.5~4
	2010	242	0.768	0.5	2.0	0.5~4
	2011	201	0.973	1.0	2.0	0.5~4

2.2 MRSA的万古霉素MIC分布

各年MRSA分离株在MIC 0.75~1 μg/mL聚集,占总比例的65%左右。以MIC=1 μg/mL和MIC=0.875 μg/mL的菌株比例最高,分别为30.6%和17.8%。而MIC≤0.5 μg/mL和MIC≥1.5 μg/mL比例较低,分别为3.8%和10.3%。

2.3 MRSA对万古霉素MIC的变迁

将MIC范围0.12~2.0 μg/mL划分为4个区间,见表2。MIC≤0.5 μg/mL的菌株比例呈逐年下降趋势,而1.0 μg/mL<MIC≤1.5 μg/mL区间的菌株比例呈逐年上升趋势,0.5 μg/mL<MIC≤1.0 μg/mL和1.5 μg/mL<MIC≤2.0 μg/mL的菌株比例保持相对平稳。

表2 2007-2011年MRSA对万古霉素MIC值的分布[例(%)]

MIC值	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年
≤0.5 μg/mL	22(7.8)	13(4.3)	3(1.6)	3(1.2)	2(1.0)
0.5 μg/mL<MIC≤1.0 μg/mL	195(68.7)	226(74.1)	132(70.6)	165(68.2)	113(56.2)
1.0 μg/mL<MIC≤1.5 μg/mL	55(19.3)	51(16.7)	45(24.1)	62(25.6)	77(38.3)
1.5 μg/mL<MIC≤2.0 μg/mL	12(4.2)	15(4.9)	7(3.7)	12(5.0)	9(4.5)

3 讨论

近年来,我国MRSA感染日渐增加,MRSA检出率逐渐增高。同时,金葡菌对万古霉素等糖肽类药物有敏感性下降趋势,VISA、hVISA检出地域和比例日渐增多,给临床治疗MRSA感染带来严峻挑战。本实验回顾性分析金葡菌对糖肽类抗生素和利奈唑烷的敏感性,结果显示,华南地区MRSA临床分离株对万古霉

素和替考拉宁敏感性呈下降趋势,对利奈唑烷的敏感性保持稳定。

2011年CHINET全国耐药监测网显示,MRSA检出率达50.6%[9]。由于MRSA检出率的逐年增高,势必会影响糖肽类抗生素的使用频率,导致抗生素选择性压力增高。本研究虽然未获得本地区万古霉素使用量的数据,但从MRSA分离率和MRSA临床分离株对万古霉素敏感性呈下降趋势看,合理、正确使用万古霉素在本地区尚待完善。

关于金葡菌的"万古霉素MIC漂移",国内国外都有相关报道。与国外近期有关金葡菌的"万古霉素MIC漂移"报道相比,本研究存在一定特点。Wang等[3]分析监测显示,2001-2004年,万古霉素MIC=1 μg/mL的菌株比例从2001年的20%增加至2004年的70.4%。本研究所有MRSA分离株对万古霉素MIC值均以1、0.875、0.75 μg/mL的菌株比例最高,三者总比例约65%,该比例在5年调查中基本保持平稳,而MIC在1.125~1.5 μg/mL的菌株比例在2008年以后上升明显,至2010年达25.6%,较2008年上升近十个百分点。相对而言,MIC>1.5 μg/mL的菌株比例在近5年保持平稳。就目前国外报道的万古霉素MIC与临床治疗金葡菌感染效果的结论而言,当MIC≥1.5 μg/mL时,患者住院时间、治疗总体失败率都与MIC<1.5 μg/mL存在差异[10]。Soriano等[11]研究还发现,MIC≥1 μg/mL的MRSA菌株感染死亡率明显高于MIC <1 μg/mL的菌株。因此,在高MIC值状况下,建议考虑其他的抗MRSA的治疗方案。本研究近年MRSA菌株对万古霉素MIC正向1.5 μg/mL接近,也警示临床,在经验性选用万古霉素抗MRSA感染治疗时,应充分考虑治疗失败的可能性。

国外对万古霉素的MIC漂移的计算方法存在分歧。Sader等[8]对美国9家医学中心的MRSA进行监测,有3家中心MIC呈上升趋势,但不能得到一致性漂移的结论。Steinkraus等分析认为,漂移与否可能受到MIC的检测方法及统计处理中选择的MIC值的影响,同时,各中心数据合并所得出的结论可能抹杀个别医院MIC漂移的差别。与MIC_{50}、MIC_{90}及菌株百分比等相比,MIC几何均值更精确更敏感[2]。英国和爱尔兰的一项多中心研究报道,用MIC每年的历史数据和将所有菌株统一收集进行药敏实验,所得结果是不同的,前者报道出现MIC漂移,但后者却发现MIC呈逐年下降,提示采用MIC历史数据可能会产生MIC漂移的假象[12]。本研究将所有菌株统一进行MIC测定,采用分析MIC几何均值的方法,发现MIC几何均值呈上升趋势,存在漂移,与Steinkraus等的结果相符。因此,我们认为MIC几何均值可能是研究MIC漂移的较好方法。

另外,本研究未发现MRSA对替考拉宁及利奈唑胺敏感性减低的趋势。利奈唑胺MIC几何均值在5年中介于1.02~1.266,高于Steinkraus等[2]报道的2001-2005年的利奈唑胺MIC的几何均值(0.46~0.64),低于2005年Golan等[13]报道的MRSA菌株的利奈唑胺MIC几何均值(3.3 μg/mL)。造成这些差别的原因无法确定,不排除不同医院利奈唑胺用药模式不同而造成的可能,有待进一步研究。

参考文献:

[1] Sievert D M, Rudrik J T, Patel J B, *et al*. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in the United States, 2002-2006[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(5): 668-674.

[2] Steinkraus G, White R, Friedrich L. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant S. aureus (MRSA) blood isolates from 2001-05[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 60(4): 788-794.

[3] Wang G, Hindler J F, Ward K W, *et al*. Increased vancomycin MICs for Staphylococcus aureus clinical isolates from a university hospital during a 5-year period[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(11): 3883-3886.

[4] Hawser S P, Bouchillon S K, Hoban D J, *et al*. Rising incidence of Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin and susceptibility to antibiotics: a global analysis 2004-2009[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 37(3): 219-224.

[5] Ho P L, Lo P Y, Chow K H, *et al*. Vancomycin MIC creep in MRSA isolates from 1997 to 2008 in a healthcare region in Hong Kong[J]. J Infect, 2010, 60(2): 140-145.

[6] 张光艳, 卓超, 黎晓强. 2007-2009年金黄色葡萄球菌对万古霉素MIC值变化的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2011, 36(9): 699-702.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (CLSI document M100-S18)[S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008: 46-53.

[8] Sader H S, Fey P D, Fish D N, *et al*. Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC creep) against methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates collected in nine U.S. medical centers from 2002 to 2006[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(10): 4127-4132.

[9] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2011年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 321-329.

[10] Lodise T P, Graves J, Evans A, *et al*. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia treated with vancomycin[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(9): 3315-3320.

[11] Soriano A, Marco F, Martinez J A, *et al*. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(23): 193-200.

[12] Reynolds R, Hope R, Warner M, *et al*. Lack of upward creep of glycopeptide MICs for methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolated in the UK and Ireland 2001-07[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(12): 2912-2918.

[13] Golan Y, McDermott L, Perry L, *et al*. Changes in linezolid susceptibility among consecutive MRSA bacteremia isolates[C]// Abstracts of the Forty-sixth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (San Francisco). Washington: American Society for Microbiology, 2006: 127.

(**收稿**:2013-06-28;**修回**:2013-09-27)

(编辑 张 维)