维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2007)12-1282-03

葡萄球菌对克林霉素诱导性耐药的检测及耐药性分析

陈 颖,宋明胜,周建党,李 翔,漆 涌

(中南大学湘雅三医院检验科,长沙 410013)

【摘 要】目的:了解我院葡萄球菌对克林霉素诱导性耐药的检出率及耐药性情况,指导临床合理用药。方法:按美国国家临床实验室标准化研究所(CLSI/NCCLS)2004 年推荐的 D 试验检测红霉素对克林霉素诱导耐药的葡萄球菌,同时检测耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)和甲氧西林敏感葡萄球菌(MSS)对 12 种常用抗生素的耐药性。结果:310 株临床分离葡萄球菌中,红霉素耐药而克林霉素敏感的菌株中 D 试验阳性的 MRS、MSS 分别为 6.6%(12/183)、18.1%(23/127),MSS 菌株明显高于 MRS 菌株的检出率,具有统计学意义(χ^2=9.99,P<0.01)。51 株红霉素耐药、克林霉素敏感的葡萄球菌中, D 试验阳性菌株 35 株,检出率为 68.6%(35/51)。对于 12 种常用抗生素的耐药性除复方新诺明和万古霉素外,MRS 对其余 10 种抗生素的耐药率明显高于 MSS,具有统计学意义(P<0.01)。结论:常规开展 D 试验检测红霉素对克林霉素诱导耐药的葡萄球菌,D 试验阳性应报告分离株对克林霉素耐药,可避免不适当使用克林霉素导致临床上的治疗失败,有助于医生正确选用大环内酯类及林可霉素类抗生素;并且 MRS 的耐药性较高,对各类抗生素多重耐药,需加强其耐药性监测。

【关键词】葡萄球菌;红霉素;克林霉素;诱导性耐药;耐药性分析

【中国图书分类法分类号】R446.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-03-19

Analysis of erythrocin induced clindamycin-resistance in Staphylococci

CHEN Ying, et al

(*Department of Clinical Laboratory, the Third Xiangya Hospital, Central South University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the frequency and antibiotic-resistance of inducible-clindamycin-resistant Staphylococci for rational prescription of antibiotics. *Methods*: Erythromycin-inducible-Clindamycin-resistant staphylococci were detected by using D test recommended by Clinical Laboratory Standard Institution (CLSI/NCCLS), and the resistance of methicillin-resistant Staphylococcus and Methicillin-sensitive Staphylococcus to 12 kinds of antibiotics were detected. *Results*: Among 310 strains of Staphylococci, in strains of erythromycin-resistant-and-clindamycin-sensitive Staphylococci, the percentage of MRS with positive D test was 6.6%(12/183), and that of MSS was 18.1%(23/127). There is significant difference between them(χ^2=9.99, P<0.01). Of 51 strains of erythromycin-resistant- clindamycin-sensitive Staphylococci, 68.6%(35/51)showed positive D test results. Except for cotrimoxazole and vancomycin, the resistance of MRS to the other 10 antibiotics was much higher than that of MSS, and the difference is significant(P<0.01). *Conclusions*: D test can be used for detection of erythromycin-inducible-clindamycin-resistant Staphylococci, and strains with positive D test results show resistance to clindamycin, which will guide rational prescription of antibiotics, such as macrolides and lincomycin.

【Key words】 Staphylococci; Erythromycin; Clindamycin; Inducible resistance; Analysis of drug-resistance

葡萄球菌是引起医院感染的常见病原菌,其中耐甲氧西林葡萄球菌(Methicillin-resistant staphylococcus, MRS)有逐渐上升的趋势,常表现为多重耐药性, 而且红霉素对克林霉素具有诱导耐药作用(iMLS),临床上大环内脂类、林可霉素类、链阳菌素抗生素被称为 MLS 药物[1],诱导型克林霉素耐药的菌株可导致克林霉素临床治疗失败。为了解我院葡萄球菌对克林霉素诱导性耐药的检出率及耐药性情况, 我们按美国国家临床实验室标准化研究所(CLSI/NCCLS)2004 年推荐的 D 试验检测红霉素对克林霉素诱导耐药的葡萄球菌,同时检测耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)和甲氧西林敏感葡萄球菌(MSS)对 12 种常用抗生素的耐药性,现将结果报告如下。

作者介绍: 陈 颖(1974-),女,主管技师,
主要研究方向:临床微生物耐药性研究。

1 材料和方法

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.1 材 料

1.1.1 菌株 我院 2006 年 1 月至 6 月临床分离葡萄球菌 310 株，其中金黄色葡萄球菌 198 株，mec A 基因阳性菌株 113 株；表皮葡萄球菌 47 株，腐生葡萄球菌 36 株，溶血葡萄球菌 29 株，其中 mec A 基因阳性菌株 70 株；标准菌株为湖南省临检中心提供的金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.1.2 试剂 苯唑西林、头孢西丁、头孢唑啉、氨苄西林、红霉素、克林霉素、万古霉素、复方新诺明、阿米卡星、利福平、环丙沙星、左氧氟沙星纸片以及药敏培养基（MH 琼脂）均购自 OXOID 公司。

1.2 方 法

1.2.1 纸片扩散法 按 CLSI/NCCLS 标准操作规程进行，检测各菌株对每种药敏纸片的敏感性，以 ATCC25923 为标准质控菌株，药敏结果依据 CLSI/NCCLS（2006 年）判断。同时做 D 试验：将红霉素纸片（15μg/片）和克林霉素纸片（2μg/片）相距 15mm 相邻放置，24h 后观察结果，当邻近红霉素纸片侧克林霉素抑菌圈出现截平现象时，判断为 D 试验阳性，提示红霉素对克林霉素具有诱导耐药性，报告分离株对克林霉素耐药。

1.2.2 统计方法 结果采用 WHONET5、SPSS13.0 软件进行统计分析，耐药率比较采用 χ^2 检验或确切概率法。

2 结 果

2.1 葡萄球菌对红霉素和克林霉素的耐药表型

红霉素和克林霉素均敏感的 MRS 和 MSS 分别为 2.7%（5/183）、28.3%（36/127），MSS 菌株明显高于 MRS 菌株，具有统计学意义（χ^2=42.86，P<0.01）。MRS 对红霉素和克林霉素同时耐药率较高，MSS 的耐药率相对较低，分别为 87.4%（160/183）、45.7%（58/127），MRS 菌株的耐药率明显高于 MSS 菌株，具有统计学意义（χ^2=62.65，P<0.01）。红霉素耐药而克林霉素敏感的葡萄球菌中 D 试验阳性的 MRS、MSS 分别为 6.6%（12/183）、18.1%（23/127），MSS 菌株明显高于 MRS 菌株的检出率，具有统计学意义（χ^2=9.99，P<0.01）；D 试验阴性的 MRS、MSS 分别为 3.3%（6/183）、7.9%（10/127），两者无统计学意义（χ^2=3.23，P>0.05）。结果见表 1。

2.2 葡萄球菌对 12 种抗生素的耐药性分析

310 株葡萄球菌对万古霉素全部敏感，MRS 对其余 11 种抗生素的耐药率均在 50%以上，MSS 对于除氨苄西林、红霉素以外的抗生素耐药率均在 50%以下。除复方新诺明（P>0.05）和万古霉素外，MRS 对其余 10 种抗生素的耐药率明显高于 MSS，具有统计学意义（P<0.01）。结果见表 2。

表 1 葡萄球菌对红霉素和克林霉素的耐药表型

葡萄球菌（株）	红霉素敏感 克林霉素敏感	红霉素耐药 克林霉素耐药	红霉素耐药 D 试验阳性	克林霉素敏感 D 试验阴性
MRS（183）	5（2.7%）	160（87.4%）	12（6.6%）	6（3.3%）
MSS（127）	36（28.3%）	58（45.7%）	23（18.1%）	10（7.9%）

表 2 310 株葡萄球菌对 12 种抗生素的耐药率（%）

抗菌药物	MRS（n=183）	MSS（n=127）	χ^2	P
苯唑西林	100.0	0.0	310.00	P<0.01
头孢西丁	100.0	0.0	310.00	P<0.01
头孢唑啉	100.0	7.9	270.79	P<0.01
氨苄西林	100.0	90.6		P<0.01★
红霉素	97.3	73.2	39.39	P<0.01
环丙沙星	92.9	43.3	92.64	P<0.01
克林霉素	87.4	44.9	64.64	P<0.01
左氧氟沙星	87.4	27.6	115.17	P<0.01
复方新诺明	56.8	46.5	3.24	P>0.05
利福平	55.2	11.0	62.68	P<0.01
阿米卡星	50.8	2.4	82.35	P<0.01
万古霉素	0.0	0.0		

注：★确切概率法

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

大环内酯类、林可霉素类、链阳菌素是在功能上非常相似的抗生素，这 3 类抗生素通常称为 MLS，因为革兰阴性菌对 MLS 具有天然耐药性，所以 MLS 主要用于治疗葡萄球菌感染。葡萄球菌对 MLS 耐药机制有能量依赖的主动泵出和核糖体靶位改变两种，前者由 msrA 基因编码，对大环内酯类及链阳霉素类耐药；后者由 erm 基因编码，细菌核糖体 23Sr-RNA 甲基化改变引起的，对克林霉素产生诱导耐药，同时也对链阳菌素 B 耐药，因此也称为大环内酯类—林可霉素—链阳菌素 B（MLS_B）耐药。MLS_B 耐药可分为诱导型（iMLS）和结构型（cMLS）：iMLS 型耐药是指红霉素作为诱导剂可通过衰减机制诱导 erm 基因的表达而产生耐药，其表型为对红霉素耐药对克林霉素敏感；cMLS 型耐药是指 erm 基因上游的启动子发生突变而使 erm 基因持续稳定表达产生耐药，其表型为对红霉素和克林霉素均耐药。

iMLS 型耐药用常规药敏试验会造成漏检，已有 iMLS 型耐药引起临床治疗失败的病例[2]，因此 CLSI/NCCLS2004 年推荐 D 试验检测红霉素对克林霉素诱导耐药的葡萄球菌，D 试验阳性应报告分离株对克林霉素耐药，同时在报告中注明“通过诱导克林霉素耐药试验，推测此菌株对克林霉素耐药，但在某些病人中克林霉素可能仍有效”[3]。

本组研究资料显示 310 株葡萄球菌中，红霉素和克林霉素均敏感的 MSS 菌株明显高于 MRS 菌株，MRS 对红霉素和克林霉素同时耐药率又明显高于 MSS 菌株，红霉素耐药而克林霉素敏感的葡萄球菌中 D 试验阳性的检出率 MSS 菌株明显高于 MRS 菌株，均具有统计学意义（$P<0.01$）。51 株红霉素耐药、克林霉素敏感的葡萄球菌中，D 试验阳性菌株 35 株，检出率为 68.6%（35/51）。

上述结果提示，红霉素对克林霉素诱导耐药率很高，美国实验室报告表型为红霉素耐药、克林霉素敏感的菌株中，50%为 D 试验阳性的诱导型耐药[1]。国内也有报道 161 株红霉素耐药而克林霉素敏感的菌株中，52.8%的葡萄球菌具有诱导耐药作用[4]。本实验室达到了 68.6%，高于国内外文献报道。微量稀释法和机器法药敏试验尚不能检测出此种耐药机制，因此，常规开展 D 试验检测葡萄球菌中红霉素对克林霉素的诱导耐药性其目的是为了避免不适当使用克林霉素导致临床上的治疗失败，有助于医生正确选用大环内酯类及林可霉素类抗生素。2005 版 CLSI/NCCLS 又将这一检测方法应用于 β 溶血链球菌（A、B、C、G 群）检测克林霉素诱导型菌株[5]。

本组资料中所有菌株对万古霉素均敏感，MRS 对 β－内酰胺类药物均不敏感，对红霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、克林霉素高度耐药，耐药率分别为 97.3%、92.9%、87.4%、87.4%，对复方新诺明、利福平、阿米卡星的耐药率也都超过 50%，分别为 56.8%、55.2%、50.8%。MRS 对这 11 种抗生素均严重耐药，应引起临床高度重视。MSS 只对氨苄西林和红霉素高度耐药，耐药率分别为 90.6%、73.2%，对复方新诺明、克林霉素、环丙沙星、左氧氟沙星中度耐药，耐药率分别为 46.5%、44.9%、43.3%和 27.6%，对利福平、头孢唑啉、阿米卡星的耐药率较低，分别为 11.0%、7.9%和 2.4%，对苯唑西林和头孢西丁全敏感。由上述结果得知，MRS 对于除万古霉素和复方新诺明外的 10 种抗生素的耐药率明显高于 MSS，其特点为多重耐药。MRS 的多重耐药性除与产生 β－内酰胺酶有关外，可能还与产生新的内酰胺酶类低亲合力 PBP2a 改变抗菌药物作用靶位、产生修饰酶、膜通透性降低及主动外排泵等机制有关[6]。

综上所述，D 试验阳性的葡萄球菌避免用克林霉素治疗，MRS 感染应首选万古霉素治疗[7]。因此，掌握葡萄球菌属的各种耐药机制，合理、有效、及时地使用抗菌药物，并且加强其耐药性监测，对控制耐药葡萄球菌所造成的感染，限制其播散、降低感染率是很重要的举措。

参 考 文 献

[1] Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, et al. Practical disk diffusionmethod for detection of inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci[J]. J Clin Microbiol, 2003; 41: 4740-4744.

[2] Frank AL, Marcinak JF, Mahgat PD, et al. Clindamycin treament of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in children [J]. Pediatr Infect Dis, 2002; 21: 530-534.

[3] National Committee of Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fourteenth Informational supplement[M]. NCCLS document M100-S14. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2004.1-159.

[4] 应群华，马雪莲，黄 静，等. 检测克林霉素诱导耐药的葡萄球菌导耐药性研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志，2005；25(10)：863-864.

[5] 陈民钧. 美国临床实验室标准化研究所 2005 年版有关药敏试验标准化更新要点[J]. 中华检验医学杂志，2005；28(4)：449-451.

[6] 张杏怡，何礼贤，胡必杰，等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志，1996；6(2)：114-116.

[7] 廖 璞，洪 波. 耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌的检测及耐药性分析[J]. 重庆医科大学学报，2005；30(3)：449-451.