维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)02－0213－04

E test 监测监护病房中 200 株革兰阴性杆菌的耐药性

卓　超[1]，蒋玉富[1]，肖永红[3]，陈庆宪[2]，刘鸿渝[1]

(1.重庆医科大学临床学院感染科;2.重庆医科大学临床学院药剂科,重庆　400016;
3.北京大学临床药理研究所,北京　100083)

【摘　要】目的:调查我院监护病房革兰阴性杆菌耐药状况,了解超广谱β－内酰胺酶(ESBLs)菌株的发生率。方法:用 E 试验法测定 200 株革兰阴性杆菌对 13 种抗生素的最低抑菌浓度(MIC)及细菌产 ESBL 的情况。结果:亚胺培南对所有受试菌保持最高抗菌活性,细胞耐药率为 6.5%;头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、头孢他定及阿莫西林/克拉维酸耐药率 18%～30%之间;其他抗生素耐药率在 44%～51%之间。筛选出 ESBLs 产生菌 29 株,以大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌和鲍氏不动杆菌为主,ESBLs 检出率分别为 66.7%、47.1%和 25.0%。亚胺培南对所有大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌和鲍氏不动杆菌 ESBLs 菌杆都敏感。新药埃托培南(MK－0826)对 2001 年收集的 100 株革兰阴性杆菌有较强的抗菌活性,总抑菌率为 85%,对 ESBLs 产生菌的抗菌活性与亚胺培南相似。两年资料相比,头孢哌酮/舒巴坦耐药率由 11%增加至 26%,其他抗生素耐药率变化不大。结论:亚胺培南抑菌率最高,对 ESBLs 产生菌有较强的抗菌活性,而加酶抑制剂抗生素的滥用,已造成细菌对其耐药率升高,且对付产酶耐药株感染逐渐失去优势。

【关键词】革兰阴性杆菌;耐药;E 试验;ESBLs

【中国图书分类法分类号】R378　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2002－05－21

Resistance surveillance of 400 Gram－negative bacterial isolates from intensive care unit with E－test

ZHUO Chao, et al

(*Department of Infectious Diseases, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the Gram－negative bacilli resistance rates in ICU and learn the situation of ESBLs－producing strains. *Methods*: Using the E－test to measure the minimal inhibition concentration (MIC) of 13 antibiotics against 200 strains Gram－negative bacilli. *Results*: The drug－resistance rates of imipenem is the lowest, which is 6.5%. Cefoperazone/sulbactam and amikacin、cefepime、piperacillin/tazobactam、ceftazidime and amoxicillin/clavulanic acid have a slightly higher resistant rates, which are among 18%～30%. The resistance rates are among 44% to 51% with other six antibiotics (except ertapenem). Compared with the survey in last year, the drug－resistance rates of cefoperazone/sulbactam increased from 11% to 26%, while the others showed fewer changes. 29 ESBLs－producing strains tested by TZ/TZL showed higher susceptibility to imipenem and lower susceptibility to cefoperazone/sulbactam and ticarcillin/clavulanic acid. *Conclusion*: Imipenem has the highest antibacterial activity and is also effective to ESBLs－producing strains; the abuse of antibiotics with β－lactamase inhibitors leads to rise in drug－resistance rate.

【Key words】Gram－negative; Resistance bacilli; E－test; ESBLs

我院自 2000 年至 2001 年连续两年对全院 7 个重症监护病房的各种感染患者进行耐药监测。其分离出革兰阴性杆菌 200 株,用 E 试验法将致病菌对 13 种常用抗菌药物作体外药敏分析,并检测所分离菌中的 ESBLs 产生率,并结合我院抗菌药物使用情况分析两年来细菌耐药率的变迁。现将结果报告如下。

1　材料和方法

1.1　材料

1.1.1　标本来源　感染病灶采集的标本包括:痰 88 份(来自气管插管 19 例),尿液 48 份(导尿管 12 例),血液 12 份(深静脉皮肤插管 1 例),皮肤软组织、中耳及伤口创面脓液 28 份,胸、腹、盆腔引流物 10 份,胆汁 5 份,其它 9 份。所有

作者介绍:卓　超(1967－　),男,博士,主治医师,
主要研究方向:细菌耐药机制和抗生素应用研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

菌株均由 API20NE 鉴定系统进行菌株确认。质控菌为大肠埃希氏菌 ATCC25922,大肠埃希氏菌 ATCC37618(ESBLs 质控株)和铜绿假单胞菌 ATCC26785。

1.1.2 菌株种类 200 株革兰阴性杆菌包括:大肠埃希氏菌 54 株,克雷伯菌属 42 株(肺炎克雷伯菌 41 株,产酸克雷伯菌 1 株),肠杆菌属 21 株(阴沟肠杆菌 14 株,产气肠杆菌 6 株,水源性肠杆菌 1 株),假单胞菌属 32 株(铜绿假单胞菌 31 株,少动鞘氨醇单胞菌 1 株),鲍氏不动杆菌 27 株,嗜麦芽窄食单胞菌 5 株,奇异变形杆菌 3 株,甲型副伤寒杆菌 5 株,伤寒杆菌 2 株,柠檬酸杆菌 4 株,产碱杆菌 2 株,普通变形杆菌、亲水气单胞菌及人类赭杆菌各 1 株。

1.1.3 E 试验试条 E 试验试条为瑞典 AB Biodisk 公司产品。抗生素为哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮/舒巴坦、头孢噻肟、头孢曲松、头孢他定、头孢吡肟、亚胺培南、埃托培南(MK-0826)、庆大霉素、阿米卡星及环丙沙星,E 试验浓度范围为 0.008～256μg/ml。ESBLs 确证试条:头孢他定/头孢他定 + 克拉维酸,简称 TZ/TZ 其抗菌浓度范围为:0.5～32μg/ml/0.064～4μg/ml。

1.2 方法

1.2.1 E 试验方法 将标本菌落制成菌悬液 1.5×10^8/ml,置于 ASMII 琼脂培养皿(美国默沙东公司提供),每个平皿放 6 个药物试条,置 35℃,18h,读取 MIC 值,质控菌 MIC 值应落于 NCCLs(2000)规定范围。

1.2.2 筛选、确证产 ESBLs 菌株,按照 NCCLs(2000)标准规定,凡头孢他定或头孢噻肟 MIC≥2μg/ml 的菌株(特别是大肠埃杀氏菌和克雷伯菌属)均应检测 ESBLs 产生情况。按上述方法,对头孢他定 MIC≥2μg/ml 的菌株进行测定,以 TZ/TZL 比值大于 8 或等于 8,判定为 ESBLs 阳性。

1.2.3 抗生素临界浓度,依据 NCCLs(2000)标准[1]:哌拉西林/他唑巴坦≤16/4(非发酵菌≤64/4),替卡西林/克拉维酸≤16/2(非发酵菌≤64/2),头孢哌酮/舒巴坦≤16/4,头孢噻肟、头孢曲松、头孢他定、头孢吡肟≤8,亚胺培南、埃托培南、庆大霉素≤4,阿米卡星≤16,环丙沙星≤1。

2 结 果

2.1 E 试验法测定结果

各菌种的耐药菌株统计见表 1。

2.2 ESBLs 产生情况见表 2

表 1 耐药菌株统计表

菌种(株)	亚胺培南	头孢他定	头孢噻肟	头孢曲松	头孢吡肟	头孢哌酮/舒巴坦	哌拉西林/他唑巴坦	替卡西林/克拉维酸	庆大霉素	阿米卡星	环丙沙星	阿莫西林/克拉维酸	埃托培南
大肠埃希氏菌(54)	1	7	16	17	8	9	7	26	33	6	43	2/31	0/23
克雷伯菌属(42)	1	11	10	10	5	8	9	12	17	9	12	2/21	1/21
肠杆菌属(21)	2	11	14	13	8	8	10	13	11	5	7	3/8	1/13
假单胞菌属(32)	4	9	27	26	6	6	11	19	17	9	11	17/22	7/15
鲍氏不动杆菌(27)		16	22	21	12	2	8	14	14	9	8	4/13	4/14
嗜麦芽窄食单胞菌(5)	5	3	4	4	3	2	3	2	3	2	3	2/3	2/2
奇异变形杆菌(3)							1					–	0/3
柠檬酸杆菌(4)		1	2	1	2	1	1	2	3	2	2	0/2	0/2
普遍变形杆菌(1)												–	0/1
产碱杆菌(2)			1	1	1				1	1	1	0/1	0/1
人类赭杆菌(1)		1		1	1		1		1		1	–	0/1
嗜水气单胞菌(1)								1	1		1	–	0/1
甲型副伤寒杆菌(5)												–	0/5
伤寒杆菌(2)												0/2	–
耐药菌株合计	13	59	96	94	46	36	51	89	101	43	89	30	15
耐药率(%)	6.5	29.5	48	47	23	18	25.5	44.5	50.5	21.5	44.5	30	15

表 2 175 株细菌的 ESBLs 检出率

菌 种	MIC≥2μg/ml	ESBLs(+)	ESBLs 检出率▲(%)
大肠埃希氏菌(54)	18	12	66.7
肺炎克雷伯菌(42)	17	8	47.1
肠杆菌属(21)	17	2	11.8
鲍氏不动杆菌(27)	20	5	25.0
铜绿假单胞菌(31)	11	2	18.2

▲:以 ESBLs 阳性株数在检测细菌中的比例计算 ESBL 检出率

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3 两年中细菌耐药率的变化

药物	2000 年		2001 年	
	总耐药率(%)	ESBLs 耐药率(%)	总耐药率(%)	ESBLs 耐药率(%)
亚胺培南	9	0	4	0
头孢他定	26	63.2	33	61.5
头孢噻肟	45	100	51	84.6
头孢曲松	43	100	51	92.3
头孢吡肟	21	36.8	25	38.5
头孢哌酮/舒巴坦	11*	21.1*	26*	61.5*
哌拉西林/他唑巴坦	19	31.6	27	38.5
替卡西林/在拉维酸	45	73.7	44	76.9
庆大霉素	54	100	48	92.3
阿米卡星	25	36.8	17	30.8
环丙沙星	44	52.6	46	84.6

*:相应两组资料相比,统计学有极显著性差异($P<0.01$)

2.3 两年间主要细菌分布结果显示,大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍氏不动杆菌和阴沟肠杆菌为我院监护病房主要分离菌种,占所有分离菌种的 85%以上,两年比较,构成比基本一致。

2.4 两年间细菌的耐药率变迁见表 3

2.5 2000～2001 年全院部分第三代头孢菌素使用量见表 4

表 4 2000～2001 年全院部分第三代头孢菌素使用量

抗生素	总用量(g)	
	2000 年	2001 年
头孢他定	81463	64761
头孢哌酮/舒巴坦	49864	74136
头孢噻肟	47120	22395
头孢曲松	47033	47925
头孢哌酮	79955	9468
亚胺培南/西司他丁	3210	3473

3 讨 论

监护病房的危重患者容易并发严重感染,尤其是合并严重基础疾病和免疫功能下降,并因此暴露于气管插管、留置导尿管及深静脉插管等院内感染的高危因素,使感染灶所分离的致病菌对多种抗生素耐药。

本次药敏试验可见,200 株革兰阴性杆菌对亚胺培南仍保持很高的敏感性,其总抑菌率达 93.5%;与头孢噻肟与头孢曲松的抑菌率相比,头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟及头孢他定的抑菌率较高($\chi^2=12.97$, $P<0.01$),均在 70%以上。其它抗生素中阿米卡星对革兰阴性杆菌仍保持较高敏感性,总抑菌率达 78.5%。特别是对大肠埃希氏菌的抑菌率达 88.9%,这对于混合感染的患者,联合用药的选择有重要意义。庆大霉素、环丙沙星对大肠埃希氏菌的敏感性差,特别是大肠埃希氏菌对环丙沙星耐药率高达 79.6%,比我院 1998～1999 年所监测的耐药率(45.2%)明显增加[2],这种高耐药率与临床不加控制地普遍使用是息息相关的,来源于我院药房的资料显示,1998、1999、2000 和 2001 年喹诺酮类药物投放金额分别为 589.56、737.60、765.51 和 789.94 万元,其间还未扣除 2000～2001 年该类药物降价因素,既两年的实际使用量明显高于 1998～1999 年的使用量。这应引起临床重视,采取措施,否则后果堪忧。

本研究测定了包括大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌在内的 175 株常见产酶菌的 ESBLs 产生情况,共检出 ESBLs 阳性株 29 株,ESBLs 检出率 34.9%,其中大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌及鲍氏不动杆菌 ESBLs 检出率较高。与上海地区的调查报告相比,我院 ESBLs 检出率稍低,尤以肺炎克雷伯菌明显,上海地区 1999 年报道肺炎克雷伯菌产酶率为 57%～60%[3],而我院 2001 年调查的肺炎克雷伯菌 ESBLs 检出率为 47.1%,产酶率仅为 23.8%(8/42)。药敏结果显示,25 株产 ESBLs 的大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌的鲍氏不动杆菌对亚胺培南均敏感。阿米卡星对产 ESBLs 的大肠埃希氏菌仍保持较高敏感性,其 MIC 范围为 1.5～3μg/ml。另外,这 29 株产酶菌中,有 7 株呈多重耐药,可能系该类菌携带 ESBLs 基因的质粒往往同时携带氨基糖甙类,喹诺酮类等等耐药基因[4]。

两年资料相比,监护病房所分离菌种的构成基本一致,均以大肠埃希氏菌、克雷伯菌、假单胞菌、肠

维普资讯 http://www.cqvip.com

杆菌属及不动杆菌为主,5 个菌种株数分别占 2000 年和 2001 年总菌株数的 90% 和 86%;两年检测的 ESBL 阳性株数相似(13 株/16 株),且都以大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌及鲍氏不动杆菌为主。药敏试验比较,两年各分离的 100 株革兰阴性杆菌对于大多数抗菌药物的耐药率变化不大。但值得注意的是,细菌对头孢哌酮/舒巴坦的总耐药率由 2000 年的 11% 上升至 2001 年的 26%,ESBLs 产生菌的耐药率也由 21.1% 上升至 61.5%,究其原因,可能与 2001 年我院头孢哌酮/舒巴坦的大量使用有关。由表 4 可见,2001 年该药使用量是 2000 年用量的 1.49 倍,居该类抗生素的第一位,在该年送检标本的所有患者中有 44.7%(38/85)使用该药,而 2000 年的调查对象仅有 21.8%(17/78)患者使用。合理、谨慎地应用头孢哌酮/舒巴坦是我院避免该品种耐药率继续上升的关键措施。

埃托培南系新型碳青霉烯类抗生素,其特点为血浆半衰期长,对细菌 β-内酰胺酶有潜在的抑制作用[4],目前尚未在国内上市,本次实验测定了其对 100 株细菌的体外抗菌活性,结果表明,它对 100 株细菌及其 ESBLs 产生菌的抑菌率分别为 85% 和 84.6%,显示了较强的体外抗菌活性。但临床疗效有待进一步验证。

参 考 文 献

[1] National committee for clinical laboratory standards. 2000; Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Document $M_{100}-S_{10}(M)$:16-20.

[2] 盛家琦,王其南,蒋玉富,等.E 试验对监护护病房革兰氏阴状杆菌的耐药性研究[J].中国抗生素杂志,2001;26(6):451-454.

[3] 朱德妹,熊自忠,汪 复.超广谱 β-内酰胺酶和细菌耐药性[J].中华传染病杂志,2000;18(3):151-154.

[4] Jacoby GA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum β-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1991;35:164-169.

[5] Livermore DM, Oakton KJ, Carter MW, et al. Activity of Ertapenem(MK-0826) versus enterobacteriaceae with potent β-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001;45:2831-2840.

(上接第 188 页)

dsDNA 阳性的患者全都为活动期患者,但活动期患者中有 9 例患者抗 dsDNA 为阴性,而 ANuA 为阳性,因此 ANuA 的测定可能对判定抗 dsDNA 阴性的活动期患者有帮助。

目前实验室诊断 SLE 的标志性抗体为抗 dsDNA 和抗 Sm 抗体,这两种抗体对于诊断 SLE,特异性高,但敏感性较差,抗 dsDNA 在 30%~40% 左右,抗 Sm 只有 20%~40%,而我们检测的 ANuA 敏感性为 74.1%,高于抗 dsDNA 和抗 Sm,因此我们认为 ANuA 可以作为除抗 dsDNA 和抗 Sm 抗体外的诊断 SLE 和判断 SLE 活动期的一种新的标志性抗体,ANuA 的检测对于 SLE 的诊断和监测具有重要的意义。

参 考 文 献

[1] Rumore PM, Steinman CR. Endogenous circulating DNA in systemic lupus erythematosus. Occurrence as multimedia complex bound to histone[J]. J Clin Invest, 1990;86(1):69.

[2] Chabre H, Amoura Z, Piette JC, et al. Presence of nucleosome restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1995;38(17):1485.

[3] Massa M, De Benedetti F, Pignatti P. Anti-double stranded DNA, anti-histone and anti-nuclelosome IgG reactivities in children with systemic lupus erythematosus[J]. Clin Exp Rheumatol, 1994;12(2):219.

[4] Kiss E, Lakos G, Nemeth J, et al. Significance of anti-nucleosome(anti-chromatin) antibodies in systemic lupus erythematosus[J]. Orv Hetil, 2001;142(32):1731-1736.

[5] Iin DJ, Kim SJ, ParK SH, et al. Anti-nucleosome antibody: significance in lupus patients lacking anti-double-stranded DNA antibody[J]. Clin Exp Rheumatol, 2002;20(1):13-18.