DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.044

MRSA院内感染的实验室监测

Labratory surveillance of nosocmoial infections MRSA

华 川* 府伟灵 李苏利** (第三军医大学附属西南医院感染实验室) 重庆,400038

提 要 目的: 查明 MRSA的流行情况并探索其防治措施。方法: 采用 Everett方法分离菌株, K-B法做9种抗生素的药物敏感试验,同时做了β-内酰胺酶产生试验和质粒消除实验。结果: 共分离金黄色葡萄球菌52株,其中 MRSA 16例,检出率为31%。药物敏感试验显示: MRSA比 MSSA更具多重耐药性,并有极相似的耐药图谱,揭示该菌有在医院内流行的可能性。质粒消除实验证明: 其抗性基因大都定位在质粒上,可在不同菌层中传播。结论: MRSA具有广泛的耐药谱,并可在医院内流行、传播。微生物实验室应对其进行监测。

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin resistant staphlococcus aurens, MRSA)引起的感染,是一个重要的临床问题,其检出率日趋增高。MRSA比 MSSA(Methicillin sensitive staphlococcus aurens)有更广泛的耐药图谱,经治疗带来很多的困难。我们从1996年5月至8月收集到临床标本金黄色葡萄球菌52株,这些来自不同病区、不同时间、不同标本的 MRSA菌菌株,有极相似的多重耐药图谱,可作为医院感染流行病学分析和重要参考,并为临床用药提供依据。

1 材料和方法

1.1 菌种鉴定

随机收集我院临床标本中的金黄色葡萄球菌52株,以 Everett方法进行分离,并经触酶试验,血浆凝固酶试验全部阳性而确认[1]。将金黄色葡萄球菌菌液均匀涂布高盐 M-H琼脂平板上,作苯唑青霉素药敏试验。按美国国家临床实验室标准委员会解释结果,凡对苯唑青霉素(1μg/片)耐药者,判定为 MRSA[2](≤ 10 mm者为耐药; > 10 mm为敏感)。同时选用β-内酰胺酶阴性,对苯唑青霉素敏感的金黄色葡萄球菌25923为标准对照株。

1.2 抗生素敏感试验

按 K-B法,分别作万古霉素、庆大霉素、氯霉素、红霉素、凯福隆、氨苄青霉素、菌必治、妥布霉素、氟哌酸(杭州微生物制剂厂提供)9种药物敏感试验,37℃培养16~18h观察药敏结果。

1.3 β-内酰胺酶产生实验

选用美国 BBL公司提供的纸片法,按操作指南进行。

1.4 质粒消除试验

按李倩等[3]改良法,将 MRSA接种于含0.025% SDS 2 ml LB肉汤管中,43℃振荡培养16 h;取20μl培养菌液接种于2 ml LB肉汤管中,43℃培养16 h;再取20μl菌液,种于含0.025% SDS 2 ml LB肉汤管中,43℃培养16 h;取50μl菌液种于5 ml LB肉汤管中,37℃培养16 h;稀释菌液至1.5× 10^8,涂布于 M-H平板上,做除万古霉素外的8种抗生素敏感试验。

2 结果

2.1 MRSA分离率

52株金黄色葡萄球菌中,检出 MRSA 16株,占金黄色葡萄球菌感染的31%,以呼吸科分离率最高,外科病房次之。

2.2 对抗生素的敏感性

16株 MRSA全部对庆大霉素、妥布霉素和氨苄青霉素耐药,对万古霉素敏感,对其它抗生素的耐药, MRSA较 MSSA更具多重性,结果见附表。

附表 MRSA与 MSSA耐药率(%)比较

菌种	庆大	氯霉素	红霉素	凯福隆	菌必治	妥布霉素	氟哌酸	氨苄
MRSA	100	43.7	75.0	93.7	87.5	100	37.5	100
MSSA	30.6	19.4	25.0	13.9	2.8	19.4	5.6	52.8

2.3 β-内酰胺酶产生率

MRSA的β-内酰胺酶产生率为93.7%, MSSA的β-内酰胺酶产生率为47.2%。二者之间差异非常显著,($P < 0.005$)。

2.4 质粒消除情况

用 SDS(0.25%)在43℃条件下,对 MRSA进行质粒消除实验,再对质粒消除后的 MRSA做药物敏感试验。结果显示,

* 华 川,女,35岁,主治医师,硕士
** 解放军252医院 保定,071000

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

第一次质粒消除实验后,菌株还存有耐苯唑青霉素,菌必治、氨卞青霉素的弱耐药性;重复质粒消除实验,菌株耐药基因全部消除。

3 讨论

MRSA具有 MSSA一致的毒力,且为多重耐药,院内一旦发生流行,往往迅速传播,很难控制。即使是在100%敏感的万古霉素治疗下,严重感染的病死率仍高达50% [4],所以对于 MRSA院内感染的监测,菌种鉴定是非常重要的一步。因为苯唑青霉素与甲氧西林在检测 MRSA中相关性一致,苯唑青霉素易于保存[2],所以被美国国家临床实验室标准委员规定用于 MRSA鉴定,易于一般实验室推广。

耐药图谱分型是最便宜、最简单的方法,可作为菌株流行病学分析的初筛试验[5]。本实验 MRSA对氨卞青霉素100%耐药,对万古霉素100%敏感,与文献[7]报告结果一致。药敏实验结果显示,MRSA比 MSSA更具多重耐药性,并有极其相似的耐药图谱,揭示很有可能在医院内爆发流行,应及时采取相应的对策。

β-内酰胺酶,通过水解作用破坏β-内酰胺环,而使具有该环的β-内酰胺类抗生素失活。金黄色葡萄球菌是革兰氏阳性菌中能产生此酶的重要致病菌。80%以上的 MRSA都有β-内酰胺酶的产生,本实验93.7%的 MRSA都有β-内酰胺酶的产生。MSSA虽然大多数都产生青霉素酶但却保持了对大多数抗生素的敏感,所以从临床角度出发,对于金黄色葡萄球菌应以是否耐甲氧西林及是否产生β-内酰胺酶来分组进行分析。

存于质粒上的耐药基因,比位于染色体 DNA上的耐药基因,在传播形式上更具广泛性。本组质粒消除实验,证实了本实验菌株的抗性基因定位于质粒上,可在不同菌属中传播,但是否与染色体 NDA联合作用,需进一步验证。如有条件,可做质粒图谱分析,可在耐药图谱初筛分离菌株的基础上,更详细经区分菌株,以便更好的进行流行病学分析。

关键词 金黄色葡萄球菌;院内感染

中图法分类号 R636

参考文献

1 Jorgensen M, Givney R, Deglerm *et al*. Typing multidrug-resistant staphylococcus oureus. Conflicting epidemiological data produced by genotypic and phenotypic methods clarified by phylogenetic analysis. J Clin Microbiol, 1996; 34(2): 398~403

2 Cheong I, Samsudin L M, Law G H. Methicillin-resistant staphylococcus aureus bacteraemia at a tertiary teaching hospital. Br J Clin Pract, 1996; 50(5): 237

3 李 倩,陈宁庆,马清钧等.葡萄球菌多重耐药性的基因定位.中化微生物学免疫学杂志,1991; 11(1); 13

4 Joel N M, Maury E M, robert D A. Molecular epidemiology: applieation of contemporary techniques to the typing of miroorganisms. Clin Infect Dis, 1993; 17(2): 153

5 李仲兴,边占水,唐振兰. 106株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的生物体特性及噬菌体分型.中华医学检验杂志,1990; 13(5): 294

(收稿: 1997-06-11;修回: 1997-12-03)

(编辑 汪勤俭)

原发肠道恶性淋巴瘤误诊原因的分析

Analysis of misdiagnosis of primary malignant lymphoma of intestinal tract

张 霞* 房殿春 徐 钊 刘大平 (第三军医大学附属西南医院消化内科)重庆,400038

提 要 目的:分析肠道恶性淋巴瘤误诊原因。方法:对我院1979~1997年手术切除20例肠道恶性淋巴瘤的临床病理资料进行分析。结果:20例肠道恶性淋巴瘤术前误诊率为70%(14/20)。结论:提高对肠恶性淋巴瘤认识,动态观察相关病变,联合应用纤维结肠镜及 X线双重对比造影有助于降低其误诊率。

原发性肠道恶性淋巴瘤较少见,因临床表现缺乏特异性,误诊率颇高[1]。现收集我院1979~199?年手术

* 张 霞,女,42岁,主治医师,基金班学员,白求恩国际和平医院干部病房一科 石家庄,050082

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net