·临床检验研究·

# 某地区淋球菌对 6 种抗生素耐药性的结果分析

曹文苓，黎小东，毕　超，梁艳华，宋卫忠，林路洋，吴德标，张　莉
（广州市皮肤病防治所检验科　510095）

**摘　要：目的**　了解广州地区淋球菌对 6 种抗生素的耐药性及产青霉素酶的淋球菌（PPNG）和质粒介导的耐四环素的淋球菌（TRNG）的流行状况。**方法**　用琼脂稀释法测定青霉素、四环素、环丙沙星、阿奇霉素、头孢曲松、大观霉素的最低抑菌浓度（MIC）；用纸片碘量法检测 β-内酰胺酶。**结果**　88 株淋球菌检出 PPNG 34 株（38.6%）、TRNG 51 株（60%）、环丙沙星耐药株 87 株（98.9%），同时检出 PPNG、TRNG、环丙沙星高度耐药（MIC≥161 mg/L）菌株 16 株，占 18.2%。阿奇霉素耐药株 24 株（27.2%），未发现头孢曲松、大观霉素的耐药菌株。**结论**　推荐大观霉素和头孢曲松作为广州地区治疗淋病的首选药物，加强淋球菌耐药性的连续性监测十分重要。

**关键词：**微生物敏感性试验；　淋球菌；　产青霉酶的淋球菌；　耐四环素的淋球菌；　抗药性
**DOI：**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.19.019　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2011)19-2205-02

**Analysis of the drug－resistance of Neisseria gonorrhoeae to 6 types of antibiotics in certain area**

*Cao Wenling, Li Xiaodong, Bi Chao, Liang Yanhua, Song Weizhong, Lin Luyang, Wu Debiao, Zhang Li*
(*Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Institute of Dermatology, Guangzhou* 510095, *China*)

**Abstract: Objective**　To survey the antibiotic resistance and the prevalence of penicillinase-producing Neisseria gonorrhoeae (PPNG) and tetracycline resistant Neisseria gonorrhoeae (TRNG) in certain area. **Methods**　Minimum inhibitory concentrations (MIC) to penicillin G, tetracycline, ciprofloxacin, azithromyc, ceftriaxone and spectinomycin were determined by using the agar dilution method, and β-lactamase was determined by paper iodin quantitative method. **Results**　34 strains (38.6%) of PPNG, 51 strains (60.0%) of TRNG, 87 strains (98.9%) resistant to ciprofloxacin, 24 strains (27.2%) resistant to azithromyc were detected in 88 strains, while 16 strains (18.2%) were positive with penicillinase－producing, tetracycline resistant and highly resistant to ciprofloxacin (MIC≥161 mg/L). There was no ceftriaxone or spectinomycin resistant strain. **Conclusion**　Ceftriaxone and spectinomycin could be choice drug to treat patients with Neisseria gonorrhoeae infection and it could be important to successively survey the antibiotic resistance of Neisseriae gonorrhoeae.

**Key words:** microbial sensitivity tests;　meisseria gonorrhoeae;　penicillinase-producing Neisseria gonorrhoeae;　tetracycline resistant Neisseria gonorrhoeae;　resistance

淋病是我国法定的乙类传染病，由于临床上滥用抗生素和不规则治疗，使淋球菌的耐药率逐年增加。为了解广州地区淋球菌的耐药率及产青霉素酶的淋球菌（PPNG）和质粒介导的耐四环素的淋球菌（TRNG）的流行状况，为临床合理用药提供参考。现检测 88 株淋球菌对 6 种抗生素的最低抑菌浓度（MIC）及 β-内酰胺酶和 TRNG，检测结果报道如下。

## 1　资料与方法

**1.1**　一般资料　88 株淋球菌均从该所 STD 门诊患者的泌尿生殖道分泌物中分离得到，所有菌株经革兰染色、氧化酶试验和糖发酵试验证实后，传代一次洗于脱脂牛奶中，于－78 ℃低温冰箱冻存备用。菌株收集时间为 2008 年 1 月至 2009 年 12 月。

**1.2**　抗生素　大观霉素、头孢曲松、四环素、青霉素、环丙沙星标准粉均由澳大利亚威尔士亲王医院 Tapsall 博士提供，阿奇霉素标准品购买于中国药品生物制品检定所。

**1.3**　培养基　GC 基础培养基（OXOID 公司生产）加入 10% 脱纤维新鲜羊血。

**1.4**　标准菌株　A、B、C、D、E 5 株 WHO 标准淋球菌菌株由中国医学科学院皮肤病研究所提供。

**1.5**　最低抑菌浓度（MIC）测定　采用 WHO 西太平洋地区淋球菌耐药监测规划推荐的琼脂稀释法[1]。即先将 4 种抗生素按要求配成原液，再倍比稀释成不同的浓度。将 3.7%GC 基础琼脂高压灭菌，水浴冷却至 50 ℃，加入脱纤维新鲜羊血（终浓度 10%）。取 0.1 mL 倍比稀释好的 5 种抗生素工作液，加入 10 mL GC 血液基础培养基，混匀后倾倒平板，从低浓度至高浓度配制各种浓度的平板，试验菌株和标准菌株用 18～24 h 的淋球菌菌苔，制成 $10^7$ cfu/mL 的菌悬液，用多头接种器将菌悬液接种于各种浓度的平板上，置 36 ℃、5%$CO_2$ 环境下培养，36 h 后观察结果，记录无菌落生长的最低抑菌浓度。以 WHO A、B、C、D、E 标准菌株作质控。药物敏感性判断标准采用 WHO 西太平洋地区淋球菌耐药监测规划推荐的标准，具体标准如下：青霉素、头孢曲松和环丙沙星均为 MIC 小于或等于 0.03 mg/L判为敏感，0.06～0.5 mg/L 中度敏感，大于或等于 1 mg/L 为耐药；大观霉素 MIC 小于或等于 64 mg/L 判断为敏感，大于或等于 128 mg/L 为耐药；四环素 MIC 大于或等于 161 mg/L，判为 TRNG；阿奇霉素参考英国抗微生物化疗学会推荐的临界值（敏感：MIC 大于或等于 0.25 mg/L，中敏：0.5 mg/L，耐药：MIC 大于或等于 1 mg/L）[2]。

**1.6**　β-内酰胺酶测定　采用纸片碘量法测定菌株的 β-内酰胺酶，即取一试管，加入 2 滴 10 000 U/mL 的青霉素溶液，2 滴 1%淀粉溶液，1 滴碘试剂，呈蓝色混合物，在一滤纸条上滴 1 滴试剂，将一接种环培养物涂在蓝点上，放置 1～2 min，如蓝色变成无色即为 β-内酰胺酶阳性，颜色无变化则为阴性。每次试验以 WHO E 株作阳性对照，A 株作阴性对照。

## 2　结　　果

**2.1**　88 株淋球菌中检出 34 株（38.6%）PPNG，检出 51 株

TRNG(四环素 MIC 大于或等于 16 mg/L)菌株,占 60%。同时检出 PPNG、TRNG、环丙沙星高度耐药(MIC 大于或等于 161 mg/L)菌株 16 株,占 18.2%。

**2.2** 88 株淋球菌 MIC 测定结果,青霉素 MIC 范围 0.007 8～16 mg/L,MIC 小于或等于 0.03 mg/L 的敏感株 0 株,0.625～0.5 mg/L 的中敏株 8 株(9.1%),大于或等于 1 mg/L 耐药菌株 80 株(90.9%)。环丙沙星 MIC 范围 0.004～32 mg/L,小于或等于 0.03 mg/L 的敏感株 1 株(1.1%),0.625～0.5 mg/L中敏株 0 株,大于或等于 1 mg/L 耐药株 87 株(98.9%)。大观霉素 MIC 的范围 2～128 mg/L,大于或等于 64 mg/L 的敏感株 88 株(100%),未发现耐药菌株。头孢曲松的 MIC 范围 0.002～1 mg/L,小于或等于 0.03 mg/L 敏感株 42 株(47.7%),0.06～0.5 mg/L 的中敏株 46 株(52.3%),未发现耐药株。阿奇霉素 MIC 范围 0.015 6～4 mg/L,MIC 小于或等于 0.25 mg/L 敏感株 54 株(61.4%),MIC 0.5 mg/L 的中敏株 10 株(11.4%),MIC 大于或等于 1 mg/L 的耐药株 24 株(27.2%)。见表 1。

**表 1　88 株淋球菌对 6 种抗生素的 MIC 分布(*n*)**

| 抗生素 | MIC(mg/L) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 0.5 | 0.25 | 0.125 | 0.062 5 | 0.031 2 | 0.015 6 | 0.007 8 | 0.004 | 0.002 |
| 头孢曲松 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 11 | 9 | 26 | 25 | 11 | 5 | 1 | — | — |
| 大观霉素 | — | — | 8 | 22 | 20 | 21 | 11 | 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 环丙沙星 | — | — | — | 9 | 60 | 16 | 2 | — | — | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — |
| 青霉素 | — | — | — | 34 | 6 | 6 | 17 | 8 | 9 | 5 | 1 | 1 | 1 | — | — | — | — | — |
| 阿奇霉素 | — | — | — | — | — | 2 | — | 4 | 18 | 10 | | 45 | 6 | 3 | — | — | — | — |
| 四环素 | — | — | — | — | 51 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

—:无数据。

## 3　讨　论

淋球菌的耐药性因时间和地区的不同而有所差异,通过对 6 种抗生素 MIC 的测定结果显示,青霉素耐药率为 90.9%(80/88),PPNG 检出率为 38.6%(34/88),TRNG 检出率为 60%(51/88)。虽然青霉素和四环素不再作为治疗淋病的首选药物,但是 PPNG 和 TRNG 流行率是淋球菌耐药性流行病学监测中的重要指标之一。

环丙沙星耐药率高达 98.9%,广州地区 2005 年环丙沙星耐药率为 96.4%,2008 年环丙沙星耐药率为 97.3%,说明广州地区环丙沙星耐药率一直处于高水平[3-4]。耐青霉素的菌株常对四环素和环丙沙星有交叉耐药,1999 年同时检出 PPNG、TRNG、环丙沙星高度耐药(MIC≥161 mg/L)菌株 2 株,占 1.2%[5]。而本组试验同时检出 PPNG、TRNG、环丙沙星高度耐药菌株 16 株,占 18.2%。经 $\chi^2$ 检验($\chi^2=25.3$,$P<0.05$)差异有统计学意义,说明淋球菌的多重耐药率也有所上升,临床应该引起重视。

头孢曲松未发现耐药菌株,但头孢曲松的中敏株达到 52.3%(46/88)。而南京地区 2007 年头孢曲松的中度敏感性菌株达到了 72.28%[6];南宁在 2000～2007 年间,共检出 6 株(0.01%)头孢曲松耐药株,头孢曲松中敏株达 65.71%[7];济宁于 2008 年检出 9 株(9%)头孢曲松耐药株[8]。因此应加强对头孢曲松耐药性的监测。

阿奇霉素是一种半合成的新型大环内酯类抗生素,曾经作为 WHO 在 2001 年推荐临床使用治疗淋病的一线药物,由于阿奇霉素对多种性病病原体引起的性病都有治疗作用,现已有地区发现阿奇霉素敏感性降低或耐药的菌株。上海地区淋球菌对阿奇霉素的耐药性达 92.5%[9];南京地区阿奇霉素的耐药性达 9.3%[2];而广州地区检出阿奇霉素耐药株 24 株(27.2%),提示应该采取措施保护该药物的临床应用。

大观霉素抗菌活性最强,敏感株 100%,未发现耐药菌株,但苏晓红等[10]报道大观霉素治疗淋病失败的 3 例病例中,2 例分离出大观霉素耐药菌株,成都、上海等地偶有大观霉素耐药菌株检出[6]。因此临床要引起重视,大观霉素虽然是目前治疗淋病的首选药物,但应足量正规用药,严格掌握适应症,并应密切监测大观霉素耐药性的动态变化。

## 参考文献


[1] World Health Organization. Sensitivity testing of Neisseria gonorrhoeae: methodologies for use by participants in the WHO Western Pacific Regional Resistance Surveillance Programme[P]. In: WHO/WPR Regional Antimicrobial Surveillance Working Group Meeting Proceedings, 1992: 33-34.

[2] 袁柳凤,尹跃平,戴秀芹,等.南京地区淋球菌分离株对阿奇霉素的敏感性研究[J].中国麻风皮肤病杂志,2010,26(2):110-111.

[3] 曹文苓,黎小东,李平,等.2005 年广州地区淋球菌对 6 种抗生素耐药性结果分析[J].热带医学杂志,2006,6(8):952-953.

[4] 曹文苓,黎小东,毕超,等.广州地区 74 株淋球菌耐药性结果分析[J].中国微生态学杂志,2009,21(6):553-554.

[5] 曹文苓,费实,李平,等.1999 年广州地区所见淋球菌对抗生素耐药性结果分析[J].中国皮肤性病学杂志,2001,15(2):103-104.

[6] 戴秀芹,孙厚华,尹跃平,等.2007 年南京地区淋球菌分离株对抗生素的敏感性测定[J].中国艾滋病性病,2009,15(2):183-184.

[7] 唐桂林,覃善列,李伟,等.694 株淋病奈瑟菌对环丙沙星、头孢曲松耐药性测定[J].广西医学,2008,30(11):1742-1743.

[8] 潘坤,魏磊,胡素娟.济宁地区淋球菌临床分离株对抗生素的耐药性检测[J].中国病原生物学杂志,2008,3(11):附页 3.

[9] 张铁军,周晓明,张颖华,等.上海地区淋球菌临床分离株对不同抗生素的敏感性分析[J].中国皮肤性病学杂志,2008,22(4):226-228.

[10] 苏晓红,张传福,张津萍,等.大观霉素治疗淋病失败 3 例原因分析[J].中华皮肤科杂志,2003,36(5):285-286.


(收稿日期:2011-08-02)