

• 调查报告 •

革兰阳性球菌和鲍氏不动杆菌对替加环素及常用抗菌药的耐药状况分析

陈高莉, 辛力华, 杨 玲

(成都中医药大学附属医院/四川省中医院检验科, 四川成都 610072)

摘要:目的 了解革兰阳性球菌和鲍氏不动杆菌对替加环素及常用抗菌药的耐药状况。方法 收集 445 株革兰阳性球菌及 83 株鲍氏不动杆菌, 采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统对革兰阳性球菌和鲍氏不动杆菌进行鉴定, 采用微量肉汤稀释法微生物敏感性试验(MIC 法)及纸片扩散抗菌试验(K-B)法检测二者对替加环素及常用抗菌药的敏感性。结果 445 例革兰阳性球菌中发现金黄色葡萄球菌 155 例(34.8%), 屎肠球菌 78 例(17.5%), 溶血葡萄球菌 56 例(12.6%), 表皮葡萄球菌 45 例(10.1%), 粪肠球菌 43 例(9.7%), 人葡萄球菌 18 例(4.1%), 沃氏葡萄球菌 16 例(3.6%), 鸟肠球菌 8 例(1.8%)及其他菌株 26 例(5.8%)。葡萄球菌对青霉素的耐药率达 92.4%; 对红霉素、克林霉素、苯唑西林、环丙沙星的耐药率超过 50%。肠球菌对多种药物存在天然耐药, 但对利奈唑胺、替加环素敏感。MIC 法检测多重耐药及泛耐药鲍氏不动杆菌对替加环素的敏感率、中介率、耐药率分别为 57.1% (47/83)、42.9% (36/83) 及 0.0% (0/83), K-B 法检测分别为 2.4% (2/83)、40.5% (34/83)、57.1% (47/83)。结论 替加环素对革兰阳性球菌及鲍氏不动杆菌有较好的抗菌活性。

关键词:革兰阳性球菌; 鲍氏不动杆菌; 抗菌药; 抗药性; 细菌; 替加环素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.09.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)09-1143-03

Analysis on tigecycline and commonly used anti-bacterial agents resistance in Gram-positive cocci and *Acinetobacter baumannii*

Chen Gaoli, Xin Lihua, Yang Ling

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine / Sichuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: **Objective** To understand tigecycline and commonly used anti-bacterial agents resistance in Gram-positive cocci and *Acinetobacter baumannii*. **Methods** 445 strains of Gram-positive cocci and 83 strains of *Acinetobacter baumannii* were collected. VITEK 2 Compact automated bacterial identification and susceptibility analysis system was employed to identify Gram-positive cocci and *Acinetobacter baumannii* and their bacterial sensitivities toward tigecycline and commonly used anti-bacterial agents were detected by broth microdilution method for antimicrobial susceptibility testing(MIC assay) and Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test(K-B), respectively. **Results** 155(34.8%) strains of *Staphylococcus aureus*, 78(17.5%) *Enterococcus feces*, 56(12.6%) *Staphylococcus haemolyticus*, 45(10.1%) *Staphylococcus epidermidis*, 43(9.7%) *Enterococcus faecalis*, 18(4.1%) human *Staphylococcus*, 16(3.6%) *Wolfowitz Staphylococcus*, 8(1.8%) birds *Enterococci* and 26(5.8%) other strains were found in 445 cases of Gram-positive cocci. The rate of penicillin-resistant *Staphylococci* was 92.4% and the rates of *Staphylococci's* resistance to erythromycin, clindamycin, oxacillin and ciprofloxacin were all over 50%. *Enterococci*, which was sensitive to linezolid and tigecycline, was resistant naturally to many drugs. The tigecycline sensitive rate, intermediate rate and resistance rate acquired by MIC assay for multi-drug resistant and pan-resistant *Acinetobacter baumannii* were 57.1% (47/83), 42.9% (36/83) and 0.0% (0/83), respectively, while those by K-B methods were 2.4% (2/83), 40.5% (34/83) and 57.1% (47/83), respectively. **Conclusion** Tigecycline shows good antibacterial activity toward Gram-positive cocci and *Acinetobacter baumannii*.

Key words: Gram-positive cocci; *Acinetobacter baumannii*; anti-bacterial agents; drug resistance, bacterial; tigecycline

近年随着抗菌药的广泛使用, 细菌耐药性已成为人们的关注焦点。临床分离的革兰阳性球菌中以葡萄球菌属和肠球菌属居多, 是临床常见的致病菌和条件致病菌; 葡萄球菌属中以金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌居多, 肠球菌属中以屎肠球菌、粪肠球菌居多。鲍氏不动杆菌也为临床常见的条件致病菌, 2008 年 CHINET 细菌耐药性监测报告显示泛耐药的不动杆菌占 9.38% (340/3 625)^[1]。多黏菌素和替加环素是对不动杆菌敏感性较好的抗菌药, 前者是一种较古老的抗菌药, 不良反应较大; 而后者是一类新型甘氨酸环类抗菌药, 是米诺环素的衍生物。2005 年美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准将替加环素用于治疗复杂性皮肤软组织感染和复杂性腹腔感染。替加环素对几乎所有革兰阳性和阴性菌有很好的抗菌活性, 被广泛应用于临床^[2]。本

研究收集本院 2012 年 7 月至 2013 年 7 月 445 株革兰阳性球菌和 83 株多重耐药或泛耐药鲍氏不动杆菌, 分别采用微量肉汤稀释法微生物敏感性试验及纸片扩散抗菌试验(Kirby-Bauer, K-B)检测其对替加环素的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集本院 2012 年 7 月至 2013 年 7 月临床分离的 445 株革兰阳性球菌, 标本主要来自痰液、分泌物、尿液及血液等。临床分离的 582 株鲍氏不动杆菌, 主要来自痰液。微生物敏感性试验的质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922(法国 Biomerieux 公司)。

1.2 主要试剂与仪器 主要试剂: VITEK 2 Compact AST-GP67、AST-GN14 及 AST-GN16 药敏卡, Mueller-Hinton 琼脂

平板均购自法国 Biomerieux 公司;替加环素纸片为英国 Oxoid 公司产品。主要仪器为 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统(法国 Biomerieux 公司)。

1.3 细菌鉴定 采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统进行革兰阳性球菌和鲍氏不动杆菌的鉴定。

1.4 微量肉汤稀释法微生物敏感性试验(MIC 法)^[3] 严格按美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的微量肉汤稀释法检测抗菌药对收集菌株的 MIC。采用 AST-GP67 药敏卡检测 16 种抗菌药对革兰阳性球菌中葡萄球菌属和 15 种抗菌药对肠球菌属的 MIC,采用 AST-GN14 药敏卡检测 15 种抗菌药对鲍氏不动杆菌的 MIC。采用 AST-GN16 药敏卡检测替加环素对 83 株多重耐药或泛耐药鲍氏不动杆菌的 MIC。参照 FDA 标准,敏感:MIC≤2 μg/mL,中介:MIC 为 4 μg/mL,耐药:MIC≥8 μg/mL。

1.5 K-B 法检测 采用 K-B 法检测上述 83 株多重耐药及泛耐药鲍氏不动杆菌对替加环素的敏感性。参照 FDA 标准,敏感:MIC≥16 mm,耐药:MIC≤12 mm。

2 结 果

445 例革兰阳性球菌中发现金黄色葡萄球菌 155 例(34.8%),尿肠球菌 78 例(17.5%),溶血葡萄球菌 56 例(12.6%),表皮葡萄球菌 45 例(10.1%),粪肠球菌 43 例(9.7%),人葡萄球菌 18 例(4.1%),沃氏葡萄球菌 16 例(3.6%),鸟肠球菌 8 例(1.8%)及其他菌株 26 例(5.8%)。葡萄球菌对青霉素呈高度耐药性,耐药率达 92.4%;对红霉素、克林霉素、苯唑西林、环丙沙星的耐药率超过 50%。对喹奴普汀/达福普汀、万古霉素、利奈唑胺、呋喃妥因、替加环素有良好的敏感性,见表 1。肠球菌对多种药物存在天然耐药,但对利奈唑胺、替加环素敏感,见表 2。

MIC 法检测显示,445 株革兰阳性球菌中有 343 株(77.1%)对替加环素的 MIC≤0.12 μg/mL,76 株(17.1%)的 MIC 为 0.25 μg/mL,25 株(5.6%)的 MIC 为 0.5 μg/mL,1 株(0.2%)耐药。革兰阳性球菌对替加环素有良好的抗菌活性。

表 1 葡萄球菌属对抗菌药的耐药状况分析(n=314)			
抗菌药物	敏感(n)	中介(n)	耐药[n(%)]
青霉素	23	1	290(92.4)
红霉素	107	3	204(65.0)
克林霉素	135	4	175(55.7)
苯唑西林	137	2	175(55.7)
环丙沙星	126	14	174(55.4)
庆大霉素	159	6	139(44.3)
四环素	197	3	114(36.3)
左氧氟沙星	134	73	107(34.1)
复方磺胺甲基异噁唑	222	0	92(29.3)
利福平	248	0	66(21.0)
莫西沙星	207	67	30(9.6)
喹奴普汀/达福普汀	310	1	3(0.9)
万古霉素	314	0	0(0.0)
利奈唑胺	313	0	1(0.3)
呋喃妥因	310	3	1(0.3)
替加环素	313	0	1(0.3)

表 2 肠球菌属对抗菌药的耐药状况分析(n=131)			
抗菌药物	敏感(n)	中介(n)	耐药[n(%)]
克林霉素	5	0	126(96.2)
红霉素	14	8	109(83.2)
莫西沙星	36	0	95(72.5)
环丙沙星	35	1	95(72.5)
青霉素	38	0	93(71.0)
左氧氟沙星	35	3	93(71.0)
四环素	38	3	90(68.7)
氨苄西林	43	0	88(67.2)
高浓度庆大霉素	46	0	85(64.9)
高浓度链霉素	55	0	76(58.0)
呋喃妥因	57	20	54(41.2)
奎奴普汀/达福普汀	81	3	47(35.9)
万古霉素	88	0	43(32.8)
利奈唑胺	122	3	6(4.6)
替加环素	131	0	0(0.0)

多重耐药或泛耐药鲍氏不动杆菌对氨苄西林,第 1、2 代头孢菌素,第 1 代喹诺酮类抗菌药天然耐药,见表 3;而非多重耐药或泛耐药鲍氏不动杆菌中对复方磺胺甲基异噁唑、氟喹诺酮类敏感。

表 3 鲍氏不动杆菌抗菌药物的耐药状况分析(n=582)			
抗菌药物	敏感(n)	中介(n)	耐药[n(%)]
氨苄西林	1	0	581(99.8)
阿莫西林	1	0	581(99.8)
呋喃妥因	1	1	580(99.6)
头孢唑林	2	1	579(99.5)
氨基南	11	98	473(81.3)
环丙沙星	151	3	428(73.5)
四环素	152	3	427(73.4)
哌拉西林	133	40	409(70.3)
头孢他啶	142	35	405(69.6)
庆大霉素	168	12	402(69.1)
头孢曲松	31	151	400(68.7)
亚胺培南	188	17	377(64.8)
复方磺胺甲基异噁唑	217	0	365(62.7)
头孢吡肟	153	78	351(60.3)
左氧氟沙星	154	85	343(58.9)

MIC 法检测多重耐药及泛耐药鲍氏不动杆菌对替加环素的敏感率、中介率、耐药率分别为 57.1% (47/83)、42.9% (36/83)及 0.0% (0/83),K-B 法分别为 2.4% (2/83)、40.5% (34/83)、57.1% (47/83)。MIC 法检测的鲍氏不动杆菌对替加环素的敏感性高于 K-B 法。

3 讨 论

多重耐药或泛耐药鲍氏不动杆菌对替加环素均有很高的抗菌活性,葡萄球菌对喹奴普汀/达福普汀、万古霉素、利奈唑胺、呋喃妥因、替加环素有良好的敏感性,对青霉素、红霉素、克林霉素、苯唑西林、环丙沙星的耐药性强,这与抗菌药的滥用和耐药株的传播有关。随着抗菌药的滥用,其耐药率日益增高。多重耐药及泛耐药鲍氏不动杆菌的出现给临床的感染控制增加了困难。本研究显示多重耐药及泛耐药鲍氏不动杆菌对几乎所有抗菌药耐药。耐药株的出现导致了鲍(下转第 1163 页)

- diode-based fluorescence microscopy for the detection of mycobacteria in a tuberculosis-endemic region[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2011, 15(4): 483-488.
- [6] 田斌,刘庆华,张才,等. 发光二极管荧光显微镜在基层实验室诊断结核分枝杆菌的应用评价[J]. 实用预防医学, 2012, 19(10): 1448-1451.
- [7] 杨江华,王文杰,何自芳,等. 免疫磁珠捕获法分离抗酸杆菌的实验研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2011, 6(3): 168-169, 156.
- [8] Rodrigues C, Jani J, Shenai S, et al. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* against second-line drugs using the Bactec MGIT 960 System[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2008, 12(12): 1449-1455.
- [9] Yin X, Zheng L, Lin L, et al. Commercial MPT64-based tests for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a meta-analysis[J]. J Infect, 2013, 67(5): 369-377.
- [10] Martin A, Paasch F, Von Groll A, et al. Thin-layer agar for detection of resistance to rifampicin, ofloxacin and kanamycin in *Mycobacterium tuberculosis* isolates[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2009, 13(10): 1301-1304.
- [11] Ling DI, Flores LL, Riley LW, et al. Commercial nucleic-acid amplification tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis in respiratory specimens: meta-analysis and meta-regression[J]. PLoS One, 2008, 3(2): e1536.
- [12] 陈茹,毕英佐,刘志玲,等. 建立液相芯片方法检测鉴别结核分枝杆菌复合群、鸟分枝杆菌与副结核分枝杆菌[J]. 微生物学通报, 2011, 38(6): 908-915.
- [13] Bergval I, Sengstake S, Brankova N, et al. Combined species identification, genotyping, and drug resistance detection of *Mycobacterium tuberculosis* cultures by MLPA on a bead-based array[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43240.
- [14] Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance[J]. N Engl J Med, 2010, 363(11): 1005-1015.
- [15] Vadwai V, Boehme C, Nabeta P, et al. Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(7): 2540-2545.
- [16] Theron G, Peter J, van Zyl-Smit R, et al. Evaluation of the xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184(1): 132-140.
- [17] Nicol MP, Workman L, Isaacs W, et al. Accuracy of the xpert MTB/RIF test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children admitted to hospital in Cape Town, South Africa: a descriptive study[J]. Lancet Infect Dis, 2011, 11(11): 819-824.
- [18] Cui Z, Wang Y, Fang L, et al. Novel real-time simultaneous amplification and testing method to accurately and rapidly detect *Mycobacterium tuberculosis* complex[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(3): 646-650.
- [19] 崔振玲,沙巍,黄晓辰,等. RNA 恒温扩增技术快速检测痰标本中结核分枝杆菌的研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(12): 894-897.
- [20] Flores LL, Steingart KR, Dendukuri N, et al. Systematic review and meta-analysis of antigen detection tests for the diagnosis of tuberculosis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2011, 18(10): 1616-1627.
- [21] Sada E, Aguilar D, Torres M, et al. Detection of lipoarabinomannan as a diagnostic test for tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 1992, 30(9): 2415-2418.
- [22] Wallis RS, Pai M, Menzies D, et al. Biomarkers and diagnostics for tuberculosis: progress, needs, and translation into practice[J]. Lancet, 2010, 375(9729): 1920-1937.
- [23] Pereira Arias-Bouda LM, Nguyen LN, Ho LM, et al. Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(6): 2278-2283.
- [24] Lawn SD, Kerkhoff AD, Vogt M, et al. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study[J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(3): 201-209.
- [25] 竺澎波,陈虹,高鸣. 结核蛋白芯片在肺结核诊断中的应用价值[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(15): 2593-2595.
- [26] Harboe M, Oettinger T, Wiker HG, et al. Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in *Mycobacterium tuberculosis* and virulent *Mycobacterium bovis* and for its absence in *Mycobacterium bovis* BCG[J]. Infect Immun, 1996, 64(1): 16-22.
- [27] Zhang S, Shao L, Mo L, et al. Evaluation of gamma interferon release assays using *Mycobacterium tuberculosis* antigens for diagnosis of latent and active tuberculosis in *Mycobacterium bovis* BCG-vaccinated populations[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(12): 1985-1990.
- [28] Brodie D, Lederer DJ, Gallardo JS, et al. Use of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection in foreign-born patients[J]. Chest, 2008, 133(4): 869-874.
- [29] Liandris E, Gazouli M, Andreadou M, et al. Detection of pathogenic mycobacteria based on functionalized quantum dots coupled with immunomagnetic separation[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e20026.

(收稿日期: 2013-12-08)

(上接第 1144 页)

氏不动杆菌菌血症治疗困难,患者病死率上升^[4]。

目前,采用 K-B 法检测不动杆菌属对替加环素的敏感性不是最佳选择,也无批准折点,本研究参照美国 FDA 的判断标准。K-B 法检测 87 株鲍氏不动杆菌对替加环素的敏感性显示:敏感率为 2.4%,中介率为 40.5%,耐药率为 57.1%。MIC 法与 K-B 法比较,检测结果完全相反, MIC 法的敏感率为 57.1%,而 K-B 法的耐药率为 2.4%。考虑该结果与检测方法、药物自身特性、培养基、菌种(不动杆菌、黏质沙雷菌、肺炎链球菌、化脓性链球菌等易受外界因素影响)、折点判定、结果判读等有关。总之,以 MIC 法的参考结果较 K-B 法具有较好的准确性。

参考文献

- [1] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测

[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321-329.

- [2] 孙谦,周宏伟,胡燕燕,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌对替加环素耐药状况分析[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(4): 358-362.
- [3] 王辉,倪语星,陈民钧,等. 新型甘氨酸环素类抗菌药物替加环素的体外药敏试验操作规程[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(11): 1208-1213.
- [4] Cisneros JM, Reyes MJ, Pachón J, et al. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features[J]. Clin Infect Dis, 1996, 22(6): 1026-1032.

(收稿日期: 2014-02-23)