

• 调查报告 •

78 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药分析

曹 敏

(浙江大学医学院附属第二医院滨江院区检验科,浙江杭州 310052)

摘要:目的 对临床分离的 78 株医院感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的耐药特征进行分析,指导临床合理使用抗菌药物。**方法** 收集医院 2013 年 9 月~2014 年 3 月分离的 78 株 MRSA, MIC 法检测其药敏结果,PCR 检测其耐药基因。**结果** 78 株 MRSA 红霉素耐药率大于 90%,四环素和克林霉素耐药率接近 90%,喹诺酮类耐药率大于 70%,氨基糖苷类耐药率大于 50%,复方新诺明、呋喃妥因、利福平等耐药率较低,未出现替加环素、喹奴普丁/达福普汀、万古霉素、利奈唑胺等耐药株;77 株 MRSA 的 meca 基因检测阳性。**结论** 该院分离的 MRSA 耐药率与报道大致相同,但不同科室之间有差别,临床应根据药敏结果选药,防止 MRSA 耐药加重。

关键词:医院感染; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 耐药基因; 耐药率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)24-3388-02

Analysis on drug resistance in 78 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Cao Min

(Department of Clinical Laboratory, Binjiang Branch Hospital, Second Affiliated Hospital of School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310052, China)

Abstract: Objective To analyze the drug resistance characteristics of 78 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) for guiding rational use of antibiotics in clinic. **Methods** 78 strains of MRSA were collected in our hospital from September 2013 to March 2014; their antimicrobial susceptibility test and the drug resistant gene were detected by the MIC method and PCR respectively. **Results** The resistance of MRSA to erythromycin was more than 90%, which to tetracycline and clindamycin was close to 90%, which to quinolones was more than 70%, which to aminoglycosides was more than 50%, which to trimethoprim and sulphamethoxazole, nitrofurantoin and rifampicin was lower; no strains were resistant to tigecycline, quinupristin/dalfopristin, vancomycin, linezolid; 77 strains of MRSA were positive for meca gene. **Conclusion** The drug resistance rate of isolated MRSA in our hospital is roughly the same with that reported, but which still has difference among different departments; clinic should select drugs according to the drug susceptibility test results for preventing aggravation of MRSA drug resistance.

Key words: nosocomial infection; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; drug resistance gene; drug resistance rate

自 1961 年英国首次发现了耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)之后^[1],MRSA 已经成为世界范围内引起医院内感染的重要病原菌。MRSA 不仅对 β 内酰胺类抗菌药物耐药,而且对氨基糖苷类、大环内酯类、喹诺酮类、四环素类抗菌药物都有不同程度的耐药。MRSA 对苯唑西林的耐药主要是由于其产生一种与 β 内酰胺类抗菌药物亲和力极低的青霉素结合蛋白 2 a(PBP2a)^[2],此蛋白由 meca 基因编码,该基因是位于一个独特的,称为葡萄球菌染色体 meca 基因盒上。现对本院分离的 78 株 MRSA 的耐药和临床特征进行分析,报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 分离自我院 2013 年 9 月至 2014 年 3 月经临床诊断的医院获得性感染患者的各类临床样本,剔除同一患者同一部位重复分离株,样本接种按操作规程进行^[3]。

1.2 鉴定与药敏 采用 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定与药敏仪对临床分离菌株进行鉴定和药敏试验,药敏标准已按最新美国临床实验室标准化协会(CLSI)文件更新,鉴定质控菌株为 ATCC700323(霍氏肠杆菌)和 ATCC700327(铅黄肠球菌),药敏质控菌株为 ATCC25923(MSSA)和 ATCC43300(MRSA)。

1.3 meca 基因检测 DNA 扩增引物及模板提取参照文献[4]。联合酶链式反应(PCR)体系 总体积为 50 μ L,其中引物各 1 μ L;10 \times PCR 缓冲液 5 μ L;25 mmol/L MgCl₂ 3 μ L;10

mmol/L 的 dNTP 1 μ L;Taq 酶 1 μ L。PCR 反应条件:94 °C 5 min,94 °C 45 s,50 °C 45 s,72 °C 60 s,30 个循环;72 °C 5 min。扩增产物经含 0.5 μ g/mL 溴化乙锭的 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳 20 min,以 533 bp 处出现荧光区带为 meca 基因阳性。PCR 仪:GeneAmp PCR System9600,美国 ABI 公司;电泳仪:PhastSystem,美国 BD 公司。

1.4 统计学处理 经 SPSS13.0 统计软件处理,计数资料采用 n 或率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 分离的 78 株 MRSA 标本来源分布,其中医院获得性肺炎 18 例,复杂性软组织感染 36 例,血流感染 3 例,术后伤口感染 4 例,尿路感染 6 例,其他医院获得性感染 11 例;78 株 MRSA 中 meca 基因检测阳性 77 株,其中 1 株 meca 基因阴性菌分离自粪便。

2.2 78 株 MRSA 对 14 种抗菌药物耐药性见表 1。

表 1 78 株 MRSA 对 14 种抗菌药物耐药率和敏感率

| 抗菌药物 | 敏感(n) | 中介(n) | 耐药(n) | 耐药率(%) |
|------|-----------|-----------|-----------|--------|
| 红霉素 | 6 | 0 | 72 | 92.3 |
| 四环素 | 12 | 0 | 66 | 84.6 |
| 克林霉素 | 8 | 0 | 70 | 89.7 |

续表 1 78 株 MRSA 对 14 种抗菌药物耐药率和敏感率

| 抗菌药物 | 敏感(n) | 中介(n) | 耐药(n) | 耐药率(%) |
|-----------|-------|-------|-------|--------|
| 复方新诺明 | 74 | 0 | 4 | 5.1 |
| 庆大霉素 | 30 | 8 | 40 | 51.3 |
| 左氧氟沙星 | 18 | 4 | 56 | 71.8 |
| 环丙沙星 | 18 | 4 | 56 | 71.8 |
| 莫西沙星 | 10 | 18 | 50 | 64.1 |
| 呋喃妥因 | 70 | 2 | 6 | 7.7 |
| 替加环素 | 78 | 0 | 0 | 0 |
| 喹奴普丁/达福普汀 | 78 | 0 | 0 | 0 |
| 万古霉素 | 78 | 0 | 0 | 0 |
| 利奈唑胺 | 78 | 0 | 0 | 0 |
| 利福平 | 66 | 6 | 6 | 7.7 |

2.3 78 株 MRSA 主要来自康复科和整形科、内分泌科、皮肤科和 ICU、呼吸科等次之；比较康复科、整形科和 ICU 对常见药物耐药率，结果见表 2~4。

表 2 康复科和 ICU 对常见药物耐药率比较(%)

| 科室 | 红霉素 | 四环素 | 克林霉素 | 复方新诺明 | 环丙沙星 | 庆大霉素 | 利福平 |
|----------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|
| 康复科 | 91.1 | 81.3 | 89.6 | 5.6 | 63.8 | 35.1 | 5.6 |
| ICU | 93.7 | 91.6 | 90.4 | 10.3 | 78.2 | 69.3 | 20.6 |
| χ^2 | 3.537 | 3.903 | 2.723 | 10.732 | 5.296 | 13.441 | 20.227 |
| P | >0.05 | <0.05 | >0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

界值 $\chi^2_{0.05} = 3.847$ 。

表 3 整形科和 ICU 对常见药物耐药率比较(%)

| 科室 | 红霉素 | 四环素 | 克林霉素 | 复方新诺明 | 环丙沙星 | 庆大霉素 | 利福平 |
|----------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|
| 整形科 | 91.2 | 82.6 | 88.5 | 5.6 | 58.4 | 32.7 | 5.6 |
| ICU | 93.7 | 91.6 | 90.4 | 10.3 | 78.2 | 69.3 | 20.6 |
| χ^2 | 3.534 | 3.894 | 2.733 | 10.732 | 5.276 | 13.522 | 20.227 |
| P | >0.05 | <0.05 | >0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

表 4 康复科和整形科对常见药物耐药率比较(%)

| 科室 | 红霉素 | 四环素 | 克林霉素 | 复方新诺明 | 环丙沙星 | 庆大霉素 | 利福平 |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 康复科 | 91.1 | 81.3 | 89.6 | 5.6 | 63.8 | 35.1 | 5.6 |
| 整形科 | 91.2 | 82.6 | 88.5 | 5.6 | 58.4 | 32.7 | 5.6 |
| χ^2 | 1.548 | 2.924 | 2.225 | 0.000 | 3.684 | 3.382 | 0.000 |
| P | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |

3 讨 论

本资料统计了近半年医院获得性感染的 78 株 MRSA，表 1 结果显示红霉素耐药率大于 90%，四环素和克林霉素耐药率接近 90%，喹诺酮类耐药率大于 70%，氨基糖苷类耐药率大于 50%，复方新诺明、呋喃妥因、利福平等耐药率较低，未出现替加环素、喹奴普丁/达福普汀、万古霉素、利奈唑胺等耐药株，与文献[5~7]报道较接近。78 株 MRSA 标本来源分布以分泌物为主，痰液次之，与文献[8~10]报道的主要来源于痰液、分泌物等有些不同。其中康复科分离率最高，整形科次之；经调查发现从康复科患者所使用的康复器械把手上分离出 MRSA，认为康复科分离的医院感染 MRSA 主要来自康复器械，具体有待进一步做同源性分析确证。整形科患者由于创面较大，多有

营养不良，成为其医院感染的主要原因^[8~10]。ICU 患者多有各种插管，外来器械成为其医院感染原因。表 2 和表 3 结果显示分离自 ICU 的菌株耐药较康复科、整形科等普通临床科室分离株耐药严重。表 4 结果显示康复科和整形科对常用药物耐药率差异无统计学意义($P > 0.05$)。药敏检测结果可以为临床合理使用抗菌药物治疗由 MRSA 引起的医院感染提供参考依据，也为医院感染 MRSA 耐药性监测提供数据资料。

78 株 MRSA 中 *mecA* 基因检测阳性 77 株，提示本院临床分离的金葡菌对苯唑西林的耐药主要由 *mecA* 基因介导。检测发现 1 株分离自粪便标本的 MRSAmecA 基因检测结果为阴性，此株菌对 β 内酰胺类抗菌药物以外仅表现红霉素和克林霉素耐药，推测其耐药机制为产生 MSL 灭活酶或 rRNA 甲基化和突变导致的低度耐药^[11]，具体耐药机制还有待进一步分析。大部分 MRSA 是由 *mecA* 基因介导，但是小部分 MRSA 不携带 *mecA* 基因，存在其他耐药机制，如青霉素结合蛋白的改变或高产 β 内酰胺等。

MRSA 常寄居在患者及健康人的鼻腔，携带者容易成为医院内感染的传染源^[11]；MRSA 也常存在于环境中和医疗器械上，使各种侵袭性操作成为 MRSA 感染的危险因素^[12]；ICU 病房住院、免疫缺陷、服用免疫抑制剂和营养不良等抵抗力低下的患者为易感人群^[12]。总之，医院应该制定政策，积极治疗并隔离 MRSA 感染者及携带者，严格执行消毒隔离及无菌操作技术，切断传播途径，加强抗菌药物合理使用及管理，不断提高 MRSA 感染的防治水平。

参考文献

- [1] 马越, 陈鸿波, 姚蕾, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对万古霉素敏感性的变迁[J]. 中华内科杂志, 2002, 41(1): 31~33.
- [2] 杨清宇, 刘荣森. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(4): 478~480.
- [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 东南大学出版社, 2006.
- [4] Bollet C, Gevaudan MJ, De Lamballerie X, et al. A simple method for the isolation of chromosomal DNA from gram positive or acid-fast bacteria[J]. Nucleic acids research, 1991, 19(18): 1955.
- [5] 利嘉琦, 张莉滟, 邹伟民, 等. 金黄色葡萄球菌临床感染与耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 33(23): 2879~2880.
- [6] 樊剑锋, 杨永弘, 佟月娟, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性的研究[J]. 中华儿科杂志, 2000, 38(7): 439~441.
- [7] 王蕾, 李武平, 刘冰, 等. 62 株临床分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 SCCmec 基因分型及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 1673~1670.
- [8] 王蕾, 李武平, 刘冰, 等. 62 株临床分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 SCCmec 基因分型及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 769~770.
- [9] 蒋海燕, 邱粉琴, 唐国建. 123 株金黄色葡萄球菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(17): 2036~2037.
- [10] 刘德华, 胡大春, 马婷. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 6 年发生率及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 32(1): 67~69.
- [11] 中华医学会. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染防治专家共识[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2010, 26(2): 234~236.
- [12] 吴琳琳, 张璐. 烧伤监护病房耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染调查[J]. 西南军医, 2009, 28(2): 194~195.