

• 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、喹奴普汀/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 meticillin-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 meticillin-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 sulphame-thoxazole, 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; meticillin-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 mec 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 μL, 其中引物各 1 μL; 10×PCR 缓冲液 5 μL; 25 mmol/L MgCl₂ 3 μL; 10

mmol/L 的 dNTP 1 μL; Taq 酶 1 μL。PCR 反应条件: 94 ℃ 5 min, 94 ℃ 45 s, 50 ℃ 45 s, 72 ℃ 60 s, 30 个循环; 72 ℃ 5 min。扩增产物经含 0.5 μg/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 χ² 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(<i>n</i>)	中介(<i>n</i>)	耐药(<i>n</i>)	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
<i>P</i>	>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
<i>P</i>	>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
<i>P</i>	>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 MRSA*mecA* 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,1991,8(19):1955.

[5] 利嘉琦,张莉滢,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 SCC*mec* 基因分型及耐药性分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(7):1673-4130.

[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 SCC*mec* 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,祁粉琴,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,2010,26(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.