

• 论 著 •

1 001 株尿培养病原菌分布及耐药性分析

黄露萍¹, 刘俊慧²

(1. 湖南省第二人民医院, 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学, 长沙 410007)

摘要: 目的 了解湖南省第二人民医院临床分离的尿培养病原菌的分布与耐药情况, 为临床治疗用药提供参考。方法 收集 2013 年 1 月 10 日至 2015 年 9 月 7 日尿培养阳性标本 1 001 株病原菌, 用法国生物梅里埃公司的 Vitek2 compact 细菌鉴定及药敏仪进行菌种鉴定和药敏试验。结果 分离的 1 001 株病原菌中革兰阴性菌 771 株, 占 77.0%, 排名前 3 位的分别是大肠埃希菌(45.7%)、肺炎克雷伯菌(9.1%)、奇异变形杆菌(3.3%); 革兰阳性菌 164 株, 占 16.4%, 排名前 3 位的分别是屎肠球菌、粪肠球菌和表皮葡萄球菌; 真菌 66 株, 占 6.6%。大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌产超广谱 β -内酰胺酶的检出率分别为 49.2% 和 35.2%。结论 泌尿系感染的病原菌中, 致病菌以革兰阴性菌为主, 对常用抗菌药物耐药率呈上升趋势, 规范合理使用抗菌药物对治疗尿路感染具有重要意义。

关键词: 尿培养; 病原菌; 耐药性; 抗菌药物**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.006**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2016)11-1465-03**Analysis of the distribution and antibiotic resistance of 1 001 pathogens cultured from urine**HUANG Luping¹, LIU Junhui²

(1. The Second People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

Abstract: Objective To investigate the distribution and antibiotic resistance of pathogens cultured in urine from Jan. 10 2013 to Sept. 7, 2015, and to provide the reference for the use of antibiotics in clinic. **Methods** Using Vitek2 compact and drug sensitivity analyzer produced by BioMerieux company, the identification and drug sensitivity of 1 001 strains of pathogens cultured in urine from Jan. 10, 2013 to Sept. 7, 2015 were analyzed. **Results** Among 1 001 strains of pathogens, 771 strains (77.0%) were gram negative bacteria, and the predominant pathogenic strains were Escherichia coli (45.7%), Klebsiella pneumoniae subspecies (9.1%) and Proteus mirabilis (3.3%). Among all the strains, 164 (16.4%) were gram positive bacteria, the predominant pathogenic strains were Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis and Staphylococcus epidermidis. And 66 strains (6.6%) were fungus. Positive rate of Escherichia coli and Klebsiella pneumonia which produced extended-spectrum β -lactamase were 49.2% and 35.2% respectively. **Conclusion** Gram negative bacteria are the major pathogen in urine culture. And the antibiotic resistance is on the rise. There is great significance to use antibiotics reasonably in the treatment of urinary system infection.

Key words: urinary culture; pathogenic bacteria; bacteria resistance; antibiotics

尿路系统感染是仅次于呼吸道感染的常见感染, 随着抗菌药物的广泛使用及抗菌药物种类的增多, 以及在泌尿系统疾病治疗中, 由于不恰当过多过长时间留置导尿管及各种介入性诊断和治疗的增多, 使尿路感染的发病率明显增高, 且尿路感染病原菌的耐药性不断改变, 因此, 对尿路感染病原菌的分布及耐药检测很有必要。本研究通过对湖南省第二人民医院 2013 年 1 月 10 日至 2015 年 9 月 7 日尿培养标本中分离出的 1 001 株病原菌分布和耐药情况进行分析, 了解尿路感染病原菌的分布现状及抗菌药物的耐药情况, 为临床治疗用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 搜集某院 2013 年 1 月 10 日至 2015 年 9 月 7 日的住院及门诊患者的尿培养标本, 分离并鉴定病原菌共 1 001 株。

1.2 标本采集 多采取中段尿采集法, 即清洗外阴和尿道口, 留取中段尿 10~20 mL 于无菌容器中立即送检。对于少数排尿困难的患者采取导尿留取尿液标本。

1.3 材料 哥伦比亚血琼脂平板、麦康凯平板、10 μ L 定量接种环。

1.4 方法

1.4.1 病原菌分离培养 尿液标本采用 10 μ L 接种环接种于血平板和麦康凯平板, 置 35 $^{\circ}$ C 培养箱培养 18~24 h, 观察菌落形态、革兰染色及菌落计数。菌落计数革兰阴性菌大于 10^5 cfu/mL, 革兰阳性菌大于 10^4 cfu/mL, 应用 Vitek 2 compact 全自动微生物分析系统进行鉴定和药敏试验。判断标准: 按照美国临床和实验室标准化协会(2013 版)规定判定耐药、中介和敏感。

1.4.2 病原菌鉴定与药敏试验 Vitek 2 compact 全自动微生物分析系统及配套用细菌鉴定卡和药敏试验卡(法国生物梅里埃公司产品)。

1.4.3 质量控制 大肠埃希菌(ATCC 25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、肠球菌(ATCC 25912)。

1.5 统计学处理 采用世界卫生组织(WHO)细菌耐药性监测中心推行的 WHONET 5.6 软件进行细菌菌谱及耐药性分析。

2 结 果

2.1 尿培养分离菌结果分布 见表 1。尿培养标本中共分离出病原菌 1 001 株, 检出革兰阴性菌 771 株, 占 77.0%(771/

1 001),革兰阳性菌 164 株,占 16.4% (164/1 001),真菌 66 株,占 6.6% (66/1 001),以大肠埃希菌占尿培养分离株的 45.7%,位居第 1,其次为肠球菌属的细菌为 11.6%,肺炎克雷伯菌为 9.1%,奇异变形杆菌为 3.3%,铜绿假单胞菌为 2.9% 等。

2.2 革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药性 此次检出的革兰阴性菌主要包括大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、变形杆菌,其中分离得到的 457 株大肠埃希菌中,产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株 225 株,占 49.2%;91 株肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株 32 株,占 35.2%,其药敏试验结果见表 2。

2.3 革兰阳性菌对抗菌药物的耐药性 革兰阳性菌以肠球菌为主,包括粪肠球和屎肠球菌,其次是葡萄球菌属,其药敏试验结果见表 3。

表 1 尿路感染主要病原菌分布比例

病原菌		菌株数(n)	比例(%)
革兰阴性菌	大肠埃希菌	457	45.6
	肺炎克雷伯菌	91	9.1
	奇异变形杆菌	33	3.3
	铜绿假单胞菌	29	2.9
	其他革兰阴性菌	132	13.2
革兰阳性菌	粪肠球菌	60	6.0
	屎肠球菌	56	5.6
	凝固酶阴性葡萄球菌	31	3.1
	其他革兰阳性菌	46	4.6
真菌		66	6.6
合计		1 001	100.0

表 2 革兰阴性菌药敏试验结果(%)

抗菌药物	大肠埃希菌(n=457)			肺炎克雷伯菌(n=91)			奇异变形杆菌(n=33)		
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感
氨苄西林	82.0	1.3	16.7	84.0	12.8	3.2	53.1	0.0	46.9
氨苄西林/舒巴坦	44.8	28.7	26.5	30.2	15.1	54.7	30.0	6.7	63.3
哌拉西林/他唑巴坦	2.5	3.2	94.3	5.3	3.2	91.5	0.0	0.0	100.0
头孢唑啉	57.7	0.0	42.3	37.2	0.0	62.8	46.9	0.0	53.1
头孢他啶	21.6	1.4	77.0	16.0	3.2	80.8	9.4	3.1	87.5
头孢曲松	52.5	0.0	47.5	34.0	0.0	66.0	18.8	3.1	78.1
头孢哌酮	18.2	1.8	80.0	8.5	1.1	90.4	6.2	0.0	93.8
头孢替坦	2.0	0.3	97.7	3.5	1.2	95.3	3.7	0.0	96.3
厄他培南	0.5	0.0	99.5	1.1	0.0	98.9	0.0	3.6	96.4
亚胺培南	0.9	0.7	98.4	2.1	2.1	95.8	—	—	—
阿米卡星	2.3	0.0	97.7	0.0	0.0	100.0	3.1	0.0	96.9
庆大霉素	41.9	0.5	57.6	21.3	1.1	77.6	37.5	0.0	62.5
妥布霉素	12.4	27.3	60.3	5.3	18.1	76.6	15.6	18.8	65.6
环丙沙星	49.3	1.6	49.1	20.2	2.1	77.7	37.5	9.4	53.1
左氧氟沙星	45.6	3.8	50.6	16.0	2.1	81.9	6.2	21.9	71.9
复方磺胺甲噁唑	46.8	0.0	53.2	31.9	0.0	68.1	50.0	0.0	50.0
呋喃妥因	3.4	14.2	82.4	26.7	66.3	7.0	100.0	0.0	0.0

注:—表示无数据。

表 3 革兰阳性菌药敏试验结果(%)

抗菌药物	粪肠球菌(n=60)			屎肠球菌(n=56)			凝固酶阴性葡萄球菌(n=31)		
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感
青霉素 G	6.6	0.0	93.4	94.6	0.0	5.4	86.5	0.0	13.5
氨苄西林	1.6	0.0	98.4	94.6	0.0	5.4	—	—	—
高浓度庆大霉素	29.8	0.0	70.2	59.3	0.0	40.7	—	—	—
高浓度链霉素	7.1	0.0	92.9	11.1	0.0	88.9	—	—	—
环丙沙星	14.8	9.8	75.4	92.9	1.8	5.4	43.2	13.6	43.2
左氧氟沙星	14.8	4.9	80.3	91.1	3.5	5.4	47.4	7.9	44.7
红霉素	60.7	31.1	8.2	85.7	5.4	8.9	55.3	0.0	44.7
呋喃妥因	0.0	3.5	96.5	44.4	37.1	18.5	0.0	0.0	100.0
利奈唑胺	1.8	1.8	96.4	1.8	0.0	98.2	0.0	0.0	100.0
万古霉素	0.0	0.0	100.0	1.8	0.0	98.2	0.0	2.7	97.3
奎奴普丁/达福普汀	77.2	17.5	5.3	0.0	0.0	100.0	2.6	0.0	97.4

注:—表示无数据。

3 讨 论

收集统计湖南省第二人民医院 2013 年 1 月 10 日至 2015 年 9 月 7 日的尿培养病原菌共 1001 株, 从表 1 可以看出, 从尿液中分离出病原菌以革兰阴性杆菌为主, 占 77.0%, 其次为革兰阳性菌和真菌, 分别占 16.4% 和 6.6%。尿路感染的革兰阴性病原菌以大肠埃希菌为主, 占 45.6%, 其次为肺炎克雷伯菌和奇异变形杆菌, 革兰阳性菌以肠球菌属细菌为主, 占 11.6%, 其次为凝固酶阴性葡萄球菌, 真菌以白色念珠菌为主, 其次为光滑念珠菌和热带念珠菌, 此次统计结果与国内近期文献[1-2]报道基本一致。本研究结果证实, 尿路感染病原菌多数源于内源性肠道细菌感染, 肠道正常菌群在一般条件下保持着微生态平衡, 当某些原因引起宿主免疫力低下时, 引起尿液滞留, 降低膀胱防御细菌的能力, 正常菌群迁移到泌尿道, 进行繁殖生长而成为条件致病菌。因此导致尿路感染, 加之新型广谱抗菌药物在临床的大量使用, 导致多重耐药菌广泛产生, 也是目前尿路感染不易根治, 造成慢性迁延不愈的重要原因^[3]。尿标本真菌检出率为 6.6%, 分析原因是由于患者免疫力低下、长期大量应用广谱抗菌药物导致人体正常菌群失调, 另外与泌尿系统器械检查及插管、导尿等临床治疗操作也有关。

近年来, 随着抗菌药物在临幊上广泛运用, 造成的选择性压力使细菌耐药性和耐药率逐年上升^[4]。从表 2 可以看出, 本次监测大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率分别为 0.9% 和 2.1%, 与国内近期报道相近^[1-2,5]。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药率增高可能与美国临幊实验室标准化协会在 2010 年标准中更新了此类抗菌药物的折点有关, 也可能与上述细菌中产 ESBLs 有关^[6]。虽然碳青霉烯类抗菌药物仍然对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌保持较高抗菌活性, 但上述耐药菌株的出现, 使尿路感染的抗菌治疗面临严峻挑战。大肠埃希菌中 ESBLs 的检出率为 49.2%, 与谢强等^[7]报道某三甲医院 2013 年尿培养病原菌分布及耐药性分析的报道一致。虽然肺炎克雷伯菌中 ESBLs 的检出率比谢强等^[7]的报道要低, 但也达到了 35.2%, 所以临幊上应严格掌握和使用第 3 代头孢菌素, 以减轻抗菌药物的选择压力, 防止 ESBLs 菌株的产生和流行。大肠埃希菌对喹诺酮类抗菌药物的耐药性虽比近期国内数据低, 但也达 49.3%, 显示大肠埃希菌对喹诺酮类抗菌药物的耐药情况仍较为严重^[8-9]。这可能与临幊尿路感染长期习惯于选择氟喹诺酮类抗菌药物有关, 细菌细胞膜的通透性降低、药物主动外排泵功能增强、靶位改变、质粒上基因介导的共同作用, 诱导细菌对喹诺酮类抗菌药物产生耐药性^[10]。另外, 肠杆菌科细菌对某些含酶抑制剂的复方抗菌药物, 如哌拉西林/他唑巴坦保持了较高的抗菌活性, 对氨基糖苷类抗菌药物如阿米卡星和妥布霉素的敏感度也很高, 但庆大霉素耐药率也达 41.9%, 阿米卡星对肠杆菌科细菌耐药率较低, 可能与阿米卡星的耳毒性及肾毒性导致临床较少选择阿米卡星有关。

由表 3 可见, 尿肠球菌的检出率略低于粪肠球菌, 而它的耐药情况非常严重, 除红霉素、奎奴普丁/达福普汀外, 尿肠球菌对抗菌药物的耐药率显著高于粪肠球菌, 奎奴普丁/达福普汀对尿肠球菌的体外活性高, 但对粪肠球菌的抗菌活性较差。其原因是粪肠球菌对奎奴普丁/达福普汀固有耐药所致, 粪肠

球菌对青霉素、氨苄西林和呋喃妥因的敏感率可达 90.0% 以上, 由此说明除万古霉素外, 青霉素和氨苄西林仍可作为治疗粪肠球菌属感染的一线药物, 但尿肠球菌对喹诺酮类、氨苄西林、青霉素 G 的耐药率在 95.0% 左右, 因此治疗肠球菌属感染, 在针对其多药耐药性的同时, 还应根据肠球菌属耐药性存在种间差异的特点来选择相应的抗菌药物。高浓度链霉素对肠球菌属细菌的敏感率接近 90.0%, 临幊在治疗肠球菌感染时, 应注意根据细菌鉴定结果选择抗菌药物并尽量选择非糖肽类药物, 以减轻该药物的使用压力, 可使用氨苄西林、青霉素(敏感株)或万古霉素加高浓度庆大霉素或高浓度链霉素(敏感株)的抗菌药物进行联合治疗, 可对复杂泌尿系感染起到协同杀菌效果。值得注意的是, 本次统计中出现了尿肠球菌对万古霉素耐药菌株, 且粪肠球菌和尿肠球菌均有对利奈唑胺不敏感的菌株, 因此要引起高度重视。

总之, 由于抗菌药物长期大量使用, 导致细菌种类和耐药性不断发生变化。因此, 尿路感染患者应及时进行尿液细菌培养及药敏试验, 参照细菌耐药性监测结果, 遵循原卫生部颁布的抗菌药物临幊应用指导原则, 优选合理的抗菌药物治疗来提高尿路感染的治愈率, 降低其发病率, 减少耐药菌株产生。

参考文献

- [1] 朱德妹, 汪复, 胡付品, 等. 2010 年 CHINET 尿液标本中细菌的分布和耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(4): 241-250.
- [2] 殷琳, 喻华, 乔宁, 等. 四川省细菌耐药监测网 2011~2012 年尿路感染病原菌分布及耐药分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(22): 3019-3021.
- [3] 曹弟勇, 徐彬, 陈大斌. 尿路感染的病原菌分布特征及耐药性检测分析[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(8): 1262-1264.
- [4] Arias CA, Murray BE. Antibiotic-resistant bugs in the 21st Century-A Clinical Super-Challenge[J]. N Engl J Med, 2009, 360(5): 439-443.
- [5] 冯柏娥, 刁光伟, 吴优良, 等. 尿路感染 490 例病原菌分布及耐药分析[J]. 临床军医杂志, 2013, 41(9): 921-924.
- [6] 沈继录, 朱德妹, 吴卫红, 等. 革兰阴性杆菌碳青霉烯酶产生与细菌耐药性关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(4): 408-414.
- [7] 谢强, 曹明杰, 陈玲, 等. 某三甲医院 2013 年尿培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 43(14): 1673-1675.
- [8] 石岚, 杨媛. 尿路感染病原菌分布及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(15): 3413-3415.
- [9] 王世瑜, 刘晔华, 陈锦艳, 等. 尿培养病原菌分布及耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(22): 5594-5596.
- [10] 蒋杰. 大肠埃希菌对喹诺酮类抗菌药耐药机制的研究近况[J]. 医学综述, 2008, 14(5): 767-769.

(收稿日期: 2016-01-22 修回日期: 2016-03-22)