

• 临床研究 •

# 新疆某院 5 年间大肠埃希菌产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶和头孢菌素酶的分布及耐药特征分析\*

王晓丽, 葛 亮, 李兴华<sup>△</sup>

(新疆医科大学第二附属医院检验科, 乌鲁木齐 830028)

**摘要:**目的 了解该院 2011 年 1 月至 2015 年 12 月大肠埃希菌产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)和头孢菌素酶(AmpC)在感染中的分布及耐药特征。方法 细菌鉴定采用法国生物梅里埃公司 VITEK2-compact 的 GN 鉴定卡;药敏实验采用纸片扩散(K-B)法;双纸片增效法检测 ESBLs;头孢西丁三维实验法检测 AmpC 酶;应用 Whonet5.6、SPSS19.0 软件进行统计分析。结果 共分离出 1 134 株大肠埃希菌,主要来自尿液、呼吸道痰及气管抽吸物,分别占 38.45%、37.65%;其中老年病科分离率最高,占 17.72%;检出产酶株 637 株,占 56.17%。单产 ESBLs、单产 AmpC 及同产 ESBLs+AmpC 的大肠埃希菌分别为 555、23、59 株,分别占 48.94%、2.03%、5.20%。产酶检出率最高的是老年病科,占 67.16%。5 年间以 2015 年的产酶检出率最高,占 63.68%。各年龄组中产 ESBLs 与 AmpC 检出率,以大于 75 岁年龄组最高,占 66.33%。产酶株与非产酶株对氨曲南、头孢一到四代、加酶抑制剂的阿莫西林/棒酸、替卡西林/棒酸、氨苄西林/舒巴坦;氨基糖苷类的妥布霉素、庆大霉素、喹诺酮类的左氧氟沙星和环丙沙星、磺胺类的磺胺甲噁唑/甲氧苄啶等 15 种抗菌药物的耐药率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。同时产 ESBLs 与 AmpC 菌株中出现了对碳青霉烯类抗菌药物耐药的细菌。单产 AmpC 大肠埃希菌耐药率相比于单产 ESBLs 要高,同时产 ESBLs 与 AmpC 大肠埃希菌耐药率相比于单产 AmpC 和单产 ESBLs 更高。总耐药数据显示,碳青霉烯类抗菌药物抗菌活性最强,其他依次是头孢替坦、阿米卡星、呋喃妥因、哌拉西林/他唑巴坦及头孢西丁。结论 产酶的大肠埃希菌耐药严重,合理使用抗菌药物以减少耐药率。

**关键词:**大肠埃希菌; 产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶; 头孢菌素酶; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)15-2094-05

大肠埃希菌为人体肠道的正常菌群,可由创伤、寄生部位局部环境改变,或其他各种原因造成机体免疫力低下时而引发感染,属于条件致病菌。大肠埃希菌是引起医院及社区获得性感染最重要的病原菌之一,感染部位广泛,泌尿系统是发生大肠埃希菌感染最常见的部位。随着广谱  $\beta$ -内酰胺类及其他类型抗菌药物的广泛应用,致使其耐药性越来越强,常表现出多药耐药。产生  $\beta$ -内酰胺酶是大肠埃希菌耐药的重要机制,而超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)和头孢菌素酶(AmpC)又是最常见的两种  $\beta$ -内酰胺酶,多由质粒介导,常对三代头孢菌素及  $\beta$ -内酰胺酶复合制剂耐药。本试验主要研究产这两种  $\beta$ -内酰胺酶的大肠埃希菌在本院的流行情况和对常用抗菌药物的耐药趋势,希望能给临床医生合理应用抗菌药物提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 2011 年 1 月至 2015 年 12 月本院临床科室送检的标本中分离出大肠埃希菌 1 134 株,剔除同一患者相同部位的重复菌株。痰液培养标本经涂片、革兰染色确定为合格标本后方进行培养。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922,铜绿假单胞菌 ATCC27853,产 ESBLs 肺炎克雷伯菌 ATCC700603,产 AmpC 阴沟肠杆菌 O29M 标准菌由广州迪景公司惠赠。标本按《全国临床检验操作规程(第 3 版)》进行接种和培养。

**1.2 仪器与试剂** 抗菌药物药敏纸片包括氨曲南、头孢西丁、头孢替坦、头孢唑林、头孢呋辛、头孢噻肟、头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南、阿莫西林/棒酸、氨苄西林/舒巴坦、替卡西林/棒酸、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星、环丙沙星、妥布霉素、庆大霉素、阿米卡星、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、米诺环素、呋喃妥因等 24 种抗菌药物,水

解脲蛋白(MH)培养基均购自英国 OXOID 公司。采用法国生物梅里埃公司 VITEK2-compact GN 鉴定卡。

## 1.3 检测方法

**1.3.1 药敏实验** 采用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的纸片扩散(K-B)法,对分离的菌株进行药敏实验,结果判断参照 CLSI 推荐的判断标准进行。

**1.3.2 ESBLs 检测** 采用双纸片增效法(DDS)试验,用 M-H 琼脂平板及含和不含棒酸(10  $\mu$ g)的头孢噻肟(30  $\mu$ g)或头孢他啶(30  $\mu$ g);含和不含棒酸(1  $\mu$ g)的头孢泊肟(10  $\mu$ g)药敏纸片。对于头孢噻肟、头孢他啶,如果含棒酸和不含棒酸抑菌区直径相差大于 5 mm,对于头孢泊肟含棒酸和不含棒酸抑菌区直径相差大于 4 mm,就视为 ESBLs 阳性。以标准菌株肺炎克雷伯 ATCC700603 为阳性对照。

**1.3.3 AmpC 的检测** AmpC 的初筛试验:采用头孢西丁药敏纸片进行筛选,头孢西丁抑菌圈直径小于或等于 18 mm,头孢噻肟/克拉维酸小于或等于 21 mm 或头孢他啶/克拉维酸小于或等于 22 mm,亚胺培南小于或等于 13 mm 为疑似产 AmpC 菌株,为初筛试验阳性。AmpC 确证实验:采用改良 Hodge 实验,将 0.5 麦氏单位大肠埃希菌 ATCC25922 均匀涂抹于 M-H 琼脂平板,待平板表面干燥后,在平板中央贴头孢西丁药敏纸片,然后用接种环挑取 2~3 个待检菌落,沿纸片边缘划,将平板置于 35  $^{\circ}$ C 孵箱培养 18~24 h,观察待测菌周围头孢西丁抑菌圈变化。如果抑菌圈变化大于或者等于 2 mm,提示产 AmpC。以质控菌株阴沟肠杆菌 O29M 作为阳性对照。

**1.4 统计学处理** 采用 Whonet5.6、SPSS19.0 软件进行数据处理及统计分析。率的比较采用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有

\* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2016D01C195)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail:lixinghua2010@sina.cn。

统计学意义。

2 结 果

2.1 大肠埃希菌标本及科室分布 5 年间共培养出 1 134 株大肠埃希菌,其中来自尿液标本 436 株、呼吸道痰液及气管抽吸物标本 427 株,分别占 38.45%及 37.65%。在临床科室中分布以老年病科检出最多,占 17.72%,见表 1、2。

表 1 1 134 株大肠埃希菌来源标本类型分布[n(%)]	
标本类型	株数及构成比
尿液	436(38.45)
呼吸道痰液及气管抽吸物	427(37.65)
分泌物	96(8.47)
脓液	54(4.76)
血液	47(4.14)
前列腺液	30(2.65)
腹水	21(1.85)
胸腔积液	11(0.97)
胆汁	9(0.79)
脑脊液	3(0.26)

2.2 大肠埃希菌产 ESBLs 与 AmpC 年均检出率 1 134 株大肠埃希菌中,共检出 637 株产酶菌,占 56.17%(637/1 134),其中以产 ESBLs 为主,共 555 株,占 48.94%(555/1 134),其次

是同时产 ESBLs 及 AmpC 59 株,占 5.20%(59/1 134),单产 AmpC 仅检出 23 株,占 2.03%(23/1 134)。同时产 ESBLs 及 AmpC 约是单产 AmpC 的 2.6 倍。5 年间,2015 年产酶检出率最高,占 63.68%。见表 3。

2.3 各科室间大肠埃希菌产 ESBLs 与 AmpC 检出率 产酶率最高为老年病科,检出率是 67.16%,其他依次是康复科、ICU、呼吸科、泌尿外科、肾内科、普外科、儿科及骨科,检出率依次为 60.14%、58.09%、58.06%、54.08%、53.33%、53.16%、50.00%、47.37%。所有科室以单产 ESBLs 为主。见表 4。

表 2 1 134 株大肠埃希菌来源科室构成比[n(%)]	
科室	株数及构成比
老年病科	201(17.72)
康复科	148(13.05)
ICU	136(11.99)
呼吸内科	124(10.93)
儿科	112(9.88)
泌尿外科	98(8.64)
肾病科	90(7.94)
普外科	79(6.97)
骨科	76(6.70)
其他科室	70(6.17)

表 3 大肠埃希菌产 ESBLs 与 AmpC 年均检出率

年度(年)	<i>n</i>	单产 ESBLs( <i>n</i> )	单产 AmpC( <i>n</i> )	产 ESBLs+AmpC( <i>n</i> )	产酶株( <i>n</i> )	产酶检出率(%)
2011	195	86	3	8	97	49.74
2012	226	114	6	13	133	58.85
2013	218	97	5	17	119	54.59
2014	261	123	5	11	139	53.26
2015	234	135	4	10	149	63.68
总计	1 134	555	23	59	154	56.17

表 4 各科室间大肠埃希菌产 ESBLs 与 AmpC 检出率

科室	<i>n</i>	单产 ESBLs( <i>n</i> )	单产 AmpC( <i>n</i> )	产 ESBLs+AmpC( <i>n</i> )	产酶株( <i>n</i> )	产酶检出率(%)
老年病科	201	111	7	17	135	67.16
康复科	148	76	5	8	89	60.14
ICU	136	63	5	11	79	58.09
呼吸科	124	61	1	10	72	58.06
泌尿外科	98	48	2	3	53	54.08
肾病科	90	45	2	1	48	53.33
普外科	79	39	0	3	42	53.16
儿科	112	52	0	4	56	50.00
骨科	76	34	1	1	36	47.37
其他科室	70	26	0	1	27	38.57
总计	1 134	555	23	59	637	56.17

2.4 各年龄组人群感染大肠埃希菌产 ESBLs 与 AmpC 检出率 0~<16 岁、16~<31 岁及 31~<46 岁年龄组的产酶检出率与 46~<61 岁、61~75 岁及大于 75 岁年龄组相比,差异

有统计学意义( $P<0.05$ )。46~<61 岁年龄组产酶检出率与 61~75 岁及大于 75 岁年龄组相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。>75 岁年龄组产酶检出率最高,占 66.33%,其次是

61~75 岁年龄组,占 63.99%。见表 5。

2.5 1 134 株大肠埃希菌对 24 种抗菌药物的耐药性分析

(1)产酶株与非产酶株对单酰胺类氨基曲南,头孢一到四代如头孢唑林、头孢呋辛、头孢噻肟、头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟,酶抑制剂如阿莫西林/棒酸、替卡西林/棒酸、氨苄西林/舒巴坦,氨基糖苷类如妥布霉素、庆大霉素、喹诺酮类的左氧氟沙星和环丙沙星、磺胺类的磺胺甲噁唑/甲氧苄啶等 15 种抗菌药物的耐药率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。(2)产酶株对氨基曲南、头孢一到三代、氨苄西林/舒巴坦、左氧氟沙星和环丙沙星、庆大霉素、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶耐药非常严重,耐药率为 45.00%~100.00%。(3)单产 AmpC 及单产 ESBLs 的大肠埃希菌对头孢替坦、亚胺培南及美罗培南的抗菌活性极强,未检出耐药株。同时产 ESBLs 及 AmpC 菌株,对以上 3 种抗菌药物都出现耐药株,耐药率分别为 28.81%、10.17%、11.86%,而对加酶抑制剂的哌拉西林/他唑巴坦的抗菌活性要优于头孢哌酮/舒巴坦。(4)单产 AmpC 的大肠埃希菌对氨基曲南、头孢西丁、头孢唑林、头孢呋辛、头孢噻肟、头孢曲松、氨苄西林/舒巴坦及庆大霉素均 100.00%耐药。头孢噻肟、头孢他啶、阿莫西林/棒酸、替卡西林/棒酸、头孢哌酮/舒巴坦、左氧氟

沙星、环丙沙星及磺胺甲噁唑/甲氧苄啶等抗菌药物耐药率大于 56%,严重耐药。(5)单产 ESBLs 时,头霉素类的头孢西丁、加酶抑制剂的哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星、呋喃妥因等耐药率均小于或等于 5.23%,替卡西林/棒酸及米诺环素的耐药率分别为 20.90%、24.68%,对其余抗菌药物耐药率均大于 30%。(6)同时产 ESBLs 及 AmpC 时,对亚胺培南及美罗培南耐药率最低,分别占 10.17%、11.86%,其次是阿米卡星、头孢替坦及呋喃妥因耐药率分别为 22.03%、28.81%、33.90%,余者耐药率均在 40%~100%。(7)非产 ESBLs 或 AmpC 菌株中磺胺甲噁唑/甲氧苄啶的耐药率最高为 35.61%、头孢唑林、庆大霉素、左氧氟沙星及环丙沙星的耐药率分别为 26.96%、25.55%、21.13%、23.14%,对其余抗菌药物耐药率均小于 20.00%。(8)总耐药率数据显示,亚胺培南及美罗培南耐药率最低,分别为 0.53%、0.62%,其次是头孢替坦、阿米卡星、呋喃妥因、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦及头孢西丁,耐药率分别为 1.50%、3.79%、4.41%、4.59%、6.79%、7.41%。1 134 株大肠埃希菌对 24 种抗菌药物的耐药见表 6。

表 5 各年龄组人群感染大肠埃希菌产 ESBLs 与 AmpC 检出率

年龄组(岁)	<i>n</i>	单产 ESBLs( <i>n</i> )	单产 AmpC( <i>n</i> )	产 ESBLs+AmpC( <i>n</i> )	产酶株( <i>n</i> )	产酶检出率(%)
0~<16	103	35	1	0	36	34.95
16~<31	65	21	0	0	21	32.31
31~<46	86	26	1	0	27	31.39
46~<61	118	52	3	1	56	47.46
61~75	361	204	10	17	231	63.99
>75	401	217	8	41	266	66.33
总计	1 134	555	23	59	637	56.17

表 6 1 134 株大肠埃希菌对 24 种抗菌药物的耐药率[*n*(%)]

抗菌药物	单产 AmpC ( <i>n</i> =23)	单产 ESBLs ( <i>n</i> =555)	产 ESBLs+ AmpC( <i>n</i> =59)	非产 ESBLs 或 AmpC( <i>n</i> =497)	总耐药率 ( <i>n</i> =1 134)
氨基曲南*	23(100.00)	536(96.58)	59(100.00)	0(0.00)	618(54.50)
头孢西丁	23(100.00)	2(0.36)	59(100.00)	0(0.00)	84(7.41)
头孢替坦	0(0.00)	0(0.00)	17(28.81)	0(0.00)	17(1.50)
头孢唑林*	23(100.00)	525(94.59)	59(100.00)	134(26.96)	741(65.34)
头孢呋辛*	23(100.00)	525(94.59)	59(100.00)	95(19.11)	702(61.90)
头孢噻肟*	22(100.00)	544(98.02)	59(100.00)	60(12.07)	685(60.41)
头孢他啶*	15(65.22)	261(47.03)	48(81.36)	0(0.00)	324(28.57)
头孢曲松*	23(100.00)	538(96.94)	57(100.00)	66(13.28)	684(60.32)
头孢吡肟*	5(21.74)	281(50.63)	52(88.14)	0(0.00)	338(29.81)
美罗培南	0(0.00)	0(0.00)	7(11.86)	0(0.00)	7(0.62)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	6(10.17)	0(0.00)	6(0.53)
阿莫西林/棒酸*	20(86.96)	232(41.80)	56(94.92)	7(1.41)	315(27.78)
替卡西林/棒酸*	17(73.91)	116(20.90)	43(72.88)	10(2.01)	186(16.40)
氨苄西林/舒巴坦*	23(100.00)	251(45.23)	59(100.00)	0(0.00)	333(29.37)
头孢哌酮/舒巴坦	13(56.52)	29(5.23)	35(59.32)	0(0.00)	77(6.79)
哌拉西林/他唑巴坦	7(30.43)	20(3.60)	25(42.37)	0(0.00)	52(4.59)
左氧氟沙星*	13(56.52)	427(76.94)	48(81.36)	109(21.93)	597(52.65)

续表 6 1 134 株大肠埃希菌对 24 种抗菌药物的耐药率[n(%)]

抗菌药物	单产 AmpC (n=23)	单产 ESBLs (n=555)	产 ESBLs 或 AmpC(n=59)	非产 ESBLs+ AmpC(n=497)	总耐药率 (n=1 134)
环丙沙星*	17(73.91)	468(84.32)	55(93.22)	115(23.14)	655(57.76)
妥布霉素*	7(30.43)	171(30.81)	47(79.66)	32(6.44)	257(22.66)
庆大霉素*	23(100.00)	284(51.17)	59(100.00)	127(25.55)	493(43.47)
阿米卡星	2(8.70)	28(5.05)	13(22.03)	0(0.00)	43(3.79)
磺胺甲噁唑/甲氧苄啶*	17(73.91)	414(74.59)	50(84.75)	177(35.61)	658(58.02)
米诺环素	5(21.74)	137(24.68)	32(54.24)	52(10.46)	226(19.93)
呋喃妥因	3(13.04)	21(3.78)	20(33.90)	6(1.21)	50(4.41)

注:经  $\chi^2$  检验,产 ESBLs 或 AmpC 株与非产 ESBLs+ AmpC 株对相同抗菌药物的耐药率比较,\*  $P<0.05$  差异有统计学意义。

3 讨 论

随着  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物广泛且不合理应用,细菌对抗菌药物耐药已呈普遍现象,甚至出现携带新德里金属- $\beta$ -内酰胺酶(NDM)-1 的超级细菌<sup>[1]</sup>。多药耐药导致临床抗菌药物治疗失败和病程迁延的病例数已不罕见。 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物是治疗革兰阴性菌感染常用的有效药物,然而三代头孢菌素的应用导致了  $\beta$ -内酰胺酶的产生。产  $\beta$ -内酰胺酶是导致大肠埃希菌耐药的主要机制。2010 年,Bush 和 Jacoby 更新了  $\beta$ -内酰胺酶分类,包括 ESBLs、AmpC、金属  $\beta$ -内酰胺酶[又称碳青霉烯酶或金属酶(MBLs)]和其他的酶类<sup>[2]</sup>。大肠埃希菌产 ESBLs 最常见,其次是产 AmpC,可单产 ESBLs 或单产 AmpC,也可同时产这两种酶。

2011 年 1 月至 2015 年 12 月共培养出 1 134 株大肠埃希菌,其中以尿液标本检出为主,占 38.45%,其次是呼吸道痰液及气管抽吸物标本,占 37.65%,两数据间非常接近。由确证试验得到 637 株产酶菌株,占 56.17%,而单产 ESBLs、同时产 ESBLs 及 AmpC、单产 AmpC 检出率与劳小斌等<sup>[3]</sup>研究数据相比较低。同时他们的研究数据显示单产 AmpC 检出率比同时产 ESBLs 及 AmpC 检出率更高,而本院同时产 ESBLs 及 AmpC 菌株检出率要比单产 AmpC 高出约 2.6 倍。5 年间,未分离到泛耐药菌,2015 年的产酶检出率最高,占 63.68%。各科室间,老年病科大肠埃希菌分离株及产酶率都是最高的,产酶率达 67.16%。表 4 研究调查结果,46 岁以上人群对大肠埃希菌易感,分离株及产酶率随年龄的增长而增高,61~75 岁及大于 75 岁年龄组产酶检出率与其他 4 组相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。由于本院是一所老年病为主的医院,除儿科及妇产科外,其他科室主要收治的是老年病患者,这些患者大多有一种或两种以上慢性基础病变,或者经历了严重外伤及大手术,病情复杂,卧床时间长,免疫功能低下,加之广谱抗菌药物的使用,这可能是造成 61~75 岁及大于 75 岁患者对大肠埃希菌易感,且同时产 ESBLs 与 AmpC 检出率要高于单产 AmpC 检出率的原因。

ESBLs 是由质粒介导,且能在菌株间转移和播散,能水解几乎所有  $\beta$ -内酰胺类和单环菌素类抗菌药物的一类酶,属于 Ambler 分类的 A 类,按 Bush 分类属 2be 群,主要包括 TEM、SHV、CTX-M 和 OXA 型等<sup>[4]</sup>。本研究显示,除头孢他啶耐药率为 47.03%外,其余头孢一到三代及氨基糖苷类的耐药率均大于 94.00%,抗菌活性极低,喹诺酮类左氧氟沙星、环丙沙星及磺胺类的磺胺甲噁唑/甲氧苄啶耐药率分别为 76.94%、84.32%、74.59%,表现为高度耐药,氨基糖苷类的妥布霉素及庆大霉素耐药严重,耐药率分别为 30.81%、51.17%。由于产 ESBLs 菌株的质粒在携带 ESBLs 耐药质粒的同时,可携带喹

诺酮类、氨基糖苷类及磺胺类等抗菌药物多种耐药基因<sup>[5]</sup>,使产 ESBLs 菌株具有明显的多药耐药特点。头孢替坦、亚胺培南及美罗培南的抗菌活性极强,未检出耐药株。另外哌拉西林/他唑巴坦、呋喃妥因、阿米卡星及头孢哌酮/舒巴坦的耐药率,分别为 3.60%、3.78%、5.05%、5.23%,显示出较强的抗菌活性,说明以上 4 种抗菌药物也是治疗单产 ESBLs 大肠埃希菌感染较好的药物。

单产 AmpC 的大肠埃希菌从其总体研究数据分析,耐药率比单产 ESBLs 高。这是因为 AmpC 是作用于头孢菌素且不被克拉维酸所抑制的  $\beta$ -内酰胺酶,它分染色体介导型及质粒介导型。染色体介导 AmpC 作用底物主要为三代头孢菌素,耐药性相对质粒介导型窄谱;而质粒介导型 AmpC 具有比 ESBLs 更广的水解底物谱,能有效水解三代头孢菌素、单酰胺类及头孢素类抗菌药物,且不受酶抑制剂所抑制。携带编码 AmpC 基因的质粒具有快速复制和可转移性特点,其底物谱、抑制谱与诱导酶又是相同的,使之可同时携带氨基糖苷类、氯霉素、磺胺甲氧苄氨嘧啶四环素等药物的耐药基因,所以易造成多重耐药<sup>[6]</sup>。这类 AmpC 往往都属于持续高产型,且可通过转化、传导、结合等方式在同种和不同种菌株间通过耐药质粒传播其多药耐药性,可以造成医院内的广泛传播及流行。

大肠埃希菌同时产 ESBLs 与 AmpC 时,又称之为超超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(SSBLs),此时对美罗培南、亚胺培南及头孢替坦均出现耐药,美罗培南及亚胺培南耐药率最低,其他依次是阿米卡星、头孢替坦及呋喃妥因,余者抗菌药物耐药率均在 42%~100%。数据显示同时产 ESBLs 与 AmpC 与单产 AmpC、单产 ESBLs 的大肠埃希菌相比耐药率更高。已有文献报道,产 AmpC 耐药质粒通过接合转移传递其耐药基因<sup>[7]</sup>,使敏感的受体菌获得耐药质粒所携带的 AmpC 基因,也有较高概率同时携带 ESBLs 基因。也就是说在一个质粒上可以既含 AmpC 的特性,又可以含有 ESBLs 的特性。这样的菌株能同时降解三代头孢及其他一些抗菌药物,其中以单酰胺类的主要,与本研究表中 5 数据吻合。这种情况已成为一个日益严重的问题。对于产 SSBLs 的大肠埃希菌,只有碳青霉烯抗菌药物依然显示出较高的抗菌活性。这些产 SSBLs 的大肠埃希菌还可能产生了碳青霉烯酶,此酶是能水解青霉素、头孢菌素、单环  $\beta$ -内酰胺和碳青霉稀类的  $\beta$ -内酰胺酶的总称。按照 Ambler 分类,碳青霉烯酶可进一步分为 A、B 和 D 三类<sup>[8]</sup>。大肠埃希菌主要生产碳青霉烯酶和新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶(NDM),目前包括中国在内的多个国家均已发现产碳青霉烯酶的菌株<sup>[9]</sup>。NDM 型属于 B 类金属酶,最早在印度裔瑞典人尿路感染的大肠埃希菌中发现<sup>[10]</sup>。随后在各大洲的国家均有发现,并不断有新感染病例出现,我国也发现携带此基因的细菌<sup>[11]</sup>。产碳

青霉素酶和 NDM 的菌株耐药机制复杂,往往一种菌携带好几个耐药基因,不仅可对碳青霉烯类抗菌药物耐药,同时也可对喹诺酮类、头孢菌素等多种常用抗菌药物耐药,并且通过质粒进行耐药性传递,引起严重的医院感染。常用抗菌药物对其无效,目前治疗可以考虑联合使用多黏菌素 B 和多利培南,但其疗效尚需进一步研究。

在 497 株非产酶的大肠埃希菌中,氨曲南、头孢西丁、头孢替坦、头孢他啶、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南、氨苄西林/舒巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星等 11 种抗菌药物显示出极高的抗菌活性,未出现耐药株。说明非产酶大肠埃希菌感染可首选以上任何一种药物治疗,而磺胺甲噁唑/甲氧苄啶的耐药率已高达 35.61%,已不适合选用。

总耐药率研究表明在治疗大肠埃希菌感染中,碳青霉烯类抗菌药物抗菌活性最强,其次是头孢替坦及阿米卡星,其他依次是阿米卡星、呋喃妥因、哌拉西林/他唑巴坦及头孢西丁。

值得关注的是头孢替坦在同时产 ESBLs 与 AmpC 时,耐药率占 28.82%,而在单产 ESBLs、单产 AmpC 时及非产酶株中均未出现耐药株,显示出极高的抗菌活性。说明该药也可作为治疗大肠埃希菌感染的首选药之一。

综上所述,产酶大肠埃希菌多药耐药形势严重,密切关注多药耐药大肠埃希菌在临床的流行情况,分析总结其耐药规律和特点,最好结合药敏报告有针对性地选择相应合理的抗菌药物,对提高治疗效果,延缓细菌耐药有着十分重要的意义。

#### 参考文献

- [1] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(9): 597-602.
- [2] Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of

beta-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(3): 969-976.

- [3] 劳小斌,刘小强,邱春嫦,等.广州地区肠杆科细菌产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶与 AmpC 酶的检测及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(23): 5650-5652.
- [4] 陈枫,黄永茂,曹勇,等.产 ESBLs 大肠埃希菌耐药性及基因型分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(2): 123-125.
- [5] 招恒泉,马均宝,刘红军.超广谱  $\beta$ -内酰胺酶基因分型特点及其对抗菌药物敏感性分析[J]. 中国药物经济学杂志, 2016, 1(5): 185-187.
- [6] 唐娟媚,黄永茂. AmpC  $\beta$ -内酰胺酶致细菌耐药机制的研究进展[J]. 西南军医, 2014, 16(3): 300-302.
- [7] 张戡,邓敏,谢新生,等.产 AmpC 酶肺炎克雷伯菌质粒介导的多药耐药性与基因型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(1): 7-9.
- [8] 杨莉,张红岩.碳青霉烯酶基因型研究进展[J]. 中国微生物学杂志, 2014, 26(3): 366-368.
- [9] 卢玲玲,郑国军,涂斐佩,等.大肠埃希菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制研究[J]. 中国抗菌药物学杂志, 2016, 41(4): 296-300.
- [10] 李智伟,朱玥洁,马秀敏,等.新疆地区 2807 株肺炎克雷伯菌耐药性变迁特点[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(1): 39-41.
- [11] Johnson AP, Woodford N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance[J]. J Med Microb, 2013, 62(Pt 4): 499-513.

(收稿日期:2017-03-16 修回日期:2017-05-16)

#### • 临床研究 •

## 一种乙型肝炎病毒核酸 PCR 定量检测试剂的性能验证\*

王战争<sup>1</sup>,冯飞雪<sup>2</sup>,肇玉博<sup>2</sup>,杨 洋<sup>1</sup>,李钰乐<sup>1</sup>,马艳侠<sup>2△</sup>

(1. 陕西中医药大学医学技术学院,陕西咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学附属医院检验科,陕西咸阳 712000)

**摘要:**目的 验证和评价一种乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)定量 PCR 检测试剂的性能。方法 根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI) EP 系列文件和 ISO15189:2012 的相关要求对试验试剂的精密度、正确度、可报告范围、定量检测限进行评价。结果 精密度:高值( $10^6$  IU/mL)、低值( $10^3$  IU/mL)标本检测浓度对数值的批内变异系数(CV)分别为 3.27%、4.00%,批间 CV 分别为 4.84%、4.89%;正确度:试验试剂与比对试剂具有较好的相关性,直线回归方程为  $Y=1.006 2X+0.226 4$ ,  $r^2=0.984 7>0.95$ ;可报告范围:试验试剂在  $4.76 \times 10^2 \sim 4.76 \times 10^8$  IU/mL 范围内具有良好的线性( $Y=0.995 9X+0.183 9$ ,  $r^2=0.999>0.95$ );定量检测限为 500 IU/mL。结论 试验试剂的各项检测性能与厂家声明相符。

**关键词:**乙型肝炎病毒核酸; 定量检测; 精密度; 可报告范围; 正确度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)15-2098-04

乙型肝炎病毒(HBV)感染可引起急慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌等。根据世界卫生组织统计,全球大约有 20 亿人曾经感染过 HBV,约有 3.5 亿慢性乙型肝炎感染者<sup>[1]</sup>。据最近一

次全国乙型肝炎流行病学调查结果显示,我国 HBV 感染率为 7.18%<sup>[2]</sup>。HBV 荧光定量 PCR 的检测可以直接反映患者体内 HBV DNA 的含量、感染状况、抗病毒疗效,对乙型肝炎的

\* 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(2016SF-177)。

△ 通信作者, E-mail:13991038586@163.com。