

葡萄球菌的耐药状况及克林霉素耐药株的耐药表型分析

侯临平

作者单位: 041000 临汾市, 山西省临汾市人民医院检验科

【摘要】 目的 了解葡萄球菌的耐药状况及克林霉素耐药株的分离率和耐药表型, 为临床合理选择抗菌药物提供理论依据。**方法** 收集分离自我院门诊及住院患者临床标本的葡萄球菌共 210 株。采用 K-B 法和 D-试验检测克林霉素耐药菌株及耐药表型, 同时检测葡萄球菌对常用抗菌药物的药敏情况。数据采用 WHONET 5.4 统计软件进行分析。**结果** 210 株葡萄球菌的临床标本分布中, 伤口分泌物和痰标本的分离率较高, 分别为 45.2% 和 33.3%。科室分离率最高的是泌尿外科 (21.4%), 其中耐甲氧西林葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus*, MRS) 分离率最高的是泌尿外科 (16.7%), 甲氧西林敏感葡萄球菌 (methicillin-sensitive *Staphylococcus*, MSS) 分离率最高的是 ICU、普外科和呼吸科, 分离率均为 6.7%。对克林霉素耐药菌株为 159 株, 分离率为 75.7% (159/210), 其中诱导型为 23 株, 结构型为 136 株。210 株葡萄球菌中, MSS 的耐药情况较轻, 仅对青霉素 G 和氨苄西林的耐药率较高, 分别为 90.5% 和 89.5%; MRS 的耐药情况较严重, 对红霉素、克林霉素、阿奇霉素和环丙沙星的耐药率均在 92.2% 以上; 未发现对万古霉素耐药的葡萄球菌。**结论** 克林霉素耐药葡萄球菌的分离率较高, 葡萄球菌对常用抗菌药物耐药状况严重, 尤其是 MRS 已呈现多重耐药趋势。因此, 应根据药敏试验结果和耐药表型的检测合理使用抗菌药物。

【关键词】 葡萄球菌; 克林霉素; 红霉素; 抗菌药物; D-试验; 耐药性

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2012.02.009

Drug resistant situation of *Staphylococcus* and drug-resistant phenotype analysis of clindamycin-resistant strains

HOU Lin-ping. Department of Clinical Laboratory, Linfen People's Hospital, Linfen 041000, China

【Abstract】 Objective To investigate the drug resistant situation of *Staphylococcus*, the isolation rate and drug-resistant phenotype of clindamycin-resistant strains in nosocomial infection, to provide the theory basis for clinical rational choose antimicrobial agents. **Methods** 210 strains *Staphylococcus* were collected in our hospital from outpatients and inpatients. The drug resistant situation of *Staphylococcus*, isolation rate and drug-resistant phenotype of clindamycin-resistant strains were detected by Kirby-Baucer method and D-test. The data were analyzed by WHONET 5.4 statistical software. **Results** Among the 210 strains of *Staphylococcus* isolated from the clinical samples, the higher isolating rates of clinical samples were wound secretion (45.2%) and sputum (33.3%). The highest isolating rate of *Staphylococcus* in clinical department was urology department (21.4%). The highest isolating rate of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRS) was urology department (16.7%). And the highest isolating rate of methicillin-sensitive *Staphylococcus* (MSS) were ICU, general surgery department and respiratory department (6.7%). 159 strains (75.7%) were resistant to clindamycin. Including 23 strains induced type and 136 strains structured type. The drug resistance of MSS was lighter. The higher drug resistant rates to penicillin and ampicillin were 90.5% and 89.5% respectively. The drug resistance of MRS was serious. The rates of resistance to erythromycin, clindamycin, azithromycin and ciprofloxacin were above 92.2%. There was no vancomycin resistant *Staphylococcus*. **Conclusion** The incidence of clindamycin-resistant *Staphylococcus* was high. It is serious in *Staphylococcus* against antibiotics, and MRS has already appeared multiple resistance trend. The clinical use of antimicrobial agent should follow the instruction of the drug sensitive test and drug resistance phenotype given by the bacterial laboratory.

【Key words】 *Staphylococcus*; Clindamycin; Erythromycin; Antimicrobial agent; D-test; Drug resistance

葡萄球菌是革兰氏阳性球菌, 为人体体表和肠道正常菌群, 当机体免疫功能低下或菌群进入非正

常部位时即成为致病菌^[1]。葡萄球菌是最常见的化脓性球菌,是医院感染的重要致病菌。

随着抗菌药物的广泛使用,克林霉素耐药的葡萄球菌的分离率越来越高,为临床治疗葡萄球菌感染带来困难。本文对自临床感染的标本中分离的 210 株葡萄球菌通过 K-B 法和 D-试验筛查克林霉素耐药菌株,以了解克林霉素耐药葡萄球菌的分离情况及葡萄球菌耐药状况,为临床合理使用抗菌药物提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 菌株来源 210 株葡萄球菌分离自 2010 年 1 月至 2010 年 12 月我院门诊及住院感染患者的各种临床标本。其中甲氧西林敏感葡萄球菌(methicillin-sensitive *Staphylococcus*, MSS)95 株,耐甲氧西林葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus*, MRS)115 株。质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 25923,购自卫生部临床检验中心。

1.2 主要仪器与试剂 细菌鉴定采用法国梅里埃 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统;API Staph 葡萄球菌鉴定试条为法国梅里埃生物公司产品;药敏培养基 M-H 平板购自天津金章公司;药敏纸片为 OXOID 公司产品;万古霉素 E-test 试纸条为瑞典 AB BIODISK 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 药物敏感试验 药敏试验采用 K-B 法,实验操作严格按照《临床检验操作规程》(第 3 版)进行。将培养 18-24 h 的细菌培养物制成 0.5 麦氏单位菌液,用无菌棉拭子蘸取菌液,在管内壁将多余菌液旋转挤去后,在琼脂表面均匀涂抹接种 3 次,每次旋转平板 60°,最后沿平板内缘涂抹 1 周;将平板置室温下干燥 3-5 min,用纸片分离器将含药纸片紧贴于琼脂表面,各纸片中心相距 > 24 mm,纸片距平板内缘 > 15 mm,其中以 30 μg 头孢西丁纸片代替苯唑西林纸片筛查 MSS 及 MRS;将平板置 35 °C 培养箱孵育 16-18 h 后阅读结果。万古霉素的药物敏感试验采用万古霉素 E-test 试纸条,按照标准操作规程^[2]进行操作。

1.3.2 D-试验 参照文献^[3]操作,将浓度为 0.5 麦氏单位的待测菌液均匀涂布于 M-H 琼脂平板上,间隔 15~26 mm(纸片边缘与边缘的距离)贴上红霉素纸片(15 μg)和克林霉素纸片(2 μg),置 35 °C 恒温孵育箱过夜培养后观察结果。若邻近红霉素一侧的克林霉素抑菌圈变平或变窄,为 D-试验阳性;若邻近红霉素一侧的克林霉素抑菌圈形状保持不变,则为

D-试验阴性。红霉素和克林霉素对质控菌株的抑菌圈结果均在 CLSI2009 年版允许范围内。

1.3.3 药敏结果判读及耐药表型检测 根据 CLSI2009 年版标准对药敏结果进行判读,并根据克林霉素耐药情况及 D-试验结果判断耐药表型。若体外药敏试验结果为对红霉素和克林霉素均耐药,则判断为结构型;若对红霉素耐药,对克林霉素敏感,但 D-试验结果阳性,则判断为诱导型,且药敏结果报告为对克林霉素耐药。

1.3.4 统计学处理 采用 WHONET 5.4 统计软件对所有数据进行统计分析。

2 结果

2.1 葡萄球菌在不同临床标本中的分布 各类临床标本中以伤口分泌物和痰标本中葡萄球菌的检出率最高,分别为 45.2%、33.3%,具体分布见表 1。

表 1 210 株葡萄球菌在不同临床标本中的分布

标本类型	株数	构成比(%)
伤口分泌物	95	45.2
痰	70	33.3
尿液	17	8.1
前列腺液	13	6.2
血液	6	2.9
导管末端	3	1.4
引流液	2	1.0
其他	4	1.9
合计	210	100.0

2.2 葡萄球菌在临床科室中的分布情况 210 株葡萄球菌在临床科室分布中,分离率最高的为泌尿外科 45 株(21.4%),其次为 ICU35 株(16.7%)。MRS 分离率最高的为泌尿外科 35 株(16.7%);MSS 分离率最高的是 ICU、普外科和呼吸科,均为 14 株(6.7%)。见表 2。

2.3 葡萄球菌对克林霉素的耐药情况及耐药表型分析 分离出的 210 株葡萄球菌中,MSS 95 株,MRS 115 株。克林霉素耐药菌株共 159 株,分离率为 75.7%(159/210),其中 MSS 中分离出 53 株,分离率为 55.8%(53/95);MRS 中分离出 106 株,分离率为 92.2%(106/115)。耐药表型检测出结构型和诱导型两种,其中诱导型共 23 株,结构型共 136 株。耐克林霉素结构型在 MSS 与 MRS 中的分离率分别为 41.1%和 84.3%,均高于耐克林霉素诱导型(14.7%, 7.8%)。见表 3。

2.4 95 株 MSS 对常用抗菌药物的药敏结果分析 95 株 MSS 对常用抗菌药物的敏感性较好,除头孢西

丁外, 对万古霉素和利奈唑烷的敏感率最高, 均为 100.0%; 而对青霉素 G 和氨苄西林的耐药率最高, 分别为 90.5% 和 89.5%。见表 4。

表 2 葡萄球菌在临床科室中的分布[n(%)]

科室	株数	MRS	MSS
泌尿外科	45(21.4)	35(16.7)	10(4.8)
ICU	35(16.7)	21(10.0)	14(6.7)
神经外科	28(13.3)	17(8.1)	11(5.2)
普外科	23(11.0)	9(4.3)	14(6.7)
骨科	21(10.0)	8(3.8)	13(6.2)
呼吸科	21(10.0)	7(3.3)	14(6.7)
内分泌科	14(6.7)	7(3.3)	7(3.3)
烧伤科	12(5.7)	8(3.8)	4(1.9)
儿科	2(1.0)	0(0.0)	2(1.0)
神经内科	2(1.0)	1(0.5)	1(0.5)
消化科	2(1.0)	0(0.0)	2(1.0)
其他	5(2.4)	2(1.0)	3(1.4)
合计	210(100.0)	115(54.8)	95(45.2)

表 3 葡萄球菌对克林霉素的耐药情况及耐药表型[n(%)]

葡萄球菌	株数	克林霉素耐药	耐药表型	
			结构型	诱导型
MSS	95	53(55.8)	39(41.1)	14(14.7)
MRS	115	106(92.2)	97(84.3)	9(7.8)

表 4 95 株 MSS 对常用抗菌药物的药敏结果[n(%)]

抗菌药物	耐药	中介	敏感
头孢西丁	0(0.0)	0(0.0)	95(100.0)
万古霉素	0(0.0)	0(0.0)	95(100.0)
利奈唑烷	0(0.0)	0(0.0)	95(100.0)
青霉素 G	86(90.5)	0(0.0)	9(9.5)
氨苄西林	85(89.5)	0(0.0)	10(10.5)
头孢唑啉	3(3.2)	1(1.1)	91(95.8)
头孢呋辛	4(4.2)	0(0.0)	91(95.8)
头孢曲松	2(2.1)	3(3.2)	90(94.7)
头孢吡肟	2(2.1)	1(1.1)	92(96.8)
亚胺培南	1(1.1)	0(0.0)	94(98.9)
红霉素	60(63.2)	8(8.4)	27(28.4)
克林霉素	53(55.8)	5(5.3)	37(38.9)

2.5 115 株 MRS 对常用抗菌药物的药敏结果分析
115 株 MRS 对多数抗菌药物耐药, 除头孢西丁外, 耐药率最高的为环丙沙星, 耐药率为 96.5%; 敏感率最高的药物为万古霉素和利奈唑烷, 敏感率均为 100.0%。见表 5。

表 5 115 株 MRS 对常用抗菌药物的药敏结果[n(%)]

抗菌药物	耐药	中介	敏感
头孢西丁	115(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
万古霉素	0(0.0)	0(0.0)	115(100.0)
利奈唑烷	0(0.0)	0(0.0)	115(100.0)
红霉素	108(93.9)	0(0.0)	7(6.1)
克林霉素	106(92.2)	2(1.7)	7(6.1)
阿奇霉素	110(95.6)	0(0.0)	5(4.4)
复方新诺明	29(25.2)	3(2.6)	83(72.2)
呋喃妥因	6(5.2)	2(1.7)	107(93.1)
环丙沙星	111(96.5)	2(1.7)	2(1.7)
左氧氟沙星	96(83.5)	2(1.7)	17(14.8)
阿米卡星	78(67.8)	5(4.3)	32(27.8)

3 讨论

葡萄球菌广泛分布于自然界, 多存在于环境中以及人与动物的皮肤黏膜上, 可致多种化脓性感染。临床上治疗葡萄球菌引起的感染时, 常使用大环内酯类药物如红霉素, 林可酰胺类药物如克林霉素以及链阳霉素 B 类抗菌药物。这三种抗菌药物在功能上非常相似, 在核糖体水平可抑制敏感微生物蛋白合成, 从而起到抗菌作用。但随着葡萄球菌耐药情况的日益严重以及克林霉素耐药株的增多, 葡萄球菌感染已成为医院感染和临床治疗的棘手问题。

本文研究分离出的 210 株葡萄球菌中, MSS95 株, MRS115 株, 克林霉素耐药株分离率分别为 55.8% 和 92.2%。由于 MRS 通常表现为多重耐药, 因此其克林霉素耐药株的分离率较高。由表 4、表 5 可见, MRS 耐药情况较严重, 通常表现为多重耐药, 这也与其他地区^[4]的情况相一致。各类临床标本以伤口分泌物、痰标本中葡萄球菌检出率较高, 分别为 45.2% 和 33.3%, 表明葡萄球菌的感染最常见的为伤口感染, 另外葡萄球菌也是引起医源性血流感染、导管相关感染、骨髓炎及泌尿系统感染的重要病原菌。

葡萄球菌主要分离自泌尿外科 45 株 (21.4%) 和 ICU35 株 (16.7%)。MRS 主要分离自泌尿外科和 ICU, 而 MSS 主要分离自 ICU、普外科和呼吸内科。这可能与不同类型的菌株定植部位不同以及标本类型不同有关。泌尿外科多为尿液、前列腺液标本, 而 ICU、普外科和呼吸科则以伤口分泌物、血液和痰液标本为主。

葡萄球菌中存在 erm 基因, 该基因编码一种异常的核糖体结构 (23SrRNA 的甲基化), 可导致对大环内酯类药物和克林霉素耐药。由 erm 基因介导的耐药菌株又分为结构型和诱导型两种^[9]。结构型耐药

表型是对红霉素和克林霉素均耐药,一般可通过药敏试验检测;诱导型耐药表型是对红霉素耐药,克林霉素敏感而 D-试验阳性^[6]。erm 基因需要诱导才能使克林霉素耐药性得以表达,而红霉素就具有这种诱导作用。体外药敏试验表现为红霉素耐药,克林霉素敏感,但 D-试验阳性,则说明属克林霉素诱导型耐药。因此,如果不进行 D-试验检测,克林霉素很可能会被报告敏感而误导临床用药^[7]。

本文研究中,对克林霉素耐药的葡萄球菌存在两种耐药表型,即结构型和诱导型。结构型的分离率在 MSS、MRS 中均高于诱导型的分离率,说明诱导型耐药菌株较少,但确实存在。因此,必须通过 D-试验检测诱导型的克林霉素耐药株,为临床选择抗菌药物提供更全面更可靠的依据。

葡萄球菌的耐药状况十分严重。目前除了万古霉素、利奈唑烷具有较好的抗菌活性外,对其他如 β -内酰胺类、大环内脂类、喹诺酮类等耐药情况较为严重;尤其是 MRS,常显示多重耐药,包括氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类等。目前针对 MRS 的治疗首选万古霉素^[8],本次试验中未检测到耐万古霉素的 MRS,但随着药物选择压力的不断增大,临床治

疗葡萄球菌感染所面临的形势会越来越严峻,因此,临床合理使用抗菌药物对控制耐药菌株的产生具有重要意义。

4 参考文献

- 1 高亚静,徐勇全,侯临平,等. 山西临汾地区葡萄球菌临床分布及耐药性分析. 实用检验医师杂志, 2010, 2: 69-72.
- 2 张卓然, 主编. 临床微生物学和微生物检验. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- 3 CLSI/NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth informational supplement, M100-S15, 05: 36-43.
- 4 肖永红, 王进, 朱燕, 等. Mohnar 2008 年度全国细菌耐药检测. 中国医院感染学杂志, 2010, 20: 2377-2383.
- 5 王明贵. 细菌对大环内酯类抗生素耐药机制的研究进展. 国外医药·抗生素分册, 2000, 21: 13-15.
- 6 尉亚崇, 贾彬, 薛伟彩. D-试验在葡萄球菌产生克林霉素诱导型耐药的检测与临床应用. 河北医药, 2006, 28: 997-998.
- 7 沈定霞, 罗燕萍, 徐雅萍, 等. 葡萄球菌对红霉素和克林霉素的诱导耐药性研究. 中华检验医学杂志, 2005, 28: 400-402.
- 8 陈颖, 宋明胜, 周建党, 等. 葡萄球菌对克林霉素诱导性耐药的检测及耐药性分析. 重庆医科大学学报, 2007, 32: 1282-1284.

(收稿日期: 2011-12-17)

(本文编辑: 李霖)

消息

全国头颈部病理读片研讨会

为学习和掌握头颈部及细胞学病理诊断的新知识、新进展,普及并提高对此领域疾病、疑难病、特殊性疾病的诊断与鉴别诊断知识和水平,加强学术交流,由首都医科大学附属北京同仁医院主办的国家级继续教育项目《全国头颈部病理读片研讨会》(2012-01-04-019(国))定于 2012 年 8 月 23 日-8 月 27 日在北京市召开。会议将由头颈部知名病理学专家刘红刚、高岩、陈杰、郑杰、刘冬戈教授主讲。可获得国家级 I 类继续医学教育 8 学分。真诚的邀请您如期参加。现通知如下。

1 会议重点内容

1) 头颈部小圆细胞型恶性肿瘤的诊断及鉴别诊断(包括淋巴瘤、嗅神经母细胞瘤、恶性黑色素瘤、横纹肌肉瘤、Ewing 肉瘤/PNET、神经内分泌瘤、异位垂体腺瘤、非肠型高级别腺癌及中线癌等); 2) 咽部疾病病理诊断中的一些问题; 3) 喉癌前病变及微浸润癌形态学特征及其诊断和鉴别诊断要点; 4) 头颈部淋巴组织增生疾病及其病理诊断; 5) 头颈部梭形细胞软组织肿瘤临床病理特点及诊断、鉴别诊断; 6) 头颈部骨及软骨组织肿瘤及瘤样病变; 7) 头颈部特殊感染性疾病及其诊

断规范; 8) 耳部疾病的病理诊断; 9) 头颈部术中冰冻诊断实践、体会及处理原则; 10) 眼睑、眼球及眶内疾病的病理诊断; 11) 大涎腺及黏膜小涎腺肿瘤临床病理特点、诊断注意事项; 12) 牙源性肿瘤及颌骨肿瘤的病理诊断; 13) 颌面部囊肿的病理特点及诊断; 14) 甲状腺疾病病理诊断难点及注意事项; 15) 头颈部细胞学诊断及鉴别诊断中需要注意的问题; 16) 头颈部副节瘤的病理诊断; 17) 头颈部大体检查技术; 18) 应用免疫组化染色在病理诊断中应注意的问题。

2 报到时间及地点

2012 年 8 月 23 日; 地点: 北京同仁医院病理科。

3 联系方式

地 址: 首都医科大学附属北京同仁医院病理科

邮 编: 100730

联 系 人: 万鸿飞

联系电话: 010-58268684

手 机: 18610024232

E-mail: 120756849@qq.com