

淋球菌临床分离株药敏分析

谢美红 苏永华 张利媚 林超萍

基金项目: 佛山市卫生局医学科研项目(2014182)

作者单位: 528000 广东佛山, 佛山市第一人民医院脑科康复医院检验科(谢美红 苏永华 张利媚)

528000 广东佛山, 佛山市第一人民医院检验科(林超萍)

通讯作者: 谢美红, Email: 694810749@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.04.002

【摘要】 目的 明确本院淋球菌的耐药情况及产青霉素酶的淋球菌(PPNG)和质粒介导的耐四环素淋球菌(TRNG)流行现状,为临床防治方案的制定提供依据。方法 运用 VITEK2 Compact 全自动微生物鉴定仪对 2014 年 1 月至 2015 年 12 月本院临床分离菌株进行菌种鉴定,采用琼脂微稀释法测定青霉素、四环素、环丙沙星、头孢曲松和大观霉素 5 种抗菌药物对淋球菌进行药敏实验,用纸片酸度定量法测定淋球菌株的 β -内酰胺酶。结果 183 株受试淋球菌中检出 PPNG 57 株(31.1%),质粒介导的 TRNG 59 株(32.2%);青霉素、四环素、环丙沙星耐药率分别为 91.8%、75.4% 和 97.3%;未检出头孢曲松耐药菌株,低敏菌株检出率为 11.5%;未检出大观霉素耐药及低敏菌株;青霉素、四环素和环丙沙星 50% 最低抑菌浓度(MIC₅₀)及 90% 最低抑菌浓度(MIC₉₀)值均已超过耐药标准;淋球菌多重耐药菌株检出率为 91.8%(168/183)。结论 佛山地区淋球菌临床分离株对青霉素和环丙沙星呈现高耐药率,多重耐药现状严峻。

【关键词】 淋球菌;产青霉素酶的淋球菌;耐四环素淋球菌;药敏分析;多重耐药

Analysis of susceptibility test in *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates

XIE Mei-hong¹, SU Yong-hua¹, ZHANG Li-mei¹, LIN Chao-ping². ¹Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Foshan Brain Rehabilitation Hospital, Foshan 528000, Guangdong, China
²Department of Clinical Laboratory, the First people's Hospital of Foshan, Foshan 528000, Guangdong, China

【Abstract】 Objective To investigate drug resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and the prevalence of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* (PPNG) and tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae* (TRNG) in Hospital so as to provide evidence for clinical prevention and treatment programs. **Methods** Species identification of clinical isolates from January 2014 to December 2015 was performed using VITEK2 instrument. The drug susceptibility for *Neisseria gonorrhoeae* to 5 antibiotics (penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, ceftriaxone and spectinomycin) were determined by agar dilution method and β -lactamase was measured by paper acidometric method. **Results** 57 strains were PPNG (31.1%) and 59 strains were TRNG (32.2%) among 183 strains. The rates of resistance to penicillin, tetracycline and ciprofloxacin were 91.8%, 75.4% and 97.3%, respectively. Ceftriaxone resistant strain was no detected, the rate of low susceptibility to ceftriaxone was 11.5%. Spectinomycin resistant strain and its low susceptibility were no detected. MIC₅₀ and MIC₉₀ of penicillin, tetracycline and ciprofloxacin have exceeded the drug resistance standards. The rate for MDR was 91.8% (168/183). **Conclusions** *Neisseria gonorrhoeae* showed high level of drug resistance to penicillin and ciprofloxacin and significantly high detection rate of MDR phenotype in Foshan.

【Key words】 *Neisseria gonorrhoeae*. penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. susceptibility testing. MDR

淋病是指由淋球菌(*Neisseria gonorrhoeae*)感染引起的一种性传播疾病,是全球主要性传播疾病之一,目前在细菌性性传播感染性疾病中流行率排第二,可引起尿道炎、宫颈炎等^[1]。淋病的防治对于降

低全球性传播疾病发生率具有极其重要的意义。近年来,在抗菌药物选择压力等多种因素的综合作用下,淋球菌耐药状况日趋严峻,已成为淋病防治面临的重要问题之一。基于此,本研究针对本院 2014 年

1 月至 2015 年 12 月临床分离的 183 株淋球菌进行药敏分析,旨在明确本院淋球菌的耐药情况及产青霉素酶淋球菌(PPNG)和质粒介导的耐四环素淋球菌(TRNG)的流行现状,为临床防治方案的制定提供依据。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集 2014 年 1 月至 2015 年 12 月本院患者送检标本,标本经患者泌尿道分泌物中分离获得,女性患者标本由宫颈口内 1~2 cm 处取材,男性患者标本由尿道口内 3~4 cm 处取材,共分离出 183 株淋球菌,置于 -78℃ 低温冰箱冻存;质控菌株为世界卫生组织(WHO)淋球菌标准菌株 A、B、C、D、E、P,均由中国医学科学院皮肤病研究所提供。

1.2 主要试剂及仪器 VITEK2 NH 细菌鉴定卡、VITEK2 Compact 全自动微生物鉴定仪均购自法国生物梅里埃公司;青霉素、四环素、环丙沙星、头孢曲松和大观霉素 5 种抗菌药物、GC 琼脂基础培养基以及 10% 无菌脱纤维羊血均购自美国 OXOID 公司。

1.3 研究方法

1.3.1 菌株鉴定 临床分离菌株采用 VITEK2 NH 细菌鉴定卡,经 VITEK2 Compact 全自动微生物鉴定仪进行菌种鉴定,证实为淋球菌。

1.3.2 药敏试验 采用 WHO 西太平洋地区淋球菌耐药监测规划推荐琼脂稀释法^[4],测定抗菌药物青霉素、四环素、环丙沙星、头孢曲松和大观霉素对受试淋球菌株的最低抑菌浓度(MIC)值。抗菌药物测定浓度范围分别为:青霉素 0.015~64 mg/L,四环素 0.5~32 mg/L,环丙沙星 0.015~64 mg/L,头孢曲松 0.008~0.5 mg/L,大观霉素 4~128 mg/L。细菌接种量为 1×10^7 cfu/mL,以 WHO 淋球菌标准菌株 A、B、C、D、E、P 为质控菌株。

1.3.3 β -内酰胺酶测定 采用纸片酸度定量法测定受试淋球菌株的 β -内酰胺酶,以 WHO 淋球菌标准菌株 E 为阳性对照,以 WHO 淋球菌标准菌株 A 为阴性对照。

1.3.4 结果分析 依据 WHO 西太平洋地区淋球菌耐药监测规划推荐标准^[2]判断受试淋球菌株经琼脂稀释法的药敏检测结果,结合 β -内酰胺酶测定结果,分析本院淋球菌耐药现状,以及 PPNG 和质粒介导的 TRNG 流行现状。

2 结果

2.1 PPNG 和质粒介导的 TRNG 检出结果 综合药敏试验结果及 β -内酰胺酶测定结果,183 株受试淋球菌中检出 PPNG 57 株(占 31.1%),质粒介导的 TRNG 59 株(占 32.2%)。

2.2 药敏试验结果 183 株受试淋球菌对 5 种抗菌药物的药敏试验结果显示:5 种抗菌药物中,大观霉素抗菌活性最强,未检出耐药菌株,敏感率为 100%;头孢曲松抗菌活性次之,未检出耐药菌株,敏感率为 88.5%(162 株),低敏率为 11.5%(21 株);四环素抗菌活性较差,耐药率为 75.4%(138 株),其中质粒介导的 TRNG 高达 59 株,占四环素耐药菌 42.8%(59/138);青霉素及环丙沙星抗菌活性极差,均未检出敏感菌株,耐药率分别高达 91.8%(168 株)和 97.3%(178 株)。青霉素、四环素和环丙沙星 MIC₅₀ 值和 MIC₉₀ 值均高于耐药标准,其中青霉素和环丙沙星 MIC₉₀ 值已达耐药标准^[4]的 32 倍。见表 1。

表 1 183 株淋球菌对 5 种抗菌药物的 MIC 值分析

抗菌药物	MIC (ng/L)		敏感 [株(%)]	低敏 [株(%)]	耐药 [株(%)]
	50%	90%			
青霉素	4	32	0 (0)	15 (8.2)	168 (91.8)
四环素	8	16	45 (24.6)	0 (0)	138 (75.4)
环丙沙星	8	32	9 (0)	5 (3.7)	178 (97.3)
头孢曲松	0.03	0.125	162 (88.5)	21 (11.5)	0 (0)
大观霉素	16	32	183 (100.0)	0 (0)	0 (0)

2.3 耐药模式分析 183 株受试淋球菌中,仅 5 株对 5 种抗菌药物皆无耐药表型,其余 178 株对 5 种抗菌药物中的 1 种或 1 种以上呈现耐药表型,耐药菌株检出率为 97.3%(178/183);其中 168 株对 5 种抗菌药物中的两种或两种以上呈现耐药表型,多重耐药菌株检出率为 91.8%(168/183)。由耐药模式分析可知,178 株受试淋球菌对 5 种抗菌药物呈现 3 种耐药模式,其中仅 10 株单一对环丙沙星耐药,占耐药菌株 5.6%;其余均对两种或两种以上药物耐药,以同时对青霉素、四环素和环丙沙星耐药模式为主,共检出 138 株,占耐药菌株 77.5%;其次为同时对青霉素和环丙沙星耐药模式,共检出 30 株,占耐药菌株 16.9%。见表 2。

表 2 178 株淋球菌对 5 种抗菌药物 3 种耐药模式

耐药模式	菌株数(株)	百分率(%)
环丙沙星耐药	10	5.6
青霉素耐药 + 环丙沙星耐药	30	16.9
青霉素耐药 + 四环素耐药 + 环丙沙星耐药	138	77.5

3 讨论

淋病是我国法定的乙类传染病,随着临床上广谱抗菌药物的大量使用,在抗菌药物选择压力等多种因素综合作用下,淋球菌耐药状况日趋严峻。通过测定 5 种抗菌药物的 MIC 值,药敏试验结果显示:青霉素耐药率为 91.8% (168/183),四环素耐药率为 75.4% (138/183),两者 MIC₅₀ 值和 MIC₉₀ 值均高于耐药标准。虽然对青霉素和四环素的耐药程度都处于较高水平,此两种药物也不再作为治疗淋病的首选方案,但是 PPNG 和质粒介导的 TRNG 流行率依然是淋球菌耐药性流行病学监测的重要指标。本研究中,PPNG 和 TRNG 检出率为 31.1% (57/183) 和 32.2% (59/183),较近期广州地区 PPNG 以及 TRNG 检出率^[3]稍低。

喹诺酮类抗菌药物曾作为治疗淋病无并发症的临床推荐一线药物,它通过抑制 DNA 旋转酶从而抑制菌体 DNA 及蛋白质的合成,但随着全球许多临床治疗失败病例的报道,该类抗菌药物不再是治疗淋病的有效药物^[4]。本研究中,环丙沙星耐药率为 97.3% (178/183),MIC₉₀ 值已达耐药标准^[1] 的 32 倍。近 5 年来广州地区淋球菌对环丙沙星耐药率皆高于 97%^[5],呈现持续高耐药率,可见淋球菌对曾经的临床推荐一线药物环丙沙星已呈现严峻的耐药现状,应引起临床足够重视。

本研究中未检出头孢曲松耐药菌株,但低敏菌株检出率为 11.5% (21/183)。虽然中国尚未有头孢曲松临床治疗淋病失效的案例报道,但研究表明,近年来头孢曲松 MIC₅₀、MIC₉₀ 及低敏菌株正逐年增高^[5-7],建议加大头孢曲松的肌注剂量,以减缓淋球菌头孢菌素耐药菌株的扩散^[8]。

WHO 认为,当一种药物的耐药率超过 5% 时,该药就不应作为治疗这类疾病的一线药物。虽然近年来我国及其他国家偶有检出大观霉素耐药菌株的报道,但耐药率均 < 5%^[9-11],大观霉素依然是治疗淋病的有效药物。本研究中未检出大观霉素耐药菌株,其活性较强,仍然是本地区初次治疗淋病的首选药物,也是头孢菌素过敏患者的选择药物^[12]。

本研究中耐药模式分析表明,本地区淋球菌临床分离株多重耐药形式严峻,多重耐药菌检出率为 91.8% (168/183),占耐药菌株的 94.4% (168/178)。淋球菌出现多重耐药现象可能与 mtr 基因系统中某

基因的突变、缺失或其编码产物结构不完整,从而使淋球菌对多种抗菌因子抵抗力增强有关^[13-14],在临床治疗中应重视多重耐药现象,并基于此现状制定防治策略。

4 参考文献

- 1 李超群. 微波免疫荧光法在快速检测淋球菌中的应用价值. 中国医师进修杂志, 2006, 29: 53.
- 2 WHO. Sensitivity testing of *Neisseria gonorrhoeae*: methodologies for use by participants in the WHO Western Pacific Regional Resistance Surveillance Programme. in: WHO/WPR Regional Antimicrobial Surveillance Working Group Meeting Proceedings, 1992: 33-34.
- 3 曹文苓, 黎小东, 毕超, 等. 广州地区 2013 年淋球菌耐药监测结果分析. 中国皮肤性病杂志, 2014, 28: 1144-1145.
- 4 Tapsall JW. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific Region, 1998. The WHO Western Pacific Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme. *Commun Dis Intell*, 2000, 24: 1-4.
- 5 黎小东, 梁景耀, 毕超, 等. 广州地区淋球菌耐药性的趋势分析. 国际检验医学杂志, 2016, 37: 472-474, 477.
- 6 Zhu BY, Yu RX, Yin Y, et al. Surveillance of antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* in Nanning, China, 2000 to 2012. *Sex Transm Dis*, 2014, 41: 501-506.
- 7 Cao WL, Liang JY, Li XD, et al. Trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated from Guangzhou, China, 2000 to 2005 and 2008 to 2013. *Sex Transm Dis*, 2015, 42: 27-29.
- 8 Unemo M, Nicholas RA. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhea. *Future Microbiol*, 2012, 7: 1401-1422.
- 9 Dillon JA, Ruben M, Li H, et al. Challenges in the control of gonorrhea in South America and the Caribbean: monitoring the development of resistance to antibiotics. *Sex Transm Dis*, 2006, 33: 87-95.
- 10 韩燕, 尹跃平, 戴秀芹, 等. 2008 年中国淋球菌临床分离株耐药性的流行病学研究. 中华皮肤科杂志, 2011, 44: 472-475.
- 11 初瑞雪, 孟卫东. 某地区淋球菌流行株耐药性及质粒谱型研究. 国际检验医学杂志, 2011, 32: 203-204.
- 12 Bignell C, Fitzgerald M. UK national guideline for the management of gonorrhoea in adults, 2011. *Int J STD AIDS*, 2011, 22: 541-547.
- 13 Schielke S, Schmitt C, Spatz C, et al. The transcriptional repressor FarR is not involved in meningococcal fatty acid resistance mediated by the FarAB efflux pump and dependent on lipopolysaccharide structure. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76: 3160-3169.
- 14 Morgan DJ, Okeke IN, Laxminarayan R, et al. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. *Lancet Infect Dis*, 2011, 11: 692-701.

(收稿日期: 2016-11-15)

(本文编辑: 李银平)