

• 临床检验研究论著 •

420 株临床分离肠球菌属细菌的耐药性变迁*

杨怀德, 王玉莲[#], 熊俊芳, 张进军, 李雪梅, 付 华
(湖南省张家界市人民医院检验科, 湖南张家界 427000)

摘要:目的 探讨肠球菌属细菌临床分离情况与耐药性变迁, 为指导临床合理用药, 控制感染提供依据。方法 对湖南省张家界市人民医院 2008 年 1 月至 2013 年 6 月临床送检标本进行常规细菌培养、鉴定和药敏试验, 并用 WHONET5.6 软件统计分析这 6 年间肠球菌属细菌临床分离株在各标本、科室中的分布与耐药性的变迁情况。结果 2008~2013 年 6 月共分离出肠球菌属细菌 420 株, 其中屎肠球菌 288 株, 占 68.6%, 粪肠球菌 128 株, 占 30.5%, 鹌鹑肠球菌 3 株, 占 0.7%, 铅黄肠球菌 1 株, 占 0.2%; 肠球菌属细菌在各标本中的分布以尿液为主, 占 60.5%; 其次为伤口分泌物, 占 20.0%; 血液, 占 13.6%。6 年来肠球菌属细菌的菌种和耐药性均发生了较大变化, 屎肠球菌所占比率每年基本保持在 65% 左右, 粪肠球菌所占比率在 35% 左右。屎肠球菌对氨苄西林、青霉素以及呋喃妥因的耐药率明显高于粪肠球菌, 对青霉素、四环素、呋喃妥因、高浓度的庆大霉素、高浓度的链霉素、环丙沙星、氨苄西林等抗菌药物的耐药率接近或超过 70%。2008 年发现 2 株、2009 年 1 株, 共 3 株屎肠球菌对万古霉素耐药; 2008 年发现 1 株、2009 年 5 株、2010 年 7 株, 共 13 株粪肠球菌对万古霉素中介。结论 肠球菌属细菌耐药性较为严重, 不同菌种耐药性有所差异。临床抗感染治疗应以分离菌株体外抗菌药物的敏感性为依据, 合理选用抗菌药物, 以提高疗效。

关键词: 肠球菌属; 抗菌药; 抗药性; 微生物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)16-2151-03

Change of drug resistance in 420 strains of clinically isolated *Enterococcus* bacteria*

Yang Huaide, Wang Yulian[#], Xiong Junfang, Zhang Jinjun, Li Xuemei, Fu Hua

(Department of Clinical Laboratory, Zhangjiajie Municipal People's Hospital, Zhangjiajie, Hunan 427000, China)

Abstract: Objective To study the clinical isolation situation of *Enterococcus* bacteria and the drug resistance change to provide the basis for guiding clinical rational drug use and controlling infection. **Methods** The clinical specimens in our hospital from January 2008 to June 2013 were performed the routine bacterial culture, identification and drug sensitivity test. The WHONET 5.6 software was used to analyze the distribution of the clinical *Enterococcus* bacterial isolates in various samples and the departments and the drug resistance change during this period. **Results** Total 420 strains of *Enterococcus* bacteria were isolated during this period, including 288 strains of *E. faecium* (68.6%), 128 strains of *E. faecalis* (30.5%), 3 strains of *E. gallinarum* (0.7%) and 1 strain of *E. casseli flavus* (0.2%). The *Enterococcus* bacteria isolates were mainly distributed in urine (60.5%), wound secretion (20.0%) and blood (13.6%). The large changes occurred in the strains and drug-resistance of isolated *Enterococcus* bacteria during this period. The proportion of *E. faecium* maintained about 65% every year. The proportion of *E. faecalis* was about 35%. The resistance rate of *E. faecium* to ampicillin, penicillin and nitrofurantoin was significantly higher than that of *E. faecalis*. Its resistance rates to penicillin, tetracycline, nitrofurantoin, high concentration gentamycin, high concentration streptomycin, ciprofloxacin and ampicillin were close to or over 70%. Total 3 strains of vancomycin-resistant *E. faecium* were isolated, including 2 strains in 2008 and 1 strain in 2009. Total 13 strains of vancomycin-intermediate *E. faecalis* were isolated, including 1 strain in 2008, 5 strains in 2009 and 7 strains in 2010. **Conclusion** The drug resistance of *Enterococcus* bacteria is very serious and the drug resistance of different strains is different. The clinical anti-infection should rationally select the antibacterial drugs for increasing the curative effects according to the in vitro susceptibility of the isolated strains to the bacterial drugs.

Key words: *Enterococcus*; anti-bacterial agents; drug resistance; microbial

肠球菌属细菌广泛分布在自然界, 常栖居于人、动物的胃肠道和女性泌尿生殖系统, 是人类的正常菌群之一, 肠球菌多引起免疫力低下宿主的机会感染, 是医院感染的重要病原菌, 可引起泌尿道、血液、伤口、心内膜炎、腹腔和胆道等多部位感染^[1]。近年来, 由于抗菌药物的广泛应用, 使原本就对 β-内酰胺类、氨基糖苷类抗菌药物具有内在抗药性的肠球菌属细菌耐药性进一步扩大, 逐渐形成了多重耐药菌。为了进一步了解临床分离肠球菌属细菌对抗菌药物的耐药性变迁情况, 研究者统计分析了本院 2008 年 1 月至 2013 年 6 月所分离的肠球菌属

细菌及其对临床常用抗菌药物的耐药性变迁情况, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 选择 2008 年 1 月至 2013 年 6 月本院住院以及门诊患者的尿液、伤口分泌物、脓液、血液和胆汁等各种连续、不重复的标本, 共分离到 420 株肠球菌属细菌。

1.2 仪器与试剂 使用 ATB 半自动细菌鉴定和药敏分析系统, 操作均按使用说明书进行。质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC25923 由湘雅医院检验科惠赠。

* 基金项目: 张家界市科技计划项目(2012YB10)。 作者简介: 杨怀德, 男, 副主任检验师, 主要从事细菌耐药性研究。 作者简介: 王玉莲, 女, 主管检验师, 主要从事细菌鉴定研究。 # 共同第一作者。

1.3 方法 将血液、脑脊液、腹腔积液、胸腔积液等无菌体液标本在 Bact/Alert 全自动血培养仪中培养,其他标本接种血平皿、麦康凯平皿,35℃培养 24~48 h。根据菌落特点、革兰氏染色、触酶试验、D 群链球菌血清凝集试验等结果,在 ATB 半自动细菌鉴定和药敏分析系统中进行鉴定和药敏试验,结果采用当年的 CLSI 文件判读。

1.4 统计学处理 使用 WHONET5.6 统计软件进行分析处理。

2 结 果

2.1 2008~2013 年 6 月分离的肠球菌属细菌的菌株构成情况 6 年中共分离出肠球菌属细菌 420 株。2008 年分离出肠球菌属细菌 69 株,其中屎肠球菌 45 株,占 65.2%;粪肠球菌 20 株,占 29.0%;鹌鸡肠球菌 3 株,占 4.4%;铅黄肠球菌 1 株,占 1.4%。2009 年分离出肠球菌属细菌 52 株,其中屎肠球菌 38 株,占 73.1%;粪肠球菌 14 株,占 26.9%。2010 年分离出肠球菌属细菌 54 株,其中屎肠球菌 35 株,占 64.8%;粪肠球菌 19 株,占 35.2%。2011 年分离出肠球菌属细菌 58 株,其中屎肠球菌 43 株,占 74.1%;粪肠球菌 15 株,占 25.9%。2012 年分离出肠球菌属细菌 108 株,其中屎肠球菌 70 株,占 64.8%;粪肠球菌 38 株,占 35.2%。2013 年上半年分离出肠球菌属细菌 75 株,其中屎肠球菌 54 株,占 72.0%;粪肠球菌 21 株,占 28.0%。2008~2013 年的 6 年间各种肠球菌属细菌的检出率分别占该年份临床分离菌的 9.5%(69/728)、7.3%(52/712)、

5.3%(54/1 019)、4.7%(58/1 222)、5.7%(108/1 880)和 5.8%(75/1 297)。

2.2 2008~2013 年肠球菌属细菌在各种临床标本中的分布情况 尿液 254 株,占 60.5%;伤口分泌物 84 株,占 20.0%;血液 57 株,占 13.6%;腹腔引流液 17 株,占 4.0%;脑脊液 6 株,占 1.4%;其他标本 2 株,占 0.5%。

2.3 2008~2013 年肠球菌属细菌在临床各科室的分布情况 420 株肠球菌属细菌在临床科室分布较广,其中 ICU150 株,占 35.7%;普外科 47 株,占 11.2%;神经内科 38 株,占 9.0%;泌尿外科 28 株,占 6.7%;呼吸内科 27 株,占 6.4%;烧伤外科 25 株,占 6.0%;妇产科 20 株,占 4.8%;儿科 20 株,占 4.8%;门诊 17 株,占 4.0%;脑外科 13 株,占 3.1%;消化内科 13 株,占 3.1%;骨科 10 株,占 2.4%;血液内科 5 株,占 1.1%;其他科室 7 株,占 1.7%。

2.4 2008~2013 年肠球菌属细菌对临床常用抗菌药物的耐药情况 420 株肠球菌属细菌对抗菌药物的药敏试验结果显示,屎肠球菌对氨苄西林、青霉素以及呋喃妥因的耐药率明显高于粪肠球菌,对青霉素、四环素、呋喃妥因、高浓度的庆大霉素、高浓度的链霉素、环丙沙星、氨苄西林等抗菌药物的耐药率均接近或超过 70%,与文献[2]报道一致。屎肠球菌和粪肠球菌对替考拉宁和万古霉素的敏感性均高。由于鹌鸡肠球菌和铅黄肠球菌菌株都较少,有很大偶然性而无代表意义,其药敏试验数据均不作统计和分析,见表 1。

表 1 2008~2013 年肠球菌属细菌对临床常用抗菌药物的耐药率(%)

| 抗菌药物 | 2008 年 | | 2009 年 | | 2010 年 | | 2011 年 | | 2012 年 | | 2013 上半年 | |
|---------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|------|--------|------|----------|------|
| | 屎肠球菌 | 粪肠球菌 | 屎肠球菌 | 粪肠球菌 | 屎肠球菌 | 粪肠球菌 | 屎肠球菌 | 粪肠球菌 | 屎肠球菌 | 粪肠球菌 | 屎肠球菌 | 粪肠球菌 |
| 氨苄西林 | 80.2 | 10.6 | 90.0 | 0.0 | 95.8 | 18.2 | 69.6 | 12.5 | 64.2 | 7.9 | 81.5 | 14.3 |
| 呋喃妥因 | 78.5 | 22.0 | 86.1 | 60.0 | 87.5 | 0.0 | 70.8 | 25.0 | 59.4 | 10.5 | 88.8 | 14.3 |
| 高浓度链霉素 | 68.4 | 58.7 | 52.0 | 41.7 | 96.4 | 25.0 | 75.0 | 87.5 | 73.5 | 63.2 | 81.5 | 76.2 |
| 高浓度庆大霉素 | 68.4 | 58.7 | 52.0 | 41.7 | 96.4 | 25.0 | 75.0 | 87.5 | 82.4 | 63.2 | 81.5 | 76.2 |
| 环丙沙星 | 89.5 | 75.7 | 96.6 | 83.4 | 100.0 | 90.0 | 87.5 | 50.0 | 76.5 | 59.4 | 87.1 | 42.8 |
| 氯霉素 | 4.5 | 12.5 | 4.3 | 30.0 | 16.7 | 0.0 | 36.8 | 0.0 | 21.7 | 18.4 | 25.9 | 14.3 |
| 青霉素 G | 75.9 | 14.0 | 73.0 | 7.7 | 96.2 | 27.3 | 72.0 | 12.5 | 64.3 | 7.9 | 81.1 | 14.3 |
| 四环素 | 77.1 | 66.4 | 71.4 | 100.0 | 83.3 | 100.0 | 86.3 | 86.7 | 81.5 | 60.5 | 62.9 | 71.4 |
| 替考拉宁 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 万古霉素 | 4.4 | 5.0* | 2.6 | 35.7* | 0.0 | 36.8* | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

*:粪肠球菌的万古霉素均为中介。

3 讨 论

本研究结果显示,本院 2008~2013 年临床分离的肠球菌属细菌中,主要以屎肠球菌为主,与全国监测结果基本符合^[3]。屎肠球菌每年基本保持在 65%左右;其次是粪肠球菌,基本在 30%左右波动,与文献[4]报道不一致。从临床各种标本的分布构成比来分析,6 年来以尿液标本所占比率最高,约占 60.5%,其次为伤口分泌物和血液,均在 10%以上。此外,在腹腔引流液、脑脊液等标本中也能分离到一定数量的肠球菌属细菌。从肠球菌属细菌在临床各科室中分布的分析可知,6 年来科室分别以 ICU、普外科、神经内科和泌尿外科检出率最高,这可能与这些临床科室使用侵袭性医用装置的频率较高,从而引起泌尿道感染有关。值得注意的是呼吸内科和烧伤外科的检出率也不低,这可能与患者基础免疫功能低下,以及破坏了人体正常的皮肤防御屏障有关。

由表 1 得知,屎肠球菌和粪肠球菌均对替考拉宁的敏感率为 100.0%,在 2008 年和 2009 年各检出 1 株对万古霉素耐药

的屎肠球菌,对万古霉素中介的菌株分别在 2008 年检出 1 株,2009 年检出 5 株,2010 年检出 7 株,这 13 株菌均为粪肠球菌。在随后的 3 年中未再检出,这可能与本院从 2011 年以来大力加强了抗菌药物的合理应用及抗菌药物的分级管理有关。屎肠球菌和粪肠球菌对多种抗菌药物的耐药率有很大不同,屎肠球菌对氨苄西林、青霉素以及呋喃妥因的耐药率明显高于粪肠球菌,两者对氯霉素的耐药率无明显不同,与文献[3]报道不一致。鉴于这两种菌对抗菌药物的耐药率差异很大,临床标本应该鉴定到菌种,并且治疗时应在药物的选择上有所不同。粪肠球菌对氨苄西林仍较敏感,对非耐药株仍不失为首选药物。粪肠球菌对呋喃妥因较敏感,但由于其吸收差,血药浓度低而更适用于肠道与泌尿道感染,因此由粪肠球菌引起的泌尿系统特别是下泌尿道感染可考虑首选呋喃妥因治疗,以减少使用万古霉素,减少耐万古霉素肠球菌的出现^[5]。屎肠球菌对青霉素、四环素、呋喃妥因、高浓度的庆大霉素、高浓度的链霉素、环丙沙星、氨苄西林等抗菌药物的耐药率均接近或超过 70%,提示

屎肠球菌易呈多重耐药, 耐药率较高, 临床上应尽量避免使用上述抗菌药物。肠球菌一旦出现对氨基糖苷类高水平耐药, 说明它已经产生获得性耐药, 预示对联合治疗不敏感。本研究结果表明, 临床上对于这些耐药率较高的抗菌药物应依据药敏试验才能用于屎肠球菌感染的治疗, 治疗时首选替考拉宁、万古霉素, 而泌尿系统特别是下泌尿道感染可考虑首选呋喃妥因或与万古霉素联合应用。

屎肠球菌对替考拉宁、万古霉素和氯霉素的敏感性较高, 但在 2008 年和 2009 年曾各发现 1 株屎肠球菌对万古霉素耐药, 但对替考拉宁仍旧敏感, 文献[6]报道肠球菌对万古霉素耐药主要由 vanA、vanB、vanC、vanD、vanE 和 vanG 基因介导, 其中介导对万古霉素高度耐药的基因主要为 vanA 和 vanB, vanA 型耐万古霉素肠球菌, 对万古霉素和替考拉宁均高度耐药, 是肠球菌中最常见的耐糖肽类抗菌药物的耐药型, 也是迄今为止唯一一个能在金黄色葡萄球菌中检出的耐药类型^[7]; vanB 表型主要存在于粪肠球菌及屎肠球菌中, 只能由万古霉素诱导对万古霉素的低水平耐药, 对替考拉宁敏感, 所以认为这两株耐万古霉素的屎肠球菌应该为 vanB 表型, 但仍需要加强对这一现象的监测。耐万古霉素肠球菌对临床最常见的影响就是肠道内的耐万古霉素肠球菌的定植。这种定植不引起临床症状, 但可持续存在相当长的时期, 并可成为耐万古霉素肠球菌传播给其他患者的储菌库^[8-9]。

总之, 肠球菌对抗菌药物的耐药率呈逐年上升趋势, 并且有种属的差别和区域性差别, 肠球菌因其多重耐药的特点已成为重要的医院感染病原菌之一, 而抗菌药物的不合理应用是耐药株产生的重要因素, 并且耐万古霉素肠球菌的 vanA 基因可通过质粒、转座子向其他细菌播散^[10], 导致几乎无药可治的耐万古霉素的金黄色葡萄球菌(VRSA)的出现^[11]。因此, 一方面要不断完善实验室对耐万古霉素肠球菌的检测, 做到快速分离和鉴定, 提高耐万古霉素肠球菌的检出率。另一方面还应加强临床对抗菌药物使用的管理, 尤其严格掌握万古霉素使用的适应证; 要加强消毒隔离工作, 定期检测耐药菌株对常用消毒剂的抗性情况, 加强对医务人员的宣传教育, 防止耐万古霉素肠球菌在医院内的交叉感染和传播^[12]。只有临床加强对抗菌药物的合理应用, 降低对万古霉素和替考拉宁的依赖, 才能防止

耐药株的产生, 有效预防和控制肠球菌属细菌引起的感染。

参考文献

- [1] 陈东科, 孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 213.
- [2] 马均, 张彭, 褚美玲, 等. 258 株肠球菌耐药性分析及耐万古霉素基因检测[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(20): 2507-2509.
- [3] 杨青, 俞云松, 倪宇星, 等. 2010 年中国 CHINET 肠球菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(2): 92-97.
- [4] 蔡智群, 黄耀文, 朱家馨, 等. 耐万古霉素肠球菌的耐药机制及耐药基因研究[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(16): 2800-2801.
- [5] 刘勇, 黄文祥, 董一山, 等. 2006~2009 年重庆医科大学附属第一医院临床分离肠球菌耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(9): 703-706.
- [6] Chow JW, Kak V. Acquired antibiotic resistance in Enterococci [A]. Gilmore MS. The enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance[M]. Washington DC: ASM Press, 2002: 355-384.
- [7] 姚杰, 徐元宏. 耐万古霉素肠球菌的耐药机制及耐药基因调控的研究进展[J]. 国外医药抗生素分册, 2010, 31(1): 24-28.
- [8] Huckabee CM, Huskins WC, Murray PR. Predicting clearance of colonization with van-comycin-resistant Enterococci and methicillin-resistant Staphylococcus aureus by use of weekly surveillance cultures[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(1): 1229-1230.
- [9] 倪宇星, 王辉, 朱德妹, 等. 耐万古霉素肠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, 4(2): 224-231.
- [10] 刘颖梅, 曹彬, 王辉, 等. 万古霉素耐药肠球菌的分子特征及同源性分析[J]. 中华医学杂志, 2008, 88(11): 760-763.
- [11] Biavasco F, Giovanetti E, Miele A, et al. In vitro conjugative transfer of VanA vancomycin resistance between Enterococci and Listeriae of different species[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1996, 15(1): 50-59.
- [12] Sylvain D, Ttish MP. Vancomycin-resistant enterococci: a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance[J]. Chest, 2003, 123(5): 504-518.

(收稿日期: 2014-02-10)

(上接第 2150 页)

床评估是否心衰及未来发生心衰风险率, 以便及时给予相应的治疗。

参考文献

- [1] Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, et al. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes[J]. Circulation, 2007, 115(1): 356-375.
- [2] 黄小媛, 汤勇才, 廖军, 等. 敏感型心肌钙蛋白 I 早期诊断急性心肌梗死的应用研究[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(14): 2448-2450.
- [3] 秦娟, 何雅军. 肌钙蛋白 T 及肌红蛋白和脑钠肽前体联合检测在急性心肌梗死诊断中的应用[J]. 广东医学, 2012, 33(16): 2415-2417.
- [4] 张新, 王晓慧, 彭清平, 等. 慢性肾衰竭患者心肌标志物改变的意义[J]. 临床肾脏病杂志, 2011, 11(9): 413-415.
- [5] 沈颖, 周艳, 李俊, 等. 慢性肾衰患者心肌损伤标记物的变化及临床意义[J]. 中国临床实用医学, 2010, 4(1): 160-161.

- [6] Scirica BM, Cannon CP, Sabatine MS, et al. Concentrations of C-reactive protein and B-type natriuretic peptide 30 days after acute coronary syndromes independently predict hospitalization for heart failure and cardiovascular death[J]. Clin Chem, 2009, 55(2): 265-273.
- [7] Ivanovski O, Nikolov IG. Atherosclerosis and vascular calcification in uraemia—a new experimental model[J]. Prilozi, 2007, 28(1): 11-24.
- [8] 巴震, 季乃军, 陈东海, 等. 血清肌红蛋白和 β 2-微球蛋白测定对慢性心力衰竭患者肾功能损害的评价[J]. 临床医学, 2007, 27(6): 86-88.
- [9] 干艳捷, 章艳萍, 何琼, 等. 慢性肾功能衰竭患者心肌肌钙蛋白 T 水平的临床观察[J]. 山西医药杂志: 上半月, 2011, 40(9): 923-924.
- [10] 张丽娜, 寇筱因, 曹艳菲, 等. 血浆 NT-proBNP 水平评价慢性肾病患者左心室功能[J]. 放射免疫学杂志, 2012, 25(1): 58-60.

(收稿日期: 2014-01-28)