

大肠埃希菌表型分布及其耐药性分析

刘素玲, 王 媚, 何启勇, 张莉滢, 黄爱伟, 陈柳勤

(广东省人民医院病理医学部, 广东 广州 510080)

[摘要] **目的** 调查临床分离的大肠埃希菌产不同 β -内酰胺酶株分布情况、表型特征及耐药现状。**方法** 收集某院 2007 年 7 月—2008 年 7 月临床分离大肠埃希菌株, 用 VITEK 2 Compact 对其进行鉴定和 17 种常用抗菌药物的药敏试验, 以高级专家系统软件 (AESTM) 验证和解释药敏测试结果。**结果** 421 株大肠埃希菌中, 表型主要分为三类: 产超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 株、产获得性青霉素酶株和野生株。产 ESBLs 菌株共 249 株, 占 59.14%, 其中 67 株为 CTX-M 型; 产获得性青霉素酶菌株 120 株, 占 28.50%; 产碳青霉烯酶菌株 8 株, 占 1.90%; 野生株 47 株, 占 11.16%。产酶总阳性率为 88.84% (374/421)。主要标本来源为洁净中段尿, 分离 174 株 (41.33%), 其次为痰标本 101 株 (23.99%); 而科室来源则比较分散, 最多为肾内科 39 株 (9.26%)。各型产酶株的耐药性有很大差异; 产 ESBLs 仍是大肠埃希菌产生耐药性的主要原因, 其对大多数 β -内酰胺类抗生素的耐药性明显高于产获得性青霉素酶株和野生株 ($P < 0.05$), 并对大多数抗菌药物高度耐药。**结论** 大肠埃希菌产酶率非常高, 并存在多种耐药表型, 其中以产 ESBLs 最为常见; 产酶株的多重耐药和交叉耐药现象十分严重, 应高度重视对产酶株的监控, 合理使用抗菌药物, 以控制耐药株的产生与扩散。

[关键词] 大肠埃希菌; 耐药表型; 超广谱 β -内酰胺酶; 获得性青霉素酶; 碳青霉烯酶; 抗药性; 微生物; 微生物敏感性试验; 抗菌药物

[中图分类号] R378.2⁺1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2009)02-0094-04

Phenotypes and drug resistance of clinical isolates of *Escherichia coli*

LIU Su-ling, WANG Mei, HE Qi-yong, ZHANG Li-yan, HUANG Ai-wei, CHEN Liu-qin
(Guangdong General Hospital, Guangzhou 510080, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the distribution, phenotypes and resistance profiles of different kinds of β -lactamases-producing *Escherichia coli* (*E. coli*) isolated from clinic. **Methods** *E. coli* isolated from a hospital between July 2007 and July 2008 were collected, VITEK 2 Compact was used to identify and perform antimicrobial susceptibility test, phenotypes were determined by AESTM (Advanced Expert System) of VITEK 2 Compact. **Results** Among 421 collected isolates, 249 (59.14%) were extended-spectrum β -lactamases-producing (ESBLs) strains, including 67 CTX-M-producing isolates; 120 (28.50%) were acquired-penicillinase-producing isolates; 8 (1.90%) were carbapenemase-producing isolates; 47 (11.16%) were wild type isolates. The total β -lactamases-producing rate was 88.84% (374/421). 174 (41.33%) isolates were from mid-portion urine, 101 (23.99%) were from sputum; 39 (9.26%) isolates were from renal department, the other isolates were from the other departments. The resistant rates of various phenotypes of *E. coli* to most antimicrobial agents were quite different; The producing of ESBLs was the main cause of drug-resistance of *E. coli*, the resistant rates of ESBLs-producing isolates were higher than acquired-penicillinase-producing isolates and wild type isolates ($P < 0.05$) and were highly resistant to most antimicrobial agents. **Conclusion** β -lactamases-producing rates of *E. coli* are high, and with various phenotypes, the most common phenotype is ESBLs; The multiply and cross drug-resistance of ESBLs-producing isolates are serious, and the monitor should be paid attention, antimicrobial application should be used rationally, so as to control the emergence and spread of drug-resistant strains.

[Key words] *Escherichia coli*; drug-resistant phenotype; extended-spectrum β -lactamases; acquired penicillinase; carbapenemase; drug resistance, microbial; antimicrobial susceptibility test; antimicrobial agents

[收稿日期] 2008-09-23

[作者简介] 刘素玲 (1979-), 女 (土家族), 湖北省恩施市人, 技师, 主要从事临床微生物及医院感染管理研究。

[通讯作者] 刘素玲 E-mail: liuliu_sky@126.com

[Chin Infect Control, 2009, 8(2): 94-97]

大肠埃希菌是临床分离的常见菌,其对 β -内酰胺类抗生素最主要的耐药机制是产生多种 β -内酰胺酶。随着 β -内酰胺类抗生素特别是三代头孢菌素在临床的广泛应用,产生各种不同耐药表型,给临床治疗带来了困难。我们通过对临床分离的大肠埃希菌进行耐药表型及 β -内酰胺酶检测,以探讨大肠埃希菌产 β -内酰胺酶株在医院中的表型分布趋势、流行及耐药现状。现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株收集与种属鉴定 421 株大肠埃希菌分离自 2007 年 7 月—2008 年 7 月广东省人民医院住院和门诊患者的各种临床送检标本,无重复分离株。全部菌株均经 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定仪(法国生物梅里埃公司)鉴定。

1.2 产 β -内酰胺酶株的筛选 通过 VITEK 2 Compact 的高级专家系统软件(AES™)验证和解释药敏测试结果,并筛选出产酶株。

1.3 体外药敏试验 采用最低抑菌浓度(MIC)法进行体外药敏试验,操作和结果判读参照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2007 年推荐的标准。受试抗菌药物共 17 种,分别为:氨苄西林(AMP)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、头孢唑林(CFZ)、头孢他啶(CAZ)、头孢替坦(CTT)、头孢曲松(CRO)、头孢吡肟(FEP)、氨曲南(ATM)、亚胺培南(IPM)、庆大霉素(GEN)、阿米卡星(AMK)、妥布霉素(TOB)、左氧氟沙星(LVX)、环丙沙星(CIP)、呋喃妥因(NIT)、复方磺胺甲噁唑(SXT)。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922。

2 结果

2.1 大肠埃希菌标本来源及产 β -内酰胺酶类型分布

2.1.1 大肠埃希菌标本来源 临床分离大肠埃希菌的主要标本来自于洁净中段尿 174 株(41.33%),痰液 101 株(23.99%),全血 47 株(11.17%),详见表 1;科室来源则比较分散,最多为肾内科 39 株(9.26%)。

2.1.2 大肠埃希菌产酶类型及其分布 见表 2。421 株大肠埃希菌主要分为三类:产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)株、产获得性青霉素酶株和野生株。

产 ESBLs 菌株共 249 株(A 组 + B 组 + C 组 + D 组),占 59.14%(249/421),其中 67 株为 CTX-M 型;产获得性青霉素酶菌株 120 株(C 组 + E 组 + F 组 + G 组),占 28.50%(120/421);产碳青霉烯酶株 8 株(D 组 + H 组),占 1.90%(8/421);野生株 47 株,占 11.16%(47/421)。产酶总阳性率为 88.84%(374/421)。

表 1 421 株大肠埃希菌标本来源

Table 1 Sample sources of 421 strains of *E. coli*

| 标本 | 分离株数 | % |
|--------|------|--------|
| 洁净中段尿 | 174 | 41.33 |
| 痰液 | 101 | 23.99 |
| 全血 | 47 | 11.17 |
| 伤口分泌物 | 19 | 4.51 |
| 引流液 | 15 | 3.56 |
| 支气管冲洗液 | 13 | 3.09 |
| 其他 | 52 | 12.35 |
| 合计 | 421 | 100.00 |

表 2 421 株大肠埃希菌产酶类型分布

Table 2 Types of enzymes produced by 421 strains of *E. coli*

| 分组 | 表型 | 株数 | % |
|----|---------------------|-----|--------|
| A | ESBLs(不包括 CTX-M 型) | 179 | 42.52 |
| B | ESBLs(CTX-M 型) | 67 | 15.91 |
| C | ESBLs + 获得性青霉素酶 | 2 | 0.48 |
| D | ESBLs + 碳青霉烯酶 | 1 | 0.24 |
| E | 获得性青霉素酶 | 64 | 15.20 |
| F | 获得性青霉素酶 + 头孢菌素酶 | 26 | 6.18 |
| G | 获得性青霉素酶 + 耐酶抑制剂青霉素酶 | 28 | 6.65 |
| H | 碳青霉烯酶 | 7 | 1.66 |
| I | 野生型 | 47 | 11.16 |
| | 合计 | 421 | 100.00 |

2.2 大肠埃希菌药敏试验结果

2.2.1 不同产酶菌株的耐药率 大肠埃希菌随着产酶率增高,对抗菌药物的耐药性也逐渐增加。不同表型的大肠埃希菌对抗菌药物的耐药谱也明显不同。产获得性青霉素酶表型的菌株对青霉素类抗生素耐药性增加,但头孢类抗生素对其具有很好的抗菌活性;产 ESBLs 菌株对青霉素类、头孢类抗生素耐药性均增加;出现少量产头孢菌素酶和产碳青霉烯酶菌株,产碳青霉烯酶的大肠埃希菌虽然不多,但其耐药谱广,对大部分抗菌药物的耐药率均 $>50\%$;另外,产 β -内酰胺酶的菌株也对非 β -内酰胺类抗菌药物(氨基糖苷类、磺胺类、喹诺酮类)呈现高耐药性,详见表 3。

表 3 不同表型大肠埃希菌耐药率(%)

Table 3 Drug-resistant rates of different phenotypes of *E. coli* (%)

| 抗菌药物 | 不同表型大肠埃希菌 | | | | | | | | |
|------|------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| | A 组(n=179) | B 组(n=67) | C 组(n=2) | D 组(n=1) | E 组(n=64) | F 组(n=26) | G 组(n=28) | H 组(n=7) | I 组(n=47) |
| AMP | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 96.40 | 100.00 | 0.00 |
| SAM | 89.70 | 95.50 | - | 100.00 | 3.30 | 84.00 | 96.40 | 100.00 | 0.00 |
| TZP | 0.60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 14.30 | 0.00 |
| CFZ | 100.00 | 100.00 | - | 100.00 | 0.00 | 58.30 | 0.00 | 85.70 | 0.00 |
| CRO | 95.00 | 70.10 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 8.00 | 0.00 | 85.70 | 0.00 |
| CAZ | 17.90 | 1.50 | 0.00 | 100.00 | 0.00 | 7.70 | 0.00 | 85.70 | 0.00 |
| CTT | 0.60 | 0.00 | - | 0.00 | 0.00 | 8.00 | 0.00 | 57.10 | 0.00 |
| FEP | 39.10 | 11.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 57.10 | 0.00 |
| ATM | 47.50 | 11.90 | 0.00 | 100.00 | 0.00 | 7.70 | 0.00 | 71.40 | 0.00 |
| IPM | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 100.00 | 0.00 |
| GEN | 69.30 | 61.20 | 0.00 | 100.00 | 57.80 | 65.40 | 64.30 | 85.70 | 10.60 |
| AMK | 7.80 | 6.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 11.50 | 10.70 | 0.00 | 0.00 |
| TOB | 30.70 | 22.40 | 0.00 | 100.00 | 4.70 | 19.20 | 25.00 | 14.30 | 0.00 |
| LVX | 86.50 | 76.90 | 50.00 | 100.00 | 64.10 | 73.10 | 78.60 | 71.40 | 23.90 |
| CIP | 89.80 | 78.10 | 50.00 | 100.00 | 66.70 | 73.10 | 78.60 | 71.40 | 25.00 |
| NIT | 4.60 | 6.00 | - | 0.00 | 1.60 | 0.00 | 14.30 | 0.00 | 2.10 |
| SXT | 81.10 | 68.70 | 0.00 | 100.00 | 71.70 | 70.80 | 61.50 | 100.00 | 17.00 |

分组见表 2;表中耐药率均不包括中介值

2.2.2 产获得性青霉素酶型菌株与野生型菌株的耐药率比较 产获得性青霉素酶的大肠埃希菌除了对青霉素类抗生素耐药率高于野生型菌株外,对大部分非 β-内酰胺类抗生素的耐药性也相对野生型菌株增高,见表 4。

表 4 产获得性青霉素酶株与野生株耐药率比较(%)

Table 4 Drug-resistant rates of acquired-penicillinase-producing isolates and wild type isolates (%)

| 抗菌药物 | 产获得性青霉素酶株(n=64) | 野生株(n=47) | χ ² | P |
|------|-----------------|-----------|----------------|------|
| AMP | 100.00 | 0.00 | 111.00 | 0.00 |
| SAM | 3.30 | 0.00 | 0.25 | 0.51 |
| TZP | 0.00 | 0.00 | - | - |
| CFZ | 0.00 | 0.00 | - | - |
| CRO | 0.00 | 0.00 | - | - |
| CAZ | 0.00 | 0.00 | - | - |
| CTT | 0.00 | 0.00 | - | - |
| FEP | 0.00 | 0.00 | - | - |
| ATM | 0.00 | 0.00 | - | - |
| IPM | 0.00 | 0.00 | - | - |
| GEN | 57.80 | 10.60 | 25.64 | 0.00 |
| AMK | 0.00 | 0.00 | - | - |
| TOB | 4.70 | 0.00 | 0.83 | 0.26 |
| LVX | 64.10 | 23.90 | 17.99 | 0.00 |
| CIP | 66.70 | 25.00 | 20.79 | 0.00 |
| NIT | 1.60 | 2.10 | 0.00 | 1.00 |
| SXT | 71.70 | 17.00 | 32.64 | 0.00 |

表中耐药率均不包括中介值

型菌株的耐药率比较 产 ESBLs 菌株中,非 CTX-M 表型菌株对大部分头孢类抗生素的耐药率较 CTX-M 表型菌株高(P<0.05),而对非 β-内酰胺类抗生素的耐药率,两者差异则无显著性(P>0.05)。见表 5。

表 5 产 ESBLs 菌株中 CTX-M 型与非 CTX-M 型菌株耐药率比较(%)

Table 5 Drug-resistant rates of CTX-M type and non-CTX-M type ESBLs-producing isolates (%)

| 抗菌药物 | 产 ESBLs 株 | | χ ² | P |
|------|------------------|---------------|----------------|------|
| | 非 CTX-M 型(n=179) | CTX-M 型(n=67) | | |
| AMP | 100.00 | 100.00 | - | - |
| SAM | 89.70 | 95.50 | 1.94 | 0.21 |
| TZP | 0.60 | 0.00 | - | - |
| CFZ | 100.00 | 100.00 | - | - |
| CRO | 95.00 | 70.10 | 28.88 | 0.00 |
| CAZ | 17.90 | 1.50 | 11.26 | 0.00 |
| CTT | 0.60 | 0.00 | - | - |
| FEP | 39.10 | 11.90 | 16.61 | 0.00 |
| ATM | 47.50 | 11.90 | 26.19 | 0.00 |
| IPM | 0.00 | 0.00 | - | - |
| GEN | 69.30 | 61.20 | 1.44 | 0.28 |
| AMK | 7.80 | 6.00 | 1.09 | 0.28 |
| TOB | 30.70 | 22.40 | 1.66 | 0.21 |
| LVX | 86.50 | 76.90 | 2.94 | 0.12 |
| CIP | 89.80 | 78.10 | 6.38 | 0.02 |
| NIT | 4.60 | 6.00 | 0.024 | 0.74 |
| SXT | 81.10 | 68.70 | 4.28 | 0.06 |

表中耐药率均不包括中介值

2.2.3 产 ESBLs 菌株中 CTX-M 型与非 CTX-M

2.3 产 ESBLs 与非产 ESBLs 菌株的耐药率比较 除亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星和呋喃妥因外,产 ESBLs 株对大多数抗菌药物的耐药率明显高于非产 ESBLs 株($P < 0.05$),并对部分抗菌药物呈高度耐药。见表 6。

表 6 产 ESBLs 株与非产 ESBLs 株耐药率比较(%)

Table 6 Drug-resistant rates of ESBLs-producing and non-ESBLs-producing isolates (%)

| 抗菌药物 | 产 ESBLs 株 (n=249) | 非产 ESBLs 株 (n=172) | χ^2 | P |
|------|----------------------|-----------------------|----------|------|
| AMP | 100.00 | 71.60 | 76.67 | 0.00 |
| SAM | 91.30 | 33.90 | 153.50 | 0.00 |
| TZP | 0.40 | 0.60 | 0.00 | 1.00 |
| CFZ | 100.00 | 12.00 | 336.80 | 0.00 |
| CRO | 88.40 | 4.70 | 287.1 | 0.00 |
| CAZ | 13.70 | 4.70 | 9.18 | 0.00 |
| CTT | 0.40 | 3.60 | 4.19 | 0.02 |
| FEP | 31.30 | 2.30 | 54.54 | 0.00 |
| ATM | 37.80 | 4.10 | 63.28 | 0.00 |
| IPM | 0.00 | 0.00 | - | - |
| GEN | 66.70 | 48.30 | 14.27 | 0.00 |
| AMK | 7.20 | 3.50 | 2.64 | 0.13 |
| TOB | 28.50 | 9.30 | 22.90 | 0.00 |
| LVX | 83.70 | 57.30 | 34.76 | 0.00 |
| CIP | 86.50 | 58.90 | 69.53 | 0.00 |
| NIT | 4.90 | 3.60 | 0.44 | 0.63 |
| SXT | 77.00 | 54.70 | 22.55 | 0.00 |

表中耐药率均不包括中介值

3 讨论

大肠埃希菌为临床常见分离菌,同时也是导致患者感染的常见病原菌,其可引起各种类型的感染,是泌尿道感染的主要病原菌。随着抗菌药物的使用,大肠埃希菌的耐药表型在发生改变,耐药率也随之改变和增加,给临床治疗造成一定困难。本研究中大肠埃希菌的总产酶率为 88.84%,高于国内其他相关统计^[1-2],其中 ESBLs 阳性率高达 59.14%,产头孢菌素酶的菌株也逐渐增多,同时也出现了产碳青霉烯酶的大肠埃希菌。临床分离大肠埃希菌的主要标本来源为洁净中段尿,其次为呼吸道和血标本,与国内其他统计^[2]大致相同;另一方面,大肠埃希菌科室来源则比较分散,最多为肾内科 39 株,占总分离率的 9.26%。

产酶大肠埃希菌已经为常见分离株,而不是因为医院小范围的暴发流行造成的暂时性产酶率增高,必要时可做进一步分子流行病学研究以确证。

大肠埃希菌因为产酶率增高,对抗菌药物的耐药性也随之增加,产酶株耐药率明显高于野生株($P < 0.05$)。产 β -内酰胺酶的菌株也对非 β -内酰胺类抗生素(庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星和复方磺胺甲噁唑)呈现高耐药性,这可能与产酶株也携带对氟喹诺酮类、磺胺类及氨基糖苷类耐药的相关基因所致。

产 ESBLs 是大肠埃希菌产生耐药性的主要原因。产 ESBLs 菌株对大多数抗菌药物的耐药性明显高于产获得性青霉素酶和野生型菌株($P < 0.05$),除亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星和呋喃妥因外,对大多数抗生素呈高度耐药,这与其他研究结果^[2]一致。本组也出现了产头孢菌素酶和耐酶抑制剂菌株,另外出现 7 株由 VITEK 2 Compact 高级专家系统软件(AES™)提示的产碳青霉烯酶菌株,即便 MIC 值在中介范围,也应报告临床为耐药^[3-4],提示体内用药可能失败。

研究表明,产酶大肠埃希菌的分离率已比较高,且呈多种耐药表型,不同表型菌株的耐药谱有很大差异。另外,部分产酶菌株耐药性强,耐药谱广,有效抗菌药物选择余地少,仅限于亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦等,临床上应对此引起足够的重视。一方面要监测耐药表型,紧密结合实验室药敏试验结果,合理选用抗菌药物;另一方面,临床实验室和医院感染管理部门要注意监控感染病原菌动态,并及时切断传播途径,减少产酶菌株的流行。

[参考文献]

- [1] 李冬秀,袁春雷,李介华,等. 某市 8 年间大肠埃希氏菌耐药性变迁及产超广谱 β -内酰胺酶检测[J]. 现代预防医学杂志, 2006, 33(10):1780-1783.
- [2] 宁永忠,王辉,孙宏莉,等. 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产生的超广谱 β -内酰胺酶和质粒 AmpC 型 β -内酰胺酶的分子流行病学研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(10): 944-949.
- [3] Stefaniuk E, Mrowka A, Hrvniewicz W. Susceptibility testing and resistance phenotypes detection in bacterial pathogens using the VITEK 2 System[J]. Pol J Microbiol, 2005, 54(4): 311-316.
- [4] Schwaber M J, Navon-Wenezia S, Chmelnitsky I. Utility of the VITEK 2 Advanced Expert System for identification of extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacter spp* [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(1):241-243.