

临床分离黄杆菌属细菌产 β 内酰胺酶及耐药性分析

罗羽 夏培元 王仙园 殷春红

【摘要】 目的 检测黄杆菌的耐药性和产 β 内酰胺酶(BLA)及超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs)情况,为临床治疗提供理论依据。方法 将临床分离的 6 株黄杆菌属细菌分别以纸片法、双纸片协同法检测其产 BLA 和 ESBLs;用 K-B 法和梯度琼脂平板法检测黄杆菌对抗生素的敏感性,测定其最低抑菌浓度(MIC)。结果 6 株黄杆菌均为产 BLA 菌株,且 >80% 的黄杆菌产 ESBLs;黄杆菌对 β 内酰胺类抗生素耐药率高(MIC 为 32 ~ 256 mg/L),对氟喹诺酮类抗生素及加酶头孢菌素较敏感(MIC 为 0.125 ~ 8.000 mg/L)。结论 院内感染的黄杆菌多产 BLA,并对 BLA 类抗生素高度耐药;由其导致的感染在治疗上建议优先选用氟喹诺酮类抗生素或加酶抑制剂 BLA 类抗生素。

【关键词】 黄杆菌属; β 内酰胺酶类; 超广谱 β 内酰胺酶; 抗生素类

Isolation and analysis of the drug resistance of the flavobacterium and its production of β -lactamases LUO Yu, XIA Pei-yuan, WANG Xian-yuan, YIN Chun-hong, National Base for Drug Clinical Trial, Southwest Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing, 400038. P. R. China

Corresponding Author: XIA Pei-yuan, Email: xiapy61@mail.tmmu.com.cn Tel: 023 - 68754438

【Abstract】 Objective To investigate the drug resistance of flavobacterium and its ability to produce BLA (β -lactamases) and ESBLs (Extended-spectrum β -lactamases). Methods The production of BLA and ESBLs from 6 clinical isolated flavobacterium strains was determined by nitrocefin disc test and double-disc synergy method, respectively. The antibiotic susceptibilities of the strains were determined by Kirby-Bauer disc diffusion test and the agar dilution method and the MIC was assessed. Results All the six flavobacteria were BLA-producing strains and more than 80% of them were ESBLs-producing, and they were highly resistant to β -lactamase antibiotics (MIC 32 - 256 mg/L), but susceptible to fluoroquinolones and cephalosporin with β -lactamase inhibitors (MIC 0.125 - 8 mg/L). Conclusion Most of the flavobacteria in nosocomial infections were β -lactamase-producing and were highly resistant to β -lactamase antibiotics. Fluoroquinolones and β -lactamase antibiotics with lactamase inhibitors should be the first choice for the management of infection caused by flavobacterium.

【Key words】 Flavobacterium; Beta-lactamase; Extended-Rspectrum beta-lactamase; Antibiotics

条件致病菌黄杆菌属细菌常表现为对临床常用抗菌药物的高耐药性,由其导致的院内感染近年来日益增多,被认为是医院感染的重要致病菌^[1]。目前国内已有少量耐药黄杆菌属临床感染的个案分析报道,但对其耐药机制及耐药性的研究甚少。笔者以非重复黄杆菌属细菌为研究对象,检测其产 β 内酰胺酶(β -lactamase, BLA)及超广谱 β 内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)情况,并测定其对抗生素的敏感性,以期为临床治疗黄杆菌属感染、合理使用抗生素提供理论依据。

材 料 与 方 法

1. 菌株来源:黄杆菌(02-23、02-237、02-244、02-258、02-332 及 02-372)分离于第三军医大学西南医院 2002 年 4 月 ~ 2003 年 3 月的各类临床标本,经自动细菌生化鉴定仪(美国 Microscan WalkAway 40)鉴定。质控菌大肠杆菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 由重庆医科大学传染科惠赠。

2. 主要试剂:头孢硝噻吩(nitrocefin)纸片为英国 Glaxo 公司产品;营养琼脂购自杭州微生物试剂有限公司;MH 培养基(pH 7.4 ± 0.2)和 MH 营养肉汤(pH 7.2 ± 0.2)均为中国药品生物制品检定所产品。

3. 抗生素标准品:洛美沙星(LMFX)、依诺沙星(ENX)及环丙沙星(CIP)均为中国药品生物制品检定所标准品;司帕沙星(SPF)标准品由科伦大药厂赠送;头孢他啶(CAZ)、头孢他啶/舒巴坦(CAZ/SUB, 2:1, 1:1)、头孢哌酮(CFP)、头孢哌酮/舒巴坦(CFP/SUB, 2:1, 1:1)、阿莫西林(AMX)、阿莫西林/

基金项目:全军“十五”指令性课题资助项目(011065)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院国家药品临床研究基地[罗羽(现在第三军医大学护理管理学教研室,400038)、夏培元、殷春红];中国人民解放军总后勤部卫生部医疗局(王仙园)

通信(讯)作者:夏培元,Email:xiapy61@mail.tmmu.com.cn, 电话:023 - 68754438

舒巴坦 (AMX/SUB, 2:1) 均为哈尔滨药业集团制药总厂生产的标准品。

4. 药敏纸片:青霉素(P)、苯唑西林(OX)、氨苄西林(AMP)、CAZ、头孢噻肟(CTX)、头孢吡肟(FEP)、头孢曲松(CRO)、头孢西丁(FOX)、氨曲南(ATM)、美罗培南(MEN)、亚胺培南/西司他丁钠盐(IPM)、阿米卡星(AK)、庆大霉素(CN)、四环素(TE)、氯霉素(C)、红霉素(E)、万古霉素(VA)、复方磺胺甲基异恶唑(SMZ)、CIP、氧氟沙星(OFX)和利福平(RD)等 21 种纸片及阿莫西林/克拉维酸(AMC)均为英国 Oxoid 公司产品。

5. 主要仪器:多点接种仪(日本 Sakuma 公司),低温离心机(法国 Jouan 公司),超净工作台(苏净集团),恒温培养箱、恒温震荡培养箱(上海跃进医疗器械厂)。

6. 方法:(1)BLA 及 ESBLs 测定:纸片法测定 BLA:将单个菌落直接涂布于头孢硝噻吩纸片上,纸片在 15min 内变红者判断为产 BLA 阳性。双纸片协同法测定 ESBLs:中央纸片为 AMC,周围纸片分别为 ATM、CAZ、CTX 及 IPM,常规涂菌并孵育后,若任一周围纸片靠近中央纸片侧出现异常扩大,则判断为产 ESBLs 株。(2)药物敏感试验:采用 K-B 纸片法和梯度琼脂平板稀释法测定其最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),用多点接种仪接种细菌,每点约 10 集落生成单位(CFU),35℃ 孵育 16~18 h,并按照美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS, 2002 版)标准^[2]判断结果。

结 果

1. 菌株来源及产 BLA、ESBLs 情况:菌株来源及鉴定情况见表 1。6 株黄杆菌均产 BLA,除 02-332

菌株外,其余 5 株菌均为产 ESBLs 株。

表 1 6 株黄杆菌标本来源及菌种分类
Tab 1 The origin and the identification of the 6 *Flavobacterium* strains

菌株	科室	标本来源	菌种分类
02-23	重症监护病房	痰	短黄杆菌
02-237	烧伤科	血	短黄杆菌
02-244	重症监护病房	胸水	短黄杆菌
02-258	重症监护病房	血	短黄杆菌
02-332	脑外科	痰	芳香黄杆菌
02-372	呼吸科	痰	短黄杆菌

2. 黄杆菌对 21 种抗生素 K-B 法体外药物敏感实验结果:6 株黄杆菌对 P、OX、AMP、FOX、CAZ、CRO、CTX 等青霉素及 β 内酰胺类抗生素耐药率较高,为 66.7%~100.0%;对 ATM 的耐药率 >80.0%;对 IPM、MEN 等碳青霉烯类抗生素的耐药率为 50.0%;但对 CIP、OFX 等喹诺酮类抗生素较敏感,耐药率仅为 16.7%;同时 AK、TE、C、VA、E、RD 等对所测试的 6 株黄杆菌也较敏感。见表 2。

表 2 21 种抗生素对 6 株黄杆菌的耐药率(%)
Tab 2 In vitro susceptibility of 6 *Flavobacteria* to 21 antibiotics by Kirby-Bauer test (%)

抗生素	耐药率	抗生素	耐药率	抗生素	耐药率	抗生素	耐药率
P	100.0	ATM	83.3	FEP	33.3	RD	33.3
OX	100.0	GN	100.0	VA	50.0	OFX	16.7
AMP	100.0	IPM	50.0	C	50.0	CIP	16.7
FOX	100.0	MEN	50.0	CAZ	66.7	TE	16.7
CTX	83.3	AK	33.3	CRO	66.7	SMZ	100.0
E	33.3						

注:P-青霉素,OX-苯唑西林,AMP-氨苄西林,CAZ-头孢他啶,CTX-头孢噻肟,FEP-头孢吡肟,CRO-头孢曲松,FOX-头孢西丁,ATM-氨曲南,MEN-美罗培南,IPM-亚胺培南/西司他丁钠盐,AK-阿米卡星,CN-庆大霉素,TE-四环素,C-氯霉素,E-红霉素,VA-万古霉素,SMZ-复方磺胺甲基异恶唑,CIP-环丙沙星,OFX-氧氟沙星,RD-利福平

3. 黄杆菌对 12 种氟喹诺酮类及加酶抑制剂的 BLA 类抗生素的敏感性(梯度琼脂平板稀释法):黄

表 3 黄杆菌对 12 种抗生素的最低抑菌浓度(mg/L)
Tab 3 MICs of 12 antibiotics to 6 clinical isolated *Flavobacteria* (mg/L)

抗生素	菌株						
	02-23	02-237	02-244	02-258	02-332	02-372	
CAZ	32.000 ^R	256.000 ^R	256.000 ^R	256.000 ^R	64.000 ^R	1.000	
CAZ/SUB(2:1)	8.000	256.000 ^R	256.000 ^R	64.000 ^R	32.000 ^R	1.000	
CAZ/SUB(1:1)	4.000	4.000	16.000	32.000 ^R	8.000	1.000	
CFP	256.000 ^R	256.000 ^R	128.000 ^R	128.000 ^R	256.000 ^R	256.000 ^R	
CFP/SUB(2:1)	8.000	8.000	16.000	128.000 ^R	128.000 ^R	8.000	
CFP/SUB(1:1)	2.000	2.000	8.000	128.000 ^R	64.000 ^R	4.000	
AMX	>256.000 ^R	256.000 ^R	256.000 ^R	64.000 ^R	256.000 ^R	256.000 ^R	
AMX/SUB(2:1)	8.000 ^R	8.000 ^R	64.000 ^R	32.000 ^R	128.000 ^R	8.000 ^R	
ENX	256.000 ^R	1.000	2.000	1.000	2.000	0.125	
LMFX	16.000 ^R	0.250	2.000	0.500	1.000	0.125	
SPFX	1.000	<0.063	0.125	<0.063	0.250	<0.063	
CIP	6.000 ^R	0.125	1.000	0.500	1.000	<0.063	

注:CAZ-头孢他啶,CAZ/SUB-头孢他啶/舒巴坦,CFP-头孢哌酮,CFP/SUB-头孢哌酮/舒巴坦,AMX-阿莫西林,AMX/SUB-阿莫西林/舒巴坦,ENX-依诺沙星,LMFX-洛美沙星,SPFX-司帕沙星,CIP-环丙沙星。R:耐药

杆菌对 CFP 和 AMX 高度耐药、对 CAZ 中度耐药;但 SUB 能显著增加 CAZ、CFP 及 AMX 的敏感性,且存在一定量效关系;对 ENX、LMFX、SPFX 和 CIP 等氟喹诺酮类抗生素高度敏感,见表 3。

讨 论

产 BLA 是细菌对 BLA 类抗生素耐药的重要机制^[3],本研究显示临床分离黄杆菌属细菌普遍产 BLA,且超过 80.0% 为产 ESBLs 菌株,这一比例远高于临床最常见的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,提示本单位院内感染的黄杆菌产 ESBLs 的情况已相当严重。出现这一现象的原因,可能与本研究的受试菌大多来自重症监护病房(ICU)、烧伤科等医院中细菌耐药性最强的地方有关。烧伤和 ICU 病区由于收治的患者病情重、病程长,易合并发生多重感染,使用抗生素除品种较新和用量较大外,且多联合 2 种或 3 种抗生素进行治疗,或一种抗生素的疗程结束后立即换用另一种抗生素,使环境中的抗生素选择性压力长期处于高水平状态,是滋生高度耐药菌株和发生细菌耐药性较严重的院内区域^[4]。

关于黄杆菌对临床常用抗菌药物的敏感性,文献报道悬殊。曾有人测试临床分离的黄杆菌对 19 种抗菌药物的敏感性,结果 CFP、CAZ 和 IPM 的敏感率为 51.0% ~ 71.0%,对氟喹诺酮类抗生素完全敏感^[5]。本研究显示,黄杆菌对氟喹诺酮类、VA、TE、E、RD、C 和 AK 等抗生素的敏感率均 >80.0%,

对其他类型抗生素(除 FEP 外)的耐药率比较高。ESBLs 对 BLA 抑制剂普遍敏感^[6],笔者的研究也证实酶抑制剂 SUB 能显著增强黄杆菌对 BLA 类抗生素的敏感性,且存在一定的量效关系,建议在临床治疗由黄杆菌属细菌导致的感染时,应优先考虑使用氟喹诺酮类抗生素或加酶抑制剂的 BLA 类药物。

细菌 BLA 耐药基因可以通过转座等方式结合到染色体,携带耐药酶基因的质粒通过结合、转化和转导等机制使耐药性在细菌间进一步扩散。因此,在 ICU、烧伤科、脑外科等重点病区强化合理使用抗生素的管控力度,切断各种可能导致耐药基因及其耐药性的传播和扩散的途径已刻不容缓。

参 考 文 献

- 1 Bellais S, Poirel L, Leotard S, et al. Genetic diversity of carbapenem-hydrolyzing metallo-lactamase from chryseobacterium (*Flavobacterium*). *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44 : 3028 - 3034.
- 2 National committee for clinical laboratory standards. M2-A7 Performance standards for Antimicrobial Disk susceptibility Tests. M100 - S12 NCCLS, 2002, 22: 42 - 46.
- 3 夏培元,肖光夏.细菌对抗生素的耐药性——一个必须面对的严重问题. *中华烧伤杂志*, 2001, 17: 71 - 74.
- 4 许伟石.烧伤治疗中抗生素的应用问题. *中华烧伤杂志*, 2001, 17: 69 - 70.
- 5 董衡,贺凤凤,王明贵.黄杆菌属细菌感染 52 例抗菌治疗分析. *中国实用内科杂志*, 1999, 19: 435 - 443.
- 6 刘旭盛,李江,黄跃生,等.烧伤感染患者应用舒普深 14 例临床观察. *中华烧伤杂志*, 2001, 17: 122.

(收稿日期:2003 - 07 - 18)

(本文编辑:张 红)

· 经验交流 ·

温泉水浸浴治疗大面积烧伤残余创面 51 例

牙生·买买提 沙力木江 冯德华

临床资料:本组患者 51 例,其中男 43 例、女 8 例,年龄 8 ~ 43 岁。致伤原因:火焰烧伤 34 例,热水烫伤 15 例,化学烧伤 2 例。烧伤总面积 31% ~ 85% TBSA,深 II、III 度。残余创面形成时间为伤后 2 个月 ~ 4 年,创面直径 0.5 ~ 8.0 cm。创面数 1 ~ 15 处/人,创面有不同程度的感染,有脓液渗出、味臭,在当地医院治疗后未愈收入笔者单位。创面细菌培养示:金黄色葡萄球菌 28 例,铜绿假单胞菌 4 例,大肠杆菌 3 例,无菌生长 16 例。本组患者入院后接受温泉水浸浴治疗。

浸浴前去除外层敷料,用温泉水浸浴 5 min,然后用无菌纱布擦除创面分泌物,继续浸浴 15 ~ 20 min。浸浴毕,对于直径大于 3 cm 的创面用莫匹罗星软膏包扎。浸浴 1 次/d。8 ~ 14 次后创面全部愈合,无一例再行植皮手术。

讨论 本组患者浸浴的温泉水按中国医疗矿泉水分类

为硫化氢(H₂S)及重碳酸钠水,水温 38 ~ 40℃,含有多种微量元素(H₂S 5.2 mg/L, HCO₃⁻ 2839.0 mg/L, Na⁺ 2419.0 mg/L, 硼酸 395.0 mg/L, HSO₄⁻ 186.0 mg/L, Ca²⁺ 6.0 mg/L, Mg²⁺ 10.0 mg/L)。H₂S 在皮肤上形成硫化碱,能软化、溶解角质,有直接扩张毛细血管和细小动脉、加强皮肤血液循环的作用。温水浴可减轻感染,促进坏死组织脱落。早期浸浴能预防和控制感染,减轻疼痛,并刺激肉芽及上皮组织生长,加速创面愈合,利于肢体功能的恢复^[1]。笔者单位采用温泉水浸浴治疗大面积烧伤后残余创面,方法简单,避免进行植皮手术,从而减轻了患者的痛苦,值得推广。

参 考 文 献

- 1 杨俊立,赵雪清,杨俊涛,等.大面积深度烧伤残创面的矿泉水浸浴疗法. *中华烧伤整形外科杂志*, 1997, 4: 313.

(收稿日期:2002 - 10 - 30)

(本文编辑:苟学萍)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学附属第一医院烧伤整形科