

· 临床论著 ·

耐左氧氟沙星大肠埃希菌的耐药性分析

游春芳 周利民 张肃川 殷明刚 伍欢

【摘要】 目的 了解本院临床分离的大肠埃希菌的耐药情况,分析耐左氧氟沙星细菌的耐药性。**方法** 对 2009 年 8 月至 2010 年 8 月本院临床分离的 154 株大肠埃希菌用 Kirby-Bauer 琼脂扩散法进行药物敏感试验。**结果** 154 株大肠埃希菌中共检出耐左氧氟沙星菌 76 株,检出率 49.35%。在各类标本中,尿液中耐左氧氟沙星菌株分离率最高(51.32%),其次为痰(23.68%)。除亚胺培南、美罗培南、头孢西丁、哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星外,耐左氧氟沙星菌株对氨苄西林、头孢唑啉、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢他啶、庆大霉素、头孢哌酮/舒巴坦的耐药率明显高于非耐左氧氟沙星菌株($P < 0.05$)。**结论** 本院耐左氧氟沙星大肠埃希菌株对多种药物表现出较高的耐药率,应加强对耐左氧氟沙星大肠埃希菌的耐药性监测,严格掌握抗菌药物的使用指征,防止耐药菌株的传播流行。

【关键词】 大肠埃希菌;氧氟沙星;抗药性

Analysis on drug resistance of *Escherichia coli* resistant to Levofloxacin YOU Chun-fang, ZHOU Li-min, ZHANG Su-chuan, YIN Ming-gang, WU Huan. Department of Infectious Diseases, Zigong First Peoples' Hospital, Zigong 643000, China

【Abstract】 Objective To investigate the isolated rate of *Escherichia coli* among Zigong First Peoples' Hospital and analyze the drug resistance of strains resistant to Levofloxacin. **Methods** Kirby-Bauer's detection technique was applied to detect the resistance feature in 154 strains of *Escherichia coli* collected from August 2009 to August 2010. **Results** Total of 76 strains resisted to Levofloxacin were detected in 154 strains of *Escherichia coli*, with the detection rate as 49.35%. Among the specimens, the isolated rate of strains resistant to Levofloxacin in urina was the highest (51.32%) and the second was in sputum (23.68%). Except for imipenem, mloopenem, cefoxitin, piperacillin/tazobatan and amikacin, the resistance rate of Levofloxacin-resistant strains were significantly higher than that of non-Levofloxacin-resistant strains to ampicillin, cefazolin, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, gentamycin, cefoperazone/sulbactam ($P < 0.05$). **Conclusions** Levofloxacin-resistant *Escherichia coli* is resistant to many antibacterial agents. Monitoring of Levofloxacin-resistant

strains should be strengthened and the indication of antibiotics must be mastered strictly to prevent the dissemination of drug resistant strains.

【Key words】 *Escherichia coli*; Ofloxacin; Drug resistance

大肠埃希菌为临床分离的革兰阴性杆菌中最常见的菌种,其作为重要的条件致病菌广泛存在于自然界。以往的研究显示,细菌对喹诺酮类药物耐药主要由靶位改变及主动外排两种机制所致,二者均由染色体突变所介导^[1]。质粒介导的喹诺酮类抗菌药物耐药是近 10 年新发现的细菌耐药机制,主要由耐药基因 *qnr* 介导,作用机制是其编码的蛋白质对喹诺酮类药物靶点的保护(保护 DNA 解旋酶和拓扑异构酶 IV),导致药物治疗失败^[2]。因此,耐左氧氟沙星细菌易引起医院感染的暴发流行。本研究收集 2009 年 8 月至 2010 年 8 月本院临床分离的 154 株大肠埃希菌,通过药物敏感试验以了解本地区大肠埃希菌耐药情况并分析耐左氧氟沙星菌株对 12 种抗菌药物的耐药特性。

资料和方法

一、菌株

实验菌株:154 株大肠埃希菌临床分离株(不含同一病例相同部位重复分离株)来自自贡市第一人民医院 2009 年 8 月至 2010 年 8 月期间感染大肠埃希菌的患者。其中泌尿系统感染者 84 例,呼吸道感染者 30 例,全身感染者 19 例,外科切口感染者 13 例,其他感染者 8 例;全部菌株均重新经 VITEK 系统(BioMerieux, 法国)鉴定确认。

标准菌株:大肠埃希菌 ATCC25922(购自杭州天和微生物试剂有限公司)。

二、试剂

抗菌药物药敏纸片:氨苄西林、头孢唑啉、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢他啶、头孢西丁、庆大霉素、阿米卡星、左氧氟沙星、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美罗培南(购自杭州天和微生物试剂有限公司)。

培养基:MH 琼脂培养基(购自杭州天和微生物试剂有限公司)、LB 培养基(购自上海生工)、胰大豆蛋白胨肉汤(购自杭州天和微生物试剂有限公司)。

三、药物敏感试验

采用 KB 纸片扩散法,药敏结果均按照美国 CLSI/NCCLS 2006 年标准判定,以敏感(S)、中介(I)、耐药(R)报告结果。

四、统计学处理

文中的数据和表格采用 Excel 进行分析,耐药率比较采用 SPSS 11.0 统计学软件进行 χ^2 检验。

结 果

一、耐左氧氟沙星菌株在不同标本中的分布

2009 年 8 月至 2010 年 8 月临床分离的 154 株大肠埃希菌中共检出耐左氧氟

沙星菌 76 株,检出率 49.35%。不同标本中耐左氧氟沙星菌株的检出率有所差异,尿液标本中检出率相对较高,如图 1。

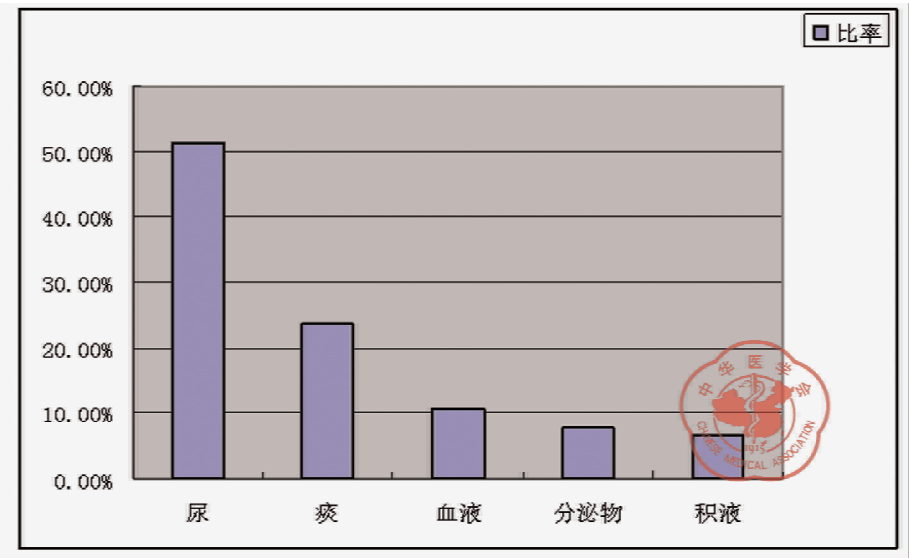


图 1 耐左氧氟沙星菌株在不同标本中的分布

二、耐左氧氟沙星菌株与非耐左氧氟沙星菌株耐药率比较

76 株耐左氧氟沙星菌株中,对氨苄西林的耐药率高达 96.05%,而对亚胺培南、美罗培南则均敏感。与非耐左氧氟沙星菌相比,除头孢西丁、哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星外,耐左氧氟沙星菌株对其余抗生素的耐药差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 耐左氧氟沙星菌株与非耐左氧氟沙星菌株耐药率比较

抗菌药物	耐 LOF (76 株)				非耐 LOF (78 株)				P 值
	R	I	S	耐药率 (%)	R	I	S	耐药率 (%)	
氨苄西林	73	0	3	96.05	54	1	23	70.51	^a 0.000
头孢唑啉	68	0	8	89.47	32	1	45	42.31	^a 0.000
哌拉西林/他唑巴坦	3	3	70	7.89	5	2	71	8.97	0.810
头孢噻肟	53	4	19	75.00	24	0	54	30.77	^a 0.000
头孢哌酮/舒巴坦	4	17	55	27.63	3	3	72	7.69	^a 0.001
头孢他啶	13	12	51	32.89	6	0	72	7.69	^a 0.000
头孢吡肟	32	10	34	55.26	4	2	72	7.69	^a 0.000
头孢西丁	4	0	72	5.26	3	1	74	5.13	1.000
亚胺培南	0	0	80	0.00	0	0	74	0.00	
美罗培南	0	0	80	0.00	0	0	74	0.00	
ESBLs	59	0	17	77.63	21	0	57	26.92	^a 0.000
庆大霉素	55	2	19	75.00	22	3	53	32.05	^a 0.000
阿米卡星	2	1	73	3.95	1	0	77	1.28	0.594

注:R:耐药,I:中介敏感,S:敏感;统计方法采用四格表 χ^2 检验,^a 示 $P < 0.05$,差异有统计学意义。

讨 论

目前,大肠埃希菌对氟喹诺酮类药物耐药机制包括药物作用靶位的改变、膜通透性降低、主动外排活跃及质粒介导的耐药机制,可单独或协同作用,使细菌发生对氟喹诺酮类药物耐药,甚至多重耐药^[3]。近年来我国多项监测表明大肠埃希菌对喹诺酮耐药率高达 70%^[4-6],明显高于国外,也高于其他肠杆菌科细菌,已成为医院感染的重要病原菌之一。本研究发现本院 154 株大肠埃希菌中共检出耐左氧氟沙星菌 76 株,检出率 49.35%。可见本院大肠埃希菌对喹诺酮类药物耐药的发生率相对较高,但低于国内平均水平。

大肠埃希菌耐左氧氟沙星的发生率在不同标本中有明显差异。本研究结果显示耐左氧氟沙星的大肠埃希菌主要来源于尿液和痰,提示本院大肠埃希菌感染主要见于泌尿道和呼吸道。大肠埃希菌是一种革兰阴性条件致病菌,正常菌群多分布于人体的呼吸道、消化道和泌尿道,通常在人体免疫力低下时在这些部位发展成致病菌而感染致病。

本研究结果中,耐左氧氟沙星大肠埃希菌对除亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、头孢西丁和哌拉西林/他唑巴坦外的其他 7 种抗菌药物的耐药性明显高于非耐左氧氟沙星菌株,差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示大肠埃希菌对喹诺酮类药物的耐药可加重其对 β -内酰胺类、氨基糖苷类药物的耐药。1998 年,第一个喹诺酮类耐药质粒(pMG252)在美国阿拉巴马州临床分离的 1 株肺炎克雷伯菌中被发现^[7],该质粒可将喹诺酮耐药性转移至大肠埃希菌,从而对 β -内酰胺类、氨基糖苷类、氯霉素、磺胺类抗菌药物耐药。后来在该质粒内发现了喹诺酮耐药基因 qnr。流行病学调查提示 qnr 广泛分布于革兰阴性菌中^[8-11]。进一步研究发现 qnr 质粒较大,约 10000 ~ 50000 bp^[11],同时携带多种对抗菌药物的耐药决定簇,其中包括(1) aac 基因:编码乙酰转移酶,介导对氨基糖苷类药物耐药;(2) bla 基因:编码 FOX-5、DHA-1、OxA-30 和 SHV-7 型 β -内酰胺酶,介导对 β -内酰胺类耐药。Robicsek, Jacoby 等^[12-13]也认为,所有的 qnr 阳性菌株均与超广谱 β -内酰胺酶、质粒型 AmpC 酶以及碳青霉烯酶等关系密切,包含 qnrB 的细菌多为产 SHV-12 和 CTX-M-15 型 ESBLs 的肠杆菌科细菌。国内也有文献报道^[14-15]大肠埃希菌携带的 qnr 基因多数与 ESBLs 基因共存。多种抗菌药物耐药决定簇共存于一种可转移的质粒上,预示着任何一种抗菌药物耐药的发生都可能伴随其他抗菌药物耐药基因的表达,从而导致严重的院内交叉耐药菌株扩散。

本研究中,哌拉西林/他唑巴坦的耐药率为 7.89%,与非耐左氧氟沙星组相比,差异无统计学意义,这是由于哌拉西林/他唑巴坦对大肠埃希菌具有较高抗菌活性;耐左氧氟沙星菌株对头孢西丁耐药率相对低的原因可能是因为在本院使用较少且其耐药主要由染色体介导的 AmpC 酶引起;碳青霉烯类的亚胺培南、美罗培南抗菌谱极广,抗菌效果极强,故目前耐药率低。氨基糖苷类抗菌药物对大肠埃希菌的耐药主要是产生氨基糖苷类修饰酶,这些酶存在于质粒和染色体上。阿米卡星对耐左氧氟沙星大肠埃希菌显示出一定的抗菌活性,这是由于其对细菌产

生的钝化酶更稳定,从而具有更高的抗菌活性,临床上可将其用于治疗耐左氧氟沙星菌引起的感染。

随着喹诺酮类抗菌药物的广泛应用,大肠埃希菌对喹诺酮类药物的耐药发生率有增高趋势,而且在不同抗菌药物间存在着交叉耐药。因此临床上应根据药敏结果选用合理的抗菌药物,延缓耐药菌株的产生。通过对本地耐左氧氟沙星大肠埃希菌耐药性的分析,提示今后临床上对耐左氧氟沙星大肠埃希菌引起的感染不应首选头孢菌素和青霉素类抗菌药物,而应选用亚胺培南、美罗培南等碳青霉烯类或阿米卡星或哌拉西林/他唑巴坦等药物。

参 考 文 献

- 1 黄俊,李从荣,吕霞. 质粒介导喹诺酮耐药基因 *qnr* 在大肠埃希菌中流行现状及耐药特征. 现代检验医学杂志,2007,22(6):42-44.
- 2 李涛,熊自忠,沈继录,等. 大肠埃希菌与克雷伯菌属细菌 *qnr* 基因的检测. 检验医学,2005,20(2):112-114.
- 3 Pereima AS, Andrade SS, Monteiro J, et al. Evaluation of the Susceptibility profiles, genetic similarity and presence of *qnr* gene in *Escherichia coli* resistant to ciprofloxacin isolated in Brazilian hospitals. Braz J Infect Dis,2007,11(1):40-43.
- 4 王辉,陈民钧,倪语星,等. 2003-2004 年中国十家教学医院革兰阴性菌的耐药分析. 中华检验医学杂志,2005,28(12):1295-1303.
- 5 李景云,马越,张力,等. 临床 52 家医院常见分离菌株的药物敏感性监测. 中华检验医学杂志,2006,29(5):452-457.
- 6 王世瑜,张坚磊,蒋萍,等. 大肠埃希菌 *gyrA*, *parC* 和 *marOR* 基因突变与喹诺酮耐药的相关性. 天津医药,2008,36(5):346-348.
- 7 Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet,1998,351(9105):797-799.
- 8 Mammeri H, van De Loo M, Poirel L, et al. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. Antimicrob Agents Chemother,2005,49(1):71-76.
- 9 Wu JJ, Ko WC, Tsai SH, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *QnrA*, *QnrB* and *QnrS* among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in a Taiwanese hospital. Antimicrob Agents Chemother,2007,51(4):1223-1227.
- 10 Strahilevitz J, Engelstein D, Adler A, et al. Changes in *qnr* prevalence and fluoro-quinolone resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. collected from 1990 to 2005. Antimicrob Agents Chemother,2007,51(8):3001-3003.
- 11 Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, et al. Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the *qnr* gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother,2004,48(4):1295-1299.
- 12 Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. Lancet Infect Dis,2006,6(10):629-640.
- 13 Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, et al. *QnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother,2006,50(4):1178-1182.
- 14 陈文科,周强,张文. 广州地区大肠埃希菌 *qnrB* 耐药基因与细菌耐药的研究. 现代检验医学杂志,2010,25(2):108-109,112.
- 15 韩晨曦,王爱华,杨永弘,等. 儿科临床分离株中质粒介导喹诺酮类药物耐药基因 *qnr* 在产 ESBLs 或 AmpC 酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中的流行. 中国感染与化疗杂志,2009,9(6):430-435.

(收稿日期:2011-01-10)

(本文编辑:孙荣华)

游春芳,周利民,张肃川,等. 耐左氧氟沙星大肠埃希菌的耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2011,5(3):297-301.