

# 葡萄球菌对克林霉素诱导性耐药的检测及分析

李红凌, 罗湘蓉<sup>△</sup>, 陈 俐(贵州省人民医院中心实验室, 贵阳 550002)

**【摘要】 目的** 了解贵州省人民医院葡萄球菌临床分离株对红霉素和克林霉素的耐药性, 检测红霉素对克林霉素诱导性耐药的发生率。**方法** 用 K-B 法检测葡萄球菌对红霉素和克林霉素的耐药性, 用 D-试验检测克林霉素诱导性耐药。**结果** 165 株葡萄球菌 D-试验阳性率为 14.6% (24/165)。对红霉素耐药同时对克林霉素敏感的葡萄球菌 52 株, D-试验阳性率为 46.1% (24/52); 红霉素和克林霉素均敏感的葡萄球菌为 24 株, D-试验均为阴性; 红霉素和克林霉素均耐药的葡萄球菌 89 株, D-试验均阴性; D-试验阳性菌株分布在耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)、耐甲氧西林的凝固酶阴性葡萄球菌(MRSCNS)、耐甲氧西林敏感的凝固酶阴性葡萄球菌(MSSCNS)菌株中, 阳性率分别为: MRSA 为 12.5% (5/40), MSSA 为 6.67% (1/15), MRSCNS 为 14.6% (15/103), MSSCNS 为 42.8% (3/7)。**结论** 对表型为红霉素耐药同时对克林霉素敏感的葡萄球菌, 应进行 D-试验, 检测克林霉素的诱导性耐药, 避免不适当使用克林霉素导致临床上的治疗失败。

**【关键词】** 葡萄球菌; 红霉素; 克林霉素; 诱导性耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.09.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)09-1037-02

**Test and analysis of drug resistance of Staphylococcus against induced clindamycin** LI Hong-lin, LUO Xiang-rong<sup>△</sup>, CHEN Li (Central Laboratory of People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550002, China)

**【Abstract】 Objective** To understand the inducible drug resistance of Staphylococcus to erythromycin and clindamycin, and to analyze the occurrence rate of drug resistance of Staphylococcus to erythromycin and clindamycin. **Methods** The inducible drug resistance of Staphylococcus against erythromycin and clindamycin was determined by Kirby-Bauer discagar diffusion test, and the inducible resistance of drug resistance against clindamycin was determined by D-test according to the standards of CLSI 2008 (M100-S18). **Results** The positive rate of D-test in 165 stains Staphylococcus was 15.55% (24/165). The positive rate of D-test was 46.15% (24/52) in 52 stains of Staphylococcus resistant to erythromycin and sensitive to clindamycin. The D-test positive rate is zero (0/89) in 89 stains of Staphylococcus resistant to erythromycin and clindamycin. The D-test positive rate is zero (0/24) in 24 stains of Staphylococcus sensitive to erythromycin and clindamycin. The D-test positive stains exist in MRSA, MSSA, MRSCNS and MSSCNS. **Conclusion** The inducible drug resistance of Staphylococcus against erythromycin and clindamycin should be tested by D-test. Staphylococcus drug resistance to erythromycin and sensitive to clindamycin should be tested in order to avoid clinical treatment of Staphylococcus infection.

**【Key words】** Staphylococcus; erythromycin; clindamycin; inducible resistance

葡萄球菌是医院感染和社区感染的常见病原菌。耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)比例的上升, 使葡萄球菌对各种抗生素产生多重耐药。大环内酯类药物被广泛的应用于临床治疗葡萄球菌引起的感染, 克林霉素由于其组织渗透性强等特点被作为对青霉素过敏或 MRS 的首选替代药物<sup>[1]</sup>。常规药敏试验不能检测出可诱导克林霉素耐药的情况。本试验通过 D-试验检测诱导克林霉素耐药的情况, 了解葡萄球菌克林霉素诱导性耐药的发生率, 以指导临床医生合理使用抗生素。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株** 试验菌株来自于 2008~2009 年从临床送检的各类标本中分离金黄色葡萄球菌 55 株, 凝固酶阴性葡萄球菌 110 株。金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)作为纸片法药敏试验的质控菌株。

**1.1.2 材料** 平板; M-H 琼脂平板、血琼脂平板购自广州迪景公司。药敏纸片: 头孢西丁、红霉素、克林霉素购自 OXOID 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 菌株分离及鉴定** 按临床检验操作规程进行分离培养, 使用 VITEK-32 全自动微生物分析仪及配套的 GPI 卡进行鉴定。

**1.2.2 MRS 测定方法** 采用头孢西丁纸片扩散法, 按照美国临床实验室标准化委员会 (CLSI) 2008 年指南 M100-S18 进行。

**1.2.3 红霉素、克林霉素耐药性检测** 用 K-B 琼脂扩散法, 按照 CLSI 2008 年指南进行。

**1.2.4 D-试验** 依据 CLSI 2008 年指南 M100-S18 进行。将孵育 16~24 h 的菌株调成浓度为 0.5 麦氏单位的菌液, 涂布 M-H 平板, 将红霉素、克林霉素纸片贴在平板上, 2 张纸片边缘距离为 16~20 mm, 35 °C 孵育 24 h 之后观察结果。当克林霉素纸片的抑菌环在靠近红霉素纸片一侧出现平截现象, 即克林霉素纸片的抑菌环看似一大写的 D 时, 判为 D 试验阳性, 提示红霉素对克林霉素具有诱导性耐药。2 张纸片抑菌环均为圆形或者无抑菌环时, 判为阴性。

## 2 结 果

**2.1 165 株葡萄球菌的分布** 金黄色葡萄球菌 55 株, 其中耐

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: luoxiangrong1@yahoo.com.cn.

甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 40 株, MRSA 比率为 72.7%;凝固酶阴性葡萄球菌 110 株,其中耐甲氧西林的凝固酶阴性葡萄球菌 (MRSCNS) 为 103 株, MRSCNS 比率为 93.6%。

**2.2 D-试验阳性的发生率** 见表 1。165 株葡萄球菌 D-试验阳性率为 14.6% (24/165);对红霉素耐药同时对克林霉素敏感的葡萄球菌为 52 株, D-试验阳性率为 46.2% (24/52);红霉素和克林霉素均敏感的葡萄球菌 24 株, D-试验均为阴性;红霉素和克林霉素均耐药的葡萄球菌 89 株, D-试验均为阴性。

表 1 165 株葡萄球菌 D-试验结果

葡萄球菌耐药类型	D-试验阳性	D-试验阴性	合计
E 耐药和 DA 敏感	24	28	52
E 敏感和 DA 敏感	0	24	24
E 耐药和 DA 耐药	0	89	89

注: E 为红霉素; DA 为克林霉素。

**2.3 52 株 E 耐药和 DA 敏感的葡萄球菌 D-试验结果** 见表 2。D-试验阳性菌株分布在 MRSA、甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA)、MRSCNS、MSSCNS 菌株中, 4 种类型的葡萄球菌中均存在 D-试验阳性菌株。D-试验的阳性率为 46.2%。

表 2 52 株 E 耐药和 DA 敏感的葡萄球菌 D-试验结果

葡萄球菌名称	阳性株数	阴性株数	总株数	阳性率 (%)
MRSA	5	2	7	71.4
MSSA	1	0	1	100.0
MRSCNS	15	24	39	38.5
MSSCNS	3	2	5	60.0
合计	24	28	52	46.2

**2.4 D-试验阳性率** MRSA 阳性率 12.5% (5/40), MSSA 阳性率 6.67% (1/15), MRSCNS 阳性率 14.6% (15/103), MSSCNS 阳性率 42.8% (3/7)。

**2.5 红霉素及克林霉素的耐药情况** 红霉素耐药率为 85.5% (141/165), 克林霉素的结构性耐药率为 53.9% (89/165), 诱导性耐药率为 14.6% (24/165), 克林霉素总耐药率为 66.9% (113/165)。

### 3 讨论

葡萄球菌是引起各种感染的常见病原菌之一, MRS 的比例呈逐步增高趋势, 成为临床抗感染治疗的棘手问题。本研究中 MRSA 为 72.7%, 与文献[2]报道接近。随着大环内酯类抗生素的广泛应用, 葡萄球菌对此类抗生素耐药率迅速上升。本研究中葡萄球菌对红霉素和克林霉素的耐药率分别为 85.5% (141/165) 和 66.9% (113/165), 与文献[2]报道接近。

葡萄球菌对大环内酯类抗生素耐药机制主要有两种<sup>[3-4]</sup>: 一种是由 *msrA* 基因编码的能量依赖主动泵出机制, 细菌通过过量表达外排泵(一种膜运输蛋白)将药物排出胞外。MRSA 具有对大环内酯类和链阳霉素 B 特定的外排系统, 对克林霉素没有转运作用, 因此表现为对大环内酯类抗生素耐药但对克林霉素敏感, 即 *ms* 耐药型。另外一种是由 *erm* 基因编码产生的红霉素核糖体甲基化酶导致 23SrRNA 的腺嘌呤残基 6 位双

甲基化, 导致大环内酯类、林可酰胺类、B 类链阳霉素类抗生素对 50S 核糖体的亲和力降低而表现出耐药性。这种耐药又分为结构型和诱导型两种形式。结构型耐药是指 *erm* 基因上游的启动子发生突变, 使 *erm* 基因产物稳定表达而产生耐药性, 其表型为对大环内酯类抗生素和克林霉素均耐药; 诱导型耐药是指大环内酯类抗生素作为诱导剂通过诱导基因产物的表达而产生耐药, 其表型为对大环内酯类抗生素耐药而对克林霉素敏感。因为诱导型耐药和 *ms* 耐药表型相同, 常规试验方法无法区分, 因此 CLSI 在 2004 年指南中开始推荐 D-试验, D-试验阴性时报告克林霉素敏感, D-试验阳性时应报告克林霉素耐药。

本研究中红霉素耐药同时对克林霉素敏感的葡萄球菌 52 株, D-试验阳性率为 46.2% (24/52), 低于文献[2]的 68.8%, 与冯羨菊和罗予<sup>[4]</sup>报道的 44.5% 接近。对红霉素和克林霉素均敏感的菌株 24 株, D-试验均为阴性; 红霉素和克林霉素均耐药的菌株 89 株, D-试验亦均为阴性, 这一结果与 Fiebelkorn 等<sup>[5]</sup>及刘欢乐和周铁丽<sup>[6]</sup>的报道一致。是否由于 *msrA* 基因编码的红霉素耐药对克林霉素耐药性不产生影响, 还有待于进一步研究。

本院葡萄球菌对克林霉素诱导性耐药比例达到 14.6% (24/165), 均存在于红霉素耐药同时克林霉素敏感的菌株中, 在 MRSA、MSSA、MRSCNS 及 MSSCNS 中均有存在, 与文献[7]报道一致。在目前微量稀释法和仪器尚不能检出此种诱导性耐药的情况下, 采用 D-试验检测红霉素对克林霉素的诱导性耐药应在临床推广应用。实验室在进行药敏试验的同时, 对于红霉素耐药同时对克林霉素敏感的菌株, 应进行 D-试验以修正克林霉素药敏试验结果。

### 参考文献

- [1] 梨新桂, 李时照. 葡萄球菌对克林霉素诱导耐药的检测和分析[J]. 实用医技杂志, 2009, 16(1): 53.
- [2] 孙建文, 万新亮, 任孔华, 等. 金黄色葡萄球菌对红霉素和克林霉素的诱导性分析[J]. 检验医学, 2010, 25(9): 675-677.
- [3] 沈定霞, 罗燕萍, 徐雅萍, 等. 葡萄球菌对红霉素和克林霉素的诱导耐药性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(4): 400-402.
- [4] 冯羨菊, 罗予. 红霉素耐药葡萄球菌的克林霉素耐药表型和基因型检测[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2008, 43(3): 591-594.
- [5] Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, et al. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10): 4740-4744.
- [6] 刘欢乐, 周铁丽. 克林霉素诱导型耐药葡萄球菌的检测与分析[J]. 临床检验杂志, 2005, 23(5): 337-338.
- [7] 吴晓宁, 周元园, 韦惠如. 葡萄球菌对克林霉素的诱导性耐药研究和分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(20): 1217-1218.