

肠球菌医院感染特征及新型抗菌药物耐药性研究

王 敏, 吴李培, 万晓龙, 韩 叶, 宣世海, 茅 敏, 赵建春, 周玉贵[△] (南通大学附属东台医院检验科, 江苏东台 224200)

【摘要】 目的 探讨肠球菌属细菌分布及耐药性特征, 为指导临床合理用药及控制医院感染提供依据。**方法** 对该院 2011 年 1 月至 2013 年 12 月年临床送检标本进行细菌分离培养、鉴定和药敏试验。**结果** 共检出肠球菌属细菌 140 株, 屎肠球菌 71 株 (50.7%), 粪肠球菌 60 株 (42.9%), 其他肠球菌 9 株 (6.4%), 其中尿液 99 株 (70.7%); 粪肠球菌对青霉素、氨苄西林、红霉素的耐药率为 15.0%、12.5% 和 75.0%, 屎肠球菌对青霉素、氨苄西林、左氧氟沙星、环丙沙星、红霉素耐药率大于 80.0%, 粪肠球菌和屎肠球菌对万古霉素 (5.0%、4.2%)、利奈唑胺 (8.4%、1.4%) 极度敏感, 喹奴普丁/达福普丁对粪肠球菌耐药率 (100.0%) 高于屎肠球菌 (26.7%), 达托霉素无耐药菌株。**结论** 肠球菌属以泌尿系统感染为主, 屎肠球菌检出率略大于粪肠球菌, 屎肠球菌对大多数抗菌药物耐药率高于粪肠球菌, 喹奴普丁/达福普丁仅对屎肠球菌有较高敏感性, 万古霉素、利奈唑胺、达托霉素对肠球菌属细菌保持极高敏感性。

【关键词】 肠球菌属; 医院感染; 抗菌药物; 耐药性
DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.08.021 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)08-1081-03

Characteristics of enterococcus causing nosocomial infection and the study with drug resistance to new antibiotic
WANG Min, WU Li-pei, WAN Xiao-long, HAN Ye, XUAN Shi-hai, MAO Min, ZHAO Jian-chun, ZHOU Yu-gui[△] (Department of Clinical Laboratory, Dongtai Hospital Affiliated to Nantong University, Dongtai, Jiangsu 224200, China)

【Abstract】 Objective To explore the distribution and resistance characteristics of enterococcus bacteria and offer guidance for rational administration and nosocomial infection. **Methods** Clinical specimens in our hospital from Jan 2011 to Dec 2013 were cultivated, then the identification and drug sensitivity test were carried out. **Results** 140 strains of enterococcus were detected, in which 99 strains (70.7%) were from urine; Excrement enterococcus 71 strains (50.7%), 60 in enterococcus strains (42.9%), 9 other enterococcus strains (6.4%); the drug of resistance rate of E. faecium to penicillin was 15.0%, ampicillin 12.5%, erythromycin 75.0%; while the drug of resistance rates of E. faecalis to penicillin, ampicillin, levofloxacin, ciprofloxacin and erythromycin were more than 80.0%; E. faecium and E. faecalis were acutely sensitive to vancomycin and linezolid, the drug of resistance rates of E. faecium and E. faecalis to vancomycin were 5.0%, 4.2% respectively, linezolid were 8.4%, 1.4% respectively, the drug of resistance rate of E. faecium to quinupristin/dalfopristin (100.0%) was more than E. faecalis (26.7%), resistant strains of daptomycin have not been found so far. **Conclusion** Enterococcus was the predominant specie causing urinary tract infections, and the detection rate of E. faecalis slightly greater than E. faecium, the majority resistance to antimicrobial agents of E. faecalis were more than E. faecium; quinupristin, dalfopristin only has a higher sensitivity to E. faecalis; at the same time, vancomycin, linezolid and daptomycin keep high sensitivity to enterococcus.

【Key words】 enterococci; nosocomial infection; antibiotic; drug resistance

肠球菌是人和动物肠道内的正常菌群, 在某些条件下可以引起人类尿路感染、心内膜炎、创面及腹腔感染等, 是医院感染的重要条件致病菌。近年来, 由于广谱抗菌药物、免疫抑制剂广泛应用, 肠球菌引起医院感染越来越严重, 加之肠球菌属细菌对抗菌药物的耐药机制比较复杂, 既有天然耐药又可产生获得性耐药, 导致肠球菌属细菌多重耐药性引起广泛关注。对肠球菌属细菌动态耐药监测, 尤其是新型抗肠球菌药物的耐药性显得尤为重要。为此, 统计分析了本院 2011 年 1 月至 2013 年 12 月肠球菌属细菌临床分布及对抗菌药物耐药的特征, 为临床抗感染治疗提供依据, 现将情况报道如下。

1 材料与与方法

1.1 菌株来源 2011 年 1 月至 2013 年 12 月在本院住院或门诊、急诊患者临床标本分离到的肠球菌属细菌 140 株, 同一患

者相同标本多次分离相同株不重复统计。

1.2 仪器与试剂 采用 Microscan Walk-Away-40plus 全自动微生物鉴定及药敏分析系统, 操作均按使用说明书进行。

1.3 方法

1.3.1 菌株培养及药敏试验 菌株培养按《全国临床检验操作规程》, 哥伦比亚羊血平板采用梅里埃公司产品, 质量符合行业有关标准; 药敏试验采用最低抑菌浓度 (MIC 法), 试剂为 Microscan Walk-Away-40plus 鉴定+药敏 PC33 复合板及配套试剂, 抗菌药物包括青霉素、氨苄西林、高浓度链霉素、高浓度庆大霉素、红霉素、喹奴普丁/达福普丁、四环素、万古霉素、左氧氟沙星、利奈唑胺、达托霉素、环丙沙星、利福平。

1.3.2 质控菌株 采用金黄色葡萄球菌 (ATCC29213)、粪肠球菌 (ATCC29212) 进行质控监测, 标准菌株由江苏省临床检

作者简介: 王敏, 女, 副主任检验师, 本科, 从事临床微生物检验工作。

[△] 通讯作者, E-mail: yugui_z@126.com。

验中心提供。

1.3.3 结果判读 按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)2010 年 M100-S22 版标准判读药敏结果。

1.4 统计学处理 采用世界卫生组织监控网提供的 WHO-NET 5.6 统计软件进行药敏数据分析。采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肠球菌属细菌临床标本分布 3 年间共分离肠球菌属细菌 140 株,其中尿液 99 株(70.7%),盆腔脓液及腹腔引流液 27 株(19.3%),血液 13 株(9.3%),脑脊液 1 株(0.7%);粪肠球菌和屎肠球菌共 131 株(93.6%)。本文检出 6 种肠球菌,粪肠球菌 60 株(42.9%);屎肠球菌 71 株(50.7%);其他肠球菌 9 株(6.4%),其中鹌鸡肠球菌 4 株,鸟肠球菌 2 株,钻黄肠球菌 2 株,耐久肠球菌 1 株。检出情况见表 1。

表 1 肠球菌属细菌在临床标本的分布

标本来源	粪肠球菌(<i>n</i>)	屎肠球菌(<i>n</i>)	其他(<i>n</i>)	总检出 [<i>n</i> (%)]
尿液	40	56	3	99(70.7)
盆腔脓液及腹腔引流液	15	9	3	27(19.3)
血液	5	5	3	13(9.3)
脑脊液	0	1	0	1(0.7)
合计	60	71	9	140(100.0)

2.2 粪肠球菌和屎肠球菌泌尿系统感染科室分布 尿标本中分离出 99 株肠球菌,其中粪肠球菌 40 株,屎肠球菌 56 株,鹌鸡肠球菌 2 株,钻黄肠球菌 1 株。泌尿外科粪肠球菌和屎肠球菌共 42 株(43.8%),重症监护病房 26 株(27.1%),内分泌科 13 株(13.5%)。尿标本 96 株粪肠球菌和屎肠球菌在各科室的构成情况,见表 2。

表 2 各科室尿标本中粪肠球菌和屎肠球菌构成情况[*n*(%)]

科室	粪肠球菌	屎肠球菌	总检出
泌尿外科	24(60.0)	18(32.2)	42(43.8)
重症监护病房	6(15.0)	20(35.7)	26(27.1)
内分泌科	5(12.5)	8(14.3)	13(13.5)
儿科	2(5.0)	5(8.9)	7(7.3)
其他	3(7.5)	5(8.9)	8(8.3)
合计	40(100.0)	56(100.0)	96(100.0)

表 3 各种抗菌药物对粪肠球菌和屎肠球菌的耐药情况[*n*(%)]

抗菌药物	粪肠球菌	屎肠球菌
青霉素	9(15.0)	15(87.3)
氨苄西林	7(12.5)	57(81.2)
红霉素	35(75.0)	61(85.9)
左氧氟沙星	34(56.7)	58(81.7)
环丙沙星	35(58.3)	59(83.1)
四环素	46(76.7)	26(36.6)
利福平	24(40.0)	56(78.9)
高浓度庆大霉素	32(53.3)	45(63.4)
高浓度链霉素	24(40.0)	34(47.9)
万古霉素	3(5.0)	3(4.2)
利奈唑胺	5(8.3)	1(1.4)
喹奴普丁/达福普丁	60(100.0)	19(26.7)
达托霉素	0(0.0)	0(0.0)

2.3 粪肠球菌和屎肠球菌药敏试验情况 粪肠球菌对万古霉素、利奈唑胺耐药率小于 10.0%,对青霉素、氨苄西林耐药率分别为 15.0%和 12.5%,对左氧氟沙星、环丙沙星、高浓度庆大霉素、四环素、红霉素耐药率大于 50.0%,对喹奴普丁/达福普丁耐药率 100.0%;屎肠球菌对万古霉素、利奈唑胺耐药率小于 5.0%,对喹奴普丁/达福普丁耐药率 26.7%,对利福平、左氧氟沙星、环丙沙星、红霉素、青霉素、氨苄西林耐药率大于 78.0%。红霉素对两种肠球菌耐药率均较高,对达托霉素无耐药株,屎肠球菌对大多数抗菌药物耐药率明显高于粪肠球菌。见表 3。

3 讨 论

肠球菌为革兰阳性球菌,是低毒性的条件致病菌,有研究表明,粪肠球菌由正常定植菌到致病菌的转变过程中,毒力因子的表达同时增强,与致病性密切相关,肠球菌引起的感染由高到低依次是泌尿系感染、盆腔与腹腔感染、菌血症、心内膜炎、脑膜炎等,肠球菌分类达 18 种之多,主要以粪肠球菌和屎肠球菌感染为主^[1]。本研究中,粪肠球菌和屎肠球菌感染占 93.6%,尿液标本检出 70.7%;其次是盆腔脓液及腹腔引流液和血液,分别占 19.3%和 9.3%,显示肠球菌多见于尿路感染。国外文献报道,屎肠球菌引起的感染由原来低于 10.0%已上升到 40.0%左右,感染率上升与屎肠球菌对多种抗菌药物高耐药有关^[2]。本次监测结果表明,屎肠球菌(50.7%)超过粪肠球菌(42.9%),这与 2010 年中国 CHINET 肠球菌属细菌耐药性监测显示屎肠球菌(44.9%)与粪肠球菌(45.2%)非常接近^[3],与胡锡池等^[4]报道一致。这与以往从临床分离到的肠球菌以粪肠球菌占绝大多数略有差异,这可能与肠球菌感染地区差异、科室特点及疾病谱构成、标本来源等有关,但近期屎肠球菌感染快速上升不容忽视。

在尿路感染病原菌中,肠球菌为仅次于大肠埃希菌的第 2 位病原菌^[5]。表 2 显示,尿液标本分离肠球菌多分布在泌尿外科(43.8%)和 ICU(27.1%),泌尿外科以粪肠球菌(60.0%)感染为主,ICU 以屎肠球菌(35.7%)感染为主,尿源性分离株主要是从接受过尿道手术、泌尿外科和 ICU 留置导尿管、患有尿道结石、尿路结构异常患者尿液中分离,表明这些患者为高危人群,各种介入性诊断与治疗是医源性感染的主要致病因素之一。

新型抗菌药物万古霉素、利奈唑胺、达托霉素对粪肠球菌与屎肠球菌耐药性无明显差异,见表 3。万古霉素为糖肽类抗菌药物,主要是抑制革兰阳性球菌胞壁糖肽合成,可与五肽前体 C 末端的 D-丙氨酸结合,从而阻止肽聚糖合成,其耐药主要是由于产生了编码低亲和肽聚糖前体合成酶的操纵子。本文对万古霉素对肠球菌属细菌依然保持很强抗菌活性,耐药率相对稳定,粪肠球菌和屎肠球菌中耐万古霉素肠球菌(VRE)耐药率分别为 5.0%、4.2%,相对低于欧美国家(20.0%左右)^[6];利奈唑胺是第一个应用于临床的新型恶唑烷酮类抗菌药物,为细菌蛋白质合成抑制剂,作用于细菌 50S 核糖体亚单位,只作用于翻译系统起始阶段,抑制 mRNA 与核糖体连接,阻止 70S 起始复合物形成,从而抑制细菌蛋白质合成,不易与其他抑制蛋白质合成抗菌药物交叉耐药,对主要的医院内获得性革兰阳性菌(包括对粪肠球菌和屎肠球菌及 VRE)均具有强大的抗菌活性,在体外也不易诱导细菌产生耐药性,曾一度使学者们认为肠球菌很难对利奈唑胺耐药^[7]。然而随着耐药菌株不断出现,有研究显示利奈唑胺可诱导肠球菌产生获得性耐药,其耐药机制与肠球菌 23S rRNA 的 V 区域 G2576U 突变有关^[8-10]。席瑞等^[11]用利奈唑胺通过多步诱导法对肠球菌进行

体外诱导耐药,提示肠球菌经过体外不断地接受抗菌药物的压力,容易对利奈唑胺产生继发耐药,且突变位点于 23S rRNA 基因可变区(V 区)中心,导致利奈唑胺对核糖体亲和力降低,从而出现肠球菌耐药。本研究中粪肠球菌对利奈唑胺耐药率达 8.3%可能与此有关;达托霉素作用机制与其他抗菌药物不同,它通过细胞膜对氨基酸转运,从而阻碍细菌细胞壁肽聚糖生物合成,改变细胞质膜的性质,另外还能通过破坏细菌细胞膜,使其内容物外泄而达到杀菌目的,由于其独特的作用机制,使其与其他抗菌药物无交叉耐药性,是很有效的抗多重耐药革兰阳性病原菌的抗菌药物,特别是能有效治疗万古霉素耐药株,是继万古霉素之后的第二代糖肽类抗菌药物。作为万古霉素有效替代品,达托霉素 2010 年才进入国内市场,本研究显示,达托霉素无耐药株;在新型抗菌药物中,喹奴普丁/达福普丁(26.7%)对屎肠球菌的耐药率低于粪肠球菌(100.0%),值得注意的是,喹奴普丁/达福普丁仅对屎肠球菌有效,究其原因,可能其与粪肠球菌的核糖体 50S 亚基的结合率降低有关,因此,肠球菌属细菌最好鉴定到种^[12]。

由表 3 可见,粪肠球菌和屎肠球菌对常用抗菌药物耐药情况严重,且屎肠球菌对绝大多数抗菌药物耐药性比粪肠球菌严重很多。粪肠球菌对青霉素、氨苄西林耐药率小于 15.0%,对屎肠球菌耐药率大于 80.0%,屎肠球菌因产生低亲和力的青霉素结合蛋白而对青霉素、氨苄西林耐药;两种菌对红霉素耐药性均高,分别为 75.0%和 85.9%,对左氧氟沙星、环丙沙星耐药率高,且屎肠球菌耐药率(78.9%、83.1%)高于粪肠球菌耐药率(40.0%、58.3%),肠球菌对氟喹诺酮类耐药主要是药物靶位-II 型拓扑异构酶的改变和药物的主动外排,应用高水平的氨基糖苷类筛选试验,能够预测氨苄西林、青霉素或万古霉素与一种氨基糖苷类抗菌药物之间的协同效应^[13]。本文监测粪肠球菌和屎肠球菌对高浓度庆大霉素耐药率(53.3%、63.4%)和对高浓度链霉素耐药率(40.0%、47.9%)比例较高,对氨基糖苷类高水平耐药菌株不建议应用糖肽类联合治疗。

综上所述,临床分离到的肠球菌主要引起泌尿系统感染,屎肠球菌检出率和耐药率均高于粪肠球菌,临床治疗屎肠球菌时宜首选喹奴普丁/达福普丁、万古霉素、利奈唑胺等新型抗菌药物,临床治疗耐万古霉素肠球菌时推荐选用利奈唑胺或达托霉素。

总之,肠球菌属细菌对常用抗菌药物耐药现象非常严重,并且有种的差别,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或滥用是耐药株产生的重要因素。因此,只有临床合理选用抗菌药物,减轻对万古霉素、利奈唑胺、达托霉素等新型抗菌药物的依赖,才能防止耐药株不断产生,有效地预防和控制肠球菌所引起的感染。

参考文献

[1] 祝进,白永凤,陆军,等.粪肠球菌毒力基因及耐药分析

(上接第 1080 页)

[J]. J Biol Chem, 2012, 287(17): 14226-14233.
[12] 唐汉庆, 窦锡彬, 李克明, 等. 壮医针挑疗法对哮喘模型小鼠 TSLP mRNA 及 IL-4、IL-5、IL-13 的影响[J]. 中国中医急症, 2014, 23(2): 214-215.
[13] 赵娜, 陈宗波, 钱娜, 等. 肠道病毒中枢神经系统感染患儿免疫功能紊乱与神经元损害的相关性[J]. 齐鲁医学杂志, 2011, 26(1): 43-45.

[J]. 放射免疫学杂志, 2012, 25(3): 276-279.
[2] Seema S, Meenakshi M, Das BK, et al. Enterococcal infections & antimicrobial resistance[J]. Indian J Med Res, 2008, 128(2): 111-121.
[3] 杨青, 俞云松, 倪语星, 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] 胡锡池, 万林, 胡仁静. 肠球菌的临床分布特征及利奈唑胺等新型抗菌药物的耐药性分析[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(7): 1189-1190.
[5] 王社梁, 钱小毛. 肠球菌临床感染及耐药性分析[J]. 检验医学, 2009, 24(1): 61-63.
[6] Sader HS, Streit JM, Fritsche TR, et al. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria(2002-2004)[J]. Clin Microbiol Infect, 2006, 12(9): 844-852.
[7] Xiong L, Kloss P, Douthwaite S, et al. Oxazolidinone resistance mutations in 23S rRNA of escherichia coli reveal the central region domain V as the primary site of drug action[J]. J Bacteriol, 2000, 182(9): 5325-5331.
[8] Prystowsky J, Siddiqui F, Chosay J, et al. Resistance to linezolid: characterization of mutations in rRNA and comparison of their occurrences in vancomycin-resistant enterococci[J]. Antimicrob Agent Chemother, 2001, 45(7): 2154-2156.
[9] Willems RJ, Top J, Smith DJ, et al. Mutations in the DNA mismatch repair proteins MutS and MutL of oxazolidinone-resistant or-susceptible Enterococcus faecium[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(10): 3061-3066.
[10] Oyamada Y, Ito H, Inoue M, et al. Topoisomerase mutations and efflux are associated with fluoroquinolone resistance in Enterococcus faecalis[J]. J Med Microbiol, 2006, 55(Pt 10): 1395-1401.
[11] 席瑞, 田素飞, 褚云卓, 等. 利奈唑胺体外诱导肠球菌耐药及耐药机制研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(1): 22-26.
[12] 李爽, 张正. 粪肠球菌与屎肠球菌药敏表型和耐药基因的比较[J]. 临床检验杂志, 2005, 23(3): 174-176.
[13] Leavis HL, Willems RJ, Top J, et al. High-level ciprofloxacin resistance from point mutations in gyrA and parC confined to global hospital-adapted clonal lineage CC17 of Enterococcus faecium[J]. J Clin J Biol, 2006, 44(3): 1059-1064.

(收稿日期: 2014-11-10 修回日期: 2014-11-22)

[14] 乔红梅, 庞焕香, 张云峰, 等. 肺炎支原体肺炎患儿 IL-6、IL-10、TNF-α 的变化[J]. 临床儿科杂志, 2012, 30(1): 59-61.
[15] 石海矾, 陈益平, 徐志伟, 等. 手足口病患儿外周血淋巴细胞亚群变化的临床研究[J]. 中国小儿急救医学, 2010, 17(1): 48-49.

(收稿日期: 2014-11-05 修回日期: 2014-11-22)