

## 两种革兰阴性杆菌的药物敏感试验研究<sup>\*</sup>

肖亚雄<sup>1,2</sup>, 朱波<sup>2</sup>, 黄忠团<sup>2</sup>, 张婷婷<sup>2</sup>

(1. 中国医学科学院基础研究所, 北京 100005; 2. 四川省宜宾市第一人民医院检验科 644600)

**摘要:**目的 探讨氨苄西林舒巴坦(SAM)、哌拉西林他唑巴坦(TZP)对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的药物敏感试验及散点图分析。方法 2012—2015 年分离的 1 311 株大肠埃希菌和 898 株肺炎克雷伯菌进行 SAM 与 TZP 的药敏分析, 并使用散点图探讨 2 种抗菌药物之间的关系。结果 SAM 对产超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs)(+)菌株耐药率高于 ESBLs(-)菌株, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), TZP 对 ESBLs(-)/(+)菌株的耐药率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); SAM 与 TZP 耐药性比较, 针对 ESBLs(-)/(+)大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌, SAM 耐药性均明显高于 TZP, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 散点图显示, SAM 和 TZP 在 ESBLs(+)肺炎克雷伯菌菌株中交叉耐药率最高(2.9%), 在 ESBLs(-)肺炎克雷伯菌菌株中交叉敏感率最高(81.2%)。结论 SAM 不宜作为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 ESBLs(+)菌株感染治疗的备选药物, TZP 可作为治疗大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌感染的备选抗菌药物。

**关键词:** β-内酰胺酶; 氨苄西林舒巴坦; 哌拉西林他唑巴坦; 肠杆菌

**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.14.010 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)14-2030-03

### Drug sensitivity of two kinds of gram-negative bacilli<sup>\*</sup>

XIAO Yaxiong<sup>1,2</sup>, ZHU Bo<sup>2</sup>, HUANG Zhongtuan<sup>2</sup>, ZHANG Tingting<sup>2</sup>

(1. Institute of Basic Medical Sciences Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Yibin City, Yibin, Sichuan 644600, China)

**Abstract:** Objective To explore the drug sensitivity of ampicillin sulbatam(SAM), piperacillin, and piperacillin tazobactam (TZP) for two kinds of bacillus-escherichia coli(eco) and klebsiella pneumoniae(KPN). **Methods** The drug sensitivity analysis of 1 311 strains of eco and 898 strains of KPN isolated from 2012 to 2015 and the relationship between SAM and TZP was analyzed by using the WHONET 5.6 software. **Results** The resistance rate of ESBLs(+) was higher than that of ESBLs to SAM, and the difference was statistically significant( $P < 0.05$ ). The difference between ESBLs(-)/(+) and TZP was not statistically significant. The comparison of SAM and TZP drug resistance, both eco and KPN of ESBLs(-)/(+), SAM resistance was significantly higher than that of TZP, the difference was statistically significant( $P < 0.05$ ). From the scatter diagram of view, SAM and TZP in the ESBLs(+) KPN strain on the highest cross resistance rate of 2.9%, in the ESBLs(-) KPN strain on the highest cross sensitivity rate of 81.2%. **Conclusion** The SAM should not be used as a clinical experience treatment for the ESBLs(+) strain. But TZP could be done as a clinical experience in the treatment of infection related to alternative antibiotics.

**Key words:** β-lactamases; Ampicillin sulbatam; Piperacillin tazobactam; enterobacteriaceae

大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌是临床分离最多的革兰阴性杆菌,也是临床常见的致病菌或条件致病菌,由于这 2 种细菌容易产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs),ESBLs 可通过水解 β-内酰胺类抗菌药物而导致临床治疗失败,因此临床治疗时常会经验性使用含酶抑制剂类抗菌药物对抗 ESBLs 水解作用,从而有效地治疗临床相关细菌感染<sup>[1]</sup>。氨苄西林舒巴坦(SAM)、哌拉西林他唑巴坦(TZP)是 CLSI 推荐并设有折点的抗菌药物,也是临床常用的 2 种含酶抑制剂抗菌药物<sup>[2-5]</sup>。尽管 2 种抗菌药物均为人工半合成青霉素与酶抑制剂的复合制剂,但 2 种抗菌药物对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的耐药性、敏感性存在较大差异,且对 2 种药物的对比研究报道较少。现探讨大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的药物敏感试验并进行散点图分析,报道如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 一般材料** 收集 2012 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日

该实验室收集的临床患者除痰、粪便标本以外的其他临床标本(包括全血、尿液、脓液、生殖道分泌物、组织)分离的肠杆菌科细菌。所有标本采集与培养严格按照有关文献<sup>[6]</sup>指南操作。

**1.2 仪器与试剂** 2 级生物安全柜(BIOBASE-1100 II B2-X)、CO<sub>2</sub> 微生物培养箱(上海斯高勒生物科技有限公司);全自动血培养仪、全自动微生物鉴定及药敏系统(生物梅里埃中国有限公司)。血琼脂培养基、麦康凯培养基、巧克力培养基(郑州安图生物工程有限公司),ESBLs 确诊试验纸片(杭州滨和微生物试剂有限公司);需氧菌血培养瓶、革兰染色阴性细菌鉴定药敏卡(生物梅里埃中国有限公司),革兰快速染色液(珠海 BASO 公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 菌株分离培养** 所有临床标本根据《全国临床检验操作规程》<sup>[6]</sup>。及时接种于相应培养基中,立即放入含 5% 二氧化碳的微生物培养箱 24~48 h 观察。全血培养标本,参照仪

\* 基金项目:四川省宜宾市卫生和计划生育委员会重点科技计划资助项目(2012SF005)。

作者简介:肖亚雄,男,副主任技师,主要从事临床微生物及其细菌耐药监测和耐药机制研究。

器说明书,待仪器自动报阳后,将标本转种于琼脂平板及巧克力平板、培养分离出可疑致病菌纯菌落进行后续操作。

**1.3.2 细菌鉴定与药敏试验** 将已经分离纯化的可疑致病菌根据操作说明,调制成 0.50~0.62 麦氏浓度菌悬液,利用梅里埃 VITEK-2 Compact 全自动鉴定及药敏试验分析系统进行细菌鉴定与药敏试验。质控菌株:大肠埃希菌(ATCC25922, ATCC35218),肺炎克雷伯菌(ATCC700603)(温州康泰)。细菌药敏试验折点判断标准参照 CLSI-M100S(2016 年)。

**1.3.4 ESBLs 表型确证试验** VITEK-2 Compact 仪器鉴定并报告 ESBLs(+) 的菌株均采用双纸片法(阿莫西林 vs. 阿莫西林/克拉维酸;头孢他啶 vs. 头孢他啶/克拉维酸)进行确证,纸片水平及确证方法见参考文献 CLSI-M100S。

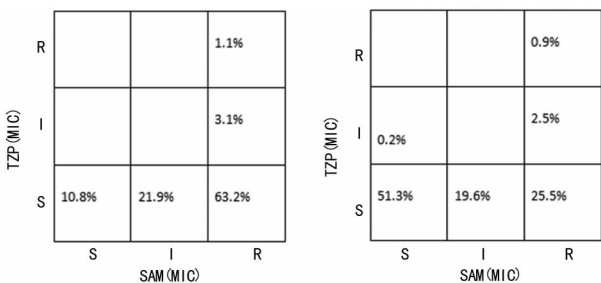
**1.4 统计学处理** 采用 WHONET 5.6 统计软件进行数据分析。1 周内 2 次分离出同一菌株的只统计 1 次。采用 SPSS 13.0 软件包,计数资料以例数或百分率表示,使用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 药物敏感试验结果** 氨苄西林舒巴坦判读折点为  $S \leq 8, R \geq 32(\mu\text{g/mL})$ ;哌拉西林他唑巴坦,判读折点为  $S \leq 16, R \geq 128(\mu\text{g/mL})$ 。ESBLs(+) 大肠埃希菌 SAM 耐药率为 67.3%,较 ESBLs(-) 大肠埃希菌耐药率(28.9%)明显增高,差异有统计学意义( $\chi^2 = 189.9, P < 0.05$ ); ESBLs(+) 大肠埃希菌对 TZP 耐药率为 1.1%,较 ESBLs(-) 大肠埃希菌耐药率(0.9%)高,但差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.10, P = 0.75$ ); ESBLs(+) 肺炎克雷伯菌对 SAM 耐药率为 76.5%,较 ESBLs(-) 肺炎克雷伯菌耐药率(15.2%)明显增高,差异有统计学意义( $\chi^2 = 328.3, P < 0.05$ ); TZP 对 ESBLs(+) 肺炎克雷伯菌的耐药率为 2.9%,较 ESBLs(-) 肺炎克雷伯菌的耐药率(2.0%)高,但差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.73, P = 0.39$ )。TZP 对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,无论是 ESBL(+) 还是 ESBLs(-),其敏感性均较 SAM 高,耐药性均明显低于 SAM,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 2 种抗菌药物对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的药物敏感结果

项目	大肠埃希菌				肺炎克雷伯菌			
	ESBLs(+)		ESBLs(-)		ESBLs(+)		ESBLs(-)	
抗菌药物	SAM	TZP	SAM	TZP	SAM	TZP	SAM	TZP
株数(n)	750	749	561	561	306	306	592	592
耐药率(%)	67.3	1.1	28.9	0.9	76.5	2.9	15.2	2.0
中介率(%)	21.9	3.1	19.6	2.7	14.1	4.6	3.5	1.5
敏感率(%)	10.8	95.9	51.5	96.4	9.5	92.5	81.2	96.5
地区平均( $\mu\text{g/mL}$ )	22.607	4.664	8.669	4.454	24.717	5.76	6.012	4.614
MIC 范围( $\mu\text{g/mL}$ )	2~32	4~128	2~32	4~128	2~32	4~128	2~32	4~128



注:左边表示 ESBLs(+),右边表示 ESBLs(-)

图 1 TZP 与 SAM 对大肠埃希菌散点图

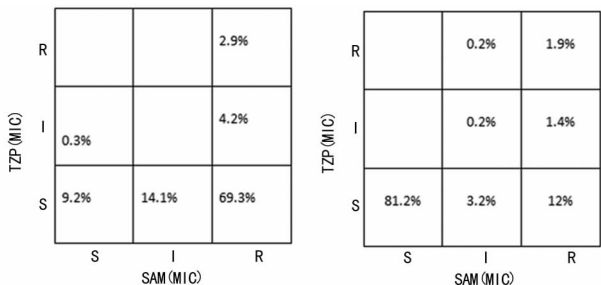


图 2 TZP 与 SAM 对肺炎克雷伯菌散点图

**2.2 SAM 与 TZP 散点图分析** ESBLs(+) 的大肠埃希菌, TZP 与 SAM 的交叉耐药率为 1.1%,其交叉敏感率为 10.8%; ESBLs(-) 的大肠埃希菌提示 2 种抗菌药物的交叉耐药率为 0.9%,略低于 ESBLs(+) 菌株(1.1%),但两者之间的交叉敏感率为 51.3%,高于 ESBLs(+) 菌株(10.8%),差异有统计学

意义( $P < 0.05$ )。ESBLs(+) 的 TZP 与 SAM 交叉耐药结果散点图显示,其交叉耐药率(2.9%)高于 ESBLs(-) 肺炎克雷伯菌(1.9%)。交叉敏感率提示,ESBLs(-) 肺炎克雷伯菌交叉敏感率为 81.2%,高于 ESBLs(+) 肺炎克雷伯菌(9.2%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 1、2。

**3 讨论**

目前我国细菌的耐药现状依然非常严重<sup>[7-9]</sup>。除继续致力于筛选具有新化学结构、新作用机制或新靶点、对耐药菌有效的抗菌药物外,就是根据细菌的耐药机制联合使用抗菌药物,选用抗菌药物和抗菌药物灭活酶抑制剂联合用药抑制耐药性细菌是最常用的方法。SAM 和 TZP 均为人工半合成青霉素与 ESBLs 的复合制剂,2 种抗菌药物的构成、抗菌谱范围对同一细菌的作用机制都比较相似,错误提示两者针对相同细菌的耐药率、敏感性也相似。

本研究结果显示,虽然 SAM 和 TZP 均为含酶抑制剂抗菌药物,但对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的敏感率和耐药率均存在较大的差异。ESBLs(-) 的大肠埃希菌, SAM 和 TZP 的耐药率分别为 28.9% 和 0.9%, ESBLs(-) 的肺炎克雷伯菌, SAM 和 TZP 的耐药率分别为 15.2% 和 2.0%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。ESBLs(+) 菌株的差异更为明显, ESBLs(+) 的肺炎克雷伯菌, SAM 的耐药率高达 76.5%,而 TZP 的耐药率仅为 2.9%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌无论是否产 ESBLs, SAM 的耐药性均较 TZP 高。吕媛等<sup>[10]</sup> 对全国细菌耐药监测数据进行统计分析, 29 828 株大肠埃希菌对 SAM 的耐药性为 53.2%, 39 487 株大

肠埃希菌对 TZP 的耐药性仅为 4.9%，提示全国范围 TZP 的耐药性也较 SAM 低，但是该研究未根据菌株是否产 ESBLs 分别进行分析。李耘等<sup>[1]</sup>根据大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌是否产 ESBLs 分别进行探讨，但仅分析了 TZP 的耐药性，ESBLs(+) 大肠埃希菌耐药率为 3.6%，ESBLs(-) 大肠埃希菌为 5.0%，ESBLs(+) 肺炎克雷伯菌耐药率为 9.4%，ESBLs(-) 肺炎克雷伯菌耐药率为 12.5%，均比本研究高，但与 SAM 耐药性比较，均处于较低耐药水平。基础药学研究认为舒巴坦属于不可逆的竞争性 ESBLs 抑制剂，对肠杆菌所产生的 ESBLs 均有抑制作用，其与酶发生不可逆反应，致使酶失活。但是，酶抑制作用在其过程中也遭到破坏(故称自杀性抑制剂)。而他唑巴坦是在舒巴坦的结构基础上增加了 1 个三氮唑环，属于舒巴坦的衍生物。化学结构的差异导致他唑巴坦对 A 类酶与 B 类酶均存在较强的抑制作用，且较舒巴坦强。而自杀性抑制剂舒巴坦在其作用过程中的自身破坏，导致对细菌的抑制作用减弱而细菌对其耐药性增加。TZP 含有稳定性强的他唑巴坦，因此对细菌是否产 ESBLs 酶的耐药性差异不大。

本研究散点图分析显示，4 种细菌的 SAM 与 TZP 之间的交叉耐药率均较低，其中 ESBLs(+) 肺炎克雷伯菌交叉耐药率最高(2.9%)，ESBLs(-) 大肠埃希菌交叉耐药率最低，仅为 0.9%；交叉敏感率提示，ESBLs(-) 菌交叉敏感率较高，其中 ESBLs(-) 肺炎克雷伯菌交叉敏感率高达 81.2%，但对 ESBLs(+) 肺炎克雷伯菌交叉敏感率仅为 9.2%，ESBLs(+) 大肠埃希菌交叉敏感率也仅 10.8%。表明细菌是否产 ESBLs 对 SAM 与 TZP 之间的交叉敏感性存在较大关系，而交叉耐药性似乎与细菌是否产 ESBLs 酶关系不大。

综上所述，通过对 SAM 和 TZP 的药敏分析，TZP 对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的敏感性远远高于 SAM，其敏感性均在 90% 以上，其耐药率在 3% 以下。因此对该类细菌引起的临床感染，可经验性使用 TZP 进行治疗，会取得较好效果。TZP 较碳氢酶类抗菌药物经济。SAM 虽为含酶抑制剂抗菌药物，但其针对产 ESBLs 的菌株的耐药性均高于 50%，因此在药敏结果之前不宜经验性使用以防止治疗失败。散点图分析发现 2 种抗菌药物交叉耐药率较低，因此只需选取敏感性高的抗

菌药物进行治疗即可，非特殊情况下不必进行 2 种抗菌药物的联合使用。

## 参考文献

- [1] 周建芳, 杜斌. 产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶肠杆菌科细菌的感染与控制[J]. 临床药物治疗杂志, 2012, 15(6): 5-8.
- [2] 刘素娟. 氨苄西林钠舒巴坦钠应用于老年下呼吸道细菌感染治疗的疗效分析[J]. 中国处方药, 2016, 14(9): 56-56.
- [3] 宋俊. 舒巴坦联合氨苄西林清除糖尿病并发细菌感染的病原菌分析[J]. 当代医学, 2016, 22(6): 139-140.
- [4] 房莉. 哌拉西林/他唑巴坦治疗老年呼吸道感染的临床疗效[J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(3): 69-70.
- [5] 唐珩, 刘峰, 邓欢, 等. 哌拉西林/他唑巴坦治疗儿童呼吸道细菌感染的疗效观察[J]. 中国药师, 2016, 19(8): 1515-1517.
- [6] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2013: 736-753.
- [7] 罗万军, 徐润琳, 陈莎. 某儿童医院 2011—2014 年多重耐药菌监测分析[J]. 儿科科学杂志, 2016, 8(1): 44-46.
- [8] 杨继勇, 刘杰, 韩黎. 细菌耐药现象多侧面解读与理解[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(1): 238-240.
- [9] 王惠姣, 徐娇君, 陈小平, 等. ICU 患者感染多药耐药肺炎克雷伯菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016(6): 1235-1237.
- [10] 吕媛, 李耘, 崔兰卿. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测报告: 肠杆菌科细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(24): 5138-5143.
- [11] 李耘, 吕媛, 薛峰, 等. 卫生部全国细菌耐药监测网(Mohnarlin) 2011—2012 年革兰阴性菌耐药监测报告[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(3): 260-277.

(收稿日期: 2017-01-15 修回日期: 2017-02-23)

(上接第 2029 页)

- [4] He D, Lau M, But P, et al. Antioxidative glycosides from the leaves of *Ligustrum robustum*[J]. J Nat Prod, 2003, 66(6): 851-854.
- [5] Xie M, Zhou T, Liao Y, et al. Effects of *ligustrum robustum* on gut microbes and obesity in rats[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(46): 13042-13054.
- [6] Yang M, Liu F, He D, et al. Anti-obesity effect of total phenylpropanoid glycosides from *Ligustrum robustum* Blume in fatty diet-fed mice via up-regulating leptin[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 169(16): 459-465.
- [7] Yu ZL, Zeng WC. Antioxidant, antibrowning, and cytoprotective activities of *Ligustrum robustum* (Rxob.) Blume extract[J]. J Food Sci, 2013, 78(9): C1354-C1362.
- [8] Lau KM, He ZD, Dong H, et al. Anti-oxidative, anti-inflammatory and hepato-protective effects of *Ligustrum robustum*[J]. J Ethnopharmacol, 2002, 83(1/2): 63-71.
- [9] 李兴桥, 陈嘉熠, 熊靖飞, 等. 川产粗壮女贞水提物体外抗

氧化能力的对比研究[J]. 现代预防医学, 2016, 43(21): 3966-3968.

- [10] 黄梦姣, 卢添林, 王瑶, 等. 粗壮女贞不同萃取部位抑菌活性成分研究[J]. 现代预防医学, 2016, 43(5): 864-866.
- [11] 曹芳, 陈明, 邓先扩, 等. 粗壮女贞提取物对 2 型糖尿病小鼠的降血糖效果及作用机制[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12): 2981-2984.
- [12] 黄超培, 何励, 王彦武, 等. 苦丁茶的急性毒性和遗传毒性研究[J]. 药学杂志, 2014, 24(2): 183-184.
- [13] 刘冠萍, 黄宇声, 覃良, 等. 粗壮女贞提取物对大鼠生殖及胚胎发育的影响[J]. 中国保健营养(下旬刊), 2012, 22(7): 2199-2200.
- [14] 刘冠萍, 黄宇声, 张栩颜, 等. 粗壮女贞水提取物对高脂血症小鼠血脂及脂质过氧化的影响[J]. 中国民族民间医药, 2012, 21(13): 44-47.

(收稿日期: 2017-02-15 修回日期: 2017-04-25)