

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.22.008

临床分离大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药性变迁*

师志云^{1,3}, 刘香花², 李刚^{1,3}, 李莎莎^{1,3}, 张林², 马苗², 王文^{1,3},
马红^{1,3}, 陶佳^{1,3}, 赵梅^{1,3}, 贾伟^{1,3△}

(1. 宁夏医科大学总医院医学实验中心, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学临床学院医学检验系, 银川 750004; 3. 宁夏临床病原微生物重点实验室, 银川 750004)

摘要:目的 统计分析近 4 年宁夏医科大学总医院分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的临床分布及耐药性变迁。方法 收集 2010—2013 年该院临床分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌, 用纸片扩散法检测分离菌对各种常用抗菌药物的耐药性, 试验结果判断标准参照美国临床和实验室标准协会(CLSI) 2014 年版, 应用 Whonet5.6 软件对数据进行统计分析。结果 从标本来源看, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌各标本分离比重未出现大的波动; 从科室分布来看, 大肠埃希菌在儿科中所占的比重从 30.3% 下降到 3.9%, 肺炎克雷伯菌从 36.7% 下降到 4.3%, 其他科室未出现大的波动; 从耐药性变化来看, 这 4 年耐药性趋于平稳, 未出现较大的波动。结论 细菌耐药性趋于平稳, 定期进行耐药性监测有助于了解细菌耐药性变化, 可为临床用药提供参考依据。

关键词:大肠埃希菌; 肺炎克雷伯菌; 耐药性变迁; 医院内感染

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)22-3349-04

Drug resistance changes of clinical isolation of escherichia coli and klebsiella pneumoniae*

SHI Zhiyun^{1,3}, LIU Xianghua², LI Gang^{1,3}, LI Shasha^{1,3}, ZHANG Lin²,
MA Miao², WANG Wen^{1,3}, MA Hong^{1,3}, TAO Jia^{1,3}, ZHAO Mei^{1,3}, JIA Wei^{1,3△}

(1. Medical Experimental Center, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Department of Inspection, Clinical School of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 3. Key Laboratory of Clinical Pathogenic Microorganisms of Ningxia, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract: **Objective** To analyze the changes of clinical distribution and drug resistance of escherichia coli and klebsiella pneumonia isolated from our hospital in in the past four years. **Methods** Drug resistance of escherichia coli and klebsiella pneumoniae clinically isolated from General Hospital of Ningxia Medical University in 2010—2013 was detected by disk diffusion method. The results are judged by reference to the CLSI 2014 edition, and Whonet 5.6 software is used for statistical analysis of the data. **Results** From the source of the specimen, there was no significant fluctuation in the separation of escherichia coli and klebsiella pneumoniae specimens. From the distribution of departments, the proportion of escherichia coli in pediatrics decreased from 30.3% to 3.9%, klebsiella pneumoniae decreased from 36.7% to 4.3%, and other departments did not show large fluctuations. From the perspective of drug resistance changes, drug resistance has stabilized in the past four years, and there has not been a large fluctuation. **Conclusion** Bacterial resistance tends to be stable, and regular monitoring of drug resistance can help to understand the changes in bacterial resistance, which can provide a reference for clinical drug use.

Key words: escherichia coli; klebsiella pneumoniae; drug resistance changes; nosocomial infections

随着广谱抗生素、激素及免疫抑制剂等的广泛应用, 以及侵袭性诊疗操作、免疫功能低下人群的不断增多, 细菌耐药现象日趋严重, 感染病原菌谱及病原菌耐药性也发生了变化, 给临床诊疗带来了极大的困

难。据 2014 年 CHINET 报道, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌居全国细菌分离的前两位且耐药现象严重^[1]。同时, 细菌耐药存在明显的区域性, 连续监测本地临床病原菌的耐药特点, 可及时掌握耐药现状及变迁,

* 基金项目: 宁夏高等学校科学研究项目(NGY2015072); 宁夏自然科学基金项目(NZ16153); 宁夏高等学校一流学科建设(宁夏医科大学国内一流建设学科临床医学)资助项目(NXYLXK2017A05)。

作者简介: 师志云, 女, 副主任医师, 主要从事临床分子诊断工作。△ 通信作者, E-mail: jiawei6365@126.com。

为临床合理使用抗菌药物提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料 2010 年 1 月至 2013 年 12 月宁夏医科大学总医院送检标本中分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,剔除同一患者相同部位重复分离的菌株。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、肺炎克雷伯菌 ATCC700603,均购自上海汉尼生物技术有限公司。

1.2 方法 细菌分离培养按《全国临床检验操作规程》(第 3 版)进行,采用法国生物梅里埃公司全自动微生物分析仪(VITEK 2 Compact)鉴定到种。抗菌药物纸片均为英国 Oxoid 公司产品,药敏试验培养基为法国生物梅里埃公司产品。体外药敏试验采用纸片扩散法,药敏试验结果判断标准为美国临床和实验室标准协会(CLSI)2014 年版。

1.3 统计学处理 采用 Whonet 5.6 软件对细菌临床科室分布、药物敏感性结果进行统计分析,同一患者相同部位重复菌株按首次分离株的药敏试验结果进行统计分析。

2 结 果

2.1 标本来源 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌均主要分离自痰液,并且较为平稳,未出现大幅度波动。各年度分离结果构成比见表 1、2。

表 1 各年度大肠埃希菌标本来源数量及构成比[n(%)]				
标本	2010 年 (n=587)	2011 年 (n=899)	2012 年 (n=1 071)	2013 年 (n=1 058)
痰液	174(29.6)	253(28.1)	282(26.3)	253(23.9)
尿液	165(28.1)	233(25.9)	273(25.5)	275(26.0)
脓液及分泌物	83(14.1)	175(19.5)	173(16.2)	151(14.3)
血液	60(10.2)	91(10.1)	159(14.8)	164(15.5)
其他	105(18.0)	147(16.4)	184(17.2)	215(20.3)

2.2 科室分布 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌主要分离自儿科,并且这 4 年呈现显著降低的趋势,其他科室分离率较为平稳,未出现较大范围的波动。各年度的科室分布构成比见表 3、4。

2.3 耐药性变迁 近 4 年亚胺培南、阿米卡星、头孢

替坦和哌拉西林/他唑巴坦对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌均保持了较高的敏感性,2010—2013 年各年度细菌耐药性见表 5。

表 2 各年度肺炎克雷伯菌标本来源数量及构成比[n(%)]				
标本	2010 年 (n=371)	2011 年 (n=621)	2012 年 (n=804)	2013 年 (n=947)
痰液	252(67.9)	420(67.6)	585(72.8)	720(76.0)
导管尖端	30(8.1)	60(9.7)	39(4.9)	22(2.3)
血液	21(5.7)	35(5.6)	38(4.7)	64(6.8)
脓液及分泌物	17(4.6)	51(8.2)	51(6.3)	52(5.5)
其他	51(13.8)	55(8.9)	91(11.3)	89(9.4)

表 3 各年度大肠埃希菌分布在各科室的数量及构成比[n(%)]				
科室	2010 年 (n=587)	2011 年 (n=899)	2012 年 (n=1 071)	2013 年 (n=1 058)
儿科	178(30.3)	235(26.1)	107(10.0)	41(3.9)
胃肠外科	32(5.5)	61(6.8)	46(4.3)	36(3.4)
烧伤科	30(5.1)	40(4.4)	62(5.8)	40(3.8)
ICU	20(3.4)	49(5.5)	51(4.8)	62(5.9)
肝胆外科	19(3.2)	35(3.9)	53(4.9)	119(11.2)
急诊科	13(2.2)	32(3.6)	73(6.8)	71(6.7)
其他科室	295(50.3)	447(49.7)	679(63.4)	689(65.1)

表 4 各年度肺炎克雷伯菌分布在各科室的数量及构成比[n(%)]				
科室	2010 年 (n=371)	2011 年 (n=621)	2012 年 (n=804)	2013 年 (n=947)
儿科	136(36.7)	193(31.1)	107(13.3)	41(4.3)
ICU	28(7.5)	42(6.8)	63(7.8)	105(11.1)
呼吸内科	26(7.0)	61(9.8)	76(9.5)	95(10.0)
心内科	13(3.5)	29(4.7)	84(10.4)	82(8.7)
急诊科	25(6.7)	27(4.3)	52(6.5)	74(7.8)
神经外科	13(3.5)	28(4.5)	60(7.5)	49(5.2)
其他科室	130(35.0)	241(38.8)	362(45.0)	501(52.9)

表 5 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌各年度的耐药率(%)								
抗菌药物	大肠埃希菌				肺炎克雷伯菌			
	2010 年 (n=587)	2011 年 (n=899)	2012 年 (n=1 071)	2013 年 (n=1 058)	2010 年 (n=371)	2011 年 (n=621)	2012 年 (n=804)	2013 年 (n=947)
氨苄西林	89.8	86.6	91.0	89.9	85.4	78.7	80.2	78.3
哌拉西林	70.0	65.6	68.7	67.8	41.6	33.9	31.7	28.8
替卡西林/克拉维酸	19.4	16.8	16.8	24.6	10.6	14.3	10.4	14.3
哌拉西林/他唑巴坦	1.6	2.0	1.7	1.7	0.8	0.8	1.8	1.2
头孢呋辛	—	—	67.5	67.1	—	—	33.3	29.4
头孢他啶	29.6	30.0	32.6	37.4	18.6	15.9	14.5	15.9
头孢曲松	64.5	62.9	67.4	67.0	40.3	34.3	30.6	28.1

续表 5 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌各年度的耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌				肺炎克雷伯菌			
	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年
	(n=587)	(n=899)	(n=1 071)	(n=1 058)	(n=371)	(n=621)	(n=804)	(n=947)
头孢吡肟	16.9	18.1	20.1	20.3	8.0	7.7	5.6	7.8
头孢替坦	2.4	2.7	2.6	2.9	1.8	0.8	1.2	1.5
氨曲南	38.5	41.3	44.3	48.1	20.2	18.5	17.1	17.6
亚胺培南	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1
阿米卡星	3.4	4.3	4.5	3.7	2.5	2.5	2.9	1.5
庆大霉素	54.7	51.1	53.4	50.3	29.4	24.6	19.6	15.7
妥布霉素	18.7	22.3	21.7	20.8	5.0	5.6	6.1	5.5
环丙沙星	62.0	63.2	66.1	65.9	11.5	10.6	11.8	11.6
左氧氟沙星	59.6	60.7	63.7	61.9	9.3	7.8	8.7	8.9
复方磺胺甲噁唑	97.1	99.3	98.4	98.1	96.6	98.5	97.8	96.4
呋喃妥因	3.0	5.5	6.0	5.3	18.4	23.4	26.6	25.0

注:—表示无数据

3 讨 论

3.1 临床感染特征 本研究分析了宁夏医科大学总医院 2010—2013 年大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的分离和临床分布情况。从标本来源构成比来看,大肠埃希菌的血流感染出现小幅度上升,构成比从 10.2%上升至 15.5%,应引起临床高度注意;分离标本仍以尿液为主,这与大肠埃希菌常引起泌尿系统感染有关。而由导管尖端引起的肺炎克雷伯菌感染则出现显著的下降,构成比从 8.1%下降至 2.3%,这可能与临床上注意导管部位的引流与消毒,及时拔除导管有关;痰液标本占据了肺炎克雷伯菌大部分,这与肺炎克雷伯菌常引起呼吸系统感染有关。从科室构成比来看,分离自儿科的肺炎克雷伯菌所占比重发生了大幅度下降,构成比从 36.7%下降至 4.3%,这与儿科科室标本采集更加规范,同时加强病房的消毒和及时采取隔离措施,避免医院内感染的发生有关。大肠埃希菌在肝胆外科和急诊科的分离比重出现小幅度上升,分别从 3.2%上升至 11.2%和 2.2%上升至 6.7%,这可能与大肠埃希菌由胃肠道逆行侵袭胆囊和尿道插管增多引起感染有关。呼吸内科和心内科中肺炎克雷伯菌的分离比重出现小幅度上升,分别从 7.0%上升至 10.0%和 3.5%上升至 8.7%,与这些科室的患者年龄较大,伴有基础疾病,大剂量使用抗菌药物并经常进行侵袭性操作,易将外界环境中的肺炎克雷伯菌带入无菌部位,造成机会性感染有关。

3.2 耐药性变迁 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌均可产生超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs),该耐药基因可通过质粒、转座子等在不同细菌之间传播,造成耐药基因的播散。研究显示,ESBLs 耐药基因还可通过整合不同耐药基因而使细菌表现为多重耐药甚至全耐药,使

得抗菌药物治疗变得极为复杂^[2]。
3.2.1 β-内酰胺类抗菌药物的耐药性变迁 由于产 ESBLs 的细菌可产生多种 β-内酰胺酶,通过水解或非水解的方式破坏 β-内酰胺环,造成抗菌药物失活,表现出对青霉素类、头孢菌素类和单环 β-内酰胺类抗生素较高的耐药性。从这 4 年的耐药性数据来看,青霉素类、头孢菌素类和单环 β-内酰胺类药物耐药率较高,但并未出现较大的波动,这与临床在治疗大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的感染中使用此类抗生素较为谨慎有关。其中值得注意的是,头孢他啶的耐药率(14.5%~37.4%)远低于头孢曲松(28.1%~67.4%),这可能与本地区 ESBLs 主要为 CTX-M 型有关,CTX-M 型对头孢他啶的水解能力很弱且在体外药敏试验中对头孢他啶很敏感;而头孢曲松因使用频率较高,故其耐药性高于头孢他啶^[3]。第 4 代头孢菌素的耐药率较低(≤20.3%),这与第 4 代头孢菌素对大多数产 ESBLs 细菌较稳定,故可作为治疗大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌感染的替代药物。

酶抑制剂复方制剂较单一的抗生素耐药率出现大幅下降(0.8%~24.6%),这是因为克拉维酸、他唑巴坦等 β-内酰胺酶抑制剂可竞争性与 ESBLs 结合而使其失活,从而抑制 ESBLs 的表达。但随着酶抑制剂的大量使用,出现了耐酶抑制剂型 β-内酰胺酶(IRT),而且这些复方制剂的抗菌活性受接种量、给药方案及 β-内酰胺酶种类的影响,故通常不作为一线药物^[4-5]。青霉素类的耐药率较低(≤2.9%),且这 4 年并未出现较大波动,这与其对 ESBLs 介导的水解更稳定有关;但同时需注意到,越来越多的产 ESBLs 菌株同时携带多种耐药基因,包括 AmpC 酶,从而介导对青霉素类抗菌药物耐药。

碳青霉烯类抗菌药物仍然是被公认的治疗产 ESBLs 细菌感染的首选药物,此类药物能抵抗 ESBLs 的水解作用,是治疗多重耐药肠杆菌科细菌引起的严重感染的首选;但同时也应注意到,肺炎克雷伯菌已出现了耐药菌株。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类药物的重要耐药机制是产生碳青霉烯类酶,这与亚胺培南等碳青霉烯类药物长期、广泛的使用有关;有研究显示,对碳青霉烯类药物耐药的细菌,可采用多黏菌素类、替加环素和阿米卡星等联合碳青霉烯类药物,其疗效优于单药治疗并可降低病死率^[6-7]。

3.2.2 非 β -内酰胺类抗菌药物的耐药性变迁 尽管 ESBLs 不能水解氨基糖苷类抗生素,但其耐药基因可随质粒、转座子等介导的 ESBLs 共转运而出现耐药^[8]。大肠埃希菌对庆大霉素的耐药率较高($>50\%$),而对阿米卡星的耐药率较低($\leq 4.5\%$),这与大肠埃希菌易产生氨基糖苷类钝化酶,而阿米卡星对钝化酶较稳定,且临床应用较少有关,故其耐药性差别较大^[9]。肺炎克雷伯菌对氨基糖苷类抗生素耐药率较低($\leq 29.4\%$),但肺炎克雷伯菌在体内易产生生物被膜,可限制抗菌药物弥散到内部,不能达到有效的杀菌浓度而易产生耐药。有研究显示,生物膜阳性的肺炎克雷伯菌相对于其浮游菌最小杀菌浓度(MBC)增加了 8 倍^[10]。大肠埃希菌对喹诺酮类药物的耐药率($\geq 59.6\%$)显著高于肺炎克雷伯菌($\leq 11.8\%$),其耐药率的变化与喹诺酮类药物的使用频度呈显著正相关,使用频度过高是引起大肠埃希菌耐药率较高的主要原因^[11]。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对磺胺类药物复方磺胺甲噁唑耐药性较高,不适宜作为其感染的治疗药物;但其对呋喃妥因的耐药率较低,可作为轻中度尿路感染敏感菌的患者使用。

本调查显示,2010—2013 年大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的分离总数逐年增加,但耐药性趋于平稳,这可能与积极落实医院感染的控制措施,加强抗生素的合理使用有关。细菌耐药监测是一项长期而重要的工作,在控制耐药率的上升、多重耐药菌的出现和暴发流行具有深远的意义。

参考文献

- [1] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2015,15(5):401-410.
- [2] JONES-DIAS D, MANAGEIRO V, MARTINS A P, et al. New class 2 integron in 2-4 among IncII-positive *Escherichia coli* isolates carrying ESBL and PMAbeta genes from food animals in Portugal[J]. Foodborne Pathog Dis,

2016,13(1):36-39.

- [3] WILLIAMSON D A, ROBERTS S A, SMITH M, et al. High rates of susceptibility to ceftazidime among globally prevalent CTX-M-producing *Escherichia coli*: potential clinical implications of the revised CLSI interpretive criteria[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(5):821-824.
- [4] JACQUIER H, MARCADE G, RAFFOUX E, et al. In vivo selection of a complex mutant TEM (CMT) from an inhibitor-resistant TEM (IRT) during ceftazidime therapy[J]. J Antimicrob Chemother, 2013, 68(12):2792-2796.
- [5] WU N, CHEN B Y, TIAN S F, et al. The inoculum effect of antibiotics against CTX-M-extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrobials, 2014(13):45-51.
- [6] RODRIGUEZ-AVIAL I, PENA I, PICAZO J J, et al. In vitro activity of the next-generation aminoglycoside plazomicin alone and in combination with colistin, meropenem, fosfomycin or tigecycline against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains[J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 46(6):616-621.
- [7] TANG H J, LAI C C, CHEN C C, et al. Colistin-sparing regimens against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* isolates: Combination of tigecycline or doxycycline and gentamicin or amikacin[J]. J Microbiology Immunol Infect, 2016(pii):S16842.
- [8] SENI J, FALGENHAUER L, SIMEO N, et al. Multiple ESBL-producing *Escherichia coli* sequence types carrying quinolone and aminoglycoside resistance genes circulating in companion and domestic farm animals in mwanza, tanzania, harbor commonly occurring plasmids[J]. Front Microbiol, 2016(7):142-147.
- [9] XIAO Y, HU Y. The major aminoglycoside-modifying enzyme AAC(3)-II found in *Escherichia coli* determines a significant disparity in its resistance to gentamicin and amikacin in China[J]. Microb Drug Resist, 2012, 18(1):42-46.
- [10] SINGLA S, HARJAI K, CHHIBBER S. Susceptibility of different phases of biofilm of *Klebsiella pneumoniae* to three different antibiotics[J]. J Antibiot, 2013, 66(2):61-66.
- [11] HUANG Y, OGUTU JO, GU J, et al. Comparative analysis of quinolone resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from Chinese children and adults[J]. Bio Med Res Int, 2015(2015):168292.

(收稿日期:2018-03-27 修回日期:2018-06-13)