

嗜麦芽窄食单胞菌耐药性分析

汪涛,方美玉,余道军,王利民(杭州第一人民医院,浙江杭州310006)

摘要 目的:分析嗜麦芽窄食单胞菌的耐药性以指导临床合理用药。**方法:**对经 VITEK 系统鉴定出 101 株嗜麦芽窄食单胞菌进行自动化药敏试验和纸片扩散法药敏试验,同时对长期难治性嗜麦芽窄食单胞菌感染患者每间隔 1 周进行 1 次药敏试验。**结果:**在所有临床标本中从痰液分离的嗜麦芽窄食单胞菌最多(75%),其次是洁尿(10%),该菌对亚胺培南天然耐药,氨苄西林、阿莫西林/棒酸、头孢唑啉、呋喃妥因、头孢唑啉为 100% 耐药。丁胺卡那、氨曲南、头孢美唑、头孢曲松、头孢噻肟、庆大霉素敏感率在 20% 以下,对左氧氟沙星、复方新诺明、头孢他啶、头孢哌酮/舒巴坦(舒普深)耐药率分别为 18.92%、22.86%、13.95%、2.50%。**结论:**嗜麦芽窄食单胞菌为医院感染的重要病原菌,对大多数抗生素耐药,头孢哌酮/舒巴坦(舒普深)为其首选药物;嗜麦芽窄食单胞菌对仅有的几个敏感药物也易产生药物诱导性耐药。

关键词 嗜麦芽窄食单胞菌;外排泵系统;多重耐药

中图分类号:R915 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-0111(2004)05-0271-03

Analysis of *Stenotrophomonas maltophilia*'s drug resistance

WANG Tao, FANG Mei-yu, YU Daojun, WANG Li-min (Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT Objective: To analyse the drug resistance of the *Stenotrophomonas maltophilia* in order to guide rational drug using in clinical. **Methods:** The automatic drug sensitive test and method that the paper spreads medicine sensitive test were carried on to 101 stems of the *Stenotrophomonas maltophilia* with the index of the VITEK system, and drug sensitive test with long-term difficult to treat nature's *Stenotrophomonas maltophilia* infection patient was carried once a week. **Results:** In all clinical samples, *Stenotrophomonas maltophilia* separated from phlegm liquid is the most (75%), then is the clear urine (10%), this fungus is nature resistance to the action of the iminepinan. The drug resistance of ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin, furantoin, cefuroxime are 100%. Amikacin, aztreonam, cefmetazole, ceftriaxone, cefotaxime, gentamicin's sensitive rate are under 20%, for levofloxacin, Compound sinomin, ceftazidime, cefoperazone/sulbactam, the drug resistance is 18.92%, 22.86%, 13.95%, 2.50% respectively. **Conclusion:** *Stenotrophomonas maltophilia* is the important pathogen fungus that infects in hospital, and resistance to most of the antibiotics, Cefoperazone/sulbactam is the first-selected medicine for it; *Stenotrophomonas maltophilia* is easy to produce medicament inductivity resistance to a few sensitive drugs.

KEY WORDS *Stenotrophomonas maltophilia*; extra-pumping system; multi-drug resistance

嗜麦芽窄食单胞菌广泛分布于自然界,包括烟草、豆类植物和土壤、水、牛奶中,动物体内以及人类的皮肤、咽部均有寄居。医院环境和医务人员皮肤的分离率更高。嗜麦芽窄食单胞菌为条件致病菌,可引起心内膜炎、结膜炎、肺炎、尿道、伤口感染。其中下呼吸道感染的分离率高。近 10 年来,随着广谱抗生素的广泛应用,加上各种侵袭性检查和治疗手段不断增加,其引起的医院感染日益增多,因其具有对多种抗生素耐药的特点,使临床感染难以治愈。因此,耐药性分析具有重要意义。本研究对我院 2003.2~2004.2 分离的嗜麦芽窄食单胞菌进行药敏试验,现报告如下:

1 材料

作者简介:汪涛(1955-),女,大学,主管技师。

1.1 标本来源 本院 2003.2~2004.2 门诊、住院患者的所有微生物培养检测标本,包括痰液、尿液、分泌物、腹腔引流液、血液等。

1.2 质控菌株 质控菌株为铜绿假单胞菌 ATCC27853,购自浙江省疾病控制中心。

1.3 仪器 VITEK-I 微生物自动化分析系统,包括配套细菌鉴定卡(GNI⁺)和药敏试验卡(GNS121);CO₂ 培养箱试剂;MINI 全自动血液培养仪。

1.4 培养基 MH 琼脂,英国 OXOID 公司生产,批号:20030105;血平板,英国 OXOID 公司生产。

2 方法^[1]

2.1 细菌分离鉴定 所有临床标本均采用划线法接种于血平板(无菌腔液经增菌 18h 后转种于血平板,血液标本置于专用培养瓶中直接放入血液培养仪培养),放入 5% CO₂ 培养箱中培养 18~24h,挑取

中等大小、光滑湿润,黄绿色,似荷包蛋样菌落进行革兰氏染色镜检,见镜下为革兰阴性短小杆菌(可为球杆菌,有时染色结果为阴阳不定),行氧化酶试验,取氧化酶为阴性细菌在 VITEK 自动化细菌鉴定系统中进行鉴定。

2.2 药敏试验 本次药敏试验采用自动化药敏试验和手工 K-B 法同时进行。

2.2.1 自动化药敏试验 取 2 次培养 18h 的嗜麦芽窄食单胞菌和标准菌株铜绿假单胞菌,用 0.5% NaCl 溶液配成 1 麦氏单位浓度的菌悬液,冲入 GNI⁺,置于 VITEK-I 自动化鉴定仪进行检测。对同一患者在不同时间内培养的嗜麦芽窄食单胞菌用 0.5% NaCl 溶液配成 1 麦氏单位浓度的菌悬液,采用自动化药敏试验。

2.2.2 K-B 法药敏试验 嗜麦芽窄食单胞菌和标准菌株铜绿假单胞菌菌液制作同“2.2.1”,将菌液均匀涂抹于 M-H 平板上,在 15min 药纸片间隔一定距离贴于培养基上:氨苄西林,阿莫西林/棒酸,丁胺卡那,氨基曲南,环丙沙星,头孢美唑,头孢替坦,头孢曲松,头孢唑啉,呋喃妥因,左旋氧氟沙星,哌拉西林,复方新诺明,头孢他啶,哌拉西林/他唑巴坦钠,舒普

深,特美汀,头孢吡肟等。将平板置于 35℃ 培养箱中培养 18h,用卡尺量取各药的抑菌圈直径,并参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐标准判断药敏结果。对同一患者在不同时间内培养的嗜麦芽窄食单胞菌采用 K-B 法药敏试验测定。

2.3 统计方法 本次试验资料均为计数资料,采用 χ^2 分析对所得资料进行统计学处理。

3 结果

3.1 嗜麦芽窄食单胞菌药敏试验结果 本次试验共对 101 株嗜麦芽窄食单胞菌进行药敏试验,嗜麦芽窄食单胞菌对不同抗生素耐药率相差悬殊,其中对头孢唑啉的耐药率达 99.0%,而对舒普深的耐药率只有 3%,两者耐药率差异具有显著性($P < 0.01$)。对亚胺培南天然耐药,氨苄西林、阿莫西林/棒酸、氯霉素、头孢唑林、呋喃妥因、头孢呋辛耐药为 100%,丁胺卡那、氨基曲南、头孢美唑、头孢曲松、头孢噻肟耐药率为 78.0%,对左氧氟沙星、复方新诺明、头孢他啶、舒普深耐药率分别为 18.92%、22.86%、13.95%、2.50%。详见表 1。

表 1 不同抗生素对嗜麦芽窄食单胞菌作用的影响($n = 101$)

| 抗菌药 | 耐药(R) | 耐药率(%) | 中介(I) | 中介率(%) | 敏感(S) | 敏感率(%) |
|-----------------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| β-内酰胺类抗生素 | | | | | | |
| 氨苄西林 | 100 | 99.0 | 1 | 1.0 | 0 | 0 |
| 阿莫西林/棒酸 | 91 | 90.0 | 7 | 6.9 | 3 | 30.0 |
| 氨基曲南 | 85 | 84.2 | 10 | 9.9 | 6 | 5.9 |
| 头孢美唑 | 76 | 75.3 | 13 | 12.9 | 12 | 11.9 |
| 头孢替坦 | 10 | 9.9 | 0 | 0.0 | 91 | 90.1 |
| 头孢曲松 | 86 | 85.2 | 10 | 9.9 | 5 | 5.0 |
| 头孢唑啉 | 100 | 99.0 | 1 | 1.0 | 0 | 0.0 |
| 泰能 | 101 | 100 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| 哌拉西林 | 59 | 58.4 | 20 | 19.8 | 22 | 21.8 |
| 头孢噻肟 | 68 | 67.3 | 23 | 22.8 | 10 | 9.9 |
| 头孢他啶 | 15 | 14.9 | 8 | 7.9 | 78 | 77.2 |
| 哌拉西林/他唑巴坦钠 | 21 | 20.8 | 16 | 15.8 | 64 | 63.3 |
| 舒普深 | 3 | 3.0 | 9 | 8.9 | 89 | 88.1 |
| 特美汀 | 22 | 21.8 | 14 | 13.9 | 65 | 64.4 |
| 头孢吡肟 | 44 | 43.6 | 15 | 14.9 | 42 | 41.6 |
| 氨基糖苷类 | | | | | | |
| 丁胺卡那 | 79 | 78.2 | 8 | 7.9 | 14 | 13.9 |
| 喹诺酮类 | | | | | | |
| 环丙沙星 | 44 | 43.6 | 15 | 14.9 | 41 | 40.6 |
| 左旋氧氟沙星 | 26 | 25.7 | 8 | 7.9 | 67 | 66.3 |
| 磺胺类 | | | | | | |
| 复方新诺明 | 19 | 18.8 | 4 | 4.0 | 78 | 77.2 |
| 呋喃妥因 | 99 | 98.0 | 1 | 1.0 | 1 | 1.0 |

3.2 同一嗜麦芽窄食单胞菌感染患者多次药敏试验结果 在嗜麦芽窄食单胞菌感染患者中,共检出

15 例患者在 3 周内仍能在同种标本中分离出嗜麦芽窄食单胞菌,该类患者分离出的嗜麦芽窄食单胞菌

初次药敏试验结果显示仅对极少数药物敏感,这些药物在以后两次药敏试验的结果变化差异显著。详见表2。

表2 同一嗜麦芽窄食单胞菌感染患者
多次药敏试验结果(n=15)

| 药名 | 第1次药敏 | | | 第2次药敏 | | | 第3次药敏 | | |
|--------|-------|---|----|-------|---|----|-------|---|----|
| | S | I | R | S | I | R | S | I | R |
| 左旋氧氟沙星 | 15 | 0 | 0 | 3 | 1 | 11 | 1 | 1 | 12 |
| 环丙沙星 | 14 | 1 | 0 | 1 | 0 | 14 | 0 | 0 | 15 |
| 复方新诺明 | 15 | 0 | 0 | 14 | 0 | 1 | 14 | 1 | 0 |
| 舒普深 | 15 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 |
| 其他 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 15 |

4 讨论

嗜麦芽窄食单胞菌是条件致病菌,也是引起医院感染的重要病原菌,主要引起呼吸道感染,其他如尿、脓等标本中均有不同程度的分离率,且呈逐年上升趋势。其致病性与弹性蛋白酶、脂酶、溶血素等有关^[2]。

嗜麦芽窄食单胞菌感染患者大多基础疾病病情严重,免疫力低下,且长期使用大剂量广谱抗生素,导致人体正常菌群被破坏,嗜麦芽窄食单胞菌感染率越来越高,已引起临床医生、医院感染管理部门和实验室科技人员的高度重视,并在该病的预防、治疗等多领域开展了多方位的合作研究,该菌的耐药性研究已经取得了一定进展。本项研究表明,嗜麦芽窄食单胞菌对多种抗生素耐药,包括 β -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类等,对碳青霉烯类天然耐药,但对喹诺酮类耐药性相对较低,对舒普深几乎不耐药。嗜麦芽窄食单胞菌引起多重耐药的机理较为复杂,多重外排泵系统是嗜麦芽窄食单胞菌固有和获得性多重耐药的最重要原因^[3,4]。

嗜麦芽窄食单胞菌对 β -内酰胺类的耐药是产生了具有灭活作用的 β -内酰胺酶、菌体本身的外排泵系统和膜屏障作用。 β -内酰胺酶分为L1、L2两型,均为染色体酶,L1、L2存在于菌体,可被诱导,它们的表达使嗜麦芽窄食单胞菌几乎对全部 β -内酰胺酶敏感性低,L1为金属酶,水解青霉素类、头孢菌素、 β -抑制剂、大多数碳青霉烯类,L2为头孢菌素酶,主要水解头孢菌素、单环头孢菌素,能被 β -内酰胺酶抑制剂抑制。舒普深因含 β -内酰胺酶抑制剂舒巴坦,故该菌对其耐药率一直很低,而亚胺培南是其强诱

导剂,因而嗜麦芽窄食单胞菌对其天然耐药^[5]。

嗜麦芽窄食单胞菌对大环内酯类(红霉素)耐药除外排泵外,还有编码红霉素甲基化的基因,还有外排决定子基因。多重因素决定了嗜麦芽窄食单胞菌对大环内酯类药物的耐药率也很高。该菌对氨基糖甙类药物的耐药机理表现几个方面,其中菌体膜屏障作用是最重要的因素^[6]。本试验研究表明,嗜麦芽窄食单胞菌对喹诺酮类耐药性相对较低,但随着该类药物的使用时间的增加,其耐药率上升非常迅速,最终其耐药率达到100%。嗜麦芽窄食单胞菌对该类药物的耐药机制包括几个方面:外排泵系统、膜屏障、靶位旋转酶II基因和拓扑异构酶IV基因突变,其中靶位旋转酶II基因和拓扑异构酶IV基因突变是其耐药发生的主要原因,且这两个基因在药物诱导下易突变,变异快^[7]。因此,随着治疗时间延长,嗜麦芽窄食单胞菌对喹诺酮类的耐药迅速增加直至完全耐药。

综上所述,目前当务之急应控制广谱抗生素的滥用,其次,应该深入研究嗜麦芽窄食单胞菌外排泵的机制以及 β -内酰胺酶的产生机制,并开发与之对应的抑制剂,控制医院嗜麦芽窄食单胞菌感染的发生率。

参考文献:

- [1] 张军民,赵莉萍,吴坚等.嗜麦芽窄食单胞菌简单鉴定方法探讨[J].中华医学检验杂志,1998,21(2):115.
- [2] 袁应华.嗜麦芽窄食单胞菌150株耐药性分析[J].上海铁道大学学报,2003,21(3):24.
- [3] 孙二琳,宋诗铎.嗜麦芽窄食单胞菌耐药机制的研究[J].中国抗生素杂志,2003,28(7):445.
- [4] Valdezate S, Vindel A, Echeta A, et al. Antimicrobial susceptibilities of unique *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(5):1581.
- [5] Avison MB, Higgins CS, Ford PJ. Differential regulation of L1 and L2 beta lactamase expression in *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. J Antimicrob Chemother, 2002, 44(7):1778.
- [6] Denton M, Todd NJ, Kerr KG, et al. Molecular epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from clinical specimens from patients with cystic fibrosis and associated environmental samples [J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(7):1953.
- [7] Valdezate S, Vindel A, Loza E, et al. Topoisomerase II and IV quinolone resistance determining regions in *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates with different levels of quinolone susceptibility [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(3):665.

收稿日期:2004-03-18