

儿童不同标本来源分离的大肠埃希菌耐药性分析

朱海蛟 饶冠利 张德忠

(浙江省青田县人民医院,浙江 青田 323900)

[摘要] 目的 对儿童不同标本进行大肠埃希菌分离培养,了解不同标本大肠埃希菌分离株的耐药率差异,以便指导临床合理使用抗菌药物。方法 收集629份2004年6月至2009年5月儿童尿液、痰液、血液、分泌物等标本,采用VITEK-32全自动微生物鉴定药敏仪进行细菌鉴定,药敏测定采用K-B法,并比较不同标本所检出的大肠埃希菌对抗菌药物的耐药率差异。结果 共检出的大肠埃希菌260株,其中尿108株,痰64株,分泌物54株,血液23株。大肠埃希菌株ESBLs、AmpC、同产ESBLs + AmpC检出率分别为36.9%、12.3%和3.1%,其中痰液大肠埃希菌分离株ESBLs检出率明显高于其他标本($P < 0.05$),不同标本的大肠埃希菌分离株对阿莫西林/克拉维酸、替卡西林/克拉维酸、哌拉西林、头孢噻肟、头孢呋辛、头孢吡肟、庆大霉素、复方新诺明、呋喃妥因的耐药率不同,其中痰液分离株的耐药率明显高于其他标本($P < 0.05$)。结论 儿童不同标本分离的大肠埃希菌对多种抗菌药物耐药率不同,建议临床医师在治疗不同标本来源分离培养的大肠埃希菌引起的感染时,应根据药敏结果合理使用抗菌药物。

[中国当代儿科杂志,2010,12(5):348-350]

[关键词] 大肠埃希菌;抗菌药物;耐药性;儿童
[中图分类号] R969 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)05-0348-03

Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from different samples in children

ZHU Hai-Jiao, RAO Guan-Li, ZHANG De-Zhong. People's Hospital of Qingtian, Qingtian, Zhejiang 323900, China (Zhang D-Z, Email:qyzdz@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To investigate the possible differences in antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from different samples in children. **Methods** Six hundred and twenty-nine samples from urine, sputum, blood and secretion were collected from June 2004 to May 2009 for bacterial identification by VITEK-32 automatic system and antimicrobial susceptibility tests by Kirby-Bauer method. The drug resistance rate of *Escherichia coli* isolated from different samples was compared. **Results** Two hundred and sixty strains of *Escherichia coli* were isolated, and 108 of which were from urine, 64 from sputum, 54 from secretion and 23 from blood. ESBLs were detected in 96 (36.9%) of the 260 isolates, AmpC enzymes in 32 (12.3%), and ESBLs + AmpC in 8 (3.1%). The ESBLs positive rate of *Escherichia coli* isolates from sputum was significantly higher than that from other samples ($P < 0.05$). The antimicrobial resistance rate of *Escherichia coli* strains from different samples to amoxicillin/clavulanic acid, ticarcillin/clavulanic acid, piperacillin, cefotaxime, cefuroxime, cefepime, gentamicin, cotrimoxazole, and nitrofurantoin was different. The resistance rate of the strains from sputum samples was higher than that from the other samples ($P < 0.05$). **Conclusions** *Escherichia coli* isolated from different samples have different antimicrobial resistance rates in children, so the selection of antibiotics for infections confirmed by bacterial cultures from different samples should based on drug sensitivity results.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (5):348-350]

Key words: *Escherichia coli*; Antimicrobial agent; Drug resistance; Child

大肠埃希菌是临床常见病原菌,也是引起儿童感染的主要病原菌之一。近年来,随着广谱抗菌药物,尤其是β-内酰胺类药物的大量使用,大肠埃希菌分离株超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)、头孢菌素酶(AmpC)检出率不断增加^[1],耐药情况日趋严重,给儿童的临床抗感染治疗带来巨大的挑战。为此,本研究对儿童不同标本分离的大肠埃希菌进行耐药性分析及比较,以期指导临床合理使用抗菌药物。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 一般资料 病例资料来源于2004年6月至2009年5月在我院门诊就诊和住院的患儿,共收

[收稿日期] 2009-06-17; [修回日期] 2009-11-8
[作者简介] 朱海蛟,男,本科,主治医师。
[通信作者] 张德忠,副主任检验技师。

集血液、尿液、痰液、分泌物等标本 629 份。细菌的分离培养按照全国临床检验操作规程进行,细菌均经 VITEK-32 型全自动微生物鉴定仪的 VITEK-GNI 鉴定卡统一进行鉴定。患儿年龄 4 ~ 14 岁,男 337 例,女 318 例,其中有 26 例因首次送检的痰液或尿液标本受杂菌污染,要求重留标本时患者已转院、或拒绝重留标本,未记在上述送检标本内。

1.1.2 受试菌株 上述标本分离的大肠埃希菌作为受试菌,排除同一患者重复菌株,共检出大肠埃希菌 260 株。

1.1.3 抗菌药物 亚胺培南、美罗培南、阿莫西林/克拉维酸、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮/舒巴坦为英国 Oxiod 公司产品,氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢他定、头孢噻肟、头孢呋辛、头孢吡肟、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、复方新诺明、妥布霉素、呋喃妥因等 19 种抗生素纸片由中国药品生物制品检定所提供。

1.2 方法

1.2.1 酶提取物制备 将分离鉴定的细菌挑取数个菌落加入 30 mL 胰蛋白大豆肉汤中,35 ℃ 恒温振荡培育 6 ~ 8 h,4 ℃ 4 000 r/min 离心 30 min 弃上清液,沉淀物加 0.1 mol/L PBS (pH 7.0)300 μL,漩涡混匀后于 -80℃ 反复冻融 6 次,每次各 1 h,然后 4℃ 3 000 r/min 离心 15 min,抽取上清液,经过 MH 琼脂平板 35℃ 培养 24 h 无菌生长为合格酶提取物, -20℃ 保存备用。

1.2.2 头孢西丁 (FOX) 三维试验 按文献报道酶提取物三维试验方法^[2]。

1.2.3 头孢曲松三维试验检测 ESBLs、同产 AmpC 和 ESBLs 菌株 按文献方法进行^[3]。

1.2.4 药敏测试 采用 Kirby-Bauer 纸片琼脂扩散法测定菌株对 19 种抗菌药物的抑菌环直径。标准菌株铜绿假单胞菌 ATCC25873 进行质控,按美国临床实验室标准化研究所 (CLSI)^[4] 规定判断结果。

1.2.5 统计学处理 用 SPSS 13.0 进行统计学分析,两种抗生素的耐药率比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大肠埃希菌在临床标本中的分布

大肠埃希菌可以感染机体的多个部位,尿液、痰液与分泌物中的分离株数占总分离株数的比率分别为 41.5%、24.6% 和 20.8%,均明显高于其余标本 ($P < 0.01$)。各种临床标本大肠埃希菌的

分布见表 1。

表 1 大肠埃希菌在儿童各类标本中的分布 (%)

标本类型	株数	构成比
痰液	64	24.6
中段尿	108	41.5
各种分泌物(脐带、伤口分泌物)	54	20.8
血液	23	8.9
胆汁	3	1.2
胸腹腔积液	4	1.5
其他	4	1.5
合计	260	100

2.2 大肠埃希菌分离株 ESBLs、AmpC 检测结果

结果显示,260 株被检大肠埃希菌株 ESBLs、AmpC、同产 ESBLs + AmpC 检出率分别为 36.9%、12.3% 和 3.1%,其中痰液大肠埃希菌分离株 ESBLs 检出率明显高于其他标本 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 临床标本大肠埃希菌 ESBLs、AmpC 检测率 [株(%)]

标本类型	菌株数	ESBLs	AmpC	ESBLs + AmpC
痰液	64	34(53.1)	10(15.6)	4(6.3)
尿液	108	39(36.1)	15(13.9)	3(2.8)
分泌物	54	13(24.1)	5(9.3)	1(1.9)
血液及其他	34	10(29.4)	2(5.9)	0(0.0)
合计	260	96(36.9)	32(12.3)	8(3.1)

2.3 不同标本大肠埃希菌耐药率的比较

药敏结果提示,痰液、尿、各种分泌物等主要标本分离的大肠埃希菌对亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/他唑巴坦、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率均较低,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);而痰液标本分离的大肠埃希菌对阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林、头孢呋辛、头孢吡肟、庆大霉素、环丙沙星、呋喃妥因耐药率与其他标本分离株相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

ESBLs 为丝氨酸蛋白酶衍生物,是细菌染色体外的蛋白质,可水解 β -内酰胺环,通过质粒形式在细菌间传播,是目前革兰阴性菌耐药的主要原因之一^[5]。AmpC 是肠杆菌科细菌和铜绿假单胞菌等产生的一类 β -内酰胺酶,主要由染色体介导,但也可以通过质粒传播。本组 260 株大肠埃希菌 ESBLs、AmpC、同产 ESBLs + AmpC 检出率分别为 36.9%、12.3% 和 3.1%,其中产 ESBLs 率与蔡志军等^[6]报道的产 ESBLs 率(43.4%)相近。AmpC 检出率高于成人分离株,而同产 ESBLs + AmpC 率与成人相近^[7],这可能与我院三代头孢菌素过多应用有关。

表 3 主要临床标本大肠埃希菌分离株对 19 种抗生素的耐药率 [株(%)]

抗生素	痰液 (n=64)	尿 (n=108)	分泌物 (n=54)	血液 (n=23)	痰液与尿		痰液与分泌物		痰液与血液	
					χ^2 值	P 值	χ^2 值	P 值	χ^2 值	P 值
亚胺培南	3(4.7)	3(2.8)	2(3.7)	0(0.0)	0.053	0.818	0.000	1.000	0.153	0.696
美罗培南	2(3.1)	4(3.7)	1(1.9)	1(4.4)	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000
阿莫西林/克拉维酸	59(92.2)	87(80.6)	38(70.4)	15(65.2)	4.238	0.040	9.529	0.002	7.677	0.006
替卡西林/克拉维酸	51(79.7)	82(75.9)	33(61.1)	14(60.9)	0.354	0.569	4.927	0.026	3.171	0.075
头孢哌酮/舒巴坦	13(20.3)	16(14.8)	7(13.0)	3(13.0)	0.866	0.352	1.124	0.289	0.210	0.647
氨苄西林/舒巴坦	32(50.0)	74(68.5)	28(51.9)	12(52.2)	5.828	0.016	0.040	0.841	0.032	0.858
哌拉西林	57(89.1)	81(75.0)	35(64.8)	14(60.9)	5.011	0.025	10.024	0.002	7.180	0.007
哌拉西林/他唑巴坦	18(28.1)	22(20.4)	17(31.5)	4(17.4)	1.354	0.245	0.158	0.691	1.032	0.310
头孢他定	34(53.1)	50(46.3)	23(42.6)	8(34.8)	0.750	0.386	1.301	0.254	2.280	0.131
头孢噻肟	44(68.8)	52(48.2)	29(53.7)	10(43.5)	6.916	0.009	2.810	0.094	4.590	0.032
头孢呋辛	46(71.9)	54(50.0)	24(44.4)	10(43.5)	7.901	0.005	9.132	0.003	5.949	0.015
头孢吡肟	28(43.8)	28(25.9)	9(16.7)	4(17.4)	5.814	0.016	9.981	0.002	5.055	0.025
阿米卡星	28(43.8)	39(36.1)	22(40.7)	8(34.8)	0.986	0.321	0.109	0.742	0.561	0.454
庆大霉素	55(85.9)	58(53.7)	25(46.3)	9(39.1)	18.528	0.000	21.080	0.000	19.061	0.000
环丙沙星	55(53.1)	78(72.2)	34(63.0)	11(47.8)	4.311	0.038	8.340	0.004	13.421	0.000
左氧氟沙星	32(50.0)	80(74.1)	33(61.1)	10(43.5)	10.253	0.001	1.461	0.227	0.288	0.591
复方新诺明	52(81.3)	72(66.7)	45(83.3)	15(65.2)	4.248	0.039	0.087	0.768	2.457	0.117
妥布霉素	16(25.0)	49(45.4)	14(25.9)	3(13.0)	7.093	0.008	0.013	0.908	1.417	0.234
呋喃妥因	21(32.8)	18(16.7)	7(13.0)	2(8.7)	5.975	0.015	6.376	0.012	5.060	0.024

本研究发现,主要标本分离的大肠埃希菌对亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/他唑巴坦、哌拉西林/他唑巴坦的总耐药率较低,其次为呋喃妥因、头孢吡肟,其余抗菌药物的耐药率均大于 46.0%。不同标本大肠埃希菌分离株对亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/他唑巴坦、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率相近。对其余抗生素的耐药率表现为不同标本分离株不同,其中痰分离的大肠埃希菌对阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林、头孢呋辛、头孢吡肟、庆大霉素、环丙沙星、呋喃妥因的耐药率高于他标本分离株。这可能与由于本组痰液标本大肠埃希菌 ESBLs 检出率高(53.1%),且大肠埃希菌携带编码 ESBLs 耐药基因的质粒往往同时带有其他作用机制抗菌药物的耐药基因,表现出多重耐药现象有关^[8]。尿标本分离的大肠埃希菌对阿莫西林/克拉维酸、替卡西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、复方新诺明、环丙沙星、氧氟沙星、妥布霉素有较高的耐药率,可能原因为:(1)大肠埃希菌对喹诺酮类敏感性明显低于非尿标本,是因为氟喹诺酮类活性强,尿液中浓度高,不良反应小,抗泌尿道感染时,临床的使用频率高而又使用不当造成。(2)对阿莫西林/克拉维酸、替卡西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦耐药与尿标本大肠埃希菌分离株有较高 AmpC 产酶率有关。(3)复方新诺明、妥布霉素的耐药原因有待进一步探讨。

值得注意的是,虽然各类标本大肠埃希菌分离株对呋喃妥因的耐药率较低,但它是一种抗泌尿系感染药物,血清中浓度较低,90% 在肾脏排出,因此

尿液中浓度很高,它能有效抵抗尿路病原菌,可作为泌尿道抗感染治疗药物,不建议应用其他部位的抗感染治疗。总之,大肠埃希菌在革兰阴性杆菌乃至整个细菌感染中占有很高的比例,由于大肠埃希菌在不同标本 ESBLs、AmpC 检出率和耐药性有较大差异,因此,在临床治疗时,应根据药敏试验结果选用不同的抗生素,以保证合理而有效使用抗生素。

[参 考 文 献]

[1] 黄长武,梅雪芬,李兴绿. 大肠埃希菌 AmpC 酶及 ESBLs 检测与耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志,2005,30(11):686-688.
[2] 吴伟元,陈民钧,王辉. 阴沟肠杆菌去阻遏持续高产 AmpC 酶和超广谱 β -内酰胺酶的检测[J]. 中国临床药理学杂志,2001,17(2):104-109
[3] 方平,潘晓龙,周东升,吴同生,吴祥林. 医院感染与社区获得性感染革兰阴性杆菌耐药性与 β -内酰胺酶的分布对比[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(3):335-339.
[4] Clinical and Laboratory Standard Insititue. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: fourteenth information supplement[S]. 2004: 1-150.
[5] 罗燕萍,张秀菊,徐雅萍,田芳,沈定霞. 产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯氏菌和大肠埃希氏菌的分布及其耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(1):101-104.
[6] 蔡志军,马志远,邓玉丽. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希氏菌耐药谱分析[J]. 现代诊断与治疗,2006,17(1):13-15.
[7] 唐朝贵,郑绍同,孙海平,韩其香,傅启云. 社区及医院感染大肠埃希菌产 AmpC 酶、ESBLs 检测与耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志,2007,6(4):255-258.
[8] 滕琳,苏芬,甄永强,吴立平,王乐强. 产超广谱 β -内酰胺酶细菌肺部感染及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(12):948-949.

(本文编辑:王庆红)