

某院革兰阳性球菌的临床分布及耐药状况分析

叶鸿雁, 谢红意, 赵笔辉, 葛婷婷, 乐旭波, 张丹丹, 乐群燕
(浙江省宁波市北仑区人民医院, 浙江 宁波 315800)

近年来,随着临床介入性治疗操作的增多和抗菌药物的广泛使用,革兰阳性球菌的耐药性不断增加,已成为全球范围内院内感染的重要病原菌^[1]。革兰阳性球菌耐药监测网(GPRS)2012年的监测数据显示,不同地区革兰阳性球菌的耐药率有所差异^[2]。为了解我院革兰阳性球菌的感染和耐药情况,现对我院3年来的检测结果进行分析,为临床医生合理规范使用抗菌药物提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 2 112株革兰阳性球菌均为我院2011年1月至2013年12月临床分离的非重复菌株,包括凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、屎肠球菌、肺炎链球菌、 β 溶血性链球菌。质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213、粪肠球菌 ATCC29212 和肺炎链球菌 ATCC49619。

1.1.2 试剂与仪器 肺炎链球菌鉴定用 Optochin 纸片和乳胶凝集试剂购自法国生物梅里埃公司。其余鉴定与药敏试剂均为西门子 MicroScan WalkAway-40 配套产品。葡萄球菌属和肠球菌属药敏试验使用 POS Combo Type 33 复合板,链球菌属药敏试验使用 Micro Strep Plus 药敏板。

1.2 方法

1.2.1 葡萄球菌属和肠球菌属药敏试验 菌株配置成0.5麦氏浓度的菌液,吸取100 μ L菌液加入到含有 PLURONIC 表面活性剂的接种液,用 RENOK 接种器对 POS Combo Type 33 复合板进行再水化,用 MicroScan WalkAway-40 自动测试系统孵育和读取药敏试验结果。

1.2.2 链球菌药敏试验 菌株配置成0.5麦氏浓度的菌液,吸取100 μ L菌液加入到含有3%马血的 Mueller-Hinton 肉汤,用 RENOK 接种器对 Micro

Strep Plus 药敏板进行再水化,用 MicroScan WalkAway-40 自动测试系统孵育和读取药敏试验结果。

1.3 结果判断

采用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2013年版 M100-S23^[3]进行耐药(R)、中介(I)、敏感(S)的判定。其中,对于非口服使用青霉素的分离自非脑脊液标本的肺炎链球菌的折点为 $S \leq 2 \mu\text{g/mL}$, $R \geq 8 \mu\text{g/mL}$,对分离自脑脊液标本的肺炎链球菌的折点为 $S \leq 0.06 \mu\text{g/mL}$, $R \geq 0.12 \mu\text{g/mL}$ 。

1.4 数据分析

应用 Whonet 5.6 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 细菌分布

2.1.1 细菌种类及数量 2 112株革兰阳性球菌中,金黄色葡萄球菌占34.1%(720株),表皮葡萄球菌占12.6%(267株),人葡萄球菌占7.2%(153株),溶血葡萄球菌属占4.3%(90株),其他凝固酶阴性葡萄球菌占4.8%(102株);肺炎链球菌占5.3%(111株), β 溶血链球菌占3.4%(72株);粪肠球菌占16.1%(339株),屎肠球菌占12.2%(258株)。

2.1.2 标本来源分布 呼吸道标本占29.0%(612株),血液标本占25.1%(531株),尿液标本占21.2%(447株),伤口分泌物和脓液标本占9.8%(207株),胆汁标本占6.5%(138株),胸水、腹水和各类引流液标本占5.3%(111株),导管标本占2.4%(51株),脑脊液和骨髓标本占0.6%(12株),其他标本占0.1%(3株)。

2.2 葡萄球菌属对抗菌药物的耐药性

2.2.1 金黄色葡萄球菌 720株金黄色葡萄球菌中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)372株,占51.7%,甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌348株,占48.3%。其中重症监护室(ICU)患者的MRSA发生率为74.5%(114/153),非ICU住院患者的MRSA发生率为47.8%(258/540)。不同标本中MRSA发生

率最高的为呼吸道标本(312/516),其次为伤口分泌物及脓液标本(33/105)。MRSA 对万古霉素的最低抑菌浓度(MIC)值为 0.5~2 mg/L。

2.2.2 凝固酶阴性葡萄球菌 分离的凝固酶阴性葡萄球菌(CoNS)中,最常见的是表皮葡萄球菌(43.6%),其次是人葡萄球菌(25.0%)和溶血性葡萄球菌(14.7%)。612 株 CoNS 均来自住院和门急诊患者的无菌部位,其中 63.7%(390 株)来自血液

标本,其余为伤口组织、脓液、无菌体液及导管标本。耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCoNS)492 株,占 80.4%,甲氧西林敏感凝固酶阴性葡萄球菌(MSCoNS)120 株,占 19.6%。血液标本和非血液标本 MRCoNS 的发生率分别为 81.5%(318/390)和 78.4%(174/222)。MRCoNS 对所测药物的耐药率均高于 MSCoNS。未发现对万古霉素、利奈唑胺、达托霉素、奎奴普汀/达福普汀耐药的葡萄球菌(表 1)。

表 1 抗菌药物对葡萄球菌的体外抗菌活性(%)

抗菌药物	MRSA			MSSA			MRCoNS			MSCoNS		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
苯唑西林	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
头孢西丁	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
头孢唑啉	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
头孢曲松	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
阿莫西林/克拉维酸	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
环丙沙星	49.2	7.3	43.5	7.8	10.3	81.9	43.3	3.0	53.7	12.5	0.0	87.5
左旋氧氟沙星	45.2	6.5	48.3	6.0	2.6	91.4	43.3	1.8	54.9	12.5	0.0	87.5
莫西沙星	48.4	2.4	49.2	2.6	4.3	93.1	23.2	7.3	69.5	20.0	0.0	80.0
庆大霉素	14.5	0.0	85.5	8.6	1.7	89.7	31.1	6.1	62.8	12.5	0.0	87.5
克林霉素	68.5	2.4	29.1	32.8	7.8	59.4	51.8	0.0	48.2	27.5	2.5	70.0
红霉素	77.4	0.0	22.6	44.0	1.7	54.3	78.0	0.0	22.0	75.0	0.0	25.0
四环素	21.8	0.0	78.2	15.5	0.0	84.5	31.1	0.0	68.9	12.5	0.0	87.5
氯霉素	12.1	5.6	82.3	12.1	6.0	81.9	12.8	0.0	87.2	0.0	0.0	100.0
利福平	5.6	0.0	94.4	0.0	0.9	99.1	12.2	0.0	87.8	0.0	0.0	100.0
复方新诺明	1.6	0.0	98.4	0.9	0.0	99.1	50.0	0.0	50.0	42.5	0.0	57.5
奎奴普汀/达福普汀	0.0	1.6	98.4	3.4	0.9	95.7	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
万古霉素	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
利奈唑胺	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
达托霉素	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0

2.3 链球菌对抗菌药物的耐药性

2.3.1 肺炎链球菌 111 株肺炎链球菌中,12 株分离自血液,其余均来自呼吸道。其中 84 株分离自非 ICU 住院患者,15 株分离自 ICU 患者,12 株分离自门急诊患者。对克林霉素、红霉素和四环素的耐药率均在 75.0% 以上;青霉素耐药肺炎链球菌(PRSP)占 40.5%,青霉素中度耐药肺炎链球菌(PISP)占 29.7%,未发现耐万古霉素的肺炎链球菌(表 2)。

2.3.2 β 溶血性链球菌 72 株 β 溶血性链球菌中,化脓性链球菌 39 株, B 群无乳链球菌 33 株。37.5%(27 株)分离自呼吸道标本,37.5%(27 株)分离自尿液标本,16.7%(12 株)分离自伤口组织及脓液标本,8.3%(6 株)分离自宫颈分泌物和羊水。化脓性链球菌对红霉素耐药 6 株,对克林霉素耐药 3 株; B 群无乳链球菌对左旋氧氟沙星耐药 3 株。未发现对青霉素和万古霉素耐药的菌株。

表 2 抗菌药物对肺炎链球菌的体外抗菌活性(%)

抗菌药物	R	I	S
青霉素 G	40.5	29.7	29.8
阿莫西林/克拉维酸	2.7	0.0	97.3
头孢克洛	62.2	27.0	10.8
头孢曲松	0.0	40.5	59.5
头孢噻肟	0.0	40.5	59.5
头孢吡肟	0.0	40.5	59.5
美洛培南	0.0	56.8	43.2
左旋氧氟沙星	2.7	0.0	97.3
复方新诺明	73.0	5.4	21.6
克林霉素	78.4	0.0	21.6
红霉素	86.5	0.0	13.5
万古霉素	0.0	0.0	100.0
氯霉素	8.1	0.0	91.9
四环素	83.8	0.0	16.2

2.4 肠球菌对抗菌药物的耐药性

339 株粪肠球菌对奎奴普汀/达福普汀、克林霉素和红霉素的耐药率较高,分别为 96.5%(327 株)、88.5%(300 株)和 68.1%(231 株);258 株屎肠球菌对青霉素、氨苄西林、克林霉素和红霉素的耐药率最

高,均为 89.5% (231 株);62.8% (213 株)的粪肠球菌和73.3% (189 株)的屎肠球菌对高浓度庆大霉素耐药。未发现对万古霉素、利奈唑胺、达托霉素耐药的菌株(表 3)。

表 3 抗菌药物对肠球菌的体外抗菌活性(%)

抗菌药物	粪肠球菌			屎肠球菌		
	R	I	S	R	I	S
青霉素 G	15.0	0.0	85.0	89.5	0.0	10.5
氨苄西林	0.0	0.0	100.0	89.5	0.0	10.5
高单位的庆大霉素	62.8	0.0	37.2	73.3	0.0	26.7
环丙沙星	27.4	2.7	69.9	88.4	4.7	6.9
左旋氧氟沙星	23.9	2.7	73.4	81.4	5.8	12.8
莫西沙星	22.1	0.0	77.9	84.9	0.0	15.1
复方新诺明	15.0	0.0	85.0	73.3	0.0	26.7
红霉素	84.1	4.4	11.5	89.5	2.3	8.2
氯霉素	25.7	0.0	74.3	22.1	10.5	67.4
奎奴普丁/达福普汀	96.5	0.0	3.5	16.3	12.8	70.9
四环素	82.3	3.5	14.2	26.7	0.0	73.3
万古霉素	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
利奈唑胺	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
达托霉素	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0

3 讨论

革兰阳性球菌是医院环境中非常重要的病原体,随着其耐药性的增加,治疗时间的延长,增加了患者的发病率和死亡率。特别是金黄色葡萄球菌引起的院内感染已成为发病和致死的主要原因^[4]。对临床常见细菌进行长期动态的监测,了解这些细菌感染在本地区的发生率及耐药现状,将为临床感染控制及经验用药提供依据。

我院为沿海经济较发达地区的区级综合性医院,本次研究表明,我院 MRSA 的发生率为 51.7%,MR-CoNS 的发生率为 80.4%,高于郭宇等^[2]报道的全国同期监测数据。我院的患者主要为婴幼儿和老年人,使用抗菌药物的比例较高,因此,进一步提升合理用药管理水平,规范临床合理使用抗菌药物尤为重要。本文中金黄色葡萄球菌主要分离自呼吸道标本,其次为分泌物标本,这与国内其他文献报道相似^[5],呼吸道标本的 MRSA 发生率(60.5%)高于伤口分泌物及脓液标本的发生率(31.4%)。不同病区 MRSA 的发生率不同,ICU 的 MRSA 发生率最高,为 74.5%,大大高于非 ICU 病房(47.8%)和门急诊 MRSA 的发生率(0.0%),这些数据为临床针对不同感染类型的经验用药提供了依据。有文献报道,我国的金黄色葡萄球菌对万古霉素的 MIC 有升高趋势,2012 年全国 10 大城市 16 家教学医院的监测中发现 1 株对万古霉素中介的金黄色葡萄球菌(VISA),MIC 为 3 μg/mL^[2]。

我院金黄色葡萄球菌对万古霉素的 MIC 值为 0.5 ~ 2 mg/L,其中可能存在异质性万古霉素中介的金黄色葡萄球菌(hVISA)。因此,在平时工作中也应关注万古霉素对 MRSA 的体外抗菌活性。

肺炎链球菌是苛养菌,实验室分离率较低,血液中分离到的菌株更是极少,这是由于血液带菌量少,临床又往往抗生素经验性治疗在先,造成临床低估其发病率,导致治疗时间延长,应引起重视。从本文结果来看,体外活性最好的是青霉素复合制剂和氟喹诺酮类药物,敏感率均大于 97.0%,耐药最严重是红霉素,敏感率仅为 14.5%,这与大环内酯类抗生素大量使用有关。除红霉素以外,四环素、克林霉素的耐药率也大于 75.0%,不应作为治疗肺炎链球菌感染的经验用药。有研究表明,肺炎链球菌对 β-内酰胺类抗生素的耐药性与血清型相关,19F 及 19A 对 β-内酰胺类抗生素的耐药性高于其他血清型^[6],我院 PRSP 的发生率为 40.5%,PISP 的发生率为 29.7%,耐药株是否也是这两种血清型,值得今后探讨。

β溶血性链球菌也是苛养菌,自从实验室配备二氧化碳培养箱以来,分离率较往年增加。发现对红霉素、克林霉素、左旋氧氟沙星耐药的菌株,因为青霉素过敏者往往选择红霉素和克林霉素,因此实验室准确报告药敏结果,为临床提供用药依据尤为重要。

肠球菌广泛分布在自然界,常栖居在人和动物的肠道和女性生殖道。该菌属已成为我院医院感染的重要病原菌,且以泌尿生殖道感染为主。几乎所有的肠球菌都对头孢菌素、克林霉素、磺胺类、低浓度氨基糖甙类及部分 β-内酰胺类抗菌药物天然耐药^[7],因此不作统计。本文结果显示,除四环素外,屎肠球菌的耐药率普遍高于粪肠球菌,特别是对 β-内酰胺类和喹诺酮类药物。临床上治疗肠球菌感染一般采用青霉素或氨苄西林与庆大霉素联合治疗,本文中有超过 60%的肠球菌对高浓度氨基糖甙类药物耐药,因此临床治疗应以实验室结果为依据,根据药物吸收浓度和患者的身体状况制定合理的治疗方案。

4 参考文献

- [1] Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria [J]. Am J Infect Control, 2006 34 (5 Suppl 1): S11 - S19, discussion S64 - S73.
- [2] 郭宇,王辉,赵春江,等. 2012 年中国 16 家医院革兰阳性球菌耐药监测研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33(6): 401 - 409.

(下转第 129 页)

表4 已生育和未生育者同时感染生殖道感染性疾病的情况比较

感染疾病种数	已生育		未生育	
	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)
0	2028	41.46	776	23.85
1	2393	48.93	1870	57.47
2	419	8.57	525	16.13
3	51	1.04	77	2.37
4	0	0.00	5	0.15
5	0	0.00	1	0.03

2.2 已婚和未婚者生殖道感染性疾病检出情况比较

因所有对象的 HIV 抗体检测均为阴性,故在比较中除外艾滋病项目。未婚者各种生殖道感染性疾病的检出率均高于已婚者(表5)。未婚者同时感染2种及以上生殖道感染性疾病的构成比高于已婚者(表6)。

表5 已婚和未婚者生殖道感染性疾病检出情况比较

疾病名称	已婚		未婚	
	阳性例数	检出率(%)	阳性例数	检出率(%)
VVC	139	4.25	115	4.55
滴虫性阴道炎	11	0.20	18	0.71
生殖道支原体感染	3172	56.46	1833	72.54
生殖道沙眼衣原体感染	321	5.71	308	12.19
淋病	6	0.11	4	0.16
BV	343	6.11	255	10.09
梅毒	18	0.32	17	0.67

表6 已婚和未婚者同时感染生殖道感染性疾病的情况比较

感染疾病种数	已婚		未婚	
	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)
0	2235	39.78	569	22.52
1	2818	50.16	1445	57.18
2	504	8.97	440	17.41
3	61	1.09	67	2.65
4	0	0.00	5	0.20
5	0	0.00	1	0.04

3 讨论

本文结果显示,早孕妇女人工流产术前生殖道支

原体感染在各生殖道感染性疾病中居首位,其次是生殖道沙眼衣原体感染,处于第三位的是 BV。本文资料中,人工流产术前没有检测出任何生殖道感染性疾病的人数占总数的 34.43%,有 65.57% 的早孕妇女存在 1 种或同时存在多种生殖道感染性疾病,与廖秦平等^[1]报道的妇产科门诊患者中生殖道感染占 55% 以上相符。目前已证实,生殖道支原体是女性宫颈炎的病因,解脲脲原体和人型支原体与早产、低出生体质量以及新生儿肺疾病相关^[1]。虽然临床支原体检出率很高,这在本文中也已证实,但很多是无症状携带者,因此,是否需要治疗有所争议。而生殖道衣原体感染目前已归入性传播性疾病范畴。生殖道不同病原体感染(衣原体、BV、滴虫感染)与宫颈癌前病变及宫颈癌存在必然或一定的相关性^[2]。冯宪凌^[3]研究认为生殖道感染是导致女性不孕的重要原因,应加强对育龄妇女的健康教育,减少意外妊娠,并增强保护意识,避免生殖道感染。对人工流产妇女需更加重视生殖道感染性疾病的检测和治疗。

本文结果显示,未生育或未婚者的 VVC、滴虫性阴道炎、生殖道支原体感染、生殖道沙眼衣原体感染、BV、梅毒的检出率均高于已生育或已婚者。未生育或未婚者中同时存在 2~5 种生殖道感染性疾病的比例亦高于已生育或已婚者。分析其原因可能与这部分人群性生活过频、有多个性伴侣等有关。由于这部分女性今后再生育要求更为强烈,故感染生殖道疾病对她们身体带来的远期危害也更大。

4 参考文献

- [1] 廖秦平,张岱. 中国女性生殖道感染诊治现状及研究进展[J]. 国际妇产科学杂志,2011,38(6):469-474.
- [2] 杨洁. 生殖道感染与宫颈癌前病变及宫颈癌的相关性分析[J]. 中国实用医药,2010,5(27):48-50.
- [3] 冯宪凌. 1 080 例女性不孕症相关病因调查分析[J]. 中国妇幼保健,2013,28(25):4216-4218.

(收稿日期:2014-03-31)

(上接第 127 页)

- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S23 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement[S]. Wayne, PA: CLSI, 2013.
- [4] PR 默里, EJ 巴伦, MA 法勒, 等. 临床微生物学手册[M]. 7 版. 徐建国, 梁国栋, 邢来君, 等译. 北京: 科学出版社, 2005:363.
- [5] 耿先龙, 马筱玲, 付广林, 等. 某院近 3 年金黄色葡萄球菌

分布特征与耐药性分析[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(4):324-327.

- [6] 肖素坤, 赵春江, 刘春林, 等. 我国成人和儿童中分离的肺炎链球菌的耐药性与血清型研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(8):601-607.
- [7] 张彬, 陈锦艳. 肠球菌耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2001, 11(3):235-236.

(收稿日期:2014-09-15)