

- 2 张新华,王军,冉启杰,等. 维甲酸与亚砷酸联合蒽环类抗生素治疗急性早幼粒细胞白血病[J]. 医药导报,2009,28(8):1041-1043
- 3 邢富兴,韩斯琴,陈新思. 全反式维甲酸联合三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病 26 例分析[J]. 中国误诊学杂志,2008,8(9):2209-2210
- 4 李尊昌,邹萍,赵娟,等. 全反式维甲酸联合三氧化二砷治疗初发急性早幼粒细胞白血病的临床观察[J]. 临床血液学杂志,2008,21(9):481-484
- 5 傅明伟,王建祥. 急性早幼粒细胞白血病治疗策略的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志,2007,30(3):259-263
- 6 张晓辉,胡豫,洪梅,等. 砷剂和维甲酸对 NB4 细胞组织因子和凝血酶调节蛋白 mRNA 及促凝活性的影响[J]. 中国实验血液学杂志,2007,15(2):391-395
- 7 杨静,田红旗. 全反式维甲酸联合三氧化二砷及小剂量阿糖胞苷治疗急性早幼粒细胞白血病的疗效观察[J]. 中原医刊,2006,33(2):64-64
- 8 谭映霞,章圣辉,尹丽慧,等. 三氧化二砷和全反式维甲酸联合使用诱导 NB4 细胞 C/EBP  $\epsilon$  mRNA 的表达[J]. 癌变. 畸变. 突变,2004,16(1):17-20
- 9 MIGUEL A, SANZ, MARTIN S, *et al.* Tricks of the trade for the appropriate management of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia[J]. Blood, 2005,105:3019-3025
- 10 刘元方,沈志祥,陈晓,等. 全反式维甲酸联合三氧化二砷治疗初发急性早幼粒细胞白血病的近期疗效观察[J]. 中华血液学杂志,2003,24(1):25-27
- 11 赵耀中,李洪强,李大鹏,等. 三氧化二砷联合全反式维甲酸治疗急性早幼粒细胞白血病的初步观察[J]. 中华血液学杂志,2003,24(1):32-34

(收稿:2009-12-03)

(修回:2009-12-15)

## 葡萄球菌临床分离株耐药性分析

屈春燕

**摘要** 目的 探讨葡萄球菌临床分离株耐药性现状,为临床医生合理使用抗生素提供科学依据。方法 采用微量肉汤稀释法对 216 株葡萄球菌做药敏试验,同时用头孢西丁纸片扩散法检测耐甲氧西林葡萄球菌(methicillin resistant staphylococcus, MRS)。结果 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci, MRCNS)的检出率分别为 53.7% 和 91.9%;MRSA 和 MRCNS 对临床常用抗菌药物的耐药率明显高于甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin-susceptible staphylococcus aureus, MSSA)和甲氧西林敏感凝固酶阴性葡萄球菌(methicillin-susceptible coagulase-negative staphylococci, MSCNS);绝大多数葡萄球菌对奎奴普丁/达福普丁敏感;未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药的菌株。结论 MRSA 和 MRCNS 分离率上升,细菌耐药性持续增加,这都要求我们进一步加强 MRS 的检测和细菌耐药性监测,其对于正确合理选用抗菌药和控制细菌耐药性产生十分重要。

**关键词** 葡萄球菌 甲氧西林抗药性 细菌药敏试验 抗药性 细菌

**Analysis on Drug Resistance of Staphylococcus Isolates.** Qu Chunyan. *Clinical Laboratory, The Seventh People's Hospital, Sichuan 610021, China*

**Abstract Objective** To explore the drug resistance of Staphylococcus isolates and offer scientific basis for reasonable usage of antibiotics. **Methods** MIC test was taken by broth microdilution method in 216 strains of Staphylococcus. Methicillin resistant Staphylococcus (MRS) strains were identified by Cefoxitin Kirby-Bauer disk diffusion method. **Results** The prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci (MRCNS) was 53.7% and 91.9%, respectively. Resistant rates of MRSA and MRCNS were higher than those of methicillin-susceptible Staphylococcus aureus (MSSA) and methicillin-susceptible coagulase-negative Staphylococci (MSCNS) to antimicrobial agents commonly used in clinic. Most of isolates of Staphylococcus were susceptible to synergid. All isolates were susceptible to both vancomycin and linezolid. **Conclusion** The increase of isolated rates of MRSA and MRCNS and the emerging bacterial resistance warrants further enhancing the detection of MRS and the surveillance of bacterial resistance to inform the rational use of antimicrobial agents and containment of bacterial resistance.

**Key words** Staphylococcus; Methicillin resistance; Bacterial susceptibility testing; Drug resistance; Bacterial

葡萄球菌是临床重要的致病菌群,目前已成为医院内感染和社区获得性感染的主要病原菌,特别是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS),它们对包括甲氧西林在内的多种抗菌药物耐药,同时该耐药性的遗传物质能够在细菌之间传播,易造成暴发流行<sup>[1]</sup>。多重耐药的葡萄球菌引起的感染发病率有逐年上升趋势,葡萄球菌的耐药性已经成为医院感染和临床治疗的棘手问题。为了掌握我院葡萄球菌的耐药性现状及其耐药变迁,为临床合理使用抗菌药物提供依据,我们对临床分离的葡萄球菌进行了回顾性耐药性分析。

### 材料与方 法

1. 菌株来源:216株葡萄球菌临床分离株来自住院和门诊患者的临床标本,2008年5月~2009年6月采集。同一患者相同标本培养出相同菌株不做重复计数。标准菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213,由卫生部临床检验中心提供。

2. 菌种鉴定:葡萄球菌均按照标准操作规程进行分离、鉴定,经革兰染色、凝固酶试验后,再在 DADE BEHRING MicroScan PC20 鉴定板上鉴定至菌种。

3. 药敏纸片:头孢西丁(每片 30 $\mu$ g)购于北京天坛药物生物技术开发公司。

4. 药敏试验:采用微量肉汤稀释法(minimal inhibitory concentrations, MIC),在 PC20 板上完成。抗生素包括氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氯霉素、克林霉素、头孢唑啉、环丙沙星、红霉素、庆大霉素、亚胺培南、左旋氧氟沙星、利奈唑胺、苯唑西林、青霉素、利福平、奎奴普丁/达福普丁、复方磺胺甲唑、四环素、万古霉素。

5. MRS 的检测:采用头孢西丁纸片扩散法,按照美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2007年标准推荐方法进行试验。在 M-H 琼脂上应用标准的纸片扩散法实验条件,33~35 $^{\circ}$ C,空气中,金黄色葡萄球菌和路邓葡萄球菌孵育 16~18h,凝固酶阴性葡萄球菌孵育 24h。使用反射光读取头孢西丁抑菌环直径。判断标准:金黄色葡萄球菌和路邓葡萄球菌抑菌环直径 $\geq$ 22mm 报告为苯唑西林敏感,抑菌环直径 $\leq$ 21mm 报告为苯唑西林耐药;凝固酶阴性葡萄球菌抑菌环直径 $\geq$ 25mm 报告为苯唑西林敏感,抑菌环直径 $\leq$ 24mm 报告为苯唑西林耐药。

6. 统计学方法:率的比较采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 葡萄球菌的标本分布:葡萄球菌的标本来源以痰液最多见,其次为伤口分泌物,见表 1。

2. 葡萄球菌的菌种分布:216株葡萄球菌中检出金黄色葡萄球菌 67株,占 31.0%,其中检出 MRSA36

株,检测阳性率为 53.7%(36/67);凝固酶阴性葡萄球菌 149株,占葡萄球菌的百分比为 69.0%,其中检出 MRCNS137株,检测阳性率为 91.9%(137/149)。凝固酶阴性葡萄球菌中以表皮葡萄球菌和溶血葡萄球菌最为多见,见表 2。

表 1 216 株葡萄球菌在临床标本中的分布

标本	株数(n)	百分比(%)
痰液	134	62.0
伤口分泌物	41	19.0
尿液	13	6.0
脓液	11	5.1
尿道分泌物	7	3.2
血液	4	1.9
胸腹腔积液	2	0.9
其他	4	1.9

表 2 216 株葡萄球菌的菌种分布

菌种	菌株数(n)	百分比(%)
金黄色葡萄球菌	67	31.0
表皮葡萄球菌	64	29.6
溶血葡萄球菌	63	29.2
人葡萄球菌	5	2.3
耳葡萄球菌	4	1.9
路邓葡萄球菌	4	1.9
松鼠葡萄球菌	3	1.4
模仿葡萄球菌	2	0.9
中间型葡萄球菌	2	0.9
孔氏葡萄球菌	1	0.5
施氏葡萄球菌	1	0.5

3. 葡萄球菌对 18 种抗生素的耐药性:216株葡萄球菌均对万古霉素和利奈唑胺敏感。奎奴普丁/达福普丁对葡萄球菌表现出良好的抗菌活性,无论是甲氧西林敏感葡萄球菌还是甲氧西林耐药葡萄球菌,耐药率均很低。除外上述 3 种抗生素,MRSA 对氯霉素和复方磺胺甲唑的耐药率较低(分别为 19.4% 和 44.4%),而对其余 13 种抗生素的耐药率均在 80% 以上,其中对氨苄西林、红霉素、青霉素的耐药率达到了 100%。MRCNS 除对氯霉素、利福平、四环素的耐药率较低,对其余 12 种抗生素的耐药率均在 50% 以上。比较 MRSA 和 MSSA 的耐药率,MRSA 普遍高于 MSSA,除利奈唑胺、奎奴普丁/达福普丁和复方磺胺甲唑,其他 14 种抗生素耐药率的差异有显著或非常显著性意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );比较 MRCNS 和 MSCNS 的耐药率,前者也普遍高于后者,除外氯霉素、利奈唑胺、利福平、奎奴普丁/达福普丁、复方新诺明和四环素,其余抗生素耐药率的差异有非常显著性意义( $P < 0.01$ ),见表 3。比较 MRSA 和 MRCNS,除氯霉素、奎奴普丁/达福普丁和复方新诺明,其余抗生

素的耐药率前者均高于后者,其中阿莫西林/克拉维酸、克林霉素、头孢唑啉、亚胺培南、左旋氧氟沙星、利

福平、四环素耐药率的差异有显著或非常显著性意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),见表4。

表3 MRSA 和 MSSA、MRCNS 和 MSCNS 耐药率比较 (%)

抗生素	金黄色葡萄球菌		P	凝固酶阴性葡萄球菌		P
	MRSA(36)	MSSA(31)		MRCNS(137)	MSCNS(12)	
氨苄西林	100	74.2	<0.01	100	41.7	<0.01
阿莫西林/克拉维酸	91.7	0	<0.01	54.0	0	<0.01
氯霉素	19.4	3.2	<0.05	36.5	16.7	>0.05
克林霉素	97.2	51.6	<0.01	81.8	50	<0.01
头孢唑啉	94.4	0	<0.01	56.2	0	<0.01
环丙沙星	97.2	9.7	<0.01	91.2	66.7	<0.01
红霉素	100	77.4	<0.01	95.6	58.3	<0.01
庆大霉素	97.2	25.8	<0.01	85.4	41.7	<0.01
亚胺培南	86.1	0	<0.01	52.6	0	<0.01
左旋氧氟沙星	97.2	9.7	<0.01	72.2	33.3	<0.01
利奈唑胺	0	0	-	0	0	-
苯唑西林	100	0	<0.01	100	0	<0.01
青霉素	100	74.2	<0.01	100	50	<0.01
利福平	83.3	0	<0.01	17.5	0	>0.05
奎奴普丁/达福普丁	2.8	3.2	>0.05	7.3	0	>0.05
磺胺甲唑	44.4	45.2	>0.05	75.9	66.7	>0.05
四环素	94.4	38.7	<0.01	41.6	25	>0.05
万古霉素	0	0	-	0	0	-

表4 MRSA 和 MRCNS 耐药率比较 (%)

抗生素	MRSA(36)	MRCNS(137)	P
氨苄西林	100	100	-
阿莫西林/克拉维酸	91.7	54.0	<0.01
氯霉素	19.4	36.5	>0.05
克林霉素	97.2	81.8	<0.05
头孢唑啉	94.4	56.2	<0.01
环丙沙星	97.2	91.2	>0.05
红霉素	100	95.6	>0.05
庆大霉素	97.2	85.4	>0.05
亚胺培南	86.1	52.6	<0.01
左旋氧氟沙星	97.2	72.2	<0.01
利奈唑胺	0	0	-
苯唑西林	100	100	-
青霉素	100	100	-
利福平	83.3	17.5	<0.01
奎奴普丁/达福普丁	2.8	7.3	>0.05
磺胺甲唑	44.4	75.9	<0.01
四环素	94.4	41.6	<0.01
万古霉素	0	0	-

### 讨 论

耐甲氧西林葡萄球菌由于其多重耐药的特性,已受到临床高度重视,特别是 MRSA,它的耐药性更严重,通常对多种抗生素同时耐药,可以引起从皮肤软组织感染到致死性疾病等一系列的疾病,如心内膜炎、肺炎、毒素休克综合征(TSS)等<sup>[2]</sup>。近年来,由于静脉导管等医用种植装置的使用,使凝固酶阴性葡萄球菌成为具有重要临床意义的医院感染病原菌,MRCNS 的感染多见于各种导管源性的局部感染和继

发的心内膜炎、菌血症等。1961年,英国人 Jvons 首次报道了 MRSA,之后其就以惊人的速度在全世界蔓延。在美国,1975年 MRSA 在金葡菌中仅占 2.4%,现在则达到 30%~50%;在中国,近年来的报道一般在 40%~70%之间,但是各个地区的检出率都明显有逐年增加的趋势<sup>[3]</sup>。2002年国家细菌耐药性监测网范围内 MRSA 和 MRCNS 的分离率分别为 41.4%和 74.5%<sup>[4]</sup>;2007年卓超等报道广州地区 MRSA 和 MRCNS 的检出率分别为 55.9%和 75.9%<sup>[5]</sup>。本文中 MRSA 和 MRCNS 的检出率分别为 53.7%和 91.9%,我们曾对我院 2004~2006年葡萄球菌的耐药情况进行统计分析,MRSA 和 MRCNS 的检出率分别为 37.5%和 98.7%<sup>[6]</sup>,从中可见不仅葡萄球菌的感染总数逐年上升,其耐药菌的检出率也呈增加趋势。

葡萄球菌对甲氧西林的耐药主要是由于其产生一种与  $\beta$  内酰胺类亲和力极低的青霉素结合蛋白 2a (PBP2a),该蛋白由 mecA 基因编码。PBP2a 为葡萄球菌青霉素结合蛋白 2 (PBP2) 的异构体,在大多数  $\beta$  内酰胺类抗菌药物的治疗剂量范围内 PBPs (分为 4 种,PBP1、2、3、4) 与药物结合而失活,但 PBP2a 不与药物相结合而保持活性,从而显示耐药性<sup>[7]</sup>。mecA 基因位于一个独特的、称为葡萄球菌染色体 mecA 基因盒 (staphylococcal cassette chromosome mec, SCC-mec) 上。目前全球报道了 5 种类型的 SCCmec,分别

为 SCCmec I - V 型。对 MRSA 进行 SCCmec 分型,可以了解其分子流行病学特征。MRSA 可分为医院获得性 MRSA (hospital - acquired MRSA, HA - MRSA) 和社区获得性 MRSA (community - acquired MRSA, CA - MRSA)。CA - MRSA 大多产生潘顿 - 瓦伦丁杀白细胞毒素 (Panton - Valentine Leukocidin, PVL), mecA 基因亚型主要为 SCC 型 IV, 它对许多药物保持敏感, 如克林霉素、大多  $\beta$  内酰胺类药, 仅对甲氧西林和红霉素耐药; HA - MRSA 很少产 PVL 毒素, mecA 基因亚型多为 SCC 型 I、II、III, 对除多肽类以外的抗生素广谱耐药。

在表 3 中, 我们比较了 MRSA 与 MSSA、MRCNS 与 MSCNS 对抗生素耐药率, 前者普遍高于后者, MRSA 表现出对多种抗生素的多重耐药, 包括  $\beta$  内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类、氟喹诺酮类、克林霉素等。MRCNS 对多种抗生素的耐药情况也很严重。表 4 比较了 MRSA 与 MRCNS 耐药率, 结果对大多数抗生素前者高于后者, 其中部分抗生素耐药率的差异有显著性意义, 说明 MRSA 比 MRCNS 表现出更为严重的多重耐药性, 特别是对非  $\beta$  内酰胺类抗菌药物。

万古霉素是治疗 MRSA 感染的首选, 本文中葡萄球菌对万古霉素均敏感。随着万古霉素在临床的大量使用, 其面临着越来越大的选择性压力, 目前国外已先后报道了 8 例耐万古霉素金黄色葡萄球菌 (VRSA)<sup>[8]</sup>, 我国国内也有中耐万古霉素金黄色葡萄球菌 (VISA) 的报道, 因此一批可替代万古霉素的新药被开发、应用, 如利奈唑胺、替吉环素、达托霉素、链阳霉素及糖肽类的新衍生物等。利奈唑胺是合成的第 1 个恶唑烷酮类抗菌药物, 通过阻碍核糖体形成起始复合物从而抑制细菌蛋白质合成起始阶段, 发挥抗菌活性。该药对革兰阳性球菌特别是多重耐药的 MRSA 有较好的抗菌活性。奎奴普丁/达福普丁是链阳霉素

类抗菌药物, 是从大量链霉菌中提取的普拉霉素半合成衍生物, 对多重耐药的革兰阳性球菌有良好的抗菌活性。本文中利奈唑胺和奎奴普丁/达福普丁对葡萄球菌表现出良好的抗菌活性, 利奈唑胺耐药率为 0, 奎奴普丁/达福普丁小于 10%。但是葡萄球菌特别是金黄色葡萄球菌被认为是适应抗菌药最典范的细菌, 它具有独特的、完整的能力发展耐药性, 它有一系列针对抗生素的耐药机制, 再加上自发突变和压力选择, 使它几乎可以对所有的老药和新药产生耐药, 因此加强葡萄球菌耐药性的监测显得十分必要和重要。

对于 MRS 感染的预防和控制措施, 关键是合理用药; 一旦发现耐药株, 应马上加以控制隔离, 防止耐药性的传播。预防 VISA 和 VRSA 感染的主要措施是减少万古霉素的使用, 同时选用合适的诊断技术、最大限度限制经验用药、减少静脉导管等器械使用。

#### 参考文献

- 1 张鹏, 张问芳, 张媛, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌快速检测方法的比较. 中华检验医学杂志, 2008, 31(3): 325 - 329
- 2 王辉, 刘昱东, 杜娜, 等. 2005 年我国多中心苯唑西林耐药的金黄色葡萄球菌分子流行病学研究. 中华检验医学杂志, 2007, 30(12): 1354 - 1359
- 3 徐振波, 李琳, 石磊. 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌多位点序列 SCCmec 及随机扩增多态性 DNA 分型研究. 中华检验医学杂志, 2008, 31(11): 1270 - 1273
- 4 马越, 李景云, 张新妹, 等. 2002 年临床常见细菌耐药性监测. 中华检验医学杂志, 2004, 27(1): 38 - 45
- 5 卓超, 苏丹虹, 钟南山. 2007 年广州地区耐药性监测分析. 中华检验医学杂志, 2009, 32(4): 397 - 402
- 6 屈春燕, 杨敏. 111 株葡萄球菌的菌种分布及耐药性分析. 现代临床医学, 2007, 33(5): 342 - 343
- 7 杨清宇. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的研究. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(4): 478 - 480
- 8 陈民钧. 抗菌药耐药性监测的前景. 中华检验医学杂志, 2008, 31(6): 605 - 609

(收稿: 2009 - 11 - 30)

(修回: 2009 - 12 - 12)

## 重大传染病防治科技专项进展顺利

艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治国家科技重大专项实施推进工作视频会议近日召开。专项领导小组组长、卫生部部长陈竺在会上强调, 要把实施传染病专项与改善民生、推进医药卫生体制改革紧密结合, 与加强自主创新、全面提升维护健康能力紧密结合。据悉, 在各成员单位共同努力下, 传染病防治专项自 2009 年 8 月启动以来, 已顺利完成“十一五”全部任务的部署工作, 进入了全面实施阶段。陈竺要求, 现阶段重大专项实施要重点做好 3 项工作: ①进一步凝炼目标, 明确当前的攻关重点和标志性成果, 突出重点, 全力推进; ②进一步探索组织机制和管理体制的创新, 实现优势资源的集成; ③前瞻部署, 编制好“十二五”计划。下一阶段要切实加强领导, 确保责任到位; 强化过程监管, 确保工作进度; 加强能力建设, 确保发挥实效; 加强人才队伍建设, 确保可持续发展。尤其要注重建设传染病突发疫情的应急处置能力, 综合集成和转化的支撑实战能力, 面向基层的试验、试点、示范与推广能力, 加快传染病防治的相关研发、生物制剂等产品的产业化和推广应用能力。