

# 产ESBLs细菌在肝硬化合并自发性腹膜炎患者腹水中的检测及其耐药性

骆成林, 呼闯营, 殷国建, 睦振宇, 程桂莲, 王少峰

骆成林, 呼闯营, 殷国建, 睦振宇, 程桂莲, 王少峰, 苏州大学附属第二医院消化科 江苏省苏州市 215004

作者贡献分布: 骆成林与王少峰对此文所作贡献均等; 此课题由骆成林、呼闯营、殷国建、睦振宇、程桂莲及王少峰设计; 研究过程由骆成林、呼闯营、殷国建、睦振宇及程桂莲操作完成; 研究过程所用新试剂及分析工具由王少峰提供; 数据分析由骆成林与呼闯营完成; 本论文写作由骆成林、王少峰及呼闯营完成。

通讯作者: 王少峰, 主任医师, 215004, 江苏省苏州市苏州大学附属第二医院消化科. sfwang68@yahoo.com.cn

电话: 0512-67783877

收稿日期: 2009-03-03 修回日期: 2009-03-26

接受日期: 2009-03-30 在线出版日期: 2009-05-28

## Extended-spectrum $\beta$ -lactamases producing strains and drug resistance analysis in ascitic patients with spontaneous bacterial peritonitis

Cheng-Lin Luo, Chuang-Ying Hu, Guo-Jian Yin, Zhen-Yu Sui, Gui-Lian Cheng, Shao-Feng Wang

Cheng-Lin Luo, Chuang-Ying Hu, Guo-Jian Yin, Zhen-Yu Sui, Gui-Lian Cheng, Shao-Feng Wang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China  
Correspondence to: Dr Shao-Feng Wang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China. sfwang68@yahoo.com.cn

Received: 2009-03-03 Revised: 2009-03-26

Accepted: 2009-03-30 Published online: 2009-05-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the extended-spectrum  $\beta$ -lactamases-producing strains and drug resistance in ascitic patients with spontaneous bacterial peritonitis so as to provide theoretical basis for clinical drug use.

**METHODS:** Isolated *E.coli* and *klebsiella pneumonia* from January 2005 to December 2008, confirmed by Vitek-32, underwent extended-spectrum  $\beta$ -lactamases detection and drug sensitivity tests using Kirby-Bauer methods.

**RESULTS:** There were 38.3%(18/47) of *E.Coli* and 0 of *klebsiella pneumonia* producing ESBL.

Drug resistance rates of the ESBL-producing strains to AMX, AMK, CZA, CZP, ATM, FEP, SMZ, CFP and PIP were significantly higher than those of the Non-ESBL producing strains, but to CSL and TZP there was no discrimination between them. Drug resistance rates of ESBL-producing and Non-ESBL producing strains were zero to TMP.

**CONCLUSION:** Monitoring the ESBL-producing strains and drug resistance would be important for treatment of patients with spontaneous bacterial peritonitis.

**Key Words:** Spontaneous bacterial peritonitis; *E. scherichia*; *Klebsiella pneumonia*; Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases; Drug resistance

Luo CL, Hu CY, Yin GJ, Sui ZY, Cheng GL, Wang SF. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing strains and drug resistance analysis in ascitic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(15): 1567-1569

## 摘要

**目的:** 了解肝硬化合并自发性腹膜炎患者腹水中细菌产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)和耐药性。

**方法:** 我院2005-01/2008-12肝硬化合并自发性腹膜炎患者腹水中分离出的大肠埃希菌和克雷伯杆菌, 采用vitek-32全自动细菌鉴定及药物分析仪进行ESBLs检测和药敏试验。

**结果:** 38.3%(18/47)大肠埃希氏菌中检测出产ESBLs, 10株肺炎克雷伯杆菌中未检测出ESBLs, 产ESBLs菌对9种抗生素(阿莫西林、阿米卡星、头孢他啶、环丙沙星、氨曲南、头孢吡肟、复方新诺明、头孢哌酮、哌拉西林)的耐药性较不产ESBLs菌明显高, 对抗生素(哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦)的耐药性与不产ESBLs菌相比无显著差异, 产ESBLs菌与不产ESBLs菌对亚胺培南的耐药性均为0。

**结论:** 对腹水中产ESBLs细菌及耐药性的检测

## ■背景资料

自发性腹膜炎(SBP)的病原菌大多数为革兰阴性杆菌, 其中以大肠埃希菌、肺炎克雷伯杆菌为主, 近年来随着广谱抗生素特别是头孢菌素类的大量使用, 大肠埃希菌和克雷伯杆菌的耐药性日趋严重。李家泰 *et al*报道大肠埃希菌和克雷伯杆菌的耐药机制之一是产 $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs), 因此了解肝硬化合并SBP的腹水中细菌产ESBLs和耐药情况能更好的指导临床用药。

## ■同行评议者

范小玲, 主任医师, 北京地坛医院综合科; 倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科

## ■研发前沿

目前在临床上对SBP经验性选用抗菌药物主要是三代头孢或喹诺酮类抗菌药物,而疗效并不是很理想,分析原因除了与患者本身伴有的严重基础病及并发症等因素外,耐药率的提高也应是影响预后的重要因素之一。

对指导临床用药方面具有重要意义。

**关键词:** 自发性腹膜炎; 大肠埃希菌; 肺炎克雷伯杆菌; 超广谱 $\beta$ -内酰胺酶; 耐药性

骆成林, 呼闯营, 殷国建, 睦振宇, 程桂莲, 王少峰. 产ESBLs细菌在肝硬化合并自发性腹膜炎患者腹水中的检测及其耐药性. 世界华人消化杂志 2009; 17(15): 1567-1569

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1567.asp>

## 0 引言

自发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)是肝硬化常见并发症,也是导致患者死亡的主要原因之一,早期诊断并有效治疗SBP是改善肝硬化患者预后的重要因素. SBP的病原菌大多数为革兰阴性杆菌,其中以大肠埃希菌、肺炎克雷伯杆菌为主,近年来随着广谱抗生素特别是头孢菌素类的大量使用,大肠埃希菌和克雷伯杆菌的耐药性日趋严重.李家泰 *et al*<sup>[1]</sup>报道大肠埃希菌和克雷伯杆菌的耐药机制之一是产 $\beta$ -内酰胺酶(extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, ESBLs),因此了解肝硬化合并SBP的腹水中细菌产ESBLs和耐药情况能更好地指导临床用药.我们对2005-01/2008-12我院肝硬化合并SBP的患者腹水中分离培养出的细菌及耐药情况进行分析,现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2005-01/2008-12在我院诊断为肝硬化合并SBP住院患者122例,肝硬化的诊断与分型参照2000年全国病毒性肝炎防治方案.患者入院后均做床边腹水细菌培养,其中培养出47株大肠埃希菌,10株克雷伯杆菌.大肠埃希氏菌ATCC25922,肺炎克雷伯氏菌ATCC700603,均购自卫生部临床检验中心,所有结果均符合NCCLS颁布的药敏质控范围.哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、阿米卡星、环丙沙星、阿莫西林、复方新诺明(纸片购自北京天坛药物生物技术开发公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 菌株鉴定:** 所有实验菌株均按要求分离纯化后,用0.45% NaCl制成1个麦氏浊度的菌悬液,充入GNI+卡,采用Vitek-32全自动细菌鉴定(购自法国梅里埃公司)。

**1.2.2 ESBLs检测:** 按NCCLS进行,判定标准按1999年版标准: 头孢噻肟和头孢噻肟/克拉维

表 1 产ESBL与非产ESBL的大肠埃希菌及肺炎克雷伯杆菌对12种抗生素的耐药率的比较 (%)

抗菌药	大肠埃希菌		肺炎克雷伯杆菌(ESBLs <sup>-</sup> )
	ESBLs <sup>+</sup>	ESBLs <sup>-</sup>	
阿莫西林	100.00	93.10	80.00
阿米卡星	44.44	24.13	20.00
头孢他啶	94.44	31.03	30.00
环丙沙星	72.22	48.27	40.00
氨曲南	100.00	55.17	30.00
头孢吡肟	33.33	17.24	10.00
复方新诺明	61.11	41.37	40.00
头孢哌酮	77.77	31.03	30.00
头孢哌酮/舒巴坦	0.00	3.48	0.00
哌拉西林	88.88	37.93	40.00
哌拉西林/他唑巴坦	5.55	6.89	10.00
亚胺培南	0.00	0.00	0.00

酸、头孢他啶和头孢他啶/克拉维酸,任一组抑菌环直径相差 $\geq 5$  mm为产酶株。

**1.2.3 抗菌药物及药敏试验:** 用纸片琼脂扩散法(K-B法)测定所有菌株对12种抗菌药物的耐药性,观察时间和结果评价依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)1999年版本的标准。

**统计学处理** 采用SPSS11.5软件进行 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

**2.1 ESBLs试验** 47株大肠埃希菌中产ESBLs菌株18株,检出率为38.3%(18/47),10株肺炎克雷伯杆菌中未检测出ESBLs。

**2.2 药敏结果** 12种抗菌药物对产ESBLs的大肠埃希菌耐药性,除亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦(耐药率 $<6\%$ )均敏感外,产ESBLs菌株对阿莫西林、哌拉西林、头孢他啶、氨曲南、头孢哌酮耐药率较高均在77%以上,对四代头孢菌素如头孢吡肟敏感性较高,耐药率仅33.33%。对阿米卡星、环丙沙星、复方新诺明耐药率均 $>44\%$ ,以上耐药性有显著差异.而非产ESBLs的大肠埃希菌及肺炎克雷伯杆菌则表现出良好的敏感性除氨曲南、环丙沙星、阿莫西林(耐药性 $>45\%$ ,表1)。

## 3 讨论

ESBLs是由广谱 $\beta$ -内酰胺酶经1-4个基因位点突变而形成,能水解 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的 $\beta$ -内酰胺环而使之灭活.产ESBLs是革兰阴性杆菌(如大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌等)对第3代头孢菌素和单环 $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药的最重要和

## ■应用要点

为遏制产ESBLs菌株的产生,临床医生应加强细菌耐药性的检测,严格掌握抗菌药物的使用指征,提高合理用药的意识,根据体外药物敏感试验选用抗菌药物。

最常见的机制. 本组资料中示产ESBLs占大肠埃希菌的38.3%(18/47)与杨玉英 *et al*<sup>[2]</sup>报道33.3%相近, 克雷伯杆菌中未发现产ESBLs, 可能与样本例数较少有关.

产ESBLs大肠埃希菌对碳青霉类及含 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂如亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率均 $<6.00\%$ , 表现出良好的抗菌活性. ESBLs的特点是能被 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂所抑制. 本组2种含 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂抗菌药物的药敏结果显示, 头孢哌酮和头孢哌酮/舒巴坦对产ESBLs菌株的耐药率分别为77.77%和0, 哌拉西林和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率分别为88.88%和5.55%, 产ESBLs菌与不产ESBLs菌对抗生素(亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦)的耐药性相比无显著差异( $P>0.05$ ). 可能是 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物与 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂的联用增强了前者的抗菌活性, 产ESBLs大肠埃希菌多重耐药现象严重, 药敏试验表明产ESBLs菌株对青霉素类、三代头孢菌素类、环丙沙星、复方新诺明耐药率均 $>70.0\%$ , 对四代头孢吡肟耐药率也有33.33%, 阿米卡星耐药率为44.44%. 产ESBLs菌表现为多重耐药<sup>[3]</sup>, 其中对青霉素类抗菌药物的耐药率最高, 这与文献报道一致<sup>[4]</sup>, 可能是因携带ESBLs基因的质粒可同时携带氨基糖苷类、四环素类、氯霉素类、磺胺类及氟喹诺酮类等耐药基因<sup>[5]</sup>, 从而被多种抗菌药物筛选. 近年来提出具有同时整合和表达多种耐药基因特征的整合子中可能含有某些ESBLs编码基因<sup>[6-7]</sup>, 导致携带整合子的产ESBLs菌株表现出更大的扩散优势, 整合子在介导耐药基因水平转移中的作用已经得到证实<sup>[8]</sup>.

目前在临床上对SBP经验性选用抗菌药物主要是三代头孢或喹诺酮类抗菌药物, 而疗效并不是很理想, 分析原因除了与患者本身伴有的严重基础病及并发症等因素外, 耐药率的提高也应是影响预后的重要因素之一. 本组资料中示产ESBLs菌株对青霉素、头孢菌素类高度耐药性, 原因在于这些抗菌药物不耐酶, 可被ESBLs水解. 喹诺酮类药物因肝肾脏毒性低、腹水中药物浓度高等优点, 曾被广泛应用于治疗

腹水感染, 但近年发现, 革兰阴性菌对喹诺酮类抗菌药物耐药性迅速上升, 且喹诺酮类抗菌药物又存在明显交叉耐药性, 故临床医生在得到药敏结果前不宜首选使用. 产ESBLs革兰阴性菌对青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、阿米卡星的耐药性比非产ESBLs菌株明显增高, 经 $\chi^2$ 检验差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 这与产ESBLs菌株携ESBLs的质粒可能同时带有喹诺酮类、氨基糖苷类等多种抗菌药物的耐药基因有关. 为遏制产ESBLs菌株的产生, 临床医生应加强细菌耐药性的检测, 严格掌握抗菌药物的使用指征, 提高合理用药的意识, 根据体外药物敏感试验选用抗菌药物. 对产ESBLs革兰阴性菌引起的腹水感染, 不宜选用头孢菌素和青霉素类抗菌药物, 而应选用亚胺培南等碳青霉烯类或 $\beta$ -内酰胺类/ $\beta$ -内酰胺酶抑制剂类药物.

因此临床上对此类患者需进行常规的腹水病原菌培养和药敏试验, 同时进行ESBLs检测以指导临床合理应用抗生素.

#### 4 参考文献

- 1 李家泰, 李耘, 齐慧敏. 2002-2003年中国革兰阴性细菌耐药性监测研究. 中华检验医学杂志 2005; 28: 19-29
- 2 杨玉英, 张锦前, 王慧珠, 吴亮, 罗凌, 赫嵘, 蒋煜, 刘庄. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎患者腹水培养阳性的病原菌分析. 中华传染病杂志 2005; 23: 402-405
- 3 植志全, 姜鹏, 何志恒, 邹惠锋, 马劲光. 医院感染肺炎克雷伯菌耐药性及氨基糖苷类修饰酶、 $\beta$ -内酰胺酶基因研究. 中华医院感染学杂志 2005; 15: 1208-1213
- 4 Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum beta-lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 500-510
- 5 罗燕萍, 张秀菊, 徐雅萍, 田芳, 沈定霞. 产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌的分布及其耐药性研究. 中华医院感染学杂志 2006; 16: 101-104
- 6 Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1-14
- 7 Arduino SM, Roy PH, Jacoby GA, Orman BE, Pineiro SA, Centron D. blaCTX-M-2 is located in an unusual class 1 integron (In35) which includes Orf513. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2303-2306
- 8 Rowe-Magnus DA, Mazel D. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. *Int J Med Microbiol* 2002; 292: 115-125

#### ■同行评价

文章切合临床研究了肝硬化合并自发性腹膜炎的感染现状和治疗提示, 具有一定的临床使用价值, 但新颖性一般.

编辑 李军亮 电编 何基才