

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对万古霉素的 MIC 值的 5 年监测 *

王 珏 陈友华 成祥君 文 怡 梅亚宁[△]

(南京医科大学第一附属医院 江苏 南京 210029)

摘要 目的:了解我院 5 年来耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)对万古霉素敏感性的变化,为临床治疗和控制该类感染提供依据。**方法:**采用以肉汤稀释法测定近 5 年耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)临床分离株对万古霉素的最低抑菌浓度(MIC),按 NCCLS/CLSI2010 年标准判定结果,WHONET5.5 软件进行数据分析。**结果** MRSA 检出率从 2005 年的 19.23 % 上升到 2009 年的 42.14 %,万古霉素的 MIC 几何均数从 0.54 $\mu\text{g/ml}$ 上升到 1.21 $\mu\text{g/ml}$,未检出万古霉素、替考拉宁耐药株,但 2007 年有 2 株,2008 年、2009 年各有 1 株菌株对替考拉宁呈中介,抑菌圈直径依次为 12 mm、12 mm、13 mm、12 mm,MIC 值均为 16.0 $\mu\text{g/ml}$ 。**结论:** MRSA 检出率逐年上升,MRSA 对万古霉素 MIC 值有升高的趋势,加强金黄色葡萄球菌对万古霉素敏感性的监测非常必要。

关键词 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 万古霉素 最低抑菌浓度

中图分类号 R379 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 10-1902-04

Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus to Vancomycin Values for 5 Years*

WANG Jue, CHEN You-hua, CHENG Xiang-jun, WEN Yi, MEI Ya-ning[△]

(Department of Clinical Microbiology, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT Objective: To review and analyze the evolution of the MICs of vancomycin in methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains isolated in our hospital during an five - year period to guide rational use of antimicrobial agents. **Methods:** The MICs of vancomycin were detected by broth macrodilution method on methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains isolated from clinical specimens during last 5 years, determination of the results observed the standard of CLSI version 2010, and drug sensitivity analysis adopted WHONET5. 5. **Results:** MRSA detection rate from 19.23 % in 2005 rose to 42.14 % in 2009, MICs geometri mean of vancomycin increased from 0.54 $\mu\text{g/ml}$ to 1.21 $\mu\text{g/ml}$, No isolate was found drug resistance to vancomycin and teicoplanin, Four strain of MRSA from 2007 to 2009 was intermediate to teicoplanin, The diameters (mm) of the inhibition zone were 12.0, 12.0, 13.0, 12.0; The MICs of vancomycin to 4 isolates were 4 $\mu\text{g/ml}$. **Conclusion:** MRSA microorganisms are increasing from 2007 to 2009, MICs of vancomycin in MRSA indicated a trend of increasing; It is important to monitor the antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus to vancomycin.

Key words: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus; Vancomycin; Minimal inhibitory concentration

Chinese Library Classification(CLC): R379 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)10-1902-04

金黄色葡萄球菌是医院感染的重要病原菌之一,为解决金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药性问题,1959 年半合成的青霉素类抗菌药物甲氧西林和苯唑西林投入临床应用,然而自 1961 年英国首次报道耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)以来,MRSA 现已在世界各地广为流行,MRSA 不仅对 β 内酰胺类抗生素耐药,而且对大环内酯类、四环素类、氨基糖苷类抗生素耐药率也很高。目前临床治疗 MRSA 感染最常用的药物仍以糖肽类抗生素为主,但随着糖肽类抗生素的频繁使用,许多国家已有对糖肽类抗菌药物敏感性降低的报道^[1-5],1997 年日本、美国先后报道了对万古霉素敏感性降低的 MRSA[最低抑菌浓度(MIC)为 8 mg/L],即万古霉素中介金黄色葡萄球菌(VISA)。给临床医生选用抗菌药物、有效治疗和控制 MRSA 的感染带来压力。本研究通过对近 5 年耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)临床分离株对万古霉素抑菌圈直径及 MIC 的值的分析,研究 MRSA 对万古霉素敏感性的变化,以探讨 MRSA 对

万古霉素的敏感性的变迁。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

自 2005 年 1 月~2009 年 12 月我院临床各科送检的痰液、脓液、鼻咽拭子、尿液、血液、前列腺液和引流物等各种标本中不计重复分离的菌株。取 2005 年~2009 年的每年 1 月~10 月间分离的 MRSA 各 30 株用于 MIC 值检测。质控菌株为金黄色葡萄球菌(ATCC25923, ATCC 29213)。

1.2 试剂材料

M-H 琼脂和头孢西丁药敏纸片购自英国 OXOID 公司。万古霉素,500 mg/瓶礼来公司提供。

1.3 检测方法

细菌鉴定按《全国临床检验操作规程》进行,API 鉴定到种,MRSA 检测方法按美国临床实验室标准化委员会(CLSI)抗

* 基金项目 江苏省实验诊断学重点实验室重大课题(C 编号 XK2007317)

[△]通讯作者 梅亚宁, E-mail: myn303@163.com

(收稿日期 2011-09-17 接受日期 2011-10-07)

生素药物敏感试验执行标准,用头孢西丁纸片进行筛选确认。头孢西丁(每片 30 μg)纸片对金黄色葡萄球菌做药敏试验,头孢西丁纸片抑菌圈直径 $\leq 21\text{ mm}$ 为耐药,则可确定为 MRSA。药敏试验方法:采用纸片扩散法(K-B 法),选药规则、试验方法、判读标准和质控要求按美国临床实验室标准化委员会(CLSI)抗生素药物敏感试验执行标准的规定执行。MIC 检测采用液体对倍稀释法测定。结果判读按 NCCLS/CLSI 2010 年标准万古霉素对金黄色葡萄球菌的折点,MIC $\leq 2\text{ mg/L}$ 为敏感,MIC $\geq 16\text{ mg/L}$ 为耐药,MIC $4\sim 8\text{ mg/L}$ 为中介。

1.4 数据分析

用世界卫生组织细菌耐药性监测网提供的 WHONET5.5 软件进行分析。

2 结果

2.1 2005 年~2009 年每年分离 MRSA 的菌株数

实验结果分别为 55、68、99、115 和 126,各年度 MRSA 检出情况见表 1,MRSA 检出率增长趋势见图 1。

2.2 2005 年~2009 年 MRSA 对万古霉素的敏感性变迁

2005 年抑菌圈直径均值为 21.38 mm,2009 年抑菌圈直径

均值为 18.09 mm, $P<0.01$,2006 年至 2009 年抑菌圈直径均值波动在 17.35 mm-18.29 mm 之间, $P>0.05$ 。各年度的菌株对万古霉素抑菌圈的平均直径和标准差见表 2,对万古霉素敏感性的变迁见图 2,2005 和 2009 年 MRSA 对万古霉素抑菌圈直径的分布见图 3。

2.3 2005 年~2009 年万古霉素的 MIC 几何均数:

从 0.54 $\mu\text{g/ml}$ 上升到 1.21 $\mu\text{g/ml}$,2007 年最高,MIC₅₀、MIC₉₀ 均为 2.00,2005 年~2009 年各年度 MRSA 对万古霉素的 MIC 值见表 3

2.4 2005 年~2009 年 MRSA 对其他抗菌药物的敏感性

见表 4,未检出万古霉素、替考拉宁耐药株但 2007 年有 2 株,2008 年、2009 年各有 1 株菌株对替考拉宁呈中介,抑菌圈直径依次为 12 mm、12 mm、13 mm、12 mm,MIC 值均为 16.0 $\mu\text{g/ml}$ 。

3 讨论

MRSA 在临床标本中分布广泛,几乎见于所有的临床标本,是引起医院感染和社区获得性感染的主要病原菌之一,各个地区报道的 MRSA 的分离率差异较大,但都有增长趋势。我院监

表 1 2005 年~2009 年各年度 MRSA 检出情况

Table 1 The experimental results of MRSA from the year 2005 to 2009

Year	Strains	MRSA Strains	Detection rate of MRSA
2005	286	55	19.23%
2006	320	68	21.25%
2007	303	99	32.67%
2008	282	115	40.78%
2009	299	126	42.14%

表 2 2005 年-2009 年 MRSA 对万古霉素抑菌圈和标准差变化

Table 2 The developmental size of the bacteriostatic circle and standard deviation with vancomycin on MRSA from 2005 to 2009

Year	2005	2006	2007	2008	2009
Average (mm)	21.38	18.29	17.35	18.20	18.09
Standard deviation (mm)	1.88	1.82	1.92	2.04	1.7

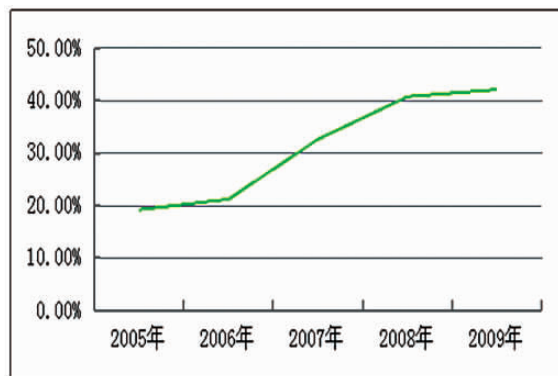


图 1 各年度 MRSA 检出率增长趋势

Fig. 1 The tend of growth on MRSA from 2005 to 2009

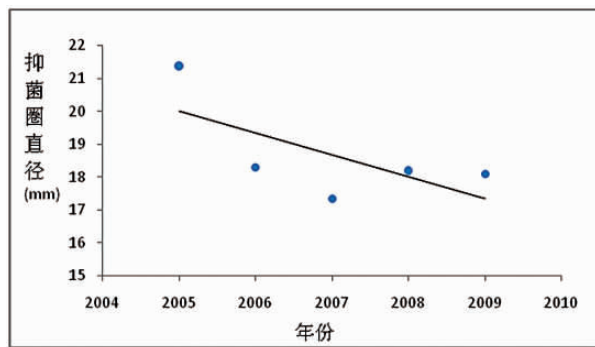


图 2 2005 年~2009 年 MRSA 对万古霉素敏感性的趋势图

Fig. 2 The tend of sensitivity of MRSA up to vancomycin from 2005 to 2009

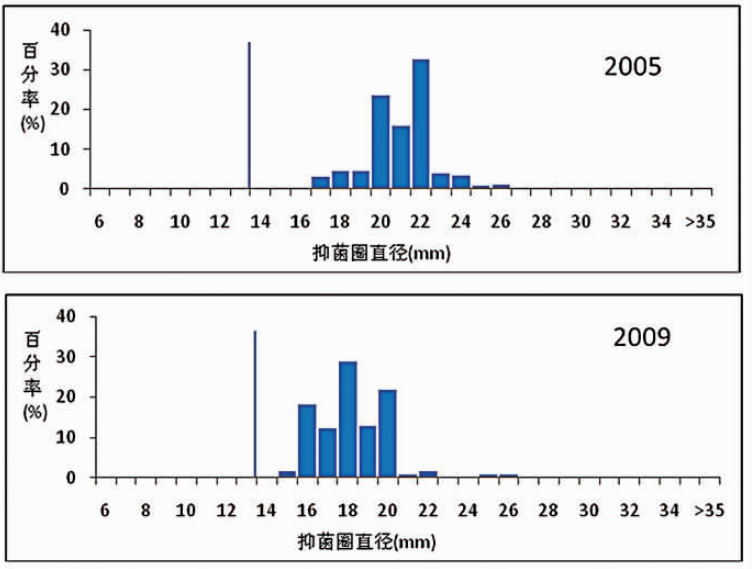


图 3 2005 年和 2009 年 MRSA 对万古霉素抑菌圈直径的分布

Fig. 3 The developmental sizes of the bacteriostatic circle of MRSA respond to vancomycin from 2005 to 2009

表 3 2005 年~2009 年 MRSA 对万古霉素 MIC 值($\mu\text{g/ml}$)

Table 3 The values of the minimum bacteriostatic concentration (MIC) of vancomycin in MRSA ($\mu\text{g/ml}$) from 2005 to 2009

Year	Strains	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC of geometric mean
2005	30	0.50	1.00	0.54
2006	30	1.00	2.00	1.08
2007	30	2.00	2.00	1.36
2008	30	1.00	2.00	1.19
2009	30	1.00	2.00	1.21

表 4 2005 年~2009 年 MRSA 对 12 种抗菌药物的敏感性 (%)

Table 4 The sensitivity of MRSA against 12 antibacterial drugs from 2005 to 2009

Antibacterial drugs	2005		2006		2007		2008		2009	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Peillin G	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Piperacillin	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Cefazolin Sodium	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Cefotaxime Sodium	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Cefepime	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Amikacin	45.5	43.7	31.2	65.6	35.1	58.5	22.3	74.3	29.8	67.8
Levofloxacin	36.4	59.2	6.2	87.7	12.6	80	3.5	95.6	8.7	87.8
Paediatric Compound Sulfamethoxazole Tablets	49.1	37.4	55.4	44.6	43	53.8	51	48.3	47.3	51.8
Clindamycin	47.3	44.4	8.8	85.3	8.2	85.6	17.3	75.3	31.3	65.7
Erythromycin	21.8	76.2	5.9	92.6	2	95.9	6.2	91.8	5.3	92.1
Vancomycin	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
Teicoplanin	100	0	100	0	98.0	0	99.1	0	99.2	0

测结果也显示出这一点, MRSA 检出率从 2005 年的 19.23 % 上升到 2009 年的 42.14 %。由于 MRSA 对氯霉素、氟喹诺酮类、大环内酯类、氨基糖苷类、四环素类及磺胺类抗生素的耐药率均很高, 目前 MRSA 感染的治疗主要依赖万古霉素。尤其是对

MRSA 的多重耐药株, 糖肽类抗生素是有效治疗的主要选择。万古霉素是糖肽类抗生素的主要代表, 已被应用于临床数十年, 替考拉宁为抗菌谱与万古霉素相似的另一种重要的糖肽类抗生素, 应用于临床也有二十年之久。随着 MRSA 检出率的不断上升, 糖肽类抗生素的大量应用, 逐渐造成了 MRSA 对糖肽类抗生素的敏感性降低。国外有关耐万古霉素金黄色葡萄球菌 (VRSA) 或者 VISA) 均来自于 MRSA 菌株^[3]。我院的 5 年监测共发现 4 株对替考拉宁呈中介的菌株, 虽然还未发现耐万古霉素金黄色葡萄球菌 (VRSA) 或者万古霉素中介的金黄色葡萄球菌 (VISA) 但由于万古霉素在临床上的广泛使用, 已逐渐造成了 MRSA 对万古霉素敏感性的降低, 并且万古霉素的 MIC 值也呈现出逐渐升高的趋势。究其原因可能有:

1. 可能与近年来第三代广谱头孢菌素的大量应用 MRSA 感染率逐年上升和万古霉素的大量使用, 出现了对万古霉素的敏感性下降的金黄色葡萄球菌(包括 hVISA), 有文献报道, 5%~10% 的 MRSA 是 hVISA (万古霉素异质性耐药金葡菌), 而大剂量应用 β -内酰胺类抗生素是万古霉素耐药的最主要的危险因素^[6]。

2. 静脉通道、胆道内支架、假肢装置等临床的广泛使用, 也是引起 hVISA 产生的危险因素之一^[7,8]。

3. 基础疾病也有可能使万古霉素 MIC 升高^[9], 这可能是因为基础疾病重, 机体对抗生素的反应低下, 更易导致细菌耐药性的产生。我院的 4 株对替考拉宁呈中介的菌株, 其中 2 例是糖尿病患者, 2 例为重症监护病房内的患者。

万古霉素通过与肽聚糖前体 D-丙氨酰-D-丙氨酸结合, 阻止转糖基(肽聚糖延伸)和转肽(交联)作用, 抑制细胞壁的合成, 从而发挥杀菌作用。MRSA 对于万古霉素的耐药机制尚未完全明确, 但有研究表明, MRSA 对万古霉素耐药的机制不是单一的, 且 VRSA 与 VISA、hVRSA 的耐药机制不尽相同。有研究证明增加细胞壁合成率在耐万古霉素 MRSA 中起着重要作用^[10-13]。糖肽类抗生素万古霉素和替考拉宁的使用提供了细菌耐药性变异的生态环境和选择性压力, 这已在耐万古霉素的肠球菌上得到证实。所以根据药敏试验结果合理使用抗菌药物是减缓耐万古霉素 MRSA 出现的重要手段。

细菌耐药性的产生是自然选择的必然结果, 而人们滥用抗菌药物则使其速度大大加快, 催生出了耐万古霉素金葡菌等“超级细菌”。虽然我国目前少有检出 VRSA/VISA 的报道, 但是很多医院 MRSA 的分离率高达 58.13%, 很多地方也陆续报道 hVISA, 并且 hVRSA 检出率也较高^[14]。湖南、浙江、广东、安徽等地 hVISA 的检出率分别为 0.75%、1.79%、2.61% 和 6.70%^[15]。虽然至今尚无耐万古霉素金黄色葡萄球菌及 VISA 的报道, 这可能与我们对耐万古霉素金黄色葡萄球菌及 VISA 缺乏广泛的认识因此 VISA/VRSA 的出现是未来必然要面对的一个严重的临床问题。加大细菌耐药性监测力度, 特别是对 MRSA 的监测, 了解 MRSA 流行情况, 切断传染源和传播途径是控制 MRSA 感染的根本, 合理使用抗菌药物是减缓耐糖肽类抗生素 MRSA 出现的有效措施。

参考文献(References)

[1] Jerome Robert, Roland Bismuth, Vincent Jarlier. Decreased susceptibility to glycopeptides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a 20 year study in a large French teaching hospital [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, 57: 506-510

[2] Mainardi JL, Shlaes DM, Goering RV, et al. Decreased teicoplanin susceptibility of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* [J]. J Infect Dis, 1995, 171: 1646-1650

[3] Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility [J]. J Antimicrob Chemother, 1997, 40: 135-136

[4] Fridkin SK, Hageman J, McDougal LK, et al. Epidemiological and microbiological characterization of infections caused by *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin [J]. Clin Infect Dis, 2003, 36: 429-439

[5] Rotun SS, McMath V, Schoonmaker DJ, et al. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin isolated from a patient with fatal bacteremia [J]. Emerg Infect Dis, 1999, 5: 147-149

[6] Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* new model of antibiotic resistance [J]. Lancet Infect Dis, 2001: 147-155

[7] Charles PG, Ward PB, Johnson PD, et al. Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* [J]. Clin Infect Dis, 2004, 38: 448-451

[8] Fridkin SK, Hageman J, McDougal L K, et al. Epidemiological and microbiological characterization of infections caused (by *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin, United States, 1997-2001 [J]. Clin Infect Dis, 2003, 36 (4): 429-439

[9] Odise TP, Miller CD, Graves J, et al. Predictors of high vancomycin MIC values among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia [J]. J Antimicrob Chemother, 2008, 62: 1138-1141

[10] Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, et al. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu-3 and Mu-50 [J]. Antimicrob Chemother, 1998, 42: 199-209

[11] 马筱玲, 张涛. 金黄色葡萄球菌细胞壁变化与对万古霉素耐药的关系 [J]. 浙江检验医学, 2008, 6(1): 12-15

Ma Xiao-ling, Zhang Tao, Dai Yuan-yuan, et al. The relationship between the thickening of cell wall and vancomycin resistance in *S. aureus* [J]. Zhejiang Journal of Laboratory Medicine, 2008, 6 (1): 12-15

[12] Cui L, Ma X, Sato K, et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41 (1): 5214

[13] Cui L, Murakami H, Kuwahara Arai K, et al. Contribution of thickened cell wall and its glutamine nonamidated component to vancomycin resistance expressed by *Staphylococcus aureus* Mu50 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44 (9): 2276-2285

[14] 吴本权, 唐英春, 张扣兴, 等. 万古霉素异质性耐药葡萄球菌的分离及其药物敏感性分析 [J]. 中国抗生素杂志, 2002, 27 (2): 116-120

Wu Ben-quan, Tang Ying-chun, Zhang Kou-xing, et al. Isolation of heterogeneously resistant *Staphylococci* to vancomycin and its susceptibility to common antibiotics [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2002, 27 (2): 116-120

[15] 马筱玲, 王敬华, 李华, 等. 异质性万古霉素耐药葡萄球菌分离及生物学特性观察 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24: 583-586

Ma Xiao-ling, Wang Jing-hua, Li Hua, et al. *Staphylococcus* heteroresistance to vancomycin: detection and biological characteristics [J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2004, 24: 583-586