

内酰胺酶,一种是金属内酰胺酶,另一种是少见的头抱菌素酶,几乎可以水解所有的内酰胺酶类药物。而该菌产生的其 XM-A 主要是青霉素酶,容易水解亚胺培南,对其他头抱菌素类不敏感。本研究病例痰培养 8 株为此菌,均对亚胺培南/西司他丁耐药。有 5 株对磺胺类药物、替卡西林+克拉维酸敏感;1 株对头孢他啶、阿米卡星敏感,2 株对环丙沙星、头孢哌酮/舒巴坦敏感。嗜麦芽黄单胞菌是广泛存在于自然界和正常人咽喉、粪便、痰中的条件致病菌。60 岁以上的老年患者感染该菌占 1/3,尤其住院时间长、反复应用抗菌药物、伴有其他基础疾病等免疫功能低下者为易感群体。本组 7 例均为肺心病急性发作期合并呼吸衰竭行机械通气患者,且合并多种疾病;1 例为肺癌术后复发长期行机械通气患者。因此对于该菌的感染应及时根据药敏感结果更换抗菌药物。

本研究 5 株金葡菌有 1 株对亚胺培南/西司他丁耐药。这种金葡菌多为耐甲氧西林菌,其主要耐药机制为耐药菌获得了敏感菌没有 *mecA* 基因,该基因编码一种独特的 PBP2a,呈多重耐药。一旦确定为 *mecA* 耐药,均应视为对所有 β 内酰胺抗生素及酶抑制剂复合剂耐药,据药敏结果可选择万古霉素、替考拉宁等药物。

3.4 老年人因免疫功能低下、基础疾病多、反复感染应用广谱抗生素、创伤性治疗措施如深静脉插管、气管插管、导尿管等因素,使真菌感染易于发生,常与细菌感染并存。亚胺培南/西司他丁与其他广谱抗菌药物一样,也存在着真菌感染问题。本研究有 4 例用亚胺培南/西司他丁后出现腹泻,3 例大便培养为念珠菌生长,1 例大便培养为难辨梭状芽孢杆菌。有 5

例用亚胺培南/西司他丁 7 天后痰中找到真菌和真菌孢子。因此,在用亚胺培南/西司他丁治疗时,要注意并发上述病原菌的感染,及时治疗。

本研究结果表明对 RICU 的老年重症下呼吸道感染(COPD 合并呼吸衰竭行机械通气患者、双肺支气管扩张及重症肺炎及肺癌术后复发)已应用第三代头抱菌素及其它抗生素疗效不好的患者或一开始即应用亚胺培南/西司他丁后疗效显著。尽管其已在临床应用多年,仍然是目前最有效的副作用少抗菌药物之一,在 RICU 老年下呼吸道感染治疗方面有重要地位,由于其耐药菌株也在不断增加,因此应密切监测致病菌耐药性的产生和变化,及时调整治疗方案。

参考文献

- [1] Levy SB. The Challenge of antibiotic resistance Scientific American, 1998,278:46-53
- [2] Jones RN, Pfaller MA. Bacterial resistance: A worldwide problem Diagn. Microbiol Infect Dis, 1998,31:379-388
- [3] Williams RJ, Ryan MJ. Surveillance of antimicrobial resistance—an international perspective Br Med J, 1998,317:651
- [4] Zoltan Pragai et al: Charaterization of the extened-spectrum β -lactamases and determination of the antibiotic susceptibilities of Klebsiella pneumoniae isolates in Hungary. J Antimicrob Chemother, 1998,42:401-403
- [5] Gouby Aetal:Epidemiological study by pulsed-field gelelectrophoresis of an outbreak of extened-spectrum β -lactamases-producing Klebsiella pneumoniae in a geriatric hospital.J clin Microbiol,1994,32(2): 301-305
- [6] World Health Organization. WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS2001.2[J]
- [7] 朱德妹,熊自忠,汪复,等.超广谱 β 内酰胺酶和细菌耐药性.中华传染病杂志,2000,45:1037-1042
- [8] Ohya S, Fukuoka T, Masuda N, et al. Microbiological evaluation of panipenem/betamipron, a new parenterally active carlapenem V.increase in susceptibility of pseudomonas aeruginosa to panipenem in low. Amino-acid media. Chemo Therapy, 1991,39(s-3):132

老年人下呼吸道革兰阴性杆菌感染耐药机制研究

张秀珍 宣天芝 陶凤蓉 陈东科 许宏涛 胡云建(卫生部北京医院 北京 100730)

摘要 目的 研究本院老年人下呼吸道感染革兰阴性杆菌产灭活酶耐药机制。包括超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs)、高产头抱菌素酶(AmpC)和金属酶。通过对临床常见致病菌大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、铜绿假单胞菌、不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌等的检测结果分析,掌握本院老年患者下呼吸道感染主要病原菌的耐药规律及主要基因型,为临床经验治疗提供参考依据。**方法** 单纸片扩散初试产 ESBL 菌株,用双纸片增效确认试验或自动细菌鉴定和药敏系统(VITEK)确定 ESBL 菌株;用改良三维法检测去阻遏头抱菌素酶;Etest 金属酶试条测定铜绿假单胞菌产金属酶的情况。用等电聚胶和测序方法对 ESBL 阳性株作分子基因分型。**结果** 80 株肺炎克雷伯菌及 143 株大肠埃希菌产 ESBL(超广谱 β 内酰胺酶)频率分别为 27.5%和 28.7%,CTX-M 基因型分别占 48%和 56%。124 株阴沟肠杆菌中有 21.8%单独高产 AmpC 酶,8.1%单独产 ESBL,3.2%即产 ESBL 又高产 AmpC 酶。71 株耐亚胺培南的绿脓假单胞菌中有 18.3%产金属 β 内酰胺酶。**结论** 产 ESBL、高产 AmpC 酶和金属 β 内酰胺酶是住院老年患者下呼吸道感染难以治愈的重要因素。CTX-M 基因型是我院 ESBLs 流行的主要基因型。

关键词: 老年人;下呼吸道感染;革兰阴性杆菌;耐药机制

Study on antimicrobial resistance mechanism of gram - negative bacillus infections of respiratory tract in senile patients.

ZHANG Xiu-zhen, XUAN Tian-zhi, TAO Feng rong, CHEN Dong-ke, XU Hong-tao, HU Yun-jian (Beijing Hospital 100730)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the resistance mechanism of no molecule on the elderly lower respiratory infection. **METHODS** β -lactamases of the isolates by double - disk increase.three - dimensional extract test. VITEK and Etest. **RESULTS** Among 80 k. Pneumonia and 143 E.coli 27.5% and 28.7% produced ESBL respectively by three - dimensional extract test and 48% and 56% are CTX-Mgenotypes respectively. Among 124 E.coli isolates, 21.8% produced only high - level AmpC β -lactamases, 8.1% produced only ESBL, 3.2% produced both high - level AmpC β -lactamases and ESBL. Among 71 strains with resistant Imipenem of pseudomonas aeruginosa 18.3% produced metallo β -lactamases. **CONCLUSIONS** The result showed that the strains produced expanded spectrum β -lactamases (ESBL), high - level AmpC β -lactamases and metallo - β -lactamases are important cause for lower respiratory infection on the elderly in - patient.

KEY WORDS: Elderly; lower respiratory infection; gram - negative bacilli; study on resistance mechanism

老年人,尤其是老年重症患者,由于基础疾病、卧床、脏器功能衰竭、免疫功能降低,成为医院内易感人群。而老年呼吸道感染是最常见的感染,并且由于呼吸道感染诱发和加重脏器功能衰竭,促进死亡。因此,调查研究老年人下呼吸道感染的病原分布特点及耐药机制、是有效控制老年人下呼吸道感染的关键。本文从 500 例 65 岁以上呼吸道感染分离的革兰阴性杆菌 447 株,并对其作耐药机制调查,现报告如下:

1 材料与方法

1.1 病例选择

所有病例系我院 2000 年 7 月~2002 年 7 月收住院的下呼吸道感染患者,年龄为 65~102 岁。

1.2 细菌来源

收集非经口痰标本。经涂片,鳞状上皮细胞少于每低倍视野 10 个,白细胞每低倍视野 15 个以上,细菌种类不多于 4 种以上作为合格标本,作培养分离获得的革兰阴性杆菌。细菌包括 143 株大肠埃希菌、80 株肺炎克雷伯菌、90 株铜绿假单胞菌、7 株嗜麦芽窄食单胞菌和 3 株鲍曼不动杆菌。

1.3 药敏纸片

购自英国 OXOID 公司,纸片种类包括头孢他啶(Ceftazidim CAZ)、头孢曲松(Ceftriaxone CRO)、头孢噻肟(Cefotaxime CTX)、头孢泊肟(Cefpodoxime CPD)、氨曲南(Aztreonam AZT)、头孢他啶/克拉维酸(CAZ/CLA)和头孢噻肟/克拉维酸(CTX/CLA)。头孢曲松/克拉维酸(CRO/CLA)、头孢泊肟/克拉维酸(CPD/CLA)、氨曲南/克拉维酸(ATN/CLA)由本室自制,并符合 NCCLS 质控要求。

1.4 试剂和培养基

1.4.1 克拉维酸(Clavulanic acid CLA)和邻氯西林(Cloxacillin)标准品及 EDTA Na₂ 均购自北京药品生物制品检定所。

1.4.2 M-H (Mueller-Hinton)琼脂和 M-H 肉汤粉均购自法国生物梅里埃公司。

1.5 Etest 试条

用于金属酶的测定,购自瑞典 AB Biodisk 公司。

1.6 细菌鉴定

采用自动细菌鉴定和药敏系统 VITEK-CC4 或 VITEK-2 或 API 系统,鉴定值在 $\geq 90\%$ 菌株选择作为本次研究用。

1.7 酶测定方法

1.7.1 纸片扩散初筛法测定超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs)^[1,2]。按 2000 年美国临床实验室标准委员会(NCCLS, M100-S10)推荐的纸片扩散初筛法指南进行,选用 CTX、CAZ、CRO、AZT 和 CPD5 种药敏纸片做筛选试验当受试菌对上述底物的抑菌环分别小于 27mm、22mm、27mm、25mm 和 22mm 时作为产 ESBLs 可疑菌。

1.7.2 纸片扩散确定法^[1] 按 2000 年 NCCLS, M100-S10 推荐的方法,本研究采用 5 种底物的确认方法,即在 NCCLS 推荐的二对底物,CAZ 和 CAZ/CLA、CTX 和 CTX/CLA 基础上还采用 CRO 和 CRO/CLA、CPD 和 CPO/CLA 和 AZT 和 AZT/CLA,凡含克拉维酸药敏纸片的抑菌环与不含克拉维酸的药敏纸片抑菌环直径差值 ≥ 5 mm 即确定为 ESBLs 阳性株。

1.7.3 VITEK-CC4 测定 ESBLs GNS-506 药敏卡,采用 CAZ 和 CAZ/CLA 和 CTX 和 CTX/CLA 二对底物,当含克拉维酸和单一药物二孔透光度值差异在 50%或以上被判为 ESBL 阳性。

1.7.4 金属酶测定 Etest 方法,由亚胺培南/亚胺培南+EDTANa₂ 组成,当含 EDTANa₂ 金属酶抑制剂端的 MIC 值低于单独亚胺培南端三个梯度判为产金属酶阳性菌。

1.7.5 改良三维试验^[3] 采用冻融裂解法提取细菌

粗提酶,用克拉维酸、邻氨西林作为 ESBLs 和 AmpC 酶特异性抑制剂。采用头孢曲松(CRO)为指示药敏纸片贴于平板中央。首先根据抑菌环被破坏出现凹形长菌带的菌判为产酶菌,再经克拉维酸或邻氨西林作选择性酶型测定,酶活性被克拉维酸抑制者为 ESBLs 阳性,被邻氨西林抑制者为产 AmpC 酶阳性,酶活性必须被克拉维酸和邻氨西林两种抑制剂灭活,判为 SSBL 型(超级超广谱酶)。基因分型采用等电聚胶和测序方法。

2 结果

2.1 5 种方法测定 ESBLs 阳性率

分别用纸片扩散筛选法、双纸片增效(5 种底物增效和 2 种底物)、用全自动细菌鉴定和药敏系统 VITEK-CC4 及改良三维法测定 143 株大肠埃希菌和 80 株肺炎克雷伯菌 ESBLs 阳性率。三维法结果显示 80 株肺炎克雷伯菌 ESBLs 阳性率为 27.5%,143 株大肠埃希菌的阳性率为 28.7%,这一结果与穆斯林等人报告的结果基本相同^[4]。5 种方法阳性率比较见表 1。

表 1 5 种不同方法测定 ESBL 阳性率 (%)

细菌名称	株数	2 对底物		5 对底物		改良
		筛选法	增效法	增效法	VITEK	三维法
肺炎克雷伯菌	80	37.5	22.5	31.3	28.8	27.5
大肠埃希菌	143	37.8	26.6	31.5	25.9	28.7

2.2 水解不同底物 ESBLs 表型分布

表 2 结果显示无论肺炎克雷伯菌或大肠埃希菌水解头孢他啶(CAZ)的比例均相对低,分别为 36%和 40%。研究结果也显示极少菌株只水解一种底物。25 株肺炎克雷伯和 25 株大肠埃希菌产 ESBL 菌中 CTX-M 基因形分别为 48%和 56%。提示我院 ESBL 主要流行基因型是 CTX-M 型。

表 2 水解不同底物的 ESBLs 分布率 (%)

细菌名称	株数	CAZ	CTX	CRO	CPD	ATM
肺炎克雷伯菌	25	36	48	52	48	52
大肠埃希菌	45	40	60	60	80	64.4

2.3 124 株阴沟肠杆菌产酶调查

用耐药谱分析法和改良三维法测定 AmpC 酶结果表明,两法同时出现阳性的菌有 18 株,同时为阴性的有 94 株菌,耐药谱和三维法的阳性率分别为 16.9%和 21.8%,其中有 8.1%菌单独产生 ESBLs,有 3.2%菌产 SSBL。详细结果见表 3 和表 4。结果与国内文章报道基本一致^[5,6]。三维法和耐药谱分析二法符合率为 66%。

表 3 124 株阴沟肠杆菌产酶状况

产 酶	株 数	百分率 (%)
去阻遏 AmpC 酶	37	21.8
ESBLs	10	8.1
SSBL	4	3.23
不产酶	83	66.9

表 4 阴沟肠杆菌耐药谱和三维法测定高产 AmpC 酶结果比较

	耐药谱分析法	
	+	-
三 维 分 析 法		
三 维 分 析 法 +	18	9
三 维 分 析 法 -	3	94

2.4 金属酶测定结果

用 Etset 法测定耐亚胺培南的 71 株铜绿假单胞菌,7 株嗜麦芽窄食单胞菌和 3 株鲍曼不动杆菌,阳性率分别为 18.3%、100%和 100%。因为嗜麦芽窄食单胞菌和不动杆菌的菌株数少,结果仅供参考。EDTANa 作为抑制剂的 ETEST 方法测定铜绿假单胞菌的金属酶的文章还未见报道,但结果低于由吕火祥等人报告的纸片协同法的结果^[7]。

3 讨论

3.1 由于 ESBLs 阳性菌与阴性菌引起感染疾病的流行方式,治疗方案是不相同的,所以临床细菌室有责任报告细菌产酶状况。由于方法学不同使 ESBLs 检出率不尽相同,本研究采用 5 种方法测定肺炎克雷伯菌产 ESBLs,结果显示用 5 对底物作双纸片增效确定阳性率为 31.3%,二对底物双纸片增效确认阳性率为 22.5%。自动细菌鉴定仪 VITEK 方法与改良三维法基本一致分别为 28.8%和 27.5%。结果提示用多种底物作 ESBLs 确认可提高 ESBL 检出的阳性率。其原因可能是不同地区或单位 ESBL 流行的型别不同,用多种底物可弥补地区差异。虽然本院在临床很少用头孢泊肟,但本次研究结果显示以头孢泊肟为底物的 ESBL 占有相当高的比例,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中分别占 80%和 48%,这可能与 ESBLs 不同基因型间的交叉耐药有关。本次研究结果表明产 ESBL 肺炎克雷伯菌单独水解一种底物的仅占 16%;84%均为同时水解二种以上底物。

3.2 本次研究用耐药谱分析和改良三维法同时测定 124 株阴沟肠杆菌的产酶状况;单一产 ESBL 菌株为 8.1%稍低于余丹阳报告结果,SSBL 菌株仅为 3.2%。但余丹阳等报告为 13.2%差异较大,这可能与

不同医院内流行菌株所携带耐药质粒差异和所用方法学不同有关^[9]。由于阴沟肠杆菌高产 AmpC 酶有较好的表型指示性,本文比较耐药谱分析与改良三维法的符合率为 66%。

3.3 金属酶测定 至今对金属酶测定 NCCLS 未提出推荐方法,本文采用 AB Biodisk 公司的最新产品亚胺培南/亚胺培南+EDTAs 试条测试 71 株耐亚胺培南的铜绿假单胞菌,金属酶阳性率为 18.3%,远低于吕火祥等报告的 EDTANa 协同法为 80.2%,PCR 法为 63%,相差甚远^[9],这与方法学不同直接有关。

表 5 100 株非发酵革兰阴性杆菌产金属酶调查

细菌名称	亚胺培南敏感性	株数	金属酶 %
铜绿假单胞菌	耐药	71	(13/71) 18.3
铜绿假单胞菌	敏感	19	(0/19) 0
嗜麦芽窄食单胞菌	耐药	7	(7/7) 100
鲍曼不动杆菌	耐药	3	(3/3) 100

3.4 无论是超广谱 β 内酰胺酶 ESBLs,还是高产去阻遏的 AmpC 酶或金属酶,虽然酶的性质有差异,但均可使产酶株成为多重耐药菌,对抗感染造成严重障碍,寻找简便、正确在实效性好的方法仍是我们临床细菌工作者的重要任务。NCCLS 已推荐了 ESBLs 的检测方法(双纸片确认)。由于 AmpC 酶具

有极好的表型指示性,所以耐药谱分析方法可正确推测 60%~70% 的菌株的产酶特性。有文献报导用巯基化合物 2-MBrcaptopropionit 检测金属酶效果会更好^[8]。

参考文献

[1] National Committee for clinic laboratory standards. performance standards for antimicrobial susceptibility testing: ninth informational supplement [s], NCCLS document m-100-s10,2000,19:29 ~ 75.
[2] Coudron PE, Molcond ES, Thomson KS, Occurrence and detection of AmpC β lactamases among Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and proteas ,micrabilis isolates at a veterans medical center.J cli microbiol, 2000, 38:1791~1796.
[3] 陈东科,张秀珍,胡云建.三维法检测 β - 内酰胺酶的影响因素探讨及改进. 全国检验医学细菌鉴定和药敏试验学术研讨会论文集, 2002,122~124.
[4] 穆斯林,何孔贤,周昭彦.超广谱 β 内酰胺酶细菌下呼吸道感染的监测及危险因素分析. 中华医院感染学杂志,2002,12(2): 94~96.
[5] 周志惠,李兰娟,俞云松等.两种检测阴沟肠杆菌 AmoC 酶方法的比较.中华检验医学杂志,2002,25(2): 88~90.
[6] 余丹阳,刘又宁.AmpC 酶和超广谱 β 内酰胺酶在阴沟肠杆菌中的表达及其耐药性的影响. 中华医学杂志,2002,2(19): 1355~1358.
[7] 吕火祥,孙明洪,刘建栋等.协同过筛检测金属 β 内酰胺酶的研究.中华检验医学杂志,2002,25(4): 232~235.
[8] Yoshichika A, Nachiros, keigos, et al. Convenient test for screening metallo β -lactamases producing gram - negative bacteria by thiol compounds, J clin microbiol 2000,38:40~43.

苯扎贝特对高血压合并高甘油三酯血症患者胰岛素抵抗的影响

苏工 叶平 薛兰 黄泽峰 张诚 (中国人民解放军总医院 北京 100853)

摘要:目的 本研究用随机、对照的方法观察苯扎贝特联合降压治疗对高甘油三酯血症合并高血压患者胰岛素抵抗的影响。方法 选择 58 例高甘油三酯血症伴原发性高血压患者随机分为两治疗组:苯扎贝特组(A 组,长效硝苯地平+饮食控制+苯扎贝特)30 例,对照组(B 组,长效硝苯地平+饮食控制+安慰剂)28 例。通过对治疗前后血压、血脂、空腹血糖、胰岛素浓度及胰岛素敏感性指数(ISI)等的变化,来观察苯扎贝特对高甘油三酯血症合并高血压患者胰岛素抵抗的影响。结果 A 组在治疗后舒张压降低较 B 组显著;血甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)水平明显降低,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)显著升高,空腹血糖及胰岛素浓度在治疗后明显降低,ISI 明显升高。结论 苯扎贝特可能通过改善血脂代谢紊乱,对患者的胰岛素抵抗有良性影响,并且可能对患者舒张压有额外降低作用。

关键词:苯扎贝特;高血压;高甘油三酯血症;胰岛素抵抗

中图分类号:R972.6 文献标识码:A 文章编号:1672-3384(2003)-03-0016-04

Effects of Bezafibrate on insulin resistance in Hypertensive Patients with Hypertriglyceridemia
(Su Gong, Ye Ping Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To investigate changes of insulin resistance after lipid-lowering treatment by bezafibrate in hypertensive patients with hypertriglyceridemia using calcium channel blockers (nifedipine). PATIENTS AND METHODS Fifty-eight hypertensive hypertriglyceridemic patients were enrolled in study. In random order, patients of group A (30 patients) were treated with bezafibrate, nifedipine and dietary control, and those of group B (28 patients) received placebo, nifedipine and dietary control during 8 weeks. The