

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2015.11.009

· 论 著 ·

抗菌药物对肠球菌属细菌体外抗菌活性

戈 伟, 张霄霄, 汪定成, 邵海连, 李 颖, 杨 铭, 程 芝, 苏 博, 范明乐, 范珊红

(第四军医大学唐都医院, 陕西 西安 710038)

[摘要] 目的 了解抗菌药物对某院临床分离肠球菌属细菌的体外抗菌活性。方法 对 2013 年 6 月—2014 年 7 月该院临床各科室送检标本分离的 188 株肠球菌属细菌进行细菌鉴定及药物敏感试验。结果 188 株肠球菌属细菌其中屎肠球菌 119 株、粪肠球菌 60 株、鸟肠球菌 9 株, 主要分布在尿和血标本, 分别占 34.57% 和 19.15%。未检出对达托霉素及利奈唑胺耐药的肠球菌属细菌; 屎肠球菌对万古霉素的耐药率为 1.68%, 对青霉素、氨苄西林、高浓度庆大霉素、红霉素、左氧氟沙星的耐药率均 >70%; 除四环素外, 粪肠球对其他抗菌药物的耐药率均低于屎肠球菌, 粪肠球对青霉素、氨苄西林耐药率较低, 分别为 16.67%, 13.33%。结论 达托霉素对该院肠球菌属细菌具有良好的抗菌效果。

[关键词] 肠球菌属; 达托霉素; 抗菌药物; 抗药性; 微生物; 合理用药

[中图分类号] R378 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)11-0753-04

In vitro activity of antimicrobial agents against *Enterococcus spp.*

GE Wei, ZHANG Xiao-xiao, WANG Ding-cheng, SHAO Hai-lian, LI Ying, YANG Ming, CHENG Zhi, SU Bo, FAN Ming-le, FAN Shan-hong (Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

[Abstract] **Objective** To investigate in vitro activity of antimicrobial agents against *Enterococcus spp.* isolated from clinic specimens in a hospital. **Methods** 188 *Enterococcus spp.* isolates from specimens sent by clinic departments in June 2013-July 2014 were identified and performed antimicrobial susceptibility testing. **Results** Of 188 *Enterococcus spp.* isolates, 119 were *Enterococcus faecium* (*E. faecium*), 60 were *E. faecalis*, and 9 were *E. avium*, these strains were mainly isolated from urine (34.57%) and blood specimens (19.15%). No daptomycin and linezolid-resistant strain was detected; resistant rates of *E. faecium* to vancomycin was 1.68%, to penicillin, ampicillin, high concentration gentamycin, erythromycin, and levofloxacin were all >70%; except tetracycline, resistant rates of *E. faecalis* to the other antimicrobial agents were all lower than *E. faecium*, resistant rates of *E. faecalis* to penicillin and ampicillin were 16.67% and 13.33% respectively. **Conclusion** Daptomycin has high activity against *Enterococcus spp.* in this hospital.

[Key words] *Enterococcus spp.*; daptomycin; antimicrobial agent; drug resistance, microbial; rational drug use

[Chin Infect Control, 2015, 14(11): 753-756]

近年随着抗菌药物的不合理使用, 肠球菌属细菌所致感染不断增加, 已成为全球医院感染的重要病原菌, 尤其是多重耐药、泛耐药肠球菌所致重症感染的治疗成为临床棘手问题^[1]。本研究进行抗菌药物体外药敏试验, 以评价其对肠球菌属细菌的抗菌

活性, 现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 菌株来源 本院 2013 年 6 月—2014 年 7 月

[收稿日期] 2015-01-28

[基金项目] 戈伟(1982-), 男(汉族), 陕西省西安市人, 检验技师, 主要从事微生物细菌耐药研究。

[通信作者] 范珊红 E-mail: fanshanhong_001@163.com

临床各科室送检的尿、血、粪便、脑脊液、胸腹腔积液、脓液标本分离的肠球菌属细菌 188 株,无重复菌株。

1.2 菌株鉴定及药敏试验 将上述标本接种于血琼脂平板,置于 35℃ 培养 18~24 h 后,采用德国西门子 Microscan WalkAway-96 全自动微生物分析仪及其配套的 PC33 革兰阳性菌鉴定和药敏综合反应板进行细菌鉴定及药敏试验。

1.3 抗菌药物种类 青霉素、氨苄西林、高浓度庆大霉素、万古霉素、利奈唑胺、达托霉素、四环素、氯霉素、红霉素、左氧氟沙星、利福平均为德国西门子公司产品。

1.4 质控菌株 粪肠球菌 ATCC 29212,金黄色葡萄球菌 ATCC 29213。采用 Microscan WalkAway-

96 全自动微生物分析仪对质控菌株进行鉴定及药敏分析,结果均在美国临床实验室标准化协会 (CLSI)2012 年颁布的药敏质控范围内。

1.5 药敏判断标准 11 种抗菌药物结果判断根据 CLSI 2012 年版的规定,其中达托霉素对肠球菌的最低抑菌浓度(MIC)≤4 μg/mL 为敏感。

2 结果

2.1 肠球菌属细菌分布 188 株肠球菌属细菌其中屎肠球菌 119 株、粪肠球菌 60 株、鸟肠球菌 9 株,主要分布在尿和血标本,分别占 34.57% 和 19.15%,其次为脓液(14.36%)、粪便(13.30%)、胸腹腔积液(13.30%)、脑脊液(5.32%)。见表 1。

表 1 188 株肠球菌属细菌标本来源

Table 1 Specimen sources of 188 *Enterococcus spp.* isolates

标本	屎肠球菌		粪肠球菌		鸟肠球菌	
	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)
尿	50	42.02	14	23.33	1	11.11
血	24	20.17	10	16.67	2	22.22
粪便	22	18.49	3	5.00	0	0.00
脑脊液	3	2.52	3	5.00	4	44.44
胸腹腔积液	11	9.24	13	21.67	1	11.11
脓液	9	7.56	17	28.33	1	11.11
合计	119	100.00	60	100.00	9	100.00

2.2 药敏结果 肠球菌属细菌对达托霉、利奈唑胺敏感,屎肠球菌、鸟肠球菌对万古霉素的耐药率分别

为 1.68%、11.11%。详见表 2。

表 2 188 株肠球菌属细菌对 11 种抗菌药物药敏结果

Table 2 Antimicrobial susceptibility testing results of 188 *Enterococcus spp.* isolates to 11 kinds of antimicrobial agents

抗菌药物	屎肠球菌(n=119)		粪肠球菌(n=60)		鸟肠球菌(n=9)	
	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)
青霉素	109	91.60	10	16.67	4	44.44
氨苄西林	109	91.60	8	13.33	4	44.44
高浓度庆大霉素	98	82.35	37	61.67	3	33.33
万古霉素	2	1.68	0	0.00	1	11.11
利奈唑胺	0	0.00	0	0.00	0	0.00
达托霉素	0	0.00	0	0.00	0	0.00
四环素	69	57.98	51	85.00	5	55.56
氯霉素	50	42.02	25	41.67	0	0.00
红霉素	107	89.91	50	83.33	6	66.67
左氧氟沙星	106	89.08	32	53.33	2	22.22
利福平	85	71.43	26	43.33	3	33.33

3 讨论

肠球菌属细菌是目前仅次于葡萄球菌属,导致医院感染的革兰阳性球菌,据我国医院感染监测网及美国医院感染监测系统(National Nosocomial Infections Surveillance, NISS)监测结果显示,肠球菌属已成为医院感染的重要病原菌^[2-3]。由于抗菌药物的过度使用和滥用,该菌耐药率显著升高,导致临床可选择的药物越来越少,尤其是耐万古霉素肠球菌(VRE)的出现,NISS 已经将其列为引起医院感染的第二大病原菌^[4]。

达托霉素是从玫瑰孢链霉菌发酵液中分离得到的环脂肽类新型抗生素,对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、VRE 和耐青霉素肺炎链球菌(PRSP)等高致病性耐药菌均具有很好的杀菌效果,2003 年美国食品药品监督管理局(FDA) 批准其用于治疗革兰阳性敏感菌引起的复杂皮肤感染和结构性皮肤感染,以及金黄色葡萄球菌引起的右侧感染性心内膜炎及菌血症^[5-6]。并先后在美国、德国、英国和荷兰上市;之后又相继批准用于治疗金黄色葡萄球菌引起的菌血症和右侧心内膜炎^[7]。在体外达托霉素对甲氧西林、万古霉素和利奈唑胺等耐药性分离菌株仍具强力活性^[8]。达托霉素的抗菌作用机制模型认为,达托霉素与 Ca^{2+} 以 1 : 1 的比例结合后,达托霉素构象发生改变并聚集形成一个包含 14~16 个单体的微团,随后微团接近细菌的细胞膜。当微团靠近磷脂双分子层时发生解离,在脂肪酸尾链的作用下,达托霉素插入到磷脂双分子层中,使磷脂双分子层形成孔洞,导致钾离子外流,细胞膜去极化,最终导致细胞死亡^[9]。达托霉素为 Ca^{2+} 浓度依赖型抗生素,缺乏 Ca^{2+} 时,达托霉素的抗菌活性很小或几乎没有。 Ca^{2+} 浓度为 1.25 mmol/L 时其抗菌活性最大。圆二色谱和核磁共振研究^[10] 结果显示,达托霉素与 Ca^{2+} 结合后结构发生改变,增加其分子的两亲性减少带电荷,使其更有利于与细菌磷脂反应。还有研究^[11] 表明,达托霉素的作用靶点不是青霉素结合蛋白,而是结合在细菌细胞膜上,通过扰乱细胞膜对氨基酸的转运,从而阻碍细菌细胞壁肽聚糖的磷壁(酸)脂质(LTA)的生物合成,干扰细胞的复制,导致细菌迅速死亡。达托霉素作用机制特殊,在生物膜中的扩散速度快且具有浓度依赖性,可产生抗生素后效应,不易与其他抗菌药物产生交叉耐药的问题,此外达托霉素能够穿透生

物膜,抗菌效果优于利奈唑胺^[12],因此临床上应用价值较高,但不推荐使用达托霉素治疗肺炎,是由于肺表面活性物质可使达托霉素失活,导致其治疗肺炎时疗效不佳。

本组研究结果中,耐万古霉素屎肠球菌占 1.68%(2/119),耐万古霉素鸟肠球菌占 11.11%(1/9),未检出耐利奈唑胺及达托霉素的肠球菌。这说明达托霉素具有良好的抗菌作用。屎肠球菌对红霉素,左氧氟沙星、高浓度庆大霉素、利福平的耐药率均 >70%,对青霉素的耐药率高达 91.60%,而粪肠球菌对青霉素耐药率仅为 16.67%,可能与屎肠球菌青霉素结合蛋白与青霉素的亲嗜性低,对 β -内酰胺类抗生素的敏感性低有关,因此,青霉素类抗生素是治疗粪肠球菌感染较好的药物,对于屎肠球菌所致感染时应避免使用^[13]。粪肠球菌严重感染者使用大剂量青霉素联合氨基糖苷类药物,遇产 β -内酰胺酶菌株感染者要加 β -内酰胺酶抑制剂,如氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸;对于耐高浓度庆大霉素肠球菌感染者需在体外药敏指导下用药^[14]。另外,肠球菌属细菌对头孢菌素类、氨基糖苷类(除高水平筛选耐药外)、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶和克林霉素天然耐药,即使体外敏感,临床治疗仍无效,对于氨苄西林敏感的粪肠球菌,可以预告亚胺培南的敏感性^[15]。

据报道,屎肠球菌及粪肠球菌所致的感染不断上升,VRE 感染率整体上升^[16];万古霉素的大量应用,导致细菌细胞壁改变,万古霉素丧失了与其结合的能力,而出现耐药^[17]。VRE 的耐药基因可通过质粒转移给其他肠球菌属细菌或其他种类的细菌,如金黄色葡萄球菌,而产生多重耐药性。因此,临床应严格监管万古霉素的使用,避免耐万古霉素菌株的出现和蔓延^[18]。治疗 VRE 引起的感染,利奈唑胺一方面具有良好的活性,被用于基础治疗和在具有可接受安全性的短期使用。然而,由于其骨髓抑制、神经毒性,以及长期应用带来的负效应,治疗重症 VRE 感染的能力令人担忧^[19]。而达托霉素具有很强的抗菌性,给临床医生提供了一种新的抗菌治疗方法,但有报道^[20-21] 指出,数例关于免疫缺陷患者因长期使用达托霉素而使细菌产生耐药性,2005 年从 4 例患者中分离出对达托霉素耐药的肠球菌和葡萄球菌,2006 年从 2 例患者中分离出耐达托霉素的葡萄球菌,推测导致细菌产生耐药性的危险因素可能是应用达托霉素治疗时间过长,所以临床应考虑严格控制抗菌药物滥用,延缓耐药菌的产生。

[参 考 文 献]

- [1] 王社梁, 钱小毛. 肠球菌临床感染及其耐药性分析[J]. 检验医学, 2009, 24(1): 61 - 63.
- [2] 肖永红, 王进, 赵彩云, 等. 2006—2007 年 Mohnarín 细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(8): 1051 - 1056.
- [3] Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, et al. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2000, 21(8): 510 - 515.
- [4] Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection[J]. Am J Med, 1991, 91(3B): 72S - 75S.
- [5] 刘伯宁, 石磊, 蒋沁. 环脂肽类抗生素研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(9): 520 - 524.
- [6] Nguyen KT, Ritz D, Gu JQ, et al. Combinatorial biosynthesis of novel antibiotics related to daptomycin[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(46): 17462 - 17467.
- [7] 韩培, 陈继业, 王岩, 等. 达托霉素生物合成研究进展及临床研究[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(6): 466 - 471.
- [8] 郭朝江, 王相金, 王化民. 玫瑰孢链霉菌补料分批发酵生产达托霉素的动力学模型[J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(4): 241 - 252.
- [9] Robbel L, Marahiel MA. Daptomycin, a bacterial lipopeptide synthesized by a nonribosomal machinery[J]. J Biol Chem, 2010, 285(36): 27501 - 27508.
- [10] 张石革. 糖肽和环脂肽类抗生素的进展与临床评价[J]. 中国医院用药评价与分析, 2009, 9(2): 88 - 89.
- [11] Boaretti M, Canepari P. Purification of daptomycin binding proteins(DBPs) from the membrane of *Enterococcus hirae*[J]. New Microbiol, 2000, 23(3): 305 - 317.
- [12] Laishram S, Sahni RD, Anandan S, et al. Evaluation of the antimicrobial activity of daptomycin and linezolid against vancomycin-resistant *Enterococcus spp.* isolates in south India[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2014, 2(3): 194 - 197.
- [13] 王蓉, 吴农欣, 陈端, 等. 肠球菌的耐药特征及高水平庆大霉素耐药基因流行分布[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(6): 693 - 694.
- [14] 吴敏, 覃开羽, 刘滨. 屎肠球菌和粪肠球菌的临床分布及耐药分析[J]. 临床合理用药, 2015, 8(1C): 166 - 167.
- [15] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 东南大学出版社, 2006: 774.
- [16] Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, et al. Analysis of 5-year trends in daptomycin activity tested against *Staphylococcus aureus* and *enterococci* from European and US hospitals (2009 - 2013) [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2015, 3(3): 161 - 165.
- [17] 汪定成, 张惠中, 杨丽华, 等. 利奈唑胺等抗菌药物对肠球菌属体外抗菌活性评价[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(1): 37 - 39.
- [18] 尹利娟, 王文惠. 2010—2012 年肠球菌感染临床分布及耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2014, 13(5): 311 - 313.
- [19] Munita JM, Murray BE, Arias CA. Daptomycin for the treatment of bacteraemia due to vancomycin-resistant *enterococci* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2014, 44(5): 387 - 395.
- [20] Mangili A, Bica I, Snyderman DR, et al. Daptomycin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia[J]. Clin Infect Dis, 2005, 40(7): 1058 - 1060.
- [21] Marty FM, Yeh WW, Wennersten CB, et al. Emergence of a clinical daptomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate during treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and osteomyelitis [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(2): 595 - 597.

(本文编辑: 黄勋)