

产超超广谱  $\beta$ -内酰胺酶大肠埃希菌致胆管炎、脓毒症 1 例One case report of cholangitis and sepsis caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*郭宝俊(GUO Bao-jun)<sup>1</sup>, 张丽萍(ZHANG Li-ping)<sup>2</sup>, 曹小燕(CAO Xiao-yan)<sup>3</sup>

(1 定西市第二人民医院, 甘肃 定西 743000; 2 张掖市人民医院, 甘肃 张掖 734000; 3 定西市卫生学校实验中心, 甘肃 定西 743000)

(1 Dingxi Secondary People's Hospital, Dingxi 743000, China; 2 The People's Hospital of Zhangye Municipality, Zhangye 734000, China; 3 The Experimental Center of Dingxi Health School, Dingxi 743000, China)

[关键词] 胆管炎; 脓毒症; 大肠埃希菌; 超超广谱  $\beta$ -内酰胺酶; 超广谱  $\beta$ -内酰胺酶; 头孢菌素酶[中图分类号] R657.4<sup>+</sup>5 [文献标识码] E [文章编号] 1671-9638(2012)02-0152-03

超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)阳性大肠埃希菌较常见,但超超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(SSBL)阳性大肠埃希菌少见,我们于 2009 年 11 月从 1 例胆管炎、脓毒症患者的血液标本中检出了 SSBL 阳性大肠埃希菌,现报告如下。

## 1 病历资料

1.1 病史 患者,鲜某,女性,65 岁,回族。2009 年 5 月 24 日因“寒战、发热、腹痛 4 d”,门诊以“胆结石并胆囊炎”收治入院。入院体温 38.6℃。体格检查:右上腹压痛、反跳痛明显、肌紧张, Murphy 征阳性。实验室检查:血常规白细胞计数为  $28.2 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞 0.95,淋巴细胞 0.04,单核细胞 0.01。超声提示:1. 胆结石;2. 胆囊炎。入院诊断:1. 胆结石;2. 急性胆囊炎并胆管炎。给予头孢哌酮/舒巴坦(2:1)3.0 g,1 次/8h;克林霉素 0.6 g,1 次/12h 静脉滴注及对症治疗 2 周,病情未见好转,仍然腹痛,寒战后发热,体温 37.6℃~38.4℃,改用洛美沙星 0.2 g,1 次/12h 静脉滴注抗感染治疗,亦无显著疗效。2009 年 6 月 11 日,患者突发寒战、高热,体温 39.8℃,遂转入某三甲医院,诊断:“1. 急性胆管炎;2. 脓毒症”。给予亚胺培南/西司他丁(剂量不详)治疗,于 2009 年 6 月 27 日症状、体征消失,治愈出院。2009 年 11 月 18 日,患者无明显诱因又突发

寒战高热,体温 41.0℃,上腹部胀痛不适,食欲下降,在家用头孢曲松、环丙沙星(剂量不详)抗感染治疗 5 d,症状未好转,病情加重,于 2009 年 11 月 22 日来本院就诊。入院检查:体温 39.8℃;血常规白细胞计数  $34.7 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞 0.94,淋巴细胞 0.04,单核细胞 0.02。采单瓶血培养送检,给予头孢哌酮/舒巴坦(2:1)4.5 g,1 次/8h;洛美沙星 0.2 g,1 次/12h 静脉滴注抗感染治疗。23 日报告血培养结果:1. 革兰阴性杆菌;2. 革兰阳性球菌。考虑标本污染,建议重新采血送检,进行第 2 次双瓶血培养。同日生化检查示:血清丙氨酸转氨酶(ALT)377 U/L,天门冬氨酸转氨酶(AST)287 U/L, $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(GGT)398 U/L,碱性磷酸酶(ALP)482 U/L,淀粉酶(AMS)2962 U/L,总胆红素(TBIL)72.8  $\mu\text{mol/L}$ ,结合胆红素(CBIL)46.2  $\mu\text{mol/L}$ ,总蛋白(TP)57.3 g/L,清蛋白(ALB)27.1 g/L,球蛋白(GLB)30.2 g/L,尿素氮(BUN)17.7 mmol/L,肌酐(CR)190.0  $\mu\text{mol/L}$ ,二氧化碳结合力(CO<sub>2</sub>-CP)22.0 mmol/L。24 日双瓶血培养 1 级报告:革兰阴性杆菌纯培养。同时患者出现间断性烦躁、胡言乱语、易激动等性格、行为异常症状。根据血培养结果、患者目前情况、抗感染治疗效果,微生物室建议增加亚胺培南/西司他丁抗感染治疗及抗肝性脑病治疗。25 日双份血培养 2 级报告:亚胺培南/西司他丁敏感,维持原治疗方案。26 日正式

[收稿日期] 2011-08-01

[作者简介] 郭宝俊(1963-),男(汉族),甘肃省定西市人,主管检验师,主要从事临床微生物检验研究。

[通讯作者] 曹小燕 E-mail:dxcrx@126.com

报告:双份血培养检出产 ESBLs 和头孢菌素酶(AmpC 酶)大肠埃希菌,除对亚胺培南/西司他丁敏感外,对氨曲南、头孢哌酮/舒巴坦、左氧氟沙星、阿米卡星等多种抗菌药物耐药。患者出现浅昏迷状态,双下肢浮肿,全身皮肤可见散在淤点。患者病情危重,疗效欠佳,预后差,加之民族风俗习惯等原因,家属提出放弃治疗,自动出院。随访,出院后 1 d 死亡。

1.2 细菌培养与鉴定 无菌操作抽取培养物分别接种于两块血平板,于 35℃ 培养 24 h 后,两块平板同时呈现灰白色、圆形、凸起、直径 2~3 mm、 $\beta$  溶血光滑型菌落。涂片染色:革兰阴性杆菌。氧化酶(-),O/F 葡萄糖(F),硝酸盐还原试验(+),苯丙氨酸脱氨酶(-),V-P(-),靛基质(+),赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶、七叶苷、甘露醇、棉籽糖、阿拉伯糖、乳糖、葡萄糖均阳性;精氨酸双水解酶、H<sub>2</sub>S、尿素、丙二酸盐、山梨醇、蔗糖、肌醇、侧金盏花醇、鼠李糖、葡萄糖酸盐、枸橼酸盐均阴性。根据文献<sup>[1]</sup>鉴定为大肠埃希菌。

### 1.3 药敏试验

1.3.1 试验方法 采用 K-B 法(M-H 琼脂)进行药敏试验,操作及判断标准按美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2009 版标准执行。

1.3.2 药敏纸片及结果 氨苄西林(AMP)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、阿莫西林/克拉维酸(AMC)、头孢唑林(CFZ)、头孢噻吩(CEF)、头孢呋辛(CXM)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、替卡西林/克拉维酸(CTB)、亚胺培南/西司他丁(IPM)、头孢他啶(CAZ)、头孢他啶/克拉维酸(CD02)、头孢噻肟(CTX)、头孢噻肟/克拉维酸(CD03)、头孢吡肟(FEP)、头孢西丁(FOX)、氨曲南(ATM)、头孢哌酮/舒巴坦(SCF)、左氧氟沙星(LVX)、环丙沙星(CIP)、庆大霉素(GEN)、阿米卡星(AMK)、妥布霉素(TOB)、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑(SXT)、氯霉素(CHL)均为英国 Oxoid 公司产品。分离菌株除对 IPM 敏感外,对 AMP、SAM、AMC、CFZ、CEF、CXM、TZP、CTB、CAZ、CD02、CTX、CD03、FEP、FOX、ATM、SCF、LVX、CIP、GEN、AMK、TOB、SXT、CHL 等均耐药。

### 1.4 SSBL 测定

1.4.1 质控菌株 肺炎克雷伯菌 ATCC 700603,为产 ESBLs 质控菌株;阴沟肠杆菌 ATCC 029M,为持续高产 AmpC 酶质控菌株;大肠埃希菌 ATCC 25922,为不产酶质控菌株。

1.4.2 方法 采用改良纸片表型筛选法<sup>[2]</sup>:将待测菌配制成 0.5 麦氏单位菌悬液,均匀涂布 M-H 平板,将 FOX 纸片贴于中心,用于鉴定是否为 FOX 诱导产酶株。周围按顺时针方向依次为 CTX、CD03、FEP、CD02、CAZ 和 TZP 纸片,各纸片与 FOX 的间距为 20 mm,37℃ 过夜培养。

1.4.3 结果 结果判断<sup>[2]</sup>:对 CTX、CD03 和 CD02 表现为耐药或在抑菌圈内有散在菌落,为产 AmpC 酶菌株;CTX、CD03、CD02、CAZ、TZP 抑菌环向 FOX 一侧出现截平现象,则该菌为诱导产 AmpC 酶;若细菌对 FEP 耐药,说明同时产 ESBLs,即 SSBL 阳性。本分离菌株对 CTX、CD03、CD02、FEP 抑菌环直径均 < 10 mm,表现耐药,即为 SSBL 阳性菌株。

## 2 讨论

在正常情况下,胆道是无菌的,引起胆道感染的细菌主要来自门静脉或直接从肠道经 Oddi 氏括约肌反流入胆道,因此,肠道细菌移位是胆道感染的主要原因<sup>[3]</sup>。此次血标本中检出大肠埃希菌的胆道感染患者,其年龄偏大,反复感染,长时间高热,致使机体免疫力下降,细菌及毒素进入血液引起脓毒症。据 2008 年卫生部全国细菌耐药监测网统计,大肠埃希菌对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率仅为 7.1%<sup>[4]</sup>,但临床应用头孢哌酮/舒巴坦经验治疗,仍然导致抗感染治疗失败。因此,提醒临床,对感染性疾病,能够取得标本的,应尽早留取标本做微生物检测,依据药敏试验结果选用抗菌药物治疗,以提高抗感染治疗的成功率。

ESBLs 阳性大肠埃希菌较常见,但 SSBL 阳性(同时产 ESBLs 和质粒介导的 AmpC 酶)大肠埃希菌少见,而它们的药敏谱不同,抗菌治疗截然有别。因此,只开展 ESBLs 检测是远远不够的,有必要在各级实验室开展 AmpC 酶检测。目前为止,尚缺乏统一、简单、有效检测 AmpC 酶的方法。有文献报道,用 Tris-EDTA 纸片法、APB(3-氨基苯酚硼酸)纸片增强法<sup>[5]</sup>、三维试验、双纸片邻氯西林表型确证法、邻氯西林多剂量协同法、双纸片氯唑西林增效试验<sup>[6]</sup>等检测 AmpC 酶,但都需要特殊仪器设备和化学试剂,且操作繁杂,不利于在基层实验室推广;改良纸片表型筛选法测定 AmpC 酶和 ESBLs 有较高敏感性和特异性,且与三维试验比较,结果一致<sup>[2]</sup>,

- [2] 梁德雄. 抗生素的“囚徒困境”——谈美国 CDC 预防细菌耐药性的关键策略[J]. 抗感染药理学, 2007, 4(1): 1-4.
- [3] 刘诗强, 朱学源, 陈旭, 等. 医院感染金黄色葡萄球菌的流行与耐药机制[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(11): 1204-1206.
- [4] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2009 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(5): 325-334.
- [5] Martin G S, Mannino D M, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000[J]. N Engl J Med, 2003, 348(1): 1546-1554.
- [6] Spencer R C. Bacteremia caused by multi-resistant gram-positive microorganisms[J]. Clin Microbiol Infect, 1999, 5(1): 17-28.
- [7] Rhomberg P R, Jones R N. Summary trends for the meropenem yearly susceptibility test information collection program; a 10-year experience in the United State(1999-2008)[J]. Diag Microbiol Infect Dis, 2009, 65(4): 414-426.
- [8] 崔生辉, 李景云, 马越. 细菌对氟喹诺酮类药物的耐药机制[J]. 中国药房, 2007, 18(2): 148-150.
- [9] 黄雪珍. 医护人员手金黄色葡萄球菌带菌状况及耐药性分析[J]. 现代预防医学, 2006, 33(8): 1465-1466.
- [10] Cheng J, Thanassi J A, Thoma C L, et al. Dual targeting of DNA gyrase and topoisomerase IV; Target interactions of heteroaryl isothiazolones in *Staphylococcus aureus*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(7): 2445.
- [11] 杜锐, 韩文瑜, 雷连成. 金黄色葡萄球菌氟喹诺酮的耐药性与 gyrA, gyrB 突变的关系研究[J]. 中国预防兽医学报, 2006, 28(4): 416-418.
- [12] 黄革. 金黄色葡萄球菌抗菌药物耐药分子机制的研究进展[J]. 热带医学杂志, 2008, 8(8): 873-876.
- [13] 潘晓娟, 唐英春. 喹诺酮类抗菌药耐药机制研究进展[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2005, 5(3): 187-191.
- [14] 林居纯, 曾振灵. 氟喹诺酮类药物(FQs)耐药性产生的分子机制[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(9): 41-45.
- [15] DeMarco C E, Cushing L A, Frempong-Manso E, et al. Efflux-related resistance to norfloxacin, dyes, and biocides in blood-stream isolates of *Staphylococcus aureus*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(9): 3235-3239.
- [16] Truong-Bolduc Q C, Dunman P M, Strahilevitz J, et al. MgrA is a multiple regulator of two new efflux pumps in *Staphylococcus aureus*[J]. J Bacteriol, 2005, 187(7): 2395-2405.
- [17] Truong-Bolduc Q C, Strahilevitz J, Hooper D C. NorC, a new efflux-pump regulated by MgrA of *Staphylococcus aureus*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(3): 110.
- [18] 陈文标. 细菌对喹诺酮类药物耐药机制的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(3): 200-201.
- [19] 王德智, 张秀英. 氟喹诺酮类药物的研究近况[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2007, (4): 4-5.
- [20] 杨华为, 蒋迪, 王璨, 等. 细菌鉴定和耐药性检测方法的发展[J]. 临床药物治疗杂志, 2006, 4(4): 39-44.
- [21] 张行, 叶景佳, 魏群, 等. 利用 TaqMan 技术定量检测基因表达的引物探针设计[J]. 全科医学临床与教育, 2007, 5(6): 468-471.
- [22] Volokhov V, Chizhikov K, Chumakov A, et al. Microarray analysis of erythromycin resistance determinants[J]. J Appl Microbiol, 2003, 95(4): 787-798.
- [23] 范柏. 喹诺酮类抗菌药的作用机制及细菌耐药性的研究进展[J]. 国外医药抗生素分册, 2004, 25(1): 27-29.
- [24] 张致平. 抗菌药物研究进展[J]. 中国处方药, 2006, 12(5): 20-24.
- [25] 胡本嵩. 第五代喹诺酮类药物——LM-K[J]. 兽药市场指南, 2008, (2): 18.
- [26] 刘忆霜, 肖春玲. 细菌多重耐药外排泵抑制剂研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(4): 211-216.
- [27] 李月玲. 我国医务人员手卫生的影响因素及对策[J]. 护理学报, 2007, 14(8): 20-22.
- [28] 尹军霞, 林德荣. 细菌耐药的机理及抗耐药菌药物的开发[J]. 绍兴文理学院学报(自然科学版), 2004, 24(8): 52-55.

(上接第 153 页)

不需要特殊仪器设备, 只需要增加一块平皿, 改变一下相关药敏纸片的位置, 就可以同时检测 AmpC 酶和 ESBLs, 操作简便, 成本低廉, 适宜于基层实验室推广。

对微生物检验标本的采集, 应严格执行无菌技术操作, 特别是血培养等需要增菌的无菌标本的采集, 要严格按照规范要求, 否则难以判断是病原菌还是污染菌。本病例标本采集虽然及时, 但第 1 次采集标本, 临床应用单瓶采血, 出现阳性结果且不纯后无法判断是感染菌还是污染菌, 只能重新采集标本, 这样不但没有给患者节约医疗费用, 反而增加了医疗费用, 更严重的是延缓了结果报告时间, 耽误诊断、治疗机会。因此, 应该重视检验前质量控制, 严格按照要求采集检验标本。

## [参考文献]

- [1] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 801-812.
- [2] 陈岩勤, 顾国浩, 张险锋, 等. 改良的纸片表型筛选法用于 AmpC 酶的检测[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(3): 202-203.
- [3] 张秀珍, 朱德妹. 临床微生物检验问与答[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 34.
- [4] 肖永红. 2008 年度细菌耐药检测结果汇报[G]//细菌耐药检测技术研讨会. 杭州, 2010: 18.
- [5] 沈定霞, 罗燕萍, 曹敬荣, 等. 肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌 AmpC  $\beta$  内酰胺酶的表型检测[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(1): 4-6.
- [6] 严子禾, 吴风, 胡锡池, 等. 双纸片氯唑西林增效试验检测高产 AmpC 酶的大肠埃希菌和克雷伯菌[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(6): 450-451.