

# 头孢菌素对耐药大肠埃希菌生长繁殖的影响

桂芳, 邹珍, 汤朗媚, 石玉慧, 林章强

怀化医学高等专科学校医学检验系(湖南 怀化 418000)

**摘要:** 目的 体外检测不同浓度头孢菌素对大肠埃希菌耐药菌株生长繁殖的影响, 分析抗生素作用后耐药菌繁殖的规律, 指导临床用药。方法 分别用不同浓度头孢呋辛、头孢噻肟作用于产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶的大肠埃希菌, 在不同时间分别进行活菌计数, 绘制细菌的生长曲线。结果 高浓度头孢菌素对大肠埃希菌培养早期(头孢呋辛在 18~24h 内, 头孢噻肟在 36h 内)仍有不同程度抑菌作用, 后期细菌的繁殖速度均明显增快, 低浓度头孢呋辛作用组比无药物组细菌的繁殖速度更快。结论 耐药菌株在药物作用过程中有一个选择和适应阶段; 低浓度头孢菌素反而可促进耐药菌株的生长, 应加强耐药菌的检测, 并根据药敏试验足量全程用药, 避免耐药菌的繁殖和扩散。

**关键词:** 大肠埃希菌; 头孢菌素; 超广谱  $\beta$ -内酰胺酶

大肠埃希菌是容易发生耐药性变异的常见病原菌之一, 特别是产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)的大肠埃希菌, 往往是多重耐药菌株, 为临床治疗带来较大困难。头孢菌素类药物是目前临床最常用的一类抗生素, 虽然产 ESBLs 的大肠埃希菌对头孢菌素类抗生素耐药率较高, 但由于临床经验用药或用药不当, 很多情况下, 此类抗生素也被大量用于治疗由大肠埃希菌所致各类感染。为了解头孢菌素类抗生素对大肠埃希菌耐药菌株的抗菌效果, 分析头孢菌素类抗生素作用后耐药菌的繁殖规律, 指导临床用药, 本文分别用不同浓度头孢呋辛、头孢噻肟作用于产 ESBLs 大肠埃希菌, 检测细菌的生长繁殖情况, 现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

1.1 抗生素 头孢噻肟(粉剂, 生产厂家: 桂林大华制药股份有限公司, 批号: BE110823), 头孢呋辛(粉剂, 生产厂家: 山东罗欣药业股份有限公司, 批号: 20110253), 用于确证产 ESBLs 大肠埃希菌的 4 种药敏纸片包括头孢噻肟、头孢噻肟/克拉维酸、头孢他啶、头孢他啶/克拉维酸均购自天津金章科技发展有限公司。

1.2 菌株 大肠埃希菌耐药菌株为怀化市第一人民医院临床分离菌株。

1.3 培养基 MH营养肉汤和MH营养琼脂培养基均购自杭州天和微生物试剂公司, 按说明配制。

## 1.4 方法

### 1.4.1 药敏试验

药敏试验K-B法和ESBLs的确证试验均按照NCCLS(2008)<sup>[1]</sup>推荐方法进行, 检测大肠埃希菌对头孢

---

课题资助: 怀化医专大学生研究性学习和创新性实验计划项目

作者简介: 桂芳(1971-), 女, 硕士, 副教授, 主要从事细菌与病毒的基础研究工作。菌素类抗生素的敏感性, 同时用液体稀释法检测最低抑菌浓度(MIC)。

### 1.4.2 抗菌药物的稀释

根据MIC的检测结果，用无菌蒸馏水稀释头孢呋辛、头孢噻肟，将稀释液分别加入MH肉汤培养基内，使各管MH肉汤中头孢呋辛的终浓度依次为2000  $\mu\text{g/ml}$ 、1000  $\mu\text{g/ml}$ 、500  $\mu\text{g/ml}$ 、250  $\mu\text{g/ml}$ 、125  $\mu\text{g/ml}$ 和62.5  $\mu\text{g/ml}$ ，头孢噻肟的终浓度依次为1000  $\mu\text{g/ml}$ 、500  $\mu\text{g/ml}$ 、250  $\mu\text{g/ml}$ 、125  $\mu\text{g/ml}$ 、62.5  $\mu\text{g/ml}$ 。

### 1.4.3 细菌接种

先将大肠埃希菌接种至MH固体培养基中培养18~24h，挑取单个中等大小的典型菌落溶于1ml无菌生理盐水，充分混匀，经稀释后分别取50ul接种于上述含不同浓度头孢呋辛、头孢噻肟的MH培养基，同时接种一支不含药物的MH肉汤作为对照，置37℃温箱培养18~24h。

### 1.4.4 细菌计数

分别在培养的0h、12h、18h、24h、36h、48h时从MH肉汤中取5ul培养物，经稀释后再接种于MH琼脂平板，用L型玻棒涂抹均匀，37℃培养18~24h后进行菌落计数，将菌落数 $\times$ 稀释倍数 $\times$ 200即为每毫升培养基中菌落数（CFU/ml）。共平行检测3次，结果取平均值。

## 2 结果

### 2.1 药敏试验结果

经K-B法和液体稀释法检测，大肠埃希菌临床分离菌株对头孢呋辛耐药，MIC为2000 $\mu\text{g/ml}$ ，对头孢噻肟耐药，MIC为1000 $\mu\text{g/ml}$ ，并且经纸片扩散法证实为产ESBLs菌株。

### 2.2 头孢呋辛对大肠埃希菌生长繁殖的影响

与无药物培养基中细菌的生长情况相比，高浓度头孢呋辛（2000 $\mu\text{g/ml}$ ）在18~24h内对大肠埃希菌的生长具有一定抑菌作用，之后细菌数量呈逐渐增高趋势。而1000 $\mu\text{g/ml}$ 、500 $\mu\text{g/ml}$ 、250 $\mu\text{g/ml}$ 、125 $\mu\text{g/ml}$ 和62.5 $\mu\text{g/ml}$ 五种药物浓度对大肠埃希菌无明显抑菌作用，相反，在低浓度头孢呋辛（125 $\mu\text{g/ml}$ 和62.5 $\mu\text{g/ml}$ ）培养基中，细菌的繁殖速度比无药物培养中的细菌繁殖速度更快（图1）。

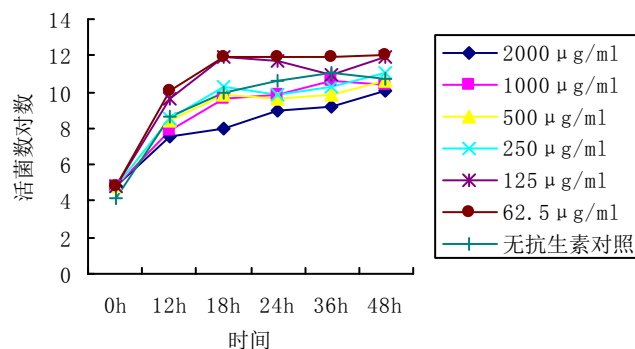


图1 不同浓度头孢呋辛对耐药大肠埃希菌生长繁殖的影响

### 2.3 头孢噻肟对大肠埃希菌生长繁殖的影响

与无药物培养基中细菌的生长情况相比，高浓度头孢噻肟（1000 $\mu\text{g/ml}$ 和500 $\mu\text{g/ml}$ ）在36h内对大

肠埃希菌的生长具有一定抑菌作用，之后细菌的生长速度显著增快。而 250 $\mu$ g/ml、125 $\mu$ g/ml、62.5 $\mu$ g/ml 三种药物浓度对大肠埃希菌无明显抑菌作用（图 2）。

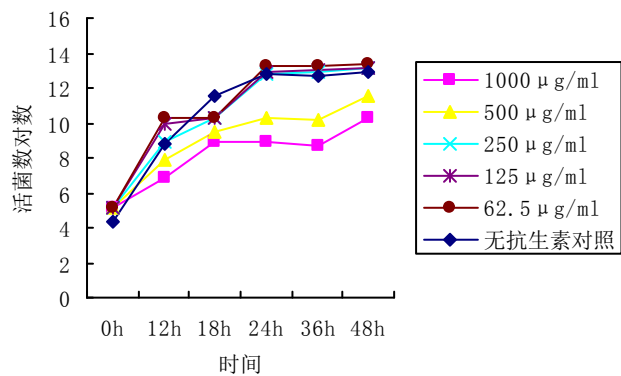


图 2 不同浓度头孢噻肟对耐药大肠埃希菌生长繁殖的影响

### 3 讨论

大肠埃希菌是临床常见病原菌之一，尤其在引起泌尿道感染的病原菌中，以大肠埃希菌的分离率最高<sup>[2~3]</sup>【2~3】。头孢菌素类抗生素是临床应用最广泛的一类抗生素，大肠埃希菌对其耐药率较高<sup>[4]</sup>，但由于临床经验用药或抗生素使用不当，很多情况下，此类抗生素也被大量用于治疗由大肠埃希菌所致各类感染。随着第三代头孢菌素在临床的用药频度不断上升，导致产 ESBLs 的大肠埃希菌日益增多<sup>[5~6]</sup>。

本研究发现，尽管产 ESBLs 的大肠埃希菌对头孢菌素类抗生素耐药，但在体外实验中，高浓度头孢呋辛和头孢噻肟在早期对细菌的生长仍有不同程度抑制作用，其中头孢呋辛在 MIC（2000 $\mu$ g/ml）浓度下、18~24h 内对细菌的生长具有一定抑制作用，而头孢噻肟在 MIC（1000 $\mu$ g/ml）以及低于 MIC（500 $\mu$ g/ml）浓度下，在 36h 内对细菌的生长均有一定抑菌作用，说明三代头孢菌素比二代头孢菌素对大肠埃希菌耐药菌株的抗菌作用略强。但二种药物在培养后期对细菌的抑菌作用均明显减弱，提示耐药菌株在药物作用过程中有一个选择和适应阶段，因此在某些情况下，临床经验用药早期也许会具有一定疗效，但后期随着耐药菌的大量繁殖可导致治疗失败，并且可能会造成耐药菌的繁殖和扩散。

大肠埃希菌的耐药机制有多种途径，其中，产 ESBLs 是大肠埃希菌对  $\beta$ -内酰胺类抗生素一种重要的耐药机制，它可破坏第三代、甚至第四代头孢菌素等大多数  $\beta$ -内酰胺类抗生素。本研究发现，大肠埃希菌耐药菌株在低浓度头孢呋辛（125 $\mu$ g/ml 和 62.5 $\mu$ g/ml）培养基中的繁殖速度甚至比无药物培养中的繁殖速度更快，可能在低浓度抗生素的诱导下，部分耐药菌株已经产生了对头孢菌素的依赖性，据此，对头孢菌素耐药的大肠埃希菌如果用药不当，特别是在用药剂量不足的情况下，不但没有治疗效果，反而可促进细菌的生长，进而加重病情。

由于临床分离的大肠埃希菌耐药率较高，应加强对大肠埃希菌（尤其是产 ELBLs 耐药菌株）的药敏检测，合理、规范使用抗生素，对敏感抗生素要足量全程用药，这对避免耐药菌的形成和播散、延缓耐药菌的出现都具有非常重要的意义。

## 参考文献

- [1] National Committee for Clinical Laboratory Standards 2008 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008, 1.
- [2] 李蓉, 李文林, 石小玉, 等. 医院分离致病菌的临床分布和耐药性监测[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2007, 28(3): 353-357.
- [3] 文细毛, 任南, 吴安华, 等. 全国医院感染监控网医院感染病原菌分布及变化趋势[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(2): 350-355.
- [4] 吴智勇, 陈玮, 黄瑛. 尿路感染产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶大肠埃希菌的检测及耐药性分析[J]. 实用预防医学, 2011, 18(9): 1774-1775.
- [5] 蒋利君, 韦晓谋, 梁陈方. 革兰阴性杆菌产 ESBLs 与第三代头孢菌素用药频度分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(7): 799-833.
- [6] 胡丽庆, 吕火祥, 孙定河, 等. 2007-2009 年大肠埃希菌产 ESBLs 株分离率及对碳青霉烯类药物的耐药性变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(15): 3258-3260.