

广西桂林地区淋病奈瑟菌耐药检测结果分析

李政¹, 朱邦勇², 王凤¹, 张莲子³, 邓承晓⁴, 甘泉², 黄寅杰²

1. 桂林医学院附属医院, 广西 桂林 541001; 2. 广西壮族自治区皮肤病医院, 广西 南宁 530007;
3. 桂林市人民医院, 广西 桂林 541000; 4. 广西壮族自治区南溪山医院, 广西 桂林 541000

摘要: **目的** 分析广西桂林地区淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, NG)对七种抗生素的耐药性,为临床合理用药提供实验室依据。**方法** 采用纸片酸度法检测产青霉素酶淋病奈瑟菌(penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*, PPNG),运用琼脂稀释法测抗生素的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。**结果** 从淋病患者标本中分离菌株 361 株,其中高度耐四环素淋球菌(tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, TRNG)和青霉素耐药并 PPNG 分别为 112 株(60.22%)和 146 株(54.89%)。青霉素敏感 0 株(0.00%),环丙沙星敏感 1 株(0.28%),四环素敏感 28 株(7.76%),阿奇霉素敏感 236 株(65.37%),未发现大观霉素耐药菌株;头孢曲松和头孢克肟敏感分别为 341 株(94.46%)和 354 株(98.06%),其非敏感分别为 20 株(5.54%)和 7 株(1.94%)。**结论** 大观霉素、头孢曲松和头孢克肟可作为桂林地区治疗淋病的首选药物;持续监测 NG 耐药性对于指导临床合理用药和发现耐药变化具有十分重要的意义。

关键词: 淋病奈瑟菌;耐药性;最小抑菌浓度;产青霉素酶淋病奈瑟菌;多重耐药

中图分类号:R759.2 文献标识码:A 文章编号:1006-3110(2022)08-0959-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2022.08.015

Detection results of antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in Guilin, Guangxi

LI Zheng¹, ZHU Bang-yong², WANG Feng¹, ZHANG Lian-zi³, DENG Cheng-xiao⁴, GAN Quan², HUANG Yin-jie²

1. The Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541001, China;
2. Dermatology Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530007, China;
3. The People's Hospital of Guilin City, Guilin, Guangxi 541000, China;
4. Nanxishan Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Guilin, Guangxi 541000, China

Corresponding author: ZHU Bang-yong, E-mail: 43213047@qq.com

Abstract: **Objective** To analyze the antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* (NG) to seven antibiotics in Guilin, Guangxi, and to provide a laboratory basis for rational use of antibiotics in clinical practice. **Methods** Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* (PPNG) strains were detected by paper acidimetric method, and minimum inhibitory concentration (MIC) of the antibiotics were determined by the agar dilution method. **Results** A total of 361 NG strains were isolated from patients with gonorrhea, of which there were 112 strains of high-level tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae* (TRNG) (60.22%) and 146 strains of penicillin-resistant PPNG (54.89%). None of all strains (0.00%) was sensitive to penicillin, and 1 (0.28%) to ciprofloxacin. 28 (7.76%) strains were sensitive to tetracycline, and 236 (65.37%) to azithromycin. No spectinomycin-resistant strains were found. 341 (94.46%) strains were sensitive to ceftriaxone, but 20 (5.54%) strains were non-sensitive to ceftriaxone. 354 (98.06%) strains were sensitive to cefixime, but 7 (1.94%) strains were non-sensitive to cefixime. **Conclusion** Spectinomycin, ceftriaxone and cefixime can serve as the preferred medication for the treatment of gonorrhea in Guilin. Continuous monitoring of NG resistance is of great significance for guiding rational use of antibiotics in clinical practice and discovering the

基金项目:广西皮肤性病科临床重点专科建设项目(桂卫医发[2019]44号)

作者简介:李政(1972-),男,硕士,副主任技师,研究方向:微生物检验。

通信作者:朱邦勇,E-mail:43213047@qq.com。

[9] 中国疾病预防控制中心慢性非传染性疾病预防控制中心,国家卫生健康统计信息中心. 2019 中国死因监测数据集[M]. 北京:中国科学技术出版社,2020:1-15.

[10] 王浩武,吕丽娜,马娜,等. 2010—2019 年天津市河东区 0~14 岁儿童青少年死因及减寿评估结果分析[J]. 预防医学情报杂志, 2021, 37(9): 1203-1208.

[11] 江顺利,王梅,许雅茹,等. 2007—2016 年济宁市死亡病例报告质量评价[J]. 实用预防医学, 2019, 26(3): 360-363.

[12] 姜晓红,夏云婷,赵靓,等. 2018 年北京市朝阳区网络直报死亡报告质量评价[J]. 中国慢性病预防与控制, 2020, 28(5): 397-400.

changes in drug resistance.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*; drug resistance; minimum inhibitory concentration; penicillinase - producing *Neisseria gonorrhoeae*; multi-drug resistance

随着广谱抗生素大量使用,导致淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, NG)对多种抗生素耐药,其耐药性因时间和地区不同而存在一定的差异。为了解广西桂林地区 NG 耐药状况,研究组对广西桂林 3 所三级甲等医院性病门诊患者培养分离出来的 361 株 NG 进行药物敏感性检测并分析其耐药性,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2019 年 11 月—2020 年 10 月桂林医学院附属医院、广西壮族自治区南溪山医院及桂林市人民医院的性病门诊患者的尿道或宫颈分泌物分离培养获得 361 株 NG,所有菌株经鉴定(革兰染色、氧化酶试验和质谱鉴定)后传代 1 次,用脱脂牛奶-85℃冷冻保存。

1.2 抗菌药物与培养基 青霉素、环丙沙星、大观霉素、头孢曲松、头孢克肟、阿奇霉素和四环素 7 种抗生素药粉均由中国疾病预防控制中心性病控制中心提供。培养基为 GC 基础培养基(Oxoid)加入 10% 脱纤维新鲜羊血。

1.3 方法

1.3.1 最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)测定方法及敏感性判断标准 采用 WHO 西太平洋地区(西太区)淋病奈瑟菌耐药监测指南推荐的琼脂稀释法测定 MIC^[1]。每批次试验均以 WHO 参考菌株(由中国医学科学院皮肤病研究所提供)作质控,按 WHO 推荐的标准判断药物敏感性:青霉素:≤0.06 mg/L 为敏感,0.12~1 mg/L 为中度敏感,≥2 mg/L 为耐药;环丙沙星:≤0.06 mg/L 为敏感,0.12~0.5 mg/L 为中度敏感,≥1 mg/L 为耐药;大观霉素:≤32 mg/L 为敏感,64 mg/L 为中度敏感,≥128 mg/L 为耐药;阿奇霉素:≤0.25 mg/L 为敏感,0.5 mg/L 为中度敏感,≥1 mg/L 为耐药;头孢克肟和头孢曲松:≤0.25 mg/L 为敏感,目前暂无中度敏感或耐药的折点;四环素≤0.25 mg/L 为敏感,0.5~1 mg/L 为中度敏感,≥2 mg/L 为耐药,以 MIC≥16 mg/L 判定为质粒介导的高度耐四环素淋球菌(tetracycline-resistant

Neisseria gonorrhoeae, TRNG)。

1.3.2 青霉素酶淋病奈瑟菌(penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*, PPNG)测定 PPNG 采用纸片酸度定量法测定,按照方法要求规范操作并判断结果,变黄色为阳性,不变色为阴性。

2 结果

2.1 患者信息资料 NG 培养阳性标本共 361 例,其中男性尿道分泌物 314 例,女性宫颈分泌物 47 例,男女患者比约为 6.68:1。平均年龄 29.8 岁(15~61 岁),300 例(83.10%)年龄分布主要集中在 21~40 岁、15~20 岁和 41~61 岁年龄段分别 36 例(9.97%)和 25 例(6.93%)。351 例(97.23%)患者长期居住桂林(包含桂林 12 个县城),全部否认淋病病史,就诊原因均为男性尿道口脓性分泌物或女性生殖道异常分泌物,有 3 例患者在 1 个月前因尿路感染曾使用左氧氟沙星药物治疗。

2.2 MIC 测定结果 361 株 NG 中,青霉素耐药 266 株(73.68%),MIC 范围 0.25~32 mg/L, MIC₅₀ = 2 mg/L,等于耐药折点, MIC₉₀ = 32 mg/L,超过耐药折点的 4 个倍比稀释浓度;环丙沙星耐药 357 株(98.89%),MIC 范围 0.0156~16 mg/L, MIC₅₀ = 8 mg/L, MIC₉₀ = 16 mg/L,分别超过耐药折点的 3 个和 4 个倍比稀释浓度;四环素耐药 186 株(51.52%),MIC 范围 0.25~64 mg/L, MIC₅₀ = 2 mg/L,等于耐药折点,但 MIC₉₀ = 64 mg/L 超过耐药折点 5 个倍比稀释浓度;阿奇霉素耐药 90 株(24.93%),MIC 范围 0.0312~8 mg/L, MIC₅₀ = 0.25 mg/L,等于敏感折点,但 MIC₉₀ = 2 mg/L,超过耐药折点 1 个倍比稀释浓度;头孢曲松和头孢克肟非敏感分别为 20 株(5.54%)和 7 株(1.94%),MIC 范围分别为 0.0078~1 mg/L 和 0.0078~2 mg/L, MIC₅₀ = 0.0078 mg/L, MIC₉₀ = 0.25 mg/L,分别小于敏感折点 5 个倍比稀释浓度和等于敏感折点;未发现大观霉素耐药 NG, MIC 范围 4~64 mg/L, MIC₅₀ = 16 mg/L,小于敏感折点 1 个倍比稀释浓度, MIC₉₀ = 32 mg/L,等于敏感折点,见表 1、表 2。

表 1 抗生素对 361 株 NG 的 MIC 分布(株)

药物	MIC 分布(mg/L)													
	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312	0.0156	0.0078
青霉素	0	105	23	22	26	90	66	25	4	0	0	0	0	0

续表 1

药物	MIC 分布 (mg/L)													
	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312	0.0156	0.0078
环丙沙星	0	0	126	129	72	26	4	2	0	1	0	0	1	0
四环素	59	33	20	6	8	60	102	45	28	0	0	0	0	0
头孢曲松	0	0	0	0	0	0	4	16	26	6	2	2	19	286
头孢克肟	0	0	0	0	0	1	4	2	47	1	1	14	86	205
阿奇霉素	0	0	0	23	5	21	41	35	61	93	49	33	0	0
大观霉素	27	11	179	136	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.3 PPNG、TRNG 测定结果 361 株 NG 中产青霉素质粒介导 TRNG 112 株,占四环素耐药 NG 的 60.22% 酶 146 株,青霉素耐药 NG 中 PPNG 占 54.89% (146/266); (112/186),见表 2。

表 2 抗生素对 361 株 NG 的抗菌活性

药物	敏感株(n,%)	中敏株(n,%)	耐药株(n,%)	MIC ₅₀ (mg/L)	MIC ₉₀ (mg/L)	MIC 范围(mg/L)	PPNG 株(n,%)	TRNG 株(n,%)
青霉素	0(0.00)	95(26.31)	266(73.68)	2	32	0.25~32	146(54.89)	-
环丙沙星	1(0.28)	3(0.83)	357(98.89)	8	16	0.0156~16	-	-
四环素	28(7.76)	147(40.72)	186(51.52)	2	64	0.25~64	-	112(60.22)
头孢曲松	341(94.46)		20(5.54)	0.0078	0.25	0.0078~1	-	-
头孢克肟	354(98.06)		7(1.94)	0.0078	0.25	0.0078~2	-	-
阿奇霉素	236(65.37)	35(9.70)	90(24.93)	0.25	2	0.0312~8	-	-
大观霉素	334(92.52)	27(7.48)	0(0.00)	16	32	4~64	-	-

注:“-”代表未检测。

2.4 多重耐药情况 361 株 NG 中对环丙沙星、青霉素和四环素同时耐药 155 株(42.94%),对环丙沙星、青霉素和阿奇霉素同时耐药 64 株(17.73%),对环丙沙星、四环素和阿奇霉素同时耐药 57 株(15.79%),对青霉素、四环素和阿奇霉素同时耐药 44 株(12.19%),对环丙沙星、青霉素、四环素和阿奇霉素同时耐药 41 株(11.36%),见表 3。

表 3 361 株 NG 的多重耐药(株,%)

耐药种类	耐药率
环丙沙星+青霉素+四环素	155(42.94)
环丙沙星+青霉素+阿奇霉素	64(17.73)
环丙沙星+四环素+阿奇霉素	57(15.79)
青霉素+四环素+阿奇霉素	44(12.19)
环丙沙星+青霉素+四环素+阿奇霉素	41(11.36)

3 讨论

淋病是全球最常见的性传播疾病^[2-3],主要引起生殖道化脓性炎症,治疗不及时可导致男女附件炎,甚至不孕不育。本研究中 83.10%(300/361)来自 21~40 岁的人群,高于朱中华等^[4]报道湖北大冶的 41.6%,亦高于陈映^[5]报道珠海地区的 67.6%,提示应将青壮年作

为该地区淋病的重点监控对象。男女患者比为 6.68:1 (314/47),与黎小东等^[6]报道广州地区男女比例的 8.28:1 相当,男性的检出率明显高于女性,可能是男性感染后临床症状明显,就诊率较高,而大部分女性感染者症状不明显或者无症状^[7],导致就医缺失。因此应加大对易感性病风险行为人群的综合干预,特别是将性病干预工作纳入暗娼高危人群中,加强男性患者性伴的追踪调查。

由于抗生素不规范使用甚至滥用,尤其是淋病不规范治疗易诱导 NG 产生耐药。本研究结果显示:青霉素耐药率和耐青霉素 NG 中 PPNG 阳性率分别达到 73.68%和 54.89%,青霉素耐药率低于 2018 年广西地区朱邦勇等^[8]报道的 85.13%和广西北海^[9] 86.81%,而 PPNG 阳性率却高于 2018 年广西地区朱邦勇等^[8]报道的 33.18%和张杰等^[10]报道的 23.40%,与广西北海^[9] 52.63%相当。可见桂林地区 NG 对青霉素耐药以质粒介导的耐药为主;环丙沙星耐药率为 98.89%,基本与广西地区朱邦勇等^[8]报道 97.71%、广西北海 98.90%^[9]、广州地区 98.0%^[11]及广州^[12]和扬州^[13]地区的 97.9%均接近;可见该地区青霉素和环丙沙星的高耐药率和高水平耐药与国内部分地区报道基本一致。四环素耐药率和 TRNG 阳性率分别为 51.52%和

60.22%, 其已不适用该地区淋病的临床治疗; 长期以来阿奇霉素对支原体、衣原体感染的治疗属于优选用药^[14], 造成 NG 对阿奇霉素敏感性降低而耐药性增加。其主要耐药机制是作用靶位改变和外排增加, 本研究中阿奇霉素耐药率为 24.93%, 高于 2018 年广西地区朱邦勇等^[8]报道的 4.81%, 虽然 MIC₅₀ 在敏感范围内, 但 MIC₉₀ 超过耐药折点 1 个倍比稀释浓度。本研究未发现 NG 对大观霉素耐药, 但并不排除该地区存在耐药菌株。而且国内成都地区罗才会等^[15] 和国外^[16-17] 已有大观霉素耐药 NG 报道, 建议临床发现淋病患者对大观霉素治疗无效时, 应及时关注其 MIC 值, 并追踪其性伴对大观霉素的耐药情况, 防止耐药菌暴发流行和扩大传播^[8]。2020 年美国疾病预防控制中心单纯性 NG 感染治疗指南解读: 头孢曲松仍是治疗淋病的推荐首选药物^[18]。近几年有文献报道 NG 对头孢曲松的敏感性逐渐降低^[19-20], 而且监测数据也显示 NG 对头孢曲松及头孢克肟 MIC 亦呈现逐年上升趋势。虽然本研究中 NG 对头孢曲松敏感率 94.46%, MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 均在敏感范围内, 但出现了 5.54% 的非敏感株, 因此建议临床规范使用头孢曲松治疗 NG, 实验室应监测其 MIC 值变化趋势, 防止 NG 产生诱导性耐药和耐药菌株传播。

综上所述, 该地区 NG 对环丙沙星、青霉素和四环素耐药已非常严重。建议临床在疑诊泌尿生殖道 NG 感染时, 务必在抗菌药物使用前进行 NG 培养鉴定和药敏检测, 合理选用治疗药物, 不仅有利于 NG 感染精准治疗, 同时也避免药物滥用及 NG 耐药产生和播散。本研究仅分析桂林地区 3 所大医院 NG 耐药情况, 为了发现特殊耐药 NG 和耐药趋势, 后续研究应扩大样本量并持续监测, 提供该地区更全面可靠的 NG 耐药数据, 为临床治疗淋病用药选择提供实验室依据, 并及时发现 NG 的耐药变化, 防止耐药 NG 暴发流行。

参考文献

[1] World Health Organization. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus [S]. Geneva: WHO, 2013.

[2] 周可, 陈绍椿, 尹跃平. 淋病奈瑟菌耐药外排泵研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2018, 34(17): 755-759.

[3] Araneta CMP, Juayang AC, Lim JPT, et al. Antibiotic susceptibility monitoring of *Neisseria gonorrhoeae* in Bacolod city, Philippines[J]. Trop Med Infect Dis, 2017, 2(3): 45.

[4] 朱中华, 张茂海, 张桂花, 等. 578 例男性尿道分泌物的淋病奈瑟菌培养分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(8): 1155-1156.

[5] 陈映. 琼海地区淋病奈瑟菌的耐药性分析[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2019, 18(5): 445-447.

[6] 黎小东, 梁景耀, 毕超, 等. 淋球菌 130 株对 7 种抗生素的耐药性结果分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2020, 34(1): 60-63.

[7] 郭灿星, 劳丽嫦, 蒋敏慧, 等. 淋球菌流行株对阿奇霉素的敏感性分析[J]. 广东医学院学报, 2016, 34(3): 321-323.

[8] 朱邦勇, 李伟, 甘泉, 等. 广西地区淋病患者淋病奈瑟菌对七种抗生素的耐药监测[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2018, 32(9): 1052-1056.

[9] 陈镇, 钟永军, 朱邦勇, 等. 2015—2019 年广西北海地区淋球菌耐药结果分析[J]. 皮肤病与性病, 2020, 42(3): 325-327.

[10] 张杰, 李伟, 朱邦勇, 等. 2008—2013 年广西部分地区性病门诊患者淋球菌临床分离菌株的耐药监测[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2017, 31(2): 180-182.

[11] 黎小东, 梁景耀, 毕超, 等. 广州地区淋球菌耐药性的趋势分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(4): 472-477.

[12] 陈霄霄, 梁景耀, 曹文苓, 等. 广州淋球菌基因特征及其多抗原序列分型与环丙沙星耐药相关性研究[J]. 中国皮肤科杂志, 2016, 49(5): 353-356.

[13] 时祝帅, 王德霞, 聂青松. 2010—2015 年扬州地区淋球菌耐药性和流行株质粒谱的研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2016, 41(12): 1681-1683.

[14] 管秋叶, 吴丹, 王俊霞, 等. 分离自淋病患者分泌物的 51 株淋球菌药物敏感性观察[J]. 山东医药, 2019, 59(36): 88-90.

[15] 罗才会, 李春花, 王有为, 等. 2018 年成都地区淋病奈瑟菌对抗生素耐药性的结果分析[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(6): 627-630.

[16] Unemo M, Golparian D, Skogen V, et al. *Neisseria gonorrhoeae* strain with high-level resistance to spectinomycin due to a novel resistance mechanism (mutated ribosomal protein S5) verified in Norway[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(2): 1057-1061.

[17] Serra-Pladevall J, Barberá-Gracia MJ, Roig-Carbajosa G, et al. *Neisseria gonorrhoeae*: antimicrobial resistance and study of population dynamics. Situation in Barcelona in 2011[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2013, 31(9): 579-583.

[18] St Cyr S, Barbee L, Workowski KA, et al. Update to CDC's treatment guidelines for gonococcal infection, 2020[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2020, 69(50): 1911-1916.

[19] Martin I, Sawatzky P, Allen V, et al. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Canada, 2012-2016[J]. Can Commun Dis Rep, 2019, 45(3): 45-53.

[20] Papp JR, Abrams AJ, Nash E, et al. Azithromycin resistance and decreased ceftriaxone susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae*, Hawaii, USA[J]. Emerg Infect Dis, 2017, 23(5): 830-832.