

## 62株临床分离布鲁氏菌对四种常用抗生素药物敏感性实验

梁英风<sup>a</sup>, 吴金英<sup>a</sup>, 刘岩<sup>b</sup>, 伊茂礼<sup>a</sup>, 周志美<sup>a</sup>

(烟台毓璜顶医院 a. 检验科; b. 感染科, 山东烟台 264000)

**摘要:**目的 探究马耳他布鲁氏菌对临床常用的4种抗生素的敏感性, 为临床合理用药提供数据支持。方法 通过E-test方法对2015~2018年该院微生物室血培养分离出的62株马耳他布鲁氏菌进行庆大霉素、利福平、复方新诺明和多西环素四种常用抗生素的感性分析。结果 该次试验中62株布鲁氏菌对庆大霉素敏感率是100%, MIC<sub>50</sub>与MIC<sub>90</sub>均为0.75 μg/ml; 利福平MIC<sub>50</sub>和MIC<sub>90</sub>分别为0.75 μg/ml和2 μg/ml; 复方新诺明敏感率是0%, MIC<sub>50</sub>和MIC<sub>90</sub>分别是8 μg/ml和16 μg/ml; 多西环素敏感率是82.1%, MIC<sub>50</sub>和MIC<sub>90</sub>分别为16 μg/ml和32 μg/ml。结论 该次实验中用到的药物基本覆盖了治疗布鲁氏菌病的常用药, 为临床实行个体化治疗提供有价值的依据和帮助。

**关键词:** 布鲁氏菌; 布鲁氏菌病; 耐药性; 最小抑菌浓度

中图分类号: R378.5; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 04-116-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.029

### Sensitivity Test of 62 Strains of *Brucella* Isolated from Clinical to Four Common Antibiotics

LIANG Ying-feng<sup>a</sup>, WU Jin-ying<sup>a</sup>, LIU Yan<sup>b</sup>, YI Mao-li<sup>a</sup>, ZHOU Zhi-mei<sup>a</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Infectious Disease, Yuhuangding Hospital, Shandong Yantai 264000, China)

**Abstract: Objective** To explore the antibiotic sensitive to four antimicrobial agents of *Brucella melitensis* and provide data support for clinical rational drug use. **Methods** E-test was used to detect the drug susceptibility of gentamycin, rifampicin, sulfamethoxazole- trimethoprim and doxycycline to 62 *Brucella* strains isolated from 2015 to 2018. **Results** The drug sensitivity results of 62 *Brucella* strains in this experiment showed that all isolates were susceptible to gentamycin, 82.1% of the *Brucella* isolates were susceptible to doxycycline and all isolates were resistant to sulfamethoxazole- trimethoprim. The MIC<sub>50</sub> of gentamicin, rifampicin, sulfamethoxazole- trimethoprim, and doxycycline were 0.75, 0.75, 8 and 16 μg/ml, and MIC<sub>90</sub> were 0.75, 2, 16 and 32 μg/ml respectively. **Conclusion** The drugs used in this experiment cover common drugs for treating *Brucella*. It can provide valuable basis and help for clinical individualized treatment.

**Keywords:** *Brucella*; Brucellosis; drug resistance; minimum inhibitory concentration (MIC)

布鲁氏菌病是由布鲁氏杆菌引起的一种急性或慢性动物源性传染病, 属自然疫源性疾病。该病是我国《传染病防治法》规定的乙类传染病, 可造成严重的健康和社会经济损失。全球有近170个国家和地区的人畜中存在布鲁氏菌病, 且成为自90年代中期起报告发病率上升最快的传染病之一<sup>[1]</sup>。近年来, 我国由于牧区分布范围广泛, 变化趋势体现为由牧区向半牧半农区甚至农区转化, 由聚集暴发向散发发病转化。由于布鲁氏菌病起病隐匿, 且临床症状广泛多样(如发热乏力、关节肌肉疼痛、肝脾肿大等)<sup>[2]</sup>, 给临床诊断治疗带来极大挑战, 为了使患者得到及时正确的诊断和规范性治疗, 现将我院2015~2018年微生物实验室分离出的布鲁氏菌体外药敏试验结果分析如下。

### 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 2015年2月~2018年12月我院各临床科室送检的血培养中共分离出62株布鲁氏菌, 其中呼吸科23例, 关节脊柱科11例, 血液内科9例, 风湿免疫科8例, 消化内科6例, 其余科室共5例。男性43例, 女性19例。经查病历发现, 62例病人均有不同程度的发热, 最高体温为37.3℃~40.1℃, 平均38.7℃。24例患者有典型的波状热, 9例有弛张热, 29例有不规则发热。所有的病患均有不同程度的关节肌肉疼痛。39例病程小于1个月, 14例病程3个月左右, 9例病程超过3个月。在62例患者中, 36例有接触牛和/或羊的病史, 9例常吃牛羊肉, 5例喝过羊奶, 4例为厨师, 2例从事生羊皮加工, 6例病史不详。WBC计

**作者简介:** 梁英风(1969-), 女, 本科, 副主任检验师, 研究方向: 微生物学。

**通讯作者:** 周志美(1985-), 女, 硕士研究生, 主管检验师, 研究方向: 微生物学, E-mail: zhuozhimei1985@163.com。

数(2.22~14.31) × 10<sup>9</sup>/ml, 红细胞沉降率大多介于15~61mm/h, 4例在15mm/h以下。

1.2 试剂与仪器 Bact/Alert 3D自动血培养仪、VITEK-2Compact自动细菌分析仪、革兰氏阴性杆菌鉴定卡(GN, 法国生物梅里埃公司)、庆大霉素(GEN)、利福平(RIF)、复方新诺明(SXT)、多西环素(DOX) E-test试验纸片(温州康泰生物科技有限公司), 血琼脂平板、M-H琼脂平板(济南百博生物)。

### 1.3 方法

1.3.1 细菌的培养与鉴定: 血液经Bact/Alert 3D自动血培养仪培养报阳后, 查看报警曲线, 立即用无菌注射器抽取瓶中液体涂片, 同时转种血琼脂平板置于35℃, 5% (v/v) CO<sub>2</sub>温箱中培养。革兰染色后镜下可见革兰阴性短小球杆菌, 着色较弱, 菌体排列如细沙样团状, 培养48h后血平板可见圆形细小菌落, 表面光滑稍隆起, 呈灰白色。获得的纯培养细菌用VITEK II自动细菌分析仪来鉴别菌种。

1.3.2 药物敏感性判断标准: 布鲁氏菌属的药敏试验没有扩散法的折点标准, 常用药稀释法折点标准为庆大霉素: ≤ 4 μg/ml为敏感, 多西环素: ≤ 1 μg/ml为敏感, 复方新诺明: ≤ 2/38 μg/ml为敏感, 利福平暂无敏感标准。本试验中菌株的MIC是用E-test试验方法测得。将0.5麦氏单位的菌液涂布在血M-H琼脂平板上, 5 min后贴药敏纸片。室温放置10min后, 将平板放置于35℃温箱培养24h。抑菌率根据CLSI M100-22标准(非肠杆菌科细菌的MIC值解释标准)得出, 由于布鲁氏杆菌的致病性及以往实验室感染的报道, 我们实验室医务人员均穿防护服, 佩戴口罩、手套, 所有标本操作都在二级以上的生物安全柜内进行。

1.3.3 诊断标准: 卫生部地方病防治司颁布的布氏杆菌病诊断标准规定, 有流行病学接触史, 符合布鲁氏菌病临床症状和体征, 同时血清凝集试验、补体结合试验及抗人球蛋白试验任一项阳性者即可确定为布鲁氏菌病患者<sup>[3]</sup>。

## 2 结果

2.1 细菌的生长特点和菌株鉴定 62例血培养平均报警时间是42.7h, 最短29.3h, 最长57.9h。转种的血平板于35℃温箱培养48h后, 可见圆形, 突起, 乳白色, 湿润的不溶血菌落, 菌落大小1~2mm。革兰染色呈革兰阴性短小球杆菌, 细小, 分布如沙滩状。VITEK II自动细菌分析仪鉴定结果均为马耳他布鲁氏菌。

2.2 MIC值药敏试验结果 经测定, 庆大霉素MIC值为0.5~0.75 μg/ml, 其中0.5 μg/ml 27例, 0.75 μg/ml 35例; 利福平MIC值为0.06~2 μg/ml,

其中0.06 μg/ml 21例, 0.75 μg/ml 16例, 2 μg/ml 25例; 复方新诺明MIC值为4~16 μg/ml, 其中4 μg/ml 27例, 8 μg/ml 21例, 16 μg/ml 14例; 多西环素MIC值为8~32 μg/ml, 其中8 μg/ml 26例, 16 μg/ml 22例, 32 μg/ml 14例。四种抗生素MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>值及敏感率见表1。

表1 62株布鲁氏菌四种抗生素MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>值(μg/ml)及敏感率

抗生素	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	敏感率(%)
GEN	0.75	0.75	100.0
RIF	0.75	2	-
SXT	8	16	0.0
DOX	16	32	82.1

## 3 讨论

布鲁氏菌感染剂量很低, 可使被感染的雌性动物流产, 牛、羊、猪是布鲁氏菌最易感的动物。被感染的动物持续排菌, 通过分泌物和排泄物(牛奶、精液、阴道分泌物、粪便和尿液)排出。病原体可通过体表皮肤黏膜、消化道、呼吸道等侵入人体引起布鲁氏菌病。人的感染途径与职业、饮食和生活习惯有关<sup>[4]</sup>。近年来, 布鲁氏菌病在人类和动物间的传播有明显上升趋势。由于布鲁氏菌为胞内寄生菌, 可侵入许多脏器, 而抗生素和抗体又很难进入细胞内, 这就使得布鲁氏菌病的治愈非常困难。

布鲁氏菌病根据病程可以分为急性期(6个月以内)和慢性期(超过6个月)<sup>[1]</sup>。急性布鲁氏菌病能引起系统性网状内皮细胞增生, 常伴有化脓及神经、循环和生殖等系统的损伤, 尤其是骨关节系统的损害。然而, 慢性期的特点是组织细胞增生和肉芽组织形成。在一些病人中, 肉芽组织发生纤维化是后遗症产生的基础<sup>[5]</sup>。

本次试验中, 庆大霉素和利福平均属于抗生素, 其中利福平杀菌机制为阻断细菌RNA和蛋白质的合成, 对细胞内外的细菌均有明显的杀菌效果<sup>[6]</sup>, 而本实验中RIF的MIC值在低水平有较好的杀菌活性。利福平长期以来被视为治疗布鲁氏菌病的首选药, 而且它的临床治疗总体上是安全的, 但是考虑到药物的毒副作用, 如骨髓抑制、肝功能损伤、胃肠反应等, 可暂缓使用或改用其他可替代的药物或联合用药治疗。庆大霉素属于氨基糖苷类抗菌药物, 也有较高的杀菌活性, 但是他们用于治疗布鲁氏菌病的报道很少。多西环素的MIC值在62例菌株中均超过8 μg/ml, 最高达32 μg/ml, 这与几年前的报道一致<sup>[7]</sup>, 且不良反应最少, 联合用药时会权衡进行选择。复方新诺明的杀菌率较低, 根(下转129页)