

# 在尼日利亚卡诺的一些医院就诊的病人尿路病原体中 $\beta$ -内酰胺酶的产生

**Hamza Sule, Abdulhadi Sale Kumurya**

尼日利亚 卡诺 巴耶罗大学联合健康科学学院医学检验科学系

**摘要:** 细菌耐受抗生素治疗的能力通常与耐药性有关。某些细菌有能力产生一些酶，比如  $\beta$ -内酰胺酶，它能对青霉素类和头孢菌素类等某些抗生素产生耐药性。这项研究的重点是尿路病原体中这些酶的生产者。共筛选分离株 114 株，其中 71771 株(62.3%)酶阳性。大肠埃希菌阳性率最高 40 例(56.3%)。其次为克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、腐生葡萄球菌、奇异变形杆菌、铜绿假单胞菌，分别为 15 例(21.1%)、7 例(10.0%)、5 例(7.0%)、3 例(4.2%)、1 例(1.4%)。同样，研究人员发现，来自女性的菌株比来自男性的菌株产生更多的酶。这表明，从雌性样本中分离出来的每个物种中至少有一种分离物产生酶，而在雄性样本中，有些物种甚至不产生任何酶。酶的年龄分布表明，21-30 岁和 31-40 岁年龄组的所有分离菌都以不同的频率产生酶。只有铜绿假单胞菌能在这些年龄组之外产生酶。女性来源的菌株在所有物种中产生的酶都高于男性来源的菌株，其比例为;分别为大肠杆菌 26:14、11:4、5:2、3:2、2:1、1:0、克雷伯氏菌种、金黄色葡萄球菌、腐生葡萄球菌、奇异变形杆菌、铜绿假单胞菌。

**关键词:** 尿路感染; 尿路病原体;  $\beta$ -内酰胺酶; 卡诺

## Beta-Lactamase Production Among Uropathogens in Patients Attending Some Hospitals in Kano, Nigeria

**Hamza Sule, Abdulhadi Sale Kumurya**

Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Allied Health Sciences, Bayero University, Kano, Nigeria

**Abstract:** Ability of bacteria to withstand antibiotic therapy is often associated with resistance. Certain bacteria have the ability to produce some enzymes, like Beta - Lactamase, which confers resistance to some groups of antibiotics like penicillins and cephalosporins. The study focused on producers of these enzymes among uropathogens. A total of one hundred and fourteen isolates (114) were screened, out of which seventy one 71 (62.3%) were found positive for the enzymes. Eschericia coli had the highest positivity rate 40 (56.3%). Followed by Klebsiella spp., Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus, Proteus mirabilis, and Pseudomonas aeruginosa with 15 (21.1%), 7 (10.0%), 5 (7.0%), 3 (4.2%), and 1 (1.4%) respectively. In the same vein, it was discovered that, isolates of females' origin, produced more of the enzymes than those of their males counterpart. This was indicated by the production of the enzyme by at least one isolate in each of the species isolated from female samples while in males, some species did not even produce any of the enzymes. Age-wise distribution of the enzymes showed that, 21-30, and 31-40 age groups had all the isolates producing the enzymes in varying frequencies. Only Pseudomonas aeruginosa that produced its enzyme outside these age groups. Isolates of females origin had more of the enzymes produced in all the species compared to those from males, with ratios of; 26:14, 11:4, 5:2, 3:2, 2:1, and 1:0 for, E coli, Klebsiella species, Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus, Proteus mirabilis, and Pseudomonas aeruginosa respectively.

**Keywords:** Urinary tract infections; Uropathogens; Beta-Lactamase; Kano

### 1. 简介

在人类历史上，尿路感染一直是引起疾病的主要原因之一。在世界范围内，每年约有 1.5 亿人被诊断为尿路感染，造成全球经济损失超过 60 亿美元(Foxman 等人，2000)。人们认为，随着抗生素的使用，这些问题以及其他相关问题

将会得到解决。然而，令人惊讶的是，细菌已经能够进化出帮助它们灭活和/或绕过抗生素的一些活性的机制。因此，有必要共同努力防止新的耐药菌株的出现和现有耐药菌株的传播(Senka dididic 等，2008 年)。在这些细菌的武器库中，有  $\beta$ -内酰胺酶。 $\beta$ -内酰胺酶是由一些细菌产生的酶，负责

它们对某些抗生素组的耐药性,如青霉素、头孢菌素和碳青霉烯(Bush 等人, 1995)  $\beta$ -内酰胺酶通过破坏和打开  $\beta$ -内酰胺抗生素的共同分子结构( $\beta$ -内酰胺环)使  $\beta$ -内酰胺抗生素失活。其中一些酶包括扩展谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBL)和碳青霉烯酶。第一个  $\beta$ -内酰胺酶在 20 世纪 60 年代被检测到(Datta 等人, 1965)。尿路感染(UTI)是世界上许多地区仅次于呼吸道感染第二大常见感染(曼苏尔等人, 2009)。尿路感染最常由各种埃希氏菌、克雷伯氏菌、芽孢杆菌、肠杆菌、假单胞菌、粪肠球菌和白色念珠菌引起(阿比盖尔和迪克西, 2005; Rai 等人, 2008)。高达 70% 的孕妇会出现糖尿病,这会促进尿液中的细菌生长,从而加剧尿路感染的祸害(阿尔伊萨, 2009)。几十年来,尿路病原体对几种抗生素的耐药性显示出缓慢但稳定的增加。产生肠杆菌科的广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBL)是世界上最成问题的多药耐药(MDR)细菌之一(Romero 等人, 2005)。

ESBLs 是能够水解青霉素、广谱头孢菌素和单胞菌素的  $\beta$ -内酰胺酶,通常来源于 TEM 和 shv 型酶,但可能不影响头孢霉素和碳青霉烯类。ESBLs 通常位于质粒上,质粒可以从一个菌株转移到另一个菌株,也可以在细菌种之间转移(Rupp 和 Fey 2003)。产生广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBL)的肠杆菌科已在医院中广泛存在,在社区环境中也在增加,在那里它们会引起包括 UTI 在内的各种感染。除了水解大多数  $\beta$ -内酰胺类药物外,携带这些酶的细菌还对其他不相关的抗菌药物表现出耐药性,因此常常造成治疗困境(Maina 等, 2013)。扩展谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)是一组快速进化的  $\beta$ -内酰胺酶,它也有水解第三代头孢菌素和氨曲南的能力,但被克拉维酸抑制(Bush 等人, 1995)。

持续暴露于  $\beta$ -内酰胺相关抗生素的菌株在尿路病原体中诱导了  $\beta$ -内酰胺酶的动态、持续产生和突变,这些变化扩大了它们对第三代和第四代头孢菌素的活性。这些新的  $\beta$ -内酰胺酶被称为扩展谱  $\beta$ -内酰胺酶(Samaha-Kfoury 等人, 2003)。细菌菌株的抗微生物药物耐药性是一个世界性的新问题。无论是在社区还是医院环境中,尿路感染(UTIs)都是人类中排名较高的细菌感染之一(Cox, 1988; 冈萨雷斯, 1999; Ullah 等人, 2009)。C 类  $\beta$ -内酰胺酶主要由染色体和质粒介导。在肠杆菌科和 *P. aeruginosa* 中发现的这一组中最普遍的酶是 AmpC。C 类  $\beta$ -内酰胺酶对  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂和调控基因突变具有耐药性,这在阴沟肠杆菌中发生频率很高,并可导致高水平的本型生产,从而对除碳青霉烯类外的所有

$\beta$ -内酰胺类产生耐药性(利弗莫尔等人, 2004)。表达 AmpC 和广谱  $\beta$ -内酰胺酶的革兰氏阴性肠杆菌科是医院中最耐多药的病原体之一,它们正在世界范围内蔓延(Ben-Ami 等人, 2009)。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 研究区域

这项研究在卡诺大都市的三家选定医院进行。这些医院是:位于阿米尔宫附近的卡诺穆尔塔拉·穆罕默德专科医院。卡诺传染病医院,沿着通往卡齐纳路的法国路,以及卡诺东部支路后面的穆罕默德·苏努西爵士医院,沿着吉加瓦州最大的城镇之一哈达加路。这座城市的主要活动是商业性质的,但有些是农民和公务员。

### 2.2. 样本采集

向患者提供了通用瓶,他们在其中产生所需的样本(即干净的捕获中游尿液)。因为,第一次尿流通常会冲洗尿道,冲洗任何可能在路上的东西,包括污染物。这使得随后流动的尿液能够真实地反映膀胱所含的物质。从每个患者身上采集 15 毫升尿液样本。所有样品均立即处理。但无法立即处理的样品在处理前在 4° C 下冷藏。

### 2.3. 样本处理和泌尿病原体的分离

对所有样本进行宏观检查,以检查颜色、浑浊度和/或血色(视情况而定)。在通过条纹法(Cheesebrough, 2000)接种胱氨酸乳糖电解质缺乏琼脂(CLED)和血液琼脂之前,通过旋转容器混合未经过滤的尿液样本,然后在 37° C 下培养 24 小时。

通过条纹法接种的一些样品在 24 小时后产生菌落,将其传代培养到 MacConkey 琼脂平板上,以获得离散的菌落,用于进一步表征和鉴定。

### 2.4. 分离物的鉴定和表征

使用含有分离物的离散菌落的纯培养板(使用 MacConkey 琼脂)进行鉴定。根据菌落形态和生化特征进行鉴定。对 24 小时后产生的菌落(在纯度板上)进行物理检查,观察其大小、形状、稠度、颜色、不透明度和对培养基的影响,即乳糖或非乳糖发酵习惯。此外,还使用运动性、革兰氏染色反应和生化测试来表征来自纯度板的分离物(Mackey 和 McCartney, 1996)。

### 2.5. 通过分离物测定 $\beta$ -内酰胺酶产量

使用标准酸滴定法测定菌株的  $\beta$ -内酰胺酶产量,该方法

基于 β-内酰胺酶分解青霉素产生的青霉酸的检测。通过指示剂溴甲酚紫（包含在缓冲的风头青霉素溴甲酚紫溶液中）的颜色从紫色变为黄色，可以检测到青霉酸（Cheesebrough, 2000）。

统计分析：使用 ANOVA 和 Chi-Squire 检验对获得的数据进行分析（X2）

### 3.结果

共有 114 株分离株用于测定尿病原体中的 β-内酰胺酶产生菌，其中 71 株（62.3%）是酶的产生菌（表 1）。结果表明，在所涉及的分离物中，从女性受试者获得的分离物产生的酶比从男性获得的多，分别有 50 个和 21 个分离物（表 2）。酶在所涉年龄组中的分布表明，在 21-30 岁和 30-41 岁的年龄范围内，除铜绿假单胞菌外，所有筛选物种中至少有一株菌株产生酶，而在 ≥71 岁的年龄段内，没有一株菌株产酶（表 3）。就每种物种/性别的酶产量而言，雌性与雄性的比例证实了在整个工作过程中，雌性来源的分离物在酶产量方面占据优势（表 4）。

	E. coli	K. pneu.	S. aur.
Total No.	58	27	8
B-L Producers	40	15	7
Percentage	56.3	21.1	10.0

B-L β-内酰胺酶

NE.coli=大肠杆菌

K.气=肺炎克雷伯杆菌

S.aur=金黄色葡萄球菌

S.sapr 公司=腐生葡萄球菌

P.密尔=奇异变形杆菌

Ps.aer 公司=铜绿假单胞菌

表 1.分离物产生 β-内酰胺酶。

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Sa saprophyticus</i>
No. of isolates	58	27	8	11
B/L (+) isolates	40	15	7	5
Females	26	11	5	4
Males	14	4	2	1

关键字：

B/L=β-内酰胺酶

(+) =正

表 2.酶的性别分布。

Age Group	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
≤ 10	4	1	0	0	0
11-20	5	3	2	1	0
21-30	10	5	3	2	1
31-40	6	1	1	1	1
41-50	5	3	1	1	1
51-60	6	2	0	0	0
61-70	4	0	0	0	0
≥71	0	0	0	0	0
Total	40	15	7	5	3

表 3.不同年龄组 β-内酰胺酶产量的分布。

Age Group	<i>Escherichia E. coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	
	F	M	F	M	F	M	F	M
≤ 10	3	1	1	0	0	0	0	0
11-20	3	2	2	1	2	0	0	1
21-30	7	3	5	0	3	0	2	0
31-40	4	2	1	0	1	0	0	1
41-50	3	2	2	1	0	1	1	0
51-60	3	3	1	1	0	0	0	0
61-70	3	1	0	0	0	0	0	0
≥71	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	26	14	12	3	6	1	3	2

表 4.β-内酰胺酶在分离株中的分布与性别的关系。

### 4.讨论

在筛选出的 114 个菌株中，有 71 个（62.3%）产生 β-内酰胺酶。发现大肠杆菌是该酶的高度产生菌 40（56.3%），其次是肺炎克雷伯杆菌 15（21.1%）、金黄色葡萄球菌 7（10.0%）、腐解葡萄球菌 5（7.0%）、奇异变形杆菌 3（4.2）和铜绿假单胞菌。钱德尔和什雷斯塔（2013）也在尼泊尔加德满都的一家三级医院发现，大肠杆菌的酶产生频率最高，444 个分离株中有 60 个产生酶，其次是肺炎克雷伯杆菌，145 个分离株有 24 个产生酶。这些结果证明，就这些酶的产生而言，这两种尿致病菌是领先的。高拉夫（2012）在印度拉贾斯坦邦贾拉瓦尔的一家三级医院的临床分离株中观察到了类似的模式。但与本研究中发现的百分比相比，大肠杆菌的生产率（73%）更高，肺炎克雷伯杆菌、奇异变形杆菌和假单胞菌的生产率依次为 58%、50%和 37%。这些较高百分比的相对差异，尤其是铜绿假单胞菌的相对差异可能是由于地区差异。更重要的是，假单胞菌是一种众所周知或突出的医院内病原体，因此，住院患者可能是其在他们报告使用的临床样本中所占比例较高的来源。

另一项涉及孕妇的泌尿病原体研究，塔帕等人（2015）也发现了类似的趋势，即每株泌尿病原体分离物的 β-内酰胺酶产量分别为 78、26、24 和 1 株；分别为大肠杆菌、克雷伯氏菌、奇异变形杆菌和铜绿假单胞菌。

与性别相关的 β-内酰胺酶生产表明，女性患者 50 的分离物比男性患者 21 的分离物产酶更高。2013 年的一项研究，钱德尔和什雷斯塔也赞成这一结果，在他们的研究中，女性

和男性分离物的  $\beta$ -内酰胺酶产生率分别为 51 和 33。阿拉比等人 (2014) 在名为《尼日利亚伊巴丹一所高等院校学生无症状菌尿中产生广谱  $\beta$ -内酰胺酶的分离株的患病率》的研究中也报告了类似的发现。其中, 男性来源的分离物产生的  $\beta$ -内酰胺酶为 34, 而女性样本的分离物分别为 40。

在酶性别相关性方面, 2013 年, 在尼泊尔加德满都的一家三级护理医院进行的研究中, 报告了尿病原菌产生  $\beta$ -内酰胺酶的情况, 研究对象是两种最重要的尿病原菌 (大肠杆菌和克雷伯氏菌属), 通常产生酶的速度很快。研究发现, 从女性尿液样本中产生酶的大肠杆菌和克雷伯菌分离株分别为 36 株和 24 株, 而从男性受试者尿液样本中分别产生酶的细菌分别为 15 株和 9 株 (钱德尔等人, 2013)。

根据年龄组, 本研究发现, 21-30 岁是一个高度活跃的群体 (性), 也最有可能玩弄 UTI 的危险因素, 其分离频率和相应的  $\beta$ -内酰胺酶产生率最高, 因为该群体有 10 个大肠杆菌、5 个克雷伯菌肺炎、3 个金黄色葡萄球菌、2 株腐生葡萄球菌和 1 株奇异变形杆菌作为  $\beta$ -内酰胺酶产生菌。相比之下, 这是有利的 (Kapur 等人, 2015 年), 其中 30-45 岁的性活跃年龄段的酶的产生率在研究中使用的年龄组中最高, 高达 (43.75%) 的  $\beta$ -内酰胺酶产生的尿病原体属于该组。与性别相关的泌尿病原体产生的  $\beta$ -内酰胺酶显示, 女性来源的分离物与男性相比具有更多的酶。该研究还表明, 大肠杆菌和肺炎克雷伯杆菌分别是经筛选的物种中的主要尿路致病菌, 雌雄比例为 26:14 (40), 而大肠杆菌和克雷伯菌分离株的雌雄比例为 11:4 (15)。这与尼泊尔的研究结果一致 (钱德尔和什雷斯塔, 2013 年), 其中大肠杆菌在女性和男性受试者中的分离物总数分别为 (36) 和 (24) 个, 总数为 (60) 个, 而在男性和女性中的肺炎克雷伯菌分离物 (15) 和 (9) 个, 其总数为 (24)。

## 5. 建议

由于越来越多的证据表明  $\beta$ -内酰胺酶 (酶) 在常规和非常规尿路病中产生, 因此强烈建议对其进行筛选。同样重要的是, 如果不是私立和公立医院的常规活动, 尤其是在研究领域, 筛选酶成为研究的优先事项。

## 6. 结论

尿病原体中  $\beta$ -内酰胺等耐药因子的大量出现令人担忧, 并向卫生保健管理人员发出了紧急行动的强烈信号。因此, 可以得出结论, 复发性和持续性尿路感染病例, 尤其是女性,

与这些因素有关, 包括尿病原体产生  $\beta$ -内酰胺酶。

## 致谢

我们感谢卡诺乌迪尔总医院的管理层允许我们在他们的设施中开展研究。我们衷心感谢医院检验科主任和其他工作人员。

## 道德问题

在开始研究之前, 获得了乌迪尔总医院伦理委员会的许可。

## 参考文献

- [1] Abigail, A. Dixie; W. (2005). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular approach*, Washington DC ASM Press., 2005.
- [2] Alabi, O. S., Onyenwe, N. E. Satoye, K. A. and Adeleke, O. E. (2014). Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing isolates from asymptomatic bacteriuria among students in a tertiary institution in Ibadan, Nigeria. *Nature and Science* 12 (4): 113.
- [3] Al-Issa, M. (2009). Urinary tract infection among pregnant women in north Jordan. *Middle East J Fam Med.*, 7: 10-4.
- [4] Ben-Ami, R., Rodriguez-Bafio, J., Calbo E. S. And Arslan, H. A. (2009). Multinational survey of risk factors for infection with extended spectrum beta lactamases producing Enterobacteriaceae in non hospitalized patients. *5 (1): 49-51.*
- [5] Bush, K., Jacoby, G. A. and Medeiros, A. A. (1995). A Functional Classification Scheme for  $\beta$ -lactamases and its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 1211-33.
- [6] Chaliha, C. Stanton, S. L., (2002). Urological problems in pregnancy. *BJU Int.*, 89 (5): 469-76. To remove
- [7] Chander and Shrestha, (2013). Prevalence of extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* urinary isolates in a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. *BMC Research Notes* 6: 487.
- [8] Cheesebrough, M. (2000). *Distric Laboratory Practice in Tropical Countries Low Price ed.* Chambridge University Press. Pp. 434.
- [9] Cox, C. E. (1988). Nosocomial urinary tract infections. *Urol*, 32 (3): 210-215.
- [10] Datta, N. and Kontomichalou, P. (1965). "Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae." *Nature* 208: 239-41.
- [11] Foxman, B., Barlow, R., D'Arcy, H., Gillespie, B., and

- Sobel, J. D. (2000). Urinary tract infection: Self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol*; 10 (8): 509-15.
- [12] Gaurav, Dalela (2012). PREV. of Extended Spectrum BetaLactamase (ESBL) Producers among Gram Negative Bacilli from Various Clinical Isolates in a Tertiary Care Hospital at Jhalawar, Rajasthan, India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 6 (2): 182-187.
- [13] Gonzalez, C. M., and Schaeffer, A. J. (1999). Treatment of urinary tract infection: what's old, what's new, and what works. *World J Urol.*; 17 (6): 372-382.
- [14] Kapur, A., Ahmed, M. S., and John, S. (2015). Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Pathogens From Urinary Tract Infected Samples and Their Sensitivity Pattern Against *Withania somnifera*. *Int J Infect*. 2 (1): e22664.
- [15] Livermore, D. M. and Woodford, N. (2004). Laboratory detection and reporting of bacteria with extended spectrum betalactamases. Antibiotic resistance monitoring and reference laboratory, specialist and reference. Microbiology division, Health Protection Agency -Colindale, London.
- [16] Maina, D., Makau, P., Nyerere, A. and Revathi, G. (2013). Antimicrobial resistance patterns in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a private tertiary hospital, Kenya. *Microbiology Discovery*, 1 (5): 1-4. <http://dx.doi.org/10.7243/2052-6180-1-5>.
- [17] Mansour, A. Manijeh, M. and Zohreh, P. (2009). Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. *Jundishapur J Microbiol*; 2 (3): 118-23.
- [18] Mackey, McCartney, (1996). *Tropical Medical Microbiology* 14th ed. Churchill Livingstone. London. Pp. 978.
- [19] Rai, G. Upretin, H., Rai, S., Saha, K. and Shrestha, R. (2008). *Nepal Med Coll J*. 10, 86.
- [20] Romero, L., López, L., Rodríguez-Baño, J., Ramón, Hernández, J., Martínez-Martínez, L., and Pascual, A. (2005). Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect.*; 11 (8): 625-31.
- [21] Rupp, M. E., and Fey, P. D. (2003). Extended spectrum betalactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: Considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs*; 63 (4): 353-65.
- [22] Samaha-Kfoury, J. N., Araj, G. F. (2003). Recent developments in  $\beta$ -lactamases and extended spectrum  $\beta$ -lactamases. *BMJ*; 327: 1209-13.
- [23] Senkas-Dzidic, J., and Suskovic., B., (2008). *Kos, Food Technol. Biotechnol.*, 46, 11.
- [24] Thapa, R., Pramila, L., Megha, Raj, B., and Ganesh, P. A. (2015). Prevalence of extended spectrum beta lactamase producing uropathogens in pregnant women. *Asian J Pharm Clin Res*, 8 (1), 2015, 207-210.
- [25] Ullah, F., Malik, S. A, Ahmed J. (2009): Antibiotic susceptibility pattern and ESBL prevalence in nosocomial *Escherichia coli* from urinary tract infections in Pakistan. *Afr J Biotechnol*, 8 (16): 3921-3926.