

2007~2010 年铜绿假单胞菌感染分布及耐药性变迁分析*

赵祝香, 陈惠玲, 赵子文[△], 魏树全, 曾 军 (广州医学院附属市第一人民医院呼吸内科 510180)

【摘要】 目的 研究 2007~2010 年铜绿假单胞菌感染分布及临床分离株对常用抗菌药物耐药率的变迁, 为临床合理使用抗铜绿假单胞菌药物提供依据。**方法** 对 2007~2010 年该院住院患者临床标本分离出的株铜绿假单胞菌株分布、耐药情况进行统计分析。药敏试验采用 K-B 纸片扩散法。**结果** 铜绿假单胞菌对常用抗菌药物的耐药率从 2007~2009 有普遍性逐年增高的趋势, 2010 年较 2009 年有所下降, 但均较 2007~2008 年高。对头孢他啶的耐药率由 2007 年的 24.5% 增至 2009 年 40.5%, 但 2010 年降至 33.2%; 亚胺培南的耐药率由 2007 年的 22.0% 增至 2009 年 46.2%, 2010 年仍然高达 45.2%; 哌拉西林/他唑巴坦的耐药率从 2007 年的 10.7% 增至 2009 年的 33.6%, 但 2010 年降至 27.1%; 对阿米卡星的耐药率最低, 但从 2007 至 2009 年也呈上升趋势, 分别为 3.4% 和 29.5%, 2010 年仍高达 23%。**结论** 铜绿假单胞菌是医院感染的常见条件致病菌, 其耐药问题已十分突出, 应严格限制抗菌药物的使用, 对铜绿假单胞菌感染的治疗, 可首选哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、环丙沙星、亚胺培南等, 联合阿米卡星为较优化的组合治疗方案。

【关键词】 铜绿假单胞菌; 耐药性; 医院感染

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)14-1667-02

Analysis on infectious distribution and antibiotic resistance transformation of pseudomonas aeruginosa (2007-2010)*

ZHAO Zhu-xiang, CHEN Hui-ling, ZHAO Zi-wen[△], WEI Shu-quan, ZENG Jun (Department of Respiration Medicine, First Affiliated Municipal Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou, Guangdong 510180, China)

【Abstract】 Objective To investigate the infectious distribution and the resistance of pseudomonas aeruginosa (PA) and to guide rational drug administration in clinic. **Methods** The distribution and the resistance of PA isolated from patients in our hospital were analyzed, and the bacterial susceptibility test was carried out according to a unified protocol by using Kirby-Bauer method. **Results** The drug resistance rate of PA tended to increase yearly from 2007 to 2009, but it declined in 2010 compared with 2009 and was higher than that of 2008-2009. The resistance rate to ceftazidime rose from 24.05% in 2007 to 40.5% in 2009, while declined slightly to 33.2% in 2010. The resistance rate of imipenem increased rapidly from 22.0% in 2007 to 46.2% in 2009. It was still very high in 2010 (45.2%). The resistance rate to piperacillin/tazobactam increased from 10.7% in 2007 to 33.6% in 2009, while declined to 27.1% in 2010. The resistance rate to amikacin was the lowest, which still increased by 2010, which was 3.4% in 2007, 7.7% in 2008, 29.5% in 2009, 23.0% in 2010. **Conclusion** PA is a major pathogenic bacterium in the hospital, and the drug resistant rate is very severe. Reduced dosage of antibiotics can minish the rate of antibiotic resistance. The combination therapy of the third generation cephalosporins, such as ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, imipenem and amikacin, may be associated with better microbiological and clinical outcomes.

【Key words】 pseudomonas aeruginosa; drug resistance; nosocomial infection

铜绿假单胞菌(PA)是下呼吸道感染、重症监护室(ICU)感染的首要病原菌,而且可造成一定程度的院内感染流行。由于广谱抗生素的广泛应用,所有广谱抗生素对铜绿假单胞菌的敏感性都在下降,使得临床抗感染治疗面临严峻的挑战。加强对铜绿假单胞菌耐药性监测和感染病例分布的调查,提供最新的流行病学和耐药性变迁资料,为临床有效治疗和预防铜绿假单胞菌感染提供指导。本研究收集了 2007 年 1 月至 2010 年 10 月 6 793 株铜绿假单胞菌株,对其耐药性和科室分布进行分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2007 年 1 月至 2010 年 10 月本院住院患者送至检验科细菌室各类临床合格标本,包括痰液、血、尿液、胸腔积液、腹水、咽拭子、脑脊液等,不统计重复菌株,共分离铜绿假单胞菌 6 793 株。

1.2 菌株鉴定及药敏方法 菌株鉴定按菌株鉴定按照卫生部《微生物操作常规》进行,药敏采用 K-B 琼脂扩散法。按美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)2009 年标准判断结果。

1.3 产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)测定 按美国临床实验室标准化委员会规定,将头孢他啶(30 μg)、头孢他啶/克拉维酸(30 μg/1 μg)、头孢噻肟(30 μg)、头孢噻肟/克拉维酸(30 μg/10 μg)贴于均匀涂抹好菌液的 M. H 琼脂平板上,经 35 °C 孵育 16~18 h 后测量抑菌圈直径,当两种药物中任意一种加克拉维酸与不加克拉维酸的抑菌圈直径大于或等于 5 mm 时,可确认产 ESBLs 菌株。

1.4 质控菌株 铜绿假单胞菌 ATCC27853,由中国药品生物制品检定所提供。

1.5 统计学方法 应用 WHONET5.3 和 Excel 软件分析细菌分布和耐药性。

* 基金项目:广东省自然科学基金项目(10151006001000015)。 △ 通讯作者, E-mail: zhaozw1963@163.com。

2 结 果

2.1 细菌分布及变迁 2007~2010 年共收集病原菌 27 400 株,革兰阴性菌为主要致病菌,达 61.23%,革兰阳性菌占 24.23%,真菌占 14.33%。分离菌中以革兰阴性菌为主,呈逐年上升趋势,但 2010 年较 2009 年有所下降。2007 年铜绿假单胞菌占所有病原菌的 23.51%(1 023/4 351),2008 年为

24.72%(1 813/7 335),2009 年为 24.68%(1 995/8 082),2010 年为 25.71%(1 962/7 632),均排列在医院病原菌的首位,为医院主要致病菌(表 1)。铜绿假单胞菌主要分布在老年病科、呼吸内科、ICU,外科感染相对较少,主要在泌尿外科。分离标本主要为痰液,所占比例最大,均在 80%以上。

表 1 2007~2010 年主要致病菌分离株构成比[n(%)]

致病菌	2007 年(n=4 351)	2008 年(n=7 335)	2009 年(n=8 082)	2010 年(n=7 632)	总数(n=27 400)
革兰阳性菌	1 156(26.57)	1 924(26.23)	1 739(21.52)	1 819(23.83)	6 638(24.23)
金黄色葡萄球菌	402(9.24)	665(9.07)	622(7.70)	662(8.67)	2 351(8.58)
肺炎链球菌	64(1.47)	51(0.70)	48(0.59)	55(0.72)	218(0.80)
革兰阴性菌	2 446(56.22)	4 359(59.43)	5 268(65.18)	4 763(62.41)	16 836(61.45)
铜绿假单胞菌	1 023(23.51)	1 813(24.72)	1 995(24.68)	1 962(25.71)	6 793(24.79)
大肠埃希菌	618(14.20)	1 067(14.55)	1 105(13.67)	1 127(14.77)	3 917(14.3)
肺炎克雷伯杆菌	284(6.53)	405(5.52)	484(5.99)	527(6.91)	1 700(6.20)
鲍曼不动杆菌	226(5.19)	366(4.99)	562(6.95)	454(5.95)	1 608(5.87)
真菌	749(17.21)	1 052(14.34)	1 075(13.30)	1 050(13.76)	3 926(14.33)

表 2 2007~2010 年主要致病菌分离株构成比(%)

抗菌药	2007 年		2008 年		2009 年		2010 年	
	R	I	R	I	R	I	R	I
呋喃妥因	99.7	0	99.4	0.3	99.6	0.2	99.5	0.1
头孢唑林	99.5	0	100	0	99.7	0	99.9	0
氨苄西林	99.2	0.3	98.7	0.7	99.8	0.1	99.8	0.1
氨苄西林/舒巴坦	99.2	0	98.7	0	99.5	0.1	99.4	0.2
头孢替坦	99.2	0.8	98.9	0.3	99.3	0.1	99.1	0.4
四环素	97.1	2.1	99.0	0.6	98.1	1.5	—	—
磺胺甲基异恶唑	96.9	0	—	—	94.6	0	—	—
头孢曲松	71.1	26.8	72.8	23.1	78.4	19.3	73.7	22.4
头孢噻肟	67.1	29.6	60.3	34.6	65.5	29.1	—	—
替卡西林/克拉维酸	54.2	0	46.9	0	59.3	0	—	—
氨曲南	28.3	32.3	38.2	20.9	54.3	18.2	54.6	12.4
头孢他啶	24.5	17.0	22.5	21	40.5	14.4	33.2	15.6
亚胺培南	22.0	6.9	31.1	7.2	46.2	5.1	45.2	3.3
美罗培南	20.6	5.8	—	—	34.4	5.7	—	—
环丙沙星	16.6	18.4	30.1	11.8	40.2	12.7	38.9	14
左旋氧氟沙星	16.2	14.6	28.4	10.5	37.4	12.4	37.7	10.8
哌拉西林	14.4	0	20.6	0	34.1	0	—	—
哌拉西林/他唑巴坦	10.7	0	13.9	0	33.6	0	27.1	0
头孢吡肟	9.1	15.3	15.4	22.8	34.6	11.7	30.8	13.1
庆大霉素	8.0	5.0	9.3	4.9	29.6	2.1	22.9	3.8
哌拉西林	6.2	1.5	7.7	2.9	29.4	0.8	22.6	2.7
阿米卡星	3.4	1.1	7.7	1.5	29.5	0.4	23.0	2.0
厄他培南	—	—	—	—	—	—	100	0

注:R 表示耐药,I 表示中敏,—表示无数据。

2.2 铜绿假单胞菌的耐药率及变迁 见表 2。16 836 株革兰阴性菌中,铜绿假单胞菌为 6 793 株,占革兰阴性菌构成的 40.35%,铜绿假单胞菌耐药率显示,头孢唑林、呋喃妥因、四环素、头孢替坦、氨苄西林等抗生素对铜绿假单胞菌耐药率均高达 95%以上。治疗铜绿假单胞菌的常用抗生素头孢菌素类、碳青霉烯类、喹诺酮类等耐药率呈普遍性逐年增高,到 2009 年达到高峰,2010 年有所下降,但仍高于 2007~2008 年。对头孢他啶耐药率在 2009 年高达 40.5%,敏感率仅 45.1%,2010 年其耐药率有所下降,仍达 33.2%,敏感率回升至 51.1%;亚胺培南在 2009 年达 46.2%,2010 年下降至 45.2%;环丙沙星耐药率也呈现逐年上升,至 2009 年到高峰(40.2%),2010 年有

所下降(38.9%),但仍然高于 2007~2008 年;对哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星耐药率相对较低,但在 2009 年,耐药率均高达 29%以上,而到 2010 年耐药率普遍有所下降,其中哌拉西林/他唑巴坦下降至 27.1%,对庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星耐药率分别降至 22.9%、22.6%、23.0%,对厄他培南天然耐药。

3 讨 论

铜绿假单胞菌是院内感染的首要致病菌,是下呼吸道感染尤其是呼吸相关性肺炎支气管扩张并感染的最主要致病菌,据美国院内感染监测系统(NNISS)显示,铜绿假单胞菌在院内感染的发病率从 1975 年的 7.9%上升到 2003 年的 13.2%,占有院内感染致病菌的第 1 位^[1]。我国全国性监测数据显示:从 1994~2009 年,PA 在所有院内感染的革兰阴性菌中排第 1 位^[1-2]。由于广谱抗生素的广泛应用,多药耐药成了铜绿假单胞菌感染的一个严重的问题,近年来更是出现了除了黏菌素外的所有抗假单胞菌抗生素同时耐药的铜绿假单胞菌^[3-4],患者一旦感染,往往使临床医生束手无策,病死率极高,造成极其严重的临床后果。及时监测铜绿假单胞菌耐药性,掌握其耐药分布,显得极其重要。本研究中铜绿假单胞菌主要来自老年病科、呼吸内科、重症监护病房,分离标本 80%以上来自痰液。研究中发现多药耐药菌株大多数来自这些科室,这些患者多合并慢性阻塞性肺疾病(COPD)、支气管扩张、心功能不全、糖尿病等多种基础疾病,住院时间长,免疫力低下,同时由于大量使用广谱抗菌药,致菌群失调,引起铜绿假单胞菌继发性感染,而在长期使用广谱抗菌药物的选择性压力下,敏感的铜绿假单胞菌转变为耐药的铜绿假单胞菌。

从以往的治疗经验来看,铜绿假单胞菌感染常常首选头孢他啶、亚胺培南、环丙沙星、头孢吡肟/他唑巴坦等抗假单胞菌药物,然而,通过最近 4 年来铜绿假单胞菌耐药性动态变迁可以看出,铜绿假单胞菌对头孢他啶的敏感率逐年下降,从 2007 年的 58.5%下降至 2009 年的 45.1%,至 2010 年回升至 51.1%。亚胺培南的耐药率从 2007 年的 22.0%增至 2009 年 46.2%,2010 年仍然高达 45.2%。环丙沙星耐药率也呈现逐年上升,至 2009 年到高峰(40.2%),2010 年有所下降(38.9%),仍然高于 2007~2008 年;高于 2009 年中国耐药监测网(CHINET)铜绿假单胞菌耐药性数据,(下转第 1671 页)

技术。国外文献报道,用荧光定量 PCR 方法重复 40 次反应,其 Ct 值的变异系数为 1.6%。本实验管间、批间变异系数分别为 2.2% 和 4.0%,与国外研究结果其相近。说明本方法重复性均好。本研究建立实时定量 RT-PCR 检测急性早幼粒细胞白血病融合基因,同时检测同一标本的融合基因及管家基因,不必考虑 RNA 提取及逆转录过程中的差异,以校正拷贝数(PML-RAR α 的拷贝数/ β -actin的拷贝数) $\times 10^5$ 表示,使用管家基因 β -actin 对结果进行标化,更具科学性。

通过实时定量 RT-PCR 监测 PML-RAR α 转录本水平的变化,可以预测急性早幼粒细胞白血病患者的治疗反应,定量白血病细胞的残余数量和预测复发,这比细胞遗传学检查早数月^[5-6]。总之,实时定量 RT-PCR 是一种快速、准确和高度敏感的实验方法,它不仅能够检测到微小残留病灶的存在,更重要的是,通过动态监测 PML-RAR α 转录本水平及其变化,可以预测急性早幼粒细胞白血病患者的治疗反应,定量白血病细胞的残余数量和预测复发,这比定性 PCR 检测具有更为重要的临床意义。该方法的建立可以对患者的融合基因拷贝数实行绝对定量,从而成为指导个体化治疗、预防复发和提高患者生存率的重要手段。并且,以 PML-RAR α 融合基因的检测方法为基础,进一步建立其他常见白血病融合基因的检测方法,扩大本技术应用的范围。

参考文献

[1] Cassinat B, Zassadowski F, Balitrand N, et al. Quantitation of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia patients with t(15;17) translocation using real-

time RT-PCR[J]. *Leukemia*, 2000, 14(2): 324-328.

[2] Gu BW, Hu J, Xu L, et al. Feasibility and clinical significance of realtime quantitative RT-PCR assay of PML-RAR α fusion transcript in patients with acute promyelocytic leukemia[J]. *Hematol J*, 2001, 2(5): 330-340.

[3] Diverio D, Rossi V, Avvisati G, et al. Early detection of relapse by prospective reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of the PML/RAR alpha fusion gene in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicenter "AIDA" trial [J]. *Blood*, 1998, 92(3): 784-789.

[4] VanderVelden VHJ, Hochhaus A, Cazzaniga G, et al. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects[J]. *Leukemia*, 2003, 17(6): 1013-1034.

[5] Merx K, Muller MC, Kreil S, et al. Early reduction of BCR-ABL mRNA transcript levels predicts cytogenetic response in chronic phase CML patients treated with imatinib after failure of interferon alpha[J]. *Leukemia*, 2002, 16(9): 1579-1583.

[6] Hochhaus A. Minimal residual disease in chronic myeloid leukaemia patients [J]. *Best Pract Res Clin Hematol*, 2002, 15(1): 159-178.

(收稿日期:2011-03-18)

(上接第 1668 页)

分别为亚胺培南 30.5%, 头孢他啶 20.3%, 环丙沙星(23.9%)^[5], 低于海南地区。提示铜绿假单胞菌耐药有着明显的区域性,与各地区、各医院临床上用药习惯不同使得铜绿假单胞菌抗生素选择压力不同有关。因此应严格控制第三代头孢菌素、亚胺培南等的使用,特别是不规则的预防性用药,以减少其诱导耐药的产生。有意思的是,本研究中发现,2010 年铜绿假单胞菌耐药率较 2009 年普遍下降,这与医院感染控制科实时监控铜绿假单胞菌感染及耐药情况,及时通报临床医生,从而使临床医生限制该类抗生素使用的适用证,特别限制不规范的预防性用药密切相关。

本研究显示,铜绿假单胞菌对头孢唑林、呋喃妥因、四环素、头孢替坦、氨苄西林等耐药率均高达 95% 以上,对厄他培南天然耐药,临床治疗不应选用。对哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦耐药率相对较低,加用酶抑制剂的复方型抗菌药物耐药率更低,提示可能与超广谱 β -内酰胺酶的产生有关。氨基糖苷类抗菌药如庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星耐药率最低,这可能与本院临床一般不单用该药物作为抗感染的一线治疗有关。总体来说,2009~2010 年铜绿假单胞菌耐药率较 2007~2008 年明显升高,且总体耐药水平高,几乎对所有细菌均可耐药,应及时寻求合理的抗菌治疗方案。有研究表明,当亚胺培南与环丙沙星和阿米卡星或者头孢他啶与环丙沙星和阿米卡星联用,对细菌的抑制作用明显^[6]。Heyland 等^[7]认为,对于难治性革兰阴性菌(如假单胞菌、不动杆菌和多重耐药的革兰阴性菌等)引起的感染,早期足量的联合治疗有较好的效果。提示联合治疗作为抗铜绿假单胞菌感染的首选方案,而哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、环丙沙星、亚胺培南等,联合阿米卡星为较优化的组

合治疗方案。

参考文献

[1] 孙景勇,倪语星,汪复,等. 2007 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2009, 9(3): 192-195.

[2] 张祎博,倪语星,孙景勇,等. 2009 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2010, 10(6): 436-440.

[3] 魏树全,赵子文,钟维农,等. 泛耐药铜绿假单胞菌肺炎危险因素病例对照研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(6): 673-676.

[4] Jayakumar S, Appalaraju B. Prevalence of multi and pan drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* with respect to ESBL and MBL in a tertiary care hospital[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2007, 50(4): 922-925.

[5] 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, 9(5): 325-334.

[6] 魏树全. 泛耐药铜绿假单胞菌菌体外耐药模型构建及其耐药机制的研究[D]. 广州: 广州医学院, 2009.

[7] Heyland DK, Dodek P, Muscedere J, et al. Randomized trial of combination versus monotherapy for the empiric treatment of suspected ventilator-associated pneumonia [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(3): 737-744.

(收稿日期:2011-04-12)