

2007~2012 年铜绿假单胞菌的临床分布及耐药性分析

戴 锴,杨丽华,龚作炯(武汉大学人民医院感染科 430060)

【摘要】 目的 了解该院临床分离的铜绿假单胞菌对常用抗菌药物的耐药情况,为临床进一步合理使用抗菌药物提供依据。**方法** 选取 2007~2012 年常规分离、培养并鉴定的细菌,运用纸片扩散法对细菌进行药物敏感试验,使用 WHONET5.4 软件进行耐药性分析。**结果** 共分离出铜绿假单胞菌 1 554 株,占分离病原菌总数的 17.2%,主要来自于呼吸道标本(79.4%)。6 年来,铜绿假单胞菌对左氧氟沙星、环丙沙星、亚胺培南和美罗培南的耐药率相对较高,分别为 41.2%、36.3%、38.2%和 32.9%,而对氨基糖苷类阿米卡星的耐药率相对较低,为 23.9%。**结论** 铜绿假单胞菌的检出率和耐药率相对较高,应加强细菌耐药性监测,合理使用抗菌药物,防止耐药菌株的流行和传播。

【关键词】 铜绿假单胞菌; 耐药性; 抗菌药物

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.17.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)17-2537-03

Clinical distribution and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in our hospital during 2007—2012 DAI Kai, YANG Li-hua, GONG Zuo-jiong (Department of Infection, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

【Abstract】 Objective To understand the resistance situation of clinically isolated *Pseudomonas* (P.) *aeruginosa* in our hospital to commonly used antibacterial drugs to provide the basis for further rational use of antimicrobial agents. **Methods** The routinely isolated, cultured and identified P. *aeruginosa* from 2007 to 2012 were conducted the drug susceptibility test by Kirby-Bauer method. The statistical analysis of drug resistance was performed by using WHONET 5.4 software. **Results** A total of 1 554 strains of P. *aeruginosa* were isolated, accounting for 17.2% of isolated pathogenic bacteria total number. Most of the strains were isolated from respiratory tract specimens (79.4%). The P. *aeruginosa* isolates showed the relatively higher resistance rates to levofloxacin (41.2%), ciprofloxacin (36.3%), imipenem (38.2%), meropenem (32.9%) and the relatively lower resistance rates to amikacin (23.9%). **Conclusion** The detection rate and drug resistance of P. *aeruginosa* are relatively higher. Surveillance on bacterial drug resistance should be strengthened, and the antibacterial drugs should be rationally used for preventing the prevalence and transmission of drug-resistant strains.

【Key words】 *Pseudomonas aeruginosa*; drug resistance; antimicrobial agent

铜绿假单胞菌(PAE)作为临床上一种重要的条件致病菌,本来主要分布在自然界中的土壤、水源和动植物组织内,但近年来却成为医院感染最为常见的病原菌之一。随着临床上各类广谱抗菌药物的广泛使用,铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药率不断上升,给临床的抗感染治疗带来了很大的困难^[1]。为了更好地指导武汉大学人民医院抗菌药物的合理使用,了解近年来铜绿假单胞菌的耐药变迁情况,现将本院 2007~2012 年临床分离菌中的铜绿假单胞菌耐药性监测结果分析报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2007 年 1 月至 2012 年 12 月从武汉大学人民医院门诊和住院部的各类送检标本中收集分离的 1 554 株铜绿假单胞菌,剔除同一患者相同部位的重复分离菌株,标本来源包括呼吸道标本、尿液、血液、伤口分泌物、引流液、脑脊液、胸腹水等,严格按照《全国临床检验操作规程(第 3 版)》的要求对送检标本进行转种、分离和分纯。

1.2 仪器与试剂 标准质控菌株铜绿假单胞菌 ATCC27853 购自国家卫生部临床检验中心;药敏纸片均购自英国 OXOID 公司;细菌鉴定采用法国生物梅里埃公司 VITEK32 型全自动细菌鉴定药敏分析系统。

1.3 方法 按照常规操作规程进行菌种鉴定,包括常规生化鉴定和自动化仪器鉴定。药敏试验采用 K-B 纸片扩散法测定

抗菌药物对菌株的抑菌圈直径,严格按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)标准进行操作和判断。

1.4 统计学处理 采用世界卫生组织细菌耐药监测中心推荐的细菌耐药统计软件 WHONET5.4 进行数据统计分析,计算敏感率和耐药率等指标,百分率之间的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 铜绿假单胞菌的临床分离率 2007 年 1 月至 2012 年 12 月一共分离到 1 554 株铜绿假单胞菌,在革兰阴性杆菌和总菌株数中的构成比分别是 23.0%和 17.2%,各个年度的具体构成比情况见表 1。

表 1 铜绿假单胞菌的临床分离率

年份	铜绿假单胞菌(n)	革兰阴性杆菌(n)	构成比(%)	总菌株(n)	构成比(%)
2007	164	726	22.6	947	17.3
2008	248	864	28.7	1 124	22.1
2009	321	1 065	30.1	1 428	22.5
2010	250	1 179	21.2	1 608	15.6
2011	255	1 293	19.7	1 771	14.4
2012	316	1 638	19.3	2 168	14.6
合计	1 554	6 765	23.0	9 046	17.2

2.2 铜绿假单胞菌的标本分布 分离的 1 554 株铜绿假单胞菌主要来自于呼吸道标本(占 79.4%),其次来自于尿液、分泌物以及其他(腹水、引流液等)等。见表 2。

2.3 铜绿假单胞菌对各种抗菌药物耐药情况 药敏试验结果

显示,6 年来铜绿假单胞菌对头孢菌素类、碳青霉烯类、喹诺酮类等多种药物的耐药率相对较高,而对氨基糖苷类的耐药率相对较低。见表 3。

表 2 铜绿假单胞菌的标本分布构成比[n(%)]

标本来源	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	2012 年	合计
呼吸道	139(84.7)	194(78.2)	233(72.6)	204(81.6)	211(82.7)	252(79.7)	1 233(79.4)
分泌物	8(4.9)	18(7.3)	23(7.2)	11(4.4)	9(3.5)	14(4.4)	83(5.3)
血液	1(0.6)	2(0.8)	5(1.5)	3(1.2)	4(1.6)	5(1.6)	20(1.3)
尿液	9(5.5)	21(8.5)	36(11.2)	23(9.2)	19(7.5)	29(9.2)	137(8.8)
其他	7(4.3)	13(5.2)	24(7.5)	9(3.6)	12(4.7)	16(5.1)	81(5.2)
合计	164(100.0)	248(100.0)	321(100.0)	250(100.0)	255(100.0)	316(100.0)	1 554(100.0)

表 3 铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	2012 年	合计
阿米卡星	28(17.1)	60(24.2)	114(35.5)	77(30.8)	40(15.7)	52(16.5)	371(23.9)
头孢吡肟	23(14.0)	62(25.0)	108(33.6)	55(22.0)	58(22.7)	130(41.1)	436(28.1)
头孢哌酮/舒巴坦	34(20.7)	65(26.2)	102(31.8)	37(14.8)	37(14.5)	142(44.9)	417(26.8)
头孢他啶	32(19.5)	65(26.2)	104(32.4)	48(19.2)	62(24.3)	78(24.7)	389(25.0)
哌拉西林/他唑巴坦	35(21.3)	81(32.7)	160(49.8)	72(28.8)	91(35.7)	87(27.5)	526(33.8)
氨曲南	36(22.0)	87(35.1)	149(46.4)	90(36.0)	109(42.7)	183(57.9)	654(42.1)
亚胺培南	28(17.1)	94(37.9)	178(55.5)	69(27.6)	97(38.0)	128(40.5)	594(38.2)
哌拉西林	43(26.2)	99(39.9)	175(54.5)	96(38.4)	104(40.8)	122(38.6)	639(41.1)
美罗培南	18(11.0)	102(41.1)	133(41.4)	58(23.2)	84(32.9)	117(37.0)	512(32.9)
左氧氟沙星	49(30.0)	117(47.2)	162(50.5)	93(37.2)	90(35.3)	130(41.1)	641(41.2)
环丙沙星	37(22.6)	131(52.8)	152(47.4)	80(32.0)	94(36.9)	70(22.2)	564(36.3)
庆大霉素	79(48.2)	136(54.8)	204(63.6)	92(36.8)	134(52.5)	162(51.3)	807(51.9)

3 讨 论

相关研究显示,近年来铜绿假单胞菌感染在我国的流行病学特点突出地表现在两个方面:一是院内感染尤其是肺部感染的发病率不断增加;二是铜绿假单胞菌的耐药率居高不下^[2-3]。本院分离的铜绿假单胞菌标本来源主要是呼吸道标本,而且对多种抗菌药物耐药,该结果提示,本院的铜绿假单胞菌的感染特点与全国的流行病学特点基本相符。

铜绿假单胞菌是医院获得性感染重要的条件致病菌,具有易定植、易变异和多耐药的特点,在本院临床分离的革兰阴性杆菌中,铜绿假单胞菌的分离率占第二位,仅次于大肠埃希菌^[4]。与同期的中国 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测结果相比,本院的铜绿假单胞菌分离率在总菌株数和革兰阴性杆菌中的构成比相对较高^[5]。呼吸道是院内感染最常见的发生部位,从标本分布来看,本院的铜绿假单胞菌也主要来自于呼吸道,连续多年的中国 CHINET 细菌耐药监测和全球性的 SEN-TRY 细菌耐药监测研究数据也显示,铜绿假单胞菌是引起医院获得性肺炎和呼吸机相关肺炎最多见的革兰阴性杆菌^[6]。这些呼吸道感染者主要是老年患者、急危重症患者、严重创伤和术后患者,他们大都有免疫力低下、住院时间长、长期使用广谱抗菌药物、有侵入性操作等危险因素,这些患者的天然防御屏障常常受到了破坏,因此在临床工作中,应对这类患者所发

生的院内感染保持高度警惕^[7]。

在对各种抗菌药物的耐药率方面,铜绿假单胞菌对多种抗菌药物均有不同程度的耐药,而且从 2007~2012 年其耐药率呈逐年上升的趋势。耐药率相对较低的抗菌药物首先是阿米卡星,其次是头孢哌酮/舒巴坦、头孢吡肟和头孢他啶。铜绿假单胞菌对阿米卡星的耐药性较低可能与氨基糖苷类药物在临床上的应用比例相对较低有关,而且该类药物对多数氨基糖苷类钝化酶的稳定性较高。值得注意的是铜绿假单胞菌对广谱抗菌药物碳青霉烯类的耐药性相对较高,有时甚至高于青霉素类和头孢菌素类抗菌药物,2007~2012 年其对亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 17.1%、37.9%、55.5%、27.6%、38.0%、40.5%和 11.0%、41.1%、41.4%、23.2%、32.9%、37.0%,同期中国 CHINET 的连续监测资料显示其对亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 35.8%、30.5%、30.5%、30.8%、29.1%、29.0%、34.1%、28.5%、24.5%、25.2%、25.8%、25.0%、27.1%,这与同时期碳青霉烯类药物的大量不规范使用密切相关,碳青霉烯类药物抗菌谱广、抗菌作用强,一直以来作为临床医师重要的“抗菌武器”,但其敏感性逐渐下降,应引起大家的高度注意。

铜绿假单胞菌的耐药机制比较复杂,近年来已成为国内外研究的热点,综合起来可能与灭活酶产生、膜通透性下降、改变

抗菌药物的作用靶点、生物被膜形成等因素有关^[8-9]。灭活酶包括氨基糖苷钝化酶及所有 β -内酰胺酶,后者又包括 AmpC 酶、ESBLs 和金属酶等,AmpC 酶对大部分 β -内酰胺酶类抗菌药物表现为耐药,而且不被酶抑制剂所抑制,但对碳青霉烯类抗菌药物表现出一定的有效性;ESBLs 酶主要位于质粒 DNA 与染色体 DNA,可水解头孢菌素类、青霉素类及单环 β -内酰胺类抗菌药物,对酶抑制剂类抗菌药物敏感;而金属酶能够水解包括碳青霉烯类的大多数 β -内酰胺酶类抗菌药物,并且对酶抑制剂类抗菌药物不敏感。编码这些酶的基因常位于细菌的接合性质粒、转座子、整合子等可移动元件,这些可移动元件可以在不同菌株之间甚至个体间传播,从而使其携带的耐药基因快速传播造成医院感染或流行。膜通透性下降主要表现为主动外排系统过度表达和膜孔蛋白丢失或表达下降,主动将抗菌药物外排到细胞外,同时使药物难以进入细菌细胞内。生物被膜可以保护细菌逃避机体免疫和抗菌药物的杀伤作用。

铜绿假单胞菌的高耐药率导致临床上的治疗面临着越来越大的困难和挑战,尤其是多重耐药菌株的出现,使可以选择的药物越来越少^[10]。根据监测结果提示,临床上针对铜绿假单胞菌导致的严重感染可考虑选择联合应用 β -内酰胺类抗假单胞菌药与氨基糖苷类(如阿米卡星)或氟喹诺酮类药物,除了联合用药外,还应有充足的疗程、选择正确的给药剂量和用药方式、消除各种危险因素等治疗措施。此外,各级卫生监管部门从 2011 年开始进行抗菌药物的专项整治活动,严格控制抗菌药物应用的指征和疗程,提高标本送检率并根据药敏试验结果选择合适的抗菌药物,注重对于细菌耐药性的监测与分析,这些措施将有助于减少耐药菌株的产生和传播^[11]。

参考文献

[1] 周春妹,胡必杰,高晓东,等. 2007~2010 年上海市社区医院呼吸道感染常见病原菌及其耐药性调查[J]. 中华结核

和呼吸杂志,2013,36(5):346-350.

[2] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 铜绿假单胞菌下呼吸道感染诊治专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志,2014,37(1):9-15.

[3] 艾根伟. 院内感染铜绿假单胞菌的临床分布及耐药特征分析[J]. 中国实用医刊,2013,40(15):88-89.

[4] Fujitani S, Sun HY, Yu VL, et al. Pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*: part I: epidemiology, clinical diagnosis, and source[J]. Chest, 2011, 139(4):909-919.

[5] 施晓群,孙景勇,倪语星,等. 2011 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,2013,13(3):218-221.

[6] 汪复,胡付品,朱德妹,等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(5):321-330.

[7] 宣云岗,陈智理. 心内科患者多药耐药铜绿假单胞菌医院感染危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(1):81-83.

[8] Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in acinetobacter species and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Clin Infect Dis, 2006, 43(S2):49-56.

[9] 陈海荣,陈一强,温红侠,等. 生物膜形成相关的铜绿假单胞菌蛋白质组学研究[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(6):1751-1754.

[10] 刘喆,韩玉英,张燕. 我院呼吸科下呼吸道感染细菌分布及耐药性研究[J]. 中国医药导报,2014,11(15):121-123.

[11] 王天元. 开展抗菌药物专项整治促进合理用药[J]. 中国医药科学,2012,2(8):128-129.

(收稿日期:2015-04-12 修回日期:2015-04-20)

(上接第 2536 页)

et al. Human Kallikrein 5: a potential novel serum biomarker for breast and ovarian cancer[J]. Cancer Res, 2003, 63(14):3958-3965.

[6] Yousef GM, Scorilas A, Kyriakopoulou LG, et al. Human kallikrein gene 5 (KLK5) expression by quantitative PCR: an independent indicator of poor prognosis in breast cancer[J]. Clin Chem, 2002, 48(8):1241-1250.

[7] Yousef GM, Scorilas A, Chang A, et al. Down-regulation of the human kallikrein gene 5 (KLK5) in prostate cancer tissues[J]. Prostate, 2002, 51(2):126-132.

[8] Talieri M, Li L, Zheng Y, et al. The use of kallikrein-related peptidases as adjuvant prognostic markers in colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2009, 100(10):1659-1665.

[9] Singh J, Naran A, Misso NL, et al. Expression of kallikrein-related peptidases (KRP/hK5, 7, 6, 8) in subtypes of human lung carcinoma [J]. Int Immunopharmacol, 2008, 8(2):300-306.

[10] Wu YH, Liu XF, Chen YJ, et al. Development and evaluation of an ELISA method for the measurement of kallikrein-related peptidase 5 (KLK5) in human serum[J]. Open J Clin Diagn, 2013, 3(8):159-166.

[11] Shinoda Y, Kozaki K, Imoto I, et al. Association of KLK5 overexpression with invasiveness of urinary bladder carcinoma cells[J]. Cancer Sci, 2007, 98(7):1078-1086.

[12] Mavridis K, Talieri M, Scorilas A. KLK5 gene expression is severely upregulated in androgen-independent prostate cancer cells after treatment with the chemotherapeutic agents docetaxel and mitoxantrone[J]. Biol Chem, 2010, 391(4):467-474.

[13] Talieri M, Devetzi M, Scorilas A, et al. Evaluation of kallikrein-related peptidase 5 expression and its significance for breast cancer patients: association with kallikrein-related peptidase 7 expression[J]. Anticancer Res, 2011, 31(9):3093-3100.

[14] White TF, Chow S, Mejia G. Three dysregulated miRNAs control kallikrein 10 expression and cell proliferation in ovarian cancer[J]. Br J Cancer, 2010, 102(8):1244-1253.

[15] White NM, Bui A, Mejia-Guerrero S, et al. Dysregulation of kallikrein-related peptidases in renal cell carcinoma: potential targets of miRNAs[J]. Biol Chem, 2010, 391(4):411-423.

(收稿日期:2015-02-13 修回日期:2015-04-18)