

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.08.006

近 3 年临床分离的革兰阴性杆菌耐药性分析

张青¹, 王芳¹, 郭华¹, 侯梦君², 李碧莲²

(1. 成都中医药大学附属医院检验科, 成都 610072; 2. 川北医学院检验系, 四川南充 637000)

摘要:目的 分析近 3 年成都中医药大学附属医院从临床分离的革兰阴性杆菌的耐药性及分布特征, 指导临床合理使用抗菌药物。**方法** 收集 2014—2016 年分离自该院临床的 6 749 株非重复革兰阴性杆菌, 采用 Vitek-2 compact 仪进行鉴定和药敏试验, 采用 Whonet5.6 软件进行数据分析。**结果** 近 3 年分离的革兰阴性杆菌, 以大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、嗜麦芽窄食单胞菌为主, 且铜绿假单胞菌的分离率略有上升。大肠埃希菌近 3 年检出的产超广谱 β -内酰胺酶菌株均大于 50.0%; 鲍曼不动杆菌对替加环素的耐药率最低, 对阿米卡星、左氧氟沙星的耐药率分别从 2014 年 27.2%、13.0% 增长至 2016 年 47.4%、32.5%。铜绿假单胞菌对头孢吡肟和亚胺培南的耐药率上升, 分别从 9.4% 增长至 21.7%, 16.0% 增长至 29.7%。肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药趋势上升明显, 近 3 年耐药率已由 5.6% 上升至 19.9%。嗜麦芽窄食单胞菌对头孢哌酮/舒巴坦和复方磺胺甲噁唑敏感性降低, 耐药率呈上升趋势。**结论** 近 3 年临床分离的大多数革兰阴性杆菌耐药率呈上升趋势, 应加强对医院感染病原菌的耐药性监测, 指导临床合理使用抗菌药物。

关键词: 革兰阴性杆菌; 抗菌药物; 耐药性

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)08-1027-04

Analysis of drug resistance of Gram negative bacilli isolated in the recent three years

ZHANG Qing¹, WANG Fang¹, GUO Hua¹, HOU Mengjun², LI Bilian²

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610072, China; 2. Department of Laboratory Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To analyze the resistance of Gram negative bacilli isolated from the Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional in the recent three years, and guide clinical medication. **Methods** A total of 6 749 strains of non repetitive Gram negative bacilli were collected for analysis from 2014 to 2016, Vitek-2 compact was used for bacterial identification and drug susceptibility testing. Statistical analysis was performed using Whonet 5.6. **Results** During the recent three years, the main species of Gram negative bacilli were Escherichia coli, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae and Stenotrophomonas maltophilia, and the isolation rate of Pseudomonas aeruginosa increased slightly. In the recent three years, Escherichia coli strains producing ESBLs were all over 50.0%. Acinetobacter baumannii had the lowest resistance to tigecycline. The drug resistance rates to amikacin and levofloxacin increased from 27.2%, 13.0% in 2014 to 47.4%, 32.5% in 2016 respectively. The resistance rate of Pseudomonas aeruginosa to cefepime and imipenem increased from 9.4% to 21.7% and 16.0% to 29.7% respectively. Drug resistance of Klebsiella pneumoniae to imipenem has increased significantly from 5.6% to 19.9%. The susceptibility of Stenotrophomonas maltophilia to tigecycline and cotrimoxazole gradually decreased, and the resistance rates of these Antibiotics increased rapidly. **Conclusion** In the past three years, the resistance rates of most isolates of Gram-negative bacilli have a rising trend. It is necessary to strengthen drug resistance surveillance of nosocomial infection pathogens for reasonable medication.

Key words: gram negative bacilli; antimicrobial agent; drug resistance

近年来,随着抗菌药物在临床上的广泛应用,耐药菌株日益增多,尤其以多重耐药的革兰阴性杆菌最为常见,已成为全球关注的热点^[1]。因此,有必要密切关注革兰阴性杆菌的耐药情况及变迁特点,指导临

床合理使用抗菌药物,减少耐药菌株的传播,控制好医院感染。本文分析了成都中医药大学附属医院 2014—2016 年临床分离的 6 749 株非重复革兰阴性杆菌耐药情况,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集 2014 年 1 月至 2016 年 12 月从成都中医药大学附属医院住院患者送检的各种标本中分离出来的非重复革兰阴性杆菌共 6 749 株。

1.2 仪器与试剂 采用法国生物梅里埃公司 Vitek-2 compact 全自动微生物分析仪及配套 GN 鉴定卡、GN13 和 GN16 药敏卡,英国 Oxoid 公司药敏纸片及 M-H 琼脂。

1.3 方法 按《全国临床检验操作规程》进行细菌培养、分离与鉴定,用 Vitek-2 compact 全自动微生物分析仪及配套药敏卡进行药敏试验,采用纸片扩散法(K-B 法)进行头孢哌酮/舒巴坦药敏试验,按美国临床实验室标准化协会(CLSI 2016)制订的标准进行药敏试验结果判读。

1.4 质控菌 大肠埃希菌 ATCC25922,铜绿假单胞菌 ATCC27853,肺炎克雷伯菌 ATCC700603。

1.5 统计学处理 采用 Whonet5.6 软件进行数据统计和分析。

2 结果

2.1 菌株分布 2014—2016 年共分离革兰阴性杆菌

6 749 株,其中大肠埃希菌占首位,共 1 560 株(23.1%),其次为鲍曼不动杆菌 1 424 株(21.1%)、铜绿假单胞菌 1 144 株(17.0%)、肺炎克雷伯菌 1 011 株(15.0%)、嗜麦芽窄食单胞菌 338 株(5.0%),近 3 年常见革兰阴性杆菌的构成比,见表 1。

2.2 常见革兰阴性杆菌耐药情况 近 3 年药敏结果表明,大多数革兰阴性杆菌对头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星较敏感,耐药率低。统计表明,大肠埃希菌对头孢西丁耐药率上升较快,2016 年已达 40.0% 以上。鲍曼不动杆菌对替加环素和头孢哌酮/舒巴坦敏感,耐药率低于 6.0%,但对阿米卡星、左氧氟沙星的耐药率增长较快,分别从 2014 年 27.2%、13.0% 增长至 2016 年 47.4%、32.5%。对铜绿假单胞菌抗菌活性最强的前 3 位分别是头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星和哌拉西林/他唑巴坦,但对头孢吡肟和亚胺培南的耐药率都有上升趋势。近 3 年,肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率明显上升,已达 19.9%,嗜麦芽窄食单胞菌对复方磺胺甲噁唑的耐药率也已增高超过 12.0%。2014—2016 年常见革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率见表 2。

表 1 2014—2016 年常见革兰阴性杆菌构成比[n(%)]

菌株	2014 年	2015 年	2016 年	合计
大肠埃希菌	410(24.1)	461(24.8)	689(21.6)	1 560(23.1)
鲍曼不动杆菌	325(19.1)	323(17.3)	776(24.3)	1 424(21.1)
铜绿假单胞菌	245(14.4)	277(14.9)	622(19.6)	1 144(17.0)
肺炎克雷伯菌	270(15.8)	306(16.4)	435(13.7)	1 011(15.0)
嗜麦芽窄食单胞菌	94(5.5)	96(5.1)	148(4.6)	338(5.0)
阴沟肠杆菌	63(3.7)	57(3.1)	72(2.3)	192(2.8)
洋葱伯克霍尔德菌	25(1.5)	38(2.0)	60(1.9)	123(1.8)
流感嗜血杆菌	25(1.5)	56(3.0)	42(1.3)	123(1.8)
黏质沙雷菌	40(2.4)	24(1.3)	50(1.6)	114(1.7)
奇异变形杆菌	38(2.2)	22(1.2)	32(1.0)	92(1.4)
产酸克雷伯菌	17(1.0)	20(1.1)	24(0.8)	61(0.9)
产气肠杆菌	14(0.8)	16(0.9)	22(0.7)	52(0.8)
弗劳地柠檬酸杆菌	11(0.6)	14(0.8)	19(0.6)	44(0.7)
摩氏摩根菌	7(0.4)	8(0.4)	23(0.7)	38(0.6)
其他	120(7.0)	144(7.7)	169(5.3)	433(6.3)
总计	1 704(100.0)	1 862(100.0)	3 183(100.0)	6 749(100.0)

表 2 2014—2016 年常见革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌			鲍曼不动杆菌			铜绿假单胞菌			肺炎克雷伯菌			嗜麦芽窄食单胞菌		
	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年
氨苄西林	83.8	84.1	87.2	68.9	73.9	68.1	99.0	98.5	98.5	56.6	62.4	66.0	—	—	—
阿莫西林/克拉维酸	11.5	8.3	40.0	78.9	88.9	100.0	100.0	100.0	100.0	53.8	75.0	33.3	—	—	—
头孢哌酮/舒巴坦	3.5	1.4	5.0	6.0	0.0	0.8	7.0	5.3	8.8	6.4	15.3	17.7	4.0	0.0	12.5

续表 2 2014—2016 年常见革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌			鲍曼不动杆菌			铜绿假单胞菌			肺炎克雷伯菌			嗜麦芽窄食单胞菌		
	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年	2014 年	2015 年	2016 年
氨苄西林/舒巴坦	48.4	46.6	53.4	41.3	56.5	50.3	98.4	95.8	96.6	27.8	36.8	38.5	—	—	—
哌拉西林/他唑巴坦	2.5	2.0	4.1	51.4	53.4	53.7	6.1	7.6	17.9	4.9	20.3	15.6	—	—	—
头孢唑林	63.3	65.4	60.9	100.0	100.0	100.0	99.5	100.0	100.0	40.0	45.0	40.5	—	—	—
头孢他啶	19.9	19.8	20.0	60.1	65.5	62.1	12.9	13.5	21.1	15.4	22.6	25.0	—	—	—
头孢曲松	55.3	53.2	54.1	61.9	66.9	64.0	98.0	97.4	97.1	24.0	32.7	33.5	—	—	—
头孢吡肟	12.5	12.4	15.9	59.4	67.2	63.3	9.6	9.4	21.7	6.0	21.6	17.9	—	—	—
头孢替坦	2.9	2.9	3.4	99.3	99.0	99.0	97.3	95.7	96.7	0.4	3.4	9.1	—	—	—
头孢西丁	19.2	25.0	40.0	100.0	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	42.3	66.7	33.3	—	—	—
氨曲南	28.7	29.3	31.0	70.6	74.8	74.1	46.8	39.5	27.6	21.5	29.6	27.4	—	—	—
厄他培南	1.5	2.4	0.2	—	—	—	—	—	—	3.1	17.5	0.5	—	—	—
亚胺培南	1.5	2.2	3.2	60.7	66.9	63.3	19.2	16.0	29.7	5.6	19.9	15.2	—	—	—
阿米卡星	3.0	2.4	4.0	27.2	43.7	47.4	2.0	3.8	13.7	8.0	2.2	2.1	—	—	—
庆大霉素	47.4	43.6	42.6	58.5	66.1	56.5	10.0	10.0	20.6	23.2	10.5	14.5	—	—	—
妥布霉素	16.8	16.7	16.7	58.1	62.1	52.9	8.8	9.4	19.3	17.6	18.1	14.6	—	—	—
环丙沙星	57.7	53.6	58.3	61.3	68.7	63.3	20.3	17.1	22.3	15.0	27.3	23.8	—	—	—
左氧氟沙星	53.7	52.2	56.0	13.0	30.5	32.5	15.5	15.6	18.5	14.0	24.7	17.3	100.0	—	0.0
复方磺胺甲噁唑	52.6	49.8	58.2	31.5	68.3	58.6	84.4	92.2	88.4	29.3	35.8	35.7	8.7	7.7	12.0
呋喃妥因	3.5	4.0	2.2	99.4	99.7	99.5	97.0	97.6	97.9	23.1	15.4	16.2	—	—	—
替加环素	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.0	12.5	0.0	—	—	—

注：—为该年无此药敏试验数据

2.3 肠杆菌科细菌产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)的监测结果 2014—2016 年大肠埃希菌产 ESBLs 菌株的检出率分别为 50.9%、50.0%、50.5%；肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株的检出率分别为 21.3%、12.2%、18.6%；产酸克雷伯菌产 ESBLs 菌株的检出率分别为 17.6%、40.0%、10.5%。

3 讨 论

革兰阴性杆菌是临床常见致病菌,随着新型抗菌药物的不断使用,以及抗菌药物的滥用,大部分致病菌的耐药率呈现逐年上升的趋势^[2]。近几年,从临床分离的耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌、多重耐药铜绿假单胞菌、产 ESBLs 大肠埃希菌和耐碳青霉烯酶的肺炎克雷伯菌等耐药菌株大量增加,给临床抗感染治疗带来了巨大挑战^[3]。本研究统计表明,3 年间无论是革兰阴性杆菌的构成比还是耐药率都发生了明显的变化。2014—2016 年从成都中医药大学附属医院临床分离的非重复革兰阴性杆菌共 6 749 株,大肠埃希菌居首位,其次为鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和嗜麦芽窄食单胞菌。且鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌的构成比均有所上升,分别增长至 24.3%和 19.6%,值得重视的是,2016 年鲍曼不动杆菌已成为该年度的首位致病菌。由此可以预测,临床上容易定植和携带较多耐药基因的细菌必然是今后

医院感染的主要致病菌。

近年来,肠杆菌科细菌均以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌感染为主。本次统计发现,约 50.0%的大肠埃希菌和 12.2%~21.3%的肺炎克雷伯菌产 ESBLs,目前碳青霉烯类抗菌药物是治疗这类耐药菌最有效的药物^[4]。值得高度警惕的是,近几年对亚胺培南敏感的大肠埃希菌已开始出现耐药,且 2016 年肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率已达 15.2%,表明医院肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药性的增长逐渐加快,这与全国的耐药趋势相似。而碳青霉烯类抗菌药物是目前抗菌谱最广的抗菌药物之一,对几乎所有的由质粒或染色体介导的 β-内酰胺酶稳定,具有快速杀菌的作用^[5]。研究表明,肠杆菌科细菌对碳青霉烯类耐药机制主要为产碳青霉烯酶,高度表达 ESBLs 或 AmpC 合并孔蛋白缺失或表达降低,碳青霉烯类药物作用靶位点青霉素结合蛋白改变^[6]。在我国,产 KPC 和 IMP 是肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类耐药的主要机制^[7-8]。近年的大量研究提示,耐碳青霉烯酶的肺炎克雷伯菌同时携带 KPC 碳青霉烯酶,ESBLs 和其他 β-内酰胺酶等多种耐药基因,这些基因存在于染色体或质粒的可移动整合子上,有造成医院感染局部暴发流行的潜在威胁。因此,对感染多重耐药菌株的患者应注意进行隔离治疗,防止耐药菌株的广泛

传播。

大量研究表明,鲍曼不动杆菌易定植在人的体表及上呼吸道中,生存能力强、获得耐药基因多,耐药率高,已成为我国院内感染最主要的病原菌之一,而多重耐药鲍曼不动杆菌的产生是抗菌药物选择压力的结果,且耐药基因易通过医院内接触传播。成都中医药大学附属医院耐药监测表明,替加环素对鲍曼不动杆菌的抗菌活性最强,故可优先选择使用,但阿米卡星、左氧氟沙星和复方磺胺甲噁唑对鲍曼不动杆菌的抗菌能力逐年降低。鲍曼不动杆菌主要通过产生碳青霉烯酶、外膜通道蛋白、青霉素结合蛋白的修饰和主动外排泵活性增加等多种机制产生耐药性,因此对临床上常用抗菌药物均出现了不同程度的耐药,且重症监护室多重耐药、泛耐药现象十分突出,临床治疗十分棘手^[9]。铜绿假单胞菌对临床常用的哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟和亚胺培南耐药率均呈上升趋势。国内外大量研究表明,铜绿假单胞菌耐药机制十分复杂,包括形成生物被膜、外膜通透性降低、外膜微孔蛋白缺失,以及产生染色体介导与质粒介导的 β -内酰胺酶等因素的协同作用,因此极易对临床常用抗菌药物产生耐药^[10]。对铜绿假单胞菌感染往往首选头孢吡肟或亚胺培南进行治疗,这是导致医院铜绿假单胞菌对头孢吡肟和亚胺培南的耐药率上升的主要原因。嗜麦芽窄食单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物天然耐药,对于临床治疗,国外指南主要推荐使用复方磺胺甲噁唑、喹诺酮类和替卡西林/克拉维酸^[11]。本研究发现,嗜麦芽窄食单胞菌对头孢哌酮/舒巴坦和复方磺胺甲噁唑较敏感,但敏感性呈下降趋势,与国内外报道基本一致^[12]。鉴于临床非发酵菌越来越严重的多重耐药趋势,针对严重耐药细菌的治疗,最好使用大剂量、短疗程的酶抑制剂复合制剂、氨基糖苷类和喹诺酮类抗菌药物,最大限度减少多重耐药菌株的产生^[13]。

综上所述,革兰阴性杆菌的耐药形势严峻,多重耐药、泛耐药菌株逐渐增多,所致的临床感染治疗棘手,病死率高。对此,应加强医院综合管理,定期监测细菌耐药趋势,控制耐药菌株的传播和流行,同时合理规范使用抗菌药物,尽量减少耐药性的产生,才能有效改善细菌耐药状况。

参考文献

- [1] 丁元廷. 细菌耐药机制的国内外最新研究进展[J]. 现代预防医学, 2013, 40(6): 1109-1111.
- [2] 吴小兰, 刘先洲, 杨杨. 细菌耐药性机制研究进展与控制

对策[J]. 医药导报, 2007, 26(9): 1053-1055.

- [3] LONGHI C, CONTE M P, MARAZZATO M, et al. Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in *Escherichia coli* from community uncomplicated urinary tract infection in an area of high prevalence of quinolone resistance[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31(8): 1917-1921.
- [4] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2012 年中国 CHINET 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌的分布特点和耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 382-386.
- [5] CONSALES G, GRAMIGNI E, ZAMIDEI L, et al. A multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in intensive care unit: antimicrobial and organizational strategies[J]. *J Crit Care*, 2011, 26(5): 453-459.
- [6] MULLER C, PLÉSIAT P, JEANNOT K. A two-component regulatory system interconnects resistance to polymyxins, aminoglycosides, fluoroquinolones, and β -lactams in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(3): 1211-1221.
- [7] TANIMOTO K, TOMITA H, FUJIMOTO S, et al. Fluoroquinolone enhances the mutation frequency for meropenem-selected carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, but use of the high-potency drug doripenem inhibits mutant formation[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(10): 3795-3800.
- [8] 李竟, 郭普, 钟钟, 等. 2012—2014 年某医院常见革兰阴性杆菌耐药率的变移[J]. 中华疾病控制杂志, 2015, 19(10): 1042-1046.
- [9] 李欣影, 黄剑芳, 郑望春. 2011—2013 年非发酵革兰阴性杆菌耐药监测结果分析[J]. 中国感染控制杂志, 2015, 14(7): 472-475.
- [10] HALL J M, COREA E, SANJEEWANI H D, et al. Molecular mechanisms of β -lactam resistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* from Sri Lanka[J]. *J Med Microbiol*, 2014, 63(Pt 8): 1087-1092.
- [11] 赵晓杰, 邓丽华, 施德仕, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药机制研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(17): 3851-3853.
- [12] 毛璞, 李建春, 邱桂霞, 等. 重症监护病房耐碳青霉烯类抗生素鲍曼不动杆菌耐药机制研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(3): 253-256.
- [13] KAZI M, DREGO L, NIKAM C, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* at a tertiary care laboratory in Mumbai[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2015, 34(3): 467-472.

(收稿日期: 2018-08-19 修回日期: 2018-12-06)