

2012年3 812株革兰阴性菌分布及耐药性监测

任真,文怡*,梅亚宁,顾兵,陈友华,刘根焰,王珏

(南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:了解2012年本院临床标本分离的革兰阴性菌的分布及其对常用抗生素的耐药性。方法:细菌鉴定采用API系统及VITEK 2自动鉴定仪;细菌药物敏感试验采用纸片扩散法(K-B法);根据CLSI 2011版判断结果;WHONET5.5软件进行统计分析。结果:共分离出病原菌5 791株,其中革兰阴性菌3 812株,占65.8%。排名前5位的革兰阴性菌分别为鲍曼不动杆菌(19.1%)、铜绿假单胞菌(15.9%)、大肠埃希菌(13.6%)、肺炎克雷伯菌(9.1%)、阴沟肠杆菌(2.0%)。其中分离出碳青霉烯类耐药的肠杆菌科细菌133株(8.3%)。结论:本院革兰阴性细菌耐药状况较为严重,进行细菌耐药性监测有助于了解细菌耐药性变迁,为临床合理选择抗菌药物提供理论依据。

[关键词] 革兰阴性杆菌;碳青霉烯酶;耐药监测

[中图分类号] R446.5

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2013)12-1780-04

doi:10.7655/NYDXBNS20131238

革兰阴性杆菌是医院内感染的主要病原菌,随着各种有创伤性诊疗技术的运用以及广谱抗菌药物的广泛使用,院内细菌感染机率大大增加,细菌耐药性也越来越强。革兰阴性杆菌耐药性的增强给临床抗感染药物合理选择带来了巨大困难。为了解革兰阴性杆菌的分布以及耐药性,本文对2012年本院微生物实验室分离到的革兰阴性菌耐药性监测数据作了统计,结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

2012年1月~2012年12月临床分离的所有革兰阴性菌菌株均来自南京医科大学第一附属医院(剔除同一患者相同部位重复菌株),细菌鉴定采用API鉴定系统和VITEK2自动鉴定仪。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853。

1.2 方法

细菌药敏纸片为英国OXOID公司产品。采用纸片扩散法(K-B法)进行细菌药物敏感试验,按CLSI 2011版标准判断结果^[1]。

1.3 统计学方法

[基金项目] 国家自然科学基金(81000754);江苏省实验诊断学重点实验室(XK201114)

*通信作者(Corresponding author), E-mail:wenying@163.com

采用世界卫生组织细菌耐药监测网推荐的WHONET5.5软件进行数据分析。

2 结果

2.1 病原菌及分布

2012年全院共收集微生物培养的临床标本33 902人份,分离出7 166株病原菌,具有统计学意义有效病原菌5 791株(剔除同一患者相同部位和血培养双侧的重复菌株、污染菌等),其中革兰阴性杆菌3 812株,占65.8%(3 812/5 791)。革兰阴性杆菌中排名前5位的依次是:鲍曼不动杆菌29.0%、铜绿假单胞菌24.2%、大肠埃希菌20.7%、肺炎克雷伯菌13.9%、阴沟肠杆菌3.1%(表1)。

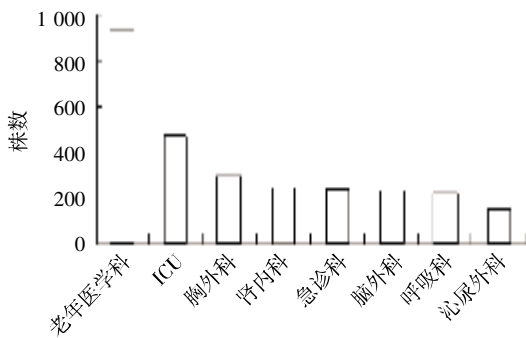
革兰阴性菌分离率较高、排名前8位的科室依次为:老年医学科占24.5%(935/3 812),ICU占12.5%(478/3 812),胸外科占7.8%(296/3 812),内科占6.2%(237/3 812),急诊监护室占6.2%(237/3 812),脑外科占6.0%(228/3 812),呼吸科占5.7%(219/3 812),泌尿外科占3.9%(150/3 812)。ICU、胸外科、脑外科、急诊监护病区标本以分离培养到鲍曼不动杆菌为主,老年医学科主要以铜绿假单胞菌为主,肾内科、泌尿外科以分离培养到大肠埃希菌为主,呼吸科以鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌为主,具体见图1。

分离的革兰阴性菌菌株主要来源:呼吸道的标本占64.2%(2 446/3 812),尿液占14.2%(543/3

表 1 2012 年革兰阴性菌分布

细菌	数量	构成比 ^a (%)	构成比 ^b (%)
鲍曼不动杆菌	1 106	29.0	19.1
铜绿假单胞菌	922	24.2	15.9
大肠埃希菌	789	20.7	13.6
肺炎克雷伯菌	529	13.9	9.1
阴沟肠杆菌	118	3.1	2.0
流感嗜血杆菌	68	1.8	1.2
产气肠杆菌	54	1.4	0.9
嗜麦芽窄食单胞菌	53	1.4	0.9
变形杆菌属	52	1.4	0.9
洋葱伯克霍尔德菌	24	0.6	0.4
枸橼酸杆菌属	20	0.5	0.3
沙雷菌属	14	0.4	0.2
其他	63	1.6	1.1
总计	3 812	100.0	65.8

a: 构成比分母为 3 812(临床分离革兰阴性菌总数); b: 构成比分母为 5 791(临床分离细菌总数)。



812), 血液占 6.1%(231/3 812), 脓液占 4.5%(172/3 812)。各类标本常见细菌: 呼吸道标本主要为鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌, 尿液标本以大肠埃希菌为主, 血液标本主要为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌。此外大多数阴沟肠杆菌、流感嗜血杆菌、产气肠杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌、枸橼酸杆菌属、沙雷菌属来自呼吸道标本, 变形杆菌属主要来自尿液标本(图 1)。

2.2 革兰阴性杆菌对常用抗菌药物的敏感性

肠杆菌科细菌: 本年度共分离 1 593 株肠杆菌科细菌, 占革兰阴性杆菌的 41.79%(1 593/3812)。共检出碳青霉烯类耐药株 133 株, 占肠杆菌科细菌的 8.35%(133/1 593)。临床常见革兰阴性杆菌为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌等。大肠埃希菌对头孢菌素类抗菌药物的耐药率较高, 普遍 >

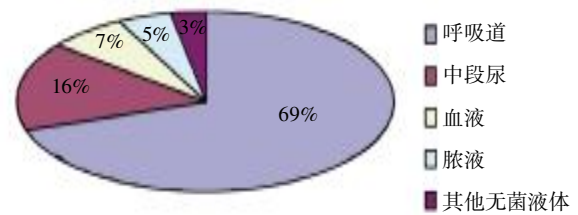


图 1 革兰阴性菌来源

70%, 但对头孢西丁的耐药率仅为 25%, 对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南耐药率分别为 5.6% 和 4.9%, 对氨曲南、左氧氟沙星、复方新诺明耐药率依次是 76.5%、73.7%、65.7%。肺炎克雷伯菌对头孢菌素类抗菌药物的耐药率普遍 >60%, 对头孢西丁的耐药率稍低, 为 41.4%, 对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南耐药率分别为 20.8%、21.7%, 显著高于大肠埃希菌。对其余 8 种抗菌药物的耐药率在 23.1%~65.8% 之间。阴沟肠杆菌对阿莫西林/克拉维酸、头孢唑林、头孢西丁的耐药率高达 90% 以上, 对头孢吡肟的耐药率为 23.1%, 明显低于肠杆菌科细菌的平均耐药率 64.4%, 对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南耐药率分别为 4.5% 和 3.8%。肠杆菌科细菌对 16 种抗菌药物的抗菌活性依次为: 美罗培南、亚胺培南 > 阿米卡星 > 哌拉西林/他唑巴坦、头孢西丁 > 米诺环素、头孢哌酮/舒巴坦 > 复方新诺明、左氧氟沙星 > 头孢吡肟、头孢他啶 > 氨曲南、头孢噻肟 > 阿莫西林/克拉维酸 > 头孢呋辛 > 头孢唑啉(表 2)。

非发酵革兰阴性杆菌临床分离非发酵革兰阴性杆菌中鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌仍是本院病原微生物的主要菌群, 占革兰阴性杆菌的 53.2%(2 028/3 812)。其中鲍曼不动杆菌 1 106 株, 占 29.0%(1 106/3 812), 对大多数抗菌药物耐药率在 59.3%~94.6% 之间, 对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南耐药率分别为 88.3%、88%。铜绿假单胞菌 922 株, 占 24.2%(922/3812), 对大多数抗菌药物的耐药率在 38.3%~80.8%。对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南耐药率分别为 50.4%、50.7%(表 3)。

3 讨论

2012 年本院共从临床标本中分离出病原菌 5791 株, 略低于 2011 年结果(6090 株)。其中革兰阴性菌 3812 株, 占 65.8%。所有革兰阴性菌中鲍曼不动杆菌占首位 29.0%, 其次为铜绿假单胞菌占 24.2%、大肠埃希菌占 20.7%、肺炎克雷伯菌占 13.9%、阴沟肠杆菌占 3.1%。从病原菌的科室分布看, 老年医学科排在首位, 其次为重症监护室(ICU

表2 主要革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率

(%)

抗菌药物	肠杆菌科细菌 (n=1 593)		大肠埃希菌 (n=789)		肺炎克雷伯菌 (n=529)		阴沟肠杆菌 (n=118)		产气肠杆菌 (n=54)		变形杆菌属 (n=50)		枸橼酸杆菌属 (n=20)	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
	阿莫西林/克拉维酸	28.2	45.1	26.0	36.1	36.3	45.3	5.7	90.5	16.0	76.0	61.0	12.2	7.1
头孢哌酮/舒巴坦	48.3	26.6	41.5	27.0	52.0	28.4	48.7	30.8	60.8	27.5	94.1	0.0	35.3	23.5
哌拉西林/他唑巴坦	57.7	25.6	59.4	22.0	51.0	33.1	56.2	29.5	49.0	31.4	97.9	0.0	61.1	16.7
头孢唑啉	12.1	77.8	8.1	81.8	21.7	65.7	4.3	95.7	9.4	90.6	2.2	69.5	7.2	92.8
头孢呋辛	26.1	72.2	20.7	78.3	31.3	67.8	27.5	64.2	34.8	65.2	40.9	56.8	38.9	55.6
头孢他啶	32.8	64.5	23.1	75.6	37.2	60.9	46.6	49.1	46.0	38.0	59.6	36.5	45.0	45.0
头孢噻肟	28.4	68.5	20.6	77.7	36.0	61.6	32.7	56.4	34.7	61.2	52.2	43.5	21.1	63.2
头孢吡肟	33.6	64.4	22.7	76.6	33.8	65.4	67.6	23.1	60.0	26.0	58.1	39.5	66.7	27.8
头孢西丁	54.7	37.8	64.2	25.0	54.2	41.4	5.6	92.5	23.5	74.5	88.4	7.0	17.6	76.5
氨基糖苷	29.3	67.1	21.0	76.5	31.9	65.8	43.4	45.3	48.0	42.0	55.8	41.9	43.8	37.5
亚胺培南	87.4	11.4	93.4	5.6	77.7	20.8	88.2	4.5	78.4	17.6	97.7	2.3	100.0	0.0
美洛培南	88.5	10.7	94.4	4.9	77.9	21.7	93.3	3.8	82.0	14.3	97.7	2.3	100.0	0.0
阿米卡星	64.1	22.1	60.8	23.2	66.4	23.1	64.2	16.5	70.0	22.0	76.2	11.9	61.1	22.2
左旋氧氟沙星	39.4	57.2	22.7	73.7	52.4	45.5	60.7	31.8	58.0	38.0	59.5	40.5	50.0	31.2
复方新诺明	44.5	52.6	32.6	65.7	57.2	38.4	51.4	45.0	65.3	28.6	41.9	58.1	52.9	41.2
米诺环素	52.8	32.4	53.0	32.6	53.4	29.9	59.8	20.7	62.8	30.2	5.1	84.6	55.6	44.4

S:敏感;R:耐药。

表3 非发酵革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率 (%)

抗菌药物	鲍曼不动杆菌 (n=1 106)		铜绿假单胞菌 (n=922)	
	S	R	S	R
	哌拉西林	ND	ND	44.1
氨苄西林/舒巴坦	8.3	84.4	ND	ND
头孢哌酮/舒巴坦	12.1	64.5	32.0	46.5
替卡西林/克拉维酸	5.4	94.6	33.2	66.8
哌拉西林/他唑巴坦	7.9	88.3	48.8	51.2
头孢他啶	5.0	89.9	35.7	53.1
头孢吡肟	9.1	89.4	41.4	49.2
氨基糖苷	ND	ND	25.7	50.9
亚胺培南	11.4	88.3	47.7	50.4
美洛培南	11.2	88	47.1	50.7
阿米卡星	24.1	66	52.4	38.3
环丙沙星	5.7	94.3	54.5	38.4
左旋氧氟沙星	10.9	87.2	44.8	46.8
复方新诺明	12.5	85.4	ND	ND
米诺环素	21.6	59.3	12.3	80.8

S:敏感;R:耐药;ND:没有数据。

和急诊ICU)和胸外科。

本次细菌耐药性监测结果显示,鲍曼不动杆菌占据本院感染病原菌的首位,与去年的结果相同。这一结果与近年来关于鲍曼不动杆菌分离率及耐药性呈不停上升趋势的报道相符合^[2-3]。本院分离到的鲍曼不动杆菌主要分布在ICU和老年科,且主要来源于痰液标本,这与李瑞莹等^[4]、许云敏等^[3]的报道一致。原因是鲍曼不动杆菌是条件致病菌,该菌极易形成生物菌膜,黏附于腔道、管道表面,而重症监护病

房、老年科是医院内感染的高危科室,患者大多年龄偏大,病情危重、患者气管切开治疗的多,免疫功能低下,术后严重感染比例大,各种侵袭性诊疗手段等使得感染几率大大增加。鲍曼不动杆菌携带多种耐药基因,对多种抗菌药物具有天然耐药性,分析中可见临床常用抗菌药的耐药率均高于59%,其中对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南的耐药率在所有革兰阴性菌中最高(88.3%、88.0%),高于孙瑞珍等^[5]报道,但略低于2011年结果(90.5%、90.6%)。对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率为64.5%,与周秀珍等^[2]的结果接近(62.1%),对米诺环素的耐药率为59.3%,显著低于临床其他常见抗菌药物。因此,对于多重耐药鲍曼不动杆菌可采用大剂量头孢哌酮/舒巴坦联合米诺环素方案。该菌的耐药机制与产生β-内酰胺酶、外排泵机制和生物膜的形成有关,对碳青霉烯类抗生素的耐药率可能与其产碳青霉烯酶有关。铜绿假单胞菌的分离率在革兰阴性菌中占第2位,对临床常用抗菌药物的敏感率低于55%。其中对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美洛培南的耐药率分别为50.4%和50.7%,与孙瑞珍等^[5]报道相似,低于本院2011年结果(58.1%、54.2%)。其耐药机制复杂,包括产生抗菌活性酶,改变抗菌药物作用的靶位,外膜通透性降低,形成生物被膜,细菌主动外排系统作用等。碳青霉烯类药物的大量使用使铜绿假单胞菌对亚胺培南的通道外膜蛋白OprD2丢失,可能使某些菌株产生碳青霉烯酶,导致耐药^[6]。国内有

研究^[7]发现碳青霉烯类抗生素的用药密度与非发酵革兰阴性菌的耐药率的变化呈正相关,合理控制用药密度可使细菌耐药率减缓或下降。本次统计中的耐药株是否为产碳青霉烯酶菌株有待进一步证实。

肠杆菌科细菌中仍以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主,本组细菌对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/舒巴坦等复方制剂敏感率普遍高于多数头孢菌素类抗菌药物,这是由于舒巴坦为 β -内酰胺酶抑制剂,与头孢菌素类/青霉素类药物联用,可降低细菌 β -内酰胺酶的活性,增强抗菌活性。本次统计结果显示大肠埃希菌、克雷伯菌、变形杆菌对头孢西丁敏感率(25.0%、54.2%、88.4%)显著高于其他头孢菌素类药物,这与姜科飞等^[8]报道相符。原因是肠杆菌科细菌存在多种耐药机制,产 ESBLs 为大肠埃希菌、克雷伯菌主要耐药机制^[9],头孢西丁属于头霉素类抗生素,与头孢菌素的不同点在于其 β -内酰胺环 7 号位上含有一个甲氧基,使它在耐受革兰阴性菌所产生的 β -内酰胺酶降解作用方面表现得更稳定。统计结果显示,在临床常用抗菌药物中碳青霉烯类药物仍为敏感性最高的。作为一组新型的 β -内酰胺类药物,它具有良好的通透性和广谱抗菌活性,对超广谱 β -内酰胺酶和质粒介导的 AmpC 酶有良好稳定性,被认为是目前治疗革兰阴性杆菌最有效的广谱抗菌药物^[10]。但值得关注的是本年度共检出碳青霉烯类耐药株 133 株,占肠杆菌科细菌的 8.35%(133/1593)。大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类药物亚胺培南、美洛培南的耐药率分别为 5.6%、4.9%以及 20.8%、21.7%,均高于孙瑞珍等^[5]报道。主要机制之一可能是产碳青霉烯酶,包括 Ambler 分子分类的 A、B、D 类酶,其中属于 A 类的 KPC 型碳青霉烯酶是目前引起肠杆菌科对碳青霉烯类药物耐药的主要原因^[10]。KPC 型碳青霉烯酶基因位于可移动质粒上,故可经质粒、整合子、插入序列的基因元件进行传播,具有在局部暴发流行的潜在威胁^[11],应引起重视。本次统计中的耐药株是否为产碳青霉烯酶菌株有待进一步证实。统计发现肺炎克雷伯菌耐药率(20.8%、21.7%)显著高于其他肠杆菌科细菌,这可能与近年来研究发现的 New Delhi 金属 β -内酰胺酶(NDM-1)有关。它能水解 β -内酰胺环结构,实验室可通过表型筛查、表型确认、基因确定诊断此种酶的存在。统计结果还发现阴沟肠杆菌对头孢吡肟的耐药率为 23.1%,明显低于其他头孢菌素,对阿莫西林/克拉维酸、头孢唑林、头孢西丁的耐药率也都高

达 90%以上。原因可能是由染色体与质粒介导的 BUSH(1)型 β 内酰胺酶(AmpC 酶)能水解一到三代头孢菌素和头霉素,该水解酶在 β 内酰胺类抗生素特别是亚胺培南诱导下产量可增高 10 倍,使临床使用的 β 内酰胺酶抑制剂对其也没有抑制作用^[12]。多重耐药的阴沟肠杆菌引起的菌血症有很高的病死率^[13],应引起重视。

[参考文献]

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]// Twenty-first Informational Supplement, 2011
- [2] 周秀珍,刘建华,王艳玲,等. 鲍曼不动杆菌连续 12 年的感染分布及耐药性动态变迁[J]. 中国临床药理学杂志,2011,27(10):755-758
- [3] 许云敏,晋臻,林艳,等. 878 株鲍曼不动杆菌的耐药分析及流行调查[J]. 昆明医学院学报,2011,32(9):92-95
- [4] 李瑞莹,陈林珍,曾智华,等. 2008~2009 年住院患者鲍曼不动杆菌的耐药性分析 [J]. 检验医学与临床,2010,7(7):577-581
- [5] 孙瑞珍,潘竹林,杨扬,等. 2007-2011 年革兰阴性杆菌对亚胺培南耐药性变迁 [J]. 第二军医大学学报,2012,33(12):1391-1392
- [6] 汪小珍,潘文合. 两种非发酵菌的临床分布及耐药性分析[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(21):1906-1908
- [7] 殷秀贞,姜思通. 碳青霉烯类抗生素连续 5 年用药密度及细菌耐药性分析[J]. 中国药房,2008,19(29):2667
- [8] 姜科飞,陈群英,张慧萍,等. 革兰阴性菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(2):446-448
- [9] 黄长武,丁小娟,吴倩,等. 革兰阴性菌 10 年耐药性变化分析 [J]. 中国微生态学杂志,2013,25(2):179-183
- [10] 谢宁,郭斌,蔡燕,等. 肠杆菌科细菌 KPC 型碳青霉烯酶的研究[J]. 中国感染控制杂志,2012,11(4):266-269
- [11] Naas T, Cuzon G, Villegas MV, et al. Genetic structures at the origin of acquisition of the beta-lactamase bla KPC gene [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(4): 1257-1263
- [12] Strateva T, Yordanov D. Pseudomonas aeruginosa-aphe-nome-non of bacterial resistance [J]. J med microbial, 2009, 58(Pt9):1133-1148
- [13] 倪语星,尚红. 临床微生物学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2008:136

[收稿日期] 2013-05-07