

• 经验交流 •

某医院下呼吸道标本分离铜绿假单胞菌耐药性分析

王小华¹,李凯旋²,张晓雪¹,郭瑞林^{1△}

(1. 陕西中医学院第二附属医院检验科,陕西咸阳 712000; 2. 陕西中医学院医学技术系, 陕西咸阳 712000)

摘要:**目的** 了解临床下呼吸道标本分离铜绿假单胞菌对 13 种抗菌药物的耐药性、以及产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)和头孢菌素酶(AmpC 酶)及金属 β-内酰胺酶情况,为临床合理使用抗菌药物提供依据。**方法** 选择该院 2007~2012 年 480 株下呼吸道标本中分离出的铜绿假单胞菌,菌株鉴定采用法国梅里埃 API 鉴定系统进行。药敏试验按 K-B 纸片琼脂扩散法操作并判断结果。采用三维试验法检测铜绿假单胞菌中的 ESBLs 和 AmpC 酶,双纸片协同试验检测金属 β-内酰胺酶。**结果** 从 480 株铜绿假单胞菌中检出产 ESBLs、AmpC 及金属 β-内酰胺酶 189 株,总检出率 39.4%。铜绿假单胞菌对妥布霉素、哌拉西林-三唑巴坦、亚胺培南、阿米卡星显示较好的敏感度,对头孢曲松、头孢替坦、头孢唑林高度耐药。**结论** 应重视铜绿假单胞菌 ESBLs、AmpC 和金属 β-内酰胺酶检测;对于该菌引起的呼吸道感染宜采用哌拉西林-三唑巴坦、头孢他啶联合氨基甙类或喹诺酮类抗菌药物治疗。

关键词:假单胞菌,铜绿; β 内酰胺酶类; 抗药性,微生物; 抗菌药

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.058 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2013)17-2324-02

铜绿假单胞菌是临床常见的条件致病菌,当机体免疫力低下时可引起多种感染。近年来铜绿假单胞菌对人的致病作用明显增加,成为一系列严重的化脓性感染,尤其是支气管扩张、慢性支气管炎、间质性肺疾病、囊性肺纤维化等继发感染的重要致病菌。铜绿假单胞菌对 β-内酰胺类抗菌药物的耐药性也日益严重,可产多种类型的 β-内酰胺酶,耐药机制复杂。本研究通过药物体外扩散试验,三维试验,分析铜绿假单胞菌的耐药状况,为提高抗菌药物使用的针对性和有效性提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 实验菌株均为 2007 年 1 月至 2012 年 12 月本院临床送检下呼吸道标本中培养分离的铜绿假单胞菌 480 株,同一患者几次分离株按第 1 次结果分析。

1.2 细菌鉴定及药敏试验 所有合格的标本直接接种于血平板和麦康凯平板,35℃培养 18~24 h,取可疑菌落革兰染色,镜下可见革兰阴性杆菌,并且氧化酶试验阳性,氧化发酵管阳性,然后应用法国梅里埃公司提供的非发酵菌鉴定卡进行细菌鉴定。药敏纸片使用英国 Oxoid 公司产品,按 CLSI 最新版标准判断结果。铜绿假单胞菌 ATCC27853 作为质控菌株平行试验。

1.3 ESBLs 和 AmpC 酶检测^[1] 利用三维试验 ESBLs 和 AmpC 酶可以水解头孢菌素的原理,先将冻融法或超声粉碎法将待测菌株中的 β-内酰胺酶提取出来(粗提液),观察这种酶的粗提物对头孢菌素的抑制情况。如果粗提物中有 ESBLs 或 AmpC 酶,即可抑制头孢菌素的活性,使其周围对头孢菌素敏感的大肠埃希菌 ATCC25922 得以生长;反之,大肠埃希菌受头孢菌素的抑制则不能生长。由于 ESBLs 能被酶抑制剂克拉维酸抑制,不被邻氯西林抑制;而 AmpC 酶则不能被克拉维酸抑制,但可被邻氯西林抑制。因此可以利用克拉维酸和邻氯西林来同时检测铜绿假单胞菌中的 ESBLs 和 AmpC 酶。

1.4 金属 β-内酰胺酶检测^[2] 双纸片协同试验检测金属 β-内酰胺酶的百分率,0.5 麦氏单位待测菌菌液均匀涂布于 M-H 琼脂平板,中间贴 10 g 亚胺培南和 30 g 头孢他啶纸片,距纸片 1.5~2.5 cm 处贴一空白纸片,加 3 μL 2-巯基乙醇原液。35℃培养过夜,如靠近 2-巯基乙醇侧亚胺培南和头孢他啶抑菌环有扩大者为金属 β-内酰胺酶菌株。

1.5 统计学处理 数据采用世界卫生组织细菌耐药性监测网

提供的 WHONET5.5 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 ESBLs 和 AmpC 酶检测结果 480 株铜绿假单胞菌中产 ESBLs123 株,产 AmpC 酶 57 株,其中同产 ESBLs 和 AmpC 酶 32 株,检出率分别为 25.6%、11.9%、6.7%。

2.2 金属 β-内酰胺酶检测 480 株铜绿假单胞菌中产金属 β-内酰胺酶 30 株,检出率 6.3%。

2.3 铜绿假单胞菌对 13 种抗菌药物的药敏试验 见表 1。

表 1 铜绿假单胞菌对 13 种抗菌药物的药敏试验(%)

药物名称	敏感	中介	耐药
氨曲南	67.3	4.0	28.7
头孢唑林	1.2	0.4	98.4
头孢替坦	5.7	1.7	92.6
头孢他啶	75.4	7.3	17.3
头孢曲松	21.5	21.2	57.3
头孢吡肟	70.7	14.8	14.5
环丙沙星	69.8	1.2	29.0
左氧氟沙星	70.5	0.2	29.3
亚胺培南	80.0	1.9	18.1
哌拉西林-三唑巴坦	88.3	0.0	11.7
妥布霉素	88.2	2.1	9.7
阿米卡星	78.3	4.8	6.9
庆大霉素	64.2	23.7	12.1

3 讨论

铜绿假单胞菌是院内感染的重要病原菌,下呼吸道是易感部位^[3]。铜绿假单胞菌对 β 内酰胺类药物的耐药率逐年增加,已经成为抗感染治疗的严重问题。而且耐 β 内酰胺类药物的铜绿假单胞菌也常对喹诺酮类及氨基甙类交叉耐药,使临床治疗耐多种药物菌株感染十分困难^[4]。实验性产质粒介导的金属 β-内酰胺酶 VIM-2 的铜绿假单胞菌肺炎模型的研究表明:虽然对亚胺培南、头孢吡肟、头孢他啶及哌拉西林/三唑巴坦的 MIC 增高,若给予大剂量药物治疗可降低肺部的细菌数量,给予大剂量的氨曲南亦可获得相似的效果,但若为绝对耐药菌株引起的感染,临床上即使加大该药物的剂量,亦不能获得疗效^[5]。特别是 ICU 呼吸道分离铜绿假单胞菌对碳青霉烯耐药

△ 通讯作者,E-mail:szefjyk@126.com。

株增加,碳青霉烯耐药株对其他抗菌药物的耐药性也高,感染或定植患者的平均住院时间长,病死率高^[6]。大多数耐药铜绿假单胞菌对黏菌素类、阿米卡星及环丙沙星的敏感性高,多重耐药菌株可用阿米卡星或环丙沙星联合 β -内酰胺类药物,另外氨基甙类联合 β -内酰胺类药物的抗假单胞菌作用比喹诺酮类联合 β -内酰胺类药物强,阿米卡星联合美罗培南治疗假单胞菌感染的疗效优于联合亚胺培南的疗效^[5-7],但老年患者仍以喹诺酮类联合 β -内酰胺类药物为宜。多黏菌素 B 的肾损害常见,临床应慎用,老年人亦不宜使用。

目前认为铜绿假单胞菌耐药机制主要与以下因素有关^[8-10]:(1)对抗菌药物外膜通透性较低;外膜蛋白 D2 缺失;外膜存在着独特的药物主动外排系统;(2) β 内酰胺酶的产生(ESBLs 酶、AmpC 酶、金属 β -内酰胺酶);碳青霉烯酶、氨基甙类钝化酶的产生;(3)作用靶位的改变;(4)生物被膜的形成。AmpC 酶和 ESBLs 已成为介导革兰阴性杆菌对广谱青霉素类、第三代头孢菌素和单环 β 内酰胺类抗菌药物耐药的两大类 β 内酰胺酶。ESBLs 产酶株对头霉素类敏感,AmpC 酶产酶株则耐药;前者对第四代头孢菌素头孢吡肟部分耐药,后者大多数对其敏感;ESBLs 多可被克拉维酸、舒巴坦和三唑巴坦抑制,而这些酶抑制剂一般不能抑制 AmpC 酶。因此,为了合理地选择抗菌药,对临床分离的铜绿假单胞菌高耐株中 AmpC 酶和 ESBLs 的检测显得尤为重要。

应强调医院感控的重点部门(尤其是呼吸科、ICU、烧伤病房及老年病房)对铜绿假单胞菌耐药监测的重要性,及早发现局部爆发耐药菌株流行,并采取综合措施控制耐药菌株传播与扩散。亦要强调合理使用抗菌药物,特别要严格控制 β 内酰胺类药物及广谱头孢菌素类药物的使用,对已呈高耐药率或高耐药

可能性的药物要限制使用,以防诱导耐药菌株的发生与扩散。

参考文献

- [1] 蒋晓飞,洪秀华,孙景勇,等.多重耐药铜绿假单胞菌超广谱 β 内酰胺酶分析[J].中华微生物学和免疫学杂志,2002,22(4):443-446.
- [2] 张樟萍,罗利飞.2011 年下呼吸道标本铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药性及机制探讨[J].海峡药学,2011,23(2):155.
- [3] 沈黎,严晓敏,李春红,等.1989~2007 年医院感染铜绿假单胞菌及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2010,20(4):570-572.
- [4] 张曦,赵柏程.烧伤患者感染病原菌及耐药性分析[J].湖南医科大学学报,2003,28(4):405-408.
- [5] Tasaka K, Ishida A, Chinzei T. Antimicrobial activity of carbapenems and the combined effect with aminoglycoside against recent clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. J antibiot, 2002, 55(2):181-186.
- [6] 娄国平,张昭勇,周作华. ICU 碳青霉烯耐药铜绿假单胞菌肺部感染危险因素分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(5):570-572.
- [7] 汪广洁,张小兵,罗阳.2005-2006 年铜绿假单胞菌医院感染及耐药分析[J].中华医学感染学杂志,2008,18(3):434-436.
- [8] 陈茶,黄彬,蓝错,等.铜绿假单胞菌“泛耐药”耐药相关基因研究[J].中国抗菌药物杂志,2009,34(2):111-113.
- [9] 王悦,张鲁涛,史利克,等.呼吸科重症监护病房铜绿假单胞菌感染特征和耐药性分析[J].中国全科医学,2011,14(2):645.
- [10] 刘京平,孙恒彪,刘鹏飞,等.2010-2012 年 553 株铜绿假单胞菌感染分布及耐药性分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(8):979-980.

(收稿日期:2013-04-09)

• 经验交流 •

威海地区 342 名学龄前儿童乙肝表面抗体检测的结果分析

曾 静,何小芹

(威海市立医院西院区检验科,山东威海 264200)

摘要:目的 了解威海地区儿童在进行乙肝疫苗的计划免疫后,免疫应答的产生情况,从而给予医疗、保健人员及疫苗接种儿童更好地指导。**方法** 对 342 名来院就诊的患儿及入托查体的幼儿进行乙肝五项定量检测。**结果** 以抗体含量 HBsAg>10 IU/L 为抗体阳性,342 名幼儿抗体阳性率为 70.5%。**结论** 出生后的婴儿接种乙肝疫苗后,应于 1 岁半左右检查抗体产生情况,如无抗体应补种加强针;如反复接种后仍不产生抗体,应更换疫苗或增加疫苗剂量,以增加抗体时效。其他人在接种乙肝疫苗 3 年后,应定时检查抗体含量,如 HbsAg<10 IU/L 应复种。

关键词:乙肝表面抗体; 乙肝疫苗; 免疫应答

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.059

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)17-2325-02

乙肝表面抗体是人在注射乙肝疫苗或感染乙肝病毒后产生的具有保护性的抗体。乙肝主要侵犯儿童及青少年。由于儿童免疫功能尚未完善,婴幼儿免疫功能尚未健全,若感染乙肝病毒,往往体内不能清除病毒,日久形成免疫耐受,导致病毒携带状态。据统计在过去的几十年里,我国的乙肝患者曾高达 10%,在世界处于较高的水平。而接种乙肝疫苗是预防控制乙肝病毒唯一有效的方法。最新消息显示通过接种乙肝疫苗,中国乙肝患者从 9.75%降至 7.18%,预计至 2020 年,这一数字将降至 3%,从 2000~2011 年,中国共减少乙肝患者 3 000 万人口,引起世界瞩目。婴幼儿注射乙肝疫苗之后对应答的观察,不但是医疗、保健人员,也是接受疫苗接种者家长关注的问题,为了更好的给予指导,对部分接种者做调查如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 342 名来本院就诊儿科患者及入托幼儿。年龄分为 1~<2 岁,2~<4 岁,4~<6 岁。

1.2 仪器与试剂 罗氏的全自动电化学发光分析仪 Elecsys2010,原装试剂。

1.3 方法 取儿童静脉血,分离血清进行乙肝五项定量检测,HBsAg>10 IU/L 为抗体阳性。

2 结 果

对 342 名儿童进行检测结果比较显示 1~<2 岁儿童抗体阳性率为 82.3%(56/68),明显高于 2~<4 岁儿童 68.1%(146/220);4~<6 岁儿童抗体阳性率又有所提升为 72%(39/54),平均阳性率为 70.5%。

3 讨 论

新生儿注射乙肝疫苗后,乙肝表面抗体的阳性率随年龄的