

• 临床检验研究论著 •

# 医院临床分离病原菌抗菌药物敏感性分析<sup>\*</sup>

邹自英, 朱 冰, 曾 平, 谭积善, 孙 麒, 孙梦媛, 熊 杰<sup>△</sup>

(成都军区总医院检验科, 四川成都 610083)

**摘要:**目的 分析该院 2012 年临床分离病原菌的分布和耐药性, 为临床正确诊断和合理使用抗菌药物提供科学依据。方法 病原菌的分离按照《全国临床检验操作规程》第 3 版进行, 采用梅里埃公司的 VITEK 2 COMPACT 全自动微生物分析仪对菌株进行鉴定和抗菌药物敏感性检测, 结果依据 2012 年 CLSI M100-S22 折点判读。结果 从 20 319 例标本中共分离病原菌 6 018 株, 所占比例排名前 5 位的依次为鲍曼不动杆菌(19.14%)、大肠埃希菌(15.84%)、铜绿假单胞菌(14.57%)、肺炎克雷伯菌(14.29%)和金黄色葡萄球菌(5.62%)。标本来源于痰(47.02%)、无菌部位标本(22.04%)、血液(20.50%)、尿液(8.24%)和粪便(2.20%)。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和溶血葡萄球菌的检出率分别为 34.91%、77.18% 和 85.71%。未检出对万古霉素、利奈唑烷和替加环素耐药的葡萄球菌、屎肠球菌和粪肠球菌。产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌的检出率分别为 60.76%、29.53%、40.63%。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物保持高度敏感性, 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、黏质沙雷菌、产气肠杆菌、产酸克雷伯菌、奇异变形杆菌对亚胺培南的敏感率分别为 98.43%、95.58%、97.89%、100.00%、100.00%、93.75%、100.00%。非发酵菌对碳青霉烯类抗菌药物的敏感性较低, 鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌对亚胺培南的敏感率分别为 35.42% 和 59.52%。结论 该院临床分离菌以鲍曼不动杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌为主, 细菌的耐药性较为严重, 必须采取有效措施加以控制。

**关键词:** 抗菌药; 微生物敏感性试验; 抗药性, 细菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.007

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)04-0399-03

## Distribution and drug susceptibility of the pathogenic bacteria isolated from clinical specimens<sup>\*</sup>

Zou Ziyang, Zhu Bing, Zeng Ping, Tan Jishan, Sun Qi, Sun Mengyuan, Xiong Jie<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, PLA Chengdu Military Area

Command General Hospital, Chengdu, Sichuan 610083, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the distribution and drug resistance of clinical isolated pathogens so as to provide scientific basis for the correct diagnosis and rational use of antibiotics. **Methods** The isolation of pathogens was performed according to the National Clinical Laboratory Procedures. The identification and drug susceptibility of clinical isolates was carried out using the VITEK2 Compact system, and the results were determined based on the interpretation of CLSI 2012 break point. **Results** A total of 6 018 strains of pathogens were isolated from 20 319 specimens, among which *Acinetobacter baumannii* (19.14%), *Escherichia coli* (15.84%), *Pseudomonas aeruginosa* (14.57%), *Klebsiella pneumoniae* (14.29%), *Staphylococcus aureus* (5.62%) were the first five most common pathogens. The bacteria were mainly isolated from sputum (47.02%), other fluids (22.04%), blood (20.50%), urine (8.24%) and stool (2.20%). The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Staphylococcus haemolyticus* were 34.91%, 77.18% and 85.71%, respectively. No strains of vancomycin-, linezolid- and tigecycline-resistant *Staphylococci*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* were detected. The detection rates of the *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* producing extended  $\beta$ -lactamases (ESBLs) were 60.76%, 29.53% and 40.63%, respectively. Enterobacteriaceae remained at a high sensitivity to carbapenems, though imipenem-resistant Enterobacteriaceae have occurred. The non-fermenting bacteria were highly resistant to carbapenems. The imipenem-sensitive rates of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* were 35.42% and 59.52%, respectively. **Conclusion** *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* and *Staphylococcus aureus* were the five most common pathogens. Bacterial resistance situation is still serious and more effective measures should be taken to control it.

**Key words:** anti-bacterial agents; microbial sensitivity tests; drug resistance, bacterial

抗菌药物的广泛使用使得病原菌的耐药问题日趋严重, 临床经验治疗变得更为困难, 及时掌握病原菌的动态分布及其对抗菌药物的敏感性现状, 有助于指导临床合理使用抗菌药物, 控制和延缓病原菌耐药性的传播。本调查就医院 2012 年临床送检分离得到的病原菌的分布和及其对抗菌药物的敏感性进

行分析, 为临床医师抗菌药物的选择提供一定的参考依据。

### 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 2012 年临床送检 20 319 例标本, 含痰标本的有 9 553 例、无菌部位标本 4 479 例、血液标本 4 165 例、尿液标本 1 674 例、粪便标本 448 例, 从中共分离得到的病原菌

<sup>\*</sup> 基金项目: 四川省卫生厅科研课题资助项目(130318)。 作者简介: 邹自英, 女, 讲师, 主要从事临床微生物学与检验的研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: xiongjie1969@126.com。

6 018株。

**1.2 标准菌株** 大肠埃希菌 ATCC25922、阴沟肠杆菌 ATCC700323、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、铜绿假单胞菌 ATCC27853、超广谱  $\beta$ -内酰胺酶 (ESBLs) 阳性肺炎克雷伯菌 ATCC700603 购自卫生部临检中心。

**1.3 方法**

**1.3.1 菌株的鉴定和药敏试验** 采用法国梅里埃公司的 BacT/Alert3D 全自动血液培养仪进行血培养, VITEK2 COMPACT 全自动微生物分析仪及 GN、GP、YST、ANC、NHI 鉴定卡对细菌进行鉴定, AST-GN13、AST-GP67 药敏卡和 ATB FUNGUS3 检测菌株的药物敏感性。结果评价按 2012 年临床实验室标准化协会 (CLSI) M100-S22 文件进行判断。AST-GN13 检测的抗菌药物: 氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、头孢唑啉、头孢曲松、头孢他啶、头孢替坦、氨曲南、厄他培南、亚胺培南、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星、环丙沙星、左氧氟沙星、呋喃妥因。AST-GP67 检测的抗菌药物: 青霉素、氨苄西林、苯唑西林、克林霉素、红霉素、庆大霉素、四环素、利福平、磺胺甲噁唑、呋喃妥因、环丙沙星、莫西沙星、左氧氟沙星、喹奴普汀/达福普汀、利奈唑胺、万古霉素、替加环素。FUNGUS3 检测的抗真菌药物: 5 氟胞嘧啶, 两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑。头孢噻肟、头孢噻肟/克拉维酸、头孢他啶和头孢他啶/克拉维酸药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品。

**1.3.2 ESBLs 确证试验** AST-GN13 药敏卡通过 VITEK2 COMPACT 全自动微生物分析仪检测提示 ESBL 阳性的菌株均按 CLSI 推荐的方法, 将 0.5 麦氏单位菌液均匀涂布 M-H 平板, 将头孢噻肟 (30  $\mu$ g) 和头孢噻肟/克拉维酸 (30  $\mu$ g/10  $\mu$ g)、头孢他啶 (30  $\mu$ g) 和头孢他啶/克拉维酸 (30  $\mu$ g/10  $\mu$ g) 粘贴在涂布菌液的 M-H 平板上, 35  $^{\circ}$ C 培养 18 h, 测量抑菌圈直径, 两对纸片或其中任何一对纸片抑菌圈直径相差大于或等于 5 mm, 即为产 ESBLs 菌株。

**1.4 统计学处理** 采用 WHONET5.6 软件进行统计学分析。

**2 结 果**

**2.1 标本送检构成** 临床共送检 20 319 份标本, 其中痰液标本占 47.02% (9 553/20 319), 无菌部位标本占 22.04% (4 479/20 319), 血液标本占 20.50% (4 165/20 319), 尿液标本占 8.24% (1 674/20 319), 粪便标本占 2.20% (448/20 319)。

**2.2 病原菌检出分布** 从 20 319 例标本中共分离得到病原菌 6 018 株, 所占比例排前 5 位的依次为鲍曼不动杆菌 [19.14% (1 152/6 018)]、大肠埃希菌 [15.84% (953/6 018)]、铜绿假单胞菌 [14.57% (877/6 018)]、肺炎克雷伯菌 [14.29% (860/6 018)] 和金黄色葡萄球菌 [5.62% (338/6 018)]。

**2.3 细菌对抗菌药物的敏感率**

**2.3.1 肠杆菌科细菌** 产 ESBLs 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和产酸克雷伯菌检出率分别为 60.76%、29.53%、40.63%。肠杆菌科细菌对碳青霉烯抗菌药物高度敏感, 但已检出中介敏感度和耐药大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌和产酸克雷伯菌。主要肠杆菌科细菌对常用抗菌药物的敏感率见附表 1 (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.3.2 非发酵细菌** 鲍曼不动杆菌对首选药亚胺培南的敏感率仅为 35.42%。铜绿假单胞菌除对阿米卡星和妥布霉素的敏感率为 84.15% 和 74.12% 外, 对其余抗菌药物的敏感率均小于 70%, 对首选药头孢他啶的敏感率仅为 58.38%。临床常见非发酵菌对常用抗菌药物的敏感率见附表 2 (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.3.3 葡萄球菌属** 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和溶血葡萄球菌的检出率分别为 34.91%、77.18% 和 85.71%。未检出对万古霉素、利奈唑烷和替加环素耐药葡萄球菌。葡萄球菌属细菌对常用抗菌药物的敏感率见附表 3 (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.3.4 肠球菌属** 未检出对万古霉素、利奈唑烷和替加环素耐药肠球菌。其余检测的抗菌药物除喹奴普汀/达福普汀和四环素外, 屎肠球菌的耐药率均高于粪肠球菌。肠球菌属细菌对常用抗菌药物的敏感率见表 1。

| 抗菌药物      | 屎肠球菌( <i>n</i> =145 株) |        | 粪肠球菌( <i>n</i> =86 株) |        |
|-----------|------------------------|--------|-----------------------|--------|
|           | 敏感株( <i>n</i> )        | 敏感 (%) | 敏感株( <i>n</i> )       | 敏感 (%) |
| 替加环素      | 145                    | 100.00 | 86                    | 100.00 |
| 利奈唑烷      | 145                    | 100.00 | 86                    | 100.00 |
| 万古霉素      | 145                    | 100.00 | 86                    | 100.00 |
| 喹奴普汀/达福普汀 | 133                    | 91.72  | 8                     | 9.30   |
| 高浓度链霉素    | 89                     | 61.38  | 52                    | 60.47  |
| 四环素       | 74                     | 51.03  | 19                    | 22.09  |
| 高浓度庆大霉素   | 78                     | 53.79  | 40                    | 46.51  |
| 呋喃妥因      | 38                     | 26.21  | 67                    | 77.91  |
| 氨苄西林      | 24                     | 16.55  | 74                    | 86.05  |
| 青霉素 G     | 23                     | 15.86  | 34                    | 39.53  |
| 莫西沙星      | 17                     | 11.72  | 42                    | 48.84  |
| 左氧氟沙星     | 14                     | 9.66   | 40                    | 46.51  |
| 环丙沙星      | 8                      | 5.52   | 43                    | 50.00  |
| 克林霉素      | 8                      | 5.52   | 5                     | 5.81   |
| 红霉素       | 6                      | 4.14   | 6                     | 6.98   |

**2.3.5 肺炎链球菌** 苯唑西林耐药率 17.16%, 肺炎链球菌对抗菌药物的敏感率见表 2。

| 抗菌药物    | 敏感株( <i>n</i> ) | 敏感 (%) |
|---------|-----------------|--------|
| 万古霉素    | 107             | 100.00 |
| 美洛培南    | 107             | 100.00 |
| 头孢吡肟    | 106             | 99.07  |
| 左氧氟沙星   | 105             | 98.13  |
| 头孢曲松    | 105             | 98.13  |
| 苯唑西林    | 88              | 82.24  |
| 氯霉素     | 19              | 17.76  |
| 红霉素     | 12              | 11.21  |
| 复方磺胺甲噁唑 | 11              | 10.28  |
| 克林霉素    | 8               | 7.48   |

### 3 讨 论

2012 年临床共送检 20 319 份标本,共分离病原菌 6 018 株,阳性率 29.62%,低于文献报道的阳性率<sup>[1]</sup>,分析可能原因是大于 12 岁的患者痰标本未接种巧克力琼脂平板所致。为提高病原菌阳性检出率,从 2013 年开始对痰标本接种血琼脂平板、巧克力琼脂平板和麦康凯琼脂平板,从目前的情况来看,每日均可检出 5~10 株以上嗜血杆菌,相信随着流程的优化,2013 年的病原菌阳性率及菌种构成将发生相应的变化。2012 年病原菌检出前 5 位分别为鲍曼不动杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌,与文献报道病原菌检出趋势相似<sup>[2-3]</sup>,检出前 4 位均为条件致病性革兰阴性杆菌,可能与各种广谱抗菌药物、免疫抑制剂、激素等广泛使用有关。病原菌耐药性的升高使得机体内病原菌的生态平衡发生了改变,从而产生了革兰阳性菌生长受抑制,导致革兰阴性菌相对生长过快,条件致病菌增多的现象<sup>[4]</sup>。

肠杆菌科细菌中产 ESBLs 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和产酸克雷伯菌检出率分别为 60.76%、29.53%、40.63%。大肠埃希菌 ESBLs 产酶株检出率高于克雷伯菌,且高于多篇文献报道的 ESBLs 产酶株检出率<sup>[5-8]</sup>,产 ESBLs 使得菌株对青霉素类、头孢菌素类、单酰胺类的敏感性降低。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物高度敏感,亚胺培南仍可作为肠杆菌科细菌引发重症感染的首选抗菌药物,但已检出中介敏感度和耐药大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌和产酸克雷伯菌。

非发酵菌是重症监护病房的主要条件致病菌之一,对多种抗菌药物均易产生耐药性,临床治疗十分困难。鲍曼不动杆菌的耐药性非常严重,首选药亚胺培南的敏感率仅为 35.42%,比全国细菌耐药监测网报道的 39.9%的敏感率<sup>[9]</sup>及文献<sup>[10]</sup>报道的 ICU 病房分离株的 39.7%的敏感率略低。铜绿假单胞菌除对阿米卡星和妥布霉素的敏感率为 84.15%和 74.12%外,对其余抗菌药物的敏感率均小于 70%,对首选药头孢他啶的敏感率仅为 58.38%。不同非发酵菌的主导耐药机制可能存在差异,但耐药性也具有地域性特点,与用药习惯密切相关<sup>[11]</sup>,而非发酵菌的临床治疗策略强调综合治疗,选择敏感抗菌药物作为经验性治疗的抗菌药物是治疗成败的关键所在,将影响患者救治的成功率<sup>[10]</sup>。

葡萄球菌的检出以金黄色葡萄球菌为主,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和溶血葡萄球菌的检出率分别为 34.91%、77.18%和 85.71%。虽然未检出对万古霉素、利奈唑烷和替加环素耐药的葡萄球菌和肠球菌,但屎肠球菌的检出率远高于粪肠球菌,且屎肠球菌的耐药性高于粪肠球菌。有文献报道,与粪肠球菌相比较,屎肠球菌对万古霉素的最小抑菌浓度有向上漂移的趋势,且屎肠球菌耐药率高于粪肠球菌,对万古霉素的耐药率有逐年增加的趋势<sup>[12-13]</sup>,我国耐万古霉素的肠球菌主要以 vanA 型的屎肠球菌为主<sup>[14]</sup>。虽然本院目前未检出耐万古霉素肠球菌,但肠球菌属内菌株向屎肠球菌倾斜的现象增加了耐万古霉素菌株检出的可能性,应当引起高度重视。耐甲氧西林葡萄球菌携带多种耐药基因,呈现严重的多药耐药性,万古霉素作为治疗革兰阳性球菌特别是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染治疗的最经济有效的药物<sup>[15]</sup>,随着世界范

围内耐万古霉素金黄色葡萄球菌和肠球菌不断被检测出来,临床要根据实际情况保护性使用万古霉素,避免耐药菌株的产生。

肺炎链球菌对头孢菌素类、左氧氟沙星、美洛培南和万古霉素保持高度敏感性,但对苯唑西林的耐药率为 17.16%,提示青霉素对肺炎链球菌仍具有较高敏感性,但临床要根据药敏结果选择青霉素治疗由肺炎链球菌引发的感染。左氧氟沙星、头孢曲松和头孢吡肟对肺炎链球菌的敏感率大于 98%,说明左氧氟沙星、头孢曲松和头孢吡肟对呼吸道肺炎链球菌保持高度的抗菌活性,但肺炎链球菌对红霉素、克林霉素、氯霉素和磺胺甲噁唑的敏感率小于 20%。

### 参考文献

- [1] 李琼,孟红生,何静,等. 2011 年医院感染病原菌分布及药物敏感性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):5629-5631.
- [2] 沈萍,魏泽庆,陈云波,等. Mohnar 2011 年度报告:ICU 细菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):5472-5476.
- [3] 兰海丽,卢兰芬,欧阳能良,等. 综合性医院病原菌培养分布特征与耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):5626-5628.
- [4] 孔繁林,储从家,管新龙,等. 某医院 1999-2008 年临床分离细菌种群分布与变迁[J]. 中国感染控制杂志,2010,9(3):196-199.
- [5] 孙衡,沈继录,熊自忠,等. 临床血标本中产 ESBLs 大肠埃希菌耐药性检测[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(13):2810-2812.
- [6] 穆海霞,陈俊清,吴容,等. 产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶大肠埃希菌的耐药性及产酶因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,(19):4148-4150.
- [7] 蒋冬香,陈刚,王玉春,等. 产 ESBLs 大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌的临床分布与耐药性[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(2):371-373.
- [8] 陈如昌,王利健. 2006-2009 年重症监护病房医院感染大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(5):1013-1015.
- [9] 李耘,吕媛,郑波. 卫生部全国细菌耐药监测网 2011 年度非发酵革兰阴性杆菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志,2012,28(12):883-887.
- [10] 谢晓洪,盛鹰,高波,等. ICU 非发酵菌的耐药性分析与治疗对策[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):5615-5617.
- [11] 晏文强,刘国政,谢明水. 重症监护病房医院感染铜绿假单胞菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(1):146-147.
- [12] 郑波,吕媛. 卫生部全国细菌耐药监测网 2011 年革兰阳性菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志,2012,28(12):888-892.
- [13] 王国富,吴利先,薛士鹏. ICU 肠球菌属 esp 基因分布及对万古霉素耐药的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(13):2724-2726.
- [14] 周翠,吕美艳,徐琦煜,等. 屎肠球菌耐药特性及对万古霉素 MIC 值的变迁[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(5):1020-1022.
- [15] 王良兴,杨乐和,余方友,等. 金黄色葡萄球菌致肺部感染的耐药谱分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(4):769-771.

(收稿日期:2013-09-22)