

• 临床检验研究论著 •

3 年主要革兰阴性菌的耐药性变迁*

黄加铭¹, 马晓波^{1,2}, 张加勤^{1,2△}, 宋秀宇^{1,2▲}

(1. 福建医科大学第一临床医学院, 福建福州 350005; 2. 厦门大学附属第一医院检验科, 福建厦门 361003)

摘要:目的 分析临床分离的常见革兰阴性菌的分布及耐药情况, 为临床使用抗菌药物提供依据。方法 收集 2010 年 1 月至 2012 年 12 月临床标本中检出的革兰阴性菌, 分析其分布及耐药情况。结果 3 年间共检出革兰阴性菌 8 258 株, 前 4 位是大肠埃希菌(2 227 株, 27.0%), 肺炎克雷伯菌(1 363 株, 16.5%), 铜绿假单胞菌(1 141 株, 13.8%), 鲍曼不动杆菌(1 078 株, 13.1%)。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)菌株的总检出率分别为 50.6% 和 38.3%, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对亚胺培南和美罗培南敏感率最高, 值得注意的是肺炎克雷伯非 ESBLs 菌株对大部分三代头孢菌素类的耐药率呈逐年上升趋势。铜绿假单胞菌对氨基糖苷类抗菌药物、头孢吡肟和哌拉西林/他唑巴坦的敏感率均较高, 分别为 83.0%~96.4%、81.2%~82.8% 和 90.0%~94.7%, 鲍曼不动杆菌对大多数抗菌药物的耐药率有逐年下降趋势。结论 临床数据显示, 细菌耐药性的变化是不可预测的, 连续性监测对动态掌握抗菌药物的耐药趋势以指导抗菌治疗是必要的。

关键词:革兰阴性菌; 抗菌药物; 抗药性; 微生物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)07-0805-03

Surveillance on antimicrobial resistance in clinical isolates of common gram negative during three years*

Huang Jiaming¹, Ma Xiaobo^{1,2}, Zhang Jiaqin^{1,2△}, Song Xiuyu^{1,2▲}

(1. The First Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350005, China;

2. Department of Clinical Medicine, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361003, China)

Abstract: Objective To analyze the distribution and resistance of the gram-negative bacteria, and to put forward suggestions for clinical medication. **Methods** The retrospective analysis was conducted on distribution and drug-resistance profile of the gram-negative collected from both inpatients and outpatients in our hospital from January 2010 to December 2012. **Results** A total of 8 258 gram-negative strains were isolated from 2010 to 2012, the top four pathogens were *Escherichia coli* (2 227, 27.0%), *Klebsiella pneumoniae* (1 363, 16.5%), *Pseudomonas aeruginosa* (1 141, 13.8%), *Acinetobacter baumannii* (1 078, 13.1%). The prevalence of ESBLs producing strains was 50.6% in *Escherichia coli* and 38.3% in *Klebsiella pneumoniae* isolates on average. *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* had highest sensitive rate to imipenem and meropenem, particular attention was paid to the rate of non-ESBLs producing *Klebsiella pneumoniae* resistant to 3rd generation cephalosporins was increased year by year. *Pseudomonas aeruginosa* had relative higher resistant rate to aminoglycosides (83.0%—96.4%), cefepime (81.2%—82.8%) and piperacillin/tazobactam (90.0%—94.7%). Resistance of *Acinetobacter baumannii* to most of antibiotics was decreased year by year. **Conclusion** The results show that drug-resistance of pathogens are constantly changing, and continuous monitoring distribution and drug-resistance profile of pathogens can provide evidence to clinical antibacterial therapy.

Key words: gram negative bacteria; anti-bacterial agents; drug resistance, microbial

细菌通过先天的耐药机制、变异或遗传耐药基因元件的转移都可能对抗菌药物产生耐药^[1], 在革兰阴性菌中, 耐药机制影响不同类别抗菌药物的耐药性, 如四环素类、氨基糖苷类, 特别是在今天, 革兰阴性菌对氟喹诺酮类抗菌药物的耐药有极为重要的意义^[2]。此外, 抗菌药物耐药性不仅在地理区域有差异性, 而且在特定区域中随着时间的推移也可能发生巨大的变化。因此, 对革兰阴性菌进行连续耐药性趋势监测有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有标本均取自厦门大学附属第一医院

2010 年 1 月 1 日至 2012 年 12 月 31 日门诊及住院患者临床送检痰、尿、血、分泌物等临床标本, 细菌的分离培养严格按照《全国临床检验操作规程》操作^[3]。

1.2 仪器与试剂 血培养采用法国生物梅里埃公司 BacT/ALERT 3D 全自动血培养仪。细菌鉴定及药敏试验采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 compact 全自动微生物分析系统及配套鉴定药敏卡。

1.3 方法

1.3.1 药敏试验 细菌的药敏结果判读标准参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)2010 年制定的标准。质控菌株大肠埃

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81000762); 福建省自然科学基金资助项目(2010D018); 福建省卫生厅青年基金资助项目(2010-2-90)。作者简介: 黄加铭, 男, 在读研究生, 主要从事感染免疫与细菌耐药性研究。△ 通讯作者, E-mail: jqzhangxm@sina.com。▲ 通讯作者, E-mail: songxyxm@hotmail.com。

希菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)、阴沟肠杆菌(ATCC700323)、肺炎克雷伯菌(ATCC700603)等购自卫生部临床检验中心。

1.3.2 产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)菌株检测 采用 CLSI 推荐的 ESBLs 确证法测定大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中的产 ESBLs 菌株。

1.4 统计学处理 使用世界卫生组织病原菌耐药性监测中心推荐的 WHONET5.5 软件进行药物敏感性试验结果的统计学分析,纳入首次分离株,剔除同一标本中的重复菌株。

2 结 果

2.1 细菌分布情况

2.1.1 病原菌分布 3 年间共分离病原菌 15 000 株,其中革兰阴性菌 8 258 株(占 55.1%)。在革兰阴性菌中,前 4 位包括大肠埃希菌 2 227 株(27.0%),肺炎克雷伯菌 1 363 株(16.5%),铜绿假单胞菌 1 141 株(13.8%),鲍曼不动杆菌 1 078 株(13.1%),共占革兰阴性菌数的 70.3%。2010~2012 年 4 种常见革兰阴性菌的构成比,见表 1。

表 1 2010~2012 年 4 种常见革兰阴性菌的构成比[n(%)]

病原菌	2010 年	2011 年	2012 年	合计
大肠埃希菌	654 (34.1)	715 (41.2)	858 (39.9)	2 227 (38.3)
肺炎克雷伯菌	466 (24.3)	365 (21.0)	532 (24.7)	1 363 (23.5)
铜绿假单胞菌	365 (19.0)	340 (19.6)	436 (20.3)	1 141 (19.6)
鲍曼不动杆菌	435 (22.6)	317 (18.2)	326 (15.1)	1 078 (18.6)
合计	1 920(100.0)	1 737(100.0)	2 152(100.0)	5 809(100.0)

2.1.2 标本来源分布 标本分布主要是痰液、尿液、血液等,分别占 50.6%(2 941/5 809)、22.6%(1 314/5 809)、8.3%(482/5 809)。痰液中最常见的菌种为鲍曼不动杆菌(29.7%)、肺炎克雷伯菌(29.3%);尿液中为大肠埃希菌(76.3%)、肺炎克雷伯菌(11.7%);血液中大肠埃希菌(60.6%)、肺炎克雷伯菌(23.0%)。见表 2。

表 2 主要革兰阴性菌在各类标本中的分布(n)

标本来源	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	铜绿假单胞菌	鲍曼不动杆菌	合计
痰液	463	863	743	872	2 941
尿液	1 003	153	116	42	1 314
血液	292	111	38	41	482
烧伤	60	35	38	32	165
胆汁	88	38	14	9	149
其他	321	163	192	82	758
合计	2 227	1 363	1 141	1 078	5 809

2.1.3 ESBLs 检出率 3 年间大肠埃希菌 ESBLs 检出率分别为 49.1%(321/654)、50.9%(363/715)、51.9%(445/858),3 年的平均检出率为 50.6%;肺炎克雷伯菌中产 ESBLs 菌株检出率分别为 37.5%(174/466)、39.2%(143/365)、38.3%(203/532),3 年的平均检出率为 38.3%。

2.2 药敏结果

2.2.1 主要肠杆菌科对抗菌药物的耐药率变迁 肺炎克雷伯菌对庆大霉素、氨苄西林/舒巴坦及部分头孢菌素的耐药率呈逐年上升趋势,特别是头孢替坦从 5.9% 上升至 29.7%,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对阿米卡星、亚胺培南的耐药率最低,大肠埃希菌对厄他培南的耐药率较低,而肺炎克雷伯菌对厄他培南的耐药率呈逐年上升,β-内酰胺酶抑制剂能明显增加 β-内酰胺酶类抗菌药物的活性,二者对哌拉西林/他唑巴坦的耐药率较低。

2.2.2 主要非发酵菌对抗菌药物的耐药率变迁 铜绿假单胞菌对大部分抗菌药物的耐药率保持相对稳定的水平,对氨基糖苷类、哌拉西林/他唑巴坦和头孢吡肟有较低水平的耐药率,均低于 11.0%,对左氧氟沙星、亚胺培南的耐药率逐年下降,但对哌拉西林/他唑巴坦的耐药率呈逐年上升。鲍曼不动杆菌除对阿米卡星的耐药率小于 4.8%,对其他抗菌药物耐药率均大于 30.8%,其中对部分头孢菌素类、氨基曲南、呋喃妥因的耐药率均大于 95.4%,对氨苄西林的耐药率呈逐年上升,而对氨基糖苷类、部分头孢类、呋喃妥因、亚胺培南、氨苄西林/舒巴坦和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率均呈逐年下降趋势。

3 讨 论

资料显示,本院分离的主要革兰阴性病原菌数量有上升趋势,占检出细菌总量的 55.1%,这比 2011 年胡付品等^[4]报道的低。标本分离中最常见的革兰阴性菌的是大肠埃希菌,其次是肺炎克雷伯菌,铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌,与文献^[5-7]报道大致相同。前 4 位革兰阴性菌中,大肠埃希菌所占的比例有增加的趋势,肺炎克雷伯菌和铜绿假单胞菌相对保持稳定,而鲍曼不动杆菌所占的比例有逐年下降趋势。大肠埃希菌在尿液的检出率高,而肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌以痰液标本为主。标本的分布与本院 2005~2006 年报道的大致相同^[8],而科室分布发生了基本改变,总的检出病原菌数也有较大的增加。

治疗革兰阴性菌最有效的药物是亚胺培南和阿米卡星。从本院 3 年间的病原菌耐药性监测结果表明,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对阿米卡星、亚胺培南的耐药率最低,但对三代头孢菌素类已表现出不同程度的耐药性,原因可能是医生在医院抗感染中常用三代头孢菌素类经验性用药,使部分病原菌产生了 ESBLs,这可能与肠杆菌科细菌产 ESBLs 和 AmpC 有关。本研究显示,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株的总检出率分别为 50.6% 和 38.3%,与文献^[4]报道相一致。大肠埃希菌产 ESBLs 菌株率略有上升,肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株保持相对稳定水平,但从本研究资料显示,肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株与非 ESBLs 菌株同时对氨苄西林/舒巴坦、庆大霉素耐药率均呈逐年上升趋势,特别是非 ESBLs 菌株对氨基曲南、头孢曲松、头孢他啶、头孢唑啉耐药率均呈逐年上升趋势,且幅度较大。作者前期研究,肺炎克雷伯菌在儿科所占的比例最高,具体的耐药机制需要进一步研究探索。

本研究结果与本院 2005~2006 年研究结果相比^[8],铜绿假单胞菌对氨基糖苷类、喹诺酮类、头孢吡肟的耐药率有明显下降趋势,对氨基曲南、头孢曲松的耐药率有上升趋势,但对常用抗菌药物的耐药率都低于监测数据^[4,9],本院铜绿假单胞菌对

哌拉西林/他唑巴坦和头孢吡肟的耐药率虽然低,但有逐年上升趋势,应引起注意。

鲍曼不动杆菌已成为医院感染的重要致病菌,对多种常用抗菌药物耐药,极易引起临床传播,虽然近年来国内外报道临床分离率及耐药率越来越高^[10],但本院分离率及耐药率均有下降的趋势,与文献^[11-12]报道不一致。提示这一变迁趋势可能与本院院感科等相关部门重视对 ICU 的监控、指导,以及在加强医院感染的控制与预防有关。

综上所述,掌握细菌分布及变迁的药敏情况,对及时发现个别菌种耐药性的变化、合理应用抗菌药物及控制感染性疾病有重要的指导作用。

参考文献

[1] Balode A, Punda-Polic V, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative and Gram-positive bacteria collected from countries in Eastern Europe; results from the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T. E. S. T.) 2004 - 2010 [J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 41(6): 527-535.
 [2] Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens [J]. Int J Med Microbiol, 2010, 300(6): 371-379.
 [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 452-470.

[4] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 321-329.
 [5] 彭晓燕, 姚冰, 李晓波, 等. 2009~2011 年医院革兰阴性菌分布及耐药性分析 [J]. 西北药学杂志, 2013, 28(2): 201-203.
 [6] 李德保, 任冬梅, 田春梅, 等. 2008~2010 年某院临床主要病原菌分布及耐药性变迁 [J]. 中国感染控制杂志, 2013, 12(1): 54-58.
 [7] Ko WC, Hsueh PR. Increasing extended-spectrum beta-lactamase production and quinolone resistance among gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections in the Asia/Pacific region data from the smart study 2002 - 2006 [J]. J Infect, 2009, 59(2): 95-103.
 [8] 郑港森, 宋秀宇. 2005—2006 年医院常见革兰阴性杆菌的分布与耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(9): 1320-1322.
 [9] 张玮博, 倪语星, 孙景勇, 等. 2010 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, 2012, 12(3): 161-166.
 [10] 刘德新, 卢俊英, 田加坤, 等. 综合性 ICU 鲍曼不动杆菌肺部感染调查及耐药性分析 [J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(1): 127-129.
 [11] 夏晓影, 贾蓓, 王群, 等. 常见革兰阴性杆菌 3 年耐药性监测 [J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(10): 783-788.
 [12] 朱任媛, 张小江, 赵颖, 等. CHINET 2011 年北京协和医院细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(6): 428-434.

(收稿日期: 2013-11-14)

(上接第 802 页)

Per2 的表达, 分析 Per2 在 C/EBP α 的下游所扮演的重要角色。由于转入 K562 细胞中的 C/EBP α 是带绿色荧光标记, 为了鉴别, 作者特意合成了带有红色荧光标记的 siRNA Per2 进行实验。在本研究中采用的 pGenesi-3 质粒含有红色荧光蛋白表达基因及新霉素选择性抗性标记基因, 适用于阳性克隆细胞株的筛选。通过干扰 Per2 的表达, 作者发现细胞周期中的重要调控基因 c-myc 和 cyclinB1 明显恢复表达, 而 p53 的表达出现下调, 说明 Per2 在 C/EBP α 的下游对基因的调控具有重要的作用, 存在 C/EBP α 调控 Per2 基因进而影响细胞周期进程的信号通路。

C/EBP α 在 K562 细胞中的促分化和诱导凋亡功能提示其将在 CML 的治疗中发挥较强的作用, 对其表达水平的检测有可能成为肿瘤监测和预后评估的新指标。但 C/EBP α -Per2 信号通路在 CML 中的具体调控机制仍需深入研究。

参考文献

[1] Friedman AD. Transcriptional control of granulocyte and monocyte development [J]. Oncogene, 2007, 26(47): 6816-6828.
 [2] Shimokawa T, Nunomura S, Fujisawa D, et al. Identification of the C/EBP α C-terminal tail residues involved in the protein interaction with GABP and their potency in myeloid differentiation of K562 cells [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1829(11): 1207-1217.
 [3] Fragiasso V, Chiodo Y, Ferrari-Amorotti G, et al. Phosphorylation of serine 21 modulates the proliferation inhibitory more than the differentiation inducing effects of C/EBP α in K562 cells [J]. J Cell Biochem, 2012, 113(5): 1704-1713.

[4] 孙成铭, 黄世峰, 罗红伟, 等. CCAAT/增强子结合蛋白 α 对 K562 细胞分化和凋亡的影响及机制 [J]. 肿瘤, 2009, 29(3): 220-225.
 [5] Gery S, Gombart AF. Transcription profiling of C/EBP targets identifies Per2 as a gene implicated in myeloid leukemia [J]. Blood, 2005, 106(8): 2827-2836.
 [6] Gold JM, Melo JV. Chronic myeloid leukemia—advances in biology and new approaches to treatment [J]. N Engl J Med, 2003, 349(15): 1451-1464.
 [7] Gery S, Koeffler HP. Per2 is a C/EBP target gene implicated in myeloid leukemia [J]. Integr Cancer Ther, 2009, 8(4): 317-320.
 [8] Thoennissen NH, Thoennissen GB, Abbassi S, et al. Transcription factor CCAAT/enhancer-binding protein alpha and critical circadian clock downstream target gene PER2 are highly deregulated in diffuse large B-cell lymphoma [J]. Leuk Lymphoma, 2012, 53(8): 1577-1585.
 [9] Yang MY, Yang WC, Lin PM, et al. Altered expression of circadian clock genes in human chronic myeloid leukemia [J]. J Biol Rhythms, 2011, 26(2): 136-148.
 [10] Wagner K, Zhang P, Rosenbauer F, et al. Absence of the transcription factor CCAAT enhancer binding protein α results in loss of myeloid identity in bcr/abl-induced malignancy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(16): 6338-6343.
 [11] Ferrari-Amorotti G, Mariani SA, Novi C, et al. The biological effects of C/EBP α in K562 cells depend on the potency of the N-terminal regulatory region, not on specificity of the DNA binding domain [J]. J Biol Chem, 2010, 285(40): 30837-30850.

(收稿日期: 2013-10-23)