

· 临床检验研究论著 ·

# 临床分离铜绿假单胞菌分布及耐药性分析\*

房丽丽<sup>1</sup>, 宋秀宇<sup>2△</sup>, 马晓波<sup>1</sup>, 郑燕青<sup>1</sup>, 朱波<sup>1</sup>, 郑港森<sup>1</sup>

(1. 厦门大学附属第一医院检验科, 福建厦门 361003; 2. 厦门市中心血站, 福建厦门 361004)

**摘要:**目的 了解铜绿假单胞菌的临床分布及耐药性特性。方法 对医院 2007 年 7 月至 2008 年 10 月细菌培养和药敏试验的结果进行回顾性分析。结果 共分离铜绿假单胞菌 335 株, 占总病原菌 9.2%; 主要标本来源是痰液, 占 77.6%。高发病区是 ICU 病房。铜绿假单胞菌对丁胺卡那霉素、哌拉西林/他唑巴坦、妥布霉素、左氧氟沙星、头孢吡肟、庆大霉素、替卡西林及环丙沙星 12 种常用抗菌药物耐药率小于 10%。对亚胺培南不敏感的铜绿假单胞菌对氨基曲南、头孢他啶、环丙沙星、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率明显高于对亚胺培南敏感的铜绿假单胞菌( $P < 0.05$ )。结论 铜绿假单胞菌多重耐药现象普遍存在, 建议治疗选用丁胺卡那霉素、哌拉西林/他唑巴坦、妥布霉素。

**关键词:**铜绿假单胞菌; 抗药性; 微生物; 病原菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)16-2142-03

## Distribution and drug resistance of clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa*\*

Fang Lili<sup>1</sup>, Song Xiuyu<sup>2△</sup>, Ma Xiaobo<sup>1</sup>, Zheng Yanqing<sup>1</sup>, Zhu Bo<sup>1</sup>, Zheng Gangsen<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361003, China;

2. Xiamen Municipal Blood Center, Xiamen, Fujian 361004, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical distribution and the drug resistance characteristics of *Pseudomonas aeruginosa*. **Methods** The results of the bacterial culture and the antimicrobial susceptibility test in the hospital from July 2007 to October 2008 were performed the retrospective analysis. **Results** Totally 335 strains of *Pseudomonas aeruginosa* were isolated, accounting for 9.2% of isolated pathogenic bacteria. The main specimen source was sputum, accounting for 77.6%. The ICU ward was the high incidence area. The resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa* to amikacin, piperacillin/tazobactam, tobramycin, levofloxacin, cefepime, gentamicin, ticarcillin and ciprofloxacin were less than 10%. The resistance rates of imipenem-insensitive *Pseudomonas aeruginosa* to aztreonam, ceftazidime, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacillin/tazobactam were significantly higher than those in imipenem-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The multiple drug resistance phenomena of *Pseudomonas aeruginosa* generally exist, amikacin, piperacillin/tazobactam and tobramycin are recommended for the treatment of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*; drug resistance; microbial; pathogenic bacterium

铜绿假单胞菌(PA)又称绿脓杆菌,自 1882 年首次从患者化脓伤口中分离出来,都是重要的医院感染的条件致病菌<sup>[1]</sup>,且对多种常用抗菌药物耐药,给临床治疗带来很大的困难。本文通过回顾分析本院 335 株铜绿假单胞菌的病区分布及耐药结果,为临床合理使用抗菌药物提供实验室依据。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2007 年 7 月至 2008 年 10 月本院临床标本分离铜绿假单胞菌 335 株(同一患者同类标本分离菌株不重复计入)。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 和金黄色葡萄球菌 ATCC25923 均购自福建省临床检验中心。

**1.2 仪器与试剂** VITEK 2 Compact 自动细菌鉴定及药敏测定仪及其专用鉴定卡及药敏卡; BacT/ALERT 3D 自动血培养仪、VITEX 比浊仪均购自法国生物梅里埃公司; HEPA CLASS 100 二氧化碳孵育箱购自美国 Thermo 公司; MH 培养基和营养琼脂培养基均购自杭州天和微生物试剂有限公司。

**1.3 方法** 标本采集和分离培养严格按照《全国临床检验操作规程》第 3 版进行,获得纯培养后,经革兰染色、氧化酶试验

等初筛,再用 VITEK 2 Compact 进行菌株鉴定和药敏分析,严格按照仪器操作规程进行操作。黏液型铜绿假单胞菌用 K-B 法检测药敏。

**1.4 统计学处理** 所有数据采用 SPSS14.0 统计软件包进行统计分析。各病区铜绿假单胞菌分离率的比较、不同标本铜绿假单胞菌分离率的比较及对亚胺培南不敏感的铜绿假单胞菌和对亚胺培南敏感的铜绿假单胞菌对常用抗菌药物敏感性差异比较均采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 分离率** 3 653 株病原菌中,分离出铜绿假单胞菌 335 株,占 9.2%,其中 6 株为黏液型铜绿假单胞菌。

**2.2 病区分布** ICU 患者标本铜绿假单胞菌的分离率居全院首位,为 14.0%(47/335);内科患者中,呼吸内科患者分离率最高,为 8.7%(29/335);耳鼻喉外科患者铜绿假单胞菌分离率居本院外科系统首位,为 6.0%(20/335),见表 1。

**2.3 标本分布结果**,见表 2。

**2.4 335 株铜绿假单胞菌**中有 44 株对亚胺培南不敏感,占 13.1%。有 30%对亚胺培南不敏感的铜绿假单胞菌对美罗培

\* 基金项目:福建省卫生计生厅青年项目资助(2008-1-50)。 作者简介:房丽丽,女,主管技师,主要从事细菌耐药研究。 △ 通讯作者, E-mail: songxyxm@hotmail.com。

南敏感。18 株(5.4%)铜绿假单胞菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药同时对氨基糖苷类和喹诺酮类交叉且多重耐药。对丁胺卡那霉素敏感性为 94.9%，对庆大霉素为 87.5% 敏感。替卡西林和哌拉西林/他唑巴坦对铜绿假单胞菌有较强的抗菌活性，敏感率 91.3%~95.2%，第三代及第四代头孢菌素、氨基曲南、喹诺酮类等抗菌活性差，敏感率为 14.9%~60.0%。具体药敏情况见图 1、2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。44 株对亚胺培南不敏感的铜绿假单胞菌和 291 株对亚胺培南敏感的铜绿假单胞菌对常用抗菌药物敏感性比较，丁胺卡那霉素、头孢曲松、头孢吡肟、庆大霉素、复方磺胺甲噁唑、替卡西林、妥布霉素之间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )，而氨基曲南、头孢他啶、环丙沙星、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )，见表 3。

表 1 临床分离铜绿假单胞菌病区分布

科室	分离例数(n)	构成比(%)
ICU	47	14.0
呼吸内科	29	8.7
儿科	28	8.4
新生儿科	27	8.1
神经内科	25	7.5
干部科	23	6.9
消化内科	20	6.0
耳鼻喉外科	20	6.0
血液科	18	5.4
神经外科	18	5.4
心血管内科	12	3.6
肝胆胰外科	11	3.3
肾内科	8	2.4
骨科	7	2.1
内分泌科	6	1.8
肿瘤内科	6	1.8
风湿免疫科	5	1.5
胸外科	5	1.5
普外科	5	1.5
泌尿外科	4	1.2
烧伤科	4	1.2
其他	7	2.1
合计	335	100.0

表 2 临床分离铜绿假单胞菌标本分布

标本类型	分离例数(n)	构成比(%)
痰液	260	77.6
中段尿	14	4.2
分泌物	14	4.2
血液	11	3.3
咽拭子	10	3.0
胆汁	8	2.4
脓	6	1.8
引流液	5	1.5
粪便	5	1.5
其他	2	0.6
合计	335	100.0

表 3 常用抗菌药物敏感性比较(%)

抗菌药物	IMP 不敏感 PA (n=44)		IMP 敏感 PA (n=291)		$\chi^2$	P
	耐药	不耐药	耐药	不耐药		
丁胺卡那霉素	9.1	90.9	2.4	97.6	3.5	>0.05
氨基曲南	59.1	40.9	18.9	81.1	33.7	<0.05
头孢他啶	29.5	70.5	8.6	91.4	14.7	<0.05
环丙沙星	31.8	68.2	6.5	93.5	24.8	<0.05
头孢曲松	84.1	15.9	85.9	14.1	0.1	>0.05
头孢吡肟	15.9	84.1	6.9	93.1	3.1	>0.05
庆大霉素	13.6	86.4	7.9	92.1	1.0	>0.05
左氧氟沙星	25.0	75.0	4.8	95.2	19.7	<0.05
复方磺胺甲噁唑	100.0	0.0	97.9	2.1	0.1	>0.05
替卡西林	11.4	88.6	8.2	91.8	0.2	>0.05
妥布霉素	13.6	86.4	5.2	94.8	3.3	>0.05
哌拉西林/他唑巴坦	15.9	84.1	3.1	96.9	11.1	<0.05

3 讨 论

铜绿假单胞菌常感染免疫力低下的人群，其致病机制包括生物被膜的形成、外源性凝集素的表达、内毒素的存在和降解等<sup>[2]</sup>。本研究中铜绿假单胞菌分离率为 9.2%(335/3 653)，略高于方正子等<sup>[3]</sup>报道 7%。同时发现 ICU 患者铜绿假单胞菌分离率显著高于内、外科系统患者，与国内其他报道相一致<sup>[4]</sup>。ICU 患者长期住院、大量使用广谱抗菌药物、经常接受静脉插管、尿道插管和呼吸机辅助呼吸等侵入性治疗，造成机体抵抗力低下，增加了铜绿假单胞菌医院感染的机会。

痰液标本铜绿假单胞菌分离率比血液标本高。与文献<sup>[5-6]</sup>的报道相同。血液标本铜绿假单胞菌阳性时，该患者的痰液标本往往也可同时分离出铜绿假单胞菌。

铜绿假单胞菌具有固有耐药和获得性耐药，经常表现对  $\beta$ -内酰胺类、喹诺酮类、氯霉素类和磺胺类等抗菌药物的多重耐药<sup>[1,7-8]</sup>，耐药率呈逐年上升趋势，且与抗菌药物使用量存在相关性<sup>[9]</sup>。44 株对亚胺培南不敏感的铜绿假单胞菌和 291 株对亚胺培南敏感的铜绿假单胞菌对常用抗菌药物敏感性结果显示：丁胺卡那霉素、头孢曲松、头孢吡肟、庆大霉素、复方磺胺甲噁唑、替卡西林、妥布霉素之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )；而氨基曲南、头孢他啶、环丙沙星、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )，表明本院对亚胺培南不敏感的铜绿假单胞菌为多耐药菌株，耐药机制复杂。

本院有 18 株铜绿假单胞菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药同时对氨基糖苷类和喹诺酮类交叉且多重耐药。多重耐药的铜绿假单胞菌感染已对临床抗感染治疗构成严重威胁，为减少医院感染发生，有必要建立一个完善的医院感染监测系统，坚持以病原菌的实验室检出为依据，合理使用抗菌药物，有效控制耐药细菌的蔓延，尤其是耐亚胺培南的铜绿假单胞菌引起医院感染的流行。

参考文献

[1] 曹敬荣,沈定霞.铜绿假单胞菌多药主动外排系统研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2006,6(2):135-139. (下转第 2146 页)

生率分别为 55.0%、21.4%<sup>[6-7]</sup>。在本次研究中,菌株标本类型以痰液占 55.5% 为主,科室分布以重症监护病房 20.9% 为主;药敏试验显示,铜绿假单胞菌对测试药物敏感性较好均大于 70% 以上,对 IPM 和 MEM 耐药率较低分别为 8.5%, 9.5%;然而鲍曼不动杆菌对测试药物耐药率较高达 35.2%~77.4%,对 IPM 和 MEM 耐药率分别为 35.2%、39.1%,对 SCF 和 PB 较高抗菌活性(80.0%~90.9%);多重耐药及泛耐药鲍曼不动杆菌医院感染发生率要高于铜绿假单胞菌分别为 44.7% 和 24.0%, 9.1% 和 2.8%, 低于上述的报道<sup>[6-7]</sup>。可能的解释是,与医院结构、用药习惯、院感防控等有关。然而值得注意的是,研究者调查医院感染细菌耐药性,并不包括临床所有分离菌,数据可能更有说服力。

碳青霉烯酶的产生是铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌耐碳青霉烯类药物主要机制之一<sup>[8]</sup>。本研究结果显示:铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶表型检出率分别为 27.5%, 75.5%, 与刘星等<sup>[9]</sup>报道一致。然而金属 β-内酰胺酶(MBL)是国内外学者研究较多的一种碳青霉烯酶<sup>[8]</sup>。在本次研究中,11 株碳青霉烯酶表型阳性铜绿假单胞菌中,金属酶初筛阳性占 18.2%;37 株碳青霉烯酶表型阳性鲍曼不动杆菌中,金属酶初筛阳性占 2.7%。可见,铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌金属酶检出率较低,与国内学者报道基本一致<sup>[10]</sup>。因为有文献<sup>[11]</sup>报道,耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌耐药机制主要是孔蛋白丢失和主动外排活跃。同样地,Zhou 等<sup>[12]</sup>报道,耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌耐药机制主要是和 D 类酶有关如 OXA-23 基因型等。

本研究存在一些不足。(1)表型方法结果判读,主观性较强<sup>[13]</sup>,需要经验丰富技术人员,比如本试验中出现几株不确定性结果。(2)尽管采用分子生物学手段可以确定菌株是否产碳青霉烯酶和(或)金属酶以及基因分型,但这需要相应的设备、技术、人员,更重要的是需要基于当地耐药模式、菌种类型等<sup>[5,10-12]</sup>。

总之,多重耐药及泛耐药铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌医院感染不容忽视,应加强耐药菌株的监测、抗菌药物的合理使用,防止耐药菌株的播散。另一方面,碳青霉烯酶和金属酶表型检测要基于当地耐药模式、耐碳青霉烯类菌株发生率以及菌种类型等。

参考文献

[1] Miyakis S, Pefanis A, Tsakris A. The challenges of antimicrobial drug resistance in Greece[J]. Clin Infect Dis, 2011, 53(2): 177-184.

[2] Crespo MP, Woodford N, Sinclair A, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo-beta-lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(11): 5094-5101.

[3] 方子正, 宋秀兰, 沈鸿, 等. 1 850 株病原菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(1): 95-96.

[4] 杨虹, 王丽, 温见翔, 等. 近 5 年铜绿假单胞菌和大肠埃希菌的耐药性变迁研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(8): 936-940.

[5] 赵津彩, 张跃栋. 520 株铜绿假单胞菌临床分布和耐药性分析[J]. 检验医学, 2013, 28(8): 734-735.

[2] Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picão RC, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, 8(1): 71-93.

[3] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(3): 268-281.

[4] Lee K, Lim YS, Yong D, et al. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolate of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(1): 4623-4629.

[5] Picão RC, Andrade SS, Nicoletti AG, et al. Metallo-beta-lactamase detection: comparative evaluation of double-disk synergy versus combined disk tests for IMP-, GIM-, SIM-, SPM-, or VIM-producing isolates[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(6): 2028-2037.

[6] 张祎博, 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.

[7] 习慧明, 徐英春, 朱德妹, 等. 2010 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(2): 98-104.

[8] 谷秀梅, 杨敏, 刘文恩. 产碳青霉烯酶菌株实验室检测研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 24(1): 68-70.

[9] 刘星, 张晓兵, 罗阳, 等. 产碳青霉烯酶鲍氏不动杆菌的表型筛选研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(10): 1941-1944.

[10] Qu TT, Zhang JL, Wang J, et al. Evaluation of phenotypic tests for detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains in China [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(4): 1136-1142.

[11] He C, Xie Y, Fan H, et al. Spread of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* of European clone II in Western China [J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 38(3): 257-260.

[12] Zhou H, Yang Q, Yu YS, et al. Clonal spread of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* among different cities of China [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(12): 4054-4057.

[13] Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, et al. Comparison of the double-disk, combined disk, and E-test methods for detecting metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2004, 49(1): 5-11.

(收稿日期: 2014-02-01)

(上接第 2143 页)

[2] Crespo MP, Woodford N, Sinclair A, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo-beta-lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(11): 5094-5101.

[3] 方子正, 宋秀兰, 沈鸿, 等. 1 850 株病原菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(1): 95-96.

[4] 杨虹, 王丽, 温见翔, 等. 近 5 年铜绿假单胞菌和大肠埃希菌的耐药性变迁研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(8): 936-940.

[5] 赵津彩, 张跃栋. 520 株铜绿假单胞菌临床分布和耐药性分析[J]. 检验医学, 2013, 28(8): 734-735.

[6] 周林涛, 刘晓云, 朱柏珍, 等. 临床分离的铜绿假单胞菌的分布及耐药性变迁[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(13): 1696-1697.

[7] 李力华, 范文. 荆州市多药耐药铜绿假单胞菌的耐药特性探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(6): 1227-1228.

[8] 庞众多, 李依萍, 鲁彦. 102 株铜绿假单胞菌的分布和耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(8): 1073-1074.

[9] 张瑞琴, 陈灿, 王凤芝, 等. 医院内科系统铜绿假单胞菌耐药与抗菌药物的使用的相关性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(7): 539-544.

(收稿日期: 2014-02-03)