

• 论 著 •

云南省某大型综合医院临床病原菌的分布及耐药分析

黄艳梅, 满宝华, 谭红丽[△]

(云南省第三人民医院检验科, 云南昆明 650011)

摘要:目的 了解医院临床分离病原菌的分布特点及耐药情况, 为临床合理选用抗菌药物提供依据。方法 回顾性分析 2012 年 1 月至 2013 年 12 月医院临床标本中分离的病原菌, 采用 VITEK2-compact 全自动细菌分析仪进行鉴定和药敏试验。按美国临床和实验室标准协会(CLSI)2013 标准判断结果, 应用 WHONET5.6 软件进行统计和分析。结果 2012~2013 年医院共分离病原菌 2 744 株, 其中革兰阴性菌 1 986 株(占 72.4%), 革兰阳性菌 675 株(占 24.6%), 真菌 83 株(占 3.0%)。排列前三位革兰阴性菌为大肠埃希菌 694 株(25.3%)、肺炎克雷伯菌 303 株(11.0%)和铜绿假单胞菌 266 株(9.7%); 排列前三位革兰阳性菌为金黄色葡萄球菌 184 株(6.7%)、凝固酶阴性葡萄球菌 146 株(5.3%)和屎肠球菌 119 株(4.3%), 以呼吸道、尿路、血液感染为主, 其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)检出率为 45.7%, 耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRSCN)检出率为(84.6%), MRSA 对氨基糖苷类、喹诺酮类抗菌药物呈多重耐药, 耐药率均大于 90.0%, 对大环内酯类抗菌药耐药率小于 50.0%; 未发现耐万古霉素和利奈唑胺的葡萄球菌; 屎肠球菌对万古霉素的耐药率为 1.7%, 未发现对利奈唑胺耐药的屎肠球菌。产 ESBLs 大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌的检出率分别为 65.2%和 39.9%, 大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率分别为 0.0%和 6.3%, 鲍曼不动杆菌对常用抗菌药物的耐药率达 50.0%以上, 铜绿假单胞菌对常用的抗假单胞菌活性的药物的耐药率小于 40.0%。结论 2012~2013 年医院分离病原菌耐药现象较为普遍, 特别是多重耐药的非发酵菌; 产酶等机制导致多种抗菌药物耐药的肠杆菌科细菌、MRSA 和 MRSCN 检出率上升, 给临床抗感染治疗造成极大的困难。开展细菌耐药性监测, 对指导临床合理使用抗菌药物, 降低医院感染率和控制细菌耐药性有重要意义。

关键词: 细菌; 抗菌药物; 耐药分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.012

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)07-0892-03

Analysis on distribution and drug-resistance of clinical pathogenic bacteria in a large scale general hospital in Yunnan province

Huang Yanmei, Man Baohua, Tan Hongli[△]

(Department of Clinical Laboratory, Yunnan Provincial Third People's Hospital, Kunming, Yunnan 650011, China)

Abstract: **Objective** To investigate the distribution and drug resistance situation of clinical isolated bacteria in our hospital to provide the basis for rational selection of antibacterial drugs in clinic. **Methods** The pathogenic bacteria isolated from the clinical specimens in our hospital from January 2012 to December 2013 were performed the identification and drug susceptibility test by adopting the the bioMerieux VITEK-2 compact automatic bacterial analyzer. The detection results were judged according to the standard of the Clinical and Laboratory Standard Institute(CLSI). The WHONET5.6 software was used for conducting the statistical analysis. **Results** 2 274 strains were isolated during 2012—2013, in which 1986 strains (72.4%) were Gram-negative bacteria, 675 strains(24.6%) were Gram-positive bacteria and 94 cases(3.0%) were fungi. The top 3 of Gram-negative bacteria were Escherichia coli(694 strains, 25.3%), Klebsiella pneumoniae (303 strains, 11.0%) and Pseudomonas aeruginosa (266 strains, 9.7%) respectively. The top 3 of Gram-positive bacteria were Staphylococcus aureus(184 strains, 6.7%), coagulase negative staphylococcus(146 strains, 5.3%) and enterococcus faecium(119 strains, 4.3%). The respiratory tract infection, urinary tract infection and blood infection were predominant. The detection rate of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) was 45.7%, while which of methicillin-resistant coagulase negative Staphylococcus(MRCNS) was 84.6%. MRSA showed the multiple resistance to fluoroquinolones and aminoglycosides antibacterial drugs, the resistance rate > 90.00%, but resistance rate macrolide antibiotic was < 50.0%; no vancomycin-and linezolid-resistant Staphylococcus was found; the resistance rate of enterococcus faecium to vancomycin was 1.7% and no linezolid-resistant enterococcus faecium was detected. The detection rates of extended-spectrum β -lactamase-producing K. pneumoniae and E. coli were 65.2% and 39.9% respectively, and which of E. coli and K. pneumoniae to imipenem were 0% and 6.3% respectively. The resistance rate of Acinetobacter baumannii to commonly used antibacterial drugs was more than 50%. The resistant rate of pseudomonas aeruginosa to common antipseudomonal drugs was < 40.0%. **Conclusion** The drug resistance phenomena of pathogenic bacteria isolated from our hospital is relatively universal, especially multi-drug resistant non-fermentative bacteria; the enzyme-producing mechanism leads to increase the detection rate of multi-antibacterial resistant Enterobacteriaceae bacteria, which causes the enormous difficulty for clinical anti-infection therapy. Conducting the bacterial drug-resistance monitoring has an important significance for guiding clinically rational drug use, reducing the nosocomial infection rate and controlling the bacterial drug resistance.

Key words: bacterium; antibacterial drugs; drug-resistance analysis

随着抗菌药物和侵袭性治疗手段的广泛应用,感染性疾病病原菌对抗菌药物的抗药性日益突出,分析临床分离病原菌的种类、分布、变化和耐药状况,对指导临床合理使用抗菌药物,减缓细菌耐药性的发生、发展,降低医院感染率和病死率有重要意义。

1 材料与方法

1.1 细菌来源 2012~2013 年医院临床标本中分离的非重复细菌,标本的采集、保存、运输、接收及接种培养参照 2010 年第 2 版的《临床微生物检验标准化操作》。

1.2 细菌鉴定及药敏试验 细菌鉴定采用 VITEK2-compact 鉴定系统。药敏试验采用 VITEK2-compact 系统进行抗菌药物最低抑菌浓度(MIC)定量测定和部分 K-B 法定性测定。

1.3 质量控制 按美国临床和实验室标准协会(CLSI)要求进行质量控制。质控菌株包括大肠埃希菌 ATCC25922、大肠埃希菌 ATCC35218、绿假单胞菌 ATCC27853、阴沟肠杆菌 ATCC700323、金黄色葡萄球菌 ATCC25923、肺炎链球菌 ATCC49619、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、粪肠球菌 ATCC29212。

1.4 数据分析 药敏结果采用 CLSI2013 的判断标准,应用 WHONET5.6 软件进行统计和分析。

2 结 果

2.1 标本来源和细菌分布 2012 年 1 月至 2013 年 12 月,自临床标本中分离出非重复病原菌 2 744 株,其中分离自痰液标本 1 216 株(44.3%),尿液标本 850 株(31.0%),血液标本 361 株(13.1%),其他标本 317 株(11.6%)。以呼吸道、尿道和血流感染为主。

2.2 不同病区病原菌的构成比 分离临床病原菌 2 744 株,其中革兰阴性菌 1 986 株(占 72.4%),革兰阳性菌 675 株(占 24.6%),真菌 83 株(占 3.0%)。其中分离出大肠埃希菌 694 株(25.3%)、肺炎克雷伯菌 303 株(11.0%)、铜绿假单胞菌 266 株(9.7%)、金黄色葡萄球菌 184 株(6.7%)、凝固酶阴性葡萄球菌 146 株(5.3%)和屎肠球菌 119 株(4.3%)。不同病区的细菌种类有一定的差别,内科、外科以肠杆菌科细菌和葡萄球菌为主;ICU 病区以非发酵菌为主,其检出率明显高于其他病区,见表 1。

表 1 不同病区病原菌的构成比(%)

| 细菌 | 全院 | 外科 | 内科 | ICU | 其他 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 大肠埃希菌 | 25.0 | 32.0 | 30.0 | 9.0 | 28.0 |
| 肺炎克雷伯菌 | 11.0 | 12.0 | 11.0 | 9.0 | 15.0 |
| 铜绿假单胞菌 | 10.0 | 8.0 | 8.0 | 15.0 | 11.0 |
| 鲍曼不动杆菌 | 6.0 | 5.0 | 5.0 | 11.0 | 4.0 |
| 嗜麦芽窄食单胞菌 | 4.0 | 2.0 | 3.0 | 8.0 | 2.0 |
| 金黄色葡萄球菌 | 7.0 | 9.0 | 6.0 | 5.0 | 7.0 |
| 凝固酶阴性葡萄球菌 | 5.0 | 7.0 | 5.0 | 4.0 | 6.0 |
| 屎肠球菌 | 4.0 | 2.0 | 6.0 | 5.0 | 4.0 |
| 肺炎链球菌 | 3.0 | 3.0 | 4.0 | 2.0 | 5.0 |
| 粪肠球菌 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 1.0 | 2.0 |
| 其他 | 23.0 | 18.0 | 20.0 | 31.0 | 16.0 |
| 合计 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

2.3 不同病原菌对抗菌药物的耐药性

2.3.1 肠杆菌科 肠杆菌科细菌是临床分离率最高的细菌。大肠埃希菌对部分头孢菌素、氨基糖甙类、喹诺酮类等耐药率明显高于肺炎克雷伯菌,对亚胺培南的耐药率为 0.0%和 6.3%,详见表 2。

表 2 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的耐药率和敏感性(%)

| 抗菌药物 | 大肠埃希菌 (n=694 株) | | | 肺炎克雷伯菌 (n=303 株) | | |
|-----------|--------------------|------|------|---------------------|------|------|
| | 耐药率 | 中介率 | 敏感性 | 耐药率 | 中介率 | 敏感性 |
| 氨苄西林 | 92.2 | 0.3 | 7.1 | 82.4 | 13.2 | 4.0 |
| 氨苄西林/舒巴坦 | 63.0 | 20.8 | 16.1 | 43.4 | 3.9 | 52.6 |
| 哌拉西林 | 76.9 | 8.1 | 15.0 | 44.8 | 6.7 | 48.5 |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 4.5 | 7.0 | 88.5 | 12.8 | 11.0 | 76.2 |
| 头孢哌酮/舒巴坦 | 2.6 | 15.1 | 82.4 | 7.9 | 13.0 | 79.1 |
| 头孢唑林 | 71.9 | 0.9 | 27.2 | 47.3 | 2.0 | 50.3 |
| 头孢呋辛 | 63.0 | 2.4 | 34.6 | 39.7 | 1.8 | 58.4 |
| 头孢他啶 | 28.7 | 3.9 | 67.3 | 33.1 | 4.6 | 62.3 |
| 头孢曲松 | 65.1 | 0.2 | 34.7 | 44.1 | 0.3 | 55.6 |
| 头孢吡肟 | 19.5 | 1.7 | 78.8 | 23.1 | 2.6 | 74.3 |
| 头孢替坦 | 3.6 | 3.0 | 93.4 | 7.2 | 1.4 | 91.3 |
| 氨曲南 | 42.4 | 0.2 | 57.3 | 34.8 | 0.0 | 65.2 |
| 亚胺培南 | 0.0 | 0.3 | 99.7 | 6.3 | 0.7 | 93.6 |
| 阿米卡星 | 2.2 | 0.6 | 97.3 | 13.3 | 0.0 | 86.7 |
| 庆大霉素 | 56.8 | 1.3 | 41.8 | 26.5 | 2.4 | 71.1 |
| 妥布霉素 | 19.1 | 31.4 | 49.5 | 23.1 | 10.9 | 66.0 |
| 环丙沙星 | 61.5 | 0.5 | 38.0 | 21.5 | 3.5 | 75.0 |
| 左氧氟沙星 | 59.6 | 1.8 | 38.6 | 18.2 | 0.0 | 81.8 |
| 呋喃妥因 | 3.8 | 12.3 | 83.9 | 34.8 | 49.7 | 15.5 |
| 复方磺胺甲噁唑 | 64.2 | 0.0 | 35.8 | 32.2 | 0.0 | 66.8 |

2.3.2 非发酵菌 临床分离的非发酵菌占革兰阴性菌的 32.0%。鲍曼不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦耐药率为 13.7%;铜绿假单胞菌对阿米卡星的耐药率为 5.3%,详见表 3。

表 3 鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌的耐药率和敏感性(%)

| 抗菌药物 | 鲍曼不动杆菌 (n=171 株) | | | 铜绿假单胞菌 (n=266 株) | | |
|-----------|---------------------|------|------|---------------------|------|------|
| | 耐药率 | 中介率 | 敏感性 | 耐药率 | 中介率 | 敏感性 |
| 氨苄西林 | 71.3 | 26.3 | 2.3 | 99.6 | 0.0 | 0.4 |
| 哌拉西林 | 58.7 | 10.7 | 30.7 | 32.9 | 25.7 | 41.4 |
| 氨苄西林/舒巴坦 | 26.4 | 23.0 | 50.6 | 100.0 | 0.0 | 0.0 |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 53.5 | 11.5 | 35.0 | 25.8 | 29.1 | 45.1 |
| 头孢哌酮/舒巴坦 | 13.7 | 15.7 | 70.6 | 38.4 | 17.6 | 44.0 |
| 头孢唑林 | 99.4 | 0.6 | 0.0 | 99.6 | 0.0 | 0.4 |
| 头孢替坦 | 98.8 | 0.0 | 1.2 | 99.0 | 0.0 | 1.0 |
| 头孢他啶 | 58.6 | 4.1 | 37.3 | 27.8 | 20.9 | 51.3 |
| 头孢曲松 | 63.2 | 31.0 | 5.8 | 85.8 | 12.1 | 2.0 |

续表 3 鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌的
耐药率和敏感性(%)

| 抗菌药物 | 鲍曼不动杆菌 (n=171 株) | | | 铜绿假单胞菌 (n=266 株) | | |
|---------|---------------------|------|------|---------------------|------|------|
| | 耐药率 | 中介率 | 敏感性 | 耐药率 | 中介率 | 敏感性 |
| 头孢吡肟 | 58.5 | 0.6 | 40.9 | 37.3 | 12.5 | 50.2 |
| 氨曲南 | 75.3 | 22.4 | 2.4 | 36.8 | 22.2 | 40.9 |
| 亚胺培南 | 50.4 | 1.2 | 48.4 | 57.3 | 5.4 | 37.3 |
| 阿米卡星 | 50.1 | 1.8 | 48.1 | 5.3 | 4.2 | 90.5 |
| 庆大霉素 | 55.9 | 0.6 | 43.5 | 21.5 | 4.5 | 74.0 |
| 妥布霉素 | 48.0 | 1.2 | 50.8 | 24.5 | 0.0 | 75.5 |
| 环丙沙星 | 59.4 | 0.6 | 40.0 | 28.2 | 26.6 | 45.2 |
| 左氧氟沙星 | 50.3 | 5.3 | 44.4 | 27.9 | 19.5 | 52.7 |
| 复方磺胺甲噁唑 | 52.6 | 0.0 | 47.4 | 94.2 | 0.0 | 5.8 |
| 呋喃妥因 | 100.0 | 0.0 | 0.0 | 99.6 | 0.0 | 0.4 |

2.3.3 葡萄球菌属 分离的金黄色葡萄球菌 184 株,凝固酶阴性的葡萄球菌 146 株。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)呈多重耐药,耐药率明显高于 MSSA。(详见表 4)(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。同样 MRSCN 对多种抗菌药物的耐药率也明显高于耐甲氧西林的凝固酶阴性葡萄球菌(MSS-CN),MRSA 对喹诺酮类的耐药性明显高于 MRSCN,(见表 5)(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.3.4 肠球菌属 主要是屎肠球菌和粪肠球菌,分别检出 119 株和 55 株,占检出阳性菌的 26.2%。屎肠球菌对多种抗菌药物的耐药率明显高于粪肠球菌,分离出耐万古霉素的屎肠球菌,未检出耐替加环素和利奈唑胺的肠球菌,(详见表 6)(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 讨 论

3.1 2012~2013 年医院临床标本中分离的非重复菌株 2 744 株,细菌分布与 2012 年全国病原菌构成比一致。肠杆菌科细菌中检出率最高的细菌前两位是大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌;非发酵菌中铜绿假单胞菌检出率居首位,其次是鲍曼不动杆菌,与文献报导一致^[1-2]。病原菌在不同病区分布有一定的差别,ICU 的非发酵菌检出率明显高于其他病区,可能与 ICU 患者免疫功能低下、长时间使用抗菌药物、经常使用各种侵入性检查和治疗导致的院内感染等有关。了解分离的病原菌在不同科室的构成比,能更好地指导临床合理运用抗菌药物,提高疗效,减少耐药菌株。

3.2 肠杆菌科细菌是临床分离率最高的细菌,统计显示产 ESBLs 大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌的检出率分别为 65.2%和 39.9%。产 ESBLs 是导致肠杆菌科细菌耐药的主要机制之一,ESBLs 主要为质粒介导的 β -内酰胺酶基因(TEM-1、TEM-2、SHV-1)的 1 个或数个氨基酸突变而来,通过自体耐药的质粒传递给其他细菌,从而导致感染菌的广泛传播并形成耐药菌株^[3],其表现对 β -内酰胺类、氨基糖甙类、喹诺酮类等抗菌药物的多重耐药,增加了临床治疗难度。而大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率分别为 0.0%和 6.3%,提示肠杆菌科细菌对亚胺培南保持较高的敏感性^[4]。出现克雷伯菌对碳青霉烯类耐药,主要原因是产 ESBLs 或孔蛋白缺失及 AmpC 的超表达;产碳青霉烯酶包括 KPC 酶和金属酶 IMP、VIM 和

NDM-1 金属 β -内酰胺酶等。

3.3 临床分离的非发酵菌多为条件致病菌,易导致具有严重基础疾病或免疫力低下患者发生感染。此类细菌具有产酶、改变药物作用靶位、产生外排泵、减少膜通透性以及接合性质粒等可移动性遗传元件介导的多种耐药基因使菌株表现为多重耐药^[5]。非发酵菌整体耐药率较高,对常用的抗菌药物和亚胺培南耐药率 50%以上,加酶抑制剂的哌拉西林与不加酶抑制剂的哌拉西林对该类细菌的敏感性变化不大。这些常用抗菌药物的耐药给临床患者的感染治疗带来较大困难,临床要加强监测,关注细菌的耐药性,采取积极的感染控制管理措施加以控制。

3.4 我国分离的 MRSA 分子型别以 SC-CmecⅢ型为主。头孢类抗菌药物的大量使用易导致 MRSA 产生青霉素结合蛋白 2A(PBP2a)使其对 β -内酰胺酶类抗菌药物耐药^[6];MRSA 对 β -内酰胺类以外的多种常用抗菌药物呈多重耐药^[7]。统计结果显示 MRSA 对环丙沙星、左氧氟沙星、庆大霉素、红霉素的耐药率大于 80%,MRSCN 对多种抗菌药物的耐药率也明显高于 MSSCN。没有检出耐万古霉素、利奈唑胺、奎奴普丁/达福普丁和替加环素的葡萄球菌。因此对 MRSA 引起的重症感染,应首选万古霉素或利奈唑胺。

3.5 肠球菌属 主要是屎肠球菌和粪肠球菌,屎肠球菌对多种抗菌药物的耐药率明显高于粪肠球菌,对青霉素和氨苄西林,屎肠球菌耐药率均在 90%以上,而粪肠球菌保持较高敏感性;屎肠球菌对喹诺酮类抗菌药物耐药率均在 90%以上,粪肠球菌耐药率小于 25%;相反奎奴普丁/达福普丁对屎肠球菌的抗菌效果越好于粪肠球菌,粪肠球菌对四环素耐药率较高^[8]。分离出耐万古霉素的屎肠球菌,耐药率是 1.7%,未检出耐替加环素和利奈唑胺的肠球菌。

综上所述,细菌耐药问题整体上不容乐观,特别是针对多重耐药的病原菌感染,如多重耐药的非发酵菌、产 ESBLs 的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、耐苯唑西林葡萄球菌。医院应加强细菌耐药性监测,指导临床合理使用抗菌药物,减少耐药菌株的流行,降低医院感染率和控制细菌耐药性。

参考文献

[1] 吕媛,王珊. 卫生部全国细菌耐药监测网 2011 年度肠杆菌科细菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志,2012,12(8):937-941.
[2] 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菌耐药杆菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志,2012,12(8):883-887.
[3] Zhou DY,Shen J,Zhou M. Dmg sensitivity of extended-spectmm β -lactamases producing in 50 strains[J]. Chin J of Clinical Rational Drug Use,2010,3(1):69-70.
[4] 肖永红,沈萍,魏泽庆,等. 2011 年度全国细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志,2011,22(48):4946-4952.
[5] 袁璐,刘红波,许欢,等. 区域性多药耐药铜绿假单胞菌可移动遗传元件研究[J]. 临床检验杂志,2014,32(1):69-72.
[6] 王伟,玛依努尔. 2007~2009 年我院头孢菌素类药物利用分析[J]. 中国医药导报,2010,7(2):119-121.
[7] 金玉姬,许敬锦,崔鲜花,等. 104 株金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,11(21):2332-2333.
[8] 丁洁卫. 泌尿系感染患者中段尿液中肠球菌属的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(15):1697-1698.