

· 临床论著 ·

2006 至 2011 年某院革兰阴性杆菌 对碳青霉烯类药物耐药性的变迁

马兰 黄一灵 徐婷 顾兵 刘根焰 赵旺胜 文怡 梅亚宁

【摘要】目的 分析 2006 至 2011 年革兰阴性杆菌对碳青霉烯类药物的耐药及其变迁特点, 为临床合理用药提供依据。**方法** 收集 2006 至 2011 年分离的革兰阴性杆菌, 采用法国生物梅里埃公司的 VITEK-2 全自动微生物分析系统或 API 细菌鉴定板条进行细菌鉴定到种; 用纸片琼脂扩散法 (Kirby-Bauer 法) 进行药物敏感试验; 采用 WHONET 5.6 软件进行统计分析。**结果** 2006 至 2011 年本院所分离细菌居前 7 位的是大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌和白假丝酵母菌。鲍曼不动杆菌由 2006 年的第 3 位 (7.7%) 上升至 2011 年的第 1 位 (17.9%); 大肠埃希菌由 2006 年的第 1 位 (18.7%) 下降至 2011 年的第 3 位 (11.1%)。鲍曼不动杆菌对亚胺培南的耐药率由 16.0% 上升至 90.8%, 对美洛培南的耐药率由 21.0% 上升至 91.1%; 铜绿假单胞菌对亚胺培南和美洛培南的耐药率略有上升, 分别为 46.0% ~ 62.5% 和 45.0% ~ 63.7%; 大肠埃希菌对亚胺培南的耐药率由 2006 年的 0.7% 上升至 2010 年的 3.5%, 而 2011 年下降至 1.2%, 对美洛培南的耐药率由 2006 年的 1.3% 上升至 2010 年的 3.8%, 而 2011 年下降至 1.4%; 肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率由 2006 年的 2.6% 上升至 2011 年的 11.1%, 对美洛培南的耐药率由 2006 年的 0.9% 上升至 2011 年的 30.7%。**结论** 鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌对碳青霉烯类药物的耐药性上升迅速, 应引起高度重视。

【关键词】 碳青霉烯类; 耐药性; 革兰阴性杆菌; 亚胺培南; 美洛培南

Resistance changes of carbapenem resistant Gram-negative bacteria isolated during 2006-2011

MA Lan*, HUANG Yiling, XU Ting, GU Bing, LIU Genyan, ZHAO Wangsheng, WEN Yi, MEI Yaning.

*Department of Laboratory Medicine, Gaochun County People Hospital, Nanjing 211300, China

Corresponding author: GU Bing, Email: gb20031129@163.com

【Abstract】 Objectives To analyze the changes and characteristics of carbapenem resistant among Gram-negative bacteria isolated during 2006-2011, and provide the basis for the rational use of antibiotics. **Methods** Gram-negative bacteria isolated from 2006-2011 were collected. The bacteria were identified by VITEK-2 identification system or API bacterial identification strip. Antimicrobial susceptibility testing was carried out by disc diffusion method (Kirby-Bauer method). Data analysis was performed by WHONET 5.6 software. **Results** Among the Gram-negative bacteria strains during 2006-2011, the top seven of isolating rates were *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* and *Candida albicans*. *Acinetobacter baumannii* rised from the third (7.7%) in 2006 to the first (17.9%) in 2011; *Escherichia coli* declined from the first (18.7%) in 2006 to the third (11.1%) in 2011. The resistant rate of *Acinetobacter baumannii* to imipenem raised from 16.0% to 90.8%, while the resistant rate to meropenem raised from 21.0% to 91.1%. The resistant rate of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem were 46.0%-62.5% and 45.0%-63.7%, respectively. The resistant rates of *Escherichia coli* to imipenem raised from 0.7% in 2006 to 3.5% in 2010, then down to 1.2% in 2011; to meropenem raised from 1.3% in 2006 to 3.8 % in 2010, then decrease to 1.4% in 2011. The resistant rates of *Klebsiella pneumoniae* to imipenem raised from 2.6% in 2006 to 11.1% in 2011; to meropenem raised from 0.9% in 2006 to 30.7% in 2011. **Conclusions** The resistant rates of *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* were increased significantly, which should be paid attention to.

【Key words】 Carbapenems; Drug resistance; Gram-negative bacteria; Imipenem; Meropenem

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.06.004

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 81000754); 江苏省实验诊断学重点实验室重大课题 (No. XK201114)

作者单位: 211300 南京市, 南京市高淳县人民医院检验科 (马兰); 南京医科大学第一附属医院检验学部 (黄一灵、徐婷、顾兵、刘根焰、赵旺胜、文怡、梅亚宁)

通讯作者: 顾兵, Email: gb20031129@163.com

革兰阴性杆菌是临床常见的条件致病菌,近年来,随着各类抗菌药物的大量使用、各种导管的使用及创伤性检查等,导致各种条件致病菌对人体产生致病,变成病原菌,对某些本应该敏感的药物产生了耐药。碳青霉烯类抗菌药物是迄今为止抗菌谱最广、抗菌活性最强的一类抗菌药物,能抵抗其他大部分内酰胺酶的水解,是目前治疗多重耐药性革兰阴性杆菌最有效的药物之一,但是由于临床大量使用碳青霉烯类药物,导致更多的菌株也对其产生了耐药,特别是肠杆菌科细菌对碳青霉烯类药物的耐药株的出现,给治疗带来了困难。因此,加强对革兰阴性杆菌的耐药性监测和分析,控制耐药菌株的扩散,对临床抗菌药物的合理应用具有非常重要的意义^[1]。为此,本研究收集南京医科大学第一附属医院 2006 至 2011 年临床标本分离的革兰阴性杆菌,选择两种碳青霉烯类药物亚胺培南和美洛培南,对其耐药情况进行回顾性的分析和总结,现报道如下。

资料与方法

一、菌株来源

菌株来自南京医科大学第一附属医院 2006 至 2011 年门诊和住院患者送检标本中所分离出的革兰阴性杆菌。

二、仪器和试剂

法国生物梅里埃公司的 VITEK-2 全自动微生物分析系统或 API 鉴定板条做细菌鉴定,药敏使用梅里埃 MH 琼脂培养基及英国 OXOID 公司抗菌药物纸片。

三、方法

将送检标本分别接种于指定平板,在二氧化碳培养箱内培养 18 ~ 24 h,通过观察菌落形态、革兰染色等方法鉴定为革兰阴性杆菌,采用全自动细菌鉴定仪 VITEK-2 或 API 鉴定板条进行鉴定,细菌鉴定到种。药敏试验采用 K-B 法,按第 3 版临床检验标准化操作规程进行。药敏试验结果按国际临床实验室标准委员会 (NCCLS/CLSI) 规定的标准进行判读^[2]。

四、质量控制

采用标准菌株大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853 作为质控菌株,标准菌株均来源于我国卫生部临床检验中心。

五、统计学处理

细菌谱及耐药性分析应用 WHONET 5.6 软件;采用 SPSS 10.0 软件进行数据处理,计数资料采用卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、革兰阴性菌分离率

2006 至 2011 年革兰阴性杆菌的分离率较平稳,分别为 62.6% (2 692/4 299)、64.2% (2 885/4 493)、58.6% (2 474/4 221)、58.5% (3 050/5 207)、65.3% (3 169/4 851) 和 63.1% (3 803/6 054)。2006 至 2011 年平均分离率为 62.1% (18 073/29 095)。

二、细菌分离率

2006 至 2011 年分离细菌排名居前 7 位的分别为大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌和白假丝酵母菌。其中鲍曼不动杆菌分离率上升幅度最大,由 2006 年排名第 3 位 (7.7%) 上升至 2011 年的第 1 位 (17.9%);大肠埃希菌由 2006 年排名第 1 位 (18.7%) 下降至 2011 年的第 3 位 (11.1%);铜绿假单胞菌基本排名在第 2 位,2009 年时跃居首位 (17.2%) 后又略有下降至第 2 位,分离率基本稳定;肺炎克雷伯菌在 2011 年略有上升;白假丝酵母菌从 2008 年开始上升较为明显,见表 1 和图 1。

二、肠杆菌科碳青霉烯类药物耐药性的变迁

肠杆菌科对亚胺培南和美洛培南的耐药率较低,基本在 3% 以下,但近年来随着此类抗菌药物的广泛使用,其耐药率也有所提升。肠杆菌科中耐药率升高幅度较大的主要是肺炎克雷伯菌,其对亚胺培南耐药率从 2006 年的 2.6% 上升至 2011 年的 11.1%,美洛培南的耐药率由 2006 年的 0.9% 上升至 2011 年的 30.7%;其次耐碳青霉烯类药物的大肠埃希菌也不断出现,亚胺培南耐药率从 2006 年的 0.7% 上升至 2010 年的 3.5%,2011 年降至 1.2%,美洛培南的耐药率由 2006 年的 1.3% 上升至 2010 年的 3.8%,2011 年降至 1.4%,见表 2 ~ 3。

三、非发酵菌碳青霉烯类药物耐药性的变迁

非发酵菌群对亚胺培南和美洛培南的耐药率都较高,上升幅度最大的主要是鲍曼不动杆菌,亚胺培南耐药率从 2006 年的 16.0% 上升至 2011 年的 90.8%,美洛培南的耐药率由 2006 年的 21.0% 上升至 2011 年的 91.1%;铜绿假单胞菌对亚胺培南和美洛培南的耐药率以较高,近几年基本处于一个平稳的趋势,2006 至 2011 年亚胺培南的耐药率分别为 52.0%、60.1%、46.0%、58.6%、61.6% 和 62.5%,美洛培南的耐药率分别为 45.5%、57.6%、45.5%、56.7%、63.7% 和 57.3%,见表 2 ~ 3。

表 1 2006 至 2011 年本院临床各种细菌的分离率 [株 (%)]

病原菌	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年
大肠埃希菌	803 (18.7)	872 (19.4)	670 (15.9)	713 (13.7)	592 (12.2)	669 (11.1)
铜绿假单胞菌	683 (15.9)	801 (17.8)	597 (14.1)	897 (17.2)	821 (16.9)	943 (15.7)
表皮葡萄球菌	363 (8.4)	345 (7.7)	341 (8.1)	265 (5.1)	185 (3.8)	194 (3.2)
肺炎克雷伯菌	357 (8.3)	357 (7.9)	339 (8.0)	379 (7.3)	382 (7.9)	637 (10.6)
金黄色葡萄球菌	320 (7.4)	304 (6.8)	283 (6.7)	299 (5.7)	286 (5.9)	413 (6.9)
鲍曼不动杆菌	333 (7.7)	260 (5.8)	297 (7.0)	444 (8.5)	903 (18.6)	1081 (17.9)
白假丝酵母菌	235 (5.5)	238 (5.3)	419 (9.9)	616 (11.8)	389 (8.0)	624 (10.4)
产酸克雷伯菌	87 (2.0)	75 (1.7)	61 (1.4)	53 (1.0)	42 (0.9)	23 (0.4)
粪肠球菌	84 (2.0)	82 (1.8)	73 (1.7)	80 (1.5)	68 (1.4)	109 (1.8)
光滑假丝酵母菌	72 (1.7)	46 (1.0)	68 (1.6)	119 (2.3)	125 (2.6)	118 (2.0)
热带假丝酵母菌	70 (1.6)	80 (1.8)	53 (1.3)	118 (2.3)	73 (1.5)	135 (2.2)
嗜麦芽窄食单胞菌	69 (1.6)	70 (1.6)	59 (1.4)	111 (2.1)	115 (2.4)	66 (1.1)
阴沟肠杆菌	62 (1.4)	115 (2.6)	104 (2.5)	103 (2.0)	110 (2.3)	125 (2.1)
产气肠杆菌	45 (1.0)	44 (1.0)	70 (1.7)	29 (0.6)	35 (0.7)	27 (0.4)
屎肠球菌	30 (0.7)	74 (1.6)	41 (1.0)	39 (0.7)	66 (1.4)	185 (3.1)
鸟肠球菌	23 (0.5)	23 (0.5)	63 (1.5)	69 (1.3)	72 (1.5)	49 (0.8)
其他	663 (15.4)	707 (15.7)	683 (16.2)	873 (16.8)	587 (12.1)	626 (10.4)

表 2 2006 至 2011 年革兰阴性杆菌对亚胺培南的耐药率 (%)

病原菌	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	χ^2	P
鲍曼不动杆菌	16.0	17.7	14.8	60.4	85.2	90.8	12606.596	0.000
铜绿假单胞菌	52.0	60.1	46.0	58.6	61.6	62.5	391.101	0.000
产气肠杆菌	0.0	13.9	0.0	4.0	14.3	3.7	1745.379	0.005
阴沟肠杆菌	11.1	8.6	1.1	11.0	3.8	4.1	667.790	0.020
大肠埃希菌	0.7	1.6	1.7	2.2	3.5	1.2	125.547	0.048
肺炎克雷伯菌	2.6	7.3	2.8	1.6	3.27	11.1	774.665	0.000

表 3 2006 至 2011 年革兰阴性杆菌对美洛培南的耐药率 (%)

病原菌	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	χ^2	P
鲍曼不动杆菌	21.0	33.5	23.3	59.4	86.0	91.1	9691.979	0.000
铜绿假单胞菌	45.5	57.6	45.0	56.7	63.7	57.3	506.600	0.000
产气肠杆菌	5.3	20.5	1.5	0.0	11.4	11.1	1836.832	0.003
阴沟肠杆菌	2.3	11.3	2.0	5.0	4.6	6.6	509.862	0.086
大肠埃希菌	1.3	3.0	2.3	2.2	3.8	1.4	98.123	0.036
肺炎克雷伯菌	0.9	3.8	4.2	1.6	3.3	30.7	873.977	0.000

讨 论

目前,临床上引起细菌感染的主要病原菌之一是革兰阴性杆菌,其中最常见的是肠杆菌科和非发酵菌,2006 至 2011 年本院患者各种标本中分离的革兰阴性杆菌也是以此两个属为主,约占 56.7%。肠杆菌科细菌主要是大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,非发酵菌主要是铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌。2006 至 2011 年分离细菌排名居前 7 位的分别为大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌和白假丝酵母菌。其中鲍曼不动杆菌分离率大幅度上升,由 2006 年排名第 3 位 (7.7%) 上升至 2011 年的第 1 位 (17.9); 大肠埃希菌由 2006 年排名第 1 位 (18.7%) 下降至 2011 年的第 3 位 (11.1%); 铜绿假单胞菌排名第 2, 分离率基本稳定,在 16% 左右波动;肺炎克雷伯菌在 2011 年略有上升,与文献报道相似^[3-6]。

碳青霉烯类抗菌药物是 20 世纪 90 年代初上市的抗菌药物,对大多数 β -内酰胺酶稳定,包括产超广谱 β -内酰胺酶 (extended spectrum beta-lactamases, ESBLs)、AmpC β -内酰胺酶,临床以亚胺培南和美洛培南为代表药物。此类药物被认为是目前临床最为有效抗菌药物之一,其特点主要是杀菌活性强,与青霉素结合蛋白 (penicillin-binding proteins, PBPs) 亲和力强,与三代头孢菌素无交叉耐药性,能够有效渗透细菌外膜进入周质间隙。随着临床治疗中碳青霉烯类抗菌药物的广泛、过度使用,目前,鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌的耐药率已经很高,甚至会出全耐药的情况,大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类药物的耐药菌株也不断出现,有逐年升高的趋势^[7-8]。造成耐药菌株逐年升高的原因主要与临床广泛使用碳青霉烯类药物有关,另外,也与大量耐药克隆株通过院内感染在患者间传播有很大的关系。

鲍曼不动杆菌是医院感染的重要病原菌,近年来感染者例数在增多,其耐药性也日益严重,鲍曼不动杆菌主要引起呼吸道感染,也可引发败血症、泌尿系统感染,甚至颅内感染等,已经成为仅次于铜绿假单胞菌的又一种临床常见非发酵菌^[9]。鲍曼不动杆菌在医院的环境中分布很广且可长期存活,对危重患者和CCU、ICU中的患者威胁很大,也将此类感染称做ICU获得性感染。鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性呈逐年递增趋势,据统计显示,其对亚胺培南和美洛培南的耐药率到2011年止已分别上升至90.8%和91.1%。鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制有很多种,主要有产生超广谱 β -内酰胺酶、AmpC酶和碳青霉烯酶;青霉素结合蛋白和外膜通透性的改变;外排泵激活。由于耐碳青霉烯类抗菌药物的鲍曼不动杆菌具有多重耐药性,目前,用于治疗这类耐药菌株感染的可选药物非常有限,造成了治疗上的困难。通过自身基因的突变积累和携带抗性基因的质粒或转座子通过接合方式转移,这些方式都会使菌株产生多重耐药。本调查结果表明,本院鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美洛培南耐药率持续在一个高水平,必须引起重视,控制其进一步发展。

据统计数据显示,碳青霉烯类抗菌药物对肠杆菌科的体外抗菌活性仍非常高,其对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性基本低于10%,但通过历年数据分析,仍然有上升趋势,特别是大肠埃希菌由2010年3.8%上升至11.1%,肺炎克雷伯菌由2010年的3.3%上升至30.7%,据报道,我国12家医院大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率均低于1%^[11-12]。本院大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率在不断升高。

铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性有上升趋势,但据统计显示,近几年其耐药率趋于稳定,处于一个高耐药的水平,约为60%。铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制非常复杂,主要有以下4种:① β -内酰胺酶的产生。产生 β -内酰胺酶是铜绿假单胞菌对 β -内酰胺类抗生素耐药的重要机制之一。铜绿假单胞菌可产生多种 β -内酰胺酶,如超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)、质粒介导的AmpC酶、碳青霉烯酶等。②外膜通道蛋白D2缺失。OprD2是亚胺培南进入菌体的通道,实验室中筛选的亚胺培南耐药铜绿假单胞菌株,也证实了有OprD2的缺失。一般认为OprD2缺失是铜绿假单胞

菌对亚胺培南耐药的主要机制^[13]。③改变抗菌药物作用的靶位。④外膜存在着独特的药物主动外排系统。这种耐药机制是铜绿假单胞菌多重耐药的主要原因^[14]。以上机制单独或相互协同使铜绿假单胞菌发生碳青霉烯类药物耐药甚至多重耐药。

本回顾性调查结果表明,虽然2006至2011年耐碳青霉烯类抗菌药物细菌中鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌一直占主导地位,但肠杆菌科细菌大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌也有上升趋势,耐碳青霉烯类抗菌药物的肠杆菌科的出现给临床合理使用抗菌药物敲响了警钟。因此,医院感染管理部门应高度重视院内感染的防控工作。要做好医院抗菌药物的管理工作,必须从落实消毒隔离制度,重视病原学送检,根据药敏结果逐级选用抗菌药物,严格控制用药指针和用药时间等方面着手,从而减少耐药菌株的产生,防止新的耐药机制产生。

(本文图1见光盘)

参考文献

- 1 黄芸菲, 裴莉佩, 常燕子, 等. 耐亚胺培南革兰阴性杆菌的变迁与临床分布[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(1): 168-170.
- 2 Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital in Taiwan[J]. Emerg Infect Dis, 2002, 8(8): 827-832.
- 3 肖永红, 王进, 赵彩云, 等. 2006-2007年Mohnarlin细菌耐药检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(8): 1051-1056.
- 4 张黎明, 朱姗姗, 郭玲娇, 等. 台州地区临床分离的革兰阴性菌对亚胺培南的耐药率的变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(12): 1573-1575.
- 5 苏信斌, 袁艳, 欧维正. 临床常见革兰阴性杆菌的分布特点及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(3): 182-184.
- 6 钟晓艳. 2006/2008年革兰阴性杆菌对亚胺培南的耐药性调查[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(28): 7051-7052.
- 7 Nemecek A. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Klin Mikrobiol Infekc Lek, 2008, 14(5): 162-177.
- 8 Souli M, Galani I. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe[J]. Euro Surveill, 2008, 13(47): 1945-1948.
- 9 苏兆亮, 糜祖煌, 孙光明, 等. 多药耐药鲍氏不动杆菌耐药性与转座子及插入序列遗传标记研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(20): 3085-3087.
- 10 糜祖煌, 秦玲. 多药耐药鲍氏不动杆菌对5类抗菌药物耐药机制研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(7): 901-904.
- 11 卓超, 苏丹虹, 朱德妹, 等. 2007年CHINET大肠埃希菌和克雷伯菌属耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(3): 185-191.
- 12 齐艳, 俞云松. KPC型碳青霉烯酶研究进展[J]. 现代实用医学, 2010, 22(5): 485-486.
- 13 钱小毛, 赵仲农, 王亚玲. 铜绿假单胞菌 β -内酰胺类抗菌药物耐药相关基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(3): 249-251.
- 14 颜英俊, 糜祖煌, 刘华, 等. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药特征及其耐药机制的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(6): 627-630.

(收稿日期: 2014-03-18)

(本文编辑: 孙荣华)