

2014~2018 年某三甲医院产生物膜铜绿假单胞菌 耐药性及患者临床特征分析

王君君^{1,2}, 张莹¹

(1.滨州医学院基础医学院, 山东 烟台 264000;

2.淄博市第一医院检验科, 山东 淄博 255200)

摘要:目的 分析某三甲医院分离的产生物膜铜绿假单胞菌耐药性及患者的临床特征。方法 收集 2014~2018 年某三甲医院临床分离的产生物膜铜绿假单胞菌, 进行菌种鉴定、抗菌药物敏感性试验并对药物的耐药率进行分析; 收集患者的临床资料, 并对感染患者临床特征进行分析。结果 2014~2018 年临床分离的 423 株产生物膜铜绿假单胞菌均来自下呼吸道标本, 来源以呼吸内科为主, 年龄 >60 岁、合并有支气管扩张等肺部基础疾病的患者易引起产生物膜铜绿假单胞菌的感染; 2015~2018 年产生物膜铜绿假单胞菌对亚胺培南、美罗培南的耐药率逐年下降。结论 产生物膜铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素及氨基糖苷类抗生素耐药率较低, 低于非产生物膜的铜绿假单胞菌, 临床微生物学实验室应选用可靠的药敏方法和合适的培养时间, 为临床医生提供准确的药敏结果。

关键词:产生物膜铜绿假单胞菌; 耐药性; 临床特征

中图分类号: R378.99+1

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.02.037

文章编号: 1006-1959(2020)02-0129-03

Analysis of Drug Resistance of *Pseudomonas Aeruginosa* and Clinical Characteristics of Patients in a Top Three Hospital from 2014 to 2018

WANG Jun-jun^{1,2}, ZHANG Ying¹

(1.School of Basic Medicine, Binzhou Medical College, Yantai 264000, Shandong, China;

2.Department of Laboratory Medicine, the First Hospital of Zibo City, Zibo 255200, Shandong, China)

Abstract: Objective To analyze the drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* produced in a tertiary hospital and its clinical characteristics. Methods The clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa* produced in a top three hospital from 2014 to 2018 was collected for strain identification, antibacterial sensitivity test, and analysis of drug resistance rate. Collect clinical data of patients and analyze the clinical characteristics of infected patients. Results The 423 strains of *Pseudomonas aeruginosa* that were clinically isolated from 2014 to 2018 were derived from lower respiratory tract specimens. The source was mainly from respiratory medicine. Patients >60 years of age who had lung diseases such as bronchiectasis were prone to cause Infection of biofilm *Pseudomonas aeruginosa*; the drug-resistance rate of biofilm *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem, and meropenem decreased from 2015 to 2018. Conclusion The biofilm-resistant *Pseudomonas aeruginosa* has a low resistance rate to carbapenem antibiotics and aminoglycoside antibiotics, which is lower than that of non-biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical microbiology laboratories should choose reliable drugs Sensitization methods and appropriate incubation times provide clinicians with accurate drug sensitivity results.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa* producing drug resistance; Drug resistance; Clinical characteristics

铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*)是 ES-
KAPE 病原菌之一^[1], 由于多重耐药甚至泛耐药菌株
的出现给临床治疗带来了极大的挑战, 产生物膜的
铜绿假单胞菌对抗菌药物和宿主免疫反应的敏感性
低于不产生物膜的铜绿假单胞菌, 有研究显示产生
生物膜的铜绿假单胞菌表现出比不产生物膜的铜绿假
单胞菌高出 100~1000 倍的最低抑菌浓度(MICs),
给临床治疗带来极大的挑战。本研究对 2014~2018
年本院临床分离的产生物膜铜绿假单胞菌的临床特
征及抗菌药物的耐药率进行分析, 以为指导临床
抗菌药物的合理应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 菌株来源 所有菌株均分离自 2014~2018 年我
院送检的下呼吸道标本, 剔除同一患者相同部位重
复分离株, 其中 2014 年痰(sputum, SP)标本 51 例,

支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,
BALF)0 例; 2015 年痰标本 78 例, 支气管肺泡灌洗
液 0 例; 2016 年痰标本 82 例, 支气管肺泡灌洗液 2
例; 2017 年痰标本 98 例, 支气管肺泡灌洗液 9 例;
2018 年痰标本 91 例, 支气管肺泡灌洗液 12 例。

1.2 主要仪器与试剂 VITEK2 compact 全自动细菌
鉴定及药敏分析系统、细菌鉴定卡、M-H 琼脂培养
基均为法国生物梅里埃公司生产, 药敏纸片为英国
Oxoid 公司产品。

1.3 质控菌株 铜绿假单胞菌 ATCC27853 来源于卫
生部临床检验中心。

1.4 方法

1.4.1 标本处理 所有标本处理按《全国临床检验操
作规程》第四版^[2]进行, 标本划线分离法接种血平
板、中国蓝平板及含万古霉素的巧克力培养基, 置于
5%CO₂, 35℃培养 18~24 h, 观察细菌生长情况, 细菌
生长缓慢时, 延长培养时间。

1.4.2 细菌鉴定与药物敏感性试验 疑似菌株进行氧
化酶试验, 氧化酶阳性的细菌使用 VITEK2 compact

作者简介: 王君君(1987.8-), 女, 山东淄博人, 本科, 主管技师, 主要
从事临床微生物学检验工作

通讯作者: 张莹(1983.12-), 女, 山东烟台人, 博士研究生, 副教授, 主
要从事病原微生物的致病研究

全自动细菌鉴定及药敏分析系统及配套的 GN 鉴定卡进行鉴定。药敏试验均采用 K-B 纸片扩散法,0.5 麦氏菌液涂布于 MH 平板,35±2℃培养 48 h,游标卡尺量取抑菌圈直径。抗菌药物包括:哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星。抗菌药物敏感性依据美国临床实验室标准化协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 2018 版的标准^[9]进行判定。

1.4.3 临床资料收集 通过医院 HIS 系统收集患者的临床资料,分析产生物膜铜绿假单胞菌感染患者临床特征。

1.5 统计学方法 药物敏感性采用 WHONET 5.6 软件进行统计分析,计数资料采用(n)或(%)表示。

2 结果

2.1 标本类型 2014~2018 年临床分离的产生物膜铜绿假单胞菌的标本均以痰(SP)标本为主,支气管肺泡灌洗液(BALF)标本比例呈逐年上升趋势,见表 1。

2.2 科室分布 2014~2018 年共分离出产生物膜铜绿假单胞菌 423 株,共 22 个科室分离出产生物膜铜绿假单胞菌,其中前 3 位为呼吸内科 65.01%(275/423),结核病专科 14.18%(60/423),中医科 6.86%(29/423),见表 2。

2.3 性别及年龄分布

2.3.1 性别分布 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌患者中,男性 192 例,占总患者人数的 45.40%,女性 231 例,占总患者人数的 54.60%,患者在性别分布上没有明显差异。

2.3.2 年龄分布 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的患者在年龄分布上以>60 岁的老年人为主,占总患者人数的 67.69%(287/424),其次是 30~60 岁,占 31.60%(134/424),0~30 岁最低,占 0.71%(3/424)。

2.4 疾病类型 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的患者现病史以呼吸系统疾病为主,主要为支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病、阻塞性肺气肿,常见呼吸系统疾病类型及各类型所占的构成比例见表 3。

2.5 抗菌药物的耐药性变迁 2014~2018 年产生物膜铜绿假单胞菌对头孢吡肟的耐药率逐年下降,2015~2018 年产生物膜铜绿假单胞菌对亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、庆大霉素的耐药率逐年下降;2018 年数据显示,产生物膜铜绿假单胞菌对头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南的耐药率均低于 10.00%,2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的抗菌药物耐药率见表 4。

表 1 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的标本类型(n,%)

标本类型	2014 年(n=51)		2015 年(n=78)		2016 年(n=84)		2017 年(n=107)		2018 年(n=103)	
	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比
SP	51	100.00	78	100.00	82	97.60	98	91.58	91	88.35
BALF	0	0.00	0	0.00	2	2.40	9	8.42	12	11.65

表 2 2014~2018 年分离出产生物膜铜绿假单胞菌的科室分布(n,%)

科室	2014 年(n=51)		2015 年(n=78)		2016 年(n=84)		2017 年(n=107)		2018 年(n=103)	
	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比	株数	构成比
呼吸内科	33	64.70	54	69.23	58	69.05	70	65.42	60	58.25
结核病专科	7	13.72	3	3.85	10	11.90	14	13.08	26	25.24
中医科	4	7.84	10	12.82	6	7.14	4	3.74	5	4.85
重症医学科	1	1.96	2	2.56	1	1.19	3	2.80	3	2.91
心内科	0	0.00	2	2.56	0	0.00	5	4.67	2	1.94
其他	6	11.78	7	8.97	9	10.72	11	10.29	7	6.81

表 3 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的常见呼吸系统疾病(n,%)

呼吸系统疾病	n	构成比	呼吸系统疾病	n	构成比
支气管扩张	263	36.68	肺囊肿	32	4.46
慢性阻塞性肺疾病	92	12.83	肺气肿	27	3.77
阻塞性肺气肿	73	10.18	肺大泡	24	3.35
Ⅱ型呼吸衰竭	49	6.83	肺结核	23	3.21
肺源性心脏病	44	6.14	肺动脉高压	11	1.53
Ⅰ型呼吸衰竭	37	5.16	支气管哮喘	10	1.39
慢性支气管炎	32	4.46			

表 4 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的抗菌药物耐药率 (%)

抗菌药物名称	2014 年	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年
哌拉西林	23.40	33.30	20.20	29.20	19.40
哌拉西林/他唑巴坦	16.30	20.30	6.00	11.20	10.70
头孢他啶	28.00	31.50	16.70	25.20	16.70
头孢吡肟	41.70	39.70	19.30	18.70	7.80
氨曲南	32.00	37.20	18.10	22.30	20.40
亚胺培南	20.50	26.90	15.70	12.10	8.90
美罗培南	4.30	21.80	7.20	6.50	1.90
阿米卡星	6.20	9.50	4.80	6.50	1.00
庆大霉素	/	31.60	11.00	12.10	3.90
环丙沙星	18.00	24.00	33.70	23.40	17.50
左旋氧氟沙星	30.00	42.10	48.20	38.30	38.80

3 讨论

产生物膜铜绿假单胞菌由于 O-乙酰化古洛糖醛酸和甘露糖醛酸组成的黏液型胞外多糖产生过量,常导致铜绿假单胞菌体外培养产生黏液型菌落而体内以生物膜的形式生长,由于体内生物膜的存在可干扰正常宿主的吞噬防御,常导致细菌难以被彻底清除,从而引起感染的复发或慢性细菌性感染,常与患者肺功能的快速下降和预后不良有关^[4]。本研究通过对 2014~2018 年分离出的产生物膜铜绿假单胞菌的临床资料进行分析,发现 423 株产生物膜铜绿假单胞菌均来自下呼吸道标本,标本来源以呼吸内科为主,并且发现年龄>60 岁,合并有支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病、阻塞性肺气肿等肺部基础疾病的患者易引起产生物膜铜绿假单胞菌的感染,分析原因可能与囊性纤维化患者易引起产生物膜铜绿假单胞菌感染相似,呼吸道中纤毛液体量减少而导致了吸入微生物的清除延迟^[4],导致细菌之间、细菌与宿主之间发生黏附,细菌释放大量的胞外多糖,进而形成生物膜。研究显示^[5],铜绿假单胞菌通过群体感应来调节毒力和生物膜形成,国内外研究显示^[6,7]大环内酯类抗生素阿奇霉素可通过抑制群体感应系统有效抑制生物膜的形成。

2018 年 CHINET 数据 (<http://www.chinets.com/Chinet>) 显示,23431 株铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药率小于 10% 的药物仅为多粘菌素 B 和阿米卡星,对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美罗培南的耐药率分别达到了 30.7% 和 25.8%,本研究中 2018 年产生物膜铜绿假单胞菌(103 株)的抗菌药物的耐药率低于 CHINET 数据中铜绿假单胞菌抗菌药物的耐药率,对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美罗培南的耐药率分别为 8.90% 和 1.90%,可能与这些菌株免受抗生素的选择性压力有关^[4]。

综上所述,对于年龄>60 岁,合并有支气管扩

张、慢性阻塞性肺疾病、阻塞性肺气肿等肺部基础疾病反复发生肺部感染的患者,临床医生应警惕产生物膜铜绿假单胞菌感染的可能,应及时送检合格下呼吸道标本进行细菌培养。临床微生物实验室分离到产生物膜铜绿假单胞菌时,因与不产生物膜铜绿假单胞菌的耐药率存在明显差异,实验室应选用纸片扩散法或 Etest 法作为常规敏感性试验方法,由于这些菌株在 24 h 内生长不良,将孵育时间延长至 48 h 后读取药敏结果,为临床医生提供准确的药敏结果,同时应在检验报告单上备注或及时与临床医生沟通,以便临床医生结合药敏结果和生物膜特性,选择合理的联合用药方案。

参考文献:

- [1]Mulani MS,Kamble EE,Kumkar SN,et al.Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance:a review[J].Frontiers in Microbiology,2019,10(4):1-24.
- [2]尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].第 4 版.北京:人民卫生出版社,2015:568-571.
- [3]Clinical And Laboratory Standards for antimicrobial susceptibility testing[M].Wayne:CLSI.2018:M100S.
- [4]James H.Jorgensen,Michael A.Pfaller.临床微生物学手册[M].王辉,马筱玲,钱渊,等,译.第 11 版.北京:中华医学电子音像出版社,2017:982-996.
- [5]Christiaen SEA,Matthijs N,Zhang XH,et al.Bacteria that inhibit quorum sensing decrease biofilm formation and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J].FEMS Immunology&Medical Microbiology,2014,70(3):271-279.
- [6]牛瑜,姜天翼,庞力.阿奇霉素和克拉霉素对铜绿假单胞菌生物膜形成的作用[J].临床检验杂志,2018,36(4):53-57.
- [7]Francesco I,Livia L,Paolo V.Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* [J].Frontiers in Microbiology,2014,5(4):1-7.
- [8]高雅婷,李晓霞,段金菊.铜绿假单胞菌的群体感应系统及其抑制剂研究进展[J].中国抗生素杂志,2018,43(11):1338-1343.

收稿日期:2019-10-15;修回日期:2019-10-25

编辑/肖婷婷