

2018—2020 年某院铜绿假单胞菌的耐药性分析

乔玉莉 高向阳 王君

作者单位: 665000 云南普洱, 普洱市人民医院检验科

通信作者: 乔玉莉, Email: 524057277@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.04.004

【摘要】 目的 分析某医院临床分离铜绿假单胞菌的分布情况及对常用抗菌药物的耐药特征, 为院感防控提供依据, 并为临床合理使用抗菌药物提供参考。方法 回顾分析 2018—2020 年普洱市人民医院分离的铜绿假单胞菌菌株, 按照美国临床和实验室标准协会 (CLSI) 标准, 采用微生物分析仪对细菌进行菌种鉴定和药敏试验; 采用 WHONET 5.6 软件对铜绿假单胞菌的标本来源、感染科室及耐药情况进行分析。结果 2018—2020 年该院共分离得到铜绿假单胞菌 1 411 株, 占检出革兰阴性 (G^-) 菌的 13.16% (1 411/10 721); 铜绿假单胞菌在 G^- 杆菌中的占比呈逐年上升趋势 [2018 年 11.77% (400/3 398), 2019 年 12.94% (446/3 447), 2020 年 14.58% (565/3 876)]; 分离所得的铜绿假单胞菌菌株标本来源以痰液标本最多 (825 株, 占 58.47%), 其次是尿液标本 (271 株, 占 19.21%)、分泌物标本 (141 株, 占 9.99%); 检出铜绿假单胞菌最多的科室主要为神经外科 (296 株, 占 20.98%)、呼吸科 (197 株, 占 13.96%) 和重症医学科 (183 株, 占 12.97%)。1 411 株铜绿假单胞菌对 12 种抗菌药物的药敏试验结果显示, 2018—2020 年该院检出铜绿假单胞菌的耐药率呈上升趋势, 其中敏感率最高的是阿米卡星 (78.31%), 其次是庆大霉素 (72.53%); 对亚胺培南的耐药率最高 (30.21%)。检出 464 株多重耐药的铜绿假单胞菌 (占 32.88%), 对亚胺培南和美罗培南的多重耐药率最高, 分别为 91.81% 和 88.36%。结论 铜绿假单胞菌是该院检出的主要病原菌, 且检出率逐年升高, 应加强对院感防控管理, 合理使用抗菌药物。

【关键词】 铜绿假单胞菌; 耐药性; 耐药率

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金 (2018JS067)

Drug resistance analysis of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital from 2018 to 2020

Qiao Yuli, Gao Xiangyang, Wang Jun. Department of Clinical Laboratory, Pu'er People's Hospital, Pu'er 665000, Yunnan, China

Corresponding author: Qiao Yuli, Email: 524057277@qq.com

【Abstract】 Objective To study the distribution of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a hospital, and analyze its drug resistance to common antibiotics, so as to provide basis for hospital infection control and reference for the clinical rational use of antibiotics. **Methods** The strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Pu'er People's Hospital from 2018 to 2020 were retrospectively analyzed, according to the standards of American Clinical and Laboratory Standards Association (CLSI), the bacteria were identified and drug sensitivity test was carried out by microbial analyzer. Then WHONET 5.6 software was used to analyze the source of specimens, infection departments and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. **Results** From 2018 to 2020, 1 411 strains of *Pseudomonas aeruginosa* were isolated, accounting for 13.16% (1 411/10 721) of detected Gram negative (G^-) bacteria; the detectable rate of *Pseudomonas aeruginosa* showed an upward trend [2018 of 11.77% (400/3 398), 2019 of 12.94% (446/3 447), 2020 of 14.58% (565/3 876)]. The main sources of isolated strains of *Pseudomonas aeruginosa* were sputum samples (825 strains, accounting for 58.47%), urine samples (271 strains, accounting for 19.21%) and secretion samples (141 strains, accounting for 9.99%). The departments with the most isolated *Pseudomonas aeruginosa* were department of neurosurgery (296 strains, accounting for 20.98%), department of respiratory (197 strains, accounting for 13.96%) and department of critical medicine (183 strains, accounting for 12.97%). The drug sensitivity test of 1 411 strains of *Pseudomonas aeruginosa* to 12 kinds of antibiotics showed that the drug resistance rates of isolated *Pseudomonas aeruginosa* also showed an upward trend from 2018 to 2020; the sensitivity rate to Amikacin was the highest (78.31%), followed by that to Gentamicin (72.53%); the resistance rate to Imipenem was the highest (30.21%). In addition, 464 strains (32.88%) of multi drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* were detected, and the multi drug resistance rates to Imipenem and Meropenem were the highest, which were 91.81% and

88.36%, respectively. **Conclusions** *Pseudomonas aeruginosa* is the main pathogen detected in this hospital, and the detectable rate is increasing year by year. It is necessary to strengthen the infection control management of the hospital and make rational use of antibiotics.

【Key words】 *Pseudomonas aeruginosa*; Drug resistance; Drug resistance rate

Fund Program: Scientific Research Project of Yunnan Provincial Department of Education (2018JS067)

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)又称绿脓杆菌,属于革兰阴性(Gram negative, G⁻)杆菌,是非发酵糖细菌。铜绿假单胞菌无芽胞和荚膜,有1~3根鞭毛,有运动能力,且具有较强的抵抗力,易定植、变异、产生多重耐药性。此菌可以附着于正常人体的皮肤、呼吸道和肠道,以及医疗器械表面等,是临床常见的重要致病菌,也是导致医院感染和社区感染的主要病原菌^[1-2]。有研究显示,铜绿假单胞菌感染导致患者死亡的概率较高,随着化疗、免疫抑制剂、抗菌药物等治疗手段的广泛使用,医院的感染途径、易感人群、感染源均明显增多,医院感染呈逐渐加重的趋势。2019年全国细菌耐药监测报告显示,铜绿假单胞菌的分离率占G⁻菌的12.0%,位居第三^[3]。铜绿假单胞菌能够引起严重的呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia, VAP),是导致囊性纤维化患者发病和死亡的最主要原因^[4],使血液感染的病死率从20%升至50%^[5],此外还可引泌尿系感染等。临床曾经认为治疗铜绿假单胞菌感染最有效的药物是亚胺培南,其已被广泛用于治疗铜绿假单胞菌引起的感染,但越来越多的铜绿假单胞菌对亚胺培南产生了耐药性。随着抗菌药物的选择压力增加,铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药情况日趋严重,且常出现多重耐药,大大增加了临床抗感染治疗的难度,也带来新的挑战。铜绿假单胞菌具有多种耐药机制和毒力因子,这些因素共同解释了铜绿假单胞菌引起的广泛感染以及由此产生的抗菌药物耐药性,因此应对耐药菌株的产生在临床工作中日益具有挑战性。本研究通过收集2018—2020年本院临床送检标本中分离出的铜绿假单胞菌,对其耐药现状进行分析,旨在帮助临床治疗和监测多重耐药铜绿假单胞菌感染,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾分析2018—2020年从普洱市人民医院送检的临床标本中分离的1411株铜绿假单胞菌的特征,包括标本来源、科室分布及对常见抗菌药物的耐药率和敏感率。所有菌株均采用VITEK2-compact微生物鉴定系统GN卡进行鉴定^[6]。

质量控制(质控)菌株为铜绿假单胞菌 ATCC 27853、大肠埃希菌 ATCC 25922。

1.2 仪器与试剂 VITEK2-compact全自动微生物鉴定仪和DensuCHEK plus细菌浊度仪购自法国生物梅里埃股份有限公司。哥伦比亚血平板、巧克力平板、麦康凯平板、MH平板^[6]均购自郑州安图生物工程股份有限公司;实验中所用药敏纸片均购自温州康泰生物技术有限公司。

1.3 研究方法 剔除同一患者分离得到的相同菌株,所有菌株使用高压灭菌纸片于-80℃保存。实验时将菌株复苏到血平板得到单个菌落,用于药物敏感试验。常用的抗菌药物有哌拉西林、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、头孢他啶、氨基曲南、亚胺培南、阿米卡星、美洛培南、庆大霉素、环丙沙星、左旋氧氟沙星。采用琼脂稀释法检测所有菌株对以上抗菌药物的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),实验方法及结果判断参照2020年美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的方法进行操作和判读^[7]。

1.4 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院医学伦理委员会审批(审批号:2021PYEC025),所有检测均获得过患者或家属的知情同意。

1.5 统计学处理 采用WHONET 5.6软件进行数据分析,计数资料以例或率(%)表示。

2 结果

2.1 菌株分布 2018—2020年本院共分离到铜绿假单胞菌1411株,占检出G⁻菌总数的13.16%(1411/10721),其中每年检出的铜绿假单胞菌在G⁻菌总数中的占比分别为2018年11.77%,2019年12.94%,2020年14.58%,3年间铜绿假单胞菌在G⁻杆菌中的占比呈逐年上升趋势。见表1。

表1 2018—2020年本院检出的铜绿假单胞菌在革兰阴性菌总数中的占比比较

年份	革兰阴性菌(株)	铜绿假单胞菌(株)	占比(%)
2018年	3398	400	11.77
2019年	3447	446	12.94
2020年	3876	565	14.58
合计	10721	1411	13.16

2.2 标本来源 2018—2020 年本院分离铜绿假单胞菌来源以痰液标本最多,占 58.47%(825/1 411),其次是尿液标本[19.21%(271/1 411)]、分泌物标本[9.99%(141/1 411)]、其他类型标本[12.33%(174/1 411)]。本院检出铜绿假单胞菌最多的科室排名前 3 位的分别为神经外科[20.98%(296/1 411)]、呼吸科[13.96%(197/1 411)]和重症医学科[12.97%(183/1 411)]。

2.3 铜绿假单胞菌对 12 种常用抗菌药物的耐药率比较 2018—2020 年本院分离出铜绿假单胞菌的耐药率基本呈逐年上升趋势。在检出的 1 411 株铜绿假单胞菌对 12 种常见抗菌药物的药敏试验中,敏感率最高的是阿米卡星(78.31%),其次是庆大霉素(72.53%);耐药率最高的是亚胺培南(30.21%),氨曲南(29.36%)和美罗培南(29.06%)也存在较高的耐药率。见表 2。

表 2 2018—2020 年本院检出的 1 411 株铜绿假单胞菌对常见抗菌药物的耐药率比较

抗菌药物	耐药率(%)			总耐药率 (%, n=1 411)	总敏感率 (%, n=1 411)
	2018 年 (n=400)	2019 年 (n=446)	2020 年 (n=565)		
哌拉西林	22.75	22.87	31.86	26.36	59.74
头孢哌酮/ 舒巴坦	22.92	25.00	32.74	27.50	58.93
哌拉西林/ 他唑巴坦	15.83	24.94	32.01	25.16	65.76
头孢他啶	25.06	25.56	32.57	28.16	64.96
头孢吡肟	20.75	22.87	29.56	24.95	69.95
氨曲南	23.87	27.48	34.85	29.36	48.96
亚胺培南	24.31	28.70	35.58	30.21	68.23
美罗培南	22.25	28.25	34.51	29.06	69.74
阿米卡星	15.00	18.83	27.26	21.12	78.31
庆大霉素	16.50	23.54	29.31	23.85	72.53
环丙沙星	18.00	30.34	29.73	26.52	70.00
左旋氧氟 沙星	16.50	32.51	29.91	26.93	68.75

2.3 铜绿假单胞菌多重耐药情况 2018—2020 年本院共检出 464 株多重耐药的铜绿假单胞菌,占全部铜绿假单胞菌的 32.88%,其中每年检出多重耐药铜绿假单胞菌占比分别为 2018 年 28.75%,2019 年 31.17% 和 2020 年 37.17%,亦呈逐年上升趋势。多重耐药铜绿假单胞菌中,耐药率最高的抗菌药物是亚胺培南(91.81%),其次是美罗培南(88.36%);敏感率最高的是阿米卡星(35.99%),其次是庆大霉素,敏感率为 26.35%。见表 3。

3 讨论

铜绿假单胞菌广泛分布在自然界中,水、土壤、空气、人体皮肤、呼吸道、肠道等都是其定植场所。

表 3 2018—2020 年本院检出的 464 株多重耐药铜绿假单胞菌耐药情况分析

抗菌药物	耐药率(%)			总耐药率 (%, n=464)	总敏感率 (%, n=464)
	2018 年 (n=115)	2019 年 (n=139)	2020 年 (n=210)		
哌拉西林	56.52	70.59	78.10	70.04	15.09
头孢哌酮/ 舒巴坦	63.72	75.54	80.86	75.05	13.88
哌拉西林/ 他唑巴坦	41.59	74.10	78.16	67.90	21.18
头孢他啶	63.48	72.66	78.10	72.84	18.75
头孢吡肟	59.13	66.91	77.62	69.83	22.20
氨曲南	50.44	75.36	81.73	72.11	11.76
亚胺培南	84.35	92.09	95.71	91.81	3.45
美罗培南	77.39	90.65	92.86	88.36	7.97
阿米卡星	50.43	60.43	72.86	63.58	35.99
庆大霉素	53.91	71.94	74.16	68.47	26.35
环丙沙星	57.39	86.23	73.81	73.43	23.97
左旋氧氟 沙星	51.30	86.33	73.81	71.98	22.41

铜绿假单胞菌是引起医院感染的主要病原菌之一,同时也是临床上最常见的机会致病菌之一,以呼吸系统感染为主,现已成为医院院内感染的主要病原菌之一^[8-9]。

本研究中,本院检出的铜绿假单胞菌在 G⁻ 菌中有较高占比(13.16%);检出铜绿假单胞菌最多的科室为神经外科、呼吸科和重症医学科;样本中分离的病原菌主要以痰液标本和尿液标本中分离最多,可引起呼吸道和泌尿系统感染,其中呼吸道感染占 58.47%。铜绿假单胞菌是上呼吸道的正常寄生菌,气管切开、机械通气和气管插管等操作破坏了呼吸道正常的黏膜保护作用,容易造成呼吸道感染^[10]。本院铜绿假单胞菌临床检出率和耐药率均呈一定幅度逐年增长,在对 12 种常见抗菌药物的药敏试验中,敏感率较高的是阿米卡星(78.31%)和庆大霉素(72.53%),耐药率较高的是亚胺培南(30.21%)、氨曲南(29.36%)和美罗培南(29.06%)。分析原因可能是神经外科和呼吸科患者住院时间较长,且患者机体免疫力较弱,尤其是呼吸科患者,常为多种细菌同时感染,造成大量使用广谱抗菌药物,从而进一步诱发细菌耐药。有研究表明,铜绿假单胞菌耐药率最低的抗菌药物是阿米卡星,且阿米卡星也是敏感率最高的抗菌药物之一^[11],这与本研究结果一致。

本研究结果显示,本院多重耐药的铜绿假单胞菌所占比例较高(32.88%),抗菌药物中耐药率较高的是亚胺培南(91.81%)和美罗培南(88.36%),使临床抗感染治疗的难度增大。多重耐药甚至广泛耐药

的铜绿假单胞菌引起的临床感染的治疗非常困难,易发生医院感染的暴发流行,且铜绿假单胞菌存在多种耐药的机制,因此需要定期对其多重耐药性进行监测^[12]。本院检出的铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药率高达 30.21%,多重耐药的铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药率更高,达到 91.81%。

铜绿假单胞菌的耐药机制既复杂又多样,因此一直是临床关注的重点,目前发现的耐药机制主要有:① 细菌产生灭活酶;② 细胞膜通透性下降;③ 抗菌药物作用靶点改变;④ 细菌生物被膜形成;⑤ 基因突变;⑥ 获得外源性耐药基因;⑦ 其他耐药机制,如整合子通过接合、转化、转导和转座等方法在细菌间转移,导致铜绿假单胞菌多重耐药的快速发展^[13]。铜绿假单胞菌对亚胺培南产生耐药的主要原因有产生金属酶、外排泵和 D2 蛋白的缺失,也可能与近年来亚胺培南在临床上的广泛应用有关。在铜绿假单胞菌的耐药机制中,金属 β -内酰胺酶是其产生最主要的碳青霉烯酶,此耐药机制可以水解除氨曲南以外所有的 β -内酰胺酶类抗菌药物^[14]。同时外膜孔蛋白 OprD2 是碳青霉烯类抗菌药物进入菌体内的特异性通道,而外膜孔蛋白 OprD2 的缺失将导致铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物产生耐药^[15-16]。因此研究铜绿假单胞菌的耐药规律,对指导合理使用抗菌药物,控制、延缓产生及扩散耐药性细菌具有重要意义。

铜绿假单胞菌在院内感染中分布较广,加之抗菌药物的大量使用,因此其耐药发生率也较高,导致铜绿假单胞菌的耐药性日趋严重。综上所述,通过分析本院 2018—2020 年铜绿假单胞菌的耐药情况,不难发现临床分离的病原菌对常用抗菌药物均存在一定程度的耐药特性,病原菌的耐药形势日益严峻,因此医院应重视铜绿假单胞菌的流行病学监测,密切关注铜绿假单胞菌的流行情况,加强相关部门的合作交流,以及院感防控,以寻找合适的应对措施,阻止或减缓医院感染的暴发。铜绿假单胞菌的耐药机制存在多样性,为更详细地了解本地区铜绿假单胞菌的耐药情况,下一步应对铜绿假单胞菌的耐药机制进行深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

1 MIELKO K A, JABŁOŃSKI S J, MILCZEWSKA J, et al. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. World J Microbiol Biotechnol,

- 2019, 35 (11): 178. DOI: 10.1007/s11274-019-2739-1.
- 2 徐雁峰,王慧敏,张冬.铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素耐药机制研究[J].包头医学院学报,2019,35(9):108-112. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2019.09.048.
- 3 国家卫生健康委合理用药专家委员会,全国细菌耐药监测网.2019年全国细菌耐药监测报告[J].中国合理用药探索,2021,18(3):1-11. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3327.2021.3.001.
- 4 COBURN B, WANG P W, DIAZ CABALLERO J, et al. Lung microbiota across age and disease stage in cystic fibrosis [J]. Sci Rep, 2015, 5: 10241. DOI: 10.1038/srep10241.
- 5 TADA T, MIYOSHI-AKIYAMA T, SHIMADA K, et al. A Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate harboring two copies of blaIMP-34 encoding a metallo- β -lactamase [J]. PLoS One, 2016, 11 (4): e0149385. DOI: 10.1371/journal.pone.0149385.
- 6 韩杰,马淑青,于旭云,等.2018年某地区呼吸道革兰阴性菌分布及耐药性分析[J].实用检验医师杂志,2019,11(2):69-71. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.02.002.
- 7 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement M100 [S]. 2020.
- 8 BASSETTI M, PEGHIN M, VENA A, et al. Treatment of infections due to MDR Gram-negative bacteria [J]. Front Med (Lausanne), 2019, 6: 74. DOI: 10.3389/fmed.2019.00074.
- 9 LE M N, KAYAMA S, YOSHIKAWA M, et al. Oral colonisation by antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria among long-term care facility residents: prevalence, risk factors, and molecular epidemiology [J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2020, 9 (1): 45. DOI: 10.1186/s13756-020-0705-1.
- 10 侯莉莉,刘莉莉,党萍,等.河北省三甲医院 2013 至 2016 年呼吸道感染致病菌变化特点分析:附单中心 7 497 例病例报告[J].中华危重病急救医学,2017,29(9):799-804. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.09.007.
- 11 张艳芳,冯广满.中山地区铜绿假单胞菌耐药性及亚胺培南耐药机制分析[J].南昌大学学报(医学版),2018,58(2):19-22,26. DOI: 10.13764/j.cnki.ncdm.2018.02.005.
- 12 BISWAL I, ARORA B S, KASANA D, et al. Incidence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients and environment of teaching institution [J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8 (5): 26-29. DOI: 10.7860/JCDR/2014/7483.4383.
- 13 曾婷,曾凌,曹先伟,等.耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌耐药基因与药敏分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(20):3063-3067. DOI: 10.11816/cn.ni.2019-191934.
- 14 陈咏君,郎华,徐芳莹,等.耐碳青霉烯酶铜绿假单胞菌外膜蛋白 OprD2 基因型的研究[J].中国实用医药,2021,16(3):20-23. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2021.03.007.
- 15 BUSH K, BRADFORD P A. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens [J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 33 (2): e00047-19. DOI: 10.1128/CMR.00047-19.
- 16 张新颖,韩颖,王雅妹,等.铜绿假单胞菌耐药性与抗菌药物使用强度相关性分析[J].河北大学学报(自然科学版),2021,41(2):188-194. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1565.2021.02.012.

(收稿日期:2021-09-26)

(本文编辑:邵文)