

DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-9638. 2014. 02. 009

· 论 著 ·

黏液型与非黏液型铜绿假单胞菌的耐药性比较

朱伟斌, 胡艳立, 龙跃兵

(中国人民解放军第 188 医院, 广东 潮州 521000)

[摘要] **目的** 探讨黏液型铜绿假单胞菌(PA)的耐药性及其耐药机制,为临床抗感染治疗提供合理的选药依据。**方法** 采用 API 鉴定卡及 K-B 纸片扩散法对菌株进行鉴定及药敏试验,并应用 WHONET5.4 软件对数据进行统计分析。**结果** 黏液型和非黏液型 PA 对常用 12 种抗菌药物的耐药性比较结果为:非黏液型 PA 对庆大霉素、头胞噻肟、氨曲南、头胞吡肟、环丙沙星和左氧氟沙星的耐药性显著高于黏液型 PA($P < 0.05$),而对亚胺培南、美罗培南、哌拉西林/舒巴坦、阿米卡星、头孢他啶和头孢哌酮的耐药性,两者差异无统计学意义($P > 0.05$)。抗菌药物联合治疗黏液型 PA 感染前后,常用的 12 种抗菌药物耐药性比较结果为:对亚胺培南和美罗培南的耐药性一致;对阿米卡星、头胞噻肟的耐药性,治疗后明显高于治疗前($P < 0.05$);其他抗菌药物的耐药性也出现不同程度的变化。**结论** 黏液型 PA 体外药敏试验耐药性较低,但体内用药治疗效果不佳,而使用体外药敏试验敏感药物与能抑制细菌表面生物膜作用的药物联合使用,治疗效果较为明显。

[关键词] 铜绿假单胞菌;黏液型;抗药性;微生物;生物膜;抗菌药物;耐药

[中图分类号] R378.99⁺1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2014)02-0096-04

Comparison in antimicrobial resistance between mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*

ZHU Wei-bin, HU Yan-li, LONG Yue-bing (The 188th Hospital of the People's Liberation Army, Chaozhou 521000, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate antimicrobial resistance and resistance mechanisms of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), and provide reference for the clinical use of antimicrobial agents. **Methods** All *P. aeruginosa* strains isolated from patients were identified by API strip, antimicrobial susceptibility testing was performed by Kirby-Bauer disk diffusion method, data were analyzed by WHONET5.4 software. **Results** Of 12 kinds of antimicrobial agents, resistance of non-mucoid *P. aeruginosa* to gentamicin, cefotaxime, aztreonam, cefepime, ciprofloxacin and levofloxacin were significantly higher than mucoid *P. aeruginosa* ($P < 0.05$), but the resistance to imipenem, meropenem, piperacillin/sulbactam, amikacin, ceftazidime and cefoperazone were not significantly different ($P > 0.05$). Before and after the combination antimicrobial therapy for mucoid *P. aeruginosa* infection, resistance of mucoid *P. aeruginosa* to 12 kinds of antimicrobial agents were as follows; resistance to imipenem and meropenem was the same; to amikacin and cefotaxime after therapy was higher than before therapy ($P < 0.05$); resistance to the other antimicrobial agents showed different degrees of change. **Conclusion** In vitro antimicrobial resistance of mucoid *P. aeruginosa* is low, but in vivo effectiveness of antimicrobial agents is not ideal, therapeutic effect can be achieved by combination use of in vitro susceptible antimicrobial agents and drugs which can inhibit bacterial biofilm.

[Key words] *Pseudomonas aeruginosa*; mucoid; drug resistance, microbial; biofilm; antimicrobial agent; drug-resistance

[Chin Infect Control, 2014, 13(2): 96-98, 108.]

[收稿日期] 2013-06-20

[作者简介] 朱伟斌(1984-),男(汉族),广东省潮州市人,检验技师,主要从事临床微生物检验研究。

[通信作者] 朱伟斌 E-mail: zwb_0768@126.com

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是引起医院感染的主要病原菌之一,也是引起泌尿系统、伤口和烧伤患者创面感染及呼吸道感染性疾病的主要病原菌之一。根据 PA 菌落形态及是否产生藻酸盐形成生物膜而分为黏液型和非黏液型,并且两种形态在一定条件下可相互转化。由于生物膜的形成,使 PA 对抗菌药物的耐药性大大增强,从而为临床治疗带来一定困难。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 2009 年 1 月—2012 年 12 月,本院细菌室分离黏液型 PA 43 株,非黏液型 PA 127 株。43 株黏液型 PA 分别分离自以下标本:痰液 28 株,烧伤创面分泌物 8 株,骨科伤口分泌物 5 株,中段尿 2 株;127 株非黏液型 PA 分别分离自:痰液 27 株,烧伤创面分泌物 59 株,骨科伤口分泌物 31 株,中段尿 10 株。重复送检标本按 1 株统计。

1.2 试剂 API 鉴定卡和药敏纸片购自法国生物梅里埃公司,M-H 琼脂粉购自北京陆桥技术有限责任公司。

1.3 细菌鉴定与药敏试验 采用 API 鉴定卡及相应的自动分析系统进行细菌鉴定与分析,鉴定后根据其菌落形态区分黏液型和非黏液型 PA;采用 K-B 纸片扩散法进行药敏试验^[1],药敏结果及抗菌药物的选择依据美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2013 年版标准执行。

1.4 质控标准菌株 PA ATCC 27853、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、大肠埃希菌 ATCC 25922,均购自广东省临床检验中心。

1.5 统计方法 应用 WHONET 5.4 软件对数据进行统计分析;组间耐药率比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黏液型和非黏液型 PA 的药敏结果 除亚胺培南、美罗培南、哌拉西林/舒巴坦、阿米卡星、头孢哌酮和头孢他啶外,非黏液型 PA 对其他几种抗菌药物的耐药性明显高于黏液型 PA,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 黏液型和非黏液型 PA 对常用抗菌药物的药敏结果(%)

Table 1 Antimicrobial susceptibility testing result of mucoïd and non-mucoïd *P. aeruginosa*(%)

抗菌药物	黏液型 PA			非黏液型 PA			χ^2	P
	S	I	R	S	I	R		
亚胺培南	93.02	2.33	4.65	86.62	2.36	11.02	2.82	>0.05
美罗培南	95.35	0.00	4.65	88.99	0.78	10.23	3.10	>0.05
哌拉西林/舒巴坦	79.07	6.98	13.95	64.56	10.24	25.20	5.32	>0.05
阿米卡星	69.77	18.60	11.63	66.14	11.81	22.05	4.82	>0.05
庆大霉素	62.79	6.98	30.23	38.58	18.90	42.52	13.48	<0.01
头孢哌酮	81.40	4.65	13.95	77.95	5.51	16.54	0.38	>0.05
头孢他啶	51.17	13.95	34.88	51.97	7.87	40.16	2.08	>0.05
头孢噻肟	53.49	9.30	37.21	28.35	18.11	53.54	13.48	<0.01
氨基曲南	62.79	16.28	20.93	44.09	19.69	36.22	7.70	<0.05
头孢吡肟	83.73	4.65	11.62	68.51	11.02	20.47	6.56	<0.05
环丙沙星	60.47	13.95	25.58	39.37	18.11	42.52	9.22	<0.01
左氧氟沙星	76.74	6.98	16.28	56.69	14.96	28.35	9.18	<0.05

S:敏感; I:中介; R:耐药

2.2 黏液型和非黏液型 PA 感染的治疗难度 感染患者根据第 1 次药敏结果进行抗菌药物治疗(黏液型 PA 感染患者以药敏试验敏感药物与大环内酯类抗菌药物联合使用,伤口创面感染患者同时加用含碘消毒剂辅料外敷伤口创面),治疗 2 周后复检,其复检阳性率如表 2 所示,黏液型 PA 的治疗难度明显高于非黏液型 PA。

表 2 黏液型和非黏液型 PA 感染治疗后复检结果

Table 2 Detection result of mucoïd and non-mucoïd *P. aeruginosa* after therapy for infection

PA	第 1 次培养阳性(例)	复检阳性(例)	复检阳性率(%)
非黏液型	127	32	25.20
黏液型	43	25	58.14

2.3 黏液型 PA 感染的治疗效果 43 例黏液型

PA 感染患者经治疗后,感染均有不同程度好转,其微生物学检查结果如下:伤口创面感染患者复查均未分离出细菌,25 例呼吸道感染患者的痰标本仍分离出黏液型 PA,2 例泌尿系统感染患者未复检(已出院)。25 例复检阳性的黏液型 PA 感染者治疗前后的药敏结果见表 3。表 3 显示,黏液型 PA 对阿米

卡星和头孢噻肟的耐药性在治疗后明显高于治疗前,差异具有统计学意义($P < 0.05$);其他抗菌药物的耐药性也出现不同程度的变化。使用大环内酯类抗菌药物破坏 PA 表面的生物膜^[2],使敏感药物的治疗效果明显增强。

表 3 25 例复检阳性黏液型 PA 感染者治疗前后对常用抗菌药物的药敏结果(%)

Table 3 Antimicrobial susceptibility testing result of mucoid *P. aeruginosa* infection before and after antimicrobial therapy(%)

抗菌药物	治疗前黏液型 PA			治疗后黏液型 PA			χ^2	P
	S	I	R	S	I	R		
亚胺培南	96	0	4	96	0	4	-	-
美罗培南	96	0	4	96	0	4	-	-
哌拉西林/舒巴坦	68	12	20	52	16	32	5.48	>0.05
阿米卡星	64	24	12	56	8	36	20.54	<0.01
庆大霉素	40	8	52	28	16	56	4.92	>0.05
头孢哌酮	72	4	24	64	8	28	2.12	>0.05
头孢他啶	32	20	48	24	24	52	1.66	>0.05
头孢噻肟	28	8	64	28	0	72	8.48	<0.05
氨曲南	56	20	24	52	12	36	4.54	>0.05
头孢吡肟	80	8	12	72	12	16	1.8	>0.05
环丙沙星	52	16	32	44	16	40	1.54	>0.05
左氧氟沙星	68	8	24	52	12	36	5.34	>0.05

S:敏感; I:中介; R:耐药

3 讨论

黏液型 PA 是 PA 在自然界中存在的一种特殊形式,非黏液型 PA 在一定的条件下可转化成黏液型 PA,其表面存在大量以多糖藻酸盐为主要成分的黏液,从而可形成生物膜^[3]。黏液型 PA 表面的生物膜具有抵抗抗菌药物的灭菌作用^[4-5],从而引起抗菌药物治疗效果不佳。有相关研究表明,即使在抗菌药物浓度达到有效药物浓度的 1 000 倍以上,也难以杀灭生物膜下的细菌^[6]。表 1 和表 2 显示,非黏液型 PA 的耐药率明显高于黏液型 PA,但临床治疗过程中使用体外药敏试验敏感药物的治疗效果却明显优于黏液型 PA,这也与黏液型 PA 表面生物膜对抗菌药物的抵抗作用有很大关系。由于黏液型 PA 表面生物膜的作用,使细菌容易黏附在气道黏膜上并且不易被吞噬^[5],因此有学者认为该菌也是引起慢性难治性肺部感染的主要病原菌之一^[7]。本组 43 例黏液型 PA 感染患者中,肺部感染占较大比例,而且经治疗后仍有 25 例患者痰标本复检阳性。治疗上参考国内外有关学者的研究结论^[2,8],使用体外药敏试验敏感的药物与大环内酯类抗菌药物,或与克林霉素联合左氧氟沙星联合用

药,治疗效果明显,但难彻底杀灭细菌。从 43 例黏液型 PA 感染患者的临床治疗情况及治疗前后该菌对常用抗菌药物的耐药情况可以看出,大环内酯类抗菌药物或克林霉素联合左氧氟沙星均有不同程度破坏细菌表面生物膜,使直接作用于细菌的抗菌药物浓度出现不同程度增高,从而起到有效的抗感染作用。但未被杀灭的细菌对使用的抗菌药物产生不同程度的耐药性,其中阿米卡星和头孢噻肟在治疗后的耐药率明显高于治疗前,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

本组 13 例伤口创面感染患者在使用抗菌药物治疗的同时,对其伤口使用含碘消毒剂辅料外敷伤口,2 周后伤口明显愈合,并连续 3 次(连续 3 天)未检出黏液型 PA。含碘消毒剂是否能破坏黏液型 PA 表面的生物膜或扩大生物膜对抗菌药物的通透性而对细菌本身起到灭菌作用,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 蓝锴,张伟铮,罗强,等.不同方法检测黏液型铜绿假单胞菌药物敏感性结果准确性探讨[J].检验医学,2012,27(7):544-548.

处理内容掌握,差异有统计学意义($P < 0.05$);各科室暴露后处理内容和处理流程掌握情况基本一致。全院处理内容和处理流程的正确率分别为 54.81%、89.84%,低于国内外部分医院水平^[5-6],说明本院医务人员职业暴露后处理措施的落实还有待提高。

本组调查发现,外科、内科和儿科医务人员职业暴露率较妇科和其他科室高,这与唐艳琴等^[7]的研究结果相似;护士的暴露率最高,其次是医生和实习生,这与王金贤等^[8]的研究结果基本一致;实习生的平均暴露例次是岗位中最高的,这与 Denić 等^[5]的研究相似;在工龄分布中,<5 年的医务人员职业暴露率较高,与国内外的流行现状^[9]一致。

本研究医务人员血源性暴露的时间主要集中在上午和晚上,穿刺、采血或处理物品为主要的暴露环节,暴露地点主要是病房和手术或换药室,这与文献报道^[10-11]一致。根据医疗工作规律,上午是医疗操作最多、非医疗人员最多的时段,而人流量大是发生职业暴露潜在危险因素。晚上一般仅配备 2~3 名医务人员,每名医务人员要承担的工作强度大,尤其是夜晚的急诊,职业暴露更易发生。因此,医院可通过采取医疗工作流程再造、优化布局、合理分配、错时探访及人员补充等途径,降低医务人员职业暴露的风险^[12]。

综上所述,本院医务人员血源性职业暴露率较高,职业暴露流行病学特征与国内外研究结果基本一致。通过掌握职业暴露的流行病学特征,有助于掌握医院职业暴露的工作重点,为加强职业暴露防控工作提供思路。

[参 考 文 献]

- [1] 罗伟强,伍飘雁,杨忠伟,等. 台山市 2010—2012 年吸毒人群 HIV、梅毒和丙肝感染状况调查分析[J]. 热带医学杂志, 2012,12(12):1514-1516.
- [2] 中华人民共和国卫生部,联合国艾滋病规划署,世界卫生组织. 2011 年中国艾滋病疫情估计[J]. 中国艾滋病性病, 2012, 18(1):1-5.
- [3] Alemie G A. Exploration of healthcare workers' perceptions on occupational risk of HIV transmission at the University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia[J]. BMC Res Notes, 2012,5:704.
- [4] Munier A, Marzouk D, Abravanel F, et al. Frequent transient hepatitis C viremia without seroconversion among healthcare workers in Cairo, Egypt[J]. PLoS one, 2013,8(2):e57835.
- [5] Denić LM1, Ostrić I, Pavlović A, et al. Knowledge and occupational exposure to blood and body fluids among health care workers and medical students[J]. Acta Chir Jugosl, 2012,59(1):71-75.
- [6] 石明才,苏新国,王桂菊. 医务人员职业暴露防护知识调查[J]. 实用预防医学, 2009,16(2):422-423.
- [7] 唐艳琴,宋秀婵,卫肖云,等. 135 例血源性病原体职业暴露调查[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(3):196-198,201.
- [8] 王金贤,杨利亚. 医务人员职业暴露调查分析与预防[J]. 中华医院感染学杂志, 2012,22(4):763-765.
- [9] 王娟,曾芹. 医务人员职业暴露情况分析及其防护措施[J]. 中国社区医师(医学专业), 2012,10(4):408.
- [10] 张友平,侯铁英,白雪皎,等. 广东省 39 所医院医务人员锐器伤调查[J]. 中国感染控制杂志, 2013,12(1):19-23.
- [11] Shriyan A, Roche R, Annamma. Incidence of occupational exposures in a tertiary health care center[J]. Indian J Sex Transm Dis, 2012,33(2):91-97.
- [12] 张星华,徐遂转,魏春玲. 医务人员职业危害因素及防护对策[J]. 中国感染控制杂志, 2012,11(1):68-69,71.

(上接第 98 页)

- [2] 范春,牛其昌,王颖. 铜绿假单胞菌生物膜耐药性机制及防治[J]. 国外医药抗生素分册, 2004,25(5):230-232.
- [3] 高巧营,吴尚为. 黏液型铜绿假单胞菌生物膜形成的研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2011,10(2):158-160.
- [4] Borlee B R, Goldman A D, Murakami K, et al. *Pseudomonas aeruginosa* uses a cyclic-di-GMP-regulated adhesion to reinforce the biofilm extracellular matrix[J]. Mol Microbiol, 2010, 75(4):827-842.
- [5] 小林宏行,雷雨. 细菌生物被膜的基础与临床[J]. 中国临床药理学杂志, 1999,15(4):299-301.
- [6] Prosser B L, Taylor D, Dix B A, et al. Method of evaluating effects of antibiotics on bacterial biofilm [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1987, 31(10):1502-1506.
- [7] 于润江. 呼吸道的生物被膜病[J]. 中华内科杂志, 1993,32(5):291.
- [8] 李鸿雁,夏前明,李福祥,等. 克林霉素对黏液型铜绿假单胞菌生物被膜的影响[J]. 解放军医学杂志, 2004,29(10):875-878.