

· 论著 ·

2005 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性分析

倪语星 执笔

摘要: 目的 了解我国铜绿假单胞菌临床分离株的耐药现状。方法 全国 7 所教学医院临床分离的铜绿假单胞菌株用 Kirby-Bauer 法作药敏试验,并根据耐药表型(模式)分析可能存在的耐药机制。结果 临床分离的铜绿假单胞菌共 2 323 株,耐药率依次为:阿米卡星,22.5%,头孢哌酮-舒巴坦,22.8%,头孢吡肟 27.6%,头孢他啶 28.9%,亚胺培南 31.3%,环丙沙星 31.7%,美罗培南 32.1%,哌拉西林-三唑巴坦 34.4%,氨基糖苷类 36.8%,哌拉西林 44.2%,替卡西林-克拉维酸 50.9%。多重耐药(MDR)和泛耐药(PDR)株分别占 8.4%和 4.2%。对各种抗假单胞菌药物分别耐药的菌株仍有 36.7%~53.4%对阿米卡星敏感,提示在严重铜绿假单胞菌感染患者的治疗中, β 内酰胺类抗假单胞菌药加氨基糖苷类仍是一个很好的联合用药组合。通过解释性判读“预测药物”可以推测耐药表型(模式)背后可能的耐药机制。结论 细菌耐药性监测结果显示我国临床分离的铜绿假单胞菌耐药率相对较高,耐药机制非常复杂,需要引起实验室和临床的密切关注。

[关键词: 铜绿假单胞菌; 耐药表型; 耐药机制]

中图分类号: R378 文献标识码: A 文章编号: 1009-7708(2007)04-0274-05

CHINET 2005 surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* in China

Actual writing NI Yu-xing. (Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: **Objective** To investigate the resistance of clinical isolates of *P. aeruginosa* in China during 2005. **Methods** Clinical isolates of *P. aeruginosa* from 7 teaching hospitals in China were collected and antimicrobial susceptibility were tested by Kirby-Bauer method. **Results** A total of 2 323 clinical isolates of *P. aeruginosa* were collected. The resistance rates of *P. aeruginosa* to antimicrobial agents from low to high were amikacin (22.5%), cefoperazone-sulbactam (22.8%), cefepime (27.6%), ceftazidime (28.9%), imipenem (31.3%), ciprofloxacin (31.7%), meropenem (33.7%), piperacillin-tazobactam (34.4%), aztreonam (36.8%), piperacillin (44.2%), ticarcillin-clavulanic acid (50.9%). Multi-drug resistant (MDR) and pan-drug resistant (PDR) strains accounted for 8.4% and 4.2%, respectively. Some (36.7%-53.4%) of the strains resistant to other antimicrobial agents were still susceptible to amikacin. Therefore, combination therapy of β -lactams plus an aminoglycoside is usually indicated for serious infections caused by *P. aeruginosa*. By interpretative reading of the susceptibility pattern of 'predictive drugs', we can predict the underlying resistance mechanisms. **Conclusions** The surveillance data indicate that the resistance of *P. aeruginosa* in China is relatively serious and its resistance mechanisms are very complicated. Close attention should be paid to this problem by physicians and clinical laboratory.

Key words: *P. aeruginosa*; Resistance mechanism; Resistance phenotype

铜绿假单胞菌是医院感染的主要病原菌之一,

严重危害患者的健康和生命。近年来,随着广谱抗菌药物、激素和免疫抑制剂,以及各种侵袭性诊断和治疗手段的广泛应用,铜绿假单胞菌在医院感染中所占的地位越发重要。该菌具有极强的环境适应能力和对抗菌药物的耐药性,常表现为多重耐药甚至出现对临床常用抗假单胞菌药全部耐药,仅对黏菌素或多黏菌素 B 敏感的泛耐药(PDR)菌株,给感染

作者单位:上海交通大学医学院附属瑞金医院临床微生物科, 200025。

作者简介:倪语星(1953-),男,教授,博士生导师,主要从事临床微生物学和细菌耐药性机制研究。

通讯作者:倪语星, E-mail: Yuxing_ni@yahoo.com.cn。

控制带来极大的困难和挑战。

CHINET 耐药监测网由全国 8 所教学医院组成,在收集临床分离菌株,精确进行细菌鉴定的基础上,采用质量可靠、统一的药敏试验方法,大规模地监测临床主要病原菌对常用抗菌药物的耐药性,并研究分析耐药表型(耐药模式)与耐药机制之间的关系。本文将 2005 年 CHINET 耐药监测网铜绿假单胞菌的监测数据总结和报道如下。

材料与方法

一、菌株来源

全国 7 所教学医院,各医院按常规方法进行细菌分离、鉴定,去除同一病例相同部位所获的重复菌株。另一所医院因数据不全,其资料未包括在内。

二、抗菌药物纸片

阿米卡星、庆大霉素、哌拉西林、替卡西林-克拉维酸、哌拉西林-三唑巴坦、头孢哌酮、头孢哌酮-舒巴坦、氨曲南、头孢吡肟、头孢他啶、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星和左氧氟沙星等抗菌药物纸片均为 OXOID 公司产品。

三、培养基

Mueller-Hinton(M-H)培养基。

四、药敏试验方法

Kirby-Bauer 纸片扩散法。

五、质控菌

铜绿假单胞菌 ATCC 27853。

六、数据统计分析

使用 WHONET 5.3 软件统计 7 所医院的铜绿假单胞菌的耐药监测资料,并运用 Livermore 等^[1] 2001 年和 Vedel^[2] 2005 年有关根据不发酵糖革兰阴性杆菌对 β 内酰胺类抗菌药物耐药表型推测耐药机制的描述,推测铜绿假单胞菌的耐药机制。

结 果

一、铜绿假单胞菌的来源

收集来自全国 7 所教学医院 2005 年 1 月 1 日—2005 年 12 月 31 日临床分离的铜绿假单胞菌共 2 323 株,见表 1。

2 206 株(94.96%)分离自住院患者,其中 183 株分离自 ICU;117 株(5.04%)分离自门诊患者。

二、标本分布

2 323 株铜绿假单胞菌在各类标本中分布见表 2。

表 1 2 323 株铜绿假单胞菌 7 所医院的分布

Table 1. Distribution of 2 323 strains of *Pseudomonas aeruginosa* by hospital

Hospital	No. of isolates	Percentage (%)
Shanghai Huashan Hospital	532	22.9
Wuhan Tongji Hospital	439	18.9
The First Affiliated Hospital of Zhejiang University Medical College	435	18.7
Peking Union Hospital	427	18.4
Shanghai Ruijin Hospital	317	13.6
The First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences	90	3.9
The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College	83	3.6
Total	2 323	100

表 2 2 323 株铜绿假单胞菌在不同标本中的分布

Table 2. Distribution of 2 323 strains of *Pseudomonas aeruginosa* by specimen source

Specimen	Number of isolates	Percentage (%)
Sputum or respiratory secretion	1 726	74.3
Wound	109	4.7
Urine	105	4.5
Blood	83	3.6
Bile, pleural fluid and other body fluids	57	2.5
Cerebrospinal fluid	22	0.9
Genital tract	9	0.4
Stool	16	0.7
Others	196	8.4
Total	2 323	100

三、2 323 株铜绿假单胞菌对各种抗菌药物的耐药性分析

(一)耐药率 2 323 株铜绿假单胞菌对各种抗菌药物的耐药率依次为:阿米卡星 22.5%,头孢哌酮-舒巴坦 22.8%,头孢吡肟 27.6%,头孢他啶 28.9%,亚胺培南 31.3%,环丙沙星 31.7%,美罗培南 32.1%,哌拉西林-三唑巴坦 34.4%,氨曲南 36.8%,哌拉西林 44.2%,替卡西林-克拉维酸 50.9%,见表 3。

(二)多重耐药(MDR)和泛耐药(PDR)株的分离情况 2 323 株铜绿假单胞菌中 MDR 190 株,占 8.4%;PDR 97 株,占 4.2%。各监测点 MDR 和 PDR 的分离情况见表 4。其中重庆医科大学附属第一医院、上海瑞金医院和上海华山医院 MDR 的分离率较高,分别为 22.2%、12.0%和 10.9%;重庆医

科大学附属第一医院和上海瑞金医院 PDR 的分离率较高,分别为 12.2%和 10.4%。

表 3 2 323 株铜绿假单胞菌对各种抗菌药物的敏感率(%)
Table 3. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobial agents (%)

Antibiotic	R	S
Piperacillin	44.2	55.8
Ceftazidime	28.9	64.6
Cefoperazone	41.2	43.0
Cefepime	27.6	61.6
Piperacillin-tazobactam	34.4	65.6
Ticarcillin-clavulanic acid	50.9	49.1
Cefoperazone-sulbactam	22.8	53.0
Aztreonam	36.8	41.1
Imipenem	31.3	64.0
Meropenem	32.1	64.3
Gentamicin	46.2	45.9
Amikacin	22.5	70.1
Ciprofloxacin	31.7	54.8
Levofloxacin	46.2	45.9

(三)各种抗假单胞菌抗菌药物的体外活性比较
2 323株铜绿假单胞菌对各种抗假单胞菌抗菌药

物的体外活性比较见表 5。耐药率以头孢哌酮-舒巴坦和阿米卡星较低,耐亚胺培南的菌株对哌拉西林-三唑巴坦和阿米卡星仍有 36.5%和 49.7%的菌株敏感;耐美罗培南的菌株对哌拉西林-三唑巴坦和阿米卡星仍有 31.3%和 44.9%的敏感率;耐阿米卡星的菌株对美罗培南、亚胺培南和哌拉西林-三唑巴坦的敏感率分别为 33%、38.4%和 44.4%;耐头孢他啶的菌株对亚胺培南和阿米卡星仍有 32.8%和 38.9%的敏感率;耐环丙沙星的菌株除对头孢哌酮-舒巴坦的敏感率较低(24%)之外,对其余抗菌药物的敏感率在 33%~50%;耐头孢哌酮-舒巴坦的菌株对环丙沙星仍有 46.3%的敏感率,耐哌拉西林-三唑巴坦的菌株对亚胺培南的敏感率 36.3%,对阿米沙星的敏感率 53.4%;耐头孢吡肟的菌株对亚胺培南和阿米沙星的敏感率为 33.8%和 36.7%。分别对各种抗假单胞菌抗菌药物的耐药菌株 36.7%~53.4%对阿米卡星仍敏感,证明在严重铜绿假单胞菌感染患者的治疗中,β 内酰胺类抗假单胞菌药联合氨基糖苷类仍是一个很好的组合。

表 4 各监测点 MDR 和 PDR 的分离情况
Table 4. Prevalence of multi-drug resistance and pan-drug resistance by hospital

Hospital	<i>P. aeruginosa</i>		MDR		PDR	
	n	%	n	%	n	%
Shanghai Huashan Hospital	532	22.9	58	10.9	20	3.8
Wuhan Tongji Hospital	439	18.9	19	4.3	5	1.1
The First Affiliated Hospital of Zhejiang University Medical College	435	18.7	24	5.5	18	4.1
Peking Union Hospital	427	18.3	30	7.0	8	1.9
Shanghai Ruijin Hospital	317	13.6	38	12.0	33	10.4
The First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences	90	3.9	20	22.2	11	12.2
The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College	83	3.6	5	6.0	2	2.4
Total	2 323	100	194	8.4	97	4.2

MDR; multi-drug resistant (resistant to amikacin, ceftazidime, ciprofloxacin); PDR; pan-drug resistant (resistant to amikacin, ceftazidime, ciprofloxacin, aztreonam, piperacillin-tazobactam, cefoperazone-sulbactam, and imipenem).

表 5 2 323 株铜绿假单胞菌对各种抗假单胞菌药物敏感性比较
Table 5. Comparative susceptibility of 2 323 strains of *P. aeruginosa* to antimicrobial agents

Drug	Resistant(n)	R(%)	IMP	MEM	AMK	CAZ	CIP	CSL	TZP	FEP
			S(%)	S(%)	S(%)	S(%)	S(%)	S(%)	S(%)	S(%)
IMP-R	722	31.3		13.3	49.7	35.3	26.3	23.7	36.5	32.1
MEM-R	723	32.1	11.9		44.9	27.4	19.6	15.4	31.3	25.8
AMK-R	519	22.5	38.4	33.0		30.4	22.0	28.1	44.4	26.0
CAZ-R	666	28.9	32.8	26.6	38.9		24.5	11.6	21.8	8.9
CIP-R	731	31.7	38.7	36.9	49.9	39.8		24.0	36.3	32.7
CSL-R	526	22.8	28.2	25.0	46.3	15.0	19.5		11.3	9.1
TZP-R	789	34.4	36.3	30.4	53.4	20.1	22.5	6.8		17.9
FEP-R	628	27.6	33.8	27.5	36.7	10.8	19.7	11.5	24.4	

IMP; imipenem; MEM; meropenem; AMK; amikacin; CAZ; ceftazidime; CIP; ciprofloxacin; CSL; cefoperazone-sulbactam; TZP; piperacillin-tazobactam; FEP; cefepime.

(四)耐药机制分析 根据 Livermore^[1]有关不发酵糖革兰阴性杆菌对“监测药物”耐药表型推测耐药机制的描述结合 2 323 株铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药表型进行耐药机制分析和推测,发现本组资料有 6 种可能存在的耐药机制。具体的“监测药物”及推测见表 6。

表 6 根据耐药表型分析耐药机制

Table 6. Interpretation of resistance mechanism based on phenotypes and antibiogram

Antibiotic	Classical Penicillinase AmpC MBL Efflux OprD					
	493	16	52	13	203*	535*
Amikacin	S	-	-	-	-	S
Ciprofloxacin	S	-	-	-	R	S
Piperacillin	S	R	R	R	R	S
Aztreonam	S	S	R	S	R	S
Ceftazidime	S	S	R	R	R	S
Cefepime	S	S	-	R	R	S
Ticarcillin-clavulanic acid	S	S	R	R	R	S
Cefoperazone-sulbactam	S	S	R	R	R	S
Piperacillin-tazobactam	S	S	R	R	R	S
Imipenem	S	S	S	R	I/S	R/I
Meropenem	S	S	S	R	R/I	I/S

* scatter plot analysis of IMP and MEM is required for further analysis. S; susceptible; R; resistant; I; intermediate.

- 1. 敏感(classical)菌株:2 323 株铜绿假单胞菌对所有抗假单胞菌药全部敏感的有 493 株,占 21%。
- 2. 产青霉素酶(penicillinase)的菌株:16/2 323 株对所有 β 内酰胺类抗假单胞菌药和碳青霉烯类(亚胺培南,美罗培南)敏感,仅对哌拉西林耐药,提示产生青霉素酶,占 0.7%。
- 3. 产生去阻遏酶(AmpC)的菌株:52/2 323 株对所有 β 内酰胺类抗假单胞菌药(包括加酶抑制剂复合药)全部耐药,仅对碳青霉烯类(亚胺培南,美罗培南)敏感,提示为产 AmpC 酶菌株,占 2.2%。
- 4. 产金属酶(MBL)的菌株:13/2 323 株对所有 β 内酰胺类抗假单胞菌抗菌药和碳青霉烯类(亚胺培南,美罗培南)全部耐药,仅对氨基曲南敏感,提示为产生菌株,占 0.6%。
- 5. 外排系统(efflux)的过度表达:203/2 323 MBL(8.7%)对 β 内酰胺类抗假单胞菌药和环丙沙星耐药,这部分菌株经过散点分析,其中 2.5%对美罗培南耐药而对亚胺培南敏感,3.9%对美罗培南耐药而对亚胺培南中介,1%对美罗培南中介而对亚胺

培南敏感,这部分提示存在外排系统的过度表达,约占 2 323 株中的 0.6%。

6. 膜孔蛋白(OprD)的缺失:2 323 株中有 535 株(23%)对碳青霉烯类以外所有抗假单胞菌抗菌药全部敏感的铜绿假单胞菌,这部分菌株经过散点分析,其中有 5.4%对亚胺培南耐药而对美罗培南敏感;另有 0.7%对亚胺培南耐药而对美罗培南中介;1.1%对亚胺培南中介而对美罗培南敏感,提示存在 OprD 的缺失,约占 2 323 株的 1.7%。

讨 论

本次监测共收集来自全国 7 所教学医院 2005 年 1 月 1 日—2005 年 12 月 31 日临床分离的铜绿假单胞菌共 1 888 株,在精确进行鉴定的基础上,采用质量可靠、统一的药敏试验方法,监测铜绿假单胞菌对常用抗菌药物的耐药性,比较常用抗假单胞菌药物的体外活性,并通过耐药表型(耐药模式)初步推测潜在的耐药机制。

2 323 株铜绿假单胞菌对各种抗假单胞菌药物的耐药率依次为:阿米卡星<头孢哌酮-舒巴坦<头孢吡肟<头孢他啶<亚胺培南<环丙沙星<美罗培南<哌拉西林-三唑巴坦<氨基曲南<哌拉西林<替卡西林-克拉维酸。

目前认为在铜绿假单胞菌中对具有抗铜绿假单胞菌作用的头孢菌素、碳青霉烯类、 β 内酰胺酶抑制剂复方制剂、氟喹诺酮类和氨基糖苷类中 1 种以上耐药的菌株即为 MDR 株,而对上述 5 种抗菌药全耐的菌株即为 PDR 株^[3]。本次监测中发现 2 323 株铜绿假单胞菌中 MDR 株有 194 株,占 8.4%;PDR 株有 97 株,占 4.2%。各监测点中重庆医科大学附属第一医院、上海瑞金医院和华山医院 MDR 株的分离率较高,分别为 22.2%、12.0%和 10.9%;重庆医科大学附属第一医院和上海瑞金医院 PDR 株的分离率较高,分别为 12.2%和 10.4%。CLSI(M100-S17,2007 年)建议针对 MDR 甚至 PDR 的铜绿假单胞菌和不动杆菌属的药敏试验中增加测试黏菌素和多黏菌素 B,供临床治疗的选择^[4]。

CLSI(M100-S17,2007 年)建议^[4],对铜绿假单胞菌严重感染患者的治疗,用大剂量抗假单胞菌青霉素或加酶抑制剂复合制剂,并推荐与氨基糖苷类或氟喹诺酮类联合应用^[1]。本研究中 2 323 株铜绿假单胞菌对各种抗假单胞菌抗菌药物的体外活性比较结果显示,分别对各种抗假单胞菌药物耐药的菌

株有 34%~50% 对阿米卡星仍敏感,提示在严重铜绿假单胞菌感染患者的治疗中, β 内酰胺类抗假单胞菌药加氨基糖苷类仍是一个很好的联合用药组合。

国内外细菌耐药性监测大多只是记录和统计对某些抗菌药物“敏感率”或“耐药率”。本研究采用解释性判读药敏试验结果的方式,通过监测一些“预测药物”的耐药表型(模式)来初步推测耐药机制^[1,2]。例如:①对所有抗假单胞菌药全部敏感的为敏感菌株;②对所有 β 内酰胺类抗假单胞菌药和碳青霉烯类(亚胺培南,美罗培南)敏感,仅哌拉西林耐药,提示产生青霉素酶;③对所有 β 内酰胺类抗假单胞菌药(包括加酶抑制剂的复合药)全部耐药,仅对碳青霉烯类(亚胺培南,美罗培南)敏感,提示细菌产生 AmpC 酶;④对所有 β 内酰胺类抗假单胞菌抗菌药和碳青霉烯类(亚胺培南,美罗培南)全部耐药,仅对氨基糖苷敏感,提示产生金属 β 内酰胺酶;⑤对 β 内酰胺类抗假单胞菌药和环丙沙星耐药的菌株,其中部分(2.5%)对美罗培南耐药而亚胺培南敏感,提示可能存在外排系统的过度表达;⑥对碳青霉烯类以外所有抗假单胞菌抗菌药全部敏感的铜绿假单胞菌中,5.4% 对亚胺培南耐药而对美罗培南敏感;0.7% 对亚胺培南耐药而对美罗培南中介;另有 1.1% 对亚胺培南中介而对美罗培南敏感,提示这些菌株可能存在 OprD 的缺失。

开展大规模、高质量的细菌耐药监测,为临床合理选用抗菌药和进一步深入进行耐药机制的研究奠

定了基础,应在医疗单位中推广。

参加单位:

上海复旦大学附属华山医院抗生素研究所 汪复 朱德妹;上海交通大学医学院附属瑞金医院临床微生物科 倪语星 孙景勇;中国医科院附属协和医院检验科 徐英春 孙宏莉;卫生部北京医院检验科 胡云健 艾效曼;浙江大学医学院附属第一医院感染科 俞云松 杨青;湖北华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科 申正义 孙自镛;广州医学院第一附属医院呼吸疾病研究所 苏丹虹 袁景屏;重庆医科大学附属第一医院感染科 卓超 贾蓓。

参考文献:

- [1] Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 48(Suppl 1): 87-102.
- [2] Vedel G. Simple method to determine beta-lactam resistance phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* using the disc agar diffusion test[J]. J Antimicrob Chemother, 2005, 56(4): 657-664.
- [3] Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species[J]. Clin Infect Dis, 2006, 43(Suppl 2): S43-S48.
- [4] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Seventeenth informational supplement (M100-S17) [S]. 2007.

收稿日期:2007-05-15

《病原真菌生物学研究与应用》出版

由长期致力于医学真菌学临床与基础研究的廖万清、吴绍熙两位教授主编的《病原真菌生物学研究与应用》是“病原生物学丛书”之一,将于 2006 年 9 月由化学工业出版社正式出版。《病原真菌生物学研究与应用》一书共分 11 章,本书在介绍真菌生物学及基因组学知识的基础上,阐明了真菌感染的病原学、流行病学、免疫学及诊治方法,涵盖浅部和深部真菌感染的诸多内容;同时,着重讲述了分子生物学方法诊疗的原理与技术,以及耐药机制、疾病动物模型等内容。结合作者的实践经验,书中对于药物不合理使用、SARS、AIDS、器官移植与真菌感染的关系也进行了系统阐述。内容丰富、新颖、实用。可供医学检验和临床诊断及相关专业的医生、科研和技术人员以及药物研发人员参考,也可作为医学院校的医学真菌学教材。该书的及时推出对于拓展病原真菌研究和生物医学研究的视野、延伸生命科学研究的触角、促进我国相关学科的发展将有一定的推动作用,并对该领域同行的基础研究、应用开发研究以及教学工作会有所裨益。

更多详情或更新资料,请登录: www.cip.com.cn; 化学工业出版社邮购热线:010-64982530。