

• 个案与短篇 •

59 株铜绿假单胞菌的耐药性分析*

吴祥林¹, 肖丽霞², 马东礼², 管有理¹, 刘青¹

(1. 广东省深圳市光明新区光明人民医院检验科 518106; 2. 广东省深圳市儿童医院检验科 518026)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.069

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2011)15-1782-02

铜绿假单胞菌广泛存在于自然环境中,是一种可引起人类各种感染性疾病的条件致病菌,在医院内感染的非发酵菌中占第 1 或第 2 的位置。据报道,铜绿假单胞菌性肺炎致死率高于 30%,败血症患者的病死率高达 80%~90%^[1]。为了解基层医院该菌的耐药性特点,笔者对 2010 年度分离的铜绿假单胞菌进行了统计分析,报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料 2010 年全年住院患者送检标本中分离的 59 株铜绿假单胞菌,排除了重复株。其中,痰液 41 株,占 69.5%;伤口分泌物 17 株,占 28.8%;尿液 2 株,占 3.4%。

1.2 方法 所有菌株经常规分离培养后,用西门子公司 Microscan Autoscan-4 自动分析系统及配套试剂 NC31 鉴定/药敏复合板,进行菌株鉴定及药敏试验。14 种抗菌剂分别为:头孢他啶、头孢噻肟、头孢曲松、头孢吡肟、亚胺培南、氨曲南、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林/克拉维酸、环丙沙星、左氧氟沙星、庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素。标准质控菌株为铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3 统计学处理 药敏试验结果用 WHONET5.6 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 59 株铜绿假单胞菌的病区分布及来源 见表 1。

表 1 59 株铜绿假单胞菌的病区分布及来源(n)

标本来源	ICU	外科	儿科	内科	合计
痰	4	7	15	14	40
伤口分泌物	0	16	1	0	17
尿	0	2	0	0	2
合计	4	25	16	14	59

表 2 59 株铜绿假单胞菌的耐药情况(%)

抗菌剂	ICU	外科	儿科	内科	全院
哌拉西林	25.0	20.0	0.0	0.0	10.2
替卡西林/克拉维酸	25.0	20.0	6.2	0.0	11.9
哌拉西林/他唑巴坦	25.0	16.0	6.2	0.0	10.2
头孢他啶	25.0	24.0	0.0	7.1	13.6
头孢曲松	100.0	96.0	100.0	78.6	93.2
头孢噻肟	100.0	100.0	100.0	78.6	94.9
头孢吡肟	25.0	20.0	0.0	7.1	11.9
氨曲南	50.0	16.0	12.5	0.0	13.6
亚胺培南	0.0	8.0	6.2	0.0	5.1
阿米卡星	0.0	16.0	0.0	0.0	6.8
庆大霉素	0.0	16.0	0.0	0.0	6.8
妥布霉素	0.0	16.0	0.0	0.0	6.8
环丙沙星	0.0	12.0	0.0	0.0	5.1
左氧氟沙星	0.0	8.0	0.0	0.0	3.4

2.2 药敏试验结果 头孢曲松和头孢噻肟的耐药率分别为 93.2% 和 94.9%,铜绿假单胞菌对其他 12 种抗菌剂的耐药率均低于 15%,从 1 例伤口分泌物标本中检出 1 株对 14 种抗菌剂均耐药的铜绿假单胞菌,见表 2。

3 讨论

从药敏结果可以看出,本院分离的铜绿假单胞菌耐药性较低,除了三代头孢菌素中的头孢噻肟和头孢曲松外,其他 12 种用于铜绿假单胞菌治疗的药物敏感率均超过 70%,可以根据选药规则应用于临床。

从标本来源看,痰液 41 株,占 69.5%,其中内科 14 株,儿科 16 株,外科 25 株,ICU 4 株,内科患者平均年龄 65.5 岁,60 岁以上占 71.4%,外科均为脑外伤及复合伤患者,侵袭性操作较多,这一构成支持铜绿假单胞菌作为条件致病菌易引起老人、儿童及重症患者院内感染的观点。

虽然本院铜绿假单胞菌耐药率较低,但全年仍然分离出 3 株亚胺培南耐药和 1 株亚胺培南中介株,其中 1 株为全耐药株,值得注意的是有 2 株耐药株和 1 株中介株均在 12 月份分离,Aloush 等^[2]研究发现,亚胺培南比头孢菌素、喹诺酮类及氨基青霉素更易诱导耐药,形成多重耐药菌株。是否会导致多重耐药株的增加,有待进一步观察,临床要根据药敏结果,谨慎使用亚胺培南。铜绿假单胞菌的耐药机制非常复杂,几乎包括了现在已知的所有耐药机制^[3]。其对不同抗菌剂的耐药机制各不相同,且往往是几种耐药机制共同起作用,使其对多种抗菌剂产生耐药。本年度分离到 1 株全耐药菌株,这将给临床抗感染治疗造成极大的困难,应引起临床和实验室的关注。

铜绿假单胞菌对三代头孢菌素中的头孢噻肟和头孢曲松耐药性显著升高,均大于 90%,与临床这两种药物使用总量呈正相关,说明了这两种抗菌剂的筛选作用在耐药菌株形成中的重要意义,有研究认为可能是 β-内酰胺类抗菌剂易诱导产生高水平、染色体介导的头孢菌素酶,如 AmpC 酶等^[4]。喹诺酮类药物临床使用量也较大,但主要是门诊患者使用,未有对院内感染的铜绿假单胞菌形成筛选作用。

本院分离的铜绿假单胞菌药敏谱不同于近年的文献报道^[5-6],与十多年前有关文献报道的耐药率相似^[7-8],说明级别越高的医院耐药率越严重。因为铜绿假单胞菌具有快速适应各种生长环境的能力,各种耐药机制的积累导致耐药性逐年升高。也说明了医院环境中存在着抗菌剂压力下选择出来的特异菌株,加强院内感染控制有着重要意义。

参考文献

- [1] 孙南雄,童明庆,潘世杨. 感染性疾病实验诊断[M]. 南京:台海出版社,2002:211-215.
- [2] Aloush V, Navorr-Venezia S, Seiman-Igra Y, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact

* 基金项目:深圳市科研立项资助项目(201103209)。

[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(1): 43-48.
 [3] 褚海青, 李惠萍, 何国钧. 铜绿假单胞菌的耐药机制[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2003, 3(1): 54-56.
 [4] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(6): 1211-1233.
 [5] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321-329.

[6] 宁明哲, 张之烽, 沈瀚, 等. 2005~2008 年铜绿假单胞菌耐药情况变迁分析[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(1): 91-93.
 [7] 王辉, 陈民钧. 1994~2001 年中国重症监护病房非发酵糖细菌的耐药变迁[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(5): 385-390.
 [8] 马越, 李景云, 张新妹, 等. 2002 年临床常见细菌耐药性监测[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(1): 38-44.

(收稿日期: 2011-04-10)

• 个案与短篇 •

1 例脑脊液中表型特异的地衣芽孢杆菌的生化特征及其分子生物学鉴定

马翔¹, 聂署萍², 温小玲³, 赵娟¹, 朱焕金³, 邹燕¹, 陆学东²

(1. 广东省广州市花都区爱医院检验科 510800; 2. 广东医学院附属深圳市福田区福田人民医院检验医学部 518000; 3. 广东省广州市花都区妇幼保健院 510800)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.070

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2011)15-1783-02

2010 年 8 月本室从 1 例患儿脑脊液中分离出地衣芽孢杆菌(BL), 因该菌的表型特征特别, 进一步做了鉴定, 现报道如下。

1 临床资料

患儿, 男, 1 月龄, 因咳嗽 10 多天, 体温 37.7 °C 1 d, 抽搐 2 次入院。手指血白细胞计数 $12.01 \times 10^9/L$, 嗜中性粒细胞 16.7%、淋巴细胞 68.2%、单核细胞 14.1%、嗜酸性粒细胞 0.5%、嗜碱性粒细胞 0.5%。无菌抽取脑脊液培养出纯生长的地衣芽孢杆菌。脑脊液常规: 外观微浊, 潘氏试验阴性, 白细胞计数 $0.04 \times 10^9/L$ 。脑脊液生化: 葡萄糖 2.2 mmol/L, 氯化物 121 mmol/L, 蛋白 409 mg/L。患儿自行转院。

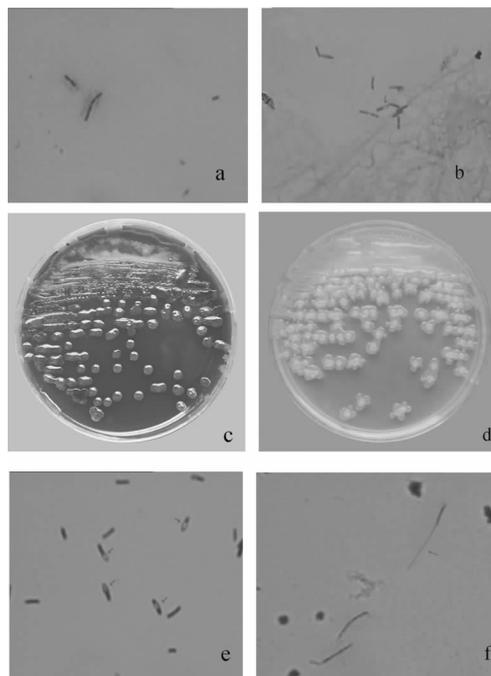
2 方法

2.1 细菌分离^[1] 脑脊液 3 000 r/min 离心 15 min, 取沉渣革兰染色找到阳性杆菌, 见图 1-a, 芽孢染色找到芽孢杆菌, 见图 1-b。取沉淀物划线接种巧克力琼脂(CA)、哥伦比亚血琼脂(CBA)平板放 35 °C 孵育(其中 CA 平板放 5%~10% CO₂ 产气袋中), 24 h 后, CBA 平板上的菌落直径 2 mm 左右, 圆形、凸起、光滑、边齐、湿润、黏稠、水滴样(见图 1-c)。但在 CA 平板上菌落稍小而干燥。陈旧的菌苔呈干燥的“衣壳”样。进一步观察特征如下: 将 CBA 平板生长物划线接种营养琼脂(NA)、水解酶蛋白琼脂(MH)、麦康凯(MC)平板各 2 个, 分别放普通和 5%~10% CO₂ 产气袋中培养 24 h, MC 平板上无细菌生长。在 NA 和 MH 平板上除具有 CBA 平板菌落的特征外, 特别是在 MH 平板(CO₂ 环境)的菌落为典型“油煎蛋”, 见图 1-d。温度生长试验, 30~60 °C 生长良好, 25 °C 以下和 65 °C 以上不生长(接种 NA 平板, 培养 48 h)。芽孢染色可见中生和次端生芽孢, 芽孢略膨出菌体, 见图 1-e, 该菌动力活泼(压滴法), 鞭毛染色可见 1 根明显长于菌体的端鞭毛, 见图 1-f。

2.2 生化检定 葡萄糖 O/F 发酵型, H₂O₂ 酶强阳性。接种 API 50CH(为 49 种糖醇发酵试验)以及 API 20E(肠杆菌科细菌鉴定用), 均为法国梅里埃公司生产, 按说明书操作。35 °C 孵育 24 h, 将生化结果输入法国梅里埃公司的 ATB 半自动微生物分析仪得到鉴定结果。经 API 50CH 鉴定为地衣芽孢杆菌, 联合 API 20E(前 12 项试验), 也鉴定为地衣芽孢杆菌。

2.3 分子生物学鉴定 提取细菌总 DNA, 在 16S rDNA 保守区域设计引物扩增 16S rDNA 基因, 然后使用 Beckman

CEQ8800 PCR 仪进行测序, 再将 DNA 测序结果与相应的数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行对比, 与地衣芽孢杆菌同源性为 100%(FJ655808.1)。



a: 沉渣中革兰阳性杆菌; b: 沉渣芽孢染色找到芽孢杆菌; c: CBA 平板上的菌落; d: 油煎蛋菌落; e: 菌落芽孢; f: 单根鞭毛。

图 1 细菌学分离结果

3 讨论

除严格致病的炭疽芽孢杆菌外, 其他芽孢杆菌也从胸水、脑脊液、血液等临床标本中分离出来^[2-5]。芽孢杆菌的确认可通过芽孢染色, 据介绍相差显微镜更便于芽孢的观察, 可用含 5 mg/L 硫酸锰的营养琼脂转种促使芽孢形成^[5]。相对于其他细菌, 芽孢杆菌的分类鉴定缺少易于测定的常规特征, 临床实验室准确鉴定到种仍有困难。一些简便可行的试验有助于区别, 如: 地衣芽孢杆菌和蜡芽孢杆菌兼性厌氧, 而枯草芽孢杆菌严格需氧。通过菌落特征、芽孢形态以及位置的观察, 结合 API 50CH 以及 16S rDNA 测序是芽孢杆菌广泛应用的鉴定