

• 临床检验研究 •

神经外科 ICU 病原菌分布及耐药分析

林定忠

(广东省惠州市惠阳区人民医院检验科 516211)

摘要:目的 了解该院神经外科 ICU 感染的病原菌分布及耐药情况,指导临床合理使用抗菌剂。方法 将该院神经外科 ICU 2009 年 1 月至 2010 年 12 月送检的标本进行回顾性分析。结果 分离出病原菌 369 株,其中 G⁻杆菌占 64%(236 株),G⁺球菌占 21%(77 株),念珠菌属占 10%(37 株),其他占 5%(19 株)。分离出的前 5 位细菌依次为:肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、凝固酶阴性葡萄球菌、白假丝酵母菌、大肠埃希菌。G⁻杆菌对常用抗菌剂显示不同程度耐药,但亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、头孢吡肟、阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦显示了良好的抗菌活性,尚未发现对万古霉素耐药的葡萄球菌。结论 神经外科 ICU 感染的病原菌耐药率高,应加强耐药监测,合理使用抗菌剂。

关键词:重症监护病房; 抗药性; 抗菌药

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 20. 028 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)20-2361-03

Pathogen distribution and drug-resistance to detected in neurosurgical intensive care unit

Lin Dingzhong

(Department of Clinical Laboratory, Huiyang Hospital, Huizhou, Guangdong 516211, China)

Abstract: Objective To investigate bacterial resistance of clinical isolates from neurosurgical intensive care unit and find out pathogen distribution. **Methods** 369 strains of bacteria were isolated from clinical samples between 2009 and 2010. **Results** The number of gram-negative were 236 strains(64%), gram-positive bacteria were 77 strains(21%), candida were 37 strains(10%), other bacteria were 19(5%). According to quantity order, the first was K. pneumoniae, then were P. aeruginosa, staphyococcus, candida, E. coli. Gram-negative organisms were different resistant to common antibiotics; but, imipenem, cefoperzone/sulbactam, cefpriome, amikacin piperacillin/tazo-bactam, had powerful antibacterial activity, not found any staphyococcus was resistant to vancomycin. **Conclusion** The drug-resistance of pathogens in neurosurgical intensive care unit is deteriorated. It is necessary to continuously monitor the drug-resistance of bacteria and rationally use antibiotics.

Key words: intensive care unit; drug-resistance; anti-bacterial agents

随着广谱抗菌剂广泛应用或滥用,细菌耐药问题日益严峻,尤其是神经外科 ICU 更为突出。神经外科 ICU 患者病情大多危重,伴昏迷,使用抗菌剂量大、时间长,常把气管切开作为其中的抢救手段之一,因此患者更容易受到多重耐药菌的感染,给临床治疗带来极大的挑战。为了解本院神经外科 ICU 临床标本分离病原菌耐药情况,为临床使用抗菌剂提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2009 年 1 月 2010 年 12 月送检标本。包括痰、分泌物、尿液、粪便、血液、脑脊液、胸腔积液、腹腔积液、灌洗液、胆汁、静脉导管等。去除同一患者 1 星期内重复分离菌株。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离与鉴定 所有送检标本的分离培养严格按《全国临床检验操作规程》第 3 版进行,菌株鉴定由法国生物梅里埃产品 ATB Expression 进行。

1.2.2 药敏试验 采用 K-B 法,药敏判读按美国国家临床实验室标准化委员会(CLSI)2009 年标准进行,实验数据由 WHO 细菌耐药监测网提供的 WHONET5.4 软件进行分析。

1.2.3 耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)的检测 按 2009 年 CLSI 建议作 K-B 法。M-H 琼脂加 2% NaCl,制成 4 mm 厚平板,贴 30 微克/片的头孢西丁(FOX),35℃,24 h。金黄色葡萄球菌 FOX 的抑菌圈小于或等于 19 mm 判断为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA),凝固酶阴性葡萄球菌 FOX 的抑菌圈小于或等于 24 mm 判断为耐甲氧西林凝固酶阴性金黄色葡萄球菌(MRSCON)。

1.2.4 产超广谱β内酰胺酶(ESBLs)表型确认试验^[1] 采用头

孢他啶、头孢他啶/棒酸、头孢噻肟、头孢噻肟/棒酸双纸片法。

1.2.5 D 试验(克林霉素诱导耐药试验) 按参考文献[2]进行。

1.2.6 质量控制 大肠埃希菌 ATCC 25922、ATCC 35218,铜绿假单胞菌 ATCC 27853,金黄色葡萄球菌 ATCC 25923。

2 结果

2.1 病原菌在临床标本中的分布及种类 共检出各类病原菌 369 株,见表 1、2。

表 1 病原菌在临床标本的分布

标本	株数(n)	构成比(%)
痰液	224	61
尿液	55	15
血液	39	10
分泌物	30	8
胸、腹腔积液	13	4
其他	8	2
合计	369	100

表 2 病原菌的种类及构成

病原体	株数(n)	构成比(%)
G ⁻ 杆菌		
肺炎克雷伯菌	98	27
铜绿假单胞菌	68	18
大肠埃希菌	30	8
其他	40	11
G ⁺ 球菌		
凝固酶阴性葡萄球菌	46	12
金黄色葡萄球菌	22	6
肠球菌	21	6

续表 2 病原菌的种类及构成

病原体	株数(<i>n</i>)	构成比(%)
真菌		
白假丝酵母菌	37	10
其他真菌	7	2
合计	369	100

2.2 ESBLs 检出率 大肠埃希菌 43%(13/30);肺炎克雷伯菌 49%(48/98)。

2.3 D 试验阳性率 金黄色葡萄球菌 36%(8/22),凝固酶阴性葡萄球菌 56%(26/46)。

2.4 葡萄球菌对常用抗菌剂的耐药率(%) 见表 3。

2.5 常见革兰阴性杆菌对抗菌剂耐药率(%) 见表 4。

表 3 葡萄球菌对常用抗菌剂的耐药率(%)

抗菌剂	金黄色葡萄球菌(<i>n</i> =22)		表皮葡萄球菌(<i>n</i> =30)		抗菌剂	金黄色葡萄球菌(<i>n</i> =22)		表皮葡萄球菌(<i>n</i> =30)	
	耐药	敏感	耐药	敏感		耐药	敏感	耐药	敏感
青霉素	100.0	0.0	100.0	0.0	哌奴普汀	0.0	100.0	0.0	100.0
诺氟沙星	78.0	22.0	85.0	15.0	四环素	32.0	68.0	46.0	54.0
红霉素	66.0	34.0	70.0	30.0	复方磺胺	25.0	75.0	44.0	66.0
苯唑西林	48.0	52.0	55.0	45.0	呋喃妥因	0.0	100.0	0.0	100.0
庆大霉素	60.0	40.0	65.0	35.0	克林霉素	23.0	77.0	49.0	51.0
万古霉素	0.0	100.0	0.0	100.0	左旋氧氟沙星	31.0	69.0	35.0	65.0
替考拉宁	0.0	100.0	0.0	100.0	利福平	12.0	88.0	14.0	86.0
夫西地酸	0.0	100.0	0.0	100.0	米诺环素	6.0	94.0	8.0	92.0

表 4 常见的革兰阴性杆菌对抗菌剂耐药率(%)

抗菌剂	肺炎克雷伯菌(<i>n</i> =78)		大肠埃希菌(<i>n</i> =30)		鲍氏不动杆菌(<i>n</i> =20)		铜绿假单胞菌(<i>n</i> =68)		嗜麦芽黄单胞菌(<i>n</i> =20)	
	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感
阿莫西林	100.0	0.0	100.0	0.0	31.0	69.0	—	—	—	—
阿莫西林/棒酸	20.0	80.0	17.0	83.0	12.0	88.0	—	—	—	—
哌拉西林	74.0	26.0	76.0	24.0	22.0	78.0	23.0	77.0	72.0	28.0
哌拉西林/他唑巴坦	9.0	91.0	10.0	90.0	4.0	96.0	8.0	92.0	34.0	66.0
替卡西林	100.0	0.0	98.0	2.0	23.0	77.0	22.0	78.0	76.0	24.0
替卡西林/棒酸	44.0	56.0	46.0	54.0	11.0	89.0	12.0	78.0	0	100.0
头孢噻吩	100.0	0.0	100.0	0.0	34.0	66.0	—	—	—	—
头孢西丁	26.0	74.0	25.0	75.0	21.0	79.0	—	—	—	—
头孢噻肟	63.0	37.0	46.0	54.0	15.0	85.0	—	—	—	—
头孢他啶	42.0	58.0	24.0	76.0	10.0	90.0	15.0	85.0	25.0	75.0
头孢吡肟	10.0	90.0	11.0	89.0	3.0	97.0	12.0	88.0	61.0	39.0
头孢呋辛	100.0	0.0	100.0	0.0	37.0	63.0	—	—	—	—
亚胺培南	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	35.0	65.0	100.0	0.0
复方磺胺	42.0	58.0	29.0	71.0	39.0	61.0	100.0	0.0	16.0	84.0
妥布霉素	18.0	82.0	16.0	84.0	12.0	88.0	42.0	58.0	46.0	54.0
阿米卡星	14.0	86.0	16.0	84.0	13.0	87.0	35.0	65.0	45.0	55.0
庆大霉素	64.0	36.0	49.0	51.0	24.0	76.0	34.0	66.0	62.0	38.0
奈替米星	11.0	89.0	8.0	92.0	7.0	93.0	—	—	—	—
环丙沙星	32.0	68.0	72.0	28.0	23.0	77.0	29.0	71.0	13.0	87.0
氨苄西林/舒巴坦	—	—	—	—	—	—	100.0	0.0	100.0	0.0
头孢哌酮/舒巴坦	4.0	96.0	6.0	94.0	2.0	98.0	17.0	83.0	7.0	93.0
多黏菌素 E	—	—	—	—	—	—	16.0	84.0	92.0	8.0

—:未检出。

3 讨 论

细菌耐药问题是全球医药卫生界关注的热点问题之一,可分为天然耐药和获得耐药,后者易传播而在临床上占有重要地位。神经外科 ICU 病房由于患者病情危重、多伴有昏迷、住院时间长、广谱抗菌药物应用较频繁、各种侵入性操作较多,所以

细菌的耐药问题比普通病房更严重。本院神经外科 ICU 分离的革兰阳性球菌主要为葡萄球菌。葡萄球菌广泛存在于自然界,是社区感染和医院感染的主要病原菌之一,可引起各种感染,包括败血症、肺炎、伤口感染、骨髓炎等。葡萄球菌的耐药问题主要表现为 MRS。MRS 的耐药主要是由耐药基因

(mecA)编码合成一种新的青霉素结合蛋白(Penicillin Binding Protein, PBP)2a 导致, PBP2a 与 β -内酰胺类抗菌剂的亲和力低从而产生耐药^[2]。按 CLSI 要求, 当葡萄球菌被确认为 MRS 时, 其对青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类、碳头孢类和含 β -内酰胺酶抑制剂的抗菌剂均应视为耐药。尽管可能出现体外试验为“敏感”, 体内用药时常为耐药。携带 mecA 基因的 MRS 往往同时也耐氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类、盐酸克林霉素类抗菌剂^[3-4]。本院分离的葡萄球菌对万古霉素、替考拉宁 100% 敏感, MRS 的中重度感染首选万古霉素、替考拉宁等糖肽类抗菌剂。对呋喃妥因、利福平、复方新诺明、米诺四环素耐药率较低。值得注意的是, 本院分离葡萄球菌的 D 试验阳性率较高(金黄色葡萄球菌为 36%, 凝固酶阴性葡萄球菌为 56%)。提示临床微生物实验室对葡萄球菌进行常规 D 试验的重要性, 以指导临床医师正确使用克林霉素。

革兰阴性杆菌是本院医院感染的主要病原菌。排在首位的是肺炎克雷伯菌, 且对多种抗菌剂耐药率高。ESBLs 的产生和传播是革兰阴性杆菌多重耐药的重要原因之一, 已成为临床感染治疗的严峻挑战^[5]。体外药敏试验头孢他啶的耐药率明显低于头孢噻肟, 与王鹏等^[6]报道的一致, 这与国内医院头孢噻肟的使用量明显大于头孢他啶有关。说明本院革兰阴性杆菌所产生的 ESBLs 主要为 CTX-M 型有关。本次研究显示, 本院分离的革兰阴性杆菌对阿莫西林、替卡西林、头孢噻吩、哌拉西林、头孢呋辛、庆大霉素等耐药率较高, 亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、头孢吡肟、阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦显示了良好的抗菌活性^[7-8]。

抗菌剂合理使用, 能减缓药物对细菌的选择压力, 减少细菌耐药产生^[7]。本院神经外科 ICU 念珠菌的感染已经比较常

见, 位于常见分离菌株的第 4 位, 占 10%。由于病原菌的多重耐药性与传播性, 除合理应用抗菌剂、加强耐药监测外, 还应加强临床消毒、隔离制度的落实, 医务人员勤洗手, 严格无菌操作, 对病区内环境定期做好监测, 防止院内交叉感染。同时, 加强医务人员有关细菌耐药知识的培训。

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S16 Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne: PA, CLSI, 2009.
- [2] 朱以军, 应华永, 卜黎红, 等. 微量肉汤稀释法检测葡萄球菌属诱导型克林霉素耐药的评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(17): 2713-2715.
- [3] 欧阳范献, 鲍时翔. mec 复合体和 SCCmec 盒与 MRSA 耐药性研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2004, 3(4): 375-376.
- [4] 孔海深, 徐根云, 李雪芬, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌多重耐药基因检测[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(10): 1029.
- [5] 马越, 金少鸿. 我国细菌耐药性监测研究的新特点[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(4): 344.
- [6] 王鹏, 熊自忠, 王中新. 185 株临床分离肺炎克雷伯菌中超广谱 β -内酰胺酶及耐药性检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(4): 454-456.
- [7] 杨钧, 张淑文, 王红, 等. 感染暨急救医学内科细菌性耐药性监测结果[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 6(5): 531.
- [8] 司文, 李文郎, 谭卫民, 等. 神经外科医院感染常见病原菌耐药性调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(4): 449-450.

(收稿日期: 2011-09-01)

(上接第 2360 页)

离心超滤法去除血清中大相对分子质量高丰度蛋白质步骤较为简便、重复性好, 为进一步深入研究血清蛋白质组学奠定了基础。

参考文献

- [1] Narimatsu H, Sawaki H, Kuno A, et al. A strategy for discovery of cancer glyco-biomarkers in serum using newly developed technologies for glycoproteomics[J]. FEBS J, 2010, 277(1): 95-105.
- [2] 姜伟, 王开正, 白克镇, 等. 精神分裂症与急性应激障碍及抑郁症患者血清蛋白质谱初步分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(5): 385-387, 391.
- [3] 李明, 沈佐君. 糖基化蛋白的检测及其在临床中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(11): 1015-1016, 1018.
- [4] Plavina T, Wakshull E, Hancock WS, et al. Combination of abundant protein depletion and multi-lectin affinity chromatography (M-LAC) for plasma protein biomarker discovery[J]. J Proteome Res, 2007, 6(2): 662-671.
- [5] Pernemalm M, Lewensohn R, Lehtio J. Affinity prefractionation for MS-based plasma proteomics[J]. Proteomics, 2009, 9(6): 1420-1427.
- [6] Fic E, Kedracka-Krok S, Jankowska U, et al. Comparison of protein precipitation methods for various rat brain structures prior to proteomic analysis[J]. Electrophoresis, 2010, 31(21): 3573-3579.
- [7] De Bock M, de Seny D, Meuwis MA. Comparison of three methods for fractionation and enrichment of low molecular weight proteins for SELDI-TOF-MS differential analysis[J]. Talanta, 2010, 82

(1): 245-254.

- [8] Schagger H. Tricine-SDS-PAGE[J]. Nat Protoc, 2006, 1(1): 16-22.
- [9] 苟黎明, 邵小宝, 李克. 蛋白质组学研究中高丰度蛋白质去除方法的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 298-211.
- [10] Zolotarjova N, Mrozinski P, Chen H, et al. Combination of affinity depletion of abundant proteins and reversed-phase fractionation in proteomic analysis of human plasma/serum[J]. J Chromatogr, 2008, 1189(1): 232-338.
- [11] Azarkan M, Huet J, Baeyens-Volant D, et al. Affinity chromatography: a useful tool in proteomics studies[J]. J Chromatogr B, 2007, 849(1/2): 81-99.
- [12] Kay R, Barton C, Ratcliffe L, et al. Enrichment of low molecular weight serum proteins using acetonitrile precipitation for mass spectrometry based proteomic analysis[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22(20): 3255-3260.
- [13] Jin WH, Dai J, Li SJ, et al. Human plasma proteome analysis by multidimensional chromatography prefractionation and linear ion trap mass spectrometry identification[J]. J Proteome Res, 2005, 4(2): 613-619.
- [14] Tirumalai RS, Chan KC, Prieto DA, et al. Characterization of the low molecular weight human serum proteome[J]. Mol Cell Proteomics, 2003, 2(10): 1096-1103.

(收稿日期: 2011-09-07)