

• 调查报告 •

新生儿重症监护病房革兰阴性杆菌的分布及耐药监测分析

宋晓妍, 泰淑红, 孟祥颖, 贾莉婷, 张 展[△]

(郑州大学第三附属医院检验科, 河南郑州 450052)

摘要:目的 分析新生儿重症监护病房(NICU)革兰阴性杆菌分布及其体外药物敏感性变化。方法 分析 2009~2012 年 NICU 送检标本中分离出的革兰阴性杆菌, 菌株经 DL-96 鉴定药敏板或 API 鉴定系统鉴定, 药物敏感性采用 DL-96 药敏板检测, 利用 WHONET5.6 软件进行数据分析。结果 4 年中共分离出革兰阴性杆菌 862 株, 其中占前 4 位的分别为大肠埃希菌(50.13%)、肺炎克雷伯菌(25.52%)、鲍曼不动杆菌(8.00%)及铜绿假单胞菌(7.19%)。对于肠杆菌科细菌耐药性最低的抗菌药物是碳青霉烯类, 对于鲍曼不动杆菌耐药性最低的抗菌药物是米诺环素, 对铜绿假单胞菌耐药性最低的是碳青霉烯类、 β -内酰胺酶类抑制剂的复合制剂。结论 在 NICU 分离的革兰阴性杆菌细菌中, 肠杆菌科细菌占优势; 复合制剂对肠杆菌科细菌有很好的敏感性。

关键词:新生儿重症监护病房; 革兰阴性杆菌; 药物监测; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)07-0866-03

The distribution and antimicrobial resistance surveillance analysis of gram-negative bacilli in the neonatal intensive care unitSong Xiaoyan, Tai Shuhong, Meng Xiangying, Jia Liting, Zhang Zhan[△]

(Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

Abstract: **Objective** To study the gram-negative bacilli distribution and the antimicrobial resistance tendency among commonly used antibiotics in the neonatal intensive care unit (NICU). **Methods** Gram-negative bacilli isolated from pathogenic samples in NICU from 2009 to 2012 were collected and identified by API or DL-96 microbial identification system, drug sensitivity was tested by the DL-96 antimicrobial susceptibility analyzer system, and the drug resistance was analyzed by WHONET5.6 software. **Results** A total of 862 were gram-negative bacilli strains were isolated during the four years and the top four pathogens were *Escherichia coli* (50.13%), *Klebsiella pneumoniae* (25.52%), *Acinetobacter baumannii* (8.00%) and *Pseudomonas aeruginosa* (7.19%). In vitro susceptibility results showed that carbapenems, such as Imipenem, meropenem showed the strongest antimicrobial effect against gram-negative bacilli cefoperazone/sulbactam and piperacillin/tazobactam also displayed good antimicrobial activity against enterobacteriaceae, and minocycline was the most sensitive antimicrobial for *Acinetobacter baumannii*, enzyme inhibitors with β -lactamases the most sensitive antimicrobial for *Pseudomonas aeruginosa*. **Conclusion** Enterobacteriaceae is the dominant gram-negative bacilli in NICU, carbapenems and enzyme inhibitors with β -lactamases inhibitors remain the most effective drug against gram-negative bacilli.

Key words: neonatal intensive care unit; gram-negative bacilli; drug monitoring; drug resistance

新生儿重症监护病房(NICU)是发生院内感染的重要场所, 而革兰阴性杆菌是 NICU 内新生儿感染的主要病原菌。随着抗菌药物的广泛应用, 细菌变异速度加快, 对抗菌药物的耐药性不断增长, 严重影响了药物的疗效和患儿的预后^[1-2]。所以了解目前 NICU 主要致病菌的构成情况和常见致病菌的耐药特性变迁是临床合理选择抗菌药物的保证。而细菌耐药性监测对准确掌握 NICU 细菌对抗菌药物的耐药动向和耐药性变迁、指导临床合理经验用药具有重要的意义^[3-4]。本研究通过对 2009 年 1 月至 2012 年 12 月 4 年间郑州大学第三附属医院 NICU 革兰阴性杆菌的分布及其对常用抗菌药物的耐药性变化趋势进行分析, 以期了解本院新生儿感染细菌的耐药动态变化, 为临床医生高效的选择和使用抗菌药物提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2009 年 1 月至 2012 年 12 月年间郑州

大学第三附属医院 NICU 收治的新生儿患者各类临床标本(痰液、血液、尿液、脑脊液、导管分泌物及各种引流液等), 去除同一患者相同部位的重复菌株, 共计分离出革兰阴性杆菌 862 株。菌株经珠海迪尔生物有限公司 DL-96 鉴定药敏板或法国梅里埃 ATBI200 微生物鉴定系统确认, 操作程序严格按照仪器操作说明进行, 质控菌株为大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)和肺炎克雷伯菌(ATCC 700603)。

1.2 试剂与仪器 头孢他啶、头孢他啶/克拉维酸、头孢噻肟、头孢噻肟/克拉维酸纸片、亚胺培南、美罗培南、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢曲松、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦、头孢吡肟、环丙沙星、左氧氟沙星、四环素、米诺环素等药敏纸片购自英国 Oxoid 公司。最低抑菌浓度(MIC)测定采用 DL-96 迪尔鉴定药敏板, 试剂购自珠海迪尔生物有限公司。

1.3 药物敏感性测定 药物敏感性测定采用 DL-96 药敏板

检测,操作严格按照试剂说明进行。为保证检验结果的准确性,同时根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)颁布的操作标准采用 K-B 法对 DL-96 药敏板检测结果复核。对 2 种药敏结果不同再次用 DL-96 药敏板复检结果作为药敏最终结果。其中头孢哌酮/舒巴坦按照头孢哌酮标准判断结果^[4]。同一患者的相同菌种标本,若培养时间在 3 d 以内视为同一菌株,不重复药敏试验。

1.4 产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株测定 操作按照 CLSI 推荐的纸片筛选和酶抑制增强确证试验进行。头孢噻肟或头孢他定在加克拉维酸后,抑菌环直径与不加克拉维酸的抑菌环相比增加长度大于或等于 5 mm 时判定为产 ESBLs 菌株。

1.5 统计学处理 采用 WHONET5.6 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 革兰阴性杆菌构成及分布 4 年中共分离出革兰阴性杆菌 862 株,其标本来源依次为痰液(515 株,占 59.74%),呼吸道导管末端分泌物(224 株,占 25.99%),血液(73 株,8.47%),尿液(42 株,占 4.87%),导管插管(5 株,占 0.58%),脑脊液(3 株,占 0.35%)。在分离的 862 株革兰阴性杆菌中,居前 4 位的致病菌分别是大肠埃希菌 432 株(50.13%),肺炎克雷伯菌 220 株(25.52%),鲍曼不动杆菌 69 株(8.00%),铜绿假单胞菌 62 株(7.19%),以上 4 种致病菌共占检出革兰阴性杆菌的 90.84%。

2.2 革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率 2009 至 2012 年间,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌在本研究分离的革兰阴性杆菌中占 75.65%,其中大肠埃希菌为 432 株,对其耐药率最低的为亚胺培南、美罗培南,其次是哌拉西林/他唑巴坦、米诺环素、头孢哌酮/舒巴坦;肺炎克雷伯菌共分离出 220 株,对其耐药性最低的为亚胺培南、美罗培南,其次是哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦;对于大肠杆菌和肺炎克雷伯菌耐药率最高的为哌拉西林和第三代头孢菌素。分离出非发酵细菌主要为鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌,对鲍曼不动杆菌耐药性最低的是米诺环素,其次是左氧氟沙星、亚胺培南、美罗培南、哌拉西林/他唑巴坦,对铜绿假单胞菌耐药性最低的是哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦,其次是环丙沙星、左氧氟沙星、亚胺培南、美罗培南。

2.3 4 年中肠杆菌科细菌的耐药性变迁 4 年间肠杆菌科细菌对哌拉西林、头孢曲松、头孢他啶、头孢噻肟及头孢哌酮的耐药率均超过 74.0%,并呈现逐年增长的趋势,具有多药耐药特点。大肠埃希菌对头孢哌酮/舒巴坦的耐药性从 2.86% 上升到 24.63%,哌拉西林/他唑巴坦的耐药率从 2.86% 上升到 19.4%,亚胺培南耐药性从 1.43% 上升到 2.40%,美罗培南耐药性与亚胺培南相似,但大肠埃希菌对环丙沙星、左氧氟沙星耐药性相对稳定。肺炎克雷伯菌耐药特点与大肠埃希菌相似。

2.4 4 年中非发酵细菌的耐药性变迁 非发酵细菌 4 年中对多种抗菌药物保持相对稳定状态,但鲍曼不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦的耐药性呈逐年上升趋势。鲍曼不动杆菌对亚胺培南、美罗培南的耐药率大于 25%。值得注意的是,铜绿假单胞菌对多种抗菌药物的耐药性亦呈逐年升高趋势。但由于临床分离出的鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌株

数量相对较少,所以在耐药性变迁分析上可能存在一定的偏倚。

3 讨论

NICU 主要收治各种危重症新生儿及早产儿,由于患儿年龄小于 1 个月,在严重病理生理紊乱和自身免疫功能尚不健全的基础上,接受侵袭性医疗操作后常并发各种感染性疾病,且其感染后病情迅速进展,导致患儿病死率增高^[5-7]。而革兰阴性杆菌是 NICU 感染的主要病原菌,且多重耐药现象十分普遍,因此了解 NICU 革兰阴性杆菌菌的流行分布和耐药情况对指导临床医生合理选用抗菌药物,降低院内感染发生率、新生儿重症感染及病死率,及时控制院内感染的爆发流行均具有重要意义^[8]。

本研究显示 NICU 中肠杆菌科细菌感染在革兰阴性杆菌分布中占有优势地位(75.64%),与成人 ICU 菌种分布差异较大^[6-7],但与其他地区关于 NICU 细菌耐药报道相近^[2,5],提示革兰阴性杆菌中的分布在 ICU 因年龄因素不同而存在差异。本研究显示大肠埃希菌占 50.12%(432 株),肺炎克雷伯菌占 25.52%,这与罗俊等^[1]报道不一致,显示革兰阴性杆菌分布因地域不同而存在差异。

尽管细菌耐药监测网提供了多中心、大样本的细菌耐药监测数据,为临床合理使用抗菌药物提供依据,但国内耐药监测报道显示不同年龄阶段,不同地区菌种分布、细菌耐药状况不尽相同。通过与成人 ICU 耐药分析的资料相比^[6-7],本研究显示 NICU 革兰阴性杆菌对头孢菌素耐药率相对较高,与其他地区 NICU 耐药情况接近^[1-2,5],究其原因或与头孢菌素主要作用于细菌的细胞壁,不良反应相对较小,在儿科感染性疾病,尤其是新生儿感染性疾病的治疗中应用广泛有关。

本研究显示碳青霉烯类抗菌药物对肠杆菌科细菌作用最强,这与国内外文献报道相近^[1-4,5-12]。加入酶抑制剂(如舒巴坦、他唑巴坦)可显著提高头孢哌酮、哌拉西林的抗菌活性。与哌拉西林比较,哌拉西林/他唑巴坦可使大肠杆菌的耐药率自 84.72% 减至 12.04%;与头孢哌酮相比,头孢哌酮/舒巴坦可使大肠杆菌的耐药率自 81.94% 减至 14.81%,这可能与舒巴坦和他唑巴坦抑制细菌产生的超广谱 β -内酰胺酶有关。本研究显示肠杆菌科细菌对喹诺酮类抗菌药物有较高的抗菌活性。

在非发酵细菌耐药体外药敏试验中,米诺环素对鲍曼不动杆菌有较强的抗菌活性,左氧氟沙星对铜绿假单胞菌有较强的抗菌活性。由于新生儿慎用四环素和喹诺酮类药物,因此临床治疗上多选用加酶抑制剂和碳氢酶烯类抗菌药物。与肠杆菌科细菌相比,非发酵细菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药率高,耐药机制十分复杂,主要包括外膜通透性障碍、作用靶位的改变、生物膜的形成和存在主动外排系统等。非发酵细菌的多种耐药机制存在使得鲍曼不动杆菌的检出虽然保持相对稳定,但其耐药率高,且存在多重耐药现象,是目前临床用药治疗的难点。

值得注意的是对于肠杆菌科细菌,近 2 年 CLSI 对头孢类和碳青霉烯类抗菌药物敏感性判读折点进行了修改,取消了对产 ESBLs 菌株的测定。由于肠杆菌科细菌耐药仍以产 β -内酰胺酶为主,而产 ESBLs 编码的基因位于质粒上,可以通过转化、转导、接合等多种方式在不同细菌中传递,易造成耐药菌的爆发流行,为感染控制和治疗带来困难。因此本研究进行产

ESBLs 菌株的筛选和确证试验,以便及时发现产 ESBLs 菌株,防止院内感染的产生。

随着革兰阴性杆菌耐药率逐年增加,多重耐药日益严重,给临床治疗带来困难。这一现象的产生一方面与细菌自我突变有关,另一方面也与临床医生使用抗菌药物的习惯密切相关。研究结果提示应继续加强对临床抗菌药物用药管理工作^[18],要求临床医生应严格按照新生儿抗菌药物使用原则用药,尽量避免联合用药和预防用药。

参考文献

[1] 罗俊,徐芬,周北燕,等. 新生儿重症监护病房革兰阴性病原菌变化及耐药高危因素分析[J]. 中华围产医学杂志,2012,15 (3): 167-169.

[2] 管利荣,王敏,陈慧玉,等. NICU 内革兰阴性杆菌对抗生素多重耐药性分析[J]. 临床儿科杂志,2007,25(2):139-141.

[3] 杨启文,王辉,徐英春,等. 中国 14 家教学医院院内菌血症与肺炎和腹腔感染病原菌的抗生素耐药监测[J]. 中华检验医学杂志, 2009,32(12):1367-1375.

[4] 杨启文,王辉,徐英春,等. 2009 年中国 13 家教学医院院内感染病原菌的抗生素耐药性监测[J]. 中华检验医学杂志,2011,34(5): 422-430.

[5] 俞云松. 重视细菌耐药监测提高耐药监测水平[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(1):6-7.

[6] 周志慧,张俊丽,瞿婷婷,等. 我国 28 家医院中铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素的耐药性及同源性分析[J]. 中华检验医学杂志,

2009,32(11):1228-1232.

[7] 高晓岚,艾中平,甘辞海. 2010~2012 年我院 ICU 常见 G-杆菌耐药性变迁分析[J]. 山东医药,2013,53(6):52-54.

[8] Mammina C, Di Carlo P, Cipolla D, et al. Surveillance of multi-drug-resistant gram-negative bacilli in a neonatal intensive care unit: prominent role of cross transmission[J]. J Infect Control, 2007,35(4):222-230.

[9] Haeili M, Ghodousi A, Nomanpour B, et al. Drug resistance patterns of bacteria isolated from patients with nosocomial pneumonia at Tehran hospitals during 2009-2011[J]. J Infect Dev Ctries, 2013,7(4):312-317.

[10] Datta S, Wattal C, Goel N, et al. A ten year analysis of multi-drug resistant blood stream infections caused by Escherichia coli & Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital[J]. Indian J Med Res,2012,135(6):907-917.

[11] Bergman M, Nyberg ST, Huovinen P, et al. Association between antimicrobial consumption and resistance in Escherichia coli[J]. Antimicrob Agents Chemother,2009,53(3):912-917.

[12] Bouchillon SK, Badal RE, Hoban DJ, et al. Antimicrobial Susceptibility of Inpatient Urinary Tract Isolates of Gram-Negative Bacteria in the United States: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program, 2009-2011 [J]. Clin Ther,2013,35(6):872-877.

(收稿日期:2013-10-09)

(上接第 865 页)

也要重视培养与引进人才来解决这一问题。这既需要国家和地方政策的大力支持,也需要广大检验工作者的共同努力,坚持“请进来”和“走出去”相结合,加快检验医师规范化培训,造就高素质的检验人才^[8-9]。

由于宏观管理和微观管理涉及的方面较多,个别乡镇医疗机构配合的可能性较小,调查时间的限制等问题,本调查仅对昆山地区乡镇医疗机构检验人员现状进行分析,检验质量控制、成本核算与效率、实验室管理与安全维护等问题将会有进一步的报道。通过本次调查,基本了解了昆山地区乡镇医疗机构检验人员现状,可为小型乡镇医疗机构的检验人员配备标准的设置提供基线数据,为财政预算提供政策依据。

参考文献

[1] 涂斌. 乡镇卫生院检验科现状调查分析[J]. 湖北科技学院学报: 医学版,2012,26(6):524-526.

[2] 安刚. 南川区乡镇卫生院临床实验室现状调查与分析[J]. 国际检

验医学杂志,2012,33(22):2806.

[3] 冯志平,张梅,张宗光,等. 河北省医学检验技术人员现状分析[J]. 河北职工医学院学报,1999,16(1):57-58.

[4] 丛玉隆. 加强检验科与临床交流促进检验科与临床结合[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(1):2-5.

[5] 王建成,苏建荣. 检验医师规范化培训的实践与探索[J]. 临床和实验医学杂志,2012,11(23):1909-1910.

[6] 李彦秋,张晓虎,强胜春. 顺应时代要求加强医学人文教育[J]. 中国高等医学教育,2002(5):44-45.

[7] 章锁江,吴心平,张文萍,等. 面向 21 世纪培养未来型高素质医学人才[J]. 中国高等医学教育,1998,12(5):15-17.

[8] 史自强,马永祥,胡浩波,等. 医院管理学[M]. 上海:上海远东出版社,1995:74-80.

[9] 张玉芬. 以现代教育思想为指导不断更新医学教育观念[J]. 河北职工医学院学报,2008,25(2):98-99.

(收稿日期:2014-01-02)

误 差

误差指测量值与真值之差,也指样本指标与总体指标之差。包括系统误差、随机测量误差和抽样误差。系统误差指数据收集和测量过程中由于仪器不准确、标准不规范等原因,造成观察(检测)结果呈倾向性的偏大或偏小,是可避免或可通过研究设计解决的。随机测量误差指由于一些非人为的偶然因素使观察(检测)结果或大或小,是不可避免的。抽样误差指由于抽样原因造成样本指标与总体指标的差异,是不可避免但可减少的。