

非发酵菌在临床标本中的检出及耐药性分析

张进军, 杨怀德, 向雪琼, 李雪梅

(张家界市人民医院, 湖南 张家界 427000)

【摘要】目的 了解某院 2008 年 1—12 月非发酵菌在临床标本中的检出分布及耐药现状, 为临床合理应用抗菌药物提供依据。**方法** 应用 ATB 细菌鉴定系统鉴定细菌, K-B 纸片扩散法进行体外药敏试验。**结果** 3 555 份临床标本中共检出非发酵菌 215 株, 检出率为 6.05%, 占总检出细菌株数的 19.15% (215/1 123); 以铜绿假单胞菌最为常见, 占非发酵菌总数的 41.86%, 其次为鲍曼不动杆菌和洋葱伯克霍尔德菌, 构成比分别为 29.30% 和 16.74%。不同感染部位非发酵菌的检出率各不相同, 以痰和咽拭子、皮肤皮下组织分泌物检出较高, 分别为 15.32%、9.17%。铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、嗜麦芽窄食单胞菌均具有明显耐药性。**结论** 该院临床感染患者标本中非发酵菌检出率较高, 且耐药性较强。为及时控制非发酵菌感染并防止耐药菌株的产生, 应根据药敏试验结果合理选用抗菌药物治疗。

【关键词】 非发酵菌; 细菌感染; 抗药性; 微生物; 耐药机制; 合理用药

【中图分类号】 R378.99 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-9638(2010)01-0049-04

Detection and drug resistance of non-fermentative bacteria from clinical samples

ZHANG Jin-jun, YANG Huai-de, XIANG Xue-qiong, LI Xue-mei (Zhangjiajie People's Hospital, Zhangjiajie 427000, China)

【Abstract】 Objective To realize the detection and drug resistance of non-fermentative bacteria from clinical samples between January and December, 2008, so as to provide evidence for rational use of antimicrobial agents in clinic. **Methods** Bacteria were identified by ATB identification system, antimicrobial susceptibility tests were performed by Kirby-Bauer method. **Results** 215 strains of non-fermentative bacteria were isolated from 3 555 samples, the isolation rate was 6.05%, which accounting for 19.15% (215/1 123) of total isolated bacteria; the most common isolated bacteria was *Pseudomonas aeruginosa*, which accounting for 41.86% of total non-fermentative bacteria, the next was *Acinetobacter baumannii* and *Burkholderia cepacia*, the constitutional ratio was 29.30% and 16.74% respectively. The isolation rates of non-fermentative bacteria varied with different infection sites, the isolation rates were high in samples of sputum and throat swabs, and excretion of subcutaneous tissue, which was 15.32% and 9.17% respectively. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia* were all had obvious drug resistance. **Conclusion** The isolation rate of non-fermentative bacteria in clinical infected patients are high, and drug-resistance is strong. In order to control non-fermentative bacteria infection and emergence of drug resistant strain, antimicrobial agents for treatment of infection should be chosen according to antimicrobial susceptibility test results.

【Key words】 non-fermentative bacteria; bacterial infection; drug resistance, microbial; drug resistance mechanisms; rational use of drugs

[Chin Infect Control, 2010, 9(1): 49-52]

非发酵菌指一群需氧或兼性厌氧, 不发酵糖类, 能在普通培养基上生长的革兰阴性杆菌^[1-2]。其主

要存在于外界环境中, 种类繁多, 大多数为条件致病菌, 尤其在医院感染病原菌中多见^[3-4]。为了解非

[收稿日期] 2009-05-21

[作者简介] 张进军(1971-), 男(土家族), 湖南省张家界市人, 副主任检验师, 主要从事细菌耐药性研究。

[通讯作者] 张进军 E-mail: zjj8278@126.com

发酵菌在本院临床标本中的分布、检出与药敏情况,笔者对本院 2008 年 1—12 月所有临床标本中分离出的各种非发酵菌资料进行了统计分析,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2008 年 1—12 月本院临床送检的各类标本 3 555 份,其中痰和咽拭子标本 1 018 份,中段尿标本 607 份,皮肤及皮下组织分泌物标本 469 份,血液标本 1 115 份,脑脊液标本 95 份,其他标本(中心静脉导管、大便、前列腺液等)251 份。

1.2 细菌培养、分离与鉴定 血标本直接注入 BacT/ALERT PF 血培养瓶,置 BacT/ALerT 3D-120 全自动快速培养系统(法国生物梅里埃公司)中培养,当仪器蜂鸣提示有细菌生长时移种至哥伦比亚血琼脂平板[贝瑞特生物技术(郑州)有限责任公司];大便标本接种于 SS 和麦康凯平板(杭州天和微生物试剂有限公司);痰、咽拭子、中段尿和胸(腹)腔积液等其他标本均同时接种哥伦比亚血琼脂平板和中国兰平板(杭州天和微生物试剂有限公司)。35℃ 孵育 18~24 h(血培养需 6~7 d),挑取纯菌落,用 ATB 细菌鉴定药敏系统(法国生物梅里埃公司)进行鉴定。

1.3 药敏试验 采用 K-B 纸片扩散法,抗菌药物纸片:阿米卡星(AMK)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、氨基青(AM)、多粘菌素 E(CL)、复方磺胺甲噁唑(SXT)、环丙沙星(CIP)、磷霉素(FOS)、美罗培南(MEM)、美洛西林(MEZ)、哌拉西林(PFP)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、庆大霉素(GEN)、羧苄西林(CB)、替卡西林(TIC)、替卡西林/克拉维酸(TIM)、头孢吡肟(FEP)、头孢哌酮(CFP)、头孢哌酮/舒巴坦(CSL)、头孢他啶(CAZ)、妥布霉素(TOB)、亚胺培南(IPM)、左氧氟沙星(LVX)、四环素(TET)、头孢曲松(CRO)、头孢噻肟(CTX)、米诺环素(MH),购自广州市迪景微生物科技有限公司,药敏结果严格按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2008 年推荐的标准判断。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 和铜绿假单胞菌 ATCC 27853。

1.4 统计分析 采用世界卫生组织推荐的 WHO-NET5.4 微生物实验室数据管理软件进行统计分析。

2 结果

2.1 临床标本细菌检出情况 3 555 份标本中,检出细菌阳性 1 020 份,阳性率 28.69%。共分离细菌 1 123 株,同一患者多次标本分离的相同菌株不重复计入。居前 10 位的细菌中以凝固酶阴性葡萄球菌最为常见,检出率为 3.91%,见表 1。非发酵菌的分离率明显增加,除原先较为常见的铜绿假单胞菌(2.53%)仍居第 4 位外,鲍曼不动杆菌(1.77%)上升为第 6 位,洋葱伯克霍尔德菌(1.01%)居第 9 位,嗜麦芽窄食单胞菌(0.37%)居第 11 位。

表 1 临床标本分离的前 10 位常见细菌检出率及构成比
Table 1 The isolation rates and constitutional ratios of the first 10 bacteria isolated from clinical samples

位次	细菌名	阳性份数	检出率(%)	构成比(%)
1	凝固酶阴性葡萄球菌	139	3.91	12.38
2	大肠埃希菌	102	2.87	9.08
3	肺炎克雷伯菌肺炎亚种	94	2.64	8.37
4	铜绿假单胞菌	90	2.53	8.01
5	肠球菌属	83	2.33	7.39
6	鲍曼不动杆菌	63	1.77	5.61
7	金黄色葡萄球菌	49	1.38	4.36
8	阴沟肠杆菌	43	1.21	3.83
9	洋葱伯克霍尔德菌	36	1.01	3.21
10	产酸克雷伯菌	33	0.93	2.94

2.2 非发酵菌检出率 3 555 份临床标本中共检出非发酵菌 215 株,其检出率为 6.05%,占总检出细菌株数的 19.15%(215/1 123)。仍以铜绿假单胞菌最为常见,占非发酵菌总数的 41.86%;其次为鲍曼不动杆菌和洋葱伯克霍尔德菌,构成比分别为 29.30%和 16.74%;嗜麦芽窄食单胞菌和恶臭假单胞菌居第 4、5 位,构成比分别为 6.05%和 1.40%,其他非发酵菌(包括荧光假单胞菌、粪产碱杆菌、脑膜脓毒金黄色杆菌、产吡啶金黄色杆菌、少动鞘氨醇单胞菌等)构成比为 4.65%。

2.3 不同感染部位非发酵菌检出情况 不同感染部位非发酵菌的检出率各不相同,以呼吸系统(痰或咽拭子标本)和皮肤皮下组织分泌物检出较高,详见表 2。

表 2 不同感染部位非发酵菌的检出

Table 2 The isolation of non-fermentative bacteria isolated from different infection sites

标本种类	标本份数	阳性份数	阳性率 (%)	非发酵菌		
				检出份数	检出率 (%)	构成比 (%)
痰和咽拭子	1 018	505	49.61 ^a	156	15.32 ^f	30.89
皮肤皮下组织分泌物	469	258	55.01 ^{ab}	43	9.17 ^{fg}	16.67
中段尿	607	167	27.51 ^{bc}	5	0.82 ^g	2.99
血液	1 115	145	13.00 ^{cd}	8	0.72	5.52
脑脊液	95	5	5.26 ^{de}	1	1.05	20.00
其他*	251	43	17.13 ^e	2	0.80	4.65
合计	3 555	1 123	31.59	215	6.05	19.14

* 其他包括中心静脉导管、大便、前列腺液标本等

a 与 a 比较, $\chi^2 = 3.54, P = 0.06$; b 与 b 比较, $\chi^2 = 82.57, P = 0.00$; c 与 c 比较, $\chi^2 = 54.79, P = 0.00$; d 与 d 比较, $\chi^2 = 4.14, P = 0.04$; e 与 e 比较, $\chi^2 = 7.16, P = 0.007$; f 与 f 比较, $\chi^2 = 17.20, P = 0.00$; g 与 g 比较, $\chi^2 = 17.58, P = 0.00$; 余无统计学意义

2.4 药敏结果 4 种临床常见非发酵菌对常用抗菌药物的耐药情况见表 3。

表 3 4 种常见非发酵菌对临床常用抗菌药物的耐药率 (%)

Table 3 Drug-resistant rates of 4 common non-fermentative bacteria to frequently used antimicrobial agents in clinic (%)

抗菌药物	铜绿假单胞菌		鲍曼不动杆菌		洋葱伯克霍尔德菌		嗜麦芽窄食单胞菌	
	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)
AMK	90	10.00 [△]	63	73.02	36	88.89	13	100.00
SAM	88	100.00	63	26.98 [△]	36	100.00	13	100.00
ATM	77	19.48	-	-	10	40.00	8	100.00 [□]
CL	87	0.00 [□]	63	0.00 [□]	36	100.00	13	69.23
SXT	90	95.56	63	80.95	36	0.00 [□]	13	15.38 [□]
CIP	90	14.44 [□]	63	77.78	36	5.56 [□]	13	46.15
FOS	64	67.19	-	-	-	-	-	-
MEM	90	16.67	63	11.11	36	50.00 [□]	13	100.00 [△]
MEZ	68	47.06 [○]	56	89.29 ^{○◎}	11	54.55 [◎]	8	87.50
PFP	90	33.33 [△]	63	80.95	36	72.22	13	100.00
TZP	90	31.11 [△]	63	77.78	36	55.56	13	100.00
GEN	90	26.67 [△]	63	77.78	36	100.00	13	100.00
CB	61	34.43	-	-	-	-	-	-
TIC	61	34.43 [△]	63	77.78	36	100.00	13	100.00
TIM	80	37.50 [△]	63	74.60	36	100.00	13	100.00
FEP	90	33.33	63	31.75	36	55.56	13	92.31 [△]
CFP	80	22.50	-	-	13	38.46	8	75.00 [□]
CSL	77	16.88 [○]	-	-	19	26.32	8	62.50 [○]
CAZ	90	26.67 [□]	63	77.78	36	44.44 [□]	13	84.62
TOB	86	23.26 [△]	63	77.78	36	100.00	13	100.00
IPM	88	22.73 [□]	63	7.94 [□]	36	88.89	13	100.00
LVX	54	9.26	57	17.54	18	5.56	13	0.00
MH	-	-	60	0.00	31	0.00	11	0.00
CRO	-	-	57	78.95	-	-	-	-
CTX	-	-	48	79.17	-	-	-	-
TET	-	-	37	37.84	-	-	-	-

△: 与其他三者相比, $P < 0.05$; □: 与其他两者相比, $P < 0.05$; ○、◎: 两者相比, $P < 0.05$

3 讨论

由于抗菌药物的过度使用, 细菌耐药情况日益严重, 尤其以耐药性较强的非发酵菌越来越多见^[5-6]。在本资料中, 非发酵菌的检出率为 6.05%, 占总检出细菌株数的 19.15%。其中以铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和洋葱伯克霍尔德菌多见, 检出率分别为 2.53%、1.77% 和 1.01%, 分别居本院临床感染前 10 位常见菌的第 4、6、9 位。

不同部位细菌感染率(细菌的检出率)各不相同, 其中以痰或咽拭子标本和皮肤切口感染最为多见, 泌尿道感染次之, 中枢神经系统感染最低。不同部位非发酵菌的感染率也各不相同, 以痰或咽拭子标本和皮肤切口感染最多见, 血液最低。但在泌尿道感染中, 非发酵菌并不多见, 而以大肠埃希菌等肠杆菌科细菌为主, 这可能与粪便污染或尿道口逆行感染有关。提示在皮肤和呼吸道黏膜感染时应考虑非发酵菌感染的可能性较大^[2]。

大多数非发酵菌都具有较强的耐药性, 且多呈多重耐药, 其耐药性有的是天然固有的, 也有的是获

得性的,均与临床大量应用抗菌药物有一定关系。但不同非发酵菌对不同种类抗菌药物的敏感性各不相同。

铜绿假单胞菌对多种抗菌药物表现为较高的耐药性,尤其对 SAM 和 SXT 的耐药率高(100.00%和 95.56%),对 CL、LVX 和 AMK 的耐药率相对较低,分别为 0.00%(与文献报道^[7]一致)、9.26%和 10.00%。铜绿假单胞菌具有多重耐药的特性,能天然耐多种抗菌药物。其耐药机制复杂,包括形成生物被膜、主动外排系统的作用、外膜微孔蛋白缺乏或丧失以及产生染色体与质粒介导的 Bush(I)型 β -内酰胺酶(AmpC 酶)等,易产生交叉耐药和多重耐药;其在治疗过程中,通过突变发生耐药,其中以产 AmpC 酶较为重要。AmpC 酶属头孢菌素酶,能水解第一~三代头孢菌素和头霉素,其基因可通过转化、接合等方式转移给其他菌种,传播迅速。所以,临床在治疗铜绿假单胞菌感染时应根据体外药敏试验结果选用敏感的抗菌药物治疗。紧急情况下可考虑选用耐药率相对较低的 CL、LVX 或 AMK。

鲍曼不动杆菌对多种抗菌药物也表现为很高的耐药性,尤其对 MEZ、SXT 和 PFP 的耐药率高,而对 CL、MH、IPM 和 MEM 则比较敏感,与文献报道^[7]一致。有研究表明^[8],不动杆菌属对 β -内酰胺类抗生素耐药的机制主要是产生 β -内酰胺酶;对喹诺酮类耐药性的产生主要与 *gyrA* 和 *parC* 基因突变有关。另外,基因突变导致 DNA 旋转酶或拓扑异构酶的改变、膜通透性降低、主动泵出系统的作用等在鲍曼不动杆菌中均存在^[9]。由于鲍曼不动杆菌对多种抗菌药物有很高的耐药性,在治疗其感染时可考虑直接选用耐药率很低的 IPM 或 MEM、CL、MH,有条件时应根据体外药敏结果合理用药。

洋葱伯克霍尔德菌对 SAM、CL、GEN、TIC、TIM 和 TOB 全部耐药;对 MH、SXT、LVX 和 CIP 的耐药率相对较低。洋葱伯克霍尔德菌常存在多种耐药机制^[10],导致对多种抗菌药物天然耐药(如对 IPM 就是天然耐药);以膜通透性降低(膜孔蛋白缺失)为主,部分菌株产诱导型的 I 类头孢菌素酶^[11],导致细菌对第三代头孢菌素耐药。因此,在治疗洋葱伯克霍尔德菌感染时应严格按照体外药敏试验结果选用抗菌药物。

嗜麦芽窄食单胞菌的耐药性最强,对 AMK、SAM、ATM、IPM、MEM、PFP、TZP、GEN、TIC、TIM 和 TOB 全部耐药;对 LVX、MH 和 SXT 的耐药率相对较低,与文献报道^[12]有差异。嗜麦芽窄食

单胞菌对多种抗菌药物的耐药性可能与菌体外膜对多种抗菌药物不易渗透,以及该菌产生的金属内酰胺酶和头孢菌素酶水解头孢菌素有关;而对 IPM 的耐药机制为产生内酰胺酶 XM-1,主要为青霉素酶,很容易水解 IPM^[13]。故在治疗嗜麦芽窄食单胞菌感染时应严格按照体外药敏试验结果选用抗菌药物。

我院临床标本中非发酵菌的检出率较高,其耐药性较强,已导致临床抗感染治疗困难。非发酵菌感染的增加,可能与抗菌药物的滥用有关,应引起临床的高度重视。在治疗非发酵菌感染时应参照体外药敏试验结果合理选用敏感的抗菌药物;严重感染需立即抗感染治疗者,也应在体外药敏试验后及时根据药敏结果调整用药,一则可以迅速控制感染,二则预防耐药菌株的产生和扩散。

[参考文献]

- [1] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2007:195-225.
- [2] 赵虎,陈险峰,周庭银. 医院感染中非发酵菌的检出率及其耐药性分析[J]. 第二军医大学学报,2004,25(12):1325-1328.
- [3] 胡龙华,余方友,贾坤如,等. 非发酵菌的临床检出状况及耐药特点[J]. 江西医学院学报,2001,41(6):31-33.
- [4] 王美琴,蒋金芬,来汉江,等. 非发酵菌鉴定及耐药性分析[J]. 中国公共卫生,2002,18(7):822-823.
- [5] 潘发愤,李庆兴,郑宇,等. 非发酵菌耐药变迁及治疗对策的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(3):224-226.
- [6] 张文玲,吴水河,吴意. 非发酵菌鉴定与药敏试验的探讨[J]. 中国现代医学杂志,2002,12(12):72-73.
- [7] 王强,蒋捍东,徐希平,等. 下呼吸道非发酵菌耐药性分析及抗感染治疗对策[J]. 山东医药,2006,46(4):1-2.
- [8] 季海生,朱德全. 重症监护病房病原菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(1):103-106.
- [9] 唐冰,崔颖鹏,朱斌,等. 外科非发酵菌感染的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(9):1147-1149.
- [10] 郭全会,卓越,苏丹虹,等. 不常见非发酵菌对常见抗菌药物敏感性分析[J]. 中国抗生素杂志,2007,32(12):741-744.
- [11] Trepanier S, Prince A, Huletsky A. Characterization of the *penA* and *penR* genes of *Burkholderia cepacia* 249 which encode the chromosomal class A penicillinase and its LysR-type transcriptional regulator[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1997, 41(11):2399-2405.
- [12] 岳向荣,丁进,董卫. 13 例嗜麦芽窄食单胞菌药敏结果分析[J]. 临床检验杂志,2005,23(6):471.
- [13] 殷少军,何礼贤,胡必杰,等. 重症监护病房下呼吸道嗜麦芽窄食单胞菌感染的临床和药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(12):1169-1171.