

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2014.11.008

· 论 著 ·

青岛地区糖尿病足感染患者病原学特点及耐药性

李 莉^{1,2}, 赵白云²

(1 青岛市肿瘤医院, 山东 青岛 236048; 2 青岛大学医学院第二附属医院, 山东 青岛 236048)

[摘要] **目的** 了解糖尿病足溃疡部位感染的病原菌分布及其耐药性。**方法** 2012 年 6 月—2013 年 6 月, 使用无菌拭子采集青岛市中心医疗集团所属各医院以及周边社区医院内分泌科、烧伤整形科等科室就诊糖尿病足患者溃疡部位分泌物, 浸于无菌肉汤中送检, 做细菌培养和药敏试验。**结果** 共采集 137 例患者的标本, 培养分离到病原菌 216 株, 其中革兰阴性杆菌 127 株(58.80%), 革兰阳性球菌 86 株(39.81%), 真菌 3 株(1.39%); 其中单一病原菌感染 76 例(55.47%), 混合病原菌感染 61 例(44.53%); 检出数量前 5 位分别为铜绿假单胞菌(37 株)、金黄色葡萄球菌(35 株)、大肠埃希菌(26 株)、表皮葡萄球菌(24 株)和鲍曼不动杆菌(22 株)。肠杆菌科细菌对阿米卡星、阿莫西林/克拉维酸、头孢西丁、亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林/克拉维酸的耐药率(0~16.67%)较低; 铜绿假单胞菌对亚胺培南、妥布霉素、阿米卡星、头孢吡肟、庆大霉素、喹诺酮类药物耐药率(2.70%~18.92%)较低; 鲍曼不动杆菌耐药情况最为严重, 除亚胺培南和左氧氟沙星外, 耐药率均在 30% 以上。**结论** 该地区糖尿病足溃疡部位病原菌感染以革兰阴性杆菌为主, 其次为革兰阳性球菌, 各菌属的耐药性有较大差异, 临床医生应根据药敏结果合理选择抗菌药物。

[关键词] 糖尿病; 糖尿病足; 溃疡; 感染; 病原菌; 耐药性; 抗药性; 微生物

[中图分类号] R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2014)11-0669-05

Characteristics and antimicrobial resistance of pathogens causing diabetic foot infection in patients in Qingdao

LI Li^{1,2}, ZHAO Zi-yun² (1 Qingdao Tumor Hospital, Qingdao 236048, China; 2 Second Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 236048, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the distribution and antimicrobial resistance of pathogens causing diabetic foot ulcer (DFU). **Methods** Secretion specimens of DFU in patients at several hospitals in Qingdao were collected and performed bacterial culture and antimicrobial susceptibility testing. **Results** A total of 216 pathogens were obtained from 137 patients with DFU. Isolation rate of gram-negative bacilli, gram-positive cocci and fungi was 58.80% ($n = 127$), 39.81% ($n = 86$) and 1.39% ($n = 3$) respectively. 76 (55.47%) patients were infected with single pathogen, 61 (44.53%) were infected with mixed pathogens; the top five detected pathogens were *Pseudomonas aeruginosa* ($n = 37$), *Staphylococcus aureus* ($n = 35$), *Escherichia coli* ($n = 26$), *Staphylococcus epidermidis* ($n = 24$), and *Acinetobacter baumannii* ($n = 22$). The resistance of Enterobacteriaceae to amikacin, amoxicillin / clavulanic acid, cefoxitin, imipenem, piperacillin / tazobactam, ticarcillin / clavulanic acid were 0 - 16.67%; the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem, tobramycin, amikacin, cefepime, gentamicin, and quinolones were 2.70% - 18.92%; the resistance of *Acinetobacter baumannii* to imipenem and levofloxacin were low, but to the other antimicrobial agents were all above 30%. **Conclusion** The major pathogens from DFU were gram-negative bacilli, the next were gram-positive cocci, antimicrobial resistance patterns of each species are quite different, clinicians should choose antimicrobial agents according to antimicrobial susceptibility testing results.

[Key words] diabetes; diabetic foot; ulcer; infection; pathogen; drug resistance; drug resistance, microbial

[Chin Infect Control, 2014, 13(11): 669-673]

[收稿日期] 2014-02-02

[作者简介] 李莉(1972-), 女(汉族), 山东省淄博市人, 主管技师, 主要从事细菌检验及耐药性研究。

[通信作者] 赵白云 E-mail: zhaoziyun98@126.com

糖尿病足是糖尿病患者最严重的并发症之一,也是糖尿病患者住院的首要原因,其由神经病变、外周血管病变和感染等所致,甚至会导致截肢。在过去的 25 年里,学者们做了很多糖尿病足感染的细菌学研究,但是这些研究结果不甚相同,甚至结论相反^[1],这可能与地域差异、感染的类型和程度不一有关。糖尿病足感染往往是混合型感染,其正确治疗需要选择恰当的抗菌药物,因此对感染部位进行细菌培养和药物敏感试验非常重要。

现在,临床医生已经认识到糖尿病足等慢性伤口细菌菌群多样性是导致伤口恢复较慢的一个重要因素^[2]。目前,有学者研究了糖尿病足溃疡部位感染的主要细菌菌群,并同以前的研究报道进行了比较,结果发现近年来产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株的发生率和流行率呈逐年上升趋势^[3]。但是,目前国内糖尿病足感染部位分离的产 ESBLs 和产碳青霉烯酶细菌的资料还比较缺乏。本研究主要对糖尿病足溃疡部位标本进行细菌培养和药物敏感试验,分析其感染细菌的分布和耐药性。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 本研究中糖尿病足溃疡部位标本取自 2012 年 6 月—2013 年 6 月青岛市中心医疗集团所属各医院以及周边社区医院内分泌科、烧伤整形科等科室就诊的 137 例糖尿病足患者(部分患者取左右足两个部位标本)。用两支无菌拭子对每例患者每个溃疡部位进行深部取材,然后浸于无菌肉汤中送检。本研究所有患者均符合糖尿病足诊断标准^[4]。

1.2 标本接种、培养、菌株鉴定及药敏试验 实验室接到标本后,一支拭子用于革兰染色,另一支拭子接种于哥伦比亚血琼脂培养基、巧克力色培养基和麦康凯培养基,置于 35℃ 孵育箱中孵育 18~24 h 后观察结果。根据菌落形态、革兰染色结果等,对培养得到的细菌进行纯培养,将得到的纯菌种配制细菌悬液再接种到革兰阴性(或阳性)复合板(西门子产品),最后置于西门子 walkaways-96 中孵育并自动判读、鉴定和进行药敏试验。血琼脂培养基和麦康凯培养基购自济南百博科技有限公司。

1.3 特殊耐药机制的检测 对葡萄球菌进行耐甲

氧西林检测,对第三代头孢菌素耐药的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌进行 ESBLs 检测,对碳青霉烯类耐药株进行碳青霉烯酶的检测,方法如下。

1.3.1 耐甲氧西林表型检测 配制 0.5 麦氏单位的细菌悬液均匀涂布于 M-H 培养基,然后将头孢西丁(30 μg)纸片贴于培养基,培养 24 h 后,量取抑菌圈直径,若抑菌圈直径 ≥ 22 mm,则为甲氧西林敏感葡萄球菌,若抑菌圈直径 ≤ 21 mm,则为耐甲氧西林葡萄球菌。

1.3.2 ESBLs 检测 配制 0.5 麦氏单位的细菌悬液均匀涂布于 M-H 培养基,然后将头孢他啶(30 μg)和头孢他啶/克拉维酸(30/10 μg)纸片贴于培养基,培养 24 h 后,量取抑菌圈直径,若两者抑菌圈相差 5 mm 及以上,则为阳性,反之则为阴性。

1.3.3 碳青霉烯酶的检测 用生理盐水配制 0.5 麦氏单位浊度大肠埃希菌 ATCC 25922 菌悬液,再用生理盐水 1:10 稀释,用棉拭子蘸取菌液均匀涂布于平板,放置 10 min,在其中心贴厄他培南纸片(10 μg),然后取 3~5 个待测菌落,从平板边缘向中心划直线,再置于 35℃ 过夜培养,观察待测菌株的划线与抑菌圈交叉部分有无增强性生长,若有增强性生长,则为阳性。

1.4 判读标准与质控 对常用抗菌药物的敏感性,以美国临床实验室标准化协会(CLSI)2012 版标准判断结果。质控菌株分别为大肠埃希菌 ATCC 25922、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603、铜绿假单胞菌 ATCC 27853 和金黄色葡萄球菌 ATCC 25923。

1.5 资料统计 应用 WHONET 5.6 对细菌耐药资料进行统计。计数资料用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般资料 137 例患者中,男性 79 例,女性 58 例;年龄 55~83 岁,其中以 61~65 岁组所占比率最高,达 37.23%,其次为 66~70 岁组,占 27.74%。

2.2 病原菌分布

2.2.1 种类分布 137 例患者的标本共培养分离病原菌 216 株,其中革兰阴性(G^-)杆菌 127 株(58.80%),革兰阳性(G^+)球菌 86 株(39.81%),真菌 3 株(1.39%)。见表 1。

表 1 糖尿病足溃疡部位病原菌分布

Table 1 Distribution of clinical isolates from diabetic foot ulcer

病原菌	株数	构成比(%)
G⁻ 杆菌	127	58.80
铜绿假单胞菌	37	17.13
大肠埃希菌	26	12.04
肺炎克雷伯菌	18	8.33
奇异变形杆菌	14	6.48
鲍曼不动杆菌	22	10.19
其他 G ⁻ 杆菌	10	4.63
G⁺ 球菌	86	39.81
金黄色葡萄球菌	35	16.20
表皮葡萄球菌	24	11.11
粪肠球菌	16	7.41
链球菌属	8	3.70
其他 G ⁺ 杆菌	3	1.39
真菌	3	1.39
合计	216	100.00

2.2.2 患者感染病原菌种数及种类 感染 1 种病原菌者 76 例(55.47%), 2 种 43 例(31.39%), 3 种

18 例(13.14%)。混合感染中,两种病原菌感染以铜绿假单胞菌合并大肠埃希菌或鲍曼不动杆菌、奇异变形杆菌、肺炎克雷伯菌为主,其次是金黄色葡萄球菌与 1 种肠杆菌科细菌感染,再次为两种肠杆菌科细菌混合感染;而感染 3 种菌者数量较少,组合形式较多。

2.3 药敏结果

2.3.1 G⁻ 菌药敏结果 大肠埃希菌对氨苄西林、哌拉西林的耐药率在 95% 以上,对氨曲南、头孢噻肟、头孢曲松、头孢吡肟、庆大霉素和左氧氟沙星的耐药率均 >50%,对阿米卡星、阿莫西林/克拉维酸、头孢西丁、亚胺培南和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率较低;肺炎克雷伯菌耐药趋势与大肠埃希菌相似;铜绿假单胞菌对头孢他啶耐药较严重,耐药率达 97.30%,但对头孢吡肟、阿米卡星、庆大霉素、亚胺培南、左氧氟沙星等耐药率较低;鲍曼不动杆菌耐药较为严重,除亚胺培南和左氧氟沙星外,对其他抗菌药物的耐药率均在 30% 以上。见表 2。

表 2 主要 G⁻ 菌耐药率(%)

Table 2 Antimicrobial resistant rate of main gram-negative bacteria (%)

抗菌药物	肠杆菌属			非发酵菌	
	大肠埃希菌(n=26)	肺炎克雷伯菌(n=18)	奇异变形杆菌(n=14)	铜绿假单胞菌(n=37)	鲍曼不动杆菌(n=22)
阿米卡星	11.54	11.11	7.14	8.11	36.36
阿莫西林/克拉维酸	11.54	5.56	14.29	-	-
氨苄西林	96.15	94.44	42.89	-	-
氨苄西林/舒巴坦	73.08	44.44	14.29	-	-
氨曲南	61.54	33.34	21.43	54.05	68.18
头孢唑林	73.08	50.00	57.14	-	-
头孢吡肟	53.85	38.89	21.43	18.92	63.64
头孢噻肟	61.54	44.44	21.43	70.27	40.91
头孢西丁	11.54	16.67	7.14	27.03	40.91
头孢他啶	46.15	27.78	7.14	97.30	77.27
头孢曲松	61.54	38.89	21.43	70.27	40.91
加替沙星	61.54	33.33	14.29	-	-
庆大霉素	57.69	11.11	21.43	8.11	31.82
亚胺培南	3.85	0.00	0.00	2.70	13.64
左氧氟沙星	61.54	33.33	7.14	8.11	18.18
哌拉西林	96.15	77.78	35.71	29.73	72.73
哌拉西林/他唑巴坦	11.54	11.11	0.00	24.32	45.45
四环素	50.00	33.33	100.00	-	54.55
替卡西林/克拉维酸	15.38	5.56	7.14	35.14	54.55
妥布霉素	46.15	16.67	21.43	5.41	31.82
复方磺胺甲噁唑	76.92	50.00	42.86	86.49	50.00

2.3.2 G⁺ 球菌药敏结果 金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌对氨苄西林、红霉素、青霉素、四环素的耐药率较高,但表皮葡萄球菌对阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、庆大霉素、苯唑西林的耐药率及

耐甲氧西林率较金黄色葡萄球菌高($\chi^2 = 13.33 \sim 15.24$, 均 $P < 0.01$);粪肠球菌和链球菌属对红霉素、四环素、复方磺胺甲噁唑的耐药率较高。见表 3。

表 3 主要 G⁺ 菌耐药率(%)

Table 3 Antimicrobial resistant rate of main gram-positive bacteria (%)

抗菌药物	金黄色葡萄球菌(n=35)	表皮葡萄球菌(n=24)	粪肠球菌(n=16)	链球菌属(n=8)
阿莫西林/克拉维酸	20.00	70.83	-	-
氨苄西林	85.71	100.00	0.00	-
氨苄西林/舒巴坦	5.71	45.83	-	-
头孢曲松	20.00	66.67	-	-
环丙沙星	40.00	12.50	-	-
克林霉素	51.43	66.67	-	25.00
红霉素	77.14	95.83	81.25	75.00
庆大霉素	51.43	87.50	75.00	-
左氧氟沙星	40.00	83.33	18.75	25.00
利奈唑胺	0.00	0.00	0.00	0.00
莫西沙星	37.14	83.33	-	-
苯唑西林	28.57	95.83	-	-
青霉素	88.57	100.00	6.25	75.00
奎奴普丁/达福普汀	0.00	4.17	0.00	0.00
利福平	14.29	20.83	56.25	-
四环素	37.14	45.83	75.00	50.00
复方磺胺甲噁唑	8.57	41.67	56.25	75.00
万古霉素	0.00	0.00	0.00	0.00
耐甲氧西林检测阳性	28.57	95.83	-	-

2.3.3 ESBLs 检测结果 大肠埃希菌中,ESBLs 阳性率为 42.31%(11/26);肺炎克雷伯菌中,ESBLs 阳性率为 27.78%(5/18),两者差异无统计学意义($\chi^2 = 0.32, P > 0.05$)。

2.3.4 碳青霉烯酶检测结果 大肠埃希菌和铜绿假单胞菌中,各有 1 株碳青霉烯酶阳性菌株,分别占 3.85%和 2.70%;鲍曼不动杆菌中,有 3 株碳青霉烯酶阳性,占 13.64%。

3 讨论

糖尿病足是糖尿病患者最严重的并发症之一。糖尿病患者因软组织和骨髓感染而住院的人数是非糖尿病人群的 10 倍以上,究其原因是微循环的障碍导致巨噬细胞迁移受到限制,易引起感染的发生^[5];而局部的损伤和不恰当的摩擦会使末端血循环受到进一步损害^[6]。糖尿病患者的足部损伤在治疗初期,往往是医生按照经验用药,在细菌耐药日趋严重的今天,经验用药常会导致细菌感染更加严重。

本研究中的 137 例患者共分离病原菌 216 株,其中 G⁻ 杆菌 127 株(58.80%),G⁺ 球菌 86 株(39.86%),真菌 3 株(1.39%),此结果与邓家德等^[7]研究结果相似;与蒋铁建等^[8]研究结果不同,可能与不同地区细菌感染谱不同有关。单一细菌感染人数为 76 人,占 55.47%;混合细菌感染人数为 61

人,占 44.53%,混合感染比例高于蒋铁建等^[8]的研究结果。按检出数量,居前 5 位的病原菌为铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、表皮葡萄球菌、鲍曼不动杆菌。单一细菌感染主要感染菌为大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌,混合感染者主要感染菌为表皮葡萄球菌、粪肠球菌、链球菌属、金黄色葡萄球菌等。

药敏结果显示,肠杆菌属对阿米卡星、阿莫西林/克拉维酸、头孢西丁、亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林/克拉维酸的耐药率较低,但大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对氨苄西林、哌拉西林、头孢菌素、喹诺酮类等药物的耐药率较高,奇异变形杆菌对大部分抗菌药物的耐药率低;铜绿假单胞菌对阿米卡星、头孢吡肟、庆大霉素、喹诺酮类药物耐药率较低,但对第三代头孢菌素耐药率较高;鲍曼不动杆菌耐药情况最为严重,除亚胺培南和左氧氟沙星外,耐药率均在 30%以上,其感染的控制是世界性难题。值得注意的是,大肠埃希菌、铜绿假单胞菌中各有 1 株碳青霉烯酶阳性株,鲍曼不动杆菌中有 3 株碳青霉烯酶阳性株。在 G⁺ 菌中未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药的菌株,但对氨苄西林、青霉素、红霉素、克林霉素、庆大霉素、四环素等耐药率较高,且表皮葡萄球菌的耐甲氧西林株检出率高于金黄色葡萄球菌,条件致病菌引起的感染应引起临床医生的关注。

糖尿病足患者因代谢紊乱而处于免疫抑制状态,尤易引起感染,且不易控制。不同地区的研究结果不能表明何种抗菌药物具有明显的针对性。因此,对此类患者,在使用抗菌药物前应采集标本进行药物敏感试验,根据药敏报告合理选择有效的抗菌药物,减少因滥用抗菌药物引起的耐药,提高糖尿病足感染的治愈率。

[参考文献]

[1] Citron D M, Goldstein E J C, Merriam V C, et al. Bacteriology of moderate to severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(9):2819-2828.

[2] Ozer B, Kalaci A, Semerci E, et al. Infections and aerobic bacterial pathogens in diabetic foot [J]. Afr J Microbiol Res, 2010, 4(20):2153-2160.

[3] Zubair M, Malik A, Ahmad J. Clinico-bacteriology and risk factors for the diabetic foot infection with multidrug resistant microorganisms in North India[J]. Biol Med, 2010, 2(4):22-34.

[4] 李仕明. 糖尿病足检查方法及诊断标准[J]. 中国糖尿病杂志, 1996, 4(2):126.

[5] 王吉耀. 内科学[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2010:1035-1036.

[6] 陈青. 2 型糖尿病患者医院感染相关因素[J]. 中国感染控制杂志, 2011, 10(2):120-123.

[7] 邓家德, 李红玉, 陈惠玲, 等. 糖尿病足溃疡处常见病原菌分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(8):955-957.

[8] 蒋铁建, 廖岚. 70 例糖尿病足感染患者临床及病原菌分析[J]. 中国感染控制杂志, 2007, 6(4):242-246.

(本文编辑:任旭芝)

· 信息 ·

《中国感染控制杂志》征订征稿启事

《中国感染控制杂志》(月刊, ISSN 1671-9638; CN 43-1390/R; 邮发代号 42-203)是国家教育部主管,中南大学(湘雅医院)主办的国内外公开发行的国家级感染性疾病专业学术期刊。本刊为中国科技论文统计源与核心期刊,并被《美国化学文摘》(CA)、《俄罗斯文摘》杂志(AJ)、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》(WPRIM)、《中国生物医学文献数据库》(CBM)、《中国期刊全文数据库》(CNKI)、《万方—数字化期刊群》及《中文生物医学期刊文献数据库》(CMCC)等国内外重要检索机构收录。

本刊以感染预防控制为主,涵盖临床医学、临床流行病学、临床微生物学、医院感染监测与控制等,主要刊载感染疾病学理论、实践、科研、教学和管理最新成果和经验;栏目包括专家论坛、论著、经验交流、病例报告、综述、译文、国内外学术动态等。欢迎各相关专业医务人员及疾病预防与控制人员订阅(15元/期,全年180元)、赐稿(网址:www.zggrkz.com)。

本刊承诺,投至本刊的国家级基金项目或高质量研究论文经审稿通过,承诺在收稿2~4个月内刊登;省级基金项目审稿通过,承诺在收稿4~6个月内刊登。稿件一经刊用,编辑部将致薄酬并赠送第一作者《中国感染控制杂志》12期。

编辑部地址:湖南省长沙市湘雅路87号中国感染控制杂志社(编辑部) 邮编:410008

网址:www.zggrkz.com; www.cjicp.com

E-mail:zggrkz2002@vip.sina.com

电话(传真):0731-84327658

中国感染控制杂志编辑部