临床研究 文章编号:0253-3626(2010)08-1278-04

2006~2009 年鲍曼不动杆菌感染分布特征及耐药性变迁

马 玲,袁 喆
(重庆医科大学附属第一医院感染科、重庆市传染病寄生虫病学重点实验室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究 2006~2009 年临床分离鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii,A.b)的分布特征及对抗菌药物的耐药性变迁,比较多粘菌素 B 与亚胺培南对多重耐药鲍曼不动杆菌的体外抗菌活性。方法:监测近 4 年来临床分离鲍曼不动杆菌感染分布特征。采用纸片琼脂扩散法药敏试验,分析鲍曼不动杆菌对抗菌药物敏感性,比较近 4 年来鲍曼不动杆菌对抗菌药物的耐药性变迁。采用常量肉汤稀释法测定多粘菌素 B 及亚胺培南对多重耐药鲍曼不动杆菌的最低抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration,MIC)值,比较其体外抗菌活性。结果:近 4 年来,鲍曼不动杆菌感染占临床分离革兰阴性杆菌的构成比逐年增加,以 ICU 病房患者呼吸道标本检出率最高。临床分离鲍曼不动杆菌对亚胺培南的耐药率从 2008 年起明显上升,多重耐药鲍曼不动杆菌比例也逐渐增加。比较多粘菌素 B 及亚胺培南对多重耐药鲍曼不动杆菌的体外抗菌活性显示,多粘菌素 B 对多重耐药鲍曼不动菌株的敏感率为 93.8%,多粘菌素 B 对多重耐药鲍曼不动杆菌的体外抗菌活性明显高于亚胺培南。结论:鲍曼不动杆菌在医院感染所占的比例明显上升。鲍曼不动杆菌对临床常用抗菌药物的耐药性也呈逐年上升趋势,多重耐药菌比例明显增加。应加强鲍曼不动杆菌细菌耐药监测。多粘菌素 B 对多重耐药鲍曼不动杆菌仍呈现出较强的体外抗菌活性,对于多重耐药鲍曼不动杆菌引起的严重感染可以考虑使用多粘菌素 B 治疗。

【关键词】鲍曼不动杆菌;耐药监测;多粘菌素 B
【中国图书分类法分类号】R515.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-03-31

Changes of antimicrobial agents resistance and distribution feature among acinetobacter baumannii Isolated during 2006~2009

MA Ling, et al
(*Key Laboratory of Infectious and Parasitic Diseases in Chongqing, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the Acinetobacter baumannii's distribution feature、the antimicrobial resistance of Acinetobacter baumannii isolated during the past 4 years and compare antibacterial activity of Polymyxin B against multidrug-resisitant (MDR) Acinetobacter baumannii with that of Imipenem in vitro. *Methods*: The distribution feature of infection caused by Acinetobacter baumannii was supervised. Disk diffusion test was used to study the antimicrobial agents resistance of Acinetobacter baumannii and transition of drug resistance. The results were evaluated based on Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The MDR Acinetobacter baumannii were screened by WHONET 5. MICs (minimal inhibitory concentration) of Polymyxin B and imipenem were detected by broth dilution method. *Results*: Constituent ratio of infections caused by Acinetobacter baumannii had been incresed in the recent 4 years, especially in intensive care unit. Although carbapenems were the most active antibiotics tested against Acinetobacter baumannii, the resistance rate had been sharply raised since 2008. In addition, the ratio of MDR Acinetobacter baumannii had also been raised in the 4 years. The results of MIC displayed that Polymyxin B had the higher antibacterial activity against the MDR Acinetobacter baumannii than Imipenem. *Conclusion*: Proportion of nosocomial infection caused by Acinetobacter baumannii significantly increased. The resistance rate of Acinetobacter baumannii had been rised obviously and the number of MDR Acinetobaeter baumannii had been increased sharply. Monitoring of the antimicrobial agents resistance to Acinetobacter baumannii should be strengthened. Polymyxin B still shows strong antibacterial activity on the MDR Acinetobacter baumannii in vitro. We can consider using Polymyxin B to treat the severe infections caused by MDR Acinetobacter baumannii.

【Key words】Acinetobacter baumannii; Antimicrobial resistance surveillance; Polymyxin B

作者介绍:马 玲(1983-),女,硕士,
研究方向:细菌耐药及流行病学调查。
通讯作者:袁 喆,男,主任医师,E-mail:yuanzhe-1030@163.com。
基金项目:重庆市自然科学基金(编号:2009BB5061)。

鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii,A.b)是革兰阴性菌中的条件致病菌,近年来感染率逐年上升,已成为医院感染的常见细菌之一[1,2]。A.b 生存能力强,可长期在医院内定植,甚至造成感染的暴发流行,监测其临床特征及耐药性具有重要临床意义。A.b 耐药机制复杂,常常出现多重耐药或泛耐药,成为目前临床治疗上的一道难题[3,4]。为了解近年来 A.b 的临床感染特征和对常用抗菌药物的耐药状况及耐药性变迁,对我院 2006~2009 年临床分离的 A.b 分布及耐药状况进行监测,其结果对控制 A.b 院内感染及指导临床合理运用抗菌药物有重要意义。同时比较多粘菌素 B 及亚胺培南对多重耐药 A.b 的体外抗菌活性,对有效治疗多重耐药 A.b 严重感染提供依据。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

我院 2006 年 1 月 ~ 2009 年 6 月住院患者临床送检痰液、肺泡灌洗液、血液、创面分泌物、静脉导管、尿液等标本共分离 A.b 516 株 (排除同一患者同一部位重复分离菌株)。

1.2 资料收集

收集 2006 年 1 月 ~ 2009 年 6 月医院感染资料,医院感染的诊断依据卫生部 2001 年颁发的《医院感染诊断标准(试行)》执行。

1.3 菌株鉴定

细菌培养分离按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)进行。采用法国生物梅里埃公司全自动微生物鉴定系统进行菌种鉴定。

1.4 抗菌药物纸片及培养基

采用纸片琼脂扩散法(Kirby-Bauer 法)。选用 10 种抗菌药物,包括阿米卡星、庆大霉素、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、头孢噻肟、亚胺培南、氨苄西林/舒巴坦、环丙沙星。药敏纸片及药敏培养基(Muller—Hinton,MH)琼脂购自北京天坛药物生物技术开发公司,血琼脂平板购自重庆庞通医疗器械有限公司。

1.5 多重耐药 A.b 的筛选

分离 A.b 至少对 β—内酰胺类、碳青霉烯类、氨基糖苷类、氟喹诺酮类中 3 种药物同时耐药则判定为多重 A.b。

1.6 最低抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration,MIC)的测定

以试管双倍稀释法测定多粘菌素 B(美国 Sigma 公司,批号:090525)及亚胺培南(中国药品生物制品检定所,批号:090430)对多重耐药 A.b 的 MIC 值。将多粘菌素 B 及亚胺培南配成 1 280 μg/ml 浓度分装,-70℃保存备用。采用定量培养法调节细菌接种量为 105 CFU/ml,37℃孵育 20 ~ 24 h 后观测结果,求出 MIC 值。按照 2008 年美国临床实验室标准化学会(CLSI)修订的多粘菌素类及亚胺培南的药敏试验标准[5]:多粘菌素 B 对于不动杆菌属细菌,MIC≥4 mg/L 为耐药;亚胺培南对于不动杆菌属细菌,MIC≤4 mg/L 为敏感,MIC≥16 mg/L 为耐药。计算 A.b 对多粘菌素 B 的敏感率及耐药率。

1.7 质控菌株

大肠埃希菌 25922、铜绿假单孢菌 ATCC27853 购自卫生部临床检验中心。

1.8 数据分析

药敏试验结果按照 CLSI(2008)标准判定,耐药(R)、中介(I)和敏感(S),中介(I)结果归入耐药(R)进行统计。采用 WHONET5.4 软件进行数据的录入与分析。

1.9 统计学分析

所有数据资料中计量资料均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示,组间差异采用方差分析,2 组间均数比较采用 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用 SPSS13 软件进行统计学处理。

2 结 果

2.1 A.b 医院感染状况(表 1)

从 2006~2009 年各年度分别发生医院感染 1 756 例、1 729 例、1 920 例、802 例。其中 A.b 各年度医院感染发生例数分别为 55 例、140 例、177 例和 144 例,占医院感染百分率分别为 3.13%、8.10%、9.22%、17.9%,呈明显上升趋势。

2.2 A.b 占同期分离革兰阴性杆菌的构成比

2006~2009 年,A.b 占临床同期分离革兰阴性杆菌的构成比分别为 15.5%(55/355)、20.3%(140/691)、21.9%(177/810)和 31.7%(144/454)。

2.3 A.b 的临床标本检出率

2006~2009 年,临床分离的 A.b 以下呼吸道标本检出率最高,其中痰标本的检出率为 62.2%,肺泡灌洗液的检出率为 19.6%。其次为创面分泌物、血液和静脉导管,检出率分别为 5.6%、5.2%、4.6%,尿液中的检出率最低(表 2)。

2.4 A.b 临床科室分布

在各病区中,以 ICU 病房的 A.b 检出率最高,占 49.8%,且 ICU 病房的分离率呈现出逐年上升的趋势,从 2006 年的 20% 上升至 2009 年的 63.2%;其次为内科普通病房,占 28.9%,与 ICU 相反的是,内科病房的分离率呈现出逐年下降的趋势,2006 年内科病房 A.b 的分离率较高(56.4%),然后逐年下降,2009 年仅为 16.1%;两者比较差异有统计学意义($P<0.01$)。外科病房的分离率占 18.6%,4 年间的分离率略微上升,从 2006 年的 16.4%上升至 2009 年的 18.6%,总体变化不明显(表 3)。

2.5 A.b 耐药变迁

由表 4 可见,2006 年 1 月 ~2009 年 6 月间,A.b 对 10 种常用抗生素的耐药率各不相同。其中对亚胺培南的耐药率上升很明显,从 2006 年的 9.1%上升至 2009 年的 58.3%;庆大霉素耐药率下降不甚明显,从 2006 年的 74.5%降至 2009 年的 60.4%;阿米卡星耐药率从 2006 年的 72.7% 降到 2009 年的 59.8%;头孢哌酮 - 舒巴坦的耐药率从 2006 年的 65.5%降至 2009 年的 48.5%。这 3 种药物耐药率虽然总体呈现下降

表 1 A.b 各年医院感染率

年份	医院感染例数(例)	鲍曼不动杆菌医院感染例数(例)	鲍曼不动杆菌医院感染率(%)
2006 年	1 756	55	3.13
2007 年	1 729	140	8.10
2008 年	1 920	177	9.22
2009 年 1~6 月	802	144	17.9

趋势,但是耐药率仍然很高,均高于 48%。A.b 对氨苄西林/舒巴坦、头孢噻肟、头孢吡肟、头孢他啶、环丙沙星的耐药率呈现出总体上升的趋势且耐药率都偏高,均高于 70%。多重耐药 A.b 比例也逐年增加(表 5)。

2.6 多粘菌素 B 及亚胺培南对多重耐药 A.b 的体外抗菌活性

多粘菌素 B 对多重耐药 A.b 的 MIC90 为 4 mg/L,多粘菌素 B 对多重耐药 A.b 的抑菌率为 93.8%。亚胺培南对亚胺培南对多重 A.b 的 MIC90 为 32 mg/L,多重耐 A.b 的抑菌率为 44.9%,差异有统计学意义($P<0.01$)(表 6、表 7)。

3 讨 论

目前 A.b 已成为仅次于铜绿假单胞菌的又一个重要的非发酵菌,在伴有基础疾病或免疫力低下的患者中,可以引起严重、致死性的感染,如呼吸机相关肺炎、败血症、伤口感染和泌尿系感染等[6,7]。连续 4 年监测结果显示,A.b 占分离革兰阴性杆菌的比率逐年上升,2009 年达 31.7%。究其原因,可能与第三代、第四代头孢菌素和碳青酶烯类抗生素在临床的广泛应用有关。我院临床分离的 A.b 在 ICU 病房检出率最高,为 46.9%,与国外文献报道一致[8]。由于 ICU 病房患者大多为危重病员,常接受侵袭性操作如手术、气管内插管、呼吸机使用和各种介入导管,故 ICU 病房较高的 A.b 感染率与医院内感染有关。在分离的 A.b 中呼吸道标本(86.6%)比例最高,显示 A.b 主要引起呼吸道感染,可能与条件致病菌移生引起内源性感染和细菌从外界植入引起外源性感染有关[9],因此在医院感染管理中应加强对呼吸道感染的控制和预防,

表 2 2006~2009 年 A.b 临床标本检出率(%)

标本	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	总计
痰液	34 (61.8%)	86 (61.4%)	106 (59.9%)	95 (66.0%)	321 (62.2%)
肺泡灌洗液	8 (14.5%)	27 (19.3%)	37 (20.9%)	29 (20.1%)	101 (19.6%)
创面分泌物	4 (7.3%)	7 (5.0%)	11 (6.2%)	7 (4.9%)	29 (5.6%)
血液	4 (7.3%)	8 (5.7%)	9 (5.1%)	6 (4.2%)	27 (5.2%)
静脉导管	3 (5.5%)	7 (5.0%)	8 (4.5%)	5 (3.5%)	23 (4.6%)
尿液	2 (3.6%)	5 (3.6%)	6 (3.4%)	2 (1.3%)	15 (2.8%)
总计	55 (100.0%)	140 (100.0%)	177 (100.0%)	144 (100.0%)	516 (100.0%)

表 3 A.b 感染临床科室分布

	ICU 病房	内科普通病房	外科普通病房	其他	总计
2006 年	11 (20.0%)	31 (56.4%)	9 (16.4%)	4 (7.2%)	55 (100.0%)
2007 年	63 (45.0%)	51 (36.4%)	23 (16.4%)	3 (2.2%)	140 (100.0%)
2008 年	92 (52.0%)	43 (24.3%)	38 (21.5%)	4 (2.2%)	177 (100.0%)
2009 年	91 (63.2%)	24 (16.7%)	26 (18.1%)	3 (2.0%)	144 (100.0%)
总计	257 (49.8%)	149 (28.9%)	96 (18.6%)	14 (2.7%)	516 (100.0%)

表 4 2006~2009 年 A.b 对抗生素的耐药率(%)

抗生素名称	2006 年(n=55)	2007 年(n=140)	2008 年(n=177)	2009 年 1~6 月(n=144)
阿米卡星	72.7	65.7	63.1	59.8
庆大霉素	74.5	52.1	77.4	60.4
哌拉西林/他唑巴坦	69.1	40.7	66.1	68.8
头胞哌酮/舒巴坦	65.5	56.7	51.8	48.5
氨苄西林/舒巴坦	60	57.1	46.9	77.1
头孢噻肟	72.7	62.1	79.3	88.2
头孢吡肟	69.1	45	67.2	76.4
头孢他啶	72.7	50	77.3	79.7
环丙沙星	67.3	48.6	71.8	81.2
亚胺培南	9.1	6.4	39	58.3

表 5 2006~2009 年多重耐药 A.b 比例

	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年
多重耐药 A.b 菌株数	8	25	76	69
A.b 数	55	140	177	144
多重耐药 A.b 比例(%)	14.5	17.9	42.9	47.9

表 6 多粘菌素 B 及亚胺培南对 178 株多重耐药 A.b 的 MIC 值和抑菌率

药物	MIC 范围(mg/L)	MIC50(mg/L)	MIC90(mg/L)	抑菌率(%)
多粘菌素 B	0.125~128	1	2	93.8
亚胺培南	0.5~256	4	32	44.9

表 7 多重耐药 A.b 对多粘菌素 B 及亚胺培南的药敏结果

	多粘菌素	亚胺培南
S(敏感)	167	62
I(敏感)	0	18
R(耐药)	11	98
敏感率(%)	93.5	44.9

才能有效降低 A.b 所致的医院感染发生率。

本研究显示,A.b 在医院感染所占的比重明显上升,从 2006 年的 3.13%上升至 2009 年的 17.9%,已经成为医院感染的重要病原体之一。此外,A.b 对临床常用抗菌药物的耐药率也呈现出上升趋势,尤其以亚胺培南的耐药率上升最为明显,至 2009 年已达 58.3%,且呈现为多重耐药。因此对碳青霉烯类抗生素如亚胺培南的使用应加以规范,防止其耐药率快速上升而造成严重后果。A.b 对不含酶抑制剂的 β-内酰胺类药物呈现出较高的耐药率,而含酶抑制剂的头孢哌酮/舒巴则耐药率较低。提示目前 A.b 有较高的产 β-内酰胺酶的比率。A.b 的耐药变迁表明,对 β-内酰胺类药物耐药率上升,对氨基糖苷类药物,如阿米卡星的耐药率逐年下降,这可能与近年来我院在包括碳青霉烯类抗生素在内的 β-内酰胺类药物应用越来越广泛,氨基糖苷类应用明显减少有关。

A.b 感染的耐药性十分严重,且耐药机制复杂。A.b 对氨基青霉素、第一、二代头孢菌素天然耐药[10]。尽管碳青霉烯类抗生素和头孢哌酮-舒巴坦在治疗 A.b 感染中曾显示出强大的作用,但随着其在临床的广泛应用,耐药问题日渐突出[11]。国外已经报道泛耐药 A.b 定植或感染与头孢他啶、亚胺培南、美罗培南的使用有关,其耐药机制主要是产生碳青霉烯酶,与产 OXA-23 酶有关[12]。本组资料显示:A.b 对第三、四代头孢菌素类抗菌药物耐药率高达 70%以上,对碳青霉烯类的耐药率也超过 50%。因此,治疗 A.b 所致感染可供选择的抗生素非常有限[13]。在面临多重耐药 A.b 感染时,临床医生应严格参照患者体外药敏试验结果选择抗菌药物,避免经验用药。尽量减少侵袭性操作,严格执行无菌操作及消毒隔离制度。另外,临床微生物实验室应加强院内感染重要病原菌的耐药性监测以及各种耐药机制和更深层次的分子生物学研究。以防止抗菌药物滥用,保护有限的抗菌药物资源,避免多重耐药 A.b 在医院的传播和流行。

由于多重耐药 A.b 感染逐渐增多,对于多重耐药 A.b 感染的治疗带来极大的困难和挑战。多粘菌素 B 可能是目前对碳青霉烯类抗生素耐药铜绿假单胞菌或 A.b 最为有效的抗菌药物之一[14]。CLSI 建议针对多重耐药不动杆菌的药敏试验中增加测试粘菌素和多粘菌素 B,供临床治疗的选择。本试验显示:多粘菌素 B 对多重耐药 A.b 的抑菌率为 93.8%,与亚胺培南相比较,差异有统计学意义($P<0.01$),表明多粘菌素 B 对治疗多重耐药 A.b 感染具有良好的体外抗菌活性。多粘菌素 B 为快速杀菌剂。它与革兰阴性菌的脂多糖(Lipopolysaccharide,LPS)互相作用,通过细菌"自发摄取"通路摄取[15]。在临床治疗中,可以考虑使用多粘菌素 B 作为治疗严重多重耐药 A.b 感染的最后选择。

综上所述,A.b 在医院感染率所占比重及耐药率不断上升,尤其是出现了多重耐药及泛耐药的菌株,因此需对 A.b 进行规范的、连续的耐药监测,掌握病原菌的流行病学及抗生素耐药特性,为临床治疗提供指导。多粘菌素 B 对多重耐药 A.b 有很好的体外抗菌活性,是目前对碳青霉烯类抗生素耐药 A.b 最为有效的抗菌药物之一。

参 考 文 献

[1] 史俊艳,张小江,徐春英,等. 2007 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2007,9(3):196-200.

[2] Perez F,Hujer A M,Hujer K M,et al. Global Challenge of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii[J].Antimicrob.Agents Chemother,2007,51(10):3471-3484.

[3] Gootz T D,Marra A.Acinetobacter baumannii:an emerging multid rug-resistant threat[J].Expert Rev Anti Infect Ther,2008,6(3):309-325.

[4] Zavascki A P,Carvalhaes C G,Picao R C,et al. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: resistance mechanisms and implications for therapy [J].Expert Rev Anti Infect Ther,2010,8(1):71-93.

[5] Clinieal and Laboratory Standards Institute 2008.Performance standards for antimicrobial susceptibility testing;eighteenth informational supplement M100-S18 [S].CLSI,2008.

[6] Towner K J. Acinetobacter: an old friend,but a new enemy [J].J Hosp Infect,2009,73(4):355-363.

[7] Karageorgopoulos D E,Falagas M E. Current control and treatment of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections[J].Lancet Infect Dis,2008,8(12):751-762.

[8] Tsai H T,Wang J T,Chen C J,et al. Association between antibiotic usage and subsequent colonization or infection of extensive drug-resisitant Acinetobacter baumannii; a matched casecontrol study in intensive care units[J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2008,62(3):298-305.

[9] Pachón J,Vila J.Treatment of multiresistant Acinetobacter baumannii infections [J]. Curr Opin Investig Drugs,2009,10(2):150-156.

[10] Zhou H,Yang Q,Yu Y S.Clonal spread of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii among different cities of China[J].J Clin Micro boil,2007,45(12):4054-4057.

[11] Giamarellou H,Poulakou G.Multidrug-resistant Gram-negative infections: what are the treatment options[J].Drugs,2009,69(14):1879-1901.

[12] Zarrilli R,Giannouli M,Tomasone F,et al. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii:the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities[J].J Infect Dev Ctries,2009,3(5):335-341.

[13] Karageorgopoulos D E,Falagas M E.Current control and treatment of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections[J].Lancet Infect Dis,2008,8(12):751-762.

[14] Yuan Z,Tam V H. Polymyxin B:a new strategy for multidrug-resistant Gram-negative organisms[J].Expert Opin Investig Drugs,2008,17(5):661-668.

[15] Landman D,Georgescu C,Martin D A,et al. Polymyxins revisited [J].Clin Microbiol Rev,2008,21(3):449-465.

(责任编辑:冉明会)