

耐亚胺培南铜绿假单胞菌的耐药性分析及金属β-内酰胺酶的检测

胥琳琳,陈宗宁(江苏省盐城市第一人民医院检验科 224006)

【摘要】 目的 调查盐城市第一人民医院住院患者送检标本分离的铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药水平及其产金属β-内酰胺酶(MBLs)的情况。**方法** 临床标本分离的铜绿假单胞菌采用法国生物梅里埃细菌鉴定及药敏检测系统进行细菌鉴定与药物敏感性试验;采用纸片协同实验来检测铜绿假单胞菌产金属β-内酰胺酶的情况。**结果** 236株铜绿假单胞菌中有63株对亚胺培南耐药,耐药率为26.69%,耐亚胺培南铜绿假单胞菌对阿米卡星、庆大霉素、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、环丙沙星、氯曲南部分耐药,耐药率分别为45.12%、50.33%、59.74%、61.43%、62.12%和63.16%;对头孢他啶、头孢吡肟、哌拉西林、美罗培南耐药率较高;63株耐亚胺培南铜绿假单胞菌金属β-内酰胺酶的检出率为38.10%(24/63)。**结论** 金属β-内酰胺酶的产生是铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素耐药的重要机制之一,实验室应加强对产酶菌株的监测,为临床合理选用抗生素提供有效依据。

【关键词】 铜绿假单胞菌; 金属β-内酰胺酶; 耐药性
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.05.023 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)05-0558-02

Imipenem resistance pseudomonas aeruginosa drug resistance analysis and a metal beta lactamase detection XU Lin-lin, CHEN Zong-ning (Department of Clinical Laboratory, Yancheng First People's Hospital, Jiangsu 224006, China)

【Abstract】 Objective To survey hospital inpatients samples of *Pseudomonas aeruginosa*'s drug resistance to imipenem and the level of production of metal-β-lactamases (MBLs). **Methods** Isolated from clinical specimens of *pseudomonas aeruginosa* were used French bioMerieux bacterial identification and susceptibility testing system for the identification of bacteria and drug sensitivity test of the slip, collaborative experiment was used detect *Pseudomonas aeruginosa* producing metal-β-lactamase situation. **Results** 63 of 236 *pseudomonas aeruginosa* had imipenem resistance, resistance rate was 26.69%, imipenem-resistant *pseudomonas aeruginosa* for amikacin, gentamicin, piperacillin/tazobactam, cephalosporins piperazine ketone/sulbactam, ciprofloxacin first part of the resistance, resistance rates were 45.12%, 50.33%, 59.74%, 61.43%, 62.12% and 63.16%. Ceftazidime, cefepime, piperacillin, aztreonam, meropenem resistance rates were higher. 63 imipenem-resistant *pseudomonas aeruginosa* metallo-β-lactamase detection rate was 38.10% (24/63). **Conclusion** Metallo-β-lactamase production is one of the mechanisms for *pseudomonas aeruginosa* to carbapenem antibiotic resistance, the laboratory should strengthen the monitoring of enzyme production strains for clinical use of antibiotics.

【Key words】 *acinetobacter baumannii*; metal β-lactamase; drug resistance

铜绿假单胞菌(PA)是医院感染的重要病原菌,在临床感染的革兰阴性杆菌中一直处于首位。碳青霉烯类抗生素(亚胺培南、美罗培南等)具有抗菌谱广,抗菌活性强,对β-内酰胺酶稳定性高,且能快速通过细菌细胞膜的优点,目前已成为治疗包括PA在内的多重耐药菌感染最有效的抗生素。但是,随着该类抗生素在临床应用的日益增多,使得PA的耐药率呈逐渐上升的趋势,出现了大量多重耐药菌株^[1]。目前认为产金属β-内酰胺酶(MBLs)是该菌对碳青霉烯类抗生素耐药的重要机制之一。不同地区、医院PA的多重耐药性不同,对抗生素的耐药情况也不同。为了解本院PA的耐药特性及其产金属酶情况,作者收集了2010年7月至2011年6月236株临床分离的PA进行耐药性分析,并对63株耐亚胺培南PA产MBLs进行初步筛选,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 236株PA分离自本院2010年7月1日至2011年6月30日临床各科室送检的住院患者标本,主要为痰液、血液、脓、中段尿、分泌物等。

1.2 仪器与试剂 菌株的鉴定和药敏试验使用法国生物梅里

埃公司的VITEK-2全自动微生物分析仪以及配套的细菌鉴定及药敏卡片。亚胺培南(IMP, 10 μg/片)购自英国Oxoid公司。亚胺培南+乙二胺四乙酸(IMP, 10 μg/片; EDTA, 0.5 mol/L, 5 μL/片)自制。质控菌株为PAATCC 27853,购自江苏省临床检验中心;金属酶阳性质控菌株为产IMP-1型金属酶的PA。乙二胺四乙酸(EDTA)为重庆化学试剂厂产品。

1.3 方法 金属β-内酰胺酶的检测采用纸片协同试验检测金属酶。将0.5麦氏单位待测菌液均匀涂布于MH琼脂平板,将2张IMP纸片贴在平皿上,纸片间距为2 cm,在其中1张IMP纸片上加入5 μL乙二胺四乙酸(EDTA),含酶抑制剂IMP纸片的抑菌环较IMP纸片增加6 mm为阳性,即表示此菌株产金属酶^[2]。同时以PAATCC27853和产VIM-2型金属酶标准株的PA做阴性及阳性对照。

1.4 统计学方法 所有原始数据用WHONET5软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 236株PA标本类型分布见表1,科室来源分布见表2,其中63株耐亚胺培南PA分布,ICU病房45株(71.4%),非

ICU 病房 18 株(28.6%)。结果显示,呼吸道标本远高于其他,而且 ICU 病房分离率远远高于其他病区。

表 1 236 株 PA 标本类型分布

类型	痰液	脓	分泌物	中段尿	血液	气管导管	其他	合计
菌株数(<i>n</i>)	191	9	8	9	11	6	2	236
构成比(%)	80.9	3.8	3.4	3.8	4.7	2.5	0.9	100

表 2 236 株 PA 科室来源分布

科室	ICU	老年医学科	呼吸科	神经外科	骨科	血液科	神经内科	其他
菌株(<i>n</i>)	89	39	37	26	12	10	7	16
构成(%)	37.7	16.5	15.7	11.0	5.1	4.2	3.0	6.8

2.2 药敏结果 236 株 PA 中耐亚胺培南 63 株,占 27.1%。按文献[3]将对亚胺培南、头孢他啶、环丙沙星或阿米卡星 3 个或 3 个以上耐药的细菌称为多重耐药菌(MDR),本实验中 MDR 多重耐药发生率达到 65%。亚胺培南耐药组与亚胺培南敏感组的药敏率比较见表 3。

表 3 236 株 PA 对 11 种抗生素的耐药率(%)

抗生素	亚胺培南敏感组		亚胺培南耐药组		总耐药率
	耐药株	耐药率	耐药株	耐药率	
阿米卡星	33	19.26	28	45.12	25.85
庆大霉素	43	24.78	32	50.33	31.78
头孢他啶	76	44.13	49	78.35	52.97
头孢吡肟	81	47.17	45	72.77	53.39
哌拉西林	54	31.08	46	73.09	42.37
哌拉西林/他唑巴坦	68	39.11	39	61.43	45.33
头孢哌酮/舒巴坦	56	32.14	37	59.74	39.41
亚胺培南	0	0	63	100.0	26.69
美罗培南	0	0	52	82.54	22.03
氨曲南	42	24.37	40	63.16	34.75
环丙沙星	51	29.41	39	62.12	38.13

2.3 金属 β-内酰胺酶的检测结果 纸片协同实验显示,63 株多重耐药 PA 中产金属酶 24 株,检出率为 38.10%。

3 讨 论

PA 在自然界中分布广泛,健康人皮肤,尤其潮湿部位如腋下、会阴部及耳道内,呼吸道和肠道均有该菌存在,是一种常见的院内获得性感染的条件致病菌,当机体抵抗力低下或有其他易感因素如侵入操作,过度使用抗生素导致正常菌群失调时就会引起感染。本文结果显示,在本院所分离的 PA 中,呼吸道标本占 80.9%,远高于其他类型标本,提示 PA 是呼吸道感染的主要病原菌,通过呼吸道污染医疗机械及患者物品导致院内感染。感染主要集中在 ICU 病房占 37.7%,说明 ICU 收住的患者病情较重,大量使用过抗生素,这是导致 PA 耐药性严重的主要因素。

碳青霉烯类抗生素亚胺培南对于大多数革兰阴性杆菌具有强大的抗菌活性^[4],临床上在重症感染患者中被广泛地应

用。但近年来非发酵菌对碳青霉烯类抗生素的耐药性在逐年上升,特别是 PA,而耐亚胺培南的 PA 也常对其他抗生素多重耐药,给临床治疗带来困难。表 2 显示,236 株 PA 中,耐亚胺培南的有 63 株,占 37.4%,且多重耐药,尤其对 CLSI 推荐的庆大霉素、哌拉西林等均产生不同程度的耐药。其原因可能为耐亚胺培南 PA 生存能力强,可在医院环境和人体开放腔道中长期存留,加之 PA 黏液样菌落合成的藻酸盐可能作为一种防护的屏障,阻止抗生素进入胞内,并有助于 PA 黏附于呼吸道的腔壁上,不易随痰排出体外。本次实验对耐亚胺培南的 PA 抗菌活性较好的有阿米卡星、庆大霉素、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、环丙沙星、氨曲南,耐药率分别为 45.12%、50.33%、59.74%、61.43%、62.12% 和 63.16%;亚胺培南耐药的 PA 对常用抗生素的耐药率较高,临床上经验用药难以选择,而应依据实验室的药敏结果有效选用抗生素。

细菌对 β-内酰胺酶类抗生素的耐药机制主要是产生 β-内酰胺酶,该酶属 Bush 分类中的 3 群,Ambler 分类中的 B 类,因其酶活性中心需金属锌离子的参与,故称为金属 β-内酰胺酶^[5]。金属酶的出现令临床治疗陷入困境,主要原因为:它具有广泛水解包括碳青霉烯类在内的 β-内酰胺类抗生素的能力,而且对常用的 β-内酰胺酶抑制剂如克拉维酸、舒巴坦、他唑巴坦等敏感性差;产酶基因大多由质粒、转座子或整合子等可移动元件介导,易于传播。耐亚胺培南的 PA,对多数抗生素如头孢类等耐药。本实验以 EDTA 作为金属酶的抑制剂,用双纸片协同试验检测出产金属酶 24 株(占 37.4%),提示本院 PA 金属酶的产生已处于一定水平。如果要进一步确定金属酶的基因型,可采用 PCR 等其他分子生物学方法证实,但对一般实验室来讲操作复杂、费时,不宜常规开展,所以作为筛查的方法,用双纸片协同试验检测金属酶。总之,碳青霉烯类耐药 PA 的暴发流行逐年增多,给医务工作者再次敲响了警钟,实验室应加强对产酶菌株的监测,及时报告临床,以便医生在治疗耐亚胺培南的 PA 时合理有效地选用抗生素。

参考文献

[1] 吴安华,任南,文细毛,等. 医院内感染非发酵革兰阴性杆菌的病原学与耐药性监测研究[J]. 中华临床医学杂志, 2004,27(11):764-766.

[2] 何林,张立军,李勇,等. 铜绿假单胞菌对 22 种抗生素耐药性的差异[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(11):853-855.

[3] Berges L,Rodriguez-Villalobos H,Deplallo A,et al. Prospective evaluation of imipenem/EDTA combined disc and Etest for detection of metal-10. beta. lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Antimicrob Chemother, 2007,59(4):812-813.

[4] 王辉,郭萍,孙宏莉,等. 碳青霉烯类耐药的铜绿假单胞菌分子流行病学及其泛耐药分子机制 [J]. 中华检验医学杂志,2006,29(12):1066-1073.

[5] 甘晓玲. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素的多重耐药机制[J]. 重庆医学,2008,37(16):1851-1853.