

糖尿病足湿性坏疽多重耐药菌耐药特点分析*

范 洪,严占林,纪洪猛,刘 刚,闫中华,赵青云(河北省沧州中西医结合医院实验诊断科,河北沧州 061001)

【摘要】 目的 探讨糖尿病足湿性坏疽多重耐药菌的分布特点及耐药情况。**方法** 选择 2010 年 1 月至 2014 年 12 月该院脉管炎科及糖尿病科送检的糖尿病足湿性坏疽患者分泌物 1 845 份,分离多重耐药菌,分析其分布情况及革兰阴性菌、革兰阳性菌、厌氧菌、真菌的多重耐药特点。**结果** 分离出 465 株多重耐药菌株中,革兰阴性杆菌 274 株(58.92%),革兰阳性球菌 191 株(41.08%)。革兰阴性多重耐药菌株中以大肠埃希菌株为主占 37.60%,革兰阳性多重耐药菌株中以凝固酶阴性葡萄球菌为主占 51.30%;多重耐药阴性杆菌中,产超广谱 β -内酰胺酶(ES-BLs)的大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌、鲍曼溶血不动杆菌、铜绿假单胞菌表现高耐药性,耐药率达到 50.00%以上;多重耐药阳性球菌中,凝固酶阴性葡萄球菌及金黄色葡萄球菌均为耐甲氧西林阳性菌株,这些菌株表现高耐药性,耐药率达 85.00%以上。**结论** 糖尿病足湿性坏疽多重耐药菌中大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、凝固酶阴性葡萄球菌及金黄色葡萄球菌表现高耐药性,临床应结合耐药鉴定分析选择用药。

【关键词】 糖尿病足; 湿性坏疽; 多重耐药菌; 药敏试验; 耐药率

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.02.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)02-0181-03

Analysis on drug resistance characteristics of multi-drug resistant bacteria in diabetic feet with moist gangrene* FAN Hong, YAN Zhan-lin, JI Hong-meng, LIU Gang, YAN Zhong-hua, ZHAO Qing-yun (Department of Laboratory Diagnosis, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Cangzhou, Hebei 061001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the distribution characteristics and drug resistance situation of multi-drug resistant bacteria in diabetic feet with moist gangrene. **Methods** 1 845 samples of secretion from the patients with diabetic feet complicating moist gangrene in the vasculitis department of our hospital from January 2010 to December 2014 were selected for isolating the multi-drug resistant bacteria. Their distribution and the multi-drug resistant characteristics of Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria, anaerobion and fungi were analyzed. **Results** Among isolated 465 strains of multi-drug resistant bacteria, 274 strains (58.92%) were Gram-negative bacteria and 191 strains (41.08%) were Gram-positive cocci. Most of multi-drug resistant Gram-negative bacteria were *Escherichia coli* (37.60%) and most of multi-resistant Gram-positive bacteria were coagulase-negative staphylococci (51.30%); among multi-drug resistant Gram-negative bacteria, ESBLs-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter Baumann* hemolysis, *Pseudomonas aeruginosa* showed highly drug resistance, the drug resistance rate reached more than 50.00%; among multi-drug resistant Gram-positive cocci, coagulase-negative staphylococci and *Staphylococcus aureus* were methicillin-resistant strains, these strains showed the high drug resistance, the drug resistance rate reached up to more than 85.00%. **Conclusion** Among multi-drug resistant bacteria in diabetic feet with moist gangrene, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, coagulase-negative staphylococci and *Staphylococcus aureus* display high drug resistance rate, clinic should select antibacterial drugs by combining with the drug resistance identification and analysis.

【Key words】 diabetic feet; moist gangrene; multi-drug resistant bacteria; drug susceptibility test; drug resistance rate

2013 年全世界约有 3.82 亿糖尿病患者,到 2015 年此数据将达 5.92 亿^[1]。约 25% 的糖尿病患者会出现糖尿病坏疽并发症,40%~80% 的糖尿病足坏疽患者会合并细菌感染^[2-3]。而近年来在糖尿病足湿性坏疽细菌培养与鉴定中,多重耐药菌不断增多,感染的控制也越来越困难。此型病变基础是微血管基底膜增厚所致微循环障碍,是糖尿病常见的并发症^[4-5],并且是糖尿病患者致残、致死的重要原因之一。在患者长期使用抗菌药物治疗中,容易导致病原菌的耐药率升高。了解糖尿病足湿性坏疽感染病原菌,针对性地选择敏感抗菌药物,快速有效控制感染,对于降低该类患者的致残率、致死率至关重要。为

了解糖尿病足湿性坏疽多重耐药的细菌感染情况和分布及耐药动态,对 2010 年 1 月至 2014 年 12 月本院糖尿病足湿性坏疽住院患者分离的 465 株多重耐药菌进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2014 年 12 月本院脉管炎科及糖尿病科送检的糖尿病足湿性坏疽患者 1 845 例,其中男 1 045 例,女 800 例;年龄 29~89 岁,平均(61.1±11.7)岁;糖尿病病程 2~21 年,平均(9.1±3.0)年;糖尿病湿性坏疽病程 1~63 周,平均(4.0±1.0)周。纳入标准:糖尿病足湿性坏

* 基金项目:河北省沧州市科学技术研究与发展指导计划项目资助(131302033)。

作者简介:范洪,男,本科,主任检验师,主要从事细菌检验方面研究。

疽诊断标准采用美国感染协会的糖尿病足感染临床诊断标准^[5]。研究通过本院伦理委员会研究许可,患者及家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 先清理患者坏疽创面,暴露出溃疡底部,用无菌拭子采取分泌物,无菌保存后及时送检;厌氧菌采集标本时,应采取床旁接种于厌氧菌泡肉增菌培养管,表面覆盖 1 cm 液状石蜡保持无氧环境,立即送检。

1.2.2 细菌分离及鉴定 重耐药菌的分离按照 2012 年《多重耐药菌暂行标准定义》进行。对分离的致病菌均采用西门子 MicroScan Walkaway 96plus 全自动细菌鉴定药敏分析仪及相关试剂进行鉴定和药敏试验,采用 WHONET5.4 软件进行耐药性分析,并以美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准作为结果判断依据。多重耐药分析主要抗菌药为:氨曲南、头孢类、环丙沙星、庆大霉素、亚胺培南、左氧氟沙星、美罗培南、哌拉西林/他唑巴坦、复方磺胺甲噁唑、替卡西林/克拉维酸、妥布霉素、阿米卡星、氨苄西林、克林霉素、达托霉素、红霉素、利奈唑胺、利福平、辛内吉、万古霉素、阿莫西林/克拉维酸等。

1.2.3 质控菌株 大肠埃希菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)均购自卫生部临检中心。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行分析 and 处理,计数资料以百分率表示。

2 结 果

2.1 多重耐药菌检出率 糖尿病足湿性坏疽患者足部分泌物标本 1 845 份共检出多重耐药菌 465 株,检出率为 25.20%,未检出两种及两种以上多重耐药菌同时感染病例,真菌及厌氧菌未发现多重耐药菌株。

2.2 多重耐药菌构成情况 465 株多重耐药菌株中,革兰阴性杆菌 274 株,占 58.92%;革兰阳性球菌 191 株,占 41.08%。革兰阴性杆菌中以大肠埃希菌为主,占 37.60%,革兰阳性球菌中以凝固酶阴性葡萄球菌为主,占 51.30%。见表 1。

表 1 分离多重耐药菌构成情况		
菌种	株数(n)	构成比(%)
革兰阴性杆菌	274	58.92
大肠埃希菌	103	37.60
鲍曼溶血不动杆菌	73	26.60
肺炎克雷伯菌	58	21.20
铜绿假单胞菌	40	14.60
革兰阳性球菌	191	41.08
凝固酶阴性葡萄球菌	98	51.30
金黄色葡萄球菌	61	31.90
肠球菌属	32	16.80

2.3 多重耐药革兰阴性杆菌耐药情况 分离的多重耐药大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌均为产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)菌株,这些菌株对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率最低,对其他抗菌药物的耐药率均高于 50.00%,耐药情况比较严重。鲍曼溶血不动杆菌对临床常用抗菌药物均表现出高耐药性,对头孢西丁的耐药率最低,也达到 75.34%。铜绿假单胞菌对庆大霉素、亚胺培南、美罗培南的耐药率较低,也达到了 40.00%以上,对其他临床常用抗菌药物的耐药率均高于 50.00%。见表 2。

表 2 多重耐药革兰阴性杆菌对 17 种抗菌药物的耐药率比较(%)				
抗菌药物	大肠埃希菌 (n=103)	鲍曼溶血不动 杆菌(n=73)	肺炎克雷伯菌 (n=58)	铜绿假单胞菌 (n=40)
氨曲南	96.12	100.00	93.75	70.00
头孢他啶	86.41	97.26	91.67	62.50
头孢噻肟	87.38	98.63	91.67	60.00
头孢西丁	62.14	75.34	85.42	—
头孢唑林	100.00	100.00	95.83	100.00
头孢吡肟	57.28	93.15	58.33	55.00
环丙沙星	58.25	98.63	52.08	52.50
庆大霉素	59.22	100.00	68.75	47.50
亚胺培南	0.00	97.26	0.00	47.50
左氧氟沙星	53.40	90.41	56.25	62.50
美罗培南	0.00	97.26	0.00	40.00
哌拉西林/他 唑巴坦	56.31	95.89	50.00	62.50
复方磺胺甲噁 唑	66.02	100.00	85.42	100.00
替卡西林/克 拉维酸	55.34	98.63	62.5	60.00
妥布霉素	75.73	100.00	52.08	67.50
阿米卡星	56.31	100.00	60.41	75.00
氨苄西林	92.23	100.00	87.50	87.50

注:—表示未进行试验。

2.4 多重耐药革兰阳性球菌耐药性分析 分离的多重耐药凝固酶阴性葡萄球菌及金黄色葡萄球菌均为耐甲氧西林阳性菌株,这类菌株对 β-内酰胺类、β-内酰胺类酶抑制剂、大环内酯类、林可酰胺类及氟喹诺酮类抗菌药物均表现出高耐药性,其耐药率均在 85.00%以上,但对万古霉素、利奈唑胺、达托霉素及辛内吉高度敏感,未发现耐药菌株。多重耐药的肠球菌属细菌中,未发现耐万古霉素菌株,对临床常用抗菌药物也均表现出高耐药性,对利奈唑胺及辛内吉,未发现耐药菌株。见表 3。

表 3 多重耐药革兰阳性球菌对 13 种抗菌药物的耐药率比较(%)			
抗菌药物	凝固酶阴性 葡萄球菌(n=98)	金黄色葡萄球菌 (n=61)	肠球菌属 (n=32)
头孢曲松	88.76	93.44	—
青霉素	100.00	100.00	100.00
克林霉素	96.94	91.80	—
达托霉素	0.00	0.00	—
红霉素	87.76	91.80	81.25
庆大霉素	90.82	93.44	90.63
环丙沙星	88.78	90.16	68.75
左氧氟沙星	88.78	91.80	75.00
利奈唑胺	0.00	0.00	0.00
利福平	76.53	75.41	43.75
辛内吉	0.00	0.00	0.00
万古霉素	0.00	0.00	0.00
阿莫西林/克拉维酸	86.73	88.52	—

注:—表示未进行试验。

3 讨 论

糖尿病患者常因血糖控制不佳而使机体免疫力降低,较易发生足部感染,进而促使免疫力进一步下降,使感染更难以治愈。糖尿病足湿性坏疽患者的足部容易出现反复感染,对于感染的控制治疗,临床上以抗菌药物治疗为主,但随着广谱抗菌药物的大量应用,一些细菌耐药性增加,导致多重耐药菌株出

现。目前有关糖尿病足湿性坏疽感染的病原菌分布及耐药性分析,国内的报告不多。本研究着重分析糖尿病足湿性坏疽分泌物培养出的多重耐药菌的分布特点及耐药情况。

本研究结果显示,多重耐药的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌均为产 ESBLs 菌株,其耐药机制可能与其产生的各种灭活酶或钝化酶有关,使其对青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、氨基糖苷类抗菌药物表现出多重耐药性。由于碳青霉烯类抗菌药物能够稳定水解 ESBLs,故耐药率较低,成为治疗的最有效药物。本研究也发现多重耐药的大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物仍能保持 100.00% 的敏感率。近年来,由于第 3 代头孢菌素在临床上的广泛使用及不合理应用,导致多重耐药的大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌感染率呈逐年上升趋势^[6]。鲍曼溶血不动杆菌为临床常见院内感染菌,本研究中多重耐药的鲍曼溶血不动杆菌分离率居第 2 位,并出现多例泛耐药菌株,且其对临床常用药物耐药率普遍较高。鲍曼溶血不动杆菌的高耐药性与其复杂的耐药机制有关^[7-8],多重耐药的鲍曼溶血不动杆菌对氨基糖苷类和 β -内酰胺类抗菌药物的耐药性与氨基糖苷类修饰酶和 β -内酰胺酶的表达有关;多重耐药的鲍曼溶血不动杆菌的膜孔蛋白 OprD 和 CarO 与敏感菌株 SDF 相比,氨基酸存在突变,并引起孔蛋白结构发生改变,可能导致其耐药性的产生;多重耐药的鲍曼溶血不动杆菌 adeABC 外排泵系统的 adeB 基因发生突变,导致了菌株对多种药物耐药^[9]。

本研究共发现多重耐药铜绿假单胞菌 40 株,对 β -内酰胺酶抑制剂的抗菌药物及头孢吡肟、头孢他啶较敏感。有调查显示亚胺培南、喹诺酮类可诱导铜绿假单胞菌体内主动外排系统高表达,使其达不到有效药物浓度而失去抗菌活性,极易产生耐药。而本研究发现铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药率为 47.50%,对环丙沙星耐药率为 52.50%,对左氧氟沙星耐药率为 62.50%。基于其特殊耐药机制,临床应慎用亚胺培南以防耐药菌出现^[9]。

本研究结果显示,分离的多重耐药凝固酶阴性葡萄球菌及金黄色葡萄球菌均为耐甲氧西林阳性菌株,这些菌株对 β -内酰胺类、 β -内酰胺类酶抑制剂、大环内酯类、林可酰胺类及氟喹诺酮类抗菌药物均表现出高耐药性,其耐药率均在 85.00% 以上,但对万古霉素、利奈唑胺、达托霉素及辛内吉高度敏感,未发现耐药菌株,与黄德斌等^[10]研究结果一致,不同之处在于,本研究金黄色葡萄球菌多重耐药率偏低,这可能与本文选取患者较多有关,更具有代表性。多重耐药的肠球菌属细菌中,未发现耐万古霉素菌株,这些肠球菌对临床常用抗菌药物也均表现出高耐药性,对利奈唑胺及辛内吉未发现耐药菌株。

糖尿病足湿性坏疽感染的预后与感染程度具有一定相关性,上述耐药菌的出现,提示临床医师应严格把握抗菌药物的

适应证,杜绝滥用和滥用,防止因诱导突变而产生大量耐药菌株、甚至超级细菌。临床上治疗糖尿病足湿性坏疽应注意致病菌的变化及感染程度,及时取感染足分泌物进行常规细菌培养和药敏试验,根据药敏结果合理选择有效抗菌药物,减少抗菌药物的耐药性,以降低截肢率及减轻患者经济负担,提高治愈率。

参考文献

- [1] Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 103(2): 137-149.
- [2] Prompers L, Huijberts M, Schaper N, et al. Resource utilization and costs associated with the treatment of diabetic foot ulcers. Prospective data from the Eurodiale Study [J]. *Diabetologia*, 2008, 51(10): 1826-1834.
- [3] 陈丽丹, 石玉玲, 曾兰兰. 需氧菌与厌氧菌混合感染致糖尿病足一例病原学检测[J]. *中国全科医学*, 2010, 13(2): 544.
- [4] Sueki H, Furukawa N, Higo N, et al. Association of verrucous skin lesions and skin ulcers on the feet in patients with diabetic neuropathy[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2004, 29(3): 247-253.
- [5] Kandemir O, Akbay E, Sahin E, et al. Risk factors for infection of the diabetic foot with multi-antibiotic resistant microorganisms[J]. *J Infect*, 2007, 54(5): 439-445.
- [6] 李惠琴, 苏晓飞, 丁波, 等. 218 例糖尿病足患者临床特征及高危因素分析[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28(6): 492-495.
- [7] 于沁, 刘嘉琳, 谭若铭, 等. 瑞金医院重症监护病房和烧伤病房鲍曼不动杆菌的流行病学监测和分析[J]. *诊断学理论与实践*, 2009, 8(5): 487-491.
- [8] 赵建平, 周秀岚. 多重耐药铜绿假单胞菌判定方法探讨[J]. *中国医药*, 2012, 7(12): 1603-1605.
- [9] 移小峰, 高建瓴, 詹英. 重症监护室多重耐药鲍曼不动杆菌感染的危险因素分析[J]. *中国医药*, 2012, 7(12): 1600-1602.
- [10] 黄德斌, 李晓行, 邵芬, 等. 糖尿病足发生多重耐药菌感染的危险因素分析[J]. *中国全科医学*, 2012, 15(14): 1689-1692.

(收稿日期: 2015-08-07 修回日期: 2015-09-13)

(上接第 180 页)

性心脏病左心室重构程度的相关性研究[J]. *心肺血管病杂志*, 2010, 29(3): 169-173.

- [13] Gupta M, Johann-Liang R, Bussell JB, et al. Elevated IgA and IgM anti-cardiolipin antibodies in acute Kawasaki disease[J]. *Cardiology*, 2002, 97(4): 180-182.
- [14] McNeal-Davidson A, Fournier A, Spigelblatt L, et al. Value of amino-terminal pro B-natriuretic peptide in diagnosing Kawasaki disease[J]. *Pediatr Int*, 2012, 54(5): 627-633.
- [15] Pimiento JM, Maloney SP, Tang PC, et al. Endothelial nitric oxide synthase stimulates aneurysm growth in aged

mice[J]. *J Vasc Res*, 2008, 45(3): 251-258.

- [16] Fukazawa R, Ikegami E, Watanabe M, et al. Coronary artery aneurysm induced by Kawasaki disease in children show features typical senescence[J]. *Circ J*, 2007, 71(5): 709-715.
- [17] Ouchi N, Oshima Y, Ohashi K, et al. Follistatin-like-1, a secreted muscle protein, promotes endothelial cell function and revascularization in ischemic tissue through a nitric-oxide synthase-dependent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(47): 32802-32811.

(收稿日期: 2015-03-06 修回日期: 2015-08-10)