

· 论 著 ·

COPD 患者呼吸道感染铜绿假单胞菌的 耐药性及 ESBLs 检测

钟如柱¹, 许志明¹, 喻云梅², 刘军², 赵祖国²

1. 廉江市人民医院呼吸内科, 广东 廉江 524400; 2. 广东医学院病原生物学实验室, 广东 湛江 524023

摘要: **目的** 探讨慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 病情严重程度不同级别和不同年龄段患者呼吸道感染中铜绿假单胞菌 (PA) 对抗菌药物的耐药情况和产超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 情况。**方法** 实验菌株为广东廉江市人民医院和广东医学院第二附属医院 2012 年 1 月至 2014 年 1 月间收治的 COPD 患者呼吸道分泌物中分离的 102 株非重复 PA, 对其进行抗菌药物敏感性和 ESBLs 检测, 细菌鉴定、药敏检测、ESBLs 检测和数据分析分别使用全自动微生物分析仪、琼脂稀释法、双纸片协同法完成, 分析不同年龄和不同 COPD 严重程度 PA 的耐药性和产 ESBLs 特点。**结果** 102 株 PA 中, 多重耐药菌 74 株 (72.5%), 产 ESBLs 菌株 56 株 (54.9%); 除对阿米卡星的耐药率为 19.6% 外, PA 对头孢他啶、环丙沙星、复方新诺明和阿奇霉素的耐药率均在 30% 以上。ESBLs 阳性组对头孢他啶、环丙沙星和复方新诺明的耐药率明显高于 ESBLs 阴性组 (P 均 < 0.05); PA 阳性以 COPD Ⅲ级 + Ⅳ级 (84.3%) 和 ≥ 60 岁老年患者 (66.7%) 构成比高; 在产 ESBLs 株、多重耐药株、同时产 ESBLs 和多重耐药的 PA 中, 分别有 89.3%、91.9% 和 87.5% 为 COPD Ⅲ级 + Ⅳ级患者, 分别有 66.1%、66.2% 和 75.0% 是老年人。**结论** COPD 患者呼吸道感染 PA 以 Ⅲ、Ⅳ级病情和老年人最为常见, 且 PA 对抗菌药物的耐药状况严峻。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; 铜绿假单胞菌; 抗菌药物; 耐药性; 超广谱 β -内酰胺酶

中图分类号: R 446.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)02-0155-04

Situation of drug resistance and ESBLs-producing *Pseudomonas aeruginosa* in COPD patients combined respiratory tract infection

ZHONG Ru-zhu*, XU Zhi-ming, YU Yun-mei, LIU Jun, ZHAO Zu-guo

* Department of Respiratory Medicine, Lianjiang City People's Hospital, Lianjiang, Guangdong 524400, China

Abstract: **Objective** To investigate the situation of drug-resistance to antibacterial agents and extended spectrum β -lactamase (ESBLs)-producing *Pseudomonas aeruginosa* (PA) in different grade of severity and different age-group when respiratory tract infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** The test strains were no repeat 102 strains of PA isolated from secretions of respiratory tracts in COPD patients admitted in Lianjiang City People's Hospital and the Second People's Hospital Affiliated to Guangdong Medical Collage, and the sensitivity to antibacterial drugs and ESBLs were detected. The bacteria identification, the detections of drug sensitivity and ESBLs were respectively performed by automated microbiology analyzer, agar dilution method and double disk synergy test. The data analysis used SPSS15.0 software. The features of drug-resistance and ESBLs-producing of different degrees of severity in COPD were analyzed. **Results** Out of 102 strains of PA, 74 (72.5%) were multi-drug resistant, 56 (54.9%) were ESBLs-producing strains. The drug-resistance rates of PA to ceftazidime, ciprofloxacin, compound sulfamethoxazole and azithromycin were all more than 30 percent except amikacin (19.6%). The drug-resistance rates of ESBLs-positive strains to ceftazidime, ciprofloxacin and compound sulfamethoxazole were all significantly higher than those of ESBLs-negative strains (all $P < 0.05$). The constituent ratios of PA-positive strains were high in patients with COPD grade Ⅲ plus grade Ⅳ (84.3%) and ages more than 60 years old (66.7%). For the PA, 89.3% of ESBLs-producing strains, 91.9% of multi-drug resistant strains, 87.5% of ESBLs-producing and multi-drug resistant strains were seen in patients with COPD grade Ⅲ plus grade Ⅳ, and 66.1% of ESBLs-producing strains, 66.2% of multi-drug resistant strains, 75.0% of ESBLs-producing and multi-drug re-

sistant strains were seen in the elderly. **Conclusions** PA is most seen in pulmonary infection for COPD grade III and grade IV and the old patients, and the drug-resistance situation of PA to antibacterial agents is serious.

Key words: Chronic obstructive pulmonary disease; *Pseudomonas aeruginosa*; Antibacterial drugs; Drug-resistance; Extended spectrum β -lactamase

呼吸道感染是慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 急性加重和恶化的重要因素,铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, PA) 是 COPD 患者呼吸道感染的主要病原菌之一^[1-2]。根据我国卫生部细菌耐药监测网 (Mohnairn) 统计,PA 对抗菌药物的耐药形势严峻,常出现多重耐药性(对 3 种及以上结构上不相关的抗菌药物均耐药)^[3];在世界范围内,非发酵革兰阴性杆菌尤其是铜绿假单胞菌的多重耐药、广泛耐药和泛耐药分离株的发生率在上升^[4],给临床治疗 COPD 造成相当大的困难。为了解 PA 在 COPD 患者呼吸道中的耐药形势和产超广谱 β -内酰胺酶 (extended spectrum β -lactamase, ESBLs) 情况,本研究对从 COPD 患者呼吸道分离的 102 株非重复 PA 进行抗菌药物敏感性和 ESBLs 检测,从年龄分布和 COPD 的严重程度分析 PA 的耐药性和产 ESBLs 特点,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验菌株来源 2012 年 1 月至 2014 年 1 月间从 COPD 患者呼吸道分泌物中分离 102 株 PA,标本来源于广东廉江市人民医院和广东医学院第二附属医院。琼脂稀释法质控株铜绿假单胞菌 ATCC25922 由广东医学院病原生物学实验室提供。

1.2 细菌鉴定 严格按照《全国临床检验操作规程》进行标本采集,标本经全自动微生物分析仪 (VITEK 32) 和 GNI 鉴定卡鉴定。

1.3 药物敏感性试验 应用琼脂稀释法检测 PA 对头孢他啶 (CAZ, β -内酰胺类抗生素)、阿米卡星 (AK, 氨基糖苷类抗生素)、环丙沙星 (CIP, 氟喹诺酮类抗菌药物)、复方新诺明 (SXT, 磺胺类抗菌药物)、阿奇霉素 (AZM, 大环内酯类抗生素) 的药物敏感性,如检测结果显示 PA 对三种或三种以上不同种类 (结构上不相关) 的抗菌药物耐药,即作为多重耐药株,参照美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 的标准判断药物敏感性试验结果^[5]。

CLSI 的标准是 (以 R 表示耐药,以 S 表示敏感): 头孢他啶 ($R \geq 32$ mg/L, $S \leq 8$ mg/L); 阿米卡星 ($R \geq 64$ mg/L, $S \leq 8$ mg/L); 环丙沙星 ($R \geq 2$ mg/L, $S \leq 0.5$ mg/L); 复方新诺明 ($R \geq 4/64$ mg/L, $S \leq 0.5/9.5$ mg/L); 阿奇霉素 ($R \geq 8$ mg/L, $S \leq 2$ mg/L)。药物标准

品购自北京中国药品生物制品检定所。Muller-Hinton (MH) 培养基等购自杭州天和微生物试剂公司。

1.4 ESBLs 的检测 采用 ESBLs 检测试剂盒检测 ESBLs (双纸片协同法),严格按照试剂盒说明书操作。ESBLs 检测试剂盒等购自杭州天和微生物试剂公司。

1.5 观察分析内容 根据细菌鉴定、ESBLs 检测和药物敏感性试验结果,对产 ESBLs 的 PA 菌株的总体耐药及 ESBLs 阳性和阴性菌株的耐药情况进行统计对比,对产 ESBLs 的 PA 菌株在不同 COPD 严重程度分级 [COPD 临床严重程度分级: I 级 (轻度), II 级 (中度), III 级 (重度), IV (极重度)] 和不同年龄患者中的分布进行分析。

1.6 统计学分析 应用 SPSS 15.0 统计软件分析处理数据。PA 的耐药性在 ESBLs 阳性组与 ESBLs 阴性组中的差异分析采用 2×2 表的 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物敏感试验结果 所有菌株均对一种及以上抗菌药物产生耐药。根据药物敏感试验结果,将 PA 分为两组,只对一种或两种抗菌药物耐药为第 1 组 (28 株,占 27.5%),对三种及以上抗菌药物耐药 (即多重耐药) 为第 2 组 (74 株,占 72.5%)。PA 除对阿米卡星的耐药率为 19.6% 外,对头孢他啶、环丙沙星、复方新诺明和阿奇霉素的耐药率均在 30% 以上。见表 1。

2.2 ESBLs 的检测结果 产 ESBLs 菌株的检出率为 54.9% (56/102),其中多重耐药菌占 85.7% (48/56)。ESBLs 阳性组对头孢他啶、环丙沙星、复方新诺明的耐药率均高于 ESBLs 阴性组 (P 均 < 0.05)。见表 2。

2.3 PA 产 ESBLs 和耐药情况在不同 COPD 严重程度分级中的分布 发生 PA 感染、PA 产 ESBLs、多重耐药、PA 同时产 ESBLs 和多重耐药均以 COPD III + IV 级患者多见,分别为 84.3%、89.3%、91.9% 和 87.5%。见表 3。

2.4 PA 产 ESBLs 和耐药情况在不同年龄的分布 发生 PA 感染、PA 产 ESBLs、多重耐药、PA 同时产 ESBLs 和多重耐药均以老年患者多见,分别为 66.7%、

表 1 102 株 PA 对抗菌药物耐药情况结果

抗菌药物	未分组 (n=102)			第 1 组 (n=28)			第 2 组 (n=74)		
	MIC _R	MIC ₅₀	R [株 (%)]	MIC _R	MIC ₅₀	R [株 (%)]	MIC _R	MIC ₅₀	R [株 (%)]
头孢他啶	1.0000 ~ 512	64	82 (80.4)	1.0000 ~ 512	32	8 (28.6)	1.000 ~ 512	128	74 (100.0)
阿米卡星	0.5000 ~ 512	16	20 (19.6)	2.0000 ~ 256	8	2 (7.1)	0.500 ~ 512	32	18 (24.3)
环丙沙星	0.0625 ~ 128	1	31 (30.4)	0.0625 ~ 32	0.5	7 (25.0)	0.125 ~ 128	1	24 (32.4)
复方新诺明	0.0625 ~ 512	128	86 (84.3)	0.0625 ~ 256	16	12 (42.9)	2.000 ~ 512	256	74 (100.0)
阿奇霉素	0.0625 ~ 256	32	62 (60.8)	0.0625 ~ 256	16	6 (21.4)	0.500 ~ 256	64	56 (75.7)

注: MIC_R 为最低抑菌浓度范围, MIC₅₀ 为半数抑菌范围, 两者的单位均为 mg/L, R 表示耐药。

表 2 ESBLs 阳性株与 ESBLs 阴性株对抗菌药物耐药情况

抗菌药物	ESBLs 阳性组 (n=56)			ESBLs 阴性组 (n=46)			P 值
	MIC _R	MIC ₅₀	R [株 (%)]	MIC _R	MIC ₅₀	R [株 (%)]	
头孢他啶	1.0000 ~ 512	128	51 (91.1)	1.000 ~ 512	64	31 (67.4)	<0.05
阿米卡星	0.5000 ~ 512	32	14 (25.0)	0.500 ~ 512	16	6 (13.0)	>0.05
环丙沙星	0.0625 ~ 128	4	22 (39.3)	0.125 ~ 128	2	9 (19.6)	<0.05
复方新诺明	0.0625 ~ 512	128	54 (96.4)	2.000 ~ 512	64	32 (69.6)	<0.05
阿奇霉素	0.0625 ~ 256	64	38 (67.9)	0.500 ~ 56	16	24 (52.2)	>0.05

表 3 102 株 PA 产 ESBLs 情况和对抗菌药物耐药在不同严重程度分级患者中的分布 株 (%)

病情级别	PA 阳性 (n=102)	产 ESBLs (n=56)	多重耐药 (n=74)	产 ESBLs + 多重耐药 (n=48)
0 级	0	0	0	0
I 级	6 (5.9)	1 (1.8)	1 (1.4)	1 (2.1)
II 级	10 (9.8)	5 (8.9)	5 (6.8)	5 (10.4)
III 级	62 (60.8)	33 (58.9)	49 (66.2)	29 (60.4)
IV 级	24 (23.5)	17 (30.4)	19 (25.7)	13 (27.1)

表 4 102 株 PA 产 ESBLs 情况和对抗菌药物耐药情况在不同年龄段患者中的分布 株 (%)

年龄 (岁)	PA 阳性 (n=102)	产 ESBLs (n=56)	多重耐药 (n=74)	产 ESBLs + 多重耐药 (n=48)
1 ~ 14	0	0	0	0
15 ~ 39	3 (2.9)	3 (5.4)	3 (4.1)	3 (6.2)
40 ~ 59	31 (30.4)	16 (28.6)	22 (29.7)	9 (18.8)
≥60	68 (66.7)	37 (66.1)	49 (66.2)	36 (75.0)

66.1%、66.2% 和 75.0%。见表 4。

3 讨论

Tam 等^[6]研究认为,铜绿假单胞菌耐药率的上升趋势使得经验治疗的恰当选择日益困难。本研究结果显示,在 COPD 患者呼吸道分泌物中分离的 102 株非重复 PA 对几种抗菌药物 MIC_R 的跨度都非常大,说明 PA 的耐药程度差异大,提示临床工作者应根据药敏结果使用抗菌药物。其他地区也有相似的报道^[7]。除了阿米卡星的 MIC₅₀ 在第 1、2 组属于敏感范围外,其他抗菌药物的 MIC₅₀ 均在中等及以上,提示感染 COPD 患者的 PA 耐药性已经非常严重。阿米卡星的耐药率最低 (19.6%), 这和徐平等^[8]报道的耐药率 (25%) 相近, 但比 Ye 等^[7]报道的 0% 高, 比温庆辉等^[9]报道的 55% 低。除了环丙沙星外, PA 对其他类抗菌药物的耐药率均超过 50%, 其中以对

复方新诺明的耐药形势最为严峻 (耐药率高达 84.3%), 但比东莞等地报道的耐药率 (100%) 低^[8-9]。上述现象可能与各家医院使用抗菌药物的种类、习惯等不同而造成细菌耐药性有地区差异有关。值得注意的是,第 2 组 PA 对头孢他啶和复方新诺明的耐药率均到 100%, 同时, PA 多重耐药在 102 株中构成比高达 72.5%, 故治疗 PA 感染的 COPD 患者时, 这两类抗生素的使用需谨慎。总之,本地区 PA 的耐药形势严峻, 当需要经验用药时, 应采用氨基糖苷类和喹诺酮类抗菌药物为主, 这和 COPD 诊治指南 (2013 年修订版) 中的推荐方案一致^[10]。但在多重耐药的 PA 感染, 细菌的清除很难实现, 尤其是在 COPD 患者^[11]。

ESBLs 能水解青霉素类、广谱及超广谱头孢菌素类和单环 β-内酰胺类抗生素, 是 PA 对 β-内酰胺类抗生素产生耐药的常见原因^[12]。MIC₅₀ 在 ESBLs 阳性组均高于 ESBLs 阴性组的现实提示产 ESBLs 与 PA 的耐药性关系密切。本地区 ESBLs 的检出率为 54.9%, 比在 COPD 下呼吸道感染患者肺炎克雷伯菌中的 ESBLs 检出率 (40.9%) 高^[13]。表 2 显示, PA 对头孢他啶的耐药率在 ESBLs 阳性组明显高于阴性组, 提示 PA 对头孢他啶的耐药性与其产 ESBLs 关系密切。值得一提的是, PA 对环丙沙星 (氟喹诺酮类抗菌药物) 和复方新诺明 (磺胺类抗菌药物) 的耐药率在 ESBLs 阳性组也明显高于阴性组, 这可能与产 ESBLs 菌株常携带其他类抗菌药物的耐药基因有关^[14]。本研究多重耐药菌占总菌株数的 72.5% (74/102), 在 ESBLs 阳性株中多重耐药菌占 85.7% (48/56), 也提示 PA 除了携带 ESBLs 基因, 还可能携带其他耐药基因。

胡灼君^[15]研究 COPD 患者合并呼吸机相关性肺

炎病原菌和耐药性分布,发现发生呼吸机相关性肺炎后,病原菌对大多数常用抗生素的耐药率明显增加。张译心等^[16]研究显示,铜绿假单胞菌院内感染以呼吸道感染为主,且对多种抗菌药物耐药。本研究结果显示 COPD 感染者病原菌的耐药性和产 ESBLs 情况与 COPD 病情严重程度相关:如表 3 所示,Ⅲ、Ⅳ级患者感染 PA 常见,检出产 ESBLs 株、多重耐药株、同时产 ESBLs 和多重耐药的 PA 也以Ⅲ、Ⅳ级患者为主,分析原因,可能与Ⅲ、Ⅳ级患者住院时间长、病情重、侵入操作(如呼吸机等)多等因素有关。

以不同年龄段分析,感染 PA 以≥60 岁的老年患者构成比最高,达 66.7%;在产 ESBLs 株、多重耐药株、同时产 ESBLs 和多重耐药的 PA 中,亦为老年患者构成比最高,分别为 66.1%、66.2% 和 75.0%。值得注意的是,15~39 岁的青年患者中,PA 检出 3 株,3 株均产 ESBLs 并多重耐药,不过,由于标本量太小,需要进一步观察和研究。

综上所述,无论从病原菌药物敏感性的结果、产 ESBLs 情况,还是病情严重程度分级、各个年龄段情况,分析得出的结果都不容乐观,PA 的耐药形势严峻。临床工作者应根据患者的病情,结合分离菌的药物敏感试验结果合理用药。

参考文献

- [1] Desai H, Eschberger K, Wrona C, et al. Bacterial colonization increases daily symptoms in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2014, 11(3): 303-309.
- [2] Bassetti M. Strategies for management of difficult to treat Gram-negative infections; focus on *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Infez Med*, 2007, 15 Suppl 2: 20-26.
- [3] 李耘, 吕媛, 薛峰, 等. 卫生部全国细菌耐药监测网(Mohnarim) 2011-2012 年革兰阴性菌耐药监测报告[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(3): 260-277.
- [4] Dantas RC, Ferreira ML, Gontijo-Filho PP, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia; independent risk factors for mortality and impact of

resistance on outcome[J]. *J Med Microbiol*, 2014 Sep 26. [Epub ahead of print].

- [5] Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; fifteen information supplement[M]. 9th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS), 2013: 44-49.
- [6] Tam VH, Rogers CA, Chang KT, et al. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(9): 717-722.
- [7] Ye F, He LX, Cai BQ, et al. Spectrum and antimicrobial resistance of common pathogenic bacteria isolated from patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in mainland of China [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(12): 2207-2214.
- [8] 徐平, 宋卫东, 刘媛媛, 等. 慢性阻塞性肺疾病急性细菌性加重患者病原菌分析[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2010, 10(2): 108-111.
- [9] 温庆辉, 高元妹, 黎凤英, 等. 下呼吸道分泌物细菌培养在慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床价值[J]. *重庆医学*, 2014, 43(1): 118-120.
- [10] 慢性阻塞性肺疾病急性加重抗菌治疗论坛专家组. “慢性阻塞性肺疾病诊治指南”中急性加重抗菌治疗的地位[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36(9): 712-714.
- [11] Montero M, Horcajada JP, Sorlí L, et al. Effectiveness and safety of colistin for the treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections[J]. *Infection*, 2009, 37(5): 461-465.
- [12] 贺毅, 陆坚. 治疗产 ESBLs 细菌感染的研究进展[J]. *国外医药抗生素分册*, 2012, 33(4): 145-150, 192.
- [13] 汪群飞, 罗利飞. 慢性阻塞性肺疾病患者下呼吸道肺炎克雷伯菌感染的耐药性分析[J]. *海峡药学*, 2012, 24(4): 102-104.
- [14] Miró E, Segura C, Navarro F, et al. Spread of plasmids containing the bla_{VM-1} and bla_{CTX-M} genes and the qnr determinant in *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* isolates[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(4): 661-665.
- [15] 胡灼君. 慢性阻塞性肺疾病合并呼吸机相关性肺炎的病原菌分布及其耐药性分析[J]. *中华老年医学杂志*, 2009, 28(6): 487-488.
- [16] 张译心, 王艳, 宋杰. 153 株铜绿假单胞菌感染分布及耐药性分析[J]. *中华全科医学*, 2013, 11(7): 1113-1114.

收稿日期: 2014-11-11 编辑: 石嘉莹