

· 烧伤感染 ·

烧伤创面不动杆菌的分离及耐药性分析

魏莲花 张俭 邓津菊 邹凤梅 刘刚 司小强

【摘要】 目的 了解烧伤患者创面不动杆菌的分布及耐药特征。方法 用常规方法分离鉴定 1999 ~ 2003 年笔者单位住院烧伤患者创面中的不动杆菌细菌株,根据美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)标准,测定细菌耐药谱及耐药酶。结果 从烧伤创面分离出不动杆菌 69 株,其中鲍曼不动杆菌 52 株,占 75.36%;不动杆菌对 17 种抗菌药物有较高的耐药率,其中产酶菌株的耐药率较高,平均为 68.25%;不产酶菌株耐药率较低,为 20.33%。38 株产酶菌株中产 AmpC β 内酰胺酶(AmpC BLA)菌株占 42.10%。不动杆菌呈多重耐药,耐药的主要原因是产生各种 β 内酰胺酶。结论 不动杆菌是引起烧伤患者创面感染的主要致病菌之一,加强不动杆菌的分离鉴定并准确测定其耐药性,是临床合理应用抗生素的重要依据。

【关键词】 烧伤; 感染; 不动杆菌属; 抗药性

The isolation of acinetobacter strain from burn wound and the analysis of its antibiotic resistance WEI Lian-hua, ZHANG Jian, DENG Jin-jv, ZOU Feng-mei, LIU Gang, SI Xiao-qiang. Clinical Lab Center, People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the distribution and drug resistance of acinetobacter isolated from burn wounds. Methods The acinetobacter strains were isolated and identified by routine methods. Based on the recommendation of NCCLS, AmpC enzyme was determined by cefoxiti three-dimensional test, ESBLs by disk diffusion method and bacterial susceptibility by Kirby-Bauer agar diffusion method. Results Among the 69 strains of acinetobacter clinically isolated from burn wounds, 52 were baumannii (75.6%). The acinetobacter strains were identified to be highly resistant to 17 kinds of antibiotics. The drug resistance rate of β -lactamase-producing strains (68.25%) was higher than that of non- β -lactamase-producing strains (20.33%). The strains isolated in our burn ward exhibited multiple drug resistance which was mainly due to the production of many kinds of β -lactamases. Among the 38 strains of β -lactamase-producing acinetobacter, those producing AmpC β -lactamase (AmpC BLA) accounted for 42.1%. Conclusion Acinetobacter strain was one of the pathogens in burn wound infection, and its isolation and identification of its drug resistance could be beneficial to the doctors to make right choice of antibiotics.

【Key words】 Burn; Infection; Acinetobacter strain; Drug resistance

不动杆菌为条件致病菌,广泛存在于自然界、医院环境及人体皮肤中。该菌可引起菌血症、脑膜炎、泌尿系统感染,在重症监护病房(ICU)中可引起医院获得性肺炎^[1,2],同时也是烧伤患者创面感染的重要致病菌,目前已成为严重的医院感染病原菌。由于该菌对多种抗生素耐药,因此由其引起的感染给临床治疗带来了很大的困难。本研究通过对烧伤患者创面的不动杆菌进行分离及监测其耐药性,试图了解不动杆菌在烧伤创面的分布及耐药特点,从而为有效预防和治疗不动杆菌引起的感染提供理论依据。

资料与方法

1. 主要试剂及器材:血琼脂、麦康凯琼脂均为广州乐通公司产品。O-F 糖管系列(葡萄糖、乳糖、麦

芽糖、甘露糖、蔗糖等)、炭末明胶微量管均由兰州荣昌生化试剂厂提供。17 种抗生素纸片及 MH 培养基均为英国 Oxoid 公司产品。抗生素分别为氨苄西林(AMP)、氨苄西林/舒巴坦(AMP/SUB)、哌拉西林(PA)、头孢唑林(CV)、头孢西丁(FOX)、头孢哌酮(CFP)、头孢曲松(CRO)、头孢噻肟(CTX)、头孢吡肟(FEP)、头孢他啶(CAZ)、亚胺培南/西司他丁钠盐(IPM)、氨曲南(ATM)、环丙沙星(CIP)、庆大霉素(CN)、阿米卡星(AK)、复方磺胺甲基异恶唑(SMZ)、多粘菌素 B、利福平(RD)。

2. 菌株来源:69 株不动杆菌均分离自笔者单位 1999 年 1 月 ~ 2003 年 5 月烧伤科住院患者的创面。

3. 质控菌株:药物敏感试验标准菌株为铜绿假单胞菌 ATCC27853、大肠埃希菌 ATCC25922、粪肠球菌 ATCC33186、金黄色葡萄球菌 ATCC25923,均购自中国药品生物检定所。肺炎克雷伯菌 ATCC70063[超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs)阳性质控菌]及阴沟肠杆菌 O29M(AmpC 酶阳性质控菌)由

基金项目:甘肃省自然科学基金资助项目(ZS011-A25-065-Y)

作者单位:730000 兰州,甘肃省人民医院临床检验中心(魏莲花、张俭、邹凤梅、刘刚),烧伤科(邓津菊、司小强)

广州乐通泰公司惠赠。

4. 微生物鉴定仪: Microscan Auto-4 型, 美国 Dade 公司。

5. 菌株分离及鉴定: 从患者创面深部采取标本, 接种于血琼脂平板、麦康凯琼脂平板, 35℃ 孵育 24 h, 分纯菌落, 根据革兰染色、生化反应等进行鉴定。必要时用微生物鉴定仪进行补充鉴定。

6. 药敏试验: 根据美国国家临床实验室标准委员会 (NCCLS, 2001 版) 标准^[3], 采用纸片扩散法 (K-B 法) 进行试验及结果判定。

7. 耐药酶测定方法: (1) ESBLs 法: 采用 NCCLS (2001 年版) 推荐的方法。筛选试验: CAZ ≤ 22 mm, CTX ≤ 27 mm, ATM ≤ 27 mm; 确证试验: CAZ/C-CAZ ≥ 5 mm; CTX/C-CTX ≥ 5 mm, 为 ESBLs 阳性。(2) AmpC β 内酰胺酶 (AmpC BLA) 测定: 根据文献[4, 5] 采用三维法。筛选试验: FOX ≤ 18 mm; 确证试验: 在 MH 平板上均匀涂抹大肠埃希菌, 贴上 FOX 纸片, 距纸片 3 mm 处离心方向 (或切线方向) 用刀片切割一缝隙, 用注射器在缝隙中注入经冻融 5 次提取的待测细菌的酶粗提物 30 μl, 35℃ 孵育 24 h, 观察结果, 若抑菌环内裂隙旁有细菌生长 (切线时, 抑菌环一端呈平切) 则提示 AmpC BLA 阳性。(3) 金属酶测定: 根据参考文献[6-8] 方法测定。以 EDTA-K2 作为抑制剂。EDTA-K2 与 CAZ、CTX、IPM 3 种纸片中任一纸片间出现抑菌环扩大现象, 则表

示协同试验结果阳性 (EDTA-K2 抑菌环直径 ≥ 14 mm 也可视为阳性), 否则为阴性。

8. 统计学处理: 计数资料应用 χ^2 检验。

结 果

1. 分离菌株类型: 从 386 份标本中分离出不动杆菌 69 株, 分离率为 17.8%。其中鲍曼不动杆菌 52 株 (75.36%), 醋酸钙不动杆菌 8 株 (11.59%), 溶血不动杆菌 4 株 (5.79%), 洛菲不动杆菌 5 株 (7.24%)。

2. 耐药谱测定: 69 株不动杆菌对 17 种抗生素的耐药谱见表 1, 产酶菌株耐药率明显高于不产酶菌株, 两组比较差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。其中产 ESBLs 菌株占 31.58%; 产 AmpC BLA 菌株占 42.10%; 产金属酶菌株占 18.42%; 同时产 ESBLs + AmpC BLA 占 7.8%。

讨 论

笔者从烧伤患者创面分离出不动杆菌 69 株, 以鲍曼不动杆菌居多, 占 75.36%; 溶血不动杆菌、洛菲不动杆菌、醋酸钙不动杆菌共占 24.63%。说明引起烧伤患者创面感染的不动杆菌主要是鲍曼不动杆菌。近年来不动杆菌在临床各科的分离率逐年上升, 且呈多重耐药。在临床常用的 17 种抗生素的药物敏感试验中, 从烧伤患者创面分离的不动杆菌除 IPM、FEP 的耐药率较低外, 其余抗生素都有不同程

表 1 69 株产酶及不产酶不动杆菌的耐药率比较 (%)

Tab 1 Antibiotic resistant rate of 69 Acinetobacter strains with β-lactamses and non β-lactamses (%)

抗生素	产酶菌株				不产酶菌株
	产 ESBLs	产 AmpC BLA	产金属酶	产 ESBLs + AmpC BLA	
氨苄西林	100.00	100.00	100.00	100.00	48.78
氨苄西林/舒巴坦	4.50	87.50	100.00	100.00	6.45
哌拉西林	100.00	100.00	100.00	100.00	9.68
头孢唑林	100.00	100.00	100.00	100.00	35.48
头孢西丁	100.00	100.00	100.00	100.00	38.71
头孢哌酮	100.00	100.00	100.00	100.00	32.26
头孢曲松	100.00	100.00	100.00	100.00	32.26
头孢噻肟	100.00	100.00	100.00	100.00	38.71
头孢他啶	100.00	100.00	100.00	100.00	38.71
头孢吡肟	90.90	0.00	100.00	100.00	9.68
亚胺培南/西司他丁钠盐	0.00	0.00	100.00	100.00	0.00
环丙沙星	18.18	25.00	100.00	100.00	19.35
庆大霉素	27.27	18.75	42.86	66.67	22.58
阿米卡星	27.27	18.75	42.86	66.67	25.81
复方磺胺甲氧异恶唑	54.55	68.75	0.00	33.30	19.35
多粘菌素 B	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
利福平	4.54	0.00	42.86	0.00	6.45
平均值	54.54	59.92	78.15	80.39	20.33

注: 产超广谱 β 内酰胺酶 (ESBLs) 12 株, 产 AmpC β 内酰胺酶 (BLA) 16 株, 产金属酶 7 株, 产 ESBLs + AmpC BLA 3 株, 不产酶菌株 31 株; 产酶菌株与不产酶菌株比较, $P < 0.01$

度耐药,尤其是 β 内酰胺类抗生素如 CTX、CRO、CAZ 等均表现为高度耐药。细菌一旦产 ESBLs, 临床用药即不能选择前 4 代头孢菌素治疗,只能选择含 ESBLs 抑制剂,如含克拉维酸、舒巴坦、他唑巴坦的复合药物和 IPM 等。产 AmpC BLA, 临床用药不能选择 1、2、3 代头孢菌素和酶抑制剂治疗,第 4 代头孢菌素和 IPM 为有效治疗药物。金属酶是一类对 β 内酰胺类抗生素具有广泛水解作用的酶,产此酶的细菌对 β 内酰胺类所有的抗生素,包括青霉素类、头孢菌素类(1、2、3 代)、碳青霉烯类耐药,给临床治疗带来很大的困难。

不动杆菌可广泛存在于烧伤病区环境中,如水池、地面、床头柜、床上用品、电话筒、门把手、桌面等,存留时间可达 2~3 周,不易死亡。这些菌很可能会通过医护人员的手造成交叉传播。这是临床上值得注意的问题。

抗生素的大量使用甚至滥用,导致产生了多重耐药的不动杆菌。3 代头孢菌素及加酶抑制剂复合药物的广泛引用是引起产 AmpC BLA 菌株大量产生的原因之一。由于不动杆菌已成为目前医院感染的重要条件致病菌,且临床治疗方面选择抗生素又十分有限,因此,控制多重耐药菌在医院的流行是当务之急。作为医护人员应按照规定严格消毒及无菌操作,尤其注重手的消毒。同时,对不动杆菌引起的感染,应根据药物敏感试验结果正确选用抗生素,注重不动杆

菌的分离,加强对细菌耐药的监控工作,尤其应重视多重耐药不动杆菌各种耐药性的检测。准确分离、鉴定菌株,测定其耐药谱及耐药性,可为临床合理应用抗生素提供理论依据。

参 考 文 献

- 1 郑惠玲,陈碧珠. 鲍曼不动杆菌引起骨科医院感染报告. 中华医院感染学杂志,2003,13:86.
- 2 唐银,聂新民. 重症监护室内鲍曼不动杆菌随机扩增 DNA 多态性分型研究. 中华医院感染学杂志,2001,11:314-315.
- 3 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-S9. Pennsylvania:NCCLS,2001.72-75.
- 4 Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among Escheria coli, klebsilla pneumoniae, and proteus mirabilis isolates at a veterans medical center. J Clin Microbiol,2000,38:1791-1796.
- 5 周志惠,李兰娟,俞云松. 等. 两种检测阴沟肠杆菌 AmpC 酶方法的比较. 中华检验医学杂志,2002,25:88-90.
- 6 Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene(blaIMP) in gram-negative rods to broad-spectrum-beta-lactams. J Clin Microbiol, 1996,34:2909-2913.
- 7 Arskawa Y, Shibata N, Shibayama K, et al. Convenient test for screening metallo-beta-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. J Clin Microbiol,2000,38:40-43.
- 8 吕火祥,孙明洪,刘建栋,等. 协同法检测金属 β -内酰胺酶的研究. 中华检验医学杂志,2002,25:232-235.
- 9 杨立军,张晶,娄永新. 金属 β -内酰胺类酶与绿脓假单胞菌亚胺培南耐药. 中华检验医学杂志,1999,22:127-128.

(收稿日期:2003-06-26)

(本文编辑:张 红)

中华烧伤杂志第一届编辑委员会名单

名誉总编辑	盛志勇								
顾问	史济湘	方之扬	常致德						
总编辑	肖光夏								
副总编辑	(以下按姓氏笔画顺序) 邓诗琳 孙永华 许伟石 陈 璧								
常务委员	邓诗琳	孙永华	许伟石	汪仕良	肖光夏	杨宗城	陈 璧	周一平	
	郭振荣	葛绳德							
委 员	方之扬	王玉莲	王其芳	王希珍	王誉先	邓诗琳	邓津菊	方培耀	
	孙永华	史济湘	李 迟	许伟石	刘久春	刘友生	刘锡麟	吕建中	
	朱兆明	李国辉	谷才之	吴 军	汪仕良	岑 瑛	陈玉林	张明良	
	肖光夏	陆树良	杨宗城	陈 璧	周一平	林礼根	姚咏明	郭振荣	
	徐明达	贾赤宇	柴家科	高维谊	夏照帆	梁秉中	黄逢元	黄晓元	
	盛志勇	黄跃生	曹丽萍	常致德	谢卫国	韩春茂	葛绳德	彭毅志	
	解伟光	蔡宝仁	廖镇江						