

DOI:10.13350/j.cjpb.240217

• 临床研究 •

2 437 株临床病原菌分布及其耐药性分析

王艳¹, 曹洪兵², 丁妍^{3*}

(1. 中国人民解放军东部战区总医院镇江医疗区药械科, 江苏镇江 212000; 2. 中国人民解放军东部战区总医院镇江医疗区呼吸内科; 3. 中国人民解放军东部战区总医院镇江医疗区医技保障科)

【摘要】 目的 分析 2 437 株自临床培养样本分离的病原菌分布特征及其对常见抗菌药物的敏感性, 为制定抗微生物药物耐药性防范措施提供参考依据。方法 以 2020-2022 年采集的 8 008 份痰液、尿液、血液、分泌物、粪便等临床培养样本为研究对象, 采用 VITEK 2 COMPACT 全自动微生物鉴定及药敏分析仪鉴定病原菌种类, 采用 Mueller-Hinton 琼脂平板和 Kirby-Bauer 纸片扩散法测定主要革兰阴性菌和主要革兰阳性菌对 16 种常见抗菌药物的敏感性。结果 从 8 008 份各种培养样本中累计检出 2 437 株病原菌, 检出率为 30.43%; 分离的病原菌以细菌(2 200 株, 占 90.27%) 为主, 其他 237 株均为真菌(占 9.73%), 肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌为鉴定出的 3 种最常见病原菌。金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、尿肠球菌、粪肠球菌等 4 种主要革兰阳性菌对利奈唑胺、替加环素均未产生耐药性, 仅有尿肠球菌对万古霉素产生极低耐药性(0.8%), 仅有粪肠球菌对奎奴普汀/达福普汀产生较高耐药性(84.3%), 但金黄色葡萄球菌(95.2%)、凝固酶阴性葡萄球菌(94.2%)、尿肠球菌对青霉素耐药性(93.5%) 均较高; 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌等 4 种主要革兰阴性菌对 16 种常见抗菌药物均产生耐药性, 其中肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌对氨苄西林 100% 耐药, 肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对头孢唑林 100% 耐药, 铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌对氨苄西林/舒巴坦 100% 耐药, 铜绿假单胞菌对复方新诺明、头孢曲松 100% 耐药, 鲍曼不动杆菌对氨曲南 100% 耐药。结论 肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌为最常见的临床分离病原菌; 主要革兰阴性菌对氨苄西林、头孢唑林耐药性普遍较高, 主要革兰阳性菌对利奈唑胺、万古霉素、替加环素均敏感。

【关键词】 病原菌; 抗微生物药物耐药性; 临床分离株; 敏感性测定

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2024)02-0209-04

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Feb;19(2):209-212.]

Distribution of 2 437 clinical microbial isolates and their resistance to antimicrobial agents

WANG Yan¹, CAO Hongbing², DING Yan³ (1. Department of Medical Devices, Zhenjiang Medical Branch, Eastern Theater General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Zhenjiang 212000, Jiangsu, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Zhenjiang Medical Branch, Eastern Theater General Hospital of the Chinese People's Liberation Army; 3. Department of Medical Technology Support, Zhenjiang Medical Branch, Eastern Theater General Hospital of the Chinese People's Liberation Army)*

【Abstract】 **Objective** To investigate the distribution of 2 437 clinical microbial isolates and to test their susceptibility to common antimicrobial agents, so as to provide insights into formulation of preventive interventions against antimicrobial resistance. **Methods** A total of 8 008 sputum, urine, blood, secretion and stool culture specimens were sampled from 2020 to 2022. The species of pathogens were identified with a VITEK 2 COMPACT automated microbiology identification and antimicrobial susceptibility test system, and the susceptibility of major Gram-negative and Gram-positive bacterial isolates to 16 common antimicrobial agents was tested using the Mueller-Hinton agar plate and Kirby-Bauer disk diffusion method. **Results** A total of 2 437 pathogen isolates were identified in 8 008 clinical culture specimens, with a detection rate of 30.43%, and the pathogen isolates included 2 200 bacterial isolates (90.27%) and 237 fungal isolates (9.73%), with *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as the three most common isolates. The four major Gram-positive bacterial isolates, including *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* were totally susceptible to linezolid and tigecycline, and only *E. faecium* showed a low level of resistance to vancomycin (0.8%), while only *E. faecalis* showed a high level of resistance to quinupristin-dalfopristin (84.3%); however, *S. aureus* (95.2%), coagulase-negative staphylococci (94.2%) and *E. faecium* (93.5%) showed a high level of resistance to penicillin. Four major Gram-negative bacterial isolates, including *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* showed resistance to all 16 common antimicrobial agents, including

* **【通讯作者】** 丁妍, E-mail: sunnyhanhan0804@163.com

【作者简介】 王艳(1982-), 女, 江苏镇江人, 本科, 主管药师, 主要从事药品临床合理使用、药事管理研究。E-mail: 916832213@qq.com

100% ampicillin resistance in *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, 100% cefazolin resistance in *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*, 100% ampicillin/sulbactam resistance in *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, 100% resistance to compound sulfamethoxazole and ceftriaxone in *P. aeruginosa* and 100% aztreonam resistance in *A. baumannii*. **Conclusion** *K. pneumoniae*, *E. coli* and *S. aureus* as the three most common clinical bacterial isolates. Major Gram-negative bacterial isolates are highly resistant to ampicillin and cefazolin, and major Gram-positive bacterial isolates are susceptible to linzolid, vancomycin and tigecycline.

【Key words】 pathogen; antimicrobial resistance; clinical isolate; antimicrobial susceptibility test

由于在人体、动物及植物中误用和滥用抗微生物药物,耐药病原菌不断出现和蔓延,目前,抗微生物药物耐药性已成为全球公共卫生和发展的最大威胁之一^[1]。全球抗生素耐药水平上升对利用常见抗生素治疗细菌感染造成了巨大挑战^[2],多药耐药耳念珠菌已在全球广泛蔓延^[3],疟疾、结核和 HIV/AIDS 患者屡见耐药病例^[4],而抗微生物药物耐药性已成为世界卫生组织实现《结束忽视,实现可持续发展目标:2021-2030 年被忽视的热带病路线图》目标的关键挑战之一^[5]。

2019 年,全球 204 个国家和地区累计有 127 万 (95% 不确定性区间:91.1 万~171 万)人直接死于抗细菌药物耐药性,495 万 (95% 不确定性区间,362 万~657 万)人死亡与抗细菌药物耐药性相关^[6]。2019,我国有超过 60 万人死亡与抗细菌药物耐药性相关,其中 14.5 万人直接死于抗细菌药物耐药性^[7]。耐药菌株的出现和扩散不仅威胁治疗常见细菌感染的能力,更会对肿瘤化疗、器官移植、髋关节置换及其他手术等救命措施造成巨大挑战^[1]。世界卫生组织号召采用全健康 (One Health) 理念来应对全球不断蔓延的抗细菌药物耐药性挑战^[8]。精准掌握病原菌对抗菌药物的敏感性是处理抗菌药物耐药性的前提和基础^[9]。本研究采集 2020-2022 年培养的 2 437 株病原菌,并测定其对常见抗菌药物的敏感性,从而为制定抗微生物药物耐药性防范措施提供参考依据。

材料与方 法

1 材 料

以 2020-2022 年检验科接收的痰液、尿液、血液、分泌物、粪便、穿刺液、脓液、腹水、胸水、渗出液等培养样本为研究材料,按照《全国临床检验操作规程 (第 4 版)》中方法进行菌株培养^[10]。

2 菌株鉴定

痰液、尿液、血液、分泌物、粪便、穿刺液、脓液、腹水、胸水、渗出液等培养样本置 37 °C 培养 24 h 后,采用 VITEK 2 COMPACT 全自动微生物鉴定及药敏分析仪鉴定各种培养样本中的病原菌种类,排除同一患者研究期间同类型标本中分离出的相同病原菌^[11-12]。

3 耐药性测定

采用 Mueller-Hinton 琼脂平板和 Kirby-Bauer 纸片扩散法^[13]测定分离的主要革兰阳性菌和革兰阴性菌对庆大霉素、左旋氧氟沙星、复方新诺明、呋喃妥因、万古霉素、环丙沙星等常见抗菌药物的耐药性,以最高血药浓度 < 最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 视为耐药^[14]。

4 数据分析

全部数据录入 SAS 8.0 数据库,按照《全国细菌耐药监测网数据分析标准操作规程 (试行)》进行数据分析。耐药性采用率 (%) 描述。

结 果

1 病原菌分布

2020-2022 年累计接收 8 008 份培养样本,以痰液 (2 667 份,占 33.30%) 和尿液培养样本 (2 319 份,占 28.96%) 为主,血液 (994 份)、分泌物 (982 份) 和其他培养样本 (1 046 份) 中检出的病原菌分别占 12.41%、12.26% 和 13.06%。从 8 008 份各种培养样本中累计检出 2 437 株病原菌,检出率为 30.43%; 以在痰液和尿液培养样本中检出的病原菌为主,分别占培养的病原菌总数的 39.43% (961 株) 和 19.53% (476 株),分泌物、血液和其他培养样本中分离的病原菌分布占培养的病原菌总数的 7.26% (177 株)、4.02% (98 株) 和 29.75% (725 株)。分离的病原菌以细菌 (2 200 株,占 90.27%) 为主,其他 237 株均为真菌 (占 9.73%); 分离的前 10 位病原菌分别为肺炎克雷伯菌 (372 株)、大肠埃希菌 (342 株)、金黄色葡萄球菌 (308 株)、铜绿假单胞菌 (223 株)、鲍曼不动杆菌 (214 株)、白色假丝酵母菌 (198 株)、屎肠球菌 (60 株)、奇异变形杆菌 (54 株)、嗜麦芽窄食单胞菌 (50 株)、表皮葡萄球菌 (39 株),真菌以白色假丝酵母菌 (198 株,占 8.12%)、克柔念珠菌 (14 株,占 0.57%)、光滑念珠菌 (14 株,占 0.57%) 为主。

2 主要革兰阳性菌对常见抗菌药物的耐药性

金黄色葡萄球菌对青霉素耐药率最高 (95.2%), 对利奈唑胺、万古霉素、奎奴普汀/达福普汀、替加环素耐药率均为 0; 凝固酶阴性葡萄球菌对青霉素耐药率最高 (94.2%), 对利奈唑胺、呋喃妥因、万古霉素、奎奴普汀/达福普汀、替加环素耐药率均为 0; 屎肠球菌对

左旋氧氟沙星、莫西沙星、青霉素、环丙沙星耐药率均>90%，对利奈唑胺、奎奴普丁/达福普汀、替加环素耐药率均为0；粪肠球菌对克林霉素、四环素耐药率均>90%，对利奈唑胺、呋喃妥因、万古霉素、替加环素耐药率均为0(表1)。

表1 主要革兰阳性菌对常见抗菌药物的耐药率(%)
Table 1 Resistance of major Gram-positive bacteria to common antibacterial agents

抗菌药物	金黄色葡萄球菌	凝固酶阴性葡萄球菌	屎肠球菌	粪肠球菌
庆大霉素	19.7	20.3	72.3	56.2
左旋氧氟沙星	29.8	51.3	90.6	22.6
克林霉素	34.2	24.3	81.4	94.2
红霉素	55.3	74.2	79.2	67.6
利奈唑胺	0.0	0.0	0.0	0.0
莫西沙星	29.6	25.2	90.6	16.2
呋喃妥因	0.2	0.0	33.6	0.0
苯唑西林	46.2	79.3		
青霉素	95.2	94.2	93.5	6.1
利福平	1.8	12.0		
四环素	34.3	22.1	30.6	93.2
复方新诺明	6.2	45.5		
万古霉素	0.0	0.0	0.8	0.0
环丙沙星	29.9	46.2	90.8	22.5
奎奴普丁/达福普汀	0.0	0.0	0.0	84.3
替加环素	0.0	0.0	0.0	0.0

3 主要革兰阴性菌对常见抗菌药物的耐药性

大肠埃希菌对头孢唑啉耐药率最高(95.3%)，对亚胺培南(1.2%)、呋喃妥因(2.1%)、阿米卡星(2.2%)、哌拉西林/他唑巴坦耐药率(3.6%)较低；肺炎克雷伯菌对氨苄西林、头孢唑啉完全耐药；铜绿假单胞菌对氨苄西林、头孢唑啉、氨苄西林/舒巴坦、复方新诺明、头孢曲松完全耐药，对妥布霉素(4.2%)、阿米卡星(5.8%)、庆大霉素耐药率(6.2%)较低；鲍曼不动杆菌对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、氨基曲南完全耐药(表2)。

讨论

对2019年全球204个国家和地区抗细菌药物耐药性疾病负担进行系统分析发现，大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、肺炎链球菌、鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌是造成抗细菌药物耐药性相关死亡的六大最常见病原菌^[6]。对2019年我国抗细菌药物耐药性疾病负担进行系统分析发现，金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌、大肠埃希菌、肺炎链球菌和大肠埃希菌是导致抗细菌药物耐药性相关死亡的五大最主要病原菌^[7]。2022年中国细菌耐药监测结果显示，临床分离病原菌主要分布于呼吸道和尿液标本，分离的病原菌以革兰阴性菌为主(占71%)，大肠埃希菌(18.69%)、肺炎克雷伯菌(13.99%)、金黄色葡萄球菌(9.47%)、

铜绿假单胞菌(8.03%)和鲍曼不动杆菌(7.50%)为分离的前5位病原菌^[15]，与本研究结果类似。

表2 主要革兰阴性菌对常见抗菌药物的耐药率(%)
Table 2 Resistance of major Gram-negative bacteria to common antibacterial agents

抗菌药物	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	铜绿假单胞菌	鲍曼不动杆菌
阿米卡星	2.2	17.9	5.8	22.1
氨苄西林	84.3	100.0	100.0	100.0
头孢唑啉	95.3	100.0	100.0	97.2
头孢吡肟	16.2	31.2	12.6	59.6
头孢他啶	15.6	24.2	23.2	60.2
庆大霉素	35.4	32.1	6.2	33.2
亚胺培南	1.2	22.1	25.2	52.3
左旋氧氟沙星	40.3	26.6	15.3	42.3
哌拉西林/他唑巴坦	3.6	28.2	13.2	55.2
氨苄西林/舒巴坦	55.2	45.2	100.0	100.0
呋喃妥因	2.1	52.3	95.6	45.3
复方新诺明	52.3	35.2	100.0	56.3
头孢曲松	46.2	32.6	100.0	66.2
环丙沙星	42.6	32.1	16.2	36.2
妥布霉素	10.1	21.1	4.2	56.5
氨基曲南	20.4	29.2	43.20	100.0

对2010-2020年河南省某三甲医院临床病原菌鉴定显示，166 776分离株以革兰阴性菌为主(占67.93%)，其他均为革兰阳性菌(占32.07%)，未发现真菌；其中大肠埃希菌(占18.26%)、肺炎克雷伯菌(占13.58%)、铜绿假单胞菌(占10.48%)、鲍曼不动杆菌(占10.29%)和金黄色葡萄球菌(占8.81%)为分离的前5位病原菌^[16]。对2017年九江市第一人民医院临床分离出的病原菌进行鉴定，发现分离的1 221株临床病原菌以革兰阴性菌为主(占73.30%)，其中大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌为分离的前4位病原菌^[17]。对2011-2023年广东省海丰县彭湃纪念医院临床分离的病原菌鉴定结果显示，10 107株临床分离菌主要分布于尿液、血液和分泌物培养标本，革兰阴性菌和革兰阳性菌分别占72.9%和27.1%，大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌为分离的前5位病原菌^[18]。对2019-2021年贵州省贵阳市某妇幼专科医院分离的临床病原菌分析显示，分离的病原菌主要分布于痰液培养标本(占49.17%)，革兰阳性菌、革兰阴性菌和真菌分别占48.19%、44.00%和7.81%^[19]。本研究自8008份痰液、尿液、血液、分泌物等各种培养样本中检出2 437株病原菌，且检出的病原菌主要分布于痰液标本(占39.43%)，与2022年中国细菌耐药监测结果^[15]及何琛等^[19]调查结果一致，但与邱义城^[18]研究结果不同，可能与研究对象、样本来源及鉴定方法不同等因素有关。检出的病原菌以革兰阴性菌为主，与刘克锋等^[16]、陈晓宇等^[17]、邱义

城^[18]调查结果一致,但与何琛等^[19]研究结果不同,可能与研究对象及样本来源不同等因素有关。本研究发现,分离的临床病原菌种类以肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌最常见,与既往结果一致^[15-19]。

测定分离的临床病原菌对抗菌药物的敏感性是制定治疗方案的前提和基础^[9],而 Kirby-Bauer 纸片扩散法是一种常用的临床微生物实验室药物敏感性测定方法^[13]。本研究采用 Kirby-Bauer 纸片扩散法测定了 4 种主要革兰阳性菌和 4 种主要革兰阴性菌对 16 种常见抗菌药物的耐药性。结果发现,金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、屎肠球菌、粪肠球菌等 4 种主要革兰阳性菌对利奈唑胺、替加环素均未产生耐药性,仅有屎肠球菌对万古霉素产生极低耐药性(0.8%),仅有粪肠球菌对奎奴普汀/达福普汀产生较高耐药性(84.3%),但金黄色葡萄球菌(95.2%)、凝固酶阴性葡萄球菌(94.2%)、屎肠球菌对青霉素耐药性(93.5%)均较高;而大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌等 4 种主要革兰阴性菌对 16 种常见抗菌药物均产生耐药性,其中肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌对氨苄西林 100% 耐药,肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对头孢唑林 100% 耐药,铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌对氨苄西林/舒巴坦 100% 耐药,铜绿假单胞菌对复方新诺明、头孢曲松 100% 耐药,鲍曼不动杆菌对氨曲南 100% 耐药。刘克锋等^[16]检测发现,金黄色葡萄球菌对青霉素平均耐药率达 96.10%,几乎未检测出耐万古霉素的金黄色葡萄球菌,对利奈唑胺耐药率 < 1.0%;陈晓宇等^[17]测定发现,铜绿假单胞对青霉素类抗菌药物均 100% 耐药,金黄色葡萄球菌对利奈唑胺、万古霉素菌 100% 敏感,屎肠球菌均对利奈唑胺 100% 敏感;何琛等^[19]调查发现,金黄色葡萄球菌对青霉素耐药率 > 90%。这些检测结果与本研究结果基本一致,提示金黄色葡萄球菌对青霉素普遍耐药,而对万古霉素、利奈唑胺普遍敏感;而鲍曼不动杆菌对常见抗菌药物耐药水平普遍较高。

本研究结果表明,肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌为最常见的临床分离病原菌;主要革兰阴性菌对氨苄西林、头孢唑啉耐药性普遍较高,主要革兰阴性菌对利奈唑胺、万古霉素、替加环素均敏感。本研究结果可望为制定细菌耐药性防控措施提供借鉴。

【参考文献】

- [1] Morrison L, Zembower TR. Antimicrobial resistance [J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2020, 30(4): 619-635.
- [2] Hofer U. Rise in global antibiotic use [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(2): 63.
- [3] Chakrabarti A, Singh S. Multidrug-resistant *Candida auris*: an epidemiological review [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2020, 18(6): 551-562.
- [4] Panda S, Swaminathan S, Hyder KA, et al. Drug resistance in malaria, tuberculosis, and HIV in South East Asia: biology, programme, and policy considerations [J]. *BMJ*, 2017, 358: j3545.
- [5] Balakrishnan VS. WHO's 2021-30 roadmap for neglected tropical diseases [J]. *Lancet Microbe*, 2021, 2(1): e11.
- [6] Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis [J]. *Lancet*, 2022, 399(10325): 629-655.
- [7] Zhang C, Fu X, Liu Y, et al. Burden of infectious diseases and bacterial antimicrobial resistance in China: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019 [J]. *Lancet Reg Health West Pac*, 2023, 43: 100972.
- [8] Aslam B, Khurshid M, Arshad MI, et al. Antibiotic resistance: One Health One World outlook [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 771510.
- [9] Mancuso G, Midiri A, Gerace E, et al. Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens [J]. *Pathogens*, 2021, 10(10): 1310.
- [10] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社: 171-172.
- [11] 缪琦, 杜华劲, 高学键, 等. 普外科患者复杂腹腔感染的病原菌分布及药敏分析 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16(9): 1064-1068.
- [12] 毛成晔, 范庭涛, 蔡兴旺, 等. 2018-2020 年呼吸科患者下呼吸道感染病原谱和耐药性分析 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(11): 1319-1323.
- [13] Biemer JJ. Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method [J]. *Ann Clin Lab Sci* (1971), 1973, 3(2): 135-140.
- [14] Sood A, Ray P, Angrup A. Antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: In routine and research [J]. *Anaerobe*, 2022, 75: 102559.
- [15] 中国细菌耐药监测网. CHINET 中国细菌耐药监测结果 (2022 年 1-12 月) [EB/OL]. [2023-02-18] (2023-12-17) <http://www.chinets.com/Document/Index?pageIndex=0#>.
- [16] 刘克锋, 孟海阳, 孟宪春, 等. 2010-2020 年河南省某三甲医院临床病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(14): 2084-2088.
- [17] 陈晓宇, 肖亮, 金桂林. 1221 株病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2018, 18(12): 1690-1693.
- [18] 邱义城. 2011 年-2023 年我院临床分离菌的分布特征和耐药性分析 [J]. *当代医药论丛*, 2023, 21(22): 69-72.
- [19] 何琛, 胡曦尹. 某妇幼专科医院 2019-2021 年病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中国卫生标准管理*, 2023, 14(9): 166-172.

【收稿日期】 2023-10-11 【修回日期】 2024-01-05