

DOI:10.13350/j.cjpb.220413

• 调查研究 •

2018-2020年呼吸机相关性肺炎主要革兰阴性菌的分布及耐药性调查*

詹旭莉¹, 姜爱雯², 刘云宁², 汤建华^{2**}, 庞茜茜², 蒲洁琨², 张伟³

(1. 河北北方学院研究生学院, 河北张家口 075000; 2. 河北北方学院附属第一医院药理学部; 3. 河北北方学院附属第一医院中心实验室)

【摘要】 目的 调查 2018-2020 年本院呼吸机相关性肺炎主要革兰阴性菌的分布及耐药状况的变迁, 为临床合理使用抗菌药物和经验性抗感染治疗提供依据。方法 收集 2018 年 1 月-2020 年 12 月河北北方学院附属第一医院呼吸科收治的 VAP 患者送检的呼吸道样本中检出的革兰氏阴性菌, 全自动微生物鉴定仪用于菌株的鉴定, 用微量肉汤稀释法进行抗菌药物敏感性实验, 对 2 株肺炎克雷伯菌进行拉丝实验, 并构建大蜡螟感染模型检测菌株毒力。结果 2018 年 1 月-2020 年 12 月共 3 年时间里, 河北北方学院附属第一医院呼吸科确诊 VAP 患者 57 名, 送检 408 份呼吸道临床微生物标本, 检出细菌 142 株(按初次分离计算), 其中 105 株为革兰阴性菌(73.9%), 检出最多的是肺炎克雷伯菌(28 株), 其次为鲍曼不动杆菌(25 株)和铜绿假单胞菌(21 株), 肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对美罗培南、亚胺培南的耐药率呈逐年上升的趋势, 鲍曼不动杆菌对美罗培南、亚胺培南的历年耐药率均超过 70%。头孢他啶/阿维巴坦、替加环素、多粘菌素 B 表现出较好的抗菌活性。有 2 株肺炎克雷伯菌被鉴定具有高毒力表型。结论 我院呼吸科 VAP 患者革兰氏阴性菌碳青霉烯类耐药的情况日趋严重, 应加强抗菌药物的合理使用。

【关键词】 呼吸机相关性肺炎; 革兰阴性菌; 抗菌药物耐药性

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)04-0439-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Apr;17(4):439-442.]

Gram-negative infection profiles and antimicrobial resistance patterns in ventilator-associated pneumonia patients

ZHAN Xu-li¹, JIANG Ai-wen², LIU Yun-ning², PU Jie-kun², PANG Xi-xi², ZHANG Wei³, TANG Jian-hua² (1. Graduate School of Hebei North College, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 2. Department of Pharmacy, The First Hospital Affiliated to Hebei North College; 3. Central Laboratory, The First Hospital Affiliated to Hebei North College)***

【Abstract】 **Objective** To obtain the epidemiological data of the gram-negative infection profile and antimicrobial resistance pattern in ventilator-associated pneumonia patients in respiratory department in the last 3 years, so as to provide the basis for rational use of antibiotics and empirical treatment. **Methods** Gram-negative bacteria were collected from clinical samples from ventilator-associated pneumonia patients in respiratory department of the First Affiliated Hospital of Hebei North University from January 2018 to December 2020. VITEK 2 Compact system was used to identify the clinical isolates, and the susceptibility of the isolates to different antibiotics was tested using the broth microdilution method. A string test was conducted to assess the hypermucoviscosity phenotypes of 2 *Klebsiella pneumoniae* isolates, whose virulence was measured using *Galleria mellonella* larvae-killing assay. **Results** A total of 408 samples from 57 VAP patients in respiratory department of the First Affiliated Hospital of Hebei North University were analyzed from January 2018 to December 2020, in which 142 pathogens were detected. Of the 142 pathogens, 73.9% (105) were Gram-negative bacteria. The top 3 Gram-negative bacteria were *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The resistant rate of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* to imipenem and meropenem increased every year, and the resistance rate of *A. baumannii* to imipenem and meropenem steadily stayed at more than 70%. Most Gram-negative bacteria were sensitive to ceftazidime/avibactam, tigecycline, and polymyxin B. Two *K. pneumoniae* clinical isolates exhibited the hypervirulent phenotype. **Conclusion** The situation that carbapenem resistant rate in gram-negative pathogens isolated from VAP patients in respiratory department of xx Hospital increased every year, are worsening. Rational use of antibiotics should be stressed.

【Key words】 ventilator-associated pneumonia; Gram-negative bacteria; antimicrobial resistance

* **【基金项目】** 河北省卫生健康委员会 2021 年度医学科学研究计划项目(No. 20211198)。

** **【通讯作者】** 汤建华, E-mail: factor0101@163.com

【作者简介】 詹旭莉(1997-), 女, 河北张家口人, 硕士研究生在读。主要研究方向: 抗菌药物血药浓度测定及耐药机制。
E-mail: zhanxuli188@126.com

呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia, VAP)是机械通气最常见的并发症之一^[1], 往往治疗和诊断较为困难, 病死率高达 21.2%~43.2%^[2]。VAP 的发生延长了患者住院时间, 增加了医疗费用, 给医患双方带来了巨大挑战^[3]。机械通气的患者病情比较危重, 当感染发生时往往会在无病原学证据的情况下给予经验性抗感染治疗。然而, 由于临床上抗菌药物的不合理使用, 医院感染管理工作落实不到位等原因^[4], 抗生素耐药(antimicrobial resistance, AMR)形式日益严峻, 感染已经成为造成住院患者死亡的重要原因之一^[5]。世界卫生组织(WHO)预测到 2050 年将会有 1 000 万人死于多重耐药菌^[6]。临床上革兰阴性菌的耐药尤为突出^[7], 在 2017 年 WHO 发布的抗生素耐药重点病原体清单中, 碳青霉烯类耐药的鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肠杆菌目细菌被列为“紧急威胁”^[8]。因此, 作者对 2018-2020 年河北北方学院附属第一医院呼吸科收治的 VAP 患者感染主要革兰阴性菌的种类及耐药变迁情况进行了调查, 为临床合理使用抗菌药物及经验性抗感染治疗提供依据。

资料与方法

1 调查对象

2018 年 1 月-2020 年 12 月河北北方学院附属第一医院呼吸科收治的 57 例 VAP 患者作为调查对象, 并依据《中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018 年版)》^[9]进行诊断。

本次调查已通过本院伦理委员会批准, 遵循《赫尔辛基宣言》中的伦理原则。患者或其法定监护人均知情同意。

2 标本采集

采集患者的痰液、支气管肺泡灌洗液和保护性标本刷标本, 于 2 h 内送至临床微生物室接种培养。本研究仅纳入非重复分离株。

3 菌株的培养、分离与鉴定

将标本接种于哥伦比亚血琼脂培养基、巧克力琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基(均购自 Oxoid, Basingstoke, 英国), 按照《全国临床检验操作规程》^[10]对病原菌的进行培养和分离, 采用全自动微生物鉴定仪(VITEK-2 compact, bioMerieux, 法国)对病原菌鉴定。

4 抗菌药物敏感性实验

使用 K-B 纸片扩张法进行药敏试验。药敏试验选用的抗生素包括: 氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢曲松、氨基糖苷类、亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、左氧氟沙星、庆大霉素、头孢

他啶、环丙沙星、替加环素、多粘菌素 B、头孢他啶/阿维巴坦。替加环素药敏结果的判读依据美国食品药品监督管理局标准(敏感 \leq 2 mg/L, 中介=4 mg/L, 耐药 \geq 8 mg/L)^[11], 其余抗生素药敏结果判定依据 CLSI 指南标准^[12]。大肠埃希菌(ATCC 25922)和铜绿假单胞菌(ATCC 27853)(均购自汉尼生物细胞有限公司, 上海)作为质控菌株。

结果

1 患者基本情况

57 名 VAP 患者中男 36 例, 女 21 例, 年龄 29-64 岁, 身体质量指数(body mass index, BMI) 17.3~31.2, 序贯器官衰竭评估(sequential organ failure assessment, SOFA)评分 4~9 分(取病程最高评分), 平均住院天数(27 \pm 11) d。9 名患者因抗感染失败死亡, 归因病死率 15.79%。病程中全部患者都接受了经验性抗感染治疗, 7 名患者单药治疗, 23 名患者接受了 2 种抗生素治疗, 27 名患者治疗中使用了 3 种及以上的抗生素(包括抗真菌药), 50 名患者使用了 3 代或 4 代头孢菌素, 42 名患者使用了碳青霉烯类抗生素。

2 病原菌的分布

共采集 408 份呼吸道临床标本, 其中痰液标本 215 份、支气管肺泡灌洗液 187 份、保护性标本刷标本 6 份, 共检出病原菌 142 株(按初次分离计算), 其中 73.94% 为革兰阴性菌(105 株), 包括: 肺炎克雷伯菌 28 株、鲍曼不动杆菌 25 株、铜绿假单胞菌 21 株、大肠埃希菌 12 株、阴沟肠杆菌 8 株、嗜麦芽窄食单胞菌 4 株、流感嗜血杆菌 3 株、粘质沙雷菌 2 株、奇异变形杆菌 1 株、卡他莫拉菌 1 株。2018-2020 年 VAP 患者感染革兰阴性菌的分布见表 1。

3 主要革兰阴性菌的耐药情况

3.1 肺炎克雷伯菌 3 年共检出 28 株肺炎克雷伯菌, 对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦的历年耐药率均 $>$ 80%, 对美罗培南、亚胺培南的耐药率呈逐年上升趋势, 12 株被鉴定为碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)。分离菌株对头孢他啶/阿维巴坦、替加环素、多粘菌素 B 保持了较高的敏感率(表 2)。

3.2 鲍曼不动杆菌 3 年共检出鲍曼不动杆菌 25 株, 对环丙沙星、哌拉西林/他唑巴坦的历年耐药率均 $>$ 85%, 对阿米卡星、替加环素、多粘菌素 B 以外的抗生素的耐药率均 $>$ 70%, 包括对美罗培南、亚胺培南的耐药率, 即 70% 以上为碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌(carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, CRAB)。未检出对多粘菌素 B 或替加环素耐药的临床株(表 3)。

表1 2018-2020年VAP的革兰阴性菌的分布
Table 1 Annual distribution of gram-negative bacteria from VAP during 2018 to 2020

菌株 Strain	各年革兰阴性菌分离株数 No. of gram negative bacteria isolated in each year			合计 Total
	2018	2019	2020	
肺炎克雷伯菌	9	12	7	28
鲍曼不动杆菌	7	10	8	25
铜绿假单胞菌	7	8	6	21
大肠埃希菌	5	3	4	12
阴沟肠杆菌	3	2	3	8
嗜麦芽窄食单胞菌	1	1	2	4
流感嗜血杆菌	1		2	3
粘质沙雷菌	1	1		2
奇异变形杆菌		1		1
卡他莫拉菌	1			1
合计 Total	35	38	32	105

表2 肺炎克雷伯菌(n=28)对14种抗生素历年耐药率
Table 2 The annual antibacterial resistance of *K. pneumoniae* isolates(n=28) to 14 antibiotics

抗生素 Antibiotics	不同年份的耐药率(%) Drug resistance rate in different years(%)			耐药株 Drug resistant Strain	百分比 Percentage (%)
	2018	2019	2020		
氨苄西林	88.9	91.9	100	26	92.9
头孢曲松	77.8	83.3	85.7	23	82.1
环丙沙星	77.8	83.3	71.4	22	78.6
头孢吡肟	66.7	75.0	71.4	20	71.4
氨苄西林/舒巴坦	88.9	83.3	85.7	24	85.7
庆大霉素	55.6	75.0	71.4	19	67.8
左氧氟沙星	55.6	75.0	71.4	19	67.8
头孢他啶	77.8	83.3	71.4	22	78.6
美罗培南	33.3	41.7	57.1	12	42.8
亚胺培南	33.3	41.7	57.1	12	42.8
阿米卡星	33.3	33.3	57.1	11	39.3
头孢他啶/阿维巴坦	11.1	8.3	14.3	3	10.7
替加环素	0	0	0	0	0.0
多粘菌素 B	0	0	14.3	1	3.6

3.3 铜绿假单胞菌 3年共检出铜绿假单胞菌21株,对亚胺培南、美罗培南、氨曲南的总体耐药率超过50%,对头孢他啶/阿维巴坦、阿米卡星的整体敏感率超过80%,未检出多粘菌素B耐药株(表4)。

讨论

呼吸机相关性肺炎严重威胁机械通气患者的健康,是常见的医院获得性感染之一,也是呼吸科医生面临的重要挑战^[13]。目前,临床上革兰阴性菌耐药情况更为严重,2017年WHO认为针对碳青霉烯类耐药的鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肠杆菌目细菌的新型抗生素研发具有“极高迫切度”(第一优先级),根据中国细菌耐药检测网(<http://www.chinets.com/Chinet>)数据,2021年上半年共收集临床分离株143 051株,其中革兰阴性菌占70.2%。笔者科室VAP患者73.9%

为革兰阴性菌感染,因此本研究重点收集了3年来VAP患者感染革兰阴性菌的种类及耐药情况,为临床经验性抗感染治疗提供依据。

表3 鲍曼不动杆菌(n=25)对11种抗生素历年耐药率
Table 3 The annual antibacterial resistance of *A. baumannii* isolates(n=25) to 11 antibiotics

抗生素 Antibiotics	不同年份的耐药率(%) Drug resistance rate in different years(%)			耐药株 Drug resistant Strain	百分比 Percentage (%)
	2018	2019	2020		
哌拉西林/他唑巴坦	85.7	90.0	87.5	22	88.0
环丙沙星	85.7	90.0	87.5	22	88.0
美罗培南	71.4	70.0	75.0	18	72.0
亚胺培南	71.4	70.0	75.0	18	72.0
庆大霉素	71.4	70.0	75.0	18	72.0
头孢吡肟	71.4	70.0	75.0	18	72.0
阿米卡星	57.1	50.0	50.0	13	52.0
左氧氟沙星	71.4	70.0	75.0	18	72.0
氨苄西林/舒巴坦	71.4	70.0	75.0	18	72.0
替加环素	0	0	0	0	0.0
多粘菌素 B	0	0	0	0	0.0

表4 铜绿假单胞菌(n=21)对12种抗生素历年耐药率
Table 4 The annual antibacterial resistance of *P. aeruginosa* isolates(n=21) to 12 antibiotics

抗生素 Antibiotics	不同年份的耐药率(%) Drug resistance rate in different years(%)			耐药株 Drug resistant Strain	百分比 Percentage (%)
	2018	2019	2020		
亚胺培南	42.8	50.0	66.7	11	52.4
美罗培南	42.8	50.0	66.7	11	52.4
氨曲南	42.8	50.0	66.7	11	52.4
头孢他啶	28.6	37.5	66.7	9	42.9
哌拉西林/他唑巴坦	28.6	37.5	50.0	8	38.1
环丙沙星	42.8	25.0	50.0	8	38.1
左氧氟沙星	42.8	37.5	50.0	9	42.9
头孢吡肟	28.6	25.0	33.3	6	28.6
庆大霉素	28.6	25.0	33.3	6	28.6
头孢他啶/阿维巴坦	14.3	25.0	16.7	4	19.0
阿米卡星	14.3	25.0	16.7	4	19.0
多粘菌素 B	0	0	0	0	0.0

本次调查从近3年来VAP患者中共检出病原菌142株,其中73.94%为革兰阴性菌(105株),并以肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌为主。药敏试验结果显示,肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对美罗培南、亚胺培南的耐药率呈逐年上升的趋势,鲍曼不动杆菌对美罗培南、亚胺培南的耐药率均高于70%。头孢他啶/阿维巴坦、替加环素、多粘菌素B对上述主要革兰阴性菌仍有较高的敏感性。

CRKP是碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)感染中最常见的菌种^[14]。CRKP几乎对所有的一线抗生素耐药,使得目前应对CRKP感染的策略十分有限^[15],多粘菌素(粘菌素和多粘菌素B)和替加环素曾被认为是治疗

CRKP 感染的“最后防线”^[16],但两者的固有缺点严重影响了治疗效果,例如:多粘菌素的神经毒性、肾毒性,药代动力学、给药方案研究不足,以及异质性耐药问题^[17];替加环素的胃肠道反应、血药浓度低等^[18]。此外全球范围内都检出了多粘菌素、替加环素耐药株^[19]。2019年在我国上市的头孢他啶/阿维巴坦在治疗 CRE 方面具有疗效好、安全性高等优势^[20],对铜绿假单胞菌也有较好的抗菌活性^[21],然而浙江大学已经检出了由 KPC-2 突变引起的对头孢他啶/阿维巴坦耐药的肺炎克雷伯菌^[22]。由此可见在抗生素选择压力下细菌进化出对新型抗生素的耐药可能在短时间内就能实现。此外,还有 2 株高毒力肺炎克雷伯菌被检出,高毒力与高耐药性的结合可能成为一个新的更大挑战^[23]。本次调查 VAP 患者感染的铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌也对碳青霉烯类抗生素具有较高耐药性。笔者所在科室对 CRPA 感染的治疗优先选择以多粘菌素为基础的联合治疗,对于 CRAB 则需联合多粘菌素和替加环素。

通过对 2018-2020 年河北北方学院附属第一医院呼吸科 VAP 患者感染革兰阴性菌的种类及耐药情况的调查,结果表明,革兰阴性菌耐药情况严重,一方面我们期待新型抗生素的出现;另一方面应该加强医院感染控制,做好抗生素合理使用,提高精准治疗水平。

【参考文献】

- Hatton GE, Mollett PJ, Du RE, et al. High tidal volume ventilation is associated with ventilator-associated pneumonia in acute cervical spinal cord injury[J]. J Spinal Cord Med, 2021, 44(5): 775-781.
- Lin HC, Lin SM, Kuo CH, et al. Incidence and outcome of health-care-associated *Acinetobacter baumannii* in chronically ventilated patients in a tertiary care hospital in Taiwan[J]. Am J Med Sci, 2011, 341(5): 361-366.
- Wu L, Liu B. The clinical effect of a bronchofiberscope in treating severe ventilator-associated pneumonia[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(6): 6966-6972.
- Lu J, Sheldenkar A, Lwin MO. A decade of antimicrobial resistance research in social science fields: a scientometric review[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2020, 9(1): 178.
- Ruckert A, Fafard P, Hindmarch S, et al. Governing antimicrobial resistance: a narrative review of global governance mechanisms[J]. J Public Health Policy, 2020, 41(4): 515-528.
- Monteiro R, Pires DP, Costa AR, et al. Phage therapy: Going temperate? [J]. Trends Microbiol, 2019, 27(4): 368-378.
- Perdigao NL, Oliveira M S, Orsi TD, et al. Alternative drugs against multidrug-resistant Gram-negative bacteria[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 33-37.
- Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(3): 318-327.
- 施毅. 中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(04): 255-280.
- 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 全国临床检验操作规程[M]. 人民卫生出版社, 2014: 643-773.
- Chiotos K, Hayes M, Gerber JS, et al. Treatment of carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections in children[J]. J Pediatric Infect Dis Soc, 2020, 9(1): 56-66.
- Bakhavatchallam YD, Veeraghavan B. Challenges, issues and warnings from CLSI and EUCAST working group on polymyxin susceptibility testing[J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(8): DL03-DL04.
- Maebed A, Gaber Y, Bakeer W, et al. Microbial etiologies of ventilator-associated pneumonia (VAP) in intensive care unit of Beni-Suef University's Hospital[J]. Beni Suef Univ J Basic Appl Sci, 2021, 10(1): 41.
- Girmeria C, Serrao A, Canichella M. Epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in mediterranean countries[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2016, 8(1): e2016032.
- Montrucchio G, Corcione S, Sales G, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in ICU-admitted COVID-19 patients: Keep an eye on the ball[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 398-400.
- Lin YT, Su CF, Chuang C, et al. Appropriate treatment for bloodstream infections due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*: A Nationwide multicenter study in Taiwan[J]. Open Forum Infect Dis, 2019, 6(2): y336.
- El-sayed AM, Zhong LL, Shen C, et al. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019)[J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9(1): 868-885.
- Porreca AM, Sullivan KV, Gallagher JC. The epidemiology, evolution, and treatment of KPC-producing organisms[J]. Curr Infect Dis Rep, 2018, 20(6): 13.
- Zhang R, Dong N, Huang Y, et al. Evolution of tigecycline- and colistin-resistant CRKP (carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*) *in vivo* and its persistence in the GI tract[J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 127.
- Sy S, Zhuang L, Sy S, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of ceftazidime-avibactam combination: A model-informed strategy for its clinical development[J]. Clin Pharmacokinet, 2019, 58(5): 545-564.
- Mikhail S, Singh NB, Kebraie R, et al. Evaluation of the synergy of ceftazidime-avibactam in combination with meropenem, amikacin, aztreonam, colistin, or fosfomycin against well-characterized multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(8): 521-525.
- Li X, Quan J, Ke H, et al. Emergence of a KPC variant conferring resistance to ceftazidime-avibactam in a widespread ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clone in China[J]. Front Microbiol, 2021(12): 724272.
- Wyres KL, Lam M, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Nat Rev Microbiol, 2020, 18(6): 344-359.