

黏液型铜绿假单胞菌不同时间的药敏结果差异研究

杨 纯¹ 尹玉城²

1. 保山市中医医院 云南 保山 678000

2. 保山市第二人民医院 云南 保山 678000

【摘要】目的: 重点分析研究黏液性铜绿假单胞菌不同时间的药敏结果差异。方法: 将送检的各个样本进行分别检测, 应用纸片扩散法(K-B法)进行黏液型铜绿假单胞菌的药敏检测, 分别在24h、48h、72h进行测试, 对比不同样品检测时间差异的结果。结果: 针对于100份样本中, 分离自呼吸道标本91%、尿液占6%、血液占2%、分泌物占1%, 其中48h和72h的药敏对比无差异($P > 0.05$)。结论: 在针对于黏液型铜绿假单胞菌展开K-B法检测后, 得出48h后的报告, 发现该菌应用与常用抗菌药物展开体外药敏试验时, 耐药性相对较低, 但是从临床应用方面展开分析, 应该综合性考虑到黏液型铜绿假单胞菌在体内的生物膜方面的影响, 所以要从具体出发, 进行选择和应用, 以确保在药敏判定结果在48h后进行, 达到药物良好应用的效果。

【关键词】黏液型铜绿假单胞菌; 药敏检测; 差异; 研究

Study on the difference of drug sensitivity results of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* at different times

Yang Chun¹ Yinyucheng² Yunnan Baoshan 678000

Baoshan traditional Chinese medicine hospital¹ Baoshan Second People's Hospital²

Abstract: Objective: to analyze and study the difference of drug sensitivity results of mucinous *Pseudomonas aeruginosa* at different times. Methods: the samples sent for inspection were detected separately, and the drug sensitivity of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* was detected by disk diffusion method (K-B method), which was tested at 24h, 48h and 72h respectively, and the results of different sample detection time were compared. Results: among the 100 samples, 91% were isolated from respiratory specimens, 6% from urine, 2% from blood, and 1% from secretions. There was no difference in drug sensitivity between 48h and 72h ($P > 0.05$). Conclusion: after the detection of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* by K-B method, the report was obtained after 48h. It was found that the drug resistance of this bacterium was relatively low when it was used in vitro drug sensitivity test with commonly used antibiotics. However, from the perspective of clinical application, the influence of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* on biofilm in vivo should be comprehensively considered, so it should be selected and applied from the specific point of view, To ensure that the drug sensitivity determination results are carried out after 48h, and achieve the effect of good drug application.

Key words: mucoid *Pseudomonas aeruginosa*; Drug sensitivity test; Differences; research

引言

在目前临床应用的过程中, 将铜绿单胞菌作为重要的致病菌展开研究, 结合不同菌落的形态, 可以将其分为黏液型与非黏液型两种, 两者会在某种条件之下转换。呼吸道疾病在临床中发生率较高, 对于患者的正常生活造成很大的影响, 尤其是慢性呼吸道疾病发生之后, 感染的问题日益严重, 常见的疾病类型是慢性阻塞性肺炎、支气管扩张等等, 所以需要加强疾病的诊断, 为后续的治疗以及康复提供帮助^[1]。经过对黏液型铜绿假单胞菌展开分析, 其表面会存在比较多的黏液, 组成成分是多糖藻酸盐, 经过连续定植之后会形成生物膜系统, 是的细菌躲避机体免疫系统的清除, 具备一定的抗药型, 会造成患者连续性的感染, 治疗无法达到应有的效果, 很多疾病在药物治疗后无法产生良好的效果。对于药物敏感性方面检测中, 目前广泛应用的是ATB、仪器法等, 对于生长速度较快的细菌来说, 有着非常明显的优势, 但是黏液型铜绿假单胞菌的生长速度较缓慢, 使用起来无法达到应有的效果。纸片扩

散法(K-B法)的操作比较简单, 检测精度比较好, 应用于黏液型铜绿假单胞菌的药物敏感性检测有着重要的价值, 但是在孵育18—24h之后, 抑菌圈的直径并不能达到理想的状态, 也会出现检测难度升高的情况, 对于后续的检测精准性造成比较大的影响^[2]。基于此, 本文重点探讨黏液型铜绿假单胞菌不同时间的药敏结果差异性, 具体内容如下。

1 材料与方法

1.1 材料

选择我院在2020年1月至2023年5月之间接收的各种标本内分离出的黏液型铜绿假单胞菌作为实验对象, 并对同一患者的多次分离获取的菌株不进行重复计算。在该次研究中, 全部菌株都存放在-75℃的环境中, 总计有100株进行研究。

1.2 仪器

使用我院的梅里埃 VITEK2 Compact 全自动微生物鉴定药敏分析仪进行检测, 药敏纸片由北京天坛公司提供,

并且仪器与试剂经过检验, 属于合格产品, 符合本次检验的要求。

1.3 方法

将所有获取的标本进行接种、培养, 全部按照国家相应标准进行, 各项操作按照规定流程开展, 提高操作的精度。对于痰液标本进行涂片、筛查处理, 应用低倍镜进行观察, 如果标本鳞片上皮细胞 ≤ 10 个且白细胞 ≥ 25 个为合格。对于全部样本都应用 K-B 法检测, 药敏临床结果统计分析, 得出结论。

1.4 统计学方法

研究应用 SPSS20.0 软件处理数据, 用率 (%) 计数,

表 1 黏液型铜绿假单胞菌不同时间药敏结果 [例 (%)]

药物名称	24h		48h			72h		
	敏感	耐药	敏感	耐药	P 值	敏感	耐药	P 值
哌拉西林	81(81.00)	12(12.00)	59(59.00)	35(35.00)	0.000	56(56.00)	37(37.00)	0.514
头孢他啶	85(85.00)	7(7.00)	73(73.00)	24(24.00)	0.001	70(70.00)	26(26.00)	0.422
头孢吡肟	82(82.00)	9(9.00)	62(62.00)	31(31.00)	0.000	57(57.00)	34(34.00)	0.366
氨曲南	78(78.00)	11(11.00)	65(65.00)	18(18.00)	0.002	61(61.00)	24(24.00)	0.685
亚胺培南	78(78.00)	15(15.00)	68(68.00)	24(24.00)	0.002	67(67.00)	27(27.00)	0.711
美罗培南	87(87.00)	12(12.00)	79(79.00)	15(15.00)	0.125	78(78.00)	17(17.00)	0.988
妥布霉素	96(96.00)	4(4.00)	93(93.00)	4(4.00)	0.289	92(93.00)	4(4.00)	0.111
庆大霉素	90(90.00)	6(6.00)	89(89.00)	9(9.00)	0.985	88(88.00)	10(10.00)	0.252
阿米卡星	96(96.00)	2(2.00)	95(96.00)	3(3.00)	0.712	93(96.00)	3(3.00)	0.238
环丙沙星	84(84.00)	17(17.00)	62(62.00)	26(26.00)	0.000	57(57.00)	28(28.00)	0.971
左氧氟沙星	84(84.00)	20(20.00)	51(51.00)	36(36.00)	0.002	45(45.00)	40(40.00)	0.888

3 结论

铜绿假单胞菌在培养基上会以 5 种菌落形式存在, 主要是非典型菌落以及黏液型为主, 前者占据比例较大, 其他的形态比例很小。从本次研究结果来看, 呼吸道来源的菌种相对较多, 主要是以痰液标本为主, 由此可见, 黏液型铜绿假单胞菌是目前上呼吸道感染的主要发病原因之一^[3]。

在体外进行铜绿假单胞菌药敏检测的环节, 因为菌体的表面会有厚度较大的黏液存在, 所以对于菌液的制作效果和药物的治疗产生直接的影响, 一般所获取的菌液浊度相对较高, 造成药物的敏感性升高。有研究结果中显示, 将 0.5 麦氏比浊度菌悬液的细菌数作为检验的标准: 第一, 使用 0.5 麦氏比浊度的菌液进行 1:1000 稀释处理, 进行观察的过程中, 如果在每个视野内都能看到细菌, 说明该菌落数量已经达到 10^5 CFU/ml; 第二, 经过 1:1000 稀释处理之后, 再进行 1:10 的稀释处理, 使用 10 μ l 接种处理, 通过使用接种血平板进行检测, 在 37 $^{\circ}$ C 的条件下, 进行培养之后再行菌落数的计算, 如果达到 100 个, 就表示在菌液内存在的数量达到 10^4 CFU/ml。这是目前应用较多的方式, 能够充分的检测确定 0.5 麦氏比浊度之下的细菌数量, 防止黏液对于浊度造成不利的影 响, 从而提高检测的精确性, 为临床检验效果的提升奠定基础。当前在临床实践中, 展开黏液型铜绿假单胞菌的培养和检测, 微量肉汤法进行稀释处理, 可以提高检测的精度, 但是该方式操作流程比较繁琐, 且多方面因素造成结果的不准确, 所以很多实验人员并未首选该方式进行检测。目前医疗领域内广泛应用全自动细菌鉴定 / 药物敏感性分析仪等设备进行分析确定, 该设备的操作比较简单, 人为影响因素比较小, 且在形态特殊、

X^2 检验, $P < 0.05$ 说明有统计差异。

2 结果

2.1 本次菌株样本的组成分析

在本次菌种样本的 100 株中, 有 91 株来自于呼吸道中, 尿液中有 6 株, 血液样本中有 2 株, 人体分泌物的样本中有 1 株。

2.2 药敏检测结果分析

24h 与 48h 庆大霉素敏感率无差异 ($P > 0.05$), 和其他药物对比有差异 ($P < 0.05$); 48h 与 72h 药敏结果无差异 ($P > 0.05$), 见表 1。

生长缓慢的黏液型细菌中有着较高的价值, 但是仪器在抗菌药物检测结果确实的前提下, 所获取的信息也会受到影响^[4]。K-B 法的操作流程也比较多, 对于人员要求较高, 但是该方法可以获得更加准确的报告, 且抗菌药物在选择阶段具备较高的灵活性, 可以给临床提供更加完整的数据信息, 使得抗菌药物信息获取更加的完整、准确, 符合使用的需要, 其孵育的时间达到 48h 时, 其获取的结果更加准确^[5]。

黏液型铜绿假单胞菌在生长的环节, 会形成比较多的藻酸盐, 这样就会造成细菌表面存在膜状物, 直接附着在患者的病患部位上, 能够有效地阻隔巨噬细胞、抗体、药物进入到菌体内部, 所以耐药性比较高, 治疗也比较缓慢, 甚至药物不会产生任何的作用。与此同时, 细菌的黏液会影响其生长, 所以细菌的生长速度相对比较缓慢, 一般来说, 黏液型铜绿假单胞菌经过 48h 的培养, 才能发现其形成直径为 1.5mm 大小的菌落。通过使用 K-B 法进行检测的过程中, 经过 24h 的培养之后, 有大部分的细菌并未有生长变化, 或者生长变化的尺寸很小, 所以还需要进一步的延长培养的时间, 而培养时间的变化会对于药敏转折点方面的变化存在直接的影响, 但是国内外对于该方面的研究还不够深入, 需要加强研究分析, 以提高应用效果。

经过对本次研究结论进行分析, 发现通过使用 K-B 法在开展黏液型铜绿假单胞菌检测的环节, 药物敏感性检测中, 因为细菌生长的速度比较慢, 所以在 24h 后检测的敏感性药高于 48 后的敏感性, 除了妥布霉素、庆大霉素、阿米卡星和美洛培南外, 其他 8 种药物差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 培养时间为 72h 时, 药敏检测结果和 48h 时的结果无差异 ($P > 0.05$), 所以在进行检测的环节, 将时间

设定为 48h 能够提高检测的精准性, 药敏测试的结果也更加的可信, 这与以往的研究基本相同的。在进行 48h 的药物敏感性的检测结果分析发现, 黏液型铜绿对美罗培南、氨基糖苷类抗生素的敏感性比较高, 其他药物则不具备较高的敏感性^[6]。因此, 在对于这种类型的细菌感染环节, 临床药物使用的阶段, 医护人员综合分析患者的具体情况, 选择合适的药物联合应用, 提高治疗的效果, 以促进患者及时康复。

虽然有研究发现, 黏液型铜绿假单胞菌对于多数的抗生素都存在着较高的敏感性, 体外研究中黏液型铜绿假单胞菌的敏感性要比非黏液型的高, 但是临床中的治疗效果与之有着一定的差异, 这可能是由于黏液型铜绿假单胞菌在生长中会形成黏多糖, 对于宿主巨噬细胞的防御性功能产生很大的影响, 使得药物无法进入到内部, 所以在临床中即使进行多方面的药敏试验或者持续性的治疗, 依然无法将病原菌全部消除, 这就造成治疗时间的延长, 患者的病情难以得到恢复。临床进行生物膜细菌的药物治疗过程中, 除了要具体的药敏试验结果选择最佳的抗生素药物之外, 同时还要选择使用抑制生物膜形成的药物联合治疗。比如, 盐酸氨溴索或者依地酸与其他的抗生素联合应用, 能够有效的损坏细菌表面形成的生物膜, 抗生素能够快速的进入到细菌体内, 达到良好的杀菌效果。大环内酯类的抗生素、金银花等都含有绿原酸的成分, 也能有效的抑制生物膜的形成。而本次的研究是在实验室环境下培养形成的, 与人体内的环境有着很大的差异, 所以要想提高药物的治疗效果, 还需要经过多方面的临床试验, 以得出准确的数据信息, 让医疗环节用药更加的精准, 疾病治疗效果

得到提升。

综上所述, 黏液型铜绿假单胞菌生长速度较为缓慢, 需要结合细菌的特性, 适当的延长试验的时间, 将药敏试验结果的判定时间延长到 48h 后, 以得出准确的结论, 满足当前的试验以及临床检验的需要, 为临床药物的选择提供支持, 促进医疗技术的发展。

参考文献:

- [1] 李祥鹏, 秦贤, 刘月芬等. 2013—2018 年慢性阻塞性肺疾病住院患者黏液型与非黏液型铜绿假单胞菌耐药性分析 [J]. 临床合理用药杂志, 2020,13(30):6-8.
- [2] 宋立, 刘鹏, 宋明强等. 黏液型铜绿假单胞菌刺激淋巴细胞过度产生 IL-6 与难愈性感染的潜在联系 [J]. 新医学, 2020,51(10):741-746.
- [3] 王巧媚, 陆丹倩, 赖贵龙等. 黏液型铜绿假单胞菌 β -内酰胺酶的表达状况及耐药性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2020,41(13):1598-1601+1607.
- [4] 钟峰, 冯艺, 张晶晶等. 替加环素联合亚胺培南对黏液型铜绿假单胞菌的体外抗菌活性及生物膜抑制作用分析 [J]. 检验医学, 2020,35(06):519-523.
- [5] 钟为群, 曾艳. 黏液型和非黏液型铜绿假单胞菌的分布及其对 16 种抗菌药物的耐药性分析 [J]. 抗感染药学, 2018,15(06):945-948.
- [6] 谢银. 黏液型铜绿假单胞菌的耐药性分析 [C]// 国际数字医学会, Digital Chinese Medicine. 湖南中医药大学学报 2016/ 专集: 国际数字医学会数字中医药分会成立大会暨首届数字中医药学术交流会论文集. [出版者不详], 2016:2.