【简报】

糖尿病足溃疡中铜绿假单胞菌感染的药敏与预后分析

沈亚萍[1,2,3]，项家丽[1,2,3]，王淑敏[1,2,3]，许　蕾[1,2,3]，顾雪明[1,2,3]，汤正义[1,2,3]*

（1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院内分泌代谢科，上海 200025；
2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院远洋分院糖尿病足治疗中心，上海 200031；3. 上海市内分泌代谢病研究所，上海 200025）

摘要：目的 观察糖尿病足溃疡（DFU）中铜绿假单胞菌感染情况，分析 DFU 时铜绿假单胞菌感染的药敏试验结果及其对患者预后的影响。**方法** 选取 DFU 感染患者 764 例，常规细菌培养，分析铜绿假单胞菌的感染率及其对常见抗菌药物的耐药性，随访观察 2 年内患者愈合、复发、截肢、心脑血管事件以及死亡等结局。**结果** DFU 感染病例中 10.2% 的标本培养提示感染铜绿假单胞菌。铜绿假单胞菌对环丙沙星、哌拉西林、哌拉西林 / 他唑巴坦、美罗培南、头孢吡肟和头孢他啶的敏感率较高，均大于 80%；对妥布霉素、亚胺培南、庆大霉素、氨曲南、阿米卡星的敏感率次之，为 70% ～ 80%；对左氧氟沙星的敏感率最低，为 65.4%。感染铜绿假单胞菌的 DFU 患者截肢率为 33.3%，随访至 6 个月、1 年及 2 年的累积愈合率分别为 37.2%、60.3% 和 70.5%。随访期间，19.2% 患者发生非致死性心脑血管事件，20.5% 患者死亡。**结论** DFU 感染铜绿假单胞菌患者预后不良，对抗菌药物存在不同程度的耐药，应根据药敏结果及时选用敏感的抗菌药物。

关键词：糖尿病足溃疡（DFU）；铜绿假单胞菌；药敏试验；预后

中图分类号：R587.1；R978.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2018）09-0597-05

DOI：10.13683/j.wph.2018.09.005

Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* infection in diabetic foot ulcers patients and its prognoses

SHEN Ya-ping[1,2,3], XIANG Jia-li[1,2,3], WANG Shu-min[1,2,3], XU Lei[1,2,3], GU Xue-ming[1,2,3], TANG Zheng-yi[1,2,3]*

（*1. Department of Endocrinology and Metabolism, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025;*
2. Yuanyang Subdivision for Diabetic Foot Disease, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200031;
3. Shanghai Institute of Endocrine and Metabolic Diseases, Shanghai 200025, China）

Abstract: ***Objective*** To investigate the antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in the patients with diabetic foot ulcer（DFU）and its prognosis. ***Methods*** Pathogen cultures were carried out to examine the *Pseudomonas aeruginosa*in 764 from infected DFU patients. The infection rate of *Pseudomonas aeruginosa* its resistance to common antibiotics were analyzed. All the enrolled patients were followed-up for two years to observe the outcomes, including healing, amputation, and the recurrence of ulcers, cardiovascular and cerebrovascular events and death. ***Results*** The total incidence of *Pseudomonas aeruginosa* infection was 10.2% in DFU patients. The sensitivity rates of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, meropenem, ceftazidime, cefepime were more than 80%. The sensitivity rates of tobramycin, imipenem, gentamicin, aztreonam, amikacin were less active for 70%～80%. The sensitivity rate was 65.4% to levofloxacin. With *Pseudomonas aeruginosa* infection in DFU, amputation rate was 33.3%. The accumulated healing rates at 6 months, 1 year, 2 years were 37.2%，60.3% and 70.5% respectively. During follow-up period, nonfatal cardiovascular and cerebrovascular events occurred in 19.29% patients and 20.5% patients died. ***Conclusion*** *Pseudomonas aeruginosa is* resistant to antibiotics in varying degrees. The *Pseudomonas aeruginosa* infection in DFU patients predict bad outcome and the sensitive antibiotics should be selected according to the results of drug sensitivity.

Key words: diabetic foot ulcer（DFU）; *Pseudomonas aeruginosa*; drug sensitive test; prognosis

收稿日期：2018-05-14；**修回日期：**2018-07-31

作者简介：沈亚萍，主治医师，研究方向为糖尿病神经病变、糖尿病足等方面的临床和研究。

通信作者：汤正义，主任医师，教授，中华医学会上海分会内分泌学会委员，长期从事糖尿病神经病变、糖尿病足等方面的临床和研究工作。

基金项目：上海市科学技术委员会科研项目（13441900302）。

糖尿病足溃疡（DFU）是糖尿病的严重并发症，约 50% 的 DFU 患者需要进行不同程度截肢 [1]，并且 5 年死亡率高达 45%[2-3]。40% ～ 80% 的 DFU 患者合并感染 [4]，合并感染的 DFU 患者截肢风险是未发生感染者的 150 倍以上 [5]，DFU 感染也是糖尿病患者致残致死的主要原因。及时、合理且有效地运用抗生素是糖尿病足感染治疗的重要环节，细菌培养及药敏试验的指导意义重大。铜绿假单胞菌是 DFU 感染的常见革兰阴性杆菌，不同地域其感染发生率及耐药情况存在较大差异。本研究收集 DFU 合并感染患者创面细菌培养数据，观察铜绿假单胞菌感染发生情况、药敏结果及患者的相关预后，为临床治疗糖尿病足感染提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 病例选择

收集 2011 年 5 月至 2015 年 4 月我院 DFU 感染且有分泌物培养结果的患者资料。纳入标准：糖尿病足感染的诊断遵循国际糖尿病足工作组制定的诊断标准 [6]，确诊为 DFU 合并感染患者，入院后创面细菌培养提示感染铜绿假单胞菌；年龄＜ 90 岁。排除标准：恶性肿瘤长期化疗者；长期口服糖皮质激素引起的溃疡患者；合并免疫缺陷性相关疾病者；静脉性溃疡患者。

1.2 方法

1.2.1 病史采集

入院后常规采集病史，包括糖尿病病程、DFU 病程、创面情况、心脑血管疾病病史及其他慢性病史，测量身高、体质量及血压。并立即进行创面评估分级，DFU 深度评估采用 Wagner 分级方法 [7]。创面感染程度参照美国感染病协会制定的糖尿病足感染防治指南进行分级 [8]。实验室检查包括血常规、肝功能、肾功能、血脂、空腹血糖、糖化血红蛋白（HbA1c）和 24 h 尿蛋白定量等，均由本院检测中心常规测定，设有内标控制质量。

1.2.2 观察糖尿病并发症

周围血管病变：踝臂指数＜ 0.9，下肢多普勒超声检查显示动脉粥样硬化斑块形成伴有不同程度的狭窄或者闭塞，或下肢血管 CT、MRI、血管造影均提示下肢动脉狭窄或者闭塞，或既往下肢动脉成形术史，结合临床间歇性跛行、静息痛及足背动脉搏动消失进行诊断。周围神经病变：①存在温度感觉异常；② 10 g 尼龙丝触觉检查足部感觉减退或者消失；③震动感觉异常；④踝反射减弱或者消失，上述有 2 项或 2 项以上异常，并可结合有痛感、麻木感和发冷等症状进行诊断，排除腰骶神经病变、脑卒中、吉兰 - 巴雷综合征等。

1.2.3 创面处理及采样

开始抗菌药物治疗前清除患者溃疡表面坏死组织、脓性分泌物或者焦痂，直至暴露新鲜肉芽组织；无菌生理盐水冲洗创面，彻底清洁伤口后用干的无菌棉球擦拭溃疡面；应用无菌棉拭子头在肉芽组织 1 cm^2 的范围旋转擦拭或者在创面中心旋转擦拭 5 s，并给予适当的力量使得组织液从创面床挤压出来采样 [9]。采样后立即将拭子置于无菌试管内，并于 2 h 内将样本送检。

1.2.4 细菌培养及药敏试验

标本接种于血琼脂平板，置 35℃培养 72 h，菌株鉴定参照全国临床检验操作规程进行 [10]，必要时用的细菌数值分类分析鉴定系统（API 鉴定系统，API 20NE 试剂盒，法国生物梅里埃公司生产）作进一步鉴定。药敏试验采用 K-B 法，药敏纸片采用英国 Oxoid 公司产品。抗菌药物包括妥布霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、哌拉西林、哌拉西林 / 他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、头孢吡肟、头孢他啶、庆大霉素、氨曲南、阿米卡星。

1.3 治疗和随访

参照国际糖尿病足相关指南给予患者常规局部清创换药、抗感染、改善微循环、营养支持、改善其他基础疾病等综合治疗，必要时给予手术治疗。

随访采用门诊、再入院及电话的方式随访。溃疡愈合前以门诊随访为主，2 周 1 次；愈合后以电话随访为主，3 ～ 6 个月 1 次；部分患者因创面再次感染、愈合缓慢或复发需多次入院治疗。随访内容包括溃疡愈合、复发、心脑血管事件发生以及死亡。随访时间为 2 年，若患者死亡则提前终止随访。

病情预后参照文献 [11]，愈合：溃疡创面皮肤完

全覆盖，或已经形成痂皮；溃疡复发：指原溃疡愈合后发生新的溃疡；小截肢：为经跖跗关节或跖跗关节以下平面的截肢；大截肢：为经跖跗关节以上平面的截肢；心脑血管事件包括心肌梗死、不稳定性心绞痛、心力衰竭以及脑卒中。

1.4 统计学方法

统计学上采用 SAS 9.3 统计学软件进行数据分析。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示；非正态分布的计量资料以中位数（四分位间距）表示，计数资料以病例数（构成比）表示；分类资料采用率表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及 DFU 严重性

共纳入 DFU 患者 764 例进行足部分泌物培养，其中 639 例（83.6%）培养结果为细菌阳性。78 例（10.2%）培养提示感染铜绿假单胞菌，患者平均年龄（70.7±11.6）岁，平均糖尿病病程（12.9±8.1）年，DFU 病程为 60（20 ～ 180）d，HbA1c 为（8.1± 1.9）%，66 例（84.6%）合并周围血管病变，68 例（87.2%）合并周围神经病变，各项指标详见表 1。此外，DFU 的 Wagner 具体分级情况如下：1 级 9 例，2 级 21 例，3 级 19 例，4 级 25 例，5 级 4 例。DFU 的感染程度以中度感染居多（52.6%），轻度感染和重度感染分别占 21.8% 和 25.6%。

2.2 铜绿假单胞菌对常用药物的耐药性

如表 2 所示，铜绿假单胞菌对常用抗菌药物均存在一定程度的耐药。铜绿假单胞菌对环丙沙星、哌拉西林、哌拉西林 / 他唑巴坦、美罗培南、头孢吡肟和头孢他啶的敏感率较高，均大于 80%；对妥布霉素、亚胺培南、庆大霉素、氨曲南、阿米卡星的敏感率次之，在 70% ～ 80%；对左氧氟沙星的敏感率最低，为 65.4%。

2.3 患者预后

随访期间，26 例（33.3%）患者接受截肢，其中大截肢 2 例。随访至 6 个月时 29 例（37.2%）患者足部创面愈合；随访至 1 年时，愈合例数增至 47 例；随访至 2 年时，共计 55 例患者创面愈合，1 年及 2

表 1　感染铜绿假单胞菌 DFU 患者临床基本资料

Table 1　Baseline characteristics of DFU patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection

例数/例	78
年龄/岁	70.7±11.6
男性/*n*（%）	48（61.5）
体质量指数/kg·m^{-2}	24.6±4.8
收缩压/mmHg	136.7±18.2
舒张压/mmHg	75.2±10.9
糖尿病病程/年	12.9±8.1
DFU 病程/d	60（20～180）
周围神经病变/*n*（%）	68（87.2）
周围血管病变/*n*（%）	66（84.6）
HbA1c/%	8.1±1.9
空腹血糖/mmol·L^{-1}	7.4±2.9
白细胞计数/（×10^{9}）	7.6（6.2～9.0）
中性粒细胞/（×10^{9}）	5.4（4.0～6.8）
C反应蛋白/mg·L^{-1}	14.3（6.1～39.0）
血红蛋白/g·L^{-1}	110.3±20.1
血浆白蛋白/g·L^{-1}	34.9±4.9
血肌酐/mmol·L^{-1}	73.0（57.0～92.0）
24 h 尿蛋白定量/g	0.2（0.1～0.7）
三酰甘油/mmol·L^{-1}	1.3±0.8
总胆固醇/mmol·L^{-1}	4.1±1.2
高密度脂蛋白胆固醇/mmol·L^{-1}	1.0±0.2
低密度脂蛋白胆固醇/mmol·L^{-1}	2.6±1.0

表 2　铜绿假单胞菌对常用抗菌药物的耐药情况

Table 2　Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* to common antibacterials

抗生素	敏感株数/株	敏感率/%
头孢他啶	67	85.9
头孢吡肟	66	84.6
哌拉西林/他唑巴坦	66	84.6
环丙沙星	66	84.6
美罗培南	64	82.1
哌拉西林	63	80.8
阿米卡星	59	75.6
庆大霉素	58	74.4
亚胺培南	57	73.1
妥布霉素	56	71.8
氨曲南	55	70.5
左氧氟沙星	51	65.4

年的累积愈合率分别为 60.3% 和 70.5%。随访结束，溃疡愈合的 55 例患者中有 11 例足部溃疡复发，复发率为 20%。随访期间，15 例（19.2%）发生非致死性心脑血管事件，其中心力衰竭 8 例，心肌梗死 3 例，脑梗 4 例；16 例（20.5%）患者死亡，其中 6 例死于心血管事件，3 例死于脑血管事件，2 例死于多器官功能衰竭，2 例死于感染，1 例死于恶性肿瘤，2 例死因不明。

3 讨论

DFU 患者细菌感染的种类不同，其足病严重性及相关预后也存在着较大差异。通过本文数据可以发现，感染铜绿假单胞菌的 DFU 患者愈合率显著低于文献报道的 DFU 患者创面总愈合率 [1]，提示，感染铜绿假单胞菌严重影响创面愈合。

研究发现，DFU 患者铜绿假单胞菌培养阳性率约为 5% ～ 35%[12]。本次研究显示，铜绿假单胞菌阳性率为 10.2%，处于相对较低水平。铜绿假单胞菌易于在温暖湿润的环境中滋生，是常见的侵袭力很强的条件致病菌，当机体极度衰弱或免疫力低下时容易发生感染。不同的研究中铜绿假单胞菌培养阳性率差异较大，这可能与各个地区的气候差异、溃疡严重程度、患者全身情况以及标本取样方法等因素有关。

大量研究表明，普通病房或者重症监护病房住院史、机械通气、抗菌药物用药史是非糖尿病足患者发生铜绿假单胞菌感染的最常见的危险因素 [12-13]。然而，目前有关糖尿病足铜绿假单胞菌感染的危险因素的相关研究仍然较少。土耳其的一项回顾性研究表明，截肢史及抗菌敷料的使用也是糖尿病足感染铜绿假单胞菌的危险因素。截肢患者一般病情较重，同时伴随着营养不良及免疫力低下，易发生铜绿假单胞菌感染 [14]。抗菌敷料为铜绿假单胞菌的生长提供了一个湿润的环境，这可能是铜绿假单胞菌感染易于发生的原因之一。

本研究检测了铜绿假单胞菌对 12 种常用抗菌药物的耐药性，铜绿假单胞菌对其中 6 种抗菌药物的敏感率超过 80%，对左氧氟沙星的敏感率最低（65.4%）。一项来自印度的研究发现，足溃疡创面分离出来的铜绿假单胞菌对亚胺培南、哌拉西林和阿米卡星的敏感性最佳，均超过 85%；对头孢他啶的敏感率为 63.6%；对环丙沙星、庆大霉素、头孢噻肟和头孢哌酮的敏感率较低，皆不超过 50%[15]。此外，我国天津地区的研究表明，铜绿假单胞菌对头孢类抗生素的敏感率低于 70%，对喹诺酮类抗菌药物的敏感率在 60% 左右，对氨基糖苷类抗生素的敏感率在 37.6% ～ 62.4%，对亚胺培南的敏感率高达 98.8%[16]。由此可见，各地区铜绿假单胞菌的对抗菌药物的敏感情况各有特点，这可能与 DFU 病情严重性、医生用药习惯、抗菌药物暴露种类、抗菌药物暴露时间有关。

研究显示，糖尿病足中心 DFU 患者 6 个月及 1 年的总体愈合率约为 73% ～ 90%[1]，本次研究发现感染铜绿假单胞菌的 DFU 患者愈合率与之相比显著下降。既往一些研究也发现，铜绿假单胞菌是 DFU 不愈合或延迟愈合最主要的致病菌 [17-18]，提示，铜绿假单胞菌感染严重影响了足溃疡创面的愈合。

铜绿假单胞菌感染的 DFU 愈合率显著下降主要与铜绿假单胞菌对抗菌药物的敏感性及铜绿假单胞菌自身的细菌毒性作用有关。研究表明，细菌耐药与足溃疡愈合不良相关 [19]，本研究也观察到铜绿假单胞菌对常见的抗菌药物均存在不同程度的耐药。Ertugrul 等 [20] 对从 DFU 患者创面样本分离出的 63 株铜绿假单胞菌菌株进行基因分析，发现这些菌株携带 *flic*、*phzS*、*toxA* 这 3 个基因的概率显著大于其他感染部位分离出的铜绿假单胞菌菌株，而这 3 个基因与细菌组织穿透力、引起组织及细胞损伤的能力以及对缺氧环境的耐受力有关。此外，感染铜绿假单胞菌的 DFU 患者血浆白蛋白水平及血红蛋白水平偏低，可能存在营养状态较差及免疫力低下的情况。血浆白蛋白低水平导致创面局部乃至全身水肿，胶原蛋白合成及肉芽组织形成受到影响，创面愈合更加困难。另有研究认为，机体免疫力下降时，免疫细胞功能下降，吞噬活性减弱，补体以及抗体水平降低，创面细菌难以清除，这也将影响创面愈合 [21]。

本文是单中心研究结果，尚不能代表本地区 DFU 时铜绿假单胞菌感染的情况，但不影响铜绿假

单胞菌耐药情况的分析，观察铜绿假单胞菌感染对预后的影响，对补充认识 DFU 时铜绿假单胞菌感染的诊治有积极的意义。

4 结语

铜绿假单胞菌的耐药形势较为严峻，DFU 患者感染铜绿假单胞菌预示不良愈合结局。铜绿假单胞菌感染因其独特的绿色渗出液而能被早期识别，经验治疗使用抗菌药物时可以参考本地区的药敏特点，后期再根据药敏结果及时选用敏感的抗菌药物，并且需要密切关注患者的营养状态及免疫力情况，改善患者机体状态，全方位促进创面愈合。

参考文献：

[1] He Y, Qian H, Xu L, *et al*. Association between estimated glomerular filtration rate and outcomes in patients with diabetic foot ulcers: a 3-year follow-up study[J]. Eur J Endocrinol, 2017, 177(1): 41-50.

[2] 李翔, 肖婷, 王玉珍, 等. 139 例糖尿病足溃疡患者的死亡率及伴有并发症分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2011, 27(2): 128-132.

[3] Morbach S, Furchert H, Gröblinghoff U, *et al*. Long-term prognosis of diabetic foot patients and their limbs: amputation and death over the course of a decade[J]. Diabetes Care, 2012, 35(10): 2021-2027.

[4] Lipsky BA, Berendt AR, Decry HG, *et al*. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections[J]. Plast Reconstr Surg, 2006, 117(Suppl 7): 212-238.

[5] Lavery LA, Armstrong DG, Wundedich RP, *et a1*. Risk factors for foot infection in individuals with diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(6): 1288-1293.

[6] Lipsky BA, Aragón-Sánchez J, Diggle M, *et al*. IWGDF guidance on the diagnosis and management of foot infections in persons with diabetes[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2016, 32(Suppl 1): S45-S74.

[7] Wagner FW. The dysvascular foot: a system for diagnosis and treatment[J]. Foot Ankle, 1981, 2(2): 64-122.

[8] Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, *et al*. Executive summary: 2012 infectious diseases society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(12): 1679-1684.

[9] Gjødsbøl K, Skindersoe ME, Christensen JJ, *et al*. No need for biopsies: comparison of three sample techniques for wound microbiota determination[J]. Int Wound J, 2012, 9(3): 295-302.

[10] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2版, 南京: 东南大学出版社, 1997: 474-458.

[11] Ghanassia E, Villon L, Thuan Dit Dieudonné JF, *et al*. Long-term outcome and disability of diabetic patients hospitalized for diabetic foot ulcers: a 6.5-year follow-up study[J]. Diabetes Care, 2008, 31(7): 1288-1292.

[12] Merchant S, Proudfoot EM, Quadri HN, *et al*. Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* infections consequences of inappropriate initial antimicrobial therapy: a systematic literature review meta-analysis[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2018, 14(1): 33-44.

[13] Venier AG, Lavigne T, Jarno P, *et al*. Nosocomial urinary tract infection in the intensive care unit: when should *Pseudomonas aeruginosa* be suspected? Experience of the French national surveillance of nosocomial infections in the intensive care unit, Rea-Raisin [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(1): E13- E15.

[14] Ertugrul BM, Lipsky BA, Ture M, *et al*. Risk Factors for Infection with *Pseudomonas aeruginosa* in diabetic foot infections[J]. J Am Podiatr Med Assoc, 2017, 107(6): 483-489.

[15] Muthu SE, Aberna RA, Mohan V, *et al*. Phenotypes of isolates of Pseudomonas aeruginosa in a diabetes care center [J]. Arch Med Res, 2006, 37(1): 95-101.

[16] 孙茜, 王鹏华, 褚月颉, 等. 铜绿假单胞菌感染的糖尿病足患者临床及耐药特点分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012, 28(10): 817-820.

[17] Noor S, Ahmad J, Parwez I, *et al*. Culture-based screening of aerobic microbiome in diabetic foot subjects and developing non-healing ulcers[J]. Front Microbiol, 2016, 7(11): 1792-1792.

[18] Agwu E, Ihongbe J, Inyang N. Prevalence of quinolone-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in delayed-healing diabetic foot ulcers in Ekpoma, Nigeria[J].Wounds, 2010, 22(4): 100-105.

[19] Ertugrul BM, Oncul O, Tulek N, *et al*. A prospective, multi-center study: factors related to the management of diabetic foot infections[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(9): 2345-252.

[20] Ertugrul BM, Oryasin E, Lipsky BA, *et al*. Virulence genes fliC, toxA and phzS are common among Pseudomonas aeruginosa isolates from diabetic foot infections[J]. Infect Dis(Lond), 2018, 50(4): 273-279.

[21] Katona P, Katona-Apte J. The interaction between nutrition and infection [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(10): 1582-1588.

（责任编辑：雷　玲）