

- 妊娠患者剖宫产手术 20 例[J]. 医药导报, 2014, 12(10): 1333-1335.
- [5] 马春, 罗东宁. 妊娠合并甲亢、血小板减少、哮喘行剖宫产的麻醉体会[J]. 实用医院临床杂志, 2014, 12(3): 143.
- [6] 杨露, 杨林东, 卞雯雯, 等. 妊娠期首发血小板减少 105 例临床分析[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(31): 5060-5062.
- [7] 许剑利, 徐克惠. 妊娠相关性血小板减少症临床特点分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志, 2014, 12(6): 793-796.
- [8] 周华玲. 血小板减少产妇产剖宫产麻醉方式选取及安全性分析[J]. 医学理论与实践, 2018, 31(12): 1814-1816.
- [9] 梁大顺, 曹金良, 许晓梦, 等. 妊娠合并血小板减少症产妇剖宫产术麻醉方法的临床分析[J]. 内蒙古医学杂志, 2016, 48(6): 691-693.
- [10] 邹晨明. 25G 脊麻针单穿腰麻用于血小板减少剖宫产手术的临床体会[J]. 泰山医学院学报, 2016, 37(4): 440-441.
- (收稿日期: 2019-10-06 修回日期: 2020-03-25)
- 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 12. 038

肺炎克雷伯菌在某院医院内感染中的分布及耐药性分析

肖启国, 汤美华

湖南省衡阳市中心医院检验科, 湖南衡阳 421001

摘要:目的 分析该院 2015 年 1 月至 2016 年 12 月临床分离的肺炎克雷伯菌的分布情况及耐药性, 以指导临床合理用药, 控制肺炎克雷伯菌在医院内的感染。方法 对临床分离出来的 286 株肺炎克雷伯菌进行标本、科室分布的统计及耐药性分析, 并对其中多重耐药肺炎克雷伯菌进行产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)、头孢菌素酶(AmpC)、碳青霉烯酶(KPC)、新德里金属 β -内酰胺酶(NDM-1)等试验。结果 286 株肺炎克雷伯菌主要来自痰液, 占 79.72%(228/286), 其次为尿液及伤口分泌物, 分别占 8.74%(25/286)、5.59%(16/286); 主要分布于重症监护病房(ICU)、呼吸内科, 分别占 56.29%(161/286)、27.62%(79/286)。产 ESBLs 肺炎克雷伯菌检出 162 株, 检出率为 56.64%(162/286); 产 AmpC 检出 39 株, 检出率为 13.64%(39/286); 产 KPC 28 株, 检出率为 9.79%(28/286); 产 NDM-1 检出 2 株, 检出率为 0.70%(2/286)。结论 该院肺炎克雷伯菌主要分离自痰标本, 以 ICU 感染最为严重, 肺炎克雷伯菌的耐药率比较高, 且耐药表型多样, 研究多重耐药株的耐药机制非常重要, 以便控制医院内感染。

关键词: 多重耐药肺炎克雷伯菌; 超广谱 β -内酰胺酶; 药敏试验; 医院内感染

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)12-1754-04

肺炎克雷伯菌作为一种常见的病原体类型, 广泛分布于人体皮肤、鼻咽部、呼吸道、肠道及自然界的水土中^[1]。肺炎克雷伯菌常定植于人体呼吸道与肠道, 可通过侵入性操作侵犯伤口和泌尿道而引起感染, 当人体免疫力降低时, 可以引起较为严重的感染, 甚至败血症^[2-4]。近年来, 由于各类广谱抗菌药物大量应用于临床, 同时激素、免疫抑制剂的使用也在不断增加, 特别是第三代头孢菌素的广泛使用, 使细菌在药物的选择压力下获得多重耐药性等, 且随着产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株的出现, 细菌耐药性日趋严峻^[5]。对于 ESBLs 肠杆菌科细菌感染的治疗, 目前临床中主要是应用碳青霉烯类抗菌药物, 临床疗效显著, 但最近, 肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶(KPC)在国内外的报道越来越多^[6-7]。对于临床分离的肺炎克雷伯菌, 主要是产头孢菌素酶(AmpC)、KPC 及 ESBLs。本研究对本院分离的多重耐药肺炎克雷伯菌的耐药性进行分析, 旨在对临床合理用药产生指导性意义, 并对此种细菌在医院内的感染加以有效控制, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2015 年 1 月至 2016 年 12 月来自临床住院患者痰、咽拭子、尿液、血液等标本分离的 286 株肺炎克雷伯菌。

1.2 仪器与试剂 TDR-300B 微生物鉴定分析仪, 比浊仪, ESBLs 检测试剂盒, MH 琼脂平板, OXOID 药敏纸片, 游标卡尺, 离心机, 三洋低温冰箱 MD-FU32V。

1.3 方法

1.3.1 药敏试验 采用纸片扩散法(K-B 法)和最低抑菌浓度(MIC)试验检测肺炎克雷伯菌对阿米卡星(AK)、庆大霉素(CN)、氨苄西林(AMP)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、哌拉西林(PIP)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、妥布霉素(TOB)、亚胺培南(IMP)、头孢曲松(CRO)、头孢唑啉(KZ)、头孢他啶(CAZ)、头孢呋辛(CXM)、头孢吡肟(FEP)、头孢噻肟(CTX)、头孢西丁(FOX)、氨曲南(ATM)、复方磺胺甲噁唑(SXT)、洛美沙星(LOM)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LEV)等药物的耐药性。判定标准依据美国临床和实验室标准协会(CLSI)(2014 年版)的规定。

1.3.2 ESBLs 表型筛选与确证试验 筛选出药敏试验中抑菌环直径 CAZ $\leq$ 22 mm 或 CTX $\leq$ 27 mm 或 CRO $\leq$ 25 mm 或 ATM $\leq$ 27 mm 的菌株为疑产 ESBLs 株。对疑产 ESBLs 菌株再采用 K-B 法进行确证试验, 使用每片含 30 μ g CAZ、CTX 纸片和头孢他啶/克拉维酸(CAC, 30 μ g/10 μ g)、头孢噻肟/克拉维酸(CTC, 30 μ g/10 μ g)复合纸片进行试验, 当任何一

种复合药敏纸片抑菌圈直径与其单独药敏纸片抑菌圈直径之差 ≥ 5 mm,即可确认为产 ESBLs 株。

1.3.3 KPC 表型筛查试验 采用 K-B 法,根据 CLSI(2014 年版)标准,美罗培南(MEM,10 μ g)或 IMP(10 μ g)抑菌圈直径 ≤ 22 mm 为表型筛查阳性。

1.3.4 产新德里金属 β -内酰胺酶(NDM-1)表型确诊试验 双纸片协同试验采用 IMP(10 μ g)或 MEM(10 μ g)/乙二胺四乙酸(EDTA,1 500 μ g)两种纸片(K-B 法),两纸片距离 10~15 mm,在含 EDTA 纸片方向处,MEM 或 IMP 抑菌圈直径扩大,即可判定产 NDM-1;组合纸片法采用 IMP(10 μ g)或 MEM(10 μ g)/EDTA 复合纸片进行 K-B 法试验,复合纸片比单药纸片的抑菌圈直径增大值为 ≥ 5 mm,即可判定产 NDM-1。

1.3.5 改良霍奇试验 制备好 0.5 麦氏浊度的大肠埃希菌 ATCC25922 菌悬液,然后将菌悬液进行 10 倍稀释,并使用棉签将其均匀地涂布于 MH 平板中,然后在平板中央贴含 10 μ g MEM 的纸片。使用接种环挑取受试菌自纸片边缘向平板边缘划线接种。35 $^{\circ}$ C 孵育过夜,如果矢状生长存在于 MEM 抑菌圈与待测菌株接种线交界处,则说明产 KPC 呈阳性。

1.3.6 AmpC 表型筛选及确认 采用 FOX 纸片使用琼脂扩散法检测临床分离菌株。当抑菌圈直径 ≤ 18 mm 时,说明对 FOX 产生耐药或中介,可能为产 AmpC 菌株,提示 AmpC 表型筛选呈现阳性。AmpC 的确认试验:FOX 三维确认试验是检测 AmpC 的经典方法,在涂布了 0.5 麦氏浊度大肠埃希菌标准菌株的平板上贴 FOX 纸片,向离心方向使用无菌刀片切一裂隙,距纸片边缘 5 mm 处,将 30~40 μ L 的待检菌株 β -内酰胺酶初提液(过滤或低温超速离心除去活菌)加入裂隙中,并防止酶初提液溢出裂隙,进行过夜培养,温度在 35 $^{\circ}$ C,如果细菌生长于抑菌圈内裂隙旁,则说明产 AmpC 阳性。采取反复冻融法进行粗酶提取。

1.3.7 质控菌株 质控菌株包括大肠埃希菌 ATCC25922 及肺炎克雷伯菌 ATCC700603。

1.4 统计学处理 数据统计应用 WHONET5.4 软

件,采用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理,产 ESBLs 与非产 ESBLs 的耐药率比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 标本分布 286 株肺炎克雷伯菌主要分离自痰(228 株,79.72%)、尿液(25 株,8.74%)、伤口分泌物(16 株,5.59%)。见表 1。

2.2 科室分布 286 株肺炎克雷伯菌主要分布在 ICU(56.29%),呼吸内科(27.62%),见表 2。

2.3 药敏试验比较 分离的 286 株肺炎克雷伯菌中,产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌 162 株,检出率为 56.64%,其耐药率远远高于非产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 1 肺炎克雷伯菌株标本类型分布构成比(%)

标本类型	株数	构成比(%)
痰	228	79.72
尿液	25	8.74
伤口分泌物	16	5.59
血液	7	2.45
咽拭子	5	1.75
胸腔积液和腹水	2	0.70
其他标本	3	1.05
合计	286	100.00

表 2 肺炎克雷伯菌株在各科室分布构成比(%)

科室	<i>n</i>	构成比(%)
ICU	161	56.29
呼吸内科	79	27.62
神经内科	16	5.59
心内科	12	4.20
泌尿外科	6	2.10
胸外科	4	1.40
肿瘤内科	3	1.05
其他科室	5	1.75
合计	286	100.00

表 3 产与非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌株耐药率(%)

抗菌药物	产 ESBLs 肺炎克雷伯菌菌株(<i>n</i> =162)				非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌菌株(<i>n</i> =124)			
	耐药(株)	耐药率(%)	中介(株)	中介率(%)	耐药(株)	耐药率(%)	中介(株)	中介率(%)
AMP	162	100.00	0	0.00	6	4.84	10	8.06
SAM	154	95.06	8	4.94	4	3.23	6	4.84
PIP	158	97.53	4	2.47	48	38.71	18	14.52
TZP	34	20.99	16	9.88	0	0.00	0	0.00
KZ	162	100.00	0	0.00	3	2.42	4	3.23
CXM	162	100.00	0	0.00	2	1.61	3	2.42
CAZ	162	100.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
CRO	162	100.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
CTX	162	100.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00

续表 3 产与非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌株耐药率(%)

抗菌药物	产 ESBLs 肺炎克雷伯菌株(<i>n</i> =162)				非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌株(<i>n</i> =124)			
	耐药(株)	耐药率(%)	中介(株)	中介率(%)	耐药(株)	耐药率(%)	中介(株)	中介率(%)
FEP	162	100.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
FOX	56	34.57	10	6.17	0	0.00	0	0.00
AK	30	18.52	9	5.56	0	0.00	2	1.23
CN	118	72.84	0	0.00	2	1.61	0	0.00
TOB	129	79.63	0	0.00	5	4.03	0	0.00
CIP	135	83.33	0	0.00	4	1.85	5	4.03
LOM	121	74.69	4	2.47	3	2.42	3	2.42
LEV	118	72.84	3	1.85	0	0.00	2	1.61
IMP	28	17.28	2	1.23	0	0.00	0	0.00
SXT	138	85.19	0	0.00	30	24.19	0	0.00

2.4 耐药表型分析 本研究 286 株肺炎克雷伯菌中产 ESBLs 菌株 162 株,检出率为 56.64%;产 AmpC 酶菌株 39 株,检出率为 13.64%;产 KPC 酶菌株 28 株,检出率为 9.79%;产 NDM-1 菌株 2 株,检出率为 0.70%。

3 讨 论

作为引起呼吸道感染为主要医院内感染的一种常见致病菌,肺炎克雷伯菌多造成肺、创面、泌尿系统及血液等的感染,导致患者出现菌血症、肺炎及尿路感染等。本研究对分离的 286 株来自临床患者的肺炎克雷伯菌进行分析,分离自痰和咽拭子的标本占 81.47%,且临床分布主要在 ICU 和呼吸内科,表明该菌主要引起呼吸道感染,与文献报道较一致^[8-9]。肺炎克雷伯菌由于受到抗菌药物广泛使用的影响,其耐药菌株呈现出逐年上升的趋势。在本研究中,肺炎克雷伯菌的耐药性主要体现在第二代头孢菌素中,与此同时,对第三代头孢菌素及第四代头孢菌素的耐药性也在持续增加,但是对碳青霉烯类抗菌药物(如 IMP 和 MEM)的耐药率相对较低,但有逐年增高的趋势^[10-11]。本研究检出产 KPC 肺炎克雷伯菌 28 株,检出率 9.79%,应引起临床医生的重视,而造成此结果的主要原因可能是受到第三代头孢菌素和 IMP/西司他丁钠应用于呼吸内科及 ICU 的影响,此次标本结果中共有产 NDM-1 的肺炎克雷伯菌患者 2 例,为防止该基因的扩散流行,临床及感控部门应引起重视。

由于第三代头孢菌素在临床中广泛使用,产 ESBLs 及高产 AmpC 的革兰阴性杆菌在持续增加,而且临床中广泛应用碳青霉烯类药物(如 IMP),因此造成产 KPC 的肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌的不断出现,同时产 NDM-1 的肺炎克雷伯菌也被检出,多重耐药和泛耐药的革兰阴性杆菌在临床不断被检出,并且面临着世界性流行,成为严重的社会问题,引起国内外卫生组织的广泛关注。

将产与非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的耐药性作为本次研究的重要分析内容,在耐药性方面,产 ESBLs 明显高于非产 ESBLs 菌株。作为肺炎克雷伯菌的多重耐药机制,产 ESBLs 的菌株能够对广谱青霉素和

第一、二、三代头孢菌素产生分解作用,与此同时甚至能够水解第四代头孢菌素等 β-内酰胺类抗菌药物,其对氨基糖苷类及喹诺酮类抗菌药物的耐药性也相对较高。本研究结果显示,产 ESBLs 肺炎克雷伯菌菌株中对含酶抑制剂的复合抗菌药物 SAM 耐药率高达 95.06%,说明 SAM 已经不适应于临床对产 ESBLs 菌株引起感染的治疗,TZP 耐药率相对较低,但也有 20.99%。本研究中,产 AmpC 检出率为 13.64%(39 株),其中 12 株同时产 ESBLs 和 AmpC 菌株直接影响了复合抗菌药物(含酶抑制剂)对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的临床治疗效果,但是产 ESBLs 菌株对 IMP 等碳青霉烯类抗菌药物具有较高的敏感性,临床上仍可直接用于治疗产 ESBLs 肺炎克雷伯菌引起的重度感染。

本研究结果显示,产 ESBLs 肺炎克雷伯菌检出率为 56.64%,与国内报道的结果相近^[12],表明本院也普遍存在较为严重的 ESBLs 菌株流行,其耐药机制主要包括:抗菌药物渗透障碍、改变抗菌药物作用靶点、产生抗菌药物主动外排机制、产生抗菌药物灭活酶并在菌种间经多种途径进行耐药基因的传播。抗菌药物在医院、社区滥用是产生 ESBLs 耐药菌株的重要原因,为降低产 ESBLs 菌株的发生率,应加强控制抗菌药物的使用,抑制耐药菌株的流行,建立细菌耐药检测体系,及时开展快速检测产 ESBLs、NDM-1、AmpC 及 KPC,确保为抗菌药物在临床中的合理使用提供更直接、更有效的证据,以指导临床合理用药,控制多重耐药菌株的产生与传播,防止耐药株产生,引发医院内感染。

参考文献

[1] GAYNES R,EDWARDS J R. Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli[J]. Clin Infect Dis,2005,41(6):848-851.
[2] 王玉红,邓敏,曾吉. 肺炎克雷伯菌耐药机制研究进展[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(4):478-480.
[3] 张秋桂. 产 ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(4):457-458.
[4] RAHL J J,URBAN C,SEGAL-MANNER S. Nosocomial

antibiotic resistance in multiple gram negative species: experience at one hospital with squeezing the resistance balloon at multiple sites[J]. Clin Infect Dis, 2002, 34(4): 499-503.

[5] 肖永红,王进,朱燕,等. Mohnarin 2008 年度全国细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(16): 2377-2383.

[6] DESHPANDE L M, JONES R N, FRITSCH T R, et al. Occurrence and characterization of carbapenemase producing Enterobacteriaceae Program (2000 - 2004) [J]. Microb Drug Resist, 2006, 12(4): 223-230.

[7] WEI Z Q, DU X X, YU Y S, et al. Plasmid-mediated KPC-2 in a Klebsiella pneumoniae isolate from China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(2): 763-765.

[8] 赵广玉,黄继勋. 肺炎克雷伯菌耐药及抗菌药物应用分析[J]. 中国药房, 2008, 19(32): 2518-2520.

[9] 陈国英,陈建江,姜晓寅. 肺炎克雷伯菌的分布与药敏性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(8): 1700-1702.

[10] 侯新月,李红,尹惠霞. 2007—2011 年医院感染肺炎克雷伯菌耐药性变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(5): 1073-1075.

[11] ANDEERSON K F, LONSWAY D R, RASHEED J K, et al. Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in enterobacteriaceae [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(8): 2723-2725.

[12] 周丽燕,洪滢,蒋晓梅. 产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌耐药性分析[J]. 临床合理用药, 2014, 7(5): 80-81.

(收稿日期: 2019-10-06 修回日期: 2020-03-26)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 12. 039

可溶性髓系细胞触发受体-1、肺炎支原体及肺炎衣原体联合检测对早期肺炎的诊断价值分析

杨群芳, 杨秀清, 温远生, 张海林
广东省惠州市中医医院检验科, 广东惠州 516003

摘要:目的 探讨可溶性髓系细胞触发受体-1(sTREM-1)、肺炎支原体(MP)及肺炎衣原体(CP)联合检测对早期肺炎诊断的价值。方法 选取该院在 2018 年 1 月至 2019 年 5 月到该院就诊并被诊断为肺炎的患者 160 例作为观察组, 根据患者血清 sTREM-1 水平进一步分为观察 1 组、观察 2 组、观察 3 组和观察 4 组, 另选取同期入院且 sTREM-1 水平正常的患者 40 例作为对照组, 使用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清 sTREM-1 的水平, 使用荧光显微镜检测 MP 和 CP 抗体水平, 统计并分析其各组结果的差异性。结果 对照组 MP 和 CP 检出率最低, 分别是 0 和 2.5%(1/40); 观察组 MP 检出率为 68.1%(109/160), CP 检出率为 56.9%(91/160); 观察 1、2、3、4 组及对照组患者 MP 和 CP 检出率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。观察 1、2、3、4 组 sTREM-1 表达水平均显著高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 观察 2 组显著高于观察 1 组, 观察 3 组显著高于观察 2 组, 观察 4 组显著高于观察 1、2、3 组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。logistic 回归结果显示, sTREM-1、MP-IgM 和 CP-IgM 与肺炎早期诊断和治疗相关。受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析结果显示, sTREM-1、MP-IgM、CP-IgM、sTREM-1 + MP-IgM、sTREM-1 + CP-IgM、CP-IgM + MP-IgM 和三者联合检测诊断肺炎的曲线下面积分别为 0.655、0.556、0.671、0.719、0.808、0.830、0.922。结论 联合检测 sTREM-1、MP 和 CP 可提高肺炎的早期检出率。

关键词:可溶性髓系细胞触发受体-1; 肺炎; 肺炎支原体; 肺炎衣原体; 酶联免疫吸附试验
中图法分类号:R446.5; R563.1+9 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2020)12-1757-04

肺炎是指由细菌、病毒、真菌和非典型病原体等致病微生物所致的终末气道、肺泡和肺间质的炎症, 或者因放射线、吸入性异物等理化因素引起^[1]; 临床多表现为突然寒战、高热伴有头痛、全身肌肉酸软、食欲减退、胸痛、咳嗽和呼吸困难等典型症状, 早期肺炎为刺激性干咳, 继而咳出白色黏液痰或带血丝痰, 后 1~2 d 可咳出黏液血性痰、脓性痰, 消散期痰量增多, 痰黄且稀薄, 重症肺炎可出现神志模糊、烦躁、嗜睡和昏迷等^[2]。由于症状和体征的相似, 肺炎难以与心力衰竭、肺不张、肺栓塞和肺出血等进行鉴别, 且由于漏诊、误诊的发生和抗菌药物耐药性的提高, 避免早期肺炎发展成重症, 以及准确诊断肺部感染是否为细菌感染对肺炎患者具有重要的意义^[3]。可溶性髓系细

胞触发受体-1(sTREM-1)是一种免疫球蛋白, 主要在人体感染过程中释放到体液, 研究发现其可能与降钙素原和 C 反应蛋白等相似, 可帮助判断是否为细菌感染。肺炎支原体(MP)和肺炎衣原体(CP)是引起呼吸道感染的常见病原体, 大小介于细菌和病毒微生物之间, 其在入侵人体后主要通过黏附呼吸道上皮细胞表面的受体来致使肺部感染, 容易造成家庭和社区的流行^[4-5]。因此, sTREM-1、MP 及 CP 联合检测对早期肺炎的诊治具有良好的应用前景。

1 资料与方法
1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2019 年 5 月到本院就诊并被诊断为肺炎的患者 160 例(观察组), 根据患者血清 sTREM-1 水平进一步分为观察 1 组