

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.17.008

耐碳青霉烯肠杆菌科细菌的耐药性和分子特征^{*}

崔超琼,周义正,李承彬[△]

湖北省荆州市中心医院医学检验部,湖北荆州 434020

摘要:**目的** 了解该院耐碳青霉烯肠杆菌科细菌(CRE)的流行特点、耐药现状及分子型别,为控制 CRE 的传播及临床治疗提供科学依据。**方法** 收集该院微生物室 2017 年 1 月至 2019 年 5 月临床标本中分离的 91 株 CRE,使用 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定系统进行细菌鉴定和药敏试验,改良碳青霉烯灭活试验(mCIM)和乙二胺四乙酸改良碳青霉烯灭活试验(eCIM)联合检测碳青霉烯酶表型,采用 PCR 扩增耐药基因,多位点序列分型(MLST)分析菌株间同源性,采用 WHONET5.6 和 SPSS23.0 进行统计分析。**结果** 91 株 CRE 菌株中,肺炎克雷伯菌 42 株,大肠埃希菌 23 株,阴沟肠杆菌 15 株,其他 CRE 11 株。CRE 菌株对替加环素和阿米卡星敏感性较高,但对其他大部分抗菌药物耐药性较高。mCIM 筛选碳青霉烯酶的灵敏度为 97.1%,特异度为 100.0%。60 株 CRE 携带 1 种碳青霉烯酶基因,8 株 CRE 菌株合并 2 种碳青霉烯酶基因,毒力基因 wcaG 检出率为 2.4%。耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌的 MLST 结果是 ST11 型 12 株,ST37 型 8 株,ST17 型 8 株,ST147 型 2 株,ST48 型 1 株;耐碳青霉烯类药物大肠埃希菌的 MLST 结果是 ST167 型 17 株;耐碳青霉烯类药物阴沟肠杆菌的 MLST 结果是 ST418 型 6 株,ST93 型 4 株,ST74 型 2 株,ST175 型 1 株。**结论** 该院 CRE 菌株对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制复杂。分子型别较多,各菌株呈现不同特点。

关键词:耐碳青霉烯肠杆菌科细菌; 耐药机制; 碳青霉烯酶; 膜孔蛋白; MLST

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)17-2455-06

Molecular characteristics of carbapenem resistant Enterobacteriaceae^{*}

CUI Chaoqiong, ZHOU Yizheng, LI Chengbin[△]

Department of Laboratory Medical, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou, Hubei 434020, China

Abstract:**Objective** To understand the epidemic characteristics, resistance phenotypes and homology of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE) and to provide experimental basis for the control of CRE transmission and treatment. **Methods** A total of 91 strains of CRE were collected from the clinical samples of Jingzhou Central Hospital from January 2017 to May 2019. VITEK 2 Compact automatic bacterial identification system was used for bacterial identification and drug sensitivity test, modified carbapenemase inactivation test (mCIM) and ethylenediamine tetraacetic acid modified carbapenemase inactivation test (eCIM) were used to detect the phenotype of carbapenemase, PCR was used to amplify the drug-resistant gene, multi locus sequence typing (MLST) was used to analyze the homology among strains, WHONET5.6 and SPSS23.0 were used for statistical analysis. **Results** Among the 91 CRE strains, there were 42 strains of Klebsiella pneumoniae, 23 strains of Escherichia coli and 15 strains of Enterobacter cloacae, and 11 strains of others. CRE strains were highly sensitive to tigecycline and amikacin, but resistant to most other antibiotics. The sensitivity and the specificity of mCIM were 97.1% and 100.0%. 60 strains of CRE strains had one kind of carbapenemase gene, and 8 strains of CRE had two kinds of carbapenemase genes. The detection rate of virulence gene wcaG was 2.4%. The MLST of carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae was 12 strains of ST11, 8 strains of ST37, 8 strains of ST17, 2 strains of ST147 and 1 strain of ST48. The MLST of carbapenem resistant Escherichia coli was 17 strains of ST167. The MLST of carbapenem resistant Enterobacter cloacae was 6 strains of ST418, 4 strains of ST93, 2 strains of ST74 and 1 strain of ST175. **Conclusion** The resistance mechanism of CRE strains to carbapenems is complex. There are many molecular types, and each strain has different characteristics.

^{*} 基金项目:湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H186)。

作者简介:崔超琼,女,技师,主要从事临床检验诊断方向研究。 [△] 通信作者, E-mail:3079897218@qq.com。

Key words: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; resistance mechanism; carbapenem; membrane porin; multilocus sequence typing

临床上引起感染的细菌多为革兰阴性菌,尤其是肠杆菌科细菌。近年来,耐碳青霉烯肠杆菌科细菌(CRE)导致的感染不断增多,已对全球公共卫生健康构成严重威胁。CRE 感染所带来的威胁主要表现在其高传播性、高耐药性和高病死率。最近 2 年本院 CRE 感染病例呈不断增多的趋势。为遏制该趋势和精准防控 CRE 流行,本研究以本院近 2 年来分离的 CRE 菌株为研究对象,对其流行特点、耐药现状和分子型别等方面展开研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集荆州市中心医院 2017 年 1 月至 2019 年 5 月临床标本中分离的 91 株 CRE,剔除同一患者相同部位重复分离的菌株,分离自痰 40 株,尿液 17 株,分泌物 12 株,血液 10 株,胸腔积液、腹水 5 株,胆汁 4 株,组织培养 2 株,脑脊液 1 株。药敏试验质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922,碳青霉烯酶表型筛选试验质控株为大肠埃希菌 ATCC BAA-2469、肺炎克雷伯菌 ATCC BAA 1705(阴性质控株)、肺炎克雷伯菌 ATCC BAA 1706(阳性质控株)。

1.2 仪器与试剂 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪(法国生物梅里埃公司)、ABI 7500 PCR 仪(美国 ABI 公司)、PowerPac 3000 电泳仪(上海伯乐生命医学产品有限公司)、BioDoc-It2Imager 凝胶成像系统(美国 UVP 公司)。胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB,杭州滨和微生物试剂公司)、细菌基因组 DNA 快速抽提试剂和 Sangon Bitech 扩增试剂盒(上海生工生物工程上海股份有限公司)、Marker DNA2000(大连宝生物工程有限公司)、E-test 条(法国生物梅里埃公司)。

1.3 菌株保存 将临床标本按照《全国检验技术操作规程(第 4 版)》^[1]的要求进行接种培养,使用 Vitek 2 Compact 全自动微生物系统鉴定细菌和药敏试验,选取目标菌落,用无菌滤纸刮取血平板上分纯的菌落,置于 EP 管中,-70 ℃低温冰箱保存。

1.4 菌株复苏、鉴定和药敏试验 将保存的 CRE 菌株转种于血琼脂平板,复苏成功的细菌经基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪进行细菌鉴定复核。用 Vitek 2 Compact 配套 AST-GN16 药敏卡进行药敏试验;用 E-test 法复测亚胺培南和厄他培南的最低抑菌浓度(MIC)。药敏结果按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2018^[2]标准判读。

1.5 碳青霉烯酶表型筛选试验 根据 CLSI 2018^[2]指南进行改良碳青霉烯灭活试验(mCIM)和乙二胺四乙酸改良碳青霉烯灭活试验(eCIM)。筛选产碳青霉烯酶菌株,仅在 mCIM 阳性时,eCIM 阳性结果才有效,反之,eCIM 试验阳性结果不作解释。

1.6 耐药基因检测 引物序列查阅文献[3-5]获得,由上海生工生物工程上海股份有限公司合成引物。CRE 菌株 DNA 提取参照细菌基因组 DNA 快速抽提试剂盒操作,扩增碳青霉烯酶基因、ESBLs 基因、膜孔蛋白基因及毒力基因,PCR 反应体系为 50 μL,包括 25 μL 2×San Taq PCR Mix,上游引物(10 μmol/L)2 μL,下游引物(10 μmol/L)2 μL,灭菌水 20 μL,DNA 模板 1 μL,基因退火温度及循环次数见表 1,预变性 92 ℃ 10 min,变性 92 ℃ 1 min,退火 1 min,延伸 72 ℃ 1 min,继续延伸 72 ℃ 10 min,4 ℃保存。再经琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增产物的特异性,并进行相应的测序分析。

表 1 PCR 扩增引物序列信息

基因	引物序列(5'-3')	片段长度(bp)	温度(℃)	循环次数(次)
KPC	F:CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798	56.0	28
	R:CTTGTCATCCTTGTTAGGCG			
NDM	F:GGTTTGCGATCTGGTTTTC	621	57.0	30
	R:CGGAATGGCTCATCACGATC			
VIM	F:GATGGTGTTTGGTCGCATA	390	58.3	30
	R:CGAATGCGCAGCACCAG			
IMP	F:GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC	232	54.5	25~30
	R:GGTTTAAAYAAAACAACCACC			
OXA-48	F:GCGTGGTTAAGGATGAACAC	438	63.8	28
	R:CATCAAGTTCAACCCAACCG			
TEM	F:GAGTATTCAACATTTCCGTGTC	861	55.0	30
	R:TAATCAGTGAGGCACCTATCTC			

续表 1 PCR 扩增引物序列信息

基因	引物序列(5′—3′)	片段长度(bp)	温度(℃)	循环次数(次)
SHV	F: AAGATCCACTATCGCCAGCAG	231	64.0	30
	R: ATTCAGTTCCGTTTCCCAGCGG			
CTX-m	F: GACGATGTCACTGGCTGAGC	499	59.0	30
	R: AGCCGCCGACGCTAATACA			
Ompk35	F: CAGACACCAAACCTCTCATCAATGG	1 183	58.5	25
	R: AGAATTGGTAAACGATACCCACG			
Ompk36	F: CAGCACAATGAATATAGCCGAC	1 115	62.0	25
	R: GCTGTTCGTCCAGCAGGTTG			
magA	F: GGTGCTCTTTACATCATTGC	1 282	60.0	25
	R: GCAATGGCCATTTGCGTTAG			
rmpA	F: ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	516	56.8	25
	R: CTTGCATGAGCCATCTTTCA			
wcaG	F: GGTTGKTCAGCAATCGTA	169	55.7	28
	R: ACTATTCCGCCAACTTTTGC			

1.7 多位点序列分型(MLST) 耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌 MLST 根据数据库 <http://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html> 中的引物和标准操作条件扩增 gapA、infB、mdh、pgi、phoE、rpoB 和 tonB 7 个管家基因;耐碳青霉烯类药物大肠埃希菌 MLST 根据数据库 <http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Ecoli> 标准操作扩增 adK、fumC、gyrB、icd、mdh、purA 和 recA 7 个管家基因;耐碳青霉烯类药物阴沟肠杆菌 MLST 根据数据库 <https://pubmlst.org/ecloacae/> 标准操作扩增 dnaA、fusA、gyrB、leuS、pyrG、rplB 和 rpoB 7 个管家基因;扩增产物测序结果上传至上述网页比对,查询得到对应等位基因型和 ST 型。

1.8 统计学处理 数据分析采用 WHONET5.6 和 SPSS23.0 软件,计数资料采用 χ^2 检验比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CRE 菌株药敏结果 91 株 CRE 菌株中,重症监护室(ICU) 27 株、外科 27 株、内科 17 株、儿科 15 株、其余科室 5 株。菌种分布中,肺炎克雷伯菌 42 株,植生克雷伯菌 3 株,解鸟氨酸克雷伯菌 1 株,大肠埃希菌 23 株,阴沟肠杆菌 15 株,弗氏柠檬酸杆菌 3 株,摩根摩根菌 3 株,奇异变形杆菌 1 株。受试菌对 18 种抗菌药物高度耐药,其中对替加环素敏感性最高(94.5%),其次为阿米卡星(62.6%)、复方磺胺甲噁唑(36.2%),对其余抗菌药物敏感性均低于 30.0%。阴沟肠杆菌对环丙沙星和左氧氟沙星的敏感性高于肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌。有 73.9%的大肠埃希菌对阿米卡星敏感,而 60.0%的阴沟肠杆菌和 52.3%的肺炎克雷伯菌对阿米卡星敏感。见表 2。

2.2 mCIM 和 eCIM 联合检测结果 68 株碳青霉烯酶基因阳性菌株中,66 株 mCIM 结果阳性,23 株碳青霉烯酶基因阴性菌株,mCIM 结果均为阴性,mCIM 筛选产碳青霉烯酶菌株的灵敏度为 97.1%,特异度为 100.0%。53 株金属 β -内酰胺酶基因阳性菌中,50 株 eCIM 结果阳性;38 株金属 β -内酰胺酶基因阴性菌中,eCIM 结果均为阴性,则 eCIM 筛选产金属 β -内酰胺酶的灵敏度为 94.3%,特异度为 100.0%。15 株丝氨酸碳青霉烯酶基因阳性菌,eCIM 结果均为阴性,76 株丝氨酸碳青霉烯酶基因阴性菌中,70 株 eCIM 结果阳性,则 eCIM 筛选产丝氨酸碳青霉烯酶的灵敏度为 100.0%,特异度为 92.1%。

2.3 耐药基因检测结果 91 株 CRE 菌株中,60 株(65.9%)CRE 携带 1 种碳青霉烯酶基因,其中耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌主要产 KPC(28.5%),耐碳青霉烯类药物大肠埃希菌主要产 NDM(73.9%),耐碳青霉烯类药物阴沟肠杆菌主要产 NDM(53.3%)。8 株(8.8%)CRE 菌株合并 2 种碳青霉烯酶基因,3 株耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌中,2 株携带 NDM 和 IMP 基因,1 株携带 NDM 和 OXA-48 基因;1 株耐碳青霉烯类药物大肠埃希菌携带 KPC 和 NDM 基因;2 株耐碳青霉烯类药物阴沟肠杆菌携带 NDM 和 VIM 基因;1 株耐碳青霉烯类药物解鸟氨酸克雷伯菌和 1 株耐碳青霉烯类药物植生克雷伯菌均携带 KPC 和 VIM 基因。25.3%的 CRE 菌株碳青霉烯酶基因阴性。97.6%的耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌携带 ESBLs 基因,其余细菌 100.0%携带 ESBLs 基因。42 株耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌毒力基因检测中,仅有 1 株检出毒力基因 wcaG(2.4%)。见表 3。

表 2 CRE 菌株抗菌药物敏感结果(%)

抗菌药物	总计(<i>n</i> =91)		肺炎克雷伯菌(<i>n</i> =42)		大肠埃希菌(<i>n</i> =23)		阴沟肠杆菌(<i>n</i> =15)	
	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感
氨曲南	83.5	16.4	95.2	4.7	86.9	13.0	73.3	26.6
头孢唑啉	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
头孢西丁	92.3	6.5	95.2	4.7	95.6	4.3	93.3	6.6
头孢曲松	93.4	6.5	100.0	0.0	91.3	8.6	90.5	3.6
头孢吡肟	78.0	19.7	85.7	14.2	91.3	4.3	66.6	33.3
氨苄西林	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
环丙沙星	76.9	18.6	78.5	16.6	86.9	8.6	66.6	26.6
左氧氟沙星	68.1	29.6	76.1	23.8	78.2	21.7	53.3	40.4
庆大霉素	73.6	26.3	78.5	21.4	69.5	30.4	66.6	33.3
阿米卡星	36.2	62.6	47.6	52.3	21.7	73.9	40.0	60.0
亚胺培南	91.2	3.2	92.8	4.7	91.3	4.3	86.6	0.0
厄他培南	96.7	3.2	100.0	0.0	100.0	0.0	86.6	13.3
复方磺胺甲噁唑	63.7	36.2	64.2	35.7	65.2	34.7	53.3	46.6
呋喃妥因	61.5	26.3	76.1	9.5	43.4	39.1	66.6	20.0
妥布霉素	62.6	20.8	59.5	23.8	69.5	26.0	73.3	6.6
替加环素	5.4	94.5	9.5	90.4	4.3	95.6	0.0	100.0
哌拉西林/他唑巴坦	82.4	8.7	90.4	2.3	91.3	4.3	60.0	33.3
阿莫西林/克拉维酸	92.3	7.6	92.8	7.1	95.6	4.3	86.6	12.6

表 3 PCR 扩增结果(*n*,%)

细菌名称	<i>n</i>	碳青霉烯酶基因型	ESBLs 基因型	膜孔蛋白基因型
肺炎克雷伯菌	42	KPC(12,28.6)	TEM(41,97.6)	Ompk35(37,88.1)
		NDM(11,26.2)	SHV(36,85.7)	Ompk36(39,92.9)
		IMP(10,23.8)	CTX-m(16,38.1)	
		OXA-48(1,2.4)		
大肠埃希菌	23	KPC(1,4.3)	TEM(23,100.0)	Ompk35(21,91.3)
		NDM(17,73.9)	SHV(3,13.0)	Ompk36(2,8.7)
			CTX-m(13,56.5)	
阴沟肠杆菌	15	NDM(8,53.3)	TEM(15,100.0)	Ompk36(1,6.6)
		VIM(3,20.0)	SHV(10,66.7)	
		IMP(4,26.7)	CTX-m(1,6.7)	
弗氏柠檬酸杆菌	3	NDM(3,100.0)	TEM(3,100.0)	Ompk35(1,33.3)
			SHV(1,33.3)	
			CTX-m(1,33.3)	
摩根摩根菌	3	IMP(1,33.3)	TEM(3,100.0)	
植生克雷伯菌	3	KPC(1,33.3)	TEM(3,100.0)	
		VIM(1,33.3)	CTX-m(1,33.3)	
		IMP(1,33.3)		
其他	2	KPC(1,50.0)	TEM(2,100.0)	Ompk36(1,50.0)
		VIM(1,50.0)	CTX-m(1,50.0)	

注:其他 CRE 包括 1 株解鸟氨酸克雷伯菌和 1 株奇异变形杆菌。

2.4 MLST 结果 42 株耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 MLST 有 4 类,其中 ST11 型 12 株,ST37 型 8 株,

ST17 型 8 株,ST147 型 2 株,ST48 型 1 株,未分型 11 株。23 株耐碳青霉烯类药物大肠埃希菌 MLST 主要是 ST167 型 17 株,未分型 6 株。15 株耐碳青霉烯类药物阴沟肠杆菌 MLST 有 4 类,其中 ST418 型 6 株,ST93 型 4 株,ST74 型 2 株,ST175 型 1 株,未分型 2 株。

3 讨 论

碳青霉烯类抗菌药物对厌氧菌、革兰阳性菌和革兰阴性菌引起的临床感染均有一定的疗效,被广泛用于重症感染患者的治疗,因高频率和不合理地使用抗菌药物,CRE 逐渐增多。中国细菌耐药监测网数据表明,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药率已达 10.1%^[6]。本院分离的 CRE 中主要是肺炎克雷伯菌(42 株),其次是大肠埃希菌(23 株)和阴沟肠杆菌(15 株);菌株多来源于 ICU 和外科,此类患者免疫力差,抵抗力低,因此 ICU 和外科是本院 CRE 防控的重点。CRE 呈现严重的多重耐药现象,药敏结果显示,CRE 对头孢唑啉和氨苄西林耐药率均为 100.0%,仅对替加环素和阿米卡星敏感性较高,这与其他报道一致^[7]。针对 CRE 感染的治疗具有挑战性,应根据药敏结果、耐药分子类型、感染严重程度和患者健康状况,选取有效的治疗方案。2018 版 CLSI 指出 mCIM 与 eCIM 联合检测的灵敏度 > 95.0%,特异度 > 92.0%。本研究中筛选丝氨酸碳青霉烯酶和金属 β -内酰胺酶的灵敏度和特异度与之一致,mCIM 检测产碳青霉烯酶菌株操作简便,成本低,灵敏度和特异度高,一般临床微生物均可实施操作^[8]。与 eCIM 联合检测可筛选产碳青霉烯酶类型,对临床用药具有指导意义。

本研究结果显示,本院主要流行的碳青霉烯酶类型为 NDM、IMP 和 KPC。王素梅等^[9]的研究结果中,KPC 和 VIM 为主要碳青霉烯酶类型;河南部分地区和海南省 5 家综合医院收集的 CRE 菌株中,主要的耐药基因型均为 NDM^[10-11]。本次研究中,KPC 的检出率低于 NDM;91 株 CRE 菌株中,仅有 1 株耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌检出 OXA-48 基因,但国外报道的产 OXA-48 类碳青霉烯酶的耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌较多^[12]。需要关注的是,本研究中检出 8 株携带 2 种碳青霉烯酶基因的 CRE 菌株,提示菌株出现多种耐药基因共存的情况。

本研究中,25.3% 的 CRE 菌株不产碳青霉烯酶,而 ESBLs 耐药基因检出率为 100.0%,因此这 23 株不产碳青霉烯酶的 CRE 菌株的耐药机制为高产 ESBLs 且合并膜孔蛋白的缺失。耐碳青霉烯的高毒力黏液型肺炎克雷伯菌,具有高耐药和高致病性的特点。毒力基因检测结果中,仅有 1 株肺炎克雷伯菌检出 wcaG 基因,其余毒力基因均未检出,高毒力的肺炎克雷伯菌的耐药变异可能导致其毒性降低。

耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和阴沟肠杆菌主要流行的 MLST 分别为 ST11 型、ST167 型和 ST418 型,产 KPC 酶的 ST11 型与我国流行克隆株的报道一致^[13]。而国外研究报道的耐碳青霉烯类药物肺炎克雷伯菌中 ST258 型较多^[14]。在其他报道中可见产 NDM 酶阴沟肠杆菌的 MLST 主要为 ST93 型^[10]。本院耐药菌株分子型别较多,存在克隆多样性传播。CRE 耐药机制复杂多样性,使得对多种抗菌药物表现出高度耐药,造成临床感染治疗困难,医院感染控制部门必须重视和加强 CRE 菌株的防控。

总之,本院 CRE 菌株对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制复杂,多种耐药基因并存,分子型别较多。临床医师应做好 CRE 监测和筛查工作,采取有效的医院控制措施,遏制 CRE 菌株在不同患者和不同区域间流行播散。

参考文献

- [1] 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,2015:3.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th ed. CLSI supplement M100-S28[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2018.
- [3] 梁光辉,徐韞健.耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌耐药机制研究[J].国际检验医学杂志,2014,35(2):165-167.
- [4] TURTON J F, PERRY C, ELGOHARI S, et al. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets[J]. J Med Microbiol, 2010,59(5):541-545.
- [5] YU W L, KO W C, CHENG K C, et al. Association between *rpmA* and *magA* genes and clinical syndromes caused by *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan[J]. Clin Infect Dis, 2006,42(10):1351-1358.
- [6] 胡付品,郭燕,朱德妹,等.2017 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2018,18(3):241-251.
- [7] GRUNDMANN H, GLASNER C, ALBINGER B, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study[J]. Lancet Infect Dis, 2017,17(4):153-163.
- [8] KUCHIBIRO T, KOMATSU M, YAMASAKI K, et al. Evaluation of the modified carbapenem inactivation method for the detection of carbapenemase-producing, Enterobacteriaceae[J]. J Infect Chemother, 2018,24(6):262-264.
- [9] 王素梅,张健东,王宇凡,等.耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药基因分型[J].中华医院感染学杂志,2019,29(17):2566-2570.

共点在于湿,何秀玲等^[16]报道的上海脂肪肝患者中,肝功能损害程度更高的患者普遍为湿热质及痰湿质,这可能与其饮食习惯因素有关。因此,便秘者需要调整饮食结构和习惯,从而改善其便秘状况。气郁质的形成是因为机体出现忧思焦虑、心神不宁等情志,久而不复,进而阻碍气机,郁滞不行。陈笑吟等^[17]研究中提出肠道气滞留与气郁质对应。中医对便秘的解释是大肠功能失常,这解释了气郁质者便秘的原因。所以,气郁质者需调理焦虑等负面情绪,有利于便秘情况的改善。

综上所述,不同亚健康状态人群的中医体质类型分布特点不同。同时,体质的形成是先天和后天因素长期共同作用的结果,既是相对稳定的,又是动态可变的,这也就意味着处于亚健康状态的人群可以通过改善影响平和质的因素,调理自身机体,进而使机体处于平和质状态。因此,改善机体不同的亚健康状态,应从调理其状态相对应的偏颇体质入手,从根本上改善机体的生理功能。

在今后的研究中,笔者将增大各分型、分类的样本量,同时纳入其他更多因素(如性别、年龄、地域等)作进一步的综合分析,以得到更加全面的结果。

参考文献

- [1] CUI H Z, WANG L M, ZHAO X, et al. Metabonomics-based study of clinical urine samples in suboptimal health with different syndromes [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 28(1): 509134.
- [2] LI G L, XIE F X, YAN S Y, et al. Subhealth: definition, criteria for diagnosis and potential prevalence in the central region of China [J]. BMC Public Health, 2013, 13(3): 13.
- [3] 朱丽冰, 王济, 李英帅, 等. 论《中医体质质量表》的修订 [J]. 安徽中医药大学学报, 2016, 36(4): 6-9.
- [4] 中华中医药学会. 中医体质分类与判定 (ZYYXH/T157-2009) [J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(4): 303-304.
- [5] 刘建正, 李娟生, 蒲宏全, 等. 某职业人群各系统疾病患病

状况及其对应分析 [J]. 中国卫生统计, 2017, 34(1): 50-52.

- [6] 罗菡子. 亚健康状态分型与中医体质类型之间的对应关系研究 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2018, 16(24): 55-57.
- [7] 周柏宇, 陈柏书, 廖瑞芬, 等. 中医体质辨识在亚健康分类及健康指导干预中的价值 [J]. 现代诊断与治疗, 2018, 29(14): 2208-2209.
- [8] KACZMAREK I, KLEKA P, FLICINSKI P, et al. Correspondence and cluster analysis of free-drawn clocks in a group of children and adolescents with neurological and psychiatric diseases [J]. Dev Neuropsychol, 2018, 43(1): 69-81.
- [9] 王谦, 吴承玉. 阳虚体质与阳虚证的区别与联系 [J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27(3): 333-334.
- [10] 郭志红. 慢性头痛辨治思路与方法探析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(6): 86-87.
- [11] 张世安. 周仲瑛教授从“肾虚肝旺”病机辨治疑难病症经验及学术思想研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [12] 王艳君, 韩一栩, 朱学亮. 针灸治疗失眠临床研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(10): 1131-1134.
- [13] 王红星, 张国伟, 王旭. 中医推拿改善躯体疼痛性亚健康人群疼痛强度的临床随机对照试验研究 [J]. 中医临床研究, 2016, 8(12): 107-108.
- [14] 刘海涛, 穆静, 马文礼, 等. 宁夏西海固地区回族与汉族的中医体质分析 [J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(12): 182-183.
- [15] 戴征浩, 杨旻, 王媛媛, 等. 基于三种虚证体质的在鄂大学生功能性消化不良的影响因素分析 [J]. 湖北中医杂志, 2017, 39(9): 60-63.
- [16] 何秀玲, 郝伟荣, 张瑞, 等. 956 例老年人脂肪肝患者的中医体质分型及相关因素临床分析 [J]. 四川中医, 2015, 33(1): 76-78.
- [17] 陈笑吟, 孙婉瑾, 金实, 等. 慢性功能性便秘患者年龄、性别、中医证型与中医体质相关性及其意义 [J]. 世界中医药, 2018, 13(10): 2625-2628.

(收稿日期: 2019-12-16 修回日期: 2020-04-01)

(上接第 2459 页)

- [10] LIU C, QIN S, XU H, et al. New delhi metallo- β -Lactamase 1 (NDM-1), the dominant carbapenemase detected in carbapenem-resistant enterobacter cloacae from Henan Province, China [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0140726.
- [11] 苏屿, 李天娇, 龙文芳, 等. 海南耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的耐药基因分析 [J]. 中国抗菌药物杂志, 2018, 43(9): 96-100.
- [12] IZDEBSKI R, BARANIAK A, ABICKA D, et al. Enterobacteriaceae producing OXA-48-like carbapenemases in Poland, 2013 – January 2017 [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(3): 620-625.

moth, 2018, 73(3): 620-625.

- [13] 吴娜, 田素飞, 褚云卓, 等. 碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌多位点序列分型和不同 ST 分型感染患者的临床特点 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 35-41.
- [14] ADLER A, HUSSEIN O, BEN-DAVID D, et al. Persistence of Klebsiella pneumoniae ST258 as the predominant clone of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in post-acute-care hospitals in Israel, 2008 [J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 70(1): 89-92.

(收稿日期: 2019-12-30 修回日期: 2020-04-19)