

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2023.05.010

肺炎克雷伯菌生物膜形成能力与其对抗菌药物敏感性的关系分析*

朱昱蓉, 黄 晶, 赵 君, 江水明, 刘荣华[△]

山西省临汾市中心医院微生物实验室, 山西临汾 041000

摘 要:目的 分析肺炎克雷伯菌生物膜形成能力与其对抗菌药物敏感性的关系。方法 收集 2021—2022 年该院住院患者送检标本中分离的肺炎克雷伯菌菌株作为研究对象。采用 VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统联合纸片扩散(K-B)法分析菌株对抗菌药物的敏感性,采用双纸片协同扩散法检测菌株产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)情况,采用结晶紫染色法检测菌株生物膜形成能力。结果 143 株肺炎克雷伯菌菌株主要来自呼吸危重症科和重症医学科,主要分离自痰液标本。所分离菌株对抗菌药物敏感率较高,均 $>60\%$ 。共检出产 ESBL 菌株 14 株,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 1 株。分离菌株生物膜形成率达 77.62% ,生物膜形成菌株对头孢曲松、头孢吡肟、头孢吡辛的不敏感率高于无生物膜形成菌株,差异有统计学意义($P < 0.05$)。14 株产 ESBL 菌株生物膜形成率达 85.71% (12/14),非产 ESBL 菌株生物膜形成率为 76.74% (99/129),二者生物膜形成率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。重症医学科分离的肺炎克雷伯菌对复合制剂(哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦)和米诺环素不敏感率低于呼吸危重症科分离的肺炎克雷伯菌,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 该院分离的肺炎克雷伯菌生物膜形成能力较强,生物膜形成可提高菌株的耐药性,应引起临床的重视。

关键词:肺炎克雷伯菌; 生物膜; 敏感性; 抗菌药物

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)05-0616-06

Relationship between biofilm-forming ability and antimicrobial susceptibility of *Klebsiella pneumoniae**ZHU Yurong, HUANG Jing, ZHAO Jun, JIANG Shuiming, LIU Ronghua[△]

Department of Microbiology Laboratory, Linfen Central Hospital, Linfen, Shanxi 041000, China

Abstract: Objective To analyze the relationship between the biofilm-forming ability of *Klebsiella pneumoniae* and its susceptibility to antibiotics. **Methods** Collected *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from the samples of inpatients in the hospital from 2021 to 2022 as the research object. The antimicrobial susceptibility of strains was analyzed by VITEK-2 Compact automatic microbial identification and drug sensitivity analysis system combined with K-B method. The double disk collaborative diffusion method was used to detect the Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL) producing strains. The biofilm forming ability of the strain was detected by crystal violet staining. **Results** The 143 strains of *Klebsiella pneumoniae* were mainly from the Department of Respiratory Critical Care and Intensive Care Medicine, and were mainly isolated from sputum specimen. The sensitivity rate of isolates to antibiotics was higher than 60% . A total of 14 ESBL producing strains and 1 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* were detected. The biofilm formation rate of the isolated strain was 77.62% . The insensitivity rate of biofilm-forming strains to ceftriaxone, cefepime and cefuroxime were higher than those of strains without biofilm-forming, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The biofilm formation rate of 14 ESBL producing strains was 85.71% (12/14), while that of non-ESBL producing strains was 76.74% (99/129), there was no statistical significance in biofilm formation rate between the two types strain ($P > 0.05$). The insensitivity rate of *Klebsiella pneumoniae* isolated from Department of Intensive Care Medicine to compound preparation (piperacillin/tazobactam, cefoperazone/sulbactam) and minocycline were lower than those from Department of Respiratory Critical Care, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** *Klebsiella pneumoniae* isolated from this hospital has strong biofilm formation ability, which could improve the drug resistance of the strain, and should be paid attention to in clinic.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*; biofilm; susceptibility; antibacterial drug

* 基金项目:山西省临汾市科技计划基金资助项目(2142)。

作者简介:朱昱蓉,女,技师,主要从事微生物检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: sxllrh@163.com。

肺炎克雷伯菌是一种有荚膜的革兰阴性粗短杆菌,属于 ESKAPE(包括革兰阳性肠球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、绿脓杆菌、肠杆菌)病原体的一员^[1]。临床上肺炎克雷伯菌因高耐药率及高播散性成为引起院内外感染的重要病原菌^[2],2020 年全国细菌耐药监测报告显示,分离的革兰阴性菌中,肺炎克雷伯菌占比(占革兰阴性菌的 20.9%)仅次于大肠埃希菌(占革兰阴性菌的 29.7%),位居革兰阴性菌的第 2 位^[3]。在国内,肺炎克雷伯菌感染所致肺炎占呼吸机相关肺炎和重症监护病房获得性肺炎的 11.9%^[4]。生物膜是细菌的一种保护机制,研究表明,肺炎克雷伯菌可聚集于导管或内置医疗器械表面形成黏稠的生物膜结构,常规清洗难以去除^[5]。成熟的生物膜可保护细菌免受机体免疫系统杀伤,导致细菌对常规抗菌药物抗性增加 1 000 倍左右,可引起免疫受损者持续发生医院感染或难治性导管相关感染,大大增加了感染的难治程度。研究发现,肺炎克雷伯菌临床分离株生物膜形成率高达 60%^[6-7]。生物膜作为细菌耐药的一种重要机制,但目前其形成能力与肺炎克雷伯菌对抗菌药物敏感性关系的相关研究较少。因此,本研究选取住院患者送检标本中分离培养并鉴定的肺炎克雷伯菌菌株为研究对象,探究肺炎克雷伯菌生物膜形成能力与其对抗菌药物敏感性的关系,以期为医院感染的控制和用药指导提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2021—2022 年本院住院患者送检标本中分离出的肺炎克雷伯菌菌株,剔除同一患者的重复菌株,采用纸片法将菌株保存于-80℃冰箱。质控菌株为肺炎克雷伯菌 ATCC700603,购自山西省临床检验中心。

1.2 仪器与试剂 血平板购自郑州人福博赛生物技术有限公司;LB 液体培养基购自北京索莱宝科技有限公司;结晶紫染液购自珠海贝索生物技术有限公司;96 孔细胞培养板购自美国 Corning 公司;药敏卡购自法国生物梅里埃公司;MH 琼脂粉购自杭州滨河微生物试剂有限公司;药敏纸片购自英国 Oxoid 公司;一次性比浊管购自法国生物梅里埃公司。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪购自江苏天瑞仪器股份有限公司;比浊仪、VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统购自法国生物梅里埃公司;VARIOSKAN LUX 酶标仪、CO₂ 培养箱购自美国赛默飞世尔公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定及药敏试验 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2019 相关标准,用传统方法培养、分离、纯化细菌,通过基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪进行菌株鉴定,采用 VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统联合纸片扩散(K-B)法分析菌株对抗菌药物的敏感性,采用双纸片协同

扩散法检测菌株产超广谱 β-内酰胺酶(ESBL)情况,具体操作细节和结果判读参照 CLSI 2019 相关标准进行。

1.3.2 菌株生物膜形成能力检测 冻存菌株在血平板上复苏,培养 16~18 h 后用无菌棉签挑取 3 个单克隆菌落制备 0.5 麦氏浊度菌悬液,将 200 μL LB 液体培养基和 20 μL 0.5 麦氏浊度的菌悬液(阴性对照加入 20 μL LB 液体培养基,阳性对照为 ATCC700603)接种于 96 孔细胞培养板中,96 孔细胞培养板周围加入生理盐水保持湿度。将培养板置于 35℃ 含 5% CO₂ 的培养箱中静置培养 30 h;弃去 LB 液体培养基,并用灭菌双蒸水清洗 3 次,弃去游离细菌,随后加入甲醇固定 10 min;每孔加入 300 μL 1%结晶紫染液染色 2 min,灭菌双蒸水清洗 3 次去除未结合染液;控干水分后每孔加入 200 μL 95%乙醇充分溶解结晶紫染液,读取 570 nm 处吸光度值^[1]。以吸光度值(阴性对照的平均吸光度值+3×标准差值)为临界值,大于该吸光度值则判定为形成生物膜。

1.3.3 资料收集 收集检出菌株患者的临床资料,包括年龄、性别、标本类型、标本来源科室、侵入性操作情况等。侵入性操作是医疗过程中带有一定创伤性的检查或治疗措施,主要包括动静脉置管、呼吸机应用、留置尿管或胃管、手术治疗、内窥镜检查、气管插管/切开、血液透析、CT/超声引导下穿刺、引流等。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2010 进行基本数据整理,采用 SPSS18.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株临床特征 2021—2022 年共收集肺炎克雷伯菌 143 株,其中耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)1 株,产 ESBL 菌株 14 株。143 例患者平均年龄为(58.97±20.52)岁,其中女 41 例(28.67%),男 102 例(71.33%),男性占比高于女性,差异有统计学意义($P < 0.05$)。临床分离的菌株标本类型以痰液(84.62%)为主,在尿液、肺泡灌洗液、分泌物、全血、胸腔积液及其他标本中均有检出,但占比均低于 10%。分离出肺炎克雷伯菌的科室中,以重症医学科(27.27%)和呼吸危重症科(26.57%)分离的菌株占比较高。31.47%的菌株来源患者进行了支架置入、脑血管造影等手术治疗。见表 1。

表 1 肺炎克雷伯菌临床分布情况

项目	株数(n)	占比(%)
性别		
男	102	71.33
女	41	28.67
标本类型		

续表 1 肺炎克雷伯菌临床分布情况

项目	株数(n)	占比(%)
痰液	121	84.62
尿液	8	5.59
肺泡灌洗液	3	2.10
分泌物	7	4.90
全血	1	0.70
胸腔积液	1	0.70
其他	2	1.40
科室		
重症医学科	39	27.27
呼吸危重症科	38	26.57
其他内科科室	27	18.88
外科科室	29	20.28
儿科	6	4.20
妇产科	4	2.80
侵入性操作		
留置导尿管	40	27.97
留置胃管	35	24.48
气管插管	32	22.38
手术治疗	45	31.47

注:将风湿免疫科、神经内科、肾病内科、消化内科、心内科、心脏康复中心、血液内科、中医科和肿瘤内科划为其他内科科室;将骨科、泌尿外科、普外科、乳腺外科、烧伤整形科、神经外科、心脏大血管外科、心脏外科和胸外科划为外科科室;部分菌株来源患者进行过两种及以上的侵入性操作。

2.2 菌株药敏试验结果 肺炎克雷伯菌对抗菌药物敏感性较高,检测的抗菌药物敏感率均>60%,1株CRKP对亚胺培南不敏感,14株产ESBL菌株均对第四代头孢菌素表现出不同程度耐药。对美罗培南敏感率最高(100.00%),其次为亚胺培南(99.30%)。检测的3种氨基糖苷类抗菌药物中,肺炎克雷伯菌对丁胺卡那霉素的敏感率最高(97.20%)。肺炎克雷伯菌对第一代头孢菌素头孢唑林的敏感率为64.34%,对第二代头孢菌素头孢呋辛的敏感率为81.12%,对

第三代头孢菌素头孢曲松(86.01%)、头孢他啶(92.31%)的敏感率较高。对氟喹诺酮类抗菌药物左氧氟沙星(88.11%)和环丙沙星(86.01%)敏感率均>85%。见表2。

2.3 菌株生物膜形成能力检测结果 对吸光度值数据分析显示,在收集的143株菌株中,有111株可形成生物膜,32株无生物膜形成,生物膜形成率达77.62%。

2.4 生物膜形成能力与对抗菌药物敏感性分析 111株生物膜形成菌株和32株无生物膜形成菌株药敏试验结果表明,生物膜形成菌株对头孢曲松、头孢吡肟和头孢呋辛的不敏感率与无生物膜形成菌株比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表2 肺炎克雷伯菌药敏试验结果

抗菌药物	敏感		中介		耐药	
	株数(n)	占比(%)	株数(n)	占比(%)	株数(n)	占比(%)
左氧氟沙星	126	88.11	1	0.70	16	11.19
丁胺卡那霉素	139	97.20	0	0.00	4	2.80
亚胺培南	142	99.30	1	0.70	0	0.00
头孢曲松	123	86.01	0	0.00	20	13.99
哌拉西林/他唑巴坦	135	94.41	1	0.70	7	4.90
头孢吡肟	129	90.21	2	1.40	12	8.39
哌拉西林	109	76.22	9	6.29	25	17.48
头孢他啶	132	92.31	2	1.40	9	6.29
美罗培南	143	100.00	0	0.00	0	0.00
庆大霉素	128	89.51	0	0.00	15	10.49
环丙沙星	123	86.01	5	3.50	15	10.49
妥布霉素	130	90.91	1	0.70	13	9.09
阿莫西林/棒酸	131	91.61	3	2.10	9	6.29
头孢呋辛	116	81.12	1	0.70	26	18.18
头孢西丁	126	88.11	3	2.10	14	9.79
头孢哌酮/舒巴坦	133	93.01	5	3.50	5	3.50
米诺环素	129	90.21	3	2.10	11	7.69
头孢唑林	92	64.34	16	11.19	35	24.48

表3 肺炎克雷伯菌生物膜形成能力与对抗菌药物敏感性分析结果

抗菌药物	生物膜形成菌株(n=111)		无生物膜形成菌株(n=32)		χ^2	P
	不敏感株数(n)	不敏感率(%)	不敏感株数(n)	不敏感率(%)		
左氧氟沙星	15	13.51	2	6.25	1.251	0.263
丁胺卡那霉素	3	2.70	1	3.13	0.160	0.898
亚胺培南	1	0.90	0	0.00	0.290	0.590
头孢曲松	19	17.12	1	3.13	4.402	0.044
哌拉西林/他唑巴坦	7	6.31	1	3.13	0.476	0.490
头孢吡肟	14	12.61	0	0.00	4.474	0.034
哌拉西林	27	24.32	7	21.88	0.082	0.774
头孢他啶	10	9.01	1	3.13	1.211	0.271
美罗培南	0	0.00	0	0.00	—	—

续表 3 肺炎克雷伯菌生物膜形成能力与对抗菌药物敏感性分析结果

抗菌药物	生物膜形成菌株(<i>n</i> =111)		无生物膜形成菌株(<i>n</i> =32)		χ^2	<i>P</i>
	不敏感株数(<i>n</i>)	不敏感率(%)	不敏感株数(<i>n</i>)	不敏感率(%)		
庆大霉素	12	10.81	3	9.38	0.055	0.815
环丙沙星	17	15.32	3	9.38	0.729	0.393
妥布霉素	11	9.91	3	9.38	0.008	0.929
阿莫西林/棒酸	11	9.91	1	3.13	1.487	0.223
头孢呋辛	25	22.52	2	6.25	4.294	0.038
头孢西丁	14	12.61	3	9.38	0.249	0.678
头孢哌酮/舒巴坦	9	8.11	1	3.13	0.948	0.330
米诺环素	12	10.81	2	6.25	0.585	0.444
头孢唑啉	42	37.84	9	28.13	1.021	0.312

注：—表示无数据。

2.5 产 ESBL 菌株与生物膜形成能力的关系 产 ESBL 菌株生物膜形成率达 85.71%(12/14),非产 ESBL 菌株生物膜形成率为 76.74%(99/129),二者生物膜形成率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.585$, $P=0.444$)。

2.6 重症医学科、呼吸危重症科和其余科室分离的肺炎克雷伯菌对抗菌药物敏感性的差异分析 对抗菌药物敏感性分析表明,医院其余科室分离的肺炎克雷伯菌与重症医学科和呼吸危重症科分离的肺炎克雷伯菌对所检测抗菌药物的不敏感率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。重症医学科分离的肺炎克雷伯菌对复合制剂(哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦)和米诺环素的不敏感率低于呼吸危重症科分离的

肺炎克雷伯菌,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.7 重症医学科、呼吸危重症科和其余科室分离的肺炎克雷伯菌产 ESBL 和生物膜形成能力分析 重症医学科、呼吸危重症科和其余科室产 ESBL 肺炎克雷伯菌分别占 7.69%、5.26%和 13.64%,产 ESBL 菌株占比在上述科室间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。重症医学科、呼吸危重症科和其余科室分离的肺炎克雷伯菌中有生物膜形成的菌株分别占 79.49%、73.68%和 78.79%,上述科室中有生物膜形成的菌株占比比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 5。

表 4 重症医学科、呼吸危重症科和其余科室分离的肺炎克雷伯菌对抗菌药物敏感性分析结果

抗菌药物	重症医学科(<i>n</i> =39)		呼吸危重症科(<i>n</i> =38)		其余科室(<i>n</i> =66)		χ^2_a	<i>P</i> _a	χ^2_b	<i>P</i> _b	χ^2_c	<i>P</i> _c
	不敏感株数 (<i>n</i>)	不敏感率 (%)	不敏感株数 (<i>n</i>)	不敏感率 (%)	不敏感株数 (<i>n</i>)	不敏感率 (%)						
左氧氟沙星	3	7.69	7	18.42	7	10.61	0.242	0.623	1.264	0.261	1.960	0.161
丁胺卡那霉素	1	2.56	1	2.63	2	3.03	0.019	0.890	0.014	0.907	<0.001	0.985
亚胺培南	0	0.00	1	2.63	0	0.00	—	—	1.754	0.185	1.040	0.380
头孢曲松	3	7.69	7	18.42	10	15.15	1.257	0.262	0.189	0.664	1.960	0.161
哌拉西林/他唑巴坦	0	0.00	4	10.53	4	6.06	2.457	0.117	0.677	0.411	4.330	0.037
头孢吡肟	2	5.13	4	10.53	8	12.12	1.391	0.238	0.060	0.806	0.781	0.377
哌拉西林	6	15.38	9	23.68	19	28.79	2.428	0.119	0.319	0.572	0.845	0.358
头孢他啶	1	2.56	3	7.89	7	10.61	2.252	0.133	0.204	0.652	1.110	0.292
美罗培南	0	0.00	0	0.00	0	0.00	—	—	—	—	—	—
庆大霉素	3	7.69	7	18.42	5	7.58	<0.001	0.983	2.779	0.096	1.960	0.161
环丙沙星	3	7.69	9	23.68	8	12.12	0.513	0.474	2.358	0.125	3.741	0.053
妥布霉素	3	7.69	6	15.79	5	7.58	<0.001	0.983	1.856	0.173	1.223	0.269
阿莫西林/棒酸	1	2.56	5	13.16	6	9.09	1.678	0.195	0.422	0.516	3.006	0.083
头孢呋辛	5	12.82	9	23.68	13	19.70	0.816	0.366	0.230	0.632	1.527	0.217
头孢西丁	3	7.69	6	15.79	8	12.12	2.479	0.115	0.279	0.598	1.223	0.269
头孢哌酮/舒巴坦	0	0.00	5	13.16	5	7.58	3.102	0.078	0.865	0.352	5.488	0.019
米诺环素	1	2.56	6	15.79	7	10.61	2.252	0.133	0.592	0.441	4.073	0.044
头孢唑啉	11	28.21	15	39.47	25	37.88	1.018	0.313	0.026	0.872	1.093	0.296

注： χ^2_a 、*P*_a 为重症医学科与其余科室比较的统计值； χ^2_b 、*P*_b 为呼吸危重症科与其余科室比较的统计值； χ^2_c 、*P*_c 为重症医学科与呼吸危重症科比较的统计值；—表示无数据。

表 5 重症医学科、呼吸危重症科和其余科室肺炎克雷伯菌产 ESBL 和生物膜形成能力分析结果

项目	重症医学科(<i>n</i> =39)		呼吸危重症科(<i>n</i> =38)		其余科室(<i>n</i> =66)		χ^2_a	P_a	χ^2_b	P_b	χ^2_c	P_c
	株数(<i>n</i>)	占比(%)	株数(<i>n</i>)	占比(%)	株数(<i>n</i>)	占比(%)						
产 ESBL	3	7.69	2	5.26	9	13.64	0.856	0.355	1.788	0.181	0.187	0.665
生物膜形成	31	79.49	28	73.68	52	78.79	0.007	0.932	0.354	0.552	0.362	0.547

注: χ^2_a 、 P_a 为重症医学科与其余科室比较的统计值; χ^2_b 、 P_b 为呼吸危重症科与其余科室比较的统计值; χ^2_c 、 P_c 为重症医学科与呼吸危重症科比较的统计值。

3 讨 论

肺炎克雷伯菌是临床常见致病菌,分离率约占克雷伯氏菌属的 95%,是耐药和毒力基因在革兰阴性菌与环境之间传播的媒介,可导致医院感染或社区感染的发生,严重威胁患者健康^[8]。在抗菌药物的选择压力下出现了产 ESBL 肺炎克雷伯菌和 CRKP^[9]。全国细菌耐药检测报告显示,肺炎克雷伯菌分离率占全部菌株的 13%~14%,且对抗菌药物敏感性较高,CRKP 检出率也呈上升趋势^[3]。肺炎克雷伯菌多造成呼吸系统感染,在呼吸机相关肺炎中常见,吸烟、饮酒及呼吸系统基础疾病(如慢性阻塞性肺疾病等)均为其感染的危险因素^[10]。本研究结果表明,肺炎克雷伯菌感染患者中男性多于女性,这可能与本研究入组患者中男性吸烟、饮酒的比例较高相关。菌株对抗菌药物敏感性分析发现,分离的肺炎克雷伯菌对检测的抗菌药物敏感率较高,均>60%,与全国细菌耐药监测报告结果基本一致^[3]。本研究结果表明,重症医学科来源的菌株对抗菌药物敏感性整体较呼吸危重症科高,这可能与不同科室间治疗药物使用及患者基础状况不同有关,有待深入探究。全国细菌耐药监测报告显示,我国 CRKP 检出率呈逐年上升趋势,而本研究仅检出 1 株 CRKP,这可能与本院感染防控工作开展效果较好和耐药菌株在全国的地域分布差异有关。

随着细菌耐药情况的加剧,对菌株耐药机制的研究也逐步深入,目前已知的细菌耐药机制包括耐药基因的携带、菌株外膜蛋白、菌株外排泵、整合子基因盒和菌株生物膜形成等^[5]。随着对细菌生物膜相关研究的深入,研究者发现生物膜形成能力与菌株耐药性密切相关,菌株生物膜形成严重影响临床抗感染治疗的效果及患者预后^[11]。细菌生物膜是细菌在营养等条件不足的情况下形成的一种黏附在物体表面或气液交界面的膜性结构,内部包裹着大量菌落,是细菌的天然保护屏障,在细菌存活、菌株间信息交流、细菌免疫及对抗菌药物不敏感方面发挥着重要的作用,是引起临床难治性感染的主要因素^[12]。目前的研究表明,细菌生物膜形成主要分为 3 个阶段,第一阶段主要是细菌附着于导管等基质物体表面,该基质可辅助菌株逃避机体免疫系统杀伤,随后菌株分泌细胞外多糖物质,生物膜形成进入不可逆的第二阶段,多糖物

质累积到一定程度后生物膜形成进入第三阶段,活性菌株包被在复杂的生物分子层内^[13]。生物膜可通过药物渗透限制和菌株营养限制等机制导致菌株对常规抗菌药物的抗药性增加约 1 000 倍,大大增加了感染的难治程度^[14]。本研究发现,本院肺炎克雷伯菌生物膜形成率达 77.62%,与国内学者的报道相近^[7,15],重症医学科、呼吸危重症科、其余科室间有生物膜形成的菌株占比比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示临床各科室均应密切关注有生物膜形成菌株的感染情况,尤其是进行留置导管等侵入性操作患者的感染情况。对抗菌药物敏感性分析发现,生物膜形成菌株对头孢曲松、头孢吡肟和头孢呋辛的不敏感率较无生物膜形成菌株高($P<0.05$),提示细菌生物膜的形成可能是菌株对头孢类抗菌药物耐药的机制,有待进一步研究。生物膜形成菌株对部分头孢类抗菌药物的高耐药性会给临床治疗带来挑战,因此在患者发生肺炎克雷伯菌感染时应重点关注菌株生物膜形成能力,选择合适的治疗药物,避免生物膜形成所致导管或其他侵入性操作相关的难治性感染。研究显示,产 ESBL 的肺炎克雷伯菌在世界范围内达 50% 的覆盖率,社区的分离率达 30%^[5],碳青霉烯类药物是治疗产 ESBL 菌株感染的首选药物,控制产 ESBL 菌株的流行至关重要。本研究共检出 14 株产 ESBL 肺炎克雷伯菌,重症医学科、呼吸危重症科和其余科室产 ESBL 肺炎克雷伯菌占比比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。有学者报道,ESBL 与肺炎克雷伯菌生物膜形成密切相关^[7],但本研究数据显示,产 ESBL 菌株与非产 ESBL 菌株生物膜形成能力无明显差异,本研究结果与上述研究结果存在一定差异可能与不同研究菌株的地域分布差异有关,也可能与本研究纳入菌株数较少有关。

综上所述,本院分离的肺炎克雷伯菌生物膜形成率较高,这使临床感染治疗面临极大的挑战,应引起临床重视。生物膜形成直接影响菌株对抗菌药物的敏感性,关于其耐药机制的研究可为抗感染治疗提供新的靶点,为新药研发提供新的思路。建议临床开展广泛监测,对于有肺炎克雷伯菌感染并进行了侵入性操作的患者应预防生物膜形成。临床上应完善抗菌药物使用规范,重点关注有生物膜形成菌株的感染情

况,合理使用抗菌药物。但由于本研究纳入的菌株数有限,CRKP 菌株和产 ESBL 菌株较少,使本研究结果可能存在一定偏倚,后续将继续收集菌株,为感染控制措施的制订和院内感染控制提供参考依据。

参考文献

- [1] RODRÍGUEZ-MEDINA N, BARRIOS-CAMACHO H, DURAN-BEDOLLA J, et al. Klebsiella variicola: an emerging pathogen in humans[J]. Emerg Microbes Infect, 2019,8(1):973-988.
- [2] D'APOLITO D, ARENA F, CONTE V, et al. Phenotypic and molecular assessment of the virulence potential of KPC-3-producing Klebsiella pneumoniae ST392 clinical isolates[J]. Microbiol Res, 2020,240:126551.
- [3] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年细菌耐药性监测报告[J]. 中国感染控制杂志, 2021,20(1):15-31.
- [4] 章晖,方强,胡江霞,等. ICU 患者多药耐药肺炎克雷伯菌感染的影响因素及预防措施研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(2):200-202.
- [5] WANG G, ZHAO G, CHAO X, et al. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of Klebsiella pneumoniae[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020,17(17):6278.
- [6] 魏丹丹,李禄,李小菊,等. 尿液分离高黏液表型肺炎克雷伯菌的毒力基因检测及生物膜形成测定[J]. 中华医院感染学杂志, 2018,28(18):2748-2751.
- [7] 陆颖,朱志军,朱梅. 肺炎克雷伯菌的耐药性及其与生物膜形成的关系[J]. 医学信息, 2021,34(13):65-69.
- [8] WYRES K L, HOLT K E. Klebsiella pneumoniae as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria[J]. Curr Opin Microbiol, 2018,45:131-139.
- [9] SHANKAR C, VEERARAGHAVAN B, NABARRO L E B, et al. Whole genome analysis of hypervirulent Klebsiella pneumoniae isolates from community and hospital acquired bloodstream infection[J]. BMC Microbiol, 2018,18(1):6.
- [10] 陈学敏,李玉雪,赵丽,等. 某三甲医院 ICU 肺炎克雷伯菌临床分布特征及耐药性分析[J]. 解放军医药杂志, 2022,34(5):72-74.
- [11] 陈倩倩,宋缘缘,唐洪影,等. 生物膜阳性肺炎克雷伯菌血流感染及预后危险因素分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2020,13(2):119-124.
- [12] 刘姝灵,向延根,马小华,等. 肺炎克雷伯菌生物膜相关研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2020,27(3):533-536.
- [13] CANO E J, CAFLISCH K M, BOLLYKY P L, et al. Phage therapy for limb-threatening prosthetic knee Klebsiella pneumoniae infection: case report and in vitro characterization of anti-biofilm activity[J]. Clin Infect Dis, 2021,73(1):e144-e151.
- [14] BURGOS-GARAY M, GANIM C, DE MAN T J B, et al. Colonization of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in a sink-drain model biofilm system[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2021,42(6):722-730.
- [15] 魏丹丹,李喜红,王莲慧,等. 血液分离高黏液表型肺炎克雷伯菌的毒力基因检测及生物膜形成测定[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016,16(5):622-626.

(收稿日期:2022-08-16 修回日期:2022-11-08)

(上接第 615 页)

- [19] SARGENTO L, SIMOES A V, LONGO S, et al. Red blood cell distribution width is a survival predictor beyond anemia and Nt-ProBNP in stable optimally medicated heart failure with reduced ejection fraction outpatients[J]. Clin Hemorheol Micro, 2017,65(2):185-194.
- [20] HU Z D, LIPPI G, MONTAGNANA M. Diagnostic and prognostic value of red blood cell distribution width in sepsis: a narrative review[J]. Clin Biochem, 2020,77:1-6.
- [21] ZHAO Z, LIU T, LI J, et al. Elevated red cell distribution width level is associated with oxidative stress and inflammation in a canine model of rapid atrial pacing[J]. Int J Cardiol, 2014,174(1):174-176.
- [22] HE Y, LIU C, ZENG Z, et al. Red blood cell distribution width: a potential laboratory parameter for monitoring inflammation in rheumatoid arthritis[J]. Clin Rheumatol, 2018,37(1):161-167.
- [23] GAO M Z, HUANG Y L, WU X D, et al. Red blood cell distribution width and neutrophil to lymphocyte ratio are correlated with disease activity of dermatomyositis and polymyositis[J]. J Clin Lab Anal, 2018,32(1):287-290.
- [24] HANADA M, TAKAHASHI M, FURUHASHI H, et al. Elevated erythrocyte sedimentation rate and high-sensitivity C-reactive protein in osteoarthritis of the knee: relationship with clinical findings and radiographic severity[J]. Ann Clin Biochem, 2016,53(5):548-553.
- [25] BALBALOGLU O, KORKMAZ M, YOLCU S, et al. Evaluation of mean platelet volume (MPV) levels in patients with synovitis associated with knee osteoarthritis[J]. Platelets, 2014,25(2):81-85.

(收稿日期:2022-08-22 修回日期:2022-12-23)