

婴幼儿肺泡灌洗液中肺炎克雷伯菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药变迁

邓文喻, 陈国洋, 麦荣嘉, 穆小萍(广东省妇幼保健院检验医学科, 广州 510010)

摘要:目的 探讨2015~2018年婴幼儿呼吸道感染肺炎克雷伯菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药趋势,为临床合理用药、提高患者的治愈率和延缓细菌耐药性的产生提供科学依据。方法 回顾性分析婴幼儿肺泡灌洗液中肺炎克雷伯菌药敏结果以及耐药性。结果 2015-2018年,婴幼儿肺泡灌洗液中肺炎克雷伯菌的检出率分别为23.71%, 15.60%, 18.80%和23.74%。尽管四年间肺炎克雷伯菌产超广谱 β -内酰胺(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)类抗生素检出率差异无统计学意义($\chi^2=5.83, P>0.05$),但两两比较发现2018年产ESBLs的肺炎克雷伯菌检出率显著高于2016年,其差异有统计学意义($\chi^2=5.66, P<0.05$)。四年间的药敏结果显示,肺炎克雷伯菌对头孢曲松、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南和亚胺培南的耐药率分别由2015年的52.17%, 13.04%, 0.00%, 8.70%和4.35%升至2018年的74.47%, 59.57%, 59.57%, 40.43%和19.15%,卡方趋势分析结果显示肺炎克雷伯菌对头孢他啶、头孢吡肟、氨苄西林/舒巴坦和氨曲南的耐药率分布差异均有统计学意义($\chi^2=13.77, 23.09, 25.39, 8.93, P=0.003, <0.001, <0.001, 0.030$)。结论 近年来婴幼儿呼吸道感染的肺炎克雷伯菌感染率与耐药率均有增长趋势。该文强调了在婴幼儿群体中评估肺泡灌洗液细菌培养和抗生素敏感性实验的重要性,早期实施医学干预可降低肺炎克雷伯菌抗生素耐药性的产生。

关键词:肺炎克雷伯菌; β -内酰胺类抗生素;产超广谱 β -内酰胺酶;婴幼儿

中图分类号:R378,996;R446,5 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2020)01-075-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.01.020

Changes of Resistance of Klebsiella Pneumoniae to Beta-Lactam Antibiotics in Alveolar Lavage Fluid of Infants

Deng Wen-yu, Chen Guo-yang, Mai Rong-jia, Mu Xiao-ping

(Department of Laboratory Medicine, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 510010, China)

Abstract: Objective To explore the long-term changes of beta-lactamase antibiotic resistance of Klebsiella pneumoniae in infants with respiratory tract infection from 2015 to 2018, and provide medical implementations for rational antibiotic use, patient cure rate and delay the bacterial resistance. **Methods** The antibiotic resistance of Klebsiella pneumoniae in infantile alveolar lavage fluid were analyzed retrospectively. **Results** During the 4 year period, the detection rates of Klebsiella pneumoniae in infantile alveolar lavage fluid were 23.71%, 15.60%, 18.80% and 23.74%, respectively. There was no statistical significant difference in ESBLs production between the four year period ($\chi^2=5.83, P>0.05$). However, the comparison between the two groups found that the ESBLs rate of Klebsiella pneumoniae increased from 22.7% in 2016 to 53.2% in 2018, and the difference was statistical significant ($\chi^2=5.66, P<0.05$). The antibiotic sensitivity test results during the four years showed that the rate of Klebsiella pneumoniae resistant to ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, aztrexam and imipenem rose from 52.17%, 13.04%, 0.00%, 8.70% and 4.35% in 2015 to 74.47%, 59.57%, 59.57%, 40.43% and 19.15%, respectively in 2018. Chi-square trend analysis showed that the distribution of resistance rates to ceftazidime, cefepime, ampicillin/sulbactam and aztreonam was statistical significant ($\chi^2=13.77, 23.09, 25.39, 8.93, P=0.003, <0.001, <0.001, 0.030$, respectively). **Conclusion** There is a long-term growth trend in Klebsiella pneumoniae infection rate and antibiotic resistance during these years. The study highlights the urgent needs to evaluate the possibility of alveolar lavage fluid bacterial culture and antibiotic sensitivity test and much emphasis must be laid on the early implementation of

基金项目:广东省中医药局科研项目(20161029)。

作者简介:邓文喻(1977-),女,硕士学位,副主任检验技师,主要从事细菌耐药方面的研究, E-mail:48684355@qq.com。

medical intervention to reduce the antibiotic resistance rate of *Klebsiella pneumoniae* identified from pediatrics.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; beta-lactamase antibiotics; ESBLs; pediatric

婴幼儿由于免疫功能不成熟极易受致病菌的感染,容易引发严重疾病导致死亡。呼吸道感染而致的婴幼儿肺炎是婴幼儿死亡的主要疾病之一^[1,2]。肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是最重要的呼吸道致病菌之一,可引起典型的原发性肺炎,该菌容易产生超广谱 β -内酰胺酶(extended spectrum beta-lactamases, ESBLs),导致医院常用的 β -内酰胺类抗生素失去效用^[3]。由于肺泡灌洗液检查结果具有高度的敏感性与特异度,同时其检出菌的药敏结果与耐药变迁对临床用药更有指导意义^[4]。因此,本文回顾性分析2015~2018年间医院婴幼儿肺泡灌洗液中分离的肺炎克雷伯菌,分析菌株的ESBLs检出率,以及菌株对 β -内酰胺类抗生素的耐药情况与耐药变迁,为临床合理用药以降低婴幼儿群体肺炎克雷伯菌对抗生素耐药性的产生提供实验室依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 本实验收集自2015年1月~2018年12月广东省妇幼保健院微生物室569例婴幼儿(0~1岁)肺泡灌洗液阳性标本,其中肺炎克雷伯菌117例。

1.2 试剂和仪器 Vitek2 Compact型全自动微生物分析仪、GN鉴定卡、AST-GN13药敏卡由梅里埃诊断产品有限公司生产。血平板、嗜血杆菌巧克力平

板均购自广州市迪景微生物科技有限公司。

1.3 方法 采用法国生物梅里埃的Vitek2-Compact全自动微生物鉴定及药敏分析系统进行细菌鉴定和药敏鉴定试验,使用GN鉴定卡与GN13药敏卡,严格按照美国临床实验室标准协会(CLSI)2018年制定的标准判读结果。质控菌株为肺炎克雷伯菌ATCC35218,铜绿假单胞菌ATCC27853,大肠埃希氏菌ATCC25922。ESBLs表型确证试验使用两对复合试剂:头孢噻肟(CTX)与头孢噻肟/克拉维酸复合制剂(CTX/CA);头孢他啶(CAZ)与头孢他啶/克拉维酸复合制剂(CAZ/CA)。两者中任一抗生素在加克拉维酸后抑菌圈扩大5 mm以上时,即判ESBLs阳性。

1.4 统计学分析 数据分析采用SPSS 22.0统计软件,产ESBLs比例变化情况采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺泡灌洗液培养的菌株分布 见表1。2015年1月~2018年12月肺泡灌洗液标本中共检出菌株569株,其中肺炎克雷伯菌的总检出率最高,为20.56%(117/569),其次是金黄色葡萄球菌16.87%(96/569)、大肠埃希氏菌13.53%(77/569)、肺炎链球菌8.44%(48/569)和铜绿假单胞菌8.26%(47/569)。

表1 2015-2018年婴幼儿肺泡灌洗液的菌株分布情况

菌种	2015年($n=97$)		2016年($n=141$)		2017年($n=133$)		2018年($n=198$)	
	n	构成比(%)	n	构成比(%)	n	构成比(%)	n	构成比(%)
肺炎克雷伯菌	23	23.71	22	15.60	25	18.80	47	23.74
鲍曼不动杆菌	7	7.22	4	2.84	12	9.02	6	3.03
大肠埃希氏菌	12	12.37	19	13.48	22	16.54	24	12.12
铜绿假单胞菌	8	8.25	7	4.96	16	12.03	16	8.08
嗜麦芽窄食单胞菌	3	3.09	9	6.38	4	3.01	11	5.56
金黄色葡萄球菌	11	11.34	30	21.28	23	17.29	32	16.16
肺炎链球菌	7	7.22	13	9.22	8	6.02	20	10.10
其他	26	26.80	37	26.24	23	17.29	42	21.21

2.2 产ESBLs-KP检出ESBLs情况 见图1。2015~2018年,产ESBLs的肺炎克雷伯菌检出率分别为47.8%(11/23),22.7%(5/22),48%(12/25)和53.2%(25/47)。四组肺炎克雷伯菌产ESBLs的差异无统计学意义($\chi^2=5.83$, $P=0.12$)。进一步对其进行2分割两两比较发现,2018年产ESBLs的肺炎克雷伯菌检出率显著高于2016年,其差异具有统计学意义($\chi^2=5.66$, $P=0.017$)。

2.3 肺炎克雷伯菌对抗生素的耐药率 见表2。肺

炎克雷伯菌对三代头孢类抗生素如头孢曲松、头孢他啶和四代头孢如头孢吡肟的耐药率呈持续增长趋势,其中2018年上述头孢类抗生素的耐药率分别为74.47%、59.57%和59.57%,肺炎克雷伯菌对头孢他啶和头孢吡肟耐药率呈上升趋势,其差异有统计学意义($P=0.003$, <0.001)。四年内,肺炎克雷伯菌对于酶抑制剂类、单环内酰胺类耐药率处于较高水平,卡方趋势分析结果显示肺炎克雷伯菌对氨苄西林/舒巴坦和氨曲南的耐药趋势差异有统计学显著意义($P=$

0.001, 0.030)。碳青霉烯类亚胺培南的耐药率峰值为2016年的31.82%, 2018年亦达到19.15%。

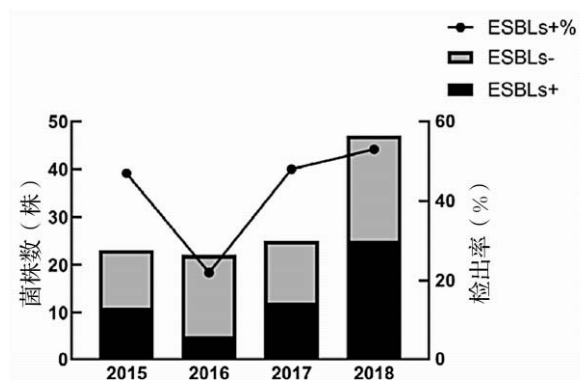


图1 2015~2018年KP菌株数和产ESBLs-KP检出率

3 讨论

研究表明,随着疾病感染率的升高,抗生素的使用数量和使用频率亦随之增加。由于自身免疫力和解毒能力仍未完善,因此对于药物毒副作用较大的抗生素如可导致肾毒性、影响骨骼发育和引起手脚部位的神经损伤等的氨基糖苷类和喹诺酮类抗生素,国家限制其在婴幼儿群体中使用^[5,6]。由于β-内酰胺类抗生素安全性好,且经过成熟的论证,因此国内医院目前主要使用β-内酰胺类抗生素治疗婴幼儿肺炎,其中大多数是三代头孢菌素。近年来国内随着β-内酰胺类抗生素的广泛应用,致使革兰阴性杆菌尤其是肺炎克雷伯菌出现了不同程度的多重耐药性,从而导致肺炎克雷伯菌引起的婴幼儿医院感染率逐年升高^[7]。

表2 KP对β-内酰胺类抗生素的耐药率(n=117)

药物		2015年(n=23)		2016年(n=22)		2017年(n=25)		2018年(n=47)		χ^2	P
		n	耐药率%	n	耐药率%	n	耐药率%	n	耐药率%		
青霉素类	阿莫西林	23	100	21	95.45	18	72.00	36	76.60	54.33	<0.001
	一代头孢	13	56.52	12	54.55	16	64.00	29	61.70	0.61	0.894
三代头孢	头孢噻肟	12	52.17	11	50.00	7	28.00	24	51.06	4.24	0.237
	头孢曲松	12	52.17	12	54.55	15	60.00	35	74.47	4.59	0.204
	头孢他啶	3	13.04	10	45.45	10	40.00	28	59.57	13.77	0.003
四代头孢	头孢吡肟	0	0.00	8	36.36	11	44.00	28	59.57	23.09	<0.001
酶抑制剂	哌拉西林/他唑巴坦	10	43.48	7	31.82	4	16.00	15	31.91	4.34	0.227
	氨苄西林/舒巴坦	1	4.35	13	59.09	16	64.00	30	63.83	25.39	<0.001
单环内酰胺类	氨曲南	2	8.70	10	45.45	10	40.00	19	40.43	8.93	0.030
碳青霉烯类	亚胺培南	1	4.35	7	31.82	2	8.00	9	19.15	7.86	0.049

随着致病菌抗生素耐药性的增加,由于耐药性细菌导致感染性疾病的发病率和死亡率亦不断攀升,由此对全球经济和社会造成沉重的负担。此外,由于致病性细菌大多呈多重耐药模式,传统的抗生素如头孢菌素等治疗致病病原体变得越来越难。同时,由于很多医疗机构未能及时对致菌血症和其他严重感染等的病原微生物进行鉴定和抗生素药物敏感试验,大量的广谱抗生素被不必要的滥用,导致抗生素耐药性越来越严重。本研究结果显示,从住院患儿中分离出的大多数肺炎克雷伯菌对青霉素类、头孢菌素、酶抑制剂和单环内酰胺类抗生素均呈高度耐药。对头孢曲松、头孢他啶和头孢吡肟的高耐药率是产ESBL菌株的典型表现。此外细菌耐药性增加可能与医院的用药习惯、机械通气的使用、激素

的应用和细菌的耐药基因传播等相关^[8]。四年间ESBL-KP的检出率高达45.3%,表明尽管头孢类抗生素仍旧是治疗婴幼儿肺炎最常用的抗生素,但常用的β-内酰胺类抗生素中,三四代头孢类抗生素的耐药率均呈上升趋势。分析其耐药机制,主要是因为肺炎克雷伯菌是容易产多种耐药酶的革兰阴性肠杆菌之一,包括ESBLs,质粒介导的Amp C和碳青霉烯酶等。碳青霉烯类抗生素是有效治疗和抵御多重耐药肠杆菌的最后一道防线,但由于临床的大量使用,目前已出现产碳青霉烯酶的肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP),此为肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素敏感性下降的最主要原因。与世界范围内的其他研究一样,肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素的耐药性呈现不良的上升

趋势,本文研究结果显示,亚胺培南耐药率在2018年增长至19.15%,与相关报道结果相近。编码碳青霉烯酶的基因多数可通过质粒传播,并且由于肺炎克雷伯菌其他耐药机制的协同作用,如外膜蛋白的缺失、靶位的改变、生物膜的形成,以及外排泵系统的形成等因素致肺炎克雷伯菌耐药的快速升高。自1996年首次发现耐碳青霉烯类的肺炎克雷伯菌以来,CRKP一直是一个重要的医学问题,高耐药率的CRKP需引起临床医师及卫生行政部门的高度关注。基于碳青霉烯类抗生素(亚胺培南、美罗培南等)仍然是目前临床治疗肺炎克雷伯菌感染的最有效的抗生素,本研究认为应严格控制临床对碳青霉烯类抗生素的使用,避免出现超级耐药菌的产生。

综上所述,婴幼儿肺炎克雷伯菌的感染率呈逐年增加的趋势,且该菌对绝大部分 β -内酰胺类抗生素的耐药性持续上升,临床需严格控制肺炎克雷伯菌感染,加强仪器设备、手术器械的消毒与管理以及减少有创操作的实施,并且严格控制临床对抗生素的使用。临床医生应根据WHO抗生素使用原则,掌握区域内细菌的耐药性与分布特点,结合临床实际情况选取合适的抗生素。检验人员应尽可能快速发出药敏报告,临床医生应根据药敏报告和临床情况选择合适的抗生素,减缓耐药性产生。

参考文献:

- [1] BRADY M, CUNNEY R, MURCHAN S, et al. Klebsiella pneumonia bloodstream infection, antimicrobial resistance and consumption trends in Ireland: 2008 to 2013[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016, 35(1):1777-1785.
- [2] 游楚明,陈历鑫,谢燕丕,等. 早产儿肺炎克雷伯菌感染临床分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2017, 28(10): 1299-1301.
You Chuming, CHEN Lidie, XIE Yanpi, et al. Clinical analysis on Klebsiella pneumoniae infection in preterm infants[J]. Chinese Journal of Woman and Child Health Research, 2017, 28(10): 1299-1301.
- [3] 凌勇,肖洪广,邱芳华. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌的耐药基因分析[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(3): 358-361.
LING Yong, XIAO Hongguang, QIU Fanghua. Analysis of drug resistance genes in carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae[J]. Journal of Tropical Medicine, 2018, 18(3): 358-361.
- [4] 杨家武,付红敏,余凯,等. 495例肺炎患儿支气管肺泡灌洗液与痰液细菌培养对比研究[J]. 中国现代医生, 2018, 56(28): 112-114.
- Yang Jiawu, FU Hongmin, YU Kai, et al. Comparative study on bacterial culture of bronchoalveolar lavage fluid and sputum in 495 children patients with pneumonia[J]. China Modern Doctor, 2018, 56(28): 112-114.
- [5] 袁胜红. 儿科应用氨基糖苷类抗生素的不良反应分析[J]. 中国实用医药, 2015, 10(3): 170-171.
Yuan Shenghong. Analysis of adverse reactions in pediatric application of aminoglycoside antibiotics[J]. China Practical Medicine, 2015, 10(3): 170-171.
- [6] 徐晓涵. 氟喹诺酮类药物存在致残和永久严重不良反应风险[J]. 中国食品药品监管, 2017, 3: 77.
XU Xiaohan. Risk of disability and permanent serious adverse reactions of Fluoroquinolone[J]. China Food Drug Administration, 2017, 3: 77.
- [7] 程莉,谭婷婷,魏红霞,等. 临床分离的耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌的耐药机制研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(3): 112-114.
CHENG Li, TAN Tingting, WEI Hongxia, et al. Resistance mechanisms of clinical isolated carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(3): 112-114.
- [8] CORCIONE S, ANGILLET R, RAVIOLO S, et al. Epidemiology and risk factors for mortality in bloodstream infection by CP-Kp, ESBL-E, Candida and CDI: A single center retrospective study[J]. Eur J Intern Med, 2018, 48(2): 44-49.
- [9] 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.
HU Fupin, GUO Yan, ZHU Demei, et al. Antimicrobial resistance profile of clinical isolates in hospitals across China: report from the CHINET Surveillance Program, 2017[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2018, 18(3): 241-251.
- [10] 李瑞蓉,崔雪萍. 肺炎克雷伯菌主要耐药机制研究进展[J]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2016, 4(2): 86-90.
LI Ruirong, CUI Xueping. Research advance of drug resistance mechanism of Klebsiella pneumoniae[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Management(Electronic Edition), 2016, 4(02): 86-90.
- [11] DEVRIM F, SERDAROĞLU E, CAĞLARİ, et al. The emerging resistance in nosocomial urinary tract infections: from the pediatrics perspective[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2018, 10(1): e2018055.

收稿日期:2019-05-27

修回日期:2019-08-01