

参考文献

[1] 田鹏,孙爱军,褚永新,等. 泡沫硬化剂治疗下肢静脉曲张 65 例体会[J]. 临床外科杂志,2014,22(3):220-221.

[2] 朱俊,宋承鹏,李栋梁,等. 腔内激光闭合术联合高位结扎术治疗原发性大隐静脉功能不全的并发症防治研究[J]. 中国临床保健杂志,2017,20(1):94-95.

[3] 杨莉,田丽娟,林琳. EMA 的药物临床试验数据公开制度研究及启示[J]. 沈阳药科大学学报,2017,34(8):92-98.

[4] 王海丽,尹析凡,顾敏杰. 应用目测法评估产后出血量培训的效果分析[J]. 上海护理,2018,18(11):87-90.

[5] 彭军路,贺新奇,张峰,等. 规范化管理在下肢静脉曲张门诊硬化治疗中的应用效果及意义[J]. 中国医药,2017,12(2):260-263.

[6] 姜振,张玥,杨康,等. 下肢静脉曲张 304 例中医体质及生活质量调查分析[J]. 中国民族民间医药,2017,26(3):111-114.

[7] 周会. 彩色多普勒超声在下肢大隐静脉曲张诊断中的应用价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2017,20(2):176-178.

[8] 吴敏,熊瑜,赵燕妮. 超声引导硬化剂注射和传统大隐静脉高位结扎+抽剥术治疗大隐静脉曲张的疗效及安全性对比[J]. 中国社区医师,2019,35(4):76-77.

[9] 邓昌林,张叔平. 大隐静脉高位结扎联合腔内微波或传统剥脱治疗下肢静脉曲张的疗效评价[J]. 中国微创外科杂志,2018,18(12):62-64.

[10] 曾彦彰,杨轶,赵纪春. 大隐静脉结扎剥脱联合泡沫硬化剂与单纯泡沫硬化剂治疗下肢静脉性溃疡的疗效比较[J]. 中国普外基础与临床杂志,2018,25(3):312-316.

[11] 叶波,陈伟清. 抽剥术和激光联合泡沫硬化剂治疗下肢静脉曲张的对比分析[J]. 江西医药,2014,49(12):1370-1372.

[12] 周怡彤,黄熙. 泡沫硬化剂治疗静脉曲张的新进展[J]. 华夏医学,2017,30(6):150-152.

[13] 古梓颖,包国宏,韦强. 大隐静脉高位结扎联合注射聚桂醇泡沫硬化剂治疗大隐静脉曲张的临床效果[J]. 广西医学,2017,39(10):1572-1574.

[14] 张婉,郭振宇. 原发性下肢静脉曲张血管重塑相关基因的研究进展[J]. 中国普通外科杂志,2018,27(12):109-114.

[15] 周建慧. 下肢静脉曲张患者凝血指标和血小板参数变化及临床意义[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(5):1211-1212.

[16] 彭娟,杨磊,刘小艳,等. 聚桂醇在治疗下肢静脉曲张中初步临床应用[J]. 现代生物医学进展,2017,17(27):93-96.

(收稿日期:2021-01-29 修回日期:2021-04-26)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.19.034

某院肺炎克雷伯菌分布及其耐药性与携带毒力基因种数的关系

吴 乾

江苏省常州市中医医院检验科,江苏常州 213000

摘 要:目的 探讨某院肺炎克雷伯菌分布及其耐药性与携带毒力基因种数的关系。方法 选择 2017 年 1 月至 2020 年 1 月该院分离的肺炎克雷伯菌 190 株为研究对象,均进行菌株鉴定、药敏试验及毒力基因检测,观察肺炎克雷伯菌的分布特点、耐药性,以及耐药性与携带毒力基因种数的关系。结果 190 株肺炎克雷伯菌中,99 株(52.11%)来自痰液标本,53 株(27.89%)来自脓肿穿刺液或脓性分泌物标本,16 株(8.42%)来自腹水标本,10 株(5.26%)来自血液标本,12 株(6.32%)来自尿液标本。肺炎克雷伯菌对哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢吡辛、头孢曲松的耐药率较高,分别为 43.68%、37.89%、32.63%、33.68%、32.63%。毒力基因 aer-1、rmpA、magA、ybt、gyrB-2、wcaG 的检出率分别为 54.74%、48.95%、15.79%、53.16%、51.58%、21.05%。肺炎克雷伯菌产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)菌株和非产 ESBLs 菌株的毒力基因检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。肺炎克雷伯菌携带毒力基因种数和耐药药物种数呈负相关($r=-0.869, P<0.05$)。结论 肺炎克雷伯菌主要引起呼吸道感染,对头孢菌素类、哌拉西林等抗菌药物的耐药率较高,毒力基因 aer-1、rmpA、ybt、gyrB-2 的检出率较高,且携带毒力基因种数越多,耐药的药物种数越少。

关键词:肺炎克雷伯菌; 耐药性; 毒力基因

中图法分类号:R446.5 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2021)19-2900-03

肺炎克雷伯菌是医院感染常见的病原菌之一,主要分布在上呼吸道、肠道等部位,当机体抵抗力下降时其可经上呼吸道进入到肺内导致肺实质病变,引起大叶性肺炎或小叶性肺炎^[1-2]。近年来,临床上抗菌药物的大量应用导致人体呼吸道菌群改变,肺炎克雷伯菌的耐药性逐年升高。2015 年全国细菌耐药监测报告显示,肺炎克雷伯菌对头孢菌素和碳青霉烯类抗

菌药物的耐药率分别为 36.5%、7.6%^[3]。但是不同地区肺炎克雷伯菌的分布和耐药性存在差异,因此,本研究探讨了本院肺炎克雷伯菌的分布情况及其耐药性与携带毒力基因种数的关系,以期为临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 选择 2017 年 1 月至 2020 年 1 月本

院分离的肺炎克雷伯菌 190 株为研究对象,同一患者同类型标本分离到的同一菌株不重复计入。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

1.2 菌株鉴定和药敏试验 分离出的菌株使用美国 BD 公司生产的 Phoenix 100 全自动细菌鉴定仪进行鉴定。使用美国临床和实验室标准协会(CLSI)2014 年发布的相关标准进行结果判读,使用抗菌药物体外敏感的药敏纸片进行头孢唑啉、头孢噻肟、复方磺胺甲噁唑、庆大霉素、头孢呋辛、头孢曲松、头孢他啶、头孢哌酮、头孢吡肟、哌拉西林、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、环丙沙星、阿米卡星及亚胺培南的药敏试验。

1.3 毒力基因检测 首先制备 DNA 模板,采用水煮法,99 ℃煮 10 min,然后以 12 000 r/min 离心 5 min,收集上清液作为 PCR 模板。PCR 反应体系:2.5 μL 10×PCR 缓冲液,上下游引物各 0.5 μL,2.0 μL DNA 基因组模板,1.0 μL Tap 聚合酶,采用 ddH₂O 定容至 25.0 μL。PCR 扩增条件:94 ℃预变性,94 ℃变性 30 s,57 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,30 个循环;72 ℃延伸 10 min。aer-1、rmpA、magA、ybt、gyrB-2 及 wcaG 基因引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,扩增试剂由日本 Takara 公司提供,使用 PCR 检测上述基因。

1.4 统计学处理 采用 WHONET5.6 分析药敏试验结果,采用 SPSS18.0 进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺炎克雷伯菌的分布情况 190 株肺炎克雷伯菌中,来自男性患者 112 株,女性患者 78 株;患者年龄 13~77 岁,平均(45.2±6.9)岁。来自呼吸系统感染患者 133 株(70.00%),消化系统感染患者 17 株(8.95%),肿瘤患者 40 株(21.05%)。99 株(52.11%)来自痰液标本,53 株(27.89%)来自脓肿穿刺液或脓性分泌物标本,16 株(8.42%)来自腹水标本,10 株(5.26%)来自血液标本,12 株(6.32%)来自尿液标本。

2.2 肺炎克雷伯菌的耐药性 190 株肺炎克雷伯菌中,有 46 株(24.21%)为产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株,144 株(75.79%)为非产 ESBLs 菌株。肺炎克雷伯菌对哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢呋辛、头孢曲松的耐药率较高,分别为 43.68%、37.89%、32.63%、33.68%、32.63%,对头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星、亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率较低,分别为 6.84%、4.21%、1.58%、11.05%。肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株对头孢唑啉、头孢噻肟、头孢呋辛、头孢曲松、哌拉西林的耐药率达 100.00%,见表 1。

2.3 肺炎克雷伯菌的毒力基因分布情况 毒力基因 aer-1、rmpA、magA、ybt、gyrB-2、wcaG 的检出率分别为 54.74%、48.95%、15.79%、53.16%、51.58%、

21.05%。肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株和非产 ESBLs 菌株的毒力基因检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。携带 1 种毒力基因的菌株占 24.74%,携带 6 种毒力基因的菌株占 13.16%,肺炎克雷伯菌毒力基因携带情况见表 3。

表 1 肺炎克雷伯菌的耐药率分布[n(%)]

抗菌药物	合计 (n=190)	产 ESBLs 菌株 (n=46)	非产 ESBLs 菌株 (n=144)
头孢唑啉	72(37.89)	46(100.00)	26(18.06)
头孢噻肟	62(32.63)	46(100.00)	16(11.11)
复方磺胺甲噁唑	53(27.89)	32(69.57)	21(14.58)
庆大霉素	40(21.05)	25(54.35)	15(10.42)
头孢呋辛	64(33.68)	46(100.00)	18(12.50)
头孢曲松	62(32.63)	46(100.00)	16(11.11)
头孢他啶	34(17.89)	23(50.00)	11(7.65)
头孢哌酮	29(15.26)	17(36.96)	12(8.33)
头孢吡肟	60(31.58)	44(95.65)	16(11.11)
哌拉西林	83(43.68)	46(100.00)	37(25.69)
头孢哌酮/舒巴坦	13(6.84)	9(19.57)	4(2.78)
哌拉西林/他唑巴坦	21(11.05)	15(32.61)	6(4.17)
环丙沙星	38(20.00)	24(52.17)	14(9.72)
阿米卡星	8(4.21)	3(6.52)	5(3.47)
亚胺培南	3(1.58)	1(2.17)	2(1.39)

表 2 肺炎克雷伯菌的毒力基因分布情况[n(%)]

毒力基因	合计 (n=190)	产 ESBLs 菌株 (n=46)	非产 ESBLs 菌株 (n=144)
aer-1	104(54.74)	5(10.87)	99(68.75)
rmpA	93(48.95)	8(17.39)	85(59.03)
magA	30(15.79)	0(0.00)	30(20.83)
ybt	101(53.16)	21(45.65)	80(55.56)
gyrB-2	98(51.58)	13(28.26)	85(59.03)
wcaG	40(21.05)	1(2.17)	39(27.08)

表 3 肺炎克雷伯菌的毒力基因携带情况(n=190)

携带毒力基因种数	菌株数(n)	比例(%)
1 种	47	24.74
2 种	33	17.37
3 种	30	15.79
4 种	28	14.74
5 种	27	14.21
6 种	25	13.16

2.4 毒力基因与耐药性间的关系 分析肺炎克雷伯菌携带毒力基因种数(“0~6”分别表示菌株检出 0~6 种毒力基因)与耐药药物种数(“0~15”分别表示对 0~15 种药物耐药)的相关性,结果显示,携带毒力基因种数与耐药药物种数呈负相关($r=-0.869,P<0.05$)。

3 讨 论

肺炎克雷伯菌是呼吸道感染常见的病原菌之一,有较高的多重耐药和交叉耐药性,是导致患者住院时间延长、病死率增高的主要原因^[4-6],因此,研究肺炎克雷伯菌的分布特点及其耐药性对临床诊治工作具

有重要的指导意义。

本研究分离出的 190 株肺炎克雷伯菌中,来自呼吸系统感染患者的占 70.00%;来自痰液标本的占 52.11%,提示肺炎克雷伯菌主要引起呼吸道感染,对呼吸道感染患者进行痰液标本检测十分必要。此外,本研究从腹水标本中分离出 16 株(8.42%)肺炎克雷伯菌,从血液标本中分离出 10 株(5.26%)肺炎克雷伯菌,提示肺炎克雷伯菌还可能导致血流感染及腹腔感染,虽然检出率不高,但临床也应重视对腹水、血液标本的检测。

本研究中,产 ESBLs 菌株的检出率为 24.21%。肺炎克雷伯菌的多重耐药可能与产 ESBLs 有关^[7]。产 ESBLs 是肺炎克雷伯菌对 β -内酰胺酶类抗菌药物多重耐药的重要机制,ESBLs 不仅可以分解第 1、2、3 代头孢菌素及广谱青霉素,还可分解第 4 代头孢菌素,对喹诺酮类、氨基糖苷类发生交叉耐药^[8]。本研究发现,肺炎克雷伯菌对哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢呋辛、头孢曲松的耐药率较高,分别为 43.68%、37.89%、32.63%、33.68%、32.63%,对亚胺培南的耐药率最低,为 1.58%,说明肺炎克雷伯菌对哌拉西林和头孢菌素类抗菌药物有较高的耐药性,对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南的耐药性较低,主要是因为碳青霉烯类抗菌药物是一种广谱抗菌药物,对头孢菌素酶或 ESBLs 的作用较稳定,有持续抗菌后效应,是治疗革兰阴性菌感染的一线药物,但是有研究表明随着碳青霉烯类抗菌药物的广泛应用,其耐药性也在不断增加^[8]。此外,本研究分离的肺炎克雷伯菌对头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星的耐药率也较低,分别为 6.84%、4.21%。建议临床在选用抗菌药物时尽量根据药敏试验结果进行选择,避免大量使用碳青霉烯类抗菌药物,以免造成抗菌药物滥用及多重耐药菌的产生。

肺炎克雷伯菌含有一些毒力基因,可以编码一些蛋白质,参与肺炎克雷伯菌的侵袭、定植、黏附及抗吞噬等过程^[7]。本研究结果显示,肺炎克雷伯菌毒力基因 aer-1、rmpA、magA、ybt、gyrB-2、wcaG 的检出率分别为 54.74%、48.95%、15.79%、53.16%、51.58%、21.05%,并且产 ESBLs 菌株和非产 ESBLs 菌株的毒力基因检出率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。magA 可以编码一种外膜蛋白,该蛋白与肺炎克雷伯菌形成荚膜多糖有关,并且 magA 表达可引起转移性脓毒症、原发性肝脓肿等^[9]。rmpA 表达可以控制类黏蛋白表型和荚膜黏多糖的产生,与肺炎克雷伯菌的抗吞噬作用有较大关系。ybt 表达可使肺炎克雷伯菌在呼吸道定植,并且可降低脂质运载蛋白 2 水平,导致肺炎^[10-11]。在本研究中,肺炎克雷伯菌毒力基因的检出率较高,且存在携带多种毒力基因的情况。肺炎克雷伯菌的致病

性与毒力、耐药性有关^[12],本研究发现,肺炎克雷伯菌携带毒力基因种数与耐药药物种数呈负相关($r = -0.869, P < 0.05$),说明携带毒力基因种数越多的菌株,耐药药物的种数越少,即发生多重耐药性的概率越小。

综上所述,肺炎克雷伯菌主要引起呼吸道感染,对头孢菌素类、哌拉西林等抗菌药物的耐药率较高。肺炎克雷伯菌中毒力基因 aer-1、rmpA、ybt、gyrB-2 的检出率较高,且携带毒力基因种数越多,对抗菌药物可能越敏感。

参考文献

- [1] LEE C R, LEE J H, PARK S K, et al. Global dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7:895.
- [2] MILLS J P, TALATI N J, ALBY K, et al. The epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization and infection among long-term acute care hospital residents[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2016, 37(1):55-60.
- [3] 国家卫生和计划生育委员会合理用药专家委员会. 全国细菌耐药监测网 2015 年全国细菌耐药监测报告[J]. *中国执业药师*, 2016, 13(3):3-8.
- [4] 杨雪, 刘琳, 张湘燕. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌的耐药机制及治疗策略研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(4):430-434.
- [5] 孙敏, 徐永成, 仲伟一. 肺炎克雷伯菌的分布特征及耐药性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(13):1787-1790.
- [6] 黄峰, 许元元. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因检测及同源性[J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(1):21-25.
- [7] 赵瑞珂, 李艳萌, 顾国浩, 等. 肺炎克雷伯菌分离株的耐药性与毒力基因分布及相互关系研究[J]. *重庆医学*, 2016, 45(20):2820-2823.
- [8] 沈丽珍, 陈素荣, 张颖, 等. 分析 2012 年至 2014 年肺炎克雷伯菌的耐药表型及变迁[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(15):2256-2258.
- [9] 管红艳, 刘婧娴, 刘瑛. 分离自血培养肺炎克雷伯菌的毒力基因及患者临床特征分析[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2020, 40(2):235-241.
- [10] 徐水宝, 杨思宇, 翁珊珊, 等. 高毒力肺炎克雷伯菌血清型、毒力基因分布及分子标志物探索[J]. *微生物与感染*, 2019, 14(6):338-344.
- [11] 付方俊, 白永凤, 程颖, 等. 血流感染耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因及毒力因子研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(18):2217-2219.
- [12] 施瑜, 张汉园, 李莹, 等. 2016—2019 年某医院不同人群肠道肺炎克雷伯菌的毒力及耐药情况分析[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2020, 47(6):569-571.