

· 经验交流 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.17.038

## 粤西地区产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的临床分布特点及耐药性分析\*

林华胜<sup>1</sup>, 张薇<sup>1△</sup>, 刘军<sup>1</sup>, 赵祖国<sup>2</sup>, 杨维青<sup>2</sup>

(广东医学院:1.病原生物学实验室;2.微生物教研室,广东湛江 524023)

**[摘要]** 目的 分析粤西地区产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)肺炎克雷伯菌(KPN)的临床分布特点及耐药机制,以指导临床合理使用抗菌药物。方法 运用全自动微生物分析仪鉴定细菌,采用 K-B 纸片扩散法进行药敏试验及 ESBLs 的表型筛选和确证试验;采用 SPSS13.0 分析数据。结果 268 株 KPN 产 ESBLs 菌株的检出率为 30.59%,产 ESBLs 阳性菌株组耐药率明显高于阴性菌株组;标本的最主要来源为痰液(60.82%);临床分布以重症监护科和呼吸内科最常见,分别占 38.43%、13.43%;感染者以老年人为主(52.24%);对氨苄西林耐药率最高(98.51%),其次哌拉西林为 76.49%,对头孢霉素类、氨基糖苷类、喹诺酮类、磺胺类和大环内酯类抗菌药物的耐药率在 29.10%~64.18%;对哌拉西林/他唑巴坦和头孢派酮/舒巴坦的耐药率分别为 19.78%、15.67%,对美罗培南和亚胺培南最敏感。结论 粤西地区产 ESBLs KPN 耐药形势严峻,产 ESBLs 与 KPN 的耐药性关系密切,亚胺培南是本地区治疗产 ESBLs KPN 感染的首选药物。

**[关键词]** 克雷伯菌,肺炎; $\beta$ 内酰胺酶类;药物耐受性

**[中图分类号]** R446.5

**[文献标识码]** B

**[文章编号]** 1671-8348(2015)17-2411-03

肺炎克雷伯菌(KPN)是重要的条件致病菌和常见的医源性感染菌之一,可引起典型的原发性肺炎、泌尿系统感染等疾病,其容易产生超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)而导致  $\beta$ -内酰胺类药物耐药。近年来,由于抗菌药物的滥用,致使 KPN 耐药率居高不下,甚至伴有多重耐药菌出现,直接影响到临床治疗效果。为了解粤西地区产 ESBLs KPN 的临床分布特点、耐药情况和趋势,为进一步指导临床用药提供依据,本文对该地区临床分离的 268 株非重复 KPN 进行相关调查分析,现报道如下。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 菌株来源:268 株 KPN 来自 2010 年 8 月至 2012 年 6 月从临床送检的痰液、尿液、血液、脓液、分泌物、引流液等标本中按常规操作分离获得,标本主要来源于粤西地区三甲医院广东医学院附属医院、广东省农垦中心医院、湛江市中心医院。质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、KPN ATCC 700603 均购自卫生部临检中心。

## 1.2 方法

**1.2.1 细菌鉴定和药敏试验** 应用美国 BD PHUENIX100 型全自动微生物分析仪和相对应的鉴定卡进行细菌鉴定;采用中 K-B 法进行药敏试验。MH 培养基和药敏纸片均购自杭州天和微生物试剂有限公司。

**1.2.2 ESBLs 的检测** 按照美国临床和实验室标准协会(CSLI)2010 年推荐的纸片表型筛选确证试验鉴定 ESBLs。筛选试验:若头孢他啶、头孢曲松、头孢噻肟的抑菌环直径分别小于或等于 22 mm、 $\leq 25$  mm、 $\leq 27$  mm 的菌株均为可疑菌株,应进一步做确证试验。确证试验:用头孢他啶和头孢他啶/克拉维酸,头孢噻肟和头孢噻肟/克拉维酸进行检测,当两种药物中任何一种在加克拉维酸与不加克拉维酸的抑菌环直径均大于或等于 5 mm 时,即可判定为产 ESBLs 菌株。

**1.2.3 判断标准** 参照 CSLI 2010 年的标准判断试验结果。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行数据分析,对 ESBLs 阳性株组与阴性株组的耐药率进行  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 KPN 的临床标本来源分布及产 ESBLs 情况** 临床分离 268 株 KPN 来源以痰液最常见,占 60.82%,其次为尿液占 12.69%。其中产 ESBLs 株数 82 株(30.59%),以在痰液和尿液中分离的 KPN 最常见,分别占 69.51%(57 株)、14.63%(12 株),见表 1。

表 1 KPN 的临床标本来源分布及产 ESBLs 情况[n(%)]

标本来源	菌株(n=268)	产 ESBLs 株数(n=82)
痰	163(60.82)	57(69.51)
尿液	34(12.69)	12(14.63)
血液	22(8.21)	5(6.10)
脓液	17(6.34)	3(3.66)
分泌物	18(6.72)	2(2.44)
引流液	9(3.36)	2(2.44)
其他	5(1.87)	1(1.22)

**2.2 KPN 的药敏试验和产 ESBLs 的检测结果** 268 株 KPN 对 18 种抗菌药物的药敏试验结果显示,除对美罗培南、亚胺培南无耐药外(99%以上敏感),对其余抗菌药物均呈现出不同程度的耐药表现,其中氨苄西林耐药率最高,为 98.51%。ESBLs 阳性株组和 ESBLs 阴性株组的耐药情况比较见表 2。ESBLs 阳性株组和 ESBLs 阴性株组对氨苄西林、阿奇霉素、亚胺培南和美罗培南的耐药率差异性无统计学意义( $P > 0.05$ ),对其余 14 种抗菌药物的耐药率比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

\* 基金项目:广东省卫生厅科研项目(A2010421);广东省湛江市科技攻关计划项目(2012C3106022)。 作者简介:林华胜(1979-),实验师,硕士,主要从事细菌耐药机制的研究。 △ 通讯作者, Tel:13728155668; E-mail:48783712@qq.com。

表 2 KPN 药敏试验和产 ESBLs 的检测结果[n(%)]

抗菌药物	敏感 (n=268)	中介(n=268)	耐药 (n=268)	ESBLs 阳性株 耐药(n=82)	ESBLs 阴性株耐药 (n=186)	$\chi^2$	P
氨苄西林	1(0.37)	3(1.12)	264(98.51)	82(100.00)	182(97.85)	1.79	>0.05
哌拉西林	55(20.52)	8(2.99)	205(76.49)	80(97.56)	125(67.20)	29.17	<0.05
氨苄西林/舒巴坦	164(61.19)	9(3.36)	95(35.45)	73(89.02)	22(11.83)	148.2	<0.05
哌拉西林/他唑巴坦	206(76.87)	9(3.36)	53(19.78)	29(35.37)	24(12.90)	18.1	<0.05
头孢唑琳	109(40.67)	2(0.75)	157(58.58)	75(91.46)	82(44.09)	52.65	<0.05
头孢曲松	114(42.54)	8(2.99)	146(54.48)	72(87.80)	74(39.78)	52.92	<0.05
头孢他啶	97(36.19)	6(2.24)	165(61.57)	68(82.93)	97(52.15)	22.78	<0.05
头孢塞肟	122(45.52)	3(1.12)	143(53.36)	71(86.59)	72(38.71)	52.41	<0.05
头孢派酮/舒巴坦	214(79.85)	12(4.48)	42(15.67)	28(34.15)	14(7.53)	30.51	<0.05
头孢吡肟	130(48.51)	10(3.73)	128(47.76)	51(62.20)	77(41.40)	9.87	<0.05
美罗培南	267(99.63)	0	1(0.37)	0	1(0.54)	0.44	>0.05
亚胺培南	266(99.25)	0	2(0.75)	0	2(1.08)	0.89	>0.05
阿米卡星	181(67.54)	9(3.36)	78(29.10)	46(56.10)	32(17.20)	41.72	<0.05
庆大霉素	162(60.45)	5(1.87)	101(37.69)	54(65.85)	47(25.27)	39.92	<0.05
环丙沙星	139(51.87)	6(2.24)	123(45.90)	71(86.59)	52(27.96)	78.78	<0.05
左氧氟沙星	156(58.21)	4(1.49)	108(40.30)	56(68.29)	50(26.88)	40.82	<0.05
复方新诺明	93(34.70)	3(1.12)	172(64.18)	69(84.15)	103(55.38)	20.49	<0.05
阿奇霉素	153(57.09)	5(1.87)	110(41.04)	48(58.54)	62(33.33)	0.1	>0.05

2.3 KPN 的临床科室分布特点 268 株 KPN 样本收集自 12 个临床科室,以重症监护科和呼吸内科最常见,分别占 38.43%、13.43%。其中产 ESBLs 的检出率以重症监护科最高占 47.56%,其次呼吸内科和老年病科,分别占 14.63%、7.32%,见表 3。

表 3 268 株 KPN 在临床科室中的分布情况[n(%)]

科室	菌株(n=268)	产 ESBLs 株数(n=82)
重症监护科	103(38.43)	39(47.56)
呼吸内科	36(13.43)	12(14.63)
消化内科	7(2.61)	1(1.22)
肿瘤科	21(7.84)	5(6.10)
内分泌科	16(5.97)	3(3.66)
神经内科	18(6.72)	5(6.10)
神经外科	15(5.60)	4(4.88)
儿科	11(4.10)	3(3.66)
老年病科	20(7.46)	6(7.32)
泌尿外科	6(2.24)	1(1.22)
肾内科	7(2.61)	1(1.22)
心血管内科	8(2.99)	2(2.44)

表 4 268 株 KPN 感染人群不同年龄段的分布情况[n(%)]

年龄(岁)	菌株(n=268)	产 ESBLs 株数(n=82)
1~14	21(7.84)	7(8.54)
15~39	14(5.22)	5(6.10)

续表 4 268 株 KPN 感染人群不同年龄段的分布情况[n(%)]

年龄(岁)	菌株(n=268)	产 ESBLs 株数(n=82)
40~59	93(34.70)	24(29.27)
≥60	140(52.24)	46(56.10)

2.4 KPN 的感染人群的年龄分布特点 268 例 KPN 的感染者以 60 岁及以上老年人常见,占 52.24%;其中产 ESBLs 的检出率也以 60 岁及以上老年人居多,占 56.10%,见表 4。

### 3 讨论

KPN 在正常人口咽部的带菌率为 1%~6%,在住院患者中可高达 20%,是免疫力低下人群和慢性阻塞性肺疾病患者并发肺部感染的潜在危险因素<sup>[1]</sup>。Amazian 等<sup>[2]</sup>研究显示,肺 KPN 占地中海地区医院内感染的 9.2%;2011 年全国医院感染监控网医院感染病原菌分布调查显示 KPN 医院感染占 9.03%,成为国内医院感染的第二大病原菌<sup>[3]</sup>,国外曾经报道一组由多重耐药 KPN 引起医院内感染的暴发流行,病死率高达 40%<sup>[4]</sup>。

ESBLs 是 KPN 耐药产生的最主要的一类  $\beta$ -内酰胺酶,由质粒介导的丝氨酸蛋白酶,通过水解青霉素、广谱及超广谱头孢菌素及单环  $\beta$ -内酰胺类药物的  $\beta$ -内酰胺环,使  $\beta$ -内酰胺类药物水解而失去抗菌活性,导致此类抗菌药物耐药,可被  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂如克拉维酸钾所抑制。1983 年由德国报告了世界上第一例产 ESBLs 菌,1994 年在中国医学科学院北京协和医院发现国内首例产 ESBLs 菌感染,迄今已报告的产 ESBLs 代表菌株有 KPN,大肠埃希菌等。近年产 ESBLs 菌的检出率呈现上升趋势<sup>[5]</sup>,以 TEM、SHV 最常见,CTX-M 型是我

国的主要基因型<sup>[6]</sup>。

本组 K-B 法药敏试验结果显示,粤西地区 KPN 对各类抗菌药物的耐药形势非常严峻。结果显示 KPN 对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药情况非常严重,其中对氨苄西林耐药率最高,为 98.51%,接近天然耐药程度;其次哌拉西林为 76.49%,对头孢他啶、头孢唑林、头孢曲松、头孢塞肟、头孢吡肟的耐药率均达到 50%左右。这说明产生  $\beta$ -内酰胺酶是 KPN 对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药的主要机制之一。但结合  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂使用后,其耐药率出现明显下降,如哌拉西林/他唑巴坦和头孢派酮/舒巴坦的耐药率分别是 19.78%、15.67%,故  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物和酶抑制剂的联合使用可有效治疗产 ESBLs 的 KPN 感染。本研究显示粤西地区 KPN 的产 ESBLs 检出率为 30.59%,低于伊朗的 59.20%和广州的 66.16%<sup>[7-8]</sup>,与墨西哥的 35.9%和广西的 28.50%、陕西的 33.12%相近<sup>[9-11]</sup>,这种差异可能与不同地区使用抗菌药物种类和数量的不同而造成对 ESBLs 的筛选及诱导不同有关。ESBLs 阳性株组和 ESBLs 阴性株组除对氨苄西林、阿奇霉素、亚胺培南和美罗培南的耐药率无统计学差异,对其余 14 种抗菌药物的耐药率 ESBLs 阳性株组明显高于 ESBLs 阴性株组,这提示本地区 KPN 对抗菌药物产生耐药和其产 ESBLs 有密切的关系。表中还显示 KPN 对环丙沙星、左氧氟沙星、阿奇霉素、庆大霉素、阿米卡星、复方新诺明的均产生不同程度的耐药,耐药率在 29.10%~64.18%。这也说明 KPN 对喹诺酮类、大环内酯类、氨基糖苷类、复方磺胺类的耐药形势也不容乐观,印证了 KPN 复杂多变的耐药机制。

本研究还显示,268 株 KPN 除对美罗培南和亚胺培南 99%以上敏感,说明具有超广谱、高效抗菌活性的亚胺培南仍是目前本地区治疗产 ESBLs KPN 感染的首选药物。但在本次研究中已检测 2 株 KPN 对亚胺培南耐药,1 株 KPN 对美罗培南耐药,已进行 Hodge 试验验证,对此在临床治疗上应提高警惕,应尽量少用、慎用这类药物。

本次临床分离的标本来源以痰液和尿液最多,分别占 60.82%和 12.69%。这说明 KPN 能引起机体多个部位的感染,以呼吸道和泌尿系统感染最为常见,与文献<sup>[11-13]</sup>报道一致,但 Ahmad 等<sup>[14]</sup>报道以泌尿道感染多见,这说明 KPN 的感染部位也存在着地区差异。本次标本收集自 12 个临床科室,以重症监护科和呼吸内科常见,分别占 38.43%、13.43%。产 ESBLs KPN 的检出率以重症监护科最高,占 47.56%,其次为呼吸内科、老年病科和肿瘤科,与周蓉等<sup>[15]</sup>报道一致。表 4 显示患者年龄越大 KPN 的感染率越高,以 60 岁及以上老年人为主要感染者,占 52.24%;该年龄段人群产 ESBLs 的检出率最高,占 56.10%。以上提示 KPN 作为一种条件致病菌在临床科室分布非常广泛,产 ESBLs 细菌产生的诱因与伴有多器官功能衰竭、恶性肿瘤等严重的基础疾病、住院时间长、免疫功能下降、抗菌药物的长期使用、较多的侵入性诊疗操作、年龄老化等因素具有一定的相关性有关。

## 参考文献

[1] 俞树荣. 微生物学和微生物检验[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2002:192-193.

- [2] Amzian K, Rossello J, Castella A, et al. Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the mediterranean region[J]. East Mediterr Health, 2010, 16(10): 1070-1078.
- [3] 文细毛,任南,吴安华,等. 全国医院感染监控网医院感染病原菌分布及变趋势[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(2):350-255.
- [4] Lithgow AE, Kilalang C. Outbreak of nosocomial sepsis in the special care nursery at port moresby general due to multiresistant *Klebsiella pneumoniae*: high impact on mortality[J]. PNG Med, 2009, 52(1/2): 28-34.
- [5] 朱德妹,汪复,胡付品,等. 2010 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2011,11(5): 321-329.
- [6] 钟海琴,蔡挺,张顺. 肺炎克雷伯菌多药耐药机制研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(6): 735-738.
- [7] Landman D, Bratu S, Kochar S, et al. Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 60(1): 78-82.
- [8] 王凤平,陈清,吴奎海,等. 临床分离 133 株肺炎克雷伯菌耐药机制和基因分型研究[J]. 热带医学杂志,2010,10(1): 18-22.
- [9] Garza-Gonzalez E, Mendoza Ibarra SI, Llaca-Diaz JM, et al. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae isolates at tertiary-care centre Monterrey Mexico[J]. J Med Microbiol, 2011, 60(1): 84-90.
- [10] 龙绍芬,黎铁斌. 207 株肺炎克雷伯菌临床分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11): 1331-1332.
- [11] 朱鸿,崔海洋,王茁. 肺炎克雷伯菌 395 例产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶阳性率及耐药性分析[J]. 基层医学论坛,2013,17(7): 933-935.
- [12] 韦衍莉,陈如寿,范志刚. 373 株肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2013,10(17): 2211-2212.
- [13] 孙龙,武建. 肺炎克雷伯菌医院感染的临床分布及耐药研究[J]. 检验与临床,2012,30(5): 478-480.
- [14] Ahmad S, Al-Juaid NF, Alenzi FQ, et al. Prevalence, antibiotic susceptibility pattern and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* at Armed Forces Hospital in Saudi Arabia[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2009, 19(4): 264-265.
- [15] 周蓉,朱卫民,黄文祥,等. 855 株肺炎克雷伯菌感染的临床分布及耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志,2013,38(5): 363-369.

(收稿日期:2014-10-18 修回日期:2015-03-16)