

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.15.011

β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂对双歧杆菌和乳酸杆菌敏感性分析*

李辉¹, 张振^{2△}

(1. 华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院新生儿科 430016; 2. 上海德济医院检验科, 上海 200331)

[摘要] **目的** 分析儿童肠道双歧杆菌和乳酸杆菌对 β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂复合物(β -lactam/ β -lactamase inhibitors)的药敏情况。**方法** 按照伯杰细菌鉴定手册的方法从 36 例健康儿童大便标本中分离出 45 株双歧杆菌和 39 株乳酸杆菌,依据 2015 年临床和实验室标准协会(CLSI)的标准,采用 E-test 方法实施双歧杆菌和乳酸杆菌对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦的药敏试验,并进行统计分析。**结果** 45 株双歧杆菌对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮敏感百分率分别为 77.78%、95.56%、88.89%、73.33%、91.11%、68.89%、84.44%、82.22%,39 株乳酸杆菌对上述抗生素敏感百分率分别为 74.36%、94.87%、92.31%、71.79%、92.31%、69.23%、89.74%、79.49%。除头孢哌酮/舒巴坦没有 CLSI 药敏 MIC 解释标准而无法判断外,其他 β -lactam/ β -lactamase inhibitor 均比单一 β -lactam 抗生素敏感百分率升高,双歧杆菌氨苄西林与阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林与哌拉西林/他唑巴坦的敏感数 P 值分别为 0.01、0.03,乳酸杆菌氨苄西林与阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林与氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林与哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林与替卡西林/克拉维酸的敏感数 P 值分别为 0.01、0.03、0.02、0.03。**结论** β -lactam/ β -lactamase inhibitor 比单一 β -lactam 抗生素抑制儿童肠道双歧杆菌和乳酸杆菌作用更强。

[关键词] 儿童;双歧杆菌;乳酸杆菌; β -内酰胺; β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂;抗生素相关性腹泻

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)15-2016-04

Analysis on sensitivity of β -lactam/ β -lactamase inhibitors to bifidobacteria and lactobacilli*

LI Hui¹, ZHANG Zhen^{2△}

(1. Department of Neonatology, Affiliated Wuhan Municipal Children's Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430016, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Deji Hospital, Shanghai 200331, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the susceptibility situation of bifidobacteria and lactobacilli from child intestinal tract on β -lactam/ β -lactamase inhibitor complex. **Methods** According to the method of the Bergey Bacterial Identification Manual, 45 strains of bifidobacteria and 39 strains of lactobacilli were isolated from the stool specimens of 36 healthy children. The susceptibility tests of bifidobacteria and lactobacilli to ampicillin, amoxicillin/clavulanate, ampicillin/sulbactam, piperacillin, piperacillin/tazobactam, ticarcillin, ticarcillin/clavulanate, cefoperazone and cefoperazone/sulbactam were performed by adopting the E-test method. Then the statistical analysis was conducted. **Results** The sensitivity percentages of 45 strains of bifidobacteria to ampicillin, amoxicillin/clavulanate, ampicillin/sulbactam, piperacillin, piperacillin/tazobactam, ticarcillin, ticarcillin/clavulanate and cefoperazone were 77.78%, 95.56%, 88.89%, 73.33%, 91.11%, 68.89%, 84.44% and 82.22% respectively, which of 39 strains of lactobacilli to above antibiotic drugs were 74.36%, 94.87%, 92.31%, 71.79%, 92.31%, 69.23%, 89.74% and 79.49%, respectively. Except having no judgment due to without the CLSI drug susceptibility MIC interpretation criteria of cefoperazone/sulbactam, the sensitivity percentages of other β -lactam/ β -lactamase inhibitor complex were higher than those of single β -lactam antibiotics, the sensitive number P values of bifidobacteria in ampicillin with amoxicillin/clavulanate and piperacillin with piperacillin/tazobactam were 0.01 and 0.03 respectively, which of lactobacilli in ampicillin with amoxicillin/clavulanate, ampicillin with ampicillin/sulbactam, piperacillin with piperacillin/tazobactam, ticarcillin with

* 基金项目:武汉市卫计委临床医学科研项目(WX13A12)。 作者简介:李辉(1973-),主管护师,本科,主要从事儿童感染性疾病的护理与院感监测研究。 △ 通信作者, E-mail: lihui6916@sohu.com。

ticarcillin/clavulanate were 0.01, 0.03, 0.02 and 0.03 respectively. **Conclusion** β -lactam/ β -lactamase inhibitors complex has stronger effect for inhibiting child intestinal tract bifidobacteria and lactobacilli than single β -lactam antibiotics.

[Key words] children; bifidobacterium; lactobacillus; β -lactam; β -lactam/ β -lactamase inhibitor; antibiotic-associated diarrhea

β -内酰胺类抗生素(β -lactam)是儿科常用治疗细菌感染的一类抗生素,包括对不产 β -内酰胺酶(β -lactamase)细菌有效的单一 β -lactam 抗生素和对产 β -lactamase 细菌有效的 β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂(β -lactam/ β -lactamase inhibitors)。儿童肠道正常菌双歧杆菌和乳酸杆菌为一类不产 β -lactamase 细菌,理论上 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 对双歧杆菌和乳酸杆菌的作用与单一 β -lactam 抗生素相同,然而有研究报道 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 比单一 β -lactam 抗生素导致患儿抗生素相关性腹泻(antibiotic-associated diarrhea, AAD)发病率高很多,而且是导致患儿 AAD 高发病率的独立危险因素^[1-2]。本研究将儿童肠道双歧杆菌和乳酸杆菌对 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 药敏情况进行了分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 培养基 改良的双歧杆菌培养基 BS(在 MRS 培养基中添加 L-半胱氨酸、放线菌酮、硫酸新霉素、硫酸巴龙霉素、氯化锂、X-Gal 等)^[3],乳酸杆菌培养基为莫匹罗星锂盐改良的 MRS,改良的 BS 和 MRS 液体培养基用于双歧杆菌和乳酸杆菌的分离及纯化,MRS 固体培养基用于药敏试验。

1.1.2 质控菌株 双歧杆菌和乳酸杆菌培养及鉴定质控菌株为鼠李糖乳杆菌 ATCC 7469、婴儿双歧杆菌 ATCC 15697,药敏质控菌株为脆弱拟杆菌 ATCC 25285、多形拟杆菌 ATCC 29741,全部质控菌株均购自上海北诺生物科技有限公司。

1.1.3 试剂 生化鉴定管(淀粉、蔗糖、果糖、棉籽糖、阿拉伯糖、蜜二糖、纤维二糖、甘露醇、山梨醇、麦芽糖、甘露糖、木糖、乳糖、半乳糖、硫化氢、硝酸盐还原等)购自杭州滨和微生物试剂有限公司,API-50CH 和 API-50CHL 厌氧菌鉴定卡购自法国 BioMerieux 公司,PCR 试剂(蛋白酶 K、PCR buffer、dNTP、TaKaRa Ex Taq 酶、双歧杆菌和乳酸杆菌扩增引物等)购自美国 Invitrogen 公司,E-test 药敏试剂条(氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦)购自法国 BioMerieux 公司。

1.1.4 设备 电热恒温培养箱(上海精宏实验有限公司); MARK II 型厌氧微需氧培养系统(荷兰 AN-

OXOMAT 公司);电热恒温干燥箱(上海一恒科技有限公司);高压灭菌锅(北京医疗仪器有限公司);GeneAmp PCR System 9700 型 PCR 仪(美国 ABI 公司);无菌操作台、冰箱、离心机等实验室所需的常用设备。

1.2 方法

1.2.1 样品采集与处理 用灭菌棉签取 36 例母乳喂养健康婴幼儿(年龄 1 个月至 1 岁)粪便约 1 g,快速放入灭菌装有液态石蜡油和 9 mL 缓冲蛋白胍水溶液的试管中,充分振荡摇匀,做成 1:10 的均匀稀释液,用缓冲蛋白胍水溶液作稀释液,可以有效保护双歧杆菌和乳酸杆菌的存活,避免受外界环境因素的影响。另取 1 mL 灭菌移液管吸取上述稀释液注入灭菌的含有 9 mL 缓冲蛋白胍水溶液试管中,充分振荡摇匀,做成 1:100 的均匀稀释液。按上述操作顺序,依次做成 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ 梯度的均匀稀释液。

1.2.2 分离培养 将 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 和 1×10^{-7} 3 种梯度的粪便稀释液各取 1 mL 分别注入无菌平皿中,每个梯度的稀释液装 2 块平皿,并做空白对照。在加入样品稀释液的平皿中,分别注入冷却至 50 °C 左右的选择性改良 BS 和 MRS 培养基适量,然后放入 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的 MARK II 型厌氧培养箱中厌氧培养 48~72 h。

1.2.3 初步鉴定 分离培养的细菌先采用常规鉴定方法:革兰染色镜检、 H_2O_2 试验、糖发酵试验、生化试验等,结合《伯杰氏细菌鉴定手册》(第 9 版)初步鉴定细菌,然后使用法国 BioMerieux 公司生产的 API-50CH 检测双歧杆菌、API-50CHL 检测乳酸杆菌。

1.2.4 16SrDNA 序列测定 参考文献[4]方法,采用液氮反复冻融的方法提取初步分离到的双歧杆菌和乳酸杆菌 DNA,将 DNA 原液稀释到 100 ng/ μL ,双歧杆菌 PCR 引物为:上游 5'-GAT FCT GGC TCA GGA TGA ACG C-3',下游 5'-CTG ATA GGA CGC GAC CCC AT-3';乳酸杆菌 PCR 引物为:上游 5'-CTG ATG AAA GCC CTC G-3',下游:5'-GAG CCT CAG CGT CAG TG-3'。PCR 反应体系包括 10 \times buffer 5.0 μL , 4 \times dNTP 1.0 μL , 上下游引物(25 mol/L)各 0.5 μL , MgCl_2 (25 mmol/L) 5 μL , Taq 酶(5 U/ μL) 0.4 μL , DNA 模板 5 μL , 蒸馏水 32.6 μL , 共 50.0 μL 。使用 GeneAmp PCR System 9600 型 PCR 仪进行扩增,反应条件:95 °C 预变性 5 min 后,95

℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 72 ℃ 45 s, 共 35 个循环, 最后以 72 ℃ 10 min 延伸至结束。然后将扩增成功的产物寄往上海美吉生物医药有限公司测序, 将测序结果上传到 NCBI 使用 BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 完成比对鉴定。

1.2.5 药敏试验 按照 CLSI 制定的方法及标准, 使用法国 BioMerieux 公司 E-test 试纸条检测氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦的 MIC 值, 试纸条的浓度为 0.016~256.000 μg/mL。按照琼脂扩散法将菌液均匀涂布与整个 MRS 平皿表面, 放置 15~20 min, 等水吸干后, 用镊子将 E-test 试纸条放置于平皿中央, 放 37 ℃ 厌氧培养 24 h 后观察结果, 孵育后围绕着试条可形成一个卵圆形的抑菌圈, 抑菌圈与试条的横向相交处的读数刻度, 即是此抗生素的 MIC。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.00 统计软件进行分析。计数资料以百分率(%)表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 双歧杆菌和乳酸杆菌分离培养结果 从 36 例母乳喂养健康婴幼儿粪便中共分离出 45 株双歧杆菌和 39 株乳酸杆菌。

表 1 45 株双歧杆菌药敏结果分析

抗生素	MIC 结果		
	敏感[n(%)]	中介[n(%)]	耐药[n(%)]
氨苄西林	35(77.78)	7(15.56)	3(6.67)
阿莫西林/克拉维酸	43(95.56)	2(4.44)	0
氨苄西林/舒巴坦	40(88.89)	4(8.89)	1(2.22)
哌拉西林	33(73.33)	9(20.00)	3(6.67)
哌拉西林/他唑巴坦	41(91.11)	3(6.67)	1(2.22)
替卡西林	31(68.89)	8(17.78)	6(13.33)
替卡西林/克拉维酸	38(84.44)	3(6.67)	4(8.89)
头孢哌酮	37(82.22)	5(11.11)	2(4.44)
头孢哌酮/舒巴坦	—	—	—

—: 此项无数据

2.2 双歧杆菌药敏结果 45 株双歧杆菌对氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮的敏感百分率分别为 77.78%、95.56%、88.89%、73.33%、91.11%、68.89%、84.44%、82.22%, 除头孢哌酮/舒巴坦没有 CLSI 药敏 MIC 解释标准而无法判断外, 其他 β -lactam/ β -lactamase inhibitor 均较单一 β -lactam 抗生素敏感百分率升高, 氨苄西林与阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林与哌拉西林/

他唑巴坦的敏感数 P 值分别为 0.01、0.03, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.3 乳酸杆菌药敏结果 39 株乳酸杆菌对上述抗生素的敏感百分率分别为 74.36%、94.87%、92.31%、71.79%、92.31%、69.23%、89.74%、79.49%, 除头孢哌酮/舒巴坦没有 CLSI 药敏 MIC 解释标准而无法判断外, 其他 β -lactam/ β -lactamase inhibitor 均比单一 β -lactam 抗生素敏感百分率升高, 氨苄西林与阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林与氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林与哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林与替卡西林/克拉维酸的敏感数 P 值分别为 0.01、0.03、0.02、0.03, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 39 株乳酸杆菌药敏结果分析

抗生素	MIC 结果		
	敏感[n(%)]	中介[n(%)]	耐药[n(%)]
氨苄西林	29(74.36)	7(17.95)	3(7.69)
阿莫西林/克拉维酸	37(94.87)	2(5.13)	0
氨苄西林/舒巴坦	36(92.31)	2(5.13)	1(2.56)
哌拉西林	28(71.79)	6(15.38)	5(12.82)
哌拉西林/他唑巴坦	36(92.31)	3(7.69)	0
替卡西林	27(69.23)	9(23.08)	3(7.69)
替卡西林/克拉维酸	35(89.74)	3(7.69)	1(2.56)
头孢哌酮	31(79.49)	6(15.38)	2(5.13)
头孢哌酮/舒巴坦	—	—	—

—: 此项无数据

3 讨 论

产 β -lactamase 细菌能够水解 β -lactam 类抗生素, 从而导致治疗失败, β -lactam/ β -lactamase inhibitors 是目前儿科治疗产 β -lactamase 细菌感染的主要抗生素之一, 主要有阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林/克拉维酸、头孢哌酮/舒巴坦, 对于儿童患者而言上述 5 种复合抗生素与喹诺酮类、氨基糖苷类抗生素相比不良反应较小, 而且治疗产 β -lactamase 细菌感染有较好的效果^[5]。然而使用 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 也会导致患儿有较高的 AAD 发生率, 有研究显示细菌性重症肺炎患儿使用阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦 AAD 发病率均高于其对应的单一 β -lactam 类抗生素阿莫西林、哌拉西林、头孢哌酮^[2]。为了探究使用 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 导致患儿高 AAD 发病率的原因, 研究 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 对儿童肠道正常菌群(双歧杆菌和乳酸杆菌为主)的影响很有必要。有文献报道阿莫西林/克拉维酸是导致细菌性重症肺炎患儿高 AAD 发病率的独立危险因素^[2]。在本研究中, 双歧

杆菌和乳酸杆菌对氨苄西林的敏感率分别为 77.78%、74.36%，阿莫西林/克拉维酸分别为 95.56%、94.87%，由于 CLSI 对厌氧菌阿莫西林的 MIC 药敏解释标准还未建立，但阿莫西林折点被认为与氨苄西林相同，有限的体外数据表明这两种药物对厌氧菌的 MIC 值接近，因此笔者用氨苄西林替代阿莫西林与阿莫西林/克拉维酸比较敏感数的差异，结果显示双歧杆菌和乳酸杆菌氨苄西林与阿莫西林/克拉维酸的敏感数 *P* 值都为 0.01，说明阿莫西林/克拉维酸对双歧杆菌和乳酸杆菌的生长抑制作用比阿莫西林(氨苄西林)更强。

YILMAZ 等^[6] 研究显示氨苄西林/舒巴坦是导致血性 AAD 的重要药物诱因，在本研究中，双歧杆菌和乳酸杆菌氨苄西林/舒巴坦的敏感数百分率分别为 88.89%、92.31%，双歧杆菌和乳酸杆菌氨苄西林与氨苄西林/舒巴坦的敏感数 *P* 值分别为 0.16、0.03，说明氨苄西林/舒巴坦对双歧杆菌和乳酸杆菌的生长抑制作用比氨苄西林强。

在本研究中，双歧杆菌和乳酸杆菌哌拉西林的敏感数百分率分别为 73.33%、71.79%，哌拉西林/他唑巴坦分别为 91.11%、92.31%，双歧杆菌和乳酸杆菌哌拉西林与哌拉西林/他唑巴坦的敏感数 *P* 值分别为 0.03、0.02，说明哌拉西林/他唑巴坦对双歧杆菌和乳酸杆菌的生长抑制作用比哌拉西林更强。使用替卡西林/克拉维酸导致患者发生 AAD 也有报道^[7]，本研究显示双歧杆菌和乳酸杆菌替卡西林的敏感数百分率分别为 68.89%、69.23%，替卡西林/克拉维酸分别为 84.44%、89.74%，双歧杆菌和乳酸杆菌替卡西林与替卡西林/克拉维酸的敏感数 *P* 值分别为 0.08、0.03，说明替卡西林/克拉维酸对双歧杆菌和乳酸杆菌的生长抑制作用比替卡西林强。

头孢哌酮对 β -lactamase 的稳定性较差，舒巴坦为广谱酶抑制剂同时具有较弱的抗菌活性，二者联合对革兰阴性杆菌有协同抗菌活性，联合后的复合物抗菌活性比单独头孢哌酮高很多^[8]。本研究显示双歧杆菌和乳酸杆菌头孢哌酮的敏感数百分率分别为 82.22%、79.49%，由于目前用于药敏标准指南的 CLSI 和欧洲抗生素管理委员会(EUCAST)均没有头孢哌酮/舒巴坦的药敏分组与折点标准，无法判断双歧杆菌和乳酸杆菌头孢哌酮/舒巴坦的 MIC 值，因而无法比较头孢哌酮与头孢哌酮/舒巴坦对双歧杆菌和乳酸杆菌生长的影响大小。

虽然双歧杆菌和乳酸杆菌不产 β -lactamase，但本研究显示 β -lactam/ β -lactamase inhibitor 比单一 β -lactam 抗生素抑制双歧杆菌和乳酸杆菌作用更强，可能的原因有：(1)对 β -lactamase 阴性感染菌使用 β -

lactam/ β -lactamase inhibitors 比 β -lactamase 阳性感染菌更易导致患儿发生 AAD，其原因是对 β -lactamase 阳性感染菌使用 β -lactam/ β -lactamase inhibitors，大部分 β -lactamase inhibitors 会与感染菌的 β -lactamase 发生不可逆的结合， β -lactamase inhibitors 在与 β -lactamase 作用的过程中本身会遭到破坏^[9]，因此没有或者只有较少剩余的 β -lactamase inhibitors 作用于人体正常菌群。而对 β -lactamase 阴性感染菌(例如双歧杆菌和乳酸杆菌)使用 β -lactam/ β -lactamase inhibitors， β -lactamase inhibitors 会作用于人体肠道产 β -lactamase 正常菌群(例如脆弱类杆菌等)，导致人体肠道黏膜生物屏障可能被破坏^[10]；(2)不合理的使用 β -lactamase inhibitors，可能会增加儿童肠道双歧杆菌、乳酸杆菌细胞膜的通透性，某些药物或毒素就会进入细菌细胞内，导致这类细菌生长受到抑制^[11]。

笔者的药敏研究显示 β -lactam/ β -lactamase inhibitor 比单一 β -lactam 抗生素抑制儿童肠道双歧杆菌和乳酸杆菌效果更强，然而抗生素在人体内会受到其他多种因素的影响，其吸收、运载和代谢的过程非常复杂，今后需要进一步研究 β -lactam/ β -lactamase inhibitors 导致患者发生 AAD 的详细机制，以便能合理规范使用 β -lactam/ β -lactamase inhibitor，尽量考虑治疗产 β -lactamase 细菌感染疗效的同时兼顾降低患儿 AAD 发病率。

参考文献

- [1] HAUSMANN J, SCHRDER O. Antibiotic-associated diarrhea[J]. *Der Gastroenterologe*, 2012, 7(3): 220-227.
- [2] 李自华, 程国平, 汪在华, 等. 细菌性重症肺炎患儿抗生素相关性腹泻发病率及高危因素分析[J]. *临床儿科杂志*, 2015, 33(8): 698-701.
- [3] FERRARIS L, AIRES J, WALIGORA-DUPRIET A J, et al. New selective medium for selection of bifidobacteria from human feces[J]. *Anaerobe*, 2010, 16(4): 469-471.
- [4] SOTO A, MARTN V, JIMNEZ E, et al. Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotic therapy and other host and clinical factors[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2014, 59(1): 78-88.
- [5] 周华, 李光辉, 陈佰义, 等. 中国产超广谱 β -内酰胺酶肠杆菌科细菌感染应对策略专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2014, 94(24): 1847-1856.
- [6] YILMAZ M, BILIR Y A, AYG N G, et al. Prospective observational study on antibiotic-associated bloody diarrhea: report of 21 cases with a long-term follow-up from Turkey[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 24(6): 688-694.
- [7] GUERRA I, FADANELLI R, FIGUEIR M, et al. Aeromonas associated diarrhoeal disease in (下转第 2023 页)

在以往的研究分析中^[3-4,8-9],影像学中可见的钙化灶被作为乳腺癌预后的一个指标。HOLMBERG 等^[8]在 1 046 例患者的随机试验研究中认为在年轻乳腺癌患者中,伴有沙粒样或铸状钙化其组织学分级更高,肿瘤直径也更大,且推断伴有铸形钙化的乳腺癌术后局部复发率增加,预后更差。本研究中钙化组患者的 3 年无病生存率单因素分析提示,仅与淋巴结转移、钙化和病理类型有密切关系。与国外相关研究结果一致^[9-10]。而在本研究所有患者的有效随访中发现,钙化组有较高的复发转移风险,3 年无病生存率明显小于非钙化组。这与国外一些相关研究一致,提示伴有钙化的乳腺癌预后较差^[11-12]。本研究中 COX 比例风险回归模型分析结果提示钙化及淋巴结阳性是乳腺癌预后的相关危险因素。而对于小直径的乳腺癌肿瘤,大多时候认为患者的预后较好。在此项研究中,对于肿瘤直径在 1~20 mm 时,钙化同样是浸润性导管癌的预后危险因素。

综上所述,钙化和淋巴结转移可以预测 T1 乳腺浸润性导管癌的预后情况。若在乳腺 X 线检查中发现乳腺钙化影像表现,必要时需行活检明确肿瘤良恶性。认为钙化是乳腺癌的预后的危险因素,对于肿瘤直径在 T1 期的患者,其预后也不容乐观,应选择合适的手术方式,建议行保乳或全乳切除加前哨淋巴结活检术,若术中前哨淋巴结有转移或术前影像学评估发现淋巴结可疑转移的,建议行腋窝淋巴结清扫术。术后严格规范化治疗。本研究为单中心回顾性病理对照研究,样本量有限,随访时间较短。但本研究提出了以钙化作为研究乳腺癌的预后切点,临床应用上具有广阔的前景。伴有钙化的 T1 浸润性乳腺癌的预后究竟如何有待于长时间的随访研究加以进一步探索发现。

参考文献

- [1] NASEEM M, MURRAY J, HILTON J F, et al. Mammographic microcalcifications and breast cancer tumorigenesis: a radiologic-pathologic analysis [J]. BMC Cancer, 2015, 15(1):1-9.
- [2] MYERS E R, MOORMAN P, GIERISCH J M, et al. Benefits and harms of breast cancer screening: a systematic review[J]. JAMA, 2015, 314(15):1615-1634.
- [3] TABAR L, CHEN H H, DUFFY S W, et al. A novel method for prediction of long-term outcome of women with T1a, T1b, and 10-14 mm invasive breast cancers: a prospective study[J]. Lancet, 2000, 355(9202):429-433.
- [4] TABAR L, CHEN H H T, YEN M F A, et al. Mammographic tumor features can predict long-term outcomes reliably in women with 1-14-mm invasive breast carcinoma [J]. Cancer, 2004, 101(8):1745-1759.
- [5] 邵真真, 刘佩芳, 张淑平, 等. 钙化性乳腺癌 MRI 表现及其与预后因子的相关性分析[J]. 中国肿瘤临床, 2013(7):389-394.
- [6] HONG L, LIU Z B, XU L H, et al. Malignant calcification is an important unfavorable prognostic factor in primary invasive breast cancer[J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2013, 9(2):108-114.
- [7] 于霞, 孟非, 徐海龙, 等. 乳腺癌 X 线摄影恶性钙化征象与其预后因素的相关性分析[J]. 实用放射学杂志, 2008, 24(6):821-823.
- [8] HOLMBERG L, WONG Y N S, TABAR L, et al. Mammography casting-type calcification and risk of local recurrence in DCIS: analyses from a randomised study[J]. Br J Cancer, 2013, 108(4):812-819.
- [9] DONNELLY P, EVANS A, DUNN J. MAMMO-50: mammographic surveillance in breast cancer patients over 50 years of age - The results of the 2 year feasibility study[J]. Eur J Surg Oncol, 2015, 41(6):S75.
- [10] EVANS A. Detection of DCIS and reduced invasive interval cancers[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(6):14-15.
- [11] PEACOCK C, GIVEN-WILSON R M, DUFFY S W. Mammographic casting-type calcification associated with small screen-detected invasive breast cancers: is this a reliable prognostic indicator? [J]. Clin Radiol, 2004, 59(9):165-170.
- [12] BENNETT R L, EVANS A J, KUTT E, et al. Pathological and mammographic prognostic factors for screen detected cancers in a multi-centre randomised, controlled trial of mammographic screening in women from age 40 to 48 years[J]. Breast, 2011, 20(6):525-528.

(收稿日期:2018-01-02 修回日期:2018-03-08)

(上接第 2019 页)

- South Brazil: prevalence, virulence factors and antimicrobial resistance *Aeromonas* associadas a diarreias no sul do Brasil: prevalência, fatores de virulência, e resistência a antibiotic[J]. Braz J Microbiol, 2007, 38(4):638-643.
- [8] 石岩, 徐英春, 刘晔, 等. 头孢哌酮-舒巴坦联合米诺环素治疗广泛耐药鲍曼不动杆菌感染[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(40):2847-2850.
- [9] TOUSSAINT K A, GALLAGHER J C. β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations: from then to now[J]. Ann Pharmacother, 2015, 49(1):86-98.

- [10] RASHID M U, ROSENBORG S, PANAGIOTIDIS G, et al. Ecological effect of ceftazidime/avibactam on the normal human intestinal microbiota[J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 46(1):60-65.
- [11] MASCO L, VAN HOORDE K, DE BRANDT E, et al. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 58(1):85-94.

(收稿日期:2017-12-02 修回日期:2018-02-08)