

苏州儿童重症监护病房呼吸机相关性肺炎肺炎克雷伯杆菌耐药分析

项 龙¹, 李 莺^{1*}, 柏振江¹, 陶云珍², 丁云芳², 谢敏慧¹

(1 苏州大学附属儿童医院重症监护室, 2 检验科, 江苏 苏州 215003)

[摘要] 目的: 调查苏州儿童重症监护病房(pediatric intensive care unit, PICU)呼吸机相关性肺炎肺炎克雷伯杆菌耐药特征, 为预防和临床治疗提供依据。方法: 选取苏州大学附属儿童医院 2011 年 8 月~2012 年 1 月入住 PICU 患儿中, 符合呼吸机相关性肺炎(ventilator-associated pneumonia, VAP)诊断标准, 且气管插管内痰标本培养为肺炎克雷伯杆菌的标本进行药敏试验分析。根据是否产超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)分为 ESBLs 阳性组和 ESBLs 阴性组, 分别比较两组菌株对抗生素的耐药性差异。结果: 共收集 39 份下气道肺炎克雷伯杆菌痰标本(来自 31 例患儿), 39 份肺炎克雷伯杆菌培养阳性菌株均进行药敏试验, 所有菌株均对氨苄西林耐药, 对头孢他啶耐药菌株 32 例, 耐药率达 82.05%(32/39), 其余常见抗生素的耐药从高到低依次为头孢唑肟(89.74%, 35/39), 头孢吡肟(76.92%, 30/39), 头孢噻肟(76.92%, 30/39)。对头孢西丁耐药率较低(17.95%, 7/39), 所有菌株均对亚胺培南敏感。ESBLs 阳性组对第 2、3、4 代头孢菌素的耐药率高于 ESBLs 阴性组菌株($P < 0.05$)。结论: 苏州地区 PICU 中 VAP 肺炎克雷伯杆菌感染以 ESBLs 阳性菌株为常见。与 ESBLs 阴性菌株比较, 其对第 2、3、4 头孢菌素耐药率明显增高。碳青霉烯类抗生素是治疗 VAP 肺炎克雷伯杆菌感染的首选药物, 临床应根据肺炎克雷伯杆菌的耐药性分析合理使用抗生素。

[关键词] 呼吸机相关性肺炎; 肺炎克雷伯杆菌; 广谱 β -内酰胺酶; 耐药性

[中图分类号] R378.99

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)04-502-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20130417

Analysis of drug resistance of *Klebsiella pneumonia* in ventilator associated pneumonia in pediatric intensive care unit in SuzhouXiang Long¹, Li Ying^{1*}, Bai Zhenjiang¹, Tao Yunzhen², Ding Yunfang², Xie Minhui¹

(1 Intensive Care Unit, 2 Clinical Laboratory, Soochow University Affiliated Children's Hospital, Suzhou 215003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the drug resistance of *Klebsiella pneumonia* in ventilator associated pneumonia in pediatric intensive care unit (PICU) in Suzhou, and provide the basis of prevention and clinical treatment. **Methods:** Children recruited in PICU from Aug. 2011 to Jan. 2012 who met the diagnostic criteria of ventilator associated pneumonia (VAP) and sputum culture showed *Klebsiella pneumonia* positive were studied. According to extended-spectrum β -lactamases (ESBLs), they were divided into two groups: ESBLs positive and ESBLs negative. The difference of drug resistance was analyzed. **Results:** Totally 39 sputum specimens from 31 children were collected and under susceptibility test. All strains showed ampicillin resistance, 32 strains showed ceftazidime resistance, the drug resistance rate was increased to 82.05% (32/39). Other antibiotics resistances were cefuroxime axetil (89.74%, 35/39), cefepime (76.92%, 30/39) and cefotaxim (76.92%, 30/39). Cefoxitin had a lower resistance (17.95%, 7/39). All strains were sensitive to imipenem. The drug resistance (of the 2nd, 3rd and 4th generation of cephalosporin) rate in the ESBLs positive group was higher than that in the ESBLs negative group ($P < 0.05$). **Conclusion:** ESBLs positive strains are more common in VAP *Klebsiella pneumonia* infection in PICU in Suzhou, and have a higher cephalosporin resistance compared to the ESBLs negative strains. Carbapenem is the first choice drug to treat VAP *Klebsiella pneumonia* infection. Doctors should choose suitable antibiotics according to the resistance.

[Key words] ventilator associated pneumonia; *Klebsiella pneumonia*; broad-spectrum β -lactamase; drug resistance

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(4): 502-505]

[基金项目] 苏州市科技项目(SYS201140)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jdl303@163.com

呼吸机相关性肺炎 (ventilator-associated pneumonia, VAP) 是机械通气患者的主要并发症之一,也是重症监护病房(PICU)中最常见的院内感染。PICU 中 VAP 发生率高,一旦发生 VAP 即会延长患者机械通气时间,易造成患者撤机困难,住院费用和病死率亦显著增加,同时,VAP 感染多以革兰氏阴性杆菌为主。监测 PICU 中病原菌分布情况及耐药情况,可指导临床正确应用抗生素。本文回顾性分析苏州大学附属儿童医院 PICU 中 VAP 患儿痰培养肺炎克雷伯杆菌的耐药特性,为临床上预防和治疗肺炎克雷伯杆菌致 VAP 治疗提供理论依据和指导。

1 资料与方法

1.1 资料

选取苏州大学附属儿童医院 2011 年 8 月~2012 年 1 月入住 PICU 患儿中,符合 VAP 诊断标准,且气管插管内痰标本培养为肺炎克雷伯杆菌的标本进行药敏试验分析。根据是否产超广谱内酰胺酶(ESBLs)分为 ESBLs 阳性组和 ESBLs 阴性组,分别比较两组菌株对抗生素的耐药性差异。

1.2 VAP 诊断标准

根据中华医学会呼吸学分会制定的《医院获得性肺炎诊断和治疗指南》VAP 诊断标准:使用机械通气大于 48 h 后或撤机拔管 48 h 内,X 线胸片出现新的或进展性肺部浸润性病灶,肺部实变体征和(或)可闻及湿啰音,同时具备下列条件之一:①外周血白细胞总数增高($WBC > 10.0 \times 10^9/L$)或降低($WBC < 4.0 \times 10^9/L$);②体温 $> 38^\circ C$;③呼吸道有脓性分泌物;④从支气管分泌物中分离出新的病原菌。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

经气管插管或经纤支镜直视下吸取下呼吸道分泌物作为标本,立即送入本院微生物实验室。送检标本培养前应满足下列镜检条件:白细胞 > 25 个/低倍视野,且鳞状上皮细胞 < 10 个/低倍视野的标本为合格标本。

1.2.2 药敏实验

将痰液接种到血平板、巧克力平板进行细菌培养,培养阳性标本经法国梅里埃公司 VITEKZ-Compact 全自动微生物分析系统鉴定。按美国国家临床实验标准化委员会(NCCLS)2008 年颁布的细菌药敏试验参考标准(逐年升级)判断结果。肺炎克雷伯杆菌由 VITEKZ-Compact 仪器测定。

1.2.3 产 ESBLs 细菌的鉴定

由 VITEKZ-Compact 仪器鉴定,按仪器专家系统说明书推荐的方法进行 ESBLs 的检测。

1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 软件,计数资料用率表示, $n < 40$,用 Fisher 确切概率法。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

此期间送出 VAP 患儿气管插管及纤支镜直视下吸取的痰标本中,共 39 份标本中培养出肺炎克雷伯杆菌。来自 31 位机械通气患儿。男女比例为 1.2:1。年龄 < 3 个月 16 例。原发疾病中,肺炎 22 例,先天性心脏病合并肺部感染 6 例,捂热综合征 1 例,脑炎 1 例,呼吸窘迫综合征 1 例。

2.2 药敏特征

39 份肺炎克雷伯杆菌培养阳性菌株均进行药敏试验,其中所有菌株均对氨苄西林耐药,对头孢他啶耐药菌株 32 例,耐药率达 82.05%(32/39),其余常见抗生素的耐药从高到低依次为头孢呋辛酯(89.74%,35/39),头孢吡肟(76.92%,30/39),头孢噻肟(76.92%,30/39),头孢西丁(17.95%,7/39),所有菌株均对亚胺培南敏感(表 1)。

根据是否产 ESBLs 将所得菌株分为两组,分别为产 ESBLs 阳性组及 ESBLs 阴性组,其中 ESBLs 阳性菌株 32 份(86.49%)。分别比较两组间菌株对庆大霉素、氨苄西林、左氧氟沙星、第 2、3、4 代常见抗生素及亚胺培南等抗生素的耐药特征,并给予统计学分析:产 ESBLs 阳性组头孢呋辛酯、头孢他啶、头孢吡肟抗生素的耐药率高于 ESBLs 阴性组菌株($P < 0.05$,表 2)。

3 讨论

VAP 是 PICU 中机械通气患儿的常见并发症。发病率为 15%~60%,病死率为 25%~76%。气管插管时间每增加 1 d,发病率则增加 1%左右。也有研究报道 VAP 病死率可高达 40.4%^[1]。VAP 的发生与 PICU 中大量使用广谱抗生素、患儿机体免疫功能低下、多脏器功能不全、频繁的有创操作、呼吸机的使用等均有密切相关。有文献报道口腔和胃肠道定植的细菌吸入是导致 VAP 的主要机制,属于内源性感染^[2]。气管插管破坏了会厌部正常屏障,减弱咳嗽反射及纤毛运动,易使环绕气管插管气囊处积聚的分泌物及细菌下行进入气管、支气管、肺组织。而且侵入性

表 1 苏州儿童重症监护病房呼吸机相关性肺炎肺炎克雷伯杆菌实验结果

Table 1 The drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* in VAP in PICU in Suzhou

抗生素	敏感(例)	中介(例)	耐药(例)	耐药率(%)	不敏感率(%)
庆大霉素	33	0	6	15.38	15.38
氨苄西林	0	0	39	100.00	100.00
左氧氟沙星	39	0	0	0	0
头孢呋辛酯	3	1	35	89.74	92.31
头孢西丁	32	0	7	17.95	17.95
头孢噻肟	6	3	30	76.92	84.62
头孢吡肟	8	1	30	76.92	79.49
头孢他啶	6	1	32	82.05	84.61
头孢哌酮舒巴坦	33	6	0	0	18.18
亚胺培南	39	0	0	0	0

表 2 ESBLs 阳性组与 ESBLs 阴性组菌株的耐药性比较

Table 2 The contrast of the drug resistance among ESBLs positive and ESBLs negative groups (%)

抗生素	产 ESBL 组阳性组 (n=32)		产 ESBL 组阴性组 (n=7)		P*
	不敏感	敏感	不敏感	敏感	
庆大霉素	5	27	1	6	0.710
氨苄西林	32	0	7	0	-
左氧氟沙星	0	32	0	7	-
头孢呋辛酯	32	0	4	3	0.004
头孢西丁	4	28	3	4	0.094
头孢噻肟	30	2	3	4	0.006
头孢吡肟	29	3	2	5	0.002
头孢他啶	30	2	3	4	0.006
头孢哌酮舒巴坦	6	26	0	7	0.278
亚胺培南	0	32	0	7	-

* $n < 40$, 使用 Fisher 确切概率法检验。

吸痰操作会损伤呼吸道黏膜上皮基底膜,为细菌进入下呼吸道提供了机会。同时又成为细菌繁殖的场所,细菌可在插管的表面积聚,经久可形成一层多糖蛋白质复合物,从而保护细菌不受抗菌药物或宿主防御的作用。

VAP 多为革兰氏阴性杆菌感染,其中以肺炎克雷伯杆菌常见。肺炎克雷伯杆菌是机会致病菌,常存在于下呼吸道及肠道内。当患儿免疫功能低下,气管插管及机械通气破坏了呼吸道防御机制,咽部寄生细菌便可沿导管周围进入气管及支气管,引起肺部感染。VAP 感染革兰氏阴性菌的耐药率呈现着上升趋势^[3]。其中,肺炎克雷伯杆菌耐药趋势更为严峻。

肺炎克雷伯杆菌是产 ESBLs 的典型菌株^[4]。其中产生 ESBLs 是肺炎克雷伯杆菌其最主要的耐药机制。产 ESBLs 细菌感染的高危因素主要有早产低体重儿、长时间住重症监护病房、侵袭性操作和使用

广谱抗生素特别是第 3 代头孢类抗生素。

ESBLs 首先在 1982 年被报道。产 ESBLs 菌株耐药传播的机制为由质粒介导,通过接合、转化和传导等方式在细菌种属之间进行传递,造成细菌的多重耐药性在不同菌株间迅速传播^[5]。ESBLs 按编码基因同源性分 10 余个家族,最常见的是 TEM、SHV 和 CTX-M。CTX-M 族 ESBLs 最主要的特征是对头孢噻肟水解力强,同时可水解氨基曲南和头孢曲松,而对头孢他啶和头孢吡肟的水解力很弱。产这类酶的菌株对头孢他啶和头孢吡肟敏感,该菌株主要分布在东欧、南美、日本及中国^[6]。新型广谱 β -内酰胺酶类抗生素广泛应用所产生的选择压力是导致产 ESBLs 菌发生耐药的主要原因。这给临床治疗带来了很大困难。本组中可见 VAP 中肺炎克雷伯杆菌感染标本中 ESBLs 阳性高达 82.05%。且与 ESBLs 阴性菌株对比,其对第 2、3、4 头孢菌素类抗生素耐药率明显增高。

产 ESBLs 的肺炎克雷伯杆菌除对 β -内酰胺酶类抗菌素耐药外,对氨基糖苷类及喹诺酮耐药率也高于非产 ESBLs 组细菌^[7]。本组中报道与之相符合。但对加酶抑制剂的复合制剂如头孢哌酮舒巴坦、哌拉西林、他唑巴坦耐药率相对较低,对亚胺培南几乎都敏感,可能与碳青霉烯类药物分子具有特殊空间构象有关。本组中的数据与相关资料大致相同。

同时,肺炎克雷伯杆菌对 β -内酰胺酶抗生素耐药与持续高水平表达的 AmpC 酶也有较大的关系。AmpC 酶是由革兰阴性杆菌产生的不被克拉维酸抑制的“丝氨酸”头孢菌素酶组成的一个酶家族。属于 C 类 β -内酰胺酶,有染色体和质料介导两类。对头孢菌素类抗生素的水解效率较青霉素类高。本组中的菌株对头孢西丁的耐药性较低,可能提示与 AmpC 酶在苏州地区小儿 VAP 克雷伯杆菌中的表达不

高有关。质粒 DNA 可同时携带多种耐药基因如 ESBLs、AmpC 酶和金属酶编码基因等,在世界各地均有报道^[8]。

更为严重的是,产 ESBLs 肺炎克雷伯杆菌可附着在机体黏膜和生物材料表面,形成生物被膜(biofilm, BF),从而逃避宿主免疫和抗菌药物的杀伤作用,引起对多种抗生素耐药^[9]。BF 形成后,其产 β -内酰胺酶的活性明显增加^[10]。ESBLs、AmpC 酶和 BF 的协同作用使肺炎克雷伯杆菌的耐药性增强,使得肺炎克雷伯杆菌引起的 VAP 治疗难度增大。

综上,苏州地区 PICU 内肺炎克雷伯杆菌感染所致的 VAP 中,肺炎克雷伯菌株以产 ESBLs 为主,且其对 β -内酰胺酶耐药率较高。因此,针对苏州地区 PICU 内肺炎克雷伯杆菌感染所致的 VAP 患儿,在加强医护人员的无菌观念和医院内消毒隔离。根据患者原发病和感染情况等因素合理选用有效抗生素。对肺炎克雷伯杆菌产 ESBLs、AmpC 酶基因和 BF 形成情况的检测,以及在此基础上合理选用亚胺培南及加酶抑制剂,是预防和减少肺炎克雷伯杆菌院内感染的有效途径。

[参考文献]

- [1] 李华茵,何礼贤,胡必杰,等. 呼吸机相关肺炎内源性感染途径的分子流行病学研究[J]. 中华医院感染学杂志,2010,14(2):121-125
- [2] 李华茵,何礼贤,胡必杰,等. 重症监护病房呼吸机相关性肺炎临床与病原学分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2005,4(2):266-270
- [3] 汪 复,朱德妹,胡付品,等. 2007 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(5):325-333
- [4] 何树洪,崔颖鹏,任 斌,等. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌的耐药[J]. 实用医学杂志,2005,21(13):1477-1478
- [5] Bradford PA. Extended-spectrum p-lactamases in 21st century[J]. Clin Microbiol Rev,2001,14(4):933-951
- [6] Bonnet R. Growing group of extended-spectrum-lactamases;the CTX-M enzymes [J].Antimicrob Agents Chemother,2004,48(1):1-14
- [7] 李观定,容永忠. 产 ESBLs、产 ESBLs 和 AmpC 酶肺炎克雷伯菌的分布与耐药性分析[J]. 中国医药导报,2008,5(10):88-89
- [8] 范艳萍,张毅华. 产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯杆菌的基因型分型及耐药分析[J]. 实用医学杂志,2007,23(19):3087-3090
- [9] 刘健龙,李先斌,聂波丽,等. 儿童医院重症监护室分离肺炎克雷伯菌株的耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(5):454-455
- [10] Trathmann M, Wingender J, Hemming HC, et al. Application of fluorescently labelled lectins for the visualization and biochemical characterization of polysaccharides in biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Microbiol Methods,2002,50(3):237-248

[收稿日期] 2012-10-09

本刊现已启用网上稿件管理系统,作者登陆
<http://jnmun.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件
审理情况。