

• 临床检验研究论著 •

上呼吸道反复感染患儿产 ESBLs 大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌的耐药性分析

余宽丽

(云南省文山州砚山县人民医院检验科 663100)

摘要:目的 检测上呼吸道反复感染患儿产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌的耐药情况。方法 用美国 MICROSCAN 细菌分析软件对反复上呼吸道感染患儿进行咽拭子培养、菌株鉴定及药敏试验,结果按美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准判读,并进行回顾性分析。结果 在分离出的 260 株革兰阴性菌中,大肠埃希菌 186 例,肺炎克雷伯菌 74 例,其中产 ESBLs 菌株分别为 78 例和 42 例,大肠埃希菌产 ESBLs 病原菌检出率为 43.01%(80/186);肺炎克雷伯菌产 ESBLs 病原菌检出率为 48.65%(36/74)。产超 ESBLs 菌株对常用抗菌药物耐药率明显高于未产 ESBLs 菌株,二者对亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦及阿米卡星高度敏感,但对部分头孢类抗菌药物呈多重耐药性。结论 反复上呼吸道感染患儿产 ESBLs 病原菌检出率较高;该类细菌对常规抗菌药物呈较高耐药性,参照有效的病原菌培养及药物敏感试验,是保证临床抗菌治疗效果的关键。

关键词:上呼吸道感染; 超广谱 β -内酰胺酶; 耐药性; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)23-3205-03

Detection of ESBLs-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children with recurrent upper respiratory tract infections

Yu Kuanli

(Department of Clinical Laboratory, Yanshan County People's Hospital, Yanshan, Yunnan 663100, China)

Abstract:Objective To detect the extended-spectrum β -lactamases(ESBLs)producing pathogens by the throat swab culture in children with recurrent upper respiratory tract infections, and to analyze the drug resistance. **Methods** The throat swab culture, bacterial strain identification and drug sensitivity test were performed in the children with recurrent upper respiratory tract infections by using the American MICROSCAN bacterial analysis software. The results were interpreted according to the standards of American Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). The retrospective analysis was performed. **Results** In 260 strains of isolated Gram-negative bacteria, 186 cases were *Escherichia coli* and 74 cases were *Klebsiella pneumoniae*, in which ESBLs-producing strains were 78 cases and 42 cases respectively. The detection rate of the ESBLs-producing strains in *Escherichia coli* was 43.01%(80/186), and which in *Klebsiella pneumoniae* was 48.65%(36/74). The resistance rates of ESBLs-producing strains to commonly used antibiotics were significantly higher than those of non-ESBLs-producing strains, both strains were highly sensitive to imipenem, piperacillin sulbactam and amikacin, but showed the multiple drug resistance to some cephalosporin antibiotics. **Conclusion** The detection rate of ESBLs-producing pathogens in the children with recurrent upper respiratory tract infection is higher. These bacteria show the higher resistance to conventional antibiotics, and it is the key to ensure clinical antimicrobial therapeutic efficacy according to the effective pathogen culture and the drug susceptibility testing.

Key words: upper respiratory tract infection; extended-spectrum β -lactamases; drug resistance; children

反复呼吸道感染(RRI)是儿科常见病,发病率约为 20%,严重影响儿童健康成长。患儿机体免疫力低下作为主要致病因素已得到公认。也有研究认为血清锌、硒等微量元素浓度降低与儿童上呼吸道感染有一定关联^[1],当机体某种微量元素浓度低下时,T、B 细胞的增殖分化发生障碍,尤其是辅助性 T 细胞功能受损,而易引起 RRI 发作;更多的观点则支持由于细菌的滋生繁殖导致了患儿呼吸道炎症的发生,其中产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的细菌不仅对青霉素类、头孢菌素类和氨基糖苷类等抗菌药物高度耐药,对氨基糖苷类、喹诺酮类、磺胺类抗菌药物的耐药性也显高于非产 ESBLs 菌株,这也是导致临床治疗效果不佳的主要原因。为了解本市上呼吸道反复感染患儿中产 ESBLs 细菌的现状 & 耐药性,笔者对本地区分离自上呼吸

道感染患者的致病性革兰阴性菌部分易产 ESBLs 菌株进行了分析,以期对临床治疗该类患者带来帮助。

1 材料与方法

1.1 材料 所有标本均来自本院 2012 年 3 月至 2013 年 10 月儿科门诊及住院患者,取标本前,嘱患者用无菌生理盐水反复漱口 3~5 次后,尽量咳出深部痰液并减少唾液污染,置于专用痰液收集杯内送检。患者痰液标本经过涂片镜检,以每低倍视野白细胞数大于 25 个且上皮细胞数小于 10 个为合格标本,反之,则需要重新留取标本。

1.2 方法 所有送检标本经过细菌培养,分离出可疑致病菌,经过转种得到纯培养菌株后,按说明书要求转种于美国 MICROSCAN 细菌分析专用细菌鉴定及药敏试验板上,37℃培

养 18~24 h 后,根据生化反应结果判定细菌菌种,依据 NC-CLS 标准判断药敏结果,由细菌鉴定软件判读为产 ESBLs 可疑菌株后,采用头孢噻肟、头孢噻肟+棒酸、头孢他啶、头孢他啶+棒酸片行 KB 法扩散试验,两组药敏纸片中任一加棒酸组的抑菌环直径与不加者相差 5 mm,即可确证该菌为产 ESBLs 细菌。操作步骤参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI) 2010 年颁布的标准。

1.3 仪器与试剂 美国 MICROSCAN 细菌分析软件、普通培养箱;试剂由原软件开发公司提供,操作按厂家提供的 SOP 文件进行。

1.4 质量控制 质控菌株大肠埃希菌 ATCC25922 为三维试验指示菌,肺炎克雷伯菌 ATCC700603 为 ESBLs 阳性对照菌,质控菌株均购自广东省临床检验中心。所有药敏纸片购自英国 Oxoid 公司,注意纸片有效期,过程需严格质量控制。

1.5 统计学处理 采用细菌耐药性监测软件 WHONET5.4 进行药敏试验及结果分析,运用 SPSS15.0 软件进行数理统计分析处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 产 ESBLs 菌株检出情况 在分离出的 260 株革兰阴性细菌中,大肠埃希菌 186 例,肺炎克雷伯菌 74 例,其中产 ESBLs 菌株分别为 78 例和 36 例,大肠埃希菌产 ESBLs 病原菌检出率为 41.93%(78/186);肺炎克雷伯菌产 ESBLs 病原菌检出率为 48.65%(36/74),二者对亚胺培南保持良好敏感性。

2.2 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌耐药率比较 大肠埃希菌产酶菌株对头孢吡肟、阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟、头孢呋新、头孢唑啉及头孢他啶的耐药性显著高于不产酶菌株($P<0.05$),且产酶菌对第三代头孢类抗菌药物保持多重耐药现象,但二者对于阿米卡星及哌拉西林/他唑巴坦却保持良好敏感性,耐药率在 20.00%左右,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.3 产 ESBLs 与非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌耐药率比较 肺炎克雷伯菌产酶菌株对头孢吡肟、头孢噻肟、头孢呋新、头孢唑啉、头孢他啶的耐药性显著高于未产酶菌株($P<0.05$);对阿莫西林/克拉维酸、阿米卡星、庆大霉素、哌拉西林/他唑巴坦的敏感性较好,与未产酶菌株比较差异无统计学意义($P>0.05$),两者耐药率均低于 50.00%,见表 2。

表 1 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌耐药率比较(%)

抗菌药物	产酶菌株($n=78$)	非产酶菌株($n=108$)	P
头孢他啶	33.65	1.12	<0.05
阿莫西林/克拉维酸	31.96	13.34	<0.05
阿米卡星	21.47	4.82	<0.05
头孢吡肟	49.80	11.54	<0.05
头孢呋新	97.12	2.11	<0.05
亚胺培南	15.66	16.69	>0.05
头孢唑啉	99.78	11.10	<0.05
头孢噻肟	100.00	0.78	<0.05
庆大霉素	59.62	65.57	>0.05
哌拉西林/他唑巴坦	18.21	13.54	>0.05

表 2 产 ESBLs 与非产 ESBLs 肺炎克雷伯菌耐药率比较(%)

抗菌药物	产酶株($n=36$)	非产酶株($n=74$)	P
头孢他啶	38.57	16.25	<0.05
阿莫西林/克拉维酸	25.56	21.30	>0.05
头孢呋新	95.74	25.40	<0.05
头孢噻肟	54.65	0.00	<0.05
庆大霉素	31.85	29.24	>0.05
头孢吡肟	33.86	12.40	<0.05
头孢唑啉	97.76	18.35	<0.05
哌拉西林/他唑巴坦	12.54	11.50	>0.05
阿米卡星	6.15	6.35	>0.05
亚胺培南	15.17	12.60	>0.05

3 讨 论

肠杆菌科细菌导致儿童上呼吸道感染现象日益严重,产 ESBLs 是此类细菌对 β -内酰胺类抗菌药物,如头孢菌素、青霉素等耐药的最重要机制。产 ESBLs 菌株检出率逐年上升^[2-3],盲目采用抗菌药物治疗失败的现象,已经引起临床医生的高度重视,选择敏感抗菌药物对该类患者进行有针对性治疗,显得尤为重要。

ESBLs 是细菌质粒介导的能水解氧亚基 β -内酰胺抗菌药物,并可被 β -内酰胺酶抑制剂所抑制的一类酶,其产生很大程度上是由于 β -内酰胺抗菌药物尤其是第 3 代头孢霉素的不规范应用有关。ESBLs 主要由大肠埃希菌属和克雷伯菌产生,能水解第 3 代头孢菌素,如头孢他啶、头孢噻肟、头孢哌酮,并被 BLA 抑制剂如克拉维酸所抑制。儿童由于免疫机制尚未健全,更易导致该类细菌感染,同种细菌在不同地区耐药现象差异显著^[4-5],提示其获得的耐药基因在不同地区菌种中代传,这可能与不同地区临床医生用药习惯不同所带来的细菌耐药差异现象有关,合理而规范地运用抗菌药物意义重大。

本研究中大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌之产 ESBLs 菌株都接近 50%,表明在儿童上呼吸道感染中,产 ESBLs 菌与非产 ESBLs 菌检出率已经非常接近,但产 ESBLs 菌与非产 ESBLs 菌耐药现象明显不同,尤其是对头孢类抗菌药物的耐药现象差异显著,提示临床医生在治疗该类患儿时,应该尽量避免盲目用药或者尽量选择阿米卡星或亚胺培南类抗菌药物,以免治疗失败;再者,产 ESBLs 大肠埃希菌对头孢类抗菌药物普遍呈多重耐药,提示临床医生在治疗患儿时,应该避免使用该类抗菌药物,尤其是部分惯用经验来诊治患者的医生,在选用抗菌药物时,更应该引起重视;在条件许可时,尽量动员患者做细菌培养并以药敏结果为指南;结果中 2 种病原菌(无论产酶与否)均对阿米卡星、亚胺培南等呈高敏感性,与文献报道相近^[7-9]。因此,临床治疗时,应该将该类抗菌药物作为首选,因其抗菌谱广,对 β -内酰胺酶稳定,耐药机制少,对多种细菌,包括多重耐药的肠杆菌属感染都有很好疗效。

研究中笔者还发现:在所有患儿中,体质越差者,其细菌培养中越多见产酶菌感染,且培养出的细菌多为耐药菌,这可能与患儿经常接受抗菌药物治疗或激素治疗不(下转第 3209 页)

已在献血者归队的检测中发挥着重要作用。确定献血者归队检测间隔期和检测频次与病毒血清学转换时间紧密相关。英国原将 HBsAg、抗-HIV、抗-HCV 阳性反应献血者归队检测间隔期定为 6 个月^[8],后考虑到检测试剂灵敏度的提高,将间隔期调整为 3 个月。结合本中心献血者归队的检测模式,笔者建议将 HBsAg、抗-HCV 的反应性献血者归队检测间隔时间定为 3 个月随访检测 1 次,6 个月内随访 2 次,如果均合格则可以恢复其献血资格。

在 75 例成功启动召回工作流程的献血人群中,完成全部 2 次检测并关闭检测流程的只有 40 例献血者,尚有近一半献血者没有完成 2 次检测,其原因主要是由献血者工作变动,电话号码更换或已离开现有居住地等因素造成联系中断。为了完善无偿献血者归队机制,血液中心应建立完整的献血者归队工作流程,包括献血者条件复核、建立献血者永久性通讯联系方式及时信息传递、血样采集、检测模式以及建立献血者归队档案等,实现献血者归队工作的规范化管理。

当前,随着无偿献血事业的发展,越来越多的公民加入无偿献血队伍。减少因假阳性检测结果导致的献血队伍流失,建立科学、合理的无偿献血者归队机制,应是当下各级采、供血部门的重要任务之一。

参考文献

[1] 任芙蓉,龚晓燕,李京京,等. 献血员丙型肝炎病毒抗体免疫免疫

法检测试剂的测定值与其真阳性的相关性[J]. 中华肝病杂志, 2005,13(2):255-258.

[2] 王讯,刘宇宁,贾尧,等. 丙型肝炎病毒抗体筛查阳性结果确证方案的探讨[J]. 中国输血杂志,2008,21(2):255-258.

[3] 刘宇宁,蔡菊英,刘晓音. 血液筛查 HBsAg、抗 HCV 假阳性献血者归队的调查分析[J]. 中国输血杂志,2012,25(2):260-262.

[4] Niederhausre C, Mansouri TB, Graziani M, et al. Blood donor screening: how to decrease the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus? [J]. Swiss Med Wkly,2008,48(1):64-72.

[5] 谢云铮,杨军,周国平,等. 上海地区 Anti-HCV 反应性献血这随访研究[J]. 临床输血与检验,2013,15(3):212-126.

[6] 王讯,贾尧,伍晓菲,等. 血源肝炎病毒筛查试验结果的分析[J]. 微生物与感染,2008,3(3):143-146.

[7] Tynell E, Norda R, Ekermo B, et al. False-teactive mi-microbiologic screening test results in Swedish blood dig is the probonors-how problem? A survey among blood centers and deferred dono[J]. transfusion,2007,47(1):80-89.

[8] Moore MC, Howell DR, Barbara, JA. Donors whose blood reacrs flsely positive in transfusion microbiology screening assays need not be lost transfusion[J]. Transfusion Medicine,2007,17(1):55-59.

(收稿日期:2014-04-21)

(上接第 3206 页)

当有关。激素的广泛使用,极易导致患者粒细胞缺乏和功能缺陷,进而发生菌群失调并引发感染,提示临床医生在治疗普通细菌导致的上呼吸道感染患儿时,对激素的运用更应该慎重,对抗菌药物的选择,需要结合本地区尤其是本院细菌耐药特点进行适当调整,减少经验用药,参照药敏结果并规范用药,方能提高感染治愈率。

参考文献

[1] 李桂贤. 小儿反复呼吸道感染与微量元素相关性探讨[J]. 微量元素与健康研究,2012,29(1):20-21.

[2] 刘建华,刘新锋,帅金凤,等. 儿童产超广谱 β -内酰胺酶菌株感染危险因素分析 [J]. 中国当代儿科杂志,2011,13(9):959-956.

[3] 杨永弘,马香. 小儿呼吸道感染的细菌病原 [J]. 实用儿科临床杂志,2011,13(4):486-487.

[4] 李万华,秦惠宏,张泓,等. 产 ESBLs 大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌儿童分离菌株的耐药性和基因型检测 [J]. 中国感染与化疗杂志,2009,9(5):355-357.

[5] Marco Maria D'Andrea, Fabio Arena, Lucia Pallecchi, Gian Maria Rossolini. CTX-M-type β -lactamases: A successful story of antibiotic resistance [J]. Int J Med Microbiol,2013,8(4):205-206.

[6] Kenneth E. Pierce, Harald Peter, Till T. Bachmann, Carmelo Volpe, Rohit Mistry, John E. Rice, Lawrence J. Wangh. Rapid Detection of TEM-Type Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL) Mutations Using Lights-On/Lights-Off Probes with Single-Stranded DNA Amplification[J]. J Mol Diagnostics,2013,9(3):135-137.

[7] 鲍连生,董宗祈,虞涛,等. 儿童感染菌中 1913 株产超广谱 β -内酰胺酶型别特点及耐药性研究[J]. 临床儿科杂志,2009,9(4):461-463.

[8] 陈和斌,陆小霞,夏维,等. 婴幼儿下呼吸道感染痰检细菌分布和耐药分析[J]. 实用儿科临床杂志,2011,13(4):476-478.

[9] 姚毅,严谦,严仔敦,等. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,9(3):132-133.

(收稿日期:2014-04-18)

医学统计工作的基本内容

按工作性质及其先后顺序,可将医学统计工作分为实验设计、收集资料、整理资料、分析资料。实验设计是开展某项医学研究工作的关键,包括医学专业设计和统计学设计,医学专业设计的内容包括研究对象纳入和排除标准、样本含量、获取样本的方法、分组原则、观察(检测)指标、统计方法等。收集资料的方法包括各种试验、检测或调查,要求资料完整、准确、及时、有足够数量、具有代表性和可比性等。整理资料包括原始资料的检查与核对、对资料进行分组与汇总等。分析资料即对资料进行统计学分析,包括进行统计描述和统计推断。