

• 论 著 •

糖尿病并存肺结核患者肺炎克雷伯菌下呼吸道感染的耐药性分析

高 鹏¹, 雷震山¹, 吴金斌²

(1. 广东省深圳市保健委员会办公室检验科, 广东深圳 518020; 2. 北京大学深圳医院检验科, 广东深圳 518036)

摘 要:目的 探讨糖尿病并存肺结核患者合并肺炎克雷伯菌下呼吸道感染的耐药特征, 为预防和治疗肺炎克雷伯菌感染提供依据。方法 收集 2009 年 1 月至 2015 年 5 月北京大学深圳医院收治的糖尿病并存肺结核患者下呼吸道标本, 应用法国生物梅里埃 Vitek2-Compact 全自动微生物鉴定仪鉴定菌种, 药敏试验采用纸片法(K-B 法)进行, 并进行超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)检测, 按美国临床和实验室标准化协会(CLSI)标准判定药敏结果, 用 WHONET 5.6 及 SPSS18.0 软件分析数据。结果 从糖尿病并存肺结核患者下呼吸道标本中共分离肺炎克雷伯菌 139 株, 产 ESBLs 率高达 46.0%。药敏试验表明 ESBLs 阴性和产 ESBLs 肺炎克雷伯菌对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美罗培南、头孢替坦、丁胺卡那的耐药率较低, 均小于 15.0%, 产 ESBLs 菌株对大多数抗菌药物的耐药率明显高于 ESBLs 阴性菌株($P < 0.05$)。结论 该院糖尿病并存肺结核合并下呼吸道感染患者中分离出的肺炎克雷伯菌产 ESBLs 株的检出率高、耐药性强, 临床应加强 ESBLs 检测和耐药性监测, 防止多重耐药菌的产生, 治疗该菌感染, 首选含酶抑制剂类、碳青霉烯类抗菌药物进行治疗。

关键词:糖尿病; 肺结核; 下呼吸道感染; 肺炎克雷伯菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.03.030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)03-0359-03

Analysis of drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* lower respiratory tract infection in patients with coexisting pulmonary tuberculosis and diabetes

Gao Peng¹, Lei Zhenshan¹, Wu Jinbin²

(1. Department of Clinical Laboratory, Office of Shenzhen Municipal Health Care Council, Shenzhen, Guangdong 518020, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Hospital, Peking University, Shenzhen, Guangdong 518036, China)

Abstract: **Objective** To investigate the drug resistance characteristics of *Klebsiella pneumoniae* lower respiratory tract infection in the patients with coexisting pulmonary tuberculosis (TB) and diabetes mellitus (DM) to provide a basis for the prevention and treatment of *Klebsiella pneumoniae* infections. **Methods** The lower respiratory tract specimens were collected from the patients with coexisting pulmonary TB and DM in the Shenzhen Hospital of Peking University from January 2009 to May 2015. The bacterial species was identified by using the France Bio-Merieux Vitek2-Compact automatic microorganism identification instrument, the drug susceptibility tests adopted the disk method (K-B), and extended spectrum β lactamase (ESBLs) detection was conducted, the drug susceptibility test results were judged according to the CLSI standards. The data were analyzed by the WHONET 5.6 and SPSS18.0 software. **Results** 139 strains of *Klebsiella pneumoniae* were isolated from the lower respiratory tract specimens in the patients with coexisting pulmonary TB and DM, the ESBLs producing rate was up to 46.0%. The drug susceptibility testing results showed that the resistance of non-ESBLs producing and ESBLs producing *Klebsiella pneumoniae* to cefoperazone / sulbactam, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, cefotetan and amikacin was lower and less than 15.0%, the resistance of ESBLs-producing strains to most antibacterial drugs was significantly higher than that of non-ESBLs producing strains ($P < 0.05$). **Conclusion** *Klebsiella pneumoniae* isolated from the patients with coexisting pulmonary TB and DM complicating lower respiratory tract infection in this hospital has the high detection rate of ESBLs producing strains and strong drug resistance, therefore clinic should strengthen the ESBLs detection and drug resistance monitoring for preventing the generation of multi-drug resistance. In the treatment of its infection, the first choice is containing enzyme inhibitors and carbapenems antibacterial drugs.

Key words: diabetes; pulmonary tuberculosis; lower respiratory tract infection; *Klebsiella pneumoniae*; drug resistance

糖尿病和肺结核是两种紧密联系, 严重危害人类健康的常见疾病。糖尿病患者中肺结核的发病率是非糖尿病患者的 2~5 倍, 两种疾病相互影响, 互为因果, 互相促进病情的发展, 且并发症多, 发展迅速, 病情重, 已成为临床医生关注的重要课题^[1]。糖尿病并存肺结核患者病程较长, 免疫功能受损, 易患二重感染, 尤其是合并下呼吸道感染。肺炎克雷伯菌常存在于人体肠道和上呼吸道, 属于条件致病菌, 在一定条件下, 如寄居

部位的改变、机体抵抗力下降时可引起肠道外, 如下呼吸道的感染, 近十几年由该菌引起的免疫功能低下患者下呼吸道感染不断增多^[2]。目前, 肺炎克雷伯菌的耐药性日趋严重, 随着第 3、4 代头孢菌素的广泛应用, 导致该菌对新一代 β -内酰胺酶类药物耐药。为了解肺炎克雷伯菌引起糖尿病并存肺结核患者下呼吸道感染的原因和耐药特点, 现对 2009 年 1 月至 2015 年 5 月北京大学深圳医院 139 例糖尿病并存肺结核, 且合并肺炎

克雷伯菌导致的下呼吸道感染者进行回顾性分析,以便为临床合理用药和控制下呼吸道感染提供帮助,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2009 年 1 月至 2015 年 5 月北京大学深圳医院呼吸内科住院糖尿病并存肺结核,且合并下呼吸道感染者 617 例,其中合并肺炎克雷伯菌感染 139 例,包括男 92 例,女 47 例,年龄 55~85 岁,平均 69.4 岁,其中大于 11.1 mmol/L 42 例,空腹血糖在 7.0~11.1 mmol/L 97 例,均伴有糖尿病的相关并发症。以无菌操作采集患者下呼吸道标本,包括痰液(晨起漱口后第一口痰,且白细胞/上皮细胞大于或等于 25)、纤支镜和肺泡灌洗液,剔除同一患者分离的重复菌株。

1.2 诊断标准 肺结核诊断标准按 2000 年中华医学会结核病学分会制定的《肺结核诊断和治疗指南》^[3],全部患者均依据临床表现、细菌学诊断、影像学诊断、结核菌素(PPD)试验和(或)支气管镜,其他分子生物学、免疫学检查及内镜检查,胸膜及肺的活体组织检查,以及试验性诊断治疗等辅助检查而确诊为肺结核;下呼吸道感染诊断标准参照相关文献^[4];糖尿病的诊断标准按照 1999 年世界卫生组织糖尿病专家委员会提出的诊断标准^[5]。

1.3 仪器与试剂 药敏纸片由英国 Oxoid 公司提供;巧克力平板、绵羊血琼脂平皿、药敏水解酪蛋白(M-H)平皿均由郑州安图生物工程股份有限公司提供;Vitek2-Compact 微生物鉴定仪和其他试剂如快速革兰染色液、氧化酶、凝固酶、触酶试剂、配套的鉴定相关试剂板条均购自法国生物梅里埃股份有限公司;生物安全柜为山东鑫科公司产品。

1.4 方法 按照相关操作规程^[6],直接划种巧克力平板和血平板,35℃培养 18~24 h、分离单个菌落;所有菌株均采用法国生物梅里埃公司 Vitek2-Compact 全自动微生物鉴定系统鉴定,以纸片扩散法(K-B 法)进行抗菌药物敏感试验。超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)的检测按照 2013 年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的 ESBLs 纸片法进行初筛,酶抑制剂增强纸片法检测产酶菌株,同时以肺炎克雷伯菌 ATCC700603 为质控阳性菌株,以大肠埃希菌 ATCC25922 为质控阴性菌株,所有质控菌株由卫生和计划生育委员会临床检验中心提供。所有操作及结果的判定严格按照 2013 年 CLSI^[7]的相关规则及标准执行。

1.5 统计学处理 药敏试验结果采用 WHONET5.6 软件进行分析,并采用 SPSS18.0 软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标本来源分布 139 例阳性标本主要来自痰液(129 例,92.8%),其次来自纤支镜(7 例,5.0%)和肺泡灌洗液(3 例,2.2%)。

2.2 药敏试验结果 139 株肺炎克雷伯菌株中 ESBLs 阴性 75 株(54.0%),产 ESBLs 64 株(46.0%)。ESBLs 阴性肺炎克雷伯菌除对氨苄西林 100.0%耐药外,对其余抗菌药物的耐药率均小于 25.0%;产 ESBLs 肺炎克雷伯菌对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美罗培南、头孢替坦、丁胺卡那的耐药率小于 15.0%,对其余抗菌药物的耐药率均较高,对氨苄西林、头孢唑林 100.0%耐药。非产 ESBLs 和产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的耐药率差异均有统计学意义($P<0.05$)。见

表 1。

表 1 139 株肺炎克雷伯菌对常用 19 种抗菌药物药敏试验情况[n(%)]

抗菌药物	ESBLs 阴性(n=75)	ESBLs 阳性(n=64)
亚胺培南	3(4.0)	6(9.4)
美罗培南	2(2.7)	5(7.8)
头孢哌酮/舒巴坦	3(4.0)	6(9.4)
哌拉西林/他唑巴坦	5(6.7)	8(12.5)
氨苄西林	75(100.0)	64(100.0)
头孢唑林	16(21.3)	64(100.0)
头孢呋辛	15(20.0)	59(92.2)
头孢他啶	6(8.0)	41(64.1)
头孢噻肟	17(22.7)	56(87.5)
头孢吡肟	3(4.0)	33(51.6)
氨基曲南	5(6.7)	34(53.1)
头孢替坦	5(6.7)	9(14.1)
环丙沙星	7(9.3)	24(37.5)
左氧氟沙星	7(9.3)	20(31.3)
阿米卡星	6(8.0)	30(46.9)
庆大霉素	3(4.0)	29(45.3)
复方磺胺甲噁唑	7(9.3)	32(50.0)
丁胺卡那	1(1.3)	6(9.4)
妥布霉素	16(21.3)	33(51.6)

3 讨论

糖尿病和结核病联系密切,素有“姐妹病”之称,两者相互联系,相互影响。糖尿病患者是肺结核的易感者,控制不良的糖尿病患者尤其容易发生活动性肺结核;反之,作为感染因素,活动性结核病的发热等结核中毒症状也会加重糖尿病病情,甚至发生酮症酸中毒^[8]。糖尿病患者由于机体代谢紊乱,导致营养不良,同时体内酮体的积聚为结核菌生长提供了酸性环境,以及抗感染能力下降,细胞免疫功能低下,呼吸道黏膜上皮防御能力差而导致细菌感染;当结核病患者出现中毒症状时,机体对胰岛素的需求增加,糖尿病由隐性转为显性,另外某些抗结核药物的应用对糖尿病也有一定影响。同时肺结核也可加重糖尿病代谢的紊乱,两病并存情况下,病情复杂。另外,由于机体处于高血糖状态,胰岛素分泌相对或绝对不足,或存在胰岛素抵抗,终末糖基化产物的增多,造成糖尿病患者非特异与特异免疫功能异常,中性粒细胞和单核吞噬细胞趋化、黏附、吞噬作用及细胞内杀伤作用减弱,免疫水平下降,而易出现感染性疾病。糖尿病患者的蛋白、糖、脂肪代谢紊乱,导致机体营养不良和(或)脱水,降低了机体组织的修复能力和抵抗力,为条件致病菌如肺炎克雷伯菌和结核菌的感染创造了条件^[9]。

肺炎克雷伯菌广泛存在于土壤和水等微生态环境中,易在住院患者的肠道和呼吸道定植,在接受有创性医疗操作或免疫力低下的严重疾病患者中,可引起败血症、肺炎、泌尿道、腹腔感染,是导致各种医院内感染最常见的致病菌之一。本研究结果显示,本院糖尿病并存肺结核,合并下呼吸道感染患者送检的各类标本所分离的 139 株肺炎克雷菌,以痰液标本分离株最多

(129 株),占 92.8%,主要与痰液标本采集和送检方便有关。因此,应加强对糖尿病并存肺结核患者的口腔护理工作,避免定植的肺炎克雷菌移位到下呼吸道而感染。

肺炎克雷伯菌是临床标本最常见的分离菌,也是产 ESBLs 的典型细菌,本研究中产 ESBLs 率为 46.0%,高于戴玮等^[9]的研究,而低于顾乐平等^[10]的报道。有文献报道在产 ESBLs 的所有菌株中,以肺炎克雷伯菌发生率为最高,占 75.0%左右^[11-12]。ESBLs 是丝氨酸酶,其耐药机制是通过其 β -内酰胺环上的羰基和丝氨酸末端羟基发生酰化反应,随后发生水解, β -内酰胺环被打开,药物失效,ESBLs 可水解头孢菌素类、青霉素类、单环类药物而使其失活,由于质粒的介导,可以通过接合、转化、转导等形式,使耐药基因在不同细菌中传递扩散,而导致耐药细菌的广泛传播,同时 ESBLs 的质粒上可同时携带有对喹诺酮类和氨基类耐药的基因,所以产 ESBLs 细菌对各种抗菌药物显示出多重耐药性^[11]。本研究显示产 ESBLs 菌株对大多数抗菌药物的耐药率明显高于产 ESBLs 阴性菌株($P<0.05$),产 ESBLs 肺炎克雷菌对头孢菌素、氨基曲南、青霉素类、氨基糖苷类、喹诺酮类抗菌药物严重耐药,对氨苄西林、头孢唑林 100.0%耐药,ESBLs 阴性菌株除对氨苄西林 100.0%耐药外,对其余抗菌药物的耐药率均小于 25.0%。ESBLs 阴性和产 ESBLs 菌株对碳青霉烯类抗菌药物仍保持较低的耐药率($<10.0\%$),提示碳青霉烯类抗菌药物,如美罗培南、亚胺培南可作为治疗肺炎克雷伯菌感染的首选药物^[13],美罗培南、亚胺培南由于其 β -内酰胺环较小,极易进入细菌的微孔蛋白通道,加之其特异的反向结构,使其对 β -内酰胺酶具有高度的稳定作用,从而显示出强大的抗菌活性^[14];非产 ESBLs 和产 ESBLs 菌株对含酶抑制剂头孢哌酮/舒巴坦和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率较低,均小于 15.0%,表明该类药可作为治疗该菌感染的首选经验用药,由于这些药物含有舒巴坦、他唑巴坦都是强效、广谱、不可逆竞争性酶抑制剂,并且稳定性好,本身具有一定的抗菌活性,与头孢哌酮、哌拉西林结合后,对许多革兰阴性菌有强大的协同作用;ESBLs 阴性和产 ESBLs 菌株对丁胺卡那、头孢替坦的耐药率小于 15.0%,与相关报道一致^[14],丁胺卡那的作用机制是作用于细菌体内的核糖体,抑制细菌蛋白质的合成,并破坏细菌细胞壁的完整性,致使细菌的细胞膜破坏,从而造成细菌死亡。因此,头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美罗培南、头孢替坦、丁胺卡那是治疗肺炎克雷伯菌尤其是产 ESBLs 菌株所致重症感染的首选药物。

综上所述,肺炎克雷伯菌已成为本院糖尿病并存肺结核患者下呼吸道感染中分离率较高的细菌,其耐药机制复杂,产 ESBLs 率高,表现出多重耐药,给临床治疗该菌感染带来很大

的困难。糖尿病患者由于免疫功能受损易患肺结核,糖尿病并存肺结核患者免疫功能更低。因此,对于此类患者,临床医生在积极抗结核治疗的同时要有效控制血糖,提高患者机体免疫力,缩短住院时间,减少不必要的侵入性操作,合理使用抗菌药物,提倡根据药敏试验结果,选用敏感抗菌药物,以便预防和减少肺炎克雷伯菌医院感染的发生。

参考文献

- [1] 费贤树,曾谊,宋梅梅,等.肺结核合并糖尿病 126 例临床分析[J].临床肺科杂志,2013,18(9):1704-1705.
- [2] 江勇,林娅,童夏生,等.下呼吸道感染产 AmpC β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌的耐药性及基因型研究[J].中国微生态学杂志,2014,26(1):51-54.
- [3] 中华医学会结核病学分会.肺结核诊断和治疗指南[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(2):5-9.
- [4] 中华人民共和国卫生部.医院感染诊断标准(试行)[J].现代实用医学,2003,81(7):460-465.
- [5] 钱荣立.关于糖尿病的新诊断标准与分型[J].中国糖尿病杂志,2000,8(1):4-5.
- [6] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:801-822.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S21 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne, PA, USA:CLSI,2013.
- [8] 牛红雷,李升锦.肺结核合并糖尿病的发病机制[J].医学综述,2011,17(8):1187-1189.
- [9] 戴玮,罗鹏,张莉萍.726 株肺炎克雷伯菌的分布特征及耐药性分析[J].重庆医学,2011,40(3):232-233.
- [10] 顾乐平,黄晓平,蔡瑞云.产 ESBLs 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J].中国感染控制杂志,2010,9(1):46-48.
- [11] Hobson RP, Mzckenze FM, Gould IX. An outbreak of muluply resistant klehsie pneumoma in the Grampian region of Scotland[J]. J Hosp Infect,2006,33(4):249-252.
- [12] 汪滢,李家斌.238 株肺炎克雷伯菌的临床分布和耐药分析[J].安徽医学,2012,33(6):652-654.
- [13] 展冠军,邵华,张玲.我院 2009-2013 年肺炎克雷伯菌耐药性与抗菌药物用量的相关性分析[J].中国药房,2014,25(46):4349-4352.
- [14] 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:2015-09-18)

(上接第 358 页)

- [12] Esad V, Claudia C, Dickson SD, et al. Regression of inflammation in atherosclerosis by the LXR agonist R211945: a noninvasive assessment and comparison with atorvastatin[J]. Jacc Card Imag, 2012, 5(8):819-828.
- [13] 胡郁刚,陈根本.持续性皮下胰岛素输注对初诊 2 型糖尿病患者胰岛 β 细胞功能及脂联素的影响[J].中国社区医师,2011,13(26):47-48.
- [14] Cocker MS, Ardle BM, Spence JD, et al. Imaging atherosclerosis with hybrid [^{18}F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography imaging: what Leonardo da Vinci

could not see[J]. J Nucl Cardiol, 2012, 19(6):1211-1225.

- [15] 任艳,李秀钧,田浩明,等.2 型糖尿病家系正常糖耐量一级亲属血清瘦素、肿瘤坏死因子- α 、神经肽 Y 水平及与胰岛素抵抗、 β 细胞分泌功能相关性的临床研究[J].生物医学工程学杂志,2010,27(6):1341-1345.
- [16] 孙卫平,廖利珍,李国华,等.不同干预方式对新诊断 2 型糖尿病患者胰岛功能和血清色素上皮衍生因子影响的观察[J].中国糖尿病杂志,2014,22(10):938-941.

(收稿日期:2015-08-28)