

· 短篇论著 ·

2016—2019 年某医院不同人群肠道肺炎克雷伯菌的毒力及耐药情况分析

施瑜¹ 张汉园¹ 李莹¹ 窦可峻¹ 王震² 刘意²

¹镇江市中西医结合医院检验科, 江苏镇江 212000; ²镇江市中西医结合医院中心实验室, 江苏镇江 212000

【关键词】克雷伯菌; 肺炎; 住院患者; 腹泻; 毒力基因; 耐药情况

基金项目: 江苏大学 2018 年度临床医学科技发展基金项目(JLY20180022)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20200519-00165

Analysis on the virulence and drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* in different population of one hospital from 2016 to 2019

Shi Yu¹, Zhang Hanyuan¹, Li Ying¹, Dou Kejun¹, Wang Zhen², Liu Yi²

¹Clinical Laboratory of Zhenjiang Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Zhenjiang 212000, Jiangsu, China; ²Central Laboratory of Zhenjiang Integrated Chinese and Western Medicine Hospital, Zhenjiang 212000, Jiangsu, China

【Key words】*Klebsiella pneumoniae*; Inpatient; Diarrhea; Virulence gene; Drug resistance

Fund program: Clinical Medicine Science and Technology Development Project of Jiangsu University in 2018 (JLY20180022)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20200519-00165

肺炎克雷伯菌是临床最常见的革兰阴性杆菌, 易存在于人体的上呼吸道和肠道, 近年来, 有研究发现肺炎克雷伯菌感染率不断上升, 且其病死率高达 20%^[1]。既往研究关注的肺炎克雷伯菌大多集中在患者身上, 对于健康人群的携带情况以及毒力菌株相关研究甚少^[2]。本研究对镇江市中西医结合医院住院患者、肠道门诊腹泻患者和健康体检者不同人群的肠道肺炎克雷伯菌的携带情况、毒力基因以及耐药性进行研究, 现报道如下。

对象与方法

一、研究对象

本次研究选取 2016—2019 年于镇江市中西医结合医院住院患者 131 例(儿科 27 例、骨科 46 例、感染科 58 例)、肠道门诊腹泻患者 201 例、健康体检者 153 人。本次研究纳入标准: 纳入研究前 6 个月未服用抗菌药物、无滥用药物史、无长期用药史、资料完整。排除标准: 个人信息病例未收集者、

合并其他基础疾病者(如脑、肺、肝脏、肾脏疾病)、精神疾病者、免疫缺陷。所有患者对本研究均知情同意。

二、方法

采集 3 组人群的粪便样本, 在 4 h 内送至检验室, 分离肺炎克雷伯菌, 并进行肠道致病菌分离, 对 3 组人群的肺炎克雷伯菌携带情况进行对比。

应用细菌基因组 DNA(TaKaRa 公司, 日本)作为模板, 少量提取 DNA, 应用 PCR 检测荚膜血清型常见的 K1、K2、K20、K54 以及 K57; 同时采用 PCR 法扩增 *wcaG*、*rmpA*、*magA* 以及菌素毒力基因。反应条件均为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 30 个循环; 72 °C 延伸 7 min。

采用 K-B 法^[3]测定肺炎克雷伯菌对头孢噻肟、头孢他啶、亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦以及头孢西丁 6 种抗菌药物的耐药率, 药敏纸片来自深圳康泰生物有限公司, 以肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌作为质控菌株用于检测。判定结

果参照美国临床和实验室标准标准化委员会 (CLSI) 推荐的折点。

三、观察指标

观察不同人群肺炎克雷伯菌携带情况,并对不同人群的肺炎克雷伯菌中的荚膜血清型、*wcaG*、*rmpA*、*magA* 以及菌素毒力基因进行对比,以及不同人群的肺炎克雷伯菌对 6 种不同抗菌药物的耐药情况。

四、统计学方法

采用 SPSS25.0 统计软件处理。计数资料采用例数、株数或率表示,组间比较采用 Fisher 确切概率法或 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、肺炎克雷伯菌携带率

本研究共分离到 142 株肺炎克雷伯菌,住院患者、健康体检者和肠道门诊腹泻患者的肺炎克雷伯菌携带率分别为 42.75% (56/131)、29.41% (41/201) 和 20.40% (45/153),3 组比较差异具有统计学意义 ($\chi^2=19.135, P < 0.05$)。

二、菌株分型

本次有 36 株菌株可进行荚膜血清分型,其中 K1、K2、K20 和 K57 分别有 11 株、19 株、4 株和 2 株,未检测到 K54 血清型菌株。三组总检出率最高为菌素 (40/142, 28.17%),其他依次为 *rmpA* (22/142, 15.49%)、K2 (19/142, 13.38%)、*wcaG* (18/142, 12.68%)、*magA* (14/142, 9.86%)、K1 (11/142, 7.75%)、K20 (4/142, 2.82%) 和 K57 (2/142, 1.41%)。健康体检者组的 K1、

K2、K20、*wcaG*、*rmpA*、*magA* 和菌素均高于住院患者和门诊腹泻患者,但只有 K1、K2、*rmpA* 三组间比较差异有统计学意义 (Fisher 确切概率法, P 均 < 0.05)。详见表 1。

三、耐药情况

3 组不同人群的对头孢噻肟、头孢他啶、亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦和头孢西丁等抗菌药物耐药情况组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),其中住院患者耐药率高于门诊腹泻患者和健康体检者 (P 均 < 0.05),门诊腹泻患者与健康体检者比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

讨 论

肺炎克雷伯菌作为某种特定条件下可致病的细菌,是引起医疗相关感染和院内感染的原因之一^[9]。本次研究结果发现,住院患者肺炎克雷伯菌携带率最高 (42.75%),其次是健康体检者 (29.41%),肠道门诊腹泻患者的携带率最低 (20.40%),住院患者较高的携带率可能与住院期间易感染医院获得性肺炎克雷伯菌有关,而肠道门诊腹泻患者携带率低可能因肠道菌群失调,其他致泻性病原菌优势生长引起。本研究中,健康体检者 K1、K2、K20、*wcaG*、*rmpA*、*magA* 以及菌素毒力基因检出率均高于住院患者和肠道门诊腹泻患者,可能与后两类患者肠道内环境发生改变,肺炎克雷伯菌携带的毒力丢失有关。由此提示,不同人群的肺炎克雷伯菌携带率、毒力基因各不相同,其相关关系尚不明确,有待进一步深入研究。

本文结果还显示,住院肺炎克雷伯菌携带者对 6 种不同

表 1 三组不同人群的肺炎克雷伯菌荚膜血清型和毒力基因检出率

组别	总株数(株)	荚膜血清型和毒力基因组[株(%)]							
		K1	K2	K20	K57	<i>wcaG</i>	<i>rmpA</i>	<i>magA</i>	菌素
住院患者	56	1(1.79)	2(3.57)	0(0)	0(0)	1(1.79)	0(0)	1(1.79)	4(7.14)
门诊腹泻患者	41	3(7.31)	6(14.63)	1(2.44)	2(4.88)	5(12.20)	7(17.07)	4(9.76)	11(26.83)
健康体检者	45	7(15.56)	11(24.44)	3(6.67)	0(0)	12(26.67)	15(33.33)	9(20.00)	25(42.22)
<i>P</i> 值 ^a		<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05

注:^a采用 Fisher 确切概率法

表 2 三组不同人群的肺炎克雷伯菌对不同种类抗菌药物耐药率

组别	总株数(株)	抗菌药物种类[株(%)]					
		头孢噻肟	头孢他啶	亚胺培南	美罗培南	头孢哌酮/舒巴坦	头孢西丁
住院患者	56	35(62.50)	21(37.50)	13(23.21)	12(21.43)	16(28.57)	14(25.00)
门诊腹泻患者	41	1(2.44) ^a	0(0) ^a	1(2.44) ^a	0(0) ^a	2(4.71) ^a	3(7.32) ^a
健康体检者	45	3(6.67) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	4(8.89) ^a	1(2.22) ^a
χ^2 值		57.165	37.847	18.701	21.575	10.003	13.190
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与住院患者比较,^a $P < 0.05$

抗菌药物的耐药率最高,其次是肠道门诊腹泻患者,健康体检者尽管携带较多毒力基因,但对常用抗菌药物大多敏感。住院患者以头孢噻肟耐药为主,高达 62.5%。头孢噻肟作为第三代头孢菌素类抗菌药物,常用于各种敏感菌引起的感染,临床使用率较高,该结果表明住院患者频繁使用抗菌药物从而导致肺炎克雷伯菌高耐药率。

综上所述,住院患者肺炎克雷伯菌携带率高于健康体检者和肠道门诊腹泻患者,而住院患者由于抗菌药物的广泛使用,对抗菌药物耐药性不断升高,因此,为防止更多耐药菌株的出现,必须合理使用抗菌药物。

参 考 文 献

[1] 胡洁,舒玲斌,孙巧玲,等.急性腹泻患者肠道分离肺炎克雷伯菌耐药及毒力流行病学研究[J].中华急诊医学杂志,2018,27(11):1281-1284. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.11.019.

Hu J, Shu LB, Sun QL, et al. Epidemiology of drug resistance and virulence of *Klebsiella pneumoniae* isolated from intestinal tract of patients with acute diarrhea [J]. Chin J Emerg Med, 2018, 27 (11): 1281-1284. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.11.019.

[2] 王莲慧,魏丹丹,万腊根,等.高毒力荚膜血清型肺炎克雷伯菌克隆株毒力和耐药性的研究[J].中华检验医学杂志,2016,39(4):286-290. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2016.04.012. Wang LH, Wei DD, Wan LG, et al. Report of hypervirulent capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae* clones groups with enhanced virulence and antimicrobial resistance [J]. Chin J Med Lab, 2016, 39 (4): 286-290. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2016.04.012.

[3] Yang YQ, Li YX, Lei CW, et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-7.1* in *Klebsiella pneumoniae*[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(7):1791-1795. DOI: 10.1093/jac/dky111.

(收稿日期:2020-05-19)

本刊可直接使用的缩略语

下列缩略语为本刊常用词汇,第一次出现时,可以不标注中文,它们是:

甲胎蛋白(AFP)	乙型肝炎病毒(HBV)	核因子- κ B(NF- κ B)
艾滋病(AIDS)	乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)	自然杀伤细胞(NK细胞)
碱性磷酸酶(ALP)	乙型肝炎病毒表面抗体(抗-HBs)	外周血单核细胞(PBMC)
丙氨酸转氨酶(ALT)	乙型肝炎病毒e抗原(HBeAg)	磷酸盐缓冲液(PBS)
抗原提呈细胞(APC)	乙型肝炎病毒e抗体(抗-HBe)	血小板(PLT)
天冬氨酸转氨酶(AST)	乙型肝炎病毒核心抗体(抗-HBc)	结核菌素试验(PPD)
共价闭合环状DNA(cccDNA)	血红蛋白(Hb)	逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)
四氯化碳(CCl ₄)	肝细胞癌(HCC)	严重急性呼吸道综合征(SARS)
疾病预防控制中心(CDC)	丙型肝炎病毒(HCV)	结核(TB)
细胞毒性T淋巴细胞(CTL)	人类免疫缺陷病毒(HIV)	总胆红素(TBil)
树突细胞(DC)	人乳头状瘤病毒(HPV)	总胆固醇(TC)
弥漫性血管内凝血(DIC)	重症监护病房(ICU)	甘油三酯(TG)
酶联免疫吸附试验(ELISA)	干扰素(IFN)	辅助性T淋巴细胞(Th)
γ -谷氨酰转氨酶(γ -GT)	白细胞介素(IL)	肿瘤坏死因子(TNF)
高效抗逆转录病毒治疗(HAART)	主要组织相容性复合体(MHC)	白细胞(WBC)
甲型肝炎病毒(HAV)	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)	世界卫生组织(WHO)