

DOI:10.13350/j.cjpb.220820

• 临床研究 •

异体输血患者术后感染病原菌和大肠埃希菌感染毒力因子的分布及与耐药性的关系

张忠印¹, 吉飞跃^{2*}, 周小玉³

(1. 海安市人民医院输血科, 江苏南通 226600; 2. 海安市人民医院中心实验室; 3. 江苏省人民医院输血科)

【摘要】 **目的** 探讨异体输血患者术后感染病原菌和大肠埃希菌感染毒力因子分布及与耐药性的交互关系。 **方法** 选取本院 2017-2020 年外科手术患者 125 例, 其中采用回收式自身输血的患者 73 例(自身输血组), 异体输血的患者 52 例(异体输血组)。对两组患者术后感染病原菌进行鉴定, PCR 检测术后大肠埃希菌感染毒力因子, 对两组患者病原菌分离株的耐药性进行药敏试验, 采用皮尔逊相关性分析异体输血患者术后感染病原菌及大肠埃希菌感染毒力因子与耐药性的交互关系。 **结果** 异体输血组 52 例患者共分离出 50 株病原菌, 其中革兰阳性球菌占 34.00%(17/50), 革兰阴性杆菌占 48.00%(24/50), 真菌占 18.00%(9/50); 自身输血组 73 例患者共分离出 61 株病原菌, 其中革兰阳性球菌占 31.15%(19/61), 革兰阴性杆菌占 49.18%(30/61), 真菌占 19.67%(12/61)。两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。异体输血组术后各大肠埃希菌感染毒力因子 fimH、traT、aerJ、Einv、papG III、pAI、cnf1、fyuA、cnf2、papC、papG、hlyA 检出率均高于自身输血组($P < 0.05$); 异体输血组病原菌分离株对氨苄青霉素、氨基糖苷、氨基西林舒巴坦、头孢唑林、头孢他啶、头孢吡肟、左氧氟沙星、呋喃妥因、复方新诺明的耐药率均高于自身输血组($P < 0.05$); 皮尔逊相关性分析结果显示, 术后感染病原菌分布数和大肠埃希菌感染毒力因子分布数均与耐药性有相关性($r = 0.336, 0.427$, 均 $P < 0.05$)。 **结论** 异体输血组术后大肠埃希菌感染产生的毒力因子多于自身输血组, 异体输血组病原菌分离株对大多数抗菌药物的耐药率高于自身输血组, 术后感染病原菌分布数和大肠埃希菌感染毒力因子分布数均与耐药性有交互关系。

【关键词】 异体输血; 自身输血; 术后感染; 病原菌; 大肠埃希菌; 毒力因子; 耐药性

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)08-0964-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Aug.; 17(8):964-967.]

Interaction relationship between distribution of infectious pathogens and virulence factors and resistance in allogeneic transfusion patients

ZHANG Zhong-yin¹, JI Fei-yue², ZHOU Xiao-yu³ (1. Department of Blood Transfusion, Hai'an People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226600, China; 2. Central Laboratory of Hai'an People's Hospital; 3. Department of Blood Transfusion, Jiangsu Provincial People's Hospital) *

【Abstract】 **Objective** To explore the distribution of virulence factors of pathogenic bacteria and *Escherichia coli* infection in patients with allogeneic blood transfusion and the interaction with drug resistance. **Methods** A total of 125 surgical patients in our hospital from 2017 to 2020 were selected, of which 73 patients received self-transfusion with recovery type (autotransfusion group) and 52 patients received allogeneic blood transfusion (allogeneic blood transfusion group). The postoperative infection pathogens of the two groups of patients were identified, the virulence factor of *E. coli* infection was detected by PCR, the drug resistance test of the pathogenic bacteria isolates of the two groups of patients was carried out, and the Pearson correlation analysis was used for allogeneic blood transfusion patients. The interaction between virulence factors and drug resistance of pathogenic bacteria and *E. coli* after infection. **Results** A total of 50 pathogens were isolated from 52 patients in the allogeneic blood transfusion group, of which gram-positive cocci accounted for 34.00% (17/50), gram-negative bacilli accounted for 48.00% (24/50), and fungi accounted for 18.00% (9/50); A total of 61 pathogens were isolated from 73 patients in the autotransfusion group, of which gram-positive cocci accounted for 31.15% (19/61), gram-negative bacilli accounted for 49.18% (30/61), and fungi accounted for 19.67% (12/61). The difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). The detection rates of the virulence factors fimH, traT, aerJ, Einv, papG III, pAI, cnf1, fyuA, cnf2, papC, papG, and hlyA of each *E. coli* infection in the allogeneic blood transfusion group were higher than those of the autotransfusion group ($P < 0.05$); The resistance rates of pathogenic bacteria isolates in the allogeneic blood transfusion group to ampicillin, aztreonam, ampicillin and sulbactam, cefazo-

* **【通讯作者】** 吉飞跃, E-mail: 171310642@qq.com

【作者简介】 张忠印(1977-), 男, 江苏海安人, 副主任检验师。研究方向: 输血技术及输血管理。E-mail: 448072896@qq.com

lin, ceftazidime, cefepime, levofloxacin, nitrofurantoin, and compound trimethoprim were higher than those in the auto-transfusion group ($P < 0.05$); Pearson correlation analysis results showed that the distribution of infectious pathogens and the distribution of *E. coli* infection virulence factors were correlated with drug resistance ($r = 0.336, 0.427$, both $P < 0.05$). **Conclusion** The postoperative *E. coli* infection in the allogeneic blood transfusion group produced more virulence factors than the autotransfusion group. The pathogenic bacteria isolates in the allogeneic blood transfusion group were resistant to most antibacterial drugs. The distribution of virulence factors of *E. coli* infection has an interactive relationship with drug resistance. *E. coli* infection interacted with drug resistance.

【Key words】 allogeneic blood transfusion; autotransfusion; postoperative infection; pathogen; *Escherichia coli*; virulence factor; drug resistance

外科手术由于创伤大、手术时间长或邻近重要血管,术中出血较多,因此难以避免术中或术后输血的需要^[1]。目前,输血有两种方式:自体输血和异体输血。异体输血可能会引起更多的并发症,如艾滋病、乙型肝炎等,而目前的血液供应非常紧张,使得自体输血在临床上得到广泛应用^[2]。自体输血是一种采集患者自身血液或在手术过程中采集患者血液,然后输入患者体内的方法。无免疫排斥反应,无交叉配血,安全性高,可解决部分罕见血型患者的用血问题^[3]。目前,输血产品是临床支持治疗的一种非常重要的方法,特别是对于外科手术和危重病人。然而,输血可能引起相关的不良反应,如过敏性输血反应、非溶血性发热反应、输血相关性肺损伤和细菌感染等,其中细菌感染最为常见^[4]。大肠埃希菌是一种条件致病菌,通常是肠道菌群的一部分。当人体免疫力下降或长时间使用抗菌药物时,可导致泌尿系统、下呼吸道或手术创伤部位感染^[5]。近年来,由于抗菌药物的滥用,大肠埃希菌选择抗菌药物的压力越来越大,耐药性显著增强,多药耐药现象十分普遍^[6]。因此,如何解决大肠埃希菌的耐药性已成为临床感染治疗的难点。为了探讨回收式自体输血与异体输血在术后感染中的相关性,本研究对2017-2020年我院外科进行手术的异体输血患者52例,采用回收式自体输血73例进行了分析。

对象与方法

1 病例

选取本院2017-2020年外科手术患者125例。男性67例,女性58例,年龄40~85岁,平均(75.12±10.22)岁。其中采用回收式自身输血的患者73例(自身输血组),异体输血的患者52例(异体输血组)。所有患者均为外伤引起的失血过多并有输血需求,术前检查无感染和凝血异常。

2 方法

2.1 术后感染病原菌鉴定 根据《全国临床检验操作规程(第3版)》^[7]要求对病原菌进行接种和分离培养。采集标本后涂片,合格后再接种培养,采用配套包含需氧和厌氧瓶的BD BACTEC 9050型美国全自动细菌

培养系统(Becton, Dickinson and Company)培养细菌,并对出现阳性警告的标本进行纯培养;采取AUTOMA全自动微生物分析鉴定系统(深圳莱奥拓科技有限公司)鉴定菌种。比较2组患者术后感染病原菌的构成情况。

2.2 大肠埃希菌感染毒力因子检测 细菌DNA模板的制备:采用煮沸法提取细菌DNA,对临床分离的大肠埃希菌菌株进行编号,取一定数量的细菌加入500 μl TE缓冲液中,使用100℃水浴10 min,然后在4℃冷却10 min,以8 000 r/min(离心半径9.5 cm)离心30 s,将上清液吸入另一个新的0.5 ml离心管中,即获得基因DNA模板溶液,置于-20℃保存备用。PCR检测:引物的设计与合成均由南京金斯瑞生物科技有限公司完成;①引物工作液的制备:对引物进行高速瞬时离心,在每个离心管中加入10 μl 无菌PCR专用水,摇匀后充分溶解,制备成引物原液,保存在-20℃冰箱中。然后,1:10的比例将10 μl 引物原液和90 μl 无菌PCR专用水混合、稀释和离心进行PCR扩增;②PCR反应体系(25 μl):P1、P2引物(0.2 μmol/L)各2 μl,10×缓冲液2.5 μl, TaqDNA聚合酶1.0 U 10 μl,高质量脱氧核糖核苷酸100 μmol/L 5 μl, DNA模板3 μl, 无菌PCR专用水补足至25 μl。③PCR反应条件:94℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸1 min, 共35个循环; 72℃终延伸10 min;④制备电泳缓冲液,根据PCR产物长度制备2%琼脂糖凝胶,然后上样后电泳35 min,溴化乙锭染液中浸泡1 h,用凝胶成像仪拍照并记录分析结果。

2.3 药敏试验 利用法国梅里埃VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定及药敏分析系统对所有菌株进行药敏试验,查看各菌株的耐药情况。采用纸片扩散法,按最低抑菌浓度进行结果判断,依据美国临床实验室标准化委员会标准与指南^[8]判定结果。

2.4 统计学分析 采用SPSS17.0进行统计学分析。计数资料用百分比表示,采用 χ^2 检验;交互关系分析采用皮尔逊相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组患者术后感染病原菌分布情况

异体输血组 52 例患者共分离出 50 株病原菌,其中革兰阳性球菌占 34.00%(17/50),革兰阴性杆菌占 48.00%(24/50),真菌占 18.00%(9/50);自身输血组 73 例患者共分离出 61 株病原菌,其中革兰阳性球菌占 31.15%(19/61),革兰阴性杆菌占 49.18%(30/61),真菌占 19.67%(12/61)。两组比较差异有统计学意义($\chi^2=4.842, P=0.028$)(表 1)。

表 1 两组患者术后感染病原菌分布情况比较
Table 1 Comparison of the distribution of postoperative infected pathogens in the two groups

病原菌 Pathogen	异体输血组 Allogeneic blood transfusion group		自身输血组 Autotransfusion group	
	分离株数 No. of isolates	%	分离株数 No. of isolates	%
	革兰阳性球菌	17	34.00	19
溶血葡萄球菌	2	4.00	7	11.48
表皮葡萄球菌	2	4.00	0	0
溶血棒杆菌	2	4.00	6	9.84
尿肠球菌	2	4.00	6	9.84
凝固酶阴性葡萄球菌	9	18.00	0	0
革兰阴性杆菌	24	48.00	30	49.18
嗜麦芽寡养单胞菌	2	4.00	0	0
洋葱伯克霍尔德菌	2	4.00	12	19.67
嗜麦芽寡养单胞菌	2	4.00	0	0
大肠埃希菌	16	32.00	12	19.67
鲍曼不动杆菌	2	4.00	6	9.84
真菌	9	18.00	12	19.67
光滑假丝酵母菌	7	14.00	12	19.67
白色假丝酵母菌	2	4.00	0	0
合计 Total	50		61	

2 两组患者术后大肠埃希菌感染毒力因子分布情况

异体输血组术后各大肠埃希菌感染毒力因子 fimH、traT、aerJ、Einv、papG III、pAI、cnf1、fyuA、cnf2、papC、papG、hlyA 检出率均高于自身输血组($P<0.05$)(表 2)。

3 两组患者病原菌分离株的耐药性分析

异体输血组病原菌分离株对氨苄青霉素、氨基糖苷类、氨基糖苷类舒巴坦、头孢唑林、头孢他啶、头孢吡肟、左氧氟沙星、呋喃妥因、复方新诺明的耐药率均高于自身输血组($P<0.05$)(表 3)。

4 异体输血患者术后感染病原菌及大肠埃希菌感染毒力因子分布与耐药性的交互关系

皮尔逊相关性分析结果显示,异体输血患者术后感染病原菌分布数和大肠埃希菌感染毒力因子分布数均与耐药性有相关性,术后感染病原菌分布数与耐药率呈正相关($r=0.336, P=0.021$),大肠埃希菌感染

毒力因子分布数也与耐药率呈正相关性($r=0.427, P=0.035$)。

表 2 两组患者术后大肠埃希菌感染毒力因子分布情况比较[n(%)]
Table 2 Comparison of the postoperative virulence factor distribution of *E. coli* infection in two groups

毒力基因 Virulence gene	异体输血组 Allogeneic blood transfusion (n=52)	自身输血组 Autotransfusion group (n=73)	χ^2	P
fimH	47(94.00)	48(78.69)	5.222	0.022
traT	42(84.00)	40(65.57)	4.834	0.028
aerJ	33(66.00)	28(45.90)	4.484	0.034
Einv	31(62.00)	25(40.98)	4.855	0.028
papG III	20(40.00)	12(19.67)	5.534	0.019
pAI	16(32.00)	8(13.11)	5.360	0.021
cnf1	13(26.00)	4(6.56)	8.009	0.005
fyuA	12(24.00)	4(6.56)	6.776	0.009
cnf2	10(20.00)	3(4.92)	6.045	0.014
papC	9(18.00)	2(3.28)	5.028	0.025
papG	6(12.00)	1(1.64)	4.992	0.026
hlyA	4(8.00)	0(0.00)	5.062	0.024

表 3 两组患者病原菌分离株的耐药性分析[n(%)]
Table 3 Analysis of resistance of pathogen isolates in both patient groups

抗菌药物 Antibacterial agents	异体输血组 Allogeneic blood transfusion (n=52)	自身输血组 Autotransfusion group (n=73)	χ^2	P
氨苄青霉素	42(84.00)	40(65.57)	4.834	0.028
氨基糖苷类	26(52.00)	20(32.79)	4.180	0.041
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	-	-
氨节西林舒巴坦	20(40.00)	15(24.59)	5.083	0.024
头孢唑林	2(4.00)	0(0.00)	2.485	0.115
哌拉西林	1(2.00)	0(0.00)	1.231	0.267
头孢唑林	28(56.00)	20(32.79)	6.033	0.014
头孢他啶	25(50.00)	18(29.51)	4.862	0.028
头孢吡肟	25(50.00)	17(27.87)	5.722	0.017
左氧氟沙星	38(76.00)	35(57.38)	4.233	0.040
呋喃妥因	6(12.00)	1(1.64)	4.992	0.026
复方新诺明	33(66.00)	25(40.98)	6.892	0.009

讨 论

围手术期输血对纠正血容量损失、改善红细胞携氧能力和微循环、补充胶体成分和凝血因子具有十分重要的临床意义。对于大手术和严重创伤患者来说,这是一项非常重要的治疗手段^[9]。但关于围手术期输血的研究已经证实,围手术期异体输血具有潜在的风险,可感染艾滋病、梅毒、乙型肝炎,引发溶血反应、过敏反应、输血紫癜、发热反应和非心源性肺水肿^[10],且异体输血会增加术后感染的风险^[11]。

为了防止异体输血引起的各种不良反应,临床上自然应用自体输血^[12]。自体输血使用与自身相同的血型,从而消除了异体输血的并发症^[10],目前已广泛应用于临床^[13]。自体输血是将手术区的血液回收,过

滤、离心、清洗,去除细胞碎片、脂肪细胞等杂质,再将浓缩的红细胞回输,安全方便^[14]。自体输血有许多优点:(1)如果血液在短时间内回输,可以确保血液的新鲜度和生物完整性,符合生理规律,红细胞的活力优于储存的血液,氧气输送能力强^[15];(2)可迅速达到输血的目的,促进患者术后康复;(3)可以预防因失血过多、过快、供血不足、缺乏血源而造成的生命危险,节约血源,保护国家有限的血液资源;(4)该技术通常不需要匹配和疾病检测,不仅节省了救援时间,而且避免了操作过程中的失误^[16]。

自体输血可避免异体血液对受者免疫功能的抑制,减少围手术期感染的发生,并可多次进行。术前多次采集自体血,可刺激患者骨髓造血功能,有助于术后迅速改善血红蛋白和血小板水平。异体输血抑制术后抗感染和伤口愈合能力,并显著抑制免疫功能^[17]。研究发现,异体输血患者术后感染率是自体输血患者的2.1倍。这可能是由于患者血液中诱导了针对供体的人类白细胞抗原抗体。多次接受异体输血的患者会出现非溶血性输血反应,导致白细胞减少,大大增加感染的发生。本文研究结果显示,异体输血组52例患者共分离出50株病原菌,自身输血组73例患者共分离出61株病原菌,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。异体输血组术后大肠埃希菌感染产生的毒力因子多于自身输血组,异体输血组病原菌分离株对大多数抗菌药物的耐药率高于自身输血组。

研究表明,超过90%的尿路感染是由大肠埃希菌引起的^[18]。此外,其还可引起呼吸道和血液感染。大肠埃希菌具有一系列特异的毒力因子,可帮助大肠埃希菌突破宿主的免疫系统,定植于尿道,甚至侵入尿道上皮细胞,导致尿道感染^[18]。本研究结果显示,异体输血组术后各大肠埃希菌感染毒力因子检出率均高于自身输血组($P < 0.05$),提示异体输血组术后大肠埃希菌感染产生的毒力因子多于自身输血组。本研究中异体输血组病原菌分离株对氨苄青霉素、氨曲南、氨节西林舒巴坦、头孢唑林、头孢他啶、头孢吡肟、左氧氟沙星、呋喃妥因、复方新诺明的耐药率均高于自身输血组($P < 0.05$),提示异体输血组病原菌分离株对大多数抗菌药物的耐药率高于自身输血组。皮尔逊相关性分析结果显示,术后感染病原菌分布数和大肠埃希菌感染毒力因子分布数均与耐药性有相关性($P < 0.05$)。感染病原菌数量和毒力基因的存在对耐药性的产生和传播具有十分重要的作用,而细菌耐药性的产生与变迁,与抗菌药物使用的变化直接关联,细菌的致病性越强,分布数越多,是导致细菌耐药性传播扩散的关键原因,但具体的耐药机制仍需要进行更深入的研究。

综上所述,自身输血组术后感染病原菌的株数多

于异体输血组,但是异体输血组术后大肠埃希菌感染产生的毒力因子多于自身输血组,异体输血组病原菌分离株对大多数抗菌药物的耐药率高于自身输血组,术后感染病原菌分布数和大肠埃希菌感染毒力因子分布数均与耐药性有交互关系。

【参考文献】

- [1] Palmieri TL. Burn injury and blood transfusion[J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2019, 32(2): 247-251.
- [2] Dickson EA, Acheson AG. Allogeneic blood and postoperative cancer outcomes: correlation or causation[J]. *Anaesthesia*, 2020, 75(4): 438-441.
- [3] Barbhaya CR, Guandalini GS, Jankelson L, et al. Direct auto-transfusion following emergency pericardiocentesis in patients undergoing cardiac electrophysiology procedures[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2020, 31(6): 1379-1384.
- [4] Frazier SK, Higgins J, Bugajski A, et al. Adverse reactions to transfusion of blood products and best practices for prevention[J]. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2017, 29(3): 271-290.
- [5] Jang J, Hur HG, Sadowsky MJ, et al. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review[J]. *J Appl Microbiol*, 2017, 123(3): 570-581.
- [6] Paitan Y. Current trends in antimicrobial resistance of *Escherichia coli* [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2018, 416(20): 181-211.
- [7] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程(第3版) [M]. 南京:东南大学出版社, 2006.
- [8] 李小鹏, 王治国. 美国临床实验室标准化委员会标准与指南[J]. *中华检验医学杂志*, 2001, 24(4): 251-252.
- [9] Desai N, Schofield N, Richards T. Perioperative patient blood management to improve outcomes[J]. *Anesth Analg*, 2018, 127(5): 1211-1220.
- [10] Yuan Y, Zhang Y, Shen L, et al. Perioperative allogeneic red blood cell transfusion and wound infections: An observational study[J]. *Anesth Analg*, 2020, 131(5): 1573-1581.
- [11] Kim JL, Park JH, Han SB, et al. Allogeneic blood transfusion is a significant risk factor for surgical-site infection following total hip and knee arthroplasty: A meta-analysis[J]. *J Arthroplasty*, 2017, 32(1): 320-325.
- [12] Kolin DA, Shakur-Still H, Bello A, et al. Risk factors for blood transfusion in traumatic and postpartum hemorrhage patients: Analysis of the CRASH-2 and woman trials[J]. *PLoS One*, 2020, 15(6): e0233274.
- [13] 刘伟, 惠磊, 王吉寿. 预存式自体输血和异体输血对老年脑外科手术患者脑组织氧合和乳酸代谢的影响[J]. *实用医院临床杂志*, 2018, 15(3): 4.
- [14] 吴云, 严海雅. 回收式自体输血用于剖宫产大出血救治[J]. *中国输血杂志*, 2017, 10(30): 91-94.
- [15] 李晓峰, 冯建宇, 魏旭峰, 等. 回收式自体输血在体外循环下冠状动脉旁路移植术中的应用研究[J]. *陕西医学杂志*, 2017, 46(11): 1542-1544.
- [16] 容晓莹, 郭向阳, 曾鸿, 等. 术中回收式自体输血在产科患者中的应用[J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(1): 5.
- [17] 张丽娟, 廖滔, 林忠. 两种自体输血方式在中央性前置胎盘孕妇中应用的安全性分析[J]. *生殖医学杂志*, 2017, 26(5): 447-451.
- [18] 柳文毅, 张晓丽, 叶志斌, 等. 不同类型尿路感染大肠埃希菌的分布和耐药性分析[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2018, 27(6): 518-522.