

DOI:10.13350/j.cjpb.220125

• 临床研究 •

内分泌科住院患者多重耐药菌感染及抗生素使用情况

田勇*, 丁红霞, 李进, 刘艳晓, 王俊宏

(河南省平顶山市第一人民医院, 河南平顶山 467000)

【摘要】 **目的** 分析内分泌科住院患者多重耐药菌感染及抗生素使用情况, 指导临床抗感染防控。 **方法** 收集2015-2018年本院内分泌科就诊的患者临床资料。采用全自动细菌分析系统对病原菌类型进行鉴定, 同时采用该系统对病原菌进行药敏试验。采用PCR扩增检测主要多重耐药菌的耐药基因。 **结果** 从多重耐药菌感染患者中分离85株多重耐药菌, 革兰阴性菌60株, 其中大肠埃希菌34株, 肺炎克雷伯菌17株, 鲍曼不动杆菌9株。革兰阳性菌25株, 其中金黄色葡萄球菌16株, 溶血葡萄球菌9株。2015年未检出多重耐药菌, 2016-2018年分离菌株分别为18、30和37株。从尿液、痰液、血液以及伤口分泌物中分离的多重耐药菌分别为40、24、13和8株, 占47.06%、28.24%、15.29%和9.41%。大肠埃希菌中Int1基因、I类整合子、遗传标记基因、*acra*基因、*acrb*基因的阳性检出率分别为23.53%、73.53%、50.00%、55.88%和47.06%。金黄色葡萄球菌中*mecA*、*qacA*、*ermC*、*qacA*+*ermC*、*mecA*+*qacA*+*ermC*、*icaA*、*icaD*基因的阳性检出率分别为50.00%、62.50%、43.75%、12.50%、37.50%、43.75%和31.25%。2015-2018年多重耐药菌总感染率为5.88%, 各年份多重耐药菌感染率为0.00%、6.19%、5.60%和8.72%。 **结论** 2016-2018年患者感染多重耐药菌呈整体增多趋势, 并且感染主要发生在患者尿液样本。积极监测多重耐药菌中耐药基因分布情况, 对控制多重耐药菌流行传播具有重要意义。

【关键词】 内分泌科; 住院患者; 多重耐药菌感染; 耐药基因

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)01-0114-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Jan;17(1):114-117.]

Multi-drug resistant bacteria infection and antibiotic use in inpatients in endocrinology department

TIAN Yong, DING Hong-xia, LI Jin, LIU Yan-xiao, WANG Jun-hong (The First People's Hospital of Henan Pingdingshan, Pingdingshan 467000, Henan, China)*

【Abstract】 **Objective** The multi-drug resistant bacteria infection and antibiotic use in inpatients in endocrinology department were analyzed to guide prevention and control of clinical anti-infection. **Methods** Clinical data of patients admitted to the department of endocrinology of our hospital from 2015 to 2018 were collected. The pathogen types were identified by the automatic bacterial analysis system and the drug susceptibility test was carried out. PCR amplification was used to detect the drug-resistant genes of multi-drug resistant strains. **Results** 85 strains of multi-drug resistant bacteria were isolated from infected patients. There were 60 strains of Gram-negative bacteria, including 34 strains of *Escherichia coli*, 17 strains of *Klebsiella pneumoniae* and 9 strains of *Acinetobacter baumannii*. There were 25 strains of Gram-positive bacteria, including 16 strains of *Staphylococcus aureus* and 9 strains of hemolytic *Staphylococcus*. No multi-drug resistant bacteria infection was found in patients in 2015. From 2016 to 2018, 18, 30 and 37 strains were isolated respectively. The proportion of multi-drug resistant bacteria isolated from urine, sputum, blood and wound secretions was 47.06%, 28.24%, 15.29%, and 9.41%, respectively. The positive detection rates of Int1 gene, class I integrin, genetic marker genes, *acra*, *acrb* in *E. coli* were 23.53%, 73.53%, 50.00%, 55.88%, 47.06%, respectively. The positive detection rates of *mecA*, *qacA*, *ermC*, *qacA*+*ermC*, *mecA*+*qacA*+*ermC*, *icaA*, *icaD* in *S. aureus* were 50.00%, 62.50%, 43.75%, 12.50%, 37.50%, 43.75%, 31.25%, respectively. From 2015 to 2018, the total infection rate of multi-drug resistant bacteria was 5.88%, and the infection rates of multi-drug resistant bacteria in inpatients in endocrinology department were 0.00%, 6.19%, 5.60%, 8.72% in each year. **Conclusion** From 2016 to 2018, there was an overall increasing trend of patients infected with multi-drug resistant bacteria, and the infection mainly occurred in the urine samples of patients. The infection types of multi-drug resistant bacteria in inpatients in endocrinology department were mainly gram-negative bacteria, among which *E. coli* was the majority. The majority of gram-positive bacteria were *S. aureus*. Active monitoring of the distribution of drug-resistant genes in multidrug-resistant bacteria is of great significance for controlling the epidemic spread of multidrug-resistant bacteria.

【Key words】 endocrinology department; inpatients; multi-drug resistant bacteria infection; drug-resistant genes

* **【通讯作者(简介)】** 田勇(1980-), 男, 湖北仙桃人, 医学硕士, 副主任医师。研究方向: 糖尿病微血管并发症的防治。
E-mail: zhaobaiyuan22558rc@163.com

医院内分泌科患者病情严重,多数患者治疗采取药物治疗方式,但由于患者抵抗力差、基础疾病多,特别是糖尿病患者,很容易发生感染,并且由于治疗中不断地使用抗菌药物,使得患者感染类型主要为多重耐药菌感染^[1]。一旦护理管理措施不当,患者感染多重耐药菌风险增加,因此,做好临床护理工作也十分重要。目前多重耐药菌的耐药机制主要包括病原菌产生钝化酶,如氨基糖苷钝化酶;病原菌体内药物靶位改变;病原菌胞膜通透性改变;以及细菌自身抵抗系统增强等^[2];然而,目前也有研究认为,由于条件致病菌长期与抗生素接触,细菌体内整合子使病原菌体内极易残留耐药基因,而与病原菌本身基因结合,加速耐药基因在病原菌之间相互交换,耐药基因长期存留于菌体,形成多重耐药病原菌^[3]。因此,积极监测内分泌科住院患者多重耐药菌感染情况,并对主要多重耐药流行菌的 I 类整合子分布情况,以及临床治疗中抗生素使用情况进行检测,对于临床感染防控具有重要意义。

材料与方 法

1 临床资料

收集 2015-2018 年本院内分泌科就诊的患者临床资料,共 1 411 例,其中男性患者 754 例,女性患者 657 例;患者年龄在 24~79 岁。纳入标准:骨质疏松、痛风、糖尿病、脂质代谢紊乱、甲状腺患者等;排除标准:伴有精神系统疾病的患者。

2 主要试剂与仪器

VITEK-2 全自动细菌分析系统购买自法国生物梅里埃公司;DNA 提取试剂盒、Taq 聚合酶、蛋白酶 K 购买自大连宝生物;PCR 扩增仪购买自德国 Biometra 公司;电泳仪购买自上海天能公司;凝胶成像系统购买自美国 Bio-Rad 公司;其他试剂购买自美国普洛麦格生物技术有限公司。

3 病原菌鉴定及药敏试验

按《全国临床检验操作规程》,收集内分泌科住院患者尿液、痰液、血液、伤口分泌物样本。采用血琼脂、巧克力平板、麦康凯平板等培养样本中病原菌。采用法国生物梅里埃 VITEK-2 全自动细菌分析系统对病原菌类型进行鉴定,同时采用该系统对病原菌进行药敏试验。病原菌鉴定采用革兰阴性菌卡(GPI)、革兰阳性菌鉴定卡(GNI+),药敏试验采用 AST-GN13 卡。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 和肺炎克雷伯菌 ATCC700603。以病原菌对 3 种及以上药物耐药的病原菌记为多重耐药菌(multi-drug resistance, MDR)。

4 多重耐药大肠埃希菌耐药基因检测

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取多重耐药

大肠埃希菌基因组 DNA,PCR 扩增引物见下表 1。PCR 扩增反应体系:DNA 模板 3 μ l,上下游引物各 1.5 μ l, Premix Taq 20 μ l, ddH₂O 补至 50 μ l。扩增条件:92 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 92 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 65 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 共 35 个循环,然后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖进行电泳,采用凝胶成像仪拍照记录结果。同时,取纯化后 PCR 扩增产物送至上海生工生物技术公司测序。

表 1 PCR 扩增引物
Table 1 The primers for PCR amplification

基因 Genes	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物长度 Length(bp)
Int1 基因	F: TTCGTGATGCTGCTTGT R: CGCCAGCTTCTGTATGG	407
I 类整合子可变区	F: GGCATCCAAGCAGCAAG R: AAGCAGACTTGACCTGA	不定
遗传标记基因	F: TAGCGAGGGCTTTACCTAAG R: ATTCAGAATGCCGAACACCG	299
acra	F: CCTCAAGTTAGCGGGATTAT R: A CCGTCTGCGGGAACCTTA A	567
acrb	F: GTGGGTGATGTTTCAGTTG R: CGTTTTAACCACTTCGTGA	516

5 多重耐药金黄色葡萄球菌耐药基因检测

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取多重耐药金黄色葡萄球菌 DNA,PCR 扩增引物见表 2。扩增反应体系:DNA 模板 2 μ l,上下游引物各 0.5 μ l, Premix Taq 20 μ l, ddH₂O 补至 25 μ l。扩增条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 共 30 个循环,然后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖进行电泳,采用凝胶成像仪拍照记录结果。

表 2 PCR 扩增引物
Table 2 The primers for PCR amplification

基因 Genes	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物长度 Length(bp)
mecA	P1: AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC P2: AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	162
qacA	P1: GCTGCATTTTATGACAATGTTTG P2: AATCCACCTACTAAAGCAG	629
ermC	P1: AGTACAGAGTAATTTTCG P2: AATCCTGCATGTTTTAAGC	520
icaA	P1: TCTCTTGCAGGAGCAATCAA P2: TCAGGCACTAACATCCAGCA	198
icaD	P1: ATGGTCAAGCCCAGACAGAG P2: CGTGTTTTCAACATTTAATGCA	197

结 果

1 多重耐药菌感染情况

分离 85 株多药耐药菌株,其中有 2 株菌分离自双重感染患者。从内分泌科住院患者中分离的多重耐药菌以革兰阴性菌为主,共 60 株,其中大肠埃希菌 34

株,肺炎克雷伯菌 17 株,鲍曼不动杆菌 9 株。革兰阳性菌 25 株,其中金黄色葡萄球菌 16 株,溶血葡萄球菌 9 株。

2 多重耐药菌的样本来源

2015 年未检出多重耐药菌,2016-2018 年分离菌株分别为 18、30 和 37 株,占 21.18%、35.29% 和 43.53%。2015-2018 年从尿液、痰液、血液以及伤口分泌物中分离的多重耐药菌菌株分别为 40、24、13 和 8 株,分别占 47.06%、28.24%、15.29% 和 9.41% (表 3)。2016-2018 年分离多重耐药菌呈整体增多趋势。

表 3 多重耐药菌感染样本分布
Table 3 The samples distribution of multi-drug resistant bacteria

标本 Samples	多重耐药分离株数 Number of multidrug resistant isolates			
	2016 年	2017 年	2018 年	合计 Total
尿液	7	13	20	40
痰液	6	10	8	24
血液	2	5	6	13
伤口分泌物	3	2	3	8
合计 Total	18	30	37	85

3 多重耐药大肠埃希菌 I 类整合子检测

34 株多重耐药大肠埃希菌中,IntI 1 基因、I 类整合子、遗传标记基因、acra 基因、acrb 基因阳性菌株数分别为 8、25、17、19 和 16 株,阳性率分别为 23.53%、73.53%、50.00%、55.88%、47.06%。I 类整合子和外排泵基因的高检出率可能与大肠埃希菌的多重耐药性有关。

4 多重耐药金黄色葡萄球菌耐药基因检测

16 株多重耐药金黄色葡萄球菌中,各耐药基因 mecA、qacA、ermC、qacA + ermC、mecA + qacA + ermC、icaA、icaD 的阳性菌株数分别为 8、10、7、2、6、7 和 5 株,阳性率分别为 50.00%、62.50%、43.75%、12.50%、37.50%、43.75% 和 31.25%。各耐药基因的高检出率与菌株多药耐药特性有关。

讨 论

内分泌科患者内激素分泌过剩或者不足,扰乱患者内分泌功能,因而多数患者需要长期使用药物治疗。同时,患者免疫力低、住院时间长,更容易发生医院感染。感染患者病情加重,不仅增加治疗费用、延长住院时间,长期的抗菌药物使用还可能造成多重耐药菌的流行传播^[4]。目前,病原微生物的耐药问题已经成为严重的公共卫生问题。抗生素的大量甚至过度使用,导致耐药问题不断加剧,反之,临床治疗中患者可选用药物越来越少,对于耐药菌引发的感染患者缺乏有效药物,患者病情无法得到控制,对患者人身健康和生命安全造成严重威胁^[5]。随着抗菌药物的广泛使用,多

重耐药菌感染在住院患者中占比逐年增高,本研究中调查内分泌住院患者多重耐药菌感染结果也整体呈现出逐年增多的趋势。医院感染是多重耐药菌的主要感染来源,甚至可能发生多重耐药菌的医院暴发性流行^[6]。并且,内分泌科住院患者常伴有内分泌紊乱、免疫力低下的体征,使得病原菌感染发生可能性增加,使得内分泌科住院患者成为多重耐药菌的易感人群^[7]。

医院内分泌科糖尿病患者居多,患者由于高血糖内环境,有利于病原菌侵入和定植。特别是尿液,尿液中糖组分是病原菌的碳源,尿蛋白可以作为氮源,导致内分泌科住院患者的尿液样本中病原菌检出率较高^[8]。本研究调查的内分泌科住院患者感染的多重耐药菌类型以革兰阴性菌为主,其中多重耐药大肠埃希菌居多。大肠埃希菌作为革兰阴性菌,是临床常见条件致病菌,对于医院内分泌科患者,大肠埃希菌容易引发泌尿道感染。随着临床治疗中广谱药物的广泛使用,大肠埃希菌耐药率不断提高,多重耐药大肠埃希菌日益流行。因此,监测 I 类整合子在多重耐药大肠埃希菌中的分布情况,对于控制多重耐药菌的流行传播具有重要意义^[9]。本研究从内分泌科住院患者中分离多种多重耐药菌株,其中以大肠埃希菌居多。监测 4 株多重耐药大肠埃希菌的耐药基因发现,遗传标记基因(QacE Δ 1-sulI 基因)、I 类整合子以及 IntI 1 基因检出的阳性率较高。整合子是一种可移动的基因元件,可以将多个耐药基因整合在一株病原菌中,并且可以介导耐药基因在染色体、质粒之间的移动,使得病原菌获得多种耐药性,导致多重耐药菌株的流行传播^[10-11]。因此,I 类整合子的高检出率与大肠埃希菌临床分离株的多重耐药性关系密切。此外,AcrAB-TolC 蛋白是大肠埃希菌多药耐药排外系统中常见的外排泵,由 acra/acrb 基因编码,该基因存在可以使细菌对多种抗菌药物产生耐药性,如红霉素、氯霉素、四环素等。因而,本研究检出的 acra/acrb 基因也是导致大肠埃希菌产生多药耐药特性的原因。

金黄色葡萄球菌存在多种耐药机制,由于菌株中存在多个耐药基因导致多药耐药金黄色葡萄球菌的流行传播。菌体染色体中的 mecA 基因是病原菌对 β -内酰胺类抗菌药物耐药的主要原因,该基因可以编码青霉素结合蛋白 PBP2a,它可以代替正常 PBPs 发挥作用,使药物失去活性,发展成为耐药菌株^[12];同时,在金黄色葡萄球菌中 qacA 基因的高检出率,与菌株对喹诺酮类抗菌药物密切相关;而 ermC 基因检出与金黄色葡萄球菌对 MLSB 类抗菌药物耐药性有关,因而 qacA + ermC 和 mecA + qacA + ermC 多基因检出情况直接导致了金黄色葡萄球菌对多种药物产生了耐药性,促进了多药耐药株的流行传播。另外,icaA 基因

是葡萄球菌形成生物膜的主要调节因子,icaD 基因对于黏质物产生有重要作用。一般来说,icaA 基因阳性检出的菌株会形成较强的生物膜,而 icaD 基因会促进生物膜黏性,因而,金黄色葡萄球菌中 icaA 和 icaD 基因检出会加剧金黄色葡萄球菌耐药程度。临床抗感染治疗过程中,应积极监测此类基因,减少生物膜形成,控制多药耐药性发展。

2015-2018 年间,本院内分泌科住院患者抗生素使用率较低,抗生素使用基本合理。从内分泌科住院患者多重耐药菌感染数与抗生素使用情况的变化趋势可以看出,多重耐药菌感染患者的感染率随着抗生素使用率的增多而增多,临床应给予重视。减少交叉用药,积极监测患者感染病原菌谱及临床分离病原菌株的耐药性,减少多重耐药菌的流行传播^[13]。此外,2018 年出现 2 例多重耐药菌双重感染患者,临床应给予高度重视。在后续的临床治疗中仍应高度重视抗生素合理使用情况,积极总结经验,加强住院患者抗生素类药物使用的监督工作,建立抗生素合理使用的长效机制。内分泌科住院患者由于自身具有基础性疾病,医院消毒隔离、卫生隔离措施不到位,会导致多重耐药菌感染风险增大^[14-15]。因此,临床治疗中,应该增强医务人员医院感染防控意识,保证抗感染防控措施落实到位,可以明显降低多重耐药菌感染及流行传播。积极做好预防措施,早发现、早治疗,可能有效避免多重耐药菌医院感染的大规模爆发。内分泌科住院患者,在临床治疗中还应积极指导患者营养进食,制定个人膳食计划,有助于增强患者机体免疫力和抵抗力^[16]。

综上所述,通过分析内分泌科住院患者多重耐药菌感染情况及抗生素使用情况,可以指导临床治疗过程中药物使用,减少医院环境中多重耐药菌株流行,改善临床患者治疗进程。

【参考文献】

[1] Drakopoulou M, Toutouzas K, Stefanadi E, et al. Association of inflammatory markers with angiographic severity and extent of cor-

onary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 206(2): 335-339.

[2] 王红芳. 内分泌科患者多重耐药菌感染分析与管理对策[J]. *中医药管理杂志*, 2019, 27(19): 120-121.

[3] 王斌, 胡咏梅, 夏芳, 等. 内分泌科患者多重耐药菌感染的危险因素分析[J]. *现代实用医学*, 2017, 29(6): 811-813.

[4] 林俊, 黄健云, 马育林, 等. 内分泌科大肠埃希菌的感染现况调查及耐药性分析[J]. *实用预防医学*, 2015, 22(6): 736-738.

[5] 黄冠新, 廖丹, 黎小金, 等. 多重耐药菌感染监测与预防控制策略[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(15): 3341-3343.

[6] Zhang XY, Ding LJ, Yue J. Occurrence and characteristics of class 1 and class 2 integrons in resistant *Escherichia coli* isolates from animals and farm workers in Northeastern China[J]. *Microb Drug Resist*, 2009, 15(4): 323-328.

[7] Saeed M A, Haque A, Ali A, et al. Relationship of drug resistance to phylogenetic groups of *E. coli* isolates from wound infections [J]. *Infect Dev Ctries*, 2009, 3(9): 667-670.

[8] 李智山, 周乐翔, 赵建忠, 等. 大肠埃希菌 I 类整合子遗传标记研究 [J]. *世界感染杂志*, 2008, 8(2): 113-114, 127.

[9] Shaheen BW, Oyarzabal OA, Boothe DM. The role of class 1 and 2 integrons in mediating antimicrobial resistance among canine and feline clinical *E. coli* isolates from the US [J]. *Vet Microbiol*, 2010, 144(3-4): 363-370.

[10] Ishida Y, Ahmed AM, Mahfouz NB, et al. Molecular analysis of antimicrobial resistance in gram-negative bacteria isolated from Fish Farm in Egypt [J]. *J Vet Med Sci*, 2010, 72(6): 727-734.

[11] Verner-Jeffreys DW, Welch TJ, Schwarz T, et al. High prevalence of multidrug-tolerant bacteria and associated antimicrobial resistance genes isolated from ornamental fish and their carriage water [J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8388.

[12] 朱熠, 张淑敏, 李辉, 等. 多重耐药菌感染的临床分析及耐药性监测 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24(22): 5489-5491.

[13] 许艳子, 袁梦申, 袁月明. 金黄色葡萄球菌抗生素耐药相关基因检测 [J]. *中国热带医学*, 2013, 13(12): 1464-7.

[14] 陈燕红, 徐志云. 抗生素的合理使用可以预防细菌耐药 [J]. *医学信息*, 2011, 24(4): 231-231.

[15] 贺萧霖, 胡娟. 持续护理质量改进在内分泌科管理中的实践应用 [J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(2): 275-276.

[16] ChoK J, Kim JK, Lee JH, et al. Structural features of cephalosporin acylase reveal the basis of autocatalytic activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390(2): 342-348.

【收稿日期】 2021-10-09 【修回日期】 2021-12-21