论著

文章编号:1000-5404(2014)19-2030-04

无菌体液中大肠埃希菌对头孢吡肟耐药的危险因素分析

孙继德, 付双双,黄世峰,徐绣宇,张莉萍 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院医学检验科)

[摘要] **目的** 探讨无菌体液中大肠埃希菌对头孢吡肟耐药的危险因素。**方法** 收集2012年7月至2013年8月间医院在无菌体液中分离的288株大肠埃希菌,对患者病例做回顾性病例对照分析。病例组为96株头孢吡肟耐药菌株,对照组为192株头孢吡肟敏感菌株。Logistic回归模型被用来分析大肠埃希菌对头孢吡肟耐药的独立危险因素。**结果** 大肠埃希菌对头孢吡肟的耐药率为33.3%。产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)、先前使用抗生素(尤其是头孢菌素)、男性、先前住院天数≥10 d、机械通气、引流管、导尿管和静脉置管等是大肠埃希菌对头孢吡肟耐药的主要危险因素。其中,产ESBLs、先前使用抗生素、先前住院天数≥10 d和男性是其独立危险因素。**结论** 有上述危险因素存在的患者,尤其是男性,应尽量缩短住院时间,减少侵入性操作,慎用头孢菌素类药物,以减少头孢吡肟耐药菌株的出现。

[关键词] 头孢吡肟;大肠埃希菌;耐药;危险因素;无菌体液

[中图法分类号] R378.2; R915; R978.11 [文献标志码] A

Risk factors associated with cefepime-resistant *Escherichia coli* isolates in sterile body fluid

Sun Jide, Fu Shuangshuang, Huang Shifeng, Xu Xiuyu, Zhang Liping (Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] Objective To identify the risk factors for acquisition of cefepime (FEP) resistance among *Escherichia coli* (*E. coli*) isolates in sterile body fluid. Methods A total of 288 successive and non-duplicate *E. coli* strains isolated from sterile body fluid specimens during July 2012 to August 2013 in our department were recruited for case-control study. Ninety-six case was defined as FEP-resistant isolates while 192 cases with FEP-susceptive isolates served as control. Logistic regression was performed to evaluate the independent risk factors. Results Out of the 288 total isolates, 33.3% (96/288) were resistant to FEP. Production of extended spectrum beta-lactamases (ESBLs), previous antibiotic use, ≥10 d of hospital stay before infection and male were the independent risk factors associated with FEP-resistant *E. coli* isolates. Other major risk factors included previous use of cephalosporins, mechanical ventilation, drainage tube, urinary or intravenous catheterization. Conclusion Patients (especially male) with above-mentioned risk factors should be kept to a shorter hospital stay, less invasive operations and more cautious use of cephalosporins in order to control the emergence of cefepime-resistant strains.

[**Key words**] cefepime; *Escherichia coli*; resistance; risk factors; sterile body fluid

Supported by the National Key Clinical Specialties Construction Program of China (2010-305). Corresponding author: Zhang Liping, Tel: 86-23-89012756, E-mail: liuzhangcq@sina.cn

大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)是临床常见的条件致病菌,也是造成院内感染的主要病原菌之一。头孢吡肟(cefepime, FEP)是第4代头孢菌素类药物,具有广谱、高渗透性、高亲和力、高稳定性和低毒性等特点[1],对革兰阴性菌和革兰阳性菌均有抗菌活性,是治疗*E. coli*感染的常用药物。但由于抗生素的不合理使用及耐药菌株的院内交叉传播等原因,导致FEP的耐药率逐年上升[2-3],给*E. coli*感染的治疗带

[基金项目] 国家临床重点专科建设项目[2010(305)]

[通信作者] 张莉萍,E-mail: liuzhangcq@sina.cn

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140807.1558.010.html(2014-08-07)

来极大困难。本研究旨在探讨无菌体液中 *E. coli* 对FEP耐药的危险因素,为制定更加有效的院感监控策略提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2012年7月至2013年8月我院住院患者送检的各类无菌体液标本(包括血液、胆汁、脑脊液、胸腔积液、腹腔积液、引流液和穿刺液等)中分离的288株非重复大肠埃希菌(去除同一患者不同时间和相同部位的重复菌株)。其中,96株FEP耐药菌株为病例组,192株FEP敏感菌株为对照组。病例资料搜集于电子病历系统和检验科LIS系统。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定和药敏试验 所有标本按第3版《全国临床检验操作规程》以常规方法进行培养和分纯,并采用法国生物梅里埃VITEK2 Compact全自动微生物分析仪进行菌种鉴定。药物敏感试验采用K-B法,按美国临床实验室标准化委员会(CLSI) 2012年版本的标准判断结果。

1.2.2 ESBLs确证试验 根据CLSI指导文件M100-S22,采用双纸片协同试验对Vitek2检测出的产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌进行ESBLs确证试验。即:采用头孢噻肟(30 μg)、头孢噻肟/克拉维酸(30 μg/10 μg),头孢他啶(30 μg)、头孢他啶/克拉维酸(30 μg/10 μg)纸片检测,对两组中任何一种药物加克拉维酸的抑菌圈直径与不加克拉维酸的抑菌圈直径相比,差值≥5 mm时,可确证该菌株产ESBLs。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0进行统计分析。先行单因素分析:计数资料采用带危险评估的 χ^2 检验或Fisher精确概率法进行分析,并计算危险系数(*OR*值),计量资料采用两独立样本的 *t* 检验或非参数秩和检验进行分析。再用逐步前进的Logistic回归模型进行多因素分析,并计算 *OR* 值及其95%置信区间(*CI*)。以双侧置信区间下 $P<0.05$ 判定为具有统计学差异。

2 结果

2.1 FEP耐药率和产ESBLs率

2012年7月至2013年8月在无菌体液标本中共分离288株 *E. coli* 菌株,其中192株对FEP敏感,96株对FEP耐药,耐药率为33.3%。105株 *E. coli* 产ESBLs(65株FEP耐药,40株FEP敏感),产ESBLs率为36.5%。

2.2 耐药菌株病例的临床特征

96株FEP耐药患者年龄呈偏态分布,中位数年龄为62岁,四分位范围为48~72岁。男性61例,女性35例。科室分布上看,胃肠外科20例(20.8%)、肝胆外科18例(18.8%)、ICU 16例(16.7%)和泌尿外科10例(10.4%),累积构成比达66.7%。从标本分布上看(表1),耐药 *E. coli* 株主要分布在血液(46.9%)、引流液(16.7%)和胆汁(15.6%),累积构成比达79.2%,其中,引流液标本的FEP耐药率最高(55.2%)。

表1 无菌体液中FEP耐药的 *E. coli* 菌株标本构成

标本种类	感染总例数	耐药例数	构成比(%)	累积构成比(%)	耐药率(%)
血	149	45	46.9	46.9	30.2
引流液	29	16	16.7	63.5	55.2
胆汁	58	15	15.6	79.2	25.9
腹腔积液	21	9	9.4	88.5	42.9
穿刺液	18	6	6.3	94.8	33.3
脑脊液	11	5	5.2	100.0	45.5
胸腔积液	2	0	0.0	100.0	0.0
合计	288	96	100.0	–	33.3

2.3 FEP耐药危险因素的单因素分析

对23项潜在的相关危险因素进行单因素统计分析,结果显示:男性、先前住院天数≥10 d、机械通气、导尿管、静脉置管、引流管、先前使用抗生素(尤其是头孢类)和细菌产ESBLs具有统计学差异($P<0.05$),是无菌体液中 *E. coli* 对FEP耐药的主要危险因素(表2)。

表2 无菌体液中E. Coli对FEP耐药危险因素的单因素分析分析

相关因素	FEP耐药组($n=96$)	FEP敏感组($n=192$)	*OR* 值	*P* 值
年龄(岁)	62(48~72)	60(44~70)	–	0.40
男性	61(63.5)	74(38.5)	2.78	0.00
慢性基础疾病	51(53.1)	109(56.8)	0.86	0.56
先前住院天数≥10 d	39(40.6)	42(21.9)	2.44	0.00
入住ICU	33(34.4)	50(26.0)	1.49	0.14
手术	55(57.3)	93(48.4)	1.43	0.16
灌肠	40(41.7)	61(31.8)	1.53	0.10
膀胱冲洗	16(16.7)	18(9.4)	1.93	0.07
机械通气	21(21.9)	20(10.4)	2.41	0.01
导尿管	64(66.7)	91(47.4)	2.22	0.00
静脉置管	24(25.0)	28(14.6)	1.95	0.03
引流管	47(49.0)	54(28.1)	2.45	0.00
皮质激素	12(12.5)	23(12.0)	1.05	0.90
先前使用抗生素	82(85.4)	120(62.5)	3.51	0.00
头孢菌类	66(68.8)	80(41.7)	3.08	0.00
青霉素类	16(16.7)	30(15.6)	1.08	0.82
碳青霉烯类	16(16.7)	25(13.0)	1.34	0.40
氨基糖苷类	16(16.7)	20(10.4)	1.72	0.13
氟喹诺酮类	12(12.5)	13(6.8)	1.97	0.10
糖肽类	7(7.3)	12(6.3)	1.18	0.74
硝基咪唑类	45(46.9)	70(36.5)	1.54	0.09
联合使用抗生素	46(47.9)	75(39.1)	1.44	0.15
产ESBLs	65(67.7)	40(20.8)	7.97	0.00

数据用“例数(%)”表示,但年龄为偏态计量资料,用“中位数(四分位范围)”表示

2.4 FEP耐药危险因素的多因素分析

将单因素分析中 $P\leq0.1$ 的变量代入Logistic回归模型进行多因素分析[4],结果显示,在去除混杂因素后,男性、先前住院天数≥10 d、先前使用抗生素和细菌产ESBLs是 *E. coli* 对FEP耐药的独立危险因素(表3)。

表3 无菌体液中 *E. coli* 对FEP耐药危险因素的Logistic分析结果

相关因素	*OR* 值	95% *CI*	*P* 值
男性	1.89	1.06~3.39	0.03
先前住院天数≥10 d	1.97	1.03~3.74	0.04
先前使用抗生素	2.58	1.24~5.39	0.01
产ESBLs	7.23	4.04~12.96	0.00
常数	0.06	–	0.00

逐步前进法,$P\leq0.1$ 进入,$P\geq0.15$ 删除

3 讨论

第4代头孢菌素头孢吡肟是广谱且低毒性的β内酰胺类抗生素,对革兰阴性杆菌和革兰阳性菌均有抗菌活性,不仅应用于包括 *E. coli* 在内的革兰阴性菌的感染治疗,也广泛应用于急性肺炎、发热性中性粒细胞减少、尿路感染、皮肤感染及疑难腹腔内感染等感染性疾病的治疗。FEP 耐药将导致临床诸多感染性疾病治疗失败。对 FEP 耐药危险因素的研究,有利于制定出更加合理的 FEP 治疗方案。*E. coli* 是条件致病菌,在人体某些部位正常存在(如大肠),故我们选取无菌体液标本来研究 FEP 耐药 *E. coli* 菌株感染的危险因素,排除了定植菌的干扰,使结果更为准确。

本研究结果显示,无菌体液中 *E. coli* 产 ESBLs 率为 36.5%,与全国耐药监测网(CHINET)结果相近;对 FEP 的耐药率为 33.3%,远低于 CHINET 结果[5],但耐药形势仍然严峻。FEP 耐药 *E. coli* 主要分布于外科,可能与外科侵入性操作和手术前预防性抗感染治疗有关。标本分布上,血液中的 *E. coli* 检出率最高,说明 *E. coli* 在无菌体液中主要引起血流感染;而引流液中 FEP 耐药率最高,可能与引流操作有关。研究表明,引流管的插入与 FEP 耐药密切相关($OR = 2.45$, $P = 0.00$)。

产 ESBLs 是风险系数最高的 FEP 耐药独立危险因素($OR = 7.23$; 95% *CI*, 4.04 ~ 12.96; $P = 0.00$),产 ESBLs 菌株对 FEP 的耐药几率约为非产 ESBLs 菌株的 7.23 倍。细菌对 FEP 的耐药机制主要是产生了能水解 FEP 的酶类,如 ESBLs 和金属酶[6-7],ESBLs 的产生必然会极大地影响 *E. coli* 对 FEP 的耐药性,故它可作为 FEP 耐药危险因素的一个内因。对于产 ESBLs 的大肠埃希菌感染,CLSI 不推荐使用 FEP 治疗,而应首选碳青霉烯类药物。但并不是所有的产 ESBLs 菌株都会对 FEP 耐药。ESBLs 包括多个基因型,美国以 TEM 型 ESBL 为主,对 3、4 代头孢菌素高度耐药,而我国则以 CTX-M 型为主(3、14 亚型最为普遍),对 1、2 代头孢菌素耐药率高,但对头孢他啶和头孢吡肟相对敏感;然而近年来可水解头孢他啶的 CTX-M-15 酶已成为全球最常见的 ESBLs 型,使得耐头孢他啶的肠杆菌科细菌逐渐增多[8-9]。

男性是 *E. coli* 对 FEP 耐药的另一个独立危险因素($OR = 1.89$; 95% *CI*, 1.06 ~ 3.39; $P = 0.03$),这在 FEP 耐药危险因素的相关文献中是没有发现的[10-12]。288 例 *E. coli* 病例中,男性为 135 例,女性为 153 例;男性 *E. coli* 感染者略低于女性,但男性患者 *E. coli* 获得 FEP 耐药的风险却是女性的 1.89 倍。这并不是一个罕见的现象,已有多篇文献报道了 *E. coli* 耐药在人群中存在性别差异;包括氟喹诺酮类、青霉素、呋喃妥因、第1、2代头孢等药物,男性患者中 *E. coli* 耐药率普遍高于女性[13-16]。性别差异导致 *E. coli* 耐药性不同的机制尚不清楚,可能与多重耐药相关蛋白(multidrug-resistance proteins, MRPs)[17]或者性激素结合蛋白有关[18]。当然,我们的结果仅具有统计学意义,并不一定具有临床意义,男性是否该作为尿路感染中二线广谱抗菌药物的经验治疗指标,还需进一步验证[13]。同时,无菌体液中 *E. coli* 感染病例有限,小样本研究也可能对统计结果有一定影响。

E. coli 对 FEP 耐药的独立危险因素还包括先前住院天数≥10 d($OR = 1.97$; 95% *CI*, 1.03 ~ 3.74; $P = 0.04$)和先前使用抗生素($OR = 2.58$; 95% *CI*, 1.24 ~ 5.39; $P = 0.01$)。患者 *E. coli* 感染前住院天数呈偏态分布,FEP 耐药组的住院天数为 7(2 ~ 18) d,FEP 敏感组的住院天数为 4(1 ~ 9) d,耐药组的住院天数比敏感组明显要长($P = 0.00$),住院天数超过 10 d 将增加 FEP 耐药菌交叉感染的机会。细菌耐药是抗生素选择性压力作用的结果。288 例患者中,有 202 例在 *E. coli* 感染前使用了抗生素,抗生素的使用率高达 70.1%,由抗生素使用导致的 FEP 耐药率为 40.6%。其中,头孢菌素类抗生素使用最为频繁,202 例抗生素的治疗方案中就有 146 例(72.3%)头孢类治疗。可见抗生素的不合理使用(尤其是头孢类),是导致 *E. coli* 对 FEP 耐药的一个重要外因。有研究表明,限制头孢类抗生素的使用可降低感染相关死亡率[19]。

机械通气、导尿、静脉置管和引流管是 FEP 耐药的主要危险因素($P < 0.05$),这与国内外相关报道一致[10-12]。这些侵袭性操作不同程度引起机械性损伤,破坏人体正常屏障,降低其保护防御功能,增加了耐药菌株感染的机会。

总之,大肠埃希菌对头孢吡肟的耐药率逐年上升,耐药形势十分严峻。医院应根据 FEP 耐药的危险因素制定相关措施,尽量缩短患者的住院时间,减少侵入性操作。合理使用抗生素,尤其慎用头孢类抗生素;一旦发现产 ESBLS 菌株感染,应立即停用头孢类药物。同时应加强细菌耐药监测工作,从整体上预防和控制耐药菌的产生与传播。

参考文献:

[1] Shi Q, Ding F, Sang R, *et al*. Drug use evaluation of cefepime in the first affiliated hospital of Bengbu medical college: a retrospective and prospective analysis[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13: 160.

[2] 谭正芳. 2006~2010年大肠埃希菌耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(11): 1366-1367.

[3] 马越, 李景云, 胡昌勤, 等. 头孢吡肟等抗生素对革兰氏阴性杆菌体外敏感性连续四年耐药性监测分析[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(11): 747-751.

[4] Marschall J, Zhang L, Foxman B, *et al*. Both host and pathogen factors predispose to Escherichia coli urinary-source bacteremia in hospitalized patients[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(12): 1692 - 1698.
[5] 朱任媛, 张小江, 徐英春, 等. 2011 年中国 CHINET 无菌体液细菌分布和耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 349 - 356.
[6] Paterson D L, Bonomo R A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(4): 657 - 686.
[7] Walsh T R. The emergence and implications of metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(Suppl 6): 2 - 9.
[8] Sidjabat H E, Paterson D L, Adams-Haduch J M, *et al*. Molecular epidemiology of CTX-M-producing Escherichia coli isolates at a tertiary medical center in western Pennsylvania [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(11): 4733 - 4739.
[9] Liu W, Chen L, Li H, *et al*. Novel CTX-M{beta}-lactamase genotype distribution and spread into multiple species of Enterobacteriaceae in Changsha, Southern China[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(5): 895 - 900.
[10] Mansouri M, Ramazanzadeh R, Norabadi P. Cefepime resistance and associated risk factors among Escherichia coli strains isolated from clinical specimens[J]. Chemotherapy, 2011, 57(2): 134 - 137.
[11] 王会丽, 马丽君, 刘秀玮. 第 4 代头孢菌素头孢吡肟的耐药性及耐药危险因素[J]. 中国医院用药评价与分析, 2010, 10(12): 1092 - 1094.
[12] Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner M G, *et al*. Cefepime-resistant Pseudomonas aeruginosa[J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(6): 1037 - 1043.
[13] McGregor J C, Elman M R, Bearden D T, *et al*. Sex- and age-specific trends in antibiotic resistance patterns of Escherichia coli urinary isolates from outpatients[J]. BMC Fam Pract, 2013, 14:25.
[14] Boyd L B, Atmar R L, Randall G L, *et al*. Increased fluoroquinolone resistance with time in Escherichia coli from >17,000 patients at a large county hospital as a function of culture site, age, sex, and location[J]. BMC Infect Dis, 2008, 8:4.
[15] Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, *et al*. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000 2009)[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13:19.
[16] Gesu G P, Marchetti F. Increasing resistance according to patient's age and sex in Escherichia coli isolated from urine in Italy[J]. J Chemother, 2007, 19(2):161 - 165.
[17] Smirnova O V. Sex differences in drug action: the role of multidrug-resistance proteins (MRPs)[J]. Fiziol Cheloveka, 2012, 38(3): 124 - 136.
[18] Wallace I R, McKinley M C, Bell P M, *et al*. Sex hormone binding globulin and insulin resistance[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2013, 78(3):321 - 329.
[19] 杜斌, 陈德昌, 刘大为, 等. 限制使用三代头孢菌素可降低感染相关病死率[J]. 中国实用外科杂志, 2004, 24(6): 348 - 351.

(**收稿**:2014-03-28;**修回**:2014-06-07)

(编辑 邓强庭)

(上接 2024 页)

大、发生于头颈部、位置较为表浅且以局部压迫为首发症状就诊。光镜下可见瘤细胞排列成腺泡状或巢团状,70% ~80%病例胞质内可见 PAS 阳性的针状或棒状结晶,而这种晶体的出现,也有助于肿瘤的病理学诊断,瘤体血管内常见瘤栓,这也是肿瘤早期即发生转移的主要原因[5]。该瘤 CT 表现并无明显特异性,多表现为密度不均的圆形或类圆形肿块,增强扫描常呈明显不均匀强化,CTA 可清楚显示其供血动脉或引流静脉;MRI 上多表现为:等稍短 T_1 长 T_2 信号,肿瘤内外常可见走行迂曲的流空血管影,本例也较为典型。

根据本例的发病部位、病史及其强化特点,体检曾被误诊为血管瘤,而血管瘤呈典型"延迟强化",且对周围组织绝无侵犯。术前被误诊为高级别孤立性纤维瘤。二者多伴粗大肿瘤血管且均呈明显不均匀强化,又因高级别孤立性纤维瘤也可侵犯周围组织,故鉴别较为困难,但孤立性纤维瘤富含纤维,CT 平扫一般呈等或稍高密度,且其"苔藓样"或"地图状"强化[6]及短 T_2 表现较具特征性,该瘤 CT 平扫密度较低,T_2 WI 呈高信号,故不应作为首要诊断。另外,对于发生在软组织的 ASPS,主要与横纹肌肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤等鉴别,前者以儿童及青少年多见,因肿瘤生长迅速,患者病史一般较短;后者好发于老年男性,常见出血、坏死及瘤周水肿,且易侵犯周围血管及神经。而当肿瘤发生于四肢深部,临近大关节时,还应注意与滑膜肉瘤的鉴别,但滑膜肉瘤内部无明显流空血管影且瘤体内常见小灶状钙化。此外,免疫组化对于肿瘤的鉴别诊断有一定的帮助,但确诊仍要依赖病理学形态观察。该瘤原发肿瘤扩大切除后局部复发率很低,远处转移是其死亡的主要原因,而术后辅助性放化疗并未显示其必要性[5],该患者术后一直行预防性放化疗,依然发生肺转移。故原发肿瘤的扩大切除仍是治疗的关键,且对已实施扩大根治术后的患者,仍需定期随诊复查。

ASPS 影像学表现尚无特征可循,定性诊断有一定困难,且由于笔者收集病例数较少,无法得到该类患者的大量长期随访信息,但通过对该病例的分析及文献复习,对生长缓慢、明显强化及伴瘤体内外迂曲血管的无特异性临床表现的软组织肿块,除了从常见病、多发病的角度出发外,还应考虑到该病的可能。

参考文献:

[1] 刘祥. 腺泡状软组织肉瘤 2 例[J]. 放射学实践, 2013, 28(6): 708 - 709.
[2] 周建功, 马小龙, 汪建华, 等. 腺泡状软组织肉瘤的影像学特征与病理对照[J]. 中华放射学杂志, 2013, 47(2): 162 - 165.
[3] Strecker T, Schmid A, Agaimy A, *et al*. Giant metastatic alveolar soft part sarcoma in the left ventricle: appearance in echocardiography, magnetic resonance imaging, and histopathology[J]. Clin Cardiol, 2011, 34(3): E6 - E8.
[4] 孙馨, 郭卫, 杨荣利, 等. 15 例腺泡状软组织肉瘤临床特点及预后分析[J]. 中国癌症杂志, 2009, 19(10): 784 - 787.
[5] 张学斌, 孔繁明, 战忠利. 头皮下腺泡状软组织肉瘤 1 例[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(17): 1020.
[6] 杨晓锋, 吴凡, 方春. 孤立性纤维瘤的多层螺旋 CT 征象及病理特征[J]. 中国医学影像学杂志, 2013, 21(9): 710 - 714.

(**收稿**:2014-08-13;**修回**:2014-08-30)

(编辑 王 红)