

耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌的危险因素及联合用药对替加环素异质性耐药菌株的影响研究

张学林*, 刘璐, 杨艳玲, 吴良香, 江益婷

(云南省保山市人民医院, 保山 678000)

摘要: 目的 探讨耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)感染的危险因素, 并分析联合用药对替加环素异质性耐药菌株体外抑菌效果的影响。**方法** 采用回顾性病例对照研究方法, 选取 2024 年 3 月—2025 年 12 月本院收治的 350 例 CRKP 感染患者为 CRKP 组, 并按照 1:1 比例选取同期 350 例碳青霉烯类敏感肺炎克雷伯菌(carbapenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae*, CSKP)感染患者为 CSKP 组。比较两组的临床资料及送检标本分布情况, 采用单因素分析和多因素 Logistic 回归分析 CRKP 感染的危险因素。另选取 57 株 CRKP 临床分离菌株, 采用肉汤微量稀释法测定替加环素(tigecycline, TGC)和多黏菌素 B (polymyxin B, PMB)的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC), 应用群体分析谱(population analysis profiles, PAPs)筛选替加环素异质性耐药菌株, 并利用棋盘法评价 TGC 联合 PMB 对替加环素异质性耐药菌株的联合抑菌效应。**结果** 2 组均以痰液为主, CRKP 组痰液标本占 46.86%, CSKP 组占 60.29%, 其余标本主要为尿液、血液、引流液等其他标本。CRKP 组在年龄>60 岁、住院时间>14 d、心脑血管疾病、呼吸系统疾病、糖尿病、中心静脉插管、机械通气、留置尿管以及联合使用抗菌药物大于 3 种和使用碳青霉烯类药物方面的比例均高于 CSKP 组($P<0.05$)。多因素 Logistic 分析证实呼吸系统疾病、糖尿病、机械通气、留置尿管、联合使用抗菌药物大于 3 种及碳青霉烯类药物使用为 CRKP 感染的独立危险因素($P<0.05$)。TGC 与 PMB 的 MIC 主要分布于 0.125~0.250 $\mu\text{g/mL}$ 区间, 随 MIC 水平升高菌株数逐渐减少, MIC>4 $\mu\text{g/mL}$ 的菌株均未检出。纸片扩散法未检出替加环素异质性耐药菌株, 而 PAPs 法共检出 24 株替加环素异质性耐药菌株, 检出率为 42.11%。替加环素异质性耐药 CRKP 菌株在单用条件下的 TGC MIC₅₀/MIC₉₀ 分别为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、4 $\mu\text{g/mL}$, PMB 单用时为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$, 而 TGC 与 PMB 联合用药时 MIC₅₀/MIC₉₀ 分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 。在 24 株替加环素异质性耐药 CRKP 中, TGC 联合 PMB 的抗菌效应以协同作用和相加作用为主要类型, 二者比例相当, 均为 41.67%, 无关作用占 16.67%, 未观察到拮抗作用。**结论** CRKP 感染的发生与多种基础疾病、侵入性操作及抗菌药物使用密切相关。体外研究结果表明, TGC 联合 PMB 可增强对替加环素异质性耐药 CRKP 的抑菌活性, 具有一定的协同或相加效应, 为 CRKP 感染的临床合理用药提供参考依据。

关键词: 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌; 危险因素; 替加环素; 异质性耐药; 联合用药

0 引言

肺炎克雷伯菌是一种肠杆菌目常见的革兰阴性致病菌, 可在呼吸道、消化道、皮肤及泌尿系统等多部位定植, 是社区获得性和医院获得性感染中重要的病原体之一, 常

导致呼吸道、软组织及泌尿系统等多种严重感染^[1]。碳青霉烯类抗菌药物长期作为肺炎克雷伯菌感染的重要治疗手段, 其广泛使用促使了耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)在全球范围内的检出率呈逐年上升趋势。根据 2024 年中国细菌耐药监测网

(China Antimicrobial Resistance Surveillance System, CHINET) 结果显示, 肺炎克雷伯菌在临床分离菌中位居前列, 其对亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 21.3% 和 22.1%, CRKP 检出水平较高^[2]。以往研究显示, CRKP 感染的发生与患者基础疾病、侵入性操作及抗菌药物使用等多种因素密切相关, 但不同地区和人群的危险因素分布仍存在差异^[3-4]。替加环素(tigecycline, TGC)是一种以抑制细菌蛋白质合成而发挥作用的超广谱抗菌药物, 常用于多重耐药菌感染的治疗, 但监测结果发现, 肺炎克雷伯菌对其耐药水平呈逐年上升趋势, 需要联合其他药物共同治疗^[5]。因此, 本研究分析 CRKP 感染的危险因素, 并在体外条件下评价替加环素联合多黏菌素 B (polymyxin B, PMB)对替加环素异质性耐药 CRKP 菌株的抑菌效果, 为 CRKP 感染的防控及合理用药提供参考。

1 材料与方 法

1.1 一般资料

采用回顾性研究, 纳入 2024 年 3 月—2025 年 12 月本院 350 例 CRKP 感染患者作为 CRKP 组, 并选取同期 350 例 CSKP 感染患者作为 CSKP 组。纳入标准: (1)经病原学培养明确分离出肺炎克雷伯菌, 并完成药敏试验; (2)符合 CRKP/CSKP 的判定标准; (3)临床资料完整, 包括一般情况、基础疾病、侵入性操作及抗菌药物使用情况等。排除标准: (1)合并其他细菌感染; (2)非感染状态下的定植菌或污染标本; (3)住院时间少于 2 d。

1.2 材料与试剂

TGC 标准品、多黏菌素 B 标准品(纯度 $\geq 98\%$)(美国 Sigma-Aldrich 公司); Mueller-Hinton 肉汤培养基 (Mueller-Hinton Broth, MHB)、Mueller-Hinton 琼脂培养基 (Mueller-Hinton Agar, MHA)(美国 BD Biosciences 公司); 替加环素药敏纸片(含量 15 μg /片, 英国 Oxoid 公司); 96 孔无菌微量反应板(美国 Corning 公司); 生理盐水(0.85% NaCl 溶液, 中国国药集团化学试剂有限公司); 标准菌株大肠埃希菌 ATCC 25922[美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC)]。

1.3 仪器与设备

Microflex LT 型 MALDI-TOF MS 飞行时间质谱仪(德国 Bruker Daltonics 公司); Bact/ALERT 3D 型全自动微生物培养系统(美国 bioMérieux 公司); DHP-9162 型恒温培养箱(温控范围 5~60 $^{\circ}\text{C}$, 控温精度 ± 0.5 $^{\circ}\text{C}$, 上海一恒科学仪器有限公司); BSC-1300IIA2 型生物安全柜(山东博科生物产业有限公司); Multiskan FC 型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ME204 型电子天平(精度 0.0001 g, 瑞士 Mettler Toledo 公司); Vortex-Genie 2 型涡旋振荡器(美国

Scientific Industries 公司)。

1.4 方 法

1.4.1 病原菌鉴定

根据感染部位采集血液、尿液、痰液、引流液及脑脊液、腹腔液等标本进行病原学检测, 培养与分离按照《全国临床检验操作规程》^[6]执行, 采用德国布鲁克飞行时间质谱仪进行病原菌种类鉴定。对碳青霉烯类抗菌药物敏感的肺炎克雷伯菌定义为 CSKP, 对亚胺培南、美罗培南或厄他培南中任意一种碳青霉烯类抗菌药物呈耐药的肺炎克雷伯菌定义为 CRKP。

1.4.2 临床资料收集

利用医院电子病历系统回顾性收集研究对象的临床资料, 主要包括以下内容: (1)基本信息。性别与年龄; (2)住院信息。住院时间(是否 >14 d); (3)基础疾病情况。包括: 心脑血管疾病、呼吸系统疾病、高血压、恶性实体肿瘤、血液系统疾病及糖尿病; (4)侵入性操作情况。包括: 中心静脉插管、机械通气、留置尿管及留置引流管; (5)抗菌药物使用情况。包括是否联合使用抗菌药物大于 3 种与是否使用碳青霉烯类抗菌药物; (6)感染情况。是否发生 CRKP 感染。

1.4.3 测定 TGC 和 PMB 的最低抑菌浓度

参照临床实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)操作规程, 采用肉汤微量稀释法测定 TGC 和 PMB 对 CRKP 的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。依据 CLSI 2025 年折点标准判定药物敏感性; 同时以大肠埃希菌 ATCC 25922 作为质控菌株作为验证。

1.4.4 筛选替加环素异质性耐药菌株

使用纸片扩散法结合菌群分析法筛选替加环素异质性耐药菌株, 选取替加环素 MIC ≤ 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的菌株, 将菌液调至 0.5~0.8 麦氏浊度后均匀涂布于 Mueller-Hinton 琼脂平板, 置入替加环素药敏纸片并于(35 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 观察抑菌圈内是否出现散在菌落生长; 对抑菌圈内出现菌落的菌株进一步行群体分析谱(population analysis profiles, PAPs)分析。将不同浓度梯度的替加环素与 Mueller-Hinton 琼脂混匀制备含药平板(终质量浓度为 0.125~16 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 取对数生长期菌液接种并于(35 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后进行菌落计数, 当菌株在 ≥ 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 替加环素平板上仍可生长时, 判定为替加环素异质性耐药菌株。为验证异质性耐药表型的稳定性, 将筛选获得的异质性耐药菌株在不含替加环素的培养基中连续传代 10 次后再次测定其替加环素 MIC 值。

1.4.5 评价 TGC 联合 PMB 对替加环素异质性耐药菌株的联合抑菌效应

采用棋盘法评价 TGC 联合 PMB 对替加环素异质性耐药菌株的联合抑菌效应。依据单药 MIC 结果设计联合用药浓度梯度, 将不同浓度的 TGC 和 PMB 按棋盘格形式加入 96 孔板中, 再加入稀释后的菌悬液, 于(35 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 培养

16~18 h,记录联合用药条件下各药物的MIC值,并计算部分抑菌浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)。FICI = MIC (TGC 联用)/MIC (TGC 单用)+MIC (PMB 联用)/MIC (PMB 单用),其中 FICI \leq 0.5 判定为协同作用,0.5<FICI \leq 1.0 判定为相加作用,1.0<FICI \leq 2.0 判定为无关作用,FICI>2.0 判定为拮抗作用。

1.5 统计学分析

统计分析采用 SPSS 27.0 完成,计数资料以[n (%)]表示,采用 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 *t* 检验;以 CRKP 感染为因变量、相关危险因素为自变量建立多因素 Logistic 回归模型, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 两组患者送检标本类型

2 组均以痰液为主,CRKP 组痰液标本占 46.86%,CSKP 组占 60.29%,其余标本主要为尿液、血液、引流液及其他标本,见表 1。

2.2 两组患者一般资料

CRKP 组在年龄>60 岁、住院时间>14 d、心脑血管疾

病、呼吸系统疾病、糖尿病、中心静脉插管、机械通气、留置尿管以及联合使用抗菌药物大于 3 种和使用碳青霉烯类药物方面的比例均高于 CSKP 组($P<0.05$)。见表 2。

2.3 CRKP 感染多因素 Logistic 回归分析

以是否发生 CRKP 感染为因变量,将单因素分析中有统计学意义的变量纳入多因素 Logistic 回归模型,结果显示,呼吸系统疾病、糖尿病、机械通气、留置尿管、联合使用抗菌药物大于 3 种及使用碳青霉烯类药物这 6 个因素均为 CRKP 感染的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 1 两组患者送检标本类型

标本类型	CRKP 组		CSKP 组	
	例数/例	百分比/%	例数/例	百分比/%
血液	29	8.29	17	4.86
尿液	65	18.57	32	9.14
痰液	164	46.86	211	60.29
引流液	23	6.57	26	7.43
其他	69	19.71	64	18.29

表 2 两组患者一般资料比较

因素	CRKP 组	CSKP 组	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>	
性别	男	213	229	1.571	0.210
	女	137	121		
年龄	>60 岁	233	194	9.134	0.003
	\leq 60 岁	117	156		
住院时间	>14 d	314	279	13.514	<0.001
	\leq 14 d	36	71		
基础疾病	心脑血管疾病	156	127	4.989	0.026
	呼吸系统疾病	160	73	43.603	<0.001
	高血压	117	92	0.565	0.452
	恶性实体肿瘤	81	68	1.441	0.230
	血液系统疾病	66	47	3.810	0.051
	糖尿病	75	52	9.883	0.002
侵入性操作	中心静脉插管	288	259	7.034	0.008
	机械通气	255	207	14.668	<0.001
	留置尿管	191	157	16.729	<0.001
	留置引流管	162	178	0.144	0.704
联合使用抗菌药物大于 3 种	281	185	59.161	<0.001	
使用碳青霉烯类药物	289	205	48.536	<0.001	

表3 CRKP 感染多因素 Logistic 回归分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95% CI
呼吸系统疾病	1.212	0.192	40.657	<0.001	3.354	2.314~4.864
糖尿病	0.631	0.215	9.026	0.003	1.880	1.246~2.839
机械通气	0.742	0.179	16.988	<0.001	2.100	1.474~2.991
留置尿管	0.560	0.167	10.855	0.001	1.751	1.255~2.443
联合使用抗菌药物大于3种	0.923	0.194	23.433	<0.001	2.509	1.730~3.639
使用碳青霉烯类药物	1.390	0.205	48.303	<0.001	4.015	2.711~5.947

注: β . 回归系数; 标准误(standard error, SE); 沃尔德卡方(wald chi-square, Wald χ^2); 比值比(odds ratio, OR); 置信区间(confidence interval, CI)。

2.4 CRKP 对 TGC 和 PMB 的 MIC 值分布

TGC 与 PMB 的 MIC 主要分布于 0.125~0.250 $\mu\text{g/mL}$ 区间, 随 MIC 水平升高菌株数逐渐减少, MIC 大于 4 $\mu\text{g/mL}$ 的菌株均未检出。见表 4。

表4 CRKP 对 TGC 和 PMB 的 MIC 值分布

MIC/ $(\mu\text{g/mL})$	TGC 菌株数	PMB 菌株数
≤ 0.0625	10	15
0.125	18	20
0.250	12	10
0.500	9	6
1	5	4
2	2	1
4	1	1
>4	0	0

2.5 TGC 异质性 CRKP 的筛选结果

在 57 株 CRKP 菌株中, 纸片扩散法未检出替加环素异质性耐药菌株, 而 PAPs 法共检出 24 株(42.11%)替加环素异质性耐药菌株。见表 5。

表5 TGC 异质性 CRKP 的筛选结果

筛选方法	筛选菌株数	异质性耐药菌株数	检出率/%
纸片扩散法	57	0	0.00
PAPs 法	57	24	42.11

2.6 替加环素异质性耐药菌株单药及联合用药 MIC 比较

替加环素异质性耐药 CRKP 菌株在单用条件下的 TGC MIC₅₀/MIC₉₀ 分别为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、4 $\mu\text{g/mL}$, PMB 单用时为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$, 而 TGC 与 PMB 联合用药时分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 。见表 6。

表6 替加环素异质性耐药 CRKP 的单药及联合用药 MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)

药物组合	MIC ₅₀	MIC ₉₀
TGC 单用	2	4
PMB 单用	1	2
TGC+PMB 联用	1	2

2.7 TGC 联合 PMB 对替加环素异质性耐药 CRKP 的联合效应

在 24 株替加环素异质性耐药 CRKP 中, TGC 联合 PMB 的抗菌效应以协同作用和相加作用为主要类型, 二者比例相当, 均为 41.67%, 无关作用占 16.67%, 未观察到拮抗作用。见表 7。

表7 TGC 联合 PMB 对替加环素异质性耐药 CRKP 的联合效应

联合效应类型	菌株数	构成比/%
协同作用(FICI ≤ 0.5)	10	41.67
相加作用($0.5 < \text{FICI} \leq 1.0$)	10	41.67
无关作用($1.0 < \text{FICI} \leq 2.0$)	4	16.67
拮抗作用(FICI > 2.0)	0	0.00

3 讨论与结论

肺炎克雷伯菌广泛存在于自然环境中, 可作为共生菌或潜在致病菌定植于多种宿主, 作为条件致病菌, 主要引起住院患者及免疫功能低下人群的感染。其耐药机制复杂, 主要包括 β -内酰胺酶产生、外膜孔蛋白缺失、外排泵过度表达、生物被膜形成及靶位改变等^[7]。随着侵入性操作的增加及抗菌药物应用的普遍化, CRKP 检出率持续上升, 明确其感染相关危险因素是开展有效预防与控制的关键。

多因素 Logistic 分析显示, 呼吸系统疾病、糖尿病、机械通气、留置尿管、联合使用抗菌药物大于 3 种及使用

碳青霉烯类药物均为 CRKP 感染的独立危险因素($P<0.05$), 与范向平等^[8]研究结果相似, 其同样提示侵入性操作、既往碳青霉烯类药物及多种抗菌药物使用是 CRKP 感染的重要危险因素。因为呼吸系统疾病患者常存在气道清除功能受损和分泌物滞留, 易形成持续定植并进展为感染, 同时其病程较长、器械支持及抗菌药物暴露更为集中。史瑶等^[9]在 ICU 研究中发现呼吸衰竭等严重呼吸系统状况会增加 CRKP 感染风险。糖尿病因长期高血糖导致先天免疫功能减弱及微循环障碍, 局部防御能力下降, 加之反复住院和既往抗菌药物使用频繁, 更易暴露并感染耐药菌。机械通气和留置尿管等侵入性操作破坏机体天然屏障, 为病原菌黏附及生物被膜形成创造条件, 同时增加医源性交叉传播机会。联合使用多种抗菌药物及碳青霉烯类药物的应用通常反映感染严重、治疗周期延长, 其持续的抗菌选择压力可抑制敏感菌群并促进耐药菌优势扩增。张甜甜等^[10]也将使用过碳青霉烯类抗菌药物、留置尿管等纳入独立危险因素, 并强调 ICU 患者病情复杂、侵袭性操作频繁与抗菌药物使用密集是 CRKP 高检出的关键背景。TGC 与 PMB 的 MIC 值总体处于较低水平, 且在该亚群中 TGC 联合 PMB 可降低 MIC₅₀/MIC₉₀, 联合抑菌效应以协同和相加作用为主, 表明 TGC 与 PMB 可在体外增强对替加环素异质性耐药 CRKP 的抑菌活性, 降低有效抑菌浓度, 具有潜在的联合用药优势。

综上, 呼吸系统疾病、糖尿病、机械通气、留置尿管、联合使用抗菌药物大于 3 种及碳青霉烯类药物使用是

CRKP 感染的独立危险因素。同时, 体外药敏结果显示, 替加环素异质性耐药 CRKP 菌株在联合 PMB 后 MIC 水平下降, 联合抑菌效应以协同和相加作用为主。临床上应针对高危人群加强感染防控, 并在合理评估基础上考虑联合用药策略, 以降低 CRKP 感染风险并优化治疗效果。

参考文献

- [1] 高园, 张卫东, 吴红曼, 等. 医院获得性多重耐药肺炎克雷伯菌感染的危险因素及耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2026, 26(1): 45-52.
- [2] 郭燕, 丁丽, 胡付品, 等. 2024 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2025, 25(6): 597-607.
- [3] 郑雪新, 郑钦钦, 史伟强, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的耐药性及感染危险因素分析[J]. 中国现代医药杂志, 2024, 26(5): 71-76.
- [4] 贾昕婧, 贡鑫然, 段春元, 等. 中国人群中替加环素耐药菌流行现状[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(20): 3195-3200.
- [5] 阮永春, 周宜庆, 张海旺, 等. 替加环素耐药肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J]. 中华全科医学, 2020, 18(8): 1404-1408.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 全国临床检验操作规程 4 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [7] 尚家磊, 舒福杉, 丁元波, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌感染的危险因素分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 32(10): 728-733.
- [8] 范向平, 谢琪, 刘志云, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌感染患者临床分布特点、耐药基因及相关危险因素分析[J]. 临床误诊误治, 2024, 37(21): 39-47.
- [9] 史瑶, 朱敏, 杜明梅, 等. ICU 患者耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌感染的危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(10): 1473-1476.
- [10] 张甜甜, 刘志武, 黄喜凤, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌感染临床特征及危险因素分析[J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(2): 208-214.