

多重耐药鲍曼不动杆菌颅内感染耐药性危险因素研究

肖金平 程 娜 向天新 王嘉鑫 李淑月

摘要 分析多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Ab)颅内感染耐药性相关危险因素,为临床预防及治疗提供建议。采用病例对照及回顾性分析方法,研究颅内鲍曼不动杆菌(Ab)感染报告病例,依据耐药情况将患者分为MDR-Ab与非MDR-Ab组。采用单因素及Logistic回归分析MDR-Ab颅内感染耐药性的危险因素。单因素分析结果表明:住院时间、ICU住院、合并肺部感染、脑脊液(CSF)漏、CSF引流不通畅、感染Ab前使用抗生素、手术后使用激素均为MDR-Ab颅内感染耐药的相关危险因素($P < 0.05$);Logistic多因素分析表明:住院时间、ICU住院、脑脊液引流不通畅,感染Ab前使用抗生素均为MDR-Ab颅内感染耐药的独立危险因素($P < 0.05$)。对于住院时间长、ICU住院、CSF引流不通畅、感染Ab前使用抗生素的患者容易使其产生耐药,故在临床诊疗过程尽量缩短患者住院时间,及时迁出ICU病房,保存引流通道的通畅,合理应用抗生素。

关键词 鲍曼不动杆菌;颅内感染;耐药性;影响因素

中图分类号 R 515.9

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2020)02 - 0308 - 04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.02.031

脑膜炎、脑室炎和脑脓肿等术后颅内感染是院内感染的一项防治挑战,占中枢神经系统感染的0.8%~7%^[1]。这些感染通常发生在患者住院期间,继发于神经外科或耳鼻喉科手术、头部外伤,很少发生于菌血症的转移性感染^[2]。研究^[3]显示,颅内感染常见的微生物有鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, Ab)、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌,它们对头孢菌素类抗生素、氨基糖苷类抗生素、碳青霉烯类抗生素具有高度的耐药性。颅脑术后Ab引起的院内中枢神经系统比例高达15%~21.74%^[4],其死亡率更是高达20%~40%^[5];近年来Ab颅内感染数量不断增加,且广谱

抗生素的广泛使用,导致颅内多重耐药鲍曼不动杆菌(multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, MDR-Ab)感染的高发病率;颅脑存在血脑屏障,能阻滞多数抗菌药物进入脑内,当下新抗菌药物研发缓慢,致使MDR-Ab治疗用药困难^[6];目前Ab血流感染危险因素研究很多,但关于颅内Ab感染耐药性研究较少。因此,需要对MDR-Ab颅内感染耐药性危险因素进行研究。现通过回顾性分析颅内Ab感染的临床资料,为临床感染与防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集2014年4月~2018年12月南昌大学第一附属医院微生物实验室数据库中颅内Ab感染报告病例。采用病例对照方法,依据耐药性将确诊颅内Ab感染患者分为2组:非MDR-Ab组和MDR-Ab组。

1.2 指标定义 MDR-Ab神经外科术后颅内感染的诊断标准见文献^[7-8],诊断标准如下:①MDR-Ab脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)培养阳性;②下列症状中至少有2种(排外其他因素所致): $T > 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、脑膜刺激征阳性、颅内高压(如头痛、呕吐)等临床表现及体征;③CSF/血清葡萄糖 < 0.5 , CSF有核细胞 $> 10 \times 10^6/\text{L}$,或蛋白水平 $> 0.45\text{ g/L}$ 。若患者无临床症状,或脑脊液中糖、有核细胞、蛋白水平正常,则认为标本污染。MDR是指对3种或3种以上抗生素类别(如碳青霉烯类、氨基糖苷类、头孢菌素类)中每一类抗菌药物至少1种药物不敏感^[9]。

1.3 资料收集 收集患者临床资料:包括患者性别、年龄、基础疾病、原发性疾病、感染Ab前的资料(白细胞、血小板、血红蛋白、降钙素原、红细胞沉降率、C反应蛋白、白蛋白、采样当日最高体温)、感染Ab后首次的CSF常规及CSF生化、腰椎穿刺术次数、手术方法、CSF引流是否通畅及引流方式、CSF漏、入住ICU、卧床大于30d、神志情况、发病前使用抗生素、术后使用激素。进行单因素及Logistic多因素回归分析。

1.4 统计学处理 采用SPSS 22.0统计软件进行

2019 - 11 - 01 接收

基金项目:江西省青年科学基金资助项目(青年基金项目)(编号:20181BAB215033)

作者单位:南昌大学第一附属医院感染科,南昌 330006

作者简介:肖金平,男,硕士研究生;

程 娜,女,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: chengnah@sina.com

分析。通过 χ^2 检验分析计数数据,并通过双样本 t 检验分析正态分布数据,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。将所有可能的危险因素进行单因素分析,单因素分析提示有统计学意义的数据资料进一步通过二元 Logistic 回归进行多因素分析,结果用 OR 和 95% CI 表示。

2 结果

2.1 病例资料 2014 年 4 月 ~ 2018 年 12 月有 MDR-Ab 颅内感染报告病例 43 例,非 MDR-Ab 感染病例报告 33 例。MDR-Ab 组与非 MDR-Ab 组年龄分别为 11 ~ 68(48.23 ± 12.97) 岁、15 ~ 69(45.76 ± 13.07) 岁。2 组患者在年龄、性别、原发病(脑外伤、脑肿瘤、脑脓肿、颅内动脉瘤)、基础疾病等方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),其临床资料具有可比性。见表 1。

表 1 Ab 颅内感染 MDR 组与非 MDR 组的基本特征 [n(%)]

特征	MDR-Ab (n=43)	非 MDR-Ab (n=33)	χ^2/t 值	P 值
男	28(65.12)	22(66.67)	-0.016	0.890
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	48.23 ± 12.97	45.76 ± 13.07	0.133	0.253
原发病				
脑出血	8(18.60)	13(39.39)	-0.230	0.055
脑外伤	17(39.53)	8(24.24)	0.161	0.164
脑肿瘤	6(13.95)	7(21.21)	-0.096	0.412
脑脓肿	3(4.10)	0(0.00)	0.178	0.125
颅内动脉瘤	9(20.93)	4(12.12)	0.116	0.319
基础疾病				
高血压	18(41.86)	11(33.33)	0.087	0.455
糖尿病	7(16.27)	5(15.15)	0.015	0.895
烟雾病	3(6.97)	2(6.06)	0.018	0.875
冠心病	3(6.97)	3(9.09)	0.041	0.725
慢阻肺、慢支	4(9.30)	2(6.06)	0.046	0.696

2.2 单因素分析结果 对 MDR-Ab 颅内感染耐药性进行单因素分析发现:住院时间、ICU 住院、合并肺部感染、CSF 漏、CSF 引流不畅通、感染 Ab 前使用抗生素、手术后使用激素、腰大池引流均为 MDR-Ab 颅内感染耐药的危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 Logistic 多因素分析结果 将单因素分析结果中有显著性差异危险因素:住院时间、ICU 住院、合并肺部感染、脑脊液漏、脑脊液引流不畅通、感染 Ab 前使用抗生素、手术后使用激素、腰大池引流进行二元 Logistic 多因素回归分析,发现住院时间、ICU 住院、脑脊液引流不畅通、感染 Ab 前使用抗生素均为 MDR-Ab 颅内感染产生耐药的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 多药耐药鲍曼不动杆菌杆菌颅内感染感染危险单因素分析($\bar{x} \pm s$)

因素	MDR-Ab (n=43)	非 MDR-Ab (n=33)	χ^2/t 值	P 值
住院时间(d, $\bar{x} \pm s$)	32.50 ± 21.29	40.42 ± 30.97	0.248	0.031
ICU 住院[n(%)]	16(37.20)	24(72.72)	0.353	0.002
合并肺部感染[n(%)]	23(53.48)	29(87.88)	0.367	0.001
卧床大于 30 d[n(%)]	22(51.16)	23(69.70)	0.187	0.106
神志不清[n(%)]	33(76.74)	26(78.79)	0.024	0.835
机械通气[n(%)]	19(44.18)	11(33.33)	0.163	0.160
CSF 漏[n(%)]	11(25.58)	23(69.70)	0.440	0.000
CSF 引流不畅通[n(%)]	12(27.90)	25(75.76)	0.475	0.000
腰椎穿刺术次数($\bar{x} \pm s$)	3.86 ± 2.09	3.54 ± 1.66	0.025	0.829
感染 Ab 前的资料($\bar{x} \pm s$)				
血白细胞计数($\times 10^9/L$)	10.75 ± 4.16	11.95 ± 5.77	-0.087	0.450
白细胞 $> 12 \times 10^9/L$ 计数[n(%)]	16(37.21)	12(37.50)	-0.056	0.631
血红蛋白(g/L)	109.27 ± 27.72	110.93 ± 25.03	-0.021	0.856
血小板($\times 10^9/L$)	215.25 ± 106.86	233.51 ± 140.21	-0.016	0.889
C 反应蛋白(mg/L)	55.69 ± 49.06	47.63 ± 37.61	0.040	0.729
降钙素原(g/L)	4.38 ± 11.06	5.43 ± 10.28	-0.132	0.257
红细胞沉降率(mm/h)	64.64 ± 25.75	68.33 ± 26.45	-0.086	0.458
白蛋白(g/L)	34.65 ± 5.71	34.79 ± 6.71	-0.040	0.971
采样当日最高体温(°C)	38.66 ± 0.90	39.00 ± 0.89	-0.204	0.077
感染 Ab 首次 CSF 常规生化				
CSF 糖(mmol/L)	0.66 ± 0.83	0.49 ± 0.52	0.072	0.537
CSF 氯(mmol/L)	115.47 ± 10.47	116.23 ± 8.34	-0.050	0.667
CSF 蛋白(mg/L)	3 126.72 ± 1 257.53	3 374.39 ± 1 253.09	-0.103	0.375
CSF 白细胞(个/ μ l)	1 455.16 ± 1 645.57	2 220.90 ± 2 306.88	-0.145	0.210
CSF 有核细胞(%)	81.53 ± 12.98	87.21 ± 7.90	-0.191	0.098
CSF 潘氏实验	2.16 ± 1.11	2.33 ± 1.26	-0.093	0.425
CSF 引流方式[n(%)]				
脑室外引流	30(69.76)	27(81.81)	0.138	0.235
腰大池引流	10(23.25)	15(45.45)	0.234	0.042
Ommay 引流	10(23.25)	8(24.24)	0.012	0.921
手术方式[n(%)]				
开颅血肿清除术	22(51.16)	22(66.67)	0.125	0.283
开颅动脉瘤手术	9(20.93)	3(9.09)	-0.161	0.165
经鼻内镜手术	3(6.97)	5(15.15)	0.132	0.256
开颅肿瘤手术	3(6.97)	4(12.12)	0.088	0.449
术后使用激素[n(%)]	14(32.55)	26(78.79)	0.459	0.000
感染前 Ab 使用抗生素[n(%)]	17(39.53)	24(72.72)	0.330	0.004

3 讨论

非发酵革兰阴性杆菌中的 Ab 是广泛存在于人群、医院的一种条件致病菌,因 Ab 能产生碳青霉烯酶、使抗生素作用靶目标变异、外排泵基因的作用、Ab 生物膜的形成等耐药机制,至 Ab 具有显著的获得耐药能力^[10]。目前 MDR-Ab 颅内感染选药困难,新抗菌药物研发进展缓慢且耐药率高,一旦颅内存在 MDR-Ab 感染,致死率极高,将花费大量的人力物力。因此研究其耐药性的危险因素在临床上具有重要意义。

本研究多因素分析发现住院时间、ICU 住院治疗、CSF 引流不畅通、感染 Ab 前使用抗生素是患者

表3 MDR-Ab 颅内感染感染危险多因素分析

因素	回归系数	标准误	χ^2	P	OR	95% CI 下限	95% CI 上限
住院时间	-0.043	0.019	5.318	0.021	0.958	0.923	0.994
ICU 住院	1.952	0.757	6.630	0.010	7.040	1.595	31.069
合并肺部感染	1.250	0.816	2.345	0.126	3.492	0.705	17.301
CSF 漏	0.428	0.772	0.307	0.580	1.534	0.338	6.967
CSF 引流不畅通	2.173	1.020	4.542	0.033	8.788	1.191	6.863
术后使用激素	0.379	0.886	0.183	0.669	1.461	0.257	8.292
感染 Ab 前使用抗生素	-1.708	0.861	3.940	0.047	0.181	0.034	0.979
腰大池引流	-0.303	0.836	0.131	0.717	0.739	0.144	3.802

Ab 感染耐药的独立危险因素。长时间住院增加与医护人员、医院环境(空气、床单、被套、医疗器械等)、其他患者的接触概率;相关研究^[11]发现 Ab 广泛定植于医院环境,是院内获得性感染重要条件致病菌,医护人员、医疗器械表面及床单被套均可检测出 Ab;El-Shazly et al^[12]的研究也证实 Ab 是通过医务人员、医疗器械相关医源性因素接触性传播。而 ICU 住院患者病情危重、机体免疫力差,进行侵袭性操作机率增多;同时 ICU 病房本身也是 Ab 感染的重灾区,Uwingabiye et al^[13]的研究也发现这一危险因素。有关文献^[14]报道 CSF 引流通畅是有效控制颅内感染的必要条件,CSF 中富含细胞生长的必需成分,但引流不畅通时易致有害物质及细菌的大量蓄积而使 Ab 生存环境改变,环境改变易诱发细菌生物被膜的形成而产生耐药;神经外科 Ab 感染患者行手术治疗且存在血脑屏障破坏,同时亦难以清除颅内 Ab,在相关抗菌药物的选择性压力下,诱导 Ab 通过上述耐药机制诱导 Ab 产生耐药性^[15];本研究显示发病前使用抗菌药物很容易产生耐药性。住院时间、ICU 住院、CSF 引流不畅通、感染 Ab 前使用抗生素为本实验中显示的 Ab 耐药性产生的独立危险因素。

参考文献

[1] Ruan L,Wu D,Li X,et al. Analysis of microbial community composition and diversity in postoperative intracranial infection using high-throughput sequencing [J]. *Mol Med Rep*,2017,16(4): 3938-46.
 [2] Nesselner N,Launey Y,Seguin P. Nosocomial bacterial meningitis [J]. *N Engl J Med*,2010,362(14):1346-7.

[3] Li J,Nation R L,Turnidge J D,et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections [J]. *Lancet Infect Dis*,2006,6(9):589-601.
 [4] Dettenkofer M,Elbner W,Els T,et al. Surveillance of nosocomial infections in a neurology intensive care unit [J]. *J Neurol*,2001,248(11):959-64.
 [5] Bergogne-Bérézin E,Towner K J. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features [J]. *Clin Microbiol Rev*,1996,9(2):148-65.
 [6] Brown E D,Wright G D. Antibacterial drug discovery in the resistance era [J]. *Nature*,2016,529(7586):336-43.
 [7] Tunkel A R,Hasbun R,Bhimraj A,et al. 2017 infectious diseases society of America's clinical practice guidelines for healthcare-associated ventriculitis and meningitis [J]. *Clin Infect Dis*,2017,64(6):e34-e65.
 [8] Durand M L,Calderwood S B,Weber D J,et al. Acute bacterial meningitis in adults. A review of 493 episodes [J]. *N Engl J Med*,1993,328(1):21-8.
 [9] 徐雅萍,霍瑞,闫中强,等. MDR,XDR,PDR 细菌:国际专家关于获得性耐药暂行定义的提案 [J]. *中华医院感染学杂志*,2017,27(1):231-40.
 [10] Peleg A Y,Seifert H,Paterson D L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen [J]. *Clin Microbiol Rev*,2008,21(3):538-82.
 [11] 张银维. 鲍曼不动杆菌血流感染临床特征和死亡危险因素研究 [D]. 浙江:浙江大学,2016.
 [12] El-Shazly S,Dashti A,Vali L,et al. Molecular epidemiology and characterization of multiple drug-resistant (MDR) clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Int J Infect Dis*,2015,41:42-9.
 [13] Uwingabiye J,Lemnouer A,Baidoo S,et al. Intensive care unit-acquired *Acinetobacter baumannii* infections in a Moroccan teaching hospital: epidemiology, risk factors and outcome [J]. *Germes*,2017,7(4):193-205.
 [14] 左传同,鞠青. 切口牵开保护器预防腹部 III~IV 类手术切口感染效果 [J]. *中国感染控制杂志*,2015,14(9):608-10.
 [15] Dijkshoorn L,Nemec A,Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Nat Rev Microbiol*,2007,5(12):939-51.

Risk factors of drug resistance in intracranial infection of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*

Xiao Jinping, Cheng Na, Xiang Tianxin, et al

(Dept of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006)

Abstract To analyze the risk factors of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDR-Ab) for intracranial

infection resistance, and to provide suggestions for clinical prevention and treatment. Case control and retrospective analysis were used to study the reported cases of *Acinetobacter baumannii* (Ab) infection. Patients were divided into MDR-Ab and non-MDR-Ab groups based on drug resistance. Univariate and Logistic regression analysis were used to analyze the risk factors of intracranial drug resistance in MDR-Ab with multiple drug resistance. Univariate analysis showed that hospitalization time, ICU stay, pulmonary infection, cerebrospinal fluid (CSF) leakage, CSF drainage obstruction, antibiotics use before infection Ab and hormone use after surgery were all related risk factors of MDR-Ab intracranial infection resistance ($P < 0.05$). Logistic multivariate analysis showed that hospitalization time, ICU stay, inpatency of CSF drainage and antibiotics use before infection with Ab were all independent risk factors for MDR-Ab intracranial infection resistance ($P < 0.05$). For patients with long hospital stay, ICU stay, unobstructed CSF drainage and antibiotics use before Ab infection, drug resistance was easy to occur. Therefore, in the process of clinical treatment, the hospital stay should be shortened as far as possible and the patients should be moved out of ICU in time. The drainage channel should be maintained unobstructed and antibiotics should be reasonably applied.

Key words *Acinetobacter baumannii*; intracranial infection; drug resistance; influencing factors

(上接第 307 页)

- gistic pathways[J]. *J Cell Physiol*, 1990, 144(1): 159-65.
- [11] Madden J A, Vadula M S, Kurup V P. Effects of hypoxia and other vasoactive agents on pulmonary and cerebral artery smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol*, 1992, 263(3 Pt 1): L384-93.
- [12] 徐敦全. 雌激素减轻大鼠低氧性肺动脉高压的作用及机制研究[D]. 西安: 第四军医大学 2014.
- [13] 刘莉, 叶鹏. 性别差异对野百合碱诱导的大鼠肺动脉高压的影响[J]. *中华高血压杂志*, 2013, 21(7): 637.
- [14] 沈丽晓, 袁博云, 王丽, 等. 17 β -雌二醇/微小核糖核酸-21 信号通路抑制低氧性肺动脉高压肺血管重构的机制研究[J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(11): 1118-23.

Isolation and identification of primary rat PSMCs and effects of hypoxia on their proliferation

Zhang Fengyu^{1,2}, Yao Deshan¹, Li Rujun¹, et al

(¹Dept of Central Lab, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225001;

²Dept of Laboratory Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040)

Abstract The modified tissue adherent method was used to extract and culture rat pulmonary arterial smooth muscle cells (PSMCs), and the effects of hypoxia on the proliferation of PSMCs were explored. The lungs of SD rats were separated from chest under aseptic condition. Pulmonary artery was isolated and pulmonary artery tissue was planted with the adherent method of tissue explants. The cellular morphology was observed by inverted phase contrast microscope. The purity of the cells was identified by immunofluorescence assay using α -smooth muscle actin (α -SMA). The primary in vitro cultured PSMCs were exposed to normoxic and hypoxia condition respectively, then CCK-8 assay was used to detect the proliferation of PSMCs. The primary rat PSMCs were isolated and cultured successfully, the cell growth and passage were stable. Immunofluorescence assay showed that the positive rate of α -SMA was beyond 90%. The cells grew stably, culture and purification could perform in the same time. Immunology results showed that the positive rate of α -SMA was beyond 90%. CCK-8 assay demonstrated that the proliferation of PSMCs expose to hypoxia was lower than that of normoxia. The primary culture model of rat PSMCs was built successfully *in vitro*. PSMCs with appropriate inner diameter and separated from the male rats will be selected as the study object *in vitro*.

Key words rat pulmonary arterial smooth cells; α -smooth muscle actin; hypoxia; proliferation; inner diameter