

DOI:10.13350/j.cjpb.220418

• 临床研究 •

老年脑卒中患者医院感染病原学及危险因素分析*

周小燕^{1**}, 彭舒², 任丽君³

(1. 川北医学院附属医院健康管理中心, 四川南充 637000; 2 南充市中心医院神经内科; 3 川北医学院附属医院老年科)

【摘要】 **目的** 了解老年急性脑卒中肺部医院感染患者危险因素和病原菌分布, 为老年脑卒中患者医院感染防治提供依据。 **方法** 回顾性分析川北医学院附属医院健康管理中心 2015-2020 年 510 例 60 岁以上老年脑卒中患者临床资料, 对感染因素进行分析。对患者分离病原菌进行鉴定并对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌进行药敏试验。设计 TEM、SHV、CTX-M、OXA 引物并利用 PCR 技术分析产 ESBLs 大肠埃希菌进行扩增。 **结果** 共分离出 65 株病原菌, 其中革兰阳性菌 23 株, 金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、肠球菌分别为 11、7 和 5 株; 革兰阴性菌 40 株, 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌分别为 18、13、6 和 3 株; 真菌 2 株, 白色假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌各 1 株。大肠埃希菌对四环素、头孢他啶、头孢吡肟、诺氟沙星、环丙沙星、庆大霉素、阿米卡星、哌拉西林、哌拉西林-他唑巴坦、美罗培南和亚胺培南耐药率为 61.11%、44.44%、33.33%、50.00%、50.00%、38.89%、11.11%、61.11%、5.56%、5.56% 和 5.56%。肺炎克雷伯菌对四环素、头孢他啶、头孢吡肟、诺氟沙星、环丙沙星、庆大霉素和哌拉西林耐药率分别为 53.85%、38.46%、38.46%、46.15%、38.46%、30.77% 和 61.54%。8 株产 ESBLs 大肠埃希菌中 CTX-M 型引物扩增阳性为 6 株, TEM 型引物扩增出阳性 3 株和 OXA 型引物扩增阳性为 1 株。年龄、住院时间、高血脂、糖尿病、低蛋白血症、侵入性操作、意识障碍和吞咽障碍是老年脑卒中患者易发医院感染的因素。 **结论** 老年脑卒中患者医院感染中大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌是主要致病菌。治疗时应依据药敏试验结果给予抗生素治疗。

【关键词】 脑卒中; 医院感染; 病原学; 危险因素

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)04-0459-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Apr;17(4):459-462.]

Etiology and risk factors of nosocomial infection in elderly stroke patients

ZHOU Xiao-yan¹, PENG Shu², REN Li-jun¹ (1. Health Management Center, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China; 2. Department of Neurology, Nanchong Central Hospital; 3. Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College)***

【Abstract】 **Objective** To understand the risk factors and pathogen distribution of pulmonary nosocomial infection in elderly patients with acute stroke, so as to provide basis for the prevention and treatment of nosocomial infection in elderly patients with stroke. **Methods** The clinical data of 510 stroke patients over 60 years old in the health management center of the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College from 2015 to 2020 were analyzed retrospectively, and the infection factors were analyzed. The pathogenic bacteria isolated from patients were identified, and the drug sensitivity tests of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were carried out. The primers of TEM, SHV, CTX-M and OXA were designed, and the ESBLs producing *Escherichia coli* was analyzed by PCR. **Results** A total of 65 strains were isolated. Among Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Enterococcus* were 11, 7 and 5 strains respectively; Among Gram-negative bacteria, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* were 18, 13, 6 and 3 strains respectively; Among the fungi, *Candida albicans* and *Candida glabrata* were 1 strain each. The resistance rates of *Escherichia coli* to tetracycline, ceftazidime, cefepime, norfloxacin, ciprofloxacin, gentamicin, amikacin, piperacillin, piperacillin tazobactam, meropenem and imipenem were 61.11%, 44.44%, 33.33%, 50.00%, 50.00%, 38.89%, 11.11%, 61.11%, 5.56%, 5.56% and 5.56%. The resistance rates of *K. pneumoniae* to tetracycline, ceftazidime, cefepime, norfloxacin, ciprofloxacin, gentamicin and piperacillin were 53.85%, 38.46%, 38.46%, 46.15%, 38.46%, 30.77% and 61.54% respectively. Among the 8 ESBLs producing *E. coli* strains, CTX-M primer amplification was positive in 6 strains, TEM primer amplification was positive in 3 strains and OXA primer amplification was positive in 1 strain. Age, length of stay, hyperlipidemia, diabetes, hypoproteinemia, invasive operation, disturbance of consciousness and dysphagia were the risk factors of hospital infection in elderly stroke patients. **Conclusion** *E. coli* and

* **【基金项目】** 川北医学院校级科研发展计划项目(No. CBY18-A-YB51)

** **【通讯作者(简介)】** 周小燕(1989-), 女, 四川南充人, 医学硕士, 住院医师。研究方向: 脑血管疾病及神经电生理方向。
E-mail: houdumen599iha@163.com

K. pneumoniae were the main pathogens of nosocomial infection in elderly stroke patients. Antibiotics should be given according to the results of drug sensitivity test.

【Key words】 stroke; nosocomial infection; etiology; risk factors

脑卒中是致残率和致死率高的疾病,好发于老年人。脑卒中发病后可引起体脑血液循环障碍,因而病程长,往往需要患者住院治疗和康复治疗^[1]。老年人体质虚弱,器官功能衰退,免疫力差,在长期治疗过程中易并发院内感染。侵入性操作,患者意识障碍,喉部分泌物增多,基础疾病都可能导致老年人感染风险增加^[2-3]。而广谱类抗生素的不合理应用,则会导致病原菌耐药性增加,加大治疗难度。由于院内感染影响着患者的预后,因而对院内感染的各因素进行研究和避免院内感染的发生至关重要。老年脑卒中患者院内感染的常见病原菌有大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、肠球菌和真菌^[4-5]。选择合理抗生素有利于对患者感染有效地进行控制和治疗,降低患者的危险,提高患者生存质量。本研究探讨老年患者脑卒中院内感染的危险因素和病原菌分布及病原菌对抗生素的耐受性,为老年脑卒中患者并发院内感染的预防和治疗提供有力依据。

材料与方 法

1 材 料

1.1 临床资料 川北医学院附属医院健康管理中心2015年1月至2020年12月60岁以上老年脑卒中患者资料510例。医院感染诊断标准符合《医院感染诊断标准》。纳入标准:(1)经头颅MRI或头部CT诊断为脑卒中;(2)入院前两周内未服用抗生素,未发生感染;(3)患者依从性好,档案资料齐全。排除标准:(1)患者心、肝、肺、肾功能不齐全;(2)患者住院前2周内接受其他治疗;(3)患者患有精神类疾病,或肿瘤,或免疫类疾病。

1.2 主要仪器与试剂 VITEK[®] 2COMPACT 30/60全自动微生物鉴定仪,法国生物梅里埃公司;微量高速离心机,德国Eppendorf公司;ABI-7500型荧光定量PCR分析仪,美国应用生物系统公司;凝胶电泳仪,杭州博日科技有限公司。培养基,英国OXOID公司;DNA裂解液、EX Taq DNA聚合酶、PCR buffer等PCR反应试剂,宝日生物技术有限公司;药敏纸片,浙江医药股份有限公司。

2 方 法

2.1 标本采集及鉴定 采集所有患者痰液、尿液、血液标本并进行菌落涂片、分纯、培养。采集和培养操作方法依据《全国临床检验操作规程》。采用VITEK[®]

2COMPACT 30/60全自动微生物鉴定仪和相应的API鉴定条进行菌种鉴定。采用K-B纸片扩散法对临床常用药物进行药敏试验,判读标准CLSI 2020。

2.2 大肠埃希菌产ESBLs菌株检测 采用全自动微生物鉴定仪进行初筛,采用K-B纸片扩散法进行ESBLs表型确诊试验。在挑选饱满菌株接种于MH培养基上,并参照采用K-B纸片扩散法进行试验。头孢他啶(30 μg/片)、头孢他啶/克拉维酸(30 μg/片),头孢噻肟(30 μg/片)、头孢噻肟/克拉维酸(30 μg/片)中任一组合的抑菌圈直径之差≥5 mm,即可判为ESBLs阳性。阳性对照:大肠埃希菌 ATCC35218;阴性对照:大肠埃希菌 ATCC 25922。

2.3 产ESBLs大肠埃希菌耐药基因检测

2.3.1 DNA模板制备 选取饱满菌落接种于血平板16-18 h并进行再次确认后,将菌落置入含有500 μl灭菌双蒸水中,加入200 μl DNA裂解液,振荡混匀,55℃水浴1 h,95℃水浴5 min,12 000 r/min(离心半径7.8 cm)离心1.5 min,用吸液器吸取上清液放入EP管中,即为DNA模板液,-20℃低温保存。

2.3.2 PCR扩增 引物设计参照文献[6]和GenBank,引物由上海英骏生物技术有限公司合成。反应体系:EX Taq DNA聚合酶12.5 μl,10×PCR buffer 5 μl,DNA模板液4 μl,dNTPs 4 μl,上下游引物各1 μl,ddH₂O补足50 μl。反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性40 s,退火温度见表1,72℃延伸40 s;72℃终延伸8 min,4℃保存。取扩增产物10 μl,加EB母液(10 mg/ml)至终浓度0.5 μg/ml,110 V电压电泳35 min。

2.4 统计学分析 应用统计学软件SPSS 24.00分析老年脑卒中患者医院感染的可能因素:性别、年龄、住院时间、卒中类型、高血压、高血脂、糖尿病、低蛋白、侵入性操作、预防性使用抗菌药物、吸烟、饮酒、意识障碍和吞咽障碍。

结 果

1 病原菌分布

本研究中共分离病原菌65株,其中痰液标本中分离出34株病原菌(占52.31%),尿液15株(占23.08%),切口分泌物10株(占15.38%),腹水3株(占4.62%)。按菌种分类:革兰阴性菌40株(占61.54%),分别为大肠埃希菌18株,肺炎克雷伯菌13株,鲍曼不动杆菌6株,铜绿假单胞菌3株;革兰阳性

菌 23 株(占 35.38%),分别为金黄色葡萄球菌 11 株,肺炎链球菌 7 株,肠球菌 5 株;真菌 2 株(占 3.08%),分别为白色假丝酵母菌 1 株和光滑假丝酵母菌 1 株。革兰阴性菌以大肠埃希菌为主,革兰阳性菌以金黄色葡萄球菌为主。

表 1 产 ESBLs 大肠埃希菌常见耐药基因检测引物序列
Table 1 The primer sequence for detection of common drug resistance genes of ESBLs producing *E. coli*

引物名称 Primer	序列(5'-3') Senescence	退火温度(°C) Annealing temperature	产物长度 (bp) Length
TEM	ATAAAATTCTTGAAGAC TTACCAATGCTTAATCA	42	1075
SHV	GGTTATGCGTTATATTCGCC TTAGCGTTGCCAGTGCTC	58	867
CTX-M-1	CGATAACGTGGCGATGAATA CTTAGGTTGGGCTGGGTGA	55	420
CTX-M-2	GATTATGGCACCACCAACGA AADATCCCAGCSCCTTTC	53	115
CTX-M-3	TGTTGTTAGGAAGTGTGCCGC TCGTTGGTGGCCATAGTC	55	688
CTX-M-8	GCGATACCACCACGCCATTA GACGACTTTCTGCTTCTGCTC	55	290
CTX-M-9	CGGCCTGTATTTCTGCTGTTG TCCCAGCGCTTTCGCCCTT	55	793
OXA-1	TTTTCTGTTGTTGGGTTTT TTTCTGGCTTTTATGCTTG	56	450
OXA-2	CGATAGTTGTGGCAGACGA TTCAGTGCAAYAAATACGG	54	580

2 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药情况

大肠埃希菌对临床常用抗生素中四环素和哌拉西林耐药率较高,耐药率为 61.11%。对阿米卡星、哌拉西林-他唑巴坦和碳青霉烯类抗生素美罗培南和亚胺培南耐药率低。肺炎克雷伯菌对哌拉西林和四环素耐药率较高,耐药率为 61.54%和 53.85%。肺炎克雷伯菌未对阿米卡星、哌拉西林-他唑巴坦、美罗培南和亚胺培南未产生耐药性(表 2)。

3 耐药基因检出情况

本次研究中共计检出 8 株产 ESBLs 大肠埃希菌菌株,检出率 44.44%(8/18)。对产 ESBLs 大肠埃希菌菌株进行 PCR 扩增,8 株产 ESBLs 大肠埃希菌中 CTX-M 型引物扩增阳性为 6 株,其中 CTX-M-1 引物扩增阳性为 4 株,CTX-M-8 引物扩增阳性为 3 株,未检出其他 CTX-M 型阳性菌株;TEM 型引物扩增出阳性 3 株;OXA 型引物扩增阳性为 1 株,属 OXA-1 型。

4 单因素分析

老年卒中患者发生医院感染的单因素分析结果显示,年龄、住院时间、高血脂、糖尿病、低蛋白血症、侵入性操作、意识障碍和吞咽障碍是老年脑卒中患者医院感染的独立因素($P < 0.05$)(表 3)。

表 2 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对临床常用抗生素耐药情况
Table 2 The resistance of *E. coli* and *K. pneumoniae* to commonly used antibiotics

抗生素 Antibiotic	大肠埃希菌($n=18$) <i>E. coli</i>		肺炎克雷伯菌($n=13$) <i>K. pneumoniae</i>	
	耐药数量 Number of Drug Resistance	耐药率(%) Drug resistance Rate	耐药数量 Number of Drug resistance	耐药率(%) Drug resistance Rate
四环素	11	61.11	7	53.85
头孢他啶	8	44.44	5	38.46
头孢吡肟	6	33.33	5	38.46
诺氟沙星	9	50.00	6	46.15
环丙沙星	9	50.00	5	38.46
庆大霉素	7	38.89	4	30.77
阿米卡星	2	11.11	0	0.00
哌拉西林	11	61.11	8	61.54
哌拉西林-他唑巴坦	1	5.56	0	0.00
美罗培南	1	5.56	0	0.00
亚胺培南	1	5.56	0	0.00

表 3 老年卒中患者发生医院感染的单因素分析结果
Table 3 Univariate analysis of nosocomial infection in elderly stroke patients

因素 Factors	例数 Cases	感染例数 Infection cases		感染率(%) Infection rates		χ^2	P
		感染例数 Infection cases	感染率(%) Infection rates	χ^2	P		
性别	男	290	38	13.10	0.0776	0.7805	
	女	220	27	12.27			
年龄(岁)	<70	176	15	8.52	4.3084	0.0379	
	≥70	334	50	14.97			
住院时间(d)	<14	362	21	5.80	54.0882	0.0000	
	≥14	148	44	29.73			
卒中类型	脑出血	273	35	12.82	0.0030	0.9563	
	脑梗死	237	30	12.66			
高血压	是	392	51	13.01	0.1071	0.7435	
	否	118	14	11.86			
高血脂	是	377	56	14.85	5.7821	0.0162	
	否	133	9	6.77			
糖尿病	是	262	41	15.65	4.0851	0.0433	
	否	248	24	9.68			
低蛋白血症	是	125	26	20.80	9.6607	0.0019	
	否	385	39	10.13			
侵入性操作	是	182	32	17.58	5.9545	0.0147	
	否	328	33	10.06			
吸烟	是	251	35	13.94	0.6391	0.4241	
	否	259	30	11.58			
饮酒	是	236	31	13.14	0.0602	0.8061	
	否	274	34	12.41			
意识障碍	是	126	26	20.63	9.3672	0.0022	
	否	384	39	10.16			
吞咽障碍	是	185	33	17.84	6.7706	0.0093	
	否	325	32	9.85			

讨论

医院感染是老年卒中患者常见并发症。临床诊治过程中,老年卒中患者由于多方面因素会发生医院感染。沈和平等^[7]对嘉兴学院附属第二医院神经内科收

治的 1 406 例脑卒中患者研究显示医院感染率为 20.2%，感染部位以肺部为主，病原菌分布以革兰阴性菌为主。本次研究中 510 例患者中有 65 例发生医院感染，医院感染发生率为 12.75%。肺部感染是老年卒中患者医院感染的常见类型，并发肺部感染影响着患者的预后，甚至威胁着患者生命。李晖等对患者 325 例中 80 例患者发生肺部感染，感染率为 24.62%^[8]。本次研究中痰液分离出 34 株病原菌占病原菌总数的 52.31%。大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌是本次研究中的主要致病菌。

大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌是医院感染的常见病原菌，由质粒介导的产 ESBLs 菌株是常见的耐药菌。对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药情况进一步研究显示大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对四环素和哌拉西林耐药率较高，对阿米卡星、哌拉西林-他唑巴坦、美罗培南和亚胺培南耐药率低，这与杨静等^[9]对大肠埃希菌 336 株的耐药情况相似。提示酶抑制剂复合药物和碳青霉烯类抗生素对大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌具有良好的抑菌作用。世界各地均有产 ESBLs 大肠埃希菌报道，不同地区和不同时间的产 ESBLs 大肠埃希菌在的基因型和检出率报道具有一定差异性。Guzman-Blanco 等^[10]对拉丁美洲的一份研究显示产 ESBLs 大肠埃希菌检出率 2004 年至 2010 年呈上升趋势，在 2010 年检出率为 28%。张新等^[11]对北京地区 2014 年-2020 年感染性腹泻中致泻性大肠埃希菌的研究中 ESBLs 菌株检出率为 22.82%；陈飞燕等^[12]对昆明地区 2017 年至 2019 年血流感染大肠埃希菌的研究中 ESBLs 菌株检出率为 64.5%。本次研究中检出 8 株产 ESBLs 大肠埃希菌菌株，检出率 44.44%。ESBLs 菌株是在抗生素选择压力下产生，在广谱 β -内酰胺酶链上 1-4 氨基酸位点的改变，并由质粒介导可在同类细菌或不同类细菌并引发传播，对头孢类和青霉素类抗生素具有良好的耐受性，ESBLs 菌株还可以同时携带多种耐药基因如氨基糖苷类和喹诺酮类^[13]。

由质粒介导的 ESBLs 分为 TEM 型、SHV 型、CTX-M 型和 OXA 型等，不同地区具有一定差异性。TEM 型在美国、英国和法国曾一度流行，而德国和韩国则一度流行 SHV 型^[14]。在国内研究中各个亚型具有检出，其中 CTX-M 型较多^[15]。CTX-M 型 β -内酰胺酶能够水解青霉素、第一代、第二代头孢以及第三代的头孢噻肟、头孢曲松等，但是阿米卡星以及碳青霉烯类抗生素对产 ESBLs 菌株具有良好的抑菌作用。但是选用阿米卡星时需要考虑肾毒性，由于一部分菌株对碳青霉烯类抗生素天然耐药，长时间使用碳青霉烯类抗生素则会引起嗜麦芽假单胞菌及真菌等感染，从

而导致菌群失调。因而治疗时，尽量进行药敏试验后，根据药敏结果选择合适的治疗药物。

对老年卒中患者年龄、住院时间、高血脂、糖尿病、侵入性操作、意识障碍和吞咽障碍都影响着老年患者康复。老年人随着年龄增加器官功能衰退，抵抗能力减弱，脑卒中发病后机体免疫功能下降，容易发生并发症。若感染早期得不到发现和及时治疗，容易导致病情加重。意识障碍患者常出现自主神经功能紊乱，患者咳嗽、吞咽功能均减弱。多数研究认为意识障碍和吞咽障碍是患者医院感染的高危因素^[7]。高血糖会降低患者中性粒细胞的杀菌能力，同时高血糖也会有利于细菌的繁殖。

【参考文献】

- [1] Chin YY, Sakinah H, Aryati A, et al. Prevalence, risk factors and secondary prevention of stroke recurrence in eight countries from south, east and southeast Asia: a scoping review[J]. Med J Malaysia, 2018, 73(2): 90-99.
- [2] Friedant AJ, Gouse BM, Boehme AK, et al. A simple prediction score for developing a hospital acquired infection after acute ischemic stroke[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2015, 24(3): 680-686.
- [3] 陶红, 江枫林, 朱珍, 等. 老年脑卒中患者医院感染病原学及危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(19): 4409-4411, 4426.
- [4] 刘春红, 赵惠荣, 郭晶. 老年急性脑卒中肺部医院感染患者痰标本分离病原菌及耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(7): 672-674.
- [5] 李皆发. 老年脑卒中住院患者院内感染的病原学分析[J]. 深圳中西医结合杂志, 2016, 26(17): 173-174.
- [6] 杨静. 致泌尿道感染的菌群分布、大肠埃希菌耐药性分析及其基因型初步研究[D]. 安徽医科大学, 2009.
- [7] 沈和平, 张晓玲, 官俏兵, 等. 老年脑卒中患者医院感染的临床特征与影响因素分析[J]. 浙江医学, 2016, 38(11): 836-838.
- [8] 李晖, 王晓平, 吉晓春, 等. 老年脑卒中患者并发肺部感染病原学及危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(1): 88-91.
- [9] 杨静. 致泌尿道感染的菌群分布、大肠埃希菌耐药性分析及其基因型初步研究[D]. 安徽医科大学, 2009.
- [10] Guzman-Blanco M, Labarca JA, Villegas MV, et al. Extended spectrum β -lactamase producers among nosocomial *Enterobacteriaceae* in Latin America[J]. Braz J Infect Dis, 2014, 18(4): 421-433.
- [11] 张新, 田祎, 吕冰, 等. 北京地区 2014 年-2020 年感染性腹泻中致泻性大肠埃希菌流行特征及产超广谱 β -内酰胺酶耐药表型监测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(22): 2768-2772.
- [12] 陈飞燕, 宋贵波, 牛敏, 等. 296 例成人大肠埃希菌血流感染的危险因素及预后分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(2): 141-147.
- [13] Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity[J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8(1): 26-38.
- [14] De Champs C, Sirot D, Chanal C, et al. A 1998 survey of extended spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* in France. The French Study Group[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(10): 3177-3179.
- [15] 陆喜颜, 邓文喻. 83 株产 ESBLs 大肠埃希菌 β -内酰胺酶耐药基因检测与药敏结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(5): 1189-1191.

【收稿日期】 2022-01-08 【修回日期】 2022-03-15