

儿童呼吸道耐药流感嗜血杆菌 基因型鉴定及耐药分析 对抗菌药物治疗选择的意义

李维 莫俊俏

【摘要】目的 探讨儿童呼吸道耐药流感嗜血杆菌(HI)基因型鉴定及耐药分析对抗菌药物治疗选择的意义。**方法** 选择2018年3月至2022年3月海南省第五人民医院收治的92例呼吸道HI感染患儿为研究对象。收集菌株的血清学分型、生物学分型、基因分型(TEM-1和ROB-1)、抗菌药物敏感性、 β -内酰胺酶表达;应用多因素Logistic回归分析儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的影响因素;构建儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的列线图模型;分别通过受试者工作特征(ROC)曲线、校准曲线和临床决策曲线进行模型区分度、准确性和有效性评价。**结果** 所分离的92株HI生物学分型可分为I、II、III、IV、V、VI、VII和VIII型8个生物型,其中II型[35.87% (33/92)]和III型[28.26% (26/92)]占比最多;血清学分型中HIa占比最多[28.26% (26/92)];TEM-1基因检出率为57.61% (53/92), ROB-1基因检出率为21.74% (20/92)。将8个生物型HI进行药敏试验分析显示,V、VI、VII和VIII型HI均未检出抗菌药物耐药,IV型HI对氨苄西林的耐药率较高[57.14% (4/7)];II型HI对头孢呋辛耐药率较高[39.39% (13/33)]。92株HI中 β -内酰胺酶阳性株和阴性株分别为37株(40.22%)和55株(59.78%); β -内酰胺酶阳性株对头孢吡肟和氨苄西林的耐药率[33 (89.19%) 和37 (100.00%)]显著高于 β -内酰胺酶阴性株[4 (6.35%) 和7 (11.11%)] ,差异有统计学意义($\chi^2 = 68.628, 74.747, P < 0.001$)。多因素Logistic回归分析显示,连续使用抗菌药物 ≥ 5 d ($OR = 163.464, 95\%CI: 8.420 \sim 3\ 173.439, P < 0.001$)、连续用药 ≥ 2 次 ($OR = 19.890, 95\%CI: 2.300 \sim 171.977, P = 0.007$)、联合用药 ≥ 2 种 ($OR = 32.468, 95\%CI: 2.792 \sim 377.616, P = 0.005$)和频繁更换用药 ≥ 2 次 ($OR = 30.769, 95\%CI: 3.358 \sim 281.921, P = 0.002$)均为影响儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的独立危险因素。基于危险因素构建列线图模型预测儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的区分度较高,准确性和有效性较好。**结论** 临床上应加强呼吸道HI的分离鉴定、耐药性监测;正确分析HI的耐药机制,合理使用、避免滥用抗菌药物。

【关键词】 呼吸道; 儿童; 耐药流感嗜血杆菌; 基因型鉴定; 耐药分析; 抗菌药物

Genotype identification and drug resistance analysis of respiratory tract drug-resistant *Haemophilus influenzae* in children for the choice of antibiotic treatment Li Wei, Mo Junqiao. Department of Pharmacy, The Fifth People's Hospital of Hainan Province, Haikou 570100, China
Corresponding author: Mo Junqiao, Email: gkevjid@httpnet-163.com.cn

【Abstract】Objective To investigate the significance of genotype identification and drug resistance analysis of children's respiratory drug-resistant *Haemophilus influenzae* (HI) for antibiotic treatment. **Methods** Total of 92 children with respiratory HI infection admitted to the Fifth People's Hospital of Hainan Province from March 2018 to March 2022 were selected. Serotype, biotype, genotyping (TEM-1 and ROB-1), antibiotic sensitivity and β -lactamase expression were collected. The influence factors of positive HI β -lactamase in children's respiratory tract were analyzed by Logistic regression analysis; A line map model of children's respiratory tract with HI β -lactamase positive was constructed. The model was evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve, calibration curve and clinical decision curve, respectively.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2023.05.005

基金项目: 2018年海南省基础与应用基础研究计划(自然科学领域)高层次人才项目(No. 20210349)

作者单位: 570100 海口市, 海南省第五人民医院药学部

通信作者: 莫俊俏, Email: gkevjid@httpnet-163.com.cn

Results The 92 strains of HI were classified into 8 biotypes, which were I, II, III, IV, V, VI, VII and VIII. Among these, types II [35.87% (33/92)] and III [28.26% (26/92)] were the most prevalent. The serological typing revealed that HIa accounted for the highest proportion [28.26% (26/92)]. The detection rates of TEM-1 and ROB-1 genes were 57.61% (53/92) and 21.74% (20/92), respectively. Sensitivity testing on the 8 biotypes of HI showed that types V, VI, VII and VIII exhibited no antibiotic resistance. Type IV HI demonstrated a relatively high resistance rate to ampicillin [57.14% (4/7)], while type II HI exhibited a higher resistance rate to cefuroxime [39.39% (13/33)]. Among the 92 strains, 37 (40.22%) were β -lactamase positive and 55 (59.78%) were negative. β -lactamase positive strains showed significantly higher resistance rates to cefpodoxime and ampicillin [33 (89.19%) and 37 (100.00%), respectively] compared to β -lactamase negative strains [4 (6.35%) and 7 (11.11%), respectively], with statistically significant differences ($\chi^2 = 68.628, 74.747$, both $P < 0.001$). Multifactor Logistics regression analysis revealed that using antibiotics continuously for ≥ 5 days ($OR = 163.464$, 95%CI: 8.420-3 173.439, $P < 0.001$), having ≥ 2 courses of continuous medication ($OR = 19.890$, 95%CI: 2.300-171.977, $P = 0.007$), combining ≥ 2 types of drugs ($OR = 32.468$, 95%CI: 2.792-377.616, $P = 0.005$) and frequently changing medication ≥ 2 times ($OR = 30.769$, 95%CI: 3.358-281.921, $P = 0.002$) were independent risk factors for β -lactamase-positive HI in children's respiratory tracts. Constructing a column chart model based on these risk factors exhibited high discrimination, accuracy and effectiveness in predicting β -lactamase-positive HI in children's respiratory tracts without altering the structure. **Conclusions** Clinically, the separation and identification of respiratory HI and the monitoring of drug resistance should be strengthened; the resistance mechanism of HI should be analyzed correctly, the antimicrobial drugs should be rationally used.

【Key words】 Respiratory tract; Children; *Haemophilus influenzae*; Genotyping of drug resistance; Analysis of drug resistance; Antibiotic drug

呼吸道感染是儿童常见疾病之一, 流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*, HI) 感染常引起呼吸道感染、侵入血液引发败血症及脑膜炎等^[1-2]。HI为苛养菌, 培养难度较高, 常规培养难以培养出。故临床常根据经验进行儿童呼吸道感染诊治, 很少进行细菌培养及药敏试验分析。近年来, 抗菌药物广泛应用于临床, 致使HI耐药增加。HI耐药通常是因细菌分泌的 β -内酰胺酶损伤 β -内酰胺类抗菌药物的化学结构, 从而使抗菌药物失活^[3]。氨苄西林价格低廉、不良反应小, 故曾经被用作治疗HI的首选药物^[4], 但因临床长时间大量使用致使氨苄西林耐药率迅速升高, 无法再作为经验用药, 导致儿童呼吸道感染治疗难度增加, 故需要临床及时检测HI基因型及耐药性。因此, 本研究探讨儿童呼吸道HI基因型鉴定、耐药分析并分析影响儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的危险因素, 旨为儿科医生规范抗菌药物使用提供新的思路 and 方向, 进一步推进基于个体医学的精准医疗, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选择2018年3月至2022年3月海南省第五人民医院收治的92例呼吸道HI感染患儿为研究对象。

纳入标准: ①临床确诊为呼吸道感染, 临床表现有发热、咯痰、咳嗽以及肺部湿啰音等; ②近期末使用抗菌药物; ③近期末使用免疫抑制剂。排除标准: ①同时合并其他病毒感染; ②其他病原菌所致上呼吸道感染; ③伴随免疫功能缺陷性疾病; ④不能获得完整病历资料。

本研究获得海南省第五人民医院医学伦理委员会审核批准(审批号: LPU238275M-IO), 所有样品采集及资料调查均取得入组患者以及家属均知情同意。

二、标本采集与鉴定分型

入院24 h内经鼻腔使用一次性导管吸取1~2 ml鼻咽分泌物, 使用2 ml无菌生理盐水冲洗导管后送实验室检查。取1 ml痰液并添加痰消化液75 μ l, 35 $^{\circ}$ C于孵箱内孵育0.5 h, 通过灭菌接种环将痰液取出, 接种于包含万古霉素的哥伦比亚血平板、巧克力平板, 在5% CO₂、37 $^{\circ}$ C孵育18~24 h。后挑选出透明、无色、湿润的小菌落, 使用ATCC25923 (金黄色葡萄球菌) 于营养琼脂平皿 (郑州博赛生物技术) 及血琼脂平皿 (广州迪景微生物科技) 中进行卫星实验, 能在血琼脂平皿生长但不能在营养琼脂平皿生长的初步认为是HI。通过10400 APINH (法国梅里埃) 奈瑟球菌和嗜血菌系统进一步鉴定, 使用梅里埃 β -内酰胺酶快速检测试剂盒进行

β-内酰胺酶检测。

三、药敏试验

在HI专用药敏培养基[(*Hemophilus* test medium, HTM), 购自美国OXOD公司]上涂抹0.5麦氏单位HI菌悬液,黏贴抗菌药物纸片,于35~37℃、5% CO₂条件下培养18~24 h后对抑菌圈直径进行测量并分析结果。抗菌药物纸片(北京天坛药物有限公司)包括头孢呋辛(30 μg/片)、氨苄西林(10 μg/片)、头孢曲松(30 μg/片)、头孢他定(30 μg/片)、美诺培南(10 μg/片)、头孢吡肟(30 μg/片)、环丙沙星(5 μg/片)、氨曲南(30 μg/片)、亚胺培南(10 μg/片)、左氧沙星(5 μg/片)、阿齐霉素(15 μg/片)和氨苄西林/舒巴坦(10 μg/片)。

四、耐药基因检测

按照药敏试验结果检测β-内酰胺酶类抗菌药物耐药基因,使用NCBI数据库中耐药基因ROB-1、TEM-1序列合成引物^[5],引物序列为:TEM-1上游引物5'-ATCAGTTGGGTGCACGAGTG-3',下游引物5'-CGCTCGTCGTTTGGTATGG-3';ROB-1上游引物5'-ACCCATACCAATCGGCTAGA-3',下游引物5'-TGGCGTCTTCGGTAAATTGC-3'。使用细菌基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技)进行HI DNA提取。使用TaKaRa Ex Taq试剂盒(天宝生物公司)进行耐药基因PCR检测,在98℃、10 s,55℃、30 s,72℃、1 min条件下进行反应。将已知产TEM和ROB基因的大肠埃希菌作为阳性对照;以无菌去离子水为阴性对照。

五、菌株的生物学与血清学分型

采用玻片凝集法取10 μl HI悬液,加入等量a~f各型特异性抗血清,在玻片中混匀,1 min内出现肉眼可见凝集则判断为阳性,即可分型株,不凝集则为不可分型株(NTHI)。

收集菌株的生物学分型(I型、II型、III型、IV型、V型、VI型、VII型和VIII型)、血清学分型(HIa、HIb、HIc、HIId、HIIe、HIIf和NTHI)、β-内酰胺酶基因分型(TEM-1和ROB-1)、抗菌药物敏感性(氨苄西林、头孢呋辛、头孢曲松、头孢他定、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、美诺培南、环丙沙星、左氧氟沙星、阿奇霉素、氨苄西林/舒巴坦)以及β-内酰胺酶表达。

六、统计学处理

应用SPSS 22.0软件对数据进行统计学分析,计数资料(HI生物学分型、HI血清学分型、TEM-1、

ROB-1、8种生物型HI对各种抗菌药物的敏感性、β-内酰胺酶检出率)以株数(%)表示,组间比较采用Pearson χ^2 检验。多因素Logistic回归分析影响儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性的危险因素。回归分析所筛选因素用R软件构建列线图预测模型并对构建的模型通过Bootstrap法重抽样1 000次进行验证,验证方法包括受试者工作特征(receiver operating characteristics, ROC)曲线和临床决策曲线和校准曲线。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

一、入组患儿呼吸道HI及β-内酰胺酶分型

入组患儿菌呼吸道92株HI的生物学分型可分为I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII型8个生物型,其中II型和III型最多,分别为35.87%(33/92)和28.26%(26/92);血清学分型分别为HIa、HIb、HIc、HIId、HIIe、HIIf及NTHI,其中HIa最多[28.26%(26/92)];检出TEM-1基因53株

表1 入组患儿呼吸道92株HI及β-内酰胺酶基因分型 [株(%)]

分型	株数 (%)
生物学分型	
I 型	9 (9.78)
II 型	33 (35.87)
III型	26 (28.26)
IV型	7 (7.61)
V 型	3 (3.26)
VI型	2 (2.17)
VII型	10 (10.87)
VIII型	2 (2.17)
血清学分型	
HIa	26 (28.26)
HIb	8 (8.69)
HIc	2 (2.17)
HIId	14 (15.22)
HIIe	4 (4.35)
HIIf	2 (2.17)
NTHI	36 (39.13)
β-内酰胺酶的基因分型	
TEM-1	
阳性	53 (57.61)
阴性	39 (42.39)
ROB-1	
阳性	20 (21.74)
阴性	72 (78.26)

(57.61%)，ROB-1基因20株(21.74%)。

二、不同型别HI对抗菌药物的敏感性

不同生物型HI药敏分析结果显示，V、VI、VII和VIII型HI均未检出抗菌药物耐药。IV型HI对氨苄西林耐药率较高，于该生物型中占57.14%(4/7)。II型HI对头孢呋辛耐药率较高，于该生物型中占39.39%(13/33)。II型、IV型发现部分菌株对头孢他定耐药，分别占12.12%(4/33)和14.29%(1/7)。IV型HI对氨曲南耐药菌株于该生物型中

占42.86%(3/7)，III型菌株有11.54%(3/26)检出耐药。IV型HI对阿奇霉素的耐药率较高，占该生物型菌株的57.14%(4/7)，其次为III型[34.62%(9/26)]和II型[18.18%(6/33)]，见表2。

三、β-内酰胺酶检出及耐药分析

92株HI中，β-内酰胺酶阳性株37株(40.22%)，阴性株55株(59.78%)；β-内酰胺酶阳性株对头孢吡肟和氨苄西林的耐药率显著高于β-内酰胺酶阴性株，见表3。

表2 不同型别HI对抗菌药物的敏感性[株(%)]

抗菌药物	耐药菌(92株)	I型(9株)	II型(33株)	III型(26株)	IV型(7株)
氨苄西林	33(35.87)	2(22.22)	16(48.49)	11(42.31)	4(57.14)
头孢呋辛	17(18.48)	1(11.11)	13(39.39)	2(7.69)	1(14.29)
头孢他定	5(5.43)	0(0.00)	4(12.12)	0(0.00)	1(14.29)
头孢曲松	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
头孢吡肟	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
氨曲南	6(6.52)	0(0.00)	0(0.00)	3(11.54)	3(42.86)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
美诺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
环丙沙星	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
左氧氟沙星	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
阿奇霉素	19(20.65)	0(0.00)	6(18.18)	9(34.62)	4(57.14)
氨苄西林/舒巴坦	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)

表3 β-内酰胺酶阳性和阴性菌株的耐药分析[株(%)]

抗菌药物	β-内酰胺酶阳性(37株)	β-内酰胺酶阴性(55株)	χ ² 值	P值
氨苄西林	37(100.00)	7(12.72)	67.517	<0.001
头孢呋辛	3(8.11)	3(5.45)	0.255	0.613
头孢他定	7(18.92)	4(7.27)	2.850	0.091
头孢曲松	3(8.11)	2(3.36)	0.861	0.354
头孢吡肟	33(89.19)	4(7.27)	61.735	<0.001
氨曲南	6(16.22)	3(5.45)	2.903	0.088
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	—	—
美诺培南	0(0.00)	0(0.00)	—	—
环丙沙星	4(10.81)	2(3.36)	1.868	0.172
左氧氟沙星	4(10.81)	3(3.36)	0.903	0.342
阿奇霉素	2(5.41)	1(1.19)	0.902	0.342
氨苄西林/舒巴坦	1(2.71)	0(0.00)	1.503	—

注：“—”：无相关数据

四、影响儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性的因素分析

两组患者使用三代头孢菌素、连续使用抗菌药物≥ 5 d、连续用药≥ 2次、联合用药≥ 2种和频繁更换用药≥ 2次差异均有统计学意义 (P 均< 0.001), 见表4。将上述指标纳入单因素Logistic回归分析, 结果显示使用三代头孢菌素、连续使用抗菌药物≥ 5 d、连续用药≥ 2次、联合用药≥ 2种、频繁更换用药≥ 2次均为影响儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性的危险因素, 见表5。

多因素Logistic回归分析显示, 连续使用抗菌药物≥ 5 d ($OR = 163.464$ 、 $95\%CI: 8.420 \sim 3\ 173.439$ 、 $P < 0.001$)、连续用药≥ 2次 ($OR = 19.890$ 、 $95\%CI: 2.300 \sim 171.977$ 、 $P = 0.007$)、联合用药≥ 2种 ($OR = 32.468$ 、 $95\%CI: 2.792 \sim 377.616$ 、 $P = 0.005$)、频繁更换用药≥ 2次 ($OR = 30.769$ 、 $95\%CI: 3.358 \sim 281.921$ 、 $P = 0.002$)均为影响儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性的独立危险因素, 见表6。

五、构建列线图预测模型

列线图预测模型的构建基于影响儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性的独立危险因素, 通过R软件构

建列线图预测模型, 见图1。

六、儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性列线图模型的预测效能评价

通过Bootstrap自抽样法 (将原始数据重复抽样1 000次) 内部验证列线图模型。验证前, 列线图模型一致性指数 (concordance index, C-index) 为0.872 ($95\%CI: 0.764 \sim 0.898$), ROC曲线AUC为0.865 ($95\%CI: 0.733 \sim 0.934$)。验证后列线图模型的C-index为0.806 ($95\%CI: 0.794 \sim 0.836$), ROC曲线AUC为0.843 ($95\%CI: 0.654 \sim 0.962$), 见图2。

验证前后结果提示, 该列线图模型区分度及效能较高。绘制列线图模型校准曲线评价模型准确度, 验证前, 列线图模型校准曲线拟合优度检验结果差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.543$ 、 $P = 0.362$)。验证后, 列线图模型校准曲线拟合优度检验结果差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.472$ 、 $P = 0.364$), 见图3。

验证前后结果显示模型预测概率与实际概率拟合度良好, 该列线图模型准确性较高。使用临床决策曲线评价模型的有效性, 验证前和验证后模型均具有明显的正向净收益, 具有良好的临床实用性, 见图4。

表4 β-内酰胺酶阳性和β-内酰胺酶阴性患儿抗菌药物应用 [株 (%)]

影响因素	β-内酰胺酶阳性 (37株)	β-内酰胺酶阴性 (55株)	χ^2 值	P 值
使用三代头孢菌素			15.118	< 0.001
是	26 (70.27)	16 (29.10)		
否	11 (29.73)	39 (70.90)		
连续使用抗菌药物			22.486	< 0.001
≥ 5 d	28 (75.68)	14 (25.45)		
< 5 d	9 (24.32)	41 (74.54)		
连续用药			15.685	< 0.001
≥ 2次	27 (72.97)	17 (30.91)		
< 2次	10 (27.03)	38 (69.09)		
联合用药			22.883	< 0.001
≥ 2种	30 (81.08)	17 (30.91)		
< 2种	7 (18.92)	38 (69.09)		
频繁更换用药			13.255	< 0.001
≥ 2次	25 (67.57)	16 (29.10)		
< 2次	12 (32.43)	39 (70.90)		

表5 影响HI β-内酰胺酶阳性的单因素 Logistic 回归分析

影响因素	偏回归系数	标准误	Z值	OR值	95%CI	P值
使用三代头孢菌素	1.808	0.468	3.863	6.101	2.437~15.272	< 0.001
连续使用抗菌药物	2.533	0.536	4.728	12.594	4.406~35.994	< 0.001
连续用药	1.927	0.490	3.934	6.868	2.630~17.938	< 0.001
联合用药	2.747	0.565	4.861	15.600	5.153~47.226	< 0.001
频繁更换药物	2.785	0.541	5.145	16.208	5.609~46.831	< 0.001

表6 影响HI β-内酰胺酶阳性的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	偏回归系数	标准误	Z值	OR值	95%CI	P值
使用三代头孢菌素	1.857	0.986	1.882	6.404	0.926~44.265	0.060
连续使用抗菌药物	5.097	1.513	3.368	163.464	8.420~3 173.439	< 0.001
连续用药	2.990	1.101	2.717	19.890	2.300~171.977	0.007
联合用药	3.480	1.252	2.780	32.468	2.792~377.616	0.005
频繁更换药物	3.427	1.130	3.032	30.769	3.358~281.921	0.002

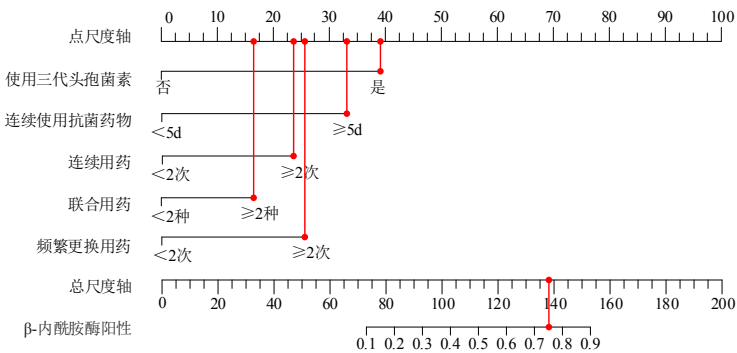


图1 儿童呼吸道HI β-内酰胺酶阳性的列线图预测模型

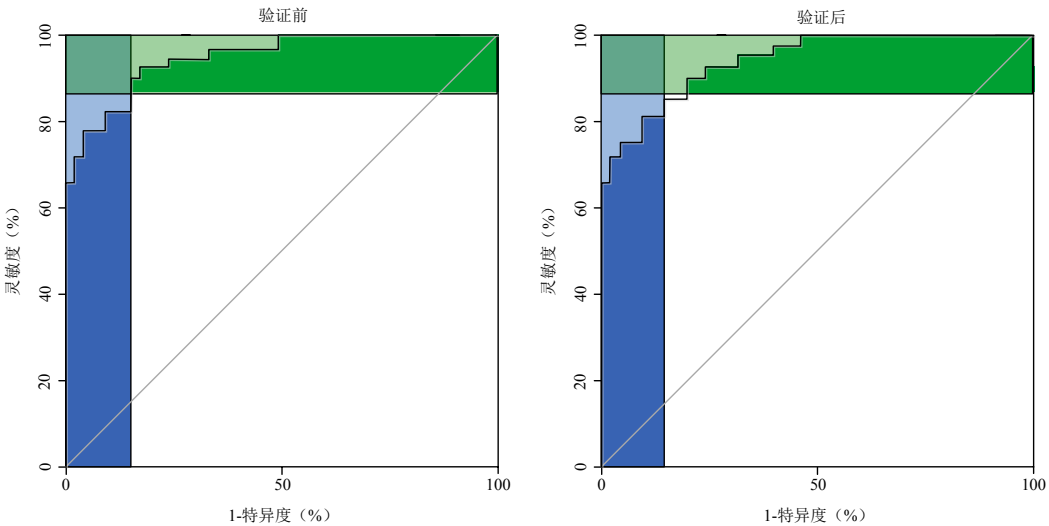


图2 列线图模型的区分度评价

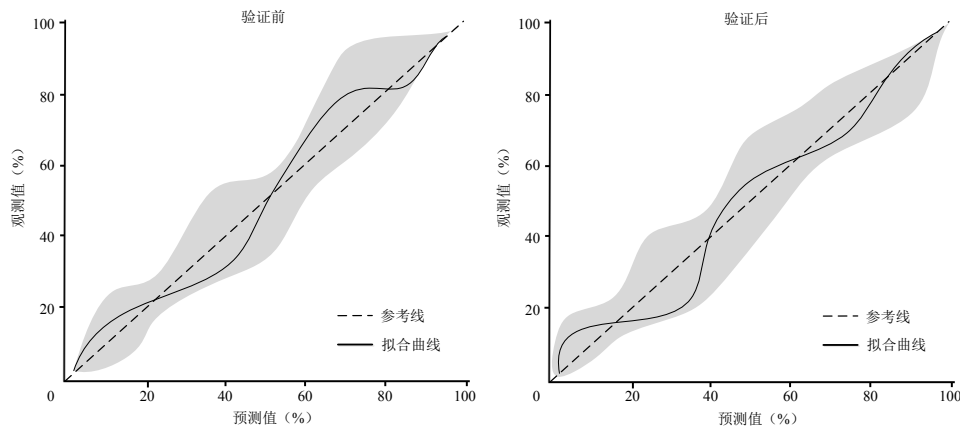


图3 列线图模型的校准度评价

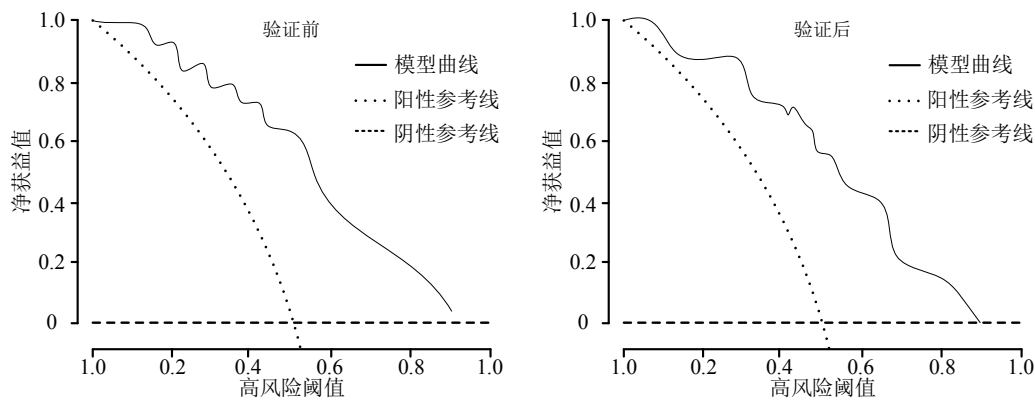


图4 列线图预测模型的有效性评价

讨 论

儿童呼吸道感染是常见的感染性疾病之一^[6-7], HI为现阶段儿童呼吸道感染的主要病因^[8-9]。嗜血杆菌为条件致病菌^[10-11], 存在于人体呼吸道中, 机体抵抗力降低时引发呼吸道感染。HI为致病性最强的嗜血杆菌, 通常经呼吸道传播^[12]。由于HI培养条件较为严苛^[13], 故临床很少检测HI, 同时由于近年来抗菌类药物大量使用, HI耐药发生率剧增, 导致对儿童呼吸道感染的治疗难度增加, 因此需要加强临床对HI基因型鉴定及分析耐药性, 从而合理使用抗菌药物, 有效治疗感染。

HI包含 I、II、III、IV、V、VI、VII和VIII型共8个生物型, 生物学分型可以对HI生物学特性及来源进行区分。本研究显示以 II型和III型HI最为多见, 分别占35.87%和28.26%, 与既往研究^[14]报道相似。呼吸道感染时 II型和III型HI最为常见, 提示应针对 II型及III型HI进行治疗。血清学分型为探究流行病学及致病性的基础, 本研究中血清

型以HIa型最多, 为28.26%, 与既往研究^[15]结果相似。细菌能够分泌 β -内酰胺酶水解 β -内酰胺环, 致使抗菌药物失去活性, 从而增加 β -内酰胺酶类抗菌药物耐药性^[16]。许多基因可以编码HI的 β -内酰胺酶, 最常见的TEM-1基因及少数ROB-1基因^[17-19]。本研究发现HI对氨苄西林耐药率最高, 其中以III型为主; 头孢呋辛耐药率也较高, 以II型为主; 头孢他定耐药率较低, 主要为II型和IV型; 头孢吡肟及头孢曲松均未发现耐药菌株。 β -内酰胺酶类抗菌药物中发现少量对氨曲南耐药菌株, 以IV型为主; 亚胺培南、美诺培南中未发现耐药菌株。非 β -内酰胺酶类抗菌药物中发现对阿奇霉素存在一定程度耐药, 以IV型和V型为主, 与Khan等^[20]报道一致。本研究发现 β -内酰胺酶阳性株对氨苄西林、头孢吡肟的耐药率显著高于阴性菌株, 与Karlowsky等^[21]报道一致。据Millière等报道^[22], 在产 β -内酰胺酶HI中检出率高的为氨基糖苷(3)-乙酰转移酶II[aminoglycoside(3)-acetyltransferase II, AAC(3)-II]基因。Bianco等^[23]发现促使细菌表现出多

重药耐药的原因是携带有AAC (3) -II 基因或其他氨基糖苷修饰酶基因^[23]。氨基糖苷类抗菌药物的作用机制是通过依赖电子转运进入细菌细胞,在核糖体30S亚基上结合以干扰新生链的延长,从而抑制细菌生长。HI对氨基糖苷类抗菌药物耐药是通过主动外排机制将药物泵至胞外。HI产生的氨基糖苷修饰酶可减少抗菌药物与靶位核糖体的结合,使药物失去生物活性^[24-25]。同时,HI还可改变其细胞膜的通透性,减少抗菌药物进入细胞。使抗菌药物的作用靶位改变、使结合核糖体的核蛋白氨基酸突变、改变核糖体碱基,阻止抗菌药物发挥作用。

本研究发现,儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的独立危险因素包括连续使用抗菌药物、连续用药、联合用药、频繁更换用药。可能原因是危险因素会影响抗菌药物的使用和疗效,导致细菌产生耐药性。连续使用抗菌药物 ≥ 5 d或连续使用药物 ≥ 2 次可能导致细菌逐渐适应抗菌药物环境,进而产生耐药性。联合用药 ≥ 2 种和频繁更换用药 ≥ 2 次可能导致细菌面临更多的抗菌药物压力,从而促进细菌产生抗药性。因此,在使用和选择抗菌药物时,应该遵循合理用药原则,尽量避免滥用和不必要的使用,以减少抗菌药物耐药性的风险,提高治疗成功率。本研究基于影响儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的独立危险因素,构建了儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的列线图模型及验证,发现该列线图模型区分度较好,准确性较高。但本研究仍存在局限性,研究样本量有限且患儿发病原因复杂,易造成结果偏倚,未来还需要扩大样本量进行多中心研究,进一步提升深度和广度。

综上,连续使用抗菌药物 ≥ 5 d、连续用药 ≥ 2 次、联合用药 ≥ 2 种和频繁更换用药 ≥ 2 次均为儿童呼吸道HI β -内酰胺酶阳性的独立危险因素。临床上应加强呼吸道HI的分离鉴定、耐药性监测;正确分析HI耐药机制,合理使用抗菌药物,避免抗菌药物滥用。

参 考 文 献

- [1] Yamaguchi K, Kadota M, Nishimura O, et al. Technical considerations in Hi-C scaffolding and evaluation of chromosome-scale genome assemblies[J]. Mol Ecol, 2021, 30(23):5923-5934.
- [2] Russo DO, Torres BR, Romanelli RMC, et al. *Haemophilus influenzae* serotype a as a cause of meningitis in children in Brazil[J]. Pediatr Infect Dis J, 2022, 41(2):108-111.
- [3] 王军, 孙芳, 蔡慧君, 等. 2019至2020年西安儿童医院儿童细菌感染分布和耐药监测分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022, 16(2):90-99.
- [4] Duan H, Jones AW, Hewitt T, et al. Physical separation of haplotypes in dikaryons allows benchmarking of phasing accuracy in Nanopore and HiFi assemblies with Hi-C data[J]. Genome Biol, 2022, 23(1):84-88.
- [5] Cumming AJ, Khananisho D, Harris R, et al. Antibiotic-efficient genetic cassette for the TEM-1 β -lactamase that improves plasmid performance[J]. ACS Synth Biol, 2022, 11(1):241-253.
- [6] Rai E, Alaraimi R, Al Aamri I. Pediatric lower respiratory tract infection: Considerations for the anesthesiologist[J]. Paediatr Anaesth, 2022, 32(2):181-190.
- [7] Ogal M, Johnston SL, Klein P, et al. Echinacea reduces antibiotic usage in children through respiratory tract infection prevention: a randomized, blinded, controlled clinical trial[J]. Eur J Med Res, 2021, 26(1):33-39.
- [8] Smith DK, Kuckel DP, Recidoro AM. Community-acquired pneumonia in children: rapid evidence review[J]. Am Fam Physician, 2021, 104(6):618-625.
- [9] Trammer-Stranders GA. Childhood community-acquired pneumonia: A review of etiology- and antimicrobial treatment studies[J]. Paediatr Respir Rev, 2018, 26(1):41-48.
- [10] Berinstein JA, Steiner CA, Roth KJ, et al. Association of household pets, common dietary factors, and lifestyle factors with *Clostridium difficile* infection[J]. Dig Dis Sci, 2021, 66(1):206-212.
- [11] Jouneau S, Ménard C, Lederlin M. Pulmonary alveolar proteinosis[J]. Respirology, 2020, 25(8):816-826.
- [12] Yamada S, Seyama S, Wajima T, et al. β -Lactamase-non-producing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* is acquiring multidrug resistance[J]. J Infect Public Health, 2020, 13(4):497-501.
- [13] van de Beek D, Brouwer MC, Koedel U, et al. Community-acquired bacterial meningitis[J]. Lancet, 2021, 398(10306):1171-1183.
- [14] Romandini M, Lima C, Pedrinaci I, et al. Prevalence and risk/protective indicators of peri-implant diseases: A university-representative cross-sectional study[J]. Clin Oral Implants Res, 2021, 32(1):112-122.
- [15] Probst V, Shahoud F, Osborne AF, et al. Report of *Haemophilus Influenzae* serotype a intracranial infections in older children[J]. Pediatr Investig, 2023, 7(2):132-136.
- [16] Hofer U. Novel metallo- β -lactamase inhibitors[J]. Nat Rev Microbiol, 2022, 20(3):125-130.
- [17] Ajala O, Odetoyin B, Owujuyigbe T, et al. Detection of tem-1 and class-1 integrons in multidrug resistant uropathogens from HIV patients with asymptomatic bacteriuria in a Tertiary Care Hospital, South West Nigeria[J]. Afr Health Sci, 2022, 22(1):475-485.
- [18] Jiménez JM, Morales R, Molina A, et al. Effect of the rob(1;29) translocation on the fertility of beef cattle reared under extensive conditions: A 30-year retrospective study[J]. Reprod Domest Anim, 2022, 57(4):349-356.
- [19] 李管明, 张霁润, 王启闯, 等. 新生儿重症监护室多重耐药菌感染临床分析及高危因素[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022, 16(3):185-191.
- [20] Khan A, Erickson SG, Pettaway C, et al. Evaluation of susceptibility

- testing methods for aztreonam and ceftazidime-avibactam combination therapy on extensively drug-resistant Gram-negative organisms[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65(11):e0084621.
- [21] Karlowsky JA, Wise MG, Hackel MA, et al. Cefibuten-ledaborbactam activity against multidrug-resistant and extended-spectrum- β -lactamase-positive clinical isolates of Enterobacterales from a 2018-2020 global surveillance collection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2022, 66(11):e0093422.
- [22] Millière L, Duployez C, Loïez C, et al. Evaluation of the new BL-RED (β -lactamase rapid electrochemical detection) test in positive blood culture broths[J]. *New Microbiol*, 2021, 44(3):161-163.
- [23] Bianco G, Boattini M, Iannaccone M, et al. Direct ethylenediaminetetra-acetic acid-modified β -lactam inactivation method: an improved method to identify serine-carbapenemase-, metallo- β -lactamase-, and extended-spectrum- β -lactamase-producing enterobacterales directly from positive blood culture[J]. *Microb Drug Resist*, 2021, 27(6):740-746.
- [24] Ruedas-López A, Alonso-García I, Lasarte-Monterrubio C, et al. Selection of AmpC β -lactamase variants and metallo- β -lactamases leading to ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam resistance during treatment of MDR/XDR *Pseudomonas aeruginosa* infections[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2022, 66(2):e0206721.
- [25] Shaeer KM, Zmarlicka MT, Chahine EB, et al. Plazomicin: A next-generation aminoglycoside[J]. *Pharmacotherapy*, 2019, 39(1):77-93.
- (收稿日期: 2023-04-18)
(本文编辑: 孙荣华)

李维, 莫俊俏. 儿童呼吸道耐药流感嗜血杆菌基因型鉴定及耐药分析对抗菌药物治疗选择的意义 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2023, 17(5):315-323.