

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.22.018

青海省碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌的分子流行病学分析*

何轶群, 扎拉加, 李娟, 董娟, 卢天龙, 黄文辉[△]

青海大学附属医院检验科, 青海西宁 810001

摘要:目的 通过研究 2022 年 7 月至 2023 年 5 月青海省 5 家医院分离的碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌 (CRE) 的分布、基因型及耐药性, 为临床 CRE 感染的治疗、院内感染防控, 以及抗菌药物制订和评价提供数据支持。**方法** 采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪进行细菌鉴定, 采用 VITEK II compact 进行细菌药敏试验, 采用碳青霉烯酶抑制剂增强试验进行产酶表型鉴定, 采用聚合酶链反应检测碳青霉烯酶基因 (blaKPC、blaNDM、blaIMP、blaVIM 和 blaOXA-48)。对分离出的优势菌株进行多位点序列分型 (MLST) 和同源性分析。**结果** 共分离出 59 株 CRE, 其中 50 株分离自临床标本, 9 株分离自患者所处的环境; 59 株 CRE 中阴沟肠杆菌 23 株, 肺炎克雷伯菌 22 株, 大肠埃希菌 7 株, 产酸克雷伯菌 5 株, 弗氏柠檬酸杆菌和布氏柠檬酸杆菌各 1 株。CRE 主要分离于重症监护病房、烧伤科、肝胆科。标本来源主要为伤口分泌物、痰液、血液。59 株 CRE 对酶抑制剂复合制剂、头孢菌素类、氨基糖苷类及碳青霉烯类等抗菌药物均具有较高的耐药率 (87.5%~100.0%), 对阿米卡星和替加环素的耐药率相对较低, 分别为 30.4% 和 15.5%。最常见的碳青霉烯酶基因型是 blaNDM (59.32%, 35/59), 其次是 blaKPC (32.20%, 19/59), 肺炎克雷伯菌中 blaKPC-2 检出率最高 (72.73%, 16/22), 阴沟肠杆菌中 blaNDM-1 检出率最高 (69.57%, 16/23)。MLST 结果显示, 肺炎克雷伯菌 ST 分型主要为 ST11 型 (68.18%, 15/22), 阴沟肠杆菌 ST 分型主要为 ST97 型 (26.09%, 6/23), 9 株从患者所处环境中分离出的 CRE 与临床菌株的 ST 型一致。**结论** 青海省 5 家医院分离的 CRE 耐药率普遍较高, 主要以阴沟肠杆菌和肺炎克雷伯菌为主, 碳青霉烯酶基因以 blaNDM 和 blaKPC 为主, 耐药问题严重, 临床应加强 CRE 的筛查及控制, 预防其在院内传播。

关键词: 碳青霉烯耐药肠杆菌目细菌; 耐药性; 基因型; 碳青霉烯酶; 阴沟肠杆菌; 肺炎克雷伯菌

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)22-3352-07

Molecular epidemiological analysis of carbapenem-resistant Enterobacterales in Qinghai Province*

HE Yiqun, ZHA Lajia, LI Juan, DONG Juan, LU Tianlong, HUANG Wenhui[△]

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Qinghai University,
Xining, Qinghai 810001, China

Abstract: Objective To study the distribution, genotype and drug resistance of carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) isolated from five hospitals in Qinghai province from July 2022 to May 2023, so as to provide data support for the treatment of clinical CRE infection, the prevention and control of nosocomial infection, as well as the development and evaluation of antibiotics. **Methods** Matrix-coenzyme laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry was used for bacterial identification, and VITEK II compact was used for bacterial susceptibility test. Carbapenemase-producing phenotype was identified by carbapenemase inhibitor enhancement test. Carbapenemase genes (blaKPC, blaNDM, blaIMP, blaVIM and blaOXA-48) were detected by polymerase chain reaction. Multilocus sequence typing (MLST) and homology analysis were performed on the isolated dominant strains. **Results** A total of 59 CRE strains were isolated, of which 50 strains were isolated from clinical specimens and 9 strains were isolated from patients' environment. Among the 59 CRE strains, there were 23 strains of *Enterobacter cloacae*, 22 strains of *Klebsiella pneumoniae*, 7 strains of *Escherichia coli*, 5 strains of *Klebsiella oxytoca*, 1 strain of *Citrobacter freundii* and 1 strain of *Citrobacter brucei*. CRE were mainly isolated from intensive care units, departments of burn and department of hepatobiliary.

* 基金项目: 青海大学附属医院中青年科研基金项目 (ASRF-2021-YB-18); 科技基础资源调查专项 (2019FY101208)。

作者简介: 何轶群, 男, 主管技师, 主要从事细菌耐药机制及分子流行病学研究。 [△] 通信作者, E-mail: 344753272@qq.com。

The main sources of specimens were wound secretion, sputum and blood. The 59 CRE strains had high resistance rates to enzyme inhibitor compound, cephalosporins, aztreonam and carbapenems (87.5%–100.0%), and relatively low resistance rates to amikacin and tigecycline, which were 30.4% and 15.5% respectively. The most common carbapenemase genotype was bla_{NDM} (59.32%, 35/59), followed by bla_{KPC} (32.20%, 19/59). The detection rate of bla_{KPC-2} was the highest in *Klebsiella pneumoniae* (72.73%, 16/22), and bla_{NDM-1} was the highest in *Enterobacter cloacae* (69.57%, 16/23). The results of MLST showed that the ST type of *Klebsiella pneumoniae* was mainly ST11 (68.18%, 15/22), and the ST type of *Enterobacter cloacae* was mainly ST97 (26.09%, 6/23). The 9 CRE strains isolated from the patient's environment were consistent with the ST type of clinical strains. **Conclusion** The drug resistance rate of CRE isolated from five hospitals in Qinghai Province is generally high, *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* are the main types, bla_{NDM} and bla_{KPC} are the main carbapenemase genes, and the drug resistance problem is serious. Clinical screening and control of CRE should be strengthened to prevent its nosocomial transmission.

Key words: carbapenem-resistant Enterobacterales; drug resistance; genotype; carbapenemase; *Enterobacter cloacae*; *Klebsiella pneumoniae*

近年来,碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌(CRE)频繁在临床出现,导致临床对其治疗越来越困难。有研究发现,CRE已成为住院患者发生死亡的主要威胁,已成为严重的全球公共卫生安全问题^[1-2]。美国疾病预防控制中心数据显示,2011年CRE对碳青霉烯类药物的耐药率仅为1.2%,2021年已上升至4.2%^[3-4]。全国细菌监测网的数据显示,2014–2019年我国肺炎克雷伯菌对亚胺培南耐药率从4.8%上升至10.5%^[5]。GUDUCUOGLU等^[6]对重症监护病房(ICU)8例患者分离的9株CRE的研究结果显示,其中5例患者在平均12d内死于感染,病死率高达62.5%。国内有学者研究发现,CRE引起的血流感染病死率已超过40%^[7]。已有研究表明,CRE引起的感染给临床治疗和医院感染控制带来巨大挑战^[8]。本研究通过收集青海省5家医院临床标本及患者所处环境中的CRE,分析其药敏情况、耐药基因、产酶类型及同源性,为青海省CRE监测工作提供数据支持,为提高青海省CRE导致的感染性疾病的治愈率,以及指导医院感染控制工作和防止院内CRE暴发提供实验室依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 根据美国疾病预防控制中心关于CRE的判断标准^[9],收集2022年7月至2023年5月青海省5家医院临床标本及患者所处环境中分离的59株CRE为研究对象。

1.2 仪器与试剂 细菌鉴定所需试剂购于美国sigma公司和德国Bruker Daltonics公司,聚合酶链反应(PCR)扩增所需全部试剂购于生工生物工程(上海)股份有限公司。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪(德国Bruker Daltonics公司)、Quant Studio 5荧光定量PCR仪(美国赛默飞世尔科技公司)、全自

动微生物鉴定和药敏VITEK II compact(法国生物梅里埃公司)、凝胶成像仪(美国Bio-rad公司)、电泳仪(北京六一生物科技有限公司)。

1.3 菌株鉴定及药敏试验 将待测菌株用血平板传代后置于35℃培养18~24h,采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪进行鉴定,采用微量肉汤法进行药敏试验。替加环素的药敏折点参考美国食品药品监督管理局推荐标准,其他药敏折点参照美国临床和实验室标准协会2022年版标准,其中头孢哌酮/舒巴坦的折点采用头孢哌酮的折点。

1.4 碳青霉烯酶表型及耐药基因检测

1.4.1 碳青霉烯酶抑制剂增强试验 碳青霉烯酶抑制剂增强试验操作及结果判读参考《肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识(第二版)》中的描述进行。肺炎克雷伯菌ATCCBAA-1705和ATCCBAA-2146为质控菌株。

1.4.2 耐药基因检测 将实验菌株接种于血平板上三区划线,培养出单个菌落,37℃培养箱孵育18~24h;次日挑取数个单个菌落,装入有400μL高压无菌水的1.5mL EP管中,振荡混匀;将EP管置于沸水中高温煮沸10min,以12500r/min离心5min,吸取上清液即菌株DNA提取液于另一高压灭菌的EP管中,弃去沉渣,置于-20℃冰箱中保存备用。PCR反应体系为50μL:正、反向引物各1μL,DNA模版5μL,Taq PCR Mix预混液25μL和18μL ddH₂O。PCR反应条件为94℃预变性2min,94℃变性30s,引物序列、扩增产物大小及退火温度见表1。退火时间均为30s,72℃延伸30s,30个循环后72℃延伸10min。PCR扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,序列经BLAST比对分析,确定CRE的基因型。阳性质控菌株同1.4.1。

1.5 多位点序列分型(MLST)及同源性分析

1.5.1 MLST 分别扩增肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌的 7 对管家基因进行 MLST,管家基因扩增产物具体见表 2、3。将 PCR 扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,将测序结果进行 MLST

分析,经比对后确认肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌的 ST 型别。

1.5.2 同源性分析 采用 UPGMA 方法对阴沟肠杆菌和肺炎克雷伯菌进行同源性分析。

表 1 耐碳青霉烯酶基因引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增产物大小(bp)	退火温度(°C)
KPC	正向: TGTCAGTGTATCGCCGTC	1 010	59
	反向: CTCAGTGCTCTACAGAAAACC		
NDM	正向: ATGGAATTGCCCAATATTATGCAC	861	61
	反向: TCAGCGCAGCTTGTCGC		
OXA-48	正向: GCGTGGTTAAGGATGAACAC	438	55
	反向: CATCAAGTTCAACCCAACCG		
VIM	正向: TTATGGAGCAGCAACCGATGT	920	55
	反向: CAAAAGTCCCCTCCAACGA		
IMP	正向: TGAGCAAGTTATCTGTATTC	740	55
	反向: TTAGTTGCTTGGTTTTGATG		

表 2 肺炎克雷伯菌 MLST 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增产物大小(bp)	退火温度(°C)
rpoB	正向: GGCGAAATGGCWGAGAACCA	318	61
	反向: GAGTCTTCCAAGTTGTAACC		
gapA	正向: TGAAATATGACTCCACTCACGG	501	64
	反向: CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT		
Mdh	正向: CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT	477	61
	反向: CATCAAGTTCAACCCAACCG		
Pgi	正向: GAGAAAAACCTGCCTGTACTGCTGGC	432	64
	反向: CGCGCCACGCTTTATAGCGGTTAAT		
phoE	正向: ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	420	50
	反向: TGATCAGAAGTGGTAGGTGAT		
infB	正向: CTCGCTGCTGGACTATATTCG	450	58
	反向: CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC		
tonB	正向: CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT	414	61
	反向: ATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG		

表 3 阴沟肠杆菌 MLST 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增产物大小(bp)	退火温度(°C)
dnaA	正向: AYAACCCGCTGTTCTBTATGGCGGCAC	442	58
	反向: KGCCAGCGCCATCGCCATCTG		
fusA	正向: TCGCGTTTCGTTAACAAAATGGACCGTAT	646	62
	反向: TCGCCAGACGGCCAGAGCC		
gyrB	正向: TCGACGAAGCGCTCGCGGGTCACTGTAA	434	62
	反向: GCAGAACCGCCCGCGGAGTCCCCTTCCA		
leuS	正向: GATCARCTSCGGTKATCCTGCCGGAAG	578	62
	反向: ATAGCCGCAATTGCGGTATTGAAGGTCT		
pyrG	正向: AYCCBGAYGTBATTGCRCAYMAGGCGAT	259	58
	反向: GCRCGRATYTCVCCCTSHTCGTCCCAGC		

续表 3 阴沟肠杆菌 MLST 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增产物大小(bp)	退火温度(℃)
rplB-	正向:GTAAACCGACATCTCCGGGTCGTCGCCA	607	58
	反向:ACCTTTGGTCTGAACGCCCCACGGAGTT		
rpoB	正向:AAAAACGTATTTCGTAAGGATTTTGGTAA	545	58
	反向:CCAGCAGATCCAGGCTCAGCTCCATGTT		

1.6 统计学处理 采用 WHONET5.6 软件和 Excel2021 对实验数据进行统计分析。

2 结果

2.1 CRE 的科室及标本来源分布情况 2022 年 7 月至 2023 年 5 月从青海省 5 家医院共分离出 50 株 CRE,从患者所处环境分离出 9 株 CRE。分离的细菌中阴沟肠杆菌 23 株,检出率为 38.98%;肺炎克雷伯菌 22 株,检出率为 37.29%;大肠埃希菌 7 株,检出率为 11.86%;产酸克雷伯菌 5 株,检出率为 8.47%;弗氏柠檬酸杆菌和布氏柠檬酸杆菌各 1 株,检出率为 1.69%。CRE 科室来源依次为重症监护病房 24 株,检出率为 40.68%;烧伤科 7 株,检出率为 11.86%;肝胆科 6 株,检出率为 10.17%;骨科、肾病科和康复科均为 3 株,检出率为 5.08%;急诊外科和泌尿外科均为 2 株,检出率为 3.39%。CRE 标本来源依次为伤口分泌物 12 株,检出率为 20.34%;痰液 11 株,检出率为 18.64%;血液 9 株,检出率为 15.25%;尿液 6 株,检出率为 10.17%;腹水和灌洗液均为 5 株,检出

率为 8.47%;胆汁 2 株,检出率为 3.39%。

2.2 CRE 药敏试验结果 59 株 CRE 对阿米卡星和替加环素的耐药率相对较低,分别为 30.4%和 15.5%,对其他抗菌药物的耐药率相对较高(87.5%~100.0%)。见表 4。

2.3 碳青霉烯酶抑制剂增强试验和耐药基因检测结果 根据《肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识(第二版)》中碳青霉烯酶抑制剂增强试验判读标准,59 株 CRE 均产碳青霉烯酶,其中 A 类碳青霉烯酶 19 株(32.20%,19/59),B 类碳青霉烯酶 40 株(67.80%,40/59)。碳青霉烯酶基因包括 35 株 blaNDM(59.32%,35/59),19 株 blaKPC(32.20%,19/59),6 株 blaVIM(10.17%,6/59),5 株 blaIMP(8.47%,5/59),1 株 OXA-48(1.69%,1/59)。肺炎克雷伯菌中 blaKPC-2 检出率最高(72.73%,16/22),阴沟肠杆菌中 blaNDM-1 检出率最高(69.57%,16/23)。59 株产碳青霉烯酶 CRE 基因型分布见表 5。

表 4 CRE 药敏试验结果

抗菌药物	所有菌株(n=59)				肺炎克雷伯菌(n=22)				阴沟肠杆菌(n=23)			
	耐药率 (%)	敏感率 (%)	MIC50 (mg/L)	MIC90 (mg/L)	耐药率 (%)	敏感率 (%)	MIC50 (mg/L)	MIC90 (mg/L)	耐药率 (%)	敏感率 (%)	MIC50 (mg/L)	MIC90 (mg/L)
阿莫西林/克拉维酸	94.1	2.9	32	32	95.2	4.8	32	32	—	—	—	—
头孢哌酮/舒巴坦	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64
哌拉西林/他唑巴坦	87.5	3.6	128	128	100.0	0.0	128	128	77.3	9.1	128	128
氨曲南	94.9	5.1	64	64	100.0	0.0	64	64	87.0	13.0	64	64
头孢呋辛	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64	—	—	—	—
头孢他啶	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64
头孢曲松	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64	100.0	0.0	64	64
头孢吡肟	100.0	0.0	32	32	100.0	0.0	32	32	100.0	0.0	32	32
头孢西丁	93.8	3.1	64	64	100.0	0.0	64	64	—	—	—	—
厄他培南	94.9	5.1	8	8	95.5	4.5	8	8	90.9	9.1	8	8
亚胺培南	96.6	3.4	16	16	95.5	4.5	16	16	95.5	4.5	16	16
阿米卡星	30.4	66.1	2	64	66.7	33.3	64	64	13.6	86.4	2	16
替加环素	15.5	84.5	2	8	4.5	94.5	2	2	36.3	63.7	2	8

注:MIC 为最低抑菌浓度;MIC50 为 50%抑菌作用浓度;MIC90 为 90%抑菌作用浓度;—表示无数据。

2.4 患者所处环境分离菌株与临床 CRE 结果分析 本研究共有 9 株 CRE 来自患者所处环境,其中

肺炎克雷伯菌 4 株, 阴沟肠杆菌 3 株, 大肠埃希菌 2 株。

2.5 MLST 分析及聚类分析 23 株阴沟肠杆菌 MLST 结果为 ST97 型 6 株 (26.09%), ST1283 型 2 株 (8.70%), ST78 型 2 株 (8.70%), ST66 型 2 株 (8.70%), ST331 型 2 株 (8.70%), ST336 型 2 株 (8.70%), ST527 型 1 株 (4.35%), ST1641 型 1 株 (4.35%), ST231 型 1 株 (4.35%), ST595 型 1 株

(4.35%), ST270 型 1 株 (4.35%), 未分型 2 株 (8.70%)。22 株肺炎克雷伯菌 MLST 结果为 ST11 型 15 株 (68.18%), ST4270 型 1 株 (4.55%), ST966 型 1 株 (4.55%), ST281 型 1 株 (4.55%), ST45 型 1 株 (4.55%), ST1074 型 1 株 (4.55%), ST14 型 1 株 (4.55%), ST15 型 1 株 (4.55%)。9 株从患者所处环境中分离出的 CRE 与临床菌株的 ST 分型一致。

表 5 59 株产碳青霉烯酶 CRE 的基因型分布情况 (n)

细菌	株数	blaKPC		blaNDM		blaIMP		blaVIM		blaOXA-48		两种类型 株数
		型别	株数	型别	株数	型别	株数	型别	株数	型别	株数	
肺炎克雷伯菌	22	KPC-2	16	NDM-1	2	IMP-4	3	VIM-1	6	—	—	5
阴沟肠杆菌	23	—	—	NDM-1	16	IMP-4	1	—	—	OXA-48	1	1
				NDM-5	5	IMP-26	1	—	—	—	—	—
大肠埃希菌	7	KPC-2	1	NDM-1	2	—	—	—	—	—	—	—
				NDM-5	4	—	—	—	—	—	—	—
产酸克雷伯菌	5	KPC-2	2	NDM-1	4	—	—	—	—	—	—	1
弗氏柠檬酸杆菌	1	—	—	NDM-1	1	—	—	—	—	—	—	—
布氏柠檬酸杆菌	1	—	—	NDM-5	1	—	—	—	—	—	—	—

注: —表示无数据。

3 讨论

近年来, 碳青霉烯类抗菌药物被临床广泛用来治疗多重耐药菌感染, 因其具有广谱抗菌作用, 从而成为治疗多重耐药菌的首选药物^[10], 这也成为 CRE 分离株急剧增加的重要原因之一。CRE 引起的感染由于治疗选择有限, 导致其病死率往往较高^[11-12]。一项由北京大学人民医院 WANG 等^[13]牵头的国内多中心研究表明, 2012—2016 年中国 25 个省的 65 家医院收集了 1 801 株 CRE, 排名前 3 的分别是肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和阴沟肠杆菌。而本研究 CRE 排名前 3 的分别是阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌, 与 WANG 等^[13]的研究不同。本研究中检出 CRE 最多的标本为伤口分泌物, 而肖晓等^[14]对 167 株 CRE 的研究显示标本来源主要是痰液。由此说明, 不同地区 CRE 的菌种构成及标本来源有地域差异, 尽快开展本地区有关 CRE 的监测, 对防控 CRE 感染至关重要。

药敏试验结果显示, 59 株 CRE 对阿米卡星和替加环素的耐药率相对较低, 分别为 30.4% 和 15.5%, 对其他抗菌药物的耐药率相对较高 (87.5% ~ 100.0%)。由此提示, 青海省 CRE 的耐药率相对较高, 在治疗 CRE 引起的感染时应引起高度关注, 在今后工作中尽快开展 CRE 联合药敏试验, 对 CRE 抗感染治疗非常有帮助。近年来, 烧伤病房中泛耐药的鲍

曼不动杆菌不断增多, 亚胺培南、美罗培南、替加环素等被广泛用于烧伤患者救治中, 在抗菌药物选择性压力下, 随着时间推移, 烧伤患者 CRE 检出率也在逐步增加, 后期调查发现, 本研究中的烧伤患者均存在上述抗菌药物的使用。本研究中 12 株伤口分泌物标本中烧伤科占 7 株, 提示烧伤患者面临 CRE 感染的风险较其他科室更高, 在今后的工作中应高度关注烧伤患者, 及时对本地区烧伤患者开展 CRE 主动筛查, 从而降低 CRE 的感染风险。肖晓等^[14]通过对 167 株 CRE 分析发现, 入住 ICU 超过 7 d、气管插管、使用过碳青霉烯类抗菌药物等都是 CRE 感染的高危险因素。本研究分离的 59 株 CRE 主要分离于 ICU、烧伤科、肝胆科等, 均存在上述一项或多项危险因素, 由此提示, 对存在上述危险因素的患者, 应及早进行 CRE 风险管理, 对防治 CRE 院内感染具有重要作用。对于上述 CRE 危险因素的研究, 作者将在后续工作中继续跟进。

CRE 的主要耐药机制是产碳青霉烯酶, 其次是产超广谱 β 内酰胺酶和 AmpC 酶, 且合并外膜孔蛋白表达下调或缺失^[15-17]。目前 blaKPC 和 blaNDM 是我国主要的 CRE 流行基因型, 比较少见的是 blaIMP、blaVIM 和 blaOXA 型^[18-19]。本研究中共分离出 59 株 CRE, 其中阴沟肠杆菌 23 株占首位 (38.98%), 其次为肺炎克雷伯菌 22 株 (37.29%), 携带 blaNDM 碳

青霉烯酶基因的菌株占 59.32%，blaKPC 占 32.20%，特别是携带 blaNDM 基因的阴沟肠杆菌构成比达到 91.30% (21/23)，由此说明，青海省 CRE 的主要流行株和流行基因型与全国不太一致，在今后的工作中更应该关注携带 blaNDM 基因型的阴沟肠杆菌。据调查，青海省大多数医院不开展 CRE 酶型和基因型检测，通过本研究发现，本地区分离出泛耐药阴沟肠杆菌时，首先考虑其为携带 blaNDM 型碳青霉烯酶基因的菌株，这对临床及时治疗具有重要提示。有研究发现，同时携带两种及两种以上碳青霉烯酶基因的 CRE 比携带一种耐药基因的 CRE 具有更强的耐药性^[20-21]，本研究中同时携带两种耐药基因的 CRE 占 11.86% (7/59)，提示要做好本地区 CRE 的监测工作，谨防携带多种耐药基因的 CRE 在本地区流行。国内已有研究发现，ST11 型碳青霉烯酶耐药的高致病性肺炎克雷伯菌菌株具有高致病性、多重耐药和高度传播性，已对人类健康构成重大威胁^[22]。本研究中 22 株肺炎克雷伯菌 MLST 主要为 ST11 型，部分肺炎克雷伯菌拉丝试验阳性，提示为高毒力肺炎克雷伯菌的风险较高，其毒力基因检测将在后续工作中继续跟进。对此应采取更加科学、规范的控制措施，防止 ST11 型高毒力肺炎克雷伯菌在青海省内交叉传播。目前有研究发现，肺炎克雷伯菌 ST11 型的流行与 blaKPC-2 广泛传播之间密切相关，而阴沟肠杆菌的 ST 型与 blaNDM-1 的高流行率、广泛地理分布关系不大^[20]。已有研究发现，携带 blaNDM-1 基因的阴沟肠杆菌的耐药质粒能够广泛重组并转移，最终导致患者出现较高的病死率^[23]。本研究发现，青海省 CRE 以阴沟肠杆菌为主，携带 blaNDM-1 基因型菌株占比高达 42.37% (25/59)，在今后工作中将重点对高原地区有关携带 blaNDM-1 基因的阴沟肠杆菌耐药质粒的重组、转移及致死率进行相关研究。本研究中共有 9 株 CRE 分离于患者所处的环境，ST 分型结果与临床标本分离的 CRE 一致。因此，在今后的院内感染控制中应高度关注 CRE，以控制和预防这类细菌在院内传播流行。

青海省地处青藏高原，经济和医疗条件相对落后，及时对省内 CRE 进行监测有重要意义。本研究发现，青海省 CRE 仅对替加环素和阿米卡星等少数抗菌药物呈较好的敏感性，其他抗菌药物的耐药率整体较高，而单药在治疗 CRE 引起的感染时效果往往不佳，提示在治疗 CRE 引起的感染时需要多种抗菌药物联合使用。本研究还发现，青海省 CRE 以阴沟肠杆菌为主，耐药基因以 blaNDM 为主，在今后的工作中及早开展耐药表型、基因型及联合药敏试验，对临床治疗 CRE 引起的感染有重要作用。考虑到本研

究纳入的菌株和医院数量较少，故本研究结果可能具有一定的局限性，在后期研究中将纳入更多的医院和 CRE 菌株，从而使青海省 CRE 的分布、基因检测及耐药性分析的相关研究更具代表性。

参考文献

- [1] ABE R, OYAMA F, AKEDA Y, et al. Hospital-wide outbreaks of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae horizontally spread through a clonal plasmid harbouring blaIMP-1 in children's hospitals in Japan[J]. J Antimicrob Chemother, 2021, 76(12): 3314-3317.
- [2] HAN R R, SHI Q Y, WU S, et al. Dissemination of carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae isolated from adult and children patients in China[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 314.
- [3] BRINK A J. Epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative infections globally[J]. Curr Opin Infect Dis, 2019, 32(6): 609-616.
- [4] TANG S S L, CHEE E Q, TEO J Q, et al. Incidence of a subsequent carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infection after previous colonisation or infection: a prospective cohort study[J]. Int J Antimicrob Agents, 2021, 57(6): 106340.
- [5] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年老年患者常见临床分离细菌耐药性监测报告[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2): 112-123.
- [6] GUDUCUOGLU H, GURSOY N C, YAKUPOGULLARI Y, et al. Hospital outbreak of a Colistin-Resistant, NDM-1 and OXA-48 producing klebsiella pneumoniae: high mortality from pandrug resistance[J]. Microbial Drug Resistance, 2018, 24(7): 966-972.
- [7] ZHOU C E, JIN L Y, WANG Q, et al. Bloodstream infections caused by Carbapenem-Resistant Enterobacterales: risk factors for mortality, antimicrobial therapy and treatment outcomes from a prospective multicenter study[J]. Infect Drug Resist, 2021, 14: 731-742.
- [8] ZILBERBERG M D, NATHANSON B H, SULHAM K, et al. Carbapenem resistance, inappropriate empiric treatment and outcomes among patients hospitalized with Enterobacteriaceae urinary tract infection, pneumonia and sepsis[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 279.
- [9] Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities[J]. Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58(10): 256-260.
- [10] TIWARI A, TIWARI V, SAHOO B M, et al. Carbapenem antibiotics: recent update on synthesis and pharmacological activities[J]. Curr Drug Res Rev, 2023, 15(1): 35-61.

- [11] ZHANG Y W, WANG Q, YIN Y Y, et al. Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae infections: report from the China CRE network[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(2): e01882-17.
- [12] ANTON-VAZQUEZ V, EVANS T J, FERNANDO S, et al. Clinical, microbiological characteristics and predictors of mortality in patients with carbapenemase-producing Enterobacterales bloodstream infections: a multicentre study[J]. *Infect Prev Pract*, 2023, 5(3): 100298.
- [13] WANG Q, WANG X J, WANG J, et al. Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant enterobacteriaceae: data from a longitudinal large-scale CRE study in China (2012-2016)[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67 (Suppl 2): S196-S205.
- [14] 肖晓, 杭修兵, 王梦, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌耐药性、临床感染特征及 mcr 基因分析[J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(1): 31-37.
- [15] GOODMAN K E, SIMNER P J, TAMMA P D, et al. Infection control implications of heterogeneous resistance mechanisms in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE)[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016, 14(1): 95-108.
- [16] LI X Z, PLÉSIAT P, NIKAIDO H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(2): 337-418.
- [17] TZOUVELEKIS L S, MARKOGIANNAKIS A, PSICHOGIOU M, et al. Carbapenemases in klebsiella pneumoniae and other enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2012, 25(4): 682-707.
- [18] YAN W J, JING N, WANG S M, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and emergence of tigecycline non-susceptible strains in the Henan province in China: a multicentre study[J]. *J Med Microbiol*, 2021, 70(3): 001325.
- [19] 邓燕燕, 龚倩, 李牧, 等. 神经外科碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌的耐药率及耐药基因分析[J]. *检验医学与临床*, 2023, 20(8): 1072-1076.
- [20] CAI Y M, CHEN C, ZHAO M, et al. High prevalence of metallo- β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* from three tertiary hospitals in China [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1610.
- [21] WU W J, FENG Y, CARATTOLI A, et al. Characterization of an enterobacter cloacae strain producing both KPC and NDM carbapenemases by Whole-Genome sequencing [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(10): 6625-6628.
- [22] JIN X, CHEN Q, SHEN F, et al. Resistance evolution of hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11 during treatment with tigecycline and polymyxin [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2021, 10(1): 1129-1136.
- [23] KHAN A U, MARYAM L, ZARRILLI R. Structure, genetics and worldwide spread of new Delhi metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health[J]. *BMC Microbiol*, 2017, 17(1): 101.

(收稿日期: 2024-03-02 修回日期: 2024-07-18)

(上接第 3351 页)

- [11] RAYMOND Y, FERNANDO S, MENEZES M, et al. Placental, maternal, fetal and technical origins of false-positive cell-free DNA screening results[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2024, 230(4): 381-389.
- [12] LIEHR T. False-positives and false-negatives in non-invasive prenatal testing (NIPT): what can we learn from a meta-analyses on > 750 000 tests [J]. *Mol Cytogenet*, 2022, 15(1): 36.
- [13] 赵萍, 宋勇, 崔丽清, 等. 超声软指标在胎儿染色体异常筛查中的应用价值[J]. *临床超声医学杂志*, 2021, 23(1): 18-22.
- [14] 王娅菊, 付航, 王云芬, 等. 超声软标记及结构畸形在染色体异常胎儿产前诊断中的临床价值[J]. *现代医用影像学*, 2020, 29(11): 1991-1996.
- [15] PETROVSKI S, AGGARWAL V, GIORDANO J L, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study[J]. *Lancet*, 2019, 393(10173): 758-767.
- [16] MICEIKAITE I, FAGERBERG C, BRASCH A C, et al. Comprehensive prenatal diagnostics: exome versus genome sequencing[J]. *Prenat Diagn*, 2023, 43(9): 1132-1141.
- [17] HU T, WANG J M, ZHU Q, et al. Clinical experience of noninvasive prenatal testing for rare chromosome abnormalities in singleton pregnancies[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 955694.
- [18] 杨丽, 腊晓琳, 加米拉·热扎克, 等. 无创产前 DNA 检测技术在胎儿性染色体异常筛查中的应用价值[J]. *国际遗传学杂志*, 2021, 44(2): 79-84.
- [19] 黄月香, 郑红雨, 陆小萃, 等. 胎儿超声软指标及结构异常在胎儿染色体异常产前诊断中临床价值[J]. *临床军医杂志*, 2023, 51(8): 864-867.
- [20] ZHANG J L, WU Y T, CHEN S C, et al. Prospective prenatal cell-free DNA screening for genetic conditions of heterogenous etiologies [J]. *Nat Med*, 2024, 30(2): 470-479.

(收稿日期: 2024-03-05 修回日期: 2024-08-08)