

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.03.017

多重耐药肺炎克雷伯菌整合子、ISCR1 分布与耐药性研究及 ERIC-PCR 分型特点*

张凤宜^{1,2}, 姜冰洁^{1,2}, 芮勇宇^{1△}

1. 南方医科大学南方医院检验科, 广东广州 510515; 2. 南方医科大学第十附属医院/东莞市人民医院检验科, 广东东莞 523000

摘要:目的 研究多重耐药肺炎克雷伯菌(MDR-KP)中整合子和插入序列共同区(ISCR1)的分布特征和携带耐药基因情况,以及采用肠杆菌基因间重复共有序列聚合酶链反应(ERIC-PCR)分析MDR-KP的基因分型特点,为加强肺炎克雷伯菌耐药监测及临床用药提供可靠的理论依据。**方法** 收集南方医科大学南方医院临床分离的非重复的MDR-KP 68株作为实验菌株,提取细菌DNA,利用PCR检测常见的多重耐药基因型及I、II、III类整合子和ISCR1,使用ERIC-PCR分析MDR-KP的基因型。**结果** 68株MDR-KP对氨基糖苷类、头孢类、喹诺酮类和除头孢他啶/阿维巴坦外的酶抑制类药物耐药率高,大部分药物耐药率大于80.0%。检出的主要超广谱β-内酰胺酶基因型为bla_{SHV}型,主要碳青霉烯酶基因型为bla_{KPC}型。68株MDR-KP中,44株检出I类整合子,检出率为64.7%,未检出II类和III类整合子基因,15株MDR-KP检出ISCR1,检出率为22.1%。I类整合子携带最常见的基因盒为aadA2(16/44,36.4%)和aac(6′)-I b-cr5(14/44,31.8%),其次为dfrA12+aadA2(3/44,6.8%),ISCR1携带基因盒主要是qnrB91(9/15,60.0%)。ERIC-PCR结果显示,68株MDR-KP产生18种DNA指纹图谱,存在优势克隆型。**结论** I类整合子和ISCR1广泛存在于该院临床分离的MDR-KP中,主要携带氨基糖苷类耐药基因盒(aadA2)及喹诺酮类耐药基因盒[aac(6′)-I b-cr5和qnrB91],介导多重耐药性。该院临床分离的MDR-KP存在优势克隆型,应加强医院内感染防控措施,有效控制此类细菌的播散。

关键词:多重耐药肺炎克雷伯菌; I类整合子; 插入序列共同区; 基因盒; 基因间重复共有序列聚合酶链反应

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)03-0370-07

Integrins and ISCR1 distribution and ERIC-PCR analysis of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae**

ZHANG Fengyi^{1,2}, JIANG Bingjie^{1,2}, RUI Yongyu^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Tenth Affiliated Hospital of Southern Medical University/Dongguan People's Hospital, Dongguan, Guangdong 523000, China

Abstract: Objective To study the distribution characteristics and drug resistance gene carriage of integrins and insertion sequence common region 1 (ISCR1) in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* (MDR-KP), and analyze the genotyping characteristics of MDR-KP using enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction (ERIC-PCR) technology, in order to provide a reliable theoretical basis for strengthening the monitoring of drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* and clinical medication. **Methods** A total of 68 non-repetitive MDR-KP strains isolated from clinical samples at Nanfang Hospital of Southern Medical University were collected as experimental strains. Bacterial DNA was extracted. Common multidrug-resistant genotypes and type I, II, and III integrins and ISCR1 were detected by PCR, and the genotypes of MDR-KP were analyzed by using ERIC-PCR. **Results** The 68 MDR-KP strains had a high resistance rate to aztreonam, cephalosporins, quinolones, and enzyme inhibitor classes except ceftazidime/avibactam, and most of the resistance rates were greater than 80.0%. The main detected extended-spectrum β-lactamase (ESBL) genotype was bla_{SHV} type, and the main carbapenemase genotype was bla_{KPC} type. Among the 68 MDR-KP strains, type I integrins were detected in 44 strains, with a detection rate of 64.7%. Type II and III integron genes were not detected. ISCR1 was detected in 15 MDR-KP strains, with a detection rate of 22.1%. The most common gene cassettes carried by type I integrins were aadA2 (16/44, 36.4%) and aac(6′)-I b-cr5 (14/44,

* 基金项目:广东省基础与应用基础研究基金项目(2023A1515220106)。

作者简介:张凤宜,女,主管技师,主要从事临床检验与微生物检验方向的研究。△ 通信作者,E-mail:ruiyongyu@163.com。

31.8%), followed by dfrA12+aadA2 (3/44, 6.8%). The main gene cassette carried by ISCR1 was qnrB91 (9/15, 60.0%). ERIC-PCR results showed that 68 MDR-KP strains produced 18 DNA fingerprint patterns, and there was a dominant clone type. **Conclusion** Type I integrons and ISCR1 are widely present in MDR-KP isolated from clinical samples in this hospital, mainly carrying aminoglycoside resistance gene cassettes (aadA2) and quinolone resistance gene cassettes [aac(6')-I b-cr5 and qnrB91], mediating multidrug resistance. There is a dominant clone type of MDR-KP isolated from clinical samples in this hospital, and infection prevention and control measures in the hospital should be strengthened to effectively control the spread of such bacteria.

Key words: multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*; class I integron; insertion sequence common region; gene cassette; enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction

肺炎克雷伯菌属于肠杆菌科细菌,作为可引起尿路感染、肺炎等多种感染性疾病的革兰阴性菌,容易感染免疫力低下的宿主,已成为世界范围内临床和公共卫生的主要威胁。肺炎克雷伯菌的定植可能增加重症监护病房患者肺炎克雷伯菌感染的发生率^[1]。随着多重耐药^[2]和高毒力肺炎克雷伯菌菌株^[3]的出现,这些临床菌株在地理位置上的快速传播令人担忧。肺炎克雷伯菌对氨基苄西林天然耐药,并可通过获得染色体或可移动的元件(如质粒和转座子)携带的耐药基因,使抗菌药物耐药基因不断积累,其多重耐药性日益增强。通过质粒^[4-5]和可移动的遗传因子^[6-7],抗菌药物耐药基因在同种或者不同种属的细菌间水平转移^[4]。细菌耐药机制非常复杂,整合子和插入序列共同区(ISCR1)^[8]作为可移动的遗传元件,具有多功能的基因获取系统,可促进耐药基因的横向转移和传播^[9]。本研究针对临床分离的多重耐药肺炎克雷伯菌(MDR-KP)进行整合子和 ISCR1 检测,了解其携带耐药基因的分布特征,分析其与耐药性的关系,并使用肠杆菌基因间重复共有序列聚合酶链反应(ERIC-PCR)研究基因分型,为加强肺炎克雷伯菌耐药监测及临床用药提供可靠的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集南方医科大学南方医院 2021 年 12 月至 2023 年 8 月临床分离的来自不同科室不同标本类型的 MDR-KP,剔除同一患者的重复菌株,最终选取 68 株作为实验菌株,筛选出的菌株经纯化培养后采用纸片法冻存于-80℃冰箱。MDR-KP 定义为除氨基苄西林以外,对 3 类或 3 类以上常用抗菌药物耐药。以大肠埃希菌 ATCC25922 为质控菌株及阴性对照。

1.2 仪器及试剂 全自动细菌鉴定仪及配套鉴定药

敏卡(BD Phoenix 100,美国 BD 公司),核酸蛋白分析仪 Nanodrop2000(美国 Thermo 公司),PCR 基因扩增仪(德国 Eppendorf 公司),凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司);试剂选用 2×Rapid Taq Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)、DNA Marker[宝生物工程(大连)有限公司]、Tris 饱和酚(北京雷根生物技术有限公司)、氯仿(广州化学试剂厂)、10%十二烷基硫酸钠[生工生物工程(上海)股份有限公司]、蛋白酶 K(生工生物工程(上海)股份有限公司)等,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,测序由生工生物工程(上海)股份有限公司及深圳华大基因股份有限公司完成。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定及药敏试验 采用全自动细菌鉴定仪对临床分离的菌株进行鉴定和药敏试验。操作过程严格按照说明书和标准作业程序进行。

1.3.2 细菌 DNA 提取 复苏保存的筛选菌株,用 SDS-蛋白酶 K-酚-氯仿的方法提取细菌的全基因组 DNA^[10],进行 1%的琼脂糖凝胶电泳检测, Nanodrop 2000 核酸蛋白分析仪检测 DNA 纯度。提取的 DNA 于-20℃条件下保存。

1.3.3 常见超广谱 β-内酰胺酶(ESBL)及碳青霉烯酶基因检测 对所有菌株进行常见 ESBL 基因 bla_{CTX-M}、bla_{TEM}、bla_{SHV} 普通 PCR 扩增检测,对耐碳青霉烯类耐药菌株加测常见碳青霉烯酶基因 bla_{OXA-48}、bla_{IMP}、bla_{SPM}、bla_{VIM}、bla_{KPC}、bla_{NDM}。引物、反应体系及反应条件参考文献[11],见表 1。反应条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,50~60℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,30 个循环;72℃延伸 5 min。对 PCR 产物进行 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 常见 ESBL、碳青霉烯酶耐药基因 PCR 所用引物及反应条件

基因名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)	退火温度(℃)
bla _{CTX-M}	正向:TCAAGCCTGCCGATCTGGT	561	55
	反向:TGATTCTCGCGCTGAAG		
bla _{TEM}	正向:ATGAGTATTCAACATTTCCGT	861	56
	反向:TTACCAATGCTTAATCAGTGA		

续表 1 常见 ESB�、碳青霉烯酶耐药基因 PCR 所用引物及反应条件

基因名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)	退火温度(℃)
bla _{SHV}	正向:CGCCTGTGTATTATCTCCCTG	849	60
	反向:TTAGCGTTGCCAGTGCTCGAT		
bla _{KPC}	正向:CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798	60
	反向:CTTGTCATCCTTGTTAGGCG		
bla _{NDM}	正向:GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	621	60
	反向:CGGAATGGCTCATCACGATC		
bla _{VIM}	正向:GATGGTGTGGTGCATA	390	58
	反向:CGAATGCGCAGCACCAG		
bla _{IMP}	正向:TCACTTGGTTTGTGGAGCGT	232	50
	反向:TCAGGCAGCCAAACCACTAC		
bla _{SPM}	正向:AAAATCTGGGGTACGCAAACG	271	55
	反向:ACATTATCCGCTGGAACAGG		
bla _{OXA-48}	正向:GCGTGGTTAAGGATGAACAC	438	53
	反向:CATCAAGTTCAACCAACCG		

1.3.4 常见可移动元件研究 利用 PCR 分别扩增 I 类、II 类、III 类整合子和 ISCR1 的保守区,阳性菌株进一步扩增其可变区。引物、反应体系及反应条件参考文献[11],见表 2。反应条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,53~60℃退火 30 s,72℃延伸 1~4 min,30 个循环;72℃延伸 10 min。PCR 产物进行 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。利用限制性内切酶 Hinf I 和 Rsa I 进行限制性片段长度多态性(RFLP)分析,根据酶切图谱进行初步分类,根据不同酶切谱型挑选 1 株单一条带送测序公司进行可变区测序。测序结果提交美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站 BLAST 分析,与已知序列比对,确定序列信息,得出

基因盒组合。

1.3.5 ERIC-PCR DNA 指纹图谱分析 ERIC-PCR 反应体系及反应条件参考文献[12],使用引物 ERIC-2 序列 5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3' 进行扩增。反应条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,52℃退火 45 s,72℃延伸 4 min,35 个循环;72℃延伸 10 min。PCR 产物进行 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。使用 Quantity one 软件识别电泳条带,再使用 NTSYSpc 2.1 软件,采用非加权配对法(UPGMA 法)进行遗传分析,构建聚类分析树图。凡条带数目和位置完全相同的则判为同一克隆型。

表 2 整合子和 ISCR1 保守区及可变区 PCR 所用引物及反应条件

基因名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)	退火温度(℃)
Int11	正向:GCATCCTCGGTTTTCTGG	457	57
	反向:GGTGTGGCGGGCTTCGTG		
Int12	正向:CACGGATATGCGACAAAAAGGT	789	53
	反向:GTAGCAAACGAGTGACGAAATG		
Int13	正向:ATCTGCCAAACCTGACTG	922	60
	反向:CGAATGCCCAACAACCTC		
Int11 可变区	正向:GGCATCCAAGCAGCAAG	大小不等	57
	反向:AAGCAGACTTGACCTGA		
ISCR1	正向:ATGGTTTCATGCGGGTT	448	58
	反向:CTGAGGGTGTGAGCGAG		
ISCR1 可变区	正向:ATGGTTTCATGCGGGTT	大小不等	60
	反向:AGCCCCATACCTACAAAGCC		

1.4 统计学处理 应用 SPSS 25.0 统计软件处理数据。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2

检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株类型 68 株 MDR-KP 中,产 ESBL 肺炎克雷伯菌(ESBL-KP)34 株(50.0%),碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌(CR-KP)34 株(50.0%)。

2.2 MDR-KP 对常见抗菌药物耐药情况 MDR-KP 对氨曲南、头孢类、喹诺酮类和除头孢他啶/阿维巴坦外的酶抑制类药物耐药率高,这些药物中除哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦和莫西沙星外,MDR-KP 对其他药物的耐药率均大于 80.0%。MDR-KP 对四环素、庆大霉素、甲氧苄啶-磺胺甲恶唑的耐药率分别为 69.1%、66.2%、64.7%。MDR-KP 对头孢他啶/阿维巴坦的耐药率低,MDR-KP 对替加环素和多黏菌素 B 的敏感率为 100.0%。见表 3。CR-KP 对常见抗菌药物的耐药率普遍高于 ESBL-KP,且在氨基糖苷类、碳青霉烯类、喹诺酮类、酶抑制剂类药物较为明显。

2.3 常见 ESBL 及碳青霉烯酶基因检测 MDR-KP 常见 ESBL 基因检出情况见表 4。MDR-KP 常见 ESBL 基因检出率为 98.5%,并且大部分同时携带 2~3 种 ESBL 基因,主要检出的 ESBL 基因型为 bla_{SHV} (67/68,98.5%),其次为 bla_{TEM} (58/68,85.3%),部分检出 bla_{CTX-M} (29/68,42.6%)。CR-KP 的 bla_{CTX-M} 和 bla_{TEM} 检出率比 ESBL-KP 高,差别均有统计学意义 ($P < 0.05$)。CR-KP 主要检出 bla_{KPC} (28/34,82.4%),少数检出 bla_{NDM} (5/34,14.7%)。CR-KP 均未检出 bla_{OXA-48}、bla_{IMP}、bla_{SPM}、bla_{VIM}。

2.4 常见可移动元件研究 68 株 MDR-KP 中:44 株检出 I 类整合子,检出率为 64.7%,未检出 II、III 类整合子基因;15 株 MDR-KP 检出 ISCR1,检出率为 22.1%。44 株 I 类整合子保守区阳性标本中,有 39 株扩增出可变区,占 88.6%。I 类整合子可变区根据酶切结果分为 6 类。15 株 ISCR1 保守区阳性标本中,有 9 株扩增出可变区,占 60.0%。ISCR1 可变区根据酶切结果分为 2 类。挑选可变区单一条带送检测序,进行 BLAST 比对分析结果,检出 5 类耐药基因盒组合,分别为 aadA2、dfrA27+arr-3、dfrA12+aadA2、aac(6')-I b-cr5、qnrB91。I 类整合子最常见的耐药基因盒为 aadA2(16/44,36.4%)和 aac(6')-I b-cr5(14/44,31.8%),分别介导氨基糖苷类药物耐药和喹诺酮类抗菌药物耐药,其次为 dfrA12+aadA2(3/44,6.8%),介导甲氧苄啶及氨基糖苷类药物耐药。ISCR1 携带基因盒主要是 qnrB91(9/15,60.0%),介导喹诺酮类药物耐药。

2.5 ERIC-PCR DNA 指纹图谱分析 ERIC-PCR 结果显示,68 株 MDR-KP 产生 18 种 DNA 指纹图谱,编号 E1~E18。其中 E1 型 31 株,E3 型 12 株,E2 型和 E8 型各 4 株,E6 型、E10 型、E14 型各 2 株,其余型别各 1 株。PCR 产物条带为 1~5 条,大小 700~

9 000 bp。使非加权配对法(UPGMA 法)进行聚类分析构建聚类图,见图 1。E1 和 E3 型为优势克隆型。携带基因盒的分离株分布在不同的 ERIC 型别,与克隆型分类无明显相关性。

表 3 MDR-KP 对常见抗菌药物的耐药率 [% (n)]

常用抗菌药物	MDR-KP 耐药率(n=68)	ESBL-KP 耐药率(n=34)	CR-KP 耐药率(n=34)
头孢类			
头孢他啶	83.8(57)	79.4(24)	97.1(33)
头孢噻肟	86.8(59)	82.4(28)	91.2(31)
头孢唑啉	88.2(60)	85.3(29)	91.2(31)
头孢吡肟	95.6(65)	91.2(31)	100.0(34)
酶抑制剂类			
阿莫西林/克拉维酸	92.6(63)	85.3(29)	100.0(34)
氨苄西林/舒巴坦	88.2(60)	85.3(29)	91.2(31)
哌拉西林/他唑巴坦	75.0(51)	50.0(17)	100.0(34)
头孢哌酮/舒巴坦	61.8(42)	50.0(17)	73.5(25)
头孢他啶/阿维巴坦	5.9(4)	0.0(0)	11.8(4)
氨基糖苷类			
阿米卡星	48.5(33)	14.7(5)	82.4(28)
庆大霉素	66.2(45)	38.2(13)	94.1(32)
叶酸代谢途径抑制剂			
甲氧苄啶-磺胺甲恶唑	64.7(44)	61.8(21)	67.6(23)
碳青霉烯类			
亚胺培南	50.0(34)	0.0(0)	100.0(34)
美罗培南	47.1(32)	0.0(0)	94.1(32)
喹诺酮类			
环丙沙星	89.7(61)	82.4(28)	97.1(33)
左氧氟沙星	88.2(60)	76.5(26)	100.0(34)
莫西沙星	72.1(49)	52.9(18)	91.2(31)
四环素类			
四环素	69.1(47)	61.8(21)	76.5(26)
替加环素	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)
单内酰胺类			
氨曲南	94.1(64)	94.1(32)	94.1(32)
苯丙醇类			
氯霉素	57.4(39)	52.9(18)	61.8(21)
糖肽类			
多黏菌素 B	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)

表 4 MDR-KP 不同菌株类型常见 ESBL 基因型检出率比较 [% (n)]

菌株类型	n	bla _{CTX-M}	bla _{TEM}	bla _{SHV}
ESBL-KP	34	5(14.7)	25(73.5)	33(97.1)
CR-KP	34	24(70.6)	33(97.1)	34(100.0)
χ^2		21.705	7.503	1.015
P		<0.001	0.006	0.314

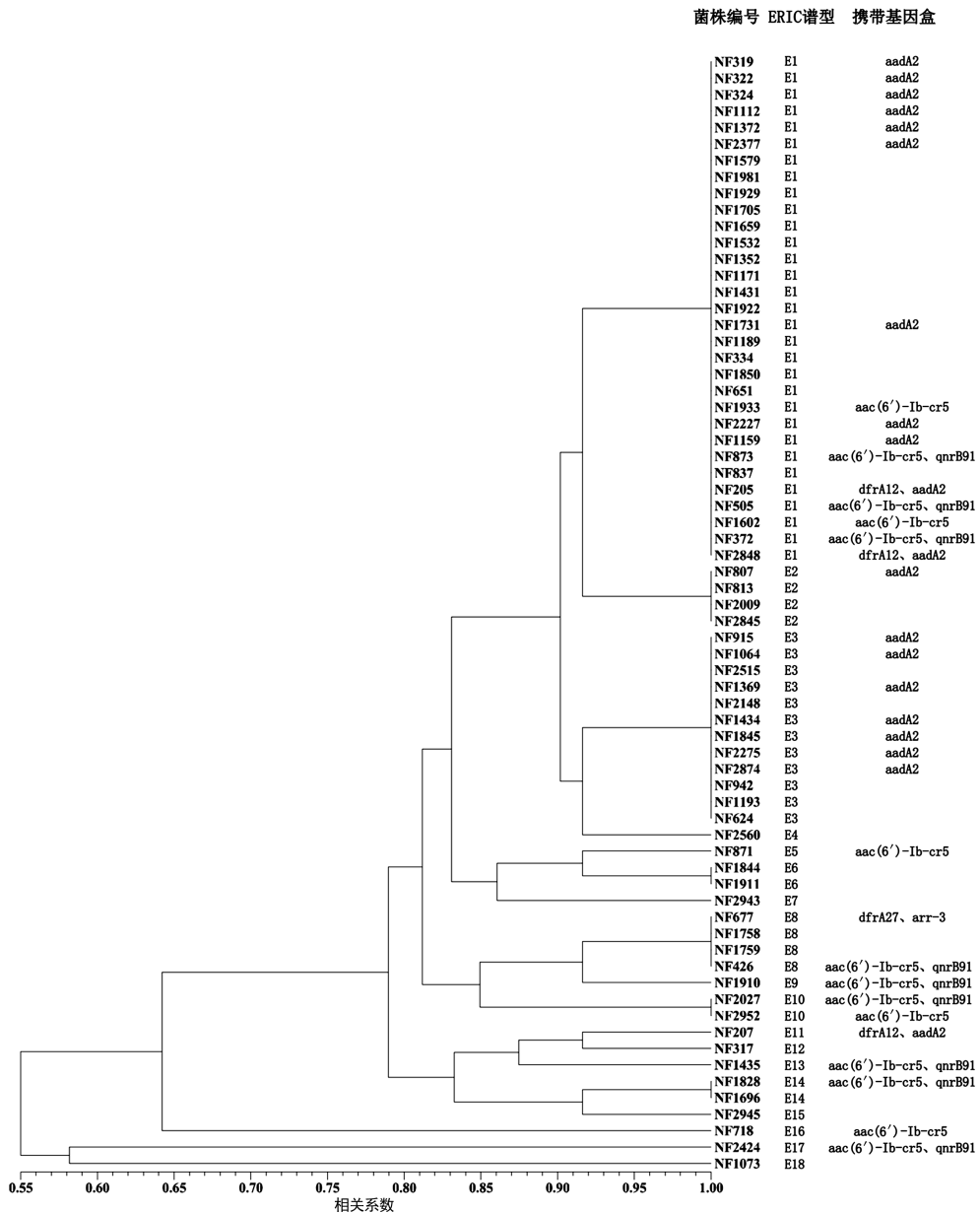


图 1 MDR-KPDNA 指纹图谱聚类分析图

3 讨论

肺炎克雷伯菌对公共卫生构成越来越大的威胁, ESBL-KP 和 CR-KP 通常对其他可用药物表现出交叉耐药。长期使用抗菌药物也是导致肺炎克雷伯菌感染的原因之一,也是严重社区获得性感染的危险因素。MDR-KP 是导致感染不良结果的一个重要因素。由于在抗菌药物使用、卫生和感染控制方面的不同,肺炎克雷伯菌的耐药性存在地理性差异。

细菌耐药是多方面因素导致的结果,携带耐药基因是一个重要的因素。ESBL 是指一类能水解青霉素类、头孢菌素类以及单内酰环类抗菌药物的 β-内酰胺酶,其活性可被某些 β-内酰胺酶抑制剂抑制。本研究中,MDR-KP 几乎都检出 ESBL 基因,且大部分同时携带 2~3 种 ESBL 基因,与国内相关报道相符^[13-15],故在本研究中头孢菌素类以及单内酰环类抗菌药物有较高的耐药率。本研究中 CR-KP 主要碳青霉烯类

耐药基因为 bla_{KPC} (82.4%),少量检出 bla_{NDM} 基因 (14.7%)。说明 bla_{KPC} 仍是我国主要检出基因型,其次为 bla_{NDM}^[16]。

近年来,基因型 bla_{OXA-48} 检出率不断增加,尤其在印度^[17]。在我国台湾地区^[18]的肺炎克雷伯菌和我国大陆地区耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌中偶有检出^[19],但在本研究未检出,可能是 bla_{OXA-48} 在本地区是非优势流行基因型。进一步支持了 OXA-48 目前不是我国肺炎克雷伯菌主要碳青霉烯酶类型的论点^[20]。

耐药基因可作为整合子的一部分,被可移动的遗传元件所容纳,可随着该遗传元件的插入而从另一个 DNA 分子(如质粒)中切除^[21]。本研究中,MDR-KP 对氨基糖苷类、头孢类、喹诺酮类和除头孢他啶/阿维巴坦外的酶抑制类药物耐药率高,其次为四环素、庆大霉素和甲氧苄啶-磺胺甲恶唑。本研究检出介导氨基糖苷类药物耐药的耐药基因盒 aadA2、介导甲氧苄啶耐

药的耐药基因盒 *dfrA12*+*aadA2* 及介导喹诺酮类耐药的耐药基因盒 *aac(6′)-I b-cr5* 和 *qnrB91*, 与这几类药物的高耐药率相关。但导致头孢类、氨基糖苷类和四环素高耐药率的耐药基因在整合子及 ISCR1 可变区未检出, 这可能是由于对此类抗菌药物耐药的耐药基因位于整合子之外, 与国内相关报道类似^[22]。对于甲氧苄啶-磺胺甲恶唑耐药, 整合子和 ISCR1 均具有强相关性。获得由 *dfr* 基因编码的 DHFR 变异体是甲氧苄啶耐药最常见的机制, 它们通常存在于整合子内的基因盒中, 也与 ISCR1 相关^[23]。本研究中, *dfr* 基因均位于 I 类整合子中。

本研究存在 5 株的 I 类整合子阳性和 6 株 ISCR1 阳性的 MDR-KP 未检出可变区, 在其他研究也存在此情况^[22], 考虑为空的移动遗传因子, 或仅仅是整合酶及 ISCR1 缺陷或整合酶启动子缺陷的结果。在医院强烈的抗菌药物选择压力环境中, 此类空的移动遗传因子可能会捕获新的耐药基因, 导致耐药基因的传播。

一项对常见可移动基因元件与革兰阴性菌耐药基因表达相关启动子的研究显示, 整合子的启动子 (PcS) 比 ISCR1 表达强 38 倍^[24]。整合子在耐药基因表达方面具有强有力的作用可能与此有关。另一项针对整合子和耐药基因异种进化的研究表明, 整合子作为载体, 能够携带多种耐药基因盒, 建议对携带的多种耐药基因的整合子进行监测, 并关注一些具有高流动风险的耐药基因^[9]。

ERIC-PCR 是根据 ERIC 的核心序列设计引物, 根据扩增出来的条带大小和数目不同形成 DNA 图谱, 在细菌基因分型以及进行流行病学调查方面得到广泛应用。通过对 68 株 MDR-KP 进行 ERIC-PCR 分析, 得到 18 种 DNA 图谱, 表现出多克隆型, 其中 31 株为 E1 型和 12 株为 E3 型, 表现为优势克隆型。有研究提出, 临床优势克隆型可能反映该群体在携带中的生态优势, 而不是与其他系统群相比具有更高的感染潜力^[25]。国外研究中, 在 ERIC 条带模式中有 2 个或 2 个以上不同条带的分离株被认为是不同的 ERIC 型^[26], 则 E1~E4 为同一个 ERIC 型, 整合子携带耐药基因盒 *AadA* 的菌株 ERIC 谱型为 E1~E3, 均位于同一 ERIC 型, 其他基因盒位于不同 ERIC 型。携带相同基因盒的分离株分布在不同的 ERIC 基因型, 可见携带基因盒的分离株与 ERIC 分型无明显相关性。尽管菌株同源, 携带耐药基因不尽相同, 抗菌药物耐药谱也不相同, 耐药表现是多方面作用的结果。

本研究 I 类整合子及 ISCR1 等可移动元件的高检出率、ERIC-PCR 的多克隆谱型以及抗菌药物的高耐药率结果反映了 MDR-KP 的严重耐药形势。国际上和我国的许多学会发布了相关指南, 强调了在卫生保健环境中控制 MDR-KP 传播的一些关键干预措施, 包括主动监测培养、促进手部卫生、先发制人的接

触预防措施、已知携带者的接触预防措施、隔离室、患者队列、工作人员队列、环境清洁、抗菌药物管理、教育和氯己定沐浴等, 且已被证明在控制医疗机构 MDR-KP 暴发方面取得了成功^[27]。尽管如此, MDR-KP 仍是公共卫生系统的最大威胁, 需要得到更长久且严密的监控。

参考文献

- [1] QIN X, WU S, HAO M, et al. The colonization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, resistance mechanisms, and risk factors in patients admitted to intensive care units in China[J]. *J Infect Dis*, 2020, 221(S2):S206-S214.
- [2] STOJOWSKA-SWEDRZYŃSKA K, ŁUPKOWSKA A, KUCZYŃSKA-WIŚNIK D, et al. Antibiotic heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(1):449.
- [3] CHOBY J E, HOWARD ANDERSON J, WEISS D S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: clinical and molecular perspectives[J]. *J Intern Med*, 2020, 287(3):283-300.
- [4] DONG N, YANG X, CHAN E W, et al. *Klebsiella* species: taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance[J]. *EBioMedicine*, 2022, 79:103998.
- [5] DI PILATO V, POLLINI S, MIRIAGO V, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the role of plasmids in emergence, dissemination and evolution of a major clinical challenge[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2024, 22(1-3):25-43.
- [6] REYES J A, MELANO R, CÁRDENAS P A, et al. Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American Enterobacterales[J]. *Braz J Infect Dis*, 2020, 24(3):231-238.
- [7] WANG L, ZHU M, YAN C, et al. Class 1 integrons and multiple mobile genetic elements in clinical isolates of the *Klebsiella pneumoniae* complex from a tertiary hospital in eastern China[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14:985102.
- [8] WANG B, PAN F, HAN D, et al. Genetic Characteristics and microbiological profile of hypermucoviscous multidrug-resistant *Klebsiella variicola* coproducing IMP-4 and NDM-1 carbapenemases[J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(1):e158121.
- [9] AN R, QI Y, ZHANG X X, et al. Xenogenetic evolutionary of integrons promotes the environmental pollution of antibiotic resistance genes: challenges, progress and prospects[J]. *Water Res*, 2023, 231:119629.
- [10] 郑芬. 革兰阴性超级细菌碳青霉烯酶基因和可移动耐药元件结构研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013.
- [11] LI S, DUAN X, PENG Y, et al. Molecular characteristics of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from clinical infection samples and fecal survey samples in Southern China[J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1):900.
- [12] SUN J, ZHENG F, WANG F, et al. Class 1 integrons in urinary isolates of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in South-

ern China during the past five years[J]. *Microb Drug Resist*, 2013, 19(4):289-294.

- [13] XU T, FENG W, SUN F, et al. Clinical and resistance characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from intensive care units in China[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(20):1109.
- [14] 特尼格尔, 孙建文, 姜小华, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药基因分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(10):1192-1196.
- [15] YU X, ZHANG W, ZHAO Z, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates with focus on antimicrobial resistance[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1):822.
- [16] LAN P, JIANG Y, ZHOU J, et al. A global perspective on the convergence of hypervirulence and carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2021, 25:26-34.
- [17] MOORE C, DUNNACHIE S, BROWNE A, et al. Determining the global burden of antimicrobial resistance; the GRAM project[J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 101(S1):12.
- [18] LAI C C, YU W L. *Klebsiella pneumoniae* harboring carbapenemase genes in Taiwan: its evolution over 20 Years, 1998-2019[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2021, 58(1):106354.
- [19] HAN R, SHI Q, 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.
- [20] SHEN M, CHEN X, HE J, et al. Antimicrobial resistance patterns, sequence types, virulence and carbapenemase genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from a tertiary care teaching hospital in Zunyi, China[J]. *Infect Drug Resist*, 2023, 16:637-649.

- [21] FODOR A, ABATE B A, DEÁK P, et al. Multidrug resistance (MDR) and collateral sensitivity in bacteria, with special attention to genetic and evolutionary aspects and to the perspectives of antimicrobial peptides; a review[J]. *Pathogens*, 2020, 9(7):522.
- [22] LIAO W, LI D, LIU F, et al. Distribution of integrons and phylogenetic groups among highly virulent serotypes of *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese tertiary hospital[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2020, 21:278-284.
- [23] SHIN H W, LIM J, KIM S, et al. Characterization of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance genes and their relatedness to class 1 integron and insertion sequence common region in gram-negative bacilli[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2015, 25(1):137-142.
- [24] KAMRUZZAMAN M, PATTERSON J D, SHOMA S, et al. Relative strengths of promoters provided by common mobile genetic elements associated with resistance gene expression in gram-negative bacteria[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(8):5088-5091.
- [25] HUYNH B, PASSET V, RAKOTONDRAO A, et al. *Klebsiella pneumoniae* carriage in low-income countries: antimicrobial resistance, genomic diversity and risk factors[J]. *Gut microbes*, 2020, 11(5):1287-1299.
- [26] KUNDU J, KANSAL S, RATHORE S, et al. Evaluation of ERIC-PCR and MALDI-TOF as typing tools for multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from a tertiary care center in India[J]. *PLoS One*, 2022, 17(11):e271652.
- [27] VOCK I, TSCHUDIN-SUTTER S. Persisting intrahospital transmission of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* and challenges for infection control[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2019, 40(8):904-909.

(收稿日期:2024-06-12 修回日期:2025-01-04)

(上接第 369 页)

- in Yangjiang region, western Guangdong province[J]. *Front Genet*, 2024, 14:1345537.
- [10] 唐芳, 黄永兰, 蒋翔, 等. 广州市葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的新生儿筛查及确诊评估[J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(5):359-363.
- [11] 陈新瑶, 梁雪雁, 黄慧莹, 等. 潮州市新生儿 G6PD 筛查和基因型鉴定分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(6):881-884.
- [12] 何英, 陈雄豪, 凌利芬, 等. 深圳地区婚检人群葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因突变检测分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(11):1352-1356.
- [13] 魏庆玲. 中山地区近十年新生儿 G6PD 缺乏症筛查、检测方法及部分患儿基因检测结果分析[D]. 广州:南方医科大学, 2022.
- [14] 赵学峰, 李毅坚, 蔡甜, 等. 佛山地区孕产妇 G6PD 基因缺陷调查及干预模式研究[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(9):1172-1173.

- [15] WEI H G, WANG C F, HUANG W Y, et al. Simultaneous detection of G6PD mutations using SNP scan in a multiethnic minority area of southwestern China[J]. *Front Genet*, 2023, 13:1000290.
- [16] LI Z Y, HUANG Z Y, LIU Y X, et al. Genotypic and phenotypic characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in Guangzhou, China[J]. *Hum Genomics*, 2023, 17(1):26.
- [17] ZHANG Z Q, WANG X T, JIANG J H. Screening results and mutation frequency analysis of G6PD deficiency in 1,291,274 newborns in Huizhou, China: a twenty-year experience[J]. *Ann Hematol*, 2024, 103(1):29-36.
- [18] WU H M, ZHU Q Y, ZHONG H, et al. Analysis of genotype distribution of thalassemia and G6PD deficiency among Hakka population in Meizhou city of Guangdong province[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(4):e23140.

(收稿日期:2024-06-02 修回日期:2024-11-18)