

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.18.009

碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌耐药性及耐药基因分析*

侯素君¹,尹盟盟¹,王均梅¹,别海文¹,梁永娟¹,朱元祺²

1. 山东省日照市中医医院检验科,山东日照 276800;2. 青岛大学附属医院检验科,山东青岛 266003

摘要:**目的** 探讨医院碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌(CRE)的临床耐药性及耐药表型和基因型,为医院 CRE 菌株感染的临床治疗及医院感染暴发的预防和控制提供科学依据。**方法** 收集 2020 年 7 月至 2023 年 1 月日照市中医医院临床患者标本中分离的 77 株 CRE 菌株,采用全自动微生物分析仪进行细菌鉴定和药敏试验,采用改良碳青霉烯酶灭活试验(mCIM)和乙二胺四乙酸(EDTA)改良碳青霉烯酶灭活试验(eCIM)联合检测碳青霉烯酶表型,采用聚合酶链反应(PCR)扩增耐药基因并进行测序分型。**结果** 77 株 CRE 菌株主要分离自痰液,其次是尿液、胸腔积液;科室来源主要是颅脑外科、重症医学科、脑卒中监护室。CRE 菌株中肺炎克雷伯菌 33 株,大肠埃希菌 15 株,阴沟肠杆菌 12 株,其他细菌 17 株。CRE 菌株对替加环素敏感性为 97.4%,阿米卡星为 44.2%,复方磺胺甲噁唑为 39.0%,对其他抗菌药物的敏感性均低于 20.0%。mCIM 筛选碳青霉烯酶菌株的灵敏度为 95.9%,特异度为 100.0%。PCR 扩增结果显示 49 株 CRE 菌株携带 NDM 基因,24 株 CRE 菌株携带 KPC 基因,1 株 CRE 菌株携带 IMP 基因,3 株未检出碳青霉烯酶基因;基因测序比对确定耐药基因亚型分别为 bla_{KPC-2}、bla_{NDM-1}、bla_{IMP-4}。**结论** CRE 菌株以肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌为主,具有较强的耐药性,肺炎克雷伯菌碳青霉烯类耐药基因主要为 bla_{KPC-2}、大肠埃希菌耐药基因主要为 bla_{NDM-1},阴沟肠杆菌耐药基因主要为 bla_{NDM-1},临床需加强 CRE 菌株检测,根据药敏试验结果合理选用抗菌药物,防范其在医院内暴发流行。

关键词:碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌; 细菌耐药性; 耐药基因

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)18-2667-05

Analysis on drug resistance and drug resistance genes of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae bacteria*

HOU Sujun¹,YIN Mengmeng¹,WANG Junmei¹,BIE Haiwen¹,LIANG Yongjuan¹,ZHU Yuanqi²

1. Department of Clinical Laboratory, Rizhao Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Rizhao, Shandong 276800, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266003, China

Abstract:**Objective** To explore the clinical drug resistance, drug resistance phenotypes and genotypes of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) bacteria in the hospital so as to provide a scientific basis for the clinical treatment of CRE bacterial strains infection and the prevention and control of the CRE bacterial strains infection outbreaks. **Methods** Seventy-seven CRE strains isolated from the clinical patients samples in Rizhao Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine from July 2020 to January 2023 were collected, the bacterial identification and drug susceptibility tests were conducted by the full automatic microbiological analyzer, and the carbapenase phenotype was detected by the modified carbapenase inactivation method (mCIM) and EDTA modified carbapenase inactivation method (eCIM). The drug-resistance genes were amplified by polymerase chain reaction (PCR) and the sequencing was performed. **Results** Seventy-seven CRE strains were mainly isolated from the sputum specimen, followed by the urine and pleural effusion. The departments were mainly the craniocerebral surgery, intensive care medicine and stroke intensive care unit. Among the CRE strains, there were 33 strains of Klebsiella pneumoniae, 15 strains of Escherichia coli, 12 strains of Enterobacter cloacae and 17 strains of other bacteria. The sensitivity of the CRE strains to tigacycline was 97.4%, which to amikacin was 44.2%, which to cotrimoxazole was 39.0%, and which to other antibacterial drugs was lower than 20.0%. The sensitivity and specificity of mCTM for screening carbapenase strain were 95.9% and 100.0%, respectively. The PCR amplification results showed that 49 strains of CRE bacteria carried the NDM gene, 24 strains of CRE bacteria carried KPC gene, 1 strain of CRE bacterium carried IMP gene,

* **基金项目:**青岛大学附属医院“临床医学+X”科研项目(2019-3399);山东省日照市中医医院 2021 年度院级科研立项项目(RZZY2021LC-09)。

作者简介:侯素君,女,副主任技师,主要从事临床病原微生物耐药监测及耐药机制方面的研究。

and 3 strains did not detect carbapenemase gene. The gene sequencing comparison determined that the subtypes of drug resistance gene were bla_{KPC-2}, bla_{NDM-1} and bla_{IMP-4}. **Conclusion** The CRE strains are mainly *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* with strong drug resistance. The carbapenem resistant gene of *Klebsiella pneumoniae* is mainly bla_{KPC-2}, which of *Escherichia coli* is mainly bla_{NDM-1}, and which of *Enterobacter cloacae* is mainly bla_{NDM-1}. Clinic should strengthen the CRE strains monitoring. The antibacterial drugs should be reasonably selected according to the drug susceptibility test results to prevent its outbreaks and epidemic in the hospital.

Key words: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; bacterial resistance; drug resistance gene

当前,细菌耐药已成为全球公共健康领域的重大挑战,其中尤以碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌(CRE)引起的感染形势最为严峻,碳青霉烯类抗菌药物包括亚胺培南、美洛培南和厄他培南等,是治疗多重耐药革兰阴性杆菌所致感染最有效的抗菌药物之一。随着该类药物在临床的广泛应用,肠杆菌目细菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率呈逐年快速上升趋势^[1]。耐药细菌感染致住院时间延长、费用增加、病死率增高,在社区或医院中可引起散发,交叉传播,甚至导致暴发流行,对婴幼儿、老年人和免疫缺陷者的威胁巨大。因此,探讨医院 CRE 菌株的耐药表型和基因型,可以为医院 CRE 菌株感染的临床治疗和医院感染暴发的防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集 2020 年 7 月至 2023 年 1 月日照市中医医院临床患者标本中分离的 77 株 CRE 菌株,剔除同一患者同一部位重复分离的菌株。

1.2 质控菌株 大肠埃希菌 ATCC25922、肺炎克雷伯菌 ATCC700603、大肠埃希菌 ATCC700323、大肠埃希菌 ATCC35218、肺炎克雷伯菌 ATCCBAA1705、肺炎克雷伯菌 ATCCBAA2146 均由省临床检验中心提供。

1.3 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪(法国生物梅里埃公司)、Labnet C1301-230EU 型手掌形离心机(美国 Labnet 公司)、Bio-Rad MyCycler 型 PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司)、Eppendorf 5415R 型台式高速离心机(德国 Eppendorf 公司)、北京六一 DYC-31DN 型琼脂糖凝胶电泳仪(北京六一生物科技有限公司)、Bio-Rad 凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)、Bio-Rad 电泳槽(美国 Bio-Rad 公司)、2×Accurate Taq 预混液(湖南艾科瑞生物工程有限公司)、DL2000 DNA Marker(日本 TaKaRa 公司)、琼脂糖(日本 TaKaRa 公司)、4S Gel-red 核酸染料(香港 BBI Life Science Corporation)、Wizard Genomic DNA Purification Kit(美国 Promega 公司)、胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB,杭州滨和微生物试剂公司)、Etest 条(温州市康泰生物科技有限公司)、头孢哌酮/舒巴坦、替加环素药敏纸片均为英国 Oxoid 公司产品。

1.4 方法

1.4.1 菌株鉴定及药敏试验 菌株分离与培养严格按照《全国临床检验操作规程》(第 4 版)^[2]进行,使用

VITEK 2 Compact 全自动微生物分析仪进行菌株鉴定及药敏试验。药敏试验结果判断根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)最新版标准判断,收集临床标本中分离的肠杆菌目细菌药敏试验报告中亚胺培南、美洛培南最小抑菌浓度(MIC)≥4 μg/mL 或厄他培南≥2 μg/mL(已用 Etest 条复核)的菌株^[3]。

1.4.2 碳青霉烯酶表型确证试验 改良碳青霉烯酶灭活试验(mCIM)操作步骤:参照 CLSI 2020 年版 M100 操作标准,用 1 μL 接种环挑一满环菌落,加入 2 mL TSB 肉汤中乳化,振荡 10~15 s,每管放入 1 张含 10 μg 美洛培南的无菌纸片,确认纸片浸没于菌悬液中,35 ℃ 孵育 4 h,将美洛培南纸片贴于已涂布大肠埃希菌 ATCC25922 悬液的 MH 平板,35 ℃ 孵育 18~24 h,量取抑菌圈直径。乙二胺四乙酸(EDTA)改良碳青霉烯酶灭活试验(eCIM)操作步骤:另取一支试管,加入 2 mL TSB 肉汤,再加入 20 μL 0.5 mol/L EDTA 溶液混匀,EDTA 浓度最终为 5 mmol/L。其余步骤同 mCIM。mCIM 判断标准:美洛培南抑菌圈直径为 6~15 mm 或直径 16~18 mm 但抑菌圈内有散在菌落时,为碳青霉烯酶阳性;抑菌圈直径≥19 mm,为碳青霉烯酶阴性;抑菌圈直径为 16~18 mm 或直径为 19 mm 但抑菌圈内有散在菌落,则无法判断是否存在碳青霉烯酶,为碳青霉烯酶不确定^[4]。eCIM 判断标准:eCIM 与 mCIM 结果比较,美洛培南抑菌圈直径相差≥5 mm 为金属 β-内酰胺酶阳性,美洛培南抑菌圈直径相差≤4 mm 为金属 β-内酰胺酶阴性,待测菌株产丝氨酸蛋白酶。

1.4.3 基因检测 煮沸裂解法提取 DNA 模板,采用 PCR 扩增碳青霉烯酶耐药基因,扩增条件为 94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,52 ℃ 退火 40 s,72 ℃ 延伸 50 s,共 35 个循环;72 ℃ 再延伸 10 min。扩增后产物取 10 μL 通过 1.5% 琼脂凝胶电泳 30 min,最终在凝胶成像仪上观察结果。引物信息见表 1,引物序列查阅文献^[5]获得,由上海生工生物工程有限公司合成引物,并进行相应的测序分析,与目的基因、阳性对照条带位置的扩增产物送上海生工生物工程有限公司完成测序,基因序列在 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi> 进行比对,确定耐药基因亚型。

1.5 统计学处理 采用全国细菌耐药监测网提供的 Whonet5.6 软件收集药敏试验结果,使用 SPSS 21.0 统计软件进行分析,计数资料以例数或百分比表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 PCR 扩增碳青霉烯类耐药基因引物			
引物	引物序列(5'—3')	目的基因	产物长度 (bp)
NDM-F	GGTTTGCGCATCTGGTTTTC	bla _{NDM}	621
NDM-R	CGGAATGGCTCATCACGATC		
IMP-F	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC	bla _{IMP}	232
IMP-R	GGTTTAAAYAAAACAACCACC		
KPC-Fm	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	bla _{KPC}	798
KPC-Rm	CTTGTCATCCTTGTTAGGCG		
VIM-F	GATGGTGTTTGGTCGCATA	bla _{VIM}	390
VIM-R	CGAATGCGCAGCACCCAG		
OXA-48-F	GCGTGGTTAAGGATGAACAC	bla _{OXA-48}	438
OXA-48-R	CATCAAGTTCAACCCAACCG		

2 结 果

2.1 CRE 菌株的种类与临床分布 77 株 CRE 临床分离株中,肺炎克雷伯菌 33 株(42.9%)、大肠埃希菌 15 株(19.5%)、阴沟肠杆菌 12 株(15.6%)、弗劳地枸橼酸杆菌 7 株(9.1%)、雷氏普罗威登斯菌 3 株(3.9%)、产气肠杆菌 3 株(3.9%)、奇异变形杆菌 2

株(2.6%)、产酸克雷伯菌 2 株(2.6%)。77 株 CRE 菌株来源标本以痰液和尿液为主,其中分离自痰液 33 株(42.86%)、尿液 30 株(38.96%)、胸腔积液 6 株(7.79%)、穿刺液 5 株(6.49%)、脑脊液 2 株(2.60%)。77 株 CRE 菌株的科室分布:颅脑外科 23 株,重症医学科 10 株,脑卒中监护室 9 株,急诊科 6 株,泌尿外科 6 株,肺病科 5 株,肝胆胰脾科 3 株,胸外科 3 株,脑病科 2 株,心血管内科 2 株,骨六科 2 株,康复科 2 株,髌膝骨科 1 株,风湿肾病科 1 株,妇科 1 株,肿瘤科 1 株。

2.2 CRE 菌株药敏试验结果 77 株 CRE 菌株中超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)的检出率为 100.0%,对替加环素敏感性最高(97.4%),其次为阿米卡星(44.2%)、复方磺胺甲噁唑(39.0%),对其余抗菌药物的敏感性均低于 20.0%。大肠埃希菌对阿米卡星的敏感性为 80.0%,肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌对阿米卡星的敏感性分别为 48.5%和 50.0%。见表 2。

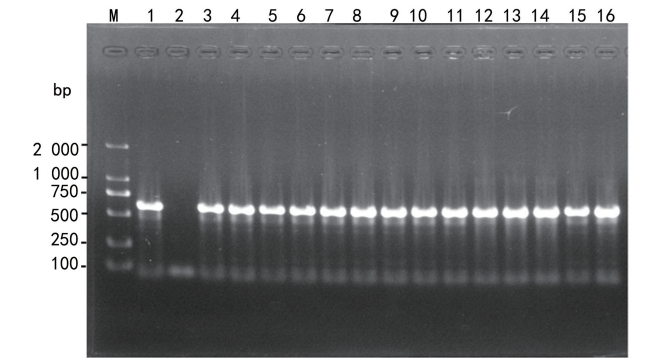
表 2 CRE 菌株对常用抗菌药物的药敏试验结果(%)								
抗菌药物	总计(n=77)		肺炎克雷伯菌(n=33)		大肠埃希菌(n=15)		阴沟肠杆菌(n=12)	
	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感
阿米卡星	55.8	44.2	51.5	48.5	20.0	80.0	50.0	50.0
头孢唑啉	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
头孢吡肟	89.6	10.4	87.9	12.1	80.0	20.0	91.7	8.3
头孢替坦	94.8	5.2	90.9	9.1	93.3	0.7	100.0	0.0
头孢呋辛	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
妥布霉素	83.1	16.9	69.7	30.3	86.7	13.3	91.7	8.3
庆大霉素	79.2	19.9	63.6	36.4	80.0	20.0	91.7	8.3
亚胺培南	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
氨曲南	80.5	19.5	97.0	3.0	20.0	80.0	83.3	16.7
美洛培南	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
呋喃妥因	98.8	1.2	93.9	6.1	54.4	46.6	100.0	0.0
头孢曲松	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
头孢他啶	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
环丙沙星	98.7	1.3	100.0	0.0	93.3	0.7	100.0	0.0
左氧氟沙星	89.6	10.4	84.8	15.2	86.7	13.3	91.7	8.3
复方磺胺甲噁唑	61.0	39.0	36.4	63.6	80.0	20.0	50.0	50.0
氨苄西林	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
替加环素	2.6	97.4	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0
头孢哌酮/舒巴坦	96.1	3.9	93.9	6.1	93.3	0.7	100.0	0.0
哌拉西林钠/他唑巴坦	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
阿莫西林/克拉维酸	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0

2.3 耐药基因扩增结果 77 株 CRE 菌株中 74 株产碳青霉烯酶,3 株未检出。其中,33 株肺炎克雷伯菌中 20 株携带 KPC 基因,12 株携带 NDM 基因,1 株未检出碳青霉烯酶,主要产 KPC(60.6%);15 株大肠埃希菌中 12 株携带 NDM 基因,3 株携带 KPC 基因,主要产 NDM(80.0%);12 株阴沟肠杆菌携带 NDM 基因(100.0%);7 株耐弗劳地枸橼酸杆菌携带 NDM 基因(100.0%);3 株雷氏普罗威登斯菌中 2 株携带 NDM 基因,1 株未检出碳青霉烯酶;3 株产气肠杆菌中 1 株携带 NDM 基因,1 株携带 KPC 基因,1 株未检

出碳青霉烯酶;2 株产酸克雷伯菌中 1 株携带 NDM 基因,1 株携带 IMP 基因;2 株奇异变形杆菌携带 NDM 基因。碳青霉烯酶基因型中 NDM 占 66.2%(49/74),KPC 占 32.4%(24/74),IMP 占 1.4%(1/74)。琼脂电泳图见图 1~3。

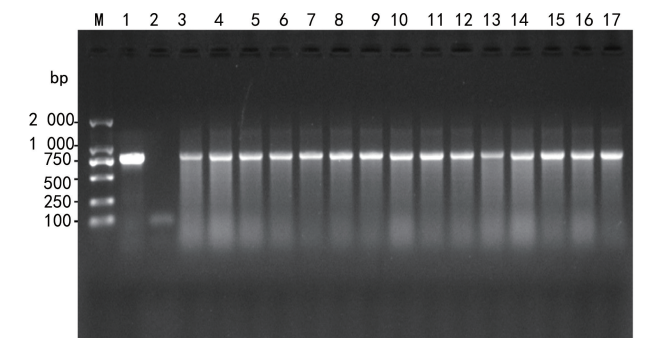
2.4 碳青霉烯酶表型试验结果 74 株携带碳青霉烯酶基因的 CRE 菌株,其中 71 株 mCIM 试验阳性,3 株 mCIM 试验均阴性,mCIM 筛选碳青霉烯酶菌株的灵敏度为 95.9%,特异度为 100.0%。mCIM 阳性菌株中,肺炎克雷伯菌 32 株,大肠埃希菌 15 株,阴沟肠

杆菌 12 株, 弗劳地枸橼酸杆菌 7 株, 奇异变形杆菌 2 株, 产气肠杆菌 1 株, 产酸克雷伯菌 1 株, 雷氏普罗威登斯菌 1 株。mCIM 结合 eCIM 试验初步判断产金属 β -内酰胺酶 51 株 (mCIM 阳性, eCIM 阳性), 产丝氨酸蛋白酶 20 株 (mCIM 阳性, eCIM 阴性)。



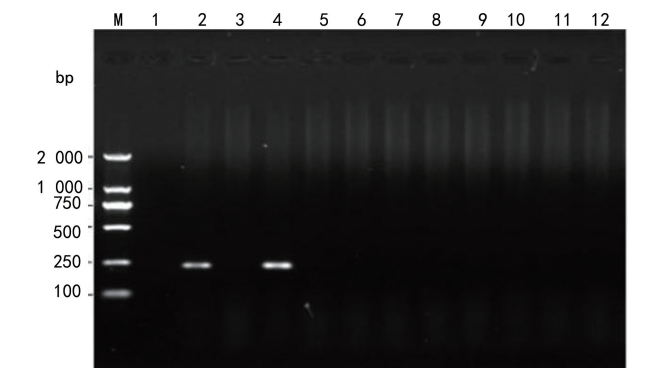
注: M 为 DL2000 DNA 标志物; 1 为 bla_{NDM} 阳性对照; 2 为 bla_{NDM} 阴性对照; 3~16 为临床菌株 bla_{NDM} 阳性。

图 1 PCR 扩增菌株 bla_{NDM} 基因的电泳图



注: M 为 DL2000 DNA 标志物; 1 为 bla_{KPC} 阳性对照; 2 为 bla_{KPC} 阴性对照; 3~17 为临床菌株 bla_{KPC} 阳性。

图 2 PCR 扩增菌株 bla_{KPC} 基因的电泳图



注: M 为 DL2000 DNA 标志物; 1 为 bla_{IMP} 阳性对照; 2 为 bla_{IMP} 阴性对照; 4 为临床菌株 bla_{IMP} 阳性; 3、5~12 为临床菌株 bla_{IMP} 阴性。

图 3 PCR 扩增菌株 bla_{IMP} 基因的电泳图

2.5 基因测序 耐药基因扩增结果将与目的基因、阳性对照条带位置的扩增产物送上海生工生物工程有限公司完成测序, 基因序列在 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi> 进行比对, 确定耐药基因型为 bla_{KPC-2} 、 bla_{NDM-1} 、 bla_{IMP-4} 。

3 讨论

CRE 是当前最受关注的耐药威胁之一, 我国 CRE 的流行情况也比较严重。中国 CHINET 细菌耐

药性监测数据表明, 2005 年碳青霉烯类抗菌药物对肠杆菌目细菌保持着较高的抗菌活性, 耐药率低于 2%; 到 2010 年, 耐药率明显上升, 达到 5%; 肺炎克雷伯菌的耐药率已高达 10%^[6]。2018 年肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率全国平均为 10.1%^[7], 2021 年肺炎克雷伯菌耐药率上升到 23.1%^[8], 肠杆菌目细菌对碳青霉烯类抗菌药物最常见的耐药机制为产碳青霉烯酶^[9]。因此, 快速、准确地检测本院耐药菌是否产碳青霉烯酶, 了解 CRE 菌株基因分型对于临床治疗和医院感染控制至关重要。

本研究 77 株 CRE 菌株中, 肺炎克雷伯菌占 42.9%, 大肠埃希菌占 19.5%, 阴沟肠杆菌占 15.6%, 其他肠杆菌目细菌占 22.0%, 与陆书华等^[10]、崔超琼等^[11]的研究结果接近; 主要碳青霉烯酶基因型中 NDM 占 66.2% (49/74), KPC 占 32.4% (24/74), IMP 占 1.4% (1/74)。CRE 菌株主要分离自痰液、尿液、胸腔积液, 也可分离自脑脊液、血液、穿刺液等, 说明耐药株引起的感染并不仅限于呼吸、泌尿系统, 还可能引起颅内、血流、胸腔等多部位感染, 其感染的广泛性应引起临床重视。CRE 菌株科室分布主要是颅脑外科、重症医学科、脑卒中监护室, 这与重症监护室患者病情的复杂性、病情危重、免疫力低下、糖皮质激素和高效广谱抗菌药物长期应用, 以及侵入性操作治疗较多有关。本研究药敏试验结果显示, 77 株 CRE 菌株对青霉素类、头孢菌素类、头霉素类耐药率均为 90% 以上, 与王珍珍等^[12]研究结果一致, 临床应慎重经验用药, 对替加环素、阿米卡星、复方磺胺甲噁唑耐药率分别为 2.6%、55.8%、61.0%^[13], 临床可选择这些药物治疗感染者。

按照 Ambler 分子分类方法可将碳青霉烯酶分为 3 类: (1) A 类丝氨酸碳青霉烯酶, 以 KPC 为主, 该酶活性可被阿维巴坦抑制, 产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素或头孢他啶/阿维巴坦敏感; (2) B 类金属 β -内酰胺酶, 以 NDM 型金属酶为主, 该酶活性不能被阿维巴坦抑制, 产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素敏感, 少数菌株对氨曲南敏感; (3) D 类丝氨酸碳青霉烯酶, 以 OXA-48 为主, 常见于儿童患者分离的肺炎克雷伯菌, 该酶活性可被阿维巴坦抑制, 产酶菌株通常仅对替加环素、多黏菌素或头孢他啶/阿维巴坦敏感。CRE 感染的治疗具有挑战性, 应根据药敏试验结果、耐药表型或基因分型、感染的严重程度, 选择有效的治疗方案。本研究利用 CLSI 推荐的 mCIM 和 eCIM 试验联合检测碳青霉烯酶表型, mCIM 筛选碳青霉烯酶菌株的灵敏度为 95.9%, 特异度为 100.0%^[1], 与之符合, 结合 eCIM 试验初步判断产金属 β -内酰胺酶 51 株, 产丝氨酸蛋白酶 20 株。mCIM 试验操作简单, 成本低, 不需要特殊试剂, 灵敏度和特异度高, 适合所有微生物室开展。mCIM 与 eCIM 联合检测筛选碳青霉烯酶表型, 对临床选择用药具有重要意义。

PCR 扩增结果显示, 77 株 CRE 菌株中 74 株产

碳青霉烯酶, 3 株未检出, 而 ESBLs 的检出率为 100.0%, 可能为高产头孢菌素酶(AmpC)或高产 ESBLs 合并外膜孔蛋白缺失或变异以及细菌外排泵系统改变所致^[14]。目前常见的碳青霉烯酶为 KPC、VIM、NDM、IMP 和 OXA, 国内以 KPC、NDM 和 IMP 为主^[15]。本研究 77 株菌株主要流行的碳青霉烯酶基因型依次为 NDM(66.2%)、KPC(32.4%)和 IMP(1.4%), 以 NDM 和 KPC 为主^[16]。河南部分地区和海南省 5 家综合医院收集的 CRE 菌株中, 主要的耐药基因型也是 NDM^[17-18], 本研究耐药基因 KPC 的检出率低于 NDM, 77 株 CRE 菌株中, 仅有 1 株耐碳青霉烯产酸克雷伯菌检出 IMP 基因。97.0%(32/33)的肺炎克雷伯菌、100.0%(15/15)的大肠埃希菌, 100.0%(12/12)的阴沟肠杆菌携带碳青霉烯酶基因。碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌主要携带 KPC-2 基因^[19], 碳青霉烯类耐药大肠埃希菌和阴沟肠杆菌主要携带 NDM-1 基因, 与陆书华等^[10]报道一致。KPC 和 NDM 耐药基因均可由质粒介导, 通过菌株自身克隆以及不同菌种间水平转移, 是 CRE 流行激增的主要原因。KPC-2 和 NDM-1 可水解绝大多数 β -内酰胺药物, 包括碳青霉烯类, 不同之处在于 KPC-2 为丝氨酸蛋白酶, 水解氨曲南, 能被新型酶抑制剂阿维巴坦所抑制, 而 NDM-1 为金属酶, 不水解氨曲南, 不被阿维巴坦、韦博巴坦等抑制。

总之, CRE 呈现广泛耐药甚至全耐药的特征, 使临床抗感染治疗面临无药可用的困境, 导致感染患者病死率高。实验室应快速鉴别产碳青霉烯酶菌株, 选择早期快速筛查的方法, 加快开展联合药敏试验, 有效降低 CRE 感染患者的病死率^[20]。临床医生应掌握医院 CRE 临床分布特征及耐药基因、细菌耐药情况, 根据药敏试验结果合理选用抗菌药物; 院感防控部门需加强监督检查, 共同遏制 CRE 菌株在不同患者和不同区域间流行播散, 降低医院 CRE 感染发生率。

参考文献

- [1] 喻华, 徐雪松, 李敏, 等. 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[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(6): 671-680.
- [2] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 560-851.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Facility guidance for control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae(CRE) [EB/OL]. [2023-04-15]. <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/cre-guidance-508.pdf>.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S30[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2020.

- [5] POIREL L, WALSH T R, CUVILLIER V, et al. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 70(1): 119-123.
- [6] 周宏伟, 胡燕燕, 张嵘. 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌的检测方法[J]. 检验医学, 2020, 10(35): 971-973.
- [7] 国家卫生计生委合理用药专家委员会, 全国细菌耐药监测网. 2018 年全国细菌耐药监测报告[J]. 中国合理用药探索, 2020, 17(1): 1-10.
- [8] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(5): 521-530.
- [9] TZOUVELEKIS L, 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.
- [10] 陆书华, 李晓哲, 刘凌云, 等. 山东某院耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌临床感染特征及耐药基因分析[J]. 检验医学, 2020, 35(8): 757-762.
- [11] 崔超琼, 周义正, 李承彬, 等. 耐碳青霉烯肠杆菌科细菌的耐药性和分子特征[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(17): 2455-2459.
- [12] 王珍珍, 赵战勤, 常永超, 等. 耐碳青霉烯革兰阴性杆菌耐药性及耐药基因 blaKPC 的分子特征[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 10(19): 857-863.
- [13] 杨玉琪, 刘家云, 徐修礼, 等. 某院耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的临床分布特点及药物敏感性分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(1): 1-5.
- [14] 刘家旭, 汪志勇. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药机制及流行高危因素的研究进展[J]. 贵州医药, 2020, 44(4): 543-546.
- [15] 孙艳. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药机制及实验室检测研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4): 2011-2016.
- [16] 王素梅, 张键东, 王宇凡, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药基因分型[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(17): 2566-2570.
- [17] LIU C, QIN S, XU H, et al. New delhi metallo- β -lactamase 1 (NDM-1), the dominant carbapenemase detected in carbapenem-resistant enterobacter cloacae from henan province, China[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135044.
- [18] 苏屿, 李天娇, 龙文芳, 等. 海南耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的耐药基因分析[J]. 中国抗菌药物杂志, 2018, 43(9): 96-100.
- [19] 冯渐焘, 陈爱文, 李笃军, 等. 携带 blaKPC-3 基因肺炎克雷伯菌新生儿分离株的研究[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(9): 1453-1457.
- [20] 丁丽, 陈佰义, 李敏, 等. 碳青霉烯类耐药革兰阴性菌联合药敏试验及报告专家共识[J]. 中国感染与化疗杂志 2023, 23(1): 80-90.