

# 肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶基因型研究

冯丽娜 李从荣 杨勇文 姜树朋 蔡璇 李娟 冯锴 郭静

**【摘要】目的** 探讨对碳青霉烯类抗菌药物敏感性降低的肠杆菌科细菌携带碳青霉烯酶基因的类型。**方法** 收集2016年2月至2017年2月武汉大学人民医院分离自临床的87株对碳青霉烯类抗菌药物敏感性降低的肠杆菌科细菌。运用改良Hodge试验进行碳青霉烯酶的表型确证。PCR检测碳青霉烯酶基因: blaKPC、blaNDM、blaIMP、blaVIM。将PCR产物纯化后进行测序, 运用 SeqMan软件对测序结果进行拼接后在NCBI网站BLAST比对, 得到碳青霉烯酶基因亚型。**结果** 87株碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌中, 产碳青霉烯酶菌株检出率为70.1%, 携带blaKPC-2、blaNDM-1、blaNDM-5、blaIMP-4和blaVIM-1的菌株分别为29、16、11、7和1株。产碳青霉烯酶最多的肠杆菌科细菌为肺炎克雷伯菌(33株), 其次为大肠埃希菌(15株), 肺炎克雷伯菌以产KPC型碳青霉烯酶为主, 而大肠埃希菌仅产NDM型碳青霉烯酶。改良Hodge试验检测碳青霉烯酶的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为93.4%、96.2%、98.3%和86.2%, 可准确检测KPC-2和NDM-5型碳青霉烯酶。碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南和美罗培南的不敏感率分别为93.1%和79.3%, 产KPC和NDM肠杆菌科细菌对青霉素类、除第四代头孢菌素以外的头孢菌素类、碳青霉烯类及加酶抑制剂的复合制剂耐药率均为100%, 对其他临床常用抗菌药物的耐药率均保持在较高水平。**结论** 本院碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌株主要产KPC-2、NDM-1和NDM-5型碳青霉烯酶。

**【关键词】** 碳青霉烯类抗菌药物; 肠杆菌科细菌; 改良Hodge试验; 碳青霉烯酶; 基因型

**The carbapenemase genotypes in carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae strains** Feng Lina, Li Congrong, Yang Yongwen, Jiang Shupeng, Cai Xuan, Li Juan, Feng Kai, Guo Jing. Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Li Congrong, Email: conrongli33@hotmail.com

**【Abstract】Objective** To investigate the type of carbapenem gene carried by *Enterobacteriaceae* bacteria with low susceptibility to carbapenems. **Methods** Total of 87 carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* strains isolated from clinical samples in Renmin Hospital of Wuhan University from February 2016 and February 2017 were collected. The phenotypes of carbapenemases were identified by Modified Hodge Test. The carbapenemase genes (blaKPC, blaNDM, blaIMP and blaVIM) were detected by PCR. And the nucleotide sequences were compared with the sequences available by BLAST comparison on NCBI. **Results** The detection rate of carbapenemase-producing strains was 70.1% among 87 carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* strains. The strains carrying blaKPC-2, blaNDM-1, blaNDM-5, blaIMP-4 and blaVIM-1 were 29 strains, 16 strains, 11 strains, 7 strains and 1 strain, respectively. The most common carbapenemase-producing strains were *Klebsiella pneumoniae* (33 strains) and followed by *Escherichia coli* (15 strains). *Klebsiella pneumoniae* mainly produced KPC-carbapenemase and *Escherichia coli* only produced NDM-carbapenemase. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of Modified Hodge Test for carbapenemase were 93.4%, 96.2%, 98.3% and 86.2%, respectively. And the insensitivity rates of carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* strains to imipenem and meropenem

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.04.005

基金项目: 国家临床重点专科建设项目 (No. 财社 [2010] 305)

作者单位: 430060 武汉市, 武汉大学人民医院检验医学中心

通信作者: 李从荣, Email: conrongli33@hotmail.com

were 93.1% and 79.3%, respectively. The resistance rates of KPC and NDM-producing *Enterobacteriaceae* strains to penicillins, cephalosporins, carbapenems and compound preparation with enzyme inhibitors were all 100%. **Conclusions** The carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* strains isolated from our Hospital mainly produced KPC-2, NDM-1 and NDM-5 carbapenemases.

**【Key words】** Carbapenem; Enterobacteriaceae; Modified Hodge test; Carbapenemases; Genotypes

碳青霉烯类抗菌药物是目前抗菌谱最广、抗菌活性最强的非典型β-内酰胺类抗菌药物,因其具有对超光谱β-内酰胺酶和头孢菌素酶高度稳定的特点,已成为临床治疗严重细菌感染最重要的抗菌药物之一。近年来,随着碳青霉烯类抗菌药物在临床中的广泛应用,对碳青霉烯类抗菌药物耐药的肠杆菌科细菌也随之出现并逐渐增多<sup>[1-12]</sup>。产碳青霉烯酶是肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物最主要、亦是最重要的耐药机制<sup>[13-14]</sup>,自2001年美国北卡罗来纳州首次检出产碳青霉烯酶的肺炎克雷伯菌后<sup>[15]</sup>,世界各地不断有产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的报道<sup>[16-20]</sup>。2004年,浙江1例75岁ICU患者的留检样本中首次检出产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌<sup>[21]</sup>。世界卫生组织将产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌作为人类健康的一大威胁<sup>[22]</sup>。

为探讨武汉大学人民医院碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌的碳青霉烯酶基因型分布,为医院感染控制提供依据,本研究收集临床分离的87株碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌,进行碳青霉烯酶表型和肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, KPC)、新德里金属-β-内酰胺酶(New Delhi metallo-beta-lactamase, NDM)、亚胺培南水解酶(imipenemase, IMP)和维罗纳整合子编码金属β-内酰胺酶(Verona integron-encoded metallo-β-lactamase, VIM)共4种碳青霉烯酶基因型的检测,现报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象和一般资料

1. 研究对象:收集本院2016年2月至2017年2月自临床送检标本中分离的对碳青霉烯类抗菌药物[亚胺培南和(或)美罗培南]敏感性降低(MIC≥2 μg/ml)的肠杆菌科细菌87株作为研究对象,剔除同一患者相同部位分离的重复菌株。

2. 质控菌株:质控菌株为*E.coli* ATCC<sup>®</sup>

25922、*E.coli* ATCC<sup>®</sup> 35218(监控β-内酰胺酶/β-内酰胺酶抑制剂复合物)、*K.pneumoniae* ATCC<sup>®</sup> BAA-1705和*K.pneumoniae* ATCC<sup>®</sup> BAA-1706。质控菌株均由卫生部临床检验中心提供。

3. 主要试剂:哥伦比亚血平板和MH琼脂平板(广州市迪景微生物科技有限公司)、药敏纸片(英国OXOID公司)、2× Taq PCR Master Mix和无核酶水(上海莱枫公司)、PCR引物(武汉金开瑞生物合成有限公司)、Gel-Red核酸染料(北京Biotech公司)、DL1000 DNA Marker(大连宝生物公司)。

4. 主要仪器:全自动细菌鉴定药敏系统(美国BD公司Phoenix-100)、MALDI-TOF MS质谱仪(布鲁克科技有限公司)、Vortex-5涡旋振荡器(郑州南北集团)、Thermo Heraeus Multifuge X1R高速离心机(美国Thermo公司)、5430 R小型台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司)、NanoDrop 2000c分光光度计(美国Thermo公司)、Veriti梯度PCR仪(美国ABI公司)、DYY-6C型电泳仪(北京六一仪器厂)、G:BOX Chemi XT4全自动凝胶成像分析系统(英国SYNGENE公司)。

### 二、方法

1. 菌株鉴定及药敏检测:菌株鉴定和药物敏感性检测采用美国BD公司的Phoenix-100全自动细菌鉴定药敏系统,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)(Bruker公司)复核鉴定结果,Kirby-Bauer(K-B)法或E-test法复核药敏结果。

2. 碳青霉烯酶表型检测:改良Hodge试验及结果解释参照CLSI M100S(第26版)标准进行操作<sup>[23]</sup>。

3. DNA模板提取:用一次性无菌接种环取约5个于哥伦比亚血平板上培养16~20 h的新鲜菌株,将其加入含500 μl无菌去离子水的EP管中,漩涡混匀制成菌悬液,100℃加热10 min、13 000 r/min离心10 min后取300 μl上清于新的EP管中,使用Nano Drop 2000/2000c分光光度计(Thermo Fisher

Scientific, USA) 检测上清中DNA的浓度及纯度, 将DNA浓度稀释至50 ng/μl, -20℃保存备用。

4. 碳青霉烯酶基因扩增: 基因扩增引物在 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> 网站上进行设计, 设计好的引物由武汉金开瑞生物工程有限公司合成。引物序列见表1。PCR反应体系的总体积为20 μl: 2× Taq PCR Master Mix 10 μl、10 μmol/L引物 1 μl、DNA模板1.5 μl、ddH<sub>2</sub>O 7.5 μl, PCR扩增条件为: 95℃预变性5 min, 95℃ 45 s、60℃ 45 s、72℃ 45 s循环32次, 72℃延伸10 min。PCR产物经2.0%琼脂糖凝胶电泳(90 V、40 min)后, 在凝胶成像系统中进行观察。

5. 碳青霉烯酶基因测序及比对: PCR产物委托武汉金开瑞生物工程有限公司进行双向测序, 运用SeqMan软件对测序结果进行拼接, 然后在NCBI网站BLAST比对, 得到碳青霉烯酶基因亚型。

## 结 果

一、碳青霉烯类抗菌药物敏感性降低的肠杆菌科细菌菌株分布

2016年2月至2017年2月由武汉大学人民医院临床分离的肠杆菌科细菌中共收集到碳青霉烯类抗菌药物敏感性降低的肠杆菌科细菌87株, 包括肺炎克雷伯菌38株(43.7%)、大肠埃希菌20株(23.0%)、产气肠杆菌10株(11.5%)、阴沟肠杆菌8株(9.2%)、产酸克雷伯菌5株(5.7%)、弗劳地枸橼酸杆菌3株、摩根摩根菌2株和非脱羧勒克菌1株。这些菌株主要分离自尿液标本(37株, 42.5%), 其次为痰标本(23株、26.4%)和血液标本(10株、11.5%); 分布科室以重症医学科(13株、14.9%)和泌尿外科(12株、13.8%)为主, 其次为肿瘤科(11株、12.6%)和ICU病区

(11株、12.6%)。

二、肠杆菌科细菌对抗菌药物的耐药情况

87株碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌及产KPC和NDM型碳青霉烯酶肠杆菌科细菌对20种抗菌药物的耐药情况见表2。

三、碳青霉烯酶表型检测

87株碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌中, 改良Hodge试验阳性58株。以碳青霉烯酶基因检测结果为金标准逐一检测到任一种及以上碳青霉烯酶基因, 即判定菌株产碳青霉烯酶。改良Hodge试验检测碳青霉烯酶的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为93.4%、96.2%、98.3%和86.2%, 详见表3。

四、碳青霉烯酶基因检测

87株碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌中, 携带碳青霉烯酶基因的菌株有61株(70.1%), 携带blaKPC、blaNDM、blaIMP和blaVIM的菌株分别有29、27、7和1株, 其中有三株菌株同时携带两种碳青霉烯酶基因(KPC和NDM、NDM和IMP、NDM和VIM), 各基因电泳图谱见图1。携带碳青霉烯酶基因最多的肠杆菌科细菌为肺炎克雷伯菌(33株)和大肠埃希菌(15株), 肺炎克雷伯菌以产KPC型碳青霉烯酶为主, 而大肠埃希菌仅产NDM型碳青霉烯酶; 其次为产酸克雷伯菌(7株)和阴沟肠杆菌(5株), 详见表4。

五、碳青霉烯酶基因亚型

29株携带blaKPC的肠杆菌科细菌均产KPC-2型碳青霉烯酶; 27株携带blaNDM的肠杆菌科细菌有16株产NDM-1型碳青霉烯酶, 11株产NDM-5型碳青霉烯酶; 7株携带blaIMP的肠杆菌科细菌均产IMP-4型碳青霉烯酶; 1株携带blaVIM的肠杆菌科细菌产VIM-1型碳青霉烯酶。

表1 碳青霉烯酶基因扩增引物

产物	编码基因	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)	退火温度(℃)
肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶	blaKPC	F: ATCGCCGTCTAGTTCTGCTG R: TCGCTGTGCTTGTATCCTT	811	60
新德里金属β-内酰胺酶	blaNDM	F: AGGACAAGATGGGCGGTATG R: CTTGGCCTTGCTGTCCCTTGA	281	60
亚胺培南水解酶	blaIMP	F: GGGCGGAATAGAGTGGCTTA R: GTGATGCGTCTCCAGCTTCA	365	60
维罗纳整合子编码金属β-内酰胺酶	blaVIM	F: GAGCCGAGTGGTGAGTATCC R: GAATCTCGTTCCCCTCTGCC	370	60

注: F: Forward primer (前引物); R: Reverse primer (后引物)



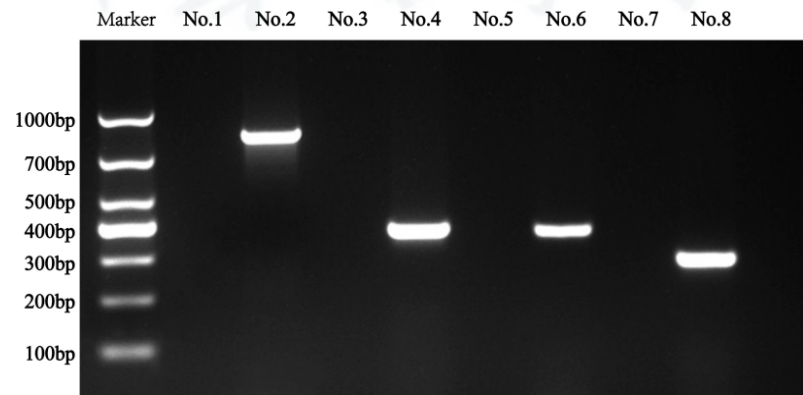
表 2 87 株碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌及产 KPC 和 NDM 菌株对抗菌药物的敏感性 (%)

抗菌药物	87株肠杆菌科细菌比例			产KPC肠杆菌科细菌株数比例			产NDM肠杆菌科细菌株数比例		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
氨苄西林	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
哌拉西林	87.7	3.7	8.6	100	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
氨苄西林/舒巴坦	93.6	3.2	3.2	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
阿莫西林/克拉维酸	96.9	3.1	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
哌拉西林/他唑巴坦	80.5	3.4	16.1	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
头孢唑林	98.8	1.2	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
头孢他啶	87.2	0	12.8	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
头孢噻肟	84.9	3.5	11.6	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
头孢吡肟	79.4	1.1	19.5	96.6	0.0	3.4	100.0	0.0	0.0
氨曲南	73.3	4.7	22.0	100.0	0.0	0.0	70.4	3.7	25.9
亚胺培南	78.2	14.9	6.9	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
美罗培南	74.7	4.6	20.7	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
庆大霉素	65.5	0.0	34.5	75.9	0.0	24.1	85.2	0.0	14.8
阿米卡星	34.5	0.0	65.5	69.0	0.0	31.0	22.2	0.0	77.8
环丙沙星	74.4	5.8	19.8	100.0	0.0	0.0	85.2	7.4	7.4
左氧氟沙星	70.1	2.3	27.6	100.0	0.0	0.0	81.5	0.0	18.5
莫西沙星	73.5	4.1	22.4	100.0	0.0	0.0	84.2	5.3	10.5
复方新诺明	51.2	0.0	48.8	14.3	0.0	85.7	88.9	0.0	11.1
氯霉素	49.3	16.0	34.7	52.2	26.1	21.7	50.0	12.5	37.5
四环素	52.4	0.0	47.6	22.2	0.0	77.8	76.0	0.0	24.0

注：R: resistant (耐药)；I: intermediate (中介)；S: susceptible (敏感)

表 3 改良 Hodge 试验结果基因检测结果 (株)

碳青霉烯酶基因检测	改良Hodge试验		合计
	+	-	
+	57	4	61
-	1	25	26
合计	58	29	87



注：No.1、No.3、No.5、No.7：空白对照；No.2: blaKPC (811 bp)；No.4: blaVIM (370 bp)；No.6: blaIMP (365 bp)；No.8: blaNDM (281 bp)

图1 blaKPC、blaNDM、blaIMP和blaVIM扩增产物电泳图谱

表4 碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌携带碳青霉烯酶基因型 [例 (%) ]

菌株	碳青霉烯类抗菌药物不敏感 肠杆菌科细菌	blaKPC	blaNDM	blaIMP	blaVIM	产酶菌株合计
肺炎克雷伯菌	38 (43.7)	28 (32.1)	2 (2.3)	3 (3.4)	0 (0.0)	33 (37.9)
大肠埃希菌	20 (23.0)	0 (0.0)	15 (17.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (17.2)
产气肠杆菌	10 (11.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.2)	0 (0.0)	1 (1.2)
阴沟肠杆菌	8 (9.2)	0 (0.0)	3 (3.4)	2 (2.3)	0 (0.0)	5 (5.8)
产酸克雷伯菌	5 (5.7)	1 (1.2)	4 (4.6)	1 (1.2)	1 (1.2)	7 (8.0)
弗劳地枸橼酸杆菌	3 (3.4)	0 (0.0)	2 (2.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.3)
摩根摩根菌	2 (2.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
非脱羧勒克菌	1 (1.2)	0 (0.0)	1 (1.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.2)
碳青霉烯酶基因合计	87 (100.0)	29 (33.3)	27 (31.0)	7 (8.1)	1 (1.2)	64 <sup>a</sup> (73.6)

注：<sup>a</sup>：有3株菌株同时携带两种碳青霉烯酶基因（KPC和NDM、NDM和IMP、NDM和VIM），因此产酶菌株数合计应为61（64-3）株

## 讨 论

碳青霉烯类抗菌药物常用于治疗重症感染及多重耐药菌和第三、四代头孢菌素疗效不理想的感染，被认为是治疗临床耐药革兰阴性菌的最后一道防线<sup>[24]</sup>。1998年至2004年美国SENTRY监测并未发现对碳青霉烯类抗菌药物不敏感的肠杆菌科细菌<sup>[25]</sup>，但2005年后，世界各地关于碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌的报道逐渐增多。据CHINET细菌耐药性监测显示<sup>[1-12]</sup>，我国肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南、美罗培南和厄他培南的耐药率从2008年的0.8%、0.9%和1.5%分别上升到2015年的7.2%、8.0%和5.5%。研究显示，本院对碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌主要为肺炎克雷伯菌，与相关研究报道结果一致<sup>[26-29]</sup>；其次为大肠埃希菌（23.0%）。碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物亚胺培南和美罗培南的不敏感率分别为93.1%和79.3%，高于吴娜等<sup>[27]</sup>研究结果（分别为76.5%和72.9%）。

改良Hodge试验是CLSI推荐的碳青霉烯酶表型检测方法<sup>[23]</sup>。本研究中，改良Hodge试验检测碳青霉烯酶的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为93.4%、96.2%、98.3%和86.2%。有4株菌株出现假阴性，表明改良Hodge试验检测碳青霉烯酶存在一定漏检。研究表明，约25%不产碳青霉烯酶菌株会出现改良Hodge试验假阳性，因这些菌株产超广谱β-内酰胺酶（ESBLs）或头孢菌素酶（AmpC），故认为该菌株可能产ESBLs或AmpC酶，导致其出现改良Hodge试验假阳性结果<sup>[30]</sup>。碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌碳青霉烯酶基因携带率为70.1%，提示本院肠杆菌科细菌对碳

青霉烯类抗菌药物耐药主要是由于细菌产碳青霉烯酶。根据β-内酰胺酶分子结构中氨基酸序列差异，可将β-内酰胺酶分为A、B、C、D四类，其中具有水解碳青霉烯类抗菌药物活性的酶称为碳青霉烯酶，因而碳青霉烯酶也相应分为4类<sup>[22]</sup>。目前已知的A类碳青霉烯酶主要包括KPC、GES-2、NMC-A、SME和SFC，KPC是目前临床上最重要的A类碳青霉烯酶；因B类碳青霉烯酶的活性依赖于Zn<sup>2+</sup>存在，故也称为金属β-内酰胺酶，代表有NDM、IMP和VIM<sup>[13]</sup>。研究显示，本院碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌主要产KPC-2型碳青霉烯酶，其次为NDM-1和NDM-5型碳青霉烯酶。

1996年，美国北卡罗来纳州某家医院的重症监护病房的一株肺炎克雷伯菌中首次分离得到KPC-1型碳青霉烯酶<sup>[15]</sup>，此后短短几年时间内，KPC阳性菌株已在全球范围内播散<sup>[33]</sup>。迄今为止，已发现KPC亚型22种<sup>[34]</sup>，其中KPC-2和KPC-3最为流行和普遍。目前，美国、中国、意大利、以色列、阿根廷、哥伦比亚、希腊和波兰等国家已有产KPC-2和KPC-3肺炎克雷伯菌暴发流行的相关报道<sup>[35]</sup>。KPC主要产自以肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌为代表的肠杆菌科细菌，但除肠杆菌科细菌外，许多非肠杆菌科细菌，比如气单胞菌属、假单胞菌属和不动杆菌属，同样可以产KPC<sup>[34]</sup>。本院产KPC肠杆菌科细菌对青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、碳青霉烯类及加酶抑制剂的复合制剂耐药率均为100%，仅对少数抗菌药物如复方新诺明和四环素保持一定的敏感性。Papp-Wallace等<sup>[36]</sup>研究结果显示，KPC能有效水解几乎所有β-内酰胺类抗菌药物，除上述抗菌药物外，还包括头霉素类和单环β-内酰胺类抗菌药物。

NDM-1首次发现于1例长期在印度住院的瑞典

患者体内,此后,NDM-1在多个国家均有检出<sup>[13]</sup>。多种革兰阴性菌可产NDM-1,尤其是肠杆菌科和不动杆菌属细菌<sup>[37]</sup>。通过在不同位置单个或者两个氨基酸残基的取代,NDM-1可衍生出新的变体<sup>[24]</sup>。NDM-5是NDM-1变体之一,与NDM-1只存在两个氨基酸的差异<sup>[38]</sup>,目前关于NDM-5的研究报道尚少。迄今为止,已有17种NDM-1的变体被检出<sup>[23]</sup>。NDM可广泛水解 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物,如青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、氨基糖苷类,尤其是碳青霉烯类抗菌药物<sup>[24]</sup>。

碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌为临床抗感染治疗和医院感染控制带来巨大挑战:①耐药性强,碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌几乎能水解临床常用的抗菌药物,使临床对此类细菌引起的感染面临无药可治的境地<sup>[39]</sup>;②传播范围广,碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌的耐药基因可通过质粒、转座子等遗传元件在不同细菌和不同国家间传播<sup>[35, 40]</sup>;③现有感染无法控制,可能会使基础疾病加重或变得复杂,有研究指出,携带碳青霉烯酶基因的细菌会引起患者更加严重的感染和更高的病死率<sup>[41]</sup>,而胡付品等<sup>[42]</sup>认为,产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌感染是导致住院患者死亡的独立危险因素。因此,积极有效的防治措施尤为重要:①感染监控不仅在抗感染治疗中扮演重要角色,且能防止耐药菌的有效传播;②抗菌药物的有效管理及合理使用可延缓细菌耐药性产生的速度;③新抗菌药物的研发及应用可使耐药菌引起的感染得到有效控制。

综上,本院碳青霉烯类抗菌药物不敏感肠杆菌科细菌主要产KPC-2型碳青霉烯酶,其次为NDM-1和NDM-5型碳青霉烯酶。产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌耐药性强,医院相关部门应加强监测,防止其产生和播散。

### 参 考 文 献

- [1] 汪复. 2005年中国CHINET细菌耐药性监测结果[J]. 中国感染与化疗杂志,2006,6(5):289-295.
- [2] 汪复. 2006年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(1):1-9.
- [3] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2007年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(5):325-333.
- [4] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2008年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2009,9(5):321-329.
- [5] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2009年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(5):325-34.
- [6] 朱德妹,汪复,胡付品,等. 2010年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2011,11(5):321-329.
- [7] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2011年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(5):321-329.
- [8] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(5):321-330.
- [9] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2014,14(5):365-374.
- [10] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2014年CHINET中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2015,15(5):401-410.
- [11] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2015年CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2016,16(6):685-94.
- [12] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2016年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2017,17(5):481-491.
- [13] Patel G, Bonomo RA. Status report on carbapenemases: challenges and prospects[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2011,9(5):555-570.
- [14] Falagas ME, Lourida P, Poulidakos P, et al. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: systematic evaluation of the available evidence[J]. Antimicrob Agents Chemother,2014,58(2):654-663.
- [15] Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Agents Chemother,2001,45(4):1151-1161.
- [16] Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe[J]. Clin Microbiol Infect,2012,18(5):413-431.
- [17] Freeman R, Moore LS, Charlett A, et al. Exploring the epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria in west London and the utility of routinely collected hospital microbiology data[J]. J Antimicrob Chemother,2015,70(4):1212-1218.
- [18] Harris P, Paterson D, Rogers B. Facing the challenge of multidrug-resistant Gram-negative bacilli in Australia[J]. Med J Aust,2015,202(5):243-247.
- [19] Wang JT, Wu UI, Lauderdale TL, et al. Carbapenem-nonsusceptible *Enterobacteriaceae* in Taiwan[J]. PLoS One,2015,10(3):e0121668.
- [20] Doi Y, Paterson DL. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. Semin Respir Crit Care Med,2015,36(1):74-84.
- [21] Wei ZQ, Du XX, Yu YS, et al. Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China[J]. Antimicrob Agents Chemother,2007,51(2):763-765.
- [22] Viau R, Frank KM, Jacobs MR, et al. Intestinal carriage of carbapenemase-producing organisms: current status of surveillance methods[J]. Clin Microbiol Rev,2016,29(1):1-27.
- [23] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. 2016:M100-S26.
- [24] Khan AU, Maryam L, Zarrilli R. Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM): a threat to public health[J]. BMC Microbiol,2017,17(1):101.
- [25] Deshpande LM, Jones RN, Fritsche TR, et al. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000-2004)[J]. Microb Drug Resist,2006,12(4):223-230.
- [26] 杨勇文,李从荣,李珍,等. 武汉地区耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药基因的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2017,11(4):352-358.
- [27] 吴娜,田素飞,褚云卓,等. 东北5家医院碳青霉烯类耐药肠杆菌科

- 细菌耐药基因的分析[J]. 中华传染病杂志, 2017, 35(6):357-363.
- [28] Arend LN, Pilonetto M, Siebra CA, et al. Phenotypic and molecular characterization of 942 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) in southern Brazil[J]. J Infect Chemother, 2015, 21(4):316-318.
- [29] Kim SY, Shin J, Shin SY, et al. Characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from Korea[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 76(4):486-490.
- [30] Pasteran F, Mendez T, Rapoport M, et al. Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class A carbapenemase in species of *Enterobacteriaceae* by incorporating boronic Acid[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(4):1323-1332.
- [31] Nakano R, Nakano A, Hikosaka K, et al. First report of metallo- $\beta$ -Lactamase NDM-5-producing *Escherichia coli* in Japan[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(12):7611-7612.
- [32] Yang P, Xie Y, Feng P, et al. blaNDM-5 carried by an IncX3 plasmid in *Escherichia coli* sequence type 167[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(12):7548-7552.
- [33] Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases[J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(9):785-796.
- [34] Chen L, Mathema B, Chavda KD, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding[J]. Trends Microbiol, 2014, 22(12):686-696.
- [35] Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*[J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3):565-591.
- [36] Papp-Wallace KM, Bethel CR, Distler AM, et al. Inhibitor resistance in the KPC-2 beta-lactamase, a preeminent property of this class A beta-lactamase[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(2):890-897.
- [37] Wailan AM, Paterson DL. The spread and acquisition of NDM-1: a multifactorial problem[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2014, 12(1):91-115.
- [38] Hornsey M, Phee L, Wareham DW. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(12):5952-5954.
- [39] Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective[J]. Int J Antimicrob Agents, 2010, 36(Suppl 3):S8-S14.
- [40] 冯丽娜, 李从荣. 肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(2):318-322.
- [41] Bathoorn E, Tsioutis C, Da SVJ, et al. Emergence of pan-resistance in KPC-2 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Crete, Greece: a close call[J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 71(5):1207-1212.
- [42] 胡付品, 朱德妹. KPC型碳青霉烯酶研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(1):76-80.

(收稿日期: 2017-11-28)

(本文编辑: 孙荣华)

冯丽娜, 李从荣, 杨勇文, 等. 肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶基因型研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018, 12(4):334-340.