

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20217706

· 论 著 ·

中国 2017—2018 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌药物敏感性及耐药基因分析

王 青, 李 耘, 郑 波

(北京大学第一医院临床药理研究所, 北京 100034)

[摘要] 目的 分析中国耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)药物敏感性及耐药基因携带情况。方法 对北京大学临床药理研究所 2017—2018 年中国细菌耐药监测研究中收集的 CRKP 进行药敏试验, 采用聚合酶链反应(PCR)及测序检测 CRKP 中碳青霉烯酶基因和其他广谱、超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)基因携带情况。结果 共筛选出 129 株 CRKP, 抗菌效果较好的药物包括多粘菌素 E、替加环素、磷霉素氨丁三醇、米诺环素, 敏感率分别为 80.62%、79.07%、51.16%、51.16%, 其余药物敏感率均低于 46%。PCR 及测序结果显示, 112 株携带碳青霉烯酶基因, 主要为 bla_{KPC-2} 基因(77.52%)和 bla_{NDM} 基因(8.53%), 3 株(2.33%)同时携带 bla_{KPC} 和 bla_{NDM} 基因。 bla_{TEM} 基因检出率为 51.94%(67/129), 均为 bla_{TEM-1} ; bla_{SHV} 基因检出率为 64.34%(83/129), 主要为 bla_{SHV-12} 基因(27.91%, 36/129); bla_{CTX-M} 基因检出率为 53.49%(69/129), 分别为 $bla_{CTX-M-9}$ (43.41%) 和 $bla_{CTX-M-15}$ (10.08%), 其中 4 株(3.10%)同时含 $bla_{CTX-M-9}$ 和 $bla_{CTX-M-15}$ 基因。碳青霉烯酶基因阳性菌株中, 80.36%(90/112)同时携带 ESBLs 基因, 32.14%(36/112)同时携带 2 种或以上 ESBLs 基因。结论 中国临床分离的 CRKP 耐药情况严重, 而且同时含多种耐药基因, 其中最常见碳青霉烯酶基因是 bla_{KPC-2} 基因, 最常见的 ESBLs 基因是 bla_{SHV-12} 基因和 $bla_{CTX-M-9}$ 基因。

[关键词] 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 药敏结果; 耐药基因; 聚合酶链反应

[中图分类号] R181.3⁺2

Antimicrobial susceptibility and resistance genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China from 2017 to 2018

WANG Qing, LI Yun, ZHENG Bo (Institute of Clinical Pharmacology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

[Abstract] **Objective** To analyze antimicrobial susceptibility and carrying status of antimicrobial resistance genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) in China. **Methods** Antimicrobial susceptibility testing was performed on CRKP collected from the China Antimicrobial Resistance Surveillance Trial from 2017 to 2018 by Institute of Clinical Pharmacology of Peking University, carrying status of carbapenemase genes and other extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) genes in CRKP were detected by polymerase chain reaction (PCR) and sequencing detection. **Results** A total of 129 strains of CRKP were screened out, polymyxin E, tigecycline, fosfomicin trometamol and minocycline were the effective antimicrobial agents, susceptibility rates were 80.62%, 79.07%, 51.16% and 51.16% respectively, susceptibility rates of other antimicrobial agents were all lower than 46%. PCR and sequencing results showed that 112 strains carried carbapenemase gene, mainly bla_{KPC-2} (77.52%) and bla_{NDM} (8.53%) genes, and 3 strains (2.33%) carried both bla_{KPC-2} and bla_{NDM} genes. Detection rate of bla_{TEM} gene was 51.94% (67/129), all of which were bla_{TEM-1} ; detection rate of bla_{SHV} gene was 64.34% (83/129), mainly bla_{SHV-12} gene (27.91%, 36/129); detection rate of bla_{CTX-M} gene was 53.49% (69/129), which were $bla_{CTX-M-9}$ (43.41%) and $bla_{CTX-M-15}$ (10.08%) respectively, 4 strains (3.10%) contained both $bla_{CTX-M-9}$ and $bla_{CTX-M-15}$ genes. Among carbapenemase gene positive strains, 80.36% (90/112) carried ESBLs genes simultaneously, and 32.14% (36/112) carried two or more ESBLs genes simultaneously. **Conclusion** Antimicrobial resistance of CRKP isolated in China is

[收稿日期] 2020-06-30

[作者简介] 王青(1995-), 女(汉族), 山东省龙口市人, 实习研究员, 主要从事临床微生物、抗菌药物药效研究。

[通信作者] 李耘 E-mail: liyun19702@sina.com

serious, and there are multiple antimicrobial resistance genes at the same time, the most common carbapenemase gene is *bla_{KPC-2}* gene, and the most common ESBLs genes are *bla_{SHV-12}* and *bla_{CTX-M-9}* genes.

[Key words] carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; antimicrobial susceptibility testing result; antimicrobial resistance gene; polymerase chain reaction

肺炎克雷伯菌是常见的机会致病菌之一,主要感染免疫力低下且患有严重基础疾病的患者,导致肺炎、败血症、化脓性肝脓肿等严重感染^[1]。长期以来碳青霉烯类药物是治疗产超广谱 β-内酰胺酶(extended-spectrum beta-lactamases, ESBLs)肺炎克雷伯菌相关感染的有效抗生素。然而,碳青霉烯类药物的频繁使用,导致肺炎克雷伯菌对此类药物的耐药率升高^[2]。在我国,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)检出率从 2005 年的 3.00% 增加到 2017 年的 20.90%^[3],给临床治疗带来挑战。本研究挑选出我国 2017—2018 年细菌耐药监测研究(CARST)中 CRKP 菌株,并对其进行药物敏感性分析和耐药基因检测,旨在为针对 CRKP 感染的抗菌药物选择提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 北京大学临床药理研究所 2017—2018 年 CARST 中收集的 CRKP,筛选条件:亚胺培南、美罗培南、厄他培南任一不敏感的非重复性临床分离株。

1.1.2 试验药物 抗菌药物包括:哌拉西林(美国 TargetMol 公司)、舒巴坦、磷霉素氨丁三醇(山西仟源医药集团股份有限公司)、他唑巴坦、头孢西丁、头孢唑林、头孢噻肟、头孢呋辛、头孢他啶、头孢曲松、头孢哌酮、庆大霉素、阿米卡星(中国食品药品检定研究院)、头孢吡肟(中美上海施贵宝公司)、亚胺培南、厄他培南(美国默沙东制药有限公司)、美罗培南[住友制药(苏州)有限公司];氨曲南(上海新亚药业有限公司)、替加环素[美国辉瑞公司(意大利)]、磺胺甲基异噁唑(SMZ)、米诺环素[美国 Sigma-Aldrich 公司(中国)]、环丙沙星(上虞京新药业有限公司)、左氧氟沙星[第一三共制药(中国)投资有限公司]、甲氧苄氨嘧啶(TMP)(山东淄博新达制药厂)、多粘菌素 E 药敏板(温州市康泰生物科技有限公司)。其中哌拉西林/他唑巴坦中他唑巴坦浓度恒定为 4 mg/L,头孢哌酮/舒巴坦配比为 2:1,复方磺胺甲

噁唑(SMZ/TMP)为 19:1。

1.2 方法

1.2.1 药敏试验 除多粘菌素 E 外,其他药物采用标准琼脂二倍稀释法。琼脂二倍稀释法试验细菌悬液采用多点接种仪接种,每一点接种量为 1×10^4 CFU;多粘菌素 E 采用微量肉汤二倍稀释法,细菌最终浓度为 5×10^5 CFU/mL。多粘菌素 E、磷霉素氨丁三醇使用欧盟药敏试验标准委员会(EUCAST)推荐折点,替加环素使用美国食品药品监督管理局(FDA)推荐折点,其他药敏结果根据美国临床实验室标准化协会(CLSI, 2019)标准,判定敏感性和耐药性,其中头孢哌酮/舒巴坦参照头孢哌酮的标准判读。大肠埃希菌 ATCC 25922 和大肠埃希菌 ATCC 35218 被用作药敏试验的质量控制标准菌株。

1.2.2 耐药基因检测 将细菌接种于中国兰琼脂平板上,37℃温箱孵育 16~20 h。次日挑取单个菌落三区划线于中国兰平板分纯,37℃温箱孵育 16~20 h,分离得到单个纯种菌落。第三日采用煮沸法提取 DNA 模板。使用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测编码碳青霉烯酶(*bla_{KPC}*、*bla_{NDM}*、*bla_{IMP}*、*bla_{VIM}*、*bla_{OXA}*)和其他广谱、超广谱 β-内酰胺酶(*bla_{TEM}*、*bla_{SHV}*、*bla_{CTX-M}*)基因,引物序列设计以及扩增条件参照文献^[4-8],具体见表 1,每批 PCR 试验均带有阴性和阳性对照。反应停止后,取 3 μL 于 1% 琼脂糖凝胶电泳(含 1/10 000 GelRed 染料)。阳性产物送北京诺赛基因公司测序,将测序结果提交到 BLAST(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行比对序列以确定耐药基因亚型。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 20.0 软件进行分析,药敏结果采用 χ^2 检验进行比较, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株临床分布和药敏结果 CARST 由北京大学临床药理所牵头,收集全国 19 所三级甲等医院临床分离致病菌,监测耐药状况。从北京大学临床药理研究所保存的 2017—2018 年 CARST 菌株中,选取亚胺培南、美罗培南、厄他培南任一不敏感的非

表 1 CRKP 耐药基因引物序列及退火温度

Table 1 Primer sequence and annealing temperature of CRKP resistance genes

基因名称	引物序列	产物长度 (bp)	退火温度 (°C)
KPC	F:CGTCTAGTCTGCTGTCTTG	798	55
	R:CTTGTTCATCCTTGTTAGGCG		
IMP	F:CATGGTTTGGTGGTCTTGT	528	55
	R:GTACGTTTCAAGAGTGATGC		
NDM	F:GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	621	60
	R:CGGAATGGCTCATCACGATC		
VIM	F:ATGGTGGTTGGTGCATATC	510	55
	R:TGGGCCATTACGCCAGATC		
OXA-23like	F:GATGTGTCATAGTATTCGTCGT	1 058	55
	R:TCACAACAATAAAAGCACTGT		
OXA-24like	F:GGTTAGTTGGCCCCCTAAA	246	52
	R:AGTTGAGCGAAAAGGGGATT		
OXA-51like	F:TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353	52
	R:TGGATTGCACTTCATCTTGG		
SHV	F:CCGGGTTATCTTATTTGTCGCT	1 079	56
	R:TAGCGTTGCCAGTGCTCG		
TEM	F:ATAAAATTCTGAAGACGAAA	1 079	55
	R:GACAGTTAGCAATGCTTAATCA		
CTX-M-9 组	F:AAAAATGATTGAAAGGTGGT	1 242	56
	R:GTGAAGAAGGTGTTGCTGAC		
CTX-M-1 组	F:AAAAATCACTGCGCCAGTTC	415	52
	R:AGCTTATTCATCGCCACGTT		
CTX-M-2 组	F:ATGATGACTCAGAGCATTTCG	832	65
	R:TCCCGACGGCTTTCGCCTT		

重复肺炎克雷伯菌 129 株,作为本次试验的 CRKP 菌株。标本主要来源于血(44.19%),其次为痰、尿、引流液、分泌物、胆汁。129 株 CRKP,内科占 38.76%,ICU 占 29.46%,外科占 27.13%,其他科室占 4.65%;儿童占 16.28%,成年人占 44.19%,老年人占 39.53%;男性患者多于女性患者(60.47% VS 39.53%),见表 2。CRKP 对多粘菌素 E 敏感率最高(80.62%),其次为替加环素(79.07%)、磷霉素氨丁三醇(51.16%)、米诺环素(51.16%)、复方磺胺甲噁唑(45.74%)和阿米卡星(44.96%),对亚胺培南、美罗培南、厄他培南的药物敏感率分别为 6.98%、6.98%、1.55%,对其他 β-内酰胺类抗生素和氟喹诺酮类抗菌药物的敏感率为 0~6.87%。见表 3。

表 2 CRKP 在临床标本及科室中分布构成比

Table 2 Constituent ratios of CRKP in clinical specimens and departments

项目	株数 (n = 129)	构成比 (%)
性别	男性	78 60.47
	女性	51 39.53
年龄组	儿童(≤14 岁)	21 16.28
	成年人(15~64 岁)	57 44.19
	老年人(≥65 岁)	51 39.53
标本	血	57 44.19
	痰	33 25.58
	尿	17 13.18
	引流液	11 8.53
	分泌物	8 6.20
	胆汁	3 2.32
科室	内科	50 38.76
	ICU	38 29.46
	外科	35 27.13
	其他科室	6 4.65

表 3 CRKP 对抗菌药物的耐药率和敏感率 (%)

Table 3 Resistance and susceptibility rates of CRKP to antimicrobial agents (%)

抗菌药物	R	S
哌拉西林	96.95	1.53
哌拉西林/他唑巴坦	95.42	3.82
磷霉素氨丁三醇	48.84	51.16
头孢噻肟	100.00	0.00
头孢曲松	99.24	0.76
头孢他啶	96.18	1.53
头孢吡肟	96.95	2.29
头孢哌酮/舒巴坦	95.42	3.05
头孢哌酮	96.95	2.29
氨曲南	96.95	1.53
亚胺培南	87.79	6.98
美罗培南	89.31	6.98
厄他培南	94.66	1.55
庆大霉素	69.47	30.53
阿米卡星	53.44	44.96
四环素	48.09	36.64
米诺环素	30.23	51.16
替加环素	10.85	79.07
环丙沙星	94.66	3.05
左氧氟沙星	88.55	6.87
复方磺胺甲噁唑	54.26	45.74
多粘菌素 E	19.38	80.62

注:S 为敏感,R 为耐药,未列入中介。

2.2 基因检测结果 129 株 CRKP,共 112 株检测出碳青霉烯酶基因,涉及 5 种基因型,*bla*_{KPC-2}、*bla*_{NDM-1}、*bla*_{NDM-5}、*bla*_{OXA51}、*bla*_{IMP-4} 基因检出率分别为 77.52%、6.20%、2.33%、2.33%、0.78%,其中 3 株同时含 *bla*_{KPC-2} 和 *bla*_{NDM} 基因。*bla*_{TEM} 检出率为 51.94%,均为 *bla*_{TEM-1};*bla*_{SHV} 检出率为 64.34%,主要为 *bla*_{SHV-11} (18.60%) 和 *bla*_{SHV-12} (27.91%),此外还有 7 株 (5.43%) 含 *bla*_{SHV-1}, 3 株 (2.33%) 含 *bla*_{SHV-28}; *bla*_{CTX-M} 检出率为 53.49%,分别为 *bla*_{CTX-M-9} (43.41%) 和 *bla*_{CTX-M-15} (10.08%),其中 4 株 (3.10%) 同时含 *bla*_{CTX-M-9} 和 *bla*_{CTX-M-15} 基因。80.36% 的菌株携带 ESBLs 基因,32.14% 的菌株同时携带 2 种或以上 ESBLs 基因。见表 4。

2.3 *bla*_{KPC-2}、*bla*_{NDM} 基因阳性菌株与不产碳青霉烯酶菌株的药物敏感性 不产碳青霉烯酶菌株对 β-内酰胺类药物中碳青霉烯类、β-内酰胺类复合剂及部分第三代头孢菌素敏感率高于产酶菌 ($P < 0.01$)。在产碳青霉烯酶的 CRKP 中,相对 *bla*_{KPC-2} 基因阳性菌,亚胺培南、美罗培南和氨曲南对 *bla*_{NDM} 基因阳性菌株具有更好抗菌作用, MIC₅₀ 和/或 MIC₉₀ 值低于 *bla*_{KPC-2} 基因阳性菌。对于非 β-内酰胺类药物, *bla*_{KPC-2} 基因阳性菌对磷霉素氮丁三醇均表现出较低敏感率 ($P < 0.01$); 不产碳青霉烯酶菌株对多粘菌素 E 敏感率低于产酶菌 ($P < 0.01$)。见表 5。

表 4 129 株 CRKP 耐药基因检出情况

Table 4 Detection results of antimicrobial resistance genes in 129 strains of CRKP

基因	阳性菌株数	检出率 (%)
KPC-2	100	77.52
NDM-1	8	6.20
NDM-5	3	2.33
OXA51	3	2.33
IMP-4	1	0.78
TEM-1	67	51.94
SHV	83	64.34
CTX-M-9	56	43.41
CTX-M-15	13	10.08
联产 KPC-2 + NDM-1	2	1.55
联产 KPC-2 + NDM-5	1	0.78
联产 KPC-2 + TEM-1 + SHV + CTX-M-9 + CTX-M-15	1	0.78
联产 KPC-2 + SHV + CTX-M-9 + CTX-M-15	1	0.78
联产 KPC-2 + TEM-1 + SHV + CTX-M-9	15	11.63
联产 KPC-2 + TEM-1 + CTX-M-9	14	10.85
联产 KPC-2 + TEM-1 + SHV	11	8.53
联产 KPC-2 + SHV + CTX-M-9	11	8.53
联产 KPC-2 + TEM-1	10	7.75
联产 KPC-2 + SHV	19	14.73
联产 KPC-2 + CTX-M-9	5	3.88

注:表中联产只统计 KPC-2 阳性情况。

表 5 *bla*_{KPC-2} 和 *bla*_{NDM} 基因阳性菌株与不产碳青霉烯酶菌株的药敏结果

Table 5 Antimicrobial susceptibility testing result of *bla*_{KPC-2} and *bla*_{NDM} gene positive as well as carbapenemase gene negative bacteria strains

抗菌药物	KPC-2 (n = 97)				NDM (n = 8)				不产碳青霉烯酶 (n = 17)			
	S (%)	R (%)	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S (%)	R (%)	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S (%)	R (%)	MIC ₅₀	MIC ₉₀
哌拉西林	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	5.88	76.47	>256	>256
哌拉西林/他唑巴坦	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	29.41	64.71	256	>256
头孢哌酮/舒巴坦	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	23.53	76.47	64	>256
头孢噻肟	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256
头孢曲松	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	5.88	94.12	>256	>256
头孢他啶	0.00	98.97	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	11.76	82.35	64	>256
头孢哌酮	0.00	100.00	>256	>256	0.00	100.00	>256	>256	17.65	76.47	>256	>256
头孢吡肟	0.00	98.97	256	>256	0.00	100.00	32	>256	0.00	100.00	128	>256
氨曲南	0.00	100.00	>256	>256	12.50	75.00	32	>256	5.88	88.24	128	>256
亚胺培南	0.00	100.00	64	128	0.00	75.00	8	16	47.06	41.18	2	>256
美罗培南	0.00	100.00	128	256	0.00	87.50	4	16	47.06	41.18	0.5	256
厄他培南	0.00	98.97	256	>256	0.00	100.00	16	32	11.76	70.59	8	256

续表 5 (Table 5, Continued)

抗菌药物	KPC-2(<i>n</i> = 97)				NDM(<i>n</i> = 8)				不产碳青霉烯酶(<i>n</i> = 17)			
	S(%)	R(%)	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S(%)	R(%)	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S(%)	R(%)	MIC ₅₀	MIC ₉₀
庆大霉素	29.90	70.10	>256	>256	25.00	75.00	64	>256	35.29	64.71	128	>256
阿米卡星	40.21	58.76	>256	>256	87.50	12.50	1	>256	58.82	41.18	4	>256
四环素	41.24	33.33	8	>256	25.00	75.00	256	256	23.53	76.47	128	>256
米诺环素	54.64	26.80	4	32	75.00	25.00	4	16	35.29	52.94	16	32
替加环素	80.41	10.31	0.5	8	87.50	12.50	2	8	76.47	11.76	2	16
环丙沙星	0.00	100.00	128	256	37.50	50.00	0.5	>256	5.88	82.35	64	256
左氧氟沙星	1.03	97.94	64	128	62.50	25.00	0.5	256	17.65	64.71	16	64
复方磺胺甲噁唑	50.52	49.48	1	128	0.00	100.00	128	128	47.06	52.94	64	128
磷霉素氨丁三醇	53.61	46.39	64	>256	87.50	12.50	4	>256	64.71	35.29	32	64
多粘菌素 E	84.54	15.46	0.5	4	87.50	12.50	1	4	52.94	47.06	1	>256

注:S为敏感,R为耐药,未列入中介。

3 讨论

产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌通常对大多数β-内酰胺类和氟喹诺酮类抗菌药物耐药,治疗CRKP感染的选择仅限于多粘菌素E、替加环素、磷霉素氨丁三醇、米诺环素和一些氨基糖苷类药物^[9],与本研究体外药敏结果较为一致。在CISL 2020更新的折点中,关于多粘菌素E对于大肠埃希菌有中介(≤2 μg/mL)或耐药(≥4 μg/mL)的折点,本研究对多粘菌素的折点使用EUCAST标准。所有CRKP菌株对多粘菌素E和替加环素具有较高的药物敏感性,与Lin等^[10]研究结果较一致,但也应避免滥用此两种抗生素,因为CRKP对其耐药率可能会呈现逐渐上升的趋势^[11],将会给临床医生的治疗带来挑战。本研究药敏结果显示,CRKP对复方磺胺甲噁唑的敏感率为45.74%(59/129)。一项研究报告^[12]发现,复方磺胺甲噁唑与多粘菌素联合使用对我国36例CRKP临床分离株表现出协同作用,因此复方磺胺甲噁唑是否有机会成为临床治疗CRKP的选择,有待进一步临床研究。

肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素常见的耐药机制是其产碳青霉烯酶,广泛报道的碳青霉烯酶含A、B和D类。A类中KPC-2和KPC-3型是临床最常见的,在北美、南美、欧洲和亚洲均报告过医院暴发感染的情况,此外,也有GES型的报告;B类为金属-β-内酰胺酶,主要是NDM型、VIM型和IMP型,其中NDM型在全球广泛传播令人担忧,水解的底物包括β-内酰胺类抗生素,但对于氨基糖苷没有水

解活性;D类通常能水解苯唑西林的OXA酶^[13-14]。本研究中,检测出的碳青霉烯酶基因主要为 bla_{KPC-2} (77.52%)基因,与国内一项研究报告^[15]中 bla_{KPC-2} (73.54%,517/703)是我国肺炎克雷伯菌携带的最常见的碳青霉烯酶基因结论一致。 bla_{NDM} 是大肠埃希菌携带的主要碳青霉烯酶基因,本次检测出11株 bla_{NDM} 基因阳性CRKP,其他碳青霉烯酶基因的检出率则低很多。同时本研究数据显示, bla_{KPC-2} 和 bla_{NDM} 基因阳性菌株有明显耐药性差异, bla_{KPC-2} 基因阳性菌株对绝大多数所测药物耐药率高于 bla_{NDM} 基因阳性菌株,表现出泛耐药特性,只对四环素和复方磺胺甲噁唑的药物耐药率低于 bla_{NDM} 基因阳性菌株,与Lin等^[10]研究结论较为一致,说明加强对碳青霉烯酶基因的检测,可能有助于严重感染患者的用药选择。

ESBLs是由质粒介导的超广谱β-内酰胺酶,能够使细菌对青霉素类、第一至第四代头孢菌素类和氨基糖苷类耐药;ESBLs最流行的是SHV和CTX-M两种类型^[16]。本研究碳青霉烯酶基因阳性菌株中,80.36%(90/112)同时携带ESBLs基因,主要是 bla_{SHV-12} 和 $bla_{CTX-M-9}$ 基因,32.14%(36/112)同时携带2种或以上ESBLs基因,与CRKP耐药基因以KPC-2型为主,同时携带ESBLs基因的报道^[17-18]相似。

综上所述,我国临床CRKP分离株耐药问题严重且携带多种耐药基因,CRKP携带的主要碳青霉烯酶基因是 bla_{KPC-2} ,最常见的ESBLs基因是 bla_{SHV-12} 和 $bla_{CTX-M-9}$ 基因,需要加强CRKP中碳青霉烯酶的监测。本文特色是试验菌株来自全国不同地

区,并且同时检测了碳青霉烯酶基因与 ESBLs 基因,药敏试验涵盖较全的临床治疗药物,但不足之处是耐药菌株未进行同源性检测,可在后续 CRKP 遗传背景中深入地研究。

[参考文献]

- [1] Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors[J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(4): 589 - 603.
- [2] Su JC, Guo QL, Li Y, et al. Comparison of empirical therapy with cefoperazone/sulbactam or a carbapenem for bloodstream infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(11): 3176 - 3180.
- [3] Hu FP, Zhu DM, Wang F, et al. Current status and trends of antibacterial resistance in China[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67 (Suppl 2): S128 - S134.
- [4] 杨启文. 中国碳青霉烯耐药肠杆菌科菌流行病学及耐药机制研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2015.
- [5] Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, et al. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 70(1): 119 - 123.
- [6] Yousefi S, Farajnia S, Nahaei MR, et al. Detection of metallo- β -lactamase-encoding genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in northwest of Iran[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 68(3): 322 - 325.
- [7] Woodford N, Fagan EJ, Ellington MJ. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -lactamases[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(1): 154 - 155.
- [8] 马序竹, 吕媛, 张佳, 等. 耐亚胺培南鲍曼不动杆菌耐药性及 OXA 碳青霉烯酶检测[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27 (4): 268 - 271.
- [9] Thaden JT, Pogue JM, Kaye KS. Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae[J]. Virulence, 2017, 8 (4): 403 - 416.
- [10] Lin L, Xiao XG, Wang XN, et al. In vitro antimicrobial susceptibility differences between carbapenem-resistant KPC-2-producing and NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in northeast China[J]. Microb Drug Resist, 2020, 26(2): 94 - 99.
- [11] Jeannot K, Bolard A, Plésiat P. Resistance to polymyxins in

Gram-negative organisms[J]. Int J Antimicrob Agents, 2017, 49(5): 526 - 535.

- [12] Su JC, Li D, Guo QL, et al. In vitro bactericidal activity of trimethoprim-sulfamethoxazole/colistin combination against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates [J]. Microb Drug Resist, 2019, 25(2): 152 - 156.
- [13] Hammoudi Halat D, Ayoub Moubareck C. The current burden of carbapenemases: review of significant properties and dissemination among Gram-negative bacteria[J]. Antibiotics (Basel), 2020, 9(4): 186.
- [14] Pitout JD, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59 (10): 5873 - 5884.
- [15] Zhang R, Liu LZ, Zhou HW, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) strains in China[J]. EBioMedicine, 2017, 19: 98 - 106.
- [16] Bhaskar BH, Mulki SS, Joshi S, et al. Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase and carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* from a tertiary care hospital[J]. Indian J Crit Care Med, 2019, 23(2): 61 - 66.
- [17] Wang Q, Wang XJ, 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.
- [18] Zhao F, Zhang J, Fu Y, et al. Dissemination of extensively drug-resistant and KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from bloodstream infections[J]. J Infect Dev Ctries, 2015, 9(9): 1016 - 1021.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式:王青,李耘,郑波. 中国 2017—2018 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌药物敏感性及其耐药基因分析[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(5): 437 - 442. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20217706.

Cite this article as: WANG Qing, LI Yun, ZHENG Bo. Antimicrobial susceptibility and resistance genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China from 2017 to 2018[J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(5): 437 - 442. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20217706.