

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.08.007

· 论 著 ·

2010—2016 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌临床分布及其耐药特征

徐红云, 刘春林, 陈 弟, 龙湖波, 李 红, 马众仙, 张 唤, 杨宝瑞, 杨文波, 余 林, 刘 畅, 李宜铮
(云南省第二人民医院, 云南 昆明 650021)

[摘 要] **目的** 了解临床分离的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)及耐碳青霉烯类大肠埃希菌(CREC)的临床分布状况及耐药特征。**方法** 回顾性分析某院 2010 年 1 月—2016 年 12 月临床标本分离的肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌, 统计分析 CRKP 及 CREC 分离情况。**结果** 2010—2016 年 7 年共收集临床分离耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)310 株(CRKP 268 株, CREC 42 株), CRKP 检出率由 2010 年的 1.33% 上升到 2016 年的 12.70%, 呈逐年上升趋势($\chi^2 = 123.73, P < 0.01$); CREC 检出率则处于相对稳定状态, 2010—2016 年均约为 1.00%; 标本来源和病区分布最多者分别为呼吸道标本(45.49%)和重症监护病房(31.93%)。药敏试验结果显示, CRKP 和 CREC 除对阿米卡星耐药率稍低(分别为 80.60%、38.10%)外, 对大多数临床常用抗菌药物如第三代头孢菌素类、第四代头孢菌素类、 β -内酰胺类/酶抑制剂类、喹诺酮类等耐药率 CRKP 均 $> 90\%$ 、CREC 均在 80% 左右, 而非 CRE 菌株的耐药率低于 CRE 菌株($P < 0.01$)。**结论** 7 年间临床分离的 CRKP 的检出率呈现快速增加的趋势, 几乎对常用抗菌药物均耐药, 应予以高度关注。

[关 键 词] 肺炎克雷伯菌; 大肠埃希菌; 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 耐碳青霉烯类大肠埃希菌; 碳青霉烯酶; 耐药性; 抗药性, 微生物

[中图分类号] R378 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2018)08-0688-05

Distribution and antimicrobial resistance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in 2010—2016

XU Hong-yun, LIU Chun-lin, CHEN Di, LONG Hu-bo, LI Hong, MA Zhong-xian, ZHANG Huan, YANG Bao-rui, YANG Wen-bo, YU Lin, LIU Chang, LI Yi-zheng (The Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650021, China)

[Abstract] **Objective** To understand the clinical distribution and antimicrobial resistance characteristics of clinically isolated carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) and carbapenem-resistant *Escherichia coli* (CREC). **Methods** Clinically isolated *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a hospital between January 2010 and December 2016 were analyzed retrospectively, isolation of CRKP and CREC were conducted statistical analysis. **Results** From 2010 to 2016, a total of 310 carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) isolates (268 were CRKP strains and 42 were CREC strains) were collected, isolation rate of CRKP increased from 1.33% in 2010 to 12.70% in 2016, showing an increasing trend year by year ($\chi^2 = 123.73, P < 0.01$); isolation rate of CREC was relatively stable, were all about 1.00% from 2010 to 2016. Most specimens were respiratory tract specimens (45.49%) and from intensive care unit (31.93%). Antimicrobial susceptibility testing showed that except resistance rates of CRKP and CREC were slightly lower to amikacin (80.60% and 38.10% respectively), resistance rates of CRKP to most commonly used antimicrobial agents, such as third generation cephalosporins, fourth generation cephalosporins, β -lactamase/lactamase inhibitors, and quinolones were all $> 90\%$, resistance rates of CREC to above antimicrobial agents

[收稿日期] 2017-09-11

[作者简介] 徐红云(1964-),女(汉族),云南省昆明市人,主任技师,主要从事临床微生物检验及耐药研究。

[通信作者] 徐红云 E-mail:1391939043@qq.com

were all about 80%, resistance rate of non-CRE strains was lower than that of CRE strains ($P < 0.01$). **Conclusion**

During the past 7 years, detection rate of clinically isolated CRKP increased rapidly, were almost resistant to commonly used antimicrobial agents, which should be paid close attention.

[Key words] *Klebsiella pneumoniae*; *Escherichia coli*; carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; carbapenem-resistant *Escherichia coli*; carbapenemase; drug resistance, microbial

[Chin J Infect Control, 2018, 17(8): 688-692]

肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌属于肠杆菌科细菌,广泛分布于自然界,是人和动物呼吸道及肠道的正常菌群,也是医院获得性感染及社区感染最常见的病原菌,可以引起呼吸道、血液、泌尿系统、伤口等部位感染。由于第三代头孢菌素类抗生素的广泛使用,抗菌药物的选择性压力导致产超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)菌株的产生,而碳青霉烯类抗生素一直被作为产 ESBLs 菌株引起的严重感染最常用抗菌药物。近年来由于产 ESBLs 菌株感染比例上升,使得肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素的耐药率逐年升高^[1],由于其主要的耐药机制是产生碳青霉烯酶,导致细菌对碳青霉烯类、头孢菌素类、青霉素类等多类抗生素耐药,给临床治疗带来极大地挑战。为获得耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)及耐碳青霉烯类大肠埃希菌(carbapenem-resistant *Escherichia coli*, CREC)在医院流行状况及耐药性变迁,防止耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)的产生及医院内蔓延,为临床提供多重耐药菌感染的防治依据,现对 2010—2016 年某院 CRE 检出率及对常用抗菌药物的敏感性进行分析。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 2010 年 1 月—2016 年 12 月云南省第二人民医院临床分离的大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌,剔除同一患者分离的重复菌株,标本包括痰、尿、血等。

1.2 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统、革兰阴性细菌鉴定卡(GN 卡)及革兰阴性菌药敏卡(ASTGN14)均为法国生物梅里埃公司产品。药敏纸片为英国 OXOID 公司产品,血琼脂平板、水解酪蛋白琼脂平板(MH 琼脂)及麦康凯平板等均严格按操作规程进行,并在有效期内使用。

1.3 细菌鉴定及药敏试验 细菌分离及鉴定严格按 2016 年《全国临床检验操作规程》(第 4 版)的操作进行,药敏试验方法采用纸片琼脂扩散法或自动

化仪器法进行,采用改良 Hodge 试验确证产碳青霉烯酶菌株的表型,所有药敏结果参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准判读^[2]。

1.4 质量控制 质控菌株为肺炎克雷伯菌 ATCC 700603、大肠埃希菌 ATCC 25922,均来源于国家卫生计生委临床检验中心。

1.5 数据分析 应用 WHONET 5.6 软件及 SPSS 13.0 进行统计分析,耐药率的比较采用 χ^2 检验,以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CRE 分布及检出率 2010—2016 年 7 年共收集临床分离 CRE 310 株(CRKP 268 株,CREC 42 株),主要分布于重症监护科(31.93%)、呼吸科(18.39%)及康复科(17.10%)。检出率位于前 3 位的科室分别是重症监护科(4.95%)、康复科(4.60%)及呼吸科(3.79%)。门诊患者中检出 6 株(1.93%),阳性率 1.17%,均有近期住院史。标本类型主要为呼吸道标本(45.49%)、尿(26.77%)、伤口分泌物(13.87%),其检出率分别为 5.66%、3.93%及 2.82%。CRKP 检出率 2010、2011 年分别为 1.33%、1.48%,但 2012—2016 年从 1.87%快速上升至 12.70%,呈现上升趋势($\chi^2 = 123.73, P < 0.01$);而 CREC 2010—2016 年检出率范围为 0.52%~0.79%,七年来检出率变化不明显($\chi^2 = 6.502, P = 0.369$)。见表 1、表 2 及图 1。

2.2 CRE 的耐药状况 耐碳青霉烯酶类菌株对常用抗菌药物存在较高的耐药率,CRKP 除对复方磺胺甲噁唑的耐药率 $< 40\%$ 、对氨基糖苷类耐药率约 80%外,对其他抗菌药物的耐药率均 $> 90\%$,碳青霉烯类敏感肺炎克雷伯菌(CSKP)对常用抗菌药物的耐药率均 $< 60\%$ 。CREC 耐药率稍低于 CRKP,仅对少数抗菌药物耐药率 $> 90\%$,对大部分耐药率均在 80%左右,CREC 与碳青霉烯类敏感大肠埃希菌(CSEC)对常见抗菌药物的耐药率除哌拉西林、复方磺胺甲噁唑外,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见表 3。

表 1 CRE 各科室检出情况及其构成比

Table 1 Isolation result and constituent ratios of CRE from different clinical departments

科室	肠杆菌科株数	CRE 株数	检出率(%)	构成比(%)
重症监护科	2 001	99	4.95	31.93
呼吸科	1 502	57	3.79	18.39
康复科	1 152	53	4.60	17.10
创伤科	1 001	23	2.30	7.42
普通外科	641	19	2.96	6.13
老年病科	712	15	2.11	4.84
神经外科	1 262	13	1.03	4.19
神经内科	469	10	2.13	3.23
肾内科	521	8	1.54	2.58
急诊科	501	7	1.40	2.26
门诊	512	6*	1.17	1.93
合计	10 274	310	3.02	100.00

* :来源患者均有近期住院史

表 2 CRE 各标本检出情况及其构成比

Table 2 Isolation result and constituent ratios of CRE from different specimens

标本类型	肠杆菌科株数	CRE 株数	检出率(%)	构成比(%)
呼吸道标本	2 492	141	5.66	45.49
尿	2 113	83	3.93	26.77
伤口分泌物	1 523	43	2.82	13.87
引流液	3 060	16	0.52	5.16
血	491	8	1.63	2.58
导管	219	5	2.28	1.61
其他标本	376	14	3.72	4.52
合计	10 274	310	3.02	100.00

表 3 CRE 与非 CRE 对常用抗菌药物的药敏结果(%)

Table 3 Antimicrobial susceptibility results of CRE and non-CRE (%)

抗菌药物	肺炎克雷伯菌				P	大肠埃希菌				P
	CRKP(n=268)		CSKP(n=3 905)			CREC(n=42)		CSEC(n=6 369)		
	R	S	R	S		R	S	R	S	
哌拉西林	97.76	1.12	50.70	46.89	<0.01	80.95	11.90	64.89	23.10	0.06
头孢哌酮/舒巴坦	98.13	0.75	15.21	66.09	<0.01	95.24	0.00	8.40	72.19	<0.01
哌拉西林/他唑巴坦	91.79	5.60	22.41	68.09	<0.01	100.00	0.00	9.70	80.20	<0.01
头孢唑林	99.25	0.00	57.11	0.00	NA	95.24	0.00	73.20	0.00	NA
头孢他啶	97.01	1.87	42.20	56.70	<0.01	88.10	11.90	28.91	70.11	<0.01
头孢曲松	98.88	0.75	53.11	46.81	<0.01	88.10	9.52	67.20	32.60	<0.01
头孢吡肟	92.91	3.73	26.71	67.71	<0.01	73.81	23.81	15.80	81.50	<0.01
氨曲南	96.27	3.73	46.40	53.29	<0.01	80.95	16.67	41.70	58.00	<0.01
厄他培南	83.21	14.55	0.00	97.11	NA	50.00	38.10	0.00	98.90	NA
亚胺培南	100.00	0.00	0.00	100.00	NA	100.00	0.00	0.00	100.00	NA
美罗培南	92.54	6.34	0.00	99.49	NA	78.57	19.05	0.00	99.91	<0.01
阿米卡星	80.60	19.03	14.11	85.61	<0.01	38.10	59.52	2.50	97.30	<0.01
庆大霉素	86.19	12.31	35.11	62.61	<0.01	78.57	16.67	49.21	50.01	<0.01
环丙沙星	96.27	2.99	36.01	59.10	<0.01	78.57	16.67	56.01	42.20	<0.01
左氧氟沙星	92.91	4.85	30.70	66.20	<0.01	76.19	19.05	52.50	44.29	<0.01
复方磺胺甲噁唑	34.70	65.30	42.79	57.21	<0.01	64.29	35.71	62.90	37.10	0.85
呋喃妥因	94.78	1.49	40.41	22.30	<0.01	52.38	40.48	5.31	83.00	<0.01

R: 耐药; S: 敏感; NA: 不适用; 表中中介未列出

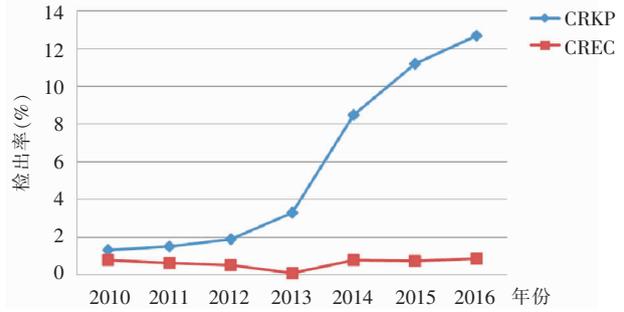


图 1 2010—2016 年 CRKP、CREC 检出率的变化趋势

Figure 1 Changing trend of isolation rates of CRKP and CREC from 2010 to 2016

3 讨论

肠杆菌科细菌包括一大群生物性状相似的革兰阴性无芽孢杆菌,除部分如沙门菌属、志贺菌属等为致病菌外,大多数是肠道正常菌群,为条件致病菌。2015 年 CHNET 监测数据显示,革兰阴性菌的分离率为 70.17%,肠杆菌科细菌占医院感染病原菌的 43.28%,而最常见的是大肠埃希菌(19.50%)、克雷伯菌属(14.14%)^[3],肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌已经成为医院感染最重要的病原菌。近年来,由于广谱抗菌药物的广泛使用,医疗技术的发展所带来的

诊疗技术的使用,特别是一些介入性的诊疗操作频繁使用,患者病情危重,免疫力低下,长期入住重症监护病房等,导致多重耐药菌的日益增多。由于临床感染细菌大多数为革兰阴性菌,使得第三代、第四代头孢菌素类的广泛使用甚至滥用,抗菌药物的选择性压力产生了大量的产 ESBLs 菌株,而碳青霉烯类抗生素是治疗 ESBLs 的首选药物,由此使得 CRE 日益增多。自 2001 年 Yigit 等^[4]发现并首次报道了一株产 KPC-1 的肺炎克雷伯菌后,相继在法国、意大利、英国、希腊、德国、中国等多个国家和地区检出^[5],产碳青霉烯酶耐药菌株在肠杆菌科细菌中呈现出全球蔓延的趋势,并且流行范围不断扩大^[6-7]。中国细菌耐药监测网(CHINET)监测资料^[3]结果显示,2005—2015 年,肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类的耐药率呈快速上升趋势,从最开始的 3.00% 上升至 2015 年的 15.00%,且 CRE 的流行存在地区性差异,华东地区(15.70%)分离率最高,西南(10.50%)和华中(6.30%)次之,东北地区(1.67%)最低^[8]。本研究显示,2010—2012 年 CRKP 的检出率处于相对平稳水平(1.33%~1.87%),但自 2012 年后迅速增加,CRKP 从 1.87% 快速上升至 2016 年的 12.70%。CRKP 检出率的快速上升是否与临床肠杆菌科感染主要为肺炎克雷伯菌及其复杂的耐药机制有关,还有待进一步的研究。本研究与 2000—2012 年亚洲地区 CRE 流行病学调查^[9]及 CHINET 监测结果相似^[3];而 CREC 2010—2016 年检出率为 0.52%~0.84%,一直处于近 1.00% 的稳定状态,与 2005—2014 年上海交通大学医学院附属瑞金医院细菌耐药性监测相近^[10]。

7 年来所分离到的 CRE 主要分布于重症监护科(31.93%),且标本主要来源于呼吸道标本(45.49%)及尿(26.77%),重症监护科所占比率高与大部分患者病情危重、患有严重的基础病、抵抗力低下、多数患者使用呼吸机,介入性操作等危险因素有关^[11]。同时,患者入住重症监护科与否是 CRE 感染的重要因素,严重的肺部感染或泌尿系统感染,也是感染 KPC 型碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的危险因素^[12]。本研究发现有 6 例门诊患者(1.93%)检出 CRE,查阅病历资料发现 6 例患者在近一个月内均有住院史,是医院感染还是社区感染不详。

CRE 耐药机制复杂,主要是产生碳青霉烯酶^[13-14],其次包括 ESBLs 和/或 AmpC 过度表达所致外膜蛋(OmpF、OmpC 等)的缺失,药物作用靶位的改变(青霉素结合蛋白 PBP),主动外排系统的活

跃等。碳青霉烯酶可以水解所有的青霉素类、头孢菌素类、氨基糖苷类及碳青霉烯类抗生素,克拉维酸不能抑制其活性,导致产碳青霉烯酶菌株呈现广泛耐药现象,对于产碳青霉烯酶菌株所致感染治疗能选择的抗菌药物非常有限,单一抗菌药物治疗的病死率高于联合多粘菌素 B 或替加环素^[15]治疗。本研究显示,耐碳青霉烯酶菌株对常用抗菌药物存在较高的耐药率,CRKP 除对复方磺胺甲噁唑耐药率稍低(为 34.70%),对氨基糖苷类耐药率约为 80% 外,对亚胺培南 100% 耐药,对厄他培南和美罗培南的耐药率分别为 83.21% 及 92.54%,对于 β -内酰胺类及加酶抑制剂、喹诺酮类、氨基糖苷类的耐药率均 >90%。CREC 耐药率稍低于 CRKP,仅对少数抗菌药物耐药率 >90%,大部分均在 80% 左右,与相关文献^[16]报道一致;CRE 与非 CRE 耐药率除复方磺胺甲噁唑外,其耐药率均存在统计学差异($P < 0.01$)。由于大量的 ESBLs 及高产 AmpC 菌株感染的日益增加,导致碳青霉烯类抗生素的应用增加,CRE 将逐渐增加,而目前对于治疗 CRE 所致的感染无有效抗菌药物选择,仅联合用药可以降低感染患者的病死率^[15],严峻的感染趋势,使临床治疗面临极大挑战,所以积极有效的预防措施,对于控制 CRE 感染具有重要意义。

由于碳青霉烯酶耐药基因位于质粒上,由质粒介导传播^[13],较容易在不同菌种之间迅速传播而导致医院感染的暴发流行,采取综合有效的防治措施,对防止 CRE 的发生及传播,预防医院感染的发生具有积极的意义;微生物室应针对重点科室、重点部门及早发现多重耐药菌并及时报告,定期报告临床及感染管理部门多重耐药菌的流行病学和耐药监测数据;临床应依据实验室细菌培养及药物敏感报告,规范化合理使用抗菌药物,加强医院环境中的消毒隔离措施及医务工作者手卫生意识。总之,应依据 CRE 的产生、传播途径及高危因素进行医院感染的干预和防控,减少医院内多重耐药菌的交叉感染和传播。

[参 考 文 献]

- [1] Navon-Venezia S, Leavitt A, Schwaber MJ, et al. First report on a hyperepidemic clone of KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel genetically related to a strain causing outbreaks in the United States[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(2): 818-820.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standar-

ds for antimicrobial susceptibility testing, twenty-fifth informational supplement[S]. CLSI, 2015, M100 - S25.

- [3] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2015 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(6):685 - 694.
- [4] 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.
- [5] Lee CR, Lee JH, Park KS, et al. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 895.
- [6] Bradford PA, Bratu S, Urban C, et al. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(1): 55 - 60.
- [7] Woher DJ, Kurpiel PM, Woodford N, et al. Phenotypic and enzymatic comparative analysis of the novel KPC variant KPC-5 and its evolutionary variants, KPC-2 and KPC-4[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(2): 557 - 562.
- [8] 徐安, 卓超, 苏丹虹, 等. 2005—2014 年 CHINET 克雷伯菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(3): 267 - 274.
- [9] Xu Y, Gu B, Huang M, et al. Epidemiology of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE) during 2000 - 2012 in Asia [J]. J Thorac Dis, 2015, 7(3): 376 - 385.
- [10] 陈越, 倪语星, 孙景勇. 2005—2014 年上海交通大学医学院附属瑞金医院细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(6):695 - 701.
- [11] Bhargava A, Hayakawa K, Silverman E, et al. Risk factors for colonization due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among patients exposed to long-term acute care and acute care facilities[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2014, 35(4): 398 - 405.
- [12] Shilo S, Assous MV, Lachish T, et al. Risk factors for bacteriuria with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its impact on mortality: a case-control study[J]. Infection, 2013, 41(2): 503 - 509.
- [13] Poirel L, Lienhard R, Potron A, et al. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from Switzerland[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(3): 675 - 676.
- [14] Petrosillon N, Giannella M, Lewis R, et al. Treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the state of the art [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2013, 11(2): 159 - 177.
- [15] Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(4): 2108 - 2113.
- [16] Hoban DJ, Reinert RR, Bouchillon SK, et al. Global in vitro activity of tigecycline and comparator agents: tigecycline evaluation and surveillance trial 2004 - 2013 [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2015, 14: 27.

(本文编辑:文细毛)