

· 临床研究 ·

常山县 CRE 感染现状、耐药情况及分子流行病学特征分析

刘京丽 郑婷婷 余爱萍 陈佳琦

[摘要] 目的 分析常山县的碳青霉烯类耐药肠杆菌(CRE)感染现状、耐药情况、毒力基因以及分子生物学特征。方法 收集常山县2020年1月至2023年10月各哨点医院收治的肠杆菌科细菌,分离鉴定出CRE菌株,进行药敏试验及分子生物学检测。结果 CRE检出率为5.06%,感染率随着年龄增加而升高,检出较高科室是重症监护病房(ICU)和呼吸科,样本主要来源于痰液、分泌物和尿液,排名前三的CRE菌株类型为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌。CRE菌株对替加环素和多黏菌素耐药率较低,主要产碳青霉烯酶型为KPC型(46.18%)和NDM型(40.96%)。CRKP检出产碳青霉烯酶型主要是KPC型(64.96%)和NDM型(20.51%),以K1型(36.00%)、K57型(48.00%)为主,毒力基因占比较多是*iroB*和*rmpA*,CREC检出产碳青霉烯酶型主要是NDM型(58.46%)和KPC型(29.23%),肠集聚性大肠埃希菌EAEC(60.00%)、肠致病性大肠埃希菌EPEC(20.00%)为主,主要毒力基因为*astA*、*pic*、*escV*和*aggR*。结论 常山县CRE菌株耐药基因型、毒力基因以及分子生物学特征复杂,需要引起本地区临床关注。

[关键词] 碳青霉烯类耐药肠杆菌; 碳青霉烯酶; 耐药基因型; 毒力基因

Analysis of CRE infection status, drug resistance and molecular epidemiological characteristics in Changshan County LIU Jingli, ZHENG Tingting, YU Aiping, et al. Department of Clinical Laboratory, Changshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Changshan 324200, China.

[Abstract] **Objective** To analyze the infection status, drug resistance, virulence genes and molecular biological characteristics of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE) in Changshan County. **Methods** From January 2020 to October 2023, Enterobacteriaceae bacteria were collected from sentinel hospitals in Changshan County, CRE strains were isolated and identified, and antimicrobial susceptibility testing and molecular biological detection were performed. **Results** The detection rate of CRE was 5.06%, and the infection rate increased with age. The departments with the highest detection rates were the intensive care unit (ICU) and respiratory department. Samples were mainly obtained from sputum, secretions, and urine. The top three types of CRE isolates were *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Enterobacter cloacae*. The resistance rates to tigecycline and colistin were low, and the main carbapenemase types produced were KPC (46.18%) and NDM (40.96%). KPC type was the predominant carbapenemase type in *Klebsiella pneumoniae* (64.96%) and NDM type (20.51%), with predominant serotypes K1 (36.00%) and K57 (48.00%). The virulence genes most frequently detected were *iroB* and *rmpA*. In CREC (*CRE Enterobacter cloacae*), NDM type (58.46%) and KPC type (29.23%) were the predominant carbapenemase types, with predominant serotypes EAEC (60.00%) and EPEC (20.00%), and the main virulence genes were *astA*, *pic*, *escV*, and *aggR*. **Conclusion** The drug-resistance genotypes, virulence genes and molecular biological characteristics of CRE strains in Changshan are complex, which needs to be paid attention.

[Key words] carbapenem resistant enterobacteriaceae; carbapenemase; drug resistance genotype; virulence gene

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2025.001.010

基金项目:浙江省基础公益项目(LGC22H100002)

作者单位:324200 浙江常山,常山县中医医院检验科(刘京丽,郑婷婷);衢州市第三医院检验科(余爱萍);丽水市人民医院检验科(陈佳琦)

中国细菌耐药监测网数据显示,碳青霉烯类耐药肠杆菌(carbapenem resistant enterobacterales, CRE)检出率呈现逐年升高趋势,已成为当前全球公

共卫生面临的重大挑战问题之一^[1,2]。CRE主要耐药机制为其可以产生水解亚胺培南或美罗培南的碳青霉烯酶,我国分离的CRE菌株主要是产A类酶的肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(*klebsiella pneumoniae carbapenemases*, KPC)、新德里金属- β -内酰胺酶(new Delhi metallo- β -lactamase, NDM)、亚胺培南酶(*imipenemases*, IMP)、维罗纳整合素编码金属-B-内酰胺酶(*verona integron-encoded metallo- β -lactamases*, VIM)和苯唑西林酶(*oxacillinase*, OXA)等^[3],但是碳青霉烯酶型分布具有地区和人群差异,由于不同抗菌药物对各类产碳青霉烯类耐药菌的抗菌活性不同,所以准确监测和了解本地区CRE菌株的产碳青霉烯酶型、毒力基因以及分子流行病学特征,对临床用药及院感防控具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2020年1月至2023年10月就诊于常山县人民医院、常山县中医院和常山县妇保医院各科室送检的体液标本4 925份,按照《全国临床检验操作规程》(第四版)^[4]进行菌株分离、培养,保留同一患者相同菌株的第一株,剔除重复菌株,质控菌株为肺炎克雷伯菌(*klebsiella pneumoniae*, KPN) ATCC700603、大肠埃希菌(*escherichia coli*, DEC) ATCC25922、阴沟肠杆菌(*enterobacter cloacae*, ECL) ATCC700323,利用电子病历系统提取相关患者信息,本次研究获得医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 60全自动细菌鉴定和药敏分析仪(由法国梅里埃公司生产);荧光定量PCR仪(由美国ABI公司生产);DYY-6C型电泳仪(由中国上海标卓公司生产);FR-980A凝胶成像仪(由上海复日科技有限公司生产)。PCR引物以及产物测序由中国上海生工生物工程有限公司提供和完成,基因序列在美国国家生物技术信息中心中进行比对。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定和药敏试验 参照《全国临床检验操作规程》(第四版)对细菌进行分离和培养,使用VITEK 2 Compact 60全自动微生物分析仪进行菌株鉴定和药敏试验,根据美国临床与实验室标准协会最新判断标准对药敏结果进行判定,CRE纳入标准:检测样本对美罗培南和亚胺培南2种碳青霉烯类抗菌药物至少1种耐药即定义为CRE。

1.3.2 碳青霉烯酶型检测 采用北京金山川公司碳青霉烯酶检测试剂盒(胶体金免疫层析法),检测

CRE菌株碳青霉烯酶NDM、IMP、KPC、VIM和OXA-48型,严格按照其说明书进行操作。

1.3.3 KPN荚膜血清型、DEC类型及毒力基因检测 从117株肺炎克雷伯菌中,选取50例碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌(carbapenem resistant *klebsiella pneumoniae*, CRKP),检测荚膜血清型(K1、K2、K5、K20、K54、K57)以及毒力基因:粘液表型调节因子A(*rmpA*)、铁响应外膜蛋白B(*iroB*)、气杆菌素受体基因(*iucA*)、纤毛基因(*peg-344*)引物序列按照文献设计^[5];在65份大肠埃希菌中,选取30份碳青霉烯类耐药大肠埃希菌(carbapenem resistant *escherichia coli*, CREC),采用北京卓诚惠生生物科技有限公司提供的大肠埃希菌实时荧光PCR检测试剂盒,按照参考文献设计扩增体系及条件^[6],检测毒力基因:集聚性热稳定毒素A基因(*astA*)、肠定植因子基因(*pic*)、产肠毒素粘附性基因(*escV*)和集聚黏附菌毛调节基因(*aggR*),同时进行DEC类型鉴定,PCR产物均送上海生物工程公司测序分析。

1.4 统计学方法 采用SPSS 23.0软件数据进行分析,计数资料以百分比表示,采用 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 常山县CRE菌株检出情况见表1

表1 常山县CRE菌株检出情况

项目	例数/例	CER株数/株	检出率/%
年龄			
<18岁	743	18	2.42
18~60岁	2419	102	4.22
>60岁	1763	129	7.32
科室分布			
ICU	1015	76	7.49
呼吸科	841	54	6.42
普外科	997	36	3.61
血液科	342	20	5.85
神经内科	740	13	1.76
神经外科	437	17	3.89
其他科室	553	33	5.97
样本来源			
痰液	1547	102	6.59
分泌物	715	34	4.76
血液	582	22	3.78
尿液	1038	45	4.34
引流液	547	17	3.11
其他	496	29	5.85

续 表 1 常山县 CRE 菌株检出情况

项目	例数/例	CER 株数/株	检出率/%
菌株			
肺炎克雷伯菌	1336	117	8.76
大肠埃希菌	984	65	6.61
阴沟肠杆菌	835	39	4.67
产酸克雷伯菌	583	10	1.72
奇异变形杆菌	627	8	1.28
黏质沙雷菌	176	5	2.84
产气肠杆菌	183	3	1.64
费氏柠檬酸杆菌	201	2	1.00
合计	4925	249	5.06

由表 1 可见,常山县 CRE 检出率为 5.06%, CRE 检出率高随着年龄增加而升高,检出率较高科室分别是 ICU、呼吸科以及血液科,样本主要来源于痰

液、分泌物和尿液,菌株类型主要为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和阴沟肠杆菌,不同年龄、科室分布、样本来源和菌株的 CRE 检出率比较,差异均有统计学意义(χ^2 分别=33.06、39.53、15.82、88.69, P 均 < 0.05)。

2.2 CER 菌株的耐药率见表 2

由表 2 可见,CRE 菌株对常见抗菌药物耐药率较高,其中对亚胺培南、氨苄西林、美罗培南、哌拉西林、氨苄西林/舒巴坦、环丙沙星、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、头孢他啶耐药率高达 70% 以上,对替加环素和多黏菌素耐药率较低,分别为 3.61% 和 1.23%;肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、美罗培南、哌拉西林、亚胺培南耐药情况均大于阴沟肠杆菌,且高达 80% 以上,3 种肠杆菌目细菌对替加环素和多黏菌素耐药率均为 0%。

表 2 CRE 菌株对常见抗菌药物的耐药率

抗菌药物	肺炎克雷伯菌		大肠埃希菌		阴沟肠杆菌		CRE	
	菌株数/株	耐药率/%	菌株数/株	耐药率/%	菌株数/株	耐药率/%	菌株数/株	耐药率/%
阿米卡星	115	54.78	64	15.63	37	5.41	238	34.45
氨苄西林	116	93.97	62	96.77	39	64.10	229	92.58
氨苄西林/舒巴坦	109	81.65	65	80.00	35	68.57	242	78.51
氨曲南	110	80.91	60	58.33	38	60.53	248	67.74
呋喃妥因	116	50.86	57	28.07	37	35.14	245	34.29
环丙沙星	117	77.78	65	81.54	33	54.55	239	76.15
美罗培南	115	95.65	61	93.44	34	91.18	239	91.63
哌拉西林	114	83.33	60	90.00	36	72.22	248	81.85
哌拉西林/他唑巴坦	117	88.89	65	61.54	38	68.42	223	72.20
庆大霉素	116	62.07	63	42.86	31	54.84	238	55.88
替加环素	109	0	65	0	39	0	249	3.61
多黏菌素	115	0	59	0	38	0	244	1.23
头孢吡肟	115	75.65	65	80.00	37	64.86	243	72.02
头孢他啶	108	79.63	64	78.13	39	53.85	241	70.54
妥布霉素	116	62.93	64	50.00	36	44.44	247	49.39
亚胺培南	112	100	65	100	35	100	248	100
左旋氧氟沙星	111	73.87	61	68.85	36	36.11	240	65.83

2.3 CRE 菌株耐碳青霉烯酶分型检出情况 249 株 CRE 菌株检出产碳青霉烯酶型主要是 KPC 型 115 株 (46.18%)、NDM 型 102 株 (40.96%),其中,15 株未检测到碳青霉烯酶型 (6.02%)。117 株 CRKP 检出产碳青霉烯酶型主要是 76 株 KPC 型 (64.96%)、24 株 NDM 型 (20.51%) 和 7 株 IMP 型 (5.98%);65 株 CREC 检出产碳青霉烯酶型主要是 38 株 NDM 型 (58.46%) 和 19 株 KPC 型 (29.23%);39 株碳青霉烯类耐药阴沟肠杆菌检出产碳青霉烯酶型主要是 28 株 NDM 型

(71.79%) 和 7 株 KPC 型 (17.95%)。

2.4 CRKP 和 CREC 检出类型及毒力基因分布 50 株 CRKP 共检出 3 种荚膜血清型,分别是 18 株 K1 型 (36.00%)、3 株 K2 型 (6.00%)、24 株 K57 型 (48.00%) 和未确定 5 株 (10.00%),获得 4 种高毒力基因,主要为 *rmpA*、*iroB*、*iucA*、*peg-344* 及其毒力基因组合;30 株 CREC 检出 4 种 DEC 类型,依次是肠集聚性大肠埃希菌 (*enteroagglomerative escherichia coli*, EAEC) 60.00%、肠致病性大肠埃希菌 (*enteropathogenic*

escherichia coli, EPEC) 20.00%、肠产毒性大肠埃希菌(enterotoxigenic escherichia coli, ETEC) 6.67% 和肠出血性大肠埃希菌(enterohemorrhagic escherichia coli, EHEC) 3.33%, 获得 8 种毒力基因, 主要为 *astA*、*pic*、*escV* 和 *aggR* 等, 以及其毒力基因组合。

3 讨论

肠杆菌科细菌属于革兰阴性菌, 是条件致病菌, 可寄生于人、动物、植物、土壤及水中, 在医院和社区感染致病菌中占比较大, 其分离率最高的主要是肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌等^[7]。本次研究 CRE 检出率为 5.06%, 低于张绮萍等^[7]报道的嘉兴市 6.10%, 与崔秀格等^[8]报道的全国平均检出率为 1.2%~15.5% 相比, 属于中低水平, 这可能与近年来本地区不断加强和重视对抗菌药物合理使用结果有关。常山县 CRE 检出率随着年龄增加而升高, 检出较高科室是 ICU 和呼吸科, 样本主要来源于痰液、分泌物和尿液, 排名前三的 CRE 菌株类型为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌, 其分布情况与其它文献^[9,10]报道基本相似, 但是检出率和菌株类型略有不同^[11,12], 可能与本地区 ICU、呼吸科及年龄偏大患者, 常合并有多种基础性疾病, 机体免疫功能较差, 高效广谱类抗菌药物长期使用等原因相关, 提示 CRE 检出率可能具有地区和人群差异。CRE 菌株对常见抗菌药物耐药率较高, 对替加环素和多黏菌素耐药率较低, 需要引起临床用药关注。

249 株 CRE 菌株检出碳青霉烯酶型与我国以 KPC 型和 NDC 型为主, 其次是少数 OXA-48 型和 IMP 型等情况相符, KPC 和 NDM 型属于编码 β -内酰胺酶的耐药基因型, 可以通过质粒携带在不同肠杆菌菌株之间传播, 加重临床治疗难度^[3]。CRKP 常见荚膜血清型为 K1、K2、K5、K20、K54、K57, 毒力基因是 *ompA*、*iroB*、*iucA* 和 *peg-344* 等^[3], 本次研究中 CRKP 荚膜血清型以 K57 和 K1 型为主, 毒力基因占比较多是 *iroB* 和 *ompA*, 与鞠启文等^[11]和石庆新等^[12]文献报道略有不同, 说明不同地区荚膜血清型、高毒力基因检出情况有差异。30 株大肠埃希菌检出 4 种 DEC 类型, 占比最高为 EAEC 和 EPEC, 有 8 种毒力基因, 主要为 *astA*、*pic*、*escV* 和 *aggR* 及其基因组合, 与冯盈俏等^[13]报道的永康地区相似, 可能与常山县和永康市地理位置相差较近有关。

综上所述, 常山县 CRE 检出率与全国相比属于

中低水平, 药敏试验结果显示对替加环素和多黏菌素耐药率较低, 检出细菌类型占比较多的是 KPN、DEC、ECL, 且分子生物学特征复杂, 需要相关单位加强关注。

参考文献

- 1 全国细菌耐药监测网. 2020 年全国细菌耐药监测报告[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45(2): 122-136.
- 2 郑永贵, 胡付品, 朱德妹, 等. 2019 年 CHINET 细菌耐药监测网二级医院监测结果[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(6): 585-593.
- 3 Wang Q, Jin L, Sun S, et al. Occurrence of high levels of cefiderocol resistance in carbapenem-resistant escherichia coli before its approval in China: A report from China CRE-Network[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(3): e0267021.
- 4 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: 636-663.
- 5 彭晨. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌的耐药和毒力分子流行病学特征分析[D]. 广东: 广州医科大学, 2023.
- 6 张网. 中国部分地区腹泻患者和健康人群弥散粘附性大肠埃希菌的分离和特征分析[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2017.
- 7 张绮萍, 陆锦琪, 王霄腾, 等. 某三级医院耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌分布特征及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(8): 946-949, 954.
- 8 崔秀格, 吴忠伟, 王珊珊, 等. 耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌科细菌的分离及耐药性分析[J]. 中国医药, 2019, 14(9): 1410-1414.
- 9 张颖, 何卫, 胡云双, 等. 某医院碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌临床分布特点及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(18): 2197-2199.
- 10 陈景丹, 沈显元, 喻春红, 等. 社区肺炎克雷伯菌感染的临床分布和耐药性分析[J]. 全科医学临床与教育, 2023, 21(12): 1128-1130.
- 11 鞠启文, 王运中, 陶云珍, 等. 儿童血流感染肺炎克雷伯菌毒力与耐药基因分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(21): 3337-3341.
- 12 石庆新, 陆如兵, 於青峰, 等. 从肺泡灌洗液分离耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的耐药特征及毒力基因研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(1): 42-45.
- 13 冯盈俏, 李红静, 何跃. 永康市感染性腹泻患儿病原体特征及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(8): 936-939, 979.

(收稿日期 2024-04-25)

(本文编辑 高金莲)