

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.02.007

· 论 著 ·

## 某院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌检出与耐药表型分布

孙晔佳, 顾克菊

(上海中医药大学岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

**[摘要]** **目的** 了解临床分离耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)耐药表型及临床分布特征, 为临床合理用药和医院感染防控提供依据。**方法** 收集 2013—2015 年某医院住院患者临床分离的 CRKP, 分析标本来源分布及病原菌药敏同源性。**结果** 949 株非重复分离的肺炎克雷伯菌中, 检出 CRKP 75 株(7.90%)。2013—2015 年 CRKP 的检出率分别为 1.35%、7.77%、17.04%, 呈逐年上升趋势, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。CRKP 感染部位主要为呼吸道和泌尿道, 主要分布于重症监护病房(ICU)、老年病科和急诊科。CRKP 对阿米卡星和复方磺胺甲噁唑的敏感率稍高, 分别为 57.33%、48.00%。CRKP 社区获得性感染者 22 例, 占 29.33%; 医院获得性感染者 53 例, 占 70.67%。75 例 CRKP 感染患者死亡 18 例(24.00%)。耐药表型分析有同源性的 CRKP 分为 5 种克隆, 主要在 ICU、急诊病房和老年病科等科室传播流行。**结论** CRKP 感染的比例有逐年升高的趋势, 临床应加强 CRKP 的监测, 采取强化的感染控制措施, 预防和控制 CRKP 的播散和流行。

**[关键词]** 肺炎克雷伯菌; 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 耐药表型; 耐药性; 抗药性; 微生物; 同源性

**[中图分类号]** R181.3<sup>+</sup>2 R378.99<sup>+</sup>6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)02-0130-05

## Isolation and drug resistance phenotype distribution of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a hospital

SUN Ye-jia, GU Ke-ju (Yueyang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze drug resistance phenotypes and clinical distribution characteristics of clinically isolated carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP), and provide evidence for rational use of antimicrobial agents and control of healthcare-associated infection (HAI). **Methods** CRKP isolated from inpatients in a hospital in 2013–2015 were collected, sources of specimens and homology of antimicrobial susceptibility of pathogens were analyzed. **Results** Of 949 non-repetitive strains of *Klebsiella pneumoniae*, 75 (7.90%) were CRKP strains. The detection rates of CRKP from 2013 to 2015 were 1.35%, 7.77%, and 17.04% respectively, which showed an upward trend year by year, difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). The main infection sites of CRKP were respiratory tract and urinary tract, CRKP mainly distributed in intensive care unit (ICU), geriatrics and emergency departments. Susceptibility rates of CRKP to amikacin and trimethoprim / sulfamethoxazole were 57.33% and 48.00% respectively. 22 (29.33%) cases of CRKP infection were community-acquired and 53 (70.67%) were healthcare-associated infection. 18 (24.00%) cases died among 75 CRKP infected patients. According to drug resistance phenotype analysis, there were 5 clones of CRKP strains, mainly distributed in ICU, geriatrics and emergency departments. **Conclusion** The proportion of CRKP infection is increasing year by year, clinical monitoring on CRKP should be strengthened, intensive infection control measures should be taken, so as to prevent and control the spread and prevalence of CRKP.

[收稿日期] 2016-06-06

[基金项目] 上海中医药大学校级医院管理研究项目(2016YG16)

[作者简介] 孙晔佳(1983-), 男(汉族), 上海市人, 公共卫生主治医师, 主要从医院感染防控研究。

[通信作者] 顾克菊 E-mail: yyyyngr@126.com

[Key words] *Klebsiella pneumoniae*; carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; drug resistance phenotype; drug resistance, microbial; homology

[Chin J Infect Control, 2017, 16(2): 130-133, 137]

肺炎克雷伯菌是重要的条件致病菌,常导致包括呼吸道感染、泌尿道感染、血流感染、腹腔感染和伤口感染等各种医院获得性感染,在医院重症监护病房(intensive care unit, ICU)中更是常见<sup>[1]</sup>。近年来,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)已在全球范围内广泛播散,造成肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类、青霉素类、头孢菌素类等几乎所有β-内酰胺类抗生素耐药率高,且伴有病死率的增加,给临床治疗带来极大困难。美国疾病控制与预防中心(CDC)发布的2013年抗生素耐药性威胁,将耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)列入“紧迫”级别威胁中三个细菌之一。本研究回顾性分析临床分离CRKP耐药表型及临床分布特征,为临床医生合理选择抗菌药物,预防多重耐药菌的医院传播提供依据。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 回顾性调查本院2013年1月—2015年12月住院患者微生物标本CRKP阳性患者,分析感染病原菌病区分布、标本来源及耐药表型。

1.2 CRKP检测 住院患者微生物标本CRKP临床分离株,剔除同一患者相同部位的重复菌株。CRKP检测采用耐药表型,最低抑菌浓度(MIC)法检测CRKP,采用纸片法进一步明确碳青霉烯类菌株。表型检测采用MIC法,测定碳青霉烯类及其他常用抗菌药物对细菌的敏感性。质控菌株有:大肠埃希菌 ATCC 25922,肺炎克雷伯菌 ATCC 700603。采用2012年美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准对细菌药敏结果进行判定<sup>[2]</sup>。CRKP的判断标准参照美国CDC对CRE的定义<sup>[3]</sup>:对厄他培南、美罗培南或亚胺培南其中之一不敏感且对三代头孢菌素耐药。

1.3 超广谱β-内酰胺酶检测 法国生物梅里埃VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定仪及其药敏板筛选。

1.4 统计分析 应用Epi-info统计软件进行描述性统计分析及趋势卡方检验,  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般资料 2013年1月—2015年12月949例住院感染患者微生物标本检出肺炎克雷伯菌,其中75例感染CRKP(男性49例,女性26例),占7.90%,年龄38~96岁,平均(77.96 ± 17.61)岁。

2.2 CRKP菌株来源及感染部位分布 2013—2015年CRKP检出率分别为1.35%、7.77%、17.04%,呈逐年上升趋势,差异有统计学意义( $\chi^2 = 52.14, P < 0.01$ )。检出居前三位的科室为ICU、老年病科和急诊病房。病原菌感染部位主要为呼吸道和泌尿道,75株CRKP中来源于痰53株(70.67%),尿13株(17.33%),咽拭子8株(10.67%)。见表1~2。

表1 2013—2015年CRKP检出情况[株(%)]

Table 1 Detection of CRKP in 2013-2015(No. of isolates [%])

耐药类型	2013年 (n=370)	2014年 (n=309)	2015年 (n=270)	$\chi^2$	P
美罗培南耐药	3(0.81)	20(6.47)	45(16.67)	57.669	0.000
亚胺培南耐药	5(1.35)	24(7.77)	43(15.93)	47.038	0.000
厄他培南耐药	5(1.35)	24(7.77)	46(17.04)	52.144	0.000

表2 75株CRKP的科室来源

Table 2 Department distribution of 75 CRKP strains

科别	株数	百分比(%)
ICU	30	40.00
老年病科	16	21.33
急诊科	13	17.33
呼吸内科	4	5.33
神经内科	3	4.00
针灸科	2	2.67
普通内科	2	2.67
肾脏内科	2	2.67
肿瘤内科	2	2.67
血液内科	1	1.33
合计	75	100.00

2.3 CRKP菌株耐药表型检测 75株CRKP菌株耐药特征表现为对绝大部分包括碳青霉烯类在内的β-内酰胺类抗生素耐药或敏感性降低,部分菌株对阿米卡星、复方磺胺甲噁唑、磷霉素仍保持较高的敏

感性。75 株 CRKP 产 ESBLs 率为 8.00% (6/75), 详见表 3。

表 3 CRKP 对各种抗菌药物的药敏结果

Table 3 Antimicrobial susceptibility testing results of CRKP isolates (%)

抗菌药物	检测株数	耐药率 (%)	中敏率 (%)	敏感率 (%)
哌拉西林	66	98.48	1.52	0.00
哌拉西林/他唑巴坦	70	98.57	0.00	1.43
头孢唑林	75	100.00	0.00	0.00
头孢呋辛	68	98.53	1.47	0.00
头孢他啶	75	100.00	0.00	0.00
头孢噻肟	67	100.00	0.00	0.00
头孢吡肟	75	93.33	0.00	6.67
头孢哌酮/舒巴坦	75	94.67	5.34	0.00
头孢美唑	60	96.66	1.67	1.67
亚胺培南	75	94.67	1.33	4.00
美罗培南	70	91.43	5.71	2.86
厄他培南	75	98.67	0.00	1.33
阿米卡星	75	41.34	1.33	57.33
庆大霉素	75	84.00	0.00	16.00
磷霉素	64	59.38	15.62	25.00
环丙沙星	75	96.00	0.00	4.00
复方磺胺甲噁唑	75	52.00	0.00	48.00

2.4 CRKP 菌株同源性分析 根据药敏判断有同源性的 CRKP 菌株分为 5 种克隆, 其中 A 型克隆 (仅对复方磺胺甲噁唑敏感) 23 株, 主要分布在 ICU 和老年病科; B 型克隆 (仅对阿米卡星和妥布霉素敏感) 18 株分布在 ICU 和急诊科; C 型 (仅对阿米卡星敏感) 12 株主要分布在 ICU; D 型 (对常用抗菌药物全耐药) 8 株主要分布在 ICU 和老年病科, E 型 (仅对阿米卡星、妥布霉素和复方磺胺甲噁唑敏感) 6 株主要分布在 ICU。见表 4。

表 4 75 株 CRKP 耐药表型科室分布

Table 4 Department distribution of drug resistance phenotypes of 75 CRKP isolates

药敏表型	株数	百分比 (%)	科室分布 (株数)				
			ICU	老年病科	急诊科	呼吸内科	其他
A 型	23	30.66	6	9	1	3	4
B 型	18	24.00	6	0	12	0	0
C 型	12	16.00	8	1	0	1	2
D 型	8	10.67	3	3	0	0	2
E 型	6	8.00	5	1	0	0	0
其他	8	10.67	2	2	0	0	4
合计	75	100.00	30	16	13	4	12

2.5 碳青霉烯类抗生素消耗量 2013—2015 年住院患者碳青霉烯类抗生素消耗量分别为 7 698.4、11 772.4、15 049.4 克, 呈上升趋势。

2.6 CRKP 医院获得性感染监测及患者预后 75 例 CRKP 感染患者中, CRKP 社区获得性感染 22 例, 占 29.33%, 医院获得性感染 53 例, 占 70.67%; 死亡 18 例, 病死率 24.00%。

### 3 讨论

在过去 10 年, 产碳青霉烯酶 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, KPC) 肺炎克雷伯菌的播散导致 CRE 在世界各地流行。CRE 所致感染治疗所选药物受限, 病死率高。近年来, 从肠杆菌鉴定到其他碳青霉烯酶如 I 型新德里金属 β-内酰胺酶 (New Delhi metallo-β-lactamase, NDM-1)。与 KPC 相同, 上述酶常发现存在于可移动的基因元件子, 可广泛传播。预防 CRE 传播和感染已经成为重要的公共卫生问题。KPC 于 2001 年由 Yigit 等<sup>[4]</sup>首次报道, 在美国卡罗利亚州北部的一所医院分离 1 株对亚胺培南及美罗培南中/高度耐药的肺炎克雷伯菌, 该菌中分离出一种新型的质粒介导的碳青霉烯酶, 命名为 KPC-1。2001—2008 年间美国二十余个州相继发现了产 KPC 的细菌。2007 年 CDC 医院感染数据显示, 8% 的肺炎克雷伯菌是 CRKP。产 KPC 的细菌逐渐形成了全球播散的趋势, 现已报道过产 KPC 酶细菌的国家横跨美洲、欧洲和亚洲等十几个国家和地区。CRPK 给治疗带来了非常严峻的挑战, 而且 CRPK 的感染也与病死率、住院时间和医疗费用的增加有关。2007 年, Wei 等<sup>[5]</sup>首次报道中国发现产 KPC 的肺炎克雷伯菌。根据中国 CHINET 监测报告, 肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素仍高度敏感, 但是耐药率逐年上升, 2006 年不到 1%, 2013 年上升至 7%。2013 年肺炎克雷伯菌对美罗培南和亚胺培南耐药率分别为 13.5%、10%<sup>[6]</sup>。本研究显示, 2013—2015 年 3 年间住院患者各类微生物标本共分离 CRKP 75 株, CRKP 检出率分别为 1.35%、7.77% 到 17.04%, 呈逐年上升趋势。检出率较高的前三位科室为 ICU、老年病科和急诊病房。病原菌感染部位主要为呼吸道和泌尿道。75 株 CRKP 耐药特征表现为对绝大部分包括碳青霉烯类在内的 β-内酰胺类抗生素耐药或敏感性降低, 部分菌株对阿米卡星、复方磺胺甲噁唑、磷霉素和替加环素还保持较高的敏感性。目前, 临床除了美罗培南、亚胺培南外, 常用多粘菌素、替加环素、磷霉素治疗由 CRE 导致的感染, 或者采用多粘菌素或阿米卡星联合碳青霉烯类药物, 多粘菌素联合替加

环素或利福平,阿米卡星联合磷霉素等联合给药的方式<sup>[6]</sup>,对 CRE 感染具有较好的疗效。本组患者病死率 24.00%,Ben-David 等<sup>[7]</sup>研究显示,非 CRKP 感染者病死率为 17%,CRKP 血流感染患者病死率高达 48%。Falagas 等<sup>[8]</sup>对 2012 年之前发表的 7 篇相关论文进行 Meta 分析,CRKP 感染病死率为 26%~44%。

对于控制医院感染而言,首先需了解医院感染常见致病菌的致病及传播机制,其次需清楚致病菌的分布、分型以及耐药情况。CRKP 实验室检测包括表型检测和分子生物学诊断检测,其中表型检测包括对碳青霉烯类抗生素的 MIC 测定和改良 Hodge 试验。MIC 测定可初步确定细菌对碳青霉烯类抗生素的体外敏感性,并根据 CLSI 标准,判定是否为 CRKP。表型检测方法简单快速,MIC 法结合纸片法可提高鉴定 CRKP 准确性。潘慧琼等<sup>[9]</sup>对 ICU 患者和环境分离的 11 株产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌进行药敏试验,并采用随机扩增多态性 DNA 扩增法(RAPD)进行同源性分析,11 株菌均对复方磺胺甲噁唑敏感,均有 3 个条带,药敏试验和 RAPD 高度一致,显示为同一克隆株。药敏结果相同说明菌株可能来自同一个克隆株。我院 CRKP 医院感染监测显示,社区获得性感染 22 例,医院获得性感染 53 例(占 70.67%),提示克隆传播流行的存在。

本研究根据耐药表型判断有同源性的 CRKP 菌株分为 5 种克隆,发现有 4 种流行耐药克隆株在我院 ICU、急诊病房和老年病科传播流行。上述科室收治的患者病情相对严重、基础疾病多、住院时间长以及侵入性操作更多,使患者获得感染的机会明显增加,可能是出现本文所示耐药表型结果的原因。研究<sup>[10]</sup>显示,感染 CRE 的风险因素为入住医疗机构、抗菌药物暴露、器官或干细胞移植、住院时间长。

本院对临床常见多重耐药菌感染或定植患者均实施以接触隔离为核心的综合防控措施,包括床头悬挂隔离标志、手卫生、医疗用品专人使用、环境物体表面每日消毒、接触患者时穿隔离衣等。监测结果显示,基础隔离防护措施并不能有效防控 CRKP 病区内、科室间传播流行。肠杆菌科细菌包括产 ESBLs 细菌和产 KPC 酶的细菌,大多数是人到人的传播,通过粪便污染的手或者环境而获得,因此必须采取接触隔离措施,控制多重耐药革兰阴性菌传播。当与患者、其分泌物以及周围环境接触时,必须实施手卫生。感染患者必须实施隔离,接触患者时穿隔离衣、戴手套。为预防传播,可将同类感染患者

安置在同一病房。主动筛查对于控制 CRE 的暴发是有效的。Harris 等<sup>[11]</sup>发现,某些克雷伯菌可在 ICU 患者中传播,27 例肺炎克雷伯菌感染患者,52%是患者-患者传播,提示在感染暴发情景及特定高危人群中,尽早发现病例以及主动监测可能会起一定作用。

由于 CRE 日益增多,美国 CDC 最近发布了关于在急性病医疗机构预防和控制病原菌感染的指南<sup>[12]</sup>。指南要求当与患者和/或其环境接触时应严格执行手卫生,并要求所有急性病医疗机构对所有 CRE 定植或感染患者实施接触隔离。临床微生物学实验室必须依据 CLSI 指南制定检测 CRE 的操作规程。在有 CRE 流行的区域,医疗机构必须监测 CRE 感染的临床病例,如果感染率不降低,应考虑采取强化感染控制策略。指南也对未发生 CRE 流行的机构提出要求,要求至少每半年对微生物学记录进行复习和评估。若发现以前未曾识别的病例,必须进行一轮主动筛查,鉴定出未识别的定植源,并据此实施感染控制措施。对于 CRE 感染暴发,需要更积极主动地监测和进行病例鉴定。本研究数据显示,近 3 年住院患者碳青霉烯类抗生素消耗量呈逐年上升趋势,抗菌药物管理是控制多重耐药菌的重要组成部分,已明确很多种类的抗菌药物是 CRE 定植或感染的危险因素,因此应实施抗菌药物管理,减少碳青霉烯类药物的使用。

## [参 考 文 献]

- [1] 周蓉,朱卫民,黄文祥,等. 855 株肺炎克雷伯菌感染的临床分布及耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志,2013,38(5):363-369.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Twenty-First informational supplement, 2012, M100-S22.
- [3] 代强,郑波. 2012 美国疾病预防控制中心耐碳青霉烯类肠杆菌控制指南简介[J]. 中国医学前沿杂志(电子版),2013,5(8):30-31.
- [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] 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.
- [6] 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.

发病率,减少了机械通气时间和 ICU 停留时间,切实可行,具有临床实际意义。

## [参考文献]

- [1] Kalanuria AA, Zai W, Mirski M. Ventilator-associated pneumonia in the ICU[J]. Crit Care, 2014, 18(2): 208.
- [2] 范晓华,曹岳蓉,徐娟,等.呼吸机相关性肺炎集束化护理方案预防的效果研究[J].中华医院感染学杂志,2015,25(18): 4203-4205.
- [3] 中华医学会重症医学分会.呼吸机相关性肺炎预防、诊断及诊疗指南(2013)[J].中华内科杂志,2013,52(6):1-9.
- [4] Alsadat R, Al-Bardan H, Mazloum MN, et al. Use of ventilator associated pneumonia bundle and statistical process control chart to decrease VAP rate in Syria[J]. Avicenna J Med, 2012, 2(4): 79-83.
- [5] 郑伟,茅一萍,周宏,等.重症监护病房呼吸机相关性肺炎集束化干预效果[J].中国感染控制杂志,2016,15(1):31-33.
- [6] Charles MP, Kali A, Easow JM, et al. Ventilator-associated pneumonia[J]. Australas Med J, 2014, 7(8): 334-344.
- [7] Damas P, Fripiat F, Ancion A, et al. Prevention of ventilator-associated pneumonia and ventilator-associated conditions: a randomized controlled trial with subglottic secretion suctioning[J]. Crit Care Med, 2015, 43(1): 22-30.
- [8] Cambridge, MA: Institute for Healthcare Improvement. How-to

guide: prevent ventilator-associated pneumonia[EB/OL]. (2012) [2016-03-24]. <http://www.ihl.org/resources/Pages/Tools/HowtoGuidePreventVAP.aspx>.

- [9] Wip C, Napolitano L. Bundles to prevent ventilator-associated pneumonia: how valuable are they? [J]. Curr Opin Infect Dis, 2009, 22(2): 159-166.
- [10] Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Implementing quality improvements in the intensive care unit: ventilator bundle as an example[J]. Crit Care Med, 2009, 37(1): 305-309.
- [11] Speck K, Rawat N, Weiner NC, et al. A systematic approach for developing a ventilator-associated pneumonia prevention bundle[J]. Am J Infect Control, 2016, 44(6): 652-656.
- [12] Caroff DA, Li L, Muscedere J, et al. Subglottic secretion drainage and objective outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. Crit Care Med, 2016, 44(4): 830-840.
- [13] Klompas M, Branson R, Eichenwald EC, et al. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia in acute care hospitals: 2014 update[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2014, 35(8): 915-936.
- [14] El-Rabbany M, Zaghlool N, Bhandari M, et al. Prophylactic oral health procedures to prevent hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: A systematic review[J]. Int J Nurs Stud, 2015, 52(1): 452-464.

(本文编辑:曾翠)

(上接第 133 页)

- [7] Ben-David D, Kordevani R, Keller N, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(1): 54-60.
- [8] Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, et al. Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections [J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(7): 1170-1175.
- [9] 潘慧琼,袁雪峰,周敏,等.重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌同源性分析[J].中国感染控制杂志,2015,14(12):827-829.
- [10] Patel G, Huprikar S, Factor SH, et al. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies[J]. Infect Control

Hosp Epidemiol, 2008, 29(12): 1099-1106.

- [11] Harris AD, Kotetishvili M, Shurland S, et al. How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* acquisition[J]. Am J Infect Control, 2007, 35(2): 97-101.
- [12] Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58(10): 256-260.

(本文编辑:周鹏程)