

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20221911

· 论 著 ·

重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学研究

杨程茹^{1,2}, 王 英¹, 李 莹¹, 张吉生³, 曾令怡^{1,2}, 胡可望^{1,2}, 张晓丽²

(1. 佳木斯大学附属第一医院检验科, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 重庆医科大学附属永川医院检验科, 重庆 402160; 3. 重庆医科大学附属永川医院核医学科, 重庆 402160)

[摘要] 目的 分析重症监护病房(ICU)临床来源耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(CRKP)的分子特征及流行情况, 为感染控制及药物治疗提供实验室数据。方法 收集 2018 年 7 月—2020 年 7 月某院 ICU 分离的 51 株 CRKP, 采用微量肉汤稀释法测定最低抑菌浓度, 多位点序列分型和脉冲场凝胶电泳分析菌株同源性, 检测菌株耐药和毒力基因, 接合试验验证质粒的转移性。结果 药敏试验显示, CRKP 对头孢他啶/阿维巴坦全部敏感, 对替加环素耐药率最低(3.9%), 其次是阿米卡星(49.0%)、多粘菌素(64.7%), 对亚胺培南(96.1%)、美罗培南(98.0%)、左氧氟沙星(98.0%)和头孢他啶(100.0%)均高度耐药。51 株 CRKP 中, mCIM 试验阳性菌株 49 株(96.1%), eCIM 试验阳性菌株 1 株(2.0%)。碳青霉烯酶基因 *bla_{KPC-2}* 阳性菌株占 96.1%。所有分离株中, 高黏液表型阳性 4 株(7.8%), 毒力基因阳性情况分别为: *uge* 100.0%, *mrkD* 94.1%, *kpn* 94.1%, *fim-H* 72.5%, *aero* 2.0%, *rmpA* 2.0%。ST11 CRKP 在 ICU 中占 98.0%(50/51), ST1373 占 2.0%(1/50)。检出 1 株 ST1373 的高毒力肺炎克雷伯菌。携带 *bla_{KPC-2}* 基因菌株的接合试验成功率为 12.2%。结论 ICU 存在产 KPC-2 的 ST11 CRKP 单克隆传播, 同时携带一定的毒力基因。携带 *bla_{KPC-2}* 基因的质粒可通过接合水平传播。头孢他啶/阿维巴坦对 CRKP 有较高的敏感性, 可供临床治疗选择使用。

[关键词] 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 分子流行病学; 多位点序列分型; 重症监护室; 质粒接合

[中图分类号] R181.3⁺2

Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit

YANG Cheng-ru^{1,2}, WANG Ying¹, LI Ying¹, ZHANG Ji-sheng³, ZENG Ling-yi^{1,2}, HU Ke-wang^{1,2}, ZHANG Xiao-li² (1. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154007, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 3. Department of Nuclear Medicine, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the molecular characteristics and prevalence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) isolated from the intensive care unit (ICU), and provide laboratory data for infection control and antimicrobial treatment. **Methods** 51 CRKP strains isolated from ICU of a hospital from July 2018 to July 2020 were collected, minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by broth microdilution method, homology of strains was analyzed by multi-locus sequence typing (MLST) and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), resistance and virulence genes of strains were detected, transferability of plasmid was verified with conjugation testing. **Results** Antimicrobial susceptibility testing showed that CRKP strains were all susceptible to ceftazidime/avibac-

[收稿日期] 2021-09-17

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxm0067); 重庆市永川区自然科学基金项目(2021yc-jckx20053); 重庆市永川区自然科学基金计划(Yeste, 2020nb0201)

[作者简介] 杨程茹(1989-), 女(汉族), 黑龙江省佳木斯市人, 初级检验技师, 主要从事细菌耐药机制研究。

[通信作者] 张晓丽 E-mail: jmszxl@163.com

tam, resistance rate to tegacyclin was the lowest (3.9%), followed by amikacin (49.0%) and polymyxin (64.7%), while strains were all highly resistant to imipenem (96.1%), meropenem (98.0%), levofloxacin (98.0%) and ceftazidime (100.0%). Among 51 CRKP strains, 49 strains (96.1%) were positive in mCIM testing, 1 strain (2.0%) was positive in eCIM testing. Carbapenemase gene *bla_{KPC-2}* positive strains accounted for 96.1%. Among all isolates, 4 strains (7.8%) exhibited the hypermucoviscous phenotype, positive rates of virulence genes were *uge* (100.00%), *mrkD* (94.1%), *kpn* (94.1%), *fim-H* (72.5%), *aero* (2.0%), and *rmpA* (2.0%). ST11 and ST1373 CRKP accounted for 98.0% (50/51) and 2.0% (1/50) respectively among ICU strains. One highly virulent *Klebsiella pneumoniae* strain ST1373 was isolated. The success rate of conjugation testing of *bla_{KPC-2}*-harboring strains was 12.2%. **Conclusion** There is a monoclonal transmission of ST11 CRKP that produces KPC-2 in ICU, and it carries certain virulence genes. The plasmid of *bla_{KPC-2}*-harboring gene can be transmitted horizontally through conjugation. Ceftazidime/avibactam has high susceptibility to CRKP and can be used in clinical treatment.

[Key words] carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; molecular epidemiology; multi-locus sequence typing; intensive care unit; plasmid conjugation

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是一种临床常见病原体,可引起伤口、呼吸道、泌尿道和胸腔积液多种感染^[1]。由于碳青霉烯类抗生素的使用,导致耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)已在全球范围内流行。据报道,北美、南美、欧洲和亚洲 CRKP 的病死率分别为 33.24%、46.71%、50.06% 和 44.82%,严重威胁着全球公共安全^[2]。产碳青霉烯酶是 CRKP 主要的耐药机制,因编码碳青霉烯酶基因可位于基因组(染色体)DNA 或质粒上,并可通过质粒进行水平转移,所以在同一医院同一病区更易发生 CRKP 克隆传播和水平传播。本研究分析重症监护病房(ICU)临床 CRKP 菌株,明确其耐药机制及快速传播途径,为医院感染控制提供分子流行病学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 重庆医科大学附属永川医院 2018 年 7 月—2020 年 7 月 ICU 患者分离的 51 株 CRKP,无重复分离株。

1.2 菌株鉴定及药敏试验 采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析仪鉴定菌株以及进行药敏试验,根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)2020 年版指南的规定,选取对碳青霉烯类(亚胺培南、美罗培南或厄他培南)耐药的临床分离株。所有患者信息均从电子病历中获得,包括年龄、性别、入住 ICU 的时间、诊断和转归等信息。微量肉汤稀释法检测亚胺培南(IMP)、美罗培南(MEM)、左氧氟沙星(LEV)、阿米卡星(AK)、多粘

菌素 B(PB)、替加环素(TIG)和头孢他啶/阿维巴坦(CAZ/AVI)的最低抑菌浓度(MIC)。ATCC 25922、ATCC 700603 和 BAA-1705 作为质控菌株,3 次平行检测。TIG 药敏结果根据欧洲抗菌药物敏感性试验委员会(EUCAST)的标准判读,其他抗菌药物的药敏结果根据 2020 年版 CLSI 标准判读。接合菌株 EC600 由浙江邵逸夫医院俞云松教授团队惠赠。

1.3 高黏液表型及耐药表型检测 采用拉丝试验方法,用接种环挑取血琼脂平板上新鲜菌落进行牵拉,黏液丝形成且长度 ≥ 5 mm 则判断为高黏液表型阳性,反之判断为阴性。同时采用 mCIM 和 eCIM 方法检测 CRKP 中碳青霉烯酶。按 2020 年版 CLSI 操作。

1.4 碳青霉烯酶等耐药基因和毒力基因检测 采用煮沸法^[3]提取菌株 DNA。参照文献[4-7]设计引物,引物由上海生工生物工程公司合成,包括碳青霉烯酶基因(*bla_{KPC}*、*bla_{NDM}*、*bla_{IMP-4}*、*bla_{IMP-8}*、*bla_{VIM-1}*、*bla_{VIM-2}* 和 *bla_{OXA-48}*)、ESBLs 基因(*bla_{SHV}*、*bla_{TEM}*、*bla_{CTX-M-1}* 和 *bla_{CTX-M-9}*)、AmpC β -内酰胺酶基因(*bla_{DHA}* 和 *bla_{ACC}*)、喹诺酮类耐药基因[*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*qepA* 和 *aac(6')lb-cr*]、以及质粒介导的多粘菌素耐药基因(*mcr-1* 和 *mcr-9*)、染色体介导的多粘菌素耐药基因(*mgrB*、*pmrA*、*pmrB*、*phoP* 和 *phoQ*)。毒力基因包括:*fim-H*、*magA*、*aero*、*allS*、*iroNB*、*kpn*、*mrkD*、*rmpA*、*uge* 和 *wcaG*。阳性扩增产物送上海生工生物工程公司进行测序,并在 BLAST 中比对测序结果(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)。

1.5 质粒接合试验 供体菌(CRKP)和受体菌(大

肠埃希菌 EC600)1:3混合于 LB 肉汤中,将混合物置于贴有滤膜的血平板上,在双抗 LB 平板(含利福平 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$,美罗培南 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)上筛选接合子。双抗平板上生长的菌株检测 16S rRNA 确认为大肠埃希菌,并检测耐药基因。

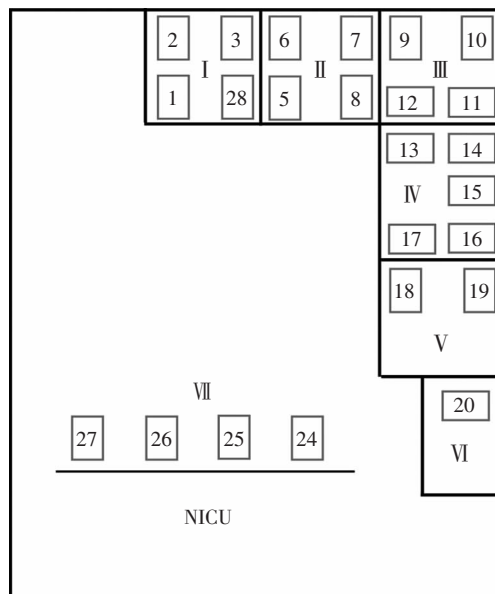
1.6 同源性分析 采用多位点序列分型(MLST)和脉冲场凝胶电泳(PFGE)进行同源性分析。扩增肺炎克雷伯菌 7 个管家基因进行 MLST 分析(http://bigsdb.pasteur.fr/klebsiella/primers_used.html)。将 PCR 扩增阳性产物的测序序列上传至 MLST 数据库(<https://bigsdb.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>)。限制性内切酶 Xba1 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下酶切,用 Bio-Rad Chef Mapper 系统在 1%脉冲场认证的琼脂糖凝胶上分离,18 h,14 $^{\circ}\text{C}$,电压 6 V/cm,使用 BioNumerics 软件分析条带图谱。分析采用未加权对组法和算术平均法(UPGMA),用 dice 系数判断菌株的亲缘关系,聚类定义为相似度 $\geq 80\%$ 。

2 结果

2.1 菌株来源及药敏结果 51 株 CRKP 标本来源分别为痰 31 株(60.8%),肺泡灌洗液 13 株(25.5%),尿 4 株(7.8%),血 2 株(3.9%),分泌物 1 株(2.0%)。根据 ICU 分布图(图 1),标本来源 I 区 13 株(25.5%),II 区 6 株(11.8%),III 区 8 株(15.7%),IV 区 13 株(25.5%),V 区 5 株(9.8%),VI 区 0 株以及 VII 区 6 株(11.8%)。45 例(88.2%)患者有肺部疾病,其中 44 例(86.3%)接受了侵入性手术治疗(气管插管或有创通气)。51 株 CRKP 对 IMP、MEM、头孢他啶(CAZ)、LEV、AK、PB 和 TIG 的耐药率分别为 96.1%(49 株)、98.0%(50 株)、100.0%(51 株)、98.0%(50 株)、49.0%(25 株)、64.7%(33 株)和 3.9%(2 株),对 CAZ/AVI 敏感率 100%,见图 2。

2.2 毒力及耐药表型检测 51 株 CRKP 中,仅 4 株(7.8%)在拉丝试验中表现为高黏液表型。mCIM 试验阳性率为 96.1%(49/51),其中 mCIM 阳性的 CRKP 中,1 株 eCIM 阳性。见图 3。

2.3 耐药基因和毒力基因检测结果 51 株 CRKP 检出 1 种碳青霉烯类耐药基因 *bla*_{KPC-2},3 种 ESBLs



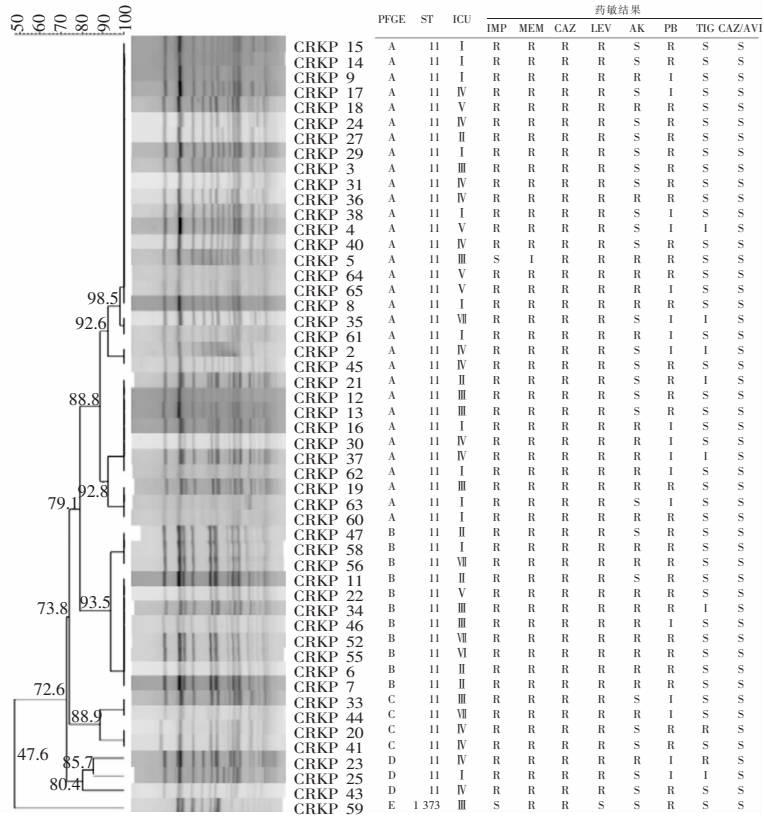
注:数字代表相应的床位;I - VII 表示人为划分的不同区域。

图 1 ICU 平面图

Figure 1 Layout plan of ICU

基因(*bla*_{SHV}、*bla*_{TEM}、*bla*_{CTX-M-65}),未检出 AmpC β -内酰胺酶基因(*bla*_{DHA}、*bla*_{ACC})。质粒介导的喹诺酮类耐药基因(PMQR)仅检出 *qnrS* 和 *aac(6')lb-cr*,均为 1 株。33 株 PB 耐药菌株未检出质粒介导的 PB 耐药基因 *mcr-1* 和 *mcr-9*,而染色体介导的 PB 耐药基因 *pmrA*、*pmrB*、*phoP* 和 *phoQ* 均表达,其中 *pmrA* 基因中未发现突变;但在 *pmrB* 基因发现了 N8T、T228A、R256G、L254F、A246T 5 种不同类型的突变,在 *phoP* 基因中发现了 I201F 突变,在 *phoQ* 基因中发现了 D150G 的突变;在 *mgrB* 基因中,也发现了 IS3、IS1341 和 IS5 不同类型的插入序列。检出毒力基因 *uge*、*mrkD*、*kpn* 和 *fim-H*,未检测到 *wcaG*、*iroNB*、*allS* 和 *magA*。仅 1 株菌(CRKP59)同时检出 *aero* 和 *rpmA*。见表 1。

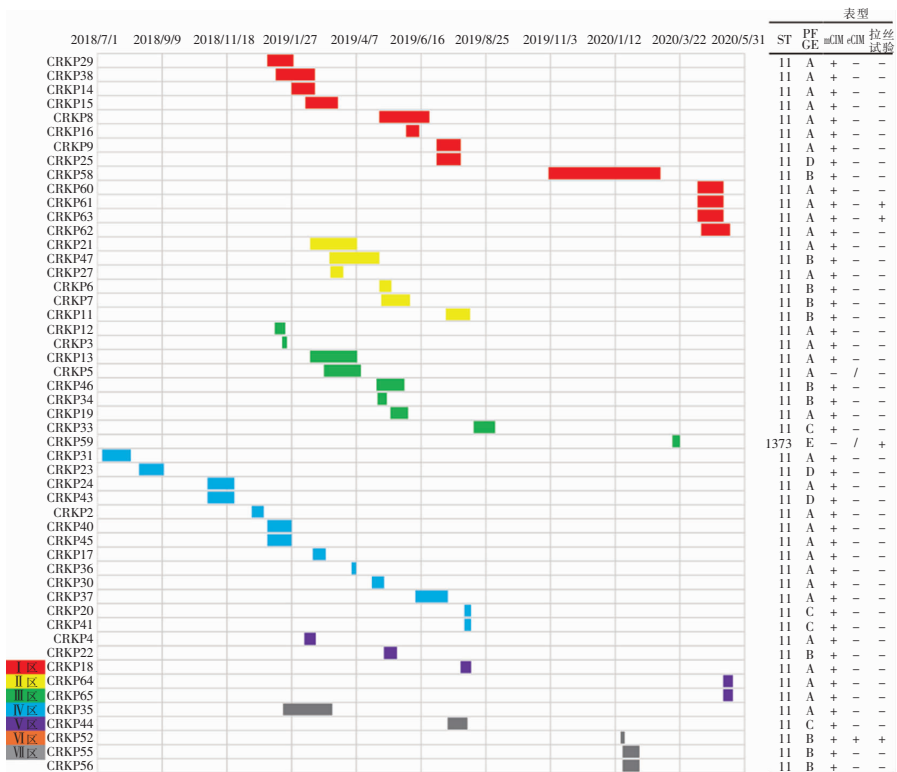
2.4 同源性分析 51 株 CRKP 依据 MLST 分析共鉴定出 2 种 ST 分型,其中 ST11 型 50 株(98.0%),ST1373 型 1 株(2.0%)。根据国际标准对 PFGE 结果进行解释,将所有分离物分为 5 个不同的克隆群(A~E),A 群 32 株(62.7%),B 群 11 株(21.6%),C 群 4 株(7.8%),D 群 3 株(5.9%),以上均属于 ST11;E 群(2.0%)1 株,属于 ST1373。两种检测方法均显示 ICU 中 CRKP 具有很高的同源性。见图 2。



注:S为敏感,I为中介,R为耐药。

图2 51株CRKP药敏结果、ICU分布及同源性分析结果

Figure 2 Antimicrobial susceptibility testing results, ICU distribution, and homology analysis of 51 CRKP strains



注:不同颜色表示患者不同的ICU分区,矩形的长度代表住院时长,+表示阳性,-表示阴性,/表示未做。

图3 51株CRKP表型及患者在ICU的住院时间

Figure 3 Phenotypes of 51 CRKP strains and patients' length of ICU stay

表 1 51 株 CRKP 菌株耐药基因和毒力基因检出情况

Table 1 Detection results of resistance genes and virulence genes of 51 CRKP strains

基因	菌株数	百分率(%)	基因	菌株数	百分率(%)
耐药基因			毒力基因		
KPC-2	49	96.1	<i>aero</i>	1	2.0
SHV	51	100.0	<i>kpn</i>	48	94.1
TEM	27	52.9	<i>mrkD</i>	48	94.1
CTX-M-65	26	51.0	<i>rmpA</i>	1	2.0
<i>qnrS</i>	1	2.0	<i>uge</i>	51	100.0
<i>acc(6')lb-cr</i>	1	2.0	<i>fim-H</i>	37	72.5

2.5 接合试验结果 49 株携带 *bla*_{KPC-2} 基因的菌株进行接合试验,6 株 CRKP 接合成功,接合成功率为 12.2%。采用 PCR 检测接合子耐药基因携带情况,

采用药敏试验检测接合子药敏情况,原始菌株与接合子在接合前后各基因的携带情况及 MIC 值变化见表 2。

表 2 CRKP 原始菌株及接合子的耐药基因携带情况及药敏结果

Table 2 Antimicrobial resistance gene harboring and susceptibility results of CRKP original strains and their transconjugants

分离株	耐药基因	MIC($\mu\text{g}/\text{mL}$)						
		IMP	MEM	AK	LEV	TIG	PB	CAZ/AVI
CRKP 分离株								
CRKP 30	KPC-2、TEM、SHV	16	128	>512	32	<1/2	1	1,4
CRKP 46	KPC-2、TEM、SHV	64	128	>512	64	1	2	1,4
CRKP 55	KPC-2、TEM、SHV	64	512	>512	32	<1/2	4	4,4
CRKP 56	KPC-2、TEM、SHV	128	512	>512	32	<1/2	4	1,4
CRKP 58	KPC-2、TEM、SHV	64	512	>512	32	1	4	4,4
CRKP 63	KPC-2、SHV	256	256	<1/2	32	1	2	4,4
接合菌株								
CRKPJ30	KPC-2、TEM	4	4	>512	<1/2	1	<1/2	1/2,4
CRKPJ46	KPC-2、TEM	4	4	>512	<1/2	<1/2	<1/2	1/2,4
CRKPJ55	KPC-2、TEM	4	16	>512	1	<1/2	1	>256,4
CRKPJ56	KPC-2、TEM	8	8	>512	<1/2	<1/2	<1/2	1,4
CRKPJ58	KPC-2、TEM	16	16	>512	<1/2	<1/2	<1/2	1,4
CRKPJ63	KPC-2	4	4	<1/2	1	1	<1/2	1/2,4

3 讨论

2019 年 CHINET 细菌耐药检测网报道,全国、重庆和 ICU CRKP 检出率分别由 2014 年的 6.4%、2.5% 和 14.7% 上升至 2019 年的 10.9%、5.5% 和 23%^[8],应加强抗菌药物合理使用的管理以及医院感染防控工作,减缓 CRKP 检出率的持续上升。本研究针对 2018 年 7 月—2020 年 7 月重庆医科大学附属永川医院 ICU CRKP 暴发进行回顾性分析,为

感染控制及其治疗提供实验室数据。

国内流行的 CRKP 主要以携带 *bla*_{KPC-2} 基因的 ST11 为主^[9-10],ICU 患者 CRKP 感染率以及病死率均很高^[11]。本研究中,49 株 mCIM 阳性的菌株均携带 KPC-2 耐药基因,且 MLST 均属于 ST11,与我国流行的基因型及克隆型一致^[9]。同时所有菌株通过 PFGE 分成五簇,其中 A、B、C、D 四个簇的同源性非常高,均是 ST11 型。在两种同源性分析方法中 CRKP59 均独立成一型,分别为 ST1373 和 E 簇。分析 ICU 空间位置分布及患者感染时间图(图

1、3)得出,携带 *bla*_{KPC-2} 和 *bla*_{SHV} 基因的 ST11 耐药菌首先出现在Ⅳ区,并逐渐扩散到除Ⅵ区(可能与该区床位较少有关)外的其他相邻区域,在Ⅰ区停留的时间最长,其中Ⅰ和Ⅳ区检出数最高(均为 13 株),以 A 簇为主(20 株)。单独成一型的 CRKP59 菌株在Ⅲ区检出,并且与该区上次耐药菌检出时间间隔大约 6 个月。携带 *bla*_{KPC-2} 基因的 ST11 型 CRKP 暴发时间主要集中在 2019 年 1 月—10 月,持续 10 个月之久。医院受新型冠状病毒肺炎疫情影响,从 2020 年 1 月开始患者量有所下降,CRKP 主要集中在Ⅰ区。针对此次 ST11 型 CRKP 在 ICU 暴发流行可追溯到某一菌株在不同区域间的水平传播,需重视对耐药菌的监测及追踪,及时与病区工作人员沟通,加强医院感染防控意识,以及病区的卫生与仪器设备的清洁消毒及医护工作者手卫生的管理,更好地控制 CRKP 的播散。

此次暴发的菌株中,均对至少一种碳青霉烯类药物耐药,表型结果提示 ICU 内 CRKP 的耐药机制以产丝氨酸酶为主,仅有 1 株(CRKP52) eCIM 阳性,但 PCR 方法未检测到本研究所用引物覆盖范围内的金属 β-内酰胺酶基因(MBLs),因此推测该细菌可能会产生其他超出范围的 MBLs,如 *bla*_{SPM}、*bla*_{GIM}、*bla*_{SIM} 和 *bla*_{AIM}。KPC-2 是本研究中的关键酶,其余耐药基因也有检出,与之前报道^[12]一致,表明携带多种灭活酶是多重耐药的主要机制。携带 *bla*_{KPC-2} 基因是 ICU 中大多数 CRKP 产生耐药的主要原因,*bla*_{KPC-2} 是一种典型的质粒介导的耐药基因,广泛分布于不同大小和类型的质粒中,这些质粒通常包含几个编码对氨基糖苷类、喹诺酮类、四环素类等耐药的其他耐药基因,并且高风险克隆促进不同的质粒、移动元件和耐药基因在 CRKP 中传播^[13],接合试验的成功证明耐药质粒的可转移性。*bla*_{TEM} 基因通常是 *bla*_{KPC-2} 基因遗传环境的一部分^[14],结果显示,这两个基因都在质粒内转移。在欧洲和美国,携带 *bla*_{KPC} 基因的移动元件以 Tn4401 转座子为主,而我国 ST11 CRKP 以 Tn1721 转座子为主,说明 *bla*_{KPC} 基因周围环境存在一定的可变性及多样性,是 *bla*_{KPC} 基因在全球有效传播的主要原因^[15]。耐药质粒的水平传递可以加速多重耐药基因的扩散,介导多重耐药菌的产生。接合试验结果还表明,接合子的碳青霉烯类抗生素 MIC 值降低,说明还有其他耐药原因,如膜蛋白、外排泵等不随质粒转移。

除碳青霉烯类药物外,ICU 患者对头孢菌素类、AK、LEV 表现出不同程度的耐药。值得注意的是,

由于未检测到很高的 PMQR,推测可能与染色体介导的喹诺酮类药物耐药决定区(QRDR)有关^[16],这些 CRKP 可能在 *gyrA*、*parC* 基因和其他位点有突变,同时接合子对喹诺酮类药物敏感性提高也证实了该假设,说明耐药性基因没有随质粒转移,而是可能存在其他的耐药原因,如靶位染色体突变或者孔蛋白丢失等等。同时检出较高的多粘菌素耐药性(PR),由于多粘菌素被认为是治疗 CRKP 感染的最后手段,尽管多粘菌素具有毒性强等不良反应,但由于效果好,在过去的几年中还是被广泛地使用^[17]。多粘菌素暴露是 PR 出现的主要原因^[17],但本研究中,仅 1 例患者接受了 PB 的治疗。所以检测了多粘菌素相关耐药基因,未检测到 *mcr-1* 及 *mcr-9* 基因,但与染色体介导的双组份调节基因 *phoP/phoQ* 以及 *pmrB* 的突变、*mgrB* 基因中插入序列的存在,其他学者的研究^[18-19]也发现了类似结果,并且 CRKP 接合子对多粘菌素的敏感性提高,均表明研究中染色体变化是介导多粘菌素耐药的重要原因之一。本研究中所有菌株对 CAZ/AVI 均敏感,该药可作为该院产 KPC 酶 CRKP 的一种有效治疗选择。鉴定出的接合子 CRKPJ55 对 CAZ/AVI 产生耐药,而供体菌并未表现耐药,KPC-2 没有发生氨基酸变异,后续研究将进一步分析其与抗生素压力下转录组表达的差异是否有关。

由于拉丝试验对 CRKP 的毒力检测敏感率低,有学者^[20]将拉丝试验和 *rmpA* 基因均阳性的菌株定义为高毒力肺炎克雷伯菌(hvKP)。本组研究发现,ICU 中仅检出 1 株(2.0%)hvKP(拉丝试验阳性的基础上同时携带 *rmpA* 和 *aero*),低于其他报道^[21]。研究鉴定的 ST1373 hvKP 对 IMP、LEV、AK 和 TIG 保持敏感性,可能是由于携带的耐药基因数量较少所致。然而,除了 ST1373 hvKP 以外的其他菌株,与细菌定殖、菌毛黏附相关的 *fimH*、*mrkD* 和 *kpn*,与细菌脂多糖相关的 *uge* 毒力基因检出率高,表明毒力风险依然存在。88.2%的患者患有肺部疾病,60.8%的标本来自痰,由于患者呼吸受阻,44 例(86.2%)患者接受了气管插管和气管切开等侵入性手术。研究^[22]指出,有创机械通气和肠外营养 ≥48 h 是感染的危险因素。因此,应尽早拆除 ICU 中不必要的侵入性操作,预防医院获得性感染,并尽快建立肠内营养,以减少危险因素。

总之,针对此次 ST11 CRKP 在该院 ICU 的暴发流行,耐药机制主要为携带 *bla*_{KPC-2} 基因,并可以通过接合水平传播,虽然未对 ICU 污染区域进行长

期、系统的抽样,但有必要了解 CRKP 的动态分布和传播,这是临床治疗中不容忽视的问题。及时、有效地采取感染控制措施对于减轻和控制医院感染传播和暴发的风险至关重要。根据欧洲临床微生物学和传染病学会(ESCMID)的指南,应实施手卫生教育计划,采取接触预防措施,并使用警告码及时识别 CRKP 感染患者,并应隔离感染患者。此外,应实施积极筛查培养和抗菌药物使用管理计划,以减少多重耐药革兰阴性菌在医院患者中的传播,特别是在 ICU 中^[23]。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Holt KE, Wertheim H, Zadoks RN, et al. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(27): E3574 - E3581.
- [2] Zheng X, Wang JF, Xu WL, et al. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2017, 6: 102.
- [3] Unlu O, Demirci M. Detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains harboring carbapenemase, beta-lactamase and quinolone resistance genes in intensive care unit patients[J]. GMS Hyg Infect Control, 2020, 15: Doc31.
- [4] Wang JL, Shang YY, Guo SY, et al. Serotype and virulence genes of *Klebsiella pneumoniae* isolated from mink and its pathogenesis in mice and mink[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 17291.
- [5] Gong X, Zhang JS, Su SS, et al. Molecular characterization and epidemiology of carbapenem non-susceptible enterobacteriaceae isolated from the eastern region of Heilongjiang province, China[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 417.
- [6] 张黎明. 肺炎克雷伯菌多粘菌素耐药菌株的筛选及基因型的鉴定[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
Zhang LM. Screening and genotype identification of polymyxin-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.
- [7] Yuan Y, Li Y, Wang GX, et al. Coproduction of MCR-9 and NDM-1 by colistin-resistant *Enterobacter hormaechei* isolated from bloodstream infection[J]. Infect Drug Resist, 2019, 12: 2979 - 2985.
- [8] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌流行病学变迁[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2): 175 - 179.
- China Antimicrobial Resistance Surveillance System. Epidemiological change in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: surveillance report from China Antimicrobial Resistance Surveillance in 2014 - 2019[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(2): 175 - 179.
- [9] 王珍珍, 赵战勤, 常永超, 等. 耐碳青霉烯革兰阴性杆菌耐药性及耐药基因 *bla_{KPC}* 的分子特征[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(10): 857 - 863.
Wang ZZ, Zhao ZQ, Chang YC, et al. Drug resistance of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli and molecular characteristics of drug resistance gene *bla_{KPC}*[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2020, 19(10): 857 - 863.
- [10] 龙华婧, 邱芳华, 刘道利, 等. 中国 2017—2019 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因及流行克隆特征[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(11): 1008 - 1015.
Long HJ, Qiu FH, Liu DL, et al. Resistance genes and prevalence clone characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China from 2017 to 2019[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(11): 1008 - 1015.
- [11] Xu LF, Sun XX, Ma XL. Systematic review and Meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2017, 16(1): 18.
- [12] van Dorp L, Wang Q, Shaw LP, et al. Rapid phenotypic evolution in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* hospital outbreak strains[J]. Microb Genom, 2019, 5(4): e000263.
- [13] Pitout JDD, 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.
- [14] Zhai Y, Li DX, Du PC, et al. Complete sequences of two new KPC-harboring plasmids in *Klebsiella pneumoniae* ST11 strains in China[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2021, 24: 114 - 120.
- [15] Liu HM, Lin HL, Sun ZW, et al. Distribution of β -lactamase genes and genetic context of *bla_{KPC-2}* in clinical carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates[J]. Infect Drug Resist, 2021, 14: 237 - 247.
- [16] Zeng LY, Zhang JS, Li CJ, et al. The determination of *gyrA* and *parC* mutations and the prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11 and ST76 strains isolated from patients in Heilongjiang province, China[J]. Infect Genet Evol, 2020, 82: 104319.
- [17] Macesic N, Nelson B, Mcconville TH, et al. Emergence of polymyxin resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* through diverse genetic adaptations: a genomic, retrospective cohort study[J]. Clin Infect Dis, 2020, 70(10): 2084 - 2091.
- [18] Aires CAM, Pereira PS, Asensi MD, et al. *mgrB* mutations mediating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from rectal surveillance swabs in Brazil[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(11): 6969 - 6972.

- [19] Pitt ME, Elliott AG, Cao MD, et al. Multifactorial chromosomal variants regulate polymyxin resistance in extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Microb Genom*, 2018, 4(3): e000158.
- [20] Yu WL, Lee MF, Chen CC, et al. Impacts of hypervirulence determinants on clinical features and outcomes of bacteremia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Microb Drug Resist*, 2017, 23(3): 376 - 383.
- [21] Zhan LL, Wang SS, Guo YJ, et al. Outbreak by hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates with carbapenem resistance in a tertiary hospital in China[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 182.
- [22] Li Y, Shen H, Zhu C, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections among ICU admission patients in central China: prevalence and prediction model[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 9767313.
- [23] Tiri B, Sensi E, Marsiliani V, et al. Antimicrobial steward-

ship program, COVID-19, and infection control: spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in ICU COVID-19 patients. What did not work? [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(9): 2744.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式:杨程茹,王英,李莹,等.重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学研究[J].中国感染控制杂志,2022,21(3):209-216. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20221911.

Cite this article as: YANG Cheng-ru, WANG Ying, LI Ying, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit [J]. *Chin J Infect Control*, 2022, 21(3): 209 - 216. DOI: 10.12138/j.issn.1671 - 9638.20221911.