

· 论 著 ·

广州某三甲医院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药及毒力基因分析*

李 冉¹, 梁玉宜², 苏 歆¹, 麦东媚¹, 谭俊青^{1△}

1. 广东省第二中医院检验科, 广东广州 510095; 2. 广州南方学院检验系, 广东广州 510900

摘 要:目的 统计院内耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)检出率, 分析 CRKP 的主要耐药基因及毒力基因, 了解其感染菌株分子流行病学机制。方法 回顾性分析 2020—2023 年广东省第二中医院(下称该院) CRKP 检出率, 并收集该院 2022 年 7—12 月共计 84 株 CRKP, 统计菌株临床资料, PCR 扩增相应耐药基因及毒力基因, 改良碳青霉烯灭活(mCIM)试验检测碳青霉烯酶。结果 2020—2023 年该院年 CRKP 检出率较高, 均>46.00%; 收集 2022 年 7—12 月临床分离 84 例非重复 CRKP 菌株, 呼吸道来源样本最多, 占 55.95%, 患者以针灸康复科为主, 占 34.52%; 药敏试验显示对多种头孢类及超广谱 β 内酰胺类药物高度耐药, 仅对替加环素及多黏菌素 E 呈现较高敏感性; mCIM 试验阳性率为 84.52%(71/84), 其余 15.48% 结果为中性, 未能判断是否产碳青霉烯酶。73 株检出携带碳青霉烯酶基因, 占 86.90%, 共涉及 4 种基因型, blaKPC、blaNDM、blaIMP、blaOXA-48 的检出率分别为 83.33%、2.38%、1.19%、1.19%; 其中 1 株同时携带 blaKPC 及 blaNDM 基因, 同时检出多种 β 内酰胺酶, blaSHV、blaTEM、blaCTX-M-9、blaCTX-M-1 的检出率分别为 96.43%、78.57%、64.29%、2.38%, 5 种毒力基因 blaiucA、blarmpA2、blairoB、blapeg-334、blarmpA 检出率分别为 42.86%、41.67%、27.38%、3.57%、2.38%; 同时携带 3 种及以上毒力基因的菌株占比为 17.85%(15/84)。结论 该院 CRKP 检出率较高, 耐药情况严峻, 耐药基因以肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(KPC)为主; 出现较高比例的耐碳青霉烯类高毒力肺炎克雷伯菌(CR-hvKP)菌株, 感染防控情况不容乐观。应进一步加强院内感控措施, 科学合理规范用药。

关键词:耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 耐药基因; 毒力基因; 分子流行病学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.22.017 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2024)22-2773-06 **文献标志码:**A

Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* drug resistance and virulence gene analysis of a Three-A hospital in Guangzhou*

LI Ran¹, LIANG Yuyi², SU Xin¹, MAI Dongmei¹, TAN Junqing^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Second Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510095, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Nanfang College, Guangzhou, Guangdong 510900, China

Abstract: Objective To analyze the detection rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) in Guangdong Provincial Second Hospital of Traditional Chinese Medicine (the hospital) and analyze the main drug resistance genes and virulence genes of CRKP, so as to understand the molecular epidemiological mechanism of its infection strains. **Methods** The detection rate of CRKP infection in the hospital from 2020 to 2023 was retrospectively analyzed, and a total of 84 strains of CRKP were collected from July to December 2022 in the hospital. The clinical data of the strains were collected, and the corresponding drug resistance genes and virulence genes were amplified by PCR. The modified carbapenem inactivation method(mCIM) was used to detect carbapenemase. **Results** The detection rates of CRKP in the Guangdong Provincial Second Hospital of Traditional Chinese Medicine from 2020 to 2023 were relatively high, and were higher than 46.00%. 84 non-repeated CRKP strains were collected from July to December of 2022, and most samples were from respiratory tract, accounting for 55.95%. The patients were mainly from acupuncture and rehabilitation departments, accounting for 34.52%. Drug sensitivity tests showed that CRKP was highly resistant to various cephalosporin and extended spectrum beta lactam drugs, and only showed high sensitivity to tigecycline and

* 基金项目: 广东省中医药局科研项目(20232006); 广东省第二中医院科研创新基金项目(SEZYY2023A13)。

作者简介: 李冉, 女, 副主任技师, 主要从事临检及微生物工作。 △ 通信作者, E-mail: 727033779@qq.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20241101.1329.004.html>(2024-11-04)

polymyxin. The positive rate of mCIM test was 84.52% (71/84), and the other 15.48% results were neutral, which failed to determine whether they produced carbapenemase. A total of 73 strains were detected with carbapenemase gene, accounting for 86.90%, involving 4 genotypes. The detection rates of blaKPC, blaNDM, blaIMP, and blaOXA-48 were 83.33%, 2.38%, 1.19%, and 1.19%, respectively. One of them carried both blaKPC and blaNDM genes, and multiple β -lactamases were detected. The detection rates of blaSHV, blaTEM, blaCTX-M-9, and blaCTX-M-1 were 96.43%, 78.57%, 64.29%, and 2.38%, respectively. The detection rates of five virulence genes, blaiucA, blarmpA2, blairoB, blapeg-334, and blarmpA, were 42.86%, 41.67%, 27.38%, 3.57%, and 2.38%, respectively. The proportion of strains carrying three or more virulence genes was 17.85% (15/84). **Conclusion** The detection rate of CRKP in the hospital is relatively high, and the drug resistance situation is serious, with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) as the main drug resistance gene. A high proportion of Carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (CR-hvKp) strains is found, and the infection prevention and control situation is not optimistic. It is necessary to further strengthen the hospital infection control measures and standardize the scientific and reasonable drug use.

Key words: carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; drug resistance gene; virulence gene; molecular epidemiology

耐碳青霉类肺炎克雷伯菌 (CRKP) 检出率近 20 年大幅攀升使其成为全球优先预防与控制的耐药菌之一, 并给临床抗感染治疗带来巨大挑战^[1]。近年来由于耐药基因的广泛传播, 国内部分地区相继出现耐碳青霉烯类高毒力肺炎克雷伯菌 (CR-hvKP), 并在全球多个国家发生, 其致病致死率高, 治疗困难, 给临床带来巨大挑战, 且有院内感染暴发的潜在风险^[2-5]。因此, 对 CRKP 的耐药机制及 CR-hvKP 的检出率进行研究是非常有必要的。本研究对广东省第二中医院 (下称本院) 近年来 CRKP 检出率及 CRKP 的耐药基因、毒力情况进行研究, 为监控 CRKP 医院感染情况及防控提供数据支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020—2023 年本院临床分离 CRKP 菌株, 统计 2020—2023 年历年 CRKP 检出率变迁。另外收集 2022 年 7—12 月临床各科室分离的非重复 CRKP 共 84 株。

1.2 仪器与试剂 四川中元 EXS3000 质谱仪及配套基质液, 法国梅里埃 Vitek2 Compact 全自动细菌鉴定药敏仪及配套药敏卡, 广州迪景哥伦比亚血琼脂平板及 MH 琼脂平板, 美国 ABI7500PCR 扩增仪, 美国电泳仪, 美国 BIO-RAD Gel DoxTM XR 紫外凝胶成像系统, 赛默飞高速离心机, 海尔超低温冰箱, CO₂ 培养箱, Oxoid 药敏纸片, 天根生化科技有限公司生产的 PCR 扩增试剂、GelRed 核酸染料以及 DNA Ladder, 引物由上海生工科技有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 基础数据统计 回顾分析本院 2020—2023 年院内历年 CRKP 检出率变迁, 统计分析 2022 年 7—12 月检出非重复 84 株 CRKP 菌株病例患者的临床特点、病原菌分布及药敏分布情况。

1.3.2 药敏试验及拉丝试验 将收集的 84 株 CRKP 菌株复苏后, 分区划线接种于血平板, 37℃ 孵

育 18~24 h, 采用质谱仪重新鉴定。用接种环轻触血平板上的单个菌落向上牵拉, 当牵拉出的黏液丝长度 ≥ 5 mm 时, 即判断为拉丝试验阳性。采用 Vitek2 Compact 全自动细菌鉴定药敏仪及配套药敏卡和 Oxoid 药敏纸片对复苏菌株进行药敏试验, 药敏试验结果判读参照美国临床和实验室标准协会 (CLSI) M100 要求, 多黏菌素 E 采用 EUCAST 药敏标准。

1.3.3 细菌 DNA 提取 采用煮沸法提取 DNA。用无菌棉签挑取 3~4 个菌落混匀于加有 500 μ L 去离子水的 EP 管中, 闭盖 100℃ 隔水煮 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min 后吸取上清, 核酸蛋白检测仪检测吸光度 (A) 值, A₂₆₀/A₂₈₀ 应为 1.7~1.9, 将细菌 DNA 提取物调整至 50 ng/ μ L 后于 -80℃ 环境下保存。

1.3.4 碳青霉烯酶耐药表型检测 采用改良碳青霉烯灭活 (mCIM) 试验筛查菌株的碳青霉烯酶。1 μ L 接种环取满环生长于血琼脂平板上的过夜培养肺炎克雷伯菌的纯菌落于 2 mL TSB 肉汤中; 震荡混匀 10~15 s; 每管放入 1 张含 10 μ g 美罗培南的无菌纸片, 确认纸片浸没于菌悬液中, 35 $\pm$ 2℃ 大气环境孵育 4 h $\pm$ 15 min; 孵育结束时, 立即用营养肉汤制备 0.5 麦氏浊度的大肠埃希菌 ATCC25922 菌悬液 (直接菌悬法) 并均匀密集涂布 MH 平板; 菌悬液制备和平板涂布须 15 min 内完成, 干燥 3~10 min; 用 10 μ L 接种环将美罗培南纸片从 TSB 肉汤中取出, 将纸片贴于试管内壁, 轻轻按压以挤去纸片上多余水分, 然后将纸片取出贴于已涂布有大肠埃希菌 ATCC25922 的 MH 平板上。倒置平板, 35 $\pm$ 2℃ 大气环境孵育 18~24 h; 量取抑菌圈直径。结果判读参照 CLSI M100 要求。

1.3.5 PCR 扩增耐药基因及毒力基因 使用 Prism 5 生成引物, PCR 法对上述 84 株细菌的常见 6 种 4 类碳青霉烯酶基因 balKPC、balNDM、balIMP、balVIM、balSPM、balOXA-48 及 ESBLs 基因 balSHV、bal-

TEM、balCTX-M-1、balCTX-M-9 进行扩增；同时对毒力基因 balrmpA、balrmpA2、baliucA、baliroB、bal-peg-334 进行扩增。引物序列及扩增条件见表 1，每个反应体系加入 10 μ L Taq 酶，1 μ L 的正向引物，1 μ L 的反向引物，4 μ L 基因组 DNA 和 4 μ L 无菌蒸馏水。扩增产物采用 1% 琼脂糖凝胶电泳分析。

表 1 PCR 扩增基因引物序列和长度

Primer 名称	编号	计算温度(℃)	推荐温度(℃)	产物大小(bp)	引物序列(5′—3′)
rmpA	1	50	50	332	F:GAGTAGTTAATAAATCAATAGCAAT R:CAGTAGGCATTGCAGCA
rmpA2	2	50	50	430	F:GTGCAATAAGGATGTTACATTA R:GGATGCCCTCCTCCTG
iucA	3	59	59	583	F:GCTTATTTCTCCCCAACCC R:TCAGCCCTTTAGCGACAAG
iroB	4	59	59	235	F:ATCTCATCATCTACCCTCCGCTC R:GGTTCGCCGTCGTTTTCAA
peg-334	5	53	53	508	F:CTTGAAACTATCCCTCCAGTC R:CCAGCGAAAGAATAACCCC
KPC	6	54	55	798	F:CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG R:CTTGTCATCCTTGTTAGGCG
IMP	7	54	55	528	F:CATGGTTTGGTGGTTCTTGT R:GTACGTTTCAAGAGTGATGC
NDM	8	57	60	621	F:GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC R:CGGAATGGCTCATCACGATC
SHV	9	61	56	1 079	F:CCGGGTTATTCTTATTTGTCGCT R:TAGCGTTGCCAGTGCTCG
TEM	10	54	55	1 079	F:ATAAAATTCTTGAAGACGAAA R:GACAGTTAGCAATGCTTAATCA
CTX-M-1	11	61	52	415	F:AAAAATCACTGCGCCAGTTC R:AGCTTATTCATCGCCACGTT
CTX-M-9	13	61	56	1 242	F:AAAAATGATTGAAAGGTGGT R:GTGAAGAAGGTGTTGCTGAC
VIM	14	54	54	390	F:GATGGTGTGTTGGTCGCAT R:CGAATGCGCAGCACCAG
SPM	15	54	54	649	F:CCTACAATCTAACGGCGACC R:TCGCCGTGTCCAGGTATAAC
OXA-48	16	7	57	438	F:GCGTGGTTAAGGATGAACAC R:CATCAAGTTCAACCAACCG

注:F 为上游引物,R 为下游引物;KPC 为肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶。

1.4 统计学处理 采用 EXCEL 软件汇总统计检测数据,采用 SPSS22.0 统计学软件进行数据分析。组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2020—2023 年 CRKP 检出率变化 统计分析发现 2020—2023 年,本院 CRKP 检出率均高于 46.00%,且不同年间检出率比较,差异有统计学意义

($\chi^2=37.80,P<0.0001$),见表 2。

表 2 本院 2020—2023 年 CRKP 检出率

年度(年)	检出肺炎 克雷伯菌株数(<i>n</i>)	CRKP 株数 (<i>n</i>)	检出率 (%)
2020	714	334	46.78
2021	1 118	679	60.73
2022	1 208	692	57.28
2023	1 042	611	58.64

2.2 84 株 CRKP 患者年龄及样本组成 84 株 CRKP 患者中,男 58 例,女 26 例,年龄 ≥ 60 岁者 72 例,占 85.71%,平均(73.37 $\pm$ 15.42)岁。其中门诊入院 17 例,外院转入 67 例,占 79.76%。标本来源以呼吸道为主,其中痰液 47 株(55.95%),尿液 19 株(22.62%),血液 8 株(9.52%),伤口分泌物 4 株(4.76%),肺泡灌洗液、脓液各 2 株(2.38%),静脉导管及肾积液各 1 株(1.19%),见表 3。

表 3 CRKP 在临床标本及科室分布构成比		
项目	例数(<i>n</i> =84)	构成比(%)
性别		
女性	26	30.95
男性	58	69.05
年龄组		
成年人(18~<60 岁)	12	14.29
老年人(≥ 60 岁)	72	85.71
入院方式		
外院转入	67	79.76
门诊	17	20.24
合并其他基础疾病者	81	96.43
标本类型		
痰液	47	55.95
尿液	19	22.62
血液	8	9.52
伤口分泌物	4	4.76
肺泡灌洗液	2	2.38
脓液	2	2.38
静脉导管	1	1.19
肾积液	1	1.19
科室		
康复科	29	34.52
危重症医学科	21	25.00
呼吸科	21	25.00
外科	7	8.33
心血管	3	3.57
肿瘤科	2	2.38
急诊科	2	2.38
脾胃科	1	1.19

2.3 84 株 CRKP 菌株科室分布及其他基础情况 84 株 CRKP 菌株中,分离率位居前 3 的分别是针灸康复科、危重症医学科及呼吸科,且分离自上述 3 个科室共计 71 例感染者中,有 61 例从外院转入,占有外院转入病例的 91.00%。84 例 CRKP 感染者中,81 例合并其他基础疾病,占 96.43%;8 例发生 >1 处感染;深静脉置管 38 例,占 45.24%;气管插管或气管切开 53 例,占 63.10%;留置引流管或尿管 59 例,占

70.24%; ≥ 3 项侵入性操作的有 27 例,占 32.14%;使用抗菌药物 ≥ 3 种有 39 例,占 46.43%。

2.4 84 株 CRKP 对常见抗菌药物的耐药情况 84 株 CRKP 菌株对左氧氟沙星耐药率 $>95.00\%$,对多种常见头孢菌素类、碳青霉烯类药物耐药率均 $>92.00\%$,对阿米卡星和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑耐药率稍低,但均 $>78.00\%$,整体呈现高耐药特征,对替加环素、头孢他啶/阿维巴坦及多黏菌素 E 呈现较好的体外敏感性,见表 4。

表 4 84 株 CRKP 抗菌药物耐药率(%)		
抗菌药物	R	S
亚胺培南	97.62	1.19
厄他培南	97.62	1.19
美罗培南	96.43	2.38
哌拉西林/他唑巴坦	98.1	1.9
头孢哌酮/舒巴坦	98.81	1.19
头孢他啶	98.81	1.19
头孢吡肟	97.62	2.38
头孢呋辛	92.86	0.00
头孢曲松	92.86	3.57
氨曲南	96.43	2.38
左氧氟沙星	96.43	1.19
阿米卡星	79.76	17.86
甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	78.57	21.43
替加环素	14.29	85.71
头孢他啶/阿维巴坦	1.19	98.81
多黏菌素 E	0.00	100.00

注:R 为耐药,S 为敏感,未纳入中介。

2.5 碳青霉烯酶耐药表型检测结果 84 例 CRKP 菌株 mCIM 试验,阳性率为 84.52%(71/84),其余 15.48%(13/84)结果为中性,未能判断是否产碳青霉烯酶,但其中 5 株 KPC 基因阳性。

2.6 耐药基因检测结果 84 例 CRKP 菌株行 PCR 扩增耐药基因检测,共检出 73 株携带碳青霉烯酶基因,占 86.90%,共涉及 4 种基因型,blaKPC、blaNDM、blaVIM、blaOXA-48 的检出率分别为 83.33%、2.38%、1.19%、1.19%;未检出 blaIMP 及 blaSPM 基因。其中 1 株同时携带 blaKPC 及 blaNDM 基因,同时检出多种 β 内酰胺酶基因,blaSHV、blaTEM、blaCTX-M-9、blaCTX-M-1 的检出率分别为 96.43%、78.57%、64.29%、2.38%,所有 blaSHV 基因阳性的菌株,blaKPC 基因 100.00% 阳性,同时 blaKPC、blaSHV、blaCTX-M-9 阳性菌株共计 51 株,占 60.71%。

2.7 毒力检测结果及临床信息 对 84 株 CRKP 菌株进行 5 种毒力基因 blaiucA、blarmpA2、blairoB、bla-peg-334、blarmpA 检测,其检出率分别为 42.86%、

41.67%、27.38%、3.57%及 2.38%；共 21 株菌株完全未检出上述毒力基因，占 25.00%，其余均检出 1~4 种上述毒力基因；同时携带 3 种及以上毒力基因的菌株占比为 17.85%（15/84）。共 36 株拉丝试验阳性，占 42.86%，拉丝试验与毒力基因之间的关系见表 5。携带毒力基因的感染者中，共有 12 例存在播散感染。

表 5 84 株 CRKP 毒力基因及拉丝实验情况建议
按检出率高低排序

基因	阳性菌株数 (<i>n</i>)	检出率 (%)	拉丝试验阳性数播散感染数 (<i>n</i>)	(<i>n</i>)
blaiucA	36	42.86	16	6
blarmpA2	35	41.67	18	8
blairoB	23	27.38	17	6
blapeg-334	3	3.57	1	1
blarmpA	2	2.38	0	0
联产 3 种及以上	15	17.85	—	—

注：—表示无数据。

3 讨 论

近年来我国 CRKP 检出率逐年攀升，各地区之间检出率存在较大差异^[6]。广东省细菌耐药监测网数据显示，2021 年广东省 CRKP 整体检出率为 10.20%，低于同年全国 24.40%的水平，但省内三甲中医院的平均检出率为 23.65%，明显高于省内三甲西医院检出率（4.80%）。本研究中统计近年来院内 CRKP 检出率均在 46.00%以上，不但高于全国平均水平，更远超广东省检出率。

研究表明，南美及美国 CRKP 44.00%和 40.00%分离自尿液，不同于中国的 62.00%分离自呼吸道样本^[7]。本研究中 CRKP 菌株样本来源前 3 位分别为痰液、尿液和血液，其中呼吸道样本占 55.95%，呈现出绝对优势，与中国细菌耐药监测网的数据及上述研究数据相似。因此，样本来源及构成可能并非导致本院 CRKP 检出率较高的原因。

有西医院研究显示 CRKP 样本主要分离自呼吸科与 ICU^[8]，而本研究中 CRKP 分离率以康复科为首。中医针灸康复疗法对于中风后患者的疗效显著，而康复科作为本院一大优势学科，康复科在临床科室总数量中占 33.30%，远大于其他医院，且康复科患者多为中风后卧床行动不便及昏迷者，需长期住院治疗，易导致 CRKP 定植，同时长期卧床及昏迷也是增加感染风险因素之一。因此，患者病种构成可能是导致本院 CRKP 检出率较高的原因之一。

入住 ICU 及高龄也是导致 CRKP 感染的独立危险因素^[9]，且入住 ICU 的患者往往病情重，基础情况差，更易导致 CRKP 感染或定植，本研究中 25.00%的患者入住 ICU，且 84 例患者中位年龄为 69 岁，高于其他研究^[8]，这可能也是导致本院 CRKP 检出率较

高的重要原因。同样，中心静脉置管、机械通气、留置尿管等侵入性操作会增加患者 CRKP 的感染风险^[9]，本研究中本院 CRKP 感染患者多数有侵袭性操作，一方面侵袭性操作可能会损伤黏膜，破坏黏膜屏障作用，另一方面 CRKP 可以定植在导管内壁，从而导致院内感染的发生；本研究中 CRKP 感染者外院转入占比较高，合并其他基础疾病占比也较高，有研究表明入院前肠道定植增加 CRKP 感染风险^[10]，因此笔者推测这些患者入院时已携带相关耐药基因或已存在 CRKP 的定植或感染，可能是导致本院 CRKP 检出率较高的原因之一。

本研究显示，84 例 CRKP 菌株体外药敏试验，对临床常用包括头孢菌素类、喹诺酮类、单环类、氨基糖苷类、碳青霉烯类及磺胺类抗菌药物均呈现高度耐药性，仅对替加环素及多黏菌素 E 保持较高敏感性，这与国内其他研究结果^[11]一致。碳青霉烯酶是临床常用于治疗肠杆菌科细菌感染的强效重要抗菌药物，但 CRKP 检出率逐年升高，极大地限制了临床用药。磷霉素联合替加环素、多黏菌素 E 被视为针对耐碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的有效用药，但同时存在多种毒副反应，需结合患者情况进行选择^[12]。

CRKP 菌株的碳青霉烯酶类型直接决定了其治疗方案，产 A 类酶或 D 类酶的菌株对头孢他啶/阿维巴坦 100.00%敏感，而产 β 类酶 NDM 的菌株对头孢他啶/阿维巴坦 100.00%耐药，但 ATM 可水解金属酶，可考虑联合用药。本研究中携带耐碳青霉烯类基因仍以产 A 类碳青霉烯酶 blaKPC 为主，少量产 β 类金属酶 blaNDM，同样也出现了同时产上述两种酶的菌株，这与国内张冬梅等^[13]研究结果相似。但不同于陈如寿等^[14]研究中以 blaNDM 为主，这可能与患者年龄及不同地域流行株不同有关。

CR-hvKP 被称为毒力与耐药性结合形成的超级细菌，常导致严重感染而引发死亡，需引起临床医生高度重视^[15]。研究表明，国内数家医院已出现耐碳青霉烯酶的高毒力肺炎克雷伯菌^[16-17]。值得注意的是，本研究中共发现 63 株携带毒力基因的 CRKP 菌株，检出率为 75.00%，远高于国内其他医院的检出率^[18]，且携带 3 种及以上毒力基因的菌株有 15 株，占 17.85%，CR-hvKP 的高检出率是否意味着其存在院内暴发感染的可能值得进一步关注。有研究表明^[19]，blarmpA2 基因位于毒力质粒 p-LVPK 质粒载体基因上，其有促进荚膜合成和高黏液表型的作用，blarmpA2 基因的缺失已被证明会减少荚膜的产生，从而降低荚膜的产量和毒力，这些发现说明 blarmpA2 基因在高毒力肺炎克雷伯菌菌株致病性中的重要性。blaiucA 位于肺炎克雷伯菌毒力质粒上，作为鉴定 hvKP 和 cKP 的遗传标记，在高毒力表型中发挥着关键作用^[20]，本研究中毒力基因 blaiucA、blarmpA2 检出率相对其他毒力基因较高，说明携带这两种毒力菌

株的质粒可能存在广泛传播,携带相同毒力基因的菌株的同源性如何有待进一步研究。

本研究从临床资料、耐药基因及毒力基因多方面对院内 CRKP 分离株进行分析研究,明确了院内 CRKP 检出率及耐药情况,发现病种构成、重症老年患者、侵入性治疗及外院转入都有可能是导致 CRKP 检出率较高的原因,耐药基因仍以 KPC 为主,CR-hvKP 已有较高检出率,需加强院内感染防控。但本研究尚存在以下局限:(1)未对患者入院时 CRKP 肠道定植情况与分离情况进行研究;(2)受限于研究经费,未对 CRKP 菌株的基因分析做进一步研究,从而明确不同菌株之间的同源性。这将是临床后续研究的方向,以进一步明确 CRKP 特征,寻求降低其分离率的方法。

参考文献

[1] GE X,ZHOU Y,JIN H,et al. Genomic insights and antimicrobial resistance profiles of CRKP and non-CRKP isolates in a Beijing geriatric medical center;emphasizing the blaKPC-2 carrying high-risk clones and their spread[J]. Front Microbiol,2024,15:1359340.

[2] 郑茂,邹玉,陈宗耀,等.重症暴发性心肌炎并发 CR-hvKP 感染 1 例[J]. 国际检验医学杂志,2023,44(1):125-128.

[3] PU D N,ZHAO J K,CHANG K,et al. “Superbugs” with hypervirulence and carbapenem resistance in klebsiella pneumoniae:the rise of such emerging nosocomial pathogens in China[J]. Sci Bull (Beijing),2023,68(21):2658-2670.

[4] MUKHERJEE S,BHADURY P,MITRA S,et al. Hypervirulent klebsiella pneumoniae causing neonatal bloodstream infections;emergence of NDM-1-Producing hypervirulent ST11-K2 and ST15-K54 strains possessing pLVPK-Associated markers[J]. Microbiol Spectr,2023,11(2):e0412122.

[5] MORALES L F,MATUS K M,ARAYA V P,et al. Molecular characterization of the convergent carbapenem-resistant and hypervirulent klebsiella pneumoniae strain K1-ST23, collected in chile during the COVID-19 pandemic [J]. Microbiol Spectr,2023,11 (3):e0054023.

[6] 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.

[7] WANG M G,EARLEY M,CHEN L,et al. Clinical outcomes and bacterial characteristics of carbapenem-resistant klebsiella pneumoniae complex among patients from different global regions (CRACKLE-2): a prospective, multicentre, cohort study[J]. Lancet Infect Dis,2022,22 (3):401-412.

[8] 李玉雪,郭玉梅,陈学敏,等. 2016—2020 年我院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的临床分布特点及耐药性分析[J]. 标记免疫分析与临床,2022,29(8):1303-1307.

[9] LI Y,LI J,HU T,et al. Five-year change of prevalence and risk factors for infection and mortality of carbapenem-resistant klebsiella pneumoniae bloodstream infection in a tertiary hospital in North China[J]. Antimicrob Resist Infect Control,2020,9(1):79.

[10] 陈翔,高晓东,周春妹,等. 基于全基因组测序的外科重症监护室患者定植与感染碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌分析[J]. 华西医学,2024,39(3):412-417.

[11] 卫明,陈田,杨楷. 近 5 年肺炎克雷伯菌临床分布特征及耐药现状分析[J]. 中南民族大学学报(自然科学版),2024,55(4):1-5.

[12] 曾玫,夏君,宗志勇,等. 碳青霉烯类耐药革兰阴性菌感染的诊断、治疗及防控指南 [J]. 中国感染与化疗杂志,2024,24(2):135-151.

[13] 张冬梅,孙雅玲,胡帆,等. 医院获得性肺炎患者耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分离株的耐药基因及毒力因子[J]. 中华医院感染学杂志,2023,33(9):1281-1284.

[14] 陈如寿,钟佳芳,石挺丽,等. 三亚某三甲医院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药性及分子流行病学特征[J]. 中华医院感染学杂志,2024,34(8):1134-1139.

[15] MAI D M,WU A Q,LI R,et al. Identification of hypervirulent klebsiella pneumoniae based on biomarkers and Galleria mellonella infection model[J]. BMC Microbiol,2023,23(1):369.

[16] LI L,LI S,WEI X,et al. Infection with carbapenem-resistant hypervirulent klebsiella pneumoniae;clinical, virulence and molecular epidemiological characteristics [J]. Antimicrob Resist Infect Control,2023,12 (1):124.

[17] CHEN L,ZHOU Y,WANG S,et al. Genomic analysis of Carbapenem-resistant hypervirulent klebsiella pneumoniae in a Chinese tertiary hospital[J]. Infect Drug Resist,2023,16:6385-6394.

[18] 刘心伟,李登州,胡玥,等. 2020—2022 年河南省某医院高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学特征研究[J]. 中华预防医学杂志,2023,57(8):1222-1230.

[19] LIN T H,WU C C,KUO J T,et al. FNR-dependent RmpA and RmpA2 regulation of capsule polysaccharide biosynthesis in klebsiella pneumoniae[J]. Front Microbiol,2019,10:2436.

[20] RUSSO T A,OLSON R,MACDONALD U,et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) klebsiella pneumoniae [J]. Infect Immun,2014,82(6):2356-2367.