

耐碳青霉烯类肠杆菌血流感染患者耐药基因分析^{*}

邢康齐¹,薛庆节²,石继魁^{3△}

1. 济宁医学院临床医学院,山东济宁 272000;2. 济宁医学院基础医学院,山东济宁 272000;
3. 山东省济宁市第一人民医院重症医学科,山东济宁 272000

摘要:目的 调查耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌血流感染(CRE-BSI)的临床科室分布及耐药情况,分析其耐药基因型、毒力因子,以指导临床诊疗中抗菌药物的合理使用,预防耐药菌株的传播。方法 收集 2021—2022 年济宁市第一人民医院分离的 21 株临床 CRE-BSI 菌株,分析菌株的药敏结果;检测菌株的碳青霉烯酶基因(KPC、OXA-48、VIM、IMP、NDM);提取菌株 DNA,并进行多位点序列分型(MLST)。结果 21 株 CRE-BSI 菌株中,12 株源于重症医学科,除对替加环素、多黏菌素/黏菌素、阿米卡星、米诺环素敏感性较好,部分菌株抗菌药物耐药率为 100.00%。21 株菌株中,肺炎克雷伯菌 10 株,大肠埃希菌 10 株,均以 bla_{NDM} 为主要产酶基因型;MLST 结果显示,肺炎克雷伯菌主要流行 ST11,大肠埃希菌主要流行 ST361、ST410。毒力因子均有不同数量的检出,其中 iroN、fimH 检出率最高,分别为 100.00%(20/20)、85.00%(17/20)。结论 济宁市第一人民医院分离的临床 CRE-BSI 菌株肺炎克雷伯菌中 bla_{KPC-2} 为主要产酶基因,大肠埃希菌中 bla_{NDM-5} 为主要产酶基因型,可能存在克隆流行和水平传播,临床需加强抗菌药物应用的监管,预防 CRE 院内爆发。

关键词:耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌; 血流感染; 耐药基因; 多重耐药; 多位点序列分型; 毒力因子

中图法分类号:R446.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2024)16-2400-06

Analysis of drug resistance genes in patients with carbapenem-resistant

Enterobacteriaceae intestinalis bloodstream infections^{*}

XING Kangqi¹, XUE Qingjie², SHI Jikui^{3△}

1. College of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining, Shandong 272000, China;
2. College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining, Shandong 272000, China;
3. Department of Critical Medicine, Jining First People's Hospital, Jining, Shandong 272000, China

Abstract: Objective To investigate the clinical department distribution and drug resistance of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae bloodstream infection (CRE-BSI), and analyze the genotypes and virulence factors of drug resistance to guide the rational use of antibiotics in clinical diagnosis and treatment and prevent the spread of drug-resistant strains. **Methods** Twenty-one clinical CRE-BSI strains isolated from the First People's Hospital of Jining City during 2021—2022 were collected, The carbapenemase genes (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM) of the strains were detected, and the DNA of the strains was extracted and subjected to multilocus sequence typing (MLST). **Results** Among the 21 CRE-BSI strains, 12 strains originated from the Department of Critical Care Medicine; except for better susceptibility to tigecycline, polymyxin, amikacin, mi-nocycline, antimicrobial resistance rates of some strains were 100.00%. Among 21 strains, 10 strains were Klebsiella pneumoniae, 10 strains were Escherichia coli, and bla_{NDM} was the major enzyme-producing genotype. MLST results showed that Klebsiella pneumoniae was mainly distributed in ST11, while Escherichia coli was mainly distributed in ST361 and ST410. The virulence factors were detected in varying quantities, among which the iroN and fimH had the highest detection rates[100.00% (20/20), 85.00% (17/20)]. **Conclusion** The clinical CRE-BSI strains isolated from the First People's Hospital of Jining City, with bla_{KPC-2} as the main enzyme-producing gene in Klebsiella pneumoniae and bla_{NDM-5} as the main enzyme-producing genotype in Escherichia coli, may have clonal epidemiology and horizontal transmission, and the clinic needs to strengthen the supervision of antimicrobial drug application to prevent the nosocomial outbreak of CRE.

Key words: carbapenem-resistant enterobacteriales; bloodstream infection; resistance gene; multi-drug

* 基金项目:山东省重点研发计划项目(2018GSF118137);山东省医药卫生科技项目(202319010449);山东省济宁市重点研发计划项目(2023YXNS106)。

作者简介:邢康齐,女,硕士研究生,主要从事碳青霉烯耐药方向的研究。△ 通信作者,E-mail:3038254657@qq.com。

resistant; multilocus sequence typing; virulence factor

碳青霉烯类抗菌药物具有广谱抗菌、多系统治疗有效等特点,曾被称为治疗耐药阴性杆菌的最后一道防线。随着耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(CRE)的检出率不断上升,抗菌药物治疗效果逐渐变差,严重威胁公众健康,故迫切需要在全球范围内建立区域性监测,实施更有效的抗菌药物管理和感染控制措施,以防碳青霉烯类耐药在全球范围内的进一步传播^[1],尤其是CRE血流感染(CRE-BSI),它对大多数可用抗菌药物表现出耐药性,且与高病死率有关。本研究回顾性分析了山东省济宁市第一人民医院2021—2022住院患者血液检出CRE的临床分布特征及耐药性特点,以期为临床提供相关数据,为防控管理和治疗CRE-BSI提出依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集2021—2022年山东省济宁市第一人民医院住院的21例CRE-BSI患者(共21株菌株,菌株要求对至少一种碳青霉烯类药物耐药,包括亚胺培南、美罗培南、厄他培南等),21株菌株均为在血液标本中检测出的耐药菌株。于−80℃超低温冰箱保存。编号为1~21,检测为肺炎克雷伯菌标示为KP,大肠杆菌为EC,霍氏肠杆菌为EH。质控菌株为肺炎克雷伯菌ATCC700603,大肠杆菌ATCC25922,霍氏肠杆菌ATCC700323,由国家卫生健康委员会临床检验中心(北京医院)提供。

1.2 仪器与试剂 生物安全柜(海尔集团公司,型号:HR40-II A2);二氧化碳培养箱(长沙长锦科技有限公司,型号:CP-QT100A);全自动细菌培养系统(美国碧迪公司,型号:BACTEC FX);全自动微生物质谱检测系统(法国生物梅里埃公司,型号:VITEK MS);全自动微生物鉴定药敏分析仪(美国碧迪公司,型号:PhoenixTM M50)及配套药敏培养液、药敏靶板、细菌浊度仪;−80℃超低温冰箱(海尔集团公司);SPD.RM医用冷藏箱(海尔集团公司,型号:HRC-390R);碳青霉烯酶检测试剂盒[复星诊断科技(长沙)有限公司,商品名称NG-Test CARBA 5]。

1.3 方法

1.3.1 临床资料收集 通过住院病历系统收集CRE-BSI患者的临床特征及CRE-BSI菌株的科室分布情况。

1.3.2 菌株鉴定及药敏试验 检测过程依据《全国临床检验操作规程》第5版相关要求进行细菌培养,使用全自动微生物质谱检测系统鉴定细菌种类。使用全自动微生物鉴定药敏分析仪及配套药敏培养液、药敏靶板等进行药敏试验,并记录检测结果(通常为24 h),按照2022年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)M100ED32文件标准分析并收集药敏结果。

1.3.3 碳青霉烯酶检测 按照试剂盒说明书制备混

合液,加入检测卡盒上标记了S的样本孔,室温放置15 min读取结果。

1.3.4 提取菌株DNA 使用细菌基因组DNA提取试剂盒,提取制备好的上清液,作为菌株的DNA模板,放置于−80℃冰箱保存。

1.3.5 全基因组测序 将上述DNA模板送至北京百迈客生物科技有限公司,采用Illumina测序。利用超声波将DNA打断成200~500 bp小片段,筛选合适DNA片段加接头后随机附着于flowcell表面,经过桥式聚合酶链反应扩增形成DNA簇,采用边合成边测序的方法,进行全基因组全面、准确的测序。

1.3.6 多位点序列分型(MLST) 应用美国国家生物技术信息中心本地blast板块,进行基因比对并记录结果。

1.3.7 耐药基因检测 将上述所得基因组用CARD与Center for Genomic Epidemiology ResFinder-4.1耐药软件分析耐药基因,用VFDB软件分析各菌株毒力因子,参考相关研究统计毒力因子^[2-3]。

1.4 统计学处理 采用WHONET5.6软件进行数据处理与分析。计数资料以例数或百分率表示。

2 结 果

2.1 CRE-BSI菌株科室分布情况 重症医学科12株,急诊监护室4株,血液内科2株,呼吸与危重症医学科1株,泌尿外科1株,肝胆外科1株。

2.2 CRE-BSI患者临床资料 年龄0~30岁1例,>30~60岁6例,>60~90岁14例;有基础疾病15例,无基础疾病6例;有侵入性操作17例,无侵入操作4例;使用呼吸机辅助呼吸15例,无呼吸机辅助呼吸6例。

2.3 CRE-BSI菌株的耐药情况 药敏试验结果显示,CRE-BSI菌株对替加环素、多黏菌素/黏菌素、阿米卡星、米诺环素的敏感率分别为85.71%、61.90%、61.90%、57.14%;对青霉素类、培南类、部分喹诺酮类、氨苄西林/舒巴坦、头孢哌酮/舒巴坦完全耐药。见表1。

2.4 CRE-BSI菌种分布、产碳青霉烯酶情况及MLST 21株菌株中,10株肺炎克雷伯菌:7株KPC酶、2株NDM酶、1株IMP酶,10株大肠埃希菌和1株霍氏肠杆菌:均为NDM酶,未检测到OXA-48及VIM;10株肺炎克雷伯菌中,6株产bla_{KPC-2},1株产bla_{IMP-4},1株产bla_{NDM-1},1株未检出碳青霉烯酶基因型,其中1株同时产bla_{NDM-1}、bla_{NDM-5}、bla_{OXA-1};10株大肠埃希菌中,9株产bla_{NDM-5},1株产bla_{NDM-6};1株霍氏肠杆菌产bla_{NDM-1}。见表2。MLST结果显示,10株肺炎克雷伯菌根据等位基因gapA、infB、mdh、pgi、phoE、rpoB、onB进行分析,有5株为ST11,其余5株分别为ST307、ST469、ST1 027、ST1 306、ST1 709;

10 株大肠埃希菌根据等位基因 adk、fumC、gyrB、icd、mdh、purA、recA 进行分析,有 3 株为 ST361,3 株为 ST410,2 株为 ST167,1 株为 ST617,1 株为 ST345。见表 3 和表 4。霍氏肠杆菌未测。

表 1 21 株 CRE-BSI 菌株的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	敏感	中介	耐药
头孢他啶	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢吡肟	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢曲松	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢唑林	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢替坦	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢呋辛	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢西丁	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
氨苄西林	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
美罗培南	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
厄他培南	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
诺氟沙星	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
莫西沙星	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
氨苄西林/舒巴坦	0(0.00)	0(0.00)	100(100.00)
头孢哌酮/舒巴坦	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
阿莫西林/克拉维酸(棒酸)	0(0.00)	0(0.00)	21(100.00)
头孢他啶/阿维巴坦	8(38.10)	0(0.00)	13(61.90)
哌拉西林/他唑巴坦	0(0.00)	1(4.77)	20(95.23)
复方磺胺甲噁唑	7(33.33)	0(0.00)	14(66.67)
氨曲南	2(9.52)	0(0.00)	19(90.48)
呋喃妥因	7(33.33)	7(33.33)	7(33.33)
替加环素	18(85.71)	3(14.29)	0(0.00)
多黏菌素/黏菌素	13(61.90)	8(38.10)	0(0.00)
左氧氟沙星	1(4.77)	2(9.52)	18(85.71)
环丙沙星	1(4.77)	0(0.00)	20(95.23)
阿米卡星	13(61.90)	0(0.00)	8(38.10)
四环素	9(42.86)	0(0.00)	12(57.14)
庆大霉素	7(33.33)	0(0.00)	14(66.67)
妥布霉素	6(28.57)	4(19.05)	11(52.38)
多西环素	5(23.81)	0(0.00)	16(76.19)
米诺环素	12(57.14)	3(14.29)	6(28.57)

2.5 CRE-BSI 菌株其他耐药基因表达

2.5.1 产 ESBLs 或 ApmC 酶情况 3 株大肠埃希菌产 ApmC 酶,18 株产 bla_{CTX-M},2 株产 bla_{CMY-2},8 株产 bla_{TEM-1};5 株肺炎克雷伯菌株产 bla_{SHV},1 株产 bla_{DHA-1},4 株产 bla_{LAP}。

2.5.2 合并膜孔蛋白缺失情况 OmpF、OmpG、PhoE、LamB、OmpK35、OmpK36 基因均缺失,未检测到。OmpA/OmpK37 在肺炎克雷伯菌中可见表

达,OmpA 未在大肠埃希菌及霍氏肠杆菌中检测到。

表 2 CRE-BSI 菌株产碳青霉烯酶情况

碳青霉烯酶基因型	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	霍氏肠杆菌
	(n)	(n)	(n)
bla _{KPC-2}	0	6	0
bla _{NDM-1}	0	2	1
bla _{NDM-5}	9	1(同时)	0
bla _{NDM-6}	1	0	0
bla _{IMP-4}	0	1	0
bla _{OXA-1}	2(同时)	1(同时)	1(同时)
合计	10	9	1

注:同时产碳青霉烯酶时只计入 1 个菌株数。

表 3 10 株肺炎克雷伯菌 ST 位点信息

等位基因	gapA	infB	mdh	pgi	phoE	rpoB	tonB	ST
KP1	2	1	1	1	9	4	14	1 027
KP3	2	1	2	1	10	1	4	469
KP4	2	1	119	1	1	4	24	1 306
KP6	3	3	1	1	1	1	4	11
KP7	3	1	1	1	7	4	38	1 709
KP11	3	3	1	1	1	1	4	11
KP14	4	1	2	52	1	1	7	307
KP16	3	3	1	1	1	1	4	11
KP17	3	3	1	1	1	1	4	11
KP18	3	3	1	1	1	1	4	11

表 4 10 株大肠埃希菌 ST 位点信息

等位基因	adk	fumC	gyrB	icd	mdh	purA	recA	ST
EC2	10	11	4	8	8	13	73	617
EC5	10	99	5	91	8	7	2	361
EC8	10	99	5	91	8	7	2	361
EC9	10	11	4	8	8	13	2	167
EC10	6	4	12	1	20	18	7	410
EC13	6	4	12	1	20	18	7	410
EC15	6	4	12	1	20	18	7	410
EC19	10	11	4	8	8	13	2	167
EC20	10	99	5	91	8	7	2	361
EC21	6	4	14	1	20	62	7	345

2.5.3 外排泵过表达情况

SMR 家族:21 株菌株中均检测到 KpnEF;MFS 家族:检测到 13 株 tet(A) 和 10 株 emrYK/emrAB,其中 10 株大肠埃希菌均见表达,仅有 1 株肺炎克雷伯菌携带,21 株菌株均检测到 emrR;RND 家族:21 株菌株均检测到具有 MarR 突变的 AcrAB-ToLC,对四环素、环丙沙星耐药,9 株同时对头孢他啶耐药,11 株 AcrEF,21 株均检测到 MarA,11 株检测到 SoxS,仅有 1 株肺炎克雷伯菌,11 株

检测到 OqXAB; ABC 家族, 21 株菌株中均检测到 MsbA。

2.5.4 药物作用位点改变情况 12 株菌株中检测到 Qnr, β 内酰胺酶青霉素结合蛋白 PBP3 突变在 21 株菌株中均检测到, 18 株菌株中检测到 fos, 3 株菌株检测到 linG, 10 株菌株中检测到 Pmr, 大肠埃希菌均表达, 3 株菌株中检测到 arr, 8 株菌株中检测到 Mrx, mphA, 2 株菌株中检测到 catI, 14 株菌株中检测到 dfrA, 18 株菌株中检测到 sul, 11 株菌株中检测到 eptA, 大肠埃希菌均表达; 在 10 株菌株中检测到 ArnT eptB, 肺炎克雷伯菌中表达。在 17 株菌株中检测到 gyr, 8 株菌株中检测到 rmtB。

2.6 CRE-BSI 毒力因子携带情况 10 株大肠埃希菌中, 7 株检测到 I 型菌毛 fimH, F1 菌毛中 focDE、focG 未检测到, 4 株检测到 focC, 1 株检测到 P 菌毛 papAH, papEF、papG 未检测到, 10 株检测到 papC, 9

菌毛 sfa 未检测出,2 株检测到 fyuA,3 株检测到 iutA,10 株中检测到 iroN,未检测到 hlyA 和 cnf1,编码 K1 荚膜(kpsMT K1)和第Ⅱ组多糖合成(kpsMT Ⅱ)的基因未检测出,2 株检测到与表达荚膜和免疫逃避相关的 wbaZ、galE;大肠菌素 C(cvaC)、脑内皮细胞湿润(ibeA)和血清存活率(traT)未检测出。10 株肺炎克雷伯菌中,10 株检测到 1 型菌毛 fimH;5 株检测出 iuc,10 株全部检测出 iutA,10 株均检测出肠杆菌素(ent、fep、fes)和沙门氏菌(iroE、iroN),6 株检测耶尔森杆菌素 fyuA、irp1、irp2、ybt;5 株检测出同时携带 4 种基因;均未检测到荚膜多糖 rmpA,10 株中均检测出 LPS rfb locus;均未检测出毒素基因 clb。

2.7 21 株菌株基因组进化树及部分基因分布 分析相关遗传元件发现, IncX3 有 9 株, InFll 有 13 株, 插入序列 ISKpn27 有 6 株, 且均与碳青霉烯基因 KPC-2 相关。见图 1。

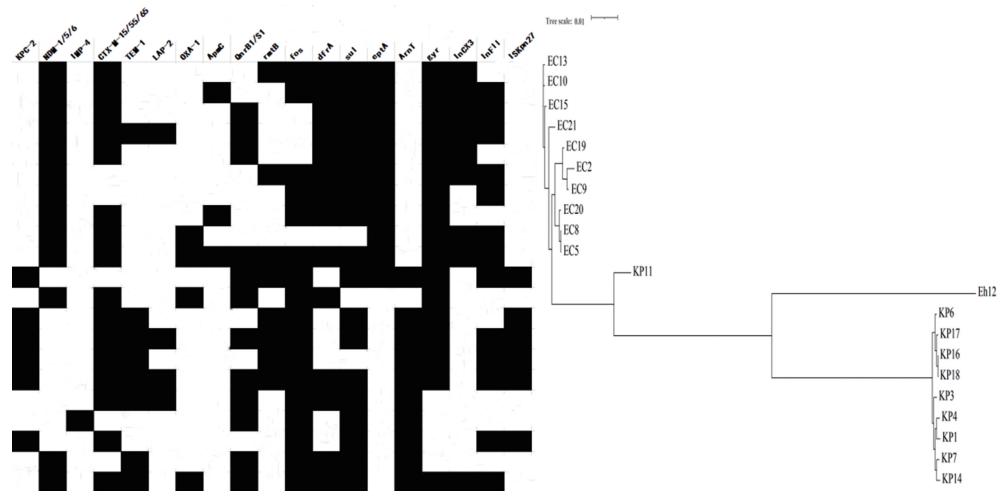


图 1 21 株菌株基因组进化树及部分基因分布

3 讨 论

本研究 21 株 CRE-BSI 分离菌株患者的年龄多为 60 岁及以上,其中重症医学科分离出的菌株最多,结合患者临床资料,可能与患者年龄偏大,合并基础疾病、使用呼吸机或有创操作等相关^[4]。本研究 CRE-BSI 药敏试验结果显示,CRE 对临床常用头孢菌素、碳青霉烯类等抗菌药物耐药率达 95% 以上,较敏感的抗菌药物为替加环素、多黏菌素/黏菌素、阿米卡星、米诺环素,与国内相关报道类似^[5]。建议临床医生与检验科积极沟通,根据耐药率低的抗菌药物结合药敏结果选择适用药物,从而提高临床抗感染治疗效果。本研究 MLST 分析结果显示,山东省济宁市第一人民医院 CRE-BSI 中大肠埃希菌流行的 ST 为 ST410 和 ST361,与 ZHANG 等^[6]和 WU 等^[7]研究表明大肠埃希菌菌株中流行 ST 依次为 ST167,ST617 和 ST410,ST131 不同,可能是因为地域差异,克隆菌株不同,也不排除由于本研究样本量少,不具有的代表性。肺炎克雷伯菌中主要流行 ST 为 ST11,与其他国内相关研

究相同^[8]。表明山东省济宁市第一人民医院流行的CRE-BSI可能存在克隆性传播。

CRE-BSI 耐药相关机制主要为:(1)产碳青霉烯酶,常见 KPC、NDM、和 OXA-48,具有水解青霉素类、头孢菌素类和碳青霉烯类的能力^[9],造成抗菌药物耐药,本研究结果发现山东省济宁市第一人民医院肺炎克雷伯菌中 bla_{KPC-2} 为主要类型,大肠埃希菌中为 bla_{NDM-5} ,与国内流行趋势相同^[10]。有研究发现,大肠埃希菌中 bla_{NDM} 传播主要机制是 IncX3 质粒的水平传播,肺炎克雷伯菌携带 bla_{KPC-2} 的质粒是多样的但二者都拥有高度保守的可移动元件核心结构,这使得两种基因广泛传播^[6],同时 bla_{KPC-2} 借助插入序列 ISKpn27,完整的序列构成是基因排列顺序为 Tn4401-tnpA, Tn4401-tnpR, ISKpn27, bla_{KPC-2} , ISK-pn26^[11],借助于转座子传播,依据进化树可见相同细菌菌株基因组相似度大,山东省济宁市第一人民医院大肠埃希菌目细菌耐药性也存在水平传播。本研究碳青霉烯酶检测结果显示,NG-Test CARBA 5 检测

试剂盒对比基因水平检测准确率高,但也有假阳性结果。(2)产 AmpC 或 ESBLS 酶,本次编号为 KP3 的多重耐药菌株未检测出碳青霉烯酶,但检测到它携带产 AmpC 和 ESBLS 酶。有研究发现,华东地区的超广谱 β -内酰胺酶流行病学调查中常见 bla_{CTX-M} 型为: $bla_{CTX-M-14}$ 、 $bla_{CTX-M-55}$ 和 $bla_{CTX-M-27}$ ^[12]。山东省济宁市第一人民医院位于华北地区,收集的病例中多见的耐药基因为 $bla_{CTX-M-55}$ 、 $bla_{CTX-M-65}$ 、 $bla_{CTX-M-15}$,与上述结果稍有不同。此类菌株除了对超广谱 β -内酰胺类抗菌药物耐药,还包括一些 β -内酰胺酶的抑制剂复方制剂,代表药物有头孢哌酮舒巴坦钠、哌拉西林他唑巴坦钠。(3)膜孔蛋白缺失,渗透性降低。本研究 21 株菌株均表达了 OmpK37,这是一类使 β -内酰胺类通透性降低的一般细菌孔蛋白,同时还检测到 OmpA,可以导致肽类抗菌药物渗透性降低,如多黏菌素、万古霉素等。本研究检测介导抗菌素进入细菌的相关基因均表现为缺失,但是大部分多黏菌素仍敏感可能与其他膜孔蛋白存在相关,如 OmpK36 等,通过效率较低,抗菌药物效果差^[13]。(4)外排泵过表达,这是细菌的保护机制之一,可以识别并排出抗菌药物,产生耐药。本研究结果发现,大肠埃希菌外排泵表达类型普遍多于肺炎克雷伯菌,最常见的为 RND 家族的 AcrAB-ToLC,它对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性增强,甚至造成多重耐药。其整体调控因子 Mar A、Mar R、Sox S 在菌株有检测到,Mar R 可以抑制 Mar A,但 Mar A 蛋白能够与 Mar R 基因阻遏位点上游的 DNA 序列(即 marbox)结合发挥正反馈作用,抑制 mar R 基因并激活 mar A 基因^[14],而且 AcrEF 在 AcrAB 缺失时可以替代它并且继续产生细菌的耐药性;本研究在一半的菌株中检测到 OqxAB 外排泵基因,OqxAB 在对喹诺酮类、四环素类和氯霉素的耐药性发展中起着重要作用,与国内其他相关研究结果相同^[15];MFS 家族中 tet(A/D) 与四环素耐药相关^[16],部分菌株检测到的耐药基因多西环素耐药、替加环素抗菌处于中介与之相关;近年来多有检出的 SMR 家族 KpnEF 产生多种抗菌药物耐药,在本研究 21 株菌株均检测到;ABC 家族,Msba 位于革兰阴性菌的内膜,并作为脂多糖(LPS)前体核心-LPS 的翻转酶,参与细菌外膜的生物发生^[17]。(5)药物作用靶点改变^[18]。例如:Qnr 与药物靶结合,并引起构象变化,产生耐药,与喹诺酮类抗菌药物耐药相关;典型的 β 内酰胺酶青霉素结合蛋白 PBP3 突变,导致与碳青霉烯类药物亲和力下降,与菌株耐药性关系明显。(6)生物膜的形成与外排泵、毒力因子、调节基因相关^[19],可以避免机体免疫系统杀死细菌,同时对抗菌药物的耐药性增强,生物膜也可以在自然界存在,定植在导管,医疗器械内部等。耐药的产生不仅是耐药基因一种作用,同时还可能与个体差异、染色体变异、药物本身相关。

本次研究中大部分检测到 fimH, iroN, 大肠埃希菌中还检测到 papC, iuc, 肺炎克雷伯菌检测到 iutA、ent, fep, fes, fyuA, irp, ybt。在上述毒力因子中, 黏附素(菌毛、非菌毛黏附物质)的基因介导与宿主细胞或黏膜的相互作用,促进细菌定居和感染^[20], 是临床患者感染的第一步, 监测的毒力因子与此相关。铁载体基因对于获得细菌生长和复制很重要, 一项肺炎克雷伯菌感染相关的研究确定铁载体可以激活一种宿主蛋白缺氧诱导因子(HIF)-1 α , 进行铁载体依赖性细菌播散进而加重感染, 这表明通过扰乱铁载体生成不仅防止细菌生长, 还可以控制细菌进一步扩散产生更严重的血流感染, 另还有研究表明 iroN 可能与高水平菌血症相关^[21], 本研究收集的 CRE-BSI 患者中大部分检测到 iroN 基因。而毒素与定植、侵袭相关, 也可以直接损伤 DNA, 本次未检测到毒素。荚膜保护细菌不受外界伤害, 同时抑制了炎症反应, 减少了机体对细菌的清除, 肺炎克雷伯菌中检测到相关荚膜, 本院菌株检测出毒力因子基因较多, 这可能是耐药原因之一。菌株检测到多种相同质粒, 如: IncF II, IncX3 等, 不排除毒力因子借助质粒水平传播, 也可进一步行质粒结合试验, 明确情况。

综上所述, 本院 CRE-BSI 患者耐药甚至多重耐药不仅是一种产酶作用, 而是多种机制共同作用的结果, 存在克隆传播与水平传播; 临床应该根据耐药大环境, 选择相对敏感抗菌药物; 重症医学科较其他科室分离菌株较多, 需加强抗菌药物使用管控, 同时其他科室送检较少, 应鼓励积极送检, 早期治疗, 防止院内流行。

参考文献

- XU Y L, 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.
- ASTLEY D J, SPANG L, PARNIAN F, et al. A comparative study of the clonal diversity and virulence characteristics of uropathogenic Escherichia coli isolated from Australian and Turkish (Turkey) children and adults with urinary tract infections[J]. Germs, 2022, 12(2):214–230.
- SLOWN S, WALAS N, AMATO H K, et al. Clonal lineages and virulence factors of carbapenem resistant E. coli in alameda county, California, 2017–2019[J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(12):1794.
- 刘洋, 陆燕飞, 张晓慧, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌血流感染病原学及预后危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(14):2081–2084.
- 农金轻, 张春燕, 胡守奎, 等. 2016—2020 年某医院耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的临床分布及耐药性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(4):584–588.
- ZHANG R, LIU L Z, ZHOU H W, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant enterobacteriaceae (CRE) strains in China[J]. EBioMedicine, 2017,

- 19:98-106.
- [7] WU W J, FENG Y, TANG G M, et al. NDM Metallo- β -Lactamases and their bacterial producers in health care settings[J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(2): e00115-e00118.
- [8] 王佳男,李情操,裘雪丹,等.酶免疫层析技术和酶抑制剂增强试验在碳青霉烯酶型检测方面的应用及研究[J].中国卫生检验杂志,2023,33(3):271-274.
- [9] TOOKE C L, HINCHLIFFE P, BRAGGINTON E C, et al. β -Lactamases and β -Lactamase inhibitors in the 21st century[J]. J Mol Biol, 2019, 431(18): 3472-3500.
- [10] 李姝丽,吴秀祯,王志贤,等.碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌基因型检测技术研究进展[J].中华医院感染学杂志,2022,32(17):2711-2715.
- [11] HUANG J S, HU X L, ZHAO Y N, et al. Comparative analysis of blaKPC expression in Tn 4401 transposons and the Tn 3-Tn 4401 chimera[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(5): e02434-18.
- [12] QUAN J J, DAI H L, LIAO W C, et al. Etiology and prevalence of ESBLs in adult community-onset urinary tract infections in East China: a prospective multicenter study[J]. J Infect, 2021, 83(2): 175-181.
- [13] DU F L, WEI D D, WAN L G, et al. Evaluation of ompK36 allele groups on clinical characteristics and virulence features of Klebsiella pneumoniae from bacteremia [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2019, 52(5): 779-787.
- [14] 华炜聪,邓在春,张筠,等. AcrAB-TolC 外排泵在多重耐药肠杆菌中的作用研究进展[J]. 中国现代医生, 2021, 59
- (4):184-188.
- [15] GUO Y M, LIU F Q, ZHANG Y L, et al. Virulence, antimicrobial resistance, and molecular characteristics of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in a hospital in Shijiazhuang city from China[J]. Int Microbiol, 2023, 26(4): 1073-1085.
- [16] 叶卓幸,汤燕君,何璐茜,等.四环素类抗生素耐药研究进展:质粒介导的替加环素耐药机制[J].生态毒理学报,2022,17(4):122-140.
- [17] BONIFER C, GLAUBITZ C. MsBA: an ABC transporter paradigm[J]. Biochem Soc Trans, 2021, 49(6): 2917-2927.
- [18] DARBY E M, TRAMPARI E, SIASAT P, et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited[J]. Nat Rev Microbiol, 2023, 21(5): 280-295.
- [19] 罗欢,王炜捷,李玮玮,等.细菌生物膜抵抗消毒剂的研究进展[J].中国抗生素杂志,2023,48(2):133-143.
- [20] BESSAIAH H, ANAMALÉ C, SUNG J, et al. What flips the Switch? Signals and stress regulating extraintestinal pathogenic escherichia coli type 1 fimbriae (Pili)[J]. Microorganisms, 2021, 10(1): 5.
- [21] HUNG W T, CHENG M F, TSENG F C, et al. Blood-stream infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli: the role of virulence genes[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2019, 52(6): 947-955.

(收稿日期:2023-12-19 修回日期:2024-03-15)

(上接第 2399 页)

- [8] 安应飞,裴金莹,郭莉,等.牙列缺失患者血清 BGP、AKP、OPN 水平与口腔种植修复术后种植体预后的关系[J].检验医学与临床,2023,20(15):2223-2227.
- [9] FIORELLINI J P, LUAN K W, CHANG Y C, et al. Peri-implant mucosal tissues and inflammation: clinical implications[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2019, 34: 25-33.
- [10] YILMAZ D, GÖNÜLLÜ E, GÜRSOY M, et al. Salivary and serum concentrations of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inhibitory factor, and fractalkine in relation to rheumatoid arthritis and periodontitis [J]. J Periodontol, 2021, 92(9): 1295-1305.
- [11] 梁月明,张培芳,魏晓群,等.慢性阻塞性肺疾病患者血清 S100A8/A9、CX3CL1 联合检测的临床价值[J].国际检验医学杂志,2021,42(22):2740-2744.
- [12] MATSUURA T, ICHINOSE S, AKIYAMA M, et al. Involvement of CX3CL1 in the migration of osteoclast precursors across osteoblast layer stimulated by interleukin-1 β [J]. J Cell Physiol, 2017, 232(7): 1739-1745.
- [13] 白冰,陈梅梅,黄海燕. CD14, HIF-1 α , CX3CL1 与儿童急
- 性牙髓炎易感性关系及诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(7):1118-1121.
- [14] BALCI N, CEKICI A, KURGAN S, et al. Potential biomarkers reflecting inflammation in patients with severe periodontitis: fractalkine (CX3CL1) and its receptor (CX3CR1)[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(3): 589-596.
- [15] 龙瑜琴,莫兰英.不同病原体感染致肺炎患者血清 ADA、PAB、LTB4 水平变化情况及与患者肺泡上皮损伤程度的关系[J].重庆医学,2021,50(21):3652-3655.
- [16] 葛姝君,王晓瑜,王丹. COPD 患者血清 HBP、LTB4 变化与病情及肺功能参数的关系[J].中国实验诊断学,2020, 24(1):21-24.
- [17] 李一光.氢氧化钙糊剂活髓保存治疗龋源性牙髓炎对患儿 LTB4、TNF- α 、IL-8 水平及咬合功能的影响[J].中国美容医学,2021,30(6):143-146.
- [18] MORO M G, OLIVEIRA M D S, SANTANA M M, et al. Leukotriene receptor antagonist reduces inflammation and alveolar bone loss in a rat model of experimental periodontitis[J]. J Periodontol, 2021, 92(8): e84-e93.

(收稿日期:2024-01-21 修回日期:2024-04-15)