

耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌感染的临床特征及耐药机制研究

郑茂^a, 陈宗耀^a, 王登朝^a, 邹玉^b (德阳市人民医院 a. 检验科; b. 输血科, 四川德阳 618000)

摘要: **目的** 调查耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 (carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CR-KP) 感染的临床特征及耐药机制, 并分析感染 CR-KP 高毒力株 (carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, CR-hvKP) 的危险因素。**方法** 收集 2016 年 1 月 ~ 2020 年 12 月从德阳市人民医院住院患者送检标本中分离的 CR-KP, 分析 CR-KP 检出变化趋势, 比较 CR-KP 在不同科室及不同标本类型的分布情况, 检测 CR-KP 对常用抗生素的耐药性及碳青霉烯酶基因携带情况; 收集 CR-KP 感染患者的临床资料, 比较高毒力株感染组 (CR-hvKP 组) 和非高毒力株感染组 (CR-cKP 组) 的危险因素。**结果** 总计分离出 89 株 CR-KP, 在肺炎克雷伯菌中占比 3.47% (89/2 562), 总体上呈逐年上升趋势。CR-KP 主要来源于 ICU 16 株 (17.98%)、感染科 13 株 (14.61%) 和肿瘤科 13 株 (14.61%); 标本类型主要为痰液 45 株 (50.56%)、尿液 14 株 (15.73%) 和脓液 11 株 (12.36%)。CR-KP 对大部分常用抗生素耐药, 但对头孢他啶-阿维巴坦和黏菌素耐药率较低。CR-KP 碳青霉烯酶基因检出率为 78.65% (70/89), 主要为 bla_{KPC}, bla_{NDM}。年龄 ≥ 60 岁、糖尿病、肝胆疾病、机械通气、留置导管和入住 ICU 共 6 个因素, 在 CR-hvKP 组和 CR-cKP 组之间的差异均有统计学意义 (χ^2 或 Fisher = 4.973 ~ 19.377, 均 $P < 0.05$)。经多因素 logistic 回归分析, 糖尿病 (OR=10.947, 95%CI: 1.751 ~ 68.424, $P=0.010$)、入住 ICU (OR=16.012, 95%CI: 2.589 ~ 99.036, $P=0.003$) 是 CR-hvKP 感染的独立危险因素。**结论** 该院 CR-KP 检出总体上呈逐年上升趋势, 携带 bla_{KPC}, bla_{NDM} 是 CR-KP 的主要耐药机制, 糖尿病、入住 ICU 是 CR-hvKP 感染的重要危险因素。

关键词: 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 耐药; 高毒力; 危险因素; 头孢他啶-阿维巴坦

中图分类号: R378.996; R446.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 04-143-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.04.028

Study on the Clinical Characteristics of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and Its Resistance Mechanisms

ZHENG Mao^a, CHEN Zong-yao^a, WANG Deng-chao^a, ZOU Yu^b

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Blood Transfusion, People's Hospital of Deyang City, Sichuan Deyang 618000, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical characteristics and resistance mechanisms of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CR-KP) infection, and analyze the risk factors of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (CR-hvKP) infection. **Methods** CR-KP isolated from the specimens submitted by inpatients in Deyang People's Hospital from January 2016 to December 2020 were collected, and the trend of CR-KP detection rate were analyzed. The distribution of CR-KP in different departments and different specimen types were compared. At the same time, the resistance of CR-KP to common antibiotics and the carbapenem genes carried by CR-KP were detected. The clinical data of patients with CR-KP infection were collected to compare the risk factors between carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection group (CR-hvKP group) and carbapenem-resistant classic *Klebsiella pneumoniae* (CR-cKP group). **Results** A total of 89 strains of CR-KP were isolated, accounting for 3.47% (89/2 562) of *Klebsiella pneumoniae*, and the detection rate of CR-KP generally increased year by year. CR-KP mainly included 16 strains in ICU (17.98%), 13 strains in Infection Diseases Department (14.61%), and 13 strains in Oncology Department (14.61%). The main types of specimens were 45 strains in sputum (50.56%), 14 strains in urine (15.73%), and 11 strains in pus (12.36%). CR-KP was resistant to most common antibiotics, but the resistance rate to ceftazidime-avibatan or colistin was low. The detection rate of carbapenemase genes in CR-KP was 78.65% (70/89), mainly bla_{KPC} and bla_{NDM}. There were six factors including age ≥ 60 years old, diabetes mellitus, hepatobiliary disease, mechanical ventilation, indwelling catheter and admission to ICU, which were statistically different between CR-hvKP group and CR-cKP group (χ^2 or Fisher=4.973 ~ 19.377,

基金项目: 德阳市科技计划重点研发项目 (NO.2020SZZ087): 肺炎克雷伯菌高毒力株对碳青霉烯类抗生素耐药的机制及同源性研究。

作者简介: 郑茂 (1989-), 男, 硕士, 主管检验师, 研究方向: 临床微生物与感染, E-mail: zhengmao322@163.com。

通讯作者: 邹玉, E-mail: 676091264@qq.com。

all $P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that diabetes mellitus (OR=10.947, 95%CI: 1.751 ~ 68.424, $P=0.010$) and admission to ICU (OR=16.012, 95%CI: 2.589 ~ 99.036, $P=0.003$) were independent risk factors for CR-hvKP infection. **Conclusion** The detection of CR-KP in the hospital was generally increasing year by year. Carrying bla_{KPC} or bla_{NDM} is the main resistance mechanisms of CR-KP. Diabetes mellitus and admission to ICU were important risk factors for CR-hvKP infection.

Keywords: carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; resistance; hypervirulent; risk factors; ceftazidime-avibatan

肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*, KP) 是一种临床常见的条件致病菌, 可定植于人体皮肤、黏膜、肠道等部位, 常引起肺部感染、尿路感染、血流感染等多种疾病, 严重者可危及生命^[1]。碳青霉烯类抗生素抗菌谱广、抗菌活性强, 是目前临床治疗产超广谱 β -内酰胺酶 (extended spectrum β -lactamase, ESBLs)、头孢菌素酶 (cephalosporinase) 等多重耐药菌引起严重感染的一线用药, 由于抗生素选择压力, 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 (carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CR-KP) 检出率呈逐年上升态势, 给临床抗感染治疗带来巨大挑战^[2]。近年来, 汇聚高毒力和高耐药的“超级细菌”-耐碳青霉烯类高毒力肺炎克雷伯菌 (carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, CR-hvKP) 的出现, 并导致多次严重医院内感染事件, 更是引起全球公共卫生的高度关注^[3-4]。全国细菌耐药监测网的数据显示^[5], 肺炎克雷伯菌对亚胺培南、美罗培南的耐药率从2014年的4.8%, 4.5%, 快速上升至2019年的10.5%, 10.9%, 耐药形势十分严峻。本研究旨在分析 CR-KP 感染的临床特征及耐药机制, 以期临床合理使用抗生素提供参考, 更好地防治 CR-KP 感染。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2016年1月~2020年12月从德阳市人民医院住院患者各类临床标本中分离的 CR-KP。菌株入选标准: ①符合美国临床和实验室标准化协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) M100-S30 关于 CR-KP 的判定标准, 即肺炎克雷伯菌对亚胺培南、美罗培南或厄他培南任何一种抗生素耐药; ②同一患者首次分离株。排除标准: ①患者临床资料缺失; ②同一患者重复分离株; ③菌株未能妥善保存。CR-KP 感染患者男性61例, 女性28例, 中位年龄60岁 (26天~93岁), 回顾性调查患者的临床资料, 包括住院号、姓名、性别、年龄、科室、标本类型、基础疾病、侵入性操作、菌株检出前2周抗生素使用情况、是否并发其他细菌感染等。本研究经过医院伦理委员会批准 (批件号 2020-04-016)。

1.2 仪器与试剂 基质辅助激光解析电离飞行时间 (matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS) 质谱仪 (德

国布鲁克公司), VITEK2 Compact 微生物鉴定系统 (法国生物梅里埃公司), ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。细菌药敏测试卡、E-test 药敏纸条 (法国生物梅里埃公司), 琼脂平板 (郑州安图生物公司), 细菌基因组 DNA 提取试剂盒、Talent qPCR PreMix (北京天根公司)。药敏试验质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922, 肺炎克雷伯菌 ATCC700603 (卫生部临床检验中心)。

1.3 方法

1.3.1 细菌分离及药敏试验: 按照《全国临床检验操作规程 (第4版)》要求进行细菌分离培养, 使用 MALDI-TOF-MS 进行菌株鉴定、VITEK2 Compact 进行药敏试验, 头孢他啶-阿维巴坦采用纸片扩散法 (Kirby-Bauer, K-B) 作为补充药敏试验, 依据 CLSI M100-S30 标准判定药敏结果。所有 CR-KP 均采用 E-test 法对亚胺培南、美罗培南的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 进行复核, 确认药敏为碳青霉烯类耐药。

1.3.2 碳青霉烯酶基因及毒力基因检测: 复苏菌株接种于血琼脂平板, 37℃培养 16 ~ 20 h, 次日分离出单个菌落, 按照试剂盒说明书提取 CR-KP 基因组 DNA, 参照文献 [6] 设计引物, 由上海生工公司合成, 引物序列见表1。使用 SYBR Green 染料法进行实时荧光定量 PCR (real-time PCR) 检测常见碳青霉烯酶基因 (bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{OXA-48}) 和毒力基因 (aerobactin)。PCR 反应体系: Talent qPCR PreMix 10 μ l, 正反向引物 (10 μ mol/L) 各 0.6 μ l, cDNA 2 μ l, RNase-free ddH₂O 6.8 μ l。反应条件: 95℃预变性 3 min; 95℃变性 5 s, 60℃退火 10 s, 72℃延伸 32 s, 40 个循环。待 PCR 扩增反应结束后, 调整反应基线至适宜处, 以 $C_t < 35$ 判定基因为阳性表达。

1.3.3 CR-KP 高黏性表型判断: 将 CR-KP 接种于血琼脂平板, 37℃培养 16 ~ 20 h, 用接种环轻柔向上挑起单个菌落, 重复 2 次, 若挑起的黏液丝长度 ≥ 5 mm, 即拉丝试验阳性, 称菌株为高黏性表型。

1.3.4 CR-KP 高毒力株筛选: 参照文献 [7-8] 将毒力基因 (aerobactin) 和拉丝试验同时阳性, 作为判断高毒力肺炎克雷伯菌 (hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP) 的标志, 从 CR-KP 中筛选出高毒力株, 即 CR-hvKP。

表1 real-time PCR 引物序列表

目标基因	引物序列 (5' → 3')	
bla _{KPC}	F: CCACTGGGCGCGCACCTATT	R: TGTTAGGCGCCCGGTGTAG
bla _{NDM}	F: CAACTTTGGCCCGCTCAAGG	R: GCAGCCACCAAAAGCGATGT
bla _{IMP}	F: TGACGCAAATDTAGAAGCTTGCC	R: CRTCTCCARCTTCACTGTGAC
bla _{VIM}	F: CGAAAAACACAGCGGCMCTTCT	R: GTGGAGACTGCACGCGTTAC
bla _{OXA-48}	F: CTGGTGGGTYGGTTGGGTTGA	R: GCAGCCCTAAACCATCCGATGT
aerobaction	F: GCATAGGCGGATACGAACAT	R: CACAGGGCAATTGCTTACCT

1.4 统计学分析 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析、WHONTE5.6 软件进行药敏分析。计数资料以例数或构成比表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 危险因素采用 logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CR-KP 检出变化趋势 2016 ~ 2020 年总计分离出 2 562 株肺炎克雷伯菌, 其中 89 株 CR-KP 占比 3.47%。历年检出的 CR-KP 株数分别为 7, 13, 22, 17 和 30, 在肺炎克雷伯菌中占比分别为 1.59%, 2.64%, 3.58%, 3.78% 和 4.87%, 总体上呈逐年上升趋势。

2.2 CR-KP 来源科室及标本类型分布 见表 2。CR-KP 主要来源于 ICU (17.98%, 16/89)、感染科 (14.61%, 13/89)、肿瘤科 (14.61%, 13/89); 标本类型主要为痰液 (50.56%, 45/89)、尿液 (15.73%, 14/89)、脓液 (12.36%, 11/89)。

表2 CR-KP 来源科室及标本类型分布 (n=89)

来源科室	n	构成比 (%)	标本类型	n	构成比 (%)
ICU	16	17.98	痰液	45	50.56
感染科	13	14.61	尿液	14	15.73
肿瘤科	13	14.61	脓液	11	12.36
儿科	12	13.48	分泌物	9	10.11
泌尿外科	8	8.99	血液	5	5.62
心血管内科	7	7.87	胆汁	3	3.37
其他科室	20	22.47	脑脊液	2	2.25

2.3 CR-KP 对常用抗生素的药敏情况 见表 3。CR-KP 对青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、单环类等抗生素普遍耐药, 耐药率均 >70%。CR-KP 对氨基糖苷类阿米卡星、庆大霉素耐药率相对较低, 分别为 28.54%, 39.33%。CR-KP 对新型 β 内酰胺类复合制剂头孢他啶 - 阿维巴坦和脂肽类黏菌素耐药率低, 分别为 14.61%, 7.87%。

2.4 CR-KP 碳青霉烯酶基因携带情况 总计有 70 株 CR-KP 检出碳青霉烯酶基因阳性表达, 检出率为 78.65% (70/89), 包括 56 株携带 bla_{KPC}, 10 株

携带 bla_{NDM}, 3 株携带 bla_{IMP} 和 2 株携带 bla_{VIM}, 其中 1 株同时携带 bla_{KPC} 和 bla_{NDM}。本研究未检出 bla_{OXA-48} 阳性表达。

表3 CR-KP 对常用抗生素的药敏情况 [n (%)]

抗生素	耐药	中介	敏感
氨苄西林	89 (100.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
氨苄西林 - 舒巴坦	77 (86.52)	1 (1.12)	11 (12.36)
哌拉西林	83 (93.26)	3 (3.37)	3 (3.37)
哌拉西林 - 他唑巴坦	79 (88.76)	2 (2.25)	8 (8.99)
头孢唑林	82 (92.13)	0 (0.00)	7 (7.87)
头孢吡肟	76 (85.39)	-	13 (14.61)
头孢噻肟	77 (86.52)	1 (1.12)	11 (12.36)
头孢他啶	78 (87.64)	2 (2.25)	9 (10.11)
阿米卡星	23 (25.84)	0 (0.00)	66 (74.16)
庆大霉素	35 (39.33)	1 (1.12)	53 (59.55)
左氧氟沙星	65 (73.04)	1 (1.12)	23 (25.84)
环丙沙星	66 (74.16)	2 (2.25)	21 (23.60)
氯霉素	47 (52.81)	0 (0.00)	42 (47.19)
氨基糖	74 (83.15)	1 (1.12)	14 (15.73)
复方新诺明	57 (64.04)	-	32 (35.96)
四环素	48 (53.93)	0 (0.00)	41 (46.07)
亚胺培南	79 (88.76)	2 (2.25)	8 (8.99)
美罗培南	73 (82.02)	3 (3.37)	13 (14.61)
黏菌素	7 (7.87)	82 (92.13)	-
头孢他啶 - 阿维巴坦*	13 (14.61)	-	76 (85.39)

注: - 表示无 CLSI 药敏折点, * 表示 K-B 法药敏结果。

2.5 CR-KP 中高毒力株检出情况及感染危险因素比较 见表 4。从 CR-KP 中筛选出 16 株 CR-hvKP (17.98%, 16/89), 将 CR-KP 感染患者分为高毒力株感染组 (CR-hvKP 组) 和非高毒力株感染组 (CR-cKP 组)。单因素分析表明, 年龄 ≥ 60 岁、糖尿病、肝胆疾病、机械通气、留置导管、入住 ICU 等共 6 个因素, 在 CR-hvKP 组和 CR-cKP 组之间的差异均有统计学意义 (χ^2 或 Fisher=4.973 ~ 19.377, 均 $P < 0.05$)。

表4 CR-hvKP组和CR-cKP组的危险因素比较[n(%)]

类别	CR-hvKP组(n=16)	CR-cKP组(n=73)	χ^2 /Fisher	P
性别	男性	49(67.12)	0.378	0.767
年龄	≥60岁	32(43.84)	7.349	0.011
基础疾病	高血压	26(35.62)	0.662	0.563
	糖尿病	10(13.70)	5.042	0.036
	恶性肿瘤	14(19.18)	0.397	0.726
	肝胆疾病	12(16.44)	5.830	0.037
	肺部疾病	16(21.92)	0.721	0.509
	肾脏疾病	7(9.59)	0.179	1.000
侵入性操作	机械通气	20(27.40)	4.973	0.038
	留置导管	31(42.47)	5.563	0.026
菌株检出前2周抗生素使用	碳青霉烯类	20(27.40)	0.096	0.765
	头孢菌素类	46(63.01)	0.931	0.401
入住ICU	9(56.25)	7(9.59)	19.377	0.000
并发其它细菌感染	3(18.75)	8(10.96)	0.735	0.409

2.6 CR-hvKP感染的多因素logistic回归分析 见表5。将2.5中差异有统计学意义的6个变量进一步纳入多因素logistic回归分析,结果显示在CR-KP感染患者中,糖尿病(OR=10.947, 95%CI: 1.751 ~ 68.424, $P=0.010$)、入住ICU(OR=16.012, 95%CI: 2.589 ~ 99.036, $P=0.003$)是CR-hvKP感染的独立危险因素。

表5 CR-hvKP感染的多因素logistic回归分析

危险因素	OR	95%CI	P
年龄≥60岁	1.665	0.282 ~ 9.843	0.574
机械通气	1.868	0.242 ~ 14.395	0.549
留置导管	0.463	0.049 ~ 4.369	0.501
糖尿病	10.947	1.751 ~ 68.424	0.010
肝胆疾病	4.240	0.877 ~ 20.491	0.072
入住ICU	16.012	2.589 ~ 99.036	0.003

3 讨论

肺炎克雷伯菌是中国临床分离率常居第二位的革兰阴性菌,也是医院内感染的重要病原菌,其耐药日益严重,尤其是CR-KP感染不断涌现,使得临床治疗面临巨大困境^[9]。研究显示患者感染CR-KP后通常造成治疗失败、住院时间延长、死亡率升高,特别是与血流感染、入住ICU或接受器官移植相关的死亡率明显升高^[10]。因此,CR-KP长期以来都是医院内细菌耐药监测的重点。

本研究中CR-KP在肺炎克雷伯菌中占比呈逐年上升趋势,2020年达到4.87%,纵然该数据尚低于全国水平(10.9%),但仍明显高于许多省份,如山西、广西、海南等^[9],故需高度警惕肺炎克雷伯菌的泛耐药传播。CR-KP首要来源于ICU,这与诸多因素有关。ICU患者常具有多种基础疾病、

免疫力低下、住院时间长,加之大量广谱抗生素的使用,更是增加了CR-KP感染的机会。LI等^[11]报道的一项长达4年追踪研究证实,通过综合的感染预防及控制措施,可以使ICU获得性CR-KP定植或感染显著减少。因此,加强对重症患者的病原微生物送检,能尽早发现CR-KP感染并进行相应治疗,降低并发症发生。另外,儿科检出的CR-KP占比高达13.48%,且在新生儿中更常见,但婴幼儿生长发育尚不完善,药物使用禁忌多,造成可选的抗生素种类极少。邓文喻等^[12]报道2015~2018年广东省某妇幼保健院婴幼儿呼吸道感染分离的肺炎克雷伯菌,对亚胺培南的耐药率从4.35%上升至19.15%,增长趋势十分明显,这说明减少儿科患者的广谱抗生素使用率已十分必要,或有助于降低其分离的肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类的耐药性。

本研究发现CR-KP对氨基糖苷类耐药率相对较低,对头孢他啶-阿维巴坦、黏菌素耐药率则更低。临床治疗CR-KP感染时,可经验性优选庆大霉素、阿米卡星、头孢他啶-阿维巴坦等药物,或根据药敏结果合理选用抗生素。SHIELDS等^[13]报道对于CR-KP引起的菌血症,氨基糖苷类尤其是庆大霉素,具有不错的抗菌效果。然而,由于氨基糖苷类具有较明显的耳毒性、肾毒性等不良反应,儿科患者应用受限。尽管CR-KP对黏菌素耐药率低,但临床和PK-PD数据证实黏菌素临床疗效有限,其应与一个或多个其他抗生素联合使用。食品药品监督管理局(food and drug administration, FDA)于2015年批准头孢他啶-阿维巴坦用于治疗泌尿系统和腹腔感染革兰阴性杆菌的患者,CLSI M100亦给出其参考折点,这为多重耐药菌感染提供了治疗依据。体外研究证实头孢他啶-阿维巴坦对携带bla_{KPC}的

碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)具有较强抗菌活性,对携带 bla_{NDM} , bla_{IMP} 的CRE抗菌活性较弱^[14]。另外,对头孢他啶、美罗培南和黏菌素耐药,以及对多种药物联合应用也耐药的肠杆菌,头孢他啶-阿维巴坦仍然具有高度的抗菌活性^[15]。周琴等^[16]对120株CR-KP进行抗菌分析证实头孢他啶-阿维巴坦的耐药率仅为16.67%,与本研究结果接近。由此可见,头孢他啶-阿维巴坦有望成为将来治疗CR-KP感染的一线用药。

碳青霉烯酶按照Ambler分类法则,可分为A, B, D三类。A类为丝氨酸碳青霉烯酶,编码基因包括 bla_{KPC} , bla_{SME} 等,以 bla_{KPC} 流行最常见、分布最广泛;B类为金属 β -内酰胺酶,编码基因包括 bla_{NDM} , bla_{IMP} , bla_{VIM} 等,其中 bla_{NDM} 自2009年印度首次发现后,现已在全球广泛播散;D类为苯唑西林酶,对碳青霉烯酶水解活性较低,编码基因主要有 $\text{bla}_{\text{OXA-48}}$ ^[17]。本研究中超过3/4的CR-KP检出碳青霉烯酶基因阳性,主要为 bla_{KPC} , bla_{NDM} ,表明KPC酶、NDM酶是该院CR-KP所流行的主要碳青霉烯酶,这与ZHANG等^[18-19]报道的全国调查数据一致。虽然KPC酶是CR-KP最常见的碳青霉烯酶,所幸该类酶仍然可以被多种新型复合制剂所抑制,包括亚胺培南-瑞来巴坦、美罗培南-维博巴坦和头孢他啶-阿维巴坦等^[20]。

hvKP是肺炎克雷伯菌的新变种,携带多种毒力基因,致病力强,能引起肝脓肿、眼内炎、脑膜炎等侵袭性感染,其在平板上生长菌落常呈高黏液性,可通过拉丝试验验证,但目前仍缺乏有效的表型确证试验^[21]。铁载体是细菌在宿主体内生长繁殖不可或缺的条件, RUSSO等^[22-23]报道aerobactin是hvKP最重要的铁载体,也是介导毒力的关键因子。既往研究常将携带aerobactin基因的肺炎克雷伯菌定义为hvKP^[7,24],故本研究以aerobactin基因和拉丝试验同时阳性,从CR-KP中筛选出CR-hvKP。以往多重耐药菌几乎都不是高毒力,但CR-hvKP兼具高毒力和高耐药表型,俨然是一种“超级细菌”,对于重症患者而言很可能是致命的。研究显示CR-hvKP感染临床治愈率低,传播性强,明确相关危险因素是做好预防控制措施的关键^[25]。本研究发现在CR-KP感染患者中,糖尿病、入住ICU是CR-hvKP感染的重要危险因素。中性粒细胞胞外捕获网(NETs)能够以非共价形式结合多种抗菌成分,捕获和杀灭病原微生物,是hvKP主要的抗菌防御机制。JIN等^[26]报道糖尿病患者的NETs结构表面存在损伤,而这种NETs杀菌缺陷很可能是导致糖尿病患者易感CR-hvKP的机制。ICU

患者大都病情较重,接受侵入性操作多,这无疑增加了感染的机会,故CR-hvKP引起的严重院内感染也常集中发生在ICU^[3-4,27]。CR-hvKP感染并非无药可用,YU等^[28]报道头孢他啶-阿维巴坦对其依然具有较强抗菌活性($\text{MIC}_{90} \leq 1 \mu\text{g/ml}$),这可能是治疗CR-hvKP感染的理想选择。

综上所述,细菌耐药已成为威胁公共卫生的世界性难题,尤以CR-KP呈全球流行趋势颇为严峻。当前形势下,多模式、多学科感染控制策略,规范化抗感染治疗,严格的抗菌药物管理,对遏制CR-KP的传播至关重要。

参考文献:

- [1] MARTIN R M, BACHMAN M. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 4.
- [2] ZHANG Yawei, WANG Qi, YIN Yuyao, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections: report from the China CRE network[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, 62(2): e01882-17.
- [3] GU Danxia, DONG Ning, ZHENG Zhiwei, et al. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2018, 18(1): 37-46.
- [4] ZHAO Yajie, ZHANG Xiucui, TORRES V V L, et al. An outbreak of carbapenem-resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit of a major teaching hospital in Wenzhou, China[J]. *Front Public Health*, 2019, 7: 229.
- [5] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014 ~ 2019 年细菌耐药性监测报告 [J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(1): 15-30.
- [6] China Antimicrobial Resistance Surveillance System. Antimicrobial resistance of bacteria: surveillance report from China Antimicrobial Resistance Surveillance System in 2014 ~ 2019 [J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2021, 20(1): 15-30.
- [7] MENTASTI M, PRIME K, SANDS K, et al. Rapid detection of IMP, NDM, VIM, KPC and OXA-48-like carbapenemases from *Enterobacteriales* and Gram-negative non-fermenter bacteria by real-time PCR and melt-curve analysis[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2019, 38(11): 2029-2036.
- [8] ZHANG Yawei, ZHAO Chunjiang, WANG Qi, et al. High prevalence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection in China: Geographic distribution, clinical characteristics, and antimicrobial resistance[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2016, 60(10): 6115-6120.
- [9] RUSSO T, OLSON R, FANG Chitai, et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae* [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2018, 56(9): e00776-18.

- [9] 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.
- [10] XU Liangfei, SUN Xiaoxi, MA Xiaoling. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2017, 16(1): 18.
- [11] LI Meiling, WANG Xiaoli, WANG Jiahui, et al. Infection-prevention and control interventions to reduce colonisation and infection of intensive care unit-acquired carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a 4-year quasi-experimental before-and-after study [J]. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2019, 8(1): 8.
- [12] 邓文喻, 陈国洋, 麦荣嘉, 等. 婴幼儿肺泡灌洗液中肺炎克雷伯菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药变迁 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(1): 75-78. DENG Wenyu, CHEN Guoyang, MAI Rongjia, et al. Changes of resistance of *Klebsiella pneumoniae* to beta-lactam antibiotics in alveolar lavage fluid of infants [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(1): 75-78.
- [13] SHIELDS R K, CLANCY C J, PRESS E G, et al. Aminoglycosides for treatment of bacteremia due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2016, 60(5): 3187-3192.
- [14] 张敬霞, 贾天野, 张树永, 等. 头孢他啶 / 阿维巴坦对耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的体外抗菌活性研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(9): 1109-1116. ZHANG Jingxia, JIA Tianye, ZHANG Shuyong, et al. Study on in vitro antimicrobial activities of ceftazidime/avibactam to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2018, 43(9): 1109-1116.
- [15] KAZMIERCZAK K M, DE JONGE B, STONE G G, et al. In vitro activity of ceftazidime/avibactam against isolates of *Enterobacteriaceae* collected in European countries: INFORM global surveillance 2012-15 [J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2018, 73(10): 2782-2788.
- [16] 周琴, 杨向贵, 王丹, 等. 头孢他啶 / 阿维巴坦对耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的体外抗菌活性分析 [J]. 华西医学, 2020, 35(8): 918-923. ZHOU Qin, YANG Xianggui, WANG Dan, et al. Analysis of antibacterial activity of ceftazidime/avibactam against carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in vitro [J]. West China Medical Journal, 2020, 35(8): 918-923.
- [17] HANSEN G T. Continuous evolution: perspective on the epidemiology of carbapenemase resistance among enterobacterales and other Gram-Negative bacteria [J]. Infectious Diseases and Therapy, 2021, 10(1): 75-92.
- [18] ZHANG Rong, LIU Lizhang, ZHOU Hongwei, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China [J]. EBioMedicine, 2017, 19: 98-106.
- [19] 王青, 李耘, 郑波. 中国 2017 ~ 2018 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌药物敏感性及耐药基因分析 [J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(5): 437-442. WANG Qing, LI Yun, ZHENG Bo. Antimicrobial susceptibility and resistance genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China from 2017 to 2018 [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(5): 437-442.
- [20] VENA A, CASTALDO N, BASSETTI M. The role of new β -lactamase inhibitors in gram-negative infections [J]. Current Opinion in Infectious Diseases, 2019, 32(6): 638-646.
- [21] CHOBY J E, HOWARD-ANDERSON J, WEISS D S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* - clinical and molecular perspectives [J]. Journal of Internal Medicine, 2020, 287(3): 283-300.
- [22] 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]. Infection and Immunity, 2014, 82(6): 2356-2367.
- [23] RUSSO T A, OLSON R, MACDONALD U, et al. Aerobactin, but not yersiniabactin, salmochelin, or enterobactin, enables the growth/survival of hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* Ex vivo and in vivo [J]. Infection and Immunity, 2015, 83(8): 3325-3333.
- [24] LIU Chao, GUO Jun. Characteristics of ventilator-associated pneumonia due to hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* genotype in genetic background for the elderly in two tertiary hospitals in China [J]. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2018, 7(1): 95.
- [25] 贾艳增, 马玉兰, 陈莹, 等. 碳青霉烯耐药高毒力肺炎克雷伯菌的实验室研究及与临床转归相关危险因素分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(1): 112-115. JIA Yanzeng, MA Yulan, CHEN Ying, et al. Laboratory study and analysis of risk factors associated with clinical outcomes of hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(1): 112-115.
- [26] JIN Longyang, LIU Yudong, JING Chendi, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs)-mediated killing of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (CR-hvKP) are impaired in patients with diabetes mellitus [J]. Virulence, 2020, 11(1): 1122-1130.
- [27] ZENG Lingyi, YANG Chengru, ZHANG Jisheng, et al. An outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit of a major teaching hospital in chongqing, china [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 656070.
- [28] YU Fangyou, LÜ Jingnan, NIU Siqiang, et al. In vitro activity of ceftazidime-avibactam against carbapenem-resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolates [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2018, 62(8): e01031-18.

收稿日期: 2021-10-19

修回日期: 2022-01-16