

# 摘要

## 目的

1.了解 2021 年河南省肠杆菌目细菌的药敏情况及省内各区域耐药特点，为临床合理利用抗菌药物提供科学依据。

2.了解 2021 年河南省部分医院耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌对临床常见抗菌药物及头孢他啶/阿维巴坦的药敏情况，为临床合理选择抗菌药物提供科学依据。

3.对河南省内耐头孢他啶/阿维巴坦肠杆菌目细菌的流行病学进行研究，为防止耐药株传播及临床治疗提供依据。

## 方法

1.对 2021 年来自河南省内不同城市的 98 所医院的肠杆菌目细菌采用 WHONET 5.6 软件，分析菌株基础情况、耐药情况和耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌的检出情况，分析河南省各区域大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类、多黏菌素、替加环素的耐药率；分析河南省二、三级医院肠杆菌目细菌对碳青霉烯类、多黏菌素、替加环素的耐药率；统计分析使用 SPSS 26.0 软件，河南省不同地区及二三级医院的耐药情况比较采用卡方检验，以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2.收集来自河南省内 12 所医院 2021 年 1 月-2021 年 12 月的耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌株 284 株，对收集的菌株的临床资料及菌株分布进行分析，使用微量肉汤稀释法测定 12 种临床常用抗菌药物的最低抑菌浓度。

3.对收集的 29 株耐头孢他啶/阿维巴坦肠杆菌目细菌采用碳青霉烯酶抑制剂增强实验初步筛选检测丝氨酸酶和金属酶；采用酶免疫层析技术快速检测和聚合酶链式反应检测肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase,KPC)、新德里金属- $\beta$ -内酰胺酶 (New Delhi metal-beta-lactamase,NDM)、Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase(VIM)、Imipenemase(IMP)、oxacillinase-48(OXA-48)共 5 种碳青霉烯酶。

## 结果

1.2021 年河南省 98 所医院共检出肠杆菌目细菌 58229 株，其中门急诊占 4.6% (2686/58229)，住院占 95.4%(55543/58229)；主要分离标本来源为呼吸道(38.3%，

22302/58229)、尿液(16.9%, 9841/58229)。肠杆菌目细菌对青霉素类和头孢菌素类耐药率较高,但对碳青霉烯类、替加环素和多粘菌素的耐药率较低;河南省耐碳青霉烯肠杆菌目细菌(Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*,CRE)的检出率为10.3%(5994/58229),其中耐碳青霉烯类大肠埃希菌(Carbapenem-resistant *Escherichia coli*,CREC)与耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*,CRKP)检出率分别为1.9%(488/25164)和20.9%(3999/19102),其他耐碳青霉烯肠杆菌目细菌的检出率较低;豫东地区CREC的检出率最高(3.6%, 77/2134),豫南地区最低(1.1%, 70/6343);CRKP的检出率豫中地区最高(22.8%, 1122/4921),豫东地区最低(14.0%, 261/1864),不同地区的检出率有显著性差异( $P<0.05$ )。肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物和替加环素的耐药率三级医院显著高于二级医院( $P<0.05$ ),但对多粘菌素的耐药率低于二级医院( $P<0.001$ );大肠埃希菌对替加环素的耐药率二、三级医院无明显差异,但大肠埃希菌对碳青霉烯类和多粘菌素的耐药率二级医院显著高于三级医院( $P<0.05$ )。

2.头孢他啶/阿维巴坦对CRKP和CREC的抗菌活性较高,其50% Minimal inhibitory concentration (MIC<sub>50</sub>)、90% Minimal inhibitory concentration (MIC<sub>90</sub>)分别为:1/4 $\mu$ g/mL、32/4 $\mu$ g/mL和1/4 $\mu$ g/mL、128/4 $\mu$ g/mL;对替加环素和多粘菌素B的耐药率较低,未检出对替加环素和多粘菌素B耐药的CREC;对 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物、头孢菌素类、氨基糖苷类等抗菌药物的耐药性较高,其中对 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的耐药率高达100%。

3.河南省耐头孢他啶/阿维巴坦(Ceftazidime/Avibactam,CAZ/AVI)的肠杆菌目细菌以产NDM酶为主(75.9%,22/29),基因分型主要为 $bla_{NDM-1}$ ,部分肺炎克雷伯菌可能由于 $bla_{KPC-2}$ 的高表达从而对CAZ/AVI耐药。

## 结论

1.河南省菌株标本主要反映住院患者的感染情况,菌株标本以呼吸道、尿液来源为主,提示临床医生在经验用药时除考虑病人的感染类型和采取措施共识要求外,还需结合参考当地耐药监测数据。

2.河南省临床检出肠杆菌目细菌耐药问题严重,尤以耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌问题最为突出,其检出率高于同年全国水平,且省内不同地区和不同级别医院差异显著。提示有关部门应联合院感加强对抗菌药物的管理,严格把关经验用

药准则。

3.河南省内 CRE 对头孢他啶/阿维巴坦、替加环素、多黏菌素 B 的敏感性高，提示临床用药时应谨慎选择相关药物，同时警惕耐药菌的出现。

4.肺炎克雷伯菌和大肠埃菌对 CAZ/AVI 的耐药率较低，基因测序显示，产金属酶是河南省肠杆菌目细菌对 CAZ/AVI 耐药的主要原因，部分肺炎克雷伯菌可能由于 *bla<sub>KPC-2</sub>* 的高表达从而对 CAZ/AVI 耐药；CRE 的酶型及基因检测对及时指导临床经验用药有必要性。

**关键词：**肠杆菌目细菌，碳青霉烯类耐药，头孢他啶/阿维巴坦，碳青霉烯酶

# 目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	IV
目 录.....	VIII
中英文缩略词对照表.....	X
引 言.....	1
第一部分 河南省肠杆菌目细菌的耐药情况及分布特点.....	3
1 材料与方法.....	3
1.1 菌株来源.....	3
1.2 材料与方法.....	3
1.3 统计方法.....	4
2 结果.....	5
2.1 菌株基础情况.....	5
2.2 河南省肠杆菌目细菌耐药情况.....	6
2.3 河南省 CRE 的检出情况.....	8
2.4 河南省不同地区大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌的耐药率分析.....	8
2.5 河南省二、三级医院肠杆菌目细菌耐药率分析.....	9
3 讨论.....	10
第二部分 CRE 的临床资料及药敏分析.....	12
1 材料与方法.....	12
1.1 菌株来源.....	12
1.2 菌株培养.....	12
1.3 菌株鉴定及筛选.....	12
1.4 细菌药敏试验.....	12
2 结果.....	13

2.1 临床资料及菌株分布 .....	13
2.2 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌对 12 种抗菌药物药敏情况 .....	15
3 讨论 .....	19
第三部分 耐头孢他啶/阿维巴坦的 CRE 耐药特点及耐药机制 .....	21
1 材料和方法 .....	21
1.1 菌株来源 .....	21
1.2 质控菌株 .....	21
1.3 试剂与器材 .....	21
1.4 药物敏感性试验 .....	22
1.5 耐碳青霉烯酶检测 .....	22
1.6 碳青霉烯酶耐药基因检测 .....	22
1.7 统计学方法 .....	24
2 结果 .....	24
2.1 CAZ/AVI 耐药的 CRE 菌株药敏情况 .....	24
2.2 CAZ/AVI 耐药的 CRE 菌株耐药基因情况 .....	27
2.3 CAZ/AVI 敏感与耐药菌株 <i>bla<sub>kpc-2</sub></i> 基因表达对比 .....	30
3 讨论 .....	32
结 论 .....	35
参考文献 .....	36
综 述 .....	40
参考文献 .....	45
致 谢 .....	53
攻读学术期间所发表的学术论文目录 .....	55

## 中英文缩略词对照表

缩写	英文全称	中文名
CHINET	China Antimicrobial Surveillance Network	中国细菌耐药性监测
CRKP	Carbapenem-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i>	耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	美国疾病与预防控制中心
CARSS	China Antimicrobial Resistance Surveillance	中国国家细菌耐药监测网
CRE	Carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i>	耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌
CAZ/AVI	Ceftazidime avibactam	头孢他啶/阿维巴坦
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute	美国临床和试验室标准化协会
FDA	Food and Drug Administration	美国食品药品监督管理局
EUCAST	The European Committee on Antimicrobial	欧洲抗菌药物敏感性试验
MIC	Minimal inhibitory concentration	最低抑菌浓度
CREC	Carbapenem-resistant <i>Escherichia coli</i>	耐碳青霉烯类大肠埃希菌
ICU	Intensive Care Unit	重症监护病房
TZP	Piperacillin tazobactam	哌拉西林/他唑巴坦
ATM	Aztreonam	氨曲南
MEM	Meropenem	美罗培南
IPM	Imipenem	亚胺培南
SXT	Sulfamethoxazole	复方新诺明
AMK	Amikacin	阿米卡星
TGC	Tigecycline	替加环素
LEV	Levofloxacin	左氧氟沙星
CAZ	Ceftazidime	头孢他啶
CHL	Chloramphenicol	氯霉素
PB	Ploymyxin B	多粘菌素 B
MIC50	50%Minimal inhibitory concentration	50%最低抑菌浓度
MIC90	90%Minimal inhibitory concentration	90%最低抑菌浓度
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
KPN	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	肺炎克雷伯菌
ECO	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌
ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>	阴沟肠杆菌

## 引言

肠杆菌目细菌是临床上常见的致感染的一类革兰氏阴性杆菌,可导致呼吸系统、循环系统、泌尿系统等器官和组织的多系统感染。中国细菌耐药性监测网(China Antimicrobial Surveillance Network,CHINET)数据显示<sup>[1]</sup>,2014年之后的七年细菌监测临床感染的分离菌株中,以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的占比较高,为分离菌的前两位。从抗菌药物的首次使用至今已有近百年时间,近年来抗菌药物的广泛使用加速了耐药病原体的进化,在抗菌药的选择作用下,病原体的耐药性日趋严重,毫无疑问,临床上广泛使用抗菌药物造成了一个巨大且日益严重的耐药问题,其中,耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌的出现引起了国内外研究者及临床医生的密切关注。耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*,CRE)被美国疾病与预防控制中心(Centers for Disease Control and Prevention,CDC)列为影响人类健康的微生物威胁之一<sup>[2]</sup>。近年来,CRE在中国的耐药问题突出,耐药形势不容乐观,据CHINET和中国国家细菌耐药监测网(China Antimicrobial Resistance Surveillance,CARSS)的数据显示CRE检出率逐年上升,且河南省CRE检出率位居全国前列,以肺炎克雷伯菌为例,2016-2021年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*,CRKP)的检出率位居全国首位,且均高于全国平均水平<sup>[1, 3, 4]</sup>。从美国各州的耐药监测来看,CRKP的检出率在0-30%之间,且有逐年下降的趋势,中国和美国之间存在明显的耐药差异<sup>[5]</sup>。CRKP的流行率在美国有下降趋势,但却在中国保持上升趋势,因此了解国内地区的肠杆菌目细菌耐药现状迫在眉睫,对细菌耐药及相关耐药机制研究,为临床规范、合理使用抗菌药物提供实验依据。

了解河南省内肠菌目细菌的分布情况可有效掌握临床常见的分离菌株,结合药敏情况,再对其耐药机制进一步研究,可以给临床对抗肠杆菌目细菌感染提供科学的依据。肠杆菌目细菌中,尤以CRE耐药问题最为突出。

针对CRE感染的治疗,在传统抗菌药物的基础上,新型抗菌药物在近年不断上市投入临床使用,其中头孢他啶/阿维巴坦(Ceftazidime avibactam,CAZ/AVI)的问世,给CRE的治疗提供了一个新的选择。然而,随着CAZ/AVI在临床的使

用,相继有报道其耐药菌株的出现,但大多数肠杆菌目细菌对 CAZ/AVI 的耐药率较低 (<2.6%)<sup>[6]</sup>。欧美地区及拉丁美洲报道肠杆菌目细菌对 CAZ/AVI 的耐药率在 1.1-5.3%<sup>[7-10]</sup>。亚太地区,肠杆菌目细菌的耐药率<1.7%,但从中国 2017 年的数据分析,肠杆菌目细菌中,CAZ/AVI 的耐药率为 5.4%,耐药率相对较高<sup>[11]</sup>。目前,河南省内已有学者报道 CAZ/AVI 耐药菌株的出现<sup>[12]</sup>。阐明其耐药机制,以期指导区域内的临床治疗,有着极其重要的意义。

本研究分为三部分,第一部分对河南省 2021 年的肠杆菌目细菌的分布、药敏特点进行分析,并对省内不同地区肠杆菌目细菌的耐药特点进行比较分析;第二部分为更好地了解临床 CRE 的流行病学趋势和特点,收集 2021 年 1 月-2021 年 12 月河南省 16 所医院的 CRE 进行研究,分析耐药情况及耐药特点;第三部分对耐 CAZ/AVI 的 CRE 的机制进行研究,分析其流行病学特征。



## 第一部分 河南省肠杆菌目细菌的耐药情况及分布特点

### 1 材料与方法

#### 1.1 菌株来源

分析 2021 年 1 月-2021 年 12 月来自河南省 98 所医院(其中三级医院 34 所, 二级医院 64 所)的临床分离菌株, 除去同一病人的相同菌株(以首株为准), 共纳入 58229 株肠杆菌目细菌。

#### 1.2 材料与方法

##### 1.2.1 培养基及抗菌药物纸片

(1)培养基: 细菌培养用血琼脂培养基购于安图生物公司; MH 琼脂或 HTM 琼脂培养基购于 OXOID 公司。

(2)药敏纸片: 药敏纸片购置于安图生物公司或 BBL、OXOID 公司产品。

##### 1.2.2 细菌药敏试验

根据美国临床和试验室标准化协会(CLSI) M100-31st Edition 2021 年推荐的药敏试验方法标准进行药敏判读<sup>[13]</sup>。依据美国食品药品监督管理局 (FDA) 文件推荐的标准对替加环素的药敏结果进行判读<sup>[14]</sup>。依据 CLSI 2021 年规定[野生株的最低抑菌浓度 (Minimal inhibitory concentration, MIC)  $\leq 2\mu\text{g/mL}$ , 非野生株的 MIC $\geq 4\mu\text{g/mL}$ ]<sup>[15]</sup>对多黏菌素的药敏结果进行判读。

质控菌株为: 肺炎克雷伯菌 ATCC 700603、大肠埃希菌 ATCC 25922。

采用药敏试验自动化仪器进行药敏实验。

药敏试验操作步骤:

(1) 加样

- ① 去除鉴定/药敏板密封;
- ② 对所测的标本进行编号;
- ③ 配制菌悬液(为 0.5 麦氏单位浊度)为鉴定管;
- ④ 准备药敏管, 加入一滴药敏指示剂;

- ⑤ 将 25 $\mu$ L 菌悬液用移液器加至药敏管中，轻轻震荡使其混匀；
- ⑥ 将加入菌悬液的鉴定管和药敏管分别加入至鉴定/药敏板中；
- ⑦ 密封鉴定/药敏板；
- ⑧ 检查反应孔是否漏加菌悬液。注：于加样后 30 分钟内上机检测。

#### (2) 鉴定/药敏板上机检测

- ① 将鉴定药敏板类型信息及编号输入程序；
- ② 将鉴定/药敏板的条形码信息输入程序；
- ③ 输入鉴定菌的数目；
- ④ 如果只使用药敏板，需同时把细菌名称输入系统，否则仪器报告结果不完整。仪器的配套系统只能在有细菌名称的情况下才能输出 MIC 结果；
- ⑤ 按保存键，存盘。

#### (3) 鉴定/药敏板的上机和取出。

### 1.2.3 特殊耐药菌株定义

CRE 的定义为：对亚胺培南、美罗培南、厄他培南或多利培南任何一种碳青霉烯类耐药者。对于天然对亚胺培南敏感性降低的细菌（如摩根菌属、变形杆菌属和普罗威登菌属等），需参考除亚胺培南外的其他碳青霉烯类抗菌药物的药敏结果。

### 1.2.4 河南省区域划分

河南省内 18 个地市分为五个区域，分别为豫中地区、豫北地区、豫南地区、豫西地区、豫东地区。豫中为：郑州、许昌、漯河三市；豫北为：新乡、焦作、安阳、濮阳、鹤壁五市和济源市；豫南为：驻马店、信阳、南阳三市；豫西为：三门峡、平顶山、洛阳三市；豫东为：周口、商丘、开封三市。

## 1.3 统计方法

数据处理采用 WHONET5.6 软件，数据统计分析采用 SPSS26.0 软件，河南省不同地区及二、三级医院的耐药率比较均采用卡方检验，以 $\alpha=0.05$  为检验水准。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/965040011231012010>