

DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2025.01.02

# 台州地区耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌的基因型和药敏表型分析\*

李嵩嵩<sup>1,2,3</sup>, 王冬莲<sup>1,2,3</sup>, 石庆新<sup>1,3,4</sup>, 余素飞<sup>1,3</sup>, 於青峰<sup>1,2,3</sup>, 蔡莺莺<sup>1,2,3</sup> (1. 浙江省台州医院检验科, 浙江台州 317000; 2. 台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院检验科, 浙江台州 318000; 3. 台州市系统医学与精准诊治重点实验室, 浙江台州 317000; 4. 台州恩泽医疗中心(集团)路桥医院检验科, 浙江台州 318000)

**摘要:**目的 探讨台州地区流行的耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌(CRECC)的碳青霉烯酶耐药基因及其体外药敏分布,为临床有效抗感染治疗提供依据。方法 回顾性分析 2015 年 1 月至 2022 年 11 月送检于台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院、路桥医院的 47 株 CRECC,采用 NG-Test Carba 5 测定碳青霉烯酶型,Carba-R Xpert 检测碳青霉烯酶耐药基因,并检测常见药物体外药敏分布。结果 47 株 CRECC 共检出 27 株产碳青霉烯酶,其中 24 株产新德里金属 β 内酰胺酶(NDM)型,1 株同时产肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(KPC)和 NDM 型,2 株产亚胺培南酶(IMP)型;另有 1 株 CRECC 基因型为 NDM 型而未检出 NDM 酶型。CRECC 对多黏菌素 B 敏感性最高(95.7%),其次为替加环素(93.6%)、磷霉素(61.7%)和头孢他啶/阿维巴坦(40.4%)。产碳青霉烯酶的 CRECC 对多黏菌素 B、磷霉素和氨曲南敏感性高于非产酶株。结论 台州地区 CRECC 菌株以 NDM 型为主,对多黏菌素 B、替加环素和磷霉素敏感性较高。NG-Test Carba 5 不能覆盖部分不产碳青霉烯酶或碳青霉烯酶发生突变的菌株。

**关键词:**阴沟肠杆菌;碳青霉烯类耐药;基因型;酶型

中图分类号:R446

文献标志码:A

## Genotype and drug susceptibility phenotype analysis of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in Taizhou area

Li Haohao<sup>1,2,3</sup>, WANG Donglian<sup>1,2,3</sup>, SHI Qingxin<sup>1,3,4</sup>, YU Sufei<sup>1,3</sup>, YU Qingfeng<sup>1,2,3</sup>, CAI Yingying<sup>1,2,3</sup> (1. Department of Laboratory Medicine, Taizhou Hospital of Zhejiang Province affiliated to Wenzhou Medical University, Taizhou 317000, Zhejiang; 2. Department of Laboratory Medicine, Enze Hospital, Taizhou Enze Medical Center (Group), Taizhou 318000, Zhejiang; 3. Key Laboratory of System Medicine and Precision Diagnosis and Treatment of Taizhou, Taizhou 317000, Zhejiang; 4. Department of Laboratory Medicine, Luqiao Hospital, Taizhou Enze Medical Center (Group), Taizhou 318000, Zhejiang, China)

**Abstract: Objective** To investigate the distribution of carbapenem-resistant genes and their drug susceptibility *in vitro* on carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* (CRECC) in Taizhou area, and provide evidence for effective anti-infective treatment in clinical practice. **Methods** Forty-seven strains of CRECC isolated from Enze Hospital, Taizhou Enze Medical Center (Group) and Luqiao Rehabilitation Hospital during January 2015 and November 2022 were retrospectively analyzed. The enzyme types and resistance genes of carbapenemase were detected by the NG-Test Carba 5 and Carba-R Xpert, respectively, and the susceptibility of CRECC to common drugs was tested *in vitro*. **Results** Among 47 strains of CRECC, 27 were detected to produce carbapenemase, including 24 producing New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) type, 1 producing both *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) and NDM types, and 2 producing imipenemase (IMP) type. One strain belonged to NDM genotype but no NDM enzyme type was detected. The CRECC strains had the highest sensitivity to polymyxin B (95.7%), followed by tigecycline (93.6%), fosfomycin (61.7%), and ceftazidime/avibactam (40.4%). In addition, the CRECC strains producing carbapenemase were more sensitive to polymyxin B, fosfomycin and aztreonam than those without producing carbapenemase. **Conclusion** The CRECC strains in Taizhou area are mainly NDM type, which has high sensitivity to polymyxin B, tigecycline and fosfomycin. NG-Test Carba 5 can not cover some strains that do not produce carbapenemase or carry mutations in carbapenemase.

**Key words:** *Enterobacter cloacae*; carbapenem resistance; genotype; enzyme type

2021 年中国细菌耐药监测网(china surveillance for bacterial resistance, chinet)数据显示,阴沟

肠杆菌占比位于肠杆菌目临床分离菌种的第 3 位,占总分离菌株的 6.1%<sup>[1]</sup>。阴沟肠杆菌是院内感染

\* 基金项目:浙江省医药卫生科技计划(2021KY1204);浙江省医药卫生科技计划(2015KYB437)。

作者简介:李嵩嵩,1993 年生,女,技师,硕士,主要从事临床微生物检验工作。

通信作者:蔡莺莺, E-mail: caiyingying2013@126.com。

的重要病原菌,可引起败血症、呼吸道感染、泌尿系统感染、手术部位感染和新生儿监护室的暴发感染<sup>[2-4]</sup>。碳青霉烯类药物被视为针对多重耐药革兰阴性菌的最后一道防线,然而,耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌(*Carbapenem-resistant Enterobacter cloacae*, CRECC)表现出广泛的耐药性,给临床治疗和感染控制带来极大的挑战<sup>[5-6]</sup>。目前,替加环素、多黏菌素 B、磷霉素和头孢他啶/阿维巴坦是临床实践中治疗耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(*Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*, CRE)感染的最后选择<sup>[7-8]</sup>,但是 CRE 菌株对不同种类抗菌药物的反应不同,如头孢他啶/阿维巴坦对产金属酶的肠杆菌科细菌无效<sup>[9]</sup>。快速检测并报告碳青霉烯酶耐药基因型和酶型有助于指导临床及时且对症地使用抗菌药物,从而改善患者结局<sup>[10-11]</sup>。因此,本研究分析了台州地区临床流行的 CRECC 的碳青霉烯酶基因型和药敏表型,并获得了其对多黏菌素 B、替加环素、头孢他啶/阿维巴坦、磷霉素的药敏结果,以期有助于临床精准的抗感染治疗。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株及临床资料** 回顾性收集 2015 年 1 月至 2022 年 11 月在台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院、路桥医院分离的且经 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪鉴定为 CRECC 47 株,同步收集患者的一般临床资料,剔除相同患者的重复分离株。所有菌株在台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院经基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪(MALDI-TOF MS)鉴定复核,碳青霉烯类耐药结果经美罗培南、亚胺培南 K-B 法复核。碳青霉烯类耐药定义:对任一种碳青霉烯类抗生素耐药,或证实产碳青霉烯酶。

所有入组患者中男性 25 例(占比 53.2%),中位年龄 66(58~75)岁,标本类型以痰液(20 例,42.6%)、分泌物(12 例,25.5%)、尿液(10 例,21.3%)为主,就诊科室以重症医学科(18 例,38.3%)、血液肿瘤科(7 例,14.9%)为主。根据患者入院时就诊的科室不同,分为重症医学科组(18 例,38.3%)和非重症医学科组(29 例,61.7%);以患者年龄 65 岁为界线,分为老年组(24 例,51.1%)与非老年组(23 例,48.9%)。本研究经台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院医学伦理委员会批准(伦理批件号:K20240219),免除患者知情同意。

**1.2 试剂及仪器** 碳青霉烯耐药基因检测试剂盒

(实时荧光 PCR 法, Xpert Carba-R Assay) 购自美国赛沛公司, NG-Test Carba 5 碳青霉烯酶检测试剂盒(胶体金免疫层析法) 购自长沙中生众捷生物技术有限公司, M-H 琼脂培养基购自杭州滨和微生物试剂有限公司, 药敏纸片分别购自英国 Oxoid 公司和温州康泰生物科技有限公司。VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪、基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪(法国生物梅里埃公司), GeneXpert 全自动医用 PCR 分析系统(美国赛沛公司)。铜绿假单胞菌 ATCC27853、大肠埃希菌 ATCC25922 作为质控菌株。

## 1.3 方法

**1.3.1 体外药敏试验** 替加环素、多黏菌素 B 药敏试验采用 E-test 法测定, 头孢他啶/阿维巴坦和磷霉素的药敏试验采用 K-B 法测定。体外药敏试验均按照 CLSI 推荐的操作步骤进行, 挑取 35 °C 培养 16~18 h 后的菌落至无菌管, 调整麦氏浊度(McF)至 0.50~0.63, 均匀涂布至 M-H 琼脂平板, 用无菌镊子取药敏纸片贴于平板表面, 或将 E-test 条垂直插入 M-H 琼脂平板。35 °C 培养 18~24 h 后, 用游标卡尺量取抑菌圈直径(K-B 法)或观察培养基表面水滴状抑菌环, 环尖所指向的浓度值即为检测菌的最低抑菌浓度(E-test 法)。阴沟肠杆菌的 MIC 药敏试验使用 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定仪和革兰阴性细菌药敏卡片 AST-GN334 进行测定。多黏菌素 B 采用欧洲抗菌药物敏感性试验委员会的折点标准(敏感: MIC ≤ 2 μg/mL; 耐药: MIC ≥ 4 μg/mL)。除多黏菌素 B 外, 其余药敏折点参照 2022 年版 CLSI M100 文件中“肠杆菌科”药敏标准定义菌株敏感性。

**1.3.2 碳青霉烯酶检测** 在无菌 EP 管中加入 150 μL 提取缓冲液, 用 10 μL 接种环挑取适量菌落加入至 EP 管中, 振荡混匀后室温静置 5~10 min。用一次性移液管吸取 100 μL 制备好的混合液加入样本孔, 室温静置 15 min 后读取结果。结果判读: 如果仅 C 线区域出现一条红线, 则样本不含所测 5 种碳青霉烯酶或碳青霉烯酶的含量低于检测限, 判读为阴性结果。如果在 C 线区域中出现一条红线并且在 K、O、V、I、N(分别代表 KPC/OXA-48/VIM/IMP/NDM)检测线区域中出现一条或多条红线, 判读为阳性结果, 则样本含有一种或多种碳青霉烯酶。如果 C 线区域未出现红线, 则测试结果无效, 需重新检测。

**1.3.3 碳青霉烯酶的耐药基因检测** 调节菌悬液

浓度至 0.5 麦氏浊度,取 10 μL 菌悬液加入至 5 mL 样本试剂瓶后混匀,吸取 1.7 mL 制备好的样本加入至 Xpert Carba-R Assay 检测试剂盒的样本室中,盖上盒盖后扫描检测盒上的条形码,放入 GeneXpert 全自动医用 PCR 分析系统中检测并观察结果。结果判读:阳性 Ct 临界值为 38。当探针检查质控合格时,IMP/VIM/NDM/KPC/OXA-48 靶标 DNA 经 PCR 扩增后得到的 Ct 值在有效范围内,且荧光终点高于设定的最小值,则报告结果为相应的基因型检测阳性。当样本处理质控和探针检查质控合格时,IMP/VIM/NDM/KPC/OXA-48 靶标 DNA 序列不存在或低于试剂盒检测水平,报告碳青霉烯基因型检测阴性。若除以上两种情况外或仪器报错,则进行重测。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,对数据进行正态性和方差齐性分析,符合正态分布的数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计量资料用两独立样本 *t* 检验,计数资料用例数(百分比)[*n*(%)]表示,率的比较用  $\chi^2$  检验;如不符合正态分

布,数据以中位数(四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,用非参数检验 Mann-Whitney *U* 进行比较。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CRECC 菌株碳青霉烯酶的酶型和基因型检测结果** 从 47 株 CRECC 菌株中共检出 27 株(57.4%)产碳青霉烯酶,其中 24 株单独产 NDM 型,1 株同时产 KPC 和 NDM 型,2 株产 IMP 型;20 株(42.6%)碳青霉烯酶的酶型和基因型检测均为阴性。其中,1 株 CRECC 碳青霉烯酶的基因型为 NDM 型,且未检出 NDM 酶型。所有 47 株 CRECC 均未检出产苯唑西林酶-48(oxacillinase-48-type carbapenemases, OXA)型菌株和产维罗纳整合子编码金属 β 内酰胺酶(Verona integron-encoded metallo-β-lactamase, VIM)型菌株。此外,在老年组和入住 ICU 患者中检出多种碳青霉烯酶的酶型和基因型,两组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 CRECC 菌株碳青霉烯酶的酶型和基因型检测结果[*n*(%)]

分组	株数 ( <i>n</i> )	酶型			<i>P</i> 值	基因型			<i>P</i> 值
		KPC 型	IMP 型	NDM 型		KPC 型	IMP 型	NDM 型	
总体	27	1(2.1)	2(4.2)	24(51.1)		1(2.1)	2(4.2)	25(53.2)	
性别分组	男	1(2.1)	1(2.1)	10(21.3)	0.106	1(2.1)	1(2.1)	10(21.3)	0.053
	女	16	0(0)	1(2.1)		14(29.8)	0(0)	1(2.1)	
年龄分组	老年组	17	0(0)	0(0)	0.029	0(0)	0(0)	17(36.2)	0.013
	非老年组	10	1(2.1)	2(4.2)		8(17.0)	1(2.1)	2(4.2)	
科室分组	ICU	13	0(0)	0(0)	0.022	0(0)	0(0)	13(27.7)	0.039
	非 ICU	14	1(2.1)	2(4.2)		11(23.4)	1(2.1)	2(4.2)	

注:表中未包含 20 株碳青霉烯酶的酶型和基因型检测均为阴性的菌株。

**2.2 CRECC 菌株的药敏试验检测结果** 本次研究中的 CRECC 菌株对第三代头孢菌素、哌拉西林/他唑巴坦耐药率均超过 80%,对头孢哌酮/舒巴坦耐药率达 68.1%,对头孢吡肟、氨曲南、复方磺胺甲噁唑的耐药率分别为 59.6%、53.2%和 40.4%,对喹诺酮类中的左氧氟沙星和环丙沙星耐药率分别为 36.2%和 34.0%。敏感率较高的药物分别为氨基糖苷类的阿米卡星和庆大霉素,其对抗菌药物敏感率分别为 100.0%和 87.2%。

**2.3 产碳青霉烯酶与非产碳青霉烯酶的 CRECC 菌株药敏试验结果比较** 产碳青霉烯酶的 CRECC 菌株几乎对所有药物均表现出更强的耐药性,尤其是 β 内酰胺类的头孢菌素类、碳青霉烯类及其酶抑

制剂复合制剂,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。此外,产碳青霉烯酶 CRECC 对氨曲南的敏感率较非产碳青霉烯酶菌株升高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

**2.4 CRECC 菌株对其他抗菌药物的敏感率** CRECC 菌株对多黏菌素 B 敏感率最高(95.7%),其次为替加环素(93.6%)、磷霉素(61.7%),敏感率最低的药物是头孢他啶/阿维巴坦(40.4%)。产碳青霉烯酶的 CRECC 菌株对头孢他啶/阿维巴坦和替加环素的耐药率升高,尤其是对头孢他啶/阿维巴坦的敏感率降至 3.7%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而对多黏菌素 B 和磷霉素仍保持较高的敏感率,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 2 产碳青霉烯酶和非产碳青霉烯酶 CRECC 菌株的药敏结果 [n(%)]

抗菌药物	总体			产碳青霉烯酶 CRECC			非产碳青霉烯酶 CRECC			P 值
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	
头孢他啶	42(89.4)	0(0)	5(10.6)	27(100.0)	0(0)	0(0)	15(75.0)	0(0)	5(25.0)	0.007
头孢曲松	43(91.5)	0(0)	4(8.5)	27(100.0)	0(0)	0(0)	16(80.0)	0(0)	4(20.0)	0.016
头孢噻肟	39(83.0)	2(4.3)	6(12.8)	27(100.0)	0(0)	0(0)	12(60.0)	2(10.0)	6(30.0)	0.000
头孢吡肟	28(59.6)	6(12.8)	13(27.7)	24(88.9)	2(7.4)	1(3.7)	4(20.0)	4(20.0)	12(60.0)	0.000
头孢哌酮/舒巴坦	32(68.1)	4(8.5)	11(23.4)	25(92.6)	2(7.4)	0(0)	7(35.0)	2(10.0)	11(55.0)	0.000
哌拉西林/他唑巴坦	38(80.9)	2(4.3)	7(14.9)	27(100.0)	0(0)	0(0)	11(55.0)	2(10.0)	7(35.0)	0.000
氨基曲南	25(53.2)	2(4.3)	20(42.6)	12(44.4)	1(3.7)	14(51.9)	13(65.0)	1(5.0)	6(30.0)	0.145
阿米卡星	0(0)	0(0)	47(100.0)	0(0)	0(0)	27(100.0)	0(0)	0(0)	20(100.0)	1.000
庆大霉素	1(2.1)	5(10.6)	41(87.2)	1(3.7)	5(18.5)	21(77.8)	0(0)	0(0)	20(100.0)	0.026
左氧氟沙星	17(36.2)	15(31.9)	15(31.9)	13(48.1)	12(44.4)	2(7.4)	4(20.0)	3(15.0)	13(65.0)	0.001
环丙沙星	16(34.0)	4(8.5)	27(57.4)	11(40.7)	4(14.8)	12(44.4)	5(25.0)	0(0)	15(75.0)	0.076
复方磺胺甲噁唑	19(40.4)	0(0)	28(59.6)	15(55.6)	0(0)	12(44.4)	4(20.0)	0(0)	16(80.0)	0.015
亚胺培南	30(63.8)	14(29.8)	3(6.4)	26(96.3)	1(3.7)	0(0)	4(20.0)	13(65.0)	3(15.0)	0.000
美罗培南	28(59.6)	3(6.4)	16(34.0)	26(96.3)	1(3.7)	0(0)	2(10.0)	2(10.0)	16(80.0)	0.000
厄他培南	33(70.2)	4(8.5)	10(21.3)	27(100.0)	0(0)	0(0)	6(30.0)	4(20.0)	10(50.0)	0.000

注:哌拉西林/他唑巴坦的药敏结果是剂量依赖性敏感,表格中计入中介组。

表 3 CRECC 菌株对其他抗菌药物的药敏结果 [n(%)]

抗菌药物	总体			产碳青霉烯酶 CRECC			非产碳青霉烯酶 CRECC			P 值
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	
替加环素	1(2.1)	2(4.3)	44(93.6)	1(3.7)	2(7.4)	24(88.9)	0(0)	0(0)	20(100.0)	0.128
磷霉素	11(23.4)	7(14.9)	29(61.7)	6(22.2)	3(11.1)	18(66.7)	5(25.0)	4(20.0)	11(55.0)	0.502
多黏菌素 B	2(4.3)	—	45(95.7)	1(3.7)	—	26(96.3)	1(5.0)	—	19(95.0)	0.829
头孢他啶/阿维巴坦	28(59.6)	—	19(40.4)	26(96.3)	—	1(3.7)	2(10.0)	—	18(90.0)	0.000

注:—,无相应的折点范围。

### 3 讨论

阴沟肠杆菌已成为院内感染最常见的致病菌之一,其可引起肺部、泌尿道、血液等多部位的感染。有研究报道 CRE 的分离率已高达 22.4%<sup>[11]</sup>。CRECC 菌株在全球范围内播散,其广泛的耐药性和复杂的耐药机制导致临床治疗困境和院感防控形势严峻<sup>[1-4]</sup>。

本研究结果发现,老年患者和入住 ICU 患者检出更多的碳青霉烯酶和耐药基因,这与之前的报道结果一致<sup>[12]</sup>。分析原因:(1)该类患者往往病情较重,住院时间长,易引起反复感染;(2)多有辅助通气支持,具备易感因素;(3)合并基础疾病多,敏感药物可选择种类少,且长期使用广谱抗菌药物,易诱发菌株的耐药性,产生多重耐药菌株。目前在阴沟肠杆菌中发现的碳青霉烯酶主要是 NDM 型,其次是产 A 类(KPC 型)、B 类(IMP 型、VIM 型)、D 类(OXA-48 型)<sup>[13]</sup>。本研究发现,台州地区 CRECC 菌株携带的碳青霉烯酶耐药基因以 NDM 型最为常见,与济南<sup>[14]</sup>、大连<sup>[15]</sup>、广东<sup>[15]</sup>等地区的报道一致,而江西赣州<sup>[16]</sup>和福建<sup>[17]</sup>等地区的 CRECC 菌株以 IMP 基因为主,表明不同地区流行的 CRECC

菌株携带的碳青霉烯酶耐药基因存在地区差异。

本研究中 CRECC 菌株对多黏菌素 B 敏感率最高,替加环素敏感率次之,这与国内外研究报道相一致<sup>[18-20]</sup>。替加环素和多黏菌素 B 是治疗 CRECC 感染最有效的抗生素,但多黏菌素 B 单药治疗仍有争议。越来越多的革兰阴性菌对多黏菌素 B 表现出异质性耐药,导致其单药治疗存在失败风险<sup>[18]</sup>。专家共识推荐根据 CRE 不同碳青霉烯酶型或基因型,选择不同的治疗方案。同时,建议临床选择 2~3 种药物联合治疗代替单药治疗<sup>[21]</sup>,减少产酶菌株的扩散和院内感染的产生<sup>[10]</sup>。

细菌通过产生碳青霉烯酶水解碳青霉烯类药物,是碳青霉烯类耐药最主要的机制。非产碳青霉烯酶的 CRECC 菌株可能通过孔蛋白缺失(突变使外膜孔蛋白缺失或者减少,导致抗菌药物分子进入菌体内的数量减少,从而导致细菌耐药)、外排泵高表达(外排泵系统的突变或过度表达可将抗菌药物及其代谢产物从细菌内部向外运输,从而导致细菌耐药)以及形成生物膜导致耐药<sup>[14-17]</sup>。耐药机制的不同,必然导致其耐药表型也有所不同。本研究中产碳青霉烯酶的 CRECC 菌株几乎对所有药物均表现出更强的耐药性,尤其是 β 内酰胺类的头孢菌素

类、碳青霉烯类及其酶抑制剂复合制剂,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

相关指南和专家共识均推荐临床微生物实验室检测 CRE 菌株是否产碳青霉烯酶。目前,可采用 Carba NP 试验、改良碳青霉烯灭活试验、碳青霉烯酶抑制剂增强试验和时间飞行质谱技术、酶免疫层析技术等检测其酶型,也可以应用 PCR 技术检测碳青霉烯酶的基因型<sup>[10]</sup>。NG-Test Carba 5 是一种成熟的酶型检测方法,其采用胶体金免疫层析技术,通过抗原和单克隆抗体的特异性结合快速检测碳青霉烯酶型,具有操作简便、快速(15 min)、结果容易判读等优点,对实验室条件和操作要求低,适用于临床筛查。综合已有文献,其结果覆盖常见的 5 类碳青霉烯酶型检测,尤其适用于同时检测多种碳青霉烯酶的 CRE 菌株,具有高度的敏感性。该方法的缺点在于检测范围未覆盖部分突变体/罕见酶型(如 KPC-33、KPC-77)等<sup>[21-24]</sup>,故而对于阴性结果必须结合其他表型检测及基因型检测方法以避免漏检。Xpert Carba-R PCR 是一种多重实时荧光 PCR 技术,采用特异性的引物和探针检测主要的碳青霉烯酶基因 *KPC*、*NDM*、*VIM*、*IMP-1*、*OXA-48*(包括 *OXA-181/OXA-232*)等,检测灵敏度和特异性高,具有快速(1 h)、准确的优点,但其价格昂贵且对实验室设备要求较高。与 NG-Test Carba 5 相比,Xpert Carba-R 能够检出所有的 KPC 变异体,尤其推荐用于检测头孢他啶/阿维巴坦潜在耐药的高风险患者<sup>[24]</sup>。上述方法各有利弊,需结合临床需求和实验室实际情况灵活选择。

本研究中有 1 株 CRECC 的基因型为 NDM 型,但未检出 NDM 酶型,分析原因可能为:(1)该患者使用抗菌药物造成 GeneXpert 结果假阳性<sup>[25]</sup>;(2)碳青霉烯酶低表达导致其酶型未检出;(3)存在 NDM 突变体。据文献报道已有 21 种 NDM 突变体,主要通过单个或多个碱基替换/插入而产生突变。不同的突变体对其内部的螺旋折叠以及环形结构的影响不同,可能导致其不被包被的抗体识别捕获<sup>[10,15]</sup>。本研究中这株 CRECC 可能是 NDM 突变体,导致其酶型检测阴性,具体原因有待进一步测序证实。

本研究较为全面地揭示了台州地区临床流行 CRECC 菌株的碳青霉烯酶基因型与药敏表型,发现 CRECC 菌株以 NDM 型为主,对多黏菌素 B、替加环素和磷霉素敏感率较高,可用于危重症 CRE 感染患者的经验性治疗。同时,有必要进行临床

CRE 菌株的碳青霉烯酶检测,注意各种检测方法的局限性,结合临床需求和实验室实际情况灵活选用,如 NG-Test Carba 5 不能覆盖部分不产碳青霉烯酶或碳青霉烯酶发生突变的菌株。但是,本研究并未覆盖 CRECC 菌株的所有耐药机制,且没有进行 PFGE 同源性分析<sup>[15]</sup>,也未对同时产 KPC 和 NDM 型碳青霉烯耐药基因的菌株进行深入的耐药和毒力机制研究<sup>[23]</sup>,存在一定的局限性,因此有待深入研究。

#### 4 参考文献

- [1] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(5):521-530.
- [2] Nguyen M, Eschenauer GA, Bryan M, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: factors correlated with clinical and microbiologic outcomes[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 67(2):180-184.
- [3] Rahal A, Andreo A, Le Gallou F, et al. *Enterobacter cloacae* complex outbreak in a neonatal intensive care unit: multifaceted investigations and preventive measures are needed[J]. J Hosp Infect, 2021, 116:87-90.
- [4] Martirosov DM, Lodise TP. Emerging trends in epidemiology and management of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2016, 85(2):266-275.
- [5] Thaden JT, Pogue JM, Kaye KS. Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae[J]. Virulence, 2017, 8(4):403-416.
- [6] Liu SX, Fang RC, Zhang Y, et al. Characterization of resistance mechanisms of *Enterobacter cloacae* Complex co-resistant to carbapenem and colistin[J]. BMC Microbiol, 2021, 21(1):208.
- [7] Deris ZZ, Yu HH, Davis K, et al. The combination of colistin and doripenem is synergistic against *Klebsiella pneumoniae* at multiple inocula and suppresses colistin resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(10):5103-5112.
- [8] Soliman AM, Zarad HO, Nariya H, et al. Genetic analysis of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated from a university teaching hospital in Egypt[J]. Infect Genet Evol, 2020, 77:104065.
- [9] Han RR, Shi QY, Wu S, et al. Dissemination of carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated from adult and children patients in China[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:314.
- [10] 喻华, 徐雪松, 李敏, 等. 肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识(第二版)[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(4):463-474.
- [11] 张范华, 张燕燕, 吴雨辰, 等. NG-Test Carba5 用于碳青霉烯酶快速检测的评价研究[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(1):87-92.
- [12] Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Piperaki E, et al. Treating in-

fections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(9):862-872.

[13] Jin CM, Zhang JG, Wang Q, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in 11 Chinese cities[J]. Front Microbiol, 2018, 9:1597.

[14] 刘丽娟, 王学, 姜梅杰, 等. 阴沟肠杆菌对碳青霉烯类药物的耐药机制[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(8):681-687.

[15] 林琳, 王晓楠, 肖晓光, 等. 产 NDM-1 金属  $\beta$ -内酰胺酶阴沟肠杆菌耐药传递机制及药物敏感性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(22):3361-3365.

[16] 张丽琴, 管海宁, 肖作森, 等. 耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌的耐药机制及临床感染分析[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(1):22-24.

[17] 林伯熹, 李彬, 刘秀琴, 等. 碳青霉烯类耐药阴沟肠杆菌耐药机制研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(2):194-199.

[18] Chen JJ, Tian SF, Nian H, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex in a tertiary Hospital in Northeast China, 2010-2019[J]. BMC Infect Dis, 2021, 21(1):611.

[19] Tian XL, Huang CW, Ye XL, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* causing nosocomial infections in southwestern China: molecular epidemiology, risk factors, and predictors of mortality[J]. Infect Drug Resist, 2020, 13:129-137.

[20] Deris ZZ, Yu HH, Davis K, et al. The combination of colistin and doripenem is synergistic against *Klebsiella pneumoniae* at multiple inocula and suppresses colistin resistance in an *in vitro* pharmacokinetic/pharmacodynamic model[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(10):5103-5112.

[21] Weston N, Sharma P, Ricci V, et al. Regulation of the AcrAB-TolC efflux pump in Enterobacteriaceae[J]. Res Microbiol, 2018, 169(7-8):425-431.

[22] Berberian G, Brizuela M, Rosanova MT, et al. Multidrug resistant Gram-negative infections in neonatology[J]. Arch Argent Pediatr, 2019, 117(1):6-11.

[23] 赵晓杰, 姜飞, 康海全, 等. 同时携带 blaNDM-1 和 blaKPC-2 基因的一株阴沟肠杆菌检测及临床治疗分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 10(2):130-134.

[24] Gu DX, Yan ZL, Cai C, et al. Comparison of the NG-test carba 5, colloidal gold immunoassay (CGI) test, and xpert carba-R for the rapid detection of carbapenemases in carbapenemase-producing organisms[J]. Antibiotics, 2023, 12(2):300.

[25] Boutal H, Vogel A, Bernabeu S, et al. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(4):909-915.

(收稿日期:2024-03-11)

(本文编辑:许晓蒙)

• 读者 • 作者 • 编者 •

### 《临床检验杂志》可直接使用缩略形式的常用词汇

对于以下医学检验工作者比较熟悉的常用词汇,本刊允许在论文撰写中直接使用其缩略语,可以不标注中文。

磷酸盐缓冲液(PBS)	白细胞介素(IL)	乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)
核糖核酸(RNA)	肿瘤坏死因子(TNF)	乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)
脱氧核糖核酸(DNA)	干扰素(IFN)	抗 HBsAg 抗体(抗 HBs)
聚合酶链反应(PCR)	人类白细胞抗原(HLA)	抗 HBeAg 抗体(抗 HBe)
酶联免疫吸附试验(ELISA)	系统性红斑狼疮(SLE)	抗 HBeAg 抗体(抗 HBc)
免疫球蛋白 G(IgG)	类风湿关节炎(RA)	严重急性呼吸综合征(SARS)
免疫球蛋白 A(IgA)	人类免疫缺陷病毒(HIV)	红细胞(RBC)
免疫球蛋白 M(IgM)	甲型肝炎病毒(HAV)	白细胞(WBC)
免疫球蛋白 D(IgD)	乙型肝炎病毒(HBV)	血红蛋白(Hb)
免疫球蛋白 E(IgE)	丙型肝炎病毒(HCV)	