

青岛市 5 家医院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌耐药基因检测及分析

安翔宇¹ 谢伟峰¹ 郑旭² 赵蕾¹ 吴义娟¹ 曲彦¹

¹青岛大学附属青岛市市立医院重症医学科, 山东青岛 266071; ²青岛大学附属青岛市市立医院检验科, 山东青岛 266071

通信作者: 曲彦, Email: qdquyan@aliyun.com

【摘要】 目的 通过对耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌(CRKP)的碳青霉烯酶表型的筛查及耐药基因检测, 明确青岛市该细菌耐药基因的分布及构成, 为临床上合理应用抗菌药物治疗提供依据。**方法** 收集 2016 年 10 月至 2019 年 9 月青岛市 5 家三甲医院临床分离出的非重复 CRKP 共 54 株, 采用琼脂稀释法或纸片扩散法(K-B 法)进行常用抗菌药物的药敏试验; 应用改良 Hodge 试验进行碳青霉烯酶表型筛查; 采用聚合酶链反应(PCR)扩增 *bla*_{KPC-2}、*bla*_{NDM-1}、*bla*_{OXA-48}、*bla*_{IMP}、*bla*_{VIM} 目的基因, 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳。**结果** 药敏试验显示, CRKP 对阿米卡星耐药率最低(35.2%), 其次为复方新诺明(53.7%)、庆大霉素(55.6%)、左氧氟沙星(75.9%)、亚胺培南/西司他丁(88.9%), 哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、头孢噻肟、头孢哌酮/舒巴坦钠的耐药率均高于 90%。改良 Hodge 试验阳性菌株有 43 株(阳性率为 79.63%), 阴性菌株为 11 株。PCR 耐药基因检测共检出带有碳青霉烯酶耐药基因的菌株 40 株, 目的耐药基因检出率为 74.07%。其中 35 株携带 KPC-2 基因, 7 株携带 OXA-48 基因, 4 株携带 NDM-1 基因, 1 株携带 IMP 基因, 其中携带有 OXA-48 基因的菌株均同时携带 KPC-2 基因, 未检测出携带 VIM 基因的菌株, 剩余 14 株未检测出目标碳青霉烯酶基因。**结论** 青岛市 5 家医院 CRKP 携带的产碳青霉烯酶基因主要为 KPC-2, 其次为 OXA-48 及 NDM-1。

【关键词】 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌; 碳青霉烯酶; 耐药基因

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2013HM109); 山东省青岛市医药卫生重点学科建设项目(2017-3); 山东省青岛市医药卫生优秀人才培养项目(2017-4)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200110-00027

Detection and analysis of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* resistance genes in five hospitals in Qingdao City

An Xiangyu¹, Xie Weifeng¹, Zheng Xu², Zhao Lei¹, Wu Yijuan¹, Qu Yan¹

¹Department of Intense Care Unit, Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, China; ²Department of Laboratory Medicine, Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, China

Corresponding author: Qu Yan, Email: qdquyan@aliyun.com

【Abstract】 Objective To clarify the distribution and composition of drug-resistant genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) in Qingdao City and to provide rationale for clinical application of antibacterial treatment by screening for carbapenemase phenotype and detecting resistance genes of CRKP. **Methods** Fifty-four clinically isolated non-repeating CRKP from five Third Grade & Class A Hospitals in Qingdao City from October 2016 to September 2019 were collected. Kirby-Bauer method was used for drug sensitivity tests of commonly used antibacterial drugs; modified Hodge test was used for carbapenemase phenotypic screening; and polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify *bla*_{KPC-2}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} target genes. The amplified products were subjected to agarose gel electrophoresis. **Results** Drug susceptibility tests showed that CRKP had the lowest resistance rate to amikacin (35.2%), followed by compound sinomine (53.7%), gentamicin (55.6%), levofloxacin (75.9%), and imipenem-cilastatin (88.9%); piperacillin-tazobactam, meropenem, cefotaxime, and cefoperazone-sulbactam were all higher than 90%. There were 43 positive strains in the modified Hodge test (the positive rate was 79.63%) and 11 negative strains. A total of 40 strains with carbapenemase resistance were detected by PCR resistance gene detection. The detection rate of target drug-resistant genes was 74.07%. Among them, 35 strains carry the KPC-2 gene, 7 strains carry the OXA-48 gene, 4 strains carry the NDM-1 gene, and 1 strain carries the IMP gene. All strains carrying the OXA-48 gene also carried the KPC-2 gene, which was not detected. Strains carrying the VIM gene were identified, and the remaining 14 strains did not detect the target carbapenem gene. **Conclusion** The carbapenem-producing genes carried by CRKP in five hospitals in Qingdao City are mainly KPC-2, followed by OXA-48 and NDM-1.

【Key words】 Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; Carbapenemase; Drug resistance gene

Fund program: Natural Science Foundation of Shandong Province of China (ZR2013HM109); Construction Project of Key Disciplines of Medicine and Health in Qingdao of Shandong Province of China (2017-3); Excellent Medical and Health Talent Training Project of Qingdao City of Shandong Province of China (2017-4)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200110-00027

碳青霉烯类属于 β -内酰胺类抗菌药物,由于其广泛的抗菌谱、超强的抗菌作用、极少的药物不良反应和较高的稳定性成为治疗多重耐药革兰阴性杆菌感染的一线用药。近年来随着碳青霉烯类抗菌药物的广泛应用,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌(CRKP)的发生率呈明显上升趋势。根据 CHINET 中国细菌耐药监测结果显示,2016 至 2018 年肺炎克雷伯杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率呈逐渐上升趋势。本研究对近年青岛市区 5 家医院分离到的 CRKP 菌株的耐药基因进行检测,针对耐药基因产物为合理应用抗菌药物提供依据。

1 资料与方法

1.1 菌种来源:本研究符合《赫尔辛基宣言》原则,经医院医学伦理委员会批准(审批号:2020-001)。收集 2016 年 10 月至 2019 年 9 月青岛市区 5 家三甲医院临床分离出的非重复肺炎克雷伯杆菌菌株,并依据 2018 年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)M100-28th 药敏试验执行标准,质控菌株为来自各三甲医院微生物实验室的肺炎克雷伯菌(ATCC700603),应用纸片扩散法(K-B 法)进行药敏试验并挑选出至少对一种碳青霉烯类抗菌药物耐药的菌株,共 54 株,分离后 -80°C 保存。

1.2 菌种鉴定:应用梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动微生物生化鉴定系统进行菌种鉴定。

1.3 药敏试验:由于替加环素及多黏菌素在临床上应用较少,本研究中仅对部分菌株进行药敏试验。采用琼脂稀释法或 K-B 法进行,根据最低抑菌浓度或抑菌环直径大小,按照 CLSI M100-28th 药敏试验执行标准进行判读,结果分为敏感(S)、中介(I)、耐药(R)。

1.4 改良 Hodge 试验:用一次性无菌取菌环取少量质控菌株大肠埃希菌(ATCC25922,青岛大学微生物实验室提供)菌落,加到无菌生理盐水中,标准比浊管进行比较配制成 0.5 麦氏浊度。将配制好的菌液稀释 10 倍后用无菌棉棒均匀涂抹在 M-H 琼脂培养基上,重复涂抹 3 次。待其干燥后,根据药敏试验结果将美罗培南或亚胺培南纸片贴于培养基正中间。用一次性 $1\mu\text{L}$ 无菌取菌环挑取待测 CRKP 菌落,由纸片边缘向培养基边缘划线,每个培养基上划 3~4 条。将培养基置入 35°C 温箱中培养 20 h。若抑菌圈在待测菌株接种线两侧出现向内凹陷,则为改良 Hodge 试验阳性,否则为阴性。以上试验及判读均参考 CLSI M100-28th 执行标准进行。

1.5 耐药基因型检测:用无菌取菌环挑取待测菌落并加到含有 $100\mu\text{L}$ 双蒸水的无菌试管中,振荡摇匀, 100°C 水浴 10 min 后取出;离心 10 min 取上清液,测定 DNA 含量,并将其置于 -20°C 保存。本次检测的耐药基因型主要为 KPC-2、NDM-1、OXA-48、IMP、VIM,引物序列由深圳华大基因科技有限公司合成。将无菌试管分为 5 组,每组试管中加入 $3\mu\text{L}$ 的 $10\times$ 聚合酶链反应(PCR)缓冲液、 $0.3\mu\text{L}$ Taq DNA 聚合酶、 $3\mu\text{L}$ 三磷酸碱基脱氧核苷酸混合物、 $3\mu\text{L}$ 模板 DNA,而后分别加入 *bla*_{KPC-2}、*bla*_{NDM-1}、*bla*_{OXA-48}、*bla*_{IMP}、*bla*_{VIM} 5 种引物,使其浓度分别为 0.3、0.4、0.5、0.3、0.3 $\mu\text{mol/L}$,最后加入经焦碳酸二乙酯(DEPC)处理并经高温高压灭菌的超纯水,总反应体系为 $30\mu\text{L}$,充分振荡摇匀。PCR 反应条件: 95°C 预变性 5 min, 95°C 变性 50 s,退火 35 s(KPC、NDM、OXA-48、IMP、VIM 基因型退火温度分别为 63、60、60、59、 61°C), 72°C 延伸 45 s,共计 35 个循环;最后 72°C 延伸 10 min。取 PCR 产物与少量 $6\times$ 上样缓冲液混匀,吸取 $3\mu\text{L}$ 加入琼脂糖凝胶梳孔中 100V 电压电泳保持 40 min;溴化乙锭(EB)染色 15 min。用多功能成像系统观察并记录实验结果。

1.6 统计学方法:使用 SPSS 20.0 软件对数据分析,样本阳性率、耐药率结果用率表示。

2 结果

2.1 药敏试验(表 1):在常用抗菌药物中,阿米卡星耐药率最低,为 35.2%;其次为复方新诺明(53.7%)、庆大霉素(55.6%)、左氧氟沙星(75.9%)、亚胺培南/西司他丁(88.9%),哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、头孢噻肟、头孢哌酮/舒巴坦钠耐药率均高于 90%。

表 1 54 株耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌菌株对常用抗菌药物的药敏试验结果

抗菌 药物	菌株数(株)			耐药率(% 耐药+中介)
	耐药	中介	敏感	
阿米卡星	17	2	35	35.2
复方新诺明	29	0	25	53.7
庆大霉素	29	1	24	55.6
左氧氟沙星	40	1	13	75.9
亚胺培南/西司他丁	48	0	6	88.9
哌拉西林/他唑巴坦	49	1	4	92.6
美罗培南	50	1	3	94.4
头孢噻肟	51	0	3	94.4
头孢哌酮/舒巴坦钠	53	0	1	98.1

2.2 改良 Hodge 试验(图 1):54 株 CRKP 菌株中,改良 Hodge 试验阳性菌株有 43 株,阳性率为 79.63%;阴性菌株有 11 株。

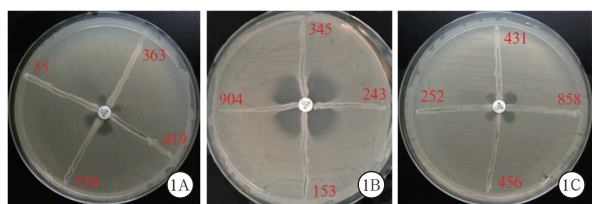
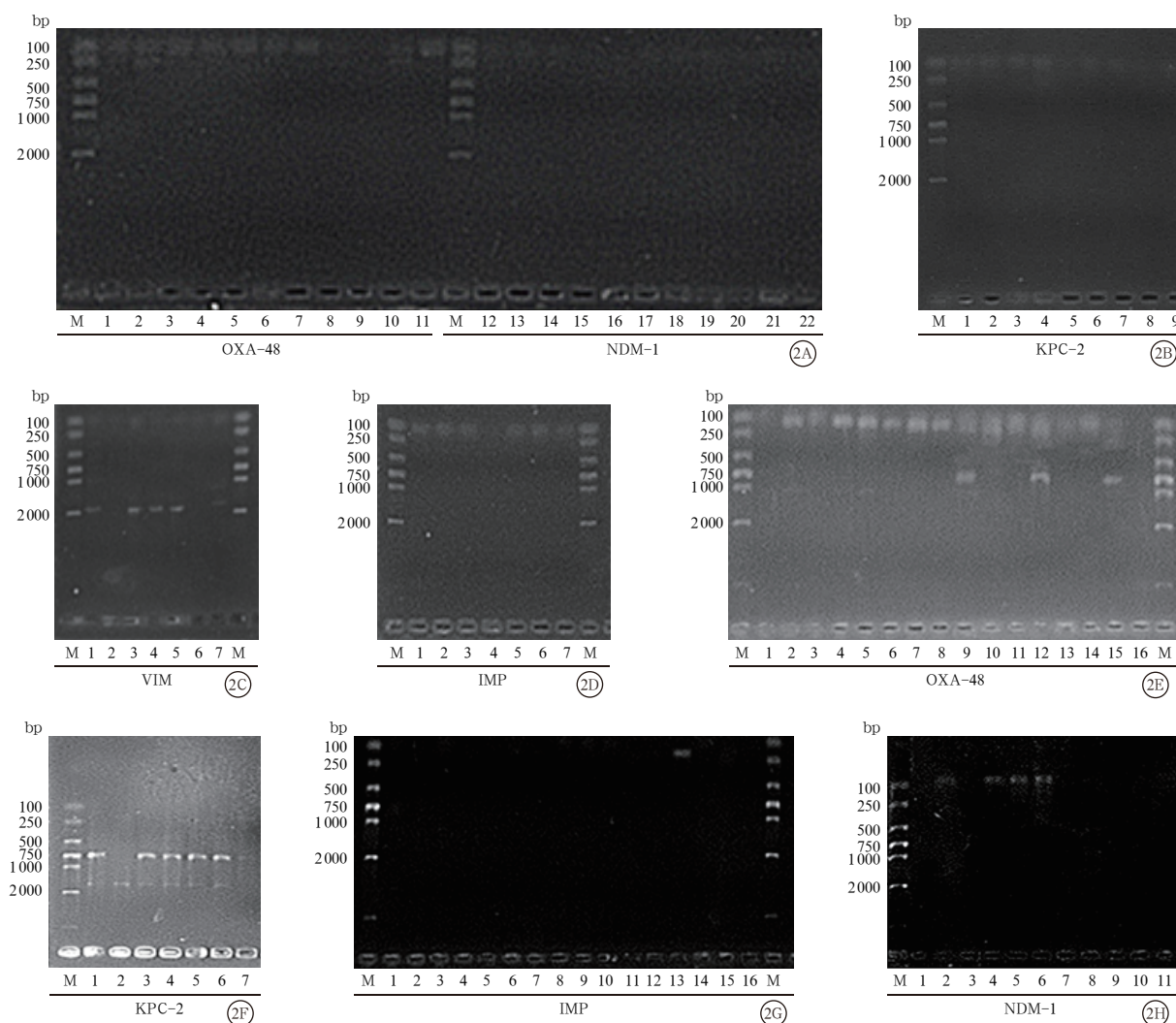


图1 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌(CRKP)改良 Hodge 试验抑菌圈在待测菌株接种线两侧未出现向内凹陷为改良 Hodge 试验阴性,出现向内凹陷则为阳性;数字表示不同菌株的编号,A、B、C 中只有编号 550 为改良 Hodge 试验阴性

2.3 耐药基因检测(图 2):共检出带有碳青霉烯酶耐药基因的菌株 40 株,目的耐药基因检出率为 74.07%。其中检出 35 株携带 KPC-2 基因,7 株携带 OXA-48 基因,4 株携带 NDM-1 基因,1 株携带 IMP 基因,无携带 VIM 基因菌株;其中携带 OXA-48 基因的菌株均同时携带 KPC-2 基因。另有 14 株未检测出目标碳青霉烯酶基因。

3 讨论

自 1996 年 CRKP 菌株首次在美国卡罗莱纳州北部被发现后^[1],随着临床上碳青霉烯类抗菌药物的大量应用,越来越多的 CRKP 案例被报道,并出现了全球流行的趋势^[2]。一项涵盖我国 14 个省 25 家三级医院 664 例耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)感染病例的研究显示,大多数菌株是肺炎克雷伯菌(73.9%),其次是大肠杆菌(16.6%)和泄殖腔大肠杆菌(7.1%)^[3]。2018 年 CHINET 中国细菌耐药监测结果显示,肺炎克雷伯杆菌对亚胺培南、美罗培南、厄他培南这 3 种碳青霉烯类抗菌药物的耐药性呈现出逐年上升的趋势^[4]。本研究中分离的 CRKP 菌株大多来自重症监护病房(ICU)等重症或手术科室,提示患者免疫力低下、外源性管路、广谱抗菌药物应用、手术等都可能是感染 CRKP 的危险因素,



基因检测阴性为在目的片段大小处未出现高亮条带,基因检测阳性为目的片段大小处出现高亮条带。A~D 为 OXA-48、NDM-1、KPC-2、VIM、IMP 基因检测阴性;E~H 为 OXA-48、KPC-2、IMP、NDM-1 基因检测阳性;M 为 DNA Marker

图2 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯杆菌(CRKP)耐药基因部分检测结果

这与杨柳等^[5]和张颖等^[6]的研究结果相符合。另外,蔡耿鑫等^[7]相关研究显示,脓毒症免疫抑制也是耐药菌产生的危险因素之一。

本次 CRKP 药敏试验结果显示,常用抗菌药物中,阿米卡星的耐药率最低,为 35.2%;其次为复方新诺明、庆大霉素,耐药率在 50% 左右;而后为左氧氟沙星和亚胺培南/西司他丁,耐药率分别为 75.9% 和 88.9%;其他常用抗菌药物耐药率皆在 90% 以上,提示 CRKP 菌株对青霉素类及头孢菌素类抗菌药物耐药率超高,这也与我国目前 CRKP 的药敏情况相符合^[8-9]。可能与 CRKP 菌株产生大量超广谱 β -内酰胺酶且合并外膜孔蛋白丢失有关。相比其他抗菌药物,阿米卡星耐药率较低的原因可能与其不被超广谱 β -内酰胺酶及碳青霉烯酶分解,且对许多氨基糖苷类钝化酶稳定,仅可被 AAC(6')型氨基糖苷类钝化酶钝化有关。

本研究中应用改良 Hodge 试验对碳青霉烯酶的表型进行筛查,其中阳性菌株 43 株,阳性率为 79.63%。后续的耐药基因检测结果显示,碳青霉烯酶基因检出率为 74.07%,略低于改良 Hodge 试验的数据,说明本次改良 Hodge 试验存在假阳性菌株,假阳性率为 5.56%,这可能与菌株产生大量质粒介导的头孢菌素酶有关。有研究显示,Carba NP 试验对碳青霉烯酶检测的假阳性率(1.23%)略低于 Hodge 试验(2.44%)^[10]。故应用 Carba NP 试验进行表型筛查可能有较高的准确率。

近年来发现产碳青霉烯酶是 CRKP 菌株耐碳青霉烯类抗菌药物最主要的耐药机制。在临床上,耐药菌株携带碳青霉烯酶基因主要为 *bla*_{KPC}、*bla*_{NDM}、*bla*_{IMP}、*bla*_{OXA}、*bla*_{VIM}。*bla*_{KPC} 基因主要编码 KPC 酶,属于 A 类碳青霉烯酶,主要见于肺炎克雷伯杆菌中,2007 年开始我国陆续有肠杆菌科细菌产 KPC 型碳青霉烯酶的报道。*bla*_{IMP}、*bla*_{VIM}、*bla*_{NDM} 基因分别编码 IMP 酶、VIM 酶、NDM 酶,皆属于 B 类金属酶,主要见于大肠埃希菌及肺炎克雷伯杆菌中;*bla*_{OXA} 基因主要编码 OXA 酶,属于 D 类 β -内酰胺酶,主要见于不动杆菌中。本研究中主要检测了 5 种比较常见的耐药基因,结果显示,有 35 株细菌携带 KPC-2 基因,阳性率为 64.81%,这也符合目前我国 CRKP 耐药基因的流行现状,即耐药基因型以 KPC-2 为主^[11-12]。Zhang 等^[3]对 155 株临床分离的 CRE 的相关试验也提示,其主要携带 KPC 型基因(50%)或 NDM 型基因(33.5%),且携带耐药基因的菌株主要

为大肠杆菌和肺炎克雷伯杆菌。另外,本研究显示有 7 株菌株携带 OXA-48 基因,4 株携带 NDM-1 基因,1 株携带 IMP 基因,未检测出携带 VIM 基因的菌株,剩余 14 株未检测出耐药基因。值得关注的是,携带有 OXA-48 基因的菌株均同时携带 KPC-2 基因,其中 4 株来源于 5 d 内同一医院同一科室的不同患者中,考虑该种菌株的大量出现可能与该基因型传播能力较强、卫生消毒隔离措施较差导致患者交叉感染有关。申振华等^[13]的相关报道也提示我们,该院可能存在该基因型的 CRKP 局部“暴发”流行的趋势。另外该种菌株药敏试验显示全耐药或仅对替加环素等极少数不常用抗菌药物敏感(未行多黏菌素药敏试验),这也证实了 Pérez-Vázquez 等^[14]的研究结果,即当 CRKP 同时携带 OXA-48 及其他碳青霉烯酶基因时,表现出更高的耐药水平。本研究中未检出耐药基因的 14 株细菌药敏试验仍对碳青霉烯类抗菌药物耐药,考虑可能携带有该 5 种基因之外的耐药基因。另外,根据有关报道显示,高水平产超广谱 β -内酰胺酶或头孢菌素酶合并外膜孔蛋白缺失的菌株,即使不产碳青霉烯酶,也可以表现出对碳青霉烯类抗菌药物耐药^[15]。

碳青霉烯类抗菌药物被广泛应用于产超广谱 β -内酰胺酶和头孢菌素酶肺炎克雷伯菌感染的治疗^[16],但其对 CRKP 感染的治疗效果不佳。临床研究表明,CRKP 通常对青霉素类及头孢菌素类抗菌药物表现出超高耐药率,对氨基糖苷类、氟喹诺酮类抗菌药物的耐药率也较高,仅对不常用的抗菌药物即替加环素、多黏菌素等敏感^[3],本次体外药敏试验也证实了该结论。目前对 CRKP 感染的治疗主要以替加环素或多黏菌素为基础,多黏菌素更被认为是治疗多重耐药和泛耐药革兰阴性杆菌感染极为有效的药物^[17]。由于替加环素血中浓度较低,多黏菌素顾忌肾毒性,故常常采用与其他抗菌药物联合应用的方案。2017 年一项研究表明,对多黏菌素耐药的 CRKP 菌株应用多黏菌素为基础的联合方案治疗效果仍十分显著^[18]。2012 年 Tumbarello 等^[19]的一项研究显示,碳青霉烯类联合替加环素、多黏菌素的三联方案可有效降低 CRKP 感染患者的 30 d 病死率。另有研究显示,磷霉素联合阿米卡星治疗方案可降低 CRKP 感染患者的病死率^[20]。头孢他啶/阿维巴坦被认为是目前治疗 CRKP 感染的新曙光,对携带 KPC-2 基因和携带 OXA-48 基因的菌种有更好的抗菌效果^[21]。目前相关研究显示,与其他

治疗方案相比,以头孢他啶/阿维巴坦为基础的联合治疗方案可降低 CRKP 感染患者的病死率,提高治愈率^[22-23]。

综上,随着人们对 CRE 的认识不断深入,越来越多的耐药基因、耐药机制被发现,也出现了新型抗菌药物,即便如此,CRKP 感染的病死率仍较高,CRKP 耐药的速度远远快于抗菌药物的更新换代。因此,我们要密切监测 CRKP 的流行病学,对抗菌药物进行更加强力的监管,使其延缓流行及传播。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45 (4): 1151-1161. DOI: 10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001.
- [2] Saidel-Odes L, Borer A. Limiting and controlling carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Infect Drug Resist, 2013, 7: 9-14. DOI: 10.2147/IDR.S44358.
- [3] Zhang Y, Wang Q, Yin Y, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections: report from the China CRE Network [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62 (2): e01882-1. DOI: 10.1128/AAC.01882-17.
- [4] Hu F, Guo Y, Yang Y, et al. Resistance reported from China antimicrobial surveillance network (CHINET) in 2018 [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38 (12): 2275-2281. DOI: 10.1007/s10096-019-03673-1.
- [5] 杨柳, 张智洁, 秦晓松. 肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类的耐药机制与危险因素 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43 (2): 163-168. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8689.2018.02.008.
Yang L, Zhang ZJ, Qin XS. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: resistant mechanisms and risk factors [J]. Chin J Antibio, 2018, 43 (2): 163-168. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8689.2018.02.008.
- [6] 张颖, 刘向群, 刘景双. 耐亚胺培南肺炎克雷伯杆菌感染危险因素分析 [J]. 浙江临床医学, 2017, 19 (12): 2233-2234.
Zhang Y, Liu XQ, Liu JS. Risk factors of imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection [J]. Zhejiang Clin Med J, 2017, 19 (12): 2233-2234.
- [7] 蔡耿鑫, 叶靖坤, 温妙云. 脓毒症免疫抑制与耐药菌产生的关系 [J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30 (11): 1095-1098. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.11.017.
Cai GX, Ye JK, Wen MY. Relationship between sepsis-induced immunosuppression and multi-drugs resistant bacteria [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30 (11): 1095-1098. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.11.017.
- [8] 孙晔佳, 顾克菊. 某院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌检出与耐药表型分布 [J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16 (2): 130-133, 137. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.02.007.
Sun YJ, Gu KJ. Isolation and drug resistance phenotype distribution of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a hospital [J]. Chin J Infect Cont, 2017, 16 (2): 130-133, 137. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.02.007.
- [9] 孙吉, 何鸽飞, 沈晖, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的药敏结果及耐药基因 [J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18 (6): 489-494. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20195330.
Sun J, He GF, Shen H, et al. Antimicrobial susceptibility and resistance genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chin J Infect Cont, 2019, 18 (6): 489-494. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20195330.
- [10] 张青, 陈喆, 李克诚, 等. 改良 Hodge 与 Carba NP 和 mCIM 试验快速检测产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌的方法学比较 [J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29 (10): 1441-1446. DOI: 10.11816/cn.ni.2019-186063.
Zhang Q, Chen Z, Li KC, et al. A comparative study of modified Hodge test, Carba NP test and mCIM test for rapid detection of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chin J Nosocomiol, 2019, 29 (10): 1441-1446. DOI: 10.11816/cn.ni.2019-186063.
- [11] 宫雪, 王勇, 张吉生, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌耐药机制及同源性分析 [J]. 临床检验杂志, 2018, 36 (4): 270-273. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2018.04.08.
Gong X, Wang Y, Zhang JS, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* resistance mechanism and homology analysis [J]. Chin J Clin Lab Sci, 2018, 36 (4): 270-273. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2018.04.08.
- [12] Netikul T, Kiratisin P. Genetic characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and the spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST340 at a university hospital in Thailand [J]. PLoS One, 2015, 10 (9): e0139116. DOI: 10.1371/journal.pone.0139116.
- [13] 申振华, 申洁心, 郑洪泽. 耐碳青霉烯类肠杆菌的同源性分析 [J]. 实用检验医师杂志, 2018, 10 (3): 135-137. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.03.003.
Shen ZH, Shen JX, Zheng HZ. Investigation on homology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* species [J]. Chin J Clin Pathol, 2018, 10 (3): 135-137. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.03.003.
- [14] Pérez-Vázquez M, Oteo J, García-Cobos S, et al. Phylogeny, resistome and mobile genetic elements of emergent OXA-48 and OXA-245 *Klebsiella pneumoniae* clones circulating in Spain [J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 71 (4): 887-896. DOI: 10.1093/jac/ckv458.
- [15] Goodman KE, Simner PJ, Tamma PD, et al. Infection control implications of heterogeneous resistance mechanisms in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2016, 14 (1): 95-108. DOI: 10.1586/14787210.2016.1106940.
- [16] 马宇廷, 邹映雪. 肺炎克雷伯菌的耐药性研究及院内感染的控制 [J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8 (4): 242-244. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.04.017.
Ma YT, Zou YX. Study on drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* and control of nosocomial infection [J]. Chin J Clin Pathol, 2016, 8 (4): 242-244. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.04.017.
- [17] 中国研究型医院学会危重医学专业委员会, 中国研究型医院学会感染性疾病循证与转化专业委员会. 多黏菌素临床应用中国专家共识 [J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31 (10): 1194-1198. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.10.003.
China Research Hospital Association of Critical Care Medicine, Chinese Research Hospital Association of Evidence base and Translational of Infectious Diseases. Chinese expert consensus on polymyxins in the clinical practice [J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31 (10): 1194-1198. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.10.003.
- [18] Oliva A, Scorzolini L, Cipolla A, et al. *In vitro* evaluation of different antimicrobial combinations against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: the activity of the double-carbapenem regimen is related to meropenem MIC value [J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72 (7): 1981-1984. DOI: 10.1093/jac/dkx084.
- [19] Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy [J]. Clin Infect Dis, 2012, 55 (7): 943-950. DOI: 10.1093/cid/cis588.
- [20] Yu W, Shen P, Bao Z, et al. *In vitro* antibacterial activity of fosfomicin combined with other antimicrobials against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2017, 50 (2): 237-241. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.011.
- [21] Mazuski JE, Gasink LB, Armstrong J, et al. Efficacy and safety of ceftazidime-avibactam plus metronidazole versus meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infection: results from a randomized, controlled, double-blind, phase 3 program [J]. Clin Infect Dis, 2016, 62 (11): 1380-1389. DOI: 10.1093/cid/ciw133.
- [22] Shields RK, Nguyen MH, Chen L, et al. Ceftazidime-avibactam is superior to other treatment regimens against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61 (8): e00883-17. DOI: 10.1128/AAC.00883-17.
- [23] van Duin D, Lok JJ, Earley M, et al. Colistin versus ceftazidime-avibactam in the treatment of infections due to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* [J]. Clin Infect Dis, 2018, 66 (2): 163-171. DOI: 10.1093/cid/cix783.

(收稿日期: 2020-01-10)