

其抑菌效果也很理想。从西医思路开发中药的同时,更要结合中医的思维方式,从整体的角度去把握疾病的发生、发展,更加全面的去看待中药。

参考文献

[1] 梁利国,阎斌伦,张晓君,等.常用中草药对 4 种病原弧菌体外抗菌效果的研究[J].渔业科学进展,2010,31(2):114-119.

[2] 邓业成,玉艳珍,王萌萌,等.石菖蒲提取物及其初步分离物的抑菌活性研究[J].安徽农业科学,2010,38(15):7836-7838,7875.

[3] 赵霞,赵焯,朱国强.中药在治疗肺结核中的作用及地位[J].实用中医内科杂志,2005,19(6):506.

[4] 刘涛峰,刘小平,张虹亚,等.中药水煎剂对马拉色菌分离株的体外抑菌[J].中国皮肤性病杂志,2011,25(1):62-63.

[5] 杨红文,艾玲,雒秋江.大蒜等 12 种中草药的体外抑菌实验[J].时珍国医国药,2009,20(9):2209-2210.

[6] 郭丽双,胡静,张文莉,等.双黄连冻干粉对肺炎克雷伯菌抑制作用的实验研究[J].抗感染药学,2011,8(2):95-97.

[7] 郭丽双,张文莉,张晓丽.双黄连冻干粉对大肠埃希菌直接抑制作用的实验研究[J].牡丹江医学院学报,2010,31(3):2-4.

[8] 张传美,刘宁波,于森,等.庆大霉素、三黄汤和小檗碱对 E. Coli 抑菌作用研究[J].莱阳农学院学报,2008,21(1):14-17.

[9] 卢芳国,朱应武,田道法,等.12 个中药复方体外抗菌作用的研究[J].湖南中医学院学报,2008,24(1):9-11.

[10] 何平,张亚洲,纪刚,等.抗妇炎康中间体体外杀虫、抑菌及杀菌作用的实验研究[J].贵阳中医学院学报,2010,4(32):77-80.

[11] 余园媛.复方黄连凝胶剂体内抗菌活性研究[J].中国医药指南,2008,18(1):47-50.

[12] 康玉军. 抑菌实验 [EB/OL]. <http://baike.com/view/549956.htm>,2010-09-13/2013-06-20.

[13] 赵晓丹,傅达奇,陈计峦,等.醋蒜提取物抑菌作用研究[J].中国调味品,2008,14(1):13-19.

[14] Clinical and Laboratory Standards Institute. Introduction to tables 1 and 2 for use with M02-A10(disk diffusion) and M07-A8(MIC

testing). M100-S21,2010.

[15] 雷连成,韩文瑜,乔红伟.大肠杆菌耐药性中药抑制剂的初步研究[J].吉林农业大学学报,2008,30(4):429-433.

[16] 帕提古丽.马合木提,阻丽皮亚.玉努斯.西伯利亚花楸枝条提取物抑菌作用的测定[J].食品科学,2006,17(2):186.

[17] 任守忠,郭建生,曾贵荣.安胃丸对小鼠幽门螺杆菌感染胃炎的治疗作用[J].中国医院药学杂志,2012,32(2):117-120.

[18] Mian MF, Pek EA, Chenoweth MJ, et al. Humanized mice for Salmonella typhi infection; new tools for an old problem[J]. Virulence, 2011, 2(3):248-252.

[19] Alam MS, Zaki MH, Yoshitake J, et al. Involvement of Salmonella enterica serovar Ttphi RpoS in resistance to NO-mediated host defense against serovar Ttphi infection[J]. Microb Pathog, 2007, 41(3):116-125.

[20] 周立勤,王汉敏,陈林娜,等.透射电镜下中药制剂对耐药菌株的抑菌作用观察[J].湖北中医学院学报,2008,10(1):13-15.

[21] 黄瑞玉,穆小萍,柏彩英,等.连翘对多重耐药鲍曼不动杆菌主动外排泵编码基因 adeB 的影响[J].中国病原生物学杂志,2011,6(2):111-114.

[22] 李洪涛,吴春民,覃慧敏,等.穿心莲内酯对铜绿假单胞菌 PAO1 株 MexAB-OprM 外排泵 mRNA 表达的影响[J].中华传染病杂志,2007,25(2):338-341.

[23] 陈世彪.3 种中药对产  $\beta$ -内酰胺酶金黄色葡萄球菌 R 质粒的消除作用[J].畜牧与兽医,2010,42(1):81-83.

[24] 邓媛媛,邵贝贝,王光忠,等.茯苓调节免疫功能有效物质的比较研究[J].中国医药指南,2012,10(1):94-95.

[25] Yu FR, Yu FH, Li RD, et al. Inhibitory effects of the Gentiana macrophylla (Gentianaceae) extract on rheumatoid arthritis of rats[J]. J Ethnopharmacol, 2008, 99(1):77-81.

[26] 安卓琳,金哲雄.秦艽提取物对一氧化氮合酶、磷脂酶 A2 和环氧化酶的影响[J].黑龙江医药,2007,20(2):109.

(收稿日期:2013-08-20)

• 综 述 •

### 有关肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯酶的研究进展\*

王 娜,刘志勇,路 娟,赵金英,宋熙瑶,陈淑兰 综述,常 东<sup>△</sup>审校  
(哈尔滨医科大学第一临床学院,黑龙江哈尔滨 510000)

关键词:碳青霉烯酶; 肺炎克雷伯菌; 分型; 检测方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.02.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)02-0200-03

#### 1 KPC 型酶的简介

1996 年,产 KPC 型酶的肺炎克雷伯菌首次在北卡罗来纳州发现<sup>[1]</sup>。属于分子分类的 A 类,功能分类的 2 f 组。命名为 KPC-1,可以被克拉维酸和他唑巴坦所抑制,但不能被 EDTA 所抑制。目前有 11 种亚型,分别命名为 KPC-1/2-KPC-12<sup>[1]</sup>。

#### 2 KPC 的分型

KPC-1 型酶一个氨基酸编码的改变,被称为 KPC-2 型<sup>[2-3]</sup>。不久在肺炎克雷伯菌和沙门菌血清中发现。然而后来研究表明 KPC-1 型酶和 KPC-2 型酶序列相同,因此 KPC-1 和 KPC-2 为同一亚型<sup>[4]</sup>。KPC-2 型酶结构基因突变产生了

KPC-3 型和 KPC-4 型<sup>[5]</sup>。大量的研究表明 KPC 亚型之间往往仅有一个氨基酸的改变。目前,KPC-2 型和 KPC-3 型酶最常见,几乎存在于所有已报道的国家。中国 KPC-2 型报道最多,2007 年浙江大学的魏泽庆首次报道了中国浙江地区出现了 KPC-2 型酶,见于肺炎克雷伯菌。KPC-2 型酶和 KPC-3 型酶可以水解几种不同的  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物,这 2 种酶能够高效的水解头孢硝噻、头孢噻吩、头孢菌素类、适度水解碳青霉烯类抗菌药物和头孢噻肟,可是却不能水解头孢西丁和头孢他啶,与 KPC-2 型酶相比,KPC-3 型酶水解头孢他啶的能力更强。其余的亚型目前临床上一概很少见。

\* 基金项目:省自然科学基金(D2011174);国家自然科学基金(81273129)。

作者简介:王娜,女,检验技师,主要从事临床微生物学与检验研究。

<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:13946031058@163.com。

### 3 KPC 肺炎克雷伯菌的特征

肺炎克雷伯菌是最常见的产 KPC 型酶的微生物, KPC 型酶越来越多的见于肠杆菌科的其他菌属, 如大肠埃希菌、变形杆菌属、沙雷菌属、枸橼酸杆菌属<sup>[6]</sup>。多位点序列分型表明产 KPC 型酶的肺炎克雷伯菌的序列分型主要为 ST258<sup>[7]</sup>。2011 年希腊研究者, 得到 13 种 PFGE 型和 11 种 ST 型, 其中 PFGE 分型中的 A 型只要是 ST258<sup>[8]</sup>。KPC 型酶由于其耐药基因位于质粒上, 因此具有很大的传播潜能, 又由于其主要见于肺炎克雷伯菌, 而肺炎克雷伯菌具有累积和转移耐药因子的作用。

### 4 KPC 型酶的检测方法

标准的药敏试验常会误判产 KPC 型酶的细菌。据报道, 自动化系统将会判断 7%~87% 的产 KPC 型酶的肺炎克雷伯菌对亚胺培南或美洛培南敏感<sup>[9]</sup>。这种差异性很可能和在体外敏感的菌株的表型异质性有关。几个研究小组观察到, 厄培南的最低抑菌浓度可能是产生 KPC 型酶的最敏感指示剂。有两个不同的研究, 其中包括 33 例产 KPC 的肠杆菌和 28 株产 KPC 型酶的肺炎克雷伯菌, 自动化测定所有菌株对厄培南耐药<sup>[10-11]</sup>, 因此厄培南耐药被认为是产 KPC 型酶的最敏感的临床试验并被疾病控制中心 (the Centers for Disease Control, CDC) 推荐<sup>[12]</sup>。

对碳青霉烯类抗菌药物敏感性降低的产 KPC 型酶的细菌常需进行确证试验。最简单的确证试验是霍奇试验 (modified hodge test, MHT), 敏感性 100%, 但特异性低。2009 年 CLSI (the Clinical and Laboratory Standards Institute) 推荐所有的最低抑菌浓度提高的碳青霉烯类抗菌药物均做霍奇试验。另一个新兴的试验是显色培养基 CHRDMagarKPC, 研究表明此方法具有 100% 的灵敏度, 98.4% 的特异性<sup>[13]</sup>。然而 KPC 的确证需要分子生物学的方法, 如 PCR, 这些方法特异性强、敏感性高、快速等优点, 但价格昂贵且需要特殊的试验设备和仪器, 尚未在日常工作中普及。

### 5 流行病学

在纽约首次爆发之前, 耐碳青霉烯类抗菌药物的肺炎克雷伯菌在美国罕见<sup>[14]</sup>。这些细菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药的敏感性低, 包括青霉素、头孢菌素、单环  $\beta$ -内酰胺类、碳青霉烯类抗菌药物。此外, 某研究人员体外研究了 2003~2004 年布鲁克林医院里 95 个产 KPC 型酶的菌株, 结果将近一半对氨基糖苷类抗菌药物敏感, 很少对氟喹诺酮类敏感<sup>[15]</sup>。自最初在纽约爆发, 产 KPC 型酶的细菌已经在纽约和新泽西许多医院流行, 在接下来的 10 年里, KPC 型细菌已遍布美国和世界各地。

有关 CDC 医院感染的资料表明耐碳青霉烯类抗菌药物的肺炎克雷伯菌从 2000 年不到 1% 已经在 2007 年上升到 8%<sup>[16]</sup>。在纽约市的一个学术医疗中心, 产 KPC 型酶细菌的百分比从 2000 年的 9% 上升到 2004 年的 18%, 进而在 2008 年上升到 38%<sup>[17]</sup>。到目前为止, 至少有 33 个国家分离到产 KPC 型酶的细菌<sup>[18]</sup>。在 2005 年, 除美国外, 法国首次报道了产 KPC 型酶的菌株, 除美国外首次在以色列爆发, 目前流行于以色列和希腊, 此外, 在巴西、中国、哥伦比亚、挪威、英国、印度、瑞典、意大利和芬兰等国家也有报道<sup>[19]</sup>。另外, Endimimal 等<sup>[20]</sup>做了来自美国东部 5 个不同单位的产 KPC 型酶的 42 株肺炎克雷伯菌的克隆分析, 结果显示 32 株 (76%) 是无性繁殖, 表明地区之间的传播主要通过克隆。

### 6 感染的控制

肠杆菌科是院内感染的主要致病菌之一<sup>[21]</sup>, 产 KPC 型酶的细菌的早期鉴定是感染控制成功的重要因素, 通过控制水平

传播可以有效地改善感染。在纽约一个 ICU 病房的调查结果表明, 仅有 14% 的感染产 KPC 型酶的肺炎克雷伯菌的患者通过先前的临床培养确定, 而 39% 的患者是通过无性传播感染<sup>[22]</sup>。在 ICU 病房和一些急诊医院, 感染控制措施已经起到了控制感染的效果<sup>[23-24]</sup>。这些措施主要包括加强环境卫生和抗菌药物的使用管理等<sup>[25]</sup>。

### 7 KPC 型菌的治疗

产 KPC 型酶的细菌一直是多重耐药菌, 往往对多黏菌素、替加环素、磷霉素和氨基糖苷类抗菌药物敏感。因此, 多黏菌素在治疗这类感染中的最用越来越重要, 即使有限的临床研究并没有证明多黏菌素联合治疗比单一治疗更有效。一些临床医生已经将多黏菌素和其他抗菌药物联合使用, 最常见的是多黏菌素和替加环素的联合使用。此外还有多黏菌素和碳青霉烯类抗菌药物、多黏菌素和利福平以及 2 种碳青霉烯类抗菌药物的联合使用等<sup>[26-27]</sup>。Thiolas 等<sup>[28]</sup>建议使用多黏菌素和亚胺培南联合治疗, 认为这样可以避免单一治疗出现的耐药性。另有学者也做了有关实验, 证明多黏菌素和替加环素的联合治疗可以防止其中任何一个抗菌药物耐药性的出现。随着产 KPC 型酶的细菌的广泛传播, 临床医生越来越依赖多黏菌素和替加环素, 一些专家认为提高碳青霉烯类抗菌药物的剂量是有用的, 尽管未有充分的证据。近来, 一种新的  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂 NXL104, 具有抑制 KPC 酶的活性<sup>[29]</sup>。几种新和成的多黏菌素衍生物, 包括 NAB739 和 NAB740 已经被研制, 这两种药物肾毒性低且具有相同的抗菌活性<sup>[30]</sup>。另外其他 2 种抗菌药物也在研制中, 包括一种新四环素 PTK-0796 和一种新的氨基糖苷类抗菌药物 ACHN-490<sup>[31-32]</sup>。此外, Elizabeth 等研究了一种新的  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂 MK-7655 和碳青霉烯类抗菌药物的联合作用, 结果表明, 两者联合作用, 可以抑制  $\beta$ -内酰胺酶的产生, 从而恢复碳青霉烯类抗菌药物的活性, 将成为一种非常有希望的治疗选择<sup>[33]</sup>。

### 8 结 语

自产 KPC 型酶的细菌在美国东北部爆发后, 目前几乎已经遍布全世界。由于他们不能通过常规筛查方法确定并且具有高度的耐药性, 给临床医生带来了严峻挑战, 往往导致延期治疗和治疗的失败。有效的抗菌药仅局限于多黏菌素、替加环素和氨基糖苷类抗菌药物。医院必须能够早期确定这些微生物并采取措加强控制感染。

### 参考文献

- [1] Sara N Richter, Ilaria Frasson, Elisa Franchin, et al. KPC-mediated resistance in *Klebsiella pneumoniae* in two hospitals in Padua, Italy, June 2009-December 2011; massive spreading of aKPC-3-encoding plasmid and involvement of non-intensive care units[J]. Gut Pathogens, 2012, 24(1): 7.
- [2] Smith Moland E, Hanson ND, Herrera VL, et al. Plasmid mediated, carbapenem-hydrolysing beta-lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates[J]. Antimicrob Chem other, 2008, 51(6): 711-714.
- [3] Yigit H, Queenan AM, Rasheed JK, et al. Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(12): 3881-3889.
- [4] 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

- er, 2008, 53(10):1151-1161.
- [5] Wolter DJ, Kurpiel PM, Woodford N, et al. Phenotypic and enzymatic comparative analysis of the novel KPC variant KPC-5 and its evolutionary variants, KPC-2 and KPC-4[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(4):557-562.
  - [6] Wei ZQ, Du XX, Yu YS, et al. Plasmid mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 51(6):763-765.
  - [7] Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(8):3365-3370.
  - [8] Giakkoupi P, Papagiannitsis CC, Miriagou V, et al. An update of the evolving epidemic of blaKPC-2-carrying *Klebsiella pneumoniae* in Greece[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(14):1510-1513.
  - [9] Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria[J]. *Lancet Infect Dis*, 2009, 9(4):228-236.
  - [10] Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, et al. Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(13):1413-1418.
  - [11] Weisenberg SA, Morgan DJ, Espinal-Witter R, et al. Clinical outcomes of patients with *Kpneumoniae* carbapenemase-producing *K pneumoniae* after treatment with imipenem or meropenem[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2009, 64(2):233-235.
  - [12] Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, et al. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Enterobacteriaceae*[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(26):2723-2725.
  - [13] Samra Z, Bahar J, Madar-Shapiro L, et al. Evaluation of CHROMagar KPC for rapid detection of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*[J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(33):3110-3111.
  - [14] Bratu S, Landman D, Haag R, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City[J]. *Arch Intern Med*, 2005, 165(12):1430-1435.
  - [15] Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents[J]. *J Antimicrob Chem*, 2005, 56(2):128-132.
  - [16] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities[J]. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2009, 58(2):256-260.
  - [17] Phillips M, Sharma S. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(32):3365-3370.
  - [18] Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(32):3365-3370.
  - [19] Osterblad M, Kirveskari J, Koskela S, et al. First isolations of KPC-2-carrying ST258 *Klebsiella pneumoniae* strains in Finland, June and August 2009[J]. *Euro Surveill*, 2009, 14(40):19349.
  - [20] Endimiani A, Hujer AM, Perez F, et al. Characterization of blaK-PC-containing *Klebsiella pneumoniae* isolates detected in different institutions in the Eastern USA[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63(3):427-437.
  - [21] Hidron AL, Edwards JR, Patel J, et al. NSHN annual update: Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Annual summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2006-2007[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2008, 29:996-1011.
  - [22] Bratu S, Landman D, Haag R, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City[J]. *Arch Intern Med*, 2008, 168:1430-1435.
  - [23] Kochar S, Sheard T, Sharma R, et al. Success of an infection control program to reduce the spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2009, 30(3):447.
  - [24] Endimiani A, Depasquale JM, Forero S, et al. Emergence of blaK-PC-containing *Klebsiella pneumoniae* in a long-term acute care hospital: a new challenger to our healthcare system[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 4:1102-1110.
  - [25] Munoz-Price LS, Hayden MK, Lolans K, et al. Successful control of an outbreak of *Klebsiella pneumoniae* at a long-term acute care hospital[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2010, 31:341-347.
  - [26] Thomson KS. Double-carbapenem therapy not proven to be more active than carbapenem monotherapy against KPC-positive *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(7):652-655.
  - [27] Jernigan MG, Press EG, Nguyen MH, et al. The combination of doripenem and colistin is bactericidal and synergistic against colistin-resistant, carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Am Soc Microbiol*, 2012, 56(16):3395-3398.
  - [28] Eric G, Martha S, Zonaira G, et al. Polymyxin combination therapy and the use of serum bactericidal titers in the management of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: A report of 3 cases[J]. *Case Rep Med*, 2011, 2011:659769.
  - [29] Stachyra T, Lévassieur P, Pechereau M, et al. In vitro activity of beta-lactamase inhibitor NXL104 against KPC-2 carbapenemase and *Enterobacteriaceae* expressing KPC carbapenemases[J]. *J Antimicrob Chem*, 2009, 64:326-329.
  - [30] Livermore D, Mushtaq S, Warner M, et al. NXL combinations versus *Enterobacteriaceae* with CTX-M extended-spectrum beta-lactamases and carbapenemases[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 62(12):1053-1056.
  - [31] Vaara M, Fox J, Loidl G, et al. Novel polymyxin derivatives carrying only three positive charges are effective antibacterial agents[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(28):3229-3236.
  - [32] Endimiani A, Hujer K, Hujer A, et al. ACHN-490, a Neoglycoside with potent in vitro activity against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(30):4504-4507.
  - [33] Hirsch EB, Ledesma KR, Chang KT, et al. In vitro activity of MK-7655, a novel-lactamase inhibitor, in combination with imipenem against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria[J]. *Am Soc Microbiol*, 2012, 56(35):3753-3757.