

网络出版时间: 2018-4-27 9:40 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180426.1411.017.html>

# 某医院黏质沙雷菌碳青霉烯耐药机制及流行病学研究

饶碧华, 储新民

**摘要** 目的 研究院内黏质沙雷菌碳青霉烯类药物的耐药机制,并探索其院内分子流行病学特征,以期临床合理运用抗生素和预防、控制其感染提供依据。方法 收集2017年某三甲医院临床分离物中无重复患者的黏质沙雷菌株标本,以Vitek 2 Compact检测药敏结果,改良Hodge试验(MHT)检测碳青霉烯酶,PCR检测碳青霉烯酶类基因,ERIC-PCR分析菌株克隆型。结果 筛选获得17株耐碳青霉烯黏质沙雷菌株,主要来自于重症医学科和干部病房,对阿米卡星、复方新诺明100%敏感,对环丙沙星、庆大霉素、氨曲南、头孢曲松呈现高度耐药。14株为碳青霉烯酶表型阳性,10株细菌含有CTX-M-14,5株含有KPC-2,2株含有TEM,1株含有NDM-1,1株含有SHV基因,并出现了一株细菌携带多种耐药基因的情况。结论 院内黏质沙雷菌碳青霉烯耐药严重,耐药基因以CTX-M-14和KPC-2为主。17株细菌中11株为同一型别,可能由院内感染引起,需要院感、检验科等相关部门通力合作、加强防范,预防和控制其感染。  
**关键词** 黏质沙雷菌; 碳青霉烯酶; 耐药机制; 分子流行病学中图分类号 R 446.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)05-0745-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.017

黏质沙雷菌是肠杆菌科中重要的条件致病菌之一,常贮存于成人泌尿道、呼吸道以及儿童的胃肠道等部位,当机体免疫功能降低可引起泌尿系统感染、肺炎、败血症等。根据2014~2016年CHINET中国

细菌耐药性检测报告,提示近年来黏质沙雷菌分离率和耐药率日益上升,2016年沙雷菌属占有所有标本分离菌株的1.16%,居革兰阴性杆菌的第9位,已经成为临床上医院感染重要病原菌属。黏质沙雷菌是沙雷菌属中临床最常见的一种,定期监测其临床分布和耐药性变化对预防和控制医院感染极为重要。碳青霉烯类抗生素对几乎所有由质粒或染色体介导的 $\beta$ 内酰胺酶稳定,且具有良好的通透性,是目前抗菌谱最广的抗菌药物,具有快速杀菌的作用,包括亚胺培南、美罗培南、厄他培南、帕尼培南等<sup>[1]</sup>,是治疗细菌感染的终极武器。但是,近年来随着碳青霉烯类药物在临床上广泛使用,对碳青霉烯类药物耐药的黏质沙雷菌比例日益增高,给患者的感染控制带来了严峻考验。该实验主要研究黏质沙雷菌碳青霉烯耐药机制,同时对耐药菌的同源性进行探究,为院内爆发性感染进行预防控制奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株的来源** 收集院内2017年3~7月临床分离物中无重复患者的黏质沙雷菌株25株,其中非敏感菌株17株(14株耐药、3株中介)作为实验标本。质控菌株为大肠杆菌标准菌株ATCC25922、ATCC8739和肺炎克雷伯菌株ATCC BAA-1705、ATCC BAA-1706。

**1.2 仪器与试剂** 主要仪器包括VITEK 2 Compact全自动微生物分析系统(法国梅里埃生物公司);MALDI-TOF-MS基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(北京毅新博创生物科技公司);Biometra PCR

2018-01-03 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(编号:81101312)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院检验科,合肥 230001

作者简介: 饶碧华,女,硕士研究生;

储新民,男,副主任技师,硕士生导师,责任作者,E-mail: chuxm0211@163.com

~1.5. The suitable range of fluorogenic reporters was 0.2~32  $\mu\text{mol/L}$ ; the appropriate dynamic detection interval was 2 min; the continuous detection time was 30~120 min. The  $K_m$  and  $K_{cat}$  values of the BLc fluorogenic reporters were determined by enzyme kinetic parameters, respectively ( $17.6 \pm 2.6$ )  $\mu\text{mol/L}$  and ( $4.16 \pm 0.28$ )  $\text{s}^{-1}$ . Similarly, the  $K_m$  and  $K_{cat}$  values of the TLc were ( $40.8 \pm 3.5$ )  $\mu\text{mol/L}$  and ( $2.65 \pm 0.32$ )  $\text{s}^{-1}$  respectively. **Conclusion** The FRET-based analytical method is successfully established, which can meet the high-throughput *in vitro* screening of tetanus toxin and botulinum toxin type B and its inhibitors.

**Key words** FRET; botulinum toxin; tetanus toxin; high throughput screening

扩增仪(德国 Biometra 公司); POWERPAC BASIC 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司); Bio-Top 凝胶成像仪(上海山富科学仪器有限公司); Sigma 1-14 小型台式离心机(德国西格玛公司)。主要试剂包括 GN 鉴定卡和 GN13 药敏卡(法国梅里埃生物公司); 细菌基因组 DNA 快速抽提试剂盒和即用 PCR 扩增试剂盒(上海生工生物工程公司); 药敏纸片(英国 OXOID 公司)。

1.3 引物 引物 SME-1、VIM-2、IMP-1、OXA-23、OXA-48、NDM-1、KPC-2、TEM、SHV、GES、CTX-M-1、CTX-M-2、CTX-M-9 由 clone manager 设计, CTX-M-9、ERIC 参考文献<sup>[2-3]</sup>, 由安徽通用生物公司合成, 见表 1。

表 1 PCR 扩增的引物序列及分子片段大小

| 引物名称    | 引物序列(5'-3')               | 温度<br>(℃) | 片段大小<br>(bp) |
|---------|---------------------------|-----------|--------------|
| SME-1   | F: GGCTCAGGTATGACATTAGG   | 59        | 419          |
|         | R: GGCCAAATGACGGCATAATC   | 61        |              |
| VIM-2   | F: TTGACCGCTCTATCATGGC    | 64        | 668          |
|         | R: TGTGCTTCCGGGTAGTGTG    | 64        |              |
| IMP-1   | F: GGAGCAGCAACGATGTTACG   | 63        | 859          |
|         | R: GCGCAACTTACAACTGTCC    | 62        |              |
| OXA-23  | F: CGCCTATTCAAGAGGTAGAG   | 58        | 752          |
|         | R: AACCAGCAACCGTCGACATC   | 65        |              |
| OXA-48  | F: CCTGCGGTAGCAAAGGAATG   | 63        | 614          |
|         | R: ACCCACCAGCCAATCTTAGG   | 63        |              |
| NDM-1   | F: ACGATCATGCTGGCCTTGGG   | 67        | 697          |
|         | R: CCGCATTAGCCGCTGCATTG   | 67        |              |
| KPC-2   | F: CGCGGAACCATTCGCTAAAC   | 64        | 734          |
|         | R: CGCTGTGCTTGTCACTCTTG   | 63        |              |
| TEM     | F: TTTCCGTGTGCCCTTATTC    | 62        | 794          |
|         | R: CATCCATAGTTGCCTGACTC   | 59        |              |
| SHV     | F: CAAAGCGAAAGCCAGCTGTC   | 64        | 767          |
|         | R: CGTTGCCAGTCTCGATAAG    | 63        |              |
| GES     | F: CCTTCAAGACCGATCTTGAG   | 59        | 757          |
|         | R: CCGACAGAGGCAACTAATTC   | 60        |              |
| CTX-M-1 | F: CACGCTGTTGTAGGAAGTG    | 61        | 760          |
|         | R: TTGAGGCTGGGTGAAGTAAG   | 61        |              |
| CTX-M-2 | F: GCCGCTCAATGTTAACGGTG   | 64        | 724          |
|         | R: TCGTTGTTGGTCCATAATC    | 62        |              |
| CTX-M-9 | F: GCCGCTCAATGTTAACGGTG   | 53        | 831          |
|         | R: CGGCTGGGTAAATAGGTCA    | 53        |              |
| ERIC    | F: ATGTAAGCTCTGGGGATTAC   | 56        |              |
|         | R: AAGTAAGTGAAGTGGGTGAGCG | 56        |              |

1.4 碳青霉烯耐药表型筛选 参照 CLSI 指南应用改良 Hodge 试验(modified Hodge test, MHT) 检测, 被测菌株与大肠埃希菌 ATCC25922 抑菌环交汇处大肠埃希菌生长增强, 即为改良 Hodge 试验阳性, 提示待测菌株产生碳青霉烯酶。肺炎克雷伯菌株

ATCC BAA-1705、ATCC BAA-1706 分别为阳性和阴性的质控菌株。

1.5 细菌鉴定与药敏 应用 VITEK-2 Compact 全自动微生物分析系统进行细菌鉴定, 运用飞行时间质谱仪来进行复核细菌鉴定结果, 以保证实验菌株的准确性。另外, 运用 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统检测 MIC, 根据 CLSI M100 S25 标准对结果进行判读。

1.6 耐药基因的检测与分析 提取基因组 DNA 作为模板, 设置 PCR 反应体系为 50  $\mu$ l, 其包括 sterilized ddH<sub>2</sub>O 22  $\mu$ l、2  $\times$  HiFi-PCR Master 25  $\mu$ l、DNA 模板 1  $\mu$ l、上下游引物各 1  $\mu$ l(浓度为 20  $\mu$ mol/L)。PCR 扩增条件为 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火温度 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 个循环, 72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min。配制 1% 的琼脂糖凝胶对产物进行电泳 45 min, 结束后凝胶成像仪内紫外灯观察结果。

1.7 同源性分析 利用 ERIC-PCR 对 17 株耐药黏质沙雷菌进行同源性分析, 反应体系如 1.6 所述, PCR 扩增条件为 95  $^{\circ}$ C 预变性 7 min, 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 50  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 65  $^{\circ}$ C 延伸 6 min, 30 个循环, 65  $^{\circ}$ C 延伸 12 min。配制 1.2% 的琼脂糖凝胶在 100 V 电压下对产物进行电泳 70 min, 结束后置凝胶成像仪观察结果。

## 2 结果

2.1 标本来源基本情况分析 患者年龄 1 ~ 100 (64  $\pm$  28) 岁, 其中男 14 例(82.4%), 女 3 例(17.6%)。以深部痰标本为主(15 株, 89.5%), 仅 2 株为引流液标本(10.5%)。科室分布主要为重症医学科(10 株, 58.8%), 其次为干部病房(5 株, 29.4%) 和脑外科(2 株, 11.8%)。

2.2 改良 Hodge 试验的结果 17 株细菌中 MHT 阳性 14 株(82.4%)。其中部分阳性结果示意图见图 1, 其中 1705、1706 分别为 MHT 的阳性及阴性质控菌株。

2.3 药敏结果分析 17 株非敏感菌对氨曲南、环丙沙星、头孢曲松、厄他培南、亚胺培南、庆大霉素高度耐药, 呈现明显的多重耐药的征, 对阿米卡星和复方新诺明敏感。8 株敏感菌仅对头孢曲松表现出高度耐药和妥布霉素中介, 其余药物敏感性较高。见表 2。

2.4 耐药基因特异性引物 PCR 扩增结果 PCR 扩增后进行测序, 最后确认检测出 10 株细菌含有

CTX-M-14,5 株含有 KPC-2,2 株含有 TEM,1 株含有

表 2 17 株耐碳青霉烯类和 8 株敏感黏质沙雷菌药敏结果( n )

| 抗菌药物      | 耐药菌( R% ) | 敏感菌( R% ) | 耐药菌( S% ) | 敏感菌( S% ) | 耐药菌( I% ) | 敏感菌( I% ) |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 阿米卡星      | 0/17      | 0/8       | 17/17     | 8/8       | 0/17      | 0/8       |
| 氨曲南       | 16/17     | 1/8       | 1/17      | 7/8       | 0/17      | 0/8       |
| 头孢他啶      | 10/17     | 1/8       | 7/17      | 7/8       | 0/17      | 0/8       |
| 环丙沙星      | 13/17     | 2/8       | 2/17      | 6/8       | 2/17      | 0/8       |
| 头孢曲松      | 17/17     | 5/8       | 0/17      | 3/8       | 0/17      | 0/8       |
| 厄他培南      | 14/17     | 0/8       | 3/17      | 8/8       | 0/17      | 0/8       |
| 头孢吡肟      | 1/17      | 0/8       | 2/17      | 7/8       | 14/17     | 1/8       |
| 庆大霉素      | 14/17     | 2/8       | 3/17      | 6/8       | 0/17      | 0/8       |
| 亚胺培南      | 15/17     | 0/8       | 0/17      | 8/8       | 0/17      | 0/8       |
| 左旋氧氟沙星    | 12/17     | 2/8       | 5/17      | 6/8       | 0/17      | 0/8       |
| 复方新诺明     | 0/17      | 1/8       | 17/17     | 7/8       | 0/17      | 0/8       |
| 妥布霉素      | 12/17     | 1/8       | 1/17      | 3/8       | 4/17      | 4/8       |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 0/17      | 0/8       | 3/17      | 8/8       | 14/17     | 0/8       |

R( resistance,耐药) ; S( sensitive,敏感) ; I( intermediate,中介)

NDM-1,1 株含有 SHV 基因,并出现了 6 株细菌同时含有多种耐药基因的情况,同时也有 5 株细菌未检出任何耐药基因。耐药基因 SME-1、VIM-2、IMP-1、OXA-23、OXA-48、GES、CTX-M-1、CTX-M-2 均未检出阳性结果,见图 2、3。

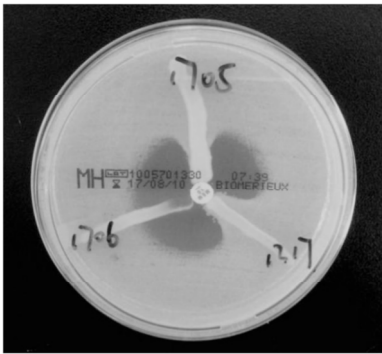


图 1 部分黏质沙雷菌 MHT 结果



图 2 17 株细菌 KPC-2 阳性结果示意图

M: DL Marker 2 000; N: 阴性对照; 3、4、12、15、17: 阳性标本,分子大小为 734 bp; 其余为阴性标本

2.5 同源性分析 结果判断依据条带完全相同者为同一基因型,相差一条为同一基因型中的不同亚

型,相差两条以上为不同基因型<sup>[4]</sup>。实验结果判断 17 株细菌中有 11 株( 1、3、5、6、7、10、11、13、14、15、17) 为同一型别,2、4、8、9、12、16 为各自型别,见图 4。

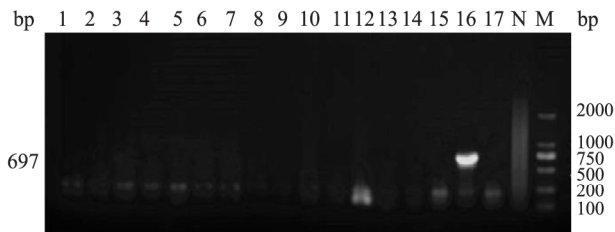


图 3 17 株细菌 NDM-1 阳性结果示意图

M: DL Marker 2 000; N: 阴性对照; 16: 阳性标本,分子大小为 697 bp; 其余为阴性标本

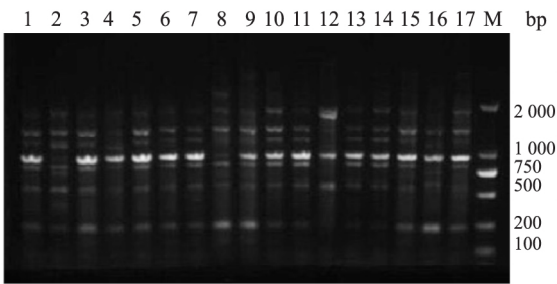


图 4 17 株细菌 ERIC-PCR 分型

M: Marker; 1 ~ 17: 标本号

### 3 讨论

黏质沙雷菌具有侵袭性并对多种常用的抗生素天然耐药,是引起肠道外感染的重要病原菌,可致肺炎、菌血症、泌尿系统、外科手术部位等感染。通过对收集菌株来源的分析,结果显示耐碳青霉烯黏质

沙雷主要来自重症医学科和干部病房,患者平均年龄 64 岁,说明患者年龄大以及自身免疫情况差是黏质沙雷菌感染的重要因素,与黄中海等<sup>[5]</sup>研究一致。其耐碳青霉烯类抗生素问题已经引起了高度关注,2014、2015 年 CHINET 全国耐药监测显示黏质沙雷对亚胺培南、美罗培南的耐药率分别为 6.7%、7.0% 和 8.1%、8.3%,直至 2016 年的 8.6%、8.3%,耐药率呈现出不断上升的趋势<sup>[6]</sup>。在本院收集的 25 株黏质沙雷菌中,14 株对碳青霉烯类药物耐药,并有 3 株呈现出中介的情况,耐药的比率高达 56%,远远高于全国平均水平。

分析 2016 年 CHINET 全国药敏数据显示沙雷菌属对厄他培南、头孢吡肟、头孢他啶、阿米卡星、亚胺培南和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率均 $\leq 10\%$ ,而本次研究收集的 25 株黏质沙雷菌药敏结果仅阿米卡星与 CHINET 结果一致,厄他培南、头孢吡肟、头孢他啶、亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦耐药率远高于全国平均数据。17 株耐碳青霉烯类黏质沙雷菌与侯沪等<sup>[7]</sup>文献中提到的 165 株耐碳青霉烯类黏质沙雷菌药敏结果相比较,阿米卡星、氨曲南、头孢吡肟、庆大霉素、复方新诺明耐药率较为一致;头孢他啶、环丙沙星、左旋氧氟沙星、妥布霉素、哌拉西林/他唑巴坦差异较大,除哌拉西林/他唑巴坦耐药率为 0 之外,其他耐药率均大幅度高于其药敏结果。说明本院黏质沙雷菌耐药情况严重,抗生素选择有限,推荐临床使用阿米卡星或复方新诺明治疗,其他药物根据药敏结果合理使用。

黏质沙雷菌耐药机制复杂,包括:①产碳青霉烯酶;②高产 ESBL 或高产 AmpC 酶合并孔道蛋白缺失或下调,导致对碳青霉烯类抗生素的敏感性降低;③碳青霉烯类抗生素的作用靶点 PBP 蛋白改变。产碳青霉烯酶为耐碳青霉烯类黏质沙雷菌的主要机制<sup>[8]</sup>。在本次的研究中检测出了 KPC-2、NDM-1 碳青霉烯酶和 TEM、SHV、CTX-M-14 超广谱酶。KPC-2 是我国目前肠杆菌科细菌耐碳青霉烯类药物最常见的碳青霉烯酶<sup>[8-9]</sup>。依据 Bush 分类,KPC 属于丝氨酸酶 A 中的 2f 分类。最初于 2001 年在美国北卡罗来纳州于肺炎克雷伯菌分离株中被描述,并且在全世界迅速出现并传播,特别是肠杆菌科细菌中。随后主要在美国、中国、以色列和几个欧洲国家被报道。Cuzon et al<sup>[10]</sup>发现大多数细菌含有 KPC-2 时并会同时具有其他获得性  $\beta$ -内酰胺酶基因,与本次实验结果较为符合。此次实验还发现了国内偶见报道的 NDM-1 基因,NDM-1 阳性菌株的首次发现是在

2008 年瑞典,一位由于在印度新德里获得肺炎克雷伯菌感染而引起尿路感染的患者中<sup>[11]</sup>。NDM-1 是一种超级耐药基因,能够编码新的耐药酶,全称为“新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶 1”。此酶具有高效性,能水解除氨曲南以外的所有  $\beta$ -内酰胺类药物<sup>[12]</sup>。产生 NDM-1 的多重耐药细菌引起的感染通常需要两种或三种抗生素联合治疗<sup>[11]</sup>。

在本研究中运用到的 MHT 易于操作,无需特殊的试剂或者培养基就可以检测碳青霉烯酶。17 株细菌中 14 株结果为阳性,与 PCR 扩增结果相一致,同时也出现了 MHT 阳性但并未检测出耐药基因,可能因为菌株产 ESBL 或 AmpC 合并外膜蛋白缺失<sup>[13]</sup>。这个需要下一步的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 检测外膜蛋白情况和 RT-PCR 半定量表达的 AmpC。

ERIC-PCR 揭示了 17 株细菌的同源性情况。由于每个细菌基因组上的 ERIC 重复序列的数目和分布不同,ERIC-PCR 通过对两个相邻的 ERIC 保守序列之间区域的扩增,可以得到由一系列大小不同片段组成的 DNA 指纹图谱。通过 ERIC-PCR 鉴定 17 株细菌中 11 株为同一个型别,其他 6 株为各自不同型别。这 11 株细菌的同型别提示应当注意耐碳青霉烯类黏质沙雷在医院内的播散。碳青霉烯酶可以通过诸如整合子或质粒的移动元件进行扩散,不断的监视将是防止传播的最佳措施之一<sup>[14]</sup>。加强无菌物品和各种管道及医疗设施、器械的消毒管理;加强手卫生的管理,提高医务人员手卫生的意识;严格实施无菌操作和消毒隔离措施,防止患者之间的交叉感染<sup>[15]</sup>;合理、谨慎地使用抗菌药物,以延缓和减少耐药菌的产生。总而言之,医院黏质沙雷菌检出率较高,耐药性增加,耐药机制复杂,应强调临床合理选择用药和持续监督及有效预防措施,以控制和减少耐碳青霉烯类黏质沙雷菌的传播。

## 参考文献

- [1] 倪语星,尚红.临床微生物学检验[M].5版.北京:人民卫生出版社,2013:48.
- [2] Song W, Lee H, Lee K, et al. CTX-M-14 and CTX-M-15 enzymes are the dominant type of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli* from Korea [J]. J Med Microbiol, 2009, 58( Pt 2): 261-6.
- [3] 蒯守刚.肠杆菌科细菌碳青霉烯类抗菌药物耐药机制研究[J].镇江:江苏大学,2009.
- [4] 赵慧铮,师志云,李刚,等.耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药性分析与分子流行病学研究[J].中华医院感染学杂志,2016, 26(3): 494-7.

- [6] 黄中海,黄升海,王中新,等.碳青霉烯类耐药粘质沙雷菌  $\beta$ -内酰胺类耐药基因研究 [J]. 安徽医科大学学报,2017,52( 3): 313-8.
- [7] 胡付品,朱德妹,汪复,等.2014年 CHINET 中国细菌耐药性检测 [J]. 中国感染与化疗杂志,2015,15( 5): 401-10.
- [8] 侯沪,李爱敏,唐曙明.165株粘质沙雷菌耐碳青霉烯基因检测与克隆型分析 [J]. 现代预防医学,2015,42( 21): 3955-8.
- [9] 张芳芳,王晓丽,瞿洪平,等.肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶的主要类型和流行病学分析 [J]. 中国感染与化疗杂志,2014,14( 6): 521-5.
- [10] Lin X, Hu Q, Zhang R, et al. Emergence of *Serratia marcescens* isolates possessing carbapenem-hydrolysing  $\beta$ -lactamase KPC-2 from China [J]. J Hosp Infect, 2016, 94( 1): 65-7.
- [11] Cuzon G, Naas T, Correa A, et al. Dissemination of the KPC-2 carbapenemase in non-*Klebsiella pneumoniae* enterobacterial isolates from Colombia [J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 42( 1): 59-62.
- [12] Yong D, Toleman M A, Giske C G, et al. Characterization of a new metallo- $\beta$ -lactamase gene, bla( NDM-1 ), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53( 12): 5046-54.
- [13] 陈娇,吴秀珍,刘康,等.江西地区鲍曼不动杆菌 NDM-1 及其他碳青霉烯酶基因检测研究 [J]. 中国感染控制杂志,2017,16( 2): 109-14.
- [14] Carvalhaes C G, Picão R C, Nicoletti A G, et al. Cloverleaf test ( modified Hodge test ) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results [J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65( 2): 249-51.
- [15] Lee H K, Park Y J, Kim J Y, et al. Prevalence of decreased susceptibility to carbapenems among *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, and *Citrobacter freundii* and investigation of carbapenemases [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2005, 52( 4): 331-6.
- [16] 黄勋,邓子德,倪语星,等.多重耐药菌医院感染预防与控制中国专家共识 [J]. 中国感染控制杂志,2015,14( 1): 1-9.

## Drug resistance mechanisms of carbapenem-resistance *Serratia marcescens*

Rao Bihua, Chu Xinmin

( Dept of Laboratory Medicine, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001 )

**Abstract Objective** To explore the production of carbapenemase of carbapenem-resistance *Serratia marcescens* and to investigate molecular epidemiological characteristics of these strains. It was hoped that it can provide the basis for clinical rational use of antibiotics and prevention and control of their infection. **Methods** Collected clinical isolates of non-repeat patients with *Serratia marcescens* strains in the hospital, with Vitek-2 Compact automatic microbial system for drug susceptibility testing. A strain that was insensitive to carbapenem antibiotics can be screened. Modified Hodge test was used to detect carbapenemase activity. PCR was used to detect carbapenemase genes and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases genes expression. Then the positive products were sequenced and compare to the blast. Enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR( ERIC-PCR ) was used for DNA typing and test of homology. **Results** At last, 17 strains were obtained by screening. Drug sensitive testing showed that most of the antibiotics were not sensitive, the higher the sensitivity rate of amikacin, trimethoprim/sulfamethoxazole. Ciprofloxacin, gentamicin, aztreonam, ceftriaxone had a high resistance rate. Fourteen positive strains were detected by the modified Hodge test. The blaCTX-M-14 was detected in 10 strains, the blaKPC-2 was detected in 5 strains, the blaTEM was detected in 2 strains, the blaNDM-1 was detected in 1 strains, the blaSHV was detected in 1 strains of *Serratia marcescens*. Meanwhile, the emergence of a bacteria containing a variety of resistance genes. **Conclusion** Carbapenem-resistance of clinically isolated *Serratia marcescens* is a serious problem. Production of KPC-2 and CTX-M-14 carbapenemases is an important mechanism of resistance to carbapenem antibiotics. 11 of 17 carbapenem-resistant strains are identified to the same type, which indicates that it may spread in the hospital. Effective measures are urgently needed for early identification and control to prevent the spread of these carbapenemase-resistance *S. marcescens*. At the same time, it is need to strengthen hand hygiene and sterilization of commonly used equipments.

**Key words** *Serratia marcescens*; carbapenemase; resistance mechanism; molecular epidemiological