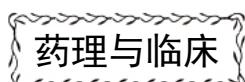


文章编号：1001-8689((2018)01-0085-06



碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌分子流行病学及耐药机制

姚欣 冯莉 朱艮苗*

(重庆市巴南区人民医院检验科，重庆 401320)

摘要：目的 研究碳青霉烯类耐药的肺炎克雷伯菌分子流行病学及对碳青霉烯类耐药机制。方法 KB法筛选对碳青霉烯类耐药的肺炎克雷伯菌临床分离株24株，同时采用微量肉汤稀释法测定这些细菌的最低抑菌浓度，改良Hodge实验检测碳青霉烯酶；PCR检测碳青霉烯酶基因(bla_{KPC} 、 bla_{IMP} 、 bla_{NDM} 、 bla_{VIM} 、 bla_{IMI} 、 bla_{SPM} 、 $bla_{NDMOXA-23}$ 、 $bla_{NDMOXA-24}$ 、 $bla_{NDMOXA-48}$ 和 $bla_{NDMOXA-58}$)。结果 药敏试验显示碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌具有多重耐药性。PCR扩增碳青霉烯酶基因， bla_{IMP} 阳性率为58.3%，经测序为IMP-4，其余均为阴性。结论 肺炎克雷伯菌临床分离株对碳青霉烯类抗生素的耐药机制主要与产IMP-4金属酶有关。

关键词：肺炎克雷伯菌；碳青霉烯酶基因**中图分类号：**R978 **文献标志码：**A

Molecular epidemiology and resistant mechanisms of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*

Yao Xin, Feng Li and Zhu Gen-miao

(Banan People's Hospital of Chongqing, Chongqing 401320)

Abstract Objective To investigate molecular epidemiology and mechanisms of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems. **Methods** Antimicrobial susceptibility test was done on 24 strains of *Klebsiella pneumoniae* by the Kirby-Bauer method. The minimal inhibitory concentrations (MICs) of the antimicrobial agents were determined by the microdose broth dilution method. A modified Hodge test may assist in confirming the presence of carbapenemase. The genotype of KPC, IMP, NDM, VIM, IMI, SPM, OXA-23, OXA-24, OXA-48, and OXA-58 was detected by the polymerase chain reaction (PCR). **Results** Clinical isolates of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* were multi-drug resistant. Positive rate of bla_{IMP} in *Klebsiella pneumoniae* was 58.3% (It was later detected as IMP-4). But no KPC, NDM, VIM, IMI, SPM, OXA-23, OXA-24, OXA-48, and OXA-58 genes were detected. **Conclusion** Production of metallo-β-lactamase IMP-4 in *Klebsiella pneumoniae* was the main mechanisms of carbapenem resistance.

Key words *Klebsiella pneumoniae*; Carbapenemases

碳青霉烯类药物是治疗革兰阴性菌感染，特别是肠杆菌科细菌的最强效β-内酰胺类药物。一旦碳青霉烯类药物耐药，临床治疗此类菌株感染将面临极大困难。目前，碳青霉烯类药物耐药的肠杆菌科

细菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)已在很多国家出现和报道。碳青霉烯类抗菌药物作为新型β-内酰胺酶类抗菌药物，是治疗产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)最有效的抗菌药物，成为抵御产

收稿日期：2017-02-20

基金项目：国家高技术研究发展计划(863计划)(No. 2015AA020110)

作者简介：姚欣，女，生于1982年，主管检验师，研究方向为临床微生物，E-mail: yao-x@163.com

*通讯作者，E-mail: 1559648758@qq.com

ESBLs革兰阴性菌的最后一道屏障^[1]。肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KPN)作为院内感染和社区获得性感染重要的肠杆菌科细菌,对碳青霉烯类耐药近年来也有文献报道^[2],国外SENTRY监测结果显示KPN对碳青霉烯类耐药率为5.3%^[3],国内Mohnarin监测结果表明KPN中CRE的发生率逐年上升,从2009年的3.2%升至2012年的6.0%,但不同地区结果不尽相同。对碳青霉烯类抗生素耐药的肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)逐渐增多,给临床抗感染治疗带来严峻挑战,CRKP的感染已成为院内死亡的独立危险因素,为近几年国内外抗感染研究的热点^[4]。本文对某医院收集的对碳青霉烯类耐药的KPN进行分子流行病学和介导碳青霉烯类药物耐药基因的相关研究,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

肺炎克雷伯菌源自2015年1月—2015年12月临床分离株(同一患者只留取初次分离株)。全部菌株均使用Vitek-2 Compact全自动微生物鉴定系统鉴定菌种。

1.2 抗菌药物敏感性试验

用KB法测定17种抗菌药物的敏感性。药敏纸片:左氧氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、头孢唑林、哌拉西林/三唑巴坦、头孢呋辛、头孢吡肟、氨曲南、头孢他啶、哌拉西林、头孢噻肟、头孢哌酮、头孢曲松、亚胺培南、美罗培南、厄他培南和头孢西丁为英国Oxoid公司产品。MH培养基由重庆庞大医疗器械有限公司提供。同时采用微量肉汤稀释法测定菌株对左氧氟沙星(西南药业,批号:150304)、环丙沙星(重庆药友,批号:150601-2)、哌拉西林(湖北威尔曼,批号:150310)、哌拉西林/三唑巴坦(山东瑞阳,批号:150206)、头孢他啶(海口制药,批号:150702)、头孢吡肟(重庆科瑞,批号:864011)、头孢曲松(重庆科瑞,批号:885003)、头孢噻肟(安徽威尔曼,批号15080109)、亚胺培南(印度ranb,批号:2701088)、美罗培南(海日制药,批号:141102)、庆大霉素(重庆迪康,批号:151006)和妥布霉素(重庆迪康,批号:150603)的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC),药品来源于医院药房注射用药。根据美国临床实验室标准化研究协会(CLSI)2015年版标准进行敏感性判断,其中把碳青霉烯类耐药KPN作为本研究的实验菌株。

1.3 PFGE

将细菌悬液调成 1.2×10^9 CFU/mL与2%的低熔点琼脂糖1:1等量混合,制备琼脂糖块,蛋白酶K消化24h,限制性内切酶Xba I 37℃酶切24h。电泳条件:14℃,6V/cm,脉冲4~40s,电泳22.5h。EB染色20min,凝胶成像系统观察结果并分析结果^[5-6]。

1.4 碳青霉烯酶表型检测

1.4.1 改良Hodge试验

按照CLSI(2015年)标准进行,1.5×10⁸CFU/mL大肠埃希菌ATCC25922菌液稀释10倍后均匀涂布MH平板,贴美罗培南(10μg)纸片,接种待检细菌自纸片外缘向平板边缘划直线,35℃孵育16~18h后观察结果,美罗培南抑菌圈内出现待检菌矢状生长者为产碳青霉烯酶菌株。金属酶表型检测(EDTA增强和协同实验):1.5×10⁸CFU/mL待检菌涂布MH平板,贴2张美罗培南(10μg),相距4cm,其中一张美罗培南滴加0.5mol/L EDTA 10μL;在另一张美罗培南纸片相距1.5cm处贴空白纸片并滴加0.5mol/L EDTA 10μL。35℃孵育16~18h后观察结果,若美罗培南抑菌圈在靠近EDTA纸片侧明显扩大者和加EDTA美罗培南纸片抑菌圈比没加EDTA美罗培南抑菌圈大5mm者判断金属酶阳性。

1.4.2 Carba NP试验

取24株待测菌株,无菌生理盐水乳化后超声破壁法提取酶粗提物备用。按表1配制检测液A、检测液B,备用。取微孔板,每个菌株做A、B两孔,分别向两孔中加入50μL酶粗提物和50μL对应的检测液A、B。混匀,放入35℃孵箱中孵育2h。结果判定参照CLSI 2016年标准,A孔为红色,B孔由红色变为黄色或橙黄色,Carba NP试验阳性,阳性结果说明该待测菌株产碳青霉烯酶;A孔为红色,B孔为红色,Carba NP试验阴性,阴性结果说明该待测菌株不产碳青霉烯酶。

1.5 碳青霉烯酶基因检测

以煮沸法制备细菌总DNA。用PCR方法检测bla_{KPC}、bla_{IMP}、bla_{NDM}、bla_{VIM}、bla_{IMI}、bla_{SPM}、bla_{OXA-23}、bla_{OXA-24}、bla_{OXA-48}和bla_{OXA-58}型碳青霉烯酶的编码基因。各基因的扩增引物如表1。引物序列由上海生工生物公司合成。引物序列详见表2。各靶基因PCR扩增体系:每反应体系上、下游引物各0.5μmmol/L,dNTPs各200mmol/L,KCl 10mmol/L,(NH₄)₂SO₄ 8mmol/L,MgCl₂ 2mmol/L,Tris-HCl(pH9.0) 10mmol/L,NP4

0.05%，BSA 0.02%(wt/vol)，*Taq* DNA pol 1U。总反应体积20μL(其中模板液5μL)。PCR扩增产物>500bp热循环参数：93℃预变性2min，然后93℃ 60s，55℃ 60s，72℃ 60s，循环35个周期，最后72℃延伸5min。PCR扩增产物<500bp热循环参数：93℃预变性2min，然后93℃ 30s，55℃ 30s，72℃ 60s，循环35个周期，最后72℃延伸5min。扩增产物作2%琼脂糖凝胶电泳，紫外凝胶电泳成像仪下观察，并纪录结果。

2 结果

2.1 24株碳青霉烯类耐药KPN来源以及对常用抗菌药物药敏情况

24株碳青霉烯类耐药KPN来源分布情况：13株来源于痰液、5株来源于脓液，3株来源于穿刺液，2

表1 Carba NP试验检测液A、B配制

Tab. 1 The compound of carba NP liquid A and B

检测液成分	检测液A	检测液B
亚胺培南	0	6mg
0.5%酚红+ 10mmol/L ZnSO ₄ , pH7.8(10×)	0.1mL	0.1mL
去离子水	0.9mL	0.9mL

表2 耐药基因名称、PCR引物序列、所在位置及预计产物长度

Tab. 2 Name of drug resistance gene, primer sequence of PCR and objective fragment size

目标基因	引物序列(5'-3')	产物长度/bp
<i>bla</i> _{KPC}	F: TCGCCGTCTAGTTCTGCTGTCTT	965
	R: CCGCGCAGACTCCTAGCCTAA	
<i>bla</i> _{IMP}	F: CTACCGCAGCAGACTCTTG	587
	R: AACCAAGTTTGCCCTTACCAT	
<i>bla</i> _{NDM}	F: TCACCGAGATTGCCGAGCGA	457
	R: GGGCAGTCGCTCCAACGGT	
<i>bla</i> _{VIM}	F: GGT CGCATATCGAACCGAGT	636
	R: CGCGACTGAGCGATTGTTG	
<i>bla</i> _{IMI}	F: CCATTCAACCATCACAAAC	440
	R: CTACCGCATAATCATTTGC	
<i>bla</i> _{SPM}	F: CTCGTTGGATTATGGCGC	783
	R: CCTTTCCGCGACCTTGATC	
<i>bla</i> _{OXA-23}	F: ACTTGCTATGTGGTTGCTCTT	797
	R: TTCA GCTTTTAATGATTCATCA	
<i>bla</i> _{OXA-24}	F: CGATCAGAATGTTCAAGCGC	559
	R: ACGATTCTCCCTCTGC	
<i>bla</i> _{OXA-48}	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG	744
	R: GAGCACTTCTTGATGGC	
<i>bla</i> _{OXA-58}	F: CGATCAGAATGTTCAAGCGC	529
	R: ACGATTCTCCCTCTGC	

株来源于导管和1株来源于血液。24株碳青霉烯类耐药KPN对常用抗菌药物药敏情况如表3所示，药敏结果显示对常用抗菌药物耐药率都非常高，均为多重耐药菌株。

2.2 PFGE结果

24株肺炎克雷伯菌的PFGE图谱显示染色体条带基本一致，为同一个克隆株(图1)。

2.3 碳青霉烯酶的表型检测结果

2.3.1 改良Hodge实验结果

24株KPN 14株阳性，阳性率为58.3%；EDTA增强与协同实验结果：24株KPN 14株阳性，阳性率为58.3%(图2~3)。

2.3.2 Carba NP试验结果

24株KPN 14株阳性，阳性率为58.3%(图4)。

2.3.3 碳青霉烯酶基因检测结果

24株碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶基因检测，有14株肺炎克雷伯菌IMP出现阳性。经基

表3 24株肺炎克雷伯菌对12种抗菌药物的MIC

Tab. 3 MIC of 12 antimicrobial drug from 24 KPN

抗生素	MIC范围 (μg/mL)	MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)
亚胺培南	4~128	16	32
美罗培南	4~128	16	32
头孢他啶	8~>512	64	128
头孢曲松	4~>512	64	256
头孢吡肟	2~512	32	128
头孢噻肟	4~>512	64	256
哌拉西林/三唑巴坦	128/4~>512/4	256/4	>512/4
哌拉西林	128~>512	256	>512
环丙沙星	1~64	4	32
左氧氟沙星	2~64	8	64
庆大霉素	2~>512	64	256
妥布霉素	2~>512	64	128

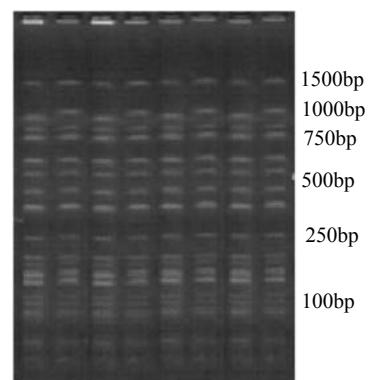
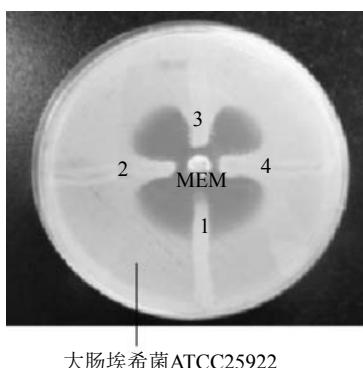


图1 肺炎克雷伯菌的脉冲场凝胶电泳图谱

Fig. 1 The atlas of KPN pulsed field gel electrophoresis



1: 肺炎克雷伯菌AYCC BAA-1706阴性对照；2: 肺炎克雷伯菌AYCC BAA-1705阳性对照；3~4: 待测菌株阳性结果

图2 改良Hodge实验

Fig. 2 Modified hodge test, MHT

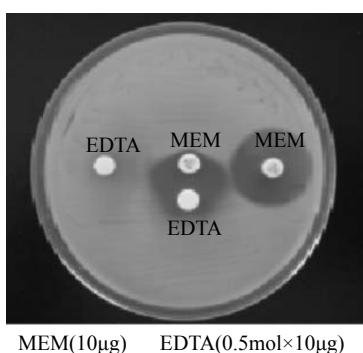


图3 EDTA增强和协同实验

Fig. 3 EDTA enhancement and synergistic effect

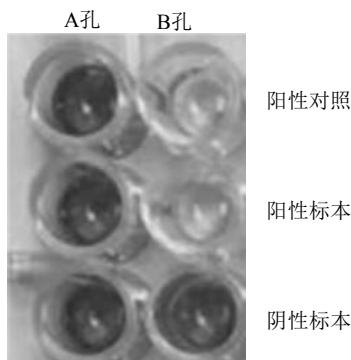


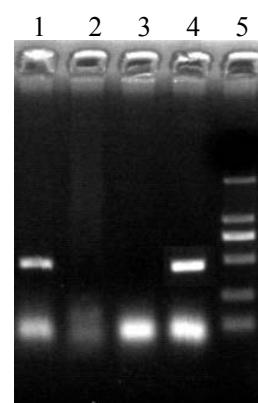
图4 Carba NP试验

Fig. 4 Carba NP test

因测序并比对，结果为IMP-4。其他碳青霉烯酶基因检测均为阴性，如图5。菌株扩增出的bla_{IMP}阳性的条带，基因测序经BLAST网上比对结果，如图6。

3 讨论

随着广谱抗生素的广泛应用，细菌的耐药性已成为全球医学界关注的问题。在社区及医院感染中，肠杆菌科细菌是重要的病原菌，临幊上多重耐药株的出现也使其耐药问题日益严峻。在所有β-内



1和4: 阳性结果；2和3: 阴性结果；5: Marker

图5 bla_{IMP} PCR产物电泳图

Fig. 5 The amplification results of PCR bla_{IMP}

酰胺类抗生素中，碳青霉烯类抗生素具有最广泛的抗菌活性，它对产生超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)、AmpC酶的革兰阴性菌有很好的疗效，是治疗革兰阴性菌感染最强效β-内酰胺类药物，随着应用的增加，对其耐药的报道也日渐增多。近年来，临幊上对碳青霉烯类抗生素耐药的细菌常见为非发酵菌如鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌等，值得注意的是，肠杆菌科细菌尤其是KPN对碳青霉烯类耐药性也逐渐增加，需引起我们的高度重视。碳青霉烯类药物耐药可以由3种机制引起。第一种为产碳青霉烯酶，目前国际流行的主要有KPC、IMP、VIM、NDM酶，我国流行的主要为KPC和IMP酶^[7]；第二种耐药机制是高产AmpC头孢菌素酶或超广谱β-内酰胺酶合并孔道蛋白(porin)缺失或表达降低导致的外膜通透性降低；第三种机制为碳青霉烯类药物作用位点PBP蛋白改变。到目前为止，前两种机制被认为是主要的耐药机制。近年来报道，KPN对碳青霉烯类耐药以产KPC型碳青霉烯酶为主^[8-9]。

本实验从临幊分离到24株肺炎克雷伯菌，药敏试验结果显示24株肺炎克雷伯菌均对亚胺培南和/或美罗培南耐药，且为多重耐药菌株。脉冲电场结果显示24株属于同一克隆。这值得院感部门高度警惕。改良Hodge试验和EDTA增强与协同实验结果显示，阳性率均为58.3%。24株肺炎克雷伯菌扩增10种常见碳青霉烯酶(KPC、IMP、NDM、VIM、IMI、SPM、OXA-23、OXA-24、OXA-48和OXA-58)基因，结果只有IMP阳性率为58.3%，经测序比对表明为IMP-4。

IMP型碳青霉烯酶属于金属酶，其能水解的底物包括青霉素类、头孢菌素类和碳青霉烯类药物，但

Query 5 CCATTTGCCTTACCATATTGGATATTAATAATTAGCGGACTTGGCCAAGCTCTA 64
 |||||||
 Sbjct 595 CCAGTTGCCTTACCATATTGGATATTAATAATTAGCGGACTTGGCCAAGCTCTA 536

Query 65 AATTGCGTCACCCAAATTACCTAGACCGTACGGTTAATAAAAACAACCACCGAATAATA 124
 |||||||
 Sbjct 535 AATTGCGTCACCCAAATTACCTAGACCGTACGGTTAATAAAAACAACCACCGAATAATA 476

Query 125 TTTCCCTTCAGGCAGCCAAACTACTAGGTTATCTGGAGTGTGCTGGCCTGGATAAA 184
 |||||||
 Sbjct 475 TTTCCCTTCAGGCAGCCAAACTACTAGGTTATCTGGAGTGTGCTGGCCTGGATAAA 416

Query 185 AAACCTCAATTATTTAACTAGCCAATAGTTAACCCGCCAATGAATTAGCTT 244
 |||||||
 Sbjct 415 AAACCTCAATTATTTAACTAGCCAATAGTTAACCCGCCAATGAATTAGCTT 356

Query 245 GAACCTTACCGTCTTTAAAGCAGCTCATTAGTTAACAGACGCATACGTGGGATGG 304
 |||||||
 Sbjct 355 GAACCTTACCGTCTTTAAAGCAGCTCATTAGTTAACAGACGCATACGTGGGATGG 296

Query 305 ATTGAGAATTAAGCCACTCTATTCCGCCGTGCTGTCACTATGAAAATGAGAGGAAATAC 364
 |||||||
 Sbjct 295 ATTGAGAATTAAGCCACTCTATTCCGCCGTGCTGTCACTATGAAAATGAGAGGAAATAC 236

Query 365 TGCCTTTATTTATGCCACGTTCCACAAACCAAGTGACTAACTTTCAGTATCTTAG 424
 |||||||
 Sbjct 235 TGCCTTTATTTATGCCACGTTCCACAAACCAAGTGACTAACTTTCAGTATCTTAG 176

Query 425 CCGTAAATGGAGTGTCAATTAGATAAGCTTCAGCATCTACAAGAACCAACCATGTG 484
 |||||||
 Sbjct 175 CCGTAAATGGAGTGTCAATTAGATAAGCTTCAGCATCTACAAGAACCAACCATGTG 116

Query 485 TAGGAACAAACGCCACCCGTTAACCTCTCAAACGAAGTATGAACATAAACGCCCTCAT 544
 |||||||
 Sbjct 115 TAGGAACAAACGCCACCCGTTAACCTCTCAAACGAAGTATGAACATAAACGCCCTCAT 56

Query 545 CAAGTTTCAATTAAATCTGGCAAAGACTCT-CTGGCGGGTAG 590
 |||||||
 Sbjct 55 CAAGTTTCAATTAAATCTGGCAAAGGCTCTGCTG-CGG-TAG 11

图6 bla_{IMP} 基因测序图Fig. 6 The sequencing figure of bla_{IMP} gene

不能水解氨曲南。质粒介导的IMP-1酶于1991年在日本的铜绿假单胞菌中首次发现^[10]，随后IMP型酶在世界多个国家多种菌种中被广泛检出。在中国大陆，最早由Hawkey等^[11]于2001年报道在广州的1株枸橼酸杆菌中发现IMP-4，随后在2006年上海报道了8株来源于同一克隆的产IMP-8 like酶的弗氏柠檬酸杆菌^[12]，2008年Mendes^[13]等报道了1株武汉的产IMP-4的肺炎克雷伯菌。目前IMP型金属酶也在四川、福建、广东、山东和上海等地有报道，涉及的病原菌主要有阴沟肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌和肺炎克雷伯菌等。

本实验通过对24株碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌耐药机制分析发现：本地区肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类耐药机制与产IMP-4金属酶有关，由于细菌耐药机制比较复杂，本实验只研究了肺炎克雷伯菌中碳青霉烯酶的因素，当然还有外膜蛋白的丢失，泵出机制等也可能是导致肠杆菌科细菌对碳青霉烯类药物耐药，还需进一步研究。耐碳青霉烯类抗生素肺炎克雷伯菌的出现应该引起高度重视，应加强耐药监测，严格控制医院感染，避免碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌的爆发流行。

参考文献

- [1] Tzouvelekis L S, Markogiannakis A, Piperaki E, et al. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(9): 862-872.
- [2] Pitout J D, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(10): 5873-5884.
- [3] Castanheira M, Mendes R E, Woosley L N, et al. Trends in carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. From Europe and the Americas: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2007-09) [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(6): 1409-1411.
- [4] 叶相如, 胡必杰, 周春妹, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌感染与定植患者预后相关因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015(11): 2489-2491.
- [5] Tenover F C, Arbeit R D, Goering R V, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing[J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(9): 2233-239.
- [6] Naas T, Nordmann P, Vedel G, et al. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(10): 4423-4424.
- [7] 黄秋艳, 邵世和, 周海健, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌基因检测及其同源性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(1): 56-61.
- [8] Leavitt A, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, et al. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(8): 3026-3029.
- [9] Wei Z Q, Du X X, Yu Y S, et al. Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(2): 763-765.
- [10] Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Agents Chemother*, 1991, 35(1): 147-151.
- [11] Hawkey P M, Xiong J, Ye H, et al. Occurrence of a new metallo- β -lactamase IMP-4 carried on a conjugative plasmid in *Citrobacter youngae* from the People's Republic of China[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 194(1): 53-57.
- [12] 骆俊, 朱德妹, 徐晓刚, 等. 泛耐药弗劳地枸橼酸杆菌产 β -内酰胺酶及同源性[J]. 中华传染病杂志, 2006, 24(5): 291-295.
- [13] Mendes R E, Bell J M, Turnidge J D, et al. Carbapenem-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* in China and detection of a conjugative plasmid (*bla*_{KPC-2} plus *qnrB4*) and a *bla*_{IMP-4} gene[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(2): 798-799.