

30株CRE临床感染特点及 bla_{NDM-1} 基因检出情况分析

董爱英¹ 陈东科² 李春娟³ 邢欢¹ 张嫫¹ 汪亚斯¹ 付玉冰¹

(1 华北理工大学附属医院, 唐山 063000; 2 北京医院检验科, 北京 100730; 3 开滦集团总医院, 唐山 063000)

摘要: **目的** 了解我院2013年4月—2014年3月临床分离的30株耐碳青霉烯类肠杆菌科(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)菌株 bla_{NDM-1} 基因型检出情况, 感染患者的临床特征, 以及对常用抗菌药物的耐药特点。**方法** 临床分离菌株由美国BD公司生产的Phoenix-100全自动细菌鉴定/药敏系统进行菌株鉴定和药敏试验。改良Hodge试验检测产碳青霉烯酶, EDTA协同试验筛查金属 β -内酰胺酶。利用特异性引物进行 bla_{NDM-1} 基因PCR扩增, 采用双脱氧末端终止法进行DNA测序, 所测序列与GenBank基因库中的已知序列进行BLAST比对。**结果** (1)菌株分布情况: 我院2013年4月—2014年3月临床标本中分离出对碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌共30株, 其中肺炎克雷伯菌16株, 占53.3%; 阴沟肠杆菌12株, 占40.0%; 布氏柠檬酸杆菌和弗氏柠檬酸杆菌各1株, bla_{NDM-1} 基因确证, 共有5株为产NDM-1酶菌株, 5株菌包括肺炎克雷伯菌2株, 阴沟肠杆菌2株, 布氏柠檬酸杆菌1株, 这些细菌来自不同的科室, 但主要分布在重症医学科 (15/30, 50.0%), 神经内科重症病房(8/30, 26.7%)。标本主要来源于痰(20/30, 66.7%), 其次为尿液(5/30, 16.7%), 血液4株(13.3%), 引流液1株(3.3%)。5株产NDM-1酶菌株分离自4例患者, 3株分离自患者尿液标本, 2株分离自患者痰标本; 感染患者平均年龄为73岁, 平均住院时间10个月, 2例死亡。(2)药物敏感性试验结果: 30株CRE对碳青霉烯类抗生素亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为100%和86.7%, 对其他 β -内酰胺类抗生素耐药率均为100%; 对氯霉素、庆大霉素、左氧氟沙星、环丙沙星的耐药率在76.7%~93.3%之间; 对多黏菌素和替加环素敏感率高达100%, 其次为复方磺胺甲噁唑和阿米卡星, 敏感率分别为66.7%和46.7%。5株产NDM-1酶菌株对多黏菌素和替加环素均敏感, 3株对复方磺胺甲噁唑敏感, 2株对阿米卡星敏感; 而对 β -内酰胺类抗生素以及喹诺酮类、氯霉素类等均耐药。**结论** 我院流行的CRE菌株主要分离自重症医学科和神经内科重症病房患者, 对多种抗生素呈高度耐药, 其中产NDM-1酶菌株主要来自长期住院的高龄患者, 且死亡率较高, 应对其感染的风险因素进行调查, 并有针对性的采取感染预防措施进行防控。

关键词: 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌; 感染; bla_{NDM-1} 基因

中图分类号: R978.1, R446.5 文献标志码: A

Analysis of the clinical infection characteristics and detection of bla_{NDM-1} gene from 30 CRE isolates

Dong Ai-ying¹, Chen Dong-ke², Li Chun-juan³, Xing Huan¹, Zhang Lei¹, Wang Ya-si¹ and Fu Yu-bing¹

(1 North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan 063000; 2 Department of Clinical Laboratory, Beijing Hospital, Beijing 100730; 3 Kailuan Group General Hospital, Tangshan 063000)

Abstract Objectives To investigate the bla_{NDM-1} gene of 30 CRE isolates recovered from April 2013 to March 2014 in our hospital, and the clinical characteristics of patients with CRE infections, as well as its relationship to antibiotic resistance. **Methods** Identification and drug resistance were tested by the BD Phoenix-100 system. Modified Hodge Test was used for the screening of carbapenemase. EDTA-synergy test was used for the detection of metallo- β -lactamases. PCR was performed for bla_{NDM-1} and the positive products were sequenced and analyzed with

收稿日期: 2017-12-08

作者简介: 董爱英, 女, 生于1968年, 教授, 主任技师, 研究方向: 病原微生物感染诊断及耐药研究, E-mail: hewei jun@126.com

BLAST. Results (1) The distribution of isolates: the 30 CRE isolates from the clinical specimens of patients in our hospital between April 2013 and March 2014, including 16 isolates of *Klebsiella pneumoniae* (53.3%), 12 isolates of *Enterobacter cloacae* (40%), one isolate of *Citrobacter brinell*, and one isolate of *Citrobacter freundii*. These isolates were mainly collected from the intensive care unit (15/30, 50.0%), and neurological intensive care unit (8/30, 26.7%). Most of them were isolated from the sputum sample (12/30, 66.7%), followed by the urine (5/30, 16.7%), the blood (4/30, 13.3%), and the drainage fluid (1/30, 3.3%). The five bla_{NDM-1} gene carrying isolates were recovered from four patients with an average age of 73, and the average hospitalization time lasted 10 months; among these, three isolates were collected from urine, and two from sputum; two patients survived and two patients died. (2) The results of the drug resistance test: the resistance rates of 30 CRE to imipenem and meropenem were 100% and 86.7%, respectively; the resistance rates to the other β -lactam antibiotics were 100%. The resistance rates to chloramphenicol, gentamicin, levofloxacin, and ciprofloxacin were among 66.7%~93.3%. All of them were most sensitive to colistin and tigecycline, the sensitive rates were 100%; followed by trimethoprim/sulfamethoxazole and amikacin, the sensitive rates were 66.7% and 46.7%. All of the five NDM-1-producing isolates were sensitive to colistin and tigecycline; three isolates were sensitive to trimethoprim/sulfamethoxazole, and two isolates were sensitive to amikacin. All of the five NDM-1-producing isolates were resistant to β -lactam antibiotics, quinolones, and chloramphenicols. **Conclusion** 30 CRE isolates in our hospital were mainly collected from ICU and NICU, and were highly resistant to multiple antibiotics. The NDM-1-producing isolates were mainly recovered from long-term hospitalized senile patients with a high mortality rate. Therefore, we should investigate the risk factors of infections, and take effective measures to control infections.

Key words Carbapenem resistant Enterobacteriaceae; Infection; bla_{NDM-1} gene

近年来,随着碳青霉烯类抗菌药物在临床上的使用率增加,碳青霉烯类耐药的肠杆菌科细菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)的检出率呈现出明显的上升趋势^[1-2]。NDM-1是B类金属 β -酰胺酶中最受关注的一种酶,编码该酶的基因为 bla_{NDM-1} 。该基因作为肠杆菌科细菌对碳青霉烯类耐药机制之一,自2008年首次发现后,全球50多个国家和地区都出现了产NDM-1酶菌株的报道^[3-4]。本文分析了该院2013年4月—2014年3月临床分离的30株对碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌以及其中产 bla_{NDM-1} 基因菌株检出情况,感染患者的临床特征,对常用抗菌药物的耐药特点,旨在为临床抗感染治疗和减少耐药基因的传播提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

连续收集该院2013年4月—2014年3月临床标本中分离的肠杆菌科细菌,筛选出对碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌30株(剔除同一患者同一部位的重复菌株)。

1.1.2 主要仪器与试剂

美国BD公司生产的Phoenix100全自动细菌鉴定/药敏系统及BD公司的配套试剂;电泳仪为美国Bio-Rad公司产品;德国艾本德公司生产的PCR扩增仪;细菌DNA提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公

司;上海生物工程有限公司生产的PCR试剂;温州市康泰生物科技有限公司生产的培养基;药敏纸片购自英国Oxoid公司。替加环素E-test试条由温州康泰公司惠赠。

1.1.3 质控菌株

铜绿假单胞菌ATCC27853、大肠埃希菌ATCC25922、金黄色葡萄球菌ATCC25923为药敏质控菌株;肺炎克雷伯菌ATCC BAA-1705为改良Hodge试验阳性对照菌株、肺炎克雷伯菌ATCC BAA-1706为改良Hodge试验阴性对照菌株。质控菌株全部购自温州市康泰生物科技有限公司。

1.2 方法

使用由美国BD公司生产的Phoenix-100全自动细菌鉴定/药敏系统进行菌株鉴定和药敏试验。替加环素药敏方法为E-test。敏感与耐药判读标准参照美国临床实验室标准化研究协会(CLSI)M100-S26文件2016年推出的判读标准^[5]。采用改良Hodge试验检测细菌是否产碳青霉烯酶,EDTA协同试验筛查金属 β -内酰胺酶^[5]。

对5株EDTA协同试验阳性菌株进行 bla_{NDM-1} 基因确证试验,使用细菌DNA提取试剂盒按照操作说明书提取细菌DNA作为模板,利用引物P1-GTCTGGCAGCACACTTCCTA;P2-TAGTGCTCAGTGTCGGCATC对 bla_{NDM-1} 基因进行特异性扩增。反应程序为:94℃预变性5min,然后

94℃变性1min，55℃退火1min，最后72℃ 1min，循环30个周期，最后72℃延伸10min；取10μL扩增产物点样于1.0%琼脂糖凝胶，在100V电压电泳40min，电泳结束后，用凝胶成像仪观察结果，出现目的性条带即为检测基因阳性。PCR扩增产物经基因测序后与GenBank基因库中的已知序列进行BLAST比对，PCR基因扩增及基因序列比对由卫生部北京医院陈东科老师协助完成。

2 结果

2.1 菌株分布及临床特征

我院2013年4月—2014年3月临床标本中分离出对碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌共30株，

其中肺炎克雷伯菌16株，占53.3%；阴沟肠杆菌12株，占40.0%；布氏柠檬酸杆菌和弗氏柠檬酸杆菌各1株主要分布在重症医学科15株(50.0%)，神经内科重症病房8株(26.7%)。标本主要来源于痰20株，占66.7%，其次为尿液5株(16.7%)，血液4株(13.3%)，引流液1株(3.3%)。30株肠杆菌科细菌分离自28例患者，A18号和A19号、A25号和A26号菌株分离均来自同一位患者。28例细菌感染患者平均年龄约为74岁，多有较严重的呼吸道疾病，心脑血管疾病，严重外伤，重症感染等基础疾病，平均住院时间8个月，具体情况见表1。

2.2 药物敏感性试验

表1 细菌感染患者的临床特征

Tab. 1 The clinical characteristics of patients with bacterial infection

菌株编号	性别/年龄(岁)	住院科室	基础疾病	标本来源	菌株名称	住院时间/月
A01	女/75	重症医学科	重症肺炎	痰	肺炎克雷伯菌	1
A02 [#]	男/90	重症医学科	肾功能不全	痰	肺炎克雷伯菌	10
A03	男/77	重症医学科	重症肺炎	痰	肺炎克雷伯菌	4
A04	女/88	重症医学科	双侧肺炎	痰	肺炎克雷伯菌	14
A05	男/86	重症医学科	慢性阻塞性肺疾病	痰	肺炎克雷伯菌	11
A06	男/82	重症医学科	重症肺炎	痰	肺炎克雷伯菌	6
A07	女/76	重症医学科	冠心病	血液	肺炎克雷伯菌	14
A08	男/76	神经内科重症病房	抽搐待查	痰	肺炎克雷伯菌	2
A09	男/71	神经内科	意识不清待查	痰	肺炎克雷伯菌	7
A10	男/82	神经内科重症病房	脑梗死	痰	肺炎克雷伯菌	6
A11	男/80	神经内科重症病房	脑梗死	痰	肺炎克雷伯菌	17
A12	男/86	神经内科重症病房	慢性阻塞性肺疾病	痰	肺炎克雷伯菌	17
A13	男/83	神经内科重症病房	脑出血	痰	肺炎克雷伯菌	14
A14	男/97	神经内科重症病房	脑梗死	痰	肺炎克雷伯菌	12
A15	女/76	呼吸内科	发热待查	痰	肺炎克雷伯菌	9
A16 [#]	男/63	神经内科重症病房	脑梗死	尿液	肺炎克雷伯菌	7
A17	男/79	重症医学科	冠心病	痰	阴沟肠杆菌	2
A18 [#]	女/62	重症医学科	感染性休克	痰	阴沟肠杆菌	6
A19 [#]	女/62	重症医学科	感染性休克	尿液	阴沟肠杆菌	6
A20	女/75	重症医学科	发热待查	痰	阴沟肠杆菌	9
A21	男/84	重症医学科	抽搐待查	痰	阴沟肠杆菌	14
A22	男/57	重症医学科	喘息待查	痰	阴沟肠杆菌	7
A23	男/54	重症医学科	慢性肾功能衰竭	尿液	阴沟肠杆菌	13
A24	男/59	重症医学科	肝癌晚期	血液	阴沟肠杆菌	1
A25	男/30	普通外科	头外伤	血液	阴沟肠杆菌	1
A26	男/30	普通外科	头外伤	引流液	阴沟肠杆菌	1
A27	女/46	普通外科	急性胰腺炎	血液	阴沟肠杆菌	1
A28	男/81	普通外科	急性胰腺炎	痰	阴沟肠杆菌	1
A29 [#]	男/78	神经内科重症病房	脑梗死	尿液	布氏柠檬酸杆菌	17
A30	男/61	康复科	肢体活动障碍	尿液	弗氏柠檬酸杆菌	1

注：“#”为NDM-1菌株

30株CRE对头孢菌素类、含β-内酰胺酶抑制剂的复合制剂和单环β-内酰胺类抗生素的耐药率最高，均为100%；对亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为100%和86.7%；对氯霉素、庆大霉素、左氧氟沙星、环丙沙星的耐药率在76.7%~93.3%之间；对多黏菌素最敏感，敏感率高达100%，其次为复方磺胺甲噁唑和阿米卡星，敏感率分别为66.7%和46.7%(表2)。

2.3 表型确认试验

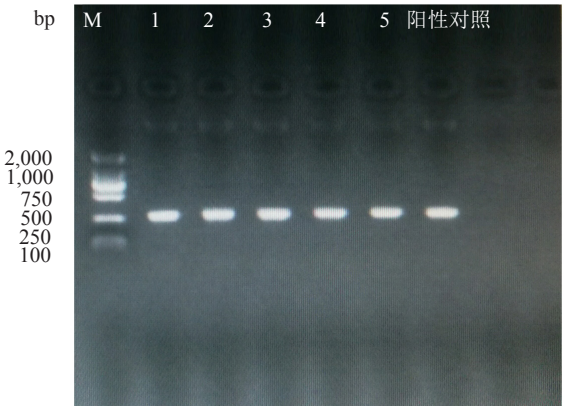
30株对碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌中，26株改良Hodge试验阳性，阳性率为86.7%(26/30)。5株双纸片协同试验阳性，阳性率为16.7%(5/30)，包括肺炎克雷伯菌2株，阴沟肠杆菌2株，布氏柠檬酸杆菌1株。

2.4 产NDM-1酶菌株的实验结果

5株EDTA协同试验阳性菌株进行*bla*_{NDM-1}基因确证，均为产NDM-1酶菌株，其实验结果如下。

2.4.1 PCR基因扩增及基因序列比对

PCR扩增产物经琼脂糖凝胶电泳分离，并进行用凝胶成像仪观察结果，可见待测菌株的目的基因条带，结果见图1。PCR扩增产物经基因测序后与GenBank基因库中的已知序列进行BLAST比对，表



注：DNA Marker DL2000；1~5为菌株编号

图1 部分菌株扩增*bla*_{NDM-1}基因产物电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of gene amplification product with *bla*_{NDM-1} from some strains

明与*bla*_{NDM-1}基因有100%的相似性。

2.4.2 菌株分布及其临床特征

5株菌包括肺炎克雷伯菌2株，阴沟肠杆菌2株，布氏柠檬酸杆菌1株；其中分布在重症医学科3株，神经内科重症病房2株；3株分离自患者尿液标本包括肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌和布氏柠檬酸杆菌各1株，2株分离自患者痰标本包括肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌各1株。5株产NDM-1酶菌株分离自4例患者，其中一位患者的痰和尿液标本中同时分离出了产NDM-1酶的阴沟肠杆菌。4例细菌感染患者平均年龄为73岁，2例脑梗死，1例肾功能不全，1例感染性休克，平均住院时间10个月。4例细菌感染患者最终2例存活，2例死亡。

2.4.3 药物敏感性试验结果(表3)

5株细菌对多黏菌素和替加环素均敏感，3株对复方磺胺甲噁唑敏感，2株对阿米卡星敏感；而头孢菌素类、碳青霉烯类、单环β-内酰胺类和含β-内酰胺酶抑制剂的复合制剂等β-内酰胺类抗生素以及喹诺酮类、四环素类、氯霉素类等非β-内酰胺类抗生素均耐药。

3 讨论

3.1 对碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌

本研究中我院2013年4月—2014年3月临床标本中共分离出30株对CRE，其中以肺炎克雷伯菌最多16株，占53.3%，除1株分离自血液标本，1株分离自尿液标本外，其余14株全部分离自痰标本。其次为阴沟肠杆菌12株，占40.0%，分离自痰标本6株，分离自血液、尿液、引流液分别为3株、2株和1株。布氏柠檬酸杆菌和弗氏柠檬酸杆菌各分离出1株，均来

表2 30株细菌对常用抗菌药物的耐药情况

Tab. 2 Resistance of the 30 strains of bacteria to commonly used antibacterial agents

抗菌药物	敏感/S		耐药/R [#]	
	株数	敏感率/%	株数	耐药率/%
头孢唑林	0	0	30	100.0
头孢他啶	0	0	30	100.0
头孢噻肟	0	0	30	100.0
头孢吡肟	0	0	30	100.0
阿莫西林/克拉维酸	0	0	30	100.0
头孢哌酮/舒巴坦	0	0	30	100.0
哌拉西林/三唑巴坦	0	0	30	100.0
氨曲南	0	0	30	100.0
亚胺培南	0	0	30	100.0
美罗培南	4	13.3	26	86.7
庆大霉素	4	20.0	24	80.0
阿米卡星	14	46.7	16	53.3
左氧氟沙星	3	10.0	27	90.0
环丙沙星	2	6.7	28	93.3
氯霉素	7	23.3	23	76.7
复方磺胺甲噁唑	20	66.7	10	33.3
多黏菌素	30	100.0	0	0.0
替加环素 [*]	30	100.0	0	0.0

注：“#”中介菌株计入耐药菌株；“*”替加环素为E-test方法

表3 常用抗菌药物对产NDM-1酶菌株的MIC值(μg/mL)
Tab. 3 The MIC values (μg/mL) of common antibiotics on NDM-1 isolates

菌株编号	头孢噻肟	亚胺培南	美罗培南	氨曲南	阿莫西林 /克拉维酸	左氧氟沙星	氯霉素	阿米卡星	复方磺胺甲噁唑	替加环素*	多黏菌素
A02	>32	>8	>8	>16	>16/8	>8	>16	>32	≤0.5/9.5(S)	0.25(S)	≤0.5(S)
A16	>32	>8	>8	>16	>16/8	>8	>16	>32	>2/38	0.25(S)	≤0.5(S)
A18	>32	>8	>8	>16	>16/8	>8	>16	8(S)	≤0.5/9.5(S)	0.25(S)	≤0.5(S)
A19	>32	>8	>8	>16	>16/8	>8	>16	8(S)	≤0.5/9.5(S)	0.25(S)	≤0.5(S)
A29	>32	>8	>8	>16	>16/8	>8	>16	>32	>2/38	0.25(S)	≤0.5(S)

注：“*”为E-test方法，S为敏感

自于尿液标本。此结果显示我院CRE在临床能引起患者多个部位的感染。这些细菌来自不同的科室，主要分布在重症医学科15株(50.0%)，神经内科重症病房8株(26.7%)，其次为普通外科4株(13.3%)，神经内科、呼吸内科和康复科各1株；分析造成这种分布的原因是重症医学科和神经内科重症病房这两个科室内多为老年及危重患者，基础疾病严重须长期住院治疗，长期使用大剂量广谱抗生素，机体免疫力低下，大部分患者须进行气管插管及机械通气、留置导尿管、胃管、静脉留置导管等侵入性诊疗操作破坏了皮肤黏膜屏障，这些都是导致CRE感染传播或定植的危险因素^[6]。

本研究中对30株菌进行体外药敏检测结果显示，对头孢菌素类、含β-内酰胺酶抑制剂的复合制剂和单环β-内酰胺类抗生素的耐药率最高，均为100%；对碳青霉烯类抗生素亚胺培南和美罗培南的耐药率也分别达到了100%和86.7%；对氯霉素、庆大霉素、左氧氟沙星、环丙沙星的耐药率在66.7%~93.3%之间。对多黏菌素和替加环素敏感率高达100%，其次为复方磺胺甲噁唑和阿米卡星，敏感率分别为66.7%和46.7%；无对抗生素中介菌株。因此，多黏菌素和替加环素也是目前国内外治疗CRE感染首选推荐用药。而复方磺胺甲噁唑以及同为氨基糖苷类抗生素的阿米卡星和庆大霉素，也可根据其敏感程度，作为临床治疗的备选用药，但本研究中阿米卡星和庆大霉素二者的敏感率却相差很大，前者为46.7%，后者为20.0%，分析其原因可能是细菌所产生的氨基糖苷类钝化酶AAC(3)-II对后者具有很强的水解能力，因此易耐药，氨基糖苷类的主要不良反应是耳毒性和肾毒性，临床对于肾功能不全者要慎用。

3.2 产NDM-1酶肠杆菌科细菌

*bla*_{NDM-1}基因我国最早在屎肠球菌和鲍曼不动杆菌等非发酵菌中被发现^[7]，在2011年以后开始出现产

NDM-1酶的肠杆菌科细菌^[8]，而且产NDM-1酶肠杆菌科细菌主要菌种为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌，其他细菌有阴沟肠杆菌、变形菌、弗氏柠檬酸杆菌等^[9-10]。本文通过对CRE菌株进行了*bla*_{NDM-1}基因检测，5株产NDM-1酶肠杆菌科细菌包括肺炎克雷伯菌2株，阴沟肠杆菌2株，布氏柠檬酸杆菌1株，2013年4月—2014年3月间并未检测到大肠埃希菌CRE菌株以及携带*bla*_{NDM-1}基因菌株；分析造成这种差异的原因，首先不除外监测范围和菌株数量的局限造成的漏检情况，再有就是细菌耐药性的产生和发展受多种因素的影响，由于不同地区或同一地区不同医院的经验用药习惯不同所以形成了不同的药物选择性压力，造成不同耐药菌株的流行^[11]。因此，我们下一步计划扩大研究范围，对2014—2017年所有CRE菌株进行基因型检测，进一步明确不同基因型的菌株分布及流行趋势。

另外，5株菌株分别分离自4例患者，原因是在一位患者的痰和尿液标本中同时分离出了产NDM-1的阴沟肠杆菌，两株细菌有待于进一步进行同源性分析。患者分布在重症医学科和神经内科重症病房，平均年龄为73岁，2例脑梗死，1例肾功能不全，1例感染性休克，平均住院时间10个月。目前多个国家和地区都有了产NDM-1酶菌株的报道，经研究发现细菌感染患者多有曾在印度旅游或就医的经历^[11]。本研究中4位患者并未曾和外国人接触，也无出国史，其*bla*_{NDM-1}基因的来源须进一步探究。4例细菌感染患者最终2例存活，2例死亡。*bla*_{NDM-1}基因能通过质粒在细菌间进行自由复制和转染，也可随转座子、整合子等可移动基因元件进行细菌间的水平传播^[12]，从而使产NDM-1酶菌株具有广泛传播和变异的巨大潜能。因此，对于已经确诊感染患者要及时进行隔离治疗和跟踪监测。加强产NDM-1酶菌株的网络监测工作，规范化管理抗生素的使用，争取做到对产NDM-1酶菌株的“零容忍”。

参考文献

- [1] Kaase M, Szabados F, WaSsill L, *et al.* Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae by a commercial multiplex PCR[J]. *J Clin Microb*, 2012, 50(9): 3115-3118.
- [2] Kaezmarek F, Dib-Hajj F, Shang W, *et al.* High-level carbapenem resistance in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate is due to the combination of $bla_{(ACT-1)}$ beta-lactamase production, porin ompk35/36 insertional inactivation, and down-regulation of the phosphate transport porin phoe[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(10): 3396-3406.
- [3] Deshpande P, Rodrigues C, Shetty A, *et al.* New delhi metallo- β lactamase (NDM-1) in Enterobacteriaceae: Treatment options with carbapenems compromised[J]. *Assoc Physic India*, 2010, 58: 147-150.
- [4] Yong D, Toleman M A, Giske C G, *et al.* Characterization of a new met allo-beta-lactamase gene, $bla_{(NDM-1)}$, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 15 from India[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(12): 5046-5054.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100S. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-sixth edition[S]. Wayne, PA: CLSI, 2016.
- [6] Qin X, Yang Y, Hu F, *et al.* Hospital clonal dissemination of enterobacter aerogenes producing carbapenemase KPC-2 in a Chinese teaching hospital[J]. *J Med Microbiol*, 2014, 63(Pt2): 222-228.
- [7] 黄留玉. 关于超级细菌NDM-I的若干思考[J]. 解放军医学杂志, 2010, 35(12): 1409-1411.
- [8] Dai W, Sun S, Yang P, *et al.* Characterization of carbapenemases, extended spectrum β -lactamases and molecular epidemiology of carbapenem-non-susceptible *Enterobacter cloacae* in a Chinese hospital in Chongqing[J]. *Infect Genet Evol*, 2013, (14): 1-7
- [9] 孙长贵, 杨燕, 杨丽君, 等. 临床细菌耐药流行病学变化[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(10): 803-812.
- [10] 孙秋, 黄文祥. 新德里金属- β -内酰胺酶1的研究进展[J]. 中华临床感染病杂志, 2013, 6(6): 371-377.
- [11] Kumarasamy K K, Tolema M A, Walsh T R, *et al.* Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: A molecular, biological, and epidemiological study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10(9): 597-602.
- [12] Gupta N, Limbago B M, Patel J B, *et al.* Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and prevention[J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 53(1): 60-67.