

# 产 NDM-1 肺炎克雷伯菌中国分离株的初步研究

邹明祥<sup>1</sup> 邬靖敏<sup>1</sup> 李军<sup>1</sup> 豆清娅<sup>1</sup> 周蓉蓉<sup>2</sup> 黄嫒<sup>1</sup> 刘文恩<sup>1</sup>

(中南大学湘雅医院 1. 检验科; 2. 感染科, 湖南 长沙 410008)

**[摘要]** **目的** 探讨湖南地区出现的肺炎克雷伯菌新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶 1 型 (NDM-1) 基因特征及其与耐药性的关系。**方法** 临床菌株分离自湖南某综合医院一例重症肺炎并中毒性心肌炎患儿的痰液标本。采用全自动微生物分析系统 VITEK-2 compact 对菌株进行鉴定及药敏检测; 改良 Hodge 试验筛查碳青霉烯酶; 双纸片协同试验及双纸片增效试验检测金属  $\beta$ -内酰胺酶; 聚合酶链反应 (PCR) 特异性扩增 NDM-1 基因, 并对扩增产物进行测序和 BLAST 分析; 质粒接合转移试验分析其耐药机制, 并对接合前后的药敏结果进行比较。**结果** 该菌株经鉴定为肺炎克雷伯菌。改良 Hodge 试验、双纸片协同试验及双纸片增效试验均为阳性。PCR 扩增产物基因序列与 GenBank 中 NDM-1 基因 FN396876.1 同源率为 100%。以筛选的接合子 DNA 为模板扩增 NDM-1 基因全长并测序, 结果与供体菌 NDM-1 基因扩增产物完全一致。接合子 *E. coli* J53 (NDM-1) 对所有  $\beta$ -内酰胺类药物的 MIC 值较受体菌 *E. coli* J53 均有很大提高, 其中对厄他培南和亚胺培南 MIC 均提高了 8 倍以上, 头孢他啶及头孢曲松则提高了 64 倍以上。**结论** 中国大陆出现了产 NDM-1 肺炎克雷伯菌; NDM-1 基因可在不同菌株之间传递, 导致细菌对  $\beta$ -内酰胺类药物广泛耐药。

[中国当代儿科杂志, 2012, 14(8): 616-621]

**[关键词]** 新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶 1 型; 肺炎克雷伯菌; 基因; 耐药; 中国

**[中图分类号]** R446.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)08-0616-06

## NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in mainland China

ZOU Ming-Xiang, WU Jing-Min, LI Jun, DOU Qing-Ya, ZHOU Rong-Rong, HUANG Yuan, LIU Wen-En. Department of Clinical Laboratory, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China (Email: zoumingxiang@126.com)

**Abstract: Objective** To investigate the characteristics of New Delhi metallo-beta-lactamase-1 (NDM-1) gene of *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) emerging in Hunan, and its relationship to antibiotic resistance. **Methods** The clinical strain was isolated from a sputum sample of a child with severe pneumonia and toxic myocarditis who was admitted into a general hospital of Hunan Province. VITEK-2 compact instrument was used for bacterial identification and antibiotic susceptibility test. Modified Hodge test was used for the screening of carbapenemase. EDTA-synergy test and combination disk diffusion test were used for detection of metallo- $\beta$ -lactamase (MBL). PCR was performed for amplification of NDM-1 genes and the positive products were sequenced and analyzed with BLAST. Conjugation was also performed to analyze mechanisms of antibiotic resistance. The results of antibiotic susceptibility tests were compared before and after conjugation. **Results** The isolated strain was identified as *K. pneumoniae*. Modified Hodge test, EDTA-synergy test and combination disk diffusion test were all positive for the strain. The homology between gene sequence of PCR amplification products and NDM-1 gene FN396876.1 in the GenBank was 100%. Transconjugant DNA was used as template for the amplification of NDM-1 gene. The amplification products were sequenced and found to be the same as the NDM-1 gene amplification product of the donor strain. The MIC of transconjugant *E. coli* J53 (NDM-1) to all the  $\beta$ -lactams increased significantly compared with the recipient strain *E. coli* J53. The MIC of ertapenem and imipenem increased by more than 8 times, while the MIC of ceftazidime and ceftriaxone increased by more than 64 times. **Conclusions** This study first identified a strain of *K. pneumoniae* carrying NDM-1 in mainland China. NDM-1 gene can be transmitted among different strains and causes extensively drug-resistance to  $\beta$ -lactams. [Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(8): 616-621]

**Key words:** New Delhi metallo-beta-lactamase-1; *Klebsiella pneumoniae*; Gene; Drug resistance; China

[收稿日期] 2012-07-05; [修回日期] 2012-07-12

[项目基金] 中南大学自由探索研究创新基金 (ZY11098)。

[作者简介] 邹明祥, 男, 博士, 副主任技师。

碳青霉烯类抗生素是治疗革兰阴性杆菌感染,特别是肠杆菌科细菌感染最强效的 $\beta$ -内酰胺类药物。然而,随着该类药物的广泛应用,细菌对其耐药性日趋严重。现已证明,产碳青霉烯酶是革兰阴性杆菌对碳青霉烯类抗生素耐药的主要机制<sup>[1]</sup>。其中,金属 $\beta$ -内酰胺酶(金属酶)是一类能有效水解碳青霉烯类抗生素的重要碳青霉烯酶,产生该酶的菌株常呈严重的多重耐药性<sup>[2]</sup>。2009年12月英国学者Yong等<sup>[3]</sup>报道从瑞典一例患尿路感染的印度裔患者尿液标本中分离到一株对碳青霉烯类抗菌药物耐药的肺炎克雷伯菌,并证实其耐药机制是产生了一种新的金属酶。由于该患者曾在印度新德里接受治疗,因而将该酶命名为新德里金属 $\beta$ -内酰胺酶1型(New Delhi metallo- $\beta$ -lactamases 1, NDM-1)。2010年8月11日《柳叶刀感染病》杂志发表了一篇由英国、印度、巴基斯坦、澳大利亚和瑞典学者的联合研究报告,认为NDM-1可导致细菌严重的耐药性,且耐药基因可通过质粒传递,可能引起全球广泛的健康问题,并呼吁全球重视这一危害<sup>[4]</sup>。随后,世界各国卫生行政部门纷纷发出警报并进行了相应监测。目前,除印度次大陆、巴尔干<sup>[5]</sup>这两大宿主地区外,其他许多国家和地区都相继检出携带NDM-1基因的菌株<sup>[6-7]</sup>。我国卫生部于2010年10月25日紧急下文要求各医疗机构对NDM-1菌株进行监测。本实验室作为卫生部指定单位开展了相应监测工作,最近从湖南某综合医院患儿痰液标本中检测到1株产NDM-1肺炎克雷伯菌,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌株来源 临床菌株:分离自湖南某综合医院患儿痰液标本。患儿,男,8个月,因咳嗽、发热伴喘鸣30余天,呼吸急促6 d入湖南某综合医院儿科。入院体查:T 38.6℃,P 160次/min,R 45次/min,BP 89/50 mm Hg,体重10 kg;吸气三凹征,双肺呼吸音粗,可闻及中等湿罗音及哮鸣音,胸片示支气管炎和右肺门影增大,以重症肺炎并中毒性心肌炎收治入院。外院痰标本曾培养出铜绿假单胞菌。入院后连续3 d进行痰培养,第一天和第二天结果均为阴性,第三天培养出肺炎克雷伯菌(编号为CS309);血培养无细菌生长。入院后经验性选择头孢哌酮/舒巴坦抗感染,配合对症、支持治疗,病情逐步好转,于入院后第十天痊愈出院。药敏质控菌株:大肠埃希菌ATCC25922和铜绿假单胞菌ATCC27853购自卫生部

临床检验中心。改良Hodge试验阳性质控菌株ATCC BAA-1705,阴性质控菌株ATCC BAA-1706由北京大学临床药理研究所李耘教授惠赠。接受受体菌*E. coli* J53由上海华山医院抗生素研究所胡付品博士惠赠。

1.1.2 仪器与试剂 主要仪器:VITEK-2 compact全自动微生物分析系统(法国梅里埃生物公司);ABI2720 PCR扩增仪(美国ABI公司);InGenius凝胶成像分析系统(英国Syngene公司);DYY-7型电泳仪(北京市六一仪器厂);恒温培养箱(上海永兴医化器械制造厂);恒温震荡培养箱(上海比朗仪器有限公司);-80℃超低温冰箱(中国海尔集团);高速冷冻离心机(Eppendorf公司)。主要试剂:2×Taq Master Mix、凝胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒购自OMEGA公司;DNA Marker(D2000)购自天根生化科技有限公司;所有引物均由上海生工合成;美罗培南粉剂(化学对照品,87.2%)购自中国药品生物制品检定所;Vitek-2 GN鉴定卡和药敏卡购自法国生物梅里埃公司;所有药敏纸片购自英国Oxoid公司。

### 1.2 方法

1.2.1 改良Hodge试验筛查碳青霉烯酶 将0.5麦氏浊度大肠埃希菌ATCC25922以1:10稀释后均匀涂布于水解酪蛋白胨(MH)平板,在平板中间贴厄他培南纸片(10 μg/片),并用接种针挑取待测菌进行划线接种。35℃培养过夜,若待测菌划线与抑菌圈边缘交叉部分有矢状生长则为阳性。分别以ATCC BAA-1705和ATCC BAA-1706作为阳性和阴性对照。

1.2.2 双纸片协同试验及双纸片增效试验检测金属 $\beta$ -内酰胺酶 将0.5麦氏浊度待测菌液均匀涂布于MH平板,于平板中央贴亚胺培南纸片(10 μg/片)、左右两侧分别贴组合纸片即亚胺培南纸片(10 μg)+EDTA(0.5 mol/L EDTA 4 μL)及EDTA纸片(0.5 mol/L EDTA 4 μL),纸片相距1.0~2.5 cm,35℃培养过夜。结果判断:若组合纸片比亚胺培南纸片的抑菌圈直径增大 $\geq 6$  mm(双纸片增效)或靠近EDTA一侧的亚胺培南纸片产生的抑菌圈出现匙孔或明显扩大(双纸片协同试验)则为阳性。

1.2.3 PCR扩增初筛NDM-1基因 采用煮沸法提取细菌总DNA。根据文献合成两对引物<sup>[8]</sup>,序列详见表1。PCR反应体系为25 μL,包括2×Taq PCR Master Mix 12.5 μL、上下游引物各1 μL、DNA模板2 μL,无菌双蒸水8.5 μL。PCR反应条件:94℃预变性2 min;94℃变性1 min,57℃退火1 min,72℃延伸1 min,共30个循环;最后72℃再延伸5 min。扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳(100 V)40 min后,用凝

胶成像系统观察结果并拍照。PCR产物测序由北京六合华大基因有限公司完成。测序结果在 GenBank 进行同源查询工具(Basic Local Alignment Search Tool, BLAST)分析,基因序列登陆 GenBank 进行注册。

表1 PCR 扩增 NDM-1 基因引物序列

引物名称	引物序列(5'→3')	退火温度(℃)	产物大小(bp)
NDM-1(1)	GGCGGAATGGCTCATCAGCA CGCAACACAGCCTGACTTTC	57	287
NDM-1(2)	GAATGTCTGGCAGCACACTT TTGGCCTTGCTCCTTGAT	57	480

#### 1.2.4 PCR 扩增 NDM-1 全长基因及测序确证

根据 GenBank 中 NDM-1 基因(序列号为 FN396876.1)和参考文献<sup>[9]</sup>合成基因全长引物,上下游引物的 5'端分别引入 EcoRI 和 XhoI 酶切位点(下划线标示),前面 3 个碱基为保护碱基。PCR 反应体系和条件同上。

上下游引物分别为:F:5'-CGCGAATTCATGGAAT-TGCCCAATATTATGC-3', R: 5'-AAACTCGAG TCAGCG-CAGCTTGTCGGCCAT-3'。PCR 产物送北京六合华大基因有限公司进行双向测序,并对测序结果进行 BLAST 分析。

#### 1.2.5 质粒接合试验 参考文献并作改良<sup>[3]</sup>。

以产 NDM-1 肺炎克雷伯菌为供体菌,耐叠氮钠的 *E. coli* J53 为受体菌。各取 0.5 mL 过夜培养的供体菌和受体菌分别加入 4.5 mL LB 肉汤,其中受体菌放入 37℃ 恒温摇床,180 rpm 培养 4 h,而供体菌则放入 35℃ 培养箱静置 4 h。然后各取 0.5 mL 供体菌和受体菌混匀后加入 4 mL LB 肉汤,35℃ 静置过夜后涂布于含 100 μg/mL 叠氮钠和 0.25 μg/mL 美罗培南的麦康凯培养基进行筛选。再对疑似接合成功的菌落进行鉴定、药敏试验以及 NDM-1 基因检测,判断接合试验是否成功。细菌鉴定及药敏试验采用法国梅里埃全自动微生物分析系统 VITEK-2 compact 及 API 20E 完成。

## 2 结果

### 2.1 改良 Hodge 试验筛查碳青霉烯酶

肺炎克雷伯菌 CS309 在厄他培南抑菌环内出现矢状生长,表明该菌碳青霉烯酶阳性。见图 1。

### 2.2 双纸片协同试验及双纸片增效试验检测金属 β-内酰胺酶

含 EDTA 的亚胺培南纸片抑菌环直径比亚胺培南纸片的抑菌环直径增大超过 6 mm,而靠近 EDTA 一侧的亚胺培南纸片产生“匙孔”现象,表明双纸片增效及双纸片协同试验均为阳性,即该菌株产生金

属 β-内酰胺酶。见图 2。

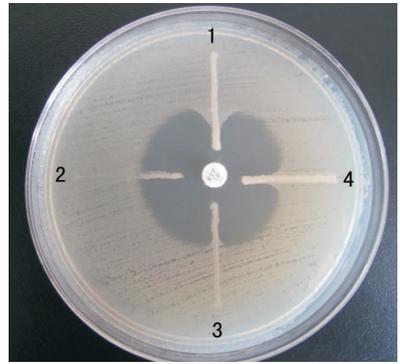


图1 改良 Hodge 试验结果图 1:阳性对照:ATCC BAA-1705;2:阴性对照:ATCC BAA-1706;3:临床菌株:阴性结果;4:肺炎克雷伯菌 CS309:阳性结果。1和4号菌株在厄他培南抑菌环内出现矢状生长现象,表明产生碳青霉烯酶(阳性)。2和3号菌株无此现象,表明不产生碳青霉烯酶(阴性)。



图2 双纸片协同及双纸片增效试验结果图 含 EDTA 的亚胺培南纸片(左)抑菌环直径比亚胺培南纸片(中)的抑菌环直径增大超过 6 mm;靠近 EDTA 纸片(右)一侧的亚胺培南纸片产生“匙孔”现象(箭头所示),表明该菌株产生金属 β-内酰胺酶。

### 2.3 PCR 扩增初筛 NDM-1 基因结果

为确保不漏检,提高准确性,分别采用 2 对特异引物进行扩增来筛查 NDM-1 基因。电泳结果显示位于 480 bp 和 287 bp 处可见明显条带,与预期相符,结果见图 3。将 2 对特异性引物 PCR 产物的测序结果进行 BLAST 分析,证实 2 个不同片段大小的产物均为 NDM-1 基因,与 GenBank 中 NDM-1 序列 FN396876.1 的同源性为 100%。由于 2 个基因片段之间有反向互补处,将二者拼接后的 588 个 bp 序列提交 GenBank,注册成功,登录号为 JQ757003。

### 2.4 PCR 扩增 NDM-1 全长基因及测序确证结果

以肺炎克雷伯菌 CS309 总 DNA 为模板,扩增 NDM-1 全长基因。产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,可见一条约 800 bp 的条带,与预期的 813 bp 相符,结果见图 4。测序结果进行 BLAST 分析显示,与 GenBank 中序列号为 FN396876.1 的 NDM-1 基因同源性为 100%,测序结果见图 5。

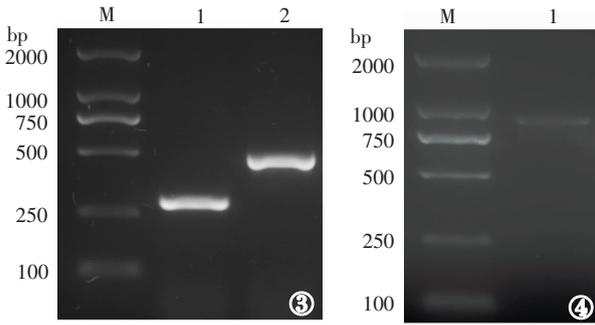


图3 PCR扩增NDM-1基因产物电泳图 M: Marker (D2000); 1: NDM-1 (287 bp); 2: NDM-1 (480 bp)。

图4 PCR扩增NDM-1全长基因产物电泳图 M: Marker (D2000); 1: 肺炎克雷伯菌 CS309。

## 2.5 接合试验结果

含 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  叠氮钠和 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  美罗培南的麦康凯培养基上过夜培养后有中等大小红色菌落生长。该红色菌落经法国梅里埃 API 20E 及 VITEK-2 compact 鉴定为大肠埃希菌, 且与受体菌生化反应一致。采用煮沸法提取该接合子总 DNA, PCR 扩增 NDM-1 全长, 得到与供体菌目的基因大小一致的片段, 产物经测序证实为 NDM-1 基因。药敏结果显示, 接合子对所有  $\beta$ -内酰胺类药物的 MIC 值较受体菌 *E. coli* J53 均有很大提高, 其中对厄他培南和亚胺培南 MIC 均提高了 8 倍以上。供体菌、受体菌及接合子的药敏结果见表 2。

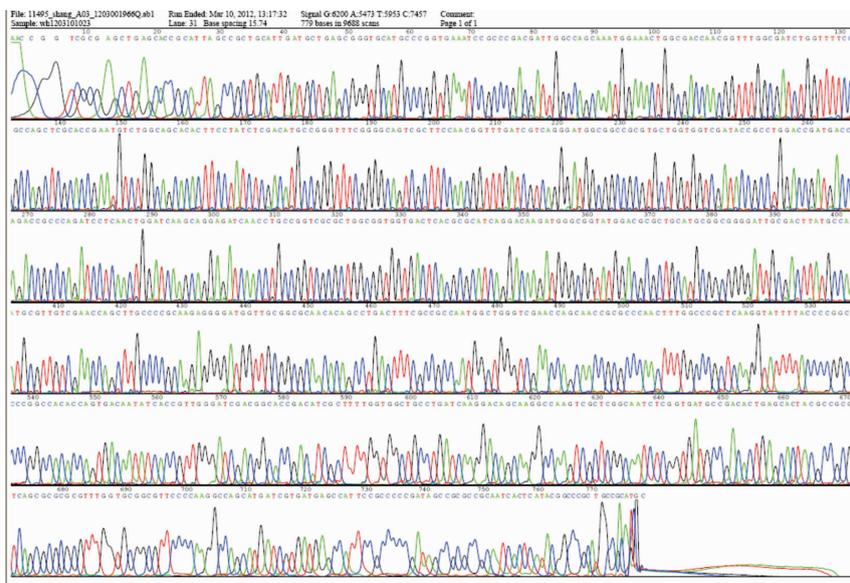


图5 PCR扩增NDM-1全长基因产物测序图(上游引物) 以上下游引物作为测序引物进行测序, 结果与 GenBank 中 NDM-1 序列 FN396876.1 的 NDM-1 基因同源率为 100%。

表2 供体菌 CS309、受体菌 *E. coli* J53 和接合子 *E. coli* J53 (NDM-1) 药敏结果

抗菌药物	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
	<i>K. pneumoniae</i> CS309	<i>E. coli</i> J53	<i>E. coli</i> J53 (NDM-1)
阿米卡星	$\leq 2$	$\leq 2$	$\leq 2$
氨苄西林	$\geq 32$	8	$\geq 32$
氨苄西林/舒巴坦	$\geq 32$	4	$\geq 32$
氨曲南	$\geq 64$	$\leq 1$	16
头孢唑啉	$\geq 64$	$\leq 4$	$\geq 64$
头孢吡肟	$\geq 64$	$\leq 1$	8
头孢替坦	$\geq 64$	$\leq 4$	32
头孢他啶	$\geq 64$	$\leq 1$	$\geq 64$
头孢曲松	$\geq 64$	$\leq 1$	$\geq 64$
环丙沙星	$\geq 4$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$
厄他培南	$\geq 8$	$\leq 0.5$	4
庆大霉素	$\geq 16$	$\leq 1$	$\leq 1$
亚胺培南	$\geq 16$	$\leq 1$	8
左旋氧氟沙星	4	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$
呋喃妥因	128	$\leq 16$	$\leq 16$
哌拉西林/他唑巴坦	$\geq 128$	$\leq 4$	64
妥布霉素	8	$\leq 1$	$\leq 1$
复方新诺明	$\geq 320$	$\leq 20$	$\leq 20$

### 3 讨论

碳青霉烯酶是一类能水解碳青霉烯类抗生素的β-内酰胺酶,包括 Ambler 分子分类中的 A 类、B 类(金属β-内酰胺酶)、C 类及 D 类。NDM-1 是一种新发现的金属β-内酰胺酶,该酶不仅具有其他金属β-内酰胺酶的特性,即能水解几乎所有β-内酰胺酶药物(氨基糖苷类除外),同时,携带 NDM-1 基因的菌株常对喹诺酮类、氨基糖苷类等非β-内酰胺类抗菌药物也呈现交叉耐药,仅对替加环素和多黏菌素敏感,因而,一些新闻媒体将其称为“无药可治”的“超级细菌”(superbug),引起了全球广泛关注。

国外报道,NDM-1 可出现在多种革兰阴性杆菌中,其中以肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌为主<sup>[3,4,10]</sup>。易感人群主要包括免疫力低下患者(如器官移植、糖尿病等)、入住重症监护室、长期使用抗菌药物、接受介入治疗的患者等。尽管目前报道中有不少患者为新生儿或儿童,但感染率是否与年龄有关仍不十分清楚。2010年10月26日,中国疾病预防控制中心通报,在既往收集保存的菌株中,发现了3株产 NDM-1 型碳青霉烯酶菌株,包括2株屎肠球菌<sup>[11]</sup>(来自宁夏腹泻新生儿粪便)和1株鲍曼不动杆菌(来自福建肺癌患者痰标本)<sup>[12]</sup>。迄今为止,已有有限数量的文献报道中国出现了产 NDM-1 菌株,但主要集中在不动杆菌属,而肠杆菌科细菌仅见1株产酸克雷伯菌<sup>[13]</sup>和1株臭鼻克雷伯菌<sup>[14]</sup>,未见肺炎克雷伯菌的报道。尽管产酸克雷伯菌、臭鼻克雷伯菌和肺炎克雷伯菌均属于肠杆菌科克雷伯菌属,但三者为不同菌种,且肺炎克雷伯菌是引起医院感染最常见的病原菌之一,而产酸克雷伯菌的临床分离率不到肺炎克雷伯菌的十分之一,臭鼻克雷伯菌则十分少见<sup>[15-16]</sup>。本研究中分离的肺炎克雷伯菌药敏结果显示仅对阿米卡星敏感,左旋氧氟沙星和妥布霉素中介,对包括碳青霉烯类在内的所有β-内酰胺类抗生素呈高水平耐药。改良 Hodge 试验证实该菌产生碳青霉烯酶,而双纸片协同试验及双纸片增效试验均为阳性,表明该菌产生金属β-内酰胺酶。以3对 NDM-1 基因的特异引物进行 PCR 扩增均出现特异条带,测序结果表明与国外报道的肺炎克雷伯菌所携带的 NDM-1 基因序列完全一致,说明我国大陆地区已出现了和国际上一致的产 NDM-1 肺炎克雷伯菌。

产 NDM-1 细菌的出现之所以备受关注,不仅仅是因为其严重的耐药性本身,而更重要在于该类菌株

可在地区间克隆传播以及 NDM-1 基因可以在细菌之间水平传播。欧洲疾病预防控制中心的统计数据 displays 2008~2010 年所检出的 77 株 NDM-1 阳性菌株中,33 例患者有印度次大陆旅游史或接受医疗服务的经历<sup>[17]</sup>。Kumarasamy 等<sup>[4]</sup>研究表明,在 29 例 NDM-1 阳性的英国患者中至少 17 例在过去 1 年内到过印度或巴基斯坦,其中 14 例曾在当地接受了医疗服务。本研究中患儿来自湖南农村,家庭成员也未有去印度次大陆旅游或接触史,说明该基因可能来源于国内,具体来源还有待进一步研究。

最早发现的产 NDM-1 细菌为肺炎克雷伯菌,但随后在该患者粪便中分离到产 NDM-1 的大肠埃希菌。因而,推测 NDM-1 基因位于质粒上,该基因通过质粒介导的方式传递到了大肠埃希菌中<sup>[3]</sup>。本研究中质粒接合转移实验显示,受体菌成功获得了供体菌的 NDM-1 基因,证实该菌株携带的 NDM-1 基因确实存在于质粒上。比较受体菌转化前后的药敏结果发现,接合子[即获得了供体菌 NDM-1 基因的大肠埃希菌 *E. coli* J53 (NDM-1)]对所有β-内酰胺类药物的 MIC 值较受体菌 *E. coli* J53 均有很大提高,其中对厄他培南和亚胺培南 MIC 均提高了 8 倍以上,头孢他啶及头孢曲松 MIC 则提高了 64 倍以上,但对阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、环丙沙星、左旋氧氟沙星、呋喃妥因以及复方新诺明等其他类抗菌药物 MIC 无明显改变,说明该 NDM-1 对β-内酰胺类药物具有很强的水解活性而对其他抗菌药物没有作用。值得注意的是携带 NDM-1 基因的供体菌(肺炎克雷伯菌 CS309)对多种抗菌药物的耐药水平明显高于接合子,因此仅仅用 NDM-1 还不能完全解释这一现象,推测可能该菌株还存在其他耐药机制,与文献报道的产 NDM-1 菌株可同时携带多种耐药基因,如 *CTX-M-15*、*TEM-1*、*CYM-16* 等一致<sup>[18-20]</sup>。

由于产 NDM-1 细菌常常携带其他多种耐药基因而造成多重耐药,一旦造成感染,治疗极为困难。目前,没有非常明确的治疗方案。Livermore 等<sup>[21]</sup>提出联合氨基糖苷和 NXLI04 新型β-内酰胺酶抑制剂来对抗产碳青霉烯酶泛耐药肠杆菌科细菌,然而对于产 NDM-1 大肠埃希菌效果并不佳。Docobo-Perez 等<sup>[22]</sup>通过小鼠肺炎模型对多粘菌素和替加环素疗效进行了评估,并且推测粘菌素并不适于治疗产 NDM-1 肺炎克雷伯菌感染的治疗,而大剂量替加环素对治疗产 NDM-1 大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌所引发的肺炎有效。本例研究中,患儿经过头孢哌酮/舒巴坦以及对症支持治疗治愈出院,似乎与该菌的耐药特征不相符。推测该菌分离自痰液标本,可能为定植而不是导

致其感染的真正病原体有关,这与我国最先出现的携带 NDM-1 屎肠球菌病例一致<sup>[11]</sup>。

本研究首次证实中国大陆出现了产 NDM-1 肺炎克雷伯菌,应引起临床和感染控制部门的高度警惕。一旦该基因广泛传播和扩散,必将造成十分严重的后果。因此,加强产 NDM-1 菌株的监测,预防和控制其流行已势在必行。

### [参 考 文 献]

[1] Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae [J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(10): 1791-1798.

[2] Cheng X, Wang P, Wang Y, Zhang H, Tao C, Yang W, et al. Identification and distribution of the clinical isolates of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying metallo-beta-lactamase and/or class 1 integron genes[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2008, 28(3): 235-238.

[3] Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, 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): 5046-5054.

[4] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan 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.

[5] Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(4): 689-692.

[6] Ho PL, Lo WU, Yeung MK, Lin CH, Chow KH, Ang I, et al. Complete sequencing of pNDM-HK encoding NDM-1 carbapenemase from a multidrug-resistant *Escherichia coli* strain isolated in Hong Kong[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17989.

[7] Wu HS, Chen TL, Chen IC, Huang MS, Wang FD, Fung CP, et al. First identification of a patient colonized with *Klebsiella pneumoniae* carrying blaNDM-1 in Taiwan [J]. *J Chin Med Assoc*, 2010, 73(11): 596-598.

[8] Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(6): 1255-1259.

[9] Zhou Z, Guan R, Yang Y, Chen L, Fu J, Deng Q, et al. Identification of New Delhi metallo-beta-lactamase gene (NDM-1) from

a clinical isolate of *Acinetobacter junii* in China [J]. *Can J Microbiol*, 2012, 58(1): 112-115.

[10] Deshpande P, Rodrigues C, Shetty A, Kapadia F, Hedge A, Soman R. New Delhi Metallo-beta lactamase (NDM-1) in Enterobacteriaceae: treatment options with carbapenems compromised [J]. *J Assoc Physicians India*, 2010, 58: 147-149.

[11] 郝琼,刘翔,郭邦成,谢明英,闫立群,王鑫,等.宁夏腹泻病人携带 NDM-1 基因菌株的初步研究[J]. *宁夏医学杂志*, 2012, 34(4): 289-291.

[12] 陈硕,邱少富,夏力亮,王中强,刘军,柳楠,等.鲍曼不动杆菌 blaNDM-1 基因序列分析及表达[J]. *中国人兽共患病学报*, 2012, 28(5): 471-473.

[13] 尹建雯,徐闻,古文鹏,周永民,李超群,杨建斌,等.云南省发现 1 株携带 NDM-1 基因的产酸克雷伯菌[J]. *疾病监测*, 2012, 27(3): 211-213, 217.

[14] 杨银梅,叶惠芬,张伟红,陈惠玲,周小棉.臭鼻克雷伯和鲍曼不动杆菌中检出 NDM-1 型金属  $\beta$  内酰胺酶基因[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(13): 1407-1409.

[15] 汪希珂,崔玉霞,罗湘蓉,田洪伦.贵阳市 893 例小儿下呼吸道感染细菌及药敏分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(12): 964-966.

[16] 卓超,苏丹虹,倪语星,孙景勇,汪复,朱德妹,等.2010 年 CHINET 克雷伯菌属细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2012, 12(3): 174-179.

[17] Struelens MJ, Monnet DL, Magiorakos AP, Santos OF, Giesecke J. New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae: emergence and response in Europe [J]. *Euro Surveill*, 2010, 15(46): 1-10.

[18] Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of blaNDM-1-positive Enterobacteriaceae [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(11): 5403-5407.

[19] Poirel L, Ros A, Carricajo A, Berthelot P, Pozzetto B, Bernabeu S, et al. Extremely drug-resistant *Citrobacter freundii* isolate producing NDM-1 and other carbapenemases identified in a patient returning from India [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(1): 447-448.

[20] Pfeifer Y, Witte W, Holfelder M, Busch J, Nordmann P, Poirel L. NDM-1-producing *Escherichia coli* in Germany [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(3): 1318-1319.

[21] Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, Zhang J, Maharjan S, Doumith M, et al. Activities of NXLI04 combinations with ceftazidime and aztreonam against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(1): 390-394.

[22] Docobo-Perez F, Nordmann P, Dominguez-Herrera J, Lopez-Rojas R, Smani Y, Poirel L, et al. Efficacies of colistin and tigecycline in mice with experimental pneumonia due to NDM-1-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2012, 39(3): 251-254.

(本文编辑:邓芳明)