

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20195332

· 论 著 ·

大肠埃希菌质粒介导的 bla_{NDM-1} 基因耐药及传播性研究

文江雄¹, 邬小萍¹, 张伟², 刘洋³, 朱滢¹, 石白茹¹, 胡大利¹, 向天新¹

(南昌大学第一附属医院 1. 感染科; 2. 呼吸科; 3. 检验科, 江西 南昌 330006)

[摘要] **目的** 探讨某院携带 bla_{NDM-1} 基因大肠埃希菌的流行现状及传播机制。**方法** 收集 2016 年 1—12 月南昌大学某附属医院对碳青霉烯类抗生素不敏感的大肠埃希菌 92 株, 对其进行 bla_{NDM-1} 基因筛查, 并对 bla_{NDM-1} 基因阳性的大肠埃希菌进行其他常见碳青霉烯酶基因检测。将 bla_{NDM-1} 基因阳性的大肠埃希菌(供体菌)与大肠埃希菌 J53(受体菌)进行接合试验, 采用药敏试验及 mCIM 试验对接合子进行表型验证, 提取供体菌及接合子的质粒采用 Southern blot 技术对 bla_{NDM-1} 基因进行基因定位, 并验证其水平转移的能力。**结果** 在对碳青霉烯类抗生素不敏感的 92 株大肠埃希菌中发现 2 株携带 bla_{NDM-1} 基因, 携带率 2.2%。此 2 株大肠埃希菌未发现同时携带其他常见碳青霉烯酶基因。接合试验及 Southern blot 发现此 2 株大肠埃希菌的 bla_{NDM-1} 基因均位于菌株的质粒上, 且有 1 株大肠埃希菌的 bla_{NDM-1} 基因可以通过质粒向大肠埃希菌 J53 转移。药敏试验结果显示, 此 2 株大肠埃希菌对临床使用的多种抗菌药物耐药, 且接合子获得了与供体菌相似的药敏结果。mCIM 试验表明, 此 2 株大肠埃希菌及接合子均产 NDM-1 型碳青霉烯酶。**结论** 该院存在携带 bla_{NDM-1} 基因而产 NDM-1 型碳青霉烯酶的大肠埃希菌, 携带 bla_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌对临床使用的大多数抗菌药物耐药, 质粒可介导 bla_{NDM-1} 基因的水平传播。

[关键词] 大肠埃希菌; 耐药; bla_{NDM-1} 基因; 质粒; 碳青霉烯酶

[中图分类号] R378.2⁺1

Plasmid-mediated bla_{NDM-1} gene resistance and transmission of *Escherichia coli*

WEN Jiang-xiong¹, WU Xiao-ping¹, ZHANG Wei², LIU Yang³, ZHU Ying¹, SHI Bai-ru¹, HU Da-li¹, XIANG Tian-xin¹ (1. Department of Infectious Diseases; 2. Department of Respiratory Medicine; 3. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the epidemic status and transmission mechanism of bla_{NDM-1} gene-carrying *Escherichia coli* (*E. coli*) in a hospital. **Methods** 92 strains of carbapenem-non-susceptible *E. coli* were collected from a hospital affiliated to Nanchang University between January and December 2016, bla_{NDM-1} gene was screened and other common carbapenemase genes in bla_{NDM-1} positive *E. coli* were also detected. bla_{NDM-1} positive *E. coli* (donor) and *E. coli* J53 (receptor) was performed conjugation testing, phenotyping of conjugants was validated by antimicrobial susceptibility testing and modified carbapenem inactivation method (mCIM), plasmids of donor strain and conjugator were extracted, bla_{NDM-1} gene was located by Southern blot, and horizontally transfer ability of bla_{NDM-1} gene was validated. **Results** Among 92 strains of carbapenem-non-susceptible *E. coli*, 2 strains were found to carry bla_{NDM-1} gene, carrying rate was 2.2%. Other common carbapenemase genes were also found in these two strains of *E. coli*. Conjugation testing and Southern blot found that bla_{NDM-1} gene of these two *E. coli* strains was located on the plasmid of *E. coli* strain, and bla_{NDM-1} gene of one *E. coli* strain could be transferred to *E. coli* J53 through plasmid. Antimicrobial susceptibility testing showed that these two *E. coli* strains were both resistant to

[收稿日期] 2019-04-10

[基金项目] 江西省青年科学基金(20181BAB215033)

[作者简介] 文江雄(1988-),男(汉族),江西省萍乡市人,医学硕士,主要从事细菌耐药机制研究。

[通信作者] 向天新 E-mail: txxiangmed@163.com

multiple clinically used antimicrobial agents, conjugants obtained similar susceptibility results to the donor bacteria. mCIM showed that these two *E. coli* strains and their conjugants all produced NDM-1 carbapenemase. **Conclusion** *E. coli* carrying *bla*_{NDM-1} gene and producing NDM-1 carbapenemase is found in this hospital, *E. coli* carrying *bla*_{NDM-1} gene is resistant to most clinically used antimicrobial agents, plasmids can mediate the horizontal transfer of *bla*_{NDM-1} gene.

[Key words] *Escherichia coli*; drug resistant; *bla*_{NDM-1} gene; plasmid; carbapenemase

碳青霉烯类抗生素是目前治疗肠杆菌科类细菌重度感染的一线用药,然而近些年来,随着碳青霉烯类抗生素的广泛使用,不断出现耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)。这类细菌往往对包括碳青霉烯类在内的多种不同类型抗菌药物耐药,从而导致临床治疗失败,严重威胁患者生命^[1-2]。大肠埃希菌是目前临床常见的条件致病菌,在检出的革兰阴性杆菌中所占比例较高。CHINET 监测显示,2007 年大肠埃希菌对亚胺培南均敏感,而 2014 年大肠埃希菌对亚胺培南的耐药率升高至 0.9%^[3]。细菌产碳青霉烯酶是目前肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素耐药的主要原因。本研究对南昌大学某附属医院碳青霉烯类抗生素不敏感的大肠埃希菌中 *bla*_{NDM-1} 基因携带情况及耐药现状进行研究,旨在了解其传播规律,为遏制该类耐药菌株在医院流行提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集 2016 年 1—12 月南昌大学某附属医院各科室的临床标本,从中分离 92 株对碳青霉烯类抗生素不敏感的大肠埃希菌(亚胺培南或美罗培南 $\geq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$,剔除重复菌株)作为试验菌株。试验菌株患者均无国外旅游史。标准菌株为肺炎克雷伯菌 ATCC 700603 和大肠埃希菌 ATCC 25922,叠氮钠耐药的大肠埃希菌 J53 为接合试验受体菌。

1.2 仪器和试剂 2×Taq PCR Master Mix 酶, DNA Marker 购自大连 TaKaRa 公司,亚胺培南购自美国 Amresco 公司,美罗培南(10 μg)药敏纸片购自英国 Oxoid 公司,琼脂糖购自上海生工生物技术有限公司,尼龙膜购自 Amersham 公司,Southern blot 杂交试剂盒购自美国罗氏公司,切胶回收试剂盒与质粒小量提取试剂盒购自美国 Axygen 公司,PCR 仪购自德国 Eppendorf 公司,电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司,凝胶成像仪购自上海精科实业有限公司,脱色摇床购自上海琪特分析仪器有限公司,恒温水浴振荡器购自上海重逢科学仪器有限公司, Vitek 2 Compact 全自动微生物鉴定仪购自法国生

物梅里埃生物公司,相关扩增引物均参照有关文献^[4-5]设计,由上海生工生物技术有限公司帮助合成。

1.3 试验方法

1.3.1 *bla*_{NDM-1} 基因及常见碳青霉烯酶基因检测 采用煮沸法提取试验菌株 DNA,应用 NDM-1 引物进行 *bla*_{NDM-1} 基因扩增,*bla*_{NDM-1} 阳性菌株再进行碳青霉烯酶耐药基因(*bla*_{KPC-2}、*bla*_{SPM}、*bla*_{GIM}、*bla*_{VIM}、*bla*_{IMP}、*bla*_{OXA-48})筛查。PCR 引物序列见表 1。PCR 扩增体系为:上游引物 2 μL ,下游引物 2 μL ,模板 2 μL , ddH₂O 19 μL ; 2×Taq PCR Master Mix 25 μL 。反应条件:95℃ 预变性 5 min,95℃ 变性 30 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,共 29 个循环,72℃ 延伸 10 min。最后将扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶进行电泳检验,将试验出现的阳性条带 PCR 扩增产物送苏州泓讯生物科技有限公司进行测序,测序结果采用美国生物信息中心(National Center

表 1 常见碳青霉烯酶基因的相关 PCR 引物序列

Table 1 PCR primer sequences of common carbapenemase genes

引物名称	引物序列(5' - 3')	扩增产物长度(bp)
NDM-1	F: GGCGGAATGGCTCATCACGA	287 ^[4]
	R: CGCAACACAGCCTGACTTTC	
KPC-2	F: GCTACACCTAGCTCCACCTTC	989 ^[5]
	R: ACAGTGGTTGGTAATCCATGC	
VIM	F: TCCGACAGTCAGCGAAAT	435 ^[5]
	R: GCAGCACCAGGATAGAAGA	
IMP	F: ATGGTTTGGTGGTTCTTG	446 ^[5]
	R: TAATTTGGCGGACTTTGG	
OXA-48	F: CGCATCTTGTTGTCCAAGTG	1 012 ^[5]
	R: TCGAGCATCAGCATTGTTGTC	
SPM	F: CTGCTTGGATTTCATGGGCGCG	786 ^[5]
	R: CCTTTTCCGCGACCTTGATCG	
GIM	F: CCTGTAGCGTTGCCAGCTTTA	562 ^[5]
	R: CAGCCCAAGAGCTAATTGAGG	

for Biotechnology Information, NCBI) 中的 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行分析后判断检测结果是否准确。

1.3.2 接合试验 受体菌为对叠氮钠耐药的大肠埃希菌 J53, 分别将供体菌株和受体菌株接种至普通 MH 平板, 37℃ 孵育 18 h。从 MH 平板上挑取适量新鲜菌落(供体菌、受体菌)分别接种于含有 5 mL LB 肉汤培养基的玻璃试管中, 37℃ 孵育 18 h。之后分别吸取 400 μL 供体菌、200 μL 受体菌加至含有 800 μL LB 肉汤培养基的玻璃试管中, 37℃ 孵育 18 h, 同时将供体菌和受体菌分别接种于筛选平板(0.5 μg/mL 亚胺培南 + 180 μg/mL 叠氮钠), 作为空白对照。最后取 100 μL 经过上述培养的菌液接种于筛选平板(0.5 μg/mL 亚胺培南 + 180 μg/mL 叠氮钠), 37℃ 孵育 18 h, 采用 Vitek 2 Compact 全自动微生物分析仪对筛选平板上生长良好的接合后的菌株进行菌株鉴定, 应用 PCR 法检测 *bla*_{NDM-1} 基因。

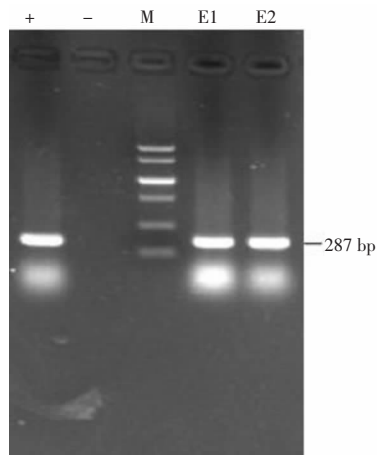
1.3.3 药敏试验 对携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌及其接合子采用 Vitek 2 Compact 全自动微生物分析系统进行药敏试验, 药敏结果参照 2013 版美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)规定的标准进行判读。

1.3.4 Southern blot 制备 NDM-1 探针, 用 NDM-1 引物进行 PCR 扩增, 切胶回收产物作为 DNA 模板, 然后与 DIG-High Prime 进行目的 DNA 的地高辛标记, 按质粒试剂盒说明提取质粒, 进行质粒 Southern blot 杂交, 即质粒琼脂糖凝胶(0.8%)电泳后转膜、烘干、预杂交、杂交、洗膜、显色及保存图片。

1.3.5 碳青霉烯酶表型检测 采用改良碳青霉烯酶灭活试验^[6](modified carbapenem inactivation method, mCIM)检测碳青霉烯酶。取 1 μL 过夜培养的纯菌落于 2 mL TSB 肉汤中, 轻轻振荡 10 s, 将含 10 μg 美罗培南的无菌纸片浸没于该 TSB 菌液中, 35℃ 孵育 4 h, 孵育结束时, 先将生理盐水制备的 0.5 麦氏单位的大肠埃希菌 ATCC 25922 菌悬液涂布于 MH 琼脂平板上室温放置 5 min, 再将美罗培南纸片从 TSB 菌液中取出, 将纸片贴于涂布有大肠埃希菌 ATCC 25922 的 MH 琼脂平板上, 35℃ 过夜培养。结果判读: 若抑菌圈直径 ≤ 18 mm, 则 mCIM 试验阳性, 受测菌产碳青霉烯酶, 反之, 抑菌圈直径 ≥ 19 mm, 则不能确定是否产碳青霉烯酶。

2 结果

2.1 *bla*_{NDM-1} 基因检测结果 92 株碳青霉烯类抗生素不敏感的大肠埃希菌, 其中 2 株携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌, 携带率 2.2%。对此 2 株菌进行 *bla*_{KPC-2}、*bla*_{SPM}、*bla*_{GIM}、*bla*_{VIM}、*bla*_{IMP}、*bla*_{OXA-48} 碳青霉烯酶基因检测, 未发现其同时携带此类基因。2 株 *bla*_{NDM-1} 基因阳性的大肠埃希菌, 一株来自该院传染科(患者女性, 76 岁, 中枢神经系统感染), 另一株来自该院泌外科(患者男性, 50 岁, 肾结石); 均分离自尿标本。*bla*_{NDM-1} 基因阳性的大肠埃希菌电泳结果见图 1。



注: +、- 分别为阳性、阴性对照, M 为 Marker DNA 2 000(从上至下共 6 条带: 2 000、1 500、1 000、700、400、200 bp), E1、E2 为大肠埃希菌临床株

图 1 大肠埃希菌 *bla*_{NDM-1} 基因 PCR 扩增产物电泳图

Figure 1 Electrophoresis map of PCR amplification products of *E. coli bla*_{NDM-1} gene

2.2 接合试验结果 2 株 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌(E1、E2)分别与大肠埃希菌 J53 菌株进行接合试验, 将接合子接种在筛选 MH 平板上(0.5 μg/mL 亚胺培南 + 180 μg/mL 叠氮钠), 发现其中 1 株在平板生长。经 Vitek 2 Compact 全自动微生物分析仪鉴定为大肠埃希菌。提取受体菌 DNA 行 *bla*_{NDM-1} 基因 PCR 扩增, 扩增产物进行电泳可见明显阳性条带, 说明有 1 株 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌与大肠埃希菌 J53 接合成功, 为 E3(E1 为供体菌)。

2.3 Southern Blot 结果 根据质粒小量提取试剂盒的操作说明提取 2 株 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌的质粒,采用质粒 Southern blot 杂交试验技术进行 *bla*_{NDM-1} 基因质粒定位。2 株 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌的质粒经杂交、染色后均显色,说明 *bla*_{NDM-1} 基因均位于耐药菌株质粒上。提取接合子的质粒进行 Southern blot 杂交,接合子也有质粒显色,说明大肠埃希菌 *bla*_{NDM-1} 质粒成功导入大肠埃希菌 J53 内,质粒 Southern blot 结果见图 2。

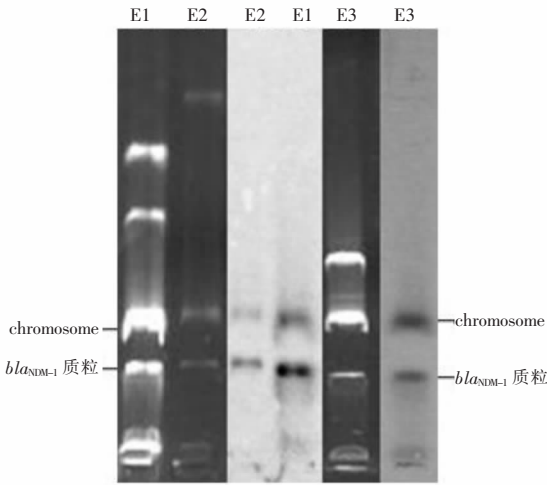


图 2 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌质粒与接合子质粒 Southern blot 图

Figure 2 Southern blot map of *bla*_{NDM-1} positive *E. coli* plasmid and conjugate plasmid

2.4 药敏试验结果 将 2 株 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌(E1、E2)及接合子(E3)采用 Vitek 2 Compact 全自动微生物分析系统进行体外药敏试验,2 株 *bla*_{NDM-1} 阳性大肠埃希菌对大多数临床抗菌药物均耐药,仅 E2 对阿米卡星敏感,对氨曲南、妥布霉素中介,而接合子 E3 则获得了与供体菌 E1 相类似的药敏结果。稍有改变的是接合子 E3 较供体菌 E1 对阿米卡星敏感,庆大霉素的 MIC 值稍有下降,对妥布霉素及氨曲南由耐药变为中介。见表 2。

2.5 碳青霉烯酶表型结果 mCIM 检测结果显示,2 株 *bla*_{NDM-1} 基因阳性大肠埃希菌及接合子 mCIM 试验的抑菌圈直径均 < 18 mm, 表明均产 NDM-1 型的碳青霉烯酶,结果见图 3。

表 2 *bla*_{NDM-1} 阳性菌株与接合子药敏试验结果(μg/mL)
Table 2 Antimicrobial susceptibility testing results of *bla*_{NDM-1} positive strains and conjugates(μg/mL)

抗菌药物	E1	E2	E3
氨苄西林	>32(耐药)	>16(耐药)	>32(耐药)
氨苄西林/舒巴坦	>32(耐药)	>16(耐药)	-
哌拉西林/他唑巴坦	>128(耐药)	>64(耐药)	>64(耐药)
头孢他啶	>64(耐药)	>64(耐药)	>64(耐药)
头孢吡肟	>64(耐药)	>64(耐药)	>64(耐药)
头孢唑林	>64(耐药)	>64(耐药)	>64(耐药)
头孢哌酮/舒巴坦	6(耐药)	6(耐药)	6(耐药)
氨曲南	>64(耐药)	≤8(中介)	≤8(中介)
美罗培南	>16(耐药)	>8(耐药)	>16(耐药)
亚胺培南	>16(耐药)	>8(耐药)	>16(耐药)
厄他培南	>8(耐药)	>8(耐药)	>8(耐药)
阿米卡星	>64(耐药)	≤8(敏感)	≤8(敏感)
庆大霉素	>16(耐药)	>8(耐药)	>8(耐药)
妥布霉素	>16(耐药)	8(中介)	8(中介)
环丙沙星	>4(耐药)	>4(耐药)	>4(耐药)
左氧氟沙星	>8(耐药)	>4(耐药)	>8(耐药)

- : 未检测



注:左侧为试验菌株 mCIM 阳性结果,右侧为肺炎克雷伯菌 ATCC 700603(阴性对照)

图 3 携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌 mCIM 检测结果
Figure 3 Detection of mCIM in *E. coli* carrying *bla*_{NDM-1} gene

3 讨论

目前临床上治疗革兰阴性杆菌感染最有效的 β-内酰胺类药物主要为碳青霉烯类抗生素,但随着该类抗生素的过度使用,甚至是滥用,导致对该类抗生

素耐药的菌株不断出现。其主要耐药机制是产碳青霉烯酶,能够水解该类抗生素^[7]。在肠杆菌科细菌中常见的三大碳青霉烯酶有 KPC、NDM、OXA-48^[8],NDM 酶属于 Ambler 分类中的 B 类酶。该酶首次发现于 2010 年 1 例在印度新德里住院后返回瑞典患者的分离菌株,最早出现在多重耐药肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌中^[9]。我国于 2013 年首次报道携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌^[10]。本研究收集了该院 2016 年 1—12 月 92 株对碳青霉烯类抗生素不敏感的大肠埃希菌,发现 2 株携带 *bla*_{NDM-1} 基因。大肠埃希菌是临床上造成重度感染的常见革兰阴性菌之一,尤其是携带 *bla*_{NDM-1} 基因产碳青霉烯酶而导致对临床上多种抗菌药物不敏感,给治疗带来了极大的困难。

耐药基因可通过细菌的质粒或整合子等可转移的移动元件实现细菌耐药的水平传播,这也是近几年细菌耐碳青霉烯类抗生素增多的原因之一^[11]。研究^[12-14]表明,*bla*_{NDM-1} 基因绝大多数存在于耐药菌株的质粒上,而质粒是染色体以外重要的遗传因子,具有自我复制及转移能力。正是这种自我复制和水平转移能力使得存在于质粒中的 *bla*_{NDM-1} 基因可以在细菌间无抗菌药物选择压力下进行水平传播,为细菌耐药性的播散提供了高效的传播载体。本研究在该院发现 2 株携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌,通过与大肠埃希菌 J53 的接合试验及 *bla*_{NDM-1} 基因 Southern blot 基因定位分析,验证了此 2 株携带的 *bla*_{NDM-1} 基因均位于细菌的质粒上。其中 1 株大肠埃希菌携带的 *bla*_{NDM-1} 基因成功接合至大肠埃希菌 J53 中,说明 *bla*_{NDM-1} 基因可通过质粒介导的传播方式在不同菌株间传播。本研究发现携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌,在对碳青霉烯类抗生素不敏感的大肠埃希菌中的比率为 2.2%。虽然未造成严重的感染性暴发事件,但是其通过质粒介导的水平传播方式,随时有可能造成大范围的暴发流行,应当引起重视,做好相应的防控措施。

贾元春等^[15]研究发现,耐碳青霉烯类大肠埃希菌对临床大多数抗菌药物均耐药,仅少数对米诺环素和阿米卡星敏感。其中对碳青霉烯类耐药的大肠埃希菌多数携带 *bla*_{NDM-1} 基因,表现为多重耐药。该院发现的 2 株携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌表现出了与该研究类似的耐药特征。俞凤等^[16]对 1 株携带 *bla*_{NDM-1} 基因非脱羧勒克菌的研究中发现,携带 *bla*_{NDM-1} 基因的耐药菌株与大肠埃希菌 J53 接合成功后,接合子可以获得与供体菌相似的耐药谱。本

研究中通过接合试验发现,接合子获得了与供体菌相类似的耐药特征,稍有改变的是接合子对阿米卡星敏感,对庆大霉素的 MIC 值稍有下降,对妥布霉素及氨基曲南由耐药变为中介。对于受体菌大肠埃希菌 J53 获得携带 *bla*_{NDM-1} 基因的质粒后,从而获得与供体菌相类似的耐药谱以及细小的耐药差异的机制目前尚不清楚,需要进一步深入研究。

既往改良的 Hodge 试验只对 KPC 型 A 类碳青霉烯酶和 OXA 型 D 类碳青霉烯酶具有较高的检测效果,然而对金属酶类的 IMP、VIM、NDM-1 检测效率不高^[17]。本研究采用的 mCIM 试验能够检测所有类型的碳青霉烯酶^[18]。本研究中的 2 株携带 *bla*_{NDM-1} 基因的大肠埃希菌及接合子 mCIM 试验全部阳性,提示均产 B 类 NDM-1 型碳青霉烯酶。

综上所述,南昌大学某附属医院已存在携带 *bla*_{NDM-1} 耐药基因并产 NDM-1 型碳青霉烯酶的大肠埃希菌,且介导了该类菌株对临床绝大多数抗菌药物耐药。研究还发现 *bla*_{NDM-1} 基因可以通过质粒介导的方式传播耐药性,有可能导致耐药菌医院感染暴发,应当引起重视,加大该类耐药菌株的监测力度,避免出现耐药菌医院感染暴发事件。

[参 考 文 献]

- [1] Lerner A, Adler A, Abu-Hanna J, et al. Spread of KPC-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the importance of super-spreaders and rectal KPC concentration[J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(5): 470. e1-7.
- [2] Ozbek B, Mataraci-Kara E, Er S, et al. In vitro activities of colistin, tigecycline and tobramycin alone or in combination, against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae strains[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2015, 3(4): 278-282.
- [3] 王峰,孙景勇,张芳芳,等. 碳青霉烯类耐药的大肠埃希菌中 blaNDM 基因型检测及流行病学分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(1): 56-60.
- [4] 邹大阳. NDM-1 耐药菌在中国的流行及特性研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2015.
- [5] Wei DD, Wan LG, Yu Y, et al. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase, carbapenemase, and plasmid quinolone determinants in *Klebsiella pneumoniae* isolates carrying distinct types of 16S rRNA methylase genes, and their association with mobile genetic elements[J]. Microb Drug Resist, 2015, 21(2): 186-193.
- [6] Pierce VM, Simner PJ, Lonsway DR, et al. Modified carbapenem inactivation method for phenotypic detection of carbapenemase production among Enterobacteriaceae[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(8): 2321-2333.
- [7] Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, et al. Structural basis for carbape-

nem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(5): 9654 - 9692.

- [8] Mathers A. Mobilization of carbapenemase-mediated resistance in Enterobacteriaceae[J]. *Microbiol Spectr*, 2016, 4(3): 1 - 10.
- [9] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, 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.
- [10] Liu Z, Li W, Wang J, et al. Identification and characterization of the first *Escherichia coli* strain carrying NDM-1 gene in China[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66666.
- [11] 宁长秀, 汪红, 钟桥石, 等. 耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌科细菌耐药特性的分析[J]. *中国抗生素杂志*, 2013, 38(10): 788 - 790.
- [12] Bocanegra-Ibarias P, Garza-González E, Morfin-Otero R, et al. Molecular and microbiological report of a hospital outbreak of NDM-1-carrying Enterobacteriaceae in Mexico[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179651.
- [13] Kocsis E, Gužvinec M, Butić I, et al. *bla*_{NDM-1} carriage on IncR plasmid in Enterobacteriaceae strains[J]. *Microb Drug Resist*, 2016, 22(2): 123 - 128.
- [14] Pedersen T, Sekyere JO, Govinden U, et al. Spread of plasmid-encoded NDM-1 and GES-5 carbapenemases among extensively drug-resistant and pandrug-resistant clinical Enterobac-

teriaceae in Durban, South Africa [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(5), pii: e02178 - 17.

- [15] 贾园春, 袁敏, 陈东科, 等. 临床来源碳青霉烯耐药大肠埃希菌药物敏感性及其分子流行病学特征分析[J]. *疾病监测*, 2017, 32(4): 346 - 350.
- [16] 俞凤, 邓林强, 钟桥石, 等. 发现 1 株产 NDM-1 型碳青霉烯酶非脱氧腺嘌呤克菌[J]. *临床检验杂志*, 2018, 36(1): 25 - 28.
- [17] Doyle D, Peirano G, Lascols C, et al. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(12): 3877 - 3880.
- [18] Butler-Wu SM, Abbott AN. Is this the carbapenemase test we've been waiting for? A multicenter evaluation of the modified carbapenem inactivation method [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(8): 2309 - 2312.

(本文编辑:周鹏程、陈玉华)

本文引用格式:文江雄, 邬小萍, 张伟, 等. 大肠埃希菌质粒介导的 *bla*_{NDM-1} 基因耐药及传播性研究[J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18(6): 505 - 510. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20195332.

Cite this article as: WEN Jiang-xiong, WU Xiao-ping, ZHANG Wei, et al. Plasmid-mediated *bla*_{NDM-1} gene resistance and transmission of *Escherichia coli* [J]. *Chin J Infect Control*, 2019, 18(6): 505 - 510. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20195332.