

产新德里金属 β -内酰胺酶肠外致病性大肠埃希菌的分子分型

冯丽娜 李从荣 姜树朋 杨勇文 蔡璇 李娟 冯镭 郭静

【摘要】目的 对产新德里金属 β -内酰胺酶(NDM)的肠外致病性大肠埃希菌(ExPEC)进行多位点序列分型(MLST)和系统发育分群研究。**方法** 收集2016年2月至2018年2月分离自武汉大学人民医院临床送检标本中对亚胺培南和(或)美罗培南敏感性降低($MIC \geq 2 \mu g/ml$)的ExPEC菌株。改良Hodge试验(MHT)对碳青霉烯酶进行表型确证。PCR检测碳青霉烯酶编码基因 bla_{NDM} 。Sanger测序法检测各碳青霉烯酶基因亚型。采用MLST分型和系统发育分群对PCR检测出的产NDM ExPEC菌株的分子流行病学特征进行分析。**结果** 共收集到对碳青霉烯类抗菌药物敏感性降低的ExPEC菌株20株,其中产NDM ExPEC菌株15株。MHT检测产NDM ExPEC菌株的敏感度和特异度分别为93.3% (14/15)和80.0% (12/15)。15株产NDM ExPEC菌株中11株(73.3%)产NDM-5型,4株(26.7%)产NDM-1型。系统发育分群结果显示,15株产NDM ExPEC菌株中,13株属于A群,2株属于D群。MLST分型结果显示,ST410是产NDM ExPEC菌株中检出率最高的ST型(5株,33.3%)。**结论** 本院绝大多数产NDM ExPEC菌株属于毒力较小的系统发育群,应加强院感监测,防止高危克隆ST型的暴发流行。

【关键词】 碳青霉烯耐药; 新德里金属 β -内酰胺酶; 肠外致病性大肠埃希菌; 系统发育分群; 多位点序列分型

Molecular typing of New Delhi metallo- β -lactamase-producing extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* Feng Lina, Li Congrong, Jiang Shupeng, Yang Yongwen, Cai Xuan, Li Juan, Feng Kai, Guo Jing. Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China
Corresponding author: Li Congrong, Email: conrongli33@163.com

【Abstract】Objective To investigate the multilocus sequence typing (MLST) and phylogenetic grouping of parenteral pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) producing New Delhi metal beta-lactamase (NDM). **Methods** The carbapenem-nonsusceptible ExPEC strains with decreased sensitivity to imipenem and/or meropenem ($MIC \geq 2 \mu g/ml$) isolated from clinical samples in Renmin Hospital of Wuhan University from February 2016 and February 2018 were screened. The carbapenemase phenotype was identified by modified Hodge test (MHT). The carbapenem coding gene bla_{NDM} were detected by PCR. The carbapenem subtypes were detected by Sanger sequencing. The molecular epidemiological characteristics of NDM ExPEC strains detected by PCR were analyzed by MLST typing and phylogenetic grouping. **Results** A total of 20 ExPEC strains with reduced sensitivity to carbapenems were collected, among which 15 ExPEC strains produced NDM. The sensitivity and specificity of MHT to detect NDM-producing ExPEC strains were 93.3% (14/15) and 80.0% (12/15), respectively. Fifteen NDM-producing ExPEC strains were identified, among which 11 strains (73.3%) were NDM-5-positive and 4 strains (26.7%) were NDM-1-positive. Phylogenetic grouping result showed that among the 15 NDM ExPEC strains, 13 strains belonged to phylogenetic group A and 2 strains belonged to phylogenetic group D. MLST typing indicated that sequence type 410 (ST410) was the highest detected type of ST in NDM ExPEC strains (5 strains, 33.3%). **Conclusions** The vast majority of NDM ExPEC-producing strains in our hospital belong to the

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2020.01.005

基金项目: 国家临床重点专科建设项目 (No. 财社 [2010] 305)

作者单位: 430060 武汉市, 武汉大学人民医院检验医学中心

通信作者: 李从荣, Email: conrongli33@163.com

less virulent phylogenetic group, so the hospital sense monitoring should strengthen to prevent the outbreak of high-risk cloning ST type.

【Key words】Carbapenem resistance; New Delhi metallo- β -lactamase (NDM); Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC); Phylogenetic groups; Multilocus sequence typing (MLST)

大肠埃希菌分为3类:肠道正常大肠埃希菌、肠道致病性大肠埃希菌和肠外致病性大肠埃希菌(extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC)。ExPEC是中国最常见的致病性肠杆菌科细菌,可表达多种 β -内酰胺酶,包括AmpC酶、ESBLs和碳青霉烯酶^[1],在抗菌药物耐药中扮演重要角色。ExPEC产碳青霉烯酶,尤其是产新德里金属 β -内酰胺酶(New Delhi metallo-beta-lactamase, NDM)及其变体,成为重大的公共卫生问题^[2]。多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)是一种基于核酸序列测定的细菌分型方法,通过PCR扩增多个管家基因内部片段,测定其序列并进行分型,从而分析菌株的变异。系统发育分群通过检测系统发育分群基因*ChuA*、*YjaA*和*TspE4C2*,将产NDM ExPEC菌株分为A、B1、B2和D共4个群。本文通过MLST分型和系统发育分群研究,明确了武汉大学人民医院产NDM ExPEC菌株主要的ST型和系统发育群,这有助于早期发现多重耐药高危克隆菌株,从而采取及时的感染防控措施,防止其暴发流行,现报道如下。

材料与方法

一、材料

1. 实验菌株:收集2016年2月至2018年2月分离自本院临床送检标本中的对亚胺培南和(或)美罗培南敏感性降低,即最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC) $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ 的ExPEC菌株20株。剔除同一患者相同部位分离的重复菌株。

2. 质控菌株: *E. coli* ATCC[®] 25922和*E. coli* ATCC[®] 35218(监控 β -内酰胺酶/ β -内酰胺酶抑制剂复合物),由国家卫生健康委临床检验中心提供。

3. 用于检测的所有菌株均为转种于哥伦比亚血平板后于37℃、含5% CO₂培养箱孵育16~24 h的新鲜菌株。

4. 主要试剂:哥伦比亚血平板和MH琼脂平板(广州市迪景微生物科技有限公司)、药敏纸片(英国OXOID公司)、2× Taq PCR Master Mix和

无核酶水(上海莱枫公司)、PCR引物(武汉金开瑞生物合成有限公司)、Gel-Red核酸染料(北京Biotech公司)、DL1000 DNA Marker(大连宝生物公司)、基质(德国Bruker Daltonik公司)。

5. 主要仪器: MALDI-TOF质谱仪[布鲁克(北京)科技有限公司]、全自动细菌鉴定药敏系统Phoenix-100(美国BD公司)、Vortex-5涡旋振荡器(郑州南北集团)、Thermo Heraeus Multifuge X1R高速离心机(美国Thermo公司)、5430R小型台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司)、600A型板式离心机(北京白洋公司)、NanoDrop 2000c分光光度计(美国Thermo公司)、T100™ PCR仪(美国Bio-Rad公司)、DYY-6C型电泳仪(北京六一仪器厂)、G:BOX Chemi XT4全自动凝胶成像分析系统(英国SYNGENE公司)、PNOENIXSPEC型比浊仪(美国BD公司)、AG245型分析天平(瑞士METTR公司)和DKT-200恒温金属浴(杭州米欧仪器有限公司)。

二、实验方法

1. 菌株鉴定及药物敏感性检测: 采用Phoenix-100全自动细菌鉴定药敏系统, MALDI-TOF质谱仪复核鉴定结果,对于Phoenix-100全自动细菌鉴定药敏系统检测亚胺培南和(或)美罗培南的MIC $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ 的菌株,采用Kirby-Bauer(K-B)法或E-test法复核亚胺培南和美罗培南的药敏试验结果。试验操作及结果解释参照CLSI M100(第28版)标准^[3]。

2. 碳青霉烯酶表型检测: 改良Hodge试验(modified Hodge test, MHT)操作及结果解释参照CLSI M100(第28版)标准^[3]。

3. 碳青霉烯酶基因检测: 方法见作者以往研究报道^[4]。

4. MLST分型: 对15株产NDM ExPEC菌株进行MLST分型研究。用于MLST分型的7个管家基因的引物序列下载自<http://www.mlst.net/>网站,委托武汉金开瑞公司进行引物合成。引物序列如表1所示。

PCR反应体系见表2。PCR扩增条件为: 95℃预变性5 min, 95℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s

循环32次, 72 °C延伸10 min, 4 °C保存。PCR产物经2.0%琼脂糖凝胶电泳(90 V, 40 min)后, 在凝胶成像系统中进行观察。PCR产物委托武汉金开瑞生物工程有限公司进行双向测序(Sanger法), Chromas软件查看测序结果, SeqMan Pro软件对正反向测序结果进行剪切和拼接后, 提交到Pubmlst网站得到等位基因号和序列型(ST型)。将7个管家基因的序列按照*adk*、*fumC*、*gyrB*、*icd*、*mdh*、*purA*、*recA*的先后顺序拼接后, 运用ClustalX软件进行比

对, MEGA6.06软件生成进化树(邻接法)。

5. 系统发育分群: 运用多重PCR对15株产NDM ExPEC菌株进行系统发育分群。检测系统发育分群基因*ChuA*、*YjaA*和*TspE4C2*, 将产NDM ExPEC菌株分为A、B1、B2和D共4个群。系统发育分群方法如图1^[5], 引物序列见表1, PCR反应体系见表2。PCR扩增条件为: 95 °C预变性5 min, 95 °C 30 s、55 °C 30 s、72 °C 30 s循环30次, 72 °C延伸10 min。于4 °C保存。

表1 基因扩增引物序列

编码基因	引物序列（5'→3'）	产物长度（bp）	退火温度（℃）
管家基因			
<i>adk</i>	F: ATTCTGCTTGCGCTCCGGG	583	62
	R: CCGTCAACTTTCGCGTATTT		
<i>fumC</i>	F: TCACAGGTCGCCAGCGCTTC	806	64
	R: GTACGCAGCGAAAAAGATTC		
<i>gyrB</i>	F: TCGGCGACACGGATGACGGC	911	62
	R: ATCAGGCCTTCACGCGCATC		
<i>icd</i>	F: ATGAAAGTAAAGTAGTTGTCCGGCACA	878	62
	R: GGACGCAGCAGGATCTGTT		
<i>mdh</i>	F: ATGAAAGTCGCAGTCCTCGGCGCTGCTGGCGG	932	60
	R: TTAACGAACTCCTGCCCCAGAGCGATATCTTTCTT		
<i>purA</i>	F: CGCGCTGATGAAAGAGATGA	816	62
	R: CATACGGTAAGCCACGCAGA		
<i>recA</i>	F: CGCATTCGCTTTACCCTGACC	780	62
	R: TCGTCGAAATCTACGGACCGGA		
系统发育分群基因			
<i>ChuA</i>	F: GACGAACCAACGGTCAGGAT	279	55
	R: TGCCGCCAGTACCAAAGACA		
<i>YjaA</i>	F: TGAAGTGTGAGGAGACGCTG	211	55
	R: ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC		
TspE4C2	F: GAGTAATGTCGGGGCATTCA	152	55
	R: CGCGCCAACAAAGTATTACG		

注: F: 前引物, R: 后引物

表2 基因扩增 PCR 反应体系

组成	加样量 (μl)	
	管家基因扩增体系	系统发育分群基因扩增体系
2× <i>Taq</i> PCR Master Mix	10	10
10 μmol/L 引物	0.5 × 2	1 × 3
50 ng/μl DNA模板	1	1.5
ddH ₂ O	8	5.5
总体积	20	20

结 果

一、菌株分布

20株碳青霉烯类抗菌药物不敏感ExPEC菌株中检出产NDM ExPEC菌株15株。15株产NDM ExPEC菌株主要分离自尿液标本(8株), 检出的科室以泌尿外科(5株)和肿瘤科(3株)为主。感染产NDM ExPEC菌株的患者通常患有多种严重的基础疾病, 见表3。

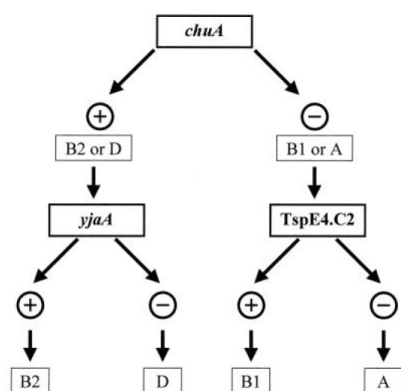


图1 多重PCR系统发育分群示意图

二、对抗菌药物的敏感性

15株产NDM ExPEC菌株对临床常用抗菌药物氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢唑啉、头孢他啶、头孢噻肟、头孢吡肟、复方新诺明、亚胺培南和美罗培南的耐药率均为100%, 绝大部分菌株对氨曲南、庆大霉素、环丙沙星、莫西沙星、左氧氟沙星、氯霉素和四环素耐药, 详见表4。

三、碳青霉烯酶表型

15株产NDM ExPEC菌株中, MHT检测结果为阳性14株(93.3%)。以碳青霉烯酶基因检测结果为金标准, MHT检测产NDM ExPEC菌株的敏感度和特异度分别为93.3%(14/15)和80.0%(12/15), 见表3。

四、碳青霉烯酶基因

20株碳青霉烯类抗菌药物不敏感ExPEC菌株中, 检出携带 bla_{NDM} 的ExPEC菌株15株, 检出率为75.0%(15/20)。15株产NDM ExPEC菌株中, 产NDM-5型11株(73.3%), 产NDM-1型4株(26.7%)。

表3 15株产NDM ExPEC菌株的基本特征

菌株	MIC法 (μg/ml)		K-B法 (mm)		MHT	所产碳青霉烯酶				临床诊断
	IPM	MEM	IPM	MEM		KPC	NDM	IMP	VIM	
EC5	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 支气管炎; 2. 脓毒血症; 3. 腹泻病
EC38	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 弥漫大B细胞淋巴瘤; 2. 骨髓抑制III
EC40	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 肝硬化; 2. URI; 3. 2型糖尿病; 4. 高血压; 5. 原发性腹膜炎; 6. 双肺感染; 7. 肾囊肿
EC42	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 右输尿管下段结石; 2. 右肾积水; 3. 左肾囊肿
EC43	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 泌尿道感染; 2. 前列腺癌; 3. 高血压; 4. 糖尿病; 5. PCI术后
EC44	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	左乳浸润性导管癌
EC45	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 右侧输尿管阴道瘘; 2. 右肾积水; 3. 子宫切除术后
EC49	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 右膝内侧皮肤软组织缺损伴感染; 2. 右胫骨开放性粉碎性骨折外固定术后
EC50	> 8	> 8	6	6	-	-	+	-	-	1. 胆囊结石伴急性胆囊炎; 2. 高血压
EC51	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	死亡
EC53	> 4	> 16	6	6	+	-	+	-	-	1. 脓毒血症; 2. 双肾结石术后
EC54	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 双膝退变性骨性关节炎; 2. 高血压; 3. 菌血症
EC66	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 重型颅脑损伤术后; 2. 颅骨缺失; 3. 颌面部多发骨折; 4. 右侧股骨下端骨折; 5. 压疮
EC94	> 8	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 左侧输尿管狭窄; 2. 左肾积水; 3. 泌尿系感染; 4. 十二指肠球部溃疡
EC95	> 4	> 8	6	6	+	-	+	-	-	1. 左侧输尿管结石; 2. 右肾萎缩; 3. 泌尿系感染; 4. 右肺下叶局限性感染; 5. 偶发房早

注: MIC: 最低抑菌浓度; MHT: 改良 Hodge 实验; IMP: 亚胺培南; MEM: 美罗培南

五、系统发育分群和MLST分型

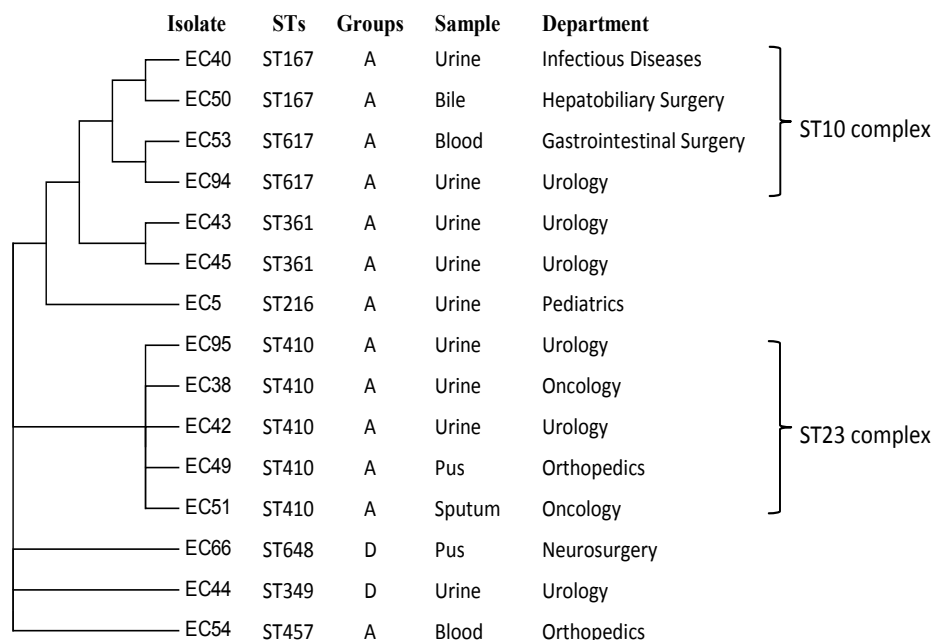
系统发育分群结果显示, 15株产NDM ExPEC菌株中, 13株属于A群, 2株属于D群。

MLST分型结果显示, ST410是检出率

最高为ST型(5株, 33.3%), 其次为ST167(2株)、ST361(2株)和ST617(2株), ST216、ST349、ST457和ST648各检出1株, 见图2。

表4 15株产NDM ExPEC菌株的药敏试验

菌株 编号	氨苄西林	哌拉西林	氨苄西林/ 舒巴坦	阿莫西林/ 克拉维酸	哌拉西林/ 他唑巴坦	头孢唑啉	头孢他啶	头孢噻肟	头孢吡肟	氨基糖
F5	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	≤ 2
F38	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F40	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F42	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	4
F43	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F44	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	≤ 2
F45	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F49	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	4
F50	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F51	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F53	> 16	> 64	> 32/16	> 32/16	> 128/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F54	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	≤ 2
F66	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F94	> 16	> 64	> 16/8	> 16/8	> 64/4	> 16	> 16	> 32	> 16	> 16
F95	> 32	> 64	> 16/8	> 32/8	> 128/4	> 16	> 8	> 8	> 8	> 32
菌株 编号	亚胺培南	美罗培南	庆大霉素	阿米卡星	环丙沙星	左氧氟沙星	复方新诺明	氯霉素	四环素	莫西沙星
F5	> 8	> 8	> 8	≤ 8	≤ 0.5	≤ 1	> 2/38	> 16	> 8	≤ 1
F38	> 8	> 8	≤ 2	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	8	> 8	> 4
F40	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	≤ 0.5/9.5	16	> 8	> 4
F42	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	8	> 8	> 4
F43	> 8	> 8	> 8	> 32	> 2	> 8	> 2/38	> 16	≤ 2	> 4
F44	> 8	> 8	≤ 2	≤ 8	≤ 0.5	≤ 1	> 2/38	> 16	> 8	2
F45	> 8	> 8	> 8	> 32	> 2	> 8	> 2/38	> 16	≤ 2	> 4
F49	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	8	> 8	> 4
F50	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	16	> 8	> 4
F51	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	8	> 8	> 4
F53	> 4	> 16	> 16	> 64	> 2	> 8	> 4/76	> 32	> 16	> 4
F54	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	> 16	> 8	> 4
F66	> 8	> 8	> 8	16	> 2	> 8	> 2/38	16	> 8	> 4
F94	> 8	> 8	> 8	≤ 8	> 2	> 8	> 2/38	8	> 8	> 4
F95	> 4	> 8	> 32	> 32	> 2	> 4	> 8/38	> 16	> 8	> 4



注：运用邻接法（Neighbor-joining），由7个管家基因的串联序列构建进化树；进化树中主要包含ST10和ST23两个复合群，ST10复合群中包含ST167和ST617两个序列型，ST23复合群中只包含ST410一个序列型

图2 15株产NDM ExPEC菌株的MLST分型

讨 论

近年来，随着 bla_{NDM} 这种质粒介导的碳青霉烯类抗菌药物耐药基因在世界范围内的广泛传播，由多重耐药菌感染引起的临床和公共健康问题的范围进一步扩大^[6]。本院分离的20株碳青霉烯类抗菌药物不敏感ExPEC菌株中，有15株产NDM，包括NDM-1和NDM-5两种类型。NDM-5检出率高于NDM-1，与相关研究结果一致^[7]。NDM-1首次发现于1例长期在印度住院的瑞典患者体内，此后，NDM-1在奥地利、比利时、丹麦、北欧、德国、意大利、荷兰、斯洛文尼亚、西班牙、澳大利亚、美国、加拿大、日本、新加坡、中国、肯尼亚、阿曼、以色列以及土耳其等多个国家检出^[8]。多种革兰阴性菌可以产NDM-1，尤其是肠杆菌科细菌和不动杆菌属细菌^[9]。通过在不同位置单个或者两个氨基酸残基的取代，NDM-1可衍生出新的变体^[2]。NDM-5是NDM-1的变体之一，与NDM-1只存在2个氨基酸残基的差异^[10]，目前并无太多关于NDM-5的研究报道。迄今为止，已有17种NDM-1的变体被检出^[2]。

研究发现，产NDM ExPEC菌株对几乎所有临床常用抗菌药物耐药。NDM可广泛水解青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、氨基糖苷类，尤其

是碳青霉烯类抗菌药物。有研究表明^[11-12]，相对于NDM-1，NDM-5对碳青霉烯类以及广谱β-内酰胺类抗菌药物具有更强的水解能力；因菌株数量的限制，该研究并未行相关比较。但产NDM ExPEC菌株耐药性强，导致此类细菌引起的感染无药可用、经久不愈，而感染产NDM ExPEC菌株的患者通常患有严重的基础疾病，持续的感染会使得基础疾病变得更持久、更严重，这对患者来说有可能是致命的，必须引起临床足够的重视。

已有的系统发育分群研究将大肠埃希菌分为4个系统发育群：A、B1、B2和D^[13]。研究表明，人体正常寄生菌株通常属于A群和B1群，而毒力菌株通常属于B2群和D群，这些毒力菌株含有可以编码毒力因子的基因或毒力岛^[14-15]。有研究指出^[1]，大多数的ExPEC菌株属于B2群，少数属于D群。而本研究显示，在15株产NDM ExPEC菌株中，有13株属于A群，2株属于D群，表明本院绝大多数产NDM ExPEC菌株属于毒力较小的系统发育群，这可能是由于其NDM编码基因的获取影响了其毒力基因的表达。

MLST分型结果显示，15株产NDM ExPEC菌株中检出8种不同的ST型，包括ST410、ST167、ST361、ST617、ST216、ST349、ST457和ST648，以ST410最为常见。Zhang等^[16]对中国25个地区收

集的887株CPE进行MLST分型,产NDM大肠埃希菌中最常见的ST型为ST167,其次为ST410,其中湖北地区产NDM大肠埃希菌中最常见的ST型为ST410,与本研究结果一致。有研究显示^[17],ST131、ST38、ST69、ST155、ST393、ST405和ST648是国际多重耐药高危克隆大肠埃希菌常见的几种ST型,其中以ST131最为常见。这种多药耐药、危险性高的菌株在许多国家均有检出^[18]。具有以下共同特点:①全球分布;②与多种抗菌药物耐药有关;③能快速克隆且于宿主内存活时间长(>6个月);④能在宿主间有效传播;⑤具有更强的致病性和适应性;⑥能引起严重和反复的感染。2010年在芝加哥和巴黎的ST131菌株中检测到 bla_{NDM} ^[19-20],本院未检出产NDM的ST131 ExPEC菌株。本研究检出1株多重耐药高危克隆型别ST648,早在2011年就有研究显示,ST648与菌株产NDM有关^[10,21];此外,ST648还与产ESBLs大肠埃希菌所致感染有关^[22]。对产NDM ExPEC菌株进行流行病学监测,有助于早期发现多重耐药高危克隆菌株,从而采取及时的感染防控措施,防止其暴发流行。

综上,产NDM ExPEC菌株耐药性强,其中多药耐药高危克隆型别具有更强的耐药性、传播性和致病性,应该引起足够重视。医院相关部门应加强相应感染控制措施的监督和实施,包括抗菌药物的合理使用及流行病学监测等。

参 考 文 献

- [1] Pitout JD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: A combination of virulence with antibiotic resistance[J]. Front Microbiol,2012,3:9.
- [2] Khan AU, Maryam L, Zarrilli R. Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi Metallo-beta-lactamase (NDM): a threat to public health[J]. BMC Microbiology,2017,17(1):101.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Twenty-eight edition,2018,M100.
- [4] 冯丽娜,李从荣. MALDI-TOF MS检测产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2018,38(3):218-225.
- [5] Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group[J]. Appl Environ Microbiol,2000,66(10):4555-4558.
- [6] 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.
- [7] Hu X, Xu X, Wang X, et al. Diversity of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing bacteria in China[J]. Int J Infect Dis,2017,55:92-95.
- [8] Patel G, Bonomo RA. Status report on carbapenemases: challenges and prospects[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2011,9(5):555-570.
- [9] Wailan AM, Paterson DL. The spread and acquisition of NDM-1: a multifactorial problem[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2014,12(1):91-115.
- [10] Hornsey M, Phee L, Wareham DW. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom[J]. Antimicrob Agents Chemother,2011,55(12):5952-5954.
- [11] Nakano R, Nakano A, Hikosaka K, et al. First report of metallo-beta-lactamase NDM-5-producing *Escherichia coli* in Japan[J]. Antimicrob Agents Chemother,2014,58(12):7611-7612.
- [12] Yang P, Xie Y, Feng P, et al. blaNDM-5 carried by an IncX3 plasmid in *Escherichia coli* sequence type 167[J]. Antimicrob Agents Chemother,2014,58(12):7548-7552.
- [13] Herzer PJ, Inouye S, Inouye M, et al. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*[J]. J Bacteriol,1990,172(11):6175-6181.
- [14] Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*[J]. Nat Rev Microbiol,2004,2(2):123-140.
- [15] Dobrindt U, Hentschel U, Kaper JB, et al. Genome plasticity in pathogenic and nonpathogenic enterobacteria[J]. Curr Top Microbiol Immunol,2002,264(1):157-175.
- [16] Zhang R, Liu L, Zhou H, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China[J]. EBio Medicine,2017,19:98-106.
- [17] Baquero F, Tedim AP, Coque TM. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria[J]. Front Microbiol,2013,4:15.
- [18] Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*[J]. Clin Microbiol Rev,2015,28(3):565-591.
- [19] Bonnin RA, Poirel L, Carattoli A, et al. Characterization of an IncFII plasmid encoding NDM-1 from *Escherichia coli* ST131[J]. PLoS One,2012,7(4):e34752.
- [20] Peirano G, Schreckenberger PC, Pitout JD. Characteristics of NDM-1-producing *Escherichia coli* isolates that belong to the successful and virulent clone ST131[J]. Antimicrob Agents Chemother,2011,55(6):2986-2988.
- [21] Mushtaq S, Irfan S, Sarma JB, et al. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemases[J]. J Antimicrob Chemother,2011,66(9):2002-2005.
- [22] van der Bij AK, Peirano G, Goessens WH, et al. Clinical and molecular characteristics of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteremia in the Rotterdam Area, Netherlands[J]. Antimicrob Agents Chemother,2011,55(7):3576-3578.

(收稿日期: 2019-04-16)

(本文编辑: 孙荣华)

冯丽娜,李从荣,姜树朋,等. 产新德里金属β-内酰胺酶肠外致病性大肠埃希菌的分子分型[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2020,14(1):24-30.