

新加坡医院分离的产NDM-1肠杆菌科细菌的分子特征研究

Jeanette Teo^a, Grace Ngan^a, Michelle Balm^a, Roland Jureen^a, Prabha Krishnan^b 和 Raymond Lin^a

通讯作者: Jeanette Teo (e-mail: jeanette_teo@nuhs.edu.sg)。

目的: 在这项研究中, 我们对12株来自于临床分离的产NDM-1肠杆菌科细菌 (肺炎克雷伯菌、大肠杆菌、阴沟肠杆菌) 的分子特征进行研究, 这些分离株对碳青霉烯类抗生素耐药, 收集时间为一年。这些菌株均来自新加坡的4个地方综合性医院。

方法: 利用聚合酶链反应 (PCR) 检测和测序来确定β-内酰胺酶编码基因 (*bla*) 的存在, 包括 bla_{NDM-1} 和质粒介导的喹诺酮类和氨基糖苷类耐药决定子。通过杂交实验来确定 bla_{NDM-1} 的转移性。由多位点序列分型 (MLST) 来确定菌株的关联性。

结果: 分离的菌株对第二代和第三代头孢菌素及碳青霉烯类完全耐药。药敏试验分析结果显示, 100%的菌株对替加环素敏感, 11/12 (91.7%) 的菌株对粘菌素敏感。 bla_{NDM-1} 基因是由质粒编码的, 很容易发生转移。所有患者均没有到报道有NDM-1国家的旅行史。MLST分型结果显示菌株克隆群间无相关性, 揭示了在肺炎克雷伯菌和大肠杆菌之间克隆类型的多样性。

结论: NDM-1质粒易发生转移, 可帮助其在肠杆菌之间传播。虽然克隆群间无相关性, 但并不能完全排除其流行病学联系, 需要进行进一步研究。

种新型碳青霉烯酶的发现, 即新德里-β-内酰胺酶-1 (NDM-1), 掀起了全球警报。

这些产生NDM-1的菌株, 被媒体冠以超级细菌的恶名, 成为无法治疗的代名词。第一批碳青霉烯类耐药的NDM-1菌株是肺炎克雷伯菌和大肠杆菌, 在2009年分离自一名瑞典的病人, 他曾在印度新德里寻求治疗。这些菌株除了对粘菌素敏感外, 对其他所有抗生素耐药^[1]。随着全球范围内开展产NDM-1菌株的检测^[2-6], 更加明显地提示了β-内酰胺酶编码基因 (bla_{NDM-1}) 的易传播性。

本研究中, 我们提供了12株NDM-1阳性临床分离株的分子特征和流行病学特征。这些菌株的获取属于医院耐碳青霉烯类肠杆菌监测计划的一部分。

方法

临床分离株

从2010年8月到2011年8月, 我们对来自于当地医院的52株碳青霉烯类抗生素耐药的临床分离株进行了分析。分离株来自于4家医院, 这4家医院可以代表新加坡40%的综合性医院。这52株菌包括31株肺炎克雷伯菌、13株大肠杆菌、7株阴沟肠杆菌和1株产气肠杆菌。其中有2个菌株 (594和693) 来自于同一个病人的不同部位 (见表1)。运用VITEK2自动化系统 (美国密苏里州黑兹尔伍德梅里埃维特克公司) 进行菌株

的初步鉴定和药敏试验。用Etest MBL药敏试验法 (法国马西l'Etoile生物梅里埃公司) 对金属β-内酰胺酶的类型进行检测。

药敏试验

对碳青霉烯类及对其他抗生素类的耐药性是通过Etest法 (生物梅里埃) 确定的, 该方法通过37°C 24小时培养确定最低抑菌浓度 (MICs)。易感性根据欧盟委员会关于药敏试验的判定标准决定。使用大肠杆菌ATCC 25922作为药敏试验质量控制菌株。

质粒分析

质粒的提取运用提取质粒小提试剂盒 (德国希尔登Qiagen公司)。质粒分离运用0.7%碱基琼脂糖 (美国加利福尼亚大力士Bio-Rad公司), 其质粒大小的估计使用BAC-Tracker™超螺旋DNA片段 (美国威斯康星州麦迪逊Epicentre公司) 作为参考。使用地高辛标记的DNA检测试剂盒 (德国曼海姆罗氏诊断试剂公司) 及地高辛标记的291 bp的 bla_{NDM-1} 作为探针进行Southern杂交分析。

PCR筛选 bla 和其他耐药基因

用于PCR检测的基因组DNA是通过DNeasy血液和组织试剂盒 (Qiagen) 分离提取的。使用不同的引物

^a 新加坡国立大学医院实验室科学部, 119074, 新加坡。

^b 新加坡陈笃生医院实验室科学部, 308433, 新加坡。

投稿日期: 2011年11月3日; 刊发日期: 2012年3月29日

doi: 10.5365/wpsar.year.2011.2.4.010

表 1. 临床分离的携带 bla_{NDM-1} 基因肠杆菌及其结合子的特征

分离菌株	病例年龄	性别	分离日期	来源	医院/病房	ST型别	β -内酰胺酶基因	<i>qnr</i> 基因	16S rRNA 甲基化酶基因
肺炎克雷伯菌									
547	78	女	8/9/2010	尿液	TTSH/7B	437	TEM-1, SHV-12, CTX-M-15, CMY-2	-	-
547T							CTX-M-15		
594	86	女	13/10/2010	尿液	TTSH/ 11C	437	TEM-1, SHV-11, CTX-M-15	-	-
594T							CTX-M-15		
693	86	女	13/10/2010	肛拭子	TTSH/ 11C	48	TEM-1, SHV-11, CTX-M-15, DHA-1	-	-
693T							TEM-1, SHV-11, CTX-M-15, DHA-1		
509	35	男	16/1/2011	尿液	NUH/ 42	237	TEM-1, SHV-1, CTX-M-15	-	-
509T							TEM-1		
380	NA	NA	NA	尿液	PH	273	TEM-1, SHV-11, CTX-M-15	<i>qnrB</i>	-
380T							TEM-1		
205	NA	NA	NA	尿液	PH	15	SHV-1	-	-
205T							NEG		
大肠杆菌									
424	94	男	22/9/2010	尿液	TTSH/7B	471	TEM-1, CTX-M-15, DHA-1	-	-
424T							TEM-1		
N12	59	男	26/10/2010	尿液	TTSH/TWR2C	267	TEM-1, CTX-M-15	-	-
N12T							CTX-M-15		
722	28	男	2/12/2010	肛拭子	TTSH/12C	43	TEM-1, CTX-M-15	-	-
722T							TEM-1, CTX-M-15		
510	46	女	27/10/2010	血液	NUH/ 86	501	TEM-1, CTX-M-15, CMY-2, DHA-1	-	-
510T							TEM-1, CTX-M-15, CMY-2, DHA-1		
阴沟肠杆菌									
459	79	男	6/9/2010	尿液	TTSH/9C	ND	TEM-1, SHV-12, CTX-M-15, DHA-1	<i>qnrB</i>	-
459T							TEM-1, SHV-12, CTX-M-15, DHA-1		
241	77	男	8/2/2011	尿液	NUH/ 52	ND	TEM-1, SHV-1, CTX-M-15	-	<i>rmtC, armA</i>
241T							TEM-1, SHV-1, CTX-M-15		<i>rmtC</i>

注: NEG – *bla* 基因PCR阴性菌株; NUH – 新加坡国立大学医院; PH – 私立医院, 病人信息不详; ST – 多位点序列分型 (MLST) 的序列类型; TTSH – 新加坡陈笃生医院; NA – 资料不详; 和 ND – 未检测。

(见表2) 检测碳青霉烯酶和超广谱 β -内酰胺酶编码基因的存在, 使用NDM-FF和NDM-RR引物

(见表2) 进行了 bla_{NDM-1} 的全基因测序, 片段大小为815bp。另外, 除了检测NDM-1外, 还通过PCR方法对获得性MBLs (VIM型、IMP型和KHM-1)、丝氨酸碳青霉烯酶 (OXA-48-1, KPC-1, GES-1, -2, -3, -4, -5, -7 bla 基因) 和超广谱 β -内酰胺酶 (TEM型、SHV型、CTX组M-型、DHA-1型、CMY型) 的 bla 基因进行了检测 (见表2)。使用国内收集的典型培养株13443作为 bla_{NDM-1} 的PCR阳性对照。通过PCR对质粒介导的喹诺酮类 (QNR基因) 和16S rRNA甲基氨基糖苷类耐药决定子进行了筛选 (见表1)。*qnrA*、*qnrB*、*qnrC*、*qnrD*和*qnrS*的筛选使用已发布的筛选方法^[10,11]。PCR反应使用的是热启动型Taq酶预混液试剂盒 (Qiagen), 并且根据制造商的说明书进行操作。所有扩增产物被送往当地的一家公司 (新加坡第一BASE公司) 测序。

多位点序列分型 (MLST)

MLST操作按照巴斯德研究所肺炎克雷伯菌分型标准程序执行 (<http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/index.html>)。其内部7个管家基因片段是: *rpoB* (RNA聚合酶的 β -亚基)、*gapA* (甘油醛-3-磷酸脱氢酶)、*mdh* (苹果酸脱氢酶)、*pgi* (磷酸葡萄糖异构酶)、*phoE* (磷杂苯E)、*infB* (翻译起始因子2) 和 *tonB* (周质换能器), 这些片段通过扩增和直接测序。对于大肠杆菌, MLST使用8个管家基因: *dinB* (DNA聚合酶)、*icdA* (异柠檬酸脱氢酶)、*pabB* (第氨基酶)、*polB* (RNA聚合酶II)、*putP* (脯氨酸通透酶)、*trpA* (色氨酸合成酶A亚单位)、*trpB* (色氨酸合成酶B亚单位) 和 *uidA* 基因 (β -葡萄糖醛酸酶), 这些基因片段进行扩增和测序。序列类型聚类在<http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/index.html>进行。阴沟肠杆菌由于没有已建立的标准程序, 所以未分型。

表2. 本研究中检测耐药性基因使用的引物

靶位点	引物名称	序列 5' - 3'	参考文献	
β-内酰胺酶基因				
IMP-型	IMP-1, -4, -6	IMP-1F	GCGTTTATGTTTCATACTTCGTTT	本研究
		IMP-1R	TCTATTCCGCCCGTGCTGT	
	IMP-8	IMP-8F	AGCGGCTTTGCCTGATT	本研究
		IMP-8R	GACCGTCCGGTTTAACAAA	
VIM-型	VIM-1, -4, -5, -12, -19	VIM-1F	GACCGCGTCTGTCATGG	本研究
		VIM-1R	GGCGACTGAGCGATTTTT	
	VIM-2, -23, -24	VIM-2F	GTCTATTTGACCGCGTCTATCATGGC	本研究
		VIM-2R	CGTTGCGATATGCGACCAAAC	
KHM-1	KHM-FD	AGTGGATTGACGCGCAGGGC	本研究	
	KHM-RV	TTCCAGCAGCGATGCGTCGC		
NDM-1	NDM-FD	CAACTGGATCAAGCAGGAGA	本研究	
	NDM-RV	TCGATCCCAACGGTGATATT		
NDM-1, 全长	NDM-FF	ATGGAATTGCCCAATATTATG	本研究	
	NDM-RR	TCAGCGCAGCTTGTGCGCC		
KPC-型	KPC-1F	CGTTGACGCCCAATCC	本研究	
	KPC-1R	ACCGCTGGCAGCTGG		
GES-型别	GES-1 to 5 和 -7	GES-7F	ATCTTGAGAAGCTAGAGCGCG	本研究
		GES-7R	GTTTCCGATCAGCCACCTCT	
DHA-1	DHA-F	GTCGCGGCGGTGGTGGAC	本研究	
	DHA-R	CCGCACCCAGCACACCTGT		
CMY-1-型	CY1-GC1M-F	GCTGCTCAAGGAGCACAGGATCCCG	[7]	
	CY1-GC1M-R	GGCACATTGACATAGGTGTGGTGCATG		
CMY-2-型	CY-GC2M-F	ACTGGCCAGAAGTACAGGCAAA	[7]	
	CY-GC2M-R	GTTTTCTCCTGAACGTGGCTGGC		
OXA-48	OXA-48F	ATGCGTGTATTAGCCTTATCGGC	本研究	
	OXA-48R	ACTTCTTTTGTGATGGCTTGGCGCA		
TEM-型	TEM-F	ATAAAATTCTTGAAGACGAAA	[8]	
	TEM-R	GACAGTTACCAATGCTTAATCA		
SHV-型	SHV-F	GGTTATTCTTATTTGTGCGC	[8]	
	SHV-R	TTAGCGTTGCCAGTGCTC		
CTX-型	CTX-F	AAAAATGATTGAAAGGTGGTTGT	[8]	
	CTX-R	TTACAGCCCTTCGGCGATGA		
16S rRNA 甲基化酶基因				
<i>rmtA</i>	RMTA-F	TTCCCTCTGCCCGGATACCG	本研究	
	RMTA-R	CAACCCCTGATGGATGTCG		
<i>rmtB</i>	RMTB-F3	GAGCTGGATACCCTGTACGA	本研究	
	RMTB-R4	GGCAAAGGTAATCCCAAT		
<i>rmtC</i>	RMTC-F	TATGGTGTATATTGGTGGG	本研究	
	RMTC-R	GCATGCCAGCCTCCGTAAG		
<i>rmtD</i>	RMTD-F	GCACGTGCGCCTCCATCCATTC	本研究	
	RMTD-R	CGTTTGGGCGATTTGCTGTGCG		
<i>armA</i>	ARMA-F1	ATTCTGCCTATCCTAATTGG	[9]	
	ARMA-R2	ACCTATACTTTATCGTCGTC		
<i>npmA</i>	NPMA-F1	TTTGGTACTGGAGACGGTA	本研究	
	NPMA-R2	TCAATGCGAAAACCTGAGTT		

杂交试验

杂交试验以临床分离株为供体菌，叠氮化物耐药的大肠杆菌J53作为受体菌。结合子在含有叠氮化物（100mg/l）和亚胺硫霉素（5mg/l）的琼脂平板培养基上生长，并且用PCR证实是否含有 bla_{NDM-1} 基因。

结果

检测产NDM-1的临床分离株及药敏试验

用NDM-1的特异性引物对52个碳青霉烯类耐药株进行筛选（见表2）。其中，12株（23%）能产生

表3. 临床分离产NDM-1菌株及其接合子的耐药谱

分离菌株	抗生素最低抑菌浓度 (mg/l)													
	IMP	MEM	ETP	CXM	CTX	CAZ	GEN	AMK	TET	TGC	CIP	CHL	COL	PMB
肺炎克雷伯菌														
547	16	4	12	> 256	> 256	> 256	128	4	32	0.25	2	512	0.25	3
547T	> 32	1.5	1	> 256	> 256	> 256	0.064	4	8	0.064	1	32	0.064	0.5
594	> 32	12	> 32	> 256	> 256	> 256	128	4	32	0.25	2	> 256	0.5	1.5
594T	> 32	12	4	> 256	> 256	> 256	0.064	1	0.75	0.14	0.004	3	0.125	0.75
693	> 32	12	6	> 256	> 256	> 256	> 256	4	96	0.25	0.047	> 256	0.064	0.25
693T	> 32	12	6	> 256	> 256	> 256	0.125	1	0.05	0.047	0.002	4	0.25	0.38
509	> 32	> 32	> 32	> 256	> 256	> 256	64	8	> 256	0.14	> 32	> 256	0.38	1.5
509T	> 32	> 32	8	> 256	> 256	> 256	0.19	1	0.25	0.125	0.008	> 256	0.094	0.38
380	> 32	32	32	> 256	> 256	> 256	> 256	16	64	2	> 32	> 256	0.25	0.5
380T	> 32	32	6	> 256	> 256	> 256	0.19	1	0.38	0.125	0.008	> 256	0.094	0.38
205	> 32	> 32	> 32	> 256	> 256	> 256	256	2	2	0.75	> 32	> 256	0.25	0.5
205T	> 32	> 32	6	> 256	> 256	> 256	0.19	1	0.38	0.125	0.008	> 256	0.094	0.5
大肠杆菌														
424	> 32	4	12	> 256	> 256	> 256	1.5	8	32	0.064	> 32	512	1.25	2
424T	> 32	2	8	> 256	> 256	> 256	0.125	8	8	0.064	1	32	0.125	0.38
510	> 32	> 32	12	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	1	0.064	32	4	0.75	1
510T	4	2	12	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	2	0.094	32	12	0.047	0.25
N12	> 32	> 32	32	> 256	> 256	> 256	1	2	32	0.094	32	2	0.25	1.5
N12T	> 32	> 32	4	> 256	> 256	> 256	0.25	1	32	0.094	0.004	1.5	0.125	0.012
722	> 32	> 32	32	> 256	> 256	> 256	1.5	4	24	0.094	32	2	1	0.5
722T	> 32	16	8	> 256	> 256	> 256	0.5	2	1.5	0.023	0.004	2	0.125	0.125
阴沟肠杆菌														
459	24	16	32	> 256	> 256	> 256	64	6	> 256	0.5	12	16	4	16
459T	> 32	3	8	> 256	> 256	> 256	0.125	4	8	0.064	1	32	0.38	0.75
241	> 32	> 32	> 32	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	4	1	> 32	12	1	2
241T	> 32	0.5	0.2	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	0.5	0.064	0.004	8	0.38	0.5
大肠杆菌J53	0.125	0.016	0.04	0.38	1	0.064	0.19	1	0.18	0.064	0.003	2	0.125	0.38

注: AMK - 丁胺卡那霉素; CAZ - 头孢他啶; CHL - 氯霉素; CIP - 环丙沙星; COL - 粘菌素; CTX - 头孢噻肟; CXM - 头孢呋新; ETP - 厄他培南; GEN - 庆大霉素; IMP - 亚胺培南; MEM - 美罗培南; PMB - 多粘菌素B; T - 接合子; TET - 四环素; 和 TGC - 替加环素。

291 bp的扩增片段, 测序后, 发现100%的与 bla_{NDM-1} (GenBank号: HQ162469) 一致。12株 bla_{NDM-1} 基因PCR检测阳性的菌株中有6株肺炎克雷伯菌、4株大肠杆菌和2株阴沟肠杆菌。全基因测序也证实该基因编码NDM-1 (见表1)。用Etest MBL药敏试验检测这12株菌, 明显具有耐药性。所有的菌株对第二代和第三代头孢菌素类和碳青霉烯类耐药 (见表3)。9/12 (75%) 的菌株具有庆大霉素耐药性, 其中2个菌株 (16.7%) 显示了高剂量丁胺卡那霉素抗性 (见表3)。在9/12的NDM-1临床分离株 (75%) 中出现了抗氯霉素现象。7株菌 (58.3%) 对高剂量环丙沙星 (32 mg/L) 耐药。NDM-1阳性菌株对替加环素敏感。只有1株阴沟肠杆菌分离株459耐多粘菌素, 其余菌株均对多粘菌素敏感 (见表3)。

产NDM-1菌株的基因多态性

6株肺炎克雷伯菌分为5个不同类型的序列类型。在一个月分离自两个不同病房的2个菌株具有相同的序列类型 (ST437)。分离株547和594来自同一病人但是具有不同MLST序列类型。所有的大肠杆菌菌株有不

同的序列类型。因此, 产NDM-1菌株具有多种序列类型, 呈现基因多态性 (见表1)。

bla_{NDM-1} 存在于质粒上且具有可转移性

杂交实验结果表明, bla_{NDM-1} 是可能通过质粒介导进行转移的。用经典的琼脂糖凝胶电泳对质粒进行分析如图1所示。从临床分离菌株和接合子质粒显示, 临床NDM-1分离株和各自的接合子都携带了大于28 kb的共价闭合环状DNA (见图1)。Southern杂交分析结果显示可以在质粒上定位这些NDM-1基因 (数据未显示)。由于传统凝胶电泳的限制, 我们无法更准确地确定质粒大小。

PCR筛选 bla 基因和其他耐药性决定子

PCR结果显示, 所有菌株均不具有MBLs和丝氨酸碳青霉烯酶基因 (OXA-48, KPC-1, GES-1, -2, -3, -4, -5, -7)。PCR结果表明, 许多临床分离的产NDM-1菌株携带多个广谱型编码 β -内酰胺酶的 bla 基因以及质粒编码的AmpC β -内酰胺酶 (见表1)。这些 bla

图1. 经典的琼脂糖凝胶（0.7%）电泳临床分离株及其接合子质粒分析



M - BAC-Tracker 超螺旋DNA片段 (Epicentre公司); 1 - 临床分离株380的质粒DNA; 和 2 - 380 接合子的质粒DNA

基因是可以转移的，并赋予了受体菌对第二代和第三代头孢菌素类和碳青霉烯类高剂量耐药性（见表3）。

用PCR来检测质粒介导的抗喹诺酮（*qnr*基因）和抗氨基糖苷类（*armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmtC*, *rmtD*和*npmA*）相关基因，阴沟肠杆菌-459是唯一携带*qnrB*基因的菌株。该抗性基因并未转移到结合子中去（见表1）。阴沟肠杆菌-241是唯一携带16S rRNA甲基化酶基因的菌株，这株菌中*armA*基因与*rmtC*基因同时存在（见表1）。

讨论

我们注意到，新加坡关于产NDM-1菌株的最初报道认为那些NDM-1阳性分离株可能来自印度和孟加拉国输入型病例^[2]。相反，本研究的对象近期都没有NDM-1发病国家的旅行史。我们的研究菌株来自于4家当地医院，并且不包括最初报道的医院。我们对陈笃生医院进行了连续4个月的病人菌株分离，对国立大学医院进行了长达5个月的病人菌株分离。我们未获得来自私立医院标本的病人基本信息。由于分离到的菌株来自不同医院和病房的病人，并且在连续几个月内都能检测出，所以我们认为他们很可能没有流行病学关联性。到目前为止在这些医院所做的流行病学调查，没有发现有产NDM-1泛耐药肠杆菌科细菌引起的院内感染。然而我们不能完全排除存在院内传播，并且需要开展进一步研究，以决定是否产NDM-1泛耐药肠杆菌科细菌感染已经在新加坡当地呈地方性传播。

MLST的多样性也表明这些菌株间基因水平的不相关性。克隆群多样是产NDM-1菌株的特点^[12]。对全球范围分离菌株进行的一项研究也反映了这一特点，体现了菌株类型的多样性^[12]。质粒介导*bla*_{NDM-1}的易传播性由其能很快与所有临床菌株相结合就可得到证实。对*bla*_{NDM-1}质粒的易传播性以前也有过报道^[9,10]。通过*bla*_{NDM-1}基因研究发现，这个基因常与插入体相结合并且经常出现在结合质粒上，具有质粒的不相容性群Inc.A/C或者复制子不可分型性^[12,13]。由于我们实验室的研究能力有限，只能对基本的质粒特性进行描述。然而，我们知道基于PCR扩增分型方法^[14]是一种对*bla*_{NDM-1}质粒进行流行病学溯源分析的重要工具。

药敏分析结果显示产NDM-1菌株对粘菌素和替加环素抗药性较低，这似乎成了NDM-1阳性分离株的特点^[1,3]。我们发现大多数菌株对氨基糖苷类敏感，这与英国健康保护署^[15]和Kumarasamy等人^[3]的研究结果不一样，他们发现大多数NDM-1患者对氨基糖苷类耐药，并且携带有16S rRNA甲基化酶基因。我们只发现一个菌株具有16S rRNA甲基化酶基因（*rmtC*及*armA*），这表明在这些NDM-1阳性菌株产生的氨基糖苷类耐药主要可能是由于通常发生的由乙酰转移酶、核苷酸转移酶和磷酸转移酶介导的酶失活机制^[16]。高剂量的喹诺酮耐药主要是由于在DNA促旋酶上发生了喹诺酮耐药决定性区域的染色体突变^[17]。在我们的分离株中发现的高剂量喹诺酮耐药很有可能就是由这种机制介导的。我们对分离株中这种DNA促旋酶基因进行测序，确实在两株菌株中发现了质粒介导的喹诺酮耐药决定子*qnrB*。

新加坡还未发现产NDM-1菌株克隆群的暴发，但*bla*_{NDM-1}在亚太地区的发现和传播突显了加强监测工作，以便更好地了解这些产碳青霉烯酶菌株的重要性。

利益冲突

无申报。

经费

本研究由新加坡卫生部卫生发展项目（项目号#HSDP06/X04）和国立医院卫生系统项目提供持。

引用本文地址:

Teo J et al. Molecular characterization of NDM-1 producing Enterobacteriaceae isolates in Singapore hospitals. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2012, 3(1):19–24. doi:10.5365/wpsar.2011.2.4.010

参考文献:

1. Yong D 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. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53:5046–5054. doi:10.1128/AAC.00774-09 pmid:19770275
2. Koh TH et al. Global spread of New Delhi metallo-β-lactamase 1. *Lancet Infectious Diseases*, 2010, 10:828. doi:10.1016/S1473-3099(10)70274-7 pmid:21109168
3. Kumarasamy KK et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infectious Diseases*, 2010, 10:597–602. doi:10.1016/S1473-3099(10)70143-2 pmid:20705517
4. Moellering RC Jr. NDM-1—a cause for worldwide concern. *New England Journal of Medicine*, 2010, 363:2377–2379. doi:10.1056/NEJMp1011715 pmid:21158655
5. Poirel L et al. Emergence of metallo-β-lactamase NDM-1-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* in Australia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54:4914–4916. doi:10.1128/AAC.00878-10 pmid:20823289
6. Poirel L et al. Detection of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Kenya. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55:934–936. doi:10.1128/AAC.01247-10 pmid:21115785
7. Voets GM et al. A set of multiplex PCRs for genotypic detection of extended-spectrum β-lactamases, carbapenemases, plasmid-mediated AmpC β-lactamases and OXA β-lactamases. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2011, 37:356–359. doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.01.005 pmid:21353487
8. Ma L et al. Variety of TEM-, SHV-, and CTX-M-type beta-lactamases present in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* from Taiwan. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 2005, 11:31–39. doi:10.1089/mdr.2005.11.31 pmid:15770092
9. Doi Y et al. Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51:4209–4210. doi:10.1128/AAC.00560-07 pmid:17785513
10. Teo JW, Ng KY, Lin RT. Detection and genetic characterisation of *qnrB* in hospital isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Singapore. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 33(2):177–180. doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.08.019 pmid:18993034
11. Vasilaki O et al. Emergence of the plasmid-mediated quinolone resistance gene *qnrS1* in *Escherichia coli* isolates in Greece. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008, 52:2996–2997. doi:10.1128/AAC.00325-08 pmid:18490503
12. Poirel L et al. Genetic features of *bla*NDM-1-positive Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55:5403–5407. doi:10.1128/AAC.00585-11 pmid:21859933
13. Walsh TR et al. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infectious Diseases*, 2011, 11:355–362. doi:10.1016/S1473-3099(11)70059-7 pmid:21478057
14. Carattoli A et al. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of Microbiological Methods*, 2005, 63:219–228. doi:10.1016/j.mimet.2005.03.018 pmid:15935499
15. *Guidance on carbapenem resistance producers*. London, Health Protection Agency (<http://www.hpa.org.uk/topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/CarbapenemResistance/GuidanceOnCarbapenamProducers/>, accessed on 15 September 2011).
16. Jana S, Deb JK. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 70:140–150. doi:10.1007/s00253-005-0279-0 pmid:16391922
17. Fàbrega A, Madurga S, Giralt E, Vila J. Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microbial Biotechnology*, 2009, 2(1):40–61. doi: 10.1111/j.1751-7915.2008.00063.x pmid:19033246