

文章编号: 1001-8689(2022)01-0094-09

## 2017—2020年某院临床分离耐碳青霉烯阴沟肠杆菌检测及分析

侯辰蕊<sup>1</sup> 陈东科<sup>2</sup> 戎建荣<sup>1</sup> 李亚楠<sup>1</sup> 周永年<sup>1</sup> 栗子洋<sup>1</sup> 董怡然<sup>1,\*</sup>

(1 山西白求恩医院(山西医学科学院 同济山西医院), 山西医科大学第三医院检验科, 太原 030032;

2 卫生部北京医院检验科, 北京 100730)

**摘要:** **目的** 通过研究本院近3年耐碳青霉烯阴沟肠杆菌, 探讨其临床分布及相关耐药基因分布情况。 **方法** 收集2017年1月至2020年9月山西白求恩医院分离的33株耐碳青霉烯阴沟肠杆菌为研究对象, 利用全自动快速生物质谱检测系统(美国Bruker, MicroflexLT/SH)进行细菌鉴定, VITEK2-Compact全自动微生物分析系统进行细菌药敏试验。采用改良碳青霉烯灭活试验进行耐药表型筛选。采用PCR方法检测碳青霉烯酶基因( $bla_{IMP}$ 、 $bla_{KPC}$ 、 $bla_{NDM}$ 、 $bla_{VIM}$ 和 $bla_{OXA-48}$ )。对所有菌株进行MLST分型和同源性分析。质粒接合转移实验研究耐药质粒的传播。 **结果** 22株阴沟肠杆菌对厄他培南、亚胺培南、美罗培南均耐药, 11株仅对厄他培南耐药。其中16株阴沟肠杆菌产NDM-1, 4株产NDM-5, 2株产IPM-1, 1株菌同时产NDM-1和KPC-2。11株仅对厄他培南耐药阴沟肠杆菌中有两株检出 $bla_{NDM-1}$ 、两株检出 $bla_{KPC-2}$ 基因。MLST分型主要流行株为ST418型。质粒接合转移实验有14株转移成功。 **结论** 本院耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌从2017年逐年增加, 2020年出现暴发流行。携带的碳青霉烯酶基因以 $bla_{NDM}$ 为主, ST418型菌株占多数。耐药基因可通过质粒水平传播, 所以加强临床耐药菌株筛选及控制对临床抗感染治疗作用关键。

**关键词:** 阴沟肠杆菌; 碳青霉烯酶; 基因型; 耐药性**中图分类号:** R978.1 **文献标志码:** A

## Hospital laboratory study of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* from 2017 to 2020

Hou Chen-rui<sup>1</sup>, Chen Dong-ke<sup>2</sup>, Rong Jian-rong<sup>1</sup>, Li Ya-nan<sup>1</sup>, Zhou Yong-nian<sup>1</sup>, Li Zi-yang<sup>1</sup>, and Dong Yi-ran<sup>1</sup>

(1 Laboratory department of Shanxi Bethune hospital (Shanxi Academy of Medical Sciences, Tongji Shanxi Hospital), Third Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030032; 2 Laboratory department of Beijing hospital, Beijing 100730)

**Abstract Objective** To investigate the clinical distribution and drug resistance gene distribution of carbapenem resistant *Enterobacter cloacae* in our hospital in recent three years. **Methods** 33 strains of carbapenem resistant *Enterobacter cloacae* isolated from Shanxi Bethune hospital from January 2017 to September 2020 were selected as the research objects. The bacteria were identified by MALDI-TOF(Bruker, microflexlt / SH), and the bacterial susceptibility test was carried out by automatic microbial analysis system compact vitek2. Modified carbapenem inactivation test was used to screen resistant phenotypes. Carbapenemase genes ( $bla_{IMP}$ ,  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ , and  $bla_{OXA-48}$ ) were detected by PCR. MLST typing and homology analysis were performed on all strains. Plasmid conjugation transfer assay was used to study the transmission of drug-resistant plasmids. **Results** 22 strains of *Enterobacter cloacae* were resistant to ertapenem, imipenem and meropenem, and 11 strains were only resistant to ertapenem. Among them, 16 strains produced NDM-1, 4 strains produced NDM-5, 2 strains produced IPM-1 and 1 strain produced both NDM-1 and KPC-2.  $bla_{NDM-1}$  and  $bla_{KPC-2}$  genes were detected in two of 11 strains of *Enterobacter*

收稿日期: 2021-04-07

基金项目: 山西省卫生健康委面上项目(No. 2020012)和山西省科技厅面上项目(No. 201901D111420)

作者简介: 侯辰蕊, 女, 生于1983年, 硕士, 副主任技师, 研究方向为临床病原微生物毒力与耐药机制, E-mail: houchenrui835@126.com

\*通讯作者, E-mail: 1827780222@qq.com

*cloacae* resistant to ertapenem. The main epidemic strain of MLST was ST418. 14 strains were successfully transferred by plasmid conjugation. **Conclusion** The number of carbapenem resistant *Enterobacter cloacae* in our hospital increased since 2017, and an outbreak in 2020. Main carbapenemase gene is *bla*<sub>NDM</sub>, and ST418. Drug resistant genes can be transmitted in plasmid level, so that strengthening the screening and control of clinical drug-resistant strains is the key to clinical infection treatment.

**Key words** *Enterobacter cloacae*; Carbapenems; Genotype; Drug resistance

耐碳青霉烯革兰阴性杆菌(carbapenem-resistant Gram-negative bacillus)已造成全球流行,并持续增长。世界卫生组织(WHO)将肠杆菌目细菌列为ESKAPE(耐万古霉素屎肠球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌、耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌、耐碳青霉烯铜绿假单胞菌、耐碳青霉烯肠杆菌)中一种,被认为是医院感染的主要原因之一。2017年将碳青霉烯类耐药肠杆菌目(CRE)细菌、碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌(CRPA)和碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌(CRAB)列为最高危级别<sup>[1]</sup>。为了应对全球流行,尽早识别并持续监测耐碳青霉烯革兰阴性菌非常重要。有证据表明,感染碳青霉烯耐药菌的患者比感染敏感菌的患者发病率和死亡率更高<sup>[2]</sup>,而多数原因是由于使用的抗生素对这些病原菌活性不佳或无活性所致<sup>[3]</sup>。因此,认识到碳青霉烯耐药的风险和早期确定碳青霉烯耐药机制是降低死亡率、住院时间和治疗成本的关键因素<sup>[4-6]</sup>。阴沟肠杆菌是一种条件致病菌且已出现多重耐药,作为医院感染的重要病原菌给临床治疗和医院感染控制带来严峻的挑战。本研究主要调查山西白求恩医院(以下简称“本院”)2017—2020年临床分离耐碳青霉烯阴沟肠杆菌的临床分布、耐药率、产碳青霉烯酶表型、耐药基因检出及传播情况等,为临床患者感染的诊断和治疗提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

收集本院2017年1月至2020年9月临床分离阴沟肠杆菌531株,经过质谱仪鉴定复核菌种,根据2020年美国临床实验室标准化协会(CLSI)判断标准和临床药敏报告筛选耐碳青霉烯阴沟肠杆菌33株(剔除同一患者同一部位重复分离菌株)。

### 1.2 仪器与试剂

全自动快速生物质谱检测系统MALDI-TOF(美国Bruker, MicroflexLT/SH B);全自动微生物分析仪Vitek2(法国生物梅里埃);PCR扩增仪(杭州Bioter, TC96/G/H);电泳仪(Major Scienc/MINI-300);凝胶

像仪(AlphamagerHP, Proteinsimple)。引物(由北京博迈德生物公司合成);2×Taq PCR MasterMix(北京博迈德生物公司);质粒提取试剂盒(北京博迈德生物公司);10 μg美罗培南药敏纸片(Oxoid公司);血平板(郑州安图,批号2020040501);质控菌株大肠埃希菌ATCC25922;质控菌株大肠埃希菌ATCC35218;受体菌大肠埃希菌EC600、肺炎克雷伯菌ATCCBAA-1705和肺炎克雷伯菌ATCCBAA-2146由军事医学科学院周冬生教授惠赠。

### 1.3 菌株鉴定及药物敏感试验

将筛选出的菌株用血平板传代后置于35℃培养18~24 h,用质谱仪鉴定菌种并进行药敏试验。使用E-test条和MH平板复核药敏试验结果,大肠埃希菌ATCC25922作为质控菌株。

### 1.4 碳青霉烯酶表型及耐药基因检测

#### 1.4.1 MALDI-TOF检测碳青霉烯酶活性特征性蛋白

配置亚胺培南抗生素溶液(终浓度0.5 mg/mL)20 μL。用1 μL接种环取过夜孵育的待测菌株一环,均匀悬浮于含有亚胺培南抗生素溶液的离心管中,37℃孵育20 min,14000 g离心2 min。取孵育后的抗生素溶液上清1 μL至MSP靶板上,自然晾干后覆盖1 μL基质溶液,晾干上机检测。基质溶液为空白对照手动模式采集质谱图(激光频率60 Hz,单次激光照射次数为40)。保存并导入FlexAnalysis软件分析。

#### 1.4.2 mCIM及eCIM改良碳青霉烯灭活试验

根据CLSI标准中改良碳青霉烯灭活试验操作流程,进行mCIM及eCIM改良碳青霉烯灭活试验。35℃生化培养箱孵育18~24 h后测量抑菌圈直径判读结果。肺炎克雷伯菌ATCCBAA-1705为产丝氨酸酶阳性对照菌,肺炎克雷伯菌ATCCBAA-2146为产金属酶阳性对照菌。此试验不适用于仅耐厄他培南菌株。

#### 1.4.3 耐药基因检测

挑取一定量的新鲜菌落(传代24 h内)悬浊于500 μL无RNA酶纯水中,沸水浴15 min后,10000 r/min离心10 min,吸取上清液作为模板于-20℃以下保存备用。配置PCR体系:1 μL上下游引物、2 μL DNA

模版、13 μL MasterMixPCR和8 μL无RNA酶的纯水。PCR反应条件为95℃ 2 min、95℃ 30 s、退火30 s、72℃ 1 min，20个循环后72℃ 2 min。扩增产物使用1.5%琼脂糖凝胶电泳，电压为80 V，电流为100 mA。电泳完毕后置于凝胶成像仪成像，检测是否有目的条带。PCR阳性扩增产物送北京博迈德生物公司纯化后双向测序，序列经BLAST比对分析，以明确耐药基因型。肺炎克雷伯菌ATCCBAA-1705为KPC阳性对照菌，肺炎克雷伯菌ATCCBAA-2146为NDM阳性对照菌。

1.5 多位点序列分型(MLST)及同源性分析

1.5.1 MLST分型

PCR扩增33株阴沟肠杆菌七对管家基因(*dnaA*、*fusA*、*gyrB*、*leuS*、*pyrG*、*rplB*和*rpoB*)序列(表2)。PCR反应条件为95℃ 5 min、95℃ 30 s、退火30 s、72℃ 1 min，30个循环后72℃ 5 min。将PCR扩增的产物送至北京博迈德生物公司进行测序，序列在MLST网站比对确定管家基因的等位基因序号，进一步确认菌株的ST型别。

1.5.2 同源性分析

将所有菌株的7个基因位点的编号录入BioNumerics(Version 8.0, Applied Maths, Belgium)软件，用Categorical法计算相似性系数，用UPGMA方法构建聚类树，使用MST方法构建最小生成树。

1.6 质粒接合转移实验

以利福平耐药大肠埃希菌EC600为受体菌(利福平750 μg/mL)，供体菌为待检阴沟肠杆菌(亚胺培南100 μg/mL)摇菌过夜。次日各取4 mL混合37℃孵育12~18 h，吸取100 μL混合菌液涂布于新的LB平板上

表2 7对管家基因引物序列  
Tab. 2 Seven pairs of housekeeper gene primer sequences

引物名称	引物序列(5'-3')
dnaA	F: AYAACCCGCTGTTCTBTATGGCGGCAC R: KGCCAGCGCCATCGCCATCTGACGCGG
fusA	F: TCGCGTTCGTAAACAAAATGGACCGTAT R: TCGCCAGACGGCCAGAGCCAGACCCAT
gyrB	F: TCGACGAAGCGCTCGCGGGTCACTGTAA R: GCAGAACCGCCGCGGAGTCCCCTTCCA
leuS	F: GATCARCTSCCGGTATCCTGCCGGAAG R: ATAGCCGCAATTGCGGTATTGAAGGTCT
pyrG	F: AYCCBGAYGTBATTGCRCAYMAGGCGAT R: GCRCGRATYTCVCCCTSHTCGTCCCAGC
rplB	F: GTAAACCGACATCTCCGGGTCGTCGCCA R: ACCTTTGGTCTGAACGCCCCACGGAGTT
rpoB	F: AAAAACGTATTCGTAAGGATTTTGGTAA R: CCAGCAGATCCAGGCTCAGTCCATGTT

(含利福平750 μg/mL和亚胺培南100 μg/mL)37℃过夜孵育筛选阳性接合子。通过MALDI-TOF鉴定接合子是否为大肠埃希菌，药敏实验检测耐药表型，PCR检测基因是否在接合子中存在，验证接合转移是否成功。使用质粒提取试剂盒提取接合子中的质粒，对质粒进行测序后进行比对分析。

2 结果

2.1 耐药菌株分布及药物敏感试验

筛选菌株显示本院检出耐碳青霉烯阴沟肠杆菌逐年递增，2017年检出1株，2018年检出2株，2019年检出7株，2020年检出23株。33株菌患者来源前三位科室为神经外科9例、普通外科4例、骨科3例(图1A)。标本来源前三位分别为痰液16例，尿液7例，引流液4例(图1B)。药敏试验表明33株菌对多种抗生素耐药，22株对美罗培南、亚胺培南和厄他培南全部耐药，11株仅对厄他培南耐药。除耐碳青霉烯类抗生素外，对头孢类及含有酶抑制剂抗生素均耐药，对喹诺酮类抗生素少数菌株敏感或中介，对氨基糖苷类抗生素大部分敏感或中介(表3)。

2.2 MALDI-TOF检测碳青霉烯酶活性特征性蛋白

在采集的质谱图中位于289 Da和478 Da为非产酶株与亚胺培南孵育后的特异峰。产酶株中此两峰均消失，同时在433 Da出现新的峰(图2)。

2.3 改良碳青霉烯灭活试验

根据CLSI标准判读结果22株耐碳青霉烯(对美罗培南、亚胺培南和厄他培南全部耐药)阴沟肠杆菌株mCIM均为阳性，提示为产碳青霉烯酶菌株。联合eCIM 18株

表1 耐碳青霉烯基因引物序列  
Tab. 1 Primer sequence of carbapenem resistant gene

引物名称	引物序列(5'-3')	产物大小/bp
KPC	F: CTTGTCTCTCATGGCGGCTGG R: ACGGAACGTGGTATCGCCGAT	798
CES	F: ATGCGCTTCATTACGCAC R: CTATTTGTCCGTGCTCACG	865
IMP	F: GGAATAGAGTGCCTTAAGTCTC R: GGTITAAGAAAACAACCACC	615
VIM	F: GCMCTTCTCCCGAGATTGA R: TCCGCAGCACCRGGATAGA	390
NDM	F: GGAATAGACTGCCTTAAYTCTC R: TGCGGAGCACCRGGATAGA	257
OXA-48	F: GCTTGATCGCCCTCGATT R: GATTTGCTCCCTGGCCGAAA	438



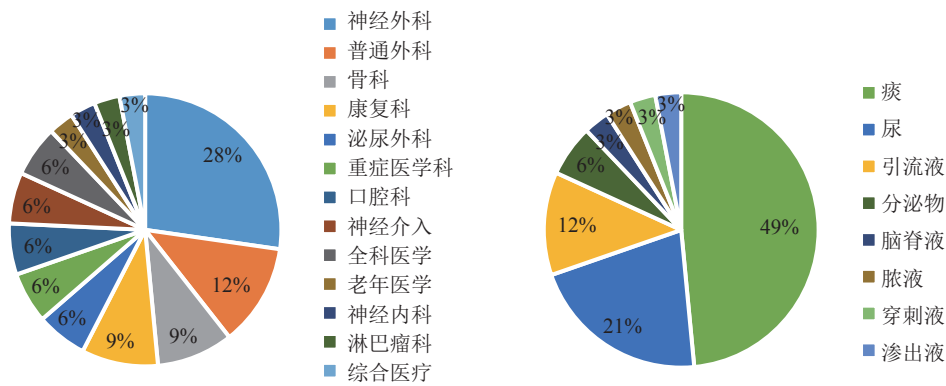


图1 33株耐碳青霉烯阴沟肠杆菌科室分布和标本来源  
Fig. 1 Department distribution and specimen source of 33 carbapenem resistant *Enterobacter cloacae*

表3 33株耐碳青霉烯阴沟肠杆菌最低抑菌浓度结果  
Tab. 3 Antimicrobial susceptibility testing results of 33 strains of carbapenem resistant *Enterobacter cloacae*

抗生素	MIC <sub>90</sub> (μg/mL)	耐药率/%
阿莫西林/棒酸	32	100
哌拉西林/他唑巴坦	128	100
头孢唑林	64	100
头孢西丁	64	100
头孢曲松	64	100
头孢吡肟	64	100
氨曲南	16	90
厄他培南	8	100
亚胺培南	8	80
阿米卡星	2	0
庆大霉素	8	11
妥布霉素	8	10
环丙沙星	4	90
左氧氟沙星	8	90
替加环素	8	50
复方磺胺甲恶唑	320	90
美罗培南	32	80

S: 敏感; I: 中介; R: 耐药

为阳性, 2株菌(4和7号)为阴性, 如图3所示。

2.4 耐药基因检测结果

用PCR方法对22株全耐碳青霉烯阴沟肠杆菌进行碳青霉烯酶基因筛查, 检出 $bla_{NDM}$ 、 $bla_{IMP-1}$ 和 $bla_{KPC}$ 耐药基因。PCR扩增产物经北京博迈德生物公司进行测序后, 序列进行BLAST比对后结果显示16株阴沟肠杆菌产NDM-1(GenBank登录号为LC532143.1, 序列符合率为100%), 4株产NDM-5(GenBank登录号为MN599031.1, 序列符合率为100%), 1株产KPC-2((GenBank登录号为MN477223.1, 序列符合率为99.61%)), 10号菌株同

时产NDM-1和KPC-2; 4号和7号菌株2株产IMP-1(登录号为LC548758.1, 序列符合率为100%)。仅厄他培南耐药菌株有两株检出NDM-1(E5和E8)基因, 两株检出KPC-2基因(图4)。

2.5 多位点序列分析及聚类分析结果

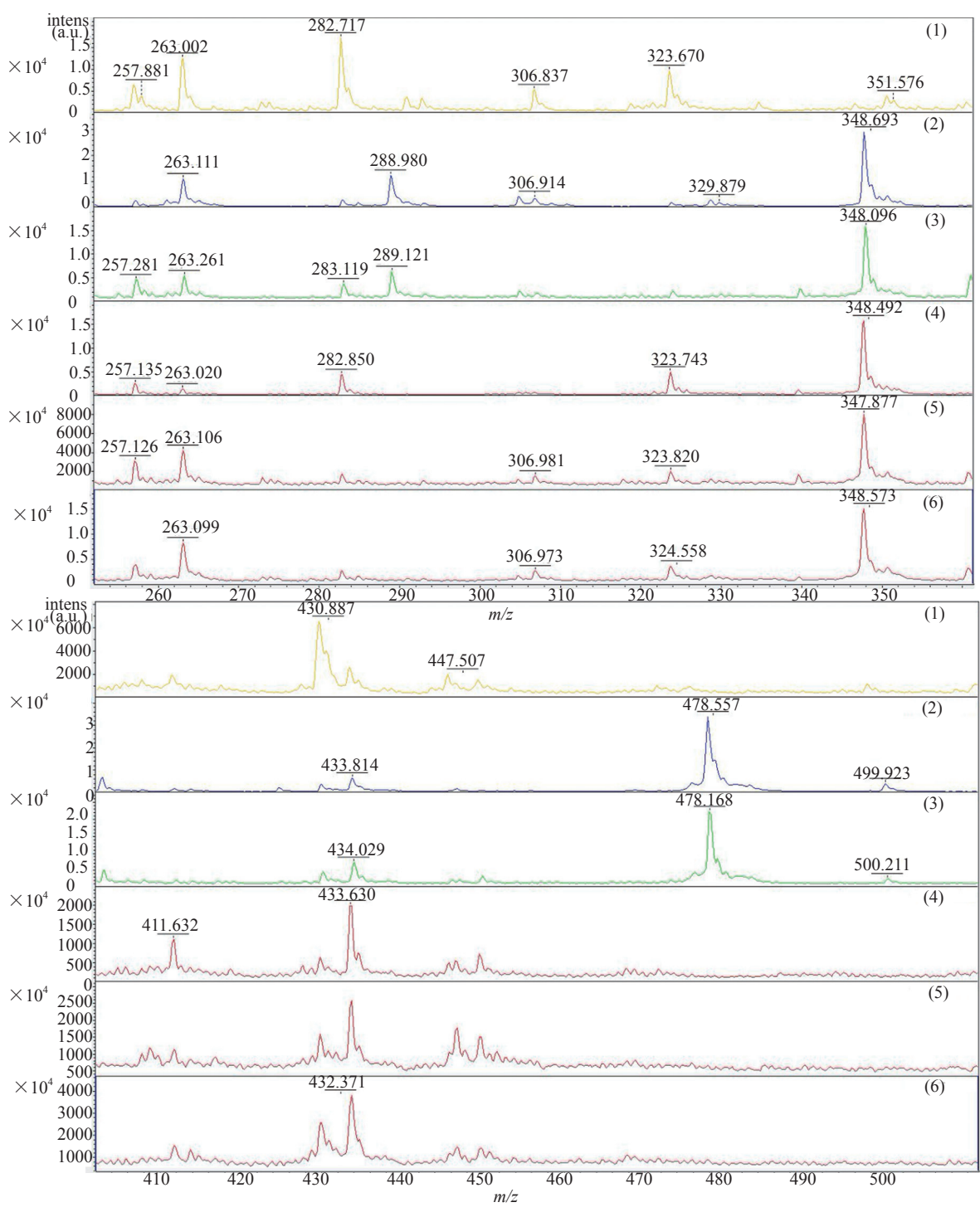
筛选出的33株耐碳青霉烯阳性菌7对管家基因扩增测序MLST分析结果显示最多为ST418型, 其次为ST754型。聚类分析结果显示所有菌株同源性。以“标本来源”为特征生成最小生成树(图5)。

2.6 质粒接合转移实验

22株全耐碳青霉烯阴沟杆菌中有8株的质粒成功转移到大肠埃希菌EC600中。11株仅厄他培南耐药阴沟肠杆菌没有转移成功的菌株。筛选的阳性接合子经质谱仪鉴定为大肠埃希菌, 药敏试验结果美罗培南、亚胺培南、头孢吡肟、头孢他啶和哌拉西林/他唑巴坦等均耐药。耐药基因检测检出 $bla_{NDM}$ , 提取质粒测序比对后为IncX3型。

3 讨论

阴沟肠杆菌是革兰阴性粗短杆菌, 广泛存在于自然界的土壤、水、植物中, 但在人体肠道内也可检测出阴沟肠杆菌。阴沟肠杆菌被公认为医院内感染主要病原体, 是临床上检出除大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌第三主要的肠杆菌目细菌<sup>[7]</sup>。随着抗生素广泛使用, 在抗生素选择压力下耐药阴沟肠杆菌迅速出现, 给临床抗感染治疗工作和实验室快速检测带来巨大挑战<sup>[8]</sup>。1993年报道了第一例由产ESBLs的肠杆菌目菌株引起的医院获得性感染<sup>[9]</sup>, 随后有不同的ESBLs酶(包括TEM, SHV和CTX-M)在阴沟肠杆菌中被检出<sup>[10]</sup>。目前美国、西班牙、印度、澳大利亚及我国等许多国家都有耐碳青霉烯阴沟肠杆菌感染的报道<sup>[11-13]</sup>。本院近4年间检出33株耐碳青霉烯阴沟肠



(1)空白对照 (2)阴性对照 (3)非产酶株 (4)-(6)产酶株

图2 碳青霉烯酶活性质谱检测谱图

Fig. 2 MALDI-TOF test of carbapenemase activity

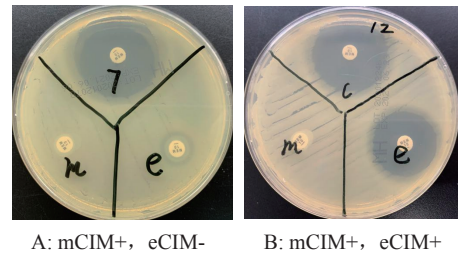
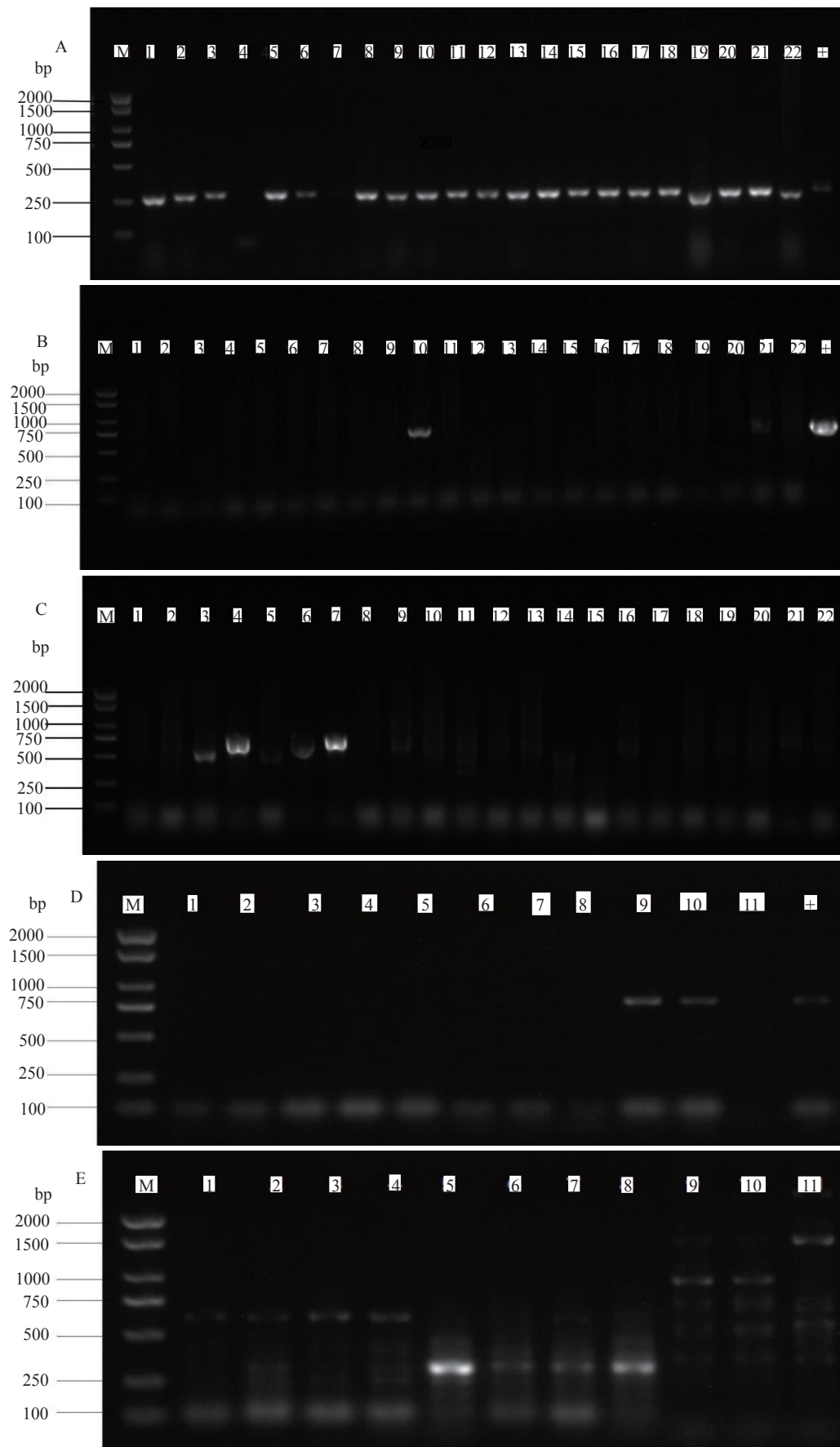


图3 mCIM和eCIM实验结果

Fig. 3 mCIM and eCIM results

杆菌，2017至2020年逐年增加。科室分布以神经外科(27%)最多，其次为普外科(12%)、骨科 (11%)和康复医学科 (11%)，经分析可能与前3位科室患者多有侵入性治疗有关，而康复医学科患者也多由前3位科室患者转入继续治疗，造成耐药菌株的传播。标本来源是痰液标本(48%)最多，其次为尿液(21%)和引流液(12%)，这可能与送检不同样本比例及患者接受气管插管、尿管及引流管侵入性操作有关。查阅患



A: NDM; B: KPC; C: IMP-1; D: 仅厄他培南耐药菌KPC; E: 仅厄他培南耐药菌株NDM  
图4 耐药基因PCR扩增电泳图

Fig. 4 Electrophoresis results of drug resistance gene amplification

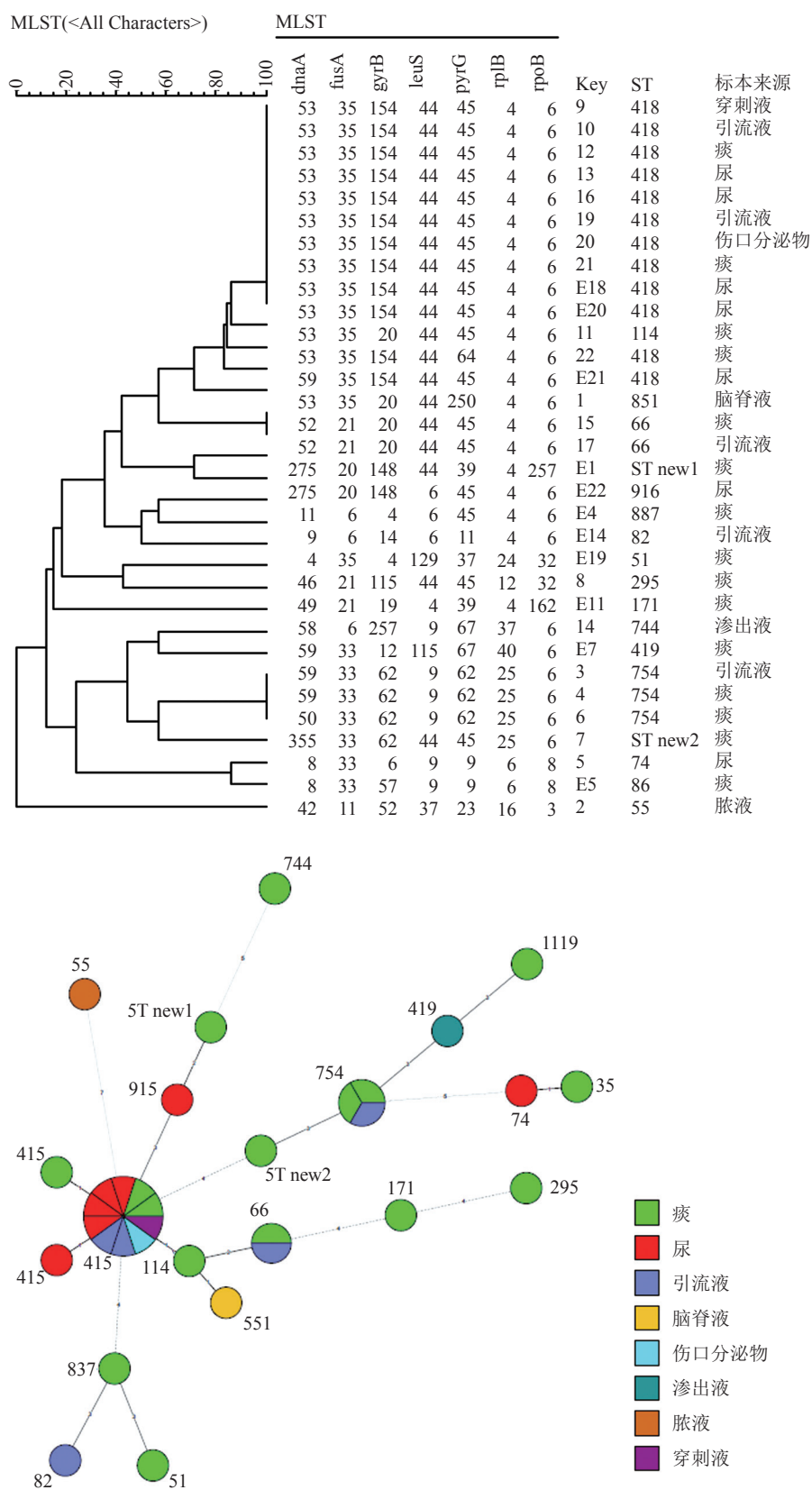


图5 MLST分型聚类分析结果  
Fig. 5 MLST typing cluster analysis results

者用药史, 检出耐碳青霉烯阴沟肠杆菌患者均曾有亚胺培南、哌拉西林他唑巴坦、左氧氟沙星、头孢

噻肟、庆大霉素等多种抗生素联合用药，这与耐药菌感染直接相关。临床微生物实验室阴沟肠杆菌常



规药敏通常只有一种或两种碳青霉烯类抗生素药敏结果,多为亚胺培南和美罗培南,如果遇到仅对厄他培南耐药的菌株则无法及时发现。有研究建议厄他培南药敏作为筛检碳青霉烯耐药菌的实验<sup>[14]</sup>。

阴沟肠杆菌对碳青霉烯类抗生素敏感性降低的主要机制是由于产生碳青霉烯酶<sup>[15]</sup>。根据Ambler分类系统 $\beta$ -内酰胺酶分为4类(即A、B、C、D),其中,A类、B类和D类为碳青霉烯酶,而C类酶主要水解头孢菌素<sup>[16]</sup>。A、C、D类酶的活性催化位点为丝氨酸,而B类酶的活性位点为金属 $\beta$ -内酰胺酶(MBLs),活性位点为锌<sup>[17]</sup>。A类酶代表多为KPC酶,而B类包括获得性VIM、IMP和NDM酶<sup>[18]</sup>,C类包括本身不是碳青霉烯酶的AmpC酶<sup>[19]</sup>。改良碳青霉烯酶灭活试验是CLSI推荐的碳青霉烯酶表型检测方法,本研究通过mCIM联合eCIM试验对菌株进行耐药表型检测,22株全耐药阴沟肠杆菌株mCIM均为阳性,提示为产碳青霉烯酶菌株。联合eCIM 2株(4、7)为阴性的菌株为黏液型阴沟肠杆菌判读为产丝氨酸酶,但检测耐药基因为IMP。MALDI-TOF检测碳青霉烯酶活性特征性蛋白的方法简单快速,但不能区分产酶类型<sup>[20]</sup>。某报道阴沟肠杆菌产碳青霉烯酶以A类KPC-2为主,B类和D类少见<sup>[21]</sup>,但本研究经PCR检测耐药基因确认全耐碳青霉烯阴沟肠杆菌主要产金属酶NDM(80%),此差异存在的原因可能与各地区间抗菌药物使用情况以及地区环境不同所致。同时检出NDM和KPC基因阴沟肠杆菌为我省首次报道,2017年曾有研究报道从慢性阻塞性肺疾病患者痰液中检出1例<sup>[22]</sup>,后续我们将对此菌株进一步做全基因组测序研究对比。另外本研究中1位患者同时检出耐碳青霉烯阴沟肠杆菌和耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌,两株菌均产金属酶NDM-5,说明耐药基因在不同菌种间传播。

MLST和聚类分析结果分析得出2017年仅1株散发(ST851),2018年两株(ST55和ST754),2019年3株全耐碳青霉烯(两株ST754和一株ST74),2020年16株全耐(其中9株ST418)。厄他培南耐药阴沟肠杆菌在2019年检出4株,2020年检出7株。2020年暴发流行株为ST418型(共12株),与2018年Jin<sup>[23]</sup>研究报道的最主要流行菌株型别一致。2020年7号菌株来源于脑脊液,ST分型为新型,进一步研究将做全基因组测序确认后上传序列。

综上所述,本院临床检出耐碳青霉烯阴沟肠杆菌呈现逐年上升趋势,主要耐药基因是NDM,而

且质粒接合转移实验说明耐药基因具有水平传播能力。临床患者感染CRE直接影响其治疗和预后,应当引起临床和院感部门的重视,警惕合理使用抗生素的同时早发现早隔离,避免造成院内传播。

## 参考文献

- [1] Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 2475067.
- [2] Cai B, Echols R, Magee G, *et al*. Prevalence of carbapenem-resistant Gram-negative infections in the United States predominated by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2017, 4(3): ofx176.
- [3] Pouch S M, Satlin M J. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in special populations: Solid organ transplant recipients, stem cell transplant recipients, and patients with hematologic malignancies[J]. *Virulence*, 2017, 8(4): 391-402.
- [4] Bonomo R A, Burd E M, Conly J, *et al*. Carbapenemase-producing organisms: A global scourge[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 66(8): 1290-1297.
- [5] Shields R K, Chen L, Cheng S, *et al*. Emergence of ceftazidime-avibactam resistance due to plasmid-borne bla<sub>KPC-3</sub> mutations during treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(3): e02097-16.
- [6] Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and diagnostics of carbapenem resistance in Gram-negative bacteria[J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 69(Suppl 7): S521-S528.
- [7] Dai W, Sun S, Yang P, *et al*. Characterization of carbapenemases, extended spectrum beta-lactamases and molecular epidemiology of carbapenem-non-susceptible *Enterobacter cloacae* in a Chinese hospital in Chongqing[J]. *Infect Genet Evol*, 2013, 14: 1-7.
- [8] Durante-Mangoni E, Andini R, Zampino R. Management of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25(8): 943-950.
- [9] Davin-Regli A, Pages J M. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 392.
- [10] Arpin C, Labia R, Dubois V, *et al*. TEM-80, a novel inhibitor-resistant beta-lactamase in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(5): 1183-1189.
- [11] Kiedrowski L M, Guerrero D M, Perez F, *et al*. Carbapenem-



- resistant *Enterobacter cloacae* isolates producing KPC-3, North Dakota, USA[J]. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20(9): 1583-1585.
- [12] Sidjabat H E, Townell N, Nimmo G R, *et al.* Dominance of IMP-4-producing *Enterobacter cloacae* among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Australia[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(7): 4059-4066.
- [13] Jin C, Zhang J, Wang Q, *et al.* Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in 11 Chinese Cities[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1597.
- [14] Humphries R M, Hindler J A, Epton E, *et al.* Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* detection practices in California: What are we missing?[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 66(7): 1061-1067.
- [15] Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(3): 487-489.
- [16] Bush K, Jacoby G A. Updated functional classification of beta-lactamases[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(3): 969-976.
- [17] Abboud M I, Damblon C, Brem J, *et al.* Interaction of avibactam with class B metallo-beta-lactamases[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(10): 5655-5662.
- [18] Meletis G. Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives[J]. *Ther Adv Infect Dis*, 2016, 3(1): 15-21.
- [19] Lomovskaya O, Sun D, Rubio-Aparicio D, *et al.* Vaborbactam: Spectrum of beta-lactamase inhibition and impact of resistance mechanisms on activity in *Enterobacteriaceae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(11): e01443-17.
- [20] 喻华, 徐雪松, 李敏, 等. 肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(6): 671-680.
- [21] Zhang R, Liu L, Zhou H, *et al.* Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China[J]. *EBioMedicine*, 2017, 19: 98-106.
- [22] 赵晓杰, 姜飞, 康海全, 等. 同时携带 $bla_{NDM-1}$ 和 $bla_{KPC-2}$ 基因的一株阴沟肠杆菌检测及临床治疗分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 10(2): 130-134.
- [23] Jin C, Zhang J, Wang Q, *et al.* Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in 11 Chinese cities[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1597.