论著

文章编号:1000-5404(2013)23-2508-05

碳青霉烯类耐药雷氏普罗威登斯菌的出现及其耐药机制研究

夏 淑[1],肖书念[1],张 琴[2],赵倩瑜[2],林倍州[1],黄增光[1],卓 超[1,2],陈荣昌[1] (510120 广州,广州医科大学第一附属医院,广州呼吸疾病研究所[1];400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院呼吸内科[2])

[摘要] **目的** 报告1株临床分离产NDM-1酶雷氏普罗威登斯菌FR90,研究其耐药机制。**方法** 对菌株进行药物敏感实验,改良Hodge实验检测金属β内酰胺酶,PCR扩增碳青霉烯水解酶基因。采用质粒接合实验、质粒不相容群检测、S1酶切脉冲场电泳和bla_{NDM-1}杂交、基因测序等分析携bla_{NDM-1}质粒特征和基因环境。**结果** 菌株FR90对氟喹诺酮类、多粘菌素B、β内酰胺类(包括碳青霉烯类)抗生素耐药,对氨曲南敏感。改良Hodge实验阳性,PCR检测几种常见碳青霉烯水解酶基因,结果仅bla_{NDM-1}基因阳性。接合实验显示bla_{NDM-1}基因位于一可接合性质粒上,质粒不相容群分型属于A/C型,Southern杂交结果显示质粒大小约为50 kb。对质粒上大小约为17 kb基因片段的测序结果示,ISAba125位于bla_{NDM-1}基因两侧,下游依次为trpF、groS、groL基因和insE基因的一部分。**结论** 中国大陆出现临床分离产NDM-1酶雷氏普罗威登斯菌,警示我国需对产NDM-1细菌进行严密监测,并采取感染控制措施以阻断耐药基因在细菌之间传播。

[关键词] 普罗威登斯菌,雷氏;金属β内酰胺酶;bla_{NDM-1}基因
[中图法分类号] R378.2;R915 [文献标志码] A

Emergence of carbopenem resistant *Providencia rettgeri* and its resistance mechanisms

Xia Shu[1], Xiao Shunian[1], Zhang Qin[2], Zhao Qianyu[2], Lin Beizhou[1], Huang Zengguang[1], Zhuo Chao[1,2], Chen Rongchang[1] ([1]Guangzhou Institute of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510120; [2]Department of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] Objective To report a clinical isolated strain of *Providencia rettgeri* producing New Delhi metallo-β-lactamase (NDM-1), FR90, and study its resistance mechanisms. Methods The bacterial strain was progressed with the antimicrobial susceptibility test. Production of metallo-β-lactamase was identified by modified Hodge test. PCR was used to detect several common resistance genes for carbopenemases. Plasmids conjugation, plasmid incompatibility group detection, Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) with S1 nuclease digestion of whole genomic DNA (S1-PFGE), Southern blotting and gene sequencing were conducted to analyze the plasmid characteristics and the surrounding genetic structure of the bla_{NDM-1} gene. Results *Providencia rettgeri* FR90 was resistant to quinolone, Polymyxin B, and all β-lactas (including carbapenems) except aztreonam. Modified Hodge test showed it was positive to metallo-β-lactamase. PCR displayed that only the bla_{NDM-1} gene was detected among several common resistance genes for carbopenemases. Further study revealed this bla_{NDM-1} was located on a broad host-range IncA/C-type conjugative plasmid FR90 in a size of 50 kb, confirmed by S1-PFGE and Southern blotting. A 17-kb fragment from the plasmid was obtained and sequenced, and the bla_{NDM-1} gene was flanked by 2 copies of ISAba125, with a downstream gente of trpF, followed by groS, groL and a truncated insE gene. Conclusion We report a clinical isolation of NDM-1-producing *Providencia rettgeri* in the mainland of China, which reminds us to closely monitor the NDM-1-producing bacteria and take infection control measures to prevent the bla_{NDM-1} gene spreading among bacteria.

[**Key words**] *Providencia rettgeri*; metallo-β-lactamase; bla_{NDM-1} gene

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81271881) and the Special Fund for Public Welfare Industry of Health (201002021).
Corresponding author: Chen Rongchang, E-mail: chenrc@vip.163.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81271881);卫生公益性行业科研专项(201002021)
[通信作者] 陈荣昌,E-mail: chenrc@vip.163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130917.1442.004.html(2013-09-17)

随着抗菌药物在临床的广泛应用,多重耐药和泛耐药菌株日益增多,细菌耐药已成为一个极其重要的公共卫生安全问题,其中碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌(CRE)占有重要的组成部分。产碳青霉烯水解酶是肠杆菌科细菌耐碳青霉烯类药物的重要机制之一,目前国际流行的主要有 KPC、IMP、VIM、NDM 酶[1-2],我国流行的主要为 KPC 和 IMP 酶[3-4],新德里金属 β 内酰胺酶-1(NDM-1)也有散发报道[5]。卫生部耐药监测网(Mohnarin)南区分中心在主动监测 CRE 过程中,发现 1 株 CRE 并对其耐药机制进行了研究,旨在为治疗此类感染及耐药菌传播的控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 临床资料

患者,女性,45 岁,农民。因"发热、腹痛 2 周,加重 3 d"入住广东某三甲医院。2011 年 7 月 15 日患者无明显诱因于入睡前突发腹部持续性胀痛,无放射至右背部,无恶心呕吐,伴畏寒发热,体温达 39 ℃。无皮肤巩膜黄染,无腹胀、腹泻、黑便、便秘等。于当地医院查腹部 B 超示肝右叶多发性脓肿。血常规示白细胞 14.4×10^9/L、中心粒细胞比率 85%,予抗炎(药物不祥)解痉后上述症状缓解。3 d 前上述症状加重。以"肝脓肿"收入院。既往无外国人接触史,无出国史。入院后给予外科穿刺引流,引流液培养示雷氏普罗威登斯菌 FR90,治疗 5 d 后,再次培养引流液,无致病菌生长。再治疗 7 d 后,患者所有症状消失,痊愈出院。

1.2 菌株来源

所分离的雷氏普罗威登斯菌采用 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定仪进行细菌鉴定并保存。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922;改良 Hodge 实验阳性对照株:肺炎克雷伯菌 2936(改良 Hodge 实验阳性,PCR 确证产 KPC-2 酶的肺炎克雷伯菌);接合实验受体菌:大肠埃希菌 J53;S1 酶切脉冲场电泳 Marker:分子标准对照 H9812 菌株。以上菌株均为本实验室保留菌株。

1.3 主要试剂及仪器

抗菌药物标准品为中国药品生物制品检定所产品。亚胺培南、美罗培南纸片、MH 琼脂和肉汤为英国 Oxoid 公司产品。DNA 100 bp 标准为宝生物工程公司产品。GNI 革兰阴性杆菌鉴定卡和 GNS 革兰阴性杆菌药敏卡、亚胺培南-EDTA Etest 试纸条为法国生物梅里埃公司产品。

1.4 药物敏感实验

采用 CLSI 推荐的肉汤稀释法和纸片扩散法(K-B 法),方法和结果判断标准按照 CLSI2011[6] 的规定,质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

1.5 碳青霉烯水解酶表型检测

采用改良 Hodge 实验(MHT)[6] 和亚胺培南-EDTA 协同实验[5]。MHT 方法:使用无菌生理盐水,将大肠埃希菌 ATCC25922 菌悬液调至 0.5 麦氏浊度,并用生理盐水进行 1∶10 稀释;用棉签将稀释后菌液均匀涂布于 MH 琼脂平板上,干燥 3~10 min。将美罗培南或厄他培南纸片置于 MH 琼脂平板上,使用 10 μL 接种环,挑取 3~5 个过夜生长菌落,垂直于药敏纸片,从纸片边缘开始划线,长度为 20~25 mm。37 ℃温箱孵育 16~20 h。如果在被测菌株与大肠埃希菌 ATCC25922 抑菌圈交汇处,大肠埃希菌生长增强,即产碳青霉烯水解酶。亚胺培南-EDTA 协同实验:将 0.5 麦氏浊度的待检菌悬液涂布于 MH 琼脂平板上,待其干燥后将 Etest 试纸条置于琼脂平板表面,35 ℃ 孵育 16~18 h 观察结果。当出现亚胺培南与亚胺培南和抑制剂复合物的 MIC 比值(IP/IPI)≥8、IP/IPI 之间出现幻影圈或 IP/IPI 出现畸变圈可判为阳性。

1.6 碳青霉烯酶耐药基因检测

采用煮沸法提取细菌总 DNA。利用特异性引物[7] 扩增常见碳青霉烯水解酶耐药基因,引物序列见表 1。PCR 检测反应体系为 25 μL,含 PCR mix 12.5 μL,ddH_2O 9.5 μL,上下游引物各 1 μL,DNA 模板 1 μL。PCR 反应条件:95 ℃预变性 4 min;94 ℃ 变性 40 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,共 30 个循环;72 ℃充分延伸 10 min。取 3 μL PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察结果,用凝胶成像系统(购自美国 Bio-Rad 公司)照相保存。阳性 PCR 产物送上海英骏生物技术有限公司测序。DNA 序列在 NCBI 数据库(http://www.ncbi.nlm.nih.gov)比对确定基因型。

表 1 编码碳青霉烯水解酶耐药基因引物序列及扩增片段长度

基因	引物序列	长度(bp)
IMP	上游:5′-GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC-3′	826
	下游:5′-GTGATGCGTCTCCAACTTCACT-3′	
SPM	上游:5′-CCTACAATCTAACGGCGACG-3′	666
	下游:5′-TCGCCGTGTCCAGGTATAAC-3′	
VIM	上游:5′-CAGATTGCCGATGGTGTTTGG-3′	833
	下游:5′-AGGTGGGCCATTCAGCCAGA-3′	
KPC-2	上游:5′-GCTACACCTAGCTCCACCTTC-3′	1 050
	下游:5′-TCAGTGCTCTACAGAAAACC-3′	
GIM	上游:5′-AGAACCTTGACCGAACGCAG-3′	894
	下游:5′-ACTCATGACTCCTCACGAGG-3′	
NDM-1	上游:5′-CAGCACACTTCCTATCTC-3′	292
	下游:5′-CCGCAACCATCCCCTCTT-3′	

1.7 接合实验及质粒不相容群检测

接合实验参照 Chen 等[7] 的方法,以雷氏普罗威登斯菌 FR90 为供体菌,叠氮化物耐药的大肠埃希菌 J53 为受体菌,分别在 5 mL LB 肉汤液体培养基中 37 ℃振荡孵育 8 h;取受体菌 900 μL,供体菌 100 μL,加入 4 mL LB 肉汤中混匀,37 ℃振荡孵育过夜;取供体菌与受体菌混合培养液 100 μL,混匀密涂于含叠氮化物(200 mg/L)、氨苄西林(50 mg/L)的 MH 平板上筛选,37 ℃孵育过夜后生长,同时分别将供体菌和受体菌的菌液 100 μL 涂在该平板上作对照。有菌生长即表明接合成功。再采用 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定仪(购自法国生物梅里埃公司)对接合子进行鉴定,并进行药敏实验。提取接合菌质粒,以此为模板用 PCR 扩增接合子耐药基因。使用常见的 18 个不相容群质粒的引物对该质粒进行 PCR 检测,确定质粒不相容群型,引物序列及反应条件参照文献[8]进行。

1.8 S1 酶切脉冲场电泳和 bla_{NDM-1} 杂交

将接合菌包埋于琼脂糖小胶中,用 S1 核酸酶消化接合菌质粒,并进行脉冲场凝胶电泳(仪器购自美国 Bio-Rad 公司)。然后将该质粒 DNA 片段转移至尼龙膜上,采用 bla_{NDM-1} 特异性

探针进行杂交,并用硝基四氮唑蓝/对甲苯胺蓝显色。具体操作方法参照文献[7]。

1.9 bla_{NDM-1}基因环境分析

采用引物步移的方法获得含bla_{NDM-1}基因质粒上大小约为17 kb基因片段(GenBank No. JQ362415)并对其序列进行测定分析,以了解bla_{NDM-1}基因环境。

2 结果

2.1 药物敏感实验结果

临床分离的雷氏普罗威登斯菌FR90的药物敏感实验结果显示该菌对氟喹诺酮类、多粘菌素B、β-内酰胺类(包括碳青霉烯类)抗生素耐药,对氨曲南敏感。采用纸片扩散法检测FR90对美罗培南、多粘菌素B的敏感性,结果分别为美罗培南抑菌圈直径为6 mm,多粘菌素B抑菌圈为14 mm。FR90对其余药物的敏感性采用肉汤稀释法进行检测,结果见表2。

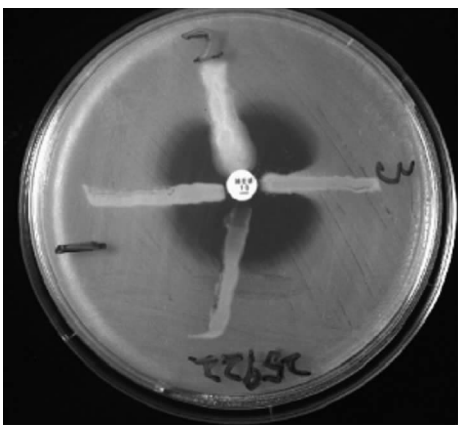
表2 雷氏普罗威登斯菌(FR90)及其接合菌(J53-FR90)药敏结果

抗菌药物	FR90		J53-FR90	
	MIC值(μg/mL)	解释	MIC值(μg/mL)	解释
氨苄西林	≥32	R	≥32	R
氨苄西林-舒巴坦	≥32	R	≥32	R
哌拉西林-他唑巴坦	≥128	R	64	R
头孢唑啉	≥64	R	≥64	R
头孢他啶	≥64	R	≥64	R
头孢曲松	≥64	R	≥64	R
头孢吡肟	≥64	R	≥64	R
氨曲南	4	S	4	S
厄他培南	≥8	R	≥8	R
亚胺培南	≥16	R	≥16	R
阿米卡星	≥64	R	≤2	S
环丙沙星	≥4	R	≤0.25	S
左氧氟沙星	≥8	R	≤0.25	S

R:耐药;S:敏感

2.2 碳青霉烯水解酶表型检测结果

改良Hodge实验结果:被测普罗威登斯菌菌株与大肠埃希菌ATCC25922的交汇处大肠埃希菌生长增强,阳性对照株交汇处生长明显增强,而阴性对照株交汇处生长未见增强(图1)。亚胺培南-EDTA纸片法协同实验结果显示IP/IPI>8(图2)。



1:阴沟肠杆菌QT20;2:雷氏普罗威登斯菌FR90;3:阳性对照株肺炎克雷伯菌2936;25922:阴性对照株ATCC25922

图1 改良Hodge实验检测碳青霉烯水解酶

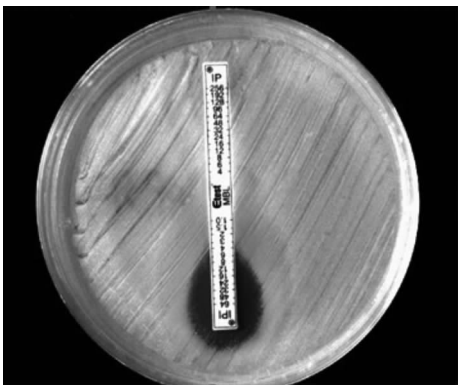
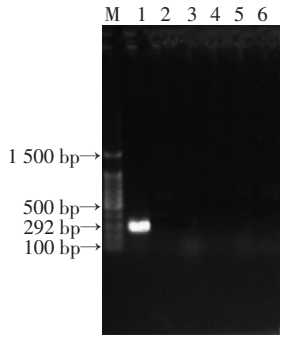


图2 亚胺培南-EDTA纸片法协同实验检测碳青霉烯水解酶

2.3 碳青霉烯水解酶耐药基因检测结果

对雷氏普罗威登斯菌菌株,设计引物对临床报道常见的编码碳青霉烯水解酶基因进行检测,bla_{NDM-1}为阳性,bla_{VIM}、bla_{IPM}、bla_{GIM}、bla_{SPM}、bla_{KPC-2}均为阴性,见图3。PCR测序结果为292 bp,经序列比对与基因序列号为JN157767.1的序列99%一致,该片段是肺炎克雷伯菌携带bla_{NDM-1}质粒的一部分。

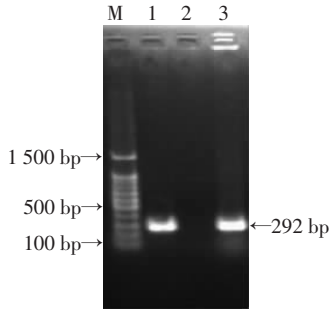


M: DNA 100 bp标准;1: bla_{NDM-1};2: bla_{VIM};3: bla_{IPM};4: bla_{GIM};5: bla_{SPM};6: bla_{KPC-2}

图3 PCR扩增FR90碳青霉烯水解酶耐药基因

2.4 接合实验及质粒不相容群检测结果

碳青霉烯类耐药的雷氏普罗威登斯菌通过接合实验成功地将携带NDM-1基因质粒传递给受体菌大肠埃希菌J53。接合子(J53-FR90)经VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定仪鉴定为大肠埃希菌。药敏结果显示接合子对所有β-内酰胺类耐药,但保留了对氟喹诺酮类、氨曲南的抗菌活性(表2)。PCR证实接合子bla_{NDM-1}基因阳性(图4),表明bla_{NDM-1}在可转移的接合性质粒上。质粒不相容群分型显示该质粒属于A/C型。

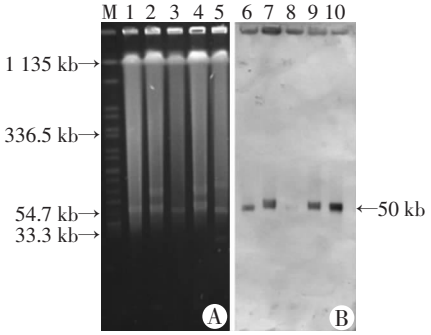


M: DNA 100 bp标准;1:FR90;2:J53;3:J53-FR90

图4 PCR扩增J53-FR90 bla_{NDM-1}

2.5 S1 酶切脉冲场电泳和 bla_{NDM-1} 杂交结果

S1 酶切脉冲场电泳和 bla_{NDM-1} 杂交结果(图 5)显示仅有 1 个质粒即携 bla_{NDM-1} 的质粒转移至受体菌 J53 中,大小约为 50 kb。



M:H9812;1:J53-FR90;2:FR90;3:J53-QT20;4:QT20;5:鲍曼不动杆菌 A207;6:A207;7:QT20;8:J53-QT20;9:FR90;10:J53-FR90

图 5 S1 酶切脉冲场电泳(A)和 bla_{NDM-1} 杂交结果(B)

2.6 bla_{NDM-1} 基因环境分析结果

采用引物步移的方法获得含 bla_{NDM-1} 基因质粒上大小约为 17 kb 基因片段(GenBank No. JQ362415),并对其序列进行测定分析,结果显示 ISAba125(来源于鲍曼不动杆菌一个插入序列)位于 bla_{NDM-1} 基因两侧,下游依次为 trpF、groS、groL 基因和 insE 基因的一部分。同时一个与 Tn3 相似的基因片段位于 ISAba125 上游。分析 groS 和 groL 基因的序列和分子中 GC 含量,发现其与环境中的病原菌如假黄色单胞菌属、黄杆菌属、不动杆菌属的基因相似[9]。

3 讨论

碳青霉烯类药物是治疗革兰阴性杆菌感染,特别是肠杆菌科细菌的最强效 β 内酰胺类药物。碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌日益增多给临床带来巨大的挑战。NDM-1 为新近发现的金属酶,由 bla_{NDM-1} 基因编码,属于 B 类 β 内酰胺酶,对包括碳青霉烯类在内的所有 β 内酰胺类抗生素耐药[10]。该酶自 2010 年报道后,受到全世界的广泛关注,多个国家和地区先后报道了 NDM-1 的暴发流行,中国香港、大陆均有散在病例报道。bla_{NDM-1} 基因已报道分离自大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌等。在中国,2011 年俞云松等报道了产 NDM-1 的鲍曼不动杆菌,2013 年新疆报道了产 NDM-1 阴沟肠杆菌[5]。但全球产 NDM-1 普罗威登斯菌属的相关报道较少。2011 年阿富汗报道了从 1 例烧伤病人血液标本中分离的产 NDM-1 的斯氏普罗威登斯菌[11]。本研究为中国大陆关于社区获得性产 NDM-1 的雷氏普罗威登斯菌的报道。

NDM-1 在全球的广泛传播,主要与质粒的水平传播及 bla_{NDM-1} 的基因环境有关。已报道的携 bla_{NDM-1} 基因既可位于 A/C 型和 IncL/M 型的广宿主质粒上[10],也在窄宿主质粒 FⅡ型发现[12]。本研究结果虽与阿富汗报道的同属 A/C 型可接合质粒[11],但后者质粒约为 178 kb,与本研究质粒(50 kb)大小不同,提示两者质粒结构可能存在差异,也预示了 bla_{NDM-1} 的遗传背景多样化。进一步分析 17 kb 片段的基因结构,表明 ISAba125 位于 bla_{NDM-1} 基因两侧,下游依次为 trpF、groS、groL 基因和 insE 基因的一部分。该基因结构与目前大多报道的 bla_{NDM-1} 基因环境相似[13-14],有所不同的是,在 ISAba125 上游有一个与 Tn3 相似的基因片段,该片段与意大利报道的肺炎克雷伯菌的质粒 pIncX-SHV (GenBank no. JN247852) 99% 相同[15]。另外,分析 groS 和 groL 基因的序列和分子中 GC 含量,发现其与环境中的病原菌如假黄色单胞菌属、黄杆菌属、不动杆菌属的基因相似。这些质粒和基因环境信息均提示,全球发现的 bla_{NDM-1} 最初大多来源于自然环境,在进化过程中,经过了不同的基因重组事件,又形成了多样化的基因环境结构。

普罗威登斯菌常分离自人的尿液、血液、痰液等,很少分离自肝脓肿引流液。本研究病例不仅细菌感染部位特殊,且 bla_{NDM-1} 基因的发生也存在疑惑:患者本人及家人均无出国或与外国人接触,且调查该医院 2011 年所有科室的微生物信息,分离该菌前后 3 个月内均无普罗威登斯菌属菌株出现,也无 NDM-1 菌株被检测到。结合上述的 bla_{NDM-1} 基因结构,可能来源于自然环境。近来欧洲的几例社区获得性 NDM-1 菌株感染也证实了该结论[16]。

由于普罗威登斯菌对多粘菌素天然耐药[17]。若其产 NDM-1 酶,可用于治疗的抗菌药物很少。本病例中分离的雷氏普罗威登斯菌菌株 FR90 药敏结果显示仅对氨曲南敏感,其余药物均耐药。接合子(J53-FR90)结果显示其仅保留了对氟喹诺酮类的敏感性,对所有 β 内酰胺类仍耐药,且接合子与原菌相比其对碳青霉烯类的耐药水平基本一致。虽然该患者经氨曲南治疗之后痊愈出院,但产 NDM-1 细菌仍然对人类有很大威胁。因此,我国应继续对产 NDM-1 细菌进行严密监测,特别应重视社区获得感染的筛查,并采取感染控制措施以阻断耐药基因在细菌之间传播。

参考文献:

[1] Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in Greece--a review of the current evidence[J]. Euro Surveill, 2008, 13(4): 8023.

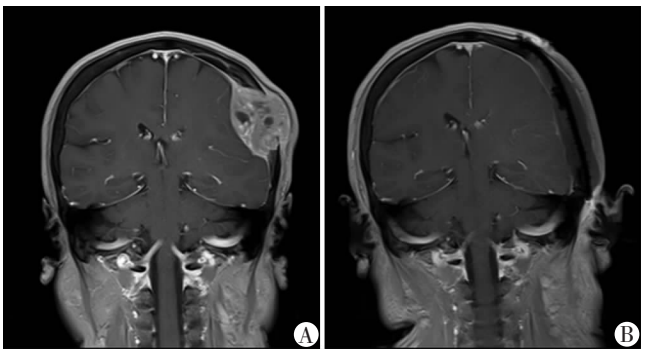
[2] Oteo J, Delgado-Iribarren A, Vega D, *et al*. Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(6): 534-537.

[3] 陈慧红, 沈伟伟, 罗芸, 等. 对碳青霉烯类抗生素敏感性下降的肠杆菌科细菌耐药机制的研究及流行病学调查[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2011, 31(9): 792-795.

[4] 张嵘, 蔡加昌, 胡云建, 等. IMP-4 型金属β内酰胺酶合并膜孔蛋白 OmpK36 缺失引起肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素高水平耐药[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(9): 845 - 851.
[5] 李智伟, 董路宁, 韩艳, 等. 产新德里金属β内酰胺酶-1 的阴沟肠杆菌检测与鉴定[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(1): 85 - 87.
[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-first Informational Supplement M100-S21[S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
[7] Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, *et al*. Emergence of NDM-1-producing Acinetobacter baumannii in China[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(6): 1255 - 1259.
[8] Carattoli A, Bertini A, Villa L, *et al*. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing[J]. J Microbiol Methods, 2005, 63(3): 219 - 228.
[9] Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, *et al*. Complete sequencing of the bla(NDM-1)-positive IncA/C plasmid from Escherichia coli ST38 isolate suggests a possible origin from plant pathogens[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e25334.
[10] Kumarasamy K K, Toleman M A, Walsh T 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.
[11] McGann P, Hang J, Clifford R J, *et al*. Complete sequence of a novel 178-kilobase plasmid carrying bla(NDM-1) in a Providencia stuartii strain isolated in Afghanistan[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(4): 1673 - 1679.
[12] Yamamoto T, Takano T, Fusegawa T, *et al*. Electron microscopic structures, serum resistance, and plasmid restructuring of New Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1)-producing ST42 Klebsiella pneumoniae emerging in Japan[J]. J Infect Chemother, 2013, 19(1): 118 - 127.
[13] Ho P L, Lo W U, Yeung M K, *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.
[14] Du X X, Wang J F, Fu Y, *et al*. Genetic characteristics of blaNDM-1-positive plasmid in Citrobacter freundii isolate separated from a clinical infectious patient[J]. J Med Microbiol, 2013, 62(Pt 9): 1332 - 1337.
[15] Garcia-Fernandez A, Villa L, Carta C, *et al*. Klebsiella pneumoniae ST258 Producing KPC-3 identified in Italy carries novel plasmids and OmpK36/OmpK35 porin variants[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(4): 2143 - 2145.
[16] Nordmann P, Couard J P, Sansot D, *et al*. Emergence of an autochthonous and community-acquired NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae in Europe[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(1): 150 - 151.
[17] von-Graevenitz A, Nourbakhsh M. Antimicrobial resistance of the genera Proteus, Providencia and Serratia with special reference to multiple resistance patterns[J]. Med Microbiol Immunol, 1972, 157(2): 142 - 148.

(**收稿**:2013-06-28;**修回**:2013-08-06)
(编辑 张 维)

(上接2507页)



A:术前;B:术后

图2 肾透明细胞癌颅骨转移患者手术前后MRI表现

2 讨论

肾透明细胞癌是最常见的肾细胞癌,占总数的70% ~ 80%。肾癌通过血液运输转移率高,约有60%的患者存在转移可能,远处转移多见于肺、脑、骨、肝等脏器,骨转移灶常发生于血液循环丰富的椎体及长骨近端,颅骨转移较为少见。检索CNKI数据库及维普中文科技期刊数据库1994 - 2013年资料,共报道肾透明细胞癌上颌骨转移[1]及颅骨转移各1例[2]。检索外文文献,肾透明细胞癌颅骨转移也十分罕见:Gaetani等[3] 2005年报告2例,同时,作者回顾分析了1955 - 2005年的文献,共报告31例;Yeh等[4] 2007年报告1例。若无明确病史,肾透明细胞癌颅骨转移易误诊嗜酸性肉芽肿等颅骨肿瘤,确诊依赖于病理诊断,手术治疗应从正常颅骨钻孔,尽量完整切除肿瘤,减少术中出血。转移性肾透明细胞癌对放化疗不敏感,手术是治疗的唯一有效办法,转移灶彻底切除的患者的生存期要比姑息性切除的明显延长[5]。术后是否行放化疗存在争议,本病预后不良,平均生存期约13个月[6]。本例患者彻底切除肿瘤及受侵犯的颅骨、肌肉,随访半年无复发,但仍需长期随访。对于不明原因颅骨肿瘤,应考虑到颅骨转移的可能。

参考文献:

[1] 欧明明, 颜兴, 陈光勇, 等. 肾透明细胞癌下颌骨转移一例[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2010, 5(1): 306 - 309.
[2] 罗卫, 胡珍渊, 张毅, 等. 肾透明细胞癌颅骨转移一例[J]. 中华神经外科杂志, 2010, 26(2): 111.
[3] Gaetani P, Di-Ieva A, Colombo P, *et al*. Calvarial metastases as clinical presentation of renal cell carcinoma: report of two cases and review of the literature[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2005, 107(4): 329 - 333.
[4] Yeh H C, Yang S F, Ke H L, *et al*. Renal cell carcinoma presenting with skull metastasis: a case report and literature review[J]. Kaohsiung J Med Sci 2007, 23(9): 475 - 479.
[5] 谷铣之. 肿瘤放射治疗学[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995: 4721.
[6] Cohen H T, McGovern F J. Renal-cell carcinoma[J]. N Engl J Med, 2005, 353(23): 2477 - 2490.

(**收稿**:2013-09-09;**修回**:2013-10-08)
(编辑 王小寒)