

超级细菌 NDM - 1 质粒的水平转移研究

刘 果, 孙 洋*, 纪 雪, 佟盼盼, 祝令伟, 刘 军, 周 伟, 郭学军, 冯书章*

(军事医学科学院军事兽医研究所/吉林省人兽共患病预防与控制重点实验室, 长春 130122)

[收稿日期] 2015 - 07 - 17 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280 (2015) 10 - 0015 - 07 [中图分类号] S852.61

[摘 要] 为探究超级细菌 NDM - 1 质粒水平传播的特性, 以携带 NDM - 1 质粒的猫源洛菲不动杆菌和人源醋酸钙不动杆菌为供体菌, 以工程菌株大肠杆菌 DH5 α 和大肠杆菌、沙门氏菌弱毒菌株为受体菌, 通过接合试验验证了 NDM - 1 基因通过质粒跨种传播的可能性。结果显示, 猫源 NDM - 1 质粒可以转入 *E. coli* DH5 α 中, 并可以 DH5 α 为中介, 转入猪霍乱沙门氏菌 C500 中; 而人源 NDM - 1 质粒仅转入 *E. coli* DH5 α 中, 未能转入其他菌株。NDM - 1 质粒在沙门氏菌 C500 中比在 *E. coli* DH5 α 中较为稳定遗传。质粒的导入并不影响宿主菌的生长特性。本研究初步揭示了 NDM - 1 的传播方式, 表明 NDM - 1 质粒能够跨越菌种界限, 并可以大肠杆菌为中介, 转移至其它菌株中。

[关键词] 新德里 β 内酰胺酶 - 1; 接合转移; 水平传播

Horizontal Transferability of NDM - 1 Plasmid

LIU Guo, SUN Yang*, JI Xue, TONG Pan - pan, ZHU Ling - wei, LIU Jun,

ZHOU Wei, GUO Xue - jun, FENG Shu - zhang*

(Institute of Military Veterinary, AMMS/ Key Laboratory of Jilin Province for Zoonosis Prevention and Control, Changchun 130122, China)

Abstract: The purpose of this study was to explore the horizontal transmission properties of NDM - 1 plasmids in superbugs. *Acinetobacter lwoffii* of cat origin and *Acinetobacter calcoaceticus* of human origin were used as donor strains, *Escherichia coli* strain DH5 α and four attenuated strains (two *E. coli* strains and two *Salmonella* strains) were used as recipient strains, and conjugation experiment was conducted to explore the cross - species transferability of NDM - 1 mediated by plasmids. The results showed NDM - 1 plasmid of cat origin was able to transfer into DH5 α , and then to *Salmonella choleraesuis* C500 strain mediated by DH5 α . NDM - 1 plasmid of human origin was able to transfer to DH5 α , but failed to transfer to other strains. Furthermore, NDM - 1 plasmids in C500 could be more stably inherited than in *E. coli* DH5 α . The plasmid transferred didn't influence the growth properties of the host strains. This study indicated that NDM - 1 plasmids were able to cross the genetic boundaries and transfer to other strains mediated by *E. coli*, which may shed some light on the horizontal transmission of NDM - 1.

基金项目: 科技部传染病防治重大专项 (2013ZX10004217); 863 项目 (2012AA022006); 吉林省科技计划项目 (20140101032JC, 20150101110JC)

作者简介: 刘 果, 硕士研究生, 从事细菌耐药性研究。

通讯作者: 冯书章, E - mail: shuzhangfeng@qq.com; 孙 洋, E - mail: sunyang10@hotmail.com

Key words: NDM - 1 ; conjugation ; horizontal transfer

新德里 β 内酰胺酶 - 1 (New Delhi Metallo - betalactamase - 1, NDM - 1) 自 2008 年首次被发现以来,就在肠杆菌科细菌中迅速蔓延,成为一个全球性的公共卫生学问题^[1]。鉴于宠物多与人密切接触以及 NDM - 1 跨种传播的可能性,宠物体内出现 NDM - 1,更是引起了人们的担忧^[2]。为了探究 NDM - 1 质粒的水平转移特性,本研究以携带 NDM - 1 质粒的猫源洛菲不动杆菌 Iz4b 和人源醋酸钙不动杆菌 XM1570 为供体菌,通过接合试验验证 NDM - 1 质粒跨种传播的可能性,并对接合子特性进行研究,以期为预防和控制 NDM - 1 的传播提供科学数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 供体菌:猫源洛菲不动杆菌 Iz4b,人源醋酸钙不动杆菌 XM1570。受体菌:大肠杆菌 DH5 α ,致病性大肠杆菌 EPEC E2348/69,出血性大肠杆菌 O157 F25,鼠伤寒沙门氏菌 SMT,猪霍乱沙门氏菌 C500。以上菌株均由本实验室保存。

1.1.2 质粒 pBR322:携带氨苄西林(AMP)、四环素(TET)抗性;pBR325:携带氨苄西林、四环素和氯霉素(CHL)抗性;由本实验室保存。

1.1.3 主要试剂 亚胺培南(IPM)为 Merck 公司产品;氯霉素和四环素为 Sigma 公司产品;胰蛋白酶,酵母提取物为英国 Oxoid 公司产品。

1.1.4 主要仪器 生物安全柜(1300A2)购自美国 Thermo 公司;BD PhoenixTM - 100 System 细菌鉴定仪、Phoenix SpecTM 比浊仪均购自美国 BD 公司;紫外可见分光光度计购自北京普析通用仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定 根据文献^[3]合成引物,PCR 鉴定上述两株供体菌的 NDM - 1 基因。通过 BD PhoenixTM - 100 System 全自动微生物鉴定/药敏系统对供体菌和受体菌进行生化及药敏检测。

1.2.2 受体菌筛选标记 通过电转化,向 *E. coli*

DH5 α 导入质粒 pBR322,向其它受体菌株导入质粒 pBR325,使其具有 TET 及 CHL 的抗性便于后续接合子的筛选。转化子分别标记为 DH5 α ::pBR322、E2348/69::pBR325、F25::pBR325、SMT::pBR325 和 C500::pBR325。按照 CLSI(2012 版)推荐的微量肉汤稀释法,测定各转化子对 TET 及 CHL 的 MIC。

1.2.3 接合试验 采用滤膜接合法,并根据文献^[4-5],优化实验条件,如延长接合时间,提高供体菌和受体菌浓度,用亚抑菌浓度抗生素促进,用纳米材料促进等,多次进行接合试验。

滤膜接合法:将供、受体菌分别于相应抗性 LB 培养基中(供体菌为 8 μ g/mL IPM;受体菌:DH5 α ::pBR322 为 128 μ g/mL TET, E2348/69::pBR325、F25::pBR325、SMT::pBR325、和 C500::pBR325 为 100 μ g/mL CHL)过夜培养,分别取 1 mL 供体菌和 1 mL 受体菌于 1.5 mL 离心管中,8000 r/min 离心 2 min,弃上清,用 1 mL 生理盐水清洗三次。向供体菌和受体菌分别加 100 μ L 生理盐水重悬,然后将供体菌和受体菌混合,震荡混匀。取煮沸灭菌后的滤膜放在 LB 琼脂培养基上,滴加 100 μ L 混合菌液于滤膜上。37 $^{\circ}$ C 恒温培养 4 h 后,用 1 mL 生理盐水冲洗滤膜,收集冲洗后的菌液,生理盐水 100 倍稀释后,取 100 μ L 涂于相应的双抗 LB 平板(DH5 α ::pBR322 作为受体菌时,双抗浓度为 8 μ g/mL IPM, 128 μ g/mL TET;其他菌株为受体菌时,双抗浓度为 8 μ g/mL IPM, 100 μ g/mL CHL)。37 $^{\circ}$ C 恒温培养 16 ~ 20 h,双抗平板上生长的单菌落判定为疑似接合子。

1.2.4 接合子鉴定 挑取双抗平板上生长的单菌落培养,根据文献^[6-7]合成大肠杆菌和沙门氏菌特异性引物,PCR 验证疑似接合子。对 PCR 呈 NDM - 1 阳性的菌株,使用大肠杆菌或沙门氏菌的特异性引物 PCR 验证菌株是否为接合子。对于验证阳性的接合子,通过 BD PhoenixTM - 100 System 全自动微生物鉴定/药敏系统进行生化和药敏鉴定。

1.2.5 最小抑菌浓度(MIC)试验 按照 CLSI 推荐的微量肉汤稀释法,测定供受体菌及接合子对 IPM 的 MIC。

1.2.6 NDM-1 质粒遗传稳定性实验 将供体菌及接合子划线于 IPM(16 μg/mL)抗性平板上,挑取单菌落于抗性液体 LB 培养基中,37 ℃ 培养 12 h,取 5 μL 菌液于 5 mL 新鲜无抗 LB 液体培养基中,过夜培养后,稀释涂布于无抗 LB 琼脂平板上,长出单菌落后,挑取 230 个左右单菌落,点种于 IPM(16 μg/mL)抗性 LB 平板,在抗性平板上不生长的菌落即为质粒丢失的菌株。质粒的丢失率 = 不生长的菌落数/挑取的菌落总数。

1.2.7 接合子生长特性 从抗性平板上挑取受体菌 DH5α::pBR322、C500、C500::pBR325 以及所获得的接合子的单菌落,于 5 mL 抗性液体培养基中,

37 ℃ 恒温摇床中培养过夜。取 1 mL 菌液于 100 mL 新鲜 LB 培养基中,充分振荡,混合均匀,37 ℃ 恒温 180 r/min 振荡培养,用紫外可见分光光度计于波长 600 nm 处测定菌液吸光度,每小时测定一次。观察 NDM-1 质粒对于宿主菌生长特性的影响。

2 结果与分析

2.1 供受体菌鉴定 经 PCR 鉴定,供体菌 Iz4b 和 XM1570 均携带 NDM-1 耐药基因。细菌鉴定及药敏检测结果表明,Iz4b 对所测的 β-内酰胺类、磺胺类、喹诺酮类抗生素均耐药,对 IPM 的 MIC 为 512 μg/mL,对阿米卡星敏感;XM1570 对所测的 β-内酰胺类抗生素耐药,对 IPM 的 MIC 为 256 μg/mL,对其他抗生素均敏感。受体菌对所测抗生素均敏感。供体菌及部分受体菌药敏检测结果见表 1。

表 1 供体菌和部分受体菌药敏检测结果表

抗生素	MIC/(μg·mL ⁻¹)			
	Iz4b	XM1570	DH5α	C500
阿米卡星	<=8(S)	<=8(S)	<=8(S)	<=8(S)
庆大霉素	>8(R)	<=2(S)	<=2(S)	<=2(S)
亚胺培南	>8(R)	>8(R)	<=1(S)	<=1(S)
美罗培南	>8(R)	>8(R)	<=1(S)	<=1(S)
头孢唑啉	>16(R)	>16(R)	<=4(S)	<=4(S)
头孢他啶	>16(R)	>16(R)	<=1(S)	<=1(S)
头孢噻肟	>32(R)	>32(R)	<=1(S)	<=1(S)
头孢吡肟	>16(R)	>16(R)	<=2(S)	<=2(S)
氨曲南	>16(R)	>16(R)	<=2(S)	<=2(S)
氨苄西林	>16(R)	>16(R)	<=4(S)	<=4(S)
哌拉西林	>64(R)	>64(R)	<=4(S)	<=4(S)
阿莫西林-克拉维酸	>16/8(R)	>16/8(R)	<=4/2(S)	<=4/2(S)
氨苄西林-舒巴坦	>16/8(R)	>16/8(R)	<=4/2(S)	<=4/2(S)
哌拉西林-他唑巴坦	>64/4(R)	>64/4(R)	<=4/4(S)	<=4/4(S)
粘菌素	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5
复方新诺明	>2/38(R)	<=0.5/9.5(S)	<=0.5/9.5(S)	<=0.5/9.5(S)
氯霉素	<=4	>16	<=4(S)	<=4(S)
环丙沙星	>2(R)	<=0.5(S)	<=0.5(S)	<=0.5(S)
左氧氟沙星	8(R)	<=1(S)	<=1(S)	<=1(S)
莫西沙星	>4	<=1	<=1	<=1
四环素	8(I)	<=2(S)	<=2(S)	<=2(S)
* 亚胺培南	512	256	0.0625	0.0625

注:R:耐药;I:中介;S:敏感。MIC:细菌鉴定仪药敏检测结果。* MIC:参照 CLSI,用微量肉汤稀释法测定的 MIC 值

2.2 质粒电转化 pBR322 转入 DH5α 后, DH5α::pBR322 对 TET 的 MIC 提高至 256 μg/mL; pBR325 转入大肠杆菌弱毒株 E2348/69、F25, 以及沙门氏菌疫苗株 SMT、C500 后, 转化子对 CHL 的 MIC 提高至 512 μg/mL。

2.3 接合试验 在滤膜接合法实验中, 将 NDM-1 质粒从洛菲不动杆菌 Iz4b 中转移至 DH5α::pBR322 中, 命名为 DH5α::pBR322-NDM-1。DH5α::pBR322-NDM-1 容易丢失质粒而变得对 IPM 敏感, 在抗性条件下连续传代, 获得了一个稳定菌株, 命名为 DH5α::pBR322-NDM-1-1。将 NDM-1 质粒从醋酸钙不动杆菌 XM1570 中转入 DH5α::pBR322 中, 命名为 DH5α::pBR322-NDM-1-2。而其余四个弱毒受体菌均未能直接通过接合试验获得两供体菌的 NDM-1 质粒。以

DH5α::pBR322-NDM-1-1 及 DH5α::pBR322-NDM-1-2 为供体菌, 继续向其他受体菌中接合转移, NDM-1 质粒从 DH5α::pBR322-NDM-1-1 转移至猪霍乱沙门氏菌 C500::pBR325 中, 接合子命名为 C500::pBR325-NDM-1。

2.4 接合子鉴定 接合子 DH5α::pBR322-NDM-1、DH5α::pBR322-NDM-1-1、DH5α::pBR322-NDM-1-2 和 C500::pBR325-NDM-1 通过 NDM-1 基因引物和特异性引物 PCR 验证均为阳性。药敏检测结果表明, 除 DH5α::pBR322-NDM-1 外, 其他接合子均获得了 β-内酰胺类耐药表型, 对 IPM 的 MIC 提高至 128 μg/mL 以上, 具体结果见表 2, 结果表明 NDM-1 质粒可以从不动杆菌跨种传播到大肠杆菌和沙门氏菌中。

表 2 接合子药敏检测结果表

抗生素	MIC/(μg·mL ⁻¹)			
	DH5α::pBR322-NDM-1	DH5α::pBR322-NDM-1-1	DH5α::pBR322-NDM-1-2	C500::pBR325-NDM-1
阿米卡星	<=8(S)	<=8(S)	<=8(S)	<=8(S)
庆大霉素	<=2(S)	<=2(S)	<=2(S)	<=2(S)
亚胺培南	<=1(S)	>8(R)	>8(R)	>8(R)
美罗培南	<=1(S)	8(I)	>8(R)	2(S)
头孢唑啉	>16(R)	>16(R)	>16(R)	>16(R)
头孢他啶	<=1(S)	>16(R)	>16(R)	>16(R)
头孢噻肟	<=1(S)	>32(R)	>32(R)	>32(R)
头孢吡肟	<=2(S)	>16(R)	>16(R)	>16(R)
氨曲南	<=2(S)	<=2(S)	<=2(S)	<=2(S)
氨苄西林	>16(R)	>16(R)	>16(R)	>16(R)
哌拉西林	>64(R)	>64(R)	>64(R)	>64(R)
阿莫西林-克拉维酸	>16/8(R)	>16/8(R)	>16/8(R)	>16/8(R)
氨苄西林-舒巴坦	>16/8(R)	>16/8(R)	>16/8(R)	>16/8(R)
哌拉西林-他唑巴坦	>64/4(R)	>64/4(R)	>64/4(R)	>64/4(R)
粘菌素	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5
复方新诺明	<=0.5/9.5(S)	<=0.5/9.5(S)	<=0.5/9.5(S)	<=0.5/9.5(S)
氯霉素	<=4(S)	<=4(S)	<=4(S)	>16(R)
环丙沙星	<=0.5(S)	<=0.5(S)	<=0.5(S)	<=0.5(S)
左氧氟沙星	<=1(S)	<=1(S)	<=1(S)	<=1(S)
莫西沙星	<=1	<=1	<=1	<=1
四环素	>8(R)	>8(R)	>8(R)	>8(R)
* 亚胺培南	0.25	512	128	512

注:R:耐药;I:中介;S:敏感。MIC:细菌鉴定仪药敏检测结果。* MIC:参照 CLSI,用微量肉汤稀释法测定的 MIC 值。

2.5 NDM-1 质粒的遗传稳定性 在无抗性 LB 液体中培养 12 h,供体菌及接合子的质粒丢失率如表 3。结果表明,NDM-1 质粒在原宿主菌中能稳定存在。Iz4b 中 NDM-1 质粒在新的宿主菌 DH5 α ::pBR322 中极不稳定,接合子在无抗 LB 液

体中培养 12 h 后,质粒几乎完全丢失。而抗性条件下传代获得的菌株,质粒会相对稳定的存在,但丢失率超过 50%,转入 C500 后,质粒稳定性增加。XM1570 中 NDM-1 质粒在 DH5 α 中易丢失,12 h 培养,丢失率达 80.6%。

表 3 NDM-1 质粒丢失率表

菌株	Iz4b	XM1570	DH5 α ::pBR322	DH5 α ::pBR322	C500::pBR325	DH5 α ::pBR322
			- NDM-1	- NDM-1-1	- NDM-1	- NDM-1-2
质粒丢失率/%	0.4	0.8	100	61.8	19.6	80.6

2.6 接合子的生长特性 DH5 α ::pBR322、DH5 α ::pBR322-NDM-1-1 和 DH5 α ::pBR322-NDM-1-2 及 C500、C500::pBR325 和 C500::pBR325-NDM-1 的生长曲线如图 1 所示。由图中可知,原受体菌与接合子生长曲线无显著差异,因此 NDM-1 质粒并不影响宿主菌的生长特性。

3 讨论与小结

超级细菌携带 NDM-1 质粒,可耐受几乎所有的抗生素,因而具有重要的公共卫生意义。目前,NDM-1 在世界各地肠杆菌科的大部分细菌中,包括肺炎克雷伯菌、大肠杆菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌、弗氏柠檬酸杆菌等均被发现,我国被认为是

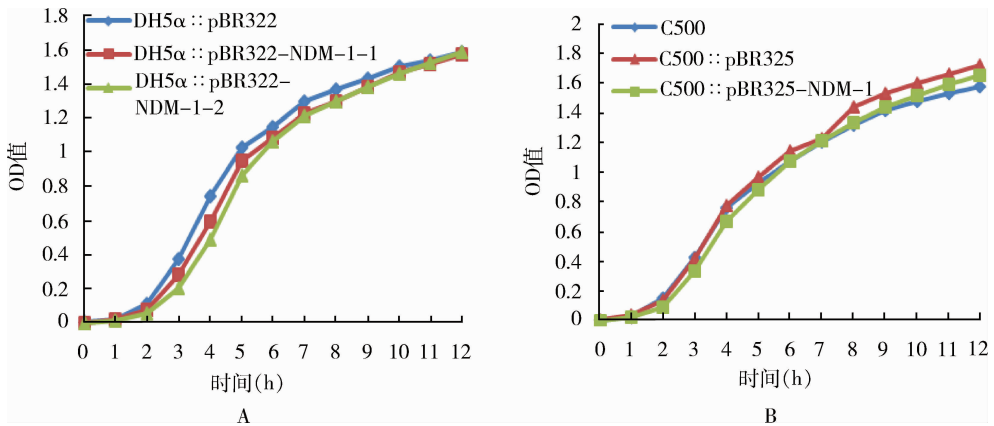


图 1 受体菌及接合子生长曲线 (A. DH5 α ::pBR322 及接合子生长曲线;
B. C500,C500::pBR325 及接合子生长曲线)

继印度和巴基斯坦之后的 NDM-1 多发国之一^[8]。在我国检测到的多种携带 NDM-1 的肠杆菌菌株大多为散发,这标志着 NDM-1 的传播主要由接合性质粒及其携带的可移动元件介导,这与其它国家监测到的 NDM-1 的传播特点相一致^[9]。目前对 NDM-1 传播方式的探究多为基于流行病学调查结果所做的推断,迫切需要研究来验证和揭示 NDM-1 传播的特点及其潜在传播机制。

细菌耐药性传播的重要方式之一是接合 (conjugation),耐药性质粒作为可移动遗传元件通

过细菌表面的性纤毛从一个细菌转移到另一个细菌,并使受体菌获得相应的耐药表型。大量文献^[9-11]表明,NDM-1 质粒可以通过接合的方式转移至工程菌株 *E. coli* J53 及 DH5 α 中,但国内外尚未见到向其他弱毒及野生菌株转移的报道。Iz4b 是本实验室于 2012 年从病犬体内分离得到的一株亚胺培南耐药的洛菲不动杆菌 (*Acinetobacter lwoffii*),其携带的 NDM-1 位于质粒上,我们将该质粒命名为 pNDM-Iz4b。全质粒测序结果表明:该质粒全长 46570 bp,其大部分序列与人源醋酸钙不动杆菌 XM1570^[10] 中 NDM-1 质粒 pXM1 一致,

仅在接合转移相关的区域(*traC*)有 705 bp 的缺失,此 705 bp 包含一个调节核酸酶活性相关蛋白的编码基因和 206 bp 的正向重复序列。两质粒均含有 *traA*、*traC* 和 *traD* 三个与接合转移有关的基因,且在 NDM-1 上下游有 *ISAbal25*, 构成了 *Tn125* 转座子。说明 NDM-1 耐药基因可能通过转座以及细菌之间的接合等方式传播,而跨种传播到其他细菌中。

Iz4b 和 XM1570 作为供体菌时,只有工程菌株 DH5 α 获得了 NDM-1 质粒,说明工程菌株相对于其它菌株更容易接受外源大质粒。猫源 Iz4b 的 NDM-1 质粒在 DH5 α 宿主中不能稳定遗传,这与 Chen^[11]等的报道一致。抗性条件下传代后能获得相对稳定的菌株,说明抗性条件有利于细菌耐药基因的稳定存在。以稳定的 DH5 α 接合子为中介, pNDM-Iz4b 可接合转移至猪霍乱沙门氏菌 C500 中,而 pXM1 未能转移,可能与两质粒序列差异有关。黄瑞等^[12]曾用接合试验验证了伤寒杆菌耐药质粒 pRST98 能在 4 种肠道杆菌间传递,同时能以大肠杆菌为媒介,将耐药基因转移给其他肠道菌。因此肠道中数量庞大的大肠杆菌可以作为耐药基因的储存库和中转站,将耐药基因从非致病菌转移至致病菌,这将会给人类健康构成严重的威胁。

本研究揭示了 NDM-1 质粒可以通过接合方式传播其耐药性,在研究 NDM-1 质粒这种转移方式时,发现了有趣而重要的现象,这就是:①NDM-1 质粒可以跨种传播,从不动杆菌转移到大肠杆菌和沙门氏菌;②NDM-1 质粒的遗传稳定性依受体菌种类不同而有所差异,在所实验的大肠杆菌和沙门氏菌中,NDM-1 质粒在沙门氏菌中能够较为稳定的遗传;③NDM-1 质粒的跨种传播受受体菌遗传背景的影响,受体菌所携带的自然质粒(尤其是不相容性质粒)可能在一定程度上影响着 NDM-1 质粒接合性转移或转化效率和传播速度。此研究结果对于深入探究超级细菌的形成及其耐药性的传播具有重要意义。

近年来,NDM-1 在中国的流行有加重的趋势,流行病学调查结果显示,克隆株传播造成的暴发^[13-14]和由接合性质粒及其携带的可移动遗

传元件(如 *ISAbal25*, *Tn125* 等)介导的跨种传播^[9,11,15],是导致 NDM-1 流行的主要原因。鉴于 NDM-1 能够突破菌属和地理界限而传播,世界各国均应加强 NDM-1 的监测,深入探讨其跨种传播的可能方式,研究针对这类超级细菌的控制技术。

参考文献:

- [1] Patel G, Bonomo R A. "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases [J]. *Front Microbiol*, 2013, 4(48):doi: 10.3389/fmicb.2013.00048.
- [2] Abraham S, Wong H S, Turnidge J, et al. Carbapenemase-producing bacteria in companion animals: a public health concern on the horizon [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(5):1155-1157.
- [3] 陈 硕. NDM-1 鲍曼不动杆菌生物学特性分析[D]. 吉林:吉林农业大学动物科学技术学院, 2012.
- [4] 张鹏翼. 双选择抗生素影响大肠杆菌间质粒接合转移的分子机制暨纤维堆囊菌 So0157-2 表达蛋白质组学分析[D]. 山东:山东大学, 2010.
- [5] Qiu Z, Yu Y, Chen Z, et al. Nanoalumina promotes the horizontal transfer of multiresistance genes mediated by plasmids across genera [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(13):4944-4949.
- [6] Shahi S K, Singh V K, Kumar A, et al. Detection of *Escherichia coli* and associated β -lactamases genes from diabetic foot ulcers by multiplex PCR and molecular modeling and docking of SHV-1, TEM-1, and OXA-1 β -lactamases with clindamycin and piperacillin-tazobactam [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):e68234.
- [7] 吴晓东, 江 洁, 何煜波, 等. 沙门氏菌 PCR 检测方法的建立及其在蔬菜检测中的应用[J]. *食品工业科技*, 2014, 15:320-323.
- [8] Berrazeg M, Diene S, Medjahed L, et al. New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: an eReview using Google Maps [J]. *Euro Surveill*, 2014, 19(20):pii: 20809.
- [9] Wang X, Chen G, Wu X, et al. Increased prevalence of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* in hospital setting due to cross-species transmission of the blaNDM-1 element and clonal spread of progenitor resistant strains [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6:595. doi: 10.3389/fmicb.2015.00595.
- [10] Sun Y, Liu Q, Chen S, et al. Characterization and plasmid elimination of NDM-1-producing *Acinetobacter calcoaceticus* from China [J]. *PLoS One*. 2014, 9(9):e106555.
- [11] Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, et al. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China [J]. *J Antimicrob Chem*

mother, 2011, 66(6):1255-1259.

[12] 黄 瑞, 秦爱兰, 闻玉梅. 耐药质粒 pRST98 在不同种属肠道杆菌间的接合及表达[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000,20(4):323-326.

[13] Qin S, Fu Y, Zhang Q, *et al.* High Incidence and Endemic Spread of NDM-1-Positive *Enterobacteriaceae* in Henan Province, China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(8): 4275-4282.

[14] Zhang X, Li X, Wang M, *et al.* Outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Causing Neonatal Infection in a Teaching Hospital in Mainland China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(7): 4349-4351.

[15] Yang Q, Fang L, Fu Y, *et al.* Dissemination of NDM-1-Producing Enterobacteriaceae Mediated by the IncX3-Type Plasmid [J]. PLoS One, 2015, 10(6):e0129454.

(编 辑:侯向辉)