

DOI: 10.13376/j.cbls/2018150

文章编号: 1004-0374(2018)11-1244-08

细菌间 bla_{NDM-1} 传播规律的研究进展

喻浠明, 李 畅, 张文慧, 贾 宇*, 张林波*

(吉林农业大学生命科学学院病原微生物与免疫学研究室, 长春 130118)

摘 要: 新德里金属 β -内酰胺酶-1 (New Delhi metallo- β -lactamase 1, NDM-1) 导致革兰氏阴性细菌对几乎所有 β -内酰胺类抗生素 (β -lactam antibiotic) 产生抗性。携带 NDM-1 编码基因 (bla_{NDM-1}) 的肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter* spp.) 细菌在世界各地广泛流行, 严重威胁着公共健康。现对 NDM-1 的结构、突变亚型和传播规律进行综述, 为预防和控制 NDM-1 携带菌提供策略。

关键词: 新德里金属 β -内酰胺酶-1; 突变亚型; 可移动遗传元件; IV 型分泌系统

中图分类号: R378.2 **文献标志码:** A

Research progress in dissemination of bla_{NDM-1} between bacteria

YU Xi-Ming, LI Chang, ZHANG Wen-Hui, JIA Yu*, ZHANG Lin-Bo*

(Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: The New Delhi metallo- β -lactamase 1 (NDM-1) producing Gram-negative bacteria are resistant to almost all the β -lactam antibiotics. Enterobacteriaceae and *Acinetobacter* spp. carrying bla_{NDM-1} have disseminated globally and been a serious threat to public health. This paper briefly reviews the structure, variants and spread of NDM-1, and provides strategies to prevent and control the dissemination of NDM-1-positive bacteria.

Key words: New Delhi metallo- β -lactamase 1; variants; mobile genetic elements; type IV secretion system

自人类发现并开始使用抗生素以来, 抗生素耐药基因就普遍存在于细菌中。近年来, 难以或不可能治疗的抗生素耐药细菌变得越来越普遍, 正在引发全球健康危机。2009年, 首次从一名印度瑞典籍男性患者的尿液样本中发现了一株特殊的肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*), 其能合成一种还未被报道过的金属 β -内酰胺酶 (metallo- β -lactamase, MBL), 由于该患者被感染的地点可能是新德里, 所以, 此酶被命名为新德里金属 β -内酰胺酶-1 (New Delhi metallo- β -lactamase 1)。该酶由新德里金属 β -内酰胺酶-1 基因 (bla_{NDM-1}) 编码, 故又简称 NDM-1。NDM-1 属于碳青霉烯酶 Ambler 分子分类中 B 类 MBL 的 B1 亚类, 可产生 NDM-1 的细菌能够水解几乎所有的 β -内酰胺类抗生素 (β -lactam antibiotic), 导致现有抗菌药物无法满足临床治疗需要^[1]。目前, bla_{NDM-1} 多由肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter*

spp.) 细菌携带^[2]。又由于 bla_{NDM-1} 强大的跨区域和跨种属传播的能力, 致使这些携带菌在世界各地广泛流行, 严重威胁着人类健康, 因此, 防控 bla_{NDM-1} 的传播迫在眉睫。

流行病学和遗传学研究表明, 质粒的接合 (conjugation) 及可移动遗传元件 (mobile genetic elements) 的转座 (transposition) 在 bla_{NDM-1} 的水平传播中具有重要作用^[3]。本文主要介绍 NDM-1 的结构、突变亚型和传播规律, 探究 bla_{NDM-1} 的传播方式和特点, 为 NDM-1 的防控和治疗提供合理策略及参考。

收稿日期: 2018-06-02; 修回日期: 2018-07-03

基金项目: 吉林省科技发展计划资助项目(2018052-0044JH); 吉林省教育厅“十三五”科学研究规划资助项目(JJKH20180679KJ)

*通信作者: E-mail: jiaju0538@hotmail.com (贾宇); 1581298564@qq.com (张林波)

1 NDM-1简介

1.1 NDM-1的结构和活性位点

bla_{NDM-1} 的开放阅读框 (open reading frame, ORF) 编码由 269 个氨基酸构成 (相对分子质量为 27.5×10^3) 的紧凑球状蛋白, 即 NDM-1。单体 NDM-1 的二级结构是由 5 个 α -螺旋和 12 个 β -折叠构成的金属 β -内酰胺酶家族典型的 $\alpha\beta/\beta\alpha$ “三明治型夹心”结构: 两组 β -折叠扭曲着被夹在中间, 两侧是两个双 α -螺旋, 第五个 α -螺旋则连接着两个 β -折叠^[4]。NDM-1 的活性位点 (图 1) 位于“三明治型”结构的中心, 含有两个不同亲和力的二价锌离子, 结合紧密的称为 Zn1, 结合较松散的称为 Zn2。两个锌离子之间相距 3.2 Å, 并分别连接 Asp124 的侧链羟基, Zn1 与 His120、His122、His189 以及 Asp124 的羟基形成四面体配位, Zn2 与 Asp124、Cys208、His250 形成金字塔形配位^[5]。Zn1 与 Zn2 之间通过一个水桥连接, 其中的氢氧根离子作为亲核试剂参与抗生素的水解过程。在水解过程中, Zn1 结合的氢氧根离子作为亲核试剂攻击 β -内酰胺环的羰基碳原子, 负电荷转移至羰基氧原子上; Zn2 结合氢氧根离子后呈路易斯酸性, 从而为 β -内酰胺环上的 C-N 键的断裂提供质子^[6]。当底物水解完成并被释放后, Zn2 结合的氢氧根离子又会与 Zn1 结合, 锌离子与氢氧根离子之间的静电相互作用使得两个锌离子更加接近, 以便进行下一次的水解。

1.2 NDM-1 在我国的流行范围

研究发现, 产 NDM-1 的菌株对临床常用的大多数抗菌药物均耐药, 包括亚胺培南、美罗培南、氧哌嗪青霉素-他唑巴坦、头孢噻肟、头孢他啶、头孢匹罗、氨曲南、环丙沙星、庆大霉素、妥布霉素、

阿米卡星、米诺四环素等; 而仅对多黏菌素 E 和替加环素敏感^[1,7-8]。亚洲大陆是产 NDM-1 耐药菌的主要聚集地, 而我国是除印度和巴基斯坦之外的内源性 NDM-1 报道最多的国家^[9]。目前, 我国尚未出现 NDM 基因阳性菌株大范围流行的情况, 仅有个例报道, 并且我国产 NDM-1 耐药菌以不动杆菌属为主, 这与世界其他地方情况存在差异。2011 年, Chen 等^[10] 从 4 个不同的省份分离出四株携带 NDM-1 的鲍曼不动杆菌, 这是我国产 NDM-1 耐药菌的首例报道。近年来, NDM-1 的流行在我国有逐渐加重的趋势, 从地区分布来看, 东北、华北、华东、中南四大地区均发现有产 NDM-1 耐药菌存在。北京疾病预防控制中心收集了 2013-2015 年来自武汉、上海和北京等 8 个城市 20 间医院的 1 162 株菌进行研究, 检测出 36 株 NDM-1 阳性菌, 包含大肠埃希菌 (*Escherichia coli*)、肺炎克雷伯菌和醋酸钙不动杆菌 (*A. calcoaceticus*) 等^[11]。患者来源耐药菌的 bla_{NDM-1} 阳性率逐年上升, 说明产 NDM-1 耐药菌正在我国医院内广泛地传播和流行。国内报道的 NDM-1 案例多为本土性的, 无国外医疗或旅游的经历, 因此, 我国被认为是继印第安次大陆和巴尔干半岛之后的第三大病源地。

1.3 NDM-1 的突变亚型及其特点

由于增大抗生素的使用剂量而造成的选择性压力推动了 NDM-1 的进化, 导致其突变亚型频繁出现。目前已经报道了在不同位置上的一个或多个残基上彼此不同的 24 种 NDM-1 突变亚型^[12]。在这 24 种突变亚型中, 碱基对的突变主要发生于 18 个位置 (表 1)。NDM 突变亚型中各种氨基酸的替换影响了酶的稳定性和活性, 在细菌的耐药性进化中赋予其选择性优势^[13]。

研究者在埃及患者体内分离的鲍曼不动杆菌 (*A. baumannii*) 中首次发现了第一种突变亚型——NDM-2, 与 NDM-1 相比, 核苷酸序列第 82 位的 C 突变为 G, 此点突变导致其氨基酸序列第 28 位处脯氨酸被丙氨酸替换, 但未造成耐药性的较大改变^[14]。在澳大利亚患者的尿液样本的大肠埃希菌 (*E. coli*) 中发现另一种突变亚型——NDM-3, 其第 95 位处天冬氨酸被天冬酰胺替换^[15]。除了多利培南外, NDM-3 对大多数 β -内酰胺类抗生素的酶促反应动力学参数较 NDM-1 低, 但酶活性未发生明显变化^[16]。NDM-4 在印度住院患者的尿液样本的大肠埃希菌中被发现, 其第 154 位的甲硫氨酸被亮氨酸替换, 导致对碳青霉烯类抗生素和几种头孢菌素的水解活

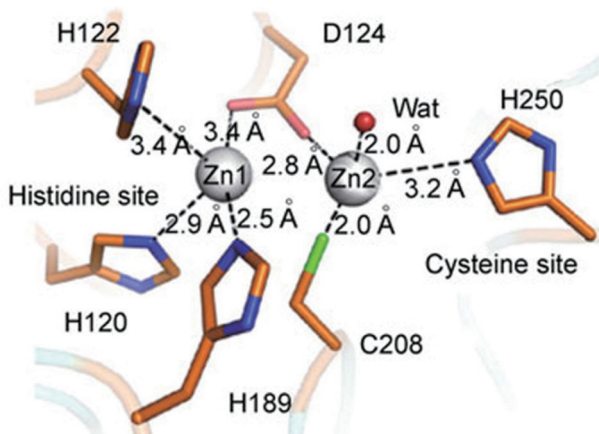


图1 NDM-1的活性位点^[7]

表1 NDM-1突变亚型的特征

突变亚型	GenBank登录号	菌种	国家	碱基突变	氨基酸突变
NDM-2	JF703135.1	鲍曼不动杆菌	埃及	C82G	P28A
NDM-3	JQ734687.1	大肠埃希菌	澳大利亚	G283A	D95N
NDM-4	JQ348841.1	大肠埃希菌	印度	A460C	M154L
NDM-5	JN104597.1	大肠埃希菌	英国	G262T、A460C	V88L、M154L
NDM-6	JQ235754.1	大肠埃希菌	新西兰	C698T	A233V
NDM-7	JX262694.1	大肠埃希菌	德国	G388A、A460C	D130N、M154L
NDM-8	AB744718.1	大肠埃希菌	尼泊尔	A389G、A460C	D130G、M154L
NDM-9	KC999080.2	肺炎克雷伯菌	中国	G454A	E152K
NDM-10	KF361506.1	肺炎克雷伯菌	印度	C94A、G107A、G205A、 G220A、G598C	R32S、G36D、G69S、 A74T、G200R
NDM-11	KP265939.1	大肠埃希菌	印度	A460G	M154V
NDM-12	AB926431.1	大肠埃希菌	尼泊尔	A460C、G665A	M154L、G222D
NDM-13	LC012596.1	大肠埃希菌	尼泊尔	G283A、A460C	D95N、M154L
NDM-14	KM210086.1	洛菲不动杆菌	印度	A389G	D130G
NDM-15	KP735848.1	大肠埃希菌	印度	A460C、G698T	M154L、A233V
NDM-16	KP862821.1	肺炎克雷伯菌	俄罗斯	G262C、A460C、G698T	V88L、M154L、A233V
NDM-17	KX812714.1	大肠埃希菌	中国	G262T、A460C、G508A	V88L、M154L、E170K
NDM-18	KY503030.1	大肠埃希菌	德国	123insTGGCGACCAACGGTT	44insQRFGD
NDM-19	MF370080.1	大肠埃希菌	加拿大	G388A、A460C、C698T	D130N、M154L、A233V
NDM-20	KY654092.1	大肠埃希菌	中国	G262T、A460C、G809A	V88L、M154L、R270H
NDM-21	MG183694.1	大肠埃希菌	中国	G205A、G262T、A460C	G69S、V88L、M154L
NDM-22	MH243357.1	阴沟肠杆菌	菲律宾	A742C	M248L
NDM-23	MH450214.1	肺炎克雷伯菌	西班牙	A301C	I101L
NDM-24	MH450215.1	斯氏普罗威登斯菌	格鲁吉亚	G262T	V88L

性提高,但对头孢吡肟的水解活性降低^[17]。NDM-5从英国患者体内分离的多药耐药性大肠埃希菌中被发现,相比NDM-4,其第88位的缬氨酸被亮氨酸替换,显示出对碳青霉烯类抗生素和广谱头孢菌素更高的水解活性^[18-19]。NDM-6首次被报道还是在 大肠埃希菌中,与NDM-1相比,第233位的丙氨酸被缬氨酸替换,但酶活性未发生明显变化^[20]。在大肠埃希菌ST599中首次发现NDM-7,其第130位天冬氨酸被天冬酰胺替换和第154位甲硫氨酸被亮氨酸替代,导致大肠埃希菌拥有更高的碳青霉烯类抗生素抗性^[21]。在第130位(天冬氨酸被甘氨酸替换)和第154位(甲硫氨酸被亮氨酸替换)处都发生氨基酸替换的NDM-8拥有与NDM-1相似的酶活性,且NDM-8是最稳定的突变亚型,其变性温度为72℃,而NDM-1仅为60℃^[22-23]。在来自中国的肺炎克雷伯氏菌ST107中发现了NDM-9,与NDM-1相比,第152位的谷氨酸被赖氨酸替换,导致其水解活性增强^[24]。NDM-10在印度马哈拉施特拉邦分离的肺炎克雷伯菌中首次被报道,并且发现其第32位精氨酸被丝氨酸替换、第36位甘氨酸

被天冬氨酸替换、第69位甘氨酸被丝氨酸替换、第74位丙氨酸被苏氨酸替换和第200位甘氨酸被精氨酸替换,导致其对β-内酰胺类抗生素有更高的耐药性^[25]。NDM-12首次在大肠埃希菌ST635中大小为160 kb的质粒上被发现,在第154位(甲硫氨酸被亮氨酸替换)和第222位(甘氨酸被天冬氨酸替换)处发生氨基酸替换。尽管除了多利培南以外,NDM-12对所有β-内酰胺类抗生素的酶促反应动力学参数都比NDM-1低,但酶活性仍与NDM-1相似^[26]。在尼泊尔患者的尿液样本中分离的大肠埃希菌中首次发现NDM-13,其第95位的天冬氨酸被天冬酰胺替换和第154位的甲硫氨酸被亮氨酸替换,并且具有类似NDM-1的抗β-内酰胺酶活性,但是与NDM-1相比,其对头孢噻肟具有更高的酶促反应动力学参数^[27]。另外,在我国临床分离的大肠杆菌ST5138中发现了携带完整NDM-13基因的pNDM13-DC33质粒,其与含有 bla_{NDM-1} 的pNDM-HN380质粒具有高度相似性^[28]。NDM-14首次在临床分离的洛菲不动杆菌(*A. lwoffii*)中被鉴定,其第130位天冬氨酸被甘氨酸替换,对碳青霉烯类抗

生素具有更高的酶活性, 且 NDM-14 对美罗培南和亚胺培南的亲和力更高^[29]。NDM-17 首次被报道于中国鸡中分离的大肠埃希菌 ST48, 它第 88 位缬氨酸被亮氨酸替换、第 154 位甲硫氨酸被亮氨酸替换和第 170 位谷氨酸被赖氨酸替换, 导致其对几乎所有 β -内酰胺类抗生素的亲和力都高于 NDM-5, 且赋予其显著增强的水解活性^[30]。NDM-20 在中国食用猪体内分离的大肠埃希菌中首次被发现, 其第 88 位缬氨酸被亮氨酸替换、第 154 位甲硫氨酸被亮氨酸替换和第 247 位精氨酸被组氨酸替换, 与 NDM-5 相比, 增强了对某些青霉素和头孢菌素的水解活性, 但降低了对碳青霉烯酶的活性^[31]。

除了 NDM-2 基因^[14]和 NDM-13 基因^[27]定位在染色体上以外, 其他突变亚型编码基因都主要由质粒介导。NDM-2、3、4、6、9、11、14、22、23 和 24 与 NDM-1 的差异在于单个氨基酸的替换, 而其余的突变亚型具有多个替换, 且最常见的替换方式是第 154 位的甲硫氨酸被亮氨酸替换^[32]。不同氨基酸残基的替换对酶的催化活性具有不同影响, 并取决于氨基酸的结构和性质^[33]。因此, 可以推测, 水解活性的变化不是所有氨基酸替换效应的累积总和, 而是发生替换的氨基酸之间的相互作用以及它们对活性位点结构的影响。

2 可移动遗传元件促进 *bla*_{NDM-1} 的传播

2.1 可移动遗传元件简介

细菌间的耐药基因通常由特定的可移动遗传元件携带, 并通过转座的方式在不同质粒之间转移。转座是指在转座子 (transposon, Tn)、插入序列 (insertion sequence, IS) 及插入序列共同区 (insertion sequence common region, ISCR) 等可移动遗传元件的帮助下, DNA 序列从一个位点转移至另一个位点的现象。IS 是编码转座所需酶的一种转座子, 一个功能性 IS 模块既能转座自身, 也能转座整个转座子。Tn 是一种在细菌的质粒之间自行移动的遗传元件, 是基

因组中一段特异的具有转移特性的独立 DNA 序列。Tn 可以分为复合转座子和单位转座子: 复合转座子的序列两侧结合了两个 IS 元件, 这两个 IS 元件能协助它们之间的 DNA 序列转移; 单位转座子以相似的机制工作, 但不同之处在于它利用其他酶 (例如重组酶) 来转移其序列内的 DNA 序列。ISCR 是一种与 I 类整合子 (class 1 integron) 高度相关的转座酶, 并利用循环滚动的机制来调动 DNA^[34]。转座子和各种插入序列的遗传动员正是 *bla*_{NDM-1} 可以在各种质粒骨架之间传播的重要原因之一。

2.2 可移动遗传元件的多变性及其作用

在不动杆菌中, *bla*_{NDM-1} 的上下游都存在插入序列 *ISAbal25*, 从而形成了一个复合转座子 *Tn125* (图 2)^[35]。*ISAbal25* 属于 *IS30* 家族, 位于 *Tn125* 的起始和结束端, 编码由 322 个氨基酸组成的 DDE 型转座酶, 通过促进 *bla*_{NDM-1} 的表达来增强细菌对碳青霉烯类抗生素的耐药性^[36]。*bla*_{NDM-1} 的下游常伴有其他编码基因: *ble* (博来霉素抗性基因)、*trpF* (异构酶)、*groES* (热抗性伴侣蛋白辅助因子)、*groEL* (热抗性伴侣蛋白) 和 *InsE* (转座酶) 等。这些基因能够稳定质粒携带的 *bla*_{NDM-1}, 使其更加适应多变的环境^[37]。而在肠杆菌科细菌中, *bla*_{NDM-1} 上下游的插入序列种类更丰富, 如 *IS3000*、*IS26*、*ISEc33* 和 *ISCR1* 等, 这些插入序列经常缺失或者被另一种插入序列截断, 又衍生出不同的结构^[38-39]。同时, 含有插入序列的区域的 GC 含量与其侧翼区 GC 含量存在很大的差别, 由此说明 *bla*_{NDM-1} 的水平转移或整合可能是导致该基因遗传环境多样化的重要方式^[40]。虽然促进 *bla*_{NDM-1} 转移的插入序列各不相同, 但 *Tn125* 的部分结构 (*ISAbal25-bla*_{NDM-1}-*ble-trpF*) 仍然出现在不同的质粒和细菌中, 包括大肠埃希菌^[41]、肺炎克雷伯菌^[42]、沙门氏菌 (*Salmonella enterica*)^[43] 和弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*)^[44] 等。因此, *Tn125* 可能是 *bla*_{NDM-1} 从不动杆菌属整合进不同类质粒, 进而进入其他种属细菌的媒介^[36]。

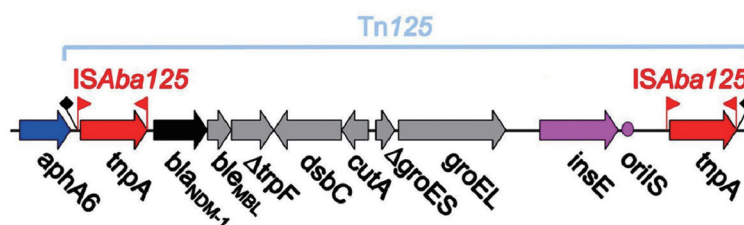


图2 *Tn125* 结构

3 携带 bla_{NDM-1} 的质粒与 bla_{NDM-1} 转移

3.1 携带 bla_{NDM-1} 质粒的多样性

bla_{NDM-1} 主要位于质粒上, 也被报道存在于少数大肠埃希菌^[45]、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)^[46] 和奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*)^[47] 的染色体上。在临床上, 从同一个患者体内分离出的不同种属产 NDM-1 细菌有相似的质粒结构的报道已经屡见不鲜, 说明了质粒在 bla_{NDM-1} 跨种传播中的重要作用。携带 bla_{NDM-1} 的质粒大小范围从 30~3 000 kb 不等, 质粒型也丰富多样, 常见的类型有 IncA/C、IncL/M^[48] 和 IncR^[49] 等。其中的 IncA/C 型质粒更具有广泛的宿主适应范围, 能在肠杆菌科细菌中的多个种属及不动杆菌、假单胞菌和霍乱弧菌中存在, 这也为 bla_{NDM-1} 进入不同种属的细菌宿主中提供了便利^[50]。已有研究在我国多种类型的肠杆菌中发现了相同的 IncX3 型耐药质粒, 表明 IncX3 型质粒可能是 bla_{NDM-1} 在我国肠杆菌科细菌中传播的重要媒介^[51-53]。

3.2 多种耐药基因共同转移

通过分析携带 bla_{NDM-1} 的质粒, 发现这些质粒结构通常包括骨架区和可变区。质粒的骨架区编码与质粒的复制、转移及稳定性等相关的功能蛋白。可变区则是耐药基因的集中区域, 除 bla_{NDM-1} 外, 该区域还常常同时携带其他多种不同的耐药基因, 导致多重耐药。常见的与 bla_{NDM-1} 位于同一质粒上的耐药基因有 bla_{TEM} 、 bla_{OXA} 、 bla_{CMY} 、 bla_{SHV} 和 bla_{CTX-M} (β -内酰胺酶基因), qnr (喹诺酮类耐药基因), $armA$ 、 $rmtA$ 、 $rmtC$ 、 $rmtD$ 和 $rmtF$ (氨基糖苷类耐药基因), $ereC$ (大环内酯类耐药基因), $cmlA$ (氯霉素基因), sul (磺胺类耐药基因) 及 $arr-2$ (利福霉素类耐药基因) 等。Sarkar 等^[43] 从印度加尔各答医院分离出多药耐药的沙门氏菌, 并发现 bla_{NDM-1} 与 bla_{CMY-4} 在其中的 pNDM-SAL 质粒上共存, 使该菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药性更强。Barguigua 等^[54] 在摩洛哥大学医院的肺炎克雷伯菌分离株中发现, bla_{NDM-1} 和 bla_{OXA-48} 被同一个高分子量的接合质粒共同转移, 严重限制了临床治疗药物的选择。Villa 等^[55] 从德国的野生鸟类体内分离的肠炎沙门氏菌株中发现 bla_{NDM-1} 、 bla_{CMY-16} 和 $fosA3$ 共同存在, 该菌株可能来源于亚洲地区, 并通过鸟类迁徙途径转移到德国。更严重的是, MCR-1 基因的出现导致部分菌株对多黏菌素也产生耐药性, 对抗 NDM-1 细菌的手段更为稀少^[56]。

3.3 IV型分泌系统与 bla_{NDM-1} 的接合转移

IV 型分泌系统 (type IV secretion system, T4SS) 是与细菌接合转移相关的一类分泌系统, 它是一种跨膜的多亚单位复合物, 通常包括一个由菌毛和其他表面纤维或蛋白质组成的分泌通道。T4SS 能介导基因水平转移, 通过细菌间的接合作用传递抗生素耐药基因和毒力基因, 导致病原体耐药性出现或毒力增强, 有利于致病菌的进化。此外, T4SS 可以分泌一些效应蛋白质分子通过细菌细胞膜及真核宿主细胞质膜, 这与细菌的致病性密切相关^[57]。研究表明, T4SS 基因也存在于部分携带 bla_{NDM-1} 的质粒上, 通过调控相关蛋白的表达来控制 bla_{NDM-1} 的接合转移效率^[58-60]。Huang 等^[61] 在不动杆菌分离株中发现了大小为 47 kb 的 NDM-1 阳性质粒, 该质粒上的 T4SS 基因是控制质粒接合转移的操纵子的重要组成部分。Liu 等^[62] 在鲍曼不动杆菌 TYTH-1 的 pAB_CC 质粒内发现, 组成 T4SS 的 3 个 *tra* 基因能调控菌毛尖蛋白质的形成、偶联和稳定。在不动杆菌中, IV 型分泌系统对 bla_{NDM-1} 质粒的接合转移确实能发挥一定作用, 但调控的相关机制还未见报道, 仍需要进一步的研究。

4 展望

由于抗生素的大肆滥用和细菌间耐药基因的迅速传播, 超级耐药细菌已成为医疗卫生工作者所面临的巨大挑战, NDM-1 及其突变亚型的全球传播正是其中的严峻问题之一。目前, 应采取以下有效措施进行防控: (1) 检测和管理, 全世界范围内都严格限制抗生素的使用, 切实加强药物监管, 定期检测病菌耐药性, 警惕 NDM-1 耐药基因的广泛传播; (2) 多药联合治疗, 采用多种新型组合疗法来对抗高耐药菌, 例如多黏菌素 B 和氯霉素协同杀死产 NDM 肺炎克雷伯菌^[63]; (3) 新型抑制剂, 从天然化合物出发, 开发新型 NDM-1 抑制剂, 如在真菌中发现的代谢产物曲霉菌 A(AMA) 被鉴定为 NDM-1 的有效抑制剂^[64]。

尽管近期的研究集中于各种携带 bla_{NDM-1} 的质粒的结构、序列及其在基因水平传播过程中的作用机制, 并取得了不错的进展, 然而仍需要更深入地研究 NDM-1 耐药基因, 包括可移动遗传元件的类型及其作用等, 以期为防控和消灭 NDM-1 超级细菌提供新的思路和方法。

[参 考 文 献]

[1] Khan AU, Maryam L, Zarrilli R. Structure, genetics and

- worldwide spread of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiol*, 2017, 17: 101
- [2] Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis*, 2017, 215: S28-S36
- [3] Khong WX, Xia E, Marimuthu K, et al. Local transmission and global dissemination of New Delhi metallo- β -Lactamase (NDM): a whole genome analysis. *BMC Genomics*, 2016, 17: 452
- [4] Zhang HM, Hao Q. Crystal structure of NDM-1 reveals a common β -lactam hydrolysis mechanism. *FASEB J*, 2011, 25: 2574-82
- [5] Guo Y, Wang J, Niu G, et al. A structural view of the antibiotic degradation enzyme NDM-1 from a superbug. *Protein Cell*, 2011, 2: 384-94
- [6] King DT, Worrall LJ, Gruninger R, et al. New Delhi metallo- β -lactamase: structural insights into β -lactam recognition and inhibition. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 11362-5
- [7] 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. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10: 597-602
- [8] Fu Y, Du X, Ji J, et al. Epidemiological characteristics and genetic structure of bla_{NDM-1} in non-baumannii *Acinetobacter spp.* in China. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67: 2114-22
- [9] Berrazeg M, Diene S, Medjahed L, et al. New Delhi metallo- β -lactamase around the world: an eReview using Google Maps. *Euro Surveill*, 2014, 19: 20809
- [10] Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, et al. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66: 1255-9
- [11] Hu X, Xu X, Xu W, et al. Diversity of New Delhi metallo- β -lactamase-producing bacteria in China. *Int J Infect Dis*, 2017, 55: 92-5
- [12] Kazmierczak KM, Rabine S, Hackel M, et al. Multi-year, multi-national survey of the incidence and global distribution of metallo- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and *P. aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 60: 1067-78
- [13] Makena A, Brem J, Pfeffer I, et al. Biochemical characterization of New Delhi metallo- β -lactamase variants reveals differences in protein stability. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 463-9
- [14] Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, et al. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66: 1260-2
- [15] Rogers BA, Sidjabat HE, Silvey A, et al. Treatment options for New Delhi metallo- β -lactamase-harboring enterobacteriaceae. *Microb Drug Resist*, 2013, 19: 100-3
- [16] Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, et al. Biochemical analysis of metallo- β -lactamase NDM-3 from a multidrug-resistant *Escherichia coli* strain isolated in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58: 3538-40
- [17] Nordmann P, Boulanger AE, Poirel L. NDM-4 metallo- β -lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56: 2184-6
- [18] Hornsey M, Phee L, Wareham DW. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo- β -lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55: 5952-4
- [19] Ali A, Gupta D, Srivastava G, et al. Molecular and computational approaches to understand resistance of New Delhi metallo β -lactamase variants (NDM-1, NDM-4, NDM-5, NDM-6, NDM-7)-producing strains against carbapenems. *J Biomol Struct Dyn*, 2018, 1-40
- [20] Williamson DA, Sidjabat HE, Freeman JT, et al. Identification and molecular characterisation of New Delhi metallo- β -lactamase-1 (NDM-1)- and NDM-6-producing Enterobacteriaceae from New Zealand hospitals. *Int J Antimicrob Agents*, 2012, 39: 529-33
- [21] Göttig S, Hamprecht AG, Christ S, et al. Detection of NDM-7 in Germany, a new variant of the New Delhi metallo- β -lactamase with increased carbapenemase activity. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68: 1737-40
- [22] Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, et al. NDM-8 metallo- β -lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* strain isolated in Nepal. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 2394-6
- [23] Makena A, Brem J, Pfeffer I, et al. Biochemical characterization of New Delhi metallo- β -lactamase variants reveals differences in protein stability. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 463-9
- [24] Wang X, Li H, Zhao C, et al. Novel NDM-9 metallo- β -lactamase identified from a ST107 *Klebsiella pneumoniae* strain isolated in China. *Int J Antimicrob Agents*, 2014, 44: 90-1
- [25] Khajuria A, Prahara AK, Kumar M, et al. Presence of a novel variant NDM-10, of the New Delhi metallo- β -lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Indian J Med Microbiol*, 2016, 34: 121-3
- [26] Tada T, Shrestha B, Miyoshiakiyama T, et al. NDM-12, a novel New Delhi metallo- β -lactamase variant from a carbapenem-resistant *Escherichia coli* clinical isolate in Nepal. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58: 6302-5
- [27] Shrestha B, Tada T, Miyoshi-Akiyama T, et al. Identification of a novel NDM variant, NDM-13, from a multidrug-resistant *Escherichia coli* clinical isolate in Nepal. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 5847-50
- [28] Lv J, Qi X, Zhang D, et al. First report of complete sequence of a bla_{NDM-13} -harboring plasmid from an *Escherichia coli* ST5138 clinical isolate. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6: 130
- [29] Zou D, Huang Y, Zhao X, et al. A novel New Delhi metallo- β -lactamase variant, NDM-14, isolated in a Chinese hospital possesses increased enzymatic activity against carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 2450-3
- [30] Liu Z, Yang W, Walsh TR, et al. Plasmid-mediated novel

- bla*_{NDM-17} gene encoding a carbapenemase with enhanced activity in a sequence type 48 *Escherichia coli* strain. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61: e02233-16
- [31] Liu Z, Li J, Wang X, et al. Novel variant of New Delhi metallo- β -lactamase, NDM-20, in *Escherichia coli*. *Front Microbiol*, 2018, 9: 248
- [32] Groundwater PW, Xu S, Lai F, et al. New Delhi metallo- β -lactamase-1: structure, inhibitors and detection of producers. *Future Med Chem*, 2016, 8: 993-1012
- [33] Khan AU, Rehman MT. Role of non-active-site residue Trp-93 in the function and stability of New Delhi metallo- β -lactamase 1. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 60: 356-60
- [34] Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70: 296-316
- [35] Bontron S, Nordmann P, Poirel L. Transposition of Tn125 encoding the NDM-1 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60: 7245-51
- [36] Siguier P, Gourgbeyre E, Varani A, et al. Everyman's guide to bacterial insertion sequences. *Microbiol Spectr*, 2015, 3: MDNA3-0030-2014
- [37] Dortet L, Girlich D, Virlouvet AL, et al. Characterization of BRPMBL, the bleomycin resistance protein associated with the carbapenemase NDM. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61: e02413-16
- [38] Wang Y, Zhang R, Li J, et al. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 16260
- [39] Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, et al. Genetic features of *bla*_{NDM-1}-positive Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55: 5403-7
- [40] Zou D, Huang Y, Liu W, et al. Complete sequences of two novel *bla*_{NDM-1}-harbouring plasmids from two *Acinetobacter towneri* isolates in China associated with the acquisition of Tn125. *Sci Rep*, 2017, 7: 9405
- [41] Zheng B, Xiao Y, Hao X, et al. Complete genome sequencing and genomic characterization of two *Escherichia coli* strains co-producing MCR-1 and NDM-1 from bloodstream infection. *Sci Rep*, 2017, 7: 17885
- [42] Baraniak A, Izdebski R, Fielt J, et al. NDM-producing Enterobacteriaceae in Poland, 2012–14: inter-regional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases. *J Antimicrob Chemother*, 2016, 71: 85-91
- [43] Sarkar A, Pazhani GP, Chowdhury G, et al. Attributes of carbapenemase encoding conjugative plasmid pNDM-SAL from an extensively drug-resistant *Salmonella enterica* Serovar Senftenberg. *Front Microbiol*, 2015, 6: 969
- [44] Huang YM, Zhong LL, Zhang XF, et al. NDM-1-producing *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, and *Acinetobacter baumannii* identified from a single patient in China. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 5073-7
- [45] Shen P, Yi M, Fu Y, et al. Detection of an *Escherichia coli* sequence type 167 strain with two tandem copies of *bla*_{NDM-1} in the chromosome. *J Clin Microbiol*, 2016, 55: 199-205
- [46] Rahman M, Prasad KN, Pathak A, et al. RmtC and RmtF 16S rRNA methyltransferase in NDM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21: 2059-62
- [47] Girlich D, Dortet L, Poirel L, et al. Integration of the *bla*_{NDM-1} carbapenemase gene into *Proteus* genomic island 1 (PGI1-PmPEL) in a *Proteus mirabilis* clinical isolate. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 98-102
- [48] Carattoli A, Seiffert SN, Schwendener S, et al. Differentiation of IncL and IncM plasmids associated with the spread of clinically relevant antimicrobial resistance. *PLoS One*, 2015, 10: e0123063
- [49] Gamal D, Fernández-Martínez M, Salem D, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Egypt containing *bla*_{NDM-1} on IncR plasmids and its association with rmtF. *Int J Infect Dis*, 2016, 43: 17-20
- [50] Wailan AM, Paterson DL. The spread and acquisition of NDM-1: a multifactorial problem. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2014, 12: 91-115
- [51] Feng Y, Yang P, Xie Y, et al. *Escherichia coli* of sequence type 3835 carrying *bla*_{NDM-1}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CMY-42} and *bla*_{SHV-12}. *Sci Rep*, 2015, 5: 12275
- [52] Yang Q, Fang L, Fu Y, et al. Dissemination of NDM-1-producing Enterobacteriaceae mediated by the IncX3-type plasmid. *PLoS One*, 2015, 10: e0129454
- [53] Qu H, Wang X, Ni Y, et al. NDM-1-producing Enterobacteriaceae in a teaching hospital in Shanghai, China: IncX3-type plasmids may contribute to the dissemination of *bla*_{NDM-1}. *Int J Infect Dis*, 2015, 34: 8-13
- [54] Barguigua A, Zerouali K, Katfy K, et al. Occurrence of OXA-48 and NDM-1 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, in a Moroccan university hospital in Casablanca, Morocco. *Infect Genet Evol*, 2015, 31: 142-8
- [55] Villa L, Guerra B, Schmoger S, et al. IncA/C plasmid carrying *bla*_{NDM-1}, *bla*_{CMY-16}, and *fosA3* in a *Salmonella enterica* serovar Corvallis strain isolated from a migratory wild bird in Germany. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 6597-600
- [56] Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*, 2016, 16: 161-8
- [57] Darbari VC, Waksman G. Structural biology of bacterial type IV secretion systems. *Annu Rev Biochem*, 2015, 84: 603-29
- [58] Hu H, Hu Y, Pan Y, et al. Novel plasmid and its variant harboring both a *bla*_{NDM-1} gene and type IV secretion system in clinical isolates of *Acinetobacter lwoffii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56: 1698-702
- [59] Huang J, Deng S, Ren J, et al. Characterization of a *bla*_{NDM-1}-harbouring plasmid from a *Salmonella enterica* clinical isolate in China. *Mol Med Rep*, 2017, 16: 1087-92
- [60] Rojas LJ, Wright MS, De LCE, et al. Initial assessment of the molecular epidemiology of *bla*_{NDM-1} in Colombia.

- Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60: 4346-50
- [61] Huang TW, Lauderdale TL, Liao TL, et al. Effective transfer of a 47 kb NDM-1-positive plasmid among *Acinetobacter* species. J Antimicrob Chemother, 2015, 70: 2734-8
- [62] Liu CC, Kuo HY, Tang CY, et al. Prevalence and mapping of a plasmid encoding a type IV secretion system in *Acinetobacter baumannii*. Genomics, 2014, 104: 215-23
- [63] Abdul RN, Cheah SE, Johnson MD, et al. Synergistic killing of NDM-producing MDR *Klebsiella pneumoniae* by two 'old' antibiotics-polymyxin B and chloramphenicol. J Antimicrob Chemother, 2015, 70: 2589-97
- [64] Bergstrom A, Katko A, Adkins ZB, et al. Probing the interaction of Aspergillomarasmine A (AMA) with metallo- β -lactamases NDM-1, VIM-2, and IMP-7. ACS Infect Dis, 2018, 4: 135-45