

鲍曼不动杆菌耐药机制及其对策研究的新进展

吴春阳 综述, 顾国浩[△], 钱雪峰 审校

(苏州大学附属第一医院检验科, 江苏苏州 215000)

关键词: 鲍曼不动杆菌; 耐药机制; 感染对策

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.021

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)02-0174-03

鲍曼不动杆菌是一种非发酵革兰阴性杆菌, 广泛分布于外界环境, 它黏附力极强, 可通过医务人员的手或器械传播, 是引起医院内感染的重要条件致病菌之一。近年来, 鲍曼不动杆菌感染率逐年上升, 其耐药率尤其是对亚胺培南的耐药率不断升高。鲍曼不动杆菌对几乎各类化学结构的临床常用抗生素呈现高度的天然固有耐药性和获得性耐药性, 导致治疗选择极其有限, 而成为临床防治的棘手问题^[1]。本文就鲍曼不动杆菌耐药机制及其对策研究的新进展作一综述。

1 鲍曼不动杆菌的耐药性

20 世纪 70 年代, 鲍曼不动杆菌仍对绝大多数的抗生素敏感, 随着抗生素不合理应用日趋严重, 鲍曼不动杆菌院内感染和耐药性逐渐成为全球性防治难题。该菌属不仅对临床常用的一线抗菌药物如头孢菌素类、氨基糖苷类、喹诺酮类等呈多重耐药性, 甚至对碳青霉烯类药物包括亚胺培南或美洛培南都耐药^[2]。世界卫生组织最近已将抗生素耐药列为人类健康面临的三个重大问题之一^[3], Mohnarin 2009 年度报告中表明除多粘菌素(敏感率 93.2%)和米诺环素(敏感率 65.4%)外, 鲍曼不动杆菌对其他被测药物敏感率低于 55%, 对碳青霉烯类耐药率在 47% 左右^[4]。2010 年度 Mohnarin 报告: 鲍曼不动杆菌除对阿米卡星、米诺环素外, 对其他各种抗菌药物敏感率均低于 50.0%^[5]。2011 年 CHINET 监测网报告 15 家大型医院鲍曼不动杆菌耐药率已达 88.6%。在全球范围内, ESKAPE (Enterococcus faecium 屎肠球菌、Staphylococcus aureus 金黄色葡萄球菌、Klebsiella pneumoniae 肺炎克雷伯菌、Acinetobacter baumannii 鲍曼不动杆菌、Enterobacter 肠杆菌, ES-KAPE) 耐药现象日益严重, 已成为导致患者发病和死亡的重要原因, 但当前新型抗菌药物研发速度逐渐减缓, 未来可能面临无药可用的局面。

2 鲍曼不动杆菌的耐药机制

鲍曼不动杆菌的耐药机制比较复杂, 几乎各类抗生素的耐药表型及基因型都在鲍曼不动杆菌上有所表现。迄今为止, 可以归纳有以下机制介导该菌的多重耐药性及泛耐药性: (1) 耐药酶或称药物灭活酶的产生; (2) 外膜蛋白的减少、缺失或突变; (3) 药物外排泵的形成; (4) 药物作用靶位的改变或受到保护, 如青霉素结合蛋白(PBPs)表达减低或缺乏; (5) 可移动遗传元件参与的耐药基因的传递。近年来鲍曼不动杆菌泛耐药机制研究的新进展主要涉及以下几个方面。

2.1 抗生素水解酶的水解机制

2.1.1 金属酶 金属 β-内酰胺酶对 β-内酰胺类抗生素具有广泛的水解作用, 可水解青霉素类、头孢菌素类及碳青霉烯类等, 能被金属螯合剂依地酸抑制, 但不能被 β-内酰胺酶抑制剂如克拉维酸、舒巴坦或三唑巴坦抑制^[1], 具有碳青霉烯类水解酶的活性。

2.1.2 AmpC 酶 是由肠杆菌细菌或铜绿假单胞菌等的

DNA 或质粒介导产生的一类 β-内酰胺酶, 可以分解第三代头孢菌素及单环酰胺类, 可被氯唑西林抑制, 不能被酶抑制剂抑制。

2.1.3 苯唑西林酶(OXA) 这类酶具有一些共同特征: 如具有独特的结构, 几乎对所有 β-内酰胺类抗生素高度耐药, 能降低鲍曼不动杆菌外膜蛋白的表达^[6], 导致院内感染流行。OXA-23 是最早被报道的鲍曼不动杆菌 OXA 型碳青霉烯酶^[7], 该类酶目前常见的主要有 OXA-23, 27 和 OXA-24, 25, 26, 40, 可水解碳青霉烯类抗生素, 具有碳青霉烯水解酶的活性。

2.2 外膜孔蛋白的减少或缺失机制 细菌的外膜为半通透性的屏障, 而外膜的孔蛋白是细菌进行各种物质交换的通道, 同时也会参与多种抗生素的转运。细菌外膜孔蛋白的缺失、减少或突变可引起外膜对多种抗生素的通透性下降而产生多重耐药。鲍曼不动杆菌中近年研究较多的外膜蛋白主要是 CarO, 主要介导碳青霉烯类抗生素的耐药性^[8]。2002 年, 阿根廷学者分离到 1 株来自临床的耐亚胺培南鲍曼不动杆菌, 经 SDS-PAEG 技术及免疫印迹技术首次发现相对分子质量为 29×10^3 的外膜蛋白缺失, 将其命名为 CarO, 并通过实验进一步证实缺失的蛋白与亚胺培南耐药的相关性^[9]。该蛋白由 caro 基因编码, 具有热修饰蛋白的特点。在耐亚胺培南的鲍曼不动杆菌中 caro 前面有大小不等的插入序列, 这些插入序列进一步抑制蛋白质的转录翻译, 使 CarO 表达缺失。后来有学者通过质谱分析蛋白条带探测到相对分子质量为 25×10^3 的外膜蛋白, 与相对分子质量为 29×10^3 的外膜蛋白具有相似的理化参数和相近的次级结构^[10]。进一步的研究发现了相对分子质量为 25×10^3 的外膜蛋白, 其尽管具有孔蛋白的功能, 却没有形成任何通道; CarO 蛋白形成的离子通道没有发现亚胺培南特异性结合位点, 故认为 CarO 蛋白是鲍曼不动杆菌非特异性的离子通道。此外, 鲍曼不动杆菌的外膜通透性大约是大肠埃希菌的 1%~3%^[11]。固有的对抗生素较低的通透性也是鲍曼不动杆菌易形成泛耐药的重要因素之一。

2.3 药物外排泵的形成机制 鲍曼不动杆菌的主动外排系统根据氨基酸同源性可分为 5 个家族: 包括 ATP 结合盒超家族(ABC)、耐药节结分化家族(RND)、多药及毒性化合物外排家族(MATE)、主要易化子超家族(MFS)和小多重耐药性家族(SMR)^[12]。现已发现鲍曼不动杆菌主动外排系统主要有 AdeABC、AdeIJK、AdeXYZ、AdeDE、AbeM 等^[13]。在革兰阴性杆菌, RND 外排泵系统由内膜转运蛋白、膜融合蛋白和外膜通道蛋白组成三联复合体, 最能体现有效外排药物特性, 其介导的多重耐药性最具有临床意义^[14]。目前对鲍曼不动杆菌外排泵的研究也主要集中在 AdeABC 和 AdeIJK 上面。AdeABC 是第 1 个被发现 RND 外排泵^[15], 它的表达受双组分调节系统 AdeRS 调节^[16]。基因 adeABC 编码 AdeA、AdeB、AdeC。

敏感菌株的 *adeR* 或 *adeS* 发生突变或表达改变后引起 Ade-ABC 表达上调,外排功能增强,从而导致对多种药物耐药^[15]。AdeIJK 是第 2 个被报道的 RND 外排系统^[17],该外排泵是鲍曼不动杆菌所特有的^[18],它的作用底物广泛,介导鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类抗生素的固有耐药^[17]。基因 *adeIJK* 编码该蛋白,目前 AdeIJK 的调节机制尚不明确。有研究认为外排泵系统并不是通过自身直接造成高水平的耐药,而是轻微增加最低抑菌浓度,在与其他耐药机制共同作用的情况下引起细菌高水平的耐药^[19]。

2.4 16S rRNA 甲基化酶修饰机制 对于氨基糖苷类抗生素的耐药机制的研究以往主要集中在氨基糖苷类修饰酶上,近年来逐渐转移到 16S rRNA 甲基化酶上,它能使所有氨基糖苷类药物共同的作用靶位 16S rRNA 被甲基化修饰,药物无法结合,导致对氨基糖苷类抗生素高水平耐药,最低抑菌浓度往往高达 512~1 024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[20]。16S rRNA 甲基化酶最初是在产氨基糖苷类抗生素的微生物如放线菌属、单胞丝菌属中发现的,是该类抗生素产生菌为免于被自身产生的抗生素杀灭的一种自我防御机制。由于产氨基糖苷类抗生素的放线菌可以利用 16S rRNA 甲基化作用,使核糖体对氨基糖苷类药物产生抵抗效应十分普遍^[21]。Yokoyama 等^[22]在 1 株对阿贝卡星高度耐药的铜绿假单胞菌中检测到一种新的 16S rRNA 甲基化酶基因,将其命名为 *rmtA*。此后研究者相继发现了另外 5 种 16S rRNA 甲基化酶基因:*armA*、*rmtB*、*rmtC*、*rmtD* 和 *NpmA*。16S rRNA 甲基化酶基因位于可移动基因元件如转座子或质粒上,能够通过转化或接合进行传播和扩散^[23]。尽管 16S rRNA 甲基化酶在致病性革兰阴性菌中总体流行率维持在较低水平,但已引起全球范围内的播散^[21]。

2.5 整合子等耐药基因转移单元的参与机制 整合子是细菌基因组存在的可移动的遗传物质,可将许多耐药基因整合在一起,由 DNA 和质粒介导,以接合的方式在细菌间传递,甚至是稳定传代,从而形成细菌的多重耐药性。临床上鲍曼不动杆菌多重耐药的出现与整合子对耐药基因的积累是分不开的。目前已发现的整合子共分为 9 类,与鲍曼不动杆菌耐药有关的主要是 I~III 类。鲍曼不动杆菌中 I 类整合子通常携带氨基糖苷类药物的耐药基因或者编码 β -内酰胺酶的基因,II 类整合子主要与氨基糖苷类抗生素的耐药有关。相同的整合子可以携带不同的耐药基因,相同的基因也可出现在不同的整合子上。在抗生素的选择压力下,整合子可不断进化,产生新的耐药表型,再继续传递、周而复始。整合子系统在细菌的耐药机制尤其是耐药性的传播中起重要作用,值得关注。

3 鲍曼不动杆菌院内感染的控制

鲍曼不动杆菌易在潮湿的环境中生存,并且可存活多日,甚至可生存于干燥环境中的微粒和灰尘上,这有利于感染大暴发的形成和持续。患者和医务人员的皮肤及医疗物品携带的菌群是主要感染源,传播途径主要通过污染器械和医务人员的手,医院内交叉感染是传播的重要因素之一。鲍曼不动杆菌对抗生素的耐药性与其在医院的长期存活也有关系,易形成小范围的流行^[19]。而鲍曼不动杆菌中的一些外排泵基因也参与对消毒剂的耐受,如 *QacE Δ* 参与季铵盐类等消毒剂耐药性^[24]; *Smr(A1S_0710)* 参与脱氧胆酸盐及十二烷基硫酸钠等耐药性^[25]; *SmvA* 参与红霉素、甲基紫精及季铵盐耐药性^[25]。对消毒剂的耐受性意味着该菌生存机会增加,院内感染的概率加大。鲍曼不动杆菌感控措施涉及以下几个方面。

3.1 医院环境因素 医患之间的相互接触传播可导致院内感染发生,医护人员的手是传播耐药菌的重要途径,手及环境污

染是造成院内感染的重要外源性因素。

3.2 医疗相关的侵入性操作 气管切开或插管后破坏机体的天然保护屏障,降低了黏膜防御功能,使寄居于口咽部或外源性的鲍曼不动杆菌直接进入下呼吸道引起感染,加之呼吸机具有复杂的管道系统,难以进行彻底的消毒灭菌,更易诱发感染。插管时间越长,感染概率就越大。接受侵入性治疗和使用呼吸机的患者是发生院内鲍曼不动杆菌感染的高危人群^[26]。

3.3 抗生素的使用 院内感染的发生率与耐药菌的流行状况密切相关,而耐药菌的产生有 2 个重要原因,一是抗生素的过度使用以及随之产生的选择压力;二是耐药菌在一定范围的传播。抗生素的不合理使用会造成患者自身体内的正常菌群失调。这些都给鲍曼不动杆菌的感染提供机会。鲍曼不动杆菌耐药谱的地区和国家差异性和抗生素使用模式有很大相关性。

鲍曼不动杆菌感染的治疗原则是:治疗感染,不治疗定植。早年研究表明,亚胺培南对鲍曼不动杆菌的感染有较好的疗效,但随着耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌不断出现,推荐药物转变为舒普深(头孢哌酮/舒巴坦)。舒巴坦直接作用于细菌的 PBP2,对鲍曼不动杆菌有着独特的杀菌作用,同时它还不可逆抑制多种 β -内酰胺酶,这些有可能是含舒巴坦的复合抗生素对鲍曼不动杆菌有较好的抑菌活性的原因之一。此外,对于多重耐药或泛耐药的鲍曼不动杆菌感染的治疗,多黏菌素、米诺环素以及替加环素也是不错的选择。

3.4 易感患者和重症患者 在医院内,高龄、严重创伤、多系统疾病或是使用免疫抑制剂的患者,更易感染定植菌,特别是出现呼吸衰竭的患者;住院时间长则使患者更多地暴露在各种引发感染的危险因素中^[26]。这些因素都使得患者感染鲍曼不动杆菌的可能性大大提高。重症监护室的患者病情严重,不同程度使用广谱抗生素,同时多数患者又建立人工气道、采用机械通气,各种侵入性检查和治疗也较普通患者多,这些均是鲍曼不动杆菌感染控制的重要环节和对象。还应尽量减少侵袭性操作,严格执行无菌操作及消毒隔离制度^[27],对于不得不实施机械通气的情况下应该规范人工气道、机械通气患者的管理^[28]。

4 小 结

综上所述,鲍曼不动杆菌感染率和耐药率逐年上升,耐药机制复杂,治疗药物选择极其有限。在院内感染控制中,要密切关注鲍曼不动杆菌的易感人群,特别是患有严重基础疾病的长期住院患者和老年患者;避免喹诺酮类及第三、四代头孢菌素等广谱抗菌药物的不合理使用;加强鲍曼不动杆菌的耐药性监测,并依据药敏结果合理使用抗生素,从而最大限度地减少或减缓耐药菌株的产生;尽量减少侵袭性操作,严格执行无菌操作及消毒隔离制度,降低鲍曼不动杆菌感染率和患者死亡率。

参考文献

- [1] 凌保东. 鲍曼不动杆菌抗生素多重耐药性:耐药机制与感染治疗对策[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(4): 241-254.
- [2] 杨雅琼. 浅谈鲍曼不动杆菌的耐药现状及治疗策略[J]. 中国医学检验杂志, 2009, 10(4): 257-260.
- [3] Bassetti M, Ginocchio F, Mikulska M. New treatment options against gram-negative organisms[J]. Crit Care, 2011, 15(2): 215.
- [4] 李耘, 吕媛. Mohnarin 2009 年度报告:非发酵革兰阴性杆菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(5): 348-351.
- [5] 孔海深, 杨青, 陈晓, 等. Mohnarin 2010 年度报告:华东地区细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(23): 4915-4920.

- [6] Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, et al. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases[J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(9):3299-3305.
- [7] Donald HM, Scaife W, Amyes SG, et al. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(1):196-199.
- [8] Lu P L, Doumith M, Livermore DM, et al. Diversity of carbapenem resistance mechanisms in *Acinetobacter baumannii* from a Taiwan hospital: spread of plasmid-borne OXA-72 carbapenemase[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63(4):641-647.
- [9] Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance[J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(12):4776-4778.
- [10] Siroy A, Molle V, Lemaitre-Guillier C, et al. Channel formation by CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(12):4876-4883.
- [11] Héritier C, Poirel L, Nordmann P. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2006, 12(2):123-130.
- [12] Li XZ, Zhang L, Nikaido H. Efflux pump-mediated intrinsic drug resistance in *Mycobacterium smegmatis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(7):2415-2423.
- [13] 宋晓萍, 刘萍萍, 孙明娥, 等. 鲍曼不动杆菌耐药性监测与外排泵 adeB 基因表达水平检测[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(12):1297-1298.
- [14] Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria[J]. *Drugs*, 2004, 64(2):159-204.
- [15] Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(12):3375-3380.
- [16] Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, et al. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(9):3298-3304.
- [17] Damier-Piolle L, Magnet S, Brémon S, et al. AdelJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(2):557-562.
- [18] Rajamohan G, Srinivasan VB, Gebreyes WA. Novel role of *Acinetobacter baumannii* RND efflux transporters in mediating decreased susceptibility to biocides[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(2):228-232.
- [19] Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(3):947-953.
- [20] 张晓文, 邵海枫, 王卫萍, 等. 氨基糖苷类药物双圈耐药型鲍曼不动杆菌 16S rRNA 甲基化酶基因研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2011, 36(11):855-858.
- [21] 刘振茹, 凌保东. 多重耐药鲍曼不动杆菌 16S rRNA 甲基化酶研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2011, 36(10):727-732.
- [22] Yokoyama K, Doi Y, Yamane K, et al. Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Lancet*, 2003, 362(9399):1888-1893.
- [23] 陈琳, 陈杖榴, 刘健华. 氨基糖苷类药物耐药新机制——16S rRNA 甲基化酶的研究进展[J]. *中国兽医学*, 2006, 36(11):935-939.
- [24] Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. *PLoS Genet*, 2006, 2(1):e7.
- [25] Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update[J]. *Drugs*, 2009, 69(12):1555-1623.
- [26] 王培升. ICU 鲍氏不动杆菌感染的危险因素及控制对策[J]. *医学信息:下旬刊*, 2011, 24(5):25-26.
- [27] 周艳丽. 鲍曼不动杆菌的耐药性分析[J]. *山东医药*, 2011, 51(42):103-104.
- [28] 张传来. 重症监护病房鲍曼不动杆菌耐药性及感染相关因素分析[J]. *重庆医学*, 2011, 40(30):3058-3060.

(收稿日期:2012-07-27)

• 综 述 •

HE4 在妇科恶性肿瘤诊断中的应用

邹霞综述, 陶华林 审校

(泸州医学院附属医院检验科, 四川泸州 646000)

关键词: HE4; 妇科恶性肿瘤; 肿瘤标记, 生物学

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)02-0176-03

理想的肿瘤标志物灵敏度高、特异度好、操作方便,对早期发现、诊断肿瘤以及判断预后具有重要意义。作为一种新型的肿瘤标志物,人附睾分泌蛋白(HE4)在卵巢癌组织中高表达,癌旁组织、正常组织及良性肿瘤中不同程度低水平表达,正常卵巢组织上皮不表达,是卵巢恶性肿瘤诊断及鉴别诊断的重要指标。本文将就 HE4 的生物学特性及临床应用情况予以综述。

1 HE4 的生物学特性

1.1 HE4 的分子生物学特点 HE4 又称核心表位蛋白

(WFDC2),是一种由乳清酸性蛋白(WFDC)基因编码的相对分子质量为 13×10^3 的分泌性糖蛋白。HE4 的蛋白质结构中含有 4 个二硫键核心区域及两个由 8 个半胱氨酸组成的高度保守的 WAP 结构域。该基因位于染色体 20q12~13.1,全长 12 kb 左右,包括 5 个外显子和 4 个内含子,存在多种剪切方式,编码分泌的小分子蛋白与蛋白酶抑制剂 SLPI 及 elafin 位于同一基因位点,与细胞外蛋白酶有很高的同源性^[1-3]。Kirchhoff 等^[1]最早在人的附睾上皮远端分离出 HE4 基因的