

- Metab S, 2012, 8(2): 111-118.
- [7] Karber B, Ozbek M, Karakose M, et al. Copeptin, a surrogate marker for arginine vasopressin, is associated with cardiovascular risk in patients with polycystic ovary syndrome[J]. J Ovarian Res, 2014, 7(1): 31-39.
 - [8] Aborehab NM, Salman TM, Mohamed OS, et al. The clinical value of copeptin in acute coronary syndrome[J]. J Clin Exp Cardiol, 2013, 4(10): 278-280.
 - [9] Giannopoulos G, Deftereos S, Panagopoulou V, et al. Copeptin as a biomarker in cardiac disease[J]. Current topics in med chemistry, 2013, 13(2): 231-240.
 - [10] Elshafei A, Abdalla G, El-Motaal OA, et al. Copeptin: A neuroendocrine biomarker in acute myocardial infarction[J]. Annual Review Res Biol, 2013, 3(4): 1040-1054.
 - [11] Lipinski MJ, Escárcega RO, D'Ascenzo F, et al. A systematic review and collaborative meta-analysis to determine the incremental value of copeptin for rapid rule-out of acute myocardial infarction [J]. Am J Cardiol, 2014, 1(23): 436-446.
 - [12] Xue Y, Iqbal MN, Chan J, et al. Heart failure, biomarkers[M]. Encycl Int Care Med, Springer, 2012: 1024-1029.
 - [13] Miller WL, Grill DE, Struck J, et al. Association of hyponatremia and elevated copeptin with death and need for transplantation in ambulatory patients with chronic heart failure[J]. Am J cardiol, 2013, 111(6): 880-885.
 - [14] Morgenthaler NG. Copeptin-The steady and reliable copilot of vasopressin[J]. Regulatory Peptides, 2012, 177(12): 11-12.
 - [15] Goode KM, Nicholls R, Pellicori P, et al. The in vitro stability of novel cardiovascular and sepsis biomarkers at ambient temperature[J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 11(12): 1-8.
 - [16] Toutouzias K, Synetos A, Drakopoulou M, et al. Cardiac Biomarkers in Acute Coronary Syndromes[J]. Biomarkers in Cardiovascular Diseases, 2013, 9(22): 87-100.
 - [17] Riphagen IJ, Boertien WE, Alkhalaf A, et al. Copeptin, a surrogate marker for arginine vasopressin, is associated with cardiovascular and All-cause mortality in patients with type 2 diabetes (ZODIAC-31)[J]. Diabetes care, 2013, 36(10): 3201-3207.
 - [18] Liquori ME, Christenson RH, Collinson PO, et al. Cardiac biomarkers in heart failure[J]. Clin Biochemistry, 2014, 22(11): 132-139.
 - [19] Chenevier GC, Freund Y, Claessens Y, et al. Copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction in emergency department [J]. Int J Cardiol, 2013, 166(1): 198-204.
 - [20] Aldous SJ. Cardiac biomarkers in acute myocardial infarction[J]. Int J Cardiol, 2013, 164(3): 282-294.
 - [21] Givertz MM, Teerlink JR, Albert NM, et al. Acute decompensated heart failure: update on new and emerging evidence and directions for future research[J]. J Cardiac Failure, 2013, 19(6): 371-389.
 - [22] Maisel A, Xue Y, Shah K, et al. Increased 90-day mortality in patients with acute heart failure with elevated copeptin secondary results from the biomarkers in acute heart failure (BACH) study [J]. Circulation: Heart Failure, 2011, 4(5): 613-620.
 - [23] Iqbal N, Alim KS, Aramin H, et al. Novel biomarkers for heart failure[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2013, 11(9): 1155-1169.
 - [24] Jagadeesh JS, Muthiah NS, Muniappan M. Vasopressin receptors and drugs: a brief perspective[J]. Global J Pharmacol, 2014, 8(1): 80-83.
 - [25] Hagiwara Y, Ohno K, Kamohara M, et al. Molecular modeling of vasopressin receptor and in silico screening of V1b receptor antagonists[J]. Expert Opin Drug Discov, 2013, 8(8): 951-964.
 - [26] Spasovski G, Vanholder R, Allolio B, et al. Clinical practice guideline on diagnosis and treatment of hyponatraemia[J]. Eur J Endocrinol, 2014, 170(3): 1-47.
 - [27] van Kimmenade RR, Januzzi JL. Emerging biomarkers in heart failure[J]. Clin Chem, 2012, 58(1): 127-138.

(收稿日期: 2014-11-02)

• 综 述 •

肠杆菌科碳青霉烯类耐药机制及检测方法学概述

罗晓慧 综述, 金凤玲[△] 审核

(兰州大学第一医院检验科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 肠杆菌科耐药性进化; 碳青霉烯类耐药肠杆菌科; 耐药机制; 检测方法

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 05. 043

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)05-0675-03

自 1941 年世界上第一种抗菌药物青霉素在临床感染治疗中被广泛应用后, 第 2 年便检出了青霉素耐药菌株。虽然以后一直有研究学者不断研制出各种类型的抗菌药物, 至今为止, 用于治疗细菌感染的抗菌药物已有几百余种, 但这些药物应用于临床后, 不管是革兰阳性菌还是革兰阴性菌都陆续多少出现了耐药机制更为复杂的耐药菌株^[1]。肠杆菌科细菌虽多是机会致病菌, 然而自从发现对碳青霉烯类耐药的肠杆菌科细菌 (CRE) 以来, 其耐药性也已成为全球医学界广泛关注研究的问题, 但这些耐药菌因检出发现的时期和区域不同, 其对抗菌药物的耐药机制也有明显差异。因此针对肠杆菌科对碳青霉烯类耐药机制而快速有效的检出该菌, 并能准确指导临床用药, 也是当今临床方法学研究的一个首要任务。

1 肠杆菌科碳青霉烯类耐药性研究进展

1.1 碳青霉烯类抗菌药物的广泛使用 在临床抗感染药物治疗中, 如若出现产头孢菌素酶 (AmpC) 或超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 的细菌, 一般都会使用碳青霉烯类抗菌药物来控制其严重感染。因 β -内酰胺酶由染色体或质粒介导, 碳青霉烯类抗菌药物对其绝大多数都有很好的稳定性^[2], 且可与青霉素结合蛋白 (PBPs) 强有力的结合, 使抗菌药物作用于细菌时间延长, 并能使细胞溶解, 还能通过外膜有效渗透进入细胞间质, 发挥抗菌药物后效应。这些抗菌机制使碳青霉烯类抗菌药物具有了抗菌效力强、灭菌速度快、抗菌谱广泛的特点^[3]。在临床上常被广泛应用, 但对其耐药的菌株逐年检出率也日益增多。尤其是常见的肠杆菌科细菌^[4] (如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴

沟肠杆菌、弗劳地柠檬酸杆菌、产酸克雷伯等)对碳青霉烯类的耐药给予临床治疗带了越来越重的压力,因其多数菌为院内、外感染的主要病原菌,有些耐药基因可由质粒广泛传播,造成泛耐药菌的爆发流行^[5];目前抗菌药物的研究速度似乎并没有菌株耐药的速率快,被这些耐药菌感染后,常常用药更为局限、苛刻,治疗困难导致较高的病死率^[6],成为不容小视的问题。

1.2 肠杆菌科碳青霉烯类耐药机制及其检测方法 肠杆菌科细菌对碳青霉烯类耐药有 4 种机制,其中最主要的就是碳青霉烯酶^[7](可水解碳青霉烯类抗菌药物)。Ambler 分类法为最常见的分类方法,依据碳青霉烯酶氨基酸序列同源性分子结构特点分为 A、B、D 3 类^[8]。A 类(KPC、SME、IMI、NMC-A)和 D 类(OXA)属于丝氨酸酶,而以锌离子为活性中心的 B 类(IMP、NDM-1、SIM、VIM、GIM、SPM)为金属 β -内酰胺酶。

1.2.1 耐药菌表型的检测 现今,在临床实验室中,对于初步确定细菌的耐药性,最常用的则是药物敏感试验。碳青霉烯类 MIC 值检测成为了筛选耐药菌株的重要步骤。但因不同产酶菌株对不同药敏检测方法的耐药敏感性也不同,故常用联合药敏试验来提高耐药菌株的检出率。

改良 Hodge 试验(MHT)因其有较高的特异度和敏感度,常作为临床检验中对碳青霉烯酶的表型确证试验。但有研究表明^[9],如果该菌株可水解至今未检测到其他碳青霉烯类药物,则会出现假阴性结果;更常见的情况是如若遇到外膜孔径蛋白缺失并伴有产 ESBLs 酶的细菌时,则结果会出现假阳性。故如何研究并制定出更为合理、精准的筛查检测方法仍是目前需要面临的问题。

1.2.2 常见的几种碳青霉烯酶的检测方法 在耐药肠杆菌科细菌中以 A 类和 B 类最常见,其中 A 类尤以 KPC 常见,该类酶虽对头霉素和头孢他啶还有敏感性,但能水解大多数单酰胺菌素及 β -内酰胺类抗菌药物,不能被 EDTA 抑制,而他唑巴坦及克拉维酸可抑制其生长^[10]。从 2008 年开始美国临床和实验室标准化协会(CLSI)增加了检测 KPC 的内容,推荐筛查 KPC 试验为改良 Hodge 试验,药敏指示片为厄他培南。分子生物学 PCR 技术方法如 PCR-RFLP 和 Real-time PCR 一直被视为 KPC 检测的确证试验^[11]。

鉴于对碳青霉烯酶检测缺乏不同的方法,故除了一些常规检测方法(平板稀释法、Etest 法、Vitek-2、Microscan Autoscan、PCR)外,近来还出现了一些新的检测手段。目前发现对 KPC 有抑制作用的还有硼酸^[12],硼酸联合药敏纸片可以很好的检测 KPC 酶、AmpC 酶和一些缺失外膜蛋白的菌株,后两者可与氯唑西林产生协同抑制从而增大抑菌圈,可根据此特性进行区分不被其抑制的 KPC。

如 Rosco 协同试验采用 Rosco 商品试剂盒^[13],检测方法:把硼酸+美罗培南复合药敏片和单一美罗培南纸片对同一菌株细菌的抑菌圈直径进行比较,若前者抑菌圈直径大,且差值大于或等于 5 mm,即判断为产 KPC 酶菌;若把吡啶二羧酸+美罗培南复合药敏片和单一美罗培南纸片对同一菌株细菌的抑菌圈直径进行比较,若前者抑菌圈直径大,且差值大于或等于 5 mm,即判断为产 B 类金属酶细菌。意大利博洛尼亚 S. Orsola-Maipighi 大学的学者对碳青霉烯酶的 Rosco 协同试验和改良 Hodge 实验(MHT)实验进行方法学评价发现:Rosco 协同试验不但检测方法简便,成本低,而且对碳青霉烯酶检测的敏感度和特异度均比改良 Hodge 实验高,更重要的是它还可以分辨出碳青霉烯酶的具体类型,但因这种协同试验不能检测 OXA-48 型,故尚不能取代改良 Hodge 实验。

利用培养基显色技术也是检测的简便方法,如用 CHROMagar 显色平板检测 KPC,阳性菌为在培养基上产生有金属光泽的蓝色菌落,特异度和敏感度分别为 95.9% 和 93.7%^[14],但产 VIM 菌也为同样显色,不能区分到酶的种类,其培养菌落时间需超过 48 h,延误了对临床用药的指导。又有科学家发现优于 CHROMagar 显色平板的检测方法^[15],即将培养基中加入氯唑西林、硫酸锌、亚胺培南,可检测几乎所有常见的碳青霉烯酶(NDM-1、KPC、VIM、IMP 及 OXA-48)。

目前还有利用金属酶抗原表位的单克隆抗体建立的免疫层析法,与 PCR 扩增相比,这种方法检测金属酶 IMP 也同样有很高的检出率。还有基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(MALDITOF)等建立的三个多重 PCR 体系等^[16],但这些方法操作复杂,对仪器和人员操作要求都较高,实验难度大,成本也大大提高,不适用于临床实验的常规诊断检查。

1.2.3 膜孔蛋白及外排泵的检测 肠杆菌科对碳青霉烯类耐药的机制还有在高产 ESBLs、AmpC 酶伴外膜蛋白的数量减少或缺失;药物作用靶位点的改变;及细菌外排泵系统的过度表达,在抗菌药物到达靶位点之前,主要是由外排泵将其排出体外。而检测前两项机制主要是由 PCR 法和免疫层析法来完成,外排泵则主要是由干扰外排泵组装的外排泵抑制剂来检测。但在科研工作中常用检测耐药菌相关耐药基因转录水平来评定其具体耐药机制。

2 总 结

肠杆菌科细菌对碳青霉烯类耐药的主要因素就是产碳青霉烯酶,所以准确快速检测碳青霉烯酶,成为了及时指导临床用药的关键。而多种多样的检测方法,也各有好坏,各实验室也应根据具体情况选择合适有效的方法,才能更好地为临床服务。同时检测具体耐药机制,也是为各地区耐药菌传播流行的方式及控制预防做好监测,大量临床研究表明,从不同患者体内分离出的耐药菌株,多数为克隆菌株。因此控制和减少交叉感染,严格遵守抗菌药物使用原则,减缓因滥用药物而使细菌变异的速率,及加快新型抗菌药物研发的步伐,是对于治疗碳青霉烯类耐药肠杆菌感染的首要任务。

参考文献

- [1] Patel G, Bonomo RA. Stormy waters ahead: global emergence of carbapenemases[J]. Front Microbiol, 2013, 6(32): 4-48.
- [2] Koh TH, Cao D, Quek YS, et al. Acquired carbapenemases in Enterobacteriaceae in Singapore, 1996-2012[J]. Pathology, 2013, 45(32): 600-603.
- [3] Marchaim D, Chopra T, Bogan C, et al. The burden of multidrug-resistant organisms on tertiary hospitals posed by patients with recent stays in long-term acute care facilities[J]. Am J Infect Contr, 2012, 40(6): 760-765.
- [4] Potron A, Rondinaud E, Poirel L, et al. Genetic and biochemical characterisation of OXA-232, a carbapenem-hydrolysing class D β -lactamase from Enterobacteriaceae[J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 41(23): 325-329.
- [5] Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm[J]. Trends Mol Med, 2012, 18(12): 263-272.
- [6] Canton R, Akova M, Carmeli Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(11): 413-431.
- [7] Marchaim D, Chopra T, Perez F, et al. Outcomes and genetic relat-

edness of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae at Detroit medical center[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2011, 32(11): 861-871.

[8] Andrews JM, Howe RA. BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 10)[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(11): 2726-2757.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute. M 100-S20 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.

[10] Teo J, Cai Y, Tang S, et al. Risk factors, molecular epidemiology and outcomes of ertapenem-resistant, carbapenem-susceptible Enterobacteriaceae: a case-control study[J]. PLoS One, 2012, 7(12): 26-32.

[11] Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(13): 432-438.

[12] Schechner V, Kotlovsky T, Tarabeia J, et al. Predictors of rectal carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) among patients with known CRE carriage at their next hospital en-

counter[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2011, 32(13): 497-503.

[13] Canton R, Akova M, Carmeli Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(12): 413-431.

[14] Panagea T, Galani I, Souli M, et al. Evaluation of CHROMagar KPC for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in rectal surveillance cultures[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 37(2): 124-128.

[15] Nordmann P, Girlich D, Poirel L. Detection of carbapenemase producers in Enterobacteriaceae using a novel screening medium[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(8): 2761-2766.

[16] Ku K, Pogue JM, Moshos J, et al. Retrospective evaluation of colistin versus tigecycline for the treatment of Acinetobacter baumannii and/or carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections [J]. Am J Infect Control, 2012, 40(11): 983-987.

(收稿日期: 2014-09-04)

• 综 述 •

胱抑素 C 的临床应用研究进展

程创业 综述, 张道友[△] 审校

(皖南医学院弋矶山医院肾内科, 安徽芜湖 241000)

关键词: 血清胱抑素 C; 肾小球滤过率; 临床应用

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 05. 044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)05-0677-03

胱抑素 C(Cys C) 又称半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C, 是一种相对分子质量较低的蛋白质, 因其与肾脏疾病关联的特异性与敏感性均较高, 临床逐步用以代替血清肌酐(Scr)、肌酐清除率, 是反映肾小球滤过率的变化更理想的内源性标记物。通过研究发现, Cys C 的应用不仅在肾脏疾病方面, 在糖尿病、肝硬化、肿瘤、心脏、脑等其他疾病领域, 也具有一定的应用价值。本文对 Cys C 的部分临床应用研究进展作以下总结。

1 Cys C 的生物特性及测定

1.1 Cys C 的结构特点 Cys C 相对分子质量约 13.3×10^3 , 由人体内有核细胞持续分泌, 并广泛存在于血液、唾液、脑脊液、精液等细胞外液中, 其分泌及排泄恒定, 不易受性别、年龄、饮食、感染等外来因素的影响^[1]。Cys C 自由经过肾小球滤过膜后, 完全被肾脏近曲小管重吸收及分解代谢, 而肾小管本身不能分泌 Cys C, 肾脏是清除体内 Cys C 的惟一器官^[2], 基于以上特点, Cys C 可认为是反映肾小球滤过功能及肾小管功能的理想标记物。

1.2 Cys C 的测定 Cys C 测定主要应用液相免疫比浊法, 该方法检测灵敏度高, 基本上不受血红蛋白、血脂、胆红素、血糖等成分影响, 特异性良好。通过比较实验^[3]后, 胶体金免疫比浊法优于其他方法, 适宜在临床上推广。

1.3 Cys C 测定的变异性 黄宝兴等^[4]在对深圳地区正常儿童大样本的 Cys C 测定后表明: 1 岁前儿童 Cys C 浓度约为 (1.30 ± 0.34) mg/L, 性别间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 1 岁以后逐渐下降, 接近成人水平, 约为 (0.85 ± 0.135) mg/L, 性别间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 这应该与肾脏日趋发育成

熟有关, 这点与国外研究结果类似^[5-6]。范淑英等^[7]对新疆维吾尔族和汉族血清 Cys C 检测后发现, 民族差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2 Cys C 的临床应用

2.1 在肾脏疾病中的应用 临床上, 慢性肾脏疾病的诊断及评估预后主要依赖于肾小球滤过功能受损程度, 长期以来, 基于 Scr、肌酐清除率而粗略估计的 GFR 被广泛应用于临床, 而 24 h 尿量留取易产生误差及 Scr 易受性别、年龄、饮食、活动等影响, Cys C 很好规避了上述问题。Cys C 水平主要由 GFR 决定, 机体产生恒定, 干扰因素少, 当 GFR 下降 20%, Cys C 就会升高。对于早期的肾功能损害, 可作为反映肾小球滤过率变化的更理想的内源性标记物。Assal 等^[8]指出 Cys C 作为早期肾功能损伤的敏感度达 70.8%, 而特异度达 83.3%, 且随着肾功能损伤进展, 这些特征更加明显。

刘运等^[9]在对华西医院 ICU 病房 1 036 例患者的 Cys C 与急性肾损伤(AKI)的相关性研究发现, Cys C 对 AKI 的预测、分期均优于 Scr, 但对于严重患者及预测患者院内死亡方面尚未显示出明显优势。肾移植是医治终末期肾脏病的首选, 近年来, 伴随许多新的免疫抑制剂的研发应用, 肾移植术后急性排斥反应的发病率已大幅度下降。然而, 慢性排斥反应的速率并没有减少^[10]。通过对肾移植受者在小于 1 个月, 1 个月至 1 年, >1 年 3 个阶段的对比研究后发现, Cys C 对肾小球滤过率下降诊断的准确性明显优于 Scr 和 24 h 尿肌酐清除率, 尤其在 $GFR < 60$ mL/min/1.73 m² 时^[11]。

2.2 在糖尿病中的应用 2008 糖尿病流行病学调查显示, 中