

- tric inversion[J]. Prenat Diagn, 2006, 26(13): 1212-1215.
- [7] Ozkinay F, Kanit H, Onay H, et al. Prenatal diagnosis of de novo unbalanced translocation 8p; 21q using subtelomeric probes[J]. Genet Couns, 2006, 17(3): 315-320.
- [8] 许多, 王晨虹. 荧光原位杂交在无创性产前诊断中的应用[J]. 国际妇产科学杂志, 2008, 35(5): 359-361.
- [9] 金瑞林, 郑梅玲. 荧光原位杂交技术在诊断胎儿染色体异常中的应用及前景[J]. 中国优生与遗传杂志, 2003, 11(5): 1-2.
- [10] Tepperberg J, Pettenati MJ, Rao PN, et al. Prenatal diagnosis using interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): 22 year multicenter retrospective study and review of the literature[J]. Prenat Diagn, 2001, 21(4): 293-301.
- [11] Scriven PN, Ogilvie CM. Fluorescence in situ hybridization on single cells. (Sex determination and chromosome rearrangements)[J]. Methods Mol Med, 2007, 132: 19-30.
- [12] Wiland E, Hobel CJ, Hill D, et al. A Successful pregnancy after preimplantation genetic diagnosis for carrier of t(2;7)(p11.2;q22) with high rates of unbalanced sperm and embryos: a case report[J]. Prenat Diagn, 2008, 28(1): 36-41.
- [13] Yang YH, Kim SH, Yang ES, et al. Prenatal diagnosis of fetal trisomy 21 from maternal peripheral blood[J]. Yonsei Med J, 2003, 44(2): 181-186.
- [14] Writters I, Devriendt K, Legius E, et al. Rapid prenatal diagnosis of trisomy 21 in 5049 consecutive uncultured amniotic fluid samples by fluorescence in situ hybridization (FISH)[J]. Prenat Diagn, 2002, 22(1): 29-33.
- [15] 张雪梅, 刘珊玲. 荧光原位杂交在未培养羊水细胞产前诊断中的临床应用研究[J]. 实用妇产科杂志, 2009, 25(9): 550-553.
- [16] Feldman B, Ebrahim SA, Hazan SL, et al. Routine prenatal diagnosis of aneuploidy by FISH studies in high-risk pregnancies[J]. Am J Med Genet, 2000, 90(3): 233-238.
- [17] Caine A, Nahby AE, Parkin CA, et al. Prenatal detection of down's syndrome by rapid aneuploidy testing for chromosomes 13, 18, 21 by FISH or PCR without a full karyotype: a cytogenetic risk assessment[J]. Lancet, 2005, 366(9480): 123-128.

(收稿日期: 2011-05-18)

## 不动杆菌耐药现状及耐药机制研究进展

余建华, 蔡冬平 综述, 钱超<sup>△</sup>审校(解放军第四五四医院检验科, 南京 210002)

【关键词】 不动杆菌; 耐药率; 耐药机制

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.043 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)20-2511-03

不动杆菌属是一种非发酵革兰阴性球杆菌, 它包括鲍曼不动杆菌(*A. baumannii*)、醋酸钙不动杆菌(*A. calcoaceticus*)、洛菲不动杆菌(*A. lwoffii*)、琼氏不动杆菌(*A. junii*)等, 分布于自然界和医院环境中, 是人类皮肤、呼吸道、胃肠道、生殖道的正常菌群, 也是一种条件致病菌, 可引起各种感染和医院感染, 如腹膜炎、脑膜炎、骨髓炎、关节炎、菌血症及肺炎等。

近年来不动杆菌的临床分离率逐年提高, 尤其在重症监护病房和免疫力低下的患者中, 其中鲍曼不动杆菌最为常见, 在非发酵菌的感染中仅次于铜绿假单胞菌。随着临床抗菌药物的大量使用, 不动杆菌出现了多重耐药甚至全耐药株, 导致部分医院爆发不动杆菌流行, 给临床感染的治疗带来严峻的挑战<sup>[1]</sup>。为临床合理选择抗菌药物提供依据以及避免细菌多重耐药性的发生, 对不动杆菌的耐药现状及耐药机制总结如下。

### 1 耐药现状

相关资料<sup>[2-5]</sup>显示, 近几年来不动杆菌的耐药率上升趋势明显, 碳青霉烯类抗菌药物的耐药率逐年增加, 从 4.5% 升至 20.56%, 多重耐药菌株从 33% 升至 48%。耐亚胺培南不动杆菌在中国台湾地区达 25%, 在澳大利亚和中国大陆地区达 20% 左右。目前我国绝大多数菌株对亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦、黏菌素和多黏菌素敏感率较高。

### 2 耐药机制

2.1 对 β-内酰胺类抗菌药物的耐药机制 不动杆菌对 β-内酰胺类抗菌药物的耐药机制主要是产生水解酶(β-内酰胺酶), 以水解和非水解的方式破坏抗菌药物 β-内酰胺环, 使抗菌药物失

活; 在所有的 β-内酰胺酶中, 那些具有水解碳青霉烯活性的酶最受关注, 包括丝氨酸苯唑西林酶(Ambier D 类)和金属 β-内酰胺酶(Ambler B 类)。以下是 4 种 β-内酰胺酶的耐药机制分析。

2.1.1 超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs/A 类 β-内酰胺酶) 这类酶是肠杆菌科细菌(特别是肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌)对广谱头孢菌素产生耐药机制的最主要原因, 目前在不动杆菌中也分离到了 ESBLs, 它通常由质粒介导, 能对多种不同的 β-内酰胺类抗菌药物产生耐药, 如青霉素类、单酰胺类及部分头孢菌素类, 但对碳青霉烯类敏感, 多数能被克拉维酸抑制。在不动杆菌属中 blaTEM、blaSHV、blaCTX-M 等较为常见, CTX-M 对头孢曲松和头孢噻肟具有优先水解的特性<sup>[6]</sup>。

2.1.2 金属酶(MBLs/B 类 β-内酰胺酶) 此类酶在参与催化反应时, 在活性位点上需要金属离子, 通常为锌离子, 因此被称为金属酶<sup>[7]</sup>。在不动杆菌中的 MBLs, 主要为 IMP 型、VIM 型和 SIM 型。能水解所有的 β-内酰胺类抗菌药物, 包括碳青霉烯和广谱头孢菌素, 对酶抑制剂不敏感, 但对乙二胺四乙酸(EDTA)敏感。

2.1.3 头孢菌素酶(AmpC 酶/C 类 β-内酰胺酶) 由染色体或者质粒介导, 可以分解三代头孢菌素及单环酰胺类, 不被克拉维酸抑制, 可被氯唑西林抑制, 对碳青霉烯类和二代头孢类药物较为敏感, 但对三代头孢和头霉烯类抗菌药物耐药, 而且此类抗菌药物如头孢西丁和亚胺培南具有诱导 AmpC 酶(PI > 9.0)高产。2005 年在美国的克利夫兰的大医院监测到一类

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: love96122@sohu.com.

新的不动杆菌头孢菌素酶,含有 383 个氨基酸,被统一命名为不动杆菌来源的头孢菌素酶(ADC),分为 1~7 型,PI>9.2<sup>[8]</sup>。药敏显示对所有的头孢菌素类耐药,但都对舒巴坦、亚胺培南敏感。

**2.1.4 苯唑西林水解酶(OXA 酶/D 类 β 内酰胺酶)** 目前分为 3 组:第一组为 OXA-23 及其变异体 OXA-27、49;第二组包括 OXA-25、26、40 等;第三组包括 OXA-21、37、51、69 等。第一组和第二组可介导对亚胺培南的耐药。在研究中发现,和其他菌属不同的是,凡是对碳青霉烯类抗菌药物耐药的不动杆菌 OXA 均未在整合子中出现,而第三组多与 I 类整合子有关<sup>[9]</sup>。一些 OXAs(特别是 OXA 型 ESBLs)可以水解广谱头孢菌素。最令人忧虑的是,大部分 OXA 型 β 内酰胺酶,可使碳青霉烯类抗菌药物失活,近年来,OXA 型 β 内酰胺酶相关联的碳青霉烯类耐药研究持续增加。

**2.2 对氨基糖苷类抗菌药物耐药机制** 不动杆菌对氨基糖苷类抗菌药物的耐药机制,主要为产生氨基糖苷修饰酶(aminoglycoside-modifying-enzymes AMEs),包括:乙酰转移酶(AAC)、磷酸转移酶(APH)和核苷转移酶(ANT)。使氨基糖苷类抗菌药物同细菌的结合力下降,此酶介导的耐药,可导致临床常用的庆大霉素、妥布霉素及阿米卡星耐药。编码这些酶的基因,通常位于 I 类整合子中<sup>[10]</sup>。目前,在不动杆菌中,尚未发现可以同时修饰一种以上氨基糖苷类抗菌药物的氨基糖苷修饰酶。

**2.3 对喹诺酮类抗菌药物的耐药机制** 韩国学者发现,不动杆菌对喹诺酮耐药的主要机制在于 gyrA 和 parC 的单一或双重点突变<sup>[11]</sup>,在喹诺酮耐药决定簇的突变对 DNA 螺旋酶进行修饰,这些变化使得喹诺酮类抗菌药物同酶-DNA 复合物亲和力和降低,从而使此类抗菌药物的敏感性下降。临床试验加替沙星、左氧氟沙星、莫西沙星在对不动杆菌的抗菌强度上略优于环丙沙星。

**2.4 对四环素类及甘氨环素抗菌药物的耐药机制** 目前对四环素类抗菌药物的耐药机制研究主要有两方面,其一是由 TetA 和 TetB 转座子介导的外排泵,TetB 作用于四环素及米诺环素的外排泵;而 TetA 为仅作用于四环素的外排泵。其二是对核糖体的保护性,它保护核糖体免受四环素、多西环素及米诺环素的作用,tetM 和 tetO 基因介导这一机制<sup>[10]</sup>。

**2.5 对糖肽类抗菌药物的耐药机制** 黏菌素和多黏菌素目前被越来越多的作为治疗多重耐药鲍曼不动杆菌感染的“最后一道防线”。对黏菌素的耐药机制,可能是鲍曼不动杆菌脂多糖的变异(酸化、酰化或存在抗原干扰抗菌药物同细菌细胞膜结合)。随着黏菌素的应用量增加,细菌对其的耐药报道可能增加<sup>[12]</sup>。

### 3 其他机制

**3.1 青霉素结合蛋白(PBPs)的改变** β-内酰胺类抗菌药物的结合位点 PBPs 本质上是羧肽酶、转肽酶或糖基转移酶,β-内酰胺类抗菌药物主要通过结合于 PBPs 发挥耐药性,当 PBPs 发生数量或结构的改变,使抗菌药物不能结合或亲和力下降,则出现耐药的现象。有学者研究发现耐亚胺培南的不动杆菌中有 73 200 PBP 的表达下降或 46 500 PBP 蛋白的缺失<sup>[6]</sup>。

**3.2 改变自身结构及外膜孔蛋白(OMPs)数量** 细菌外膜的孔蛋白是细菌进行物质交换的通道,也参与多种抗菌药物的转运。细菌外膜孔蛋白的缺失、减少或突变而引起外膜对抗菌药物的通透性下降进而产生耐药。最近,在鲍曼不动杆菌中,一种相对分子质量为  $43 \times 10^3$  的蛋白,被确认为 OprD(一种在耐亚胺培南的铜绿假单胞菌中被研究较为深入的孔蛋白)类似

物。另一个通道结构 CarO、 $29 \times 10^3$  OMP(参与鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南耐药)也被研究较多,其缺失同亚胺培南和美罗培南耐药相关<sup>[10]</sup>。

**3.3 外排泵活性增强** 药物外排泵形成是细菌的主要耐药机制之一,典型的药物外排泵对药物的特异性不强,可引起对多种不相关药物的耐药,细菌体内的药物浓度不足以发挥抗菌作用而导致耐药。在鲍曼不动杆菌中,ATP 结合盒超家族(ATP binding cassette,ABC)和耐药结节细胞分化家族(the resistance-nodulation cell division family,RND)成员<sup>[10]</sup>,是目前主要研究内容,它能够泵出氨基糖苷类、头孢他啶、替加环素、氯霉素、甲氧苄氨嘧啶和喹诺酮类抗菌药物。

**3.4 细菌耐药性的传递** 细菌耐药基因主要通过转座子、接合性质粒、整合性噬菌体和自然转化以及整合子参与而获得,尤其是整合子,具有强大的基因捕获功能。整合子本身并不具有转移功能,但它可存在于染色体上传给子代,也可通过质粒或作为转座子的一部分在细菌间传递。现已发现的整合子中与不动杆菌耐药有关的主要是 I~III 类。鲍曼不动杆菌中 I 类整合子常携带氨基糖苷类耐药基(aadB、aacA4、aacCl)或者编码 β 内酰胺酶的基因如 OXA-21、OXA-24、OXA-37。II 类整合子主要与氨基糖苷类耐药有关<sup>[6]</sup>。在广泛的抗菌药物使用下,可诱导整合子的产生及耐药基因的转移。细菌耐药性的传递在不动杆菌多重耐药性方面具有重要意义,并且在抗菌药物选择性压力下,细菌的耐药性会不断进化,产生新的耐药形式。

### 4 总 结

综上所述,不动杆菌对抗菌药物的耐药率逐年上升,多重耐药现象严重,其耐药机制复杂,牵涉到整合子、灭活酶、钝化酶、外膜通透性改变、泵出系统等。到目前为止,还有许多机制需进一步研究,如有同样耐药表型的菌株往往存在不同的耐药机制,新的灭活酶的发现,耐药基因的调节机制,整合子耐药基因盒起源进化方式,耐药基因盒结合机制的研究等。了解不动杆菌多重耐药机制,有助于耐药菌株的快速诊断,可以进一步指导临床合理使用抗菌药物,控制多重耐药甚至全耐药菌株的流行,同时为新药的开发和评价提供帮助。

### 参考文献

- [1] Beceiro A, Dominguez L, Ribera A, et al. Molecular characterization of the gene encoding a new AmpC beta-lactamase in a clinical strain of acinetobacter genomic species 3[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(4): 1374-1378.
- [2] 杜荣,冯萍,陈慧莉,等. 107 株鲍曼不动杆菌感染临床资料与耐药性分析[J]. 华西医学, 2009, 24(2): 339-441.
- [3] 王金良. 密切注视鲍曼不动杆菌的耐药发展趋势[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(4): 355-356.
- [4] 王辉,郭萍,孙宏莉,等. 碳青霉烯类耐药的不动杆菌分子流行病学及其泛耐药的分子机制[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1066-1067.
- [5] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 210-213.
- [6] 蒯守刚,邵海枫. 不动杆菌耐药机制研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(2): 278-280.
- [7] Walsh TR. The emergence and implications of metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(6): 2-9.

[8] Hujer KM, Hamza NS, Hujer AM, et al. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase; defining a unique family of class C enzymes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(7):2941-2948.

[9] Brown S, Amyes S. OXA(beta)-lactamases in *Acinetobacter*; the story so far[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 57(1):1-3.

[10] 马序竹, 吕媛. 鲍曼不动杆菌对主要抗菌药物耐药机制

[J]. *中国临床药理学杂志*, 2009, 25(1):90-94.

[11] 应春妹, 翁文浩. 鲍曼不动杆菌多重耐药机制研究进展[J]. *检验医学*, 2007, 22(2):208-212.

[12] 钟国权, 李介华, 袁春雷, 等. 不动杆菌对临床常用抗菌药物耐药性及耐药机制分析[J]. *中国抗生素杂志*, 2006, 31(4):206-208.

(收稿日期:2011-05-03)

## 糖基化终产物致动脉粥样硬化的作用机制

葛林 综述, 徐庆雷 审校(江苏省沭阳县人民医院检验科 223600)

**【关键词】** 糖基化终产物; 动脉粥样硬化; 实验室诊断

**DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.044 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)20-2513-02**

近年来,随着对非酶糖基化研究的不断深入,特别是糖基化终产物(AGEs)及其受体的发现,AGEs 越来越受到关注。同时,大量的临床及实验研究表明,AGEs 具有诱发和促进动脉粥样硬化(AS)的形成,并且在糖尿病易患 AS 中起关键作用。

### 1 AGEs 的形成

持续的高血糖状态会导致体内许多结构和功能蛋白质糖基化。这种转录后修饰过程,先形成可逆的早期糖基化产物、Schiff 碱和 Amadori 产物。如反应继续,则分子重排形成一大类有高度活性的高级 AGEs。它们共同的特征是形成缓慢,但不可逆,有棕黄色素和特征性荧光光谱。作者通过体外孵育制备 AGEs 加以纯化后,免疫接种新西兰白兔,成功获得多克隆 AGEs 抗体,并运用该抗体建立酶联免疫吸附试验(ELISA)系统。另外分别建立了荧光分析法、流动注射分析技术,并将该技术应用于临床的检测工作<sup>[1]</sup>。

### 2 AGEs 诱发和促进 AS 的机制

**2.1 AGEs 与 AGEs 受体的相互作用** AGEs 发挥作用的重要途径是通过与细胞特异性表面受体相结合而起作用。AGEs 能被细胞识别、摄入、代谢,并使细胞发生一系列功能变化。如使血管内皮通透性增加及细胞表面抗凝特性改变,趋化单核细胞游走,刺激某些细胞因子、生长因子、激素分泌等。平滑肌细胞的异常增生在 AS 的发病机制中具有极其重要的作用。体外实验已证实,平滑肌细胞、内皮细胞、单核细胞表面均存在特异性 AGEs 受体<sup>[2]</sup>。并且 AGEs 与受体相互作用后,可诱导大鼠平滑肌细胞、人肝和胰腺星状细胞增殖<sup>[3-5]</sup>。进一步的研究发现,上述作用可能与 AGEs 引起细胞内信号通路的改变有关,它包括细胞内一氧化氮通路的改变<sup>[5]</sup>,磷脂肌醇系统激活,即 DAG-PKC 和 IP<sub>3</sub>-Ca<sup>2+</sup> 两条信号通路的活化,形成瀑布效应<sup>[6-10]</sup>,从而影响细胞的下游事件的发生。如单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、CD31、结缔组织生长因子(CTGF)和细胞黏附分子-1(VCAM-1)的高表达。这些因子的过度表达又可导致单核细胞对内皮的黏附性增强、细胞外基质的增生以及促进 AS 的发生和发展。

AGEs 受体在内皮上的表达,对细胞内配体的摄取和糖基化蛋白到内皮下的传输提供了一个途径。此外,AGEs 与受体结合后,引起内皮素-1 合成增加,凝血系统被激活,导致血管收缩和局部血栓形成。

**2.2 AGEs 与细胞外基质** 在糖尿病患者中,微小血管基底

膜的增厚是普遍现象。研究证明,在血管壁胶原和基底膜蛋白上均有 AGEs 的积聚。作者在糖尿病大鼠模型中亦发现,AGEs 和 MCP-1 水平明显升高,肾皮质胶原显著增生,肾小球基底膜增厚。众多的资料显示,血管基质蛋白糖基化后不仅自身降解减慢,而且能与血浆蛋白发生共价结合沉积于血管壁导致血管壁进行性增厚、管壁狭窄。作者在体外应用 AGEs 的抑制剂氨基胍及葛根素治疗糖尿病大鼠模型,均可使大鼠的血管壁弹性增加,肾脏和心肌的损害明显减轻。这一方面说明 AGEs 的积聚,对 AS 的早期发展起重要的作用。另一方面也提示,AGEs 致 AS 的复杂性。

AGEs 对细胞外基质的影响,还可通过一些能促进基质增生的细胞因子、酶类、蛋白质的分泌增加而起作用。最近的研究发现,AGEs 在体外能明显促进 CTGF 的表达;而 CTGF 是近年来发现的一种以细胞和基质附着为主的多肽小分子,具有促细胞增殖、趋化及诱导胞外基质合成的特性。并且 CTGF 还参与细胞周期调控、血管发生、重构及多种脏器的纤维化反应。糖尿病的慢性并发症更是如此。近期研究发现,AGEs 可抑制内皮细胞来源的舒张因子及抗增生因子 NO 的活性,此可部分解释糖尿病及老年患者,血管对 NO 舒张反应的丧失;在细胞培养途径下,AGEs 可阻断 NO 对平滑肌细胞、基底膜的抑制细胞生长作用<sup>[11]</sup>。

**2.3 AGEs 与氧化反应** 在 AGEs 的形成过程中,可产生反应性氧的中间产物,这些反应性氧中间产物可使蛋白质、脂类等发生氧化,其中尤以脂质的过氧化最为重要。这种过氧化物能促进 AGEs 的形成。在脂质过氧化物中,低密度脂蛋白(LDL)的糖基化及 ox-LDL 对 AS 的发生、发展起重要的作用。以前的研究发现,糖基化 LDL 可增加单核巨噬细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度和脂质沉积<sup>[12]</sup>。LDL 糖基化使其受体途径代谢受阻而在体内清除减慢,且有免疫性、易被单核巨噬细胞大量摄取。这可能是糖尿病易患脂代谢障碍及 AS 的重要机制之一。此外,血小板膜上的蛋白也可发生糖基化。AGEs 能使血小板的纤维蛋白原受体与纤维蛋白原结合增强,并通过氧化应激、氧自由基途径来促进血小板的聚集,从而导致血小板的黏聚性增强<sup>[13]</sup>。

AGEs 可通过氧自由基介导信号转导,AGEs 结合于内皮细胞后可产生氧化应激,抗 AGEs 抗体和抗 AGEs 受体抗体均可阻断氧自由基产生;注入 AGEs 清蛋白,可增强对自由基敏感的转录因子核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的表达,由于 NF- $\kappa$ B 是许多