

- tic transperitoneal lymphadenectomies[J]. *Gynecol Oncol*, 2004, 95(1):52-61.
- [9] Chong GO, Park NY, Hong DG, et al. Learning curve of laparoscopic radical hysterectomy with pelvic and/or para-aortic lymphadenectomy in the early and locally advanced cervical cancer: comparison of the first 50 and second 50 cases[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2009, 19(8):1459-1464.
 - [10] Mehra G, Weekes A, Vantrappen P, et al. Laparoscopic assisted radical vaginal hysterectomy for cervical carcinoma: morbidity and long-term follow-up[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2010, 36(3):304-308.
 - [11] Naik R, Jackson KS, Lopes A, et al. Laparoscopic assisted radical vaginal hysterectomy versus radical abdominal hysterectomy—a randomised phase II trial: perioperative outcomes and surgicopathological measurements [J]. *BJOG*, 2010, 117(6):746-751.
 - [12] Steed H, Rosen B, Murphy J, et al. A comparison of laparoscopic-assisted radical vaginal hysterectomy and radical abdominal hysterectomy in the treatment of cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2004, 93(3):588-593.
 - [13] Sert BM, Abeler VM. Robotic—assisted laparoscopic radical hysterectomy (Piver type III) with pelvic node dissection V case report [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2006, 27(5):531-533.
 - [14] Tinelli R, Malzoni M, Cosentino F, et al. Robotics versus laparoscopic radical hysterectomy with lymphadenectomy in patients with early cervical cancer: a multicenter study [J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18(9):2622-2628.
 - [15] Boggess JF, Gehrig PA, Cantrell L, et al. A case-control study of robot-assisted type III radical hysterectomy with pelvic lymph node dissection compared with open radical hysterectomy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199(4):357e1-357e7.
 - [16] Ko EM, Muto MG, Berkowitz RS, et al. Robotic versus open radical hysterectomy: a comparative study at a single institution[J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 111(3):425-430.
 - [17] Kruijdenberg CB, van den Einden LC, Hendriks JC, et al. Robot-assisted versus total laparoscopic radical hysterectomy in early cervical cancer, a review[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 120(3):334-339.
 - [18] Magrina JF, Kho RM, Weaver AL, et al. Robotic radical hysterectomy: comparison with laparoscopy and laparotomy[J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 109(1):86-91.
 - [19] 刘开江, 刘青, 韩娜娜, 等. 腹腔镜下保留生育功能宫颈癌根治术治疗早期子宫颈癌的近期临床疗效[J]. *中国医学科学院学报*, 2011, 33(4):436-439.
 - [20] Kim JH, Park JY, Kim DY, et al. Fertility-sparing laparoscopic radical trachelectomy for young women with early stage cervical cancer[J]. *BJOG*, 2010, 117(3):340-347.
 - [21] Burnett AF, Roman LD, O'Meara AT, et al. Radical vaginal trachelectomy and pelvic lymphadenectomy for preservation of fertility in early cervical carcinoma[J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 88(3):419-423.
 - [22] Park NY, Chong GO, Hong DG, et al. Oncologic results and surgical morbidity of laparoscopic nerve-sparing radical hysterectomy in the treatment of FIGO stage IB cervical cancer: long-term follow-up[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, 21(2):355-362.
 - [23] Liang Z, Chen Y, Xu H, et al. Laparoscopic nerve-sparing radical hysterectomy with fascia space dissection technique for cervical cancer: description of technique and outcomes[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 119(2):202-207.
 - [24] Ramirez PT, Jhingran A, Macapinlac HA, et al. Laparoscopic extraperitoneal para-aortic lymphadenectomy in locally advanced cervical cancer: a prospective correlation of surgical findings with positron emission tomography/computed tomography findings[J]. *Cancer*, 2011, 117(9):1928-1934.
 - [25] Zanvettor PH, Filho DF, Neves AR, et al. Laparoscopic surgical staging of locally advanced cervix cancer (IB2 to IVA): initial experience [J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 120(3):358-361.
 - [26] Hong DG, Park NY, Chong GO, et al. Survival benefit of laparoscopic surgical staging-guided radiation therapy in locally advanced cervical cancer [J]. *J Gynecol Oncol*, 2010, 21(3):163-168.

(收稿日期:2012-02-24)

阴沟肠杆菌引起碳青霉烯类抗菌药物耐药及传播的机制研究进展

沈一芳 综述, 叶光勇 审校(浙江大学附属妇产科医院检验科, 杭州 310006)

【关键词】 碳青霉烯类; 阴沟肠杆菌; 抗菌药物; 耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.18.050 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)18-2346-03

阴沟肠杆菌耐药机制十分复杂, 且多种耐药机制可协同作用, 造成阴沟肠杆菌耐药水平高及多重耐药的现象。作者对 AmpC β 内酰胺酶(AmpC)、超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)、碳青霉烯酶的产生, 主动外排系统的地位, 药物作用靶位及突变方式的差异等进行综述, 来为临床合理用药及探求防治阴沟肠杆菌耐药的途径提供依据。

1 碳青霉烯酶的产生

碳青霉烯酶是指对亚胺培南、美洛培南等碳青霉烯类抗菌

药物有较强水解作用的一类 β 内酰胺酶。现已发现的碳青霉烯酶属于 Ambler 分子分类中的 A、B、D 类。B 类为金属酶, A、D 类为丝氨酸酶, 在肠杆菌科细菌中, 主要的是 A 类酶和 B 类酶组成。碳青霉烯酶编码基因可以由染色体介导, 染色体介导很少在不同的菌属间传播; 也可以定位在质粒、整合子等可转移的基因元件上, 通过质粒或转座子在不同菌种间传播。

1.1 A 类碳青霉烯酶 Nmc-A 是第一个被证实的碳青霉烯酶。在 1990 年分离的 1 株阴沟肠杆菌中发现, 该菌来自 1 例

已接受亚胺培南治疗的法国患者。克拉维酸对 Nmc-A 的抑制作用最强,其次是三唑巴坦,舒巴坦最弱^[1]。在 blaNmc-A 基因的上游有一个 LysR 型调控基因,编码调控蛋白 Nmc-R,与诱导性 AmpC 酶 ampR 调控 ampC 的方式一致。调控 AmpC 酶表达的 ampD 基因也参与了 Nmc-A 的诱导,ampD 突变时可同时引起 ampC 和 nmcA 超表达,使这两种不相关的酶产生增多。亚胺培南和头孢西丁也是 Nmc-A 的诱导剂^[2]。IMI-1 是在 1984 年分离的来自加利福尼亚的 2 株阴沟肠杆菌中得到证实,IMI-1 具有与 Nmc-A 相似的水解特性和诱导性。三唑巴坦是 IMI-1 最强的抑制剂,其次是克拉维酸,舒巴坦最弱。编码 IMI-1 的基因是 imiA1,imiA1 DNA 序列和编码的氨基酸序列与 nmcA 基因和其编码的氨基酸序列的同源性大于 95%;而且 imiA1 的上游有一个开放阅读框架,为 imiR1,与 nmcR 的开放阅读框架比较,有 95%同源,其编码的蛋白质与 NmcR 蛋白也有 95%相同,同属 LysR 型调控蛋白。因此 IMI-1 的调控与 Nmc-A 相似,亚胺培南和头孢西丁对其也有诱导性^[3]。

1.2 B 类碳青霉烯酶(金属酶) VIM 金属酶是最具有临床意义的碳青霉烯酶,多见于铜绿假单胞菌等非发酵革兰阴性菌。在韩国 1 例肝硬化患者腹水中分离的阴沟肠杆菌发现金属 β 内酰胺酶 VIM-2,1 株来自意大利的阴沟肠杆菌也分离出转移性质粒编码的 VIM-4 金属酶。VIM 金属酶在阴沟肠杆菌中的出现说明阴沟肠杆菌对碳青霉烯类的耐药已不可忽视^[4]。

IMP-1 于 1991 年在日本的铜绿假单胞菌中被发现。此后,IMP-1 进一步播散到肠杆菌科中的其他多个菌属和菌种,包括肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌、弗劳地柠檬酸杆菌、大肠埃希菌、普通变形杆菌、产酸克雷伯菌、雷氏普罗威登斯菌、摩根摩根菌、福氏志贺菌等,除了 IMP-1 之外,还检测到 IMP-3 和 IMP-6。产 IMP 肠杆菌科细菌流行的另外两个主要的国家和地区是澳大利亚(肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、无丙二酸盐柠檬酸杆菌、粘质沙雷菌)和中国台湾(肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌和大肠埃希菌)^[5-10]。

2 药物作用靶位的改变

细菌的 DNA 旋转酶和拓扑异构酶 IV 是氟喹诺酮药物的作用靶位,对于革兰阴性菌,DNA 旋转酶是主要作用靶位。DNA 旋转酶由 2 个 A 亚基和 2 个 B 亚基组成,分别有 gyrA 和 gyrB 编码。拓扑异构酶 IV 由 2 个 C 亚基和 2 个 E 亚基组成,分别有 parC 和 parE 编码。李岩等^[11]测定阴沟肠杆菌 gyrA 和 parC 基因序列发现,对喹诺酮敏感的阴沟肠杆菌中,gyrA 和 parC 不会导致 Gy2rA 和 ParC 氨基酸的突变;而在喹诺酮类耐药株中,gyrA 的核苷酸突变,使 GyrA 第 83 位丝氨酸变为苯丙氨酸或酪氨酸。一些耐药水平较高的菌株还伴有 GyrA 第 87 位天冬氨酸被丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸或天冬酰胺取代,ParC 的第 80 位丝氨酸被异亮氨酸取代,第 84 位谷氨酸被谷氨酰胺或赖氨酸取代。因此 GyrA 第 83 位丝氨酸和 87 位天冬氨酸是耐喹诺酮类阴沟肠杆菌的突变位点,GyrA 第 83 位丝氨酸发生的单氨基酸改变就可使菌株对喹诺酮的敏感性下降,且 GyrA 改变的蓄积与喹诺酮类耐药性的增加有关,ParC 改变可在 GyrA 改变的基础上进一步提高对喹诺酮类的耐药性。李丽和田磊^[12]发现耐喹诺酮类阴沟肠杆菌 GyrA 第 83 位丝氨酸还可突变为异亮氨酸或苏氨酸,但未证实 GyrA 改变的蓄积与喹诺酮耐药水平相关,而认为 GyrA 第 83 位丝氨酸突变就可引起对喹诺酮高度耐药。由于关于阴沟肠杆菌喹诺酮类药物作用靶位改变的研究较少,且观察的临床分离菌株数不多,临床分离菌的地理分布也较单一,缺乏广泛的代表性,因此尚不能说明不同国家、地区之间突变方式有无差异,以

及 DNA 旋转酶的 GyrB 亚基和拓扑异构酶 IV 的 ParE 亚基的改变与阴沟肠杆菌的喹诺酮类耐药性是否相关。

3 外膜通透性下降

阴沟肠杆菌外膜上至少有两种膜孔蛋白 F 和 D。缺乏膜孔蛋白 F、D 和膜孔蛋白 F 的阴沟肠杆菌与膜孔蛋白正常的菌株比较,对诺氟沙星的蓄积均约减少 1/2,使诺氟沙星的 MIC 上升,认为氟喹诺酮主要利用膜孔蛋白 F 迅速地穿过阴沟肠杆菌外膜,膜孔蛋白 D 在氟喹诺酮的转运中仅发挥微弱作用。但两种膜孔蛋白均缺失的菌株也有低水平的诺氟沙星蓄积,说明在氟喹诺酮转运过程中,还有一条不依赖于膜孔蛋白,而通过脂多糖的 Mg^{2+} 敏感性“自我启动”的转运途径。 β -内酰胺类抗菌药物如头孢吡肟也通过膜孔蛋白 F 进入阴沟肠杆菌胞内。因此当两类药物同时存在时,两者竞争膜孔蛋白 F 进入菌体内,竞争力的大小取决于药物分子大小、表面电荷的位置与方向等参数。聚胺如精胺,可使膜孔蛋白关闭,当存在精胺时,菌株对诺氟沙星的蓄积减少,并且随着精胺浓度的上升,减少的幅度越大。因此细菌在一些外界因子如 pH 调控下产生的精胺,如尸胺,可关闭膜孔蛋白减少菌株对 β 内酰胺类和氟喹诺酮的蓄积,使细菌逃避抗菌药物的杀灭作用,这开辟了研究阴沟肠杆菌耐药机制的一个新领域^[13]。在铜绿假单胞菌和大肠埃希菌中碳青霉烯类通过一条特异的膜孔蛋白通道穿过菌体外膜,但在阴沟肠杆菌中,没有对碳青霉烯类特异的膜孔蛋白。外膜蛋白的改变对亚胺培南和美洛培南的影响不全相同。在阴沟肠杆菌中,美洛培南渗透入细菌的速率是亚胺培南的 2 倍。外膜蛋白 OmpC 和 OmpF 的缺失,使美洛培南渗透入细菌的速率下降 20 倍,而同样条件下亚胺培南仅下降 7 倍。因此阴沟肠杆菌对美洛培南的敏感性较亚胺培南更多地依赖于外膜通透性^[14]。

4 主动外排活跃

关于阴沟肠杆菌主动外排系统的研究很少,但研究已证实阴沟肠杆菌染色体上存在 AcrAB 基因,编码 AcrAB 多药外排系统。AcrAB 外排泵的底物非常广泛,包括氯霉素、四环素、新生霉素、红霉素、 β 内酰胺类、氟喹诺酮类、有机溶剂、胆盐、去污剂、染料、氧化剂和甲氧等。AcrAB 系统是细菌抵御外界不良环境及维持内环境的重要途径,其在基础水平表达时决定着细菌对抗微生物制剂的固有耐受性,保护细菌免受生存环境中一些有害物质的影响,在一定条件下,当其超表达时,使细菌对氟喹诺酮等多种结构不相关的抗菌药耐药,形成多重耐药表型。

5 耐药基因传播机制

细菌获得性耐药可通过细菌染色体基因组的突变产生,也可通过各种可移动 DNA 组分,水平转移至敏感细菌,通过位点特异性重组酶或整合酶,整合到染色体基因组,或通过质粒自身复制,使敏感细菌获得耐药性。其中接合和转化是耐药性水平传递的主要机制。革兰阴性杆菌间接传递是通过可接合性菌毛连接供体菌和受体菌,遗传物质通过菌毛,从供体菌直接进入受体菌。可接合的遗传物质有:可接合性质粒、可接合的转座子和一些整合性可接合成分。

转座子(Tn),亦称跳跃基因,是指能将自身基因插入基因组中任何一个在序列上与自己无关的新位点的 DNA 序列,分为复合转座子和复杂转座子。细菌转座子可携带各种耐药基因,获得性耐药和突变耐药是细菌的两个不同的耐药机制,获得性耐药是指细菌借助于可移动遗传元件获得耐药基因,医院感染病原菌以此类耐药机制常见。

整合子是细菌特别是革兰阴性菌基因中,一种能识别且俘获移动性基因盒,并有位点特异性的重组表达系统。它可以通

过存在于质粒、转座子等可移动基因元件在同种菌属和不同种菌属中进行基因的水平转移,从而使细菌的耐药性得以传播。整合子由 5'和 3'保守末端及中间的可变序列组成,5'保守末端携带编码整合酶的基因 *intI*、重组位点 *attI* 和一个启动子的基因片段,中间的可变区域携带有耐药基因的基因盒,一个基因盒由一个耐药基因和其下游的 *attC* 位点组成,*attC* 位点可被整合酶识别的特异性整合位点,为耐药基因的插入和表达提供了重要的基础。整合子根据整合酶基因序列不同而分类,目前发现的整合子分为 6 类,公开报道的仅有 4 类。Ⅰ类、Ⅱ类和Ⅲ类整合子与细菌的耐药有关。最常见的是Ⅰ类整合子,它的整合酶是含有 337 个氨基酸的蛋白,5'-保守端有编码整合酶的 *intI* 基因及启动子,大多数 3'-保守端有 3 个开放读码框(open reading frame,ORF),即季铵盐化合物及溴化乙锭的耐药基因(*qacEΔ1*)、磺胺耐药基因(*sulI*)、功能不明的 ORF5^[3]。Ⅱ、Ⅲ类整合酶与Ⅰ类整合酶相比分别有 46%、61%的同源性^[15]。整合子是耐药基因扩增的一种新机制,在整合酶的催化下,于 59 bp 的特定位点上识别并整合耐药基因盒。

整合子与阴沟肠杆菌的多重耐药性整合子作为一种可移动基因元件,通过整合酶的作用可特异性地俘获和表达外来的移动性基因盒。作为一种天然克隆和表达的载体,它能够以质粒或转座子为载体在细菌间进行基因的水平移动,从而使细菌的耐药基因得以迅速和广泛传播。南韩学者在一株临床分离的阴沟肠杆菌中发现含有 *VIM-2* 和 *aadA* 基因盒的整合子;在希腊的一株临床阴沟肠杆菌分离菌株中发现Ⅰ类整合子含有 *blaVIM-1* 和 *aac(6)-Ⅱc* 基因^[16],阴沟肠杆菌Ⅰ类整合子中也发现含有其他基因盒,如 *IBC-1* 和 *aac(6)-Ⅰb* 等。在阴沟肠杆菌中同时发现含有 β 内酰胺酶和氨基糖苷类修饰酶基因盒,表明多重耐药形势严峻。

综上所述,阴沟肠杆菌耐药机制复杂,且多种耐药机制可协同作用,多重耐药形势日益严峻,控制其感染、流行和传播面临新的威胁和挑战。因此仍需对许多问题,如 *AmpC* 酶、ES-BLs、青霉素酶的产生,主动外排系统的地位,药物作用靶位及突变方式的差异等进行深入的研究,为临床合理用药及探求防治阴沟肠杆菌耐药的途径提供依据。

参考文献

[1] 许建成,周琪,黄品,等.连续 5 年临床分离阴沟肠杆菌的耐药性变迁[J].广东医学,2008,29(9):1527-1528.
[2] 桂炳东,王伶,邹叶青,等.高产 *Ampc* 酶阴沟肠杆菌耐药性及同源性分析[J].中华医院感染学杂志,2005,15(12):1332-1334.
[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing[S]. Sixteenth informational supplement. M100-S16. CLSI,

2006,32-37.
[4] 吴启北,郭秀娥.沟肠杆菌的耐药性与抗菌药物使用量的相关性分析[J].中华医院感染学杂志,2008,18(8):1147-1149.
[5] Queenan AM,Bush K. Carbapenemases; the versatile β -lactamases[J]. Clin Microbiol Rev,2007,20(3):440-458.
[6] Peleg AY,Franklin C,Bell JM,et al. Dissemination of the metallo- β -lactamase gene *blaIMP-4* among gram-negative Pathogens in a clinical setting in Australia[J]. Clin Infect Dis,2005,41(11):1549-1556.
[7] Herbert S,Halvorsen DS,Leong T,et al. Large out break of infection and colonization wit hgram-negative Pathogens carying the metallo- β -lactamase gene *blaIMP-4* at a 320-bed tertiary hospital in Australia[J]. Infect Control Hosp Epidemiol,2007,28(1):98-101.
[8] Wu JJ,Ko WC,Tsai SH,et al. Prevalence of Plasmid-mediated quinolone resistance determinants *QnrA*,*QnrB*,and *QnrS* among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital[J]. Antimicrob Agents Chemother,2007,51(4): 1223-1227.
[9] Liu YF,Yan JJ,Ko WC,et al. Characterization of carbapenem-non-susceptible *Escherichia coli* isolates from a university hospital in Taiwan[J]. J Antimicrob Chemother,2008,61(5): 1020-1023.
[10] Wu JJ,Ko WC,Wu HM,et al. Prevalence of *Qnr* determinants among bloodstream isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella Pneumoniae* in a Taiwanese hospital, 1999 — 2005[J]. J Antimicrob Chemother,2008,61(6): 1234-1239.
[11] 李岩,许淑珍,苏建荣,等.阴沟肠杆菌喹诺酮耐药基因的检测[J].中华医院感染学杂志,2008,18(4):474.
[12] 李丽,田磊.2007 年中国 CHINET 肠杆菌属耐药性监测[J].中华感染与化疗杂志,2009,9(3):201-206.
[13] 杨月琳.产 *Ampc* 酶阴沟肠杆菌的检测[J].中国实验诊断学,2008,12(7):933-934.
[14] 钱小毛,金海勇.阴沟肠杆菌感染的临床分布与耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2009,19(22):3125-3126.
[15] 李心晖,石磊,杨维青,等.三类整合酶基因(*int I*)的简并引物 PCR 方法建立及应用[J].中华微生物学和免疫学杂志,2005,25(2):156-160.
[16] 王赛芳,潘钦石,周铁丽,等.肺炎克雷伯菌超广谱 β -内酰胺酶和 *Ampc* 酶基因检测及耐药性分析[J].中国微生态学杂志,2006,18(6):474.

(收稿日期:2012-05-19)

不孕症妇女心理状况的分析

钟艳娟¹综述,季 布²审校(1.广东省惠州市第一妇幼保健院妇产科 516001;2.中国人民解放军第一七三医院医务处,广东惠州 516008)

【关键词】 不孕症; 心理状况; 心理干预
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.18.051 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)18-2348-03

不孕症是指育龄夫妇无保护性生活 1 年以上未妊娠或生育者。据统计,我国育龄妇女中,大约有 10%~15% 的人患不

孕症。全世界不孕患者人数约为 8 000 万至 1 亿。不孕症的发病率呈逐年上升趋势,成为仅次于肿瘤和心血管疾病之后的