

· 综 述 ·

铜绿假单胞菌耐药机制及其耐药现状*

朱晓艳 综述, 谭银玲[△] 审校

(第三军医大学微生物教研室, 重庆 400038)

关键词: 铜绿假单胞菌; 耐药性; 耐药现状

中图分类号: R378.991

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)08-0986-02

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)属于非发酵菌类假单胞菌属,它广泛存在于自然界和人体皮肤中,同时也是近年来引起院内感染的重要条件致病菌之一。但随着抗生素的大量使用,已经有越来越多的菌株产生了耐药性,这给临床治疗带来了极大的难度。铜绿假单胞菌可引起伤口、下呼吸道、泌尿道菌血症等严重感染,且免疫力低下的患者,可引起严重的呼吸相关性肺炎、败血症、烧伤创面和泌尿系统感染等;在医院里主要以烧伤科、泌尿外科、呼吸科患者感染居多,尤其在老年、慢性危重、免疫力受损的患者,有侵入性治疗措施或医院监护病房中更为突出。因此,了解铜绿假单胞菌的耐药机制和与耐药作用相关的基因的情况,有助于研发出更有效的治疗铜绿假单胞菌感染疾病的抗生素。

1 耐药机制

铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药机制主要有:产生抗生素灭活酶或抗生素修饰酶,如产生 β -内酰胺酶、氨基糖苷类抗菌药物修饰酶等;改变抗生素药物作用的靶位;通透性障碍,如外膜孔蛋白 D2(OprD2)缺失;外排机制和生物被膜^[1]。

1.1 产生抗生素灭活酶或抗生素修饰酶 细菌产生 β -内酰胺酶是细菌耐药的重要机制之一。铜绿假单胞菌的细胞壁和细胞膜结构比较特殊,对很多 β -内酰胺酶类抗生素存在固有耐药性。铜绿假单胞菌染色体上的 *ampc* 基因表达的 AmpC 酶可以水解几乎所有类型的 β -内酰胺类抗生素。

1.2 改变抗生素药物作用的靶位 青霉素结合蛋白是细菌内膜的蛋白质,对细菌细胞壁的合成、形态维持和糖肽结构调整等功能有催化作用。几乎所有的细菌都含有青霉素结合蛋白,而 β -内酰胺类抗生素通过抑制青霉素结合蛋白来干扰细菌细胞壁的合成,从而达到杀菌的目的。DNA 拓扑异构酶 II 和拓扑异构酶 IV 的改变导致细菌耐药。

1.3 通透性障碍 膜通透性障碍也是细菌耐药的原因之一。铜绿假单胞菌因为其特殊的细胞膜结构而有天然多重耐药的特点,其 LPS 分子有多条脂肪酸链相互共价连接,使膜流动性很低,对药物有十分强的屏障作用。细菌细胞膜上的孔蛋白起到运输作用,但铜绿假单胞菌的外膜孔蛋白 D2 的缺失使得抗生素进入细菌胞内变得困难,从而使细菌产生耐药性。

1.4 外排机制和生物被膜 同时,细菌的主动外排机制和细菌生物膜也是产生耐药性的原因。生物膜具有很强的耐药性和抵抗机体免疫系统的作用,因此,一旦在临床治疗中感染或是使用了污染的生物材料,是非常难治愈的。生物膜的耐药机制目前不是十分清楚,Snydman 等^[2]认为生物膜内细菌分泌的胞外多聚物形成被膜,阻止抗生素的进入。

2 铜绿假单胞菌对抗生素的耐药分析

2.1 耐碳青霉烯类 亚胺培南是一种 β -内酰胺类抗生素,属碳青霉烯类,抗菌活性较强,是治疗假单胞菌感染活性最强的药物之一。但近年随着抗生素的大量使用,耐药株开始增多,给临床治疗带来一定困难。在欧洲医院内,亚胺培南的耐药性大约为 20%,拉丁美洲则接近 30%,在 Karolinska University 医院的 ICU 病房中这一比率为 14%^[3]。根据大量研究表明,铜绿假单胞菌耐亚胺培南是由以下原因引起的:(1)产生各种 β -内酰胺酶(如 TEM、SHV、OXA、PER、VEB、GES、CARB)、金属内酰胺酶(如 IMP、VIM、SPM-1、GIM-1)和质粒 AmpC 酶(如 DHA)^[4];(2)外膜孔蛋白 D2(OprD2)缺失:外膜蛋白 D2 是碳青霉烯类抗生素进入的通道^[5],失去特异性外膜蛋白 D2 导致药物不能进入细菌体内,从而产生耐药性^[6];(3)细胞外膜主动外排系统的表达:有 MexAB-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN 和 MexXY-OprM 4 种;(4)青霉素结合蛋白的改变:碳青霉烯类抗生素对铜绿假单胞菌的作用靶位是细菌内膜上的青霉素结合蛋白 2(penicillin-binding protein2, PBP2),该类药物要达到其作用靶位必须首先经过外膜蛋白通道进入周浆间隙,并抵抗周浆间隙中 β -内酰胺酶的水解或生物失活^[7-8]。因此, β -内酰胺酶和外膜蛋白通道的改变是铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素耐药的重要原因。2006 年 Quale 等从纽约布鲁克林 8 所医院收集了 33 株耐碳青霉烯类抗生素的铜绿假单胞菌临床分离株,对其分类研究。结果表明,19 株铜绿假单胞菌分离株被确认 OprD 蛋白表达量减少,其中 17 株的 OprD 的表达量小于或等于 70%(与铜绿假单胞菌 ATCC27853 对比),剩下的 2 株通过 SDS-PA GE 鉴定证明缺失一个 46 kDa 的蛋白。因 OprD 表达量减少而耐亚胺培南和倍能的这 17 株与剩下的对这两个抗生素都敏感的 16 株中的 2 株有关($P < 0.001$)。同时,耐艾他培南(ertapenem)的分离株中 OprD 的表达量下降($P = 0.003$)。25 株耐艾他培南的分离株通过 SDS-PA GE 分析外膜蛋白,有 11 株有 46 kDa 蛋白条带^[9]。

2.2 耐喹诺酮类 喹诺酮类药物是一类以 1,4-氢-4 氧-3 喹啉酸为基本结构的化学合成类抗菌药物。第 3 代喹诺酮类药物的主要特点是母核 6 位碳上引入氟原子,使抗菌活力明显增强,血浆浓度提高,组织和体液内分布广,以环丙沙星(ciprofloxacin)为代表;近年来,第 4 代氟喹诺酮又相继问世,如:莫西沙星(moxifloxacin)等,成为一类庞大的化合物群。大量的研究表明铜绿假单胞菌对喹诺酮类药物的耐药机制主要包括以下几个方面:(1)编码喹诺酮类药物对细菌作用靶位的基因突变,导致 DNA 拓扑异构酶 II 结构改变,与抗生素的亲合力

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30770093)。 [△] 通讯作者, E-mail: tanyinling2002@yahoo.com.cn.

下降。喹诺酮类作用靶位是细菌 DNA 拓扑异构酶 II 和拓扑异构酶 IV (topoisomerase IV)。前者由 2 对亚基 GyrA 和 GyrB 组成, 分别由 gyrA 基因、gyrB 基因编码; 后者由铜绿假单胞菌 rC 和铜绿假单胞菌 rE 基因编码。铜绿假单胞菌对喹诺酮类药物耐药主要是由于编码两类拓扑异构酶的基因突变, 特别是 GyrA、GyrB、GyrC 和 GyrE 基因的喹诺酮耐药决定区(QRDR) 基因突变, 导致酶结构改变, 使药物不能与酶-DNA 复合物稳定结合而失去抗菌效力。(2) 外排系统调节基因的变异而导致细胞内药物浓度降低, 对于绿脓杆菌已发现了 7 种不同的喹诺酮类药物外排泵: MexAB-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN、MexXY-OprM、MexJK-OprM、MexHI-OpmD 和 MexWV-OprME^[10]。(3) 膜通透性降低及形成生物膜, 氟喹诺酮类药物是靠铜绿假单胞菌的外膜蛋白和脂多糖进入细菌体内, 外膜蛋白和脂多糖的变异均能使细菌摄取药物的量减少而导致耐药。已发现的外膜突变株有 OmpC、OmpD2、OmpG、OmpF 等的变异。而生物膜是细菌为适应生存环境分泌脂蛋白、多糖基质等, 从而在生物材料或机体腔道表面形成膜, 保护其不受药物的作用。

2.3 耐氨基糖苷类 氨基糖苷类抗生素具有广谱抗菌、强杀菌性, 且与 β -内酰胺等抗生素有很好的协同作用。现有研究表明, 对氨基糖苷类抗生素的耐药机制主要有: (1) 核糖体结合位点的改变; (2) 细菌对药物的摄入和积累的减少; (3) 产生氨基糖苷类修饰酶 (aminoglycosides-modifying enzymes, AMEs)。其中以产生氨基糖苷类修饰酶这一机制最为常见。氨基糖苷类修饰酶可分为乙酰转移酶(AAC)、磷酸转移酶(APH)、核苷转移酶(ANT)3 类。氨基糖苷类修饰酶通常由质粒和染色体携带, 与可动遗传因子(整合子、转座子)有关, 从而导致耐药性在同种或异种细菌间相互转移^[11]。

3 铜绿假单胞菌的耐药现状

铜绿假单胞菌 COL-1 株是 1996 年从一名法国马赛妇女血液中分离培养得到的, 这株菌耐 β -内酰胺类抗生素, 包括氨基青霉素、替卡西林-克拉维酸、头孢吡肟、头孢他啶、亚安培南和倍能, 但对单酰胺类氨基曲南仍然敏感。2008 年 3 月 Drissi 等^[12]在特莱姆森(阿尔及利亚)大学附属医院收集了 199 株铜绿假单胞菌株, 经试验得到敏感率为: 替卡西林(56%), 氧哌嗪青霉素/他唑巴坦(81%), 头孢他啶(88%), 头孢吡肟(80%), 氨基曲南(64%), 亚胺培南(65%), 阿米卡星(83%), 托普霉素(81%), 环丙沙星(97%)。Rubin 等^[13]收集了 106 株铜绿假单胞菌分离株, 经试验得到: 这 106 株对安卞青霉素、头孢西丁、头孢泊肟、先锋霉素和头孢唑肟均耐药(99%), 头孢噻夫(97%), 头孢三嗪(39%), 头孢噻肟(26%), 头孢噻肟/克拉维酸(20%), 不到 7% 的菌株对头孢他啶/克拉维酸、头孢他啶、氧哌嗪青霉素/他唑巴坦或者头孢吡肟耐药。2 个分离株对碳青霉烯类抗生素耐药。在喹诺酮类和氟喹诺酮类药物中, 萘啶酸的耐药率 96%, 奥比沙星(52%), 二氟沙星(43%), 恩复沙星(31%), 马波沙星(27%), 加提沙星(23%), 左氧氟沙星(21%), 环丙沙星(16%)。氨基糖苷类药物中, 耐药率最高的是卡那霉素(90%), 链霉素(69%), 庆大霉素(7%), 阿米卡星(3%)。

参考文献:

[1] Gales AC, Jones RN, Turnidge J, et al. Characterization of

Pseudomonas aeruginosa isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY antimicrobial surveillance program [J]. *Cin Infect Dis*, 2001, 32(2):146.

- [2] Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, et al. Comparative in vitro activities of daptomycin and vancomycin against resistant gram-positive pathogens [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44:3447.
- [3] Farra A, Islam S, Stralfors A, et al. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem [J]. *Antimicrobial Agents*, 2007, 12(16):365.
- [4] Castanheira M, Toleman MA, Jones RN, et al. Molecular characterization of a beta-lactamase gene, blaGIM-1, encoding a new subclass of metallo-beta-lactamase [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(12):4654.
- [5] Yoshihara E, Nakae T. Identification of porins in the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* that from small diffusion pores [J]. *J Bio Chem*, 1989, 264:6297.
- [6] Kuo LC, Yu CJ, Lee LN, et al. Clinical features of pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia at a university hospital in Taiwan [J]. *J Formos Med Assoc*, 2003, 102(9):601.
- [7] Hsueh PR, Teng IJ, Chen CY, et al. Pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital in Taiwan [J]. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8(8):827.
- [8] Quale J, Bratu S, Gupta J, et al. Interplay of efflux system, ampC, and opeD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(5):1633.
- [9] Hooper IX. Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones [J]. *Clin Infect Dis*, 2001, 32(1):255.
- [10] Fluit AC, Visser MR, Schmitz FJ. Molecular detection of antimicrobial resistance [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14(4):836.
- [11] Poirel L, Naas T, Nicolas D, et al. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid and integron borne gene form a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(4):891.
- [12] Drissi M, Ahmed ZB, Dehecq B, et al. Antibiotic susceptibility and mechanisms of beta-lactam resistance among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*: First report in Algeria [J]. *Med Mal Infect*, 2008, 38(4):187.
- [13] Rubin J, Walker RD, Blickenstaff K, et al. Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections [J]. *Vet Microbiol*, 2008, 131(1):164.