

重败血症和多器官衰竭的预测。ICU 患者前 48 h 持续增高的 MAU 提示患者发生急性呼吸衰竭、严重败血症、多器官功能衰竭和死亡的风险升高。24 h MAU 与 APACHE II 评分一样是很好的 ICU 患者疾病严重性和死亡率的预报因子, 无 MAU 或尿微量清蛋白不升高可帮助预测患者存活^[23-24]。

3 结语

大量的临床研究表明, MAU 排出增加是疾病早期的改变, 对早期治疗原发病、分析病程进展、评价相关危险因素具有重要意义。对相关患者和普通人群开展 MAU 筛查, 从而对疾病进行早期诊断、早期治疗, 在降低死亡率和提高患者生命质量上有着极为重要的意义。

参考文献

- [1] Glasscock RJ. Is the presence of microalbuminuria a relevant marker of kidney disease? [J]. Curr Hypertens Rep, 2010, 12(5): 364-368.
- [2] Haraldsson B, Nystrom J, Deen WM. Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria[J]. Physiol Rev, 2008, 88(2): 451-487.
- [3] Russo LM, Sandoval RM, Campos SB, et al. Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(3): 489-494.
- [4] Peters T. All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications[M]. San Diego, CA: Academic Press, 1996: 24.
- [5] Russo LM, Bakris GL, Comper WD. Renal handling of albumin: a critical review of basic concepts and perspective[J]. Am J Kidney Dis, 2002, 39(5): 899-919.
- [6] Futrakul N, Sridama V, Futrakul P. Microalbuminuria—a biomarker of renal microvascular disease[J]. Ren Fail, 2009, 31(2): 140-143.
- [7] 杜红心, 罗海峰, 彭必江, 等. 尿微量蛋白联合检测在糖尿病肾病早期的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 337-338.
- [8] Sacksh DB, Bruns DE, Goldstein DE, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus[J]. Clin Chem, 2002, 48(3): 436-472.
- [9] 杨生宙, 何景东. 尿微量清蛋白测定对早期糖尿病肾病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(1): 70-72.
- [10] 郭志坚, 侯凡凡. 蛋白质糖化修饰产物参与慢性肾脏病进展[J]. 中华内科杂志, 2009, 48(6): 510-512.
- [11] Eckardt KU, Berns JS, Rocco MV, et al. Definition and classification of CKD: the debate should be about patient prognosis—a position statement from KDOQI and KDIGO[J]. Am J Kidney Dis, 2009, 53(6): 915-920.
- [12] Hallan SI, Ritz E, Lydersen S, et al. Combining GFR and albuminuria to classify CKD improves prediction of ESRD[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(5): 1069-1077.
- [13] Brantsma AH, Bakker SJ, de Zeeuw D, et al. Urinary albumin excretion as a predictor of the development of hypertension in the general population[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(2): 331-335.
- [14] Bianchi S, Bigazzi R, Campese VM. Microalbuminuria in essential hypertension: significance, pathophysiology, and therapeutic implications[J]. Am J Kidney Dis, 1999, 34(6): 973-995.
- [15] de Zeeuw D, Parving HH, Henning RH. Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(8): 2100-2105.
- [16] Berbari AE, Mancia G. Cardiorenal syndrome: mechanisms, risk and treatment [M]. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2010: 110-112.
- [17] Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals[J]. JAMA, 2001, 286(4): 421-426.
- [18] Cerasola G, Cottone S, Mule G. The progressive pathway of microalbuminuria: from early marker of renal damage to strong cardiovascular risk predictor[J]. J Hypertens, 2010, 28(12): 2357-2369.
- [19] Vlachou E, Gosling P, Moiemen NS. Microalbuminuria: a marker of endothelial dysfunction in thermal injury[J]. Burns, 2006, 32(8): 1009-1016.
- [20] Mahmoodi BK, Gansevoort RT, Veeger NJ, et al. Microalbuminuria and risk of venous thromboembolism[J]. JAMA, 2009, 301(17): 1790-1797.
- [21] Salako BL, Olayemi O, Odukogbe AT, et al. Microalbuminuria in pregnancy as a predictor of preeclampsia and eclampsia[J]. West Afr J Med, 2003, 22(4): 295-300.
- [22] McDonald SD, Han Z, Walsh MW, et al. Kidney disease after preeclampsia: a systematic review and meta-analysis[J]. Am J Kidney Dis, 2010, 55(6): 1026-1039.
- [23] Basu S, Chaudhuri S, Bhattacharyya M, et al. Microalbuminuria: an inexpensive, non invasive bedside tool to predict outcome in critically ill patients[J]. Indian J Clin Biochem, 2010, 25(2): 146-152.
- [24] Basu S, Bhattacharyya M, Chatterjee TK, et al. Microalbuminuria: a novel biomarker of sepsis[J]. Indian J Crit Care Med, 2010, 14(1): 22-28.

(收稿日期: 2011-01-04)

• 综述 •

铜绿假单胞菌耐药机制的最新研究进展

郭小慧 综述, 张莉萍 审校

(重庆医科大学附属第一医院检验科 400016)

关键词: 假单胞菌, 铜绿; 研究; 耐药机制

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)09-0968-04

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)俗称绿脓杆菌, 为革兰阴性杆菌, 它是人体内的正常菌群, 是一种常见的条件致病菌, 广泛分布于医院环境, 是临幊上常见的院内感染致病菌。近年来, PA 对人体的致病作用明显增加, 成为一系列

严重的化脓性感染, 尤其是支气管扩张、慢性支气管炎、囊性肺纤维化等基础疾病继发感染的重要致病菌。随着抗菌剂的广泛应用, PA 对临床常用抗生素出现不同程度的耐药且耐药率呈逐年上升趋势, PA 感染对多种抗生素呈多药耐药, 这已经

成为临床治疗最棘手的问题,给治疗感染带来相当大的困难。本文对 PA 的耐药机制作一综述。

1 阻碍药物的渗透

在阻碍抗菌剂渗透作用上,细菌细胞外膜起主要作用。一般细菌细胞膜上镶嵌有孔蛋白,作为生命物质交换的通道,有些药物可以通过孔蛋白进入细菌内。PA 的外膜由微孔蛋白孔道组成,仅允许相对分子质量小的糖类扩散,在维持 PA 基本生理代谢的同时,即使小分子水溶性抗生素通过孔道的速度依然很慢,因而 PA 具有天然的多重耐药性倾向。疏水的抗菌剂,如 β -内酰胺类和喹诺酮类,必须通过细菌外膜的专用水通道外膜孔蛋白(outer-membrane porin, Opr)才能进入细胞。特定 Opr 的缺乏可能造成相关抗菌剂的耐药。实验研究表明,抗生素的选择压力和长时间使用加快了细菌突变的速度,PA 更易丢失外膜蛋白,导致多药耐药^[1]。如 OprD₂ 是碳青霉烯类进入 PA 的通道,OprD₂ 缺失或低表达常是导致 PA 对碳青霉烯类耐药的重要原因^[2-3],在临床使用亚胺培南治疗 PA 感染失败时就会有亚胺培南耐药菌株出现,检查这些菌株的外膜蛋白常可发现 OprD₂ 缺失。实验室中筛选亚胺培南耐药菌株也证实了 OprD₂ 在亚胺培南耐药菌株中的缺失。亚胺培南耐药菌株中转入带有编码 OprD₂ 基因的质粒后就恢复了对亚胺培南的敏感性。OprD₂ 缺失导致对亚胺培南耐药,而对亚胺培南和美罗培南同时耐药的 PA 常在 OprD₂ 的缺失的基础上并有泵出机制的改变^[4]。目前,多数抗生素渗透入 PA 的途径尚不清楚。

2 外膜存在着独特的药物主动外排系统

1980 年,有学者发现在大肠埃希菌中四环素的耐药性是由于细菌细胞膜存在能量依赖的主动外排系统所致,后来又发现金黄色葡萄球菌对四环素的耐药性也由于外排机制所致。PA 细胞膜上的许多蛋白可将抗菌剂主动外排并与其细胞外膜的低通透性对耐药起协同作用,在致 PA 多重耐药中发挥越来越重要的作用。PA 细胞膜上的外排泵是导致 PA 对多种抗生素表现固有或获得性多重耐药的原因。PA 的主动外排系统主要由三部分组成:一是外膜通道蛋白,如 OprM、OprJ、OprN 等,形成门通道,使药物排出到菌体外;二是内膜蛋白,如 MexB、MexD、MexF 等为主要的主动外排蛋白,具有识别药物的作用,但不具有特异性;三是连接蛋白或辅助蛋白,如 MexA、MexC、MexE 等,能连接内、外膜蛋白,与他们一起形成了主动外排系统并开口于外膜的复合体,使药物直接泵出到菌体外。在 PA 细胞膜上有 7 种外排系统:MexAB-OprM、MexXY-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN、MexJk-OprM、MexGHI-OpmD 和 MexVW-OprM^[5-6],而在 PA 中对耐药较为重要的是前 4 种外排泵(MexAB-OprM、MexXY-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN)^[7]。外排系统能有效的排除多粘菌素外所有的抗菌剂,从而导致多重耐药。其中,PA MexAB-OprM 是迄今为止最具临床意义的药物主动外排系统,在 PA 的多重耐药中起着最为重要的作用。MexAB-OprM 在所知的多药外排泵中具有最广的底物特异性,它会造成 PA 对多种类型的抗生素天然耐药,主动外排 β -内酰胺类、四环素类、喹诺酮类、氨基糖苷类、大环内酯类等抗生素,但碳青霉烯中亚胺培南、羧苄西林等却不是其底物^[8]。有研究显示,随着抗生素及消毒剂等诱导剂的广泛使用,外排泵底物越来越广泛,今后 PA 的外排泵类型将越来越多,PA 过度表达外排泵的菌株也将越来越多,加上不同菌株间可能存在耐药基因的克隆传播,将使 PA 耐药形势日趋严重^[9]。

喹诺酮类抗菌剂的主要耐药机制为主动外排系统,PA 极易对其产生诱导耐药,导致外排增多,由于外排系统的底物谱较广,在排出喹诺酮类的同时,同样能排出其他抗生素导致产生耐药^[10]。

有资料表明,TonB 蛋白也与 PA 的主动外排系统有关,参与形成 PA 的固有耐药性和获得耐药性^[11]。TonB 基因所编码的蛋白质含有突出的 N 端并嵌入细胞膜上,C 端伸展在周围间隙中,在这里经过能量活化后,可与外膜受体蛋白结合,在生理条件下可把细菌细胞所需的多种物质转运到体内。Mex-AB-OprM 系统的运行部分依赖 TonB 蛋白,TonB 基因的缺失会使 PA 对许多抗生素的敏感性增加,这与 MexAB-OprM 缺失的突变株相似。研究发现 TonB 对 MexCD-OprJ 操纵子基因所编码的主动外排系统有协同作用,但后者的运行并不完全依赖于它,TonB 基因的缺失可能通过尚未了解的机制间接影响 MexAB-OprM 主动外排系统的活性。

3 灭活抗菌剂

细菌被诱导产生钝化酶,其通过修饰、水解作用破坏抗菌剂,使之转为无活性产物,是细菌产生耐药性的最重要机制。PA 可产生 β -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶、氯霉素乙酰转移酶等,其中 β -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶具有重要临床价值。

3.1 β -内酰胺酶(β -lactamase) 产生 β -内酰胺酶是 PA 对 β -内酰胺类抗生素耐药的最重要机制。随着新的广谱 β -内酰胺类抗生素的广泛使用,PA 可产生多种 β -内酰胺酶导致对新的 β -内酰胺类抗生素产生耐药。2010 年,Bush 和 Jacoby 更新了 β -内酰胺酶分类^[12],主要包括超广谱 β -内酰胺酶(extensive spectrum β -lactamases, ESBLs)、AmpC 酶、金属 β -内酰胺酶和其他的酶类。

3.1.1 ESBLs ESBLs 能水解青霉素、头孢菌素类抗菌剂,一般对 β -内酰胺类酶抑制剂复合物、碳青霉烯类抗菌剂敏感。ESBL 基因主要由 TEM-1、TEM-2、SHV-1 基因位点突变衍生而来。编码 ESBL 的绝大多数基因位于质粒上,常常通过转化、传导、结合等方式在质粒与质粒间、质粒与染色体间不断转移,导致更多的细菌产生 ESBL,并通过特异地整合和重组使多种耐药基因在细菌的耐药质粒上群聚,致使细菌产生多重耐药。近些年的研究发现,ESBLs 基因不仅可以存在细菌质粒 DNA 上,而且也可以存在于细菌染色体 DNA 上,这说明细菌的耐药性不仅可以通过质粒进行水平传播,也可以通过染色体基因垂直传播给子代,这使得细菌的耐药状况变得更为复杂^[13]。产生 ESBLs 细菌的耐药基因分为五类,主要有 TEM、SHV 和 OXA 三类。亚胺培南对一般的 ESBLs 高度稳定,可为治疗产 ESBLs 耐药菌感染的首选方案,但在治疗产 ESBLs PA 感染时要慎重,因为 PA 对亚胺培南耐药率现已相当高,因为 PA 在产生质粒介导的 β -内酰胺酶时可同时伴有 OprD₂ 的缺失。

3.1.2 产头孢菌素 C β -内酰胺酶(AmpC 酶) AmpC 酶是作用于头孢菌素且不被克拉维酸所抑制的 β -内酰胺酶,又称头孢菌素酶。PA 中的 AmpC 酶是典型的诱导酶。正常情况下 AmpC 酶表达水平很低,但大量使用第 3 代头孢菌素等 β -内酰胺类抗菌剂后可增加表达水平。PA 主要是调节基因 AmpD 发生突变,产生的有缺陷的 AmpD 蛋白,不能与另一种调控蛋白——AmpR 蛋白结合形成复合物,AmpR 蛋白即以激活子状态发挥激活作用,引起 AmpC 酶的大量表达。产 AmpC 酶的 PA 对多数 β -内酰胺类抗生素、头霉素类耐药, β -内酰胺酶抑制剂不能抑制 AmpC 酶的活性,所以在治疗产 AmpC 酶的 PA

感染时,应选用碳青霉烯类、第 4 代头孢菌素类抗生素。

3.1.3 金属 β -内酰胺酶(metallo β -lactamase, MBL) MBL 简称金属酶,能水解除单环类以外的几乎所有 β -内酰胺类抗菌剂,使细菌对青霉素、头孢菌素和碳青霉烯类药物耐药,耐药基因由染色体或质粒介导,并在 PA 和其他非发酵菌中传播,对金属螯合剂敏感,对锌离子有依赖性。目前,MBL 分为 IMP、VIM、SMP 和 GIM 型^[14-15]。PA 中编码 MBL 的基因大多由质粒携带,且定位于整合子上。整合子是细菌的 DNA 片段,它的独特结构可捕获外源性基因,并使之转变为功能性基因的表达单位^[16]。因此,虽然目前报道产 MBL 的 PA 数量仍较少,但由于整合子的传播特性使得 MBL 的数量正在增加,随时可能引起医院感染的暴发和流行。

3.2 氨基糖苷类钝化酶 PA 产生氨基糖苷类钝化酶是对氨基糖苷类抗生素耐药的原因之一,钝化酶催化氨基糖苷类抗生素氨基或羟基的共价修饰,导致氨基糖苷类抗菌剂与核糖体结合减少而不能进入下一阶段发挥抗菌作用,使细菌在抗生素存在的情况下仍能存活^[17]。在细菌胞浆内对抗生素进行修饰的钝化酶主要有三类:氨基糖苷磷酸转移酶(aminoglycoside phosphotransferase, APH)、氨基糖苷乙酰转移酶(aminoglycoside acetyltransferases, AAC) 和氨基糖苷核苷转移酶(aminoglycoside nucleotidyltransferase, ANT)。氨基糖苷类钝化酶常和 MBL、ESBL 等同存在于细菌的转座子或整合子上,使 PA 表现多重耐药并导致细菌水平间耐药的传播。

3.3 氯霉素乙酰转移酶(chloramphenicol acetyl transferase, CAT) CAT 由质粒编码使氯霉素乙酰化而失去抗菌活性。

4 药物作用靶位的改变

PA 通过改变靶位青霉素结合蛋白(penicillin binding protein, PBP) 和 DNA 拓扑异构酶的结构,对 β -内酰胺类和喹诺酮类抗菌剂产生耐药。PBP 参与合成细菌细胞壁肽聚糖,是保持细菌细胞壁正常形态及功能的必需条件。 β -内酰胺类抗菌剂与 PBP 结合后,PBP 便失去酶的活性,使细胞壁合成受阻,最终造成细胞溶解、细菌死亡。PA 能改变其青霉素结合蛋白的结构或产生一种新的青霉素结合蛋白,后者与 β -内酰胺类抗生素的亲和力减低因而导致耐药发生。在实验室菌株和临床分离菌中,均发现耐药 PA 中有 PBP 改变现象的存在^[18],在对亚胺培南耐药的 PA 临床分离菌中,发现其耐药性与 PBP 的改变密切相关,并与膜通透性改变有协同作用^[19]。喹诺酮类抗菌药剂通过抑制 DNA 拓扑异构酶 II、IV,阻断 DNA 的复制而产生抗菌作用。大多数氟喹诺酮类药物首先以 DNA 促旋酶为主要作用靶位,但研究表明某些抗菌谱广的新一代氟喹诺酮类药物对 DNA 促旋酶和 DNA 拓扑异构酶 IV 均有作用。细菌编码的 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 的基因突变,改变了酶的结构,使药物不能与酶 DNA 复合物稳定结合是细菌对喹诺酮类药物的重要耐药机制。

5 细菌生物膜形成

细菌生物膜(biofilm, BF) 是细菌在生长过程中为了适应生存环境而形成的一种与浮游细胞相对应的存在形式,由细菌和它所分泌的胞外多聚物组成,附着在有生命或无生命的物体表面形成高度组织化的多细胞结构。生物膜是细菌的保护性生长方式,这种黏附定植方式不仅有利于细菌附着在某些支持物表面不易被流动液推走,较单个或混悬的菌细胞更易于抵抗宿主免疫细胞、免疫分子和抗菌剂的攻击,同时可增强毒力基因和耐药基因的传递。

生物膜确切的生化组成仍不清楚。BF 中水分含量可高达 97%,除了水和细菌外,BF 还可含有细菌分泌的大分子多聚物、吸附的营养物质和代谢产物、细菌裂解产物等。一些 PA 的生物膜主要由糖醛酸(如藻酸)和碳水化合物所组成,形成所谓胞外黏液多糖,但由于氧气和营养物质获得等条件的不同,其组成可相差很大。胞外黏液多糖是 PA 的重要致病因子,与慢性呼吸道感染密切相关,虽然抗菌剂有一定的临床疗效,但是 PA 总是难以彻底清除。电镜观察可见病变部位有细菌生物膜形成,其中藻酸盐是重要的组成部分,其可以使细菌牢固地黏附于肺上皮表面形成膜,不仅可抵御单核-巨噬细胞的吞噬作用,而且可抵御抗菌剂的杀灭作用。研究表明,PA 藻酸盐的合成是由细菌 *alC* 和 *alD* 基因控制的。PA 和硅胶膜表面接触后,可以激活控制藻酸盐合成的基因组,促使细菌合成大量的藻酸盐。因此细菌生物膜的形成是受严密基因调控的^[20-21]。

PA 生物膜相关感染的难治性是多种耐药机制共同作用的结果,而细菌的耐药与其多细胞群落聚集有关,所以破坏细菌生物膜的多细胞结构是清除细菌生物膜的主要治疗思路,目前生物膜相关感染的治疗仍是个棘手的问题。

6 结 论

综上所述,PA 耐药机制极为复杂,对不同抗生素耐药机制也有所不同,往往是几种耐药机制共同作用,使其对许多抗生素产生耐药。PA 耐药性防治还需进一步研究,寻找外膜主动外排系统的抑制剂,有效克服 AmpC 酶、ESBLs、金属 β -内酰胺酶,去除生物被膜的途径并应用于临床等,提高对多重耐药 PA 感染的疗效。PA 感染与多种医源性操作、长期应用抗生素、免疫抑制剂等密切相关,采取防范措施最大限度限制 PA 的医院感染也尤为重要。

参 考 文 献

- [1] Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picao RC, et al. Multidrug-resistant *pseudomonas aeruginosa* and *acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, 8(1): 71-93.
- [2] Farra A, Islam S, Strälfors A, et al. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(5): 427-433.
- [3] Giske CG, Buarø L, Sundsfjord A, et al. Alterations of porin, pumps, and penicillin-binding proteins in carbapenem resistant clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa*[J]. Microb Drug Resist, 2008, 14(1): 23-30.
- [4] Walsh F, Amyes SG. Carbapenem resistance in clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa*[J]. J Chemother, 2007, 19(4): 376-381.
- [5] Jeannot K, Elsen S, Köhler T, et al. Resistance and virulence of *pseudomonas aeruginosa* clinical strains overproducing the Mex-CD-OprJ efflux pump[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(7): 2455-2262.
- [6] Chuanchuen R, Wannaprasat W, Ajariyakhom K, et al. Role of the MexXY multidrug efflux pump in moderate aminoglycoside resistance in *pseudomonas aeruginosa* isolates from *pseudomonas* mastitis[J]. Microbiol Immunol, 2008, 52(8): 392-398.
- [7] Hocquet D, Roussel-Delvallez M, Cavallo JD, et al. MexAB-OprM and MexXY-overproducing mutants are very prevalent among clinical strains of *pseudomonas aeruginosa* with reduced susceptibility to ticarcillin[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(4): 1582-1583.

- [8] Jo JTH, Brinkman FSL, Hancock REW. Aminoglycoside efflux in *pseudomonas aeruginosa*: involvement of novel outer membrane proteins[J]. *Antimicrob Chemother*, 2003, 47(3): 1101-1111.
- [9] 刘永芳, 吕晓菊. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素的耐药表型与外排泵表达水平的关系[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(9): 982-983.
- [10] Lopez-Dupla M, Martinez JA, Vidal F, et al. Previous ciprofloxacin exposure is associated with resistance to beta-lactam antibiotics in subsequent *pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates[J]. *Am J Infect Control*, 2009, 37(9): 753-758.
- [11] Zhao Q, Li XZ, Mistry A, et al. Influence of the TonB energy-coupling protein on efflux-mediated multidrug resistance in *pseudomonas aeruginosa*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42(9): 2225-2231.
- [12] Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(3): 969-976.
- [13] 赵书平. 多药耐药铜绿假单胞菌 β -内酰胺类耐药相关基因及 I 型整合酶基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(12): 1663-1666.
- [14] Sacha P, Zorawski M, Hauschild T, et al. The presence of blaIMP genes on plasmids DNA isolated from multidrug-resistant *pseudomonas aeruginosa* strains at university hospital in Bialystok (Poland)-first report[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2007, 45(4): 405-408.
- [15] Suk SE, Yoo JS, Lee JK, et al. Investigation of beta-lactamase-producing multidrug-resistant *pseudomonas aeruginosa* isolated from non-tertiary care hospitals in Korea[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, 17(10): 1733-1737.
- [16] Saeja P, Wieczorek P, Hauschild T, et al. Metallo-beta-lactamases of *pseudomonas aeruginosa*-a novel mechanism resistance to beta-lactam antibiotics[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2008, 46(2): 137-142.
- [17] Llano-Sotelo B, Azucena EF, Kotra LP, et al. Aminoglycosides modified by resistance enzymes display diminished binding to the bacterial ribosomal aminoacyl-tRNA site[J]. *Chem Biol*, 2002, 9(4): 455-463.
- [18] Song J, Ruan Q, Qi J, et al. The mechanism of resistance of *pseudomonas aeruginosa* to beta-lactam antibiotics and clinical significance[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2002, 22(4): 339-342.
- [19] 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]. *Int J Antimicrob Agents*, 2008, 31(5): 427-433.
- [20] Nagino K, Kobayashi H. Influence of macrolides on mucoid alginate biosynthetic enzyme from *pseudomonas aeruginosa*[J]. *Clin Microbiol Infect*, 1997, 3(4): 432-439.
- [21] Bayer AS, Speart DP, Park S, et al. Functional role of mucoid extracellular polysaccharide(alginate) in antibiotic-induced and polymorphonuclear leukocyte-mediated killing of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Infect Immun*, 1991, 59(1): 302-308.

(收稿日期: 2010-12-09)

• 综述 •

钙卫蛋白的临床研究进展

王凤霞 综述, 胡志东 审校

(天津医科大学总医院微生物与检验科 300052)

关键词: 白细胞 L1 抗原复合物; 酶联免疫吸附测定; 中性粒细胞; 炎症性肠病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.023

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)09-0971-03

钙卫蛋白(calprotectin, CP)是一种主要来源于中性粒细胞和单核细胞的钙-锌结合蛋白质, 其表达具有组织或细胞特异性, 具有抗微生物、抗增殖、调节免疫、诱导细胞凋亡、促进肿瘤细胞生长等多种生物学功能。国外多项研究发现 CP 与多种临床疾病具有较好的相关性, 对疾病的诊断、治疗、预示复发等具有十分重要的作用。其检测具有灵敏性高、快速、简便、节约等特点, 因而具有较好的临床应用前景。

1 CP 的生物学特性

CP 最早于 1980 年由研究者自嗜中性粒细胞分离而来, 并命名为 L1 蛋白质。后因发现其结构中含钙离子并有抗微生物特性而命名。其组成成分是 5% 的蛋白质和 60% 的人类嗜中性粒细胞溶质蛋白质, 是嗜中性粒细胞的主要炎性反应蛋白(60%)。研究发现, CP 属于 S100 家族, 是一个相对分子质量为 36×10^3 的钙-锌结合蛋白, 由 14×10^3 的重链(S100A9)和 8×10^3 的轻链(S100A8)以其价键连接的异二聚体。其具有耐热性和水解性强的特点, 广泛分布于人体细胞、组织及体液中, 可在血清、粪便等标本中被检测到, 且不同部位 CP 的含量各不相同, 其中, 粪便 CP 含量较高, 约为血浆中 CP 含量的 6 倍, 且无性别差异。研究显示, CP 具有多种生物学功能: (1)诱导

自体吞噬和细胞凋亡; (2)抑制体外中性粒细胞的氧化代谢; (3)在感染和炎性反应过程中保护细胞内外环境的稳定; (4)促进肿瘤细胞的生长; 并通过刺激细胞伪足的形成而使肿瘤细胞获得游走活性, 从而增强了肿瘤细胞的侵袭力; (5)诱导相当数量白细胞基因的表达, 且低浓度(1 ng/mL)可促进正常人类角质细胞的生长; (6)在炎性反应中起调节作用。

2 检测方法

目前多采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 CP 含量, 常规 ELISA 操作程序(双抗体夹心法), 按需要设置酶标仪的波长进行不同标本吸光度值的测定。正确使用此方法可以减少一定数目不必要的侵入性检查, 易被患者所接受。

3 CP 与疾病的相关性

3.1 胃肠疾病 其中研究最多是粪便 CP(faecal CP, FCP)与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的相关性。

IBD 是一组原因未明的慢性肠道炎性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎和克罗恩病, 其病理基础为肠道的炎性反应。目前, 多采用内镜和活组织检查等侵入性方法来确定炎症部位及严重程度, 但这些检查方法通常价格高、有侵入性或暴露于射线, 因此不易被患者所接受。Patrick F 等^[1]对疑似 IBD 的患