

outcome in TEL/AML1-positive acute lymphoblastic leukemia [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2005, 27(12): 675-677.

[10] Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia [J]. N Engl J Med, 2004, 350: 1535-1548

[11] Yanada M, Takeuchi J, Sugiura I, et al. High complete remission rate and promising outcome by combination of imatinib and chemotherapy for newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia: a phase II study by the Japan Adult Leukemia Study Group [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(3): 460-466

[12] Zaliava M, Fronkova E, Krejcikova K, et al. Quantification of fusion transcript reveals a subgroup with distinct biological properties and predicts relapse in BCR/ABL-positive ALL: implications for residual disease monitoring [J]. Leukemia, 2009, 23(5): 944-951.

[13] Fei F, Stoddart S, Groffen J, et al. Activity of the Aurora kinase inhibitor VX-680 against Bcr/Abl-positive acute lymphoblastic leukemias [J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(5): 1318-1327.

[14] 李业楠, 邹德慧, 顾敏, 等. 成人 Ph+ 急性淋巴细胞白血病不同 BCR-ABL 转录本特征及预后比较 [J]. 中华内科杂志, 2009, 48(6): 481, 484.

[15] Mrozek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia [J]. Blood Rev, 2004, 18(2): 115-136.

[16] Cimino G, Pane F, Elia L, et al. The role of BCR/ABL isoforms in the presentation and outcome of patients with Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: a seven-year update of the GIMEMA 0496 trial [J]. Haematologica, 2006, 91(3): 377-380.

[17] 高超, 李志刚, 赵玮, 等. 儿童急性淋巴细胞白血病 e2a-pbx1 融合基因的表达水平与临床特点、早期治疗反应的相关性 [J]. 中国实

验血液学杂志, 2008, 16(3): 569-573.

[18] Shiozawa Y, Pedersen EA, Taichman RS. GAS6/Mer axis regulates the homing and survival of the E2A/PBX1-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in the bone marrow niche [J]. Exp Hematol, 2010, 38(2): 132-140.

[19] 何广胜, 张旭辉, 姚莉, 等. 伴 t(1;19)(q23;p13) 和 E2A-PBX1 成人急性 T 淋巴细胞白血病一例报告附文献复习 [J]. 中华血液学杂志, 2009, 30(10): 675, 657.

[20] Chowdhury T, Brady HJ. Insights from clinical studies into the role of the MLL gene in infant and childhood leukemia [J]. Blood Cells Mol Dis, 2008, 40(2): 192-199.

[21] Pui CH, Chessells JM, Camitta B, et al. Clinical heterogeneity in childhood acute lymphoblastic leukemia with 11q23 rearrangements [J]. Leukemia, 2003, 17(4): 700-706.

[22] Bueno C, Montes R, Catalina, et al. Insights into the cellular origin and etiology of the infant pro-B acute lymphoblastic leukemia with MLL-AF4 rearrangement [J]. Leukemia, 2011, 25(3): 400-410.

[23] Saarinen-pihkala UM, Gustafsson G, Carlsen N, et al. Outcome of children with high-risk acute lymphoblastic leukemia (HR-ALL): nordic results on an intensive regimen with restricted central nervous system irradiation [J]. Pediatr Blood Cancer, 2004, 42(1): 8-23.

[24] 高超, 赵玮, 刘怡, 等. MLL 基因重排阳性的儿童急性淋巴细胞白血病的融合基因及免疫表型特点 [J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 7(5): 1283-1288.

(收稿日期: 2010-10-09)

• 综 述 •

多重耐药鲍曼不动杆菌耐药机制研究进展

王伟伟 综述, 王厚照 审校

(安徽医科大学一七四临床学院, 厦门 361003)

关键词: 抗药性, 多药; 鲍氏不动杆菌; 研究
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 21. 025

文献标识码: A **文章编号:** 1673-4130(2011)21-2487-03

鲍曼不动杆菌是氧化酶阴性、非发酵的革兰阴性不动杆菌, 是一种重要的条件致病菌, 广泛存在于自然界及人体皮肤、胃肠道、上呼吸道等, 由于其在自然界的广泛存在性及对环境有较强抵抗力, 因而也是院内感染常见病原菌, 曾多次引起地区暴发流行。欧洲、北美、巴西、中国、日本、韩国以及南太平洋等地区均有多重耐药鲍曼不动杆菌感染的报道, 且其感染常可扩散传播而引起大范围的暴发流行。多重耐药鲍曼不动杆菌易感染免疫力低下、有严重基础性疾病、接受侵入性治疗、长期使用广谱抗菌剂的人群, 重症监护病房患者有较高感染率, 可引起呼吸机相关性肺炎、尿道感染、菌血症等^[1]。最近, 发现鲍曼不动杆菌还是引起战争相关性创伤后感染的常见病原菌。

1 耐药机制

引起不动杆菌(尤其是鲍曼不动杆菌)产生泛耐药现象的机制较为复杂。首先, 鲍曼不动杆菌天然具有良好的基因重组性。负责错配基因修复功能, 具有基因稳定性(mutS)缺失菌株有更高的突变率。但目前的研究资料尚不确定鲍曼不动杆菌病原性基因或耐药性基因的获得是细菌所固有还是由于环

境条件的改变所引起的。随着对鲍曼不动杆菌敏感性和耐药性基因研究的深入, 越来越认识到鲍曼不动杆菌耐药基因的复杂性^[2]。

目前, 普遍认为转座子(即可通过质粒携带或整合到染色体的可移动基因元件)对鲍曼不动杆菌耐药性的获得和传播非常关键, 很多转座子中都含有整合子^[3], 整合子是不能移动的基因元件(其移动需借助质粒或转座子), 由一 int 基因和可移动到其他整合子或细菌基因组其他位置的基因盒组成, 抗菌剂的使用不当可使携带耐药基因的可移动元件的选择和传播效应增强。促进基因表达的插入序列对耐药性的表达和调控也发挥重要作用, 如存在于鲍曼不动杆菌而在铜绿假单胞菌中未发现的 ISabal 元件可引起 AmpC、OXA-51/OXA-69 型 β -内酰胺酶的高表达, 而对头孢他啶和碳青霉稀类敏感性降低^[4]。

2 对 β -内酰胺类耐药

鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类耐药机制主要有以下方面: 产生 β -内酰胺酶、青霉素结合蛋白的改变、外膜孔蛋白结构和数量的改变、外排泵活性的改变。

2.1 β -内酰胺酶 产生 β -内酰胺酶是鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类药物耐药的重要原因。 β -内酰胺酶按 Ambler 分类方法分为 A、B、C、D 4 类。(1)A 类 β -内酰胺酶尽管在鲍曼不动杆菌中早已发现 TEM-1 型 β -内酰胺酶,而 A 类超广谱 β -内酰胺酶(Extended-spectrum beta-lactamases, ESBLs)直到最近才被发现。带有 ESBLs PER-1 型鲍曼不动杆菌对青霉素和广谱头孢菌素类显示出高水平耐药,但对碳青霉烯类敏感。PER-1 型是东京和韩国等地流行菌株,美国最近也有关于 PER-1 型的首次报道。其他 ESBLs 如 VEB-1、SHV-12、TEM-116、TEM-92 型均有报道^[5]。这些酶一般由质粒介导,在鲍曼不动杆菌中的分布尚未明确,常可引起对头孢他啶和头孢吡肟耐药。(2)B 类 β -内酰胺酶金属 β -内酰胺酶的出现使不动杆菌对 β -内酰胺类耐药情况更加严重。金属 β -内酰胺酶可水解碳青霉烯类以及 β -内酰胺类,但不水解氨基曲南。B 类 β -内酰胺酶与其他几类的区别在于其活性位点有金属离子,主要是锌离子,参与催化作用^[6]。金属 β -内酰胺酶于 1988 年首次发现于日本分离的 1 株铜绿假单胞菌^[7]。鲍曼不动杆菌中金属 β -内酰胺酶第 1 次在远东地区 I 类整合子中发现^[8]。金属 β -内酰胺酶不是鲍曼不动杆菌中主要碳青霉烯酶,目前已发现的主要有 IMP-1、IMP-4、IMP-5、IMP-6、IMP-11^[9-10]。IMP 型金属 β -内酰胺酶介导的碳青霉烯类耐药是很多国家面临的挑战^[11]。美国惟一 1 株产金属 β -内酰胺酶的鲍曼不动杆菌从巴西传入。新发现的 1 种金属 β -内酰胺酶 SIM-1 使研究者进一步认识到鲍曼不动杆菌金属 β -内酰胺酶的多样性^[12]。SIM-1 属于 B1 亚类,与 IMP-12 型有 69% 同源性,与 IMP-9 型有 64% 同源性^[13]。(3)C 类 β -内酰胺酶在最近一项系统进化分析研究中发现,鲍曼不动杆菌染色体 AmpC 基因很可能是由普通 β -内酰胺酶始祖基因演变而来。*bla* 基因编码 C 类头孢菌素酶可水解青霉素类、窄谱或广谱头孢菌素类,但不水解头孢吡肟以及碳青霉烯类,故临床分离的鲍曼不动杆菌常对头孢他啶耐药。由于鲍曼不动杆菌的基因复杂性,除已列入基因库的 28 种外,可能有更多的头孢菌素酶亚型将被发现^[14]。(4)D 类 β -内酰胺酶 D 类苯唑西林酶(OXA)是最活跃的青霉素酶(苯唑西林酶),部分苯唑西林酶也可水解头孢菌素类,OXA β -内酰胺酶可水解碳青霉烯类。第一次在鲍曼不动杆菌中发现的这种 OXA 碳青霉烯酶是 OXA-23 型,于 1985 年从苏格兰一住院患者身上分离出,而当时碳青霉烯类抗菌剂尚未进入临床应用阶段。此后,英国、巴西、玻利尼西亚、新加坡、韩国、中国等地相继发现这种最初命名为 ARI-1 由质粒携带的酶^[15]。这些酶可引起鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类耐药的事实已被许多实验验证,当有 ISab1、ISab3 共存时所引起的耐药现象更为严重^[16]。OXA 型碳青霉烯酶用遗传分析方法可分为 8 组,借助其他分析方法还可进一步分为更多亚组,其广泛存在性表明 OXA 可能是鲍曼不动杆菌基因组的基本组成^[17]。OXA 介导的耐药常合并外膜通透性降低和(或)外排系统活性增强。

2.2 外膜孔蛋白(Outer Membrane Protein, OMP)和青霉素结合蛋白(Penicillin Binding Protein, PBP)的改变 外膜孔蛋白引起的鲍曼不动杆菌耐药机制有待进一步研究,目前观测到外膜孔蛋白数量具有可变性,青霉素结合蛋白也有类似特征。新加坡的一项对多重耐药鲍曼不动杆菌流行性分析发现碳青霉烯耐药菌株 37×10^3 、 44×10^3 、 47×10^3 OMPs 低表达而 C 类头孢菌素酶高表达^[18]。在马德里的研究发现, 22×10^3 、 33

$\times 10^3$ OMPs 的缺失与 OXA-24 的产生可导致碳青霉烯类耐药^[19]。有研究发现,鲍曼不动杆菌中 43×10^3 蛋白与 OprD(铜绿假单胞菌中与亚胺培南耐药相关的孔蛋白)是同源物。Caro 的形成可使鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南耐药已得到证实。PBP-2 表达降低也可引起鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类耐药。OMP 缺失同时产 β -内酰胺酶菌株的存在表明对同一种抗菌剂的不同耐药机制可发生交互作用。

2.3 外排泵 外排泵在鲍曼不动杆菌耐药机制中较为特殊:单一机制即可导致对不同抗菌剂耐药^[20]。外排泵没有严格的选择性,可将包括抗菌剂在内的外来物及其代谢产物排出菌体外,因而可能与细菌多重耐药有关^[21]。膜主动外排系统一般由 3 部分组成:外膜孔蛋白、膜融合蛋白(membrane fusion protein, MFP)和胞质膜外排蛋白^[22]。依据氨基酸序列的同源性,将与抗菌剂相关的膜外排泵分为 6 个主要超家族:主要易化子超家族(major facilitator superfamily, MFS)、耐药节结化细胞分化(resistance nodulation cell devision, RND)超家族、ATP 结合盒(ATP binding cassette, ABC)超家族、药物代谢转运分子(drug metabolite transporter, DMT)家族、多耐药/寡聚糖素-脂质/多糖翻转酶(multidrug/oligosaccharidyl-lipid/poly-saccharide flippase, MOP)家族和小多重耐药(small multidrug resistance, SMR)家族。这些外排泵超家族中,只有 ABC 超家族是 ATP 依赖型系统,依靠 ATP 提供能量,其余都依靠质子驱动力提供能量。AdeABC 外排泵的过度表达可引起对碳青霉烯类高水平耐药。

3 对氨基糖苷类耐药

鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类耐药除药物外排机制以外,还可由氨基糖苷修饰酶(aminoglycoside-modifying enzymes, AMEs)引起,包括乙酰转移酶(acetyltransferases, AAC)、核苷转移酶(nucleotidyltransferases, ANT)、磷酸转移酶(phosphotransferases, APH)。对来自 13 个国家氨基糖苷耐药鲍曼不动杆菌中编码氨基糖苷修饰酶的基因进行 PCR 分析发现含有 *aphA1*、*aphA6*、*aacC2*、*aacA4*、*aadA1*、*aadB* 基因。来自沃尔特·瑞德陆军医疗中心分离株含有 *aphA6/aadA1/aadB/aacC1/aacC2*。Iavono 等^[23]对英国住院患者中曾亲历伊拉克战争者分离的鲍曼不动杆菌分析发现含有编码 AMEs 的 *aacC1*、*aadA1a*、*aadB*、*aacA4*、*aadA1* 基因。

4 对喹诺酮类耐药

鲍曼不动杆菌对喹诺酮类耐药主要是 DNA 旋转酶结构的改变以及喹诺酮类耐药决定区域的 *gyrA*、*parC* 基因突变引起喹诺酮类与 DNA 酶亲和降低所致。另一耐药机制是外排系统使跨膜药物浓度降低^[24]。目前,尚不能解释喹诺酮类(克林沙星、加替沙星、左氧氟沙星、曲伐沙星、吉米沙星)对鲍曼不动杆菌的治疗效果为何优于环丙沙星。鲍曼不动杆菌中尚无质粒介导的喹诺酮类耐药基因(*qnr* 基因)或具有环丙沙星修饰功能的 AME 的报道。

5 对四环素类耐药

鲍曼不动杆菌对四环素类存在多种耐药机制^[25]。由质粒介导的 TetA、TetB 外排泵功能;核糖体保护蛋白保护核糖体免受四环素、多西环素和米诺环素的作用, TetM 即属于此类蛋白。但无论外排泵或是核糖体保护蛋白对替加环素似乎都不起作用。替加环素是目前对鲍曼不动杆菌体外抗菌效果较好的一种抗菌剂。经研究发现,对替加环素耐药对 *adeB* 基因

和 adeABC 外排泵有关。

6 对多黏菌素类耐药

多粘菌素 B、多粘菌素 E 是 1947 年首次分离出的多肽抗菌剂,长期以来作为鲍曼不动杆菌感染的最后一线药物使用,然而最近开始出现的耐药鲍曼不动杆菌再次给学者敲响警钟。其耐药机制目前认为很可能是对脂多糖的变异(酸化、酰化或存在抗原干扰抗菌剂同细菌细胞膜结合)。也有文献提出,杂环化合物耐药也是其耐药机制之一。

7 小 结

综上所述,由于鲍曼不动杆菌耐药性的产生和耐药机制的复杂性,临床治疗仍面临诸多困境,但控制其传播感染仍是重中之重,尤其是易引起暴发流行的菌株。抗菌剂的合理使用,特别是广谱抗菌剂合理使用对控制感染十分关键。当前有关疫苗的研制也是控制鲍曼不动杆菌感染和传播的新课题。

参考文献

- [1] Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen[J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3):538-582.
- [2] Lin YC, Hsia KC, Chen YC, et al. Genetic basis of multidrug resistance in acinetobacter clinical isolates in Taiwan[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(5):2078-2084.
- [3] Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis [J]. Genes Dev, 2007, 21(5):601-614.
- [4] 李文波,贾晓东,张文杰. 鲍曼不动杆菌临床分布及耐药表型检测分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11):1063-1065.
- [5] Giannoulis S, Cuccurullo S, Crivaro V, et al. Molecular Epidemiology of multidrug-resistant acinetobacter baumannii in a tertiary care hospital in Naples, Italy, Shows the emergence of a novel epidemic clone[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(4):1223-1230.
- [6] 武大伟,马全玲. 鲍曼不动杆菌 ESBLs 和金属酶的基因型[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(4):323-325.
- [7] Rajamohan G, Srinivasan VB, Gebreyes WA. Biocide tolerant multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains are associated with higher biofilm formation[J]. J Hosp Infect, 2009, 73(3):287-289.
- [8] Giannoulis MF, Tomasone A, Agodi H, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in intensive care units of multiple Mediterranean hospitals[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(4):828-830.
- [9] Adams MD, Goglin K, Molyneaux N, et al. Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. J Bacteriol, 2008, 190(24):8053-8064.
- [10] Bertini AL, Poriel S, Bernabeu D, et al. Multicopy bla_{OXA-58} gene as a source of high-level resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(7):2324-2328.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S18 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 18th informational supplement. Approved standards[J]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [12] Koh TH, Sng LH, Wang GC, et al. IMP-4 and OXA beta-lacta-

mases in *Acinetobacter baumannii* from Singapore[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(4):627-632.

- [13] Hood MI, Jacobs AC, Sayood K, et al. *Acinetobacter baumannii* increases tolerance to antibiotics in response to monovalent cations[J]. American Society for Microbiology, 2010, 54(3):1029-1041.
- [14] D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, et al. Epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* related to European clonal types I and II in Rome (Italy) [J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(4):347-357.
- [15] Adams-Haduch JM, Paterson DL, Sidjabat HE, et al. Genetic basis of multidrug resistant in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(11):3837-3843.
- [16] Pournaras SM, arkogiannakis A, Ikonomidis A, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(3):557-561.
- [17] Villegas MV, Kattan JN, Correa A, et al. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian hospitals [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(6):2001-2004.
- [18] Qi C, Malczynski M, Paker M, et al. Characterization of genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected from 2004 to 2007[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(3):1106-1109.
- [19] Clinical and Laboratory Standards Institute. M02-A10 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; approved standard [S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [20] Roca I, Marti S, Espinal P, et al. CraA: an major facilitator superfamily efflux pump associated with chloramphenicol resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(9):4013-4014.
- [21] Minato Y, Shahcheraghi F, Ogawa W, et al. Functional gene cloning and characterization of the SsmE multidrug efflux pump from *Serratia marcescens* [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(3):516-519.
- [22] Bratu S, Landman D, Martin DA, et al. Correlation of antimicrobial resistance with β -lactamases, the OMPA-like porin, and efflux pumps in clinical isolate of *Acinetobacter baumannii* endemic to New York City[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(9):2999-3005.
- [23] Iacono M, Villa L, Fortini D, et al. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II group[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(7):2616-2625.
- [24] Srinivasan VB, Rajamohan G, Gebreyes WA. Role of AbeS, a Novel Efflux Pump of the SMR Family of Transporters, in Resistance to Antimicrobial Agents in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(12):5312-5316.
- [25] Dijkhoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Nat Rev Microbiol, 2007, 5(12):9309-951.