

- [6] Kresnowati MT, Forde GM, Chen XD. Model-based analysis and optimization of bioreactor for hematopoietic stem cell cultivation[J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2011, 34(1): 81-93.
- [7] Xu SL, Li DC, Xie YZ, et al. The growth of stem cells within β -TCP scaffolds in a fluid-dynamic environment[J]. *Mater Sci Engin*, 2008, 28(1): 164-170.
- [8] Cho CH, Eliason JF, Matthew HW. Application of porous glycosaminoglycan-based scaffolds for expansion of human cord blood stem cells in perfusion culture[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 86(1): 98-107.
- [9] Ouyang A, Ng R. Long-term culturing of undifferentiated embryonic stem cells in conditioned media and three-dimensional fibrous matrices without extracellular matrix coating[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(2): 447-454.
- [10] Cao Y, Li D, Shang C, et al. Three-dimensional culture of human mesenchymal stem cells in a polyethylene terephthalate matrix[J/OL]. *Biomed Mater*, 2010-11-15[2011-12-14], <http://iopscience.iop.org/1748-605X/5/6/065013/>.
- [11] Zanetta M, Quirici N, Demarosi F, et al. Ability of polyurethane foams to support cell proliferation and the differentiation of MSCs into osteoblasts[J]. *Acta Biomaterialia*, 2009, 5(4): 1126-1136.
- [12] Eibes G, Dos Santos F, Andrade PZ, et al. Maximizing the ex vivo expansion of human mesenchymal stem cells using a microcarrier-based stirred culture system[J]. *J Biotechnol*, 2010, 146(4): 194-197.
- [13] Lyu SY, Kwon YJ, Joo HJ, et al. Preparation of alginate/chitosan microcapsules and enteric coated granules of mistletoe lectin[J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(1): 118-126.
- [14] Serra M, Correia C, Malpique R, et al. Microencapsulation technology: a powerful tool for integrating expansion and cryopreservation of human embryonic stem cells[J/OL]. *PLoS One*, 2011-08-05[2011-12-14], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3151290/?tool=pubmed>.
- [15] Yamazoe H, Iwata H. Efficient generation of dopaminergic neurons from mouse embryonic stem cells enclosed in hollow fibers[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(28): 4871-4880.
- [16] Serra M, Brito C, Sousa MF, et al. Improving expansion of pluripotent human embryonic stem cells in perfused bioreactors through oxygen control[J]. *J Biotechnol*, 2010, 148(4): 208-215.
- [17] Luni C, Feldman HC, Pozzobon M, et al. Microliter-bioreactor array with buoyancy-driven stirring for human hematopoietic stem cell culture[J]. *Biomicrofluidics*, 2010, 4(3): 1-13.
- [18] Chen X, Xu H, Wan C, et al. Bioreactor expansion of human adult bone marrow-derived mesenchymal[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(9): 2052-2059.
- [19] Zhao F, Grayson WL, Ma T, et al. Perfusion affects the tissue developmental patterns of human mesenchymal stem cells in 3D scaffolds[J]. *J Cell Physiol*, 2009, 219(2): 421-429.
- [20] Miki T, Ring A, Gerlach J. Hepatic differentiation of human embryonic stem cells is promoted by three-dimensional dynamic perfusion culture conditions[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2011, 17(5): 557-568.
- [21] Housler GJ, Miki T, Schmelzer E, et al. Compartmental hollow fiber capillary membrane based bioreactor technology for in vitro studies on red blood cell lineage direction of hematopoietic stem cells[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2012, 18(2): 133-142.

(收稿日期: 2011-11-22)

• 综 述 •

肺炎克雷伯菌多药耐药机制研究进展

钟海琴¹, 蔡 挺^{2△}综述, 张 顺³审校

(1. 宁波大学医学院, 浙江宁波 315211; 宁波市第二医院: 2. 急诊科; 3. 临床研究室, 浙江宁波 315010)

关键词: 肺炎克雷伯菌; 多重耐药; 整合子; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 06. 048

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)06-0735-04

肺炎克雷伯菌(KPN)属于革兰阴性杆菌, 通常存在于人类肠道、呼吸道, 是除大肠埃希菌外导致医源性感染的最重要条件致病菌^[1]。由于抗菌药物的大量使用, 在选择性压力下多药耐药 KPN 菌株不断出现, 耐药率日益上升。KPN 耐药机制包括产生抗菌药物灭活酶、外膜渗透性障碍、主动外排、靶点改变等, 而耐药基因可通过质粒、转座子、整合子的传播在菌种间传递耐药性。本文就 KPN 多药耐药机制, 特别是整合子与 KPN 多药耐药性的关系进行阐述。

1 抗菌药物灭活酶

1.1 β -内酰胺酶 产生 β -内酰胺酶是细菌对 β -内酰胺类抗菌药物耐药的重要机制, 可通过水解 β -内酰胺环使抗菌药物失去抗菌活性。KPN 的 β -内酰胺酶耐药机制主要是产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)、AmpC 酶、耐酶抑制剂 β -内酰胺酶、KPC 酶及金属 β -内酰胺酶(MBLs)等。

1.1.1 ESBLs ESBLs 是耐药 KPN 产生的最主要的一类酶, 由质粒介导。产 ESBLs KPN 对青霉素类、头孢菌素类及单环类药物耐药, 但对头霉素和碳青霉稀类及酶抑制剂敏感。ESBLs 分为 SHV、TEM、CTX-M、OXA 及其他类型, 其中 SHV、TEM 种类最多。SHV、TEM 型 ESBLs 包括 SHV-1、TEM、TEM-2 型等。CTX-M 型是国内的主要基因型。有研究在突尼斯发现新型的 TEM-164 型 ESBLs^[2]。关于同时产多种 β -内酰胺酶的报道不断增多。王运铎等^[3]从 51 株产 ESBLs KPN 检出同时携带两种或两种以上基因型 23 株(45.10%), 且多为 CTX-M 型与 TEM 或 SHV 型共同存在。

1.1.2 AmpC 酶 KPN 中 AmpC 酶由质粒介导。1988 年美国首次报道从 KPN 中分离产 MIR-1 型质粒介导的 AmpC 酶^[4]。之后世界各地先后又从 KPN 中发现 CMY-1、CMY-2、ACT-1、ACC-2、ACT-6、CMY-8、CMY-8b 等质粒介导的 AmpC

△ 通讯作者, E-mail: nbicu@tom. com。

酶^[5-6]。AmpC 酶使 KPN 对临床上广谱 β -内酰胺类药物,包括三代头孢菌素、单环类、头霉素类等耐药,且不能被 β -内酰胺酶抑制剂克拉维酸、舒巴坦抑制,但对碳青霉烯类敏感。

1.1.3 耐酶抑制剂 β -内酰胺酶 产耐酶抑制剂 β -内酰胺酶菌株对青霉素类及青霉素类与 β -内酰胺酶抑制剂克拉维酸、舒巴坦的复合制剂均不敏感,可被他唑巴坦抑制。耐酶抑制剂 β -内酰胺酶最早发现于大肠埃希菌,此类酶除 SHV210 及 OHIO21 外均为 TEM 型 β -内酰胺酶。细菌对酶抑制剂耐药的主要机制为质粒介导 β -内酰胺酶基因尤其是 TEM21 基因突变,产生了对酶抑制剂耐药的 TEM 型 β -内酰胺酶。

1.1.4 KPC 酶 KPC 酶不能被 EDTA 抑制,包括 1-7 型,多由质粒介导。最早由 Yigit 等^[7]于 2001 年在 1 株耐亚胺培南 KPN 中分离获得,命名为 KPC-1,随后其他类型相继被发现。产 KPC 酶 KPN 对广谱头孢菌素类、单环类及碳青霉烯类耐药。近年来 KPC 酶检出率迅速增加,2004 年的调查显示纽约医院 KPN 中 KPC 酶检出率是 24.1%^[8],而 2006 年上升至 37.9%^[9]。国内首次于 2006 年在浙江省分离出产 KPC-2 KPN^[10]。黄支密等^[11]从泛耐药 KPN 临床分离株中检出 KPC-2 酶。希腊学者报道产 KPC-2 KPN 可导致院内爆发性感染^[12]。Elemam 等^[13]发现 2 例携带 KPC 酶的泛耐药 KPN 甚至对多黏菌素和替加环素耐药。

1.1.5 MBLs MBLs 能被 EDTA 抑制,包括 IMP、VIM、NDM-1 等类型,前两者最常见且分布广泛。产 MBLs KPN 对头孢菌素类、单环类以及碳青霉烯类耐药。Yong 等^[14]报道了第 1 例携带 NDM-1 酶 KPN 引起的尿路感染,该菌除对替加环素和多黏菌素敏感外,对其他抗菌药物都具耐药性。MBLs 通过质粒在细菌中传播,全球多地区检出感染病例^[15]。由于其具有较强耐药性和传播性,被媒体称为“超级细菌”。

1.2 氨基糖苷修饰酶(AMEs) KPN 对氨基糖苷类耐药的主要机制是产 AMEs,该酶可修饰抗菌药物分子中某些保持抗菌活性所必需的基团,使其与作用靶位核糖体的亲和力大为降低而导致耐药。修饰酶包括 N-乙酰转移酶(AAC)、腺苷转移酶(ANT)、磷酸转移酶(APH)等。黄和赞等^[16]报道多药耐药 KPN AMEs 阳性率高达 86.9%,以 aac(3)-II、aac(6')-I b 为主,可见 KPN 多药耐药性与携带 AMEs 基因有密切关系。

2 抗菌药物渗透障碍

2.1 生物被膜(BF) BF 是细菌适应环境形成的一种保护性生存方式,是细菌吸附于生物医学材料或机体黏膜表面,分泌多糖蛋白复合物后缠绕并聚集不同细菌隐藏其内部而形成的膜状物。由于 BF 具有屏障作用,其内部细菌得以被保护,从而逃脱免疫和抗菌药物的杀伤作用,使其失效。李乃静等^[17]报道 BF 组 KPN β -内酰胺酶检出率明显高于普通浮游组,原因可能为 BF 菌的特殊结构和生理特性使菌体内抗菌药物浓度显著降低,而低于致死量的抗菌药物更易诱导细菌产生 β -内酰胺酶而导致耐药。Yang 和 Zhang 等^[18]也有类似报道。

2.2 外膜孔蛋白的改变 革兰阴性菌细胞外膜上存在由许多微孔蛋白组成的孔道,溶质可通过孔道进入外周间隙。若微孔蛋白改变或缺失,则抗菌药物难以渗入细菌胞内,导致耐药。孔蛋白的改变能提高细菌耐药性,与灭活酶并存时的耐药程度较灭活酶单独作用时高。Webster 等^[19]发现 OmpK35 和 OmpK36 的缺失可导致 KPN 对美罗培南耐药。OmpK35 和 OmpK36 缺失合并产 β -内酰胺酶可降低 KPN 对碳青霉烯类药物的敏感性^[20-21]。

3 主动外排机制

主动外排机制是 KPN 产生多药耐药性的重要机制之一。KPN 最重要的多药外排系统是 AcrAB-TolC,该系统包括外排转运子 AcrB、周质融合蛋白 AcrA 和外膜通道蛋白 TolC^[22]。主动外排以 ATP 供能,主动将渗入细菌胞内的抗菌药物泵出胞外,外排底物包括 β -内酰胺类、大环内酯类、喹诺酮类等抗菌药物。彭少华等^[23]研究表明,环丙沙星(CIP)耐药 KPN 中 *acrA* 基因的相对含量明显高于敏感组,加入质子泵抑制剂 CCCP 后,菌株菌体内 CIP 浓度明显增加,可达到敏感水平,这对于寻找抑制主动外排的药物具有重要意义。

4 抗菌药物作用靶位改变

4.1 DNA 旋转酶和拓扑异构酶构象变异 *gyrA* 基因和 *parC* 基因分别编码 DNA 旋转酶和拓扑异构酶 IV,其变异导致 DNA 旋转酶和拓扑异构酶 IV 的构象发生变化,使抗菌药物不能与酶-DNA 复合物结合,不能阻止细菌 DNA 的合成,引起 KPN 对喹诺酮类耐药。其中 *gyrA* 基因的变异在细菌耐药中占主导作用,*parC* 基因占次要作用。另一种机制是细菌产生由质粒介导的耐药基因 *qnr*,其编码蛋白与拓扑异构酶 IV 特异性结合,从而减少了喹诺酮类药物的作用靶位,导致细菌耐药。李娟等^[24]对 37 株 KPN 进行 *qnr* 基因检测,其中 18.92%(7 株)为 *qnrS* 基因,且均具有多药耐药性,仅对亚胺培南敏感。Zhang 等^[25]发现 1 株 KPN 同时携带 *qnrB*、*qnrS*、*aac(6')-I b-cr* 基因,并伴有 *gyrA* 基因变异,导致对 CIP 和左氧氟沙星高度耐药。徐艳等^[26]报道 CIP 或左氧氟沙星耐药 KPN 中均可检出 *gyrA* 和 *parC* 基因突变,而 2 株敏感菌中也有 *parC* 基因变异,提示细菌对喹诺酮类的耐药机制复杂,有待深入研究。

4.2 16S rRNA 甲基化酶 细菌通过产 16S rRNA 基因甲基化酶使药物作用靶位(16S rDNA)甲基化,导致甲基化的 16S rDNA 与氨基糖苷类药物的亲和力下降而耐药。产 16S rRNA 甲基化酶的细菌对氨基糖苷类泛耐药,包括耐阿贝卡星。目前从 KPN 中已发现的 16S rRNA 甲基化酶有 RmtB、RmtD、ArmA。Yu 等^[27]发现 *rmtB* 或 *armA* 基因在 KPN 临床分离株中的检出率为 6.2%(21 株),且对妥布霉素、阿米卡星耐药性较高,其中 5 株同时含有 *rmtB* 和 *armA* 基因。

5 基因盒-整合子系统

5.1 基因盒-整合子系统的概念和结构 1989 年 Stokes 等^[28]提出了新的与细菌耐药性的获得和传播相关的基因元件,即整合子。它是能捕获外源基因使其转变为功能性基因的移动性 DNA 分子,常位于染色体、质粒或转座子上,并能在其间移动。1991 年 Hall 等^[29]正式提出基因盒-整合子系统。基因盒-整合子系统具有位点特异性重组功能,能捕获及整合耐药基因,从而导致耐药性的产生及播散。该系统包括 3 个部分:5'/3'端高度保守片段(CS)和其间的可变区。5'CS 由整合酶(Int I)编码基因 *int I*、启动子、基因重组位点 *att I* 构成;可变区含有 1 个或多个基因盒;3'CS 因整合子种类不同而不同。

基因盒是较小(262~1 549 bp)的可移动元件,其中的基因主要为耐药基因。不同基因盒的结构和功能不同,但均包括 1 个通常为耐药基因的开放阅读框(ORF)和位于其下游的重复序列 *attC* 位点。*attC* 位点是被 Int I 识别的特异性整合位点。基因盒常以环环状态独立存在,且本身没有启动子,总是以 5'→3'的方向插入至整合子,在启动子的作用下才能表达。迄今已发现近百种基因盒,覆盖了大多数抗菌药物,如编码对氨基糖苷类耐药的 *aad* 和 *aac* 基因、编码对甲氧磺胺类耐药的 *dfr* 基因以及编码对喹诺酮类耐药的 *qnr* 基因等基因盒。

5.2 基因盒-整合子系统的分类 根据整合子特点和作用的

不同,将整合子分为耐药整合子和超级整合子。也可根据整合酶基因序列的不同,将整合子至少分为 6 类。Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ类整合子为耐药整合子,已明确与耐药性有关。其中Ⅰ、Ⅱ类整合子在捕获和表达耐药基因中最为常见^[30]。报道较多的Ⅳ类整合子为超级整合子,可携带百余种耐药基因盒。KPN 中的整合子多为Ⅰ、Ⅲ类,Ⅱ类整合子携带率较低^[31]。

5.3 整合子对基因盒的捕获和表达 整合子在 Int I 的催化下,通过识别基因盒的交换位点,将游离的耐药基因盒以同一方向整合至自身染色体或者质粒,在启动子带动下进行转录。整合过程包括特异性整合和非特异性整合。特异性整合是指耐药基因盒以线性结构结合于特异交换位点 att I 或 attC,此过程是可逆的,线性基因盒被切下后,由于两端的特殊结构又可恢复环状,并能整合至其他整合子。通过 att I 与 attC 位点、attC 位点之间的位点特异性重组,耐药基因可以从一个整合子向另一个整合子传递,从而导致耐药基因盒的重排、流动。非特异性整合指游离性基因盒不结合于 att I 和 attC 交换位点,而是结合于整合子的非特异交换位点。此时基因盒的表达依赖于整合子上适当方向的启动子,且整合上就不能被切下,这对于细菌耐药性的传播和进化具有重要意义。

5.4 基因盒-整合子系统与 KPN 多药耐药 多数基因盒都含有某种抗菌药物的耐药基因,整合子通过捕获、整合及表达 1 个或多个耐药基因盒使细菌产生多药耐药性。KPN 多药耐药性与基因盒-整合子系统密切相关。顾兵等^[32]从 14 株临床分离 KPN 中发现 64.3%(9 株)存在Ⅰ类整合子,其多药耐药性明显高于整合子阴性菌株,并首次从中检出 dfr2d 和 dfrV 型耐药基因。Pournaras 等^[33]在多药耐药 KPN 的Ⅰ类整合子中发现新的 VIM-12 型金属酶。Penteado 等^[34]对 2 家医院的 9 株多药耐药 KPN 临床分离株进行脉冲电场凝胶电泳,发现均含有 4 kb 的Ⅰ类整合子 In86,并同时携带耐药基因 blaIMP-1、aac(6')-3Ⅰ和 aadAⅠ,且 In86 已在假单胞菌和不动杆菌属中检出,说明整合子可在菌种间流动;其中来自同一医院的 8 株 KPN 可分离出新型的耐药基因 dfr23 的 In87,可见该类型整合子引起了院内播散。整合子在 KPN 多药耐药性的介导及传递中具有重要意义,促进 KPN 不断出现新的耐药方式,对临床治疗提出了严峻挑战。

6 结 语

KPN 的多药耐药机制非常复杂,还有许多机制亟待进一步探索,如耐药基因盒的来源、耐药基因的调节机制等。研究其多药耐药机制有助于指导临床有的放矢地使用抗菌药物、控制 KPN 耐药性的传播、针对耐药机制研发新的抗菌药物等。

参考文献

- [1] 黄汉菊. 医学微生物学[M]. 北京:高等教育出版社,2009:92.
- [2] Ben Achour N,Mercuri PS,Ben Moussa M,et al. Characterization of a novel extended-spectrum TEM-type b-Lactamase, TEM-164, in a clinical strain of *Klebsiella pneumoniae* in Tunisia[J]. Microb Drug Resist,2009,15(3):195-199.
- [3] 王运铎,范艳萍,张毅华. 产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯杆菌的基因型分型及耐药分析[J]. 实用医学杂志,2007,23(19):3087-3790.
- [4] Papanicolaou GA,Medeiros AA,Jacoby GA. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Agents Chemother,1990,34(11):2200-2209.

- [5] Singtohin S,Chanawong A,Lulitanond A,et al. CMY-2,CMY-8b, and DHA-1 plasmid-mediated AmpC β -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from a university hospital,Thailand[J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2010,68(3):271-277.
- [6] Zhu YL,Zhang XN,Gao F,et al. ACT-6,a novel plasmid-encoded class C β -lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China[J]. J Antibiot (Tokyo),2011,64(4):317-320.
- [7] Yigit H,Queenan AM,Anderson GJ,et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Agents Chemother,2001,45(4):1151-1161.
- [8] Bratu S,Mooty M,Nichani S,et al. Emergence of KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn,New York;epidemiology and recommendations for detection[J]. Antimicrob Agents Chemother,2005,49(7):3018-3020.
- [9] Landman D,Bratu S,Kochar S,et al. Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn,N. Y[J]. J Antimicrob Chemother,2007,60(1):78-82.
- [10] Wei ZQ,Du XX,Yu YS,et al. Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China[J]. Antimicrob Agents Chemother,2007,51(2):763-765.
- [11] 黄支密,糜家睿,盛以泉,等. 携带 blaKPC-2 型碳青霉烯酶基因泛耐药致肺炎克雷伯菌感染的暴发[J]. 世界感染杂志,2010,10(1-2):17-21.
- [12] Kontopoulou K,Protonotariou E,Vasilakos K,et al. Hospital outbreak caused by *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 beta-lactamase resistant to colistin[J]. J Hosp Infect,2010,76(1):70-73.
- [13] Elemam A,Rahimian J,Mandell W. Infection with panresistant *Klebsiella pneumoniae*;a report of 2 cases and a brief review of the literature[J]. Clin Infect Dis,2009,49(2):271-274.
- [14] Yong D,Toleman MA,Giske CG,et al. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene,bla(NDM-1),and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India[J]. Antimicrob Agents Chemother,2009,53(12):5046-5054.
- [15] Kumarasamy KK,Toleman MA,Walsh TR,et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India,Pakistan,and the UK;a molecular,biological,and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis,2010,10(9):597-602.
- [16] 黄和赞,张文庆,毛一鸣,等. 肺炎克雷伯菌多重耐药性及氨基糖苷类修饰酶基因研究[J]. 实验与检验医学,2008,26(5):481-483.
- [17] 李乃静,李岩,潘作东,等. 生物被膜肺炎克雷伯杆菌 AmpC 酶、超广谱 β -内酰胺酶的检测[J]. 中国临床药理学与治疗学,2008,13(4):384-387.
- [18] Yang D,Zhang Z. Biofilm-forming *Klebsiella pneumoniae* strains have greater likelihood of producing extended-spectrum β -lactamases[J]. J Hosp Infect,2008,68(4):369-371.
- [19] Webster DP,Gaulton T,Woodford N,et al. Emergence of carbapenem resistance due to porin loss in an extended-spectrum-lactamase(ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* strain during meropenem therapy[J]. Int J Antimicrob Agents,2010,36(6):575-576.
- [20] Gülmez D,Woodford N,Palepou MF,et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein

- loss[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(6): 523-526.
- [21] Conejo MC, Hernández JR, Pascual A. Effect of porin loss on the activity of tigecycline against *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases or plasmid-mediated AmpC-type β -lactamases[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2008, 61(3): 343-345.
- [22] Schneiders T, Amyes SG, Levy SB. Role of AcrR and ramA in fluoroquinolone resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Singapore[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(9): 2831-2837.
- [23] 彭少华, 聂署萍, 吴琼. 主动外排系统与肺炎克雷伯菌耐药关系研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(9): 965-968.
- [24] 李娟, 李从荣, 黄俊, 等. 肺炎克雷伯菌中质粒介导耐喹诺酮类耐药基因 qnr 的流行现状及耐药特征[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(4): 28-29.
- [25] Zhang F, Pan YH, Lu GZ, et al. Discovery of a *Klebsiella pneumoniae* isolate with multiple quinolone-resistant mechanisms in China[J]. J Hosp Infect, 2010, 76(2): 181-182.
- [26] 徐艳, 付英梅, 张文莉, 等. 肺炎克雷伯菌 gyrA 基因与 parC 基因的突变研究[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(4): 350-352.
- [27] Yu F, Wang L, Pan J, et al. Prevalence of 16S rRNA methylase genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a Chinese teaching hospital: coexistence of rmtB and armA genes in the same isolate[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 64(1): 57-63.
- [28] Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons[J]. Mol Microbiol, 1989, 3(12): 1669-1683.
- [29] Hall RM, Brookes DE, Stokes HW. Site-specific insertion of genes into integrons: role of the 59-base element and determination of the recombination cross-over point[J]. Mol Microbiol, 1991, 5(8): 1941-1959.
- [30] Yang CM, Lin MF, Lin CH, et al. Characterization of antimicrobial resistance patterns and integrons in human fecal *Escherichia coli* in Taiwan[J]. Jpn J Infect Dis, 2009, 62(3): 177-181.
- [31] 李涛, 卢义柱, 凌华志, 等. 肺炎克雷伯菌 II 类整合子的分布及结构分析[J]. 临床输血与检验, 2007, 9(3): 197-199.
- [32] 顾兵, 童明庆, 刘根焰, 等. 整合子介导大肠埃希菌和克雷伯菌多重耐药机制的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(8): 725-729.
- [33] Pournaras S, Ikonomidis A, Tzouveleakis LS, et al. VIM-12, a novel plasmid-mediated metallo-beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae* that resembles a VIM-1/VIM-2 hybrid[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(12): 5153-5156.
- [34] Penteado AP, Castanheira M, Pignatari AC, et al. Dissemination of blaIMP-1-carrying integron In86 among *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring a new trimethoprim resistance gene dfr23[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 63(1): 87-91.

(收稿日期: 2011-12-09)

• 综 述 •

γ -干扰素诱导蛋白 10 在结核病诊断中的研究进展

龚春竹 综述, 朱朝敏[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科, 重庆 400014)

关键词: γ -干扰素诱导蛋白 10; 结核; 诊断; 综述**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.06.049**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2012)06-0738-03

据世界卫生组织估计, 全球有约 20 亿结核分枝杆菌(MT)感染患者, 每年有约 200 万人死于结核病^[1]。结核病的早期诊断对患者预后及疫情控制都至关重要^[2]。传统诊断方法存在较多不足: 痰涂片镜检检出率低, 普通微生物培养法耗时长, 结核抗体检测灵敏度和特异性较低^[3]。结核菌素皮内试验(TST)是结核病快速诊断的惟一方法, 但接种卡介苗以及非结核分枝杆菌的存在均可导致假阳性结果, 其检测灵敏度易受患者年龄、机体免疫及营养状态影响^[4]。 γ -干扰素(IFN- γ)释放试验(IGRAs)亦可用于结核病的诊断, 但受患者年龄的影响大, 对婴幼儿患者的诊断灵敏度较低^[5]。虽有研究显示体液新喋呤水平检测有助于肺结核诊断, 但尚待更多的试验支持^[6]。众多研究证实 INF- γ 诱导蛋白 10(IP-10)是可用于结核病诊断的新的生物标记物。

1 IP-10 诊断结核病的研究概况

1.1 IP-10 生物学特点 Luster 等^[7]于 1985 年在活化的 U937 细胞株中证实 IP-10 的存在, 又名 CXCL10, 被认为是 CXC 家族中惟一能够吸引单核细胞、自然杀伤细胞和 T 淋巴细胞的趋化因子。IP-10 具有多种重要的生物学功能, 参与很多疾病的发生、发展。IP-10 能作为趋化因子介导 Th1 型炎症反应, 与肺结核、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等疾病发病

有关, 也可调控肿瘤血管生成。CXCR3 是 IP-10 的惟一受体^[8]。CXCR3 主要表达于髓系白细胞亚群、肺泡细胞、上皮细胞、血管内皮细胞等。IP-10 与靶细胞 CXCR3 结合后, 通过一系列信号转导途径介导免疫细胞的迁移、活化, 而活化的免疫细胞则通过细胞表面受体结合各种抗原, 启动细胞内信号转导, 诱导大量相关细胞因子的表达, 启动细胞因子级联反应, 从而激活先天及特异性免疫应答系统。

1.2 IP-10 用于结核病诊断的原理 人体感染 MT 后可形成结核性肉芽肿, 后者通过在健康组织与 MT 之间形成隔离带而有利于吞噬和杀灭病菌。免疫细胞, 特别是淋巴细胞在结核免疫中有重要作用。IP-10 具有强大的趋化淋巴细胞的能力, 故在结核免疫中发挥重要作用。Walrath 等^[9]的研究表明, 在结核菌素试验阳性患者支气管滴注 0.5 U 的结核菌素后, 滴注局部组织出现淋巴细胞聚集和炎症反应, 聚集的淋巴细胞以 CD4⁺ 淋巴细胞为主, 并高水平表达 INF- γ , 推测可能与结核菌素滴注组织大量分泌的 IP-10 与支气管细胞上的 CXCR3 结合, 趋化活化淋巴细胞至炎症部位并分泌 INF- γ 有关。生理状态下, T 细胞仅分泌少量 IP-10 因此, IP-10 水平检测可辅助诊断结核病。

1.3 IP-10 的检测 就检测标本而言, 多数研究以血液作为

[△] 通讯作者, E-mail: zhuchaomin@yahoo.com.cn。