

[20] Pibalkpakdeea P, Wongratanacheewinb S, Taweechaisupapong S, et al. Diffusion and activity of antibiotics against *Burkholderia pseudomallei* biofilms[J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(4): 356-359.

[21] Roesnita B, Tay ST, Puthucheary SD, et al. Diagnostic use of *Burkholderia pseudomallei* selective media in a low prevalence setting[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2012, 106(1): 131-133.

[22] Mima T, Kvitko BH, Rholl DA, et al. In vitro activity of BAL30072 against *Burkholderia pseudomallei*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 38(3): 157-159.

[23] Thamlikitkul V, Trakulsomboon S. In vitro activity of doripenem against *Burkholderia pseudomallei* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(7): 3115-3117.

[24] Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(2): 383-416.

[25] Novak RT, Glass MB, Gee JE, et al. Development and evaluation of a real-time PCR assay targeting the type III secretion system of *Burkholderia pseudomallei*[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(1): 85-90.

[26] Chanchamroen S, Kewcharoenwong C, Sussaengrat W, et al. Human polymorphonuclear neutrophil responses to *Burkholderia pseudomallei* in healthy and diabetic subjects[J]. Infect Immun, 2009, 77(1): 456-463.

[27] Weissert CH, Dollenmaier G, Rafeiner P, et al. *Burkholderia pseudomallei* misidentified by automated system[J]. Emerg Infect Dis, 2009, 29(11): 1799-1801.

[28] Sidrim JJC, Rocha MFG, Bandeira TJPG, et al. Mycotic aneurysm caused by *Burkholderia pseudomallei*: report of a Brazilian strains [J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(9): 719-721.

(收稿日期: 2012-01-21)

• 综 述 •

鲍曼不动杆菌多重耐药机制研究进展*

宋彩虹 综述, 陈维贤[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院检验科 400010)

关键词: 鲍氏不动杆菌; 抗药性, 多药; β 内酰胺酶类; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 15. 028 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2012)15-1856-03

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)是一类广泛存在于自然界的革兰阴性条件致病菌,是目前引起医院感染最主要的病原菌之一^[1]。近年来,鲍曼不动杆菌的耐药情况日趋严重,具有多重耐药、高耐药水平及存在地域性差异的特点,其在世界各地的爆发流行引起的感染已对全球的公众健康构成威胁。鲍曼不动杆菌的耐药机制非常多而复杂,主要有产生多种水解抗菌药物的灭活酶、青霉素结合蛋白的改变、外膜通道蛋白表达下调或缺如、主动外排泵活性增加,以及质粒、整合子等携有多种耐药基因的移动元件的传播作用等,多重耐药常是多种耐药机制共存的结果^[2],本文就鲍曼不动杆菌的多重耐药相关机制作一综述,重点介绍水解酶类研究进展。

1 产生多种水解抗菌药物的灭活酶

鲍曼不动杆菌产生多种水解抗菌药物的灭活酶是耐药鲍曼不动杆菌最重要的耐药机制。

1.1 β -内酰胺酶 β -内酰胺酶主要包括 A 类超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamase, ESBLs)、B 类金属 β -内酰胺酶(metallo- β -lactamase, MBL)、C 类头孢菌素酶(AmpC 酶)和 D 类苯唑西林酶(oxacillinases, OXA)。 β -内酰胺酶是一群数量相当庞大的抗菌药物灭活酶,作用于 β -内酰胺类抗生素的 β -内酰胺环,使酰胺键断裂而失去抗菌活性。鲍曼不动杆菌中已发现多种 β -内酰胺酶基因,但各地发现或流行的 β -内酰胺酶型别不同,导致细菌的耐药特性也不尽相同,产 β -内酰胺酶是鲍曼不动杆菌耐药的主要机制,其中超广谱 β -内酰胺酶和头孢菌素酶是介导其耐药的最主要的两种酶。

1.1.1 超广谱 β -内酰胺酶 ESBLs 是一类由质粒介导的 β -内酰胺类酶,大部分属 A 类酶,少量属于 D 类酶,据编码基因的

同源性可分为 TEM 型、SHV 型和非 TEM、SHV 型(包括 PER 型、CTX-M 型、SHV 型、SIM 型、VEB-1 型及 OXA 型等)^[3]。该酶类家族成员超过 200 多种,大多数都是 TEM 和 SHV 型金属酶的变异体,能水解青霉素类、广谱的头孢菌素及单环类等抗生素,从而引起对这些抗菌药物的耐药,但可受到克拉维酸、舒巴坦和他唑巴坦等酶抑制剂的抑制作用。ESBLs 基因位于质粒上,可在同种甚至不同种菌株之间转移和传播,从而介导耐药菌株的流行。由于各地 ESBLs 基因和抗生素使用情况不同,造成各地产 ESBLs 菌株耐药性表现出多样化。已在鲍曼不动杆菌中发现的 ESBLs 基因型主要有 TEM、SHV、CTX、PER-1 和 VEB-1。TEM-1 是革兰阴性菌中最为常见的 β -内酰胺酶,绝大多数的 TEM 都是由 TEM-1 衍生而来^[4]。SHV-2 是被报道的第 1 个 ESBLs,所有的 SHV 都是由 SHV-1 基因点突变衍生而来,SHV 型以 SHV-12 为代表,有研究发现 30% 鲍曼不动杆菌携带 SHV 酶^[2,5]。我国鲍曼不动杆菌 ESBLs 基因型仍以 TEM-1 型为主,但 SHV-5、12、2a 型 ESBLs 亦有报道^[6]。PER-1 是最先在鲍曼不动杆菌中发现的 ESBLs,PER-1 型酶具有克隆多样性的特点,产 PER-1 型酶的鲍曼不动杆菌菌株对青霉素和广谱头孢菌素类显示出较高水平的耐药,但不会导致对碳青霉烯类抗生素耐药。产 PER-1 型酶菌株主要在土耳其和韩国流行,在匈牙利、罗马尼亚、俄罗斯和中国分布也较广泛^[4],在法国、玻利维亚、美国也有该型酶的报道^[2]。在南美发现了能产 ESBLs 的与 PER-1 有较远亲缘关系的 PER-2^[7]。VEB 型由位于整合子的基因编码,定位于 1 类整合子,包括 VEB-1、VEB-1a、VEB-1b 和 VEB-2。其中 VEB-1 是较为常见的一种 ESBLs,是鲍曼不动杆菌中第二重要的

* 基金项目:“十一五”科技重大专项“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”——“传染病监测技术平台项目(2009ZX10004)”。
[△] 通讯作者, E-mail: achell@163. com。

ESBLs,曾在法国和比利时引起医院内暴发流行,在东南亚亦曾检测到 VEB-1^[8]。CTX-M 型包括 CTX-M1-10、Toho-1 和 Toho-2,CTX-M 型以 CTX-M-2 最为常见,主要分布于东欧、南美、中国和日本以及远东地区,而 Toho-1 和 Toho-2 则仅限于日本^[4,9]。

1.1.2 金属 β -内酰胺酶 金属 β -内酰胺酶因催化其活性需要如 Zn^{2+} 等的金属离子而得名,简称金属酶,属于质粒介导的 B 类酶。金属酶能够水解包括碳青霉烯类在内的几乎所有 β -内酰胺类抗菌药物,且对 β -内酰胺酶抑制剂不敏感。金属酶根据基因同源性可分成 B1、B2、B3 三组结构亚型,在鲍曼不动杆菌中发现的主要是 B1 亚型,包括 IMP 类、VIM 类和 SIM-1 类。目前报道较多的 IMP 有 IMP-1、IMP-2、IMP-4、IMP-5、IMP-6、IMP-8 和 IMP-11^[4,8]。IMP-1 在 1988 年最初见于铜绿假单胞菌,2000 年在日本分离的耐亚胺培南鲍曼不动杆菌中检测到,1999 年从意大利的多重耐药鲍曼不动杆菌中检测到 IMP-1 等位基因的变异体 IMP-2^[2,10]。从葡萄牙分离的鲍曼不动杆菌检测到 IMP-5,与 IMP-1、IMP-2 和 IMP-4 具有高度同源性。在巴西分离到的一株高度耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌中检测到 IMP-6。此外,还有 IMP-11 和 IMP-8 分别在日本和中国的鲍曼不动杆菌中被发现。在中国香港和日本都曾几种 IMP 亚型在鲍曼不动杆菌中的共同存在的报道^[2]。由 IMP 型 MBLs 介导的碳青霉烯类耐药是目前困扰环太平洋国家的严重问题。VIM 型金属酶家族包括 VIM-1、VIM-2、VIM-3 及 VIM-4。VIM 型金属酶在鲍曼不动杆菌不易被鉴定,2002 年 Yum 等^[11]才在韩国分离的鲍曼不动杆菌中首次发现了 VIM-2 酶,位于质粒中。此外,还在希腊发现有 VIM-1 及 VIM-4 金属酶^[12]。最近从韩国鲍曼不动杆菌中分离的金属酶多种多样,提示韩国的 MBLs 具有多样性,首尔耐碳青霉烯酶(SIM-1)是一新兴的金属酶,是 B1 亚型的一种^[13]。鲍曼不动杆菌中 IMP、VIM 及 SIM 基因均可嵌入 I 类整合子中,对其支持基因的分析显示出相似的基因结构^[14]。虽然 MBLs 不是鲍曼不动杆菌中最主要的耐碳青霉烯酶,但 MBLs 编码基因可在鲍曼不动杆菌间广泛传播,也可转移到其他的相关菌株,致使 IMP 和 VIM 型金属酶在世界各地广泛传播。

1.1.3 AmpC 酶 AmpC 酶是由染色体或质粒介导产生的一类 β -内酰胺酶,属于 C 类酶,能水解包括青霉素、头孢菌素和单环酰胺类在内的许多 β -内酰胺类抗生素,但对碳青霉烯类、第四代头孢菌素和喹诺酮类敏感,由于其优先水解头孢菌素故 AmpC 酶又被称为头孢菌素酶,是鲍曼不动杆菌对第三代头孢菌素耐药的主要原因。AmpC 酶(CMY-1)最先于 1989 年在韩国被发现,Bou 和 Martinez-Beltrán^[15]首次报道了耐药鲍曼不动杆菌株产生的染色体型 AmpC 酶。AmpC 酶可分为染色体型(ADC)和质粒型(DHA),耐药鲍曼不动杆菌中最常见的为 ADC 型 AmpC 酶,但近年由质粒介导的 AmpC 酶在世界各地均有报道。绝大多数革兰阴性杆菌在自然状态下都具有产 AmpC 酶的能力,但通常产量极少在临床上并不导致耐药的形成;但 AmpC 具有极易自发突变的调节基因,当调节基因突变或在各种 β -内酰胺类抗生素的诱导作用下,可使 AmpC 酶持续大量产生,导致细菌对除碳青霉烯类之外的所有 β -内酰胺类抗生素耐药^[16]。ESBLs 和 AmpC 酶是介导鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺酶类抗生素耐药最主要的两种酶,因此当具有持续高产 AmpC 酶的细菌,同时拥有产 ESBLs 的能力时其耐药性将极其严重,临床治疗也会十分棘手。Mak 等^[17]报道 88.0% 耐药鲍曼不动杆菌的 AmpC 基因上游存在插入序列 ISAbal,该插

入序列能够使 AmpC 基因的表达增加,从而使耐药谱扩大及对抗头孢他啶高水平耐药。

1.1.4 苯唑西林酶 苯唑西林酶又称为 OXA 碳青霉烯酶,属于 D 类酶,是鲍曼不动杆菌中最常见的耐碳青霉烯酶,目前已经在鲍曼不动杆菌中发现的 OXA 碳青霉烯酶有二十余种,且新的酶仍在不断的被发现。OXA 根据基因同源性可以分为 8 组,其中主要有 4 个亚群与鲍曼不动杆菌耐药有关,即 OXA-23、OXA-24、OXA-51 和 OXA-58^[18]。OXA-51 是位于染色体上的固有基因,广泛存在于大多数鲍曼不动杆菌中,其编码的 OXA-51 型酶是 2004 年于阿根廷最先从鲍曼不动杆菌中分离出的较新的碳青霉烯酶^[19],对亚胺培南的水解率很高。OXA-23、OXA-24 和 OXA-58 为获得性的耐药基因,如其他很多 OXA 基因亚群一样,通常位于质粒和(或)整合子等移动性基因盒上,具有很强的在菌株间水平播散的能力。一些 OXA 酶对碳青霉烯类的降解作用并不是很强,但当相应编码基因过度表达、多种碳青霉烯酶共同作用,并联合外膜通透性降低和(或)外排泵的高表达等多种耐药机制的共同作用下,可导致对碳青霉烯类抗生素高水平的耐药^[20]。OXA-23 是鲍曼不动杆菌耐药机制中研究最多的,作为鲍曼不动杆菌中发现的第一个 D 类碳青霉烯酶于 1985 年在苏格兰被报道。近年,大量的 OXA 型酶被报道出现在包括苏格兰、西班牙、法国、日本、新加坡、中国、巴西、古巴和科威特等全球多个地区^[21]。我国流行最广的是 blaOXA-23 和 blaOXA-51 基因型,90% 以上耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌均能产 OXA-23 型碳青霉烯酶^[22]。OXA-58 是由质粒介导的碳青霉烯酶,被发现在法国、英国、阿根廷、西班牙、土耳其、罗马尼亚、奥地利、希腊、苏格兰和科威特^[20,23]。欧洲国家主要检测出 OXA-23、40、58,捷克主要为 OXA-51,从伊拉克返国的美国和英国的战伤士兵中主要检测出 OXA-23、58^[19,20]。blaOXA-23、blaOXA-51 和 blaOXA-58 基因的表达受上游插入序列 ISAbal、ISAbal2、ISAbal3 或 IS18 的调控,从而增加相应金属酶的表达,加强对碳青霉烯类抗生素的水解作用^[9,21]。

1.2 其他类型灭活酶

1.2.1 鲍曼不动杆菌产生多种修饰酶(AMEs)按酶功能可分为乙酰转移酶(AAC)、核苷转移酶(ANT)和磷酸转移酶(APH)3 大类共五十余种,能修饰氨基糖苷类的特定基团,使其共价键发生改变,使药物不易进入菌体及与细菌内靶位结合,从而导致耐药,是氨基糖苷类抗生素耐药的主要机制。在鲍曼不动杆菌中检出常见的氨基糖甙修饰酶编码基因有 aac(3)-I、aac(3)-II、aac(3)-III、aac(3)-IV、aac(6)-I、ant(2'')-I、ant(3'')-I、aphA1、aphA6 等,常为一菌株中多种修饰酶基因同时存在^[24]。不同国家和地区细菌的修饰酶基因分布有很大差异。

1.2.2 16S rRNA 甲基化酶是近年来新发现的鲍曼不动杆菌对氨基糖甙类耐药机制。该酶能使氨基糖苷类药物的作用靶位 30S 核糖体甲基化,使 30S 核糖体与氨基糖苷类药物结合亲和力和力下降,从而导致对氨基糖甙类药物形成高度耐药。目前在革兰阴性菌中发现包括 armA、rmtA、mtA、rmtB、mtC、mtD 和 npmA1 共 6 种 16S rRNA 甲基化酶基因^[25]。虽然目前 16S rRNA 甲基化酶在全世界较少国家被报道,如日本、韩国、中国、法国、西班牙及巴西等,且均为散在流行。但 16S rRNA 甲基化酶和修饰酶基因均位于整合子、质粒等可移性遗传元件上,易使耐药基因能在细菌间进行水平传播。

1.2.3 DNA 旋转酶和拓扑异构酶是氟喹诺酮类药物的靶位

点,当编码其酶的基因 *gyrA* 和 *parC* 发生的单一或双重基因突变时,可导致氟喹诺酮类药物与酶-DNA 复合物亲和力下降,从而可导致氟喹诺酮类药物耐药^[24]。

2 其他耐药机制

除上述产生水解酶的机制之外,鲍曼不动杆菌还存在一些其他机制引起药物耐受。包括青霉素结合蛋白 (penicillin-binding proteins, PBPs) 的改变,外膜通道蛋白表达下调或缺失,染色体介导的主动外排等。尤其是整合子 (integron) 的形成和传播,加速了多重耐药的积累和播散^[25]。因相关介绍较多,不再赘述。

鲍曼不动杆菌的耐药情况日趋严重,涉及多种机制,并可能带来严重后果。医院应加强手卫生、消毒隔离等感控措施,合理使用抗生素,并加强对临床耐药菌株的监测,以防止鲍曼不动杆菌多重耐药的进一步恶化。

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] Perez F, Hujer AM, Hujer KM, et al. Global challenge of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 51(10): 3471-3484.
- [3] Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum beta-lactamases in Gram-negative rods[EB/OL]. Infect Genet Evol, [2012-02-08]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid>.
- [4] Govinden U, Mocktar C, Moodley P, et al. Geographical evolution of the CTX-M β -lactamase—an update[J]. Afr J Biotechnol, 2007, 6(7): 813-839.
- [5] Mehrgan H, Rahbar M. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran[J]. J Antimicrob Agents, 2008, 31(2): 147-151.
- [6] 黄支宽, 陈榆, 毛培华, 等. 鲍曼不动杆菌耐药性及 β 内酰胺酶基因型研究[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(11): 683-685.
- [7] Pino IC, Dominguez M, González G, et al. Extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) production in *Acinetobacter baumannii* strains isolates from Chilean hospitals belonging to VIII region[J]. Rev Chilena Infectol, 2007, 24(2): 137-141.
- [8] Zhao WH, Hu ZQ. VIM-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli: distribution of the VIM-producing Gram-negative bacilli[J]. Future Microbiol, 2011, 6(3): 317-333.
- [9] Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options[J]. J Clin Infect Dis, 2008, 46(8): 1254-1263.
- [10] Nishio H, Komatsu M, Shibata N, et al. Metallo-lactamase-producing gram-negative bacilli: laboratory-based surveillance in cooperation with 13 clinical laboratories in the Kinki region of Japan[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(11): 5256-5263.
- [11] Yum JH, Yi K, Lee H, et al. Molecular characterization of metallo-beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter genomospecies 3* from Korea: identification of two new integrons carrying the blaVIM-2 gene cassettes[J]. J Antimicrob Chemother, 2002, 49(5): 837-840.
- [12] Figueiredo S, Poirel L, Papa A, et al. First identification of VIM-4 metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* spp[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(3): 289-290.
- [13] Lee K, Lee WG, Uh Y, et al. VIM-type and IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. In Korean hospitals[J]. Emerg Infect Dis, 2003, 9(7): 868-871.
- [14] Nordmann P, Poirel L. *Acinetobacter baumannii*-basic and emerging mechanisms of resistance[J]. European Infectious Disease, 2008, 2(2): 94-97.
- [15] Bou G, Martinez-Beltrán J. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*[J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 44(2): 428-432.
- [16] Peter-Getzlaff S, Polsfuss S, Poledica M, et al. Detection of AmpC beta-lactamase in *Escherichia coli*: comparison of three phenotypic confirmation assays and genetic analysis[J]. Clin Microbiol, 2011, 49(8): 2924-2932.
- [17] Mak JK, Kim MJ, Pham J, et al. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multiple drug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(1): 47-54.
- [18] Mendes RE, Spanu T, Deshpande L, et al. Clonal dissemination of two clusters of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 or OXA-58 in Rome, Italy[J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(6): 588-592.
- [19] Brown S, Young HK, Amyes SG. Characterization of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of Argentina[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(1): 15-23.
- [20] Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, et al. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(2): 233-238.
- [21] Mugnier PD, Poirel L, Naas T, et al. Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii* [J]. Emerg Infect Dis, 2010, 16(1): 35-40.
- [22] Zhou H, Pi BR, Yang Q, et al. Dissemination of imipenem resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the ISAbal blaOXA-23 genes in a Chinese hospital[J]. J Med Microbiol, 2007, 56(8): 1076-1080.
- [23] Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, et al. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities[J]. J Infect Dev Ctries, 2009, 3(5): 335-341.
- [24] Nemec A, Dolzani L, Brisse S, et al. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones [J]. J Med Microbiol, 2004, 53(Pt 12): 1233-1240.
- [25] 吴琼, 倪语星. 一种新的氨基糖苷类耐药决定因子: 质粒介导的 16s rRNA 甲基化酶[J]. 微生物与感染, 2009, 4(1): 45-48.

(收稿日期: 2012-01-18)