

fections, and inflammatory diseases[J]. Clin Immunol, 2009, 133(3):314-323.

[16] Mokuda S, Doi O, Takasugi K. Simultaneous quantitative analysis of the expression of CD64 and CD35 on neutrophils as markers to differentiate between bacterial and viral infections in patients with rheumatoid arthritis[J]. Mod Rheumatol, 2012, 22(5):750-757.

[17] Nuutila J. The novel applications of the quantitative analysis of neutrophil cell surface FcγRIIb(CD64) to the diagnosis of infectious and inflammatory diseases[J]. Curr Opin Infect Dis, 2010, 23(3):268-274.

[18] Lilius EM, Nuutila J. Bacterial infections, DNA virus infections, and RNA virus infections manifest differently in neutrophil receptor expression[J]. Scientific World Journal, 2012, 2012:527347.

[19] Doi T, Miyazaki T, Nishino J, et al. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for local infection and crystal-induced arthritis[J]. Mod Rheumatol, 2010, 20(6):573-579.

[20] Allen E, Bakke AC, Purtzer MZ, et al. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections[J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61(6):522-525.

[21] Komiya A, Matsui T, Nogi S, et al. Neutrophil CD64 is upregulated in patients with active adult-onset Still's disease[J]. Scand J

Rheumatol, 2012, 41(2):156-164.

[22] Migita K, Agematsu K, Yamazaki K, et al. Expression of CD64 on polymorphonuclear neutrophils in patients with familial Mediterranean fever[J]. Clin Exp Immunol, 2011, 164(3):365-372.

[23] Matsui T, Komiya A, Shimada K, et al. Neutrophil CD64 as a marker of infection in patients treated with tocilizumab[J]. Mod Rheumatol, 2009, 19(6):696-697.

[24] Weinmann P, Moura RA, Caetano-Lopes JR, et al. Delayed neutrophil apoptosis in very early rheumatoid arthritis patients is abrogated by methotrexate therapy[J]. Clin Exp Rheumatol, 2007, 25(6):885-887.

[25] Bunescu A, Seideman P, Lenkei R, et al. Enhanced FcγRIIb receptor I, αMβ2 integrin receptor expression by monocytes and neutrophils in rheumatoid arthritis: interaction with platelets[J]. J Rheumatology, 2004, 31(12):2347-2355.

[26] Fueledner C, Mittag A, Knauer J, et al. Identification and evaluation of novel synovial tissue biomarkers in rheumatoid arthritis by laser scanning cytometry[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(1):R8.

(收稿日期:2013-01-08)

• 综 述 •

多药耐药铜绿假单胞菌研究进展

王丽娟¹, 徐修礼², 史皆然¹, 刘冰¹, 孙慧英¹, 白艳玲¹, 马春丽¹综述, 李武平¹审校
(第四军医大学西京医院:1. 感染管理科;2. 检验科, 陕西西安 710032)

关键词:假单胞菌, 铜绿; 生物学特性; 危险因素; 抗药性, 微生物; 防治

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 13. 035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1713-03

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)属革兰阴性杆菌, 为一种能引起人和动物感染的条件致病菌, 是导致医院感染的重要菌属。美国疾病控制中心(CDC)的院内感染监测(NNIS)报告指出:从1990年1月到1996年3月, 铜绿假单胞菌在所有院内感染致病菌中排第5位, 在革兰阴性菌中排第2位^[1]。我国全国性革兰阴性菌耐药监测(NPRS)数据显示:从1994年到2001年, 铜绿假单胞菌在所有院内感染革兰阴性菌中排第1位^[2-3]。随着抗菌素的广泛使用, 铜绿假单胞菌的多重耐药现象越来越严重, 给临床抗感染治疗带来了难题。对3种或3种以上的抗菌素耐药的铜绿假单胞菌被称为多药耐药铜绿假单胞菌(MDRPA), 1996年台北大学附属医院 Hsueh 等^[4]从1例烧伤患者伤口处分离到我国台湾地区第1株泛耐药菌株。2004年北京协和医院报道有44例MDRPA院内感染, 病死率为55%^[5]。近年MDRPA的检出率逐年上升, 其高耐药性引起了国内外同行的重视。作为超级细菌, 对其进行生物学特性、感染危险因素、耐药机制及防治等研究具有重要的意义。

1 生物学特性

铜绿假单胞菌俗称绿脓杆菌, 为革兰阴性杆菌, 是人体内的正常菌群, 为专性需氧菌, 最适生长温度为25~30℃, 广泛分布于医院环境, 是临床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的重要致病菌, 烧伤创面渗液、潮湿的特性更有利于铜绿假

单胞菌的定植。PA的致病机制复杂, 主要由于:(1)黏附素, 包括胞外荚膜、IV型菌毛、LPS等。(2)分泌能够破坏细胞、组织的胞外产物, 如荧光色素、蛋白酶、磷脂酶、ADP-糖基转移酶等。(3)外膜、胞浆及内膜所携带的致病因子, 如β-内酰胺酶、外膜蛋白及青毒素结合蛋白(PBPs)。(4)生物膜障碍与主动转运系统及耐药质粒的存在阻止药物到达其靶位。这些因素共同构成了多药耐药铜绿假单胞菌的致病机制。

2 感染危险因素

2.1 年龄 老年患者多脏器功能衰退, 表现为T淋巴细胞减少, 机体免疫力下降, 易引起病原菌感染及定植。国内文献报道的老年科患者常见病原菌分布情况显示, 铜绿假单胞菌目前已成为老年患者医院感染的主要致病菌, 检出率为28.2%, 占致病菌之首^[6]。

2.2 基础疾病 烧伤患者创面潮湿为细菌定植创造有利条件, 宋启发等^[7]研究结果显示烧伤病房的多耐药铜绿假单胞菌的分离率高达75%。PA也是重要的呼吸道感染致病菌之一, 且耐亚胺培南铜绿假单胞菌(imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, IRPA)分离率可高达35%^[8], 与呼吸系统疾病病程长, 使用抗菌素过久有关。

2.3 接受侵入性操作 侵入性操作不同程度引起机械性损伤, 破坏人体正常屏障, 降低防御保护功能, 增加感染机会。感染严重的机械通气患者, 在气管插管的内壁上易形成细菌生物膜, 从而促进了细菌耐药性的发展^[9-10]。Kischke等^[11]报道,

运用纤维支气管镜检查、吸痰可导致 PA 院内传播。此外,留置导尿致尿道黏膜损伤,可增加铜绿假单胞菌感染机会。

2.4 抗菌素的使用 未根据药物敏感实验结果,而选用广谱抗菌药物是使细菌耐药的重要原因。应用氟喹诺酮类药和 β 内酰胺类(如阿莫西林-克拉维酸、第三代头孢菌素或亚胺培南)是导致多重耐药铜绿假单胞菌医院感染的危险因素。谢翠娥等^[12]研究发现产生 MDRP 的危险系数依次为亚胺培南(44)、环丙沙星(9.2)、哌拉西林(5.2)、头孢他啶(0.8)。因此,亚胺培南也是造成医院 MDRP 感染的重要危险因素之一。抗菌素的使用时长与耐药性也有关系,Philippe 等^[13]证实,从暴露于抗菌素到分离出铜绿假单胞菌的中位时间依次为:全敏感菌(SPE)0 d,多药耐药菌(MDRPA,对 3 种抗菌素耐药)11 d,高度耐药菌(HRPA,对 6 种或 6 种以上抗菌素耐药)24 d。

3 耐药机制

随着临床抗菌药物的广泛应用,所有广谱抗菌素对铜绿假单胞菌的敏感性都在下降,给治疗感染带来了很大的困难。多药耐药铜绿假单胞菌的耐药机制复杂,包括外膜通透性障碍、作用靶位改变、产生灭活酶、形成生物膜等等。

3.1 外膜通透性障碍 Zavascki 等^[14]进行实验研究表明,抗菌素的选择压力和长时间使用加快了细菌突变的速度,铜绿假单胞菌更易丢失外膜蛋白,导致多药耐药。Farra 等^[15]、Giske 等^[16]的研究证明外膜孔蛋白 D2 缺失或低表达常是导致铜绿假单胞菌对碳青霉烯类耐药的重要原因。

3.2 作用靶位改变 林冬玲等^[17]报道,药物作用靶位的减少或缺失甚至由于抗菌素压力等引起靶位突变均可导致药物与细菌的亲合力下降甚至消失,从而使细菌逃避抗菌药物的抗菌作用。Akasaka 等^[18]报道 *gyrA* 基因的突变是氟喹诺酮类药物对 PA 的主要耐药机制,作用靶位的突变主要为 Thr-83→Ile。在实验室菌株和临床分离菌中,均发现耐药铜绿假单胞菌中有青霉素结合蛋白(penicillin binding protein, PBP)改变现象的存在^[19],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^[20]。

3.3 产生灭活酶 产生 β -内酰胺酶是铜绿假单胞菌对 β 内酰胺类抗菌素耐药最重要的机制之一。 β -内酰胺酶通过水解和非水解方式破坏 β 内酰胺环,使抗菌素失活,其产生的耐药性可由染色体或质粒介导。此酶包括超广谱 β 内酰胺(extended spectrum β lactamases, ESBLs)、金属 β 内酰胺酶(metallo β lactamases, MBLs)和头孢菌素酶(AmpC 酶)等^[21]。除此之外,还有氨基糖苷类修饰酶(AMEs),它能将氨基糖苷类抗菌素的游离氨基乙酰化,将游离羧基磷酸化、核苷化,使氨基糖苷类抗菌素发生钝化,不易进入菌体内,也不易与细菌内靶位(核糖体 30S 亚基)结合,从而失去抑制蛋白质合成的能力^[22-23]。

3.4 形成生物被膜 铜绿假单胞菌的生物膜可分泌胞外多糖通过屏障作用阻碍抗菌素的渗透,使抗菌素无法作用于菌体,胞外多糖还可阻止化学反应性杀菌剂的活化。Hall 等^[24]研究已表明,生物膜内细菌可分泌 β -内酰胺酶水解头孢类抗菌素,氨基糖苷类抗菌药物可与膜内细菌的外周多糖相互作用。

4 防治措施

4.1 营养支持 创伤及感染时,机体代谢率升高,能量消耗增大。研究表明,创伤程度越重,蛋白质合成低于分解的情况越严重^[25]。因此,应加强营养支持,促进蛋白质合成,提高机体抵抗力,减少外源性或内源性病原菌侵入及定植机率,降低多药耐药铜绿假单胞菌感染风险。

4.2 积极治疗原发疾病 糖尿病患者因体内代谢障碍,皮肤及血液含糖量较正常人高,细菌繁殖力强,应积极控制血糖,减少细菌感染机会。烧伤患者创面潮湿,有利于铜绿假单胞菌的定植,应及时清创,引流创面分泌物,保持创面干燥。

4.3 监测并隔离多药耐药铜绿假单胞菌感染患者,加强院内环境卫生及医护人员手卫生,做好医疗物品的清洁消毒措施,有效控制菌株扩散。减少侵入性操作,尽早拔出各类导管,避免诱发多药耐药。

4.4 合理使用抗菌素 区分是定植菌还是感染菌,根据药敏结果制定合理治疗方案,感染控制后及时停药。联合应用几种有效的抗菌药物能提高多药耐药铜绿假单胞菌的敏感性^[26]。近年来,日本开发的多尼培南(dofipenem)对 β -内酰胺酶稳定,对铜绿假单胞菌的抗菌活性是亚胺培南的 4 倍,美洛培南的 2 倍,而且耐药率低,可望成为首选药物^[27]。

综上所述,铜绿假单胞菌多药耐药在全世界范围内的传播将会成为全人类重大的健康安全隐患,应引起临床广泛关注。合理使用抗感染药物,采取有效措施控制耐药菌株的出现、及时切断多重耐药菌株的水平传播,显得尤为重要。

参考文献

- [1] Hospital Infection Program. Center for Disease Control and Prevention NNIS semiannual report. 1996. Internet 1996. Available from: <http://www.cdc.gov/neidod/diseases/nnis/nnis0596.htm>.
- [2] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2009 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(5):325.
- [3] 孙景勇,倪语星,汪复,等. 2007 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2009,8(3):192.
- [4] Hsueh PR, Tseng SP, Teng ID, et al. Pan drug resistant Pseudo Monas aeruginosa causing nosocomial infection at university hospital in Taiwan[J]. Clin Microbiol Infect, 2005,11(8):670-673.
- [5] 曹彬,王辉,朱元珩,等. 多药耐药铜绿假单胞菌院内感染危险因素及预后因素分析[J]. 中华结核和呼吸杂志,2004,27(1):31.
- [6] 朱会英,王艳,张海燕. 2010 年老年科患者常见病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(21):4602.
- [7] 宋启发,林辉,郑剑,等. 烧伤病房铜绿假单胞菌 β -内酰胺类抗菌素耐药基因分析[J]. 中华烧伤杂志,2007,6(23):214.
- [8] Kucisec-Tepes N. Pseudomonas aeruginosa-a significant hospital pathogen and resistance to carbapenem[J]. Acta Med Croatica, 2004,58(4):313-321.
- [9] Shan PS, Cannon JP, Sullivan CI, et al. Controlling antimicrobial use and decreasing microbiological laboratory tests for urinary tract infections in Spinal-ord-jury patients with chronic indwelling catheters[J]. Am J Health Syst Pharm, 2005,62(1):74-77.
- [10] Zavascki AP, Cruz RP, Goldan L. Risk factors for imipenem-resistant Pseudo monas aeruginosa: a comparative analysis of twocase-control studies in hospitalized patients[J]. J Hosp Infect, 2005,59:96-101.
- [11] Kischke DL, Jones TF, Craig AS, et al. Pseudomonas aeruginosa and Serratia marcescens associated with a manufacturing defect in bronchoscopes[J]. N Engl J Med, 2003,348(3):214.
- [12] 谢翠娥,尹凯,何周文,等. 重症监护病房下呼吸道感染中革兰阴性杆菌分布及耐药分析[J]. 中国现代医学杂志,2007,17(7):849-852.
- [13] Philippe E, Weiss M, Shuhz JM, et al. Emergence of Highly antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa in relation to duration of empirical antipseu- domonal antibiotic treatment Clin Perform

Qual Health Care, 1999, 7: 83-87.

[14] Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picao RC, et al. Multidrug-resistant Pseudo-omonas aeruginosa and acinetobacter baumannii; resistance mechanisms and implications for therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, 8(1): 71-93.

[15] Farra A, Islam S, Stralfors A, et al. Role of outer membrane protein OprD and penicillin binding proteins in resistance of pseudo-omonas aeruginosa to imipenem and meropenem[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(5): 427, 433.

[16] Giske CG, Buaro I, Sundsfjord A, et al. Alterations of porin, pumps, and penicillin binding proteins in carbapenem resistant clinical isolates of pseudo-omonas aeruginosa[J]. Microb Drug Resist, 2008, 14(1): 23-30.

[17] 林冬玲, 陈茶, 曾建明. 铜绿假单胞菌耐药机制研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(3): 92.

[18] Akasaka T, Tanaka M, Yaumguchi A, et al. Type II topoisomerase mutations in fluoroquinolone-resistant clinical strains of Pseudomonas aeruginosa isolated in 1998 and 1999: role of target enzyme in mechanism of fluoroquinolone resistance[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(8): 2263-2268.

[19] Song J, Ruan Q, Qi J, et al. The mechanism of resistance of pseudo-omonas aeruginosa to beta-lactam antibiotics and clinical significance[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2002, 22(4): 339-342.

[20] Farra A, Islam S, Stralfors A, et al. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of pseudo-omonas aeruginosa to imipenem and meropenem[J]. Int J Antimi-

cro Agents, 2008, 31(5): 427-433.

[21] Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(3): 969, 976.

[22] Yokoyama K, Doi Y, Yamane K, et al. Acquisition of 16SrRNA methylase gene in Pseudomonas aeruginosa[J]. Lancet, 2003, 362: 1888.

[23] Galimand M, Gerbaud G, Courvalin P. Spectinomycin resistance in Neisseria spp. due to mutations in 16Sr RNA[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(5): 1365.

[24] Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases[J]. Nat Rev Microbiol, 2004, 2(2): 95-108.

[25] Fettes SB, Lough M. AN audit of provision of parenteral nutrition in two acute hospitals: Team versus nonteam [J]. Scott Med J, 2000, 45(4): 121.

[26] Drago L, Deveceni E, Nicola L, et al. In vitro selection of resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp by levofloxacin and ciprofloxacin alone and in combination with β -lactams and amikacin[J]. J Antimicrob Chemother, 2005, 56(2): 353-359.

[27] Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, et al. In vitro activities of doxipenem and six comparator drugs against 423 aerobic and anaerobic bacterial isolates from infected diabetic foot wounds[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(2): 761-766.

(收稿日期: 2013-01-16)

• 综 述 •

解脲支原体致病机制与耐药机制研究进展

张 艳 综述, 张 波 审校

(解放军第二五二医院检验科, 河北保定 071000)

关键词: 解脲支原体; Toll 样受体; 生物膜; 抗药性; 微生物

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 13. 036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)13-1715-03

解脲支原体(Uu)是一种大小介于细菌与病毒之间且能在人工培养基上生长繁殖的最小原核微生物。根据其表面抗原的变异,解脲支原体可分为 14 个血清型,而根据其分子特征又可分为两个生物群,生物 1 群包括 1、3、6、14 四个血清型;生物 2 群为其余 10 个血清型。近年来随着抗菌素在临床的广泛应用,大量 Uu 耐药菌株产生,从而为临床治疗带来极大困难。因此明确 Uu 的致病性及致病机制、耐药机制等对临床合理应用抗菌素、避免耐药性的产生具有重要意义。

1 Uu 的致病性与致病机制

1.1 致病性 Uu 能紧紧黏附于易感宿主细胞膜表面受体上,这种黏附细胞的特性成为支原体的致病性条件。当机体免疫力低下或黏膜受损时支原体感染人体,一般黏附于泌尿生殖道上皮细胞表面的受体上,导致细胞损伤而使炎症上行,引起非淋菌性尿道炎、尿路结石、前列腺炎、肾盂肾炎、女性盆腔炎、阴道宫颈感染等多种疾病,并与女性不孕、习惯性流产及胎儿宫内发育迟缓等有关^[1-4]。有研究表明,Uu 感染可增加 HPV 感染的风险,高浓度的 Uu 感染可能是 HPV 感染的辅助因子,在

HPV 侵入宫颈上皮细胞和 HPV 持续感染过程中起作用。在男性,Uu 感染可以影响精子的浓度、活动度、形态学以及 DNA 凝结等,从而影响精子质量^[5],并且还可能破坏生精细胞^[6-7],从而导致男性不育。另外,有文献提示解脲支原体可能是 HIV 感染和进展的协同因子,且能增强 HIV 在外周血单核细胞中的复制^[8]。

1.2 致病机制

1.2.1 直接黏附 Uu 感染人体后,黏附于易感宿主细胞膜表面的受体上,其类脂侵入细胞内,使宿主细胞双层类脂分子紊乱,细胞内代谢产物外溢。毒性蛋白质(如脲酶,磷脂酶,IgA 蛋白酶等)进入宿主细胞,通过与宿主细胞膜之间的相互作用,释放有毒的代谢产物(如氨、超氧化物自由基和过氧化氢等)。同时从宿主细胞膜获取脂质和胆固醇,引起细胞膜损伤。此外,Uu 和宿主细胞膜之间成分的互换,还可能启动细胞膜到核的信号转导,改变基因表达,导致宿主细胞染色体异常,影响蛋白质和 DNA 的合成,严重者导致细胞死亡。

1.2.2 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR) Uu 缺乏细胞