

- [14] Zhang Z, Sun D, Van D N, et al. Inactivation of RASSF2A by promoter methylation correlates with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma[J]. Int J Cancer, 2007, 120(1): 32-38.
- [15] Liao X, Siu MK, Chan KY, et al. Hypermethylation of RAS effector related genes and DNA methyltransferase 1 expression in endometrial carcinogenesis[J]. Int J Cancer, 2008, 123(2): 296-302.
- [16] Qu Y, Dang S, Hou P. Gene methylation in gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424(1): 53-65.
- [17] Liu G, Yin B, Song YS. Methylation and protein expression of RASSF2 in prostate cancer[J]. Zhonghua Nan Ke Xue, 2013, 19(2): 107-110.
- [18] Noshio K, Yamamoto H, Takahashi TA. Genetic and epigenetic profiling in early colorectal tumors and prediction of invasive potential in pT1 (early invasive) colorectal cancers[J]. Carcinogenesis, 2007, 28(6): 1364-1370.
- [19] Schagdarsurenjin U, Richter AM, Hornung J, et al. Frequent epi-

genetic inactivation of RASSF2 in thyroid cancer and functional consequences[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 264.

- [20] Ren JH, He WS, Zhang RG, et al. RASSF2A promoter methylation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinogenesis and its correlation with elevated serum alpha-Fetoprotein level[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2009, 29(3): 309-312.
- [21] Gharanei S, Brini AT, Vaiyapuri S, et al. RASSF2 methylation is a strong prognostic marker in younger age patients with Ewing sarcoma[J]. Epigenetics, 2013, 8(9): 893-898.
- [22] Guerrero-Setas D, Pérez-Janices N, Blanco-Fernandez L, et al. RASSF2 hypermethylation is present and related to shorter survival in squamous cervical cancer[J]. Mod Pathol, 2013, 26(8): 1111-1122.

(收稿日期:2013-12-28)

## • 综述 •

# 鲍曼不动杆菌耐药性分析及治疗应对策略

郑卫东<sup>1</sup>, 陈娟<sup>1</sup>, 郭亮<sup>1</sup>, 田彩霞<sup>1</sup> 综述, 郑颖<sup>2△</sup> 审校

(1. 湖北医药学院附属人民医院检验部, 湖北十堰 442000; 2. 南京市疾病预防控制中心, 江苏南京 210003)

关键词: 鲍曼不动杆菌; 耐药性; 治疗策略

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.12.032

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)12-1597-03

鲍曼不动杆菌是医院感染的重要病原菌, 近年来其耐药性日益严重, 已引起临床和微生物学者的严重关注<sup>[1]</sup>。鲍曼不动杆菌主要引起呼吸道感染, 也可引发败血症、泌尿系统感染、继发性脑膜炎等。鲍曼不动杆菌在医院的环境中分布很广且可长期存活, 对危重患者、CCU 及 ICU 中的患者威胁很大。本文主要对鲍曼不动杆菌对  $\beta$ -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类、四环素类、多粘菌素类、碳青霉烯类等抗菌药物的耐药性进行综述, 并在此基础上提出相应的治疗应对策略, 为临床治疗提供参考。

## 1 鲍曼不动杆菌耐药性分析

**1.1 对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药** 这些药物包括青霉素类、头孢菌素类、单环  $\beta$ -内酰胺类, 由于它们结构中都包含  $\beta$ -内酰胺环, 所以被统称为  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物, 这些药物主要是通过结合细菌的 PBP 造成细菌的形态和功能的变化, 从而引起细菌死亡。目前对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的研究侧重于细菌产生  $\beta$ -内酰胺酶的机制方面。鲍曼不动杆菌主要产生 4 类  $\beta$ -内酰胺酶: 质粒介导的 TEM-1 广谱型  $\beta$ -内酰胺酶, 金属  $\beta$ -内酰胺酶 IMP, 染色体介导的头孢菌素酶 AmpC 型的  $\beta$ -内酰胺酶, 碳青霉烯类抗菌药物水解酶即丝氨酸苯唑西林酶。根据这 4 种酶的分子生物学特性(即 Ambler 分类)分为 A、B、C、D 四个类别, A 类为超广谱  $\beta$ -内酰胺类, B 类为金属  $\beta$ -内酰胺类, C 类为头孢菌素类, D 类为碳青霉烯类<sup>[2]</sup>。细菌 bla<sub>IMP</sub> 等位基因主要介导的碳青霉烯类耐药, 地域主要在韩国和太平洋地区<sup>[3]</sup>, bla<sub>VIM</sub> 等位基因介导的只在韩国出现过<sup>[4]</sup>, bla<sub>SIM</sub> 等位基因介导的也是在韩国首次发现<sup>[5]</sup>。同样, 目前的研究发现, D 类酶包括 OXA23、OXA24、OXA58 三种<sup>[6]</sup>, 其中 OXA23 的影响最为广泛。吕美艳等<sup>[7]</sup>研究发现 OXA23 阳性组鲍曼不动杆菌菌株, 对头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星和米诺环素的耐药率分别为

78.3%、86.9% 和 87.5%, 而对其他常用药物的耐药率高达 95% 以上。周铁丽等<sup>[8]</sup>研究还发现, 对亚胺培南耐药的鲍曼不动杆菌菌株的耐药机制, 很可能与染色体介导的头孢菌素酶 AmpC 型的  $\beta$ -内酰胺酶和缺少外膜蛋白等方面有关, 使得越来越多的鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南产生耐药性。

**1.2 对氨基糖苷类抗菌药物耐药** 对氨基糖苷类的耐药机制可以分为以下 3 个方面: (1)产生氨基糖苷修饰酶(AME), 即乙酰转移酶(AAC)、磷酸转移酶(APH)、核苷转移酶(ANT), 核苷转移酶是目前研究最多的。Turton 等<sup>[9]</sup>通过试验分离出了编码 AMEs 的 aacA4、aadA1、aadB、aadA1a、aacC1 等基因。钱小毛等<sup>[10]</sup>在分离出了 ICU 来源的 27 株鲍曼不动杆菌菌株, 其中 AME 基因阳性的菌株 23 株, 检出率高达 85.1%, 表明 AME 基因对于鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类的耐药起到了很关键的作用。(2)鲍曼不动杆菌产生甲基化酶, 降低与药物的亲和力。到目前为止, 已经发现了 16S rRNA 甲基化酶基因 armA 阳性的菌株<sup>[11]</sup>。16S rRNA 甲基化酶能使细菌内药物作用的靶位出现甲基化, 导致药物与靶位点的结合功能丧失, 药物亲和力下降, 从而降低药物的杀菌能力, 从而提高细菌对氨基糖苷类药物的耐药性。

**1.3 对喹诺酮类抗菌药物耐药** 对喹诺酮类抗菌药物的耐药机制: (1)细菌编码拓扑异构酶基因出现突变, 主要是 gyrA 和 parE 两个基因<sup>[12-13]</sup>。细菌拓扑异构酶和抗菌药物结合并形成抗菌药物-靶酶复合物, 阻碍细菌 RNA 聚合酶的移动, 从而防止细菌进行复制、转录、修复和合成等, 最终造成细菌细胞死亡。这种机制也是喹诺酮类药物发挥抗菌作用的主要机制。但是, 一旦编码拓扑异构酶的基因发生突变时, 这种机制不复存在, 就会导致细菌对喹诺酮类药物出现耐药性<sup>[14]</sup>。(2)由于细菌内部主动外排机制对药物的作用。Heinemann 等<sup>[15]</sup>经过

研究,阐述了主动外排机制是鲍曼不动杆菌耐药的基本机制,不动杆菌属细菌耐药性的主动外排机制主要是因为 RND 家族的 Ade<sub>ABC</sub> 系统、Adem DE 系统和 MATE 家族的 Abe<sub>M</sub> 外排泵系统。但到目前为止,众多研究的侧重点仍主要集中在 RND 家族 Ade<sub>ABC</sub> 系统。王敏等<sup>[16]</sup> 经过研究,65 株鲍曼不动杆菌中检测出 Ade<sub>B</sub> 基因阳性的菌株为 60 株,占 92.31%。董涛等<sup>[17]</sup> 通过 PCR 扩增,检测 51 株鲍曼不动杆菌中有 49 株出现的 750~1 000 bp 的阳性片段之间的同源性高达 99%,而与多药外排系统中的 Ade<sub>B</sub> 基因的同源性则高达 100%,这充分说明 RND 家族的 Ade<sub>ABC</sub> 系统在外排机制方面起到很关键的作用。

**1.4 对四环素类抗菌药物耐药** 对四环素类药物耐药机制方面的研究主要集中在外排泵系统方面,其中的 TetA 主要是对四环素起作用,TetK 主要对米诺环素起作用,而 TetB 则同时对四环素及米诺环素起作用。四环素类药物对细菌的作用机制主要是进入细菌的胞内,与细菌的核糖体相互结合,从而阻断了编码氨基酸的 tRNA 进入,继而阻止蛋白的合成。但是也有研究表明<sup>[18]</sup>,鲍曼不动杆菌通过产生对核糖体的保护作用来实现对四环素的耐药。进一步的研究发现 TetM 和 TetO 可以保护细菌的核糖体,从而避免来自四环素、米诺环素、多西环素的攻击。但是替加环素不存在这种作用机制,而产生这种作用的可能是与替加环素相关的 TetX(1 种单胺氧化酶),但是到现在为止,相关研究表明尚未在临床菌株中发现存在此种酶<sup>[19]</sup>。

**1.5 对多粘菌素类抗菌药物耐药** 鲍曼不动杆菌对多粘菌素灵敏度很高,甚至可以达到 100%,也正是因为这个原因,多粘菌素,越来越多地被用来作为临床治疗鲍曼不动杆菌感染。然而,临幊上已经出现对多粘菌素耐药的鲍曼不动杆菌菌株,所以需要提高警惕。目前多粘菌素耐药的研究主要集中在细菌脂多糖修饰变化方面,主要包括以下 2 方面:(1)细菌脂多糖本身出现改变,如酸化、酰化等作用,从而减少了原本的结合作用。(2)细菌通过细胞外膜的脂多糖的修饰、减少负净电荷而产生耐药<sup>[20]</sup>。到目前为止,也有研究指出<sup>[21]</sup>,鲍曼不动杆菌产生的杂环化合物可能是其耐药机制之一,但是这种假设在临幊上并没有得到明确的证实。

**1.6 对碳青霉烯类耐药** 到目前为止,对鲍曼不动杆菌逃避碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制的研究主要包括:(1)生成能够水解药物的碳青霉烯类酶。(2)降低与青霉素结合蛋白的亲和力。(3)外膜通道蛋白表达下调或缺失,以减少渗透到细菌外膜以内的药量(4)细菌膜上的主动外排泵将透入菌膜的药物泵出到菌外。王辉等<sup>[22]</sup>、Héritier 等<sup>[23]</sup>、Rhomberg 等<sup>[24]</sup>、Ikonomidis 等<sup>[25]</sup>对鲍曼不动杆菌逃避碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制进行相关研究,结果显示:临幊上检测到的鲍曼不动杆菌耐碳青霉烯类药的菌株一般均为多种耐药机制共同作用的结果。中国多家医院检测到的鲍曼不动杆菌逃避碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制主要是产生碳青霉烯酶和多个外膜通道蛋白表达缺失<sup>[22]</sup>。Bou 等<sup>[26]</sup> 经过研究后发现,鲍曼不动杆菌耐药菌株对碳青霉烯类药物产生耐药的原因是生成 OXA-24,以及下调 2 个外膜通道蛋白的表达量;Héritier 等<sup>[23]</sup> 的研究显示,鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类的高度耐药的主要原因是菌体产生 OXA-23、OXA-58 和主动外排泵系统相互协同作用而造成的。

## 2 鲍曼不动杆菌耐药菌株的治疗应对策略

为了应对鲍曼不动杆菌的耐药,本文提出了全面的治疗应对策略:(1)加强医院管理,必须采取严格的消毒措施,标准化

的临床操作,避免滥用抗菌药物。(2)增强个人体质,摆脱潜在的疾病问题,减少住院时间,并缩短建立人工气道,气管插管使用时间和频率。(3)在临幊抗感染治疗应根据药敏结果选用敏感的药物,还应考虑到菌株的耐药性和耐药机制,指导选择抗菌药物种类、数量和档次。(4)建议联合使用抗菌药物,采取静脉输液的治疗方法治疗鲍曼不动杆菌感染,维持血药浓度,以达到最佳的治疗效果。(5)对于鲍曼不动杆菌耐药性问题,要严格控制感染,如严格的消毒,严格无菌技术操作,加强消毒的临幊监测和控制滥用抗菌药物。(6)加强新的敏感抗菌药物的研究,以便可以更有效的治疗由鲍曼不动杆菌引起的各种感染。

## 3 结语

很多研究表明,医院环境是鲍曼不动杆菌生存和生长的适宜处所。似乎有与其他革兰阴性杆菌不同的特性提高了它的生存适应能力。美国纽约 1 项研究表明,在社区采集的鲍曼不动杆菌和在医院环境采集的鲍曼不动杆菌菌不同,医院环境中细菌易播散,而且社区环境一般不会产生耐药菌,因此与耐药菌作斗争的战场最主要的是在医院<sup>[27]</sup>。

研究人员曾认为鲍曼不动杆菌产生的药物酶是耐药机制最重要的部分,但是,随着分子生物学研究的飞速发展,对鲍曼不动杆菌耐药机制方面的研究也逐渐深入。近几年,相关研究人员认为外膜孔蛋白的改变和外排泵过度表达是鲍曼不动杆菌最重要的耐药机制,已经逐渐成为广大学者的研究重点。但是到目前为止,外膜孔蛋白的改变和外排泵过度表达的研究尚只是在结构方面展开,对于基因的表达与调控、各种蛋白的具体生理功能及相互之间的关系,还需要更深入的研究。

## 参考文献

- 王莉英,蒋军,唐震,等.我院 2005 年细菌耐药性监测与分析[J].中国药房,2007,18(2):125-127.
- 马序竹,吕媛.鲍曼不动杆菌对主要抗菌药物耐药机制[J].中国临床药理学杂志,2009,25(1):90-94.
- Lee K, Ha GY, Shin BM, et al. Metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative bacilli in Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance group hospitals in 2003: continued prevalence of VIM-producing *Pseudomonas* spp. and increase of IMP-producing *Acinetobacter* spp[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2004, 50(1):51-58.
- 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 bla(VIM-2) gene cassettes[J]. J Antimicrob Chemother, 2002, 49(5):837-840.
- Lee K, Yum JH, Yong D, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(11):4485-4491.
- Wang H, Guo P, Sun H, et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(11):4022-4028.
- 吕美艳,周翠,徐琦煜,等.161 株鲍曼不动杆菌 OXA-23 基因组介导的耐药性和同源性分析[J].中国卫生检验杂志,2011,21(2):412-415.
- 周铁丽,林小玲,冯红军,等.鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药机制研究[J].浙江检验医学,2006,4(4):4-8.
- Turton JF, Kaufmann ME, Gill MJ, et al. Comparison of acinetobacter

- bacter baumannii isolates from the United Kingdom and the United States that were associated with repatriated casualties of the Iraq conflict[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(7): 2630-2634.
- [10] 钱小毛, 金海勇. ICU 鲍氏不动杆菌分离株耐药性和氨基糖苷修饰酶基因的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(18): 2376-2378.
- [11] 朱健铭, 姜如金, 吴康乐, 等. 鲍曼不动杆菌老年人分离株中发现 16S rRNA 甲基化酶基因新亚型[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(7): 459-462.
- [12] 黄梅, 李荣, 黎金凤. 鲍曼不动杆菌耐药机制的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2012, 29(23): 2987-2989.
- [13] Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(12): 3375-3380.
- [14] 黄支密, 麋祖煌, 金辉, 等. 颅脑外伤者痰标本鲍曼不动杆菌多重耐药性及机制研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006, 31(9): 540-545.
- [15] Heinemann B, Wisplinghoff H, Edmond M, et al. Comparative activities of ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin against epidemiologically defined *Acinetobacter baumannii* strains[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(8): 2211-2213.
- [16] 王敏, 石辉芳, 李先平, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌主动外排泵基因 abeM 的测定及耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2010, 5(10): 732-735.
- [17] 董涛, 王睿, 童卫杭, 等. 51 株鲍曼不动杆菌耐药表型及外排蛋白基因表达研究[J]. 中国药房, 2007, 18(13): 979-981.
- [18] Huys G, Cnockaert M, Vaneechoutte M, et al. Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains from different European hospitals[J]. Res Microbiol, 2005, 156(3): 348-355.
- [19] Moore IF, Hughes DW, Wright GD. Tigecycline is modified by the flavin-dependent monooxygenase TetX[J]. Biochemistry, 2005, 44(35): 11829-11835.
- [20] 袁瑾懿, 杨帆. 多黏菌素 B 治疗多重耐药病原菌:要点综述[J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(5): 398-400.
- [21] Giannarelli H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(2): 106-119.
- [22] 王辉, 郭萍, 孙宏莉, 等. 碳青霉烯类耐药的不动杆菌分子流行病学及其泛耐药的分子机制[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1066-1073.
- [23] Héritier C, Poirel L, Lambert T, et al. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(8): 3198-3202.
- [24] Rhomberg PR, Jones RN, Mystic P. Antimicrobial spectrum of activity for meropenem and nine broad spectrum antimicrobials: report from the MYSTIC Program (2002) in North America[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2003, 47(1): 365-372.
- [25] Ikonomidis A, Pournaras S, Maniatis A. Discordance of meropenem versus imipenem activity against *Acinetobacter baumannii*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 28(4): 376-377.
- [26] Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, et al. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(9): 3299-3305.
- [27] Zeana C, Larson E, Sahni J, et al. The epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: does the community represent a reservoir? [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2003, 24(4): 275-279.

(收稿日期: 2014-01-14)

## • 综述 •

# 胰岛素抗体及其临床意义

陈程综述, 李双庆<sup>△</sup>审校

(华西医院全科医学科, 四川成都 610041)

**关键词:** 糖尿病; 胰岛素治疗; 胰岛素抗体**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.12.033**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2014)12-1599-04

在人类使用动物胰岛素治疗糖尿病后不久,便发现许多与胰岛素抗体(IAA)形成有关的免疫学现象,如胰岛素抗药性、低血糖及胰岛素过敏等。几乎所有使用胰岛素治疗的患者体内都能检测到 IAA<sup>[1]</sup>。使用外源性胰岛素治疗的患者大部分在数周后即可形成 IAA,停用胰岛素后 1 年 IAA 可消失,完全消失则至少需要 2 年时间<sup>[2]</sup>。本文就外源性胰岛素引起的 IAA 抗体及其临床意义作一综述。

## 1 影响 IAA 产生的因素

动物胰岛素属于异种蛋白,与人胰岛素的个别氨基酸存在差异,使用动物胰岛素治疗会引起糖尿病患者体内 IAA 水平升高<sup>[3-4]</sup>。相对动物源性胰岛素而言,人胰岛素的免疫原性已经明显减弱,显著地减少了由动物胰岛素治疗引起的免疫性并

发症<sup>[5]</sup>。经过分子修饰后,胰岛素类似物与人胰岛素有少数氨基酸不同,其抗原性以及与胰岛素受体的结合能力与人胰岛素略有差异,但与人胰岛素导致 IAA 产生的概率无明显差别<sup>[6]</sup>。另外,胰岛素制剂及纯度、给药途径、年龄、个体差异、糖尿病类型、体内激素水平等都会影响 IAA 的产生<sup>[5-14]</sup>。

## 2 IAA 对临床的影响

**2.1 胰岛素抵抗/低血糖** 长期接受胰岛素治疗产生的 IAA,往往会导致胰岛素抵抗或低血糖症。严重的胰岛素抵抗是指持续 2 d 以上,胰岛素日需求量超过 200 U,主要表现为高血糖症,包括酮症酸中毒和高渗性昏迷<sup>[3,15]</sup>。而由 IAA 导致的低血糖症尚未引起足够重视,故常呈隐性发病,且病因困难寻。胰岛素治疗产生的 IAA 是低亲和力/高容积型,当大量胰岛素