

• 基础实验研究论著 •

介导氨基糖苷类高水平耐药 16S rRNA 甲基化酶 *armA* 基因的基因环境分析^{*}

袁 敏,徐建国,李 娟[△]

(中国疾病预防控制中心传染病预防控制所细菌耐药室/传染病预防控制国家重点实验室,北京 102206)

摘 要:**目的** 探讨介导氨基糖苷类高水平耐药基因 *armA* 在不同种属中的基因环境。**方法** BLASTN 比对分析 GenBank 数据库中 *armA* 基因所处的基因环境。分析 *armA* 基因分布的种属、地域及其侧翼序列特征。**结果** 所有的 *armA* 基因均位于插入序列 ISCR1 的下游。*armA* 基因在肠杆菌科细菌中广泛检出,在肠杆菌科细菌中其侧翼序列结构保守。**结论** 不同国家、地区,不同菌属中报道的 *armA* 基因环境有极大的相似性。

关键词:*armA* 基因; 16S rRNA 甲基化酶; 肠杆菌属; 假单胞菌属

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)21-2865-02

Analysis of the genetic context of high level aminoglycosides resistance gene 16S rRNA methylase gene *armA*^{*}

Yuan Min, Xu Jianguo, Li Juan[△]

(Department of Bacteria Resistance/State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100026, China)

Abstract:**Objective** To analysis the genetic context of *armA* gene identified in different species. **Methods** BLASTN searches were used to analysis sequences harboring *armA* submitted to the GenBank database. **Results** *armA* gene was mostly found downstream of ISCR1 element and was most commonly detected in *Enterobacter spp.*. Its flanking sequences were highly conserved in *Enterobacter spp.*. **Conclusion** The genetic context of *armA* gene reported in different species scattered in different geometrical locations share some common characteristics.

Key words:*armA*; 16S rRNA methylase; *Entertobacter spp.*; *Pseudomonas spp.*

介导氨基糖苷类高水平耐药的 *armA* 基因的首次报道是 2003 年在 1 株肠杆菌中分离获得^[1]。自此之后又有 8 种甲基化酶基因相继报道,如 *rmtA*、*rmtB*、*rmtC*、*rmtD*、*rmtE*、*rmtF*、*rmtG*、*rmtH*、*nmpA*^[2-6]。从已有的流行病学调查相关文献中,得知 *armA* 基因的分布最广,在临床重要的肠杆菌科各个种属中均有报道且携带率高。国内报道在碳青霉烯耐药的鲍曼不动杆菌中有较高的 *armA* 基因携带率^[7],而且最近的报道表明 *armA* 基因已经播散到假单胞菌菌属^[8]。氨基糖苷类药物的作用机制为与细菌 16S rRNA 结合后影响蛋白质翻译成过程,造成菌体死亡。甲基化酶可以将 16S rRNA 特定位点甲基化,使氨基糖苷类药物失去与靶位点结合的能力,不能发挥后续杀菌效应。因此,甲基化酶介导的耐药都是高水平耐药,而且细菌一旦携带甲基化酶对临床上所有的重要的氨基糖苷类药物都将表现为耐药。

基于耐药基因的播散更大程度上的取决于耐药基因的侧翼序列,而不是耐药基因本身的事实^[9],本研究对目前 NCBI 上提供的有关不同种属中 *armA* 基因的基因环境做系统分析

比对(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),以期能找到一些规律,为后续阐明 *armA* 基因如何传播提供依据。

1 资料与方法

在 NCBI 网站 Nucleotide 入口查询 *armA* 基因参考 GenBank 号 JQ669395,下载 *armA* 基因全长 774 bp 的序列,在 NCBI 网站 BLAST 入口提交检索与参考序列 100%相同的序列。筛选含 *armA* 基因及其侧翼环境的基因序列进行分析。下载描绘基因排列图,比较分析序列异同,检出的种属、国家/地区等信息。

2 结 果

GenBank 中已有的 *armA* 基因及其侧翼环境的菌株及序列相关信息见表 1。*armA* 基因的检出国家主要分布在中国(7/14,包括中国大陆、中国香港和中国台湾)、美国(2/14)。序列提交时间分布在 2007~2013 年,检出种属涵盖了肠杆菌科中几乎所有具有重要临床意义的属,以及鲍曼不动杆菌和假单胞菌属。*armA* 基因环境绘图,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

表 1 不同国家和地区分离的携带 *armA* 基因的质粒信息

种属	菌株名称	GenBank 号	定位	提交时间	国家/地区
鲍曼不动杆菌	MDR-ZJ06	CP001938	质粒	2013-06-08	中国大陆
产酸克雷伯菌	E718	JQ314407	质粒	2013-06-14	中国台湾

^{*} 基金项目:传染病预防控制国家重点实验室面上项目(2012SKLID205)。 作者简介:袁敏,女,助理研究员,主要从事细菌耐药研究。

[△] 通讯作者,E-mail:lijuan@icdc.cn。

续表 1 不同国家和地区分离的携带 *armA* 基因的质粒信息

种属	菌株名称	GenBank 号	定位	提交时间	国家/地区
肺炎克雷伯菌	KP048	FJ6288167	质粒	2010-08-23	中国大陆
肺炎克雷伯菌	HS20	JQ724540	质粒	2012-09-25	中国大陆
大肠埃希菌	HK-01	HQ451074	质粒	2011-07-05	中国香港
大肠埃希菌	MUR-HK	NC_007682	质粒	2013-05-23	西班牙
大肠埃希菌	COP1	FJ187822	质粒	2008-12-07	法国
大肠埃希菌	NDM_Dok01	NC_018994	质粒	2013-07-07	日本
弗氏枸橼酸杆菌	CTX-M3	AF550415	质粒	2007-10-23	波兰
弗氏枸橼酸杆菌	NDM-CIT	NC_019360	质粒	2013-06-11	美国
普罗威登氏菌	MR0211	NC_016974	质粒	2013-06-13	阿富汗
沙门氏菌	SC-01	JN225877	质粒	2011-12-13	中国大陆
大肠埃希菌	PMU050	FJ627181	质粒	2009-02-24	美国
黏质沙雷菌	SKMA0710	FJ917355	质粒	2009-06-16	韩国

3 讨 论

armA 基因的基因环境在不同的种属中有很大的相似性，在肠杆菌科细菌中从 I 型整合子 3'-CS 端 $\Delta qac/sul$ 基因至插入序列 IS26 之间的结构高度保守。鲍曼不动杆菌中大环内酯类耐药基因簇 *mel-mph* 下游开始与肠杆菌中的结构有区别，为反向的 IS66 插入序列和 *repAciN* 基因。除此之外在肠杆菌科细菌中和鲍曼不动杆菌中在 ISCR1 上游均可以找到 1 个拷贝的 IS26。I 型整合酶也常常出现在 ISCR1 的上游，但在有些菌中是缺失的。

在 3'-CS 端 $\Delta qac/sul$ 基因至其下游插入序列 IS26 这段高度保守区中， Δqac 基因介导对某些种类的消毒剂的耐药，*sul* 基因介导对磺胺类药物耐药，ISCR1 为目前较新的介导耐药基因转移的元件，被认为可以通过滚环复制的方式同时介导其上游和下游耐药基因的转移^[10]。ISEc28 和 ISEc29 分别位于 *armA* 基因的上游和下游，推测可能来自 *armA* 基因的产生菌。*mel* 和 *mph* 基因分别编码大环内酯类耐药基因外排泵和磷酸化酶介导对大环内酯类的耐药。*repAciN* 基因编码一个复制起始蛋白，在来源于鲍曼不动杆菌的质粒 pMDR-ZJ06 中，它是这个质粒上唯一的复制起始蛋白。

从结构的共性上分析 *armA* 基因转移的跨种属机制，可能与 2 个 IS26 形成的转座子结构的转座相关，但是从 IS26 至 $\Delta qac/sul$ 基因上游相对不保守的结构区域来看，*armA* 基因的转移并非单纯的两个 IS26 介导的转座，可能还有同源重组事件的发生。从目前 GenBank 中提供的全测序的含 *armA* 的质粒序列分析中， $\Delta qac/sul$ 上游的 IS26 有时是缺失的，比如 pMR0211 质粒，提示其转移机制可能比较复杂。

armA 基因在肠杆菌科细菌中报道最多，其次为鲍曼不动杆菌，偶见于假单胞菌属，迄今均被发现定位于质粒上。世界各地报道的 *armA* 基因的侧翼结构具有相似性，其广泛转移可能与 2 个拷贝的 IS26 形成的转座子 Tn1548 有关。

参考文献

[1] Galimand M, Courvalin P, Lambert T. Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S

rRNA methylation[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(8):2565-2571.

[2] Yamane K, Wachino J, Suzuki S, et al. 16S rRNA Methylase-producing, Gram-negative Pathogens, Japan[J]. Emerg Infect Dis, 2007, 13(4):642-646.

[3] Bogaerts P, Galimand M, Bauraing C, et al. Emergence of ArmA and RmtB aminoglycoside resistance 16S rRNA methylases in Belgium[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(3):459-464.

[4] Wachino J, Yamane K, Shibayama K, et al. Novel plasmid-mediated 16S rRNA methylase, RmtC, found in a *Proteus mirabilis* isolate demonstrating extraordinary high-level resistance against various aminoglycosides[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(1):178-184.

[5] Doi Y, de Oliveira Garcia D, Adams J, et al. Coproduction of novel 16S rRNA methylase RmtD and metallo- β -lactamase SPM-1 in a panresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Brazil[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(3):852-856.

[6] O'Hara JA, McGann P, Snesrud EC, et al. Novel 16S rRNA methyltransferase RmtH produced by *Klebsiella pneumoniae* associated with war-related trauma [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(5):2413-2416.

[7] 周华, 杜小幸, 杨青, 等. 亚胺培南耐药鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶 16S rRNA 甲基化酶研究[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(3):269-272.

[8] Gurung M, Moon DC, Tamang MD, et al. Emergence of 16S rRNA methylase gene *armA* and cocarriage of blaIMP-1 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from South Korea[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 68(4):468-470.

[9] Walsh TR. Combinatorial genetic evolution of multiresistance[J]. Curr Opin Microbiol, 2006, 9(5):476-482.

[10] Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2006, 70(2):296-316.

(收稿日期:2014-03-08)