

请输入关键字



当前位置: 首页 > 新闻动态 > 科研进展

青岛能源所与中山大学开发抗菌药效评价新技术

发布时间: 2017-03-20

抗生素的不当使用一方面贻误病情、导致复发感染，甚至造成人体菌群紊乱，诱导其它疾病的发生，另一方面则加速耐药菌乃至“超级细菌”的出现。因此，如何实现“快、准、狠”的抗生素精准用药既是精准医学的重要前沿，也是遏制耐药性蔓延的核心挑战之一。而准确全面的抗菌效果评价技术是抗生素精准用药的前提与基础。近日，青岛能源所单细胞中心与中山大学光华口腔医学院合作发表了基于重水标记单细胞拉曼成像的药物抗菌效果评价技术，在单个细菌细胞精度快速测量药物对细胞代谢活性的抑制性。以此为基础提出的“基于代谢活性的最低抑菌浓度”（“MIC-MA”指数），与目前临床用药普遍依据的“最低抑菌浓度”（“MIC”指数）相比具有重要的特色与优势，因此有望成为指导临床精准用药的新标准之一。该工作近期发表于Analytical Chemistry。

据专家估算，目前在必须使用抗生素治疗的临床案例中，高达30~50%存在着治疗方案制定、抗生素选择或抗生素疗程等方面的错误；在重症监护中，约30~60%的抗生素处方均存在非必要抗生素的滥用、非对症抗生素或者非最佳抗生素组合方案等问题。与此同时，目前每年约有70万人死于耐药菌感染；到2050年，这一数目将激增至每年1000万人，大约为每年死于各种癌症的病人总数。因此，2016年9月22日联合国大会193个成员国共同签署了历史性宣言，承诺通力合作扫除“超级耐药病菌”。2016年8月26日中国国家卫计委等14部门联合印发的《遏制细菌耐药国家行动计划(2016-2020)》中明确提出，要“加强抗菌药物应用和耐药控制体系建设”和“完善抗菌药物应用和细菌耐药监测体系”。准确全面的抗菌效果评价技术是抗生素精准用药的前提与基础，但是，临床需求与技术现状的矛盾如此紧迫和突出，以至于2016年9月8日美国NIH悬赏二千万美元，专门激励细菌耐药性临床快检技术的研发。

迄今为止，MIC指数，即体外培养细菌24小时后能抑制培养基内病原菌生长的最低药物浓度，一直是微生物药敏试验、抗菌药效评价和临床抗菌方案制定的主流标准与主要依据之一。然而其测量不仅耗时耗力，且对难以实验室培养或生长缓慢的病菌无能为力。尤其关键的是，MIC只能从抑制细胞数目扩增这一角度反映与测量药效，却无法检测处于“NGMA”（Non-Growing but Metabolically Active）状态的病菌，即在药物作用下已经不再增殖但仍然具备代谢活性的存活细胞。这种状态的病菌在临床上十分常见，如果在抗菌治疗中成为漏网之鱼，将贻误病情，引起复发性感染，进而诱导耐药菌乃至“超级细菌”的频繁出现。因此根据MIC制定抗菌治疗方案有可能出现“不够快、不够准、不够狠”的情况。

针对上述瓶颈问题，研究人员开发了基于拉曼组（Ramanome）的细菌药物应激效应成像技术（图1），有效地克服了上述缺陷。本研究以导致龋病的变形链球菌（*Streptococcus mutans*）与多种临床常见抗菌药物为模式，证明单细胞拉曼成像能够精确测量细胞利用胞外重水（D₂O）分子的速率，而后者与该细胞的代谢活跃程度呈高度的正相关。因此与重水标记耦合的单细胞拉曼成像能够从对微生物代谢活性抑制的角度定量测量药效，让处于“NGMA”状态的细胞无所遁形，从而使抗菌治疗方案“够准”。同时，由于该方法具备单个细菌细胞的精度，因此对于绝大部分细菌、古菌和真菌，该方法能够测量同一样品内不同细胞之间在抗菌效应上的差异程度，评价病菌细胞群体或群落在药物作用下是否已被“赶尽杀绝”，从而使抗菌治疗方案“够狠”。实验还证明，该方法能够在半小时内快速区分氟耐受型和氟易感型的变形链球菌，这一高度灵敏性对于评价抗菌效果是否“够快”具有重要意义。

基于上述重水标记单细胞拉曼成像技术，研究人员提出了名为“基于代谢活性的最低抑菌浓度”（“MIC-MA”指数）的抗菌药效指标，即药物作用8个小时后所有细胞其代谢活性彻底、且全都被抑制的最低药物剂量。对于特定病菌和特定抗菌药物，MIC-MA指数与MIC指数显著不同。在本研究测试的三种抗菌药物的MIC剂量下，尽管变形链球菌细胞群体已经不再生长与扩增，但大部分的细胞都仍然保持着一定的代谢活性。事实上，在高达60倍MIC的氨苄西林剂量时，仍然存在高比例的“NGMA”状态的变形链球菌细胞，这导致在抗生素压力消失时病菌“星火燎原”，发生复发性感染。这说明MIC-MA在评价抗菌药效是否“快、准、狠”等方面，与目前临床上普遍参照的MIC相比，具有重要的特色与优势。

此外，传统MIC检测将受试微生物作为同质化的群体来看待，忽视了针对细胞之间药效异质性的考察与评价。而MIC-MA在单个细胞精度的药敏性与药效检测，对于研究考察耐药性形成与微进化机制等方面具有重要意义。

单细胞中心前期已经证明拉曼组能够快速区分细胞药物应激机制（Teng L, et al, *Sci Rep*, 2016）。因此，拉曼组技术预期将成为指导“个体化”临床精准用药与耐药性快检的新手段与新标准之一，同时，也为新型抗菌药物筛选与研发提供了崭新的共性技术平台。

青岛能源所单细胞中心徐健研究员和中山大学光华口腔医学院凌均荣教授为论文的共同通讯作者，联合培养博士生陶一帆是论文的第一作者。该工作获得了国家自然科学基金委、中科院生物高通量检测分析技术服务网络（STS）等的支持。

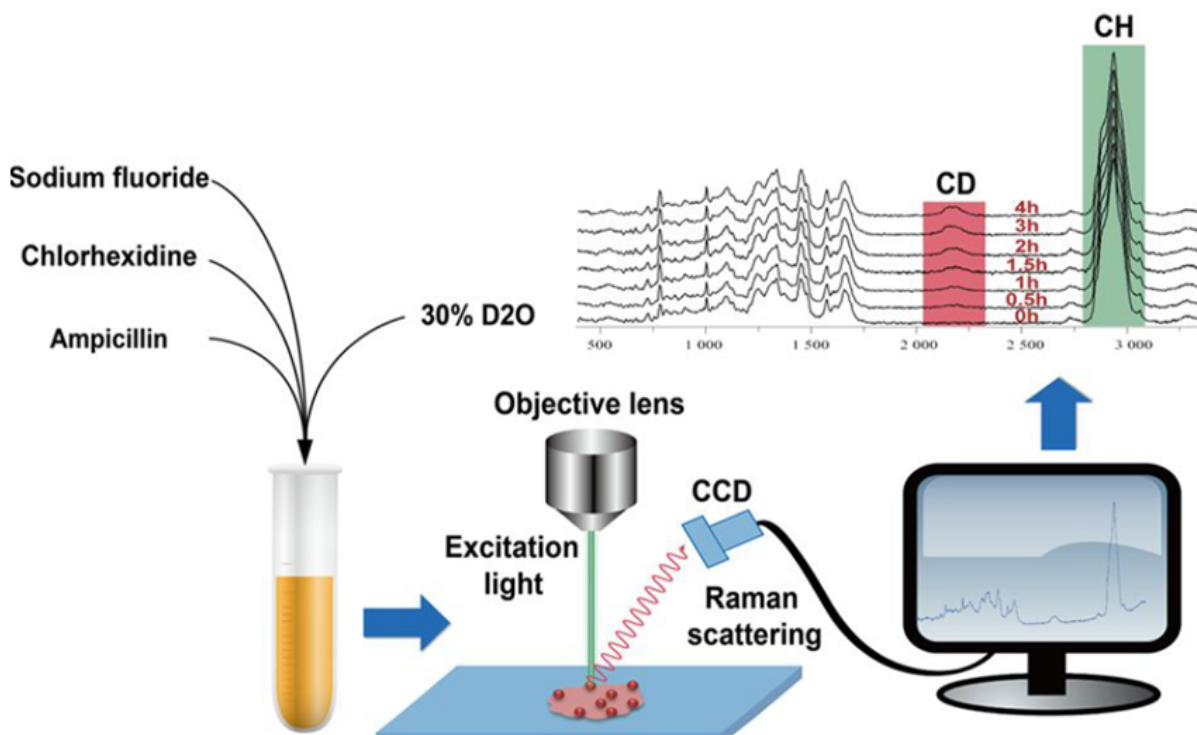


图1. 基于重水标记单细胞拉曼成像的药物抗菌效果评价技术示意图

附录:

Yifan Tao, Yun Wang, Shi Huang, Pengfei Zhu, Wei E. Huang, Junqi Ling*, Jian Xu*. Metabolic-activity based assessment of antimicrobial effects by D2O-labeled Single-Cell Raman Microspectroscopy. *Anal. Chem.*, 2017, DOI:10.1021/acs.analchem.6b05051.

Lin Teng, Yun Wang, Xiaojun Wang, Honglei Gou, Ren Lihui, Tingting Wang, Yun Wang, Yuetong Ji, Wei E. Huang, Jian Xu, Label-free, rapid and quantitative phenotyping of stress response in *E. coli* via ramanome. *Sci Rep*, 2016. 6:34359. DOI:10.1038/srep34359.

版权所有 © 中国科学院 鲁ICP备12003199号-2 鲁公网安备 37021202001253号
地址：山东省青岛市崂山区松岭路189号 邮编：266101 Email: info@qibebt.ac.cn
电话：+86-532-80662776 传真：+86-532-80662778 