

# 志贺菌多重耐药性研究进展

黄玲, 哈福

(云南农业大学动物科学技术学院, 云南昆明 650201)

**摘要:** 一般认为志贺菌产生耐药性与抗菌药的结构和作用机制有关, 并通过质粒携带的耐药基因扩散耐药性, 同类结构药物或作用机制相似的药物具有部分或全部交叉耐药性。然而, 近几年随着分子生物学手段的不断应用, 人们开始从更多层面来认识志贺菌的耐药性。细菌对不同结构类别或不同作用机制的抗菌药物都能产生耐药性, 即多重耐药 (multi-drug resistance)。本文就志贺菌耐药机制的研究进展进行了综述。

**关键词:** 志贺菌; 耐药; 多重耐药

**中图分类号:** Q 935   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1004-390X (2008) 05-0683-04

## Study Progress in Multi-drug Resistance of *Shigella* spp.

HUANG Ling, HA Fu

(Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** It is generally considered that the antibiotic resistance of *Shigella* spp. is related to the structure and function mechanism of the drug and can be propagated through the antibiotic resistance related genes carried by plasmid. Therefore, *S.* spp. possess cross-tolerance of the drugs with similar structure or function mechanism. Nevertheless, in recent years along with the application of molecular biology methods, people have obtained more and more knowledge about antibiotic resistance of *S.* spp. from more aspects. The bacterium can have antibiotic resistance against the antibiotics with different structures or different function mechanism, namely multi-drug resistance. In this article, recent studies on molecular mechanism of multi-drug resistance in *S.* spp. were summarized.

**Key words:** *Shigella* spp.; antibiotic resistance; multi-drug resistance

志贺菌属 (*Shigella* spp.) 引起的细菌性痢疾发病率居我国传染病发病率的前3位, 新近调查表明, 其所引起的感染性腹泻仍然给亚非国家带来巨大的疾病负担, 仍然是传染病防治工作的重点。但近年来随着抗生素的广泛使用、甚至滥用, 使志贺菌频繁出现耐药株, 且耐药率高、耐药产生速度快、耐药范围广, 不仅给细菌性痢疾的防治带来新的挑战, 对细菌耐药性的传播也产生重要影响。因此深入系统地了解志贺菌耐药机制及如何解决耐药性问题已成为目前细菌性痢疾的主要研究热点。

本文就目前发现的细菌对几类抗生素获得耐药性的机理, 以及与产生耐药性有关的几种基因

水平的变异做一综述: 志贺菌对氨基糖苷类抗生素的耐药机制; 对 $\beta$ -内酰胺类抗生素的耐药机制; 对喹诺酮药物耐药的机制; 细胞外膜蛋白改变导致的膜通透性降低介导了细菌多重耐药 (膜耐药); 多重耐药泵蛋白高表达介导的主动流出机制; 以及多重耐药的整合子机制。其中第三、四和第五种方式主要通过药物自身诱导的垂直方式获得, 而第一、二和第六种方式主要通过基因水平转移方式获得。

### 1 志贺菌对氨基糖苷类抗生素的耐药机制

细菌对氨基糖苷类抗生素的耐药机制主要是通过酶化学修饰作用干扰抗生素与核糖体解码区

收稿日期: 2007-04-30   修回日期: 2007-06-14

作者简介: 黄玲 (1981-), 女, 河南信阳人, 硕士研究生, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

E-mail: hlyourfriend2020@163.com

16SrRNA 上 A 位点的结合,使其不能干扰细菌蛋白质的正常合成,从而使细菌对抗生素产生耐药<sup>[1]</sup>。志贺菌,以及大肠埃希菌、摩根菌、沙门菌、沙雷菌对氨基糖苷类抗生素的耐药机制,就是以产 AAC (3) II 酶修饰氨基糖苷类药物的机制为主<sup>[2]</sup>: AAC 以乙酰辅酶 A 为供体,乙酰化氨基糖苷类药物 1, 3, 61, 21 位氨基,使氨基糖苷类药物钝化,氨基糖苷类抗生素与核糖体的结合减少,药物摄取减少导致耐药<sup>[3,4]</sup>。

## 2 细菌对 $\beta$ -内酰胺类抗生素的耐药机制

细菌对  $\beta$ -内酰胺类抗生素的耐药机制主要是产生  $\beta$ -内酰胺酶破坏抗生素结构。在革兰阴性细菌产酶的种类也已达 100 多种,按酶结构的不同,主要有两种催化机制:含丝氨酸活性中心  $\beta$ -内酰胺酶,具有对  $\beta$ -内酰胺类抗生素的酰化作用;含锌活性中心的金属  $\beta$ -内酰胺酶,在一个水分子的参与下对  $\beta$ -内酰胺类抗生素具有水解作用。另外,  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的作用靶位为青霉素结合蛋白 (PBP),由于 PBP 发生了改变使之与这类抗菌药物(如青霉素类、头孢菌素类、单环  $\beta$ -内酰胺类和碳青霉烯类等)的亲和力降低,或是出现了新的 PBP 也导致抗生素耐药。这种耐药机制在金葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎链球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌和流感嗜血杆菌等耐药菌中均已证实<sup>[5-7]</sup>。GHOSH 研究发现 PBP 的改变可使志贺菌对亚胺培南产生耐药<sup>[8]</sup>。

## 3 志贺菌属细菌对喹诺酮类药物耐药的机制

国内外学者对志贺菌属细菌耐喹诺酮类药物作用机制进行了广泛研究,结果发现 DNA 旋转酶基因和拓扑异构酶 IV 基因与喹诺酮类药物耐药性有一定相关性<sup>[9-12]</sup>。喹诺酮作用于志贺菌的靶基因是 DNA 旋转酶 (*gyrA*, *gyrB*) 和拓扑异构酶 IV (*parC*, *parE*),阻断 DNA 复制而产生抗菌作用<sup>[13]</sup>。1998 年 CHU 等<sup>[5]</sup>用环丙沙星在实验室培养获得福氏志贺菌耐药突变株,并对其进行了 *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* 基因突变检测,发现环丙沙星耐药性的获得与 *GyrA* 中 87 位氨基酸、*ParC79*, 84 位氨基酸联合突变有关。段广才等<sup>[14,15]</sup>首次发现福氏志贺菌临床分离株 DNA 旋转酶 (*gyrA*) 和拓扑异构酶 IV (*parC*) 基因突变与喹诺酮类药物耐药有关。

## 4 膜通透性降低介导了志贺菌多重耐药(膜耐药)

由细胞外膜蛋白改变导致的膜通透性降低介导

了细菌多重耐药(膜耐药)在大多数革兰阴性菌中都已证实<sup>[16,17]</sup>,1999 年 GHOSH 等<sup>[8]</sup>对痢疾杆菌的亚胺培南耐药突变株与野生株比较研究发现,突变株外膜通透性明显降低,其分子量分别为 Mr 43 000 和 38 000 的主要外膜蛋白低水平表达,而且短链 LPS 含量也较低,结果提示,膜耐药在痢疾杆菌的亚胺培南耐药过程中起重要作用。

## 5 志贺菌多重耐药的主动流出机制

在细菌多重耐药机制研究中,主动流出机制可将多种结构上无关的抗生素泵出胞外,该机制是由染色体介导的在一个调节位点控制下的多基因协作表型,导致细菌多重耐药泵蛋白表达增加,该系统可将结构不同药物泵出细胞外,导致胞内药物达不到有效浓度,产生多重耐药。2001 年 MARK<sup>[18]</sup>对多重耐药大肠杆菌研究,发现 *AcrAB-TolC* 泵系统缺失导致细菌对大多数化合物敏感性升高,这种多重耐药机制在其它细菌中也得到证实<sup>[19-21]</sup>。段广才等<sup>[22,23]</sup>发现多重耐药泵系统 *acrA* 基因在临床多重耐药志贺菌中高表达,证实主动流出机制在临床多重耐药志贺菌中存在。

## 6 志贺菌多重耐药的整合子机制

近年来研究人员发现,整合子(Integron)在抗性基因水平传播中起重要作用,整合子具有特异性整合位点,能够整合外来的抗性基因簇,一般定位在质粒或转座子上,借助于转化,基因转移与接合作用,实现耐药基因在细菌间水平传播。目前,整合子介导革兰阴性菌的耐药性传播已得到大量的国内外分子流行病学调查证实<sup>[24]</sup>。KAZAMA 等<sup>[25]</sup>在 1996 年对 9 个国家分离出的 13 种细菌的 168 株含有的整合子进行分析,发现 42% 的细菌拥有同一类的整合子。同时在大肠埃希菌与沙门菌中发现存在两个不同家族的整合子, I 型与 II 型整合子,介导 5 重甚至更多的耐药。根据整合子 5'保守区整合酶同源性的差异,整合子被分为 4 类,以 I 类整合子在肠杆菌科细菌<sup>[26,27]</sup>、铜绿假单胞菌<sup>[28,29]</sup>、不动杆菌<sup>[30,31]</sup>等革兰阴性菌中分布最为广泛,对 I 类整合子的研究也最多,国内尚未见关于 II 类整合子的系统研究的报道。根据国外文献报道,II 类整合子集中<sup>[32,33]</sup>存在于志贺菌,如悉尼分离的 40 株多抗性宋内志贺菌、韩国分离的 67 株宋内志贺菌、巴西分离的耐磺胺类福氏志贺菌中 II 型整合子检出率达到 90% 以上,远高于 I 型<sup>[34-36]</sup>。2006 年 PAN 等研究表明<sup>[37]</sup>,宋

内及福氏志贺菌中 II 型整合子检出率分别为 80.6% 及 87.9%, 同时 *dfrA1 + sat1 + aadA1* 连续的基因盒序列与甲氧苄氨嘧啶及链霉素的耐药性相关, II 型整合子定位于 Tn7 区域, 而整合子介导的志贺菌耐药模式仍需进一步研究。

其中前两种机制具有很强的专一性, 即这些细菌仅对某种或某一类抗菌药物产生耐药性; 而后 4 种机制是非专一性的, 具有这 4 种耐药机制的细菌对不同结构类别或不同作用机制的抗菌药物都能产生耐药性, 即多重耐药 (multi-drug resistance)。这些致病耐药菌通常可以分为两类: 第一类是在医院长期使用抗生素的环境中进化选择出的一些互不相关的耐药性菌株, 虽然这些菌株不具有很强的致病性, 但对很多抗生素具有内在的耐药性, 其中包括在医院里被称之为条件致病菌 (opportunistic pathogens) 的铜绿假单胞菌和肠球菌; 第二类为具有很强致病性的耐药菌如葡萄球菌, 其中大多数开始时对抗感染药物是敏感的, 但长期使用抗生素的环境使耐药菌得以选择性地进化发展<sup>[38]</sup>。

细菌多重耐药一般都是多基因、多蛋白参与的一个复杂过程, 目前的研究还多局限于某一机制的个别基因及蛋白, 难以解释细菌多重耐药的全部现象, 尚缺乏志贺菌从敏感株变为耐药株的系统的、全面的研究和评价资料。迫切需要立足于整体, 从全基因组、蛋白质组的角度研究志贺菌的耐药机制。综合评价志贺菌在多重耐药产生过程中获得耐药性的主要方式及其共存的耐药机制。

对志贺菌耐药及多重耐药机制的全方位, 深层次的认知, 将为志贺菌耐药性的分子流行病学监测、研发新型抗菌药物及指导临床正确使用抗生素提供科学依据。也将对其他流行病菌的耐药研究有一定参考意义。

#### [参考文献]

- [1] LLANO-SOTELO B, AZUCENA E F Jr, KOTRA L P, et al. Aminoglycosides modified by resistance enzymes display diminished binding to the bacterial ribosomal aminoacyl-tRNA site [J]. *Chem Biol*, 2002, 9 (4): 455-463.
- [2] 张永龙, 李家泰. 北京地区临床分离菌对氨基糖苷类抗生素耐药情况调查研究及其耐药机理分析 [J]. *中国抗生素杂志*, 1998, 23 (5): 371-376.
- [3] KAUL M, PILCH DS. Thermodynamics of aminoglycoside-rRNA recognition: the binding of neomycin-class aminoglycosides to the A site of 16S rRNA [J]. *Bacterial*, 2002, 41 (24): 7695-7706.
- [4] KAUL M, BARBIERI CN, KERRIGAN JE, et al. Coupling of drug protonation to the specific binding of aminoglycosides to the A site of 16 S rRNA: elucidation of the number of drug amino groups involved and their identities [J]. *Mol Biol*, 2003, 326 (5): 1373-1387.
- [5] 欧阳范献, 卜平凤. 细菌耐药机制研究进展 [J]. *中国热带医学*, 2004, 4 (5): 882-884.
- [6] PIEPER R, GATLIN-BUNAI CL, MONGODIN EF, et al. Comparative proteomic analysis of *Staphylococcus aureus* strains with differences in resistance to the cell wall-targeting antibiotic vancomycin [J]. *Proteomics*, 2006, 6 (15): 4246-4258.
- [7] SANBONGI Y, IDA T, ISHIKAWA M. Complete sequences of six penicillin-binding protein genes from 40 *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates collected in Japan [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48 (6): 2244-2250.
- [8] GHOSH AS, KAR AK, KUNDU M. Impaired imipenem uptake associated with alterations in outer membrane proteins and lipopolysaccharides in imipenem-resistant *Shigella dysenteriae* [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1999, 43 (2): 195-201.
- [9] LEE JK, LEE YS, PARK YK. Alterations in the GyrA and subunits of topoisomerase II and the ParC and ParE subunits of topoisomerase IV in ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Int Antimicrob Agents*, 2005, 25 (4): 290-295.
- [10] ART DJ, ATHARMNA A, DUNCAN GL, et al. Type II topoisomerase mutations in *Bacillus anthracis* associated with high-level fluoroquinolone resistance [J]. *Antimicrob Chemother*, 2004, 54 (1): 90-94.
- [11] TANKOVIC J, LASCOLS C, SCULO Q, et al. Single and double mutation in but not in *gyrB* are associated with low-and high-level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47 (12): 3942-3944.
- [12] PIDDOCK LJ, RICCI V, PUBWE L, et al. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* species from man and animals: detection of mutations in topoisomerase genes [J]. *Antimicrob Chemother*, 2003, 51 (1): 19-26.
- [13] RUIZ J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection [J]. *Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, 51 (5): 1109-1117.
- [14] 朱静媛, 段广才, 范清堂. 耐喹诺酮类福氏志贺菌基因突变分析 [J]. *中国公共卫生*, 2004, 20 (2): 154-156.
- [15] 朱静媛, 段广才, 郗园林. 志贺菌对喹诺酮类药物耐药分子机制的研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2004, 25 (3): 245-247.

- [16] SIROY A, COSETTE P, SEYER D, et al. . Global comparison of the membrane subproteomes between a multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain and a reference strain [J]. *Proteome Res*, 2006, 5 (12): 3385 – 3398.
- [17] PALASUBRAMANIAM S, KARUNAKARAN R, GIN GG, et al. . Imipenem-resistance in *Klebsiella pneumoniae* in Malaysia due to loss of OmpK36 outer membrane protein coupled with AmpC hyperproduction [J]. *Infect Dis*, 2007 Mar 2 [Epub ahead of print].
- [18] MARK CS, CHAD H, CHRISTINA C, et al. . Antibiotic Susceptibility Profiles of *Escherichia coli* Strains Lacking Multi-drug Efflux Pump Genes [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, 45 (4): 1126 – 1136.
- [19] KIRALJ R, FERREIRA MM. Molecular graphics approach to bacterial AcrB protein-beta-lactam antibiotic molecular recognition in drug efflux mechanism [J]. *Mol Graph Model*, 2006, 25 (1): 126 – 145.
- [20] VEDIYAPPAN G, BORISOVA T, FFALICK JA. Isolation and characterization of VceC gain-of-function mutants that can function with the AcrAB multiple-drug-resistant efflux pump of *Escherichia coli* [J]. *Bacteriol*, 2006, 188 (11): 3757 – 3762.
- [21] NICOLOFF H, PERRETEN V, MCMURRY LM, et al. . Role for tandem duplication and lon protease in AcrAB-TolC- dependent multiple antibiotic resistance (Mar) in an *Escherichia coli* mutant without mutations in marRAB or acrRAB [J]. *Bacteriol*, 2006, 188 (12): 4413 – 4423.
- [22] 杨海燕, 段广才, 郗园林. 主动外排系统 acrAB-tolC 在志贺菌中的分布和表达 [J]. *中国公共卫生*, 2005, 21 (6): 685 – 688.
- [23] 杨海燕, 段广才, 郗园林. 临床分离志贺菌属细菌主动外排系统 acrAB-tolC 基因的表达 [J]. *郑州大学学报 (医学版)*, 2005, 40 (5): 857 – 861.
- [24] 顾兵, 童明庆. 整合子与细菌耐药 [J]. *临床检验杂志*, 2005, 23 (3): 83 – 86.
- [25] KAZAMA H, HIZU K, IWASAKI M, et al. . A new gene, aadA2b encoding an aminoglycoside-aminyl transferase AAD (3'') (9), isolated from integron InC in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Microbios*, 1996, 86 (347): 77 – 83.
- [26] PETER A, CHRISTOPHER J, WILLIAM D, et al. . Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae [J]. *Antimicrob Agents Chem other*, 2001, 45 (9): 2658 – 2661.
- [27] 李可, 张茂棠, 徐亚军, 等. 健康人群人肠埃希菌 I 类整合子与多重耐药的相关性分析 [J]. *现代预防医学*, 2005, 32 (2): 778 – 727.
- [28] 许宏涛, 张秀珍. 医院感染铜绿假单胞菌多重耐药机制的研究 [J]. *中国抗感染化疗杂志*, 2005, 5 (3): 141 – 145.
- [29] QUINTEIRA S, SOUSA JC, PEIXE I, et al. . Characterization of In100, a new integron carrying a metnII beta lactamase and a carbapenemase, from *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Antimicrob Agents Chem other*, 2005, 49 (1): 451 – 453.
- [30] 杜艳, 黄东, 胡莹, 等. 多重耐药不动杆菌临床菌株中整合子的基因分析 [J]. *中华检验医学杂志*, 2004, 27 (11): 802.
- [31] KOELEMEN JG, STOOFF J, VAN DER BIJL MW, et al. . Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR [J]. *Clin Microbiol*, 2001, 39 (1): 8 – 13.
- [32] MARMMINA C, PONTELLO M, DAL VECCHIO A, et al. . Identification of *Shigella sonnei* biotype g isolates carrying class 2 integrons in Italy (2001 to 2003) [J]. *Clin Microbiol*, 2005, 43 (5): 2467 – 2470.
- [33] DUBOIS V, PARIZANO MP, ARPIN C, et al. . High Genetic Stability of Integrons in Clinical Isolates of *Shigella* spp. of Worldwide Origin [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51 (4): 1333 – 1340.
- [34] PEIRANO G, AGERSO Y, AARESTRUP FM, et al. . Occurrence of integrons and resistance genes among sulfonamide-resistant *Shigella* spp. from Brazil [J]. *Antimicrob Chemother*, 2005, 55 (3): 301 – 305.
- [35] MCIVER CJ, WHITE PA, JONES LA, et al. . Epidemic strains of *Shigella sonnei* biotype carrying integrons [J]. *Clin Microbiol*, 2002, 40 (4): 1538 – 1540.
- [36] OH JY, YU HS, KIM SK, et al. . Changes in patterns of antimicrobial susceptibility and integron carriage among *Shigella sonnei* isolates from southwestern Korea during epidemic periods [J]. *Clin Microbiol*, 2003, 41 (1): 421 – 423.
- [37] PAN JC, YE R, MENG DM, et al. . Molecular characteristics of class 1 and class 2 integrons and their relationships to antibiotic resistance in clinical isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* [J]. *Antimicrob Chemother*, 2006, 58 (2): 288 – 296.
- [38] LIPSITCH M, LEVIN BR. The within-host population dynamics of antibacterial chemotherapy: conditions for the evolution of resistance [J]. *Ciba Found Symp*, 1997, 207: 112 – 127.