

未来的医药学工作者应用合理用药标准规范处方行为 如避免盲目开列“大处方”,严格掌握注射用药的临床适应证,口服用药应以性质稳定、价格合适的片剂、胶囊剂为主等。这些基本药物临床应用知识,应在日常医疗中得到实践。

3.2 应用评价医疗机构临床用药的调研方法,寻找促进临床合理用药的工作途径 WHO 曾为基层医疗机构门诊药品的合理使用,制定了系列调研指标。其核心指标有:每一处方的平均用药数;以通用药名(generic name)开写药物处方的百分数;有抗生素的处方百分数;含注射制剂的处方百分数;基本药物目录和《国家处方集》中药物在处方中所占百分数;患者接受临床询诊的平均时间;每一处方的平均消费金额;使用抗生素的消费额占处方金额的百分数;使用注射剂消费额占处方金额的百分数。这些

指标涉及处方行为、管理措施以及处方药品费用。在具体实施调研时可以根据调查单位、调研目的加以取舍,以期发现调研单位临床用药存在问题的线索,为进一步深入研究一个医疗单位的处方用药状况提供依据,使提高临床合理用药水平的努力,有的放矢,事半功倍。

[参考文献]

- [1] Management Sciences for Health. *Management Sciences for Health in Collaboration with the WHO Action Programme on Essential Drugs Managing Drug Supply* [M]. 2ed. Edition. West Hartford: Kumalian Press, 1997. 56 - 67.
- [2] 唐镜波,李少丽,李大魁,等. 制定我国国家药物政策的必要性与迫切性[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(12): 793 - 795.
- [3] 周海钧. 浅析制订国家药品政策的紧迫性[J]. 中国药师, 2002, 5(7): 407 - 408.

细菌对抗生素耐药性的起源分子基础与对策

高美英

(华中科技大学同济医学院附属同济医院传染病教研组,武汉 430030)

[摘要] 综述了细菌对抗生素的耐药机制、耐药基因的起源、以及如何处理细菌对抗生素的耐药性,旨在解决因细菌耐药性日益增强而导致的抗生素治疗学危机。

[关键词] 细菌;耐药性,抗生素;对策

[中图分类号] R978.1;R969.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2003)01-0006-03

随着抗生素的广泛应用及滥用,细菌对抗生素的耐药性已由单类耐药逐渐发展为多药耐药,在医院内重症感染患者中易出现多重耐药的致病菌,对多重耐药菌株感染的治疗极为困难。耐药性可在细菌间传播,耐药细菌又能在世界范围内播散,因而研究细菌的耐药机制与新的抗菌手段,已成为人类保护自己生存的一个长期乃至永恒的话题。本文将对抗生素耐药性

的起源、分子基础及其对策进行讨论。

1 细菌对抗生素耐药性的机制

1.1 细菌耐药的类型

1.1.1 天然或基因突变产生的耐药性 又称固有耐药,是细菌染色体基因决定的代代相传的天然耐药性。亦称突变耐药,通过染色体遗传基因 DNA 发生突变,细菌经突变后的变异株对抗生素耐药,一般突变率很低,由突变产生的耐药菌生长和分裂缓慢,故由突变造成的耐药菌在自然界的耐药菌中不占主要地位,但染色体介导的耐药菌并不少见。

1.1.2 获得耐药性或质粒介导的耐药性 是指细菌在接触抗生素后产生的耐药性,可通过

[收稿日期] 2002-06-21 **[修回日期]** 2002-07-02

[作者简介] 高美英(1933 -),女,湖北武汉人,学士,教授,主任医师,主要从事传染病与抗生素的研究工作。

突变产生,也可以通过获得新的 DNA 而产生,发生的遗传基础是染色体外的 DNA 片段,即耐药质粒。该 DNA 片段常带有耐药基因,绝大多数致病菌均具有耐药质粒。耐药基因可从一个质粒转移到另一个质粒,或从质粒到染色体或从染色体到噬菌体。这种转移方式使耐药因子增多,易于传递散播,造成医院内或医院外感染流行,对人类形成严重威胁。

1.2 细菌耐药的生化机制

1.2.1 产生灭活酶

细菌通过产生破坏或改变抗生素结构的酶如 β -内酰胺酶、氨基苷类钝化酶和氯霉素乙酰转移酶,使抗生素失去或减低活性。 β -内酰胺酶可通过水解或结合 β -内酰胺类抗生素而将其灭活,由 G^+ 菌如金黄色葡萄球菌所产生的青霉素酶最重要,由 G^- 菌所产生的 β -内酰胺酶系是 G^- 菌中最重要和最常见耐药机制。酶的来源有由染色体介导的,亦有由质粒介导的。近半个世纪以来,每当一个新的 β -内酰胺类抗生素上市,就会选择出相对应的新突变的产 β -内酰胺酶的菌株。目前在 G^- 杆菌中最引人注目的是细菌产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL_s)和 Bush I 组 β -内酰胺酶。广谱头孢菌素,尤其是第三代头孢菌素的广泛使用,产生出的选择性压力,导致产 ESBL_s 的 G^- 杆菌增多的主要原因,ESBL_s 可水解头孢噻肟、头孢他定等第三代头孢菌素而使之失活,但可为酶抑制药所抑制。Bush I 组 β -内酰胺酶为一种诱导酶,在无抗生素的情况下,只产生极微量的 β -内酰胺酶,当接触抗生素后,可被诱导产生大量的酶,而去除抗生素后产酶水平又可恢复正常。Bush I 组 β -内酰胺酶由 Amp C 基因编码。Amp C 基因具有较高水平的自然突变率,当使用超广谱头孢菌素后,Amp C 基因自发突变,可致稳定的去阻遏表达,而产生持续性高水平酶直至成百上千倍地升高、引起颇为棘手的耐药性,除碳青霉烯类外,大多数 β -内酰胺类抗生素及酶抑制药复方都可被其破坏而失活性。

1.2.2 膜通透性的改变(细菌壁屏障功能)

包括降低细菌细胞壁通透性和主动外排两种机

制,以阻止抗生素进入细菌或将抗生素快速泵出,泵出速度往往比流入速度更快。 G^+ 菌因缺少细菌外膜,故不存在膜通透性下降的耐药机制。 G^- 菌是通过一种膜蛋白令 β -内酰胺类抗生素进入细胞的。这种蛋白质是由水填充的、中空的,称为膜孔蛋白。膜孔蛋白通道非常狭窄,能对大分子及疏水性化合物的穿透形成有效屏障。鼠伤寒杆菌对多种抗生素相对耐药,系因其缺乏微孔蛋白的通道所致。

1.2.3 药物作用靶位的改变

抗生素可专一性地与细菌细胞内膜上的靶位点结合,干扰细菌壁肽聚糖合成而导致细菌死亡。由于这些靶位能同同位素标记的青霉素共价结合、而称之为青霉素结合蛋白(PBP)。PBP 具有酶活性,参与细菌细胞壁的合成,细菌可改变靶位酶,使其不为抗生素所作用,还可复制或产生新的靶位而获得对某抗生素的耐药性。这种由 PBP 介导的耐药性在 G^+ 菌中比 G^- 菌中更常见,其中最常见耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA),由于细菌产生一种新的 PBP-2 而对青霉素、头孢菌素类不敏感。某些淋球菌、肺炎链球菌、铜绿假单胞菌等能改变其 PBP 的结构,使与 β -内酰胺类抗生素的亲合力降低而导致耐药。

在不少耐药菌中耐药不仅只是存在一种机制,常可由二种或多种机制形成。一般说,耐药菌只发生在少数细菌中,难于与占优势的敏感菌竞争,只有当敏感菌因抗菌药物的选择性作用而被大量杀灭后,耐药菌才得以大量繁殖而继发各种感染。因此,细菌耐药性的发生、发展是抗菌药物广泛应用和无指征滥用的后果。

1.3 细菌多重抗生素耐药性的形成机制

1944 年远东地区感染性疾病会议将细菌耐药状况分为两类:①单类耐药,即因单一耐药因素,细菌对一类抗菌药物的同类药物均耐药;②多重耐药,细菌通过互不联系的耐药机制对两种或两种以上结构完全各异的抗生素出现耐药。质粒介导的多药耐药通常是由不同的单耐药基因装入转座子或者由重组、转位等机制构成的复制子,多由不同基因独立调节机制不同

的耐药。质粒上携带多重耐药基因较为人们所熟知,而由染色体介导的多药耐药似乎是在一个调节位点控制下的多基因协作表型,被了解得尚较少。Mar 即多重抗生素耐药性(multiple-antibiotic-resistance)。多药耐药的机制研究目前主要集中在外膜蛋白的改变或(和)主动排出机制上。 G^+ 菌没有外膜,主动排出系统位于细胞膜上,可将药物直接排出细菌外,而 G^- 菌具有外膜,主动排出系统又是如何发挥作用的呢?本文以大肠埃希菌为例进行叙述。

大肠埃希菌多重耐药的产生并非由质粒介导,而是由位于染色体上的多重耐药操纵子介导。在大肠埃希菌中发现的多药耐药基因有 MarRAB、SoxRS、acrAB、emrAB 等。Mar 基因位于大肠杆菌染色体 34 分位,以 Mar O 为中心,分别编码 MarC、MarR、MarA 和 MarB, MarRAB 操纵子为目前研究领域的热点。MarO 是 Mar 的调控区;MarA 对抗生素的耐药起正向调节作用,是 Mar 耐药的核心,单独存在就可以造成 Mar 耐药;MarR 是一个阻遏因子,当 MarR 或 MarO 基因突变,MarA 即可脱抑制形成 Mar 耐药;MarB、MarC 的功能目前尚不十分清楚。Mar 基因产物 Mar 蛋白在胞内量的增加,可导致 Mar 株的 MicF 基因转录水平增加,出现 OmpF 孔道减少,细胞膜对抗生素的通透性下降;Mar 基因亦可调节主动外排系统,增强细胞主动排出功能,二者协同作用,造成细胞内药物累积浓度降低而出现耐药,属膜耐药机制,对结构上无关的多种抗生素表现耐药。

2 耐药基因的起源

对抗生素耐药基因的起源尚不清楚,因为当开始使用抗生素时,耐药的生化和分子基础还未被人们认识。1914 ~ 1950 年收集的细菌对抗生素完全敏感,只是他们的确包含了一系列能共同传递的质粒^[1]。最早报道链球菌的耐药性是 20 世纪 40 年代早期^[2],后来观察到靶基因突变使耐药性迅速发展,令链霉素治疗失败。现在认为突变是造成结核杆菌耐药的常见机制,它使细菌对大多数抗结核药产生耐药,并且已弄清楚这种突变的分子本质^[3]。目前

认识到:很多产生抗生素的细菌和真菌具有耐药决定因子,与那些在临床细菌中发现的耐药决定因子相似,因此认为耐药基因可以是早已存在于自然界中,也可以是通过突变(基因变异)而很快地形成,细菌产生的突变也能传递(基因转移)。

3 如何处理细菌对抗生素的耐药性

为克服细菌对抗生素的耐药性,历年来努力寻找的解决途径及发展趋势如下。

3.1 传统但仍然是非常重要的方法

3.1.1 合理使用抗生素 降低抗生素选择性压力的最好办法是减少抗生素的应用,在应用抗生素前必须加强病原学的检查,严格掌握用药的适应证。建立细菌耐药性监测网,掌握本地区、本单位重要的常见致病菌对抗菌药物的耐药性变迁,以供临床选用抗生素药物的参考。

3.1.2 严格消毒隔离制度,防止耐药菌交叉感染 接触患者较多的医务人员应定期检查带菌情况,发现带菌则应予调换岗位,以免传播医院内感染。

3.1.3 加强药政管理 规定抗菌药物不得无处方供应。应避免临床用抗生素作为农牧业应用而使细菌对医用抗菌药产生耐药性。

3.1.4 开发研制新的抗菌药物 沿着微生物合成抗生素的传统途径不断地去寻找与开发新型抗生素,但在既昂贵又费时所取得的新抗菌药物应用的同时,又会不断地诱导出对新抗菌药物的耐药性,因而控制细菌的耐药性已不能单纯地寄希望于研制和开发新型抗生素,而应寻找新的控制途径。

3.2 破坏耐药基因 随着基因组研究的进展,学者们发现新攻击的目标——耐药基因,破坏它们就可令耐药菌恢复对抗生素的敏感性。1997 年美国耶鲁大学 Sidney Altman 教授创导了 EGS 技术(external guide sequence,外源性指导性序列)。EGS 为基因工程技术构建的基因片段,其 RNA 片段能够特异地与细菌中耐药基因转录的 mRNA 互补接合,经 RNase P 切割,耐药基因转录的 mRNA 被破坏,细菌失去对抗生素的耐药性,恢复其对抗生素的敏感性^[4]。目

前此项研究尚正在进行中。

3.3 噬菌体 近年来西方学者应用噬菌体治疗细菌性感染。因为细菌耐药性日益严重,人们又将注意力高度转向于此项研究,但由于噬菌体型特异性太强、太多,宿主谱也太窄,因而噬菌体治疗至今尚未取得明显突破。2001年美国 Ryland Young 进一步报道, Q_{β} 病毒(大肠埃希菌噬菌体)在细菌体内合成的蛋白质能阻止细菌产生坚硬的外层细胞壁^[5]。该蛋白通过抑制 MarA(一种酶)阻止胞壁前体物的合成,从而开创了病毒作为研究细菌耐药性的新途径,将有助于解决因细菌耐药性日益增强而导致的抗生素治疗学危机。

[参考文献]

[1] Hughes V M, Datta N. Conjugative plasmids in bacteria of the pre-antibiotic era [J]. *Nature*,

1983,302:725 - 726.

[2] Davies J E. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: Chadwick D J, Goode J. *Antibiotic Resistance: Origines, Evolution, Selection and Spread* [M]. Chichester: John Wiley & Ltd, 1997. 15 - 75.

[3] Musser J M. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights [J]. *Clin Microbiol Rev*, 1995,8(4):496 - 514.

[4] Guerrier-Takada Salavati C R, Altman. Phenotypic conversion of drug-resistant bacteria to drug sensitivity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997,94: 8468 - 8472.

[5] Bernhardt T, Lng-Nang W, Young R, *et al.* A Protein anti-biotic in the phage Q_{β} Virion: Diversity in lysis targets [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001,98:2326 - 2329.