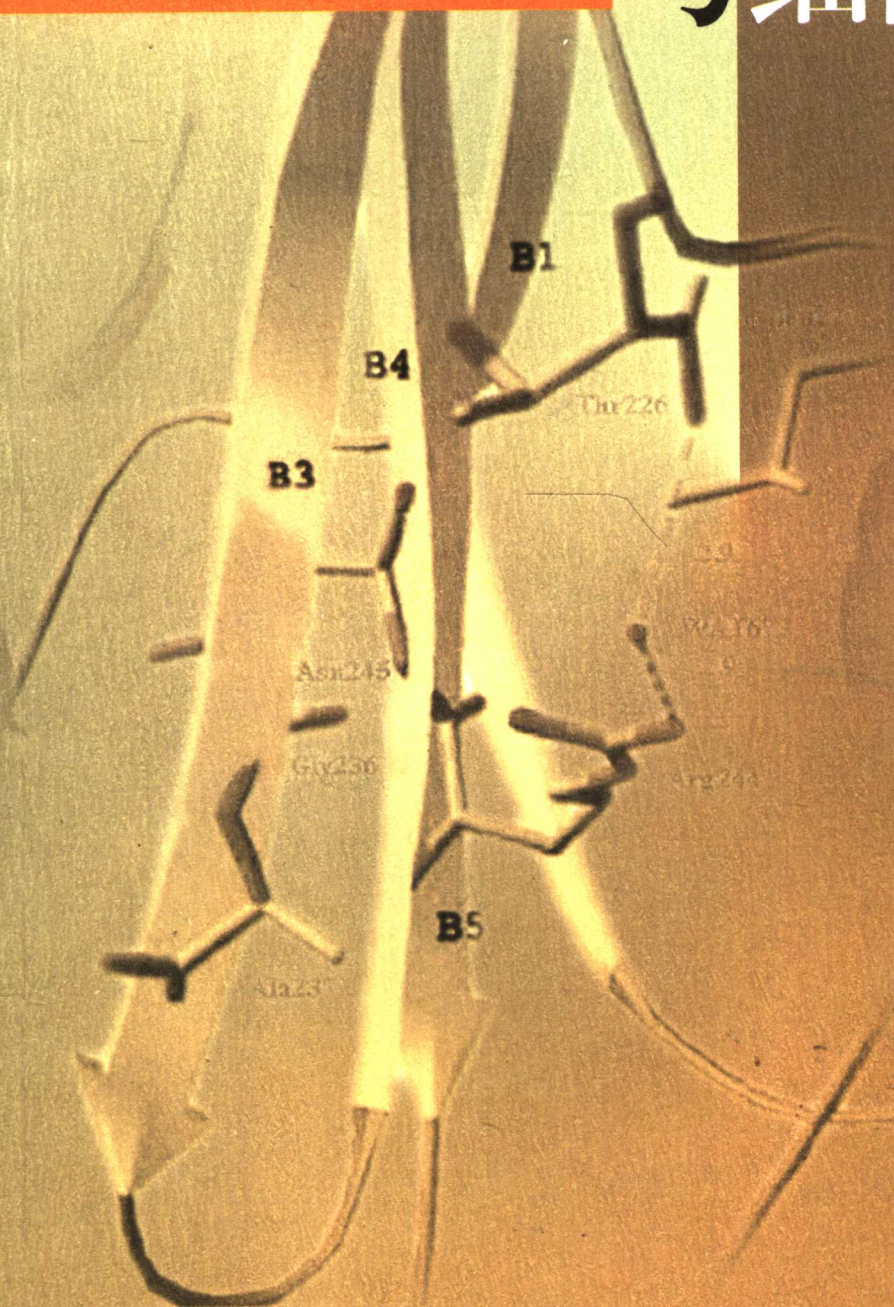


β -Lactamase and Bacterial Resistance

β -内酰胺酶 与细菌耐药

李金钟 刘利平 编著
李仲兴 主审



河北科学技术出版社

β - 内酰胺酶与细菌耐药

β - Lactamase and Bacterial Resistance

李金钟 刘利平 编著
李仲兴 主审

河北科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

β -内酰胺酶与细菌耐药/李金钟,刘利平编著,——
石家庄:河北科学技术出版社,2007.7

ISBN 978-7-5375-1883-3

I. β … II. ①李…②刘… III. ①内酰胺酶②细菌—抗
药性 IV. Q556 Q939.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 119241 号

β -内酰胺酶与细菌耐药

李金钟 刘利平 编著

李仲兴 主审

出版发行 河北科学技术出版社
地 址 石家庄市友谊北大街330号(邮编:050061)
印 刷 石家庄信力印刷有限公司
经 销 新华书店
开 本 787×1092 1/16
印 张 15
字 数 286000
版 次 2007年9月第1版
2007年9月第1次印刷
印 数 500
书 号 ISBN 978-7-5375-1883-3
定 价 28.00 元

序

细菌耐药性的明显增强已成为全球医学界关注的严重问题。国际上对细菌耐药机制的研究进展表明,耐药机制源于细菌基因在菌体内外环境的压力下发生变异,使细菌产生各种抗菌药物的灭活酶或修饰酶,或改变了抗菌药物对细菌的作用靶位,或使细菌的细胞膜能阻止甚至外排抗菌药物的进入,或使其具有了生成生物膜的能力。其中,细菌产生灭活酶或修饰酶是最为重要的耐药机制,而 β -内酰胺酶又是此类酶中数量最多、临床意义最重要者。

如今,细菌产生的 β -内酰胺酶已近500种,且其临床重要性日益增加,但国内尚缺少一部专著加以系统地介绍。河北省新乐市人民医院李金钟院长在繁忙的工作之余,多方广泛收集国内外的最新进展资料,完成了国内首部全面而深入地介绍细菌 β -内酰胺酶的专著,实为难能可贵,可喜可贺。

本书系统、全面地介绍了 β -内酰胺酶的分类、命名、结构、酶学和分子生物学特征、耐药谱、流行病学、检测方法以及产酶菌感染的临床治疗等。本书体现了理论与实践结合、基础与临床结合、临床与检验结合。吸收了国内外关于 β -内酰胺酶的最新研究成果,文字流畅,详略得当,是一部不可多得的好专著,值得一读。

关于 β -内酰胺酶的检测,至今CLSI只推荐ESBLs的筛查和确证法,且只限于大肠埃希菌、肺炎和产酸克雷伯菌、奇异变形杆菌。对AmpC酶、金属酶、D类酶等均尚无推荐法。这正说明对 β -内酰胺酶检测方法的研究是十分迫切的任务。我认为,我国有优势也有可能大量而深入的研究基础上建立起可靠而实用的检测法。我希望,在本书的引发下,使我国的临床微生物学对 β -内酰胺酶的研究进入一个新的创新阶段,发展到一个新的水平。

是为序。

中华医学会检验学会
原顾问、副主任委员
天津医学会检验学会顾问
天津医科大学检验系教授
天津市公安医院主任技师

王金良

2007年4月20日

前 言

如果说抗生素的问世是人类第一次征服细菌,那么,细菌耐药性的产生则是对人类智慧的又一次严峻挑战。耐药菌株的发生与发展是抗生素的广泛应用,特别是无指征滥用的结果。目前,几乎所有细菌都获得了耐药基因,使得每一种抗生素都能被细菌抵抗或破坏。

β -内酰胺类抗生素的临床应用,有效地控制了细菌感染性疾病对人类生命的威胁。然而,这类抗生素的广泛应用所产生的选择性压力,不仅促进了 β -内酰胺酶的产生,同时也加快了细菌突变而产生新的 β -内酰胺酶的进程。目前,产生 β -内酰胺酶已经成为革兰阴性菌对 β -内酰胺类抗生素耐药的主要机制。迄今,发现的 β -内酰胺酶已达500种,不同种类的 β -内酰胺酶的耐药谱和对 β -内酰胺酶抑制剂的敏感性有明显差异。而且, β -内酰胺酶的编码基因常与其他类抗生素耐药的编码基因联合,导致多重耐药菌株的产生,已经成为全球性的临床问题。耐药细菌感染导致患者住院时间延长、医疗费用增加、死亡率升高,在社区和医院中可引起散发、交叉感染,甚至暴发流行,对免疫缺陷者、婴幼儿和老年人的威胁更大。因此,在细菌耐药性持续增长的今天,了解 β -内酰胺酶与细菌耐药的关系、 β -内酰胺酶的产生与抗生素滥用的关系以及细菌耐药对人类生命的威胁等基本知识,及时、准确地进行 β -内酰胺酶和细菌耐药性的检测,加强抗生素的合理应用,对于改善患者的预后、减缓耐药菌株的产生以及延长现有抗生素的有效使用时间等,均具有重大意义。

为适应当前细菌耐药与临床抗感染治疗的新形势,我们在参考国内外大量文献的基础上,编写了本书,全书共分十章,第一章介绍了 β -内酰胺酶的分类、命名、分子结构、构效关系以及酶动力学特征等基本知识;第二章至第七章分别重点介绍了超广谱 β -内酰胺酶、AmpC β -内酰胺酶、耐酶抑制剂 β -内酰胺酶、金属 β -内酰胺酶、A类碳青霉烯酶和D类碳青霉烯酶的生物学特征、耐药特征和流行病学等内容;第八章主要介绍了 β -内酰胺酶抑制剂;第九章重点介绍了超广谱 β -内酰胺酶、AmpC β -内酰胺酶和金属 β -内酰胺酶的实验室检测方法;第十章则介绍了对产生不同种类 β -内酰胺酶菌株所致感染的临床治疗原则等。本书适于各科临床医师、医学院校师生和临床细菌学工作者应用。

在本书编写过程中,得到了河北医科大学第二医院李仲兴教授的热情鼓励与大力支持,并对内容进行审校;中华医学会检验分会原副主任委员、天津医科大学检验系王金良教授为本书作序,并提出了许多宝贵意见和建议。在此一并表示衷心感谢!

由于水平所限,错误之处在所难免,恳请有关专家、教授和同行不吝赐教。

作者

2007年4月

目 录

第一章 概论	(1)
第一节 细菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药机制	(1)
第二节 β -内酰胺酶的起源与分类	(2)
一、 β -内酰胺酶的起源	(2)
二、 β -内酰胺酶的分类	(3)
第三节 β -内酰胺酶的命名	(9)
第四节 β -内酰胺酶的分子结构	(13)
第五节 β -内酰胺酶的构效关系	(15)
一、 β -内酰胺酶的作用机制	(15)
二、 β -内酰胺酶耐药作用的决定因素	(16)
三、 β -内酰胺酶的构效关系	(17)
第六节 β -内酰胺酶动力学及其意义	(20)
一、 β -内酰胺酶底物动力学	(20)
二、pH、温度和酶量对 β -内酰胺酶的影响	(24)
三、 β -内酰胺酶抑制动力学	(24)
四、酶动力学的临床意义	(26)
第二章 超广谱 β -内酰胺酶	(27)
第一节 ESBLs 的定义	(27)
第二节 TEM 型 β -内酰胺酶	(29)
一、分类与基因型	(29)
二、分子与生物学特征	(32)
第三节 SHV 型 β -内酰胺酶	(35)
一、分类与基因型	(35)
二、分子与生物学特征	(35)
第四节 CTX-M 型 β -内酰胺酶	(40)
一、分类与基因型	(40)
二、分子与生物学特征	(41)
第五节 OXA 型 β -内酰胺酶	(45)
一、分类与基因型	(45)

二、分子与生物学特征	(48)
第六节 OXY 型 β - 内酰胺酶	(51)
一、分类与基因型	(51)
二、分子与生物学特征	(53)
第七节 PER 型 β - 内酰胺酶	(55)
一、分类与基因型	(55)
二、分子与生物学特征	(56)
第八节 GES 型 β - 内酰胺酶	(57)
一、分类与基因型	(57)
二、分子与生物学特征	(59)
第九节 BES 型 β - 内酰胺酶	(60)
一、分类与基因型	(60)
二、分子与生物学特征	(61)
第十节 其他超广谱 β - 内酰胺酶	(62)
一、BEL 型 β - 内酰胺酶	(63)
二、CGA 型 β - 内酰胺酶	(63)
三、CME 型 β - 内酰胺酶	(63)
四、SFO 型 β - 内酰胺酶	(64)
五、TEL 型 β - 内酰胺酶	(64)
六、TLA 型 β - 内酰胺酶	(64)
七、VEB 型 β - 内酰胺酶	(65)
第十一节 ESBLs 的耐药性特征	(66)
第十二节 ESBLs 的流行病学	(72)
一、ESBLs 在细菌间的分布	(72)
二、ESBLs 在地区间的分布	(72)
三、ESBLs 不同型别的分布	(73)
四、ESBLs 菌株在医院内的传播方式	(80)
五、ESBLs 产生的危险因素	(81)
六、ESBLs 菌株感染的预防和控制	(81)
第三章 AmpC β - 内酰胺酶	(83)
第一节 AmpCs 的分类	(83)
一、按产生的方式分类	(83)
二、按能否被 β - 内酰胺类抗生素诱导分类	(84)
三、其他分类	(84)

第二节 染色体介导的 AmpCs	(85)
一、基因结构与功能	(85)
二、基因表达的调控机制	(88)
第三节 质粒介导的 AmpCs	(93)
一、分类与基因型	(94)
二、基因的表达调控机制	(98)
三、分子与生物学特征	(100)
四、酶动力学特征	(101)
五、耐药特征	(103)
六、流行病学	(105)
第四章 耐酶抑制剂 β -内酰胺酶	(106)
第一节 分子与生物学特性	(106)
第二节 构效关系	(108)
第三节 酶动力学与耐药特征	(119)
第四节 流行病学	(112)
第五章 金属 β -内酰胺酶	(115)
第一节 MBLs 的分类	(116)
一、来源分类	(116)
二、生化分类	(117)
三、分子生物学分类	(118)
第二节 获得性 MBLs 的分类与基因型	(118)
一、IMP 型	(118)
二、VIM 型	(121)
三、SPM 型	(122)
四、GIM 型	(123)
五、SIM 型	(123)
第三节 MBLs 的分子与生物学特征	(123)
一、MBLs 的分子结构	(124)
二、分子与生物学特征	(125)
三、耐药性传播机制	(127)
第四节 酶动力学与耐药特征	(128)
一、酶动力学特征	(128)
二、耐药特征	(130)
第五节 MBLs 的流行病学	(131)

第六章 A 类碳青霉烯酶	(134)
第一节 SME 型碳青霉烯酶	(134)
一、起源与基因型	(134)
二、分子与生物学特征	(135)
三、耐药特征	(136)
四、流行病学	(136)
第二节 KPC 型碳青霉烯酶	(137)
一、起源与基因型	(137)
二、分子与生物学特征	(138)
三、酶动力学特征	(138)
四、流行病学	(139)
五、实验室检测	(140)
第三节 其他 A 类碳青霉烯酶	(141)
一、IMI 型 β -内酰胺酶	(141)
二、Nmc-A 型 β -内酰胺酶	(141)
三、GES-2 型 β -内酰胺酶	(142)
第七章 D 类碳青霉烯酶	(143)
第一节 起源与分群	(143)
第二节 基因环境	(146)
第三节 生化与耐药特征	(148)
一、生化特征	(148)
二、耐药特征	(148)
第四节 结构与功能的关系	(150)
第八章 β-内酰胺酶抑制剂	(151)
第一节 克拉维酸	(151)
一、克拉维酸的特性	(151)
二、克拉维酸的作用机制	(152)
三、以克拉维酸为抑制剂的复合制剂	(152)
第二节 舒巴坦	(152)
一、舒巴坦的特性	(152)
二、舒巴坦的作用机制	(153)
三、以舒巴坦为抑制剂的复合制剂	(153)
第三节 他唑巴坦	(153)
一、他唑巴坦的特性	(153)

二、以他唑巴坦为抑制剂的复合制剂	(154)
第四节 其他抑制剂	(154)
一、BRL-42715	(154)
二、SYN-2190	(155)
三、J-110、J-441、J-111 和 J-225	(155)
四、巯基化合物	(155)
第九章 β -内酰胺酶的检测	(157)
第一节 青霉素酶的检测	(157)
一、微生物活性消失法	(157)
二、快速 β -内酰胺酶检测法	(157)
第二节 ESBLs 的检测	(159)
一、表型检测法	(159)
二、分子生物学检测	(166)
第三节 AmpCs 的检测	(168)
一、诱导型 AmpCs 的检测	(168)
二、结构型和质粒介导 AmpCs 的检测	(169)
三、AmpCs 的基因检测	(177)
第四节 MBLs 的检测	(179)
一、表型检测法	(179)
二、MBLs 的基因检测	(184)
第五节 多种 β -内酰胺酶同步检测	(184)
一、纸片扩散试验	(185)
二、三维试验	(187)
三、头孢噻肟平板试验	(188)
第十章 产 β -内酰胺酶菌株感染的临床治疗	(189)
第一节 产 ESBLs 菌株感染的临床治疗	(189)
一、 β -内酰胺酶抑制剂复合抗生素	(189)
二、四代头孢菌素	(191)
三、碳青霉烯类	(192)
四、头霉素类	(193)
五、氨基糖苷类和氟喹诺酮类	(194)
第二节 产 AmpCs 菌株感染的临床治疗	(195)
一、产诱导型 AmpCs 菌株感染的临床治疗	(195)
二、产结构型 AmpCs 菌株感染的临床治疗	(196)

三、产质粒型 AmpCs 菌株感染的临床治疗	(198)
第三节 产 MBLs 菌株感染的临床治疗	(199)
主要参考文献	(201)
英汉对照	(215)

第一章 概论

自 20 世纪 40 年代青霉素 (penicillin) 问世以来, β -内酰胺类抗生素 (β -lactams antibiotics) 家族不断发展与壮大, 目前已有青霉素类 (penicillins)、头孢菌素类 (cephalosporins)、新型 β -内酰胺类 (other β -lactams) 三大类。其中, 新型 β -内酰胺类又包括单酰胺类 (monobactams)、碳青霉烯类 (carbapenems)、氧头孢烯类 (oxacephems) 和 β -内酰胺酶抑制剂复合抗生素 (β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations) 等。

β -内酰胺类抗生素的临床应用, 有效地控制了细菌感染性疾病对人类生命的威胁。然而, 随着这类抗生素的广泛应用, 产生 β -内酰胺酶 (β -lactamase) 已成为革兰阴性菌 (gram-negative bacteria) 对 β -内酰胺类抗生素耐药 (resistance) 的主要机制 (predominant mechanism), 这些酶可以通过破坏 β -内酰胺类抗生素的 β -内酰胺环 (β -lactam ring) 使其灭活 (inactivation), 导致细菌耐药。临床上导致革兰阴性菌对这类抗生素耐药最重要的是超广谱 β -内酰胺酶 (extended-spectrum β -lactamase, ESBLs)、AmpC β -内酰胺酶 (AmpC β -lactamase, AmpCs; AmpC 是指 ampicillin cephamycinase, 即氨苄西林头孢菌素酶)、耐酶抑制剂 β -内酰胺酶 (inhibitor-resistant β -lactamase, IRBLs) 和金属 β -内酰胺酶 (metallo- β -lactamase, MBLs)。不同种类的 β -内酰胺酶的耐药谱和对 β -内酰胺酶抑制剂的敏感性 (susceptibility) 有明显差异。而且, β -内酰胺酶的编码基因 (coding gene) 常与其他类抗生素耐药的编码基因联合, 导致多重耐药 (multidrug resistant, MDR) 菌株 (strain) 的产生与扩散, 这些 MDR 菌株的逐年增加, 不仅导致了临床抗感染治疗的失败, 而且造成了卫生资源的浪费, 已引起全球医学界的广泛关注。

本章主要针对 β -内酰胺酶的分类 (classification)、命名 (nomenclature)、分子结构 (molecular structure)、作用机制 (action mechanism)、结构与功能的关系 (relationship between structure and function) 以及酶动力学 (kinetic) 等基本知识进行介绍。

第一节 细菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药机制

目前认为, 细菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药机制 (resistance mechanism) 有 5 种。

1. 细菌生物膜的形成: 许多革兰阴性菌能在菌体外形成保护膜样物质——生物膜 (biofilm), 该膜具有特殊的化学成分, 能够阻止大多数 β -内酰胺类抗生素渗透至菌体

内,从而保护生物膜内的细菌不受抗生素的作用,也不被吞噬细胞(phagocyte)所吞噬,使原来敏感的抗生素不能直接作用于细菌,从而产生耐药。

2. 外膜孔蛋白丢失或突变(mutation):革兰阴性菌的细胞壁(cell wall)外膜上有蛋白通道,这个通道是抗生素进入细菌体内的重要途径,称为外膜孔蛋白(outer membrane porin, OMP)。OMP对β-内酰胺类抗生素的导入作用具有特异性(specificity),当某种OMP表达(expression)减少或缺失(deletion)时,相应的抗生素就不能进入细菌体内发挥作用,从而产生耐药。

3. 细胞壁的主动外排泵机制(efflux pump mechanism):细菌细胞壁上某些能量依赖性的酶促反应蛋白,能够将进入菌体内的抗生素泵出体外,使菌体内的药物达不到有效杀菌浓度,不能有效地发挥其抑菌作用,从而产生耐药。例如,铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的MexAB-OprM多药反泵系统能够泵出多种抗生素,包括β-内酰胺类抗生素及β-内酰胺酶抑制剂,使药物不能发挥作用而耐药。

4. 青霉素结合蛋白的改变:β-内酰胺类抗生素通过OMP进入周质间隙(periplasmic space),然后与青霉素结合蛋白(penicillin-binding protein, PBP)结合而发挥抗菌作用。如果细菌的PBP结构发生变化,β-内酰胺类抗生素与之亲和力(affinity)下降或不能与之结合,则不能有效干扰细菌细胞壁的合成,从而产生耐药。

5. 产生β-内酰胺酶:β-内酰胺酶通过与β-内酰胺环上的羰基(carbonyl group)共价(covalently)结合,水解酰胺键(amide bond)使β-内酰胺类抗生素失活,是导致β-内酰胺类抗生素临床治疗失败的最重要机制,也是难治性感染的最主要原因。

其中,PBP的改变是革兰阳性菌对β-内酰胺类抗生素耐药的主要机制;而产生β-内酰胺酶则是革兰阴性菌对β-内酰胺类抗生素耐药的主要原因。

第二节 β-内酰胺酶的起源与分类

一、β-内酰胺酶的起源

β-内酰胺酶不是细菌生长繁殖所必需的,但它是专门催化水解6-氨基青霉烷酸(6-aminopenicillanic acid, 6-APA)、7-氨基头孢烷酸(7-aminosporins sporanic acid, 7-ACA)及其N-酰基衍生物分子中β-内酰胺环酰胺键的灭活酶。

实际上,1940年Abraham和Chain最早从大肠埃希菌(*Escherichia coli*)发现的第一个β-内酰胺酶,是在青霉素临床应用之前。1976年,Matthew等应用等电聚焦电泳(isoelectric focusing electrophoresis, IFE)研究表明,被测试的几乎所有革兰阳性菌和革兰阴性菌,都可产生β-内酰胺酶。许多革兰阴性菌具有天然产生染色体介导β-内酰胺酶(chromosomally-mediated β-lactamase)的特点,这些酶被认为由PBP进化(evolution)而

来,它们之间具有一定的序列同源性(homology)。细菌天然产生染色体介导 β -内酰胺酶,可能与环境中某些微生物(microorganism)产生的 β -内酰胺类抗生素所形成的选择压力(selective pressure)有关,这也是细菌自我保护的一种本能——产生 β -内酰胺酶以抵抗产生 β -内酰胺类抗生素微生物的拮抗作用(antagonism),从而利于其自身的生长与繁殖。因此推测,细菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药性,在人类发现青霉素之前就已经存在了。依据其氨基酸序列(amino acid sequence)的多样性(diversity),估计丝氨酸 β -内酰胺酶(serine β -lactamase)可能已经历了20多亿年的进化。

在青霉素临床应用不久,很快就发现了金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)产生的质粒介导(plasmid-mediated)青霉素酶(penicillinase),这种酶基因通过质粒,快速传播到临床分离的金黄色葡萄球菌和其他葡萄球菌,以至于目前80%以上的临床分离葡萄球菌对青霉素表现出高水平耐药。

早在1960年,在大肠埃希菌中发现了第一个质粒介导 β -内酰胺酶(plasmid-mediated β -lactamase)TEM-1,其编码基因通过质粒(plasmid)和转座子(transposon)很快在其他菌种中进行传播,并在几年后扩散至全球。另一个发现于肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)和大肠埃希菌的质粒介导 β -内酰胺酶是SHV-1,该酶在多数肺炎克雷伯菌中由染色体编码(chromosomally-encoded),但在大肠埃希菌中由质粒介导。20世纪80年代,专门针对 β -内酰胺酶水解活性而设计的氧亚氨基头孢菌素(oxyimino-cephalosporins)等应用于临床后,很快就出现了可有效水解这类抗生素的ESBLs SHV-2。因此,氧亚氨基头孢菌素的广泛应用所产生的选择压力,是各种新 β -内酰胺酶发生与发展的必然结果。

20年前,在大肠埃希菌和其他肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)细菌中,由质粒介导对 β -内酰胺类抗生素的耐药大多是由于携带TEM-1、SHV-1或OXA-1的编码基因所致。当时B类和C类酶几乎都由染色体基因所编码,仅限于某些特定的菌种。但现在,发现的 β -内酰胺酶不仅数量大,而且种类繁多;不仅可染色体编码,而且可质粒介导,已经成为当前全球医学界研究的热点问题。

二、 β -内酰胺酶的分类

从广义上来说, β -内酰胺酶可分为丝氨酸 β -内酰胺酶和金属 β -内酰胺酶(MBLs),前者活性位点含有丝氨酸残基(serine residue),类似于细菌的PBP;后者的活性依赖于锌离子(Zn^{2+})。

(一) 革兰阳性菌 β -内酰胺酶的分类

革兰阳性菌(gram-positive bacteria)产生的 β -内酰胺酶远少于革兰阴性菌,主要有金黄色葡萄球菌、芽胞杆菌(*Bacillus spp.*)、链球菌(*Streptococci*)、放线菌(*Actinomyces*)和分枝杆菌(*Mycobacteria*)的某些菌株。

金黄色葡萄球菌产生的 β-内酰胺酶,按血清型分类,可分为 A~D 四型;按其氨基酸组成和生化性质分类,可分为 A、B、C 三型。Richmond 借助异二倍体细胞(hetreodiploid cell)实验证实,金黄色葡萄球菌 β-内酰胺酶的合成由 *bla I* (*pen I*)、*blaZ*、*blaR I* 和 *penP* 基因(gene)调控。该菌产生的 β-内酰胺酶属于 Bush-J-M 分类法的 2 群,以青霉素为良好底物,是典型的青霉素酶,临床上分离的金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药,80% 以上是由青霉素酶所致。此类酶通常由质粒介导,产酶量大,多为胞外酶(extracellular enzyme)。但近年发现,金黄色葡萄球菌 β-内酰胺酶编码基因也可位于染色体上,这类酶产量较低,大多为头孢菌素酶(cephalosporinase),表现为中低度的耐药性。

同一株蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)可产生两种底物谱明显不同的 β-内酰胺酶,称为酶 I 和酶 II,分别由两个独立的基因编码,但可由同一底物诱导(induction)产生,具有青霉素酶和头孢菌素酶的双重活性。地衣芽胞杆菌(*Bacillus icheniformis*) 749 和 634b 各产生一种 β-内酰胺酶,两种酶的物理性质、酶学性质以及化学结构不尽相同。

链球菌产生的 β-内酰胺酶尚未得到充分研究,但已证实由质粒介导。其余革兰阳性菌产生的 β-内酰胺酶见表 1-2-1。

表 1-2-1 革兰阳性菌的 β-内酰胺酶

产生菌	酶型	MW	P I	组成酶或诱导酶	底物谱	基因位置	胞外酶	胞内酶
金黄色葡萄球菌 ABC		29600	8.9	诱导酶	主要水解青霉素	质粒	80%	20%
蜡样芽胞杆菌	酶 I	28000	9.25	诱导酶及组成酶	主要水解青霉素	NC *	90%	10%
			9.5	诱导酶及组成酶				
			9.7	诱导酶及组成酶				
	酶 II	22500	8.7	组成酶	广谱	NC	90%	10%
Strept Uperis Strept		NC	NC	NC	NC	质粒	NC	NC
fecalis								
耻垢分枝杆菌		2900	ND*	NC	广谱	NC		100%
地衣芽胞杆菌 794/C		28500	ND	诱导酶	主要水解青霉素	染色体	50%	50%
地衣芽胞杆菌 6364/C		28000	ND	ND	广谱	染色体	50%	50%
白色链霉菌 G		ND	ND	ND	主要水解青霉素	NC	99%	1%
白色链霉菌 R39		ND	ND	ND	广谱	NC	90%	10%

注: * 未知; # 未测定。

(二) 革兰阴性菌 β-内酰胺酶的分类

革兰阴性菌产生的 β-内酰胺酶种类繁多,分类也比较复杂,如 Richmond-Sykes 分类法、Sykes-matthew 分类法、按基因位置分类法、Mitsuhashi-Inoue 分类法、Ambler 分类法和 Bush-J-M 分类法等。但目前普遍公认的有两种方法,即 Ambler 分类法和 Bush-J-M 分类法,现分别介绍如下。

1. Richmond - Sykes 分类法。1973 年, Richmond - Sykes 依据底物轮廓(substrate profile)及质粒和染色体(chromosome)因子,将 β -内酰胺酶分为 5 大类。I 类主要表现为头孢菌素酶活性;II 类主要表现为青霉素酶活性;III 类为青霉素酶和头孢菌素酶活性大致相同,对氯唑西林(cloxacillin)敏感,抵抗对氯汞苯甲酸(*p*-chloromercuribenzoate);IV 类底物轮廓与 III 类相同,但抵抗氯唑西林,对对氯汞苯甲酸敏感;V 类底物轮廓类似于 II 类,但能水解氯唑西林,对巯基化合物(sulfhydryl compound)敏感。各类还可分为几个亚型。见表 1-2-2。

表 1-2-2 革兰阴性菌 β -内酰胺酶的 Richmond - Sykes 分类法

酶	酶型	对底物轮廓的水解率					
		青霉素	氨苄西林	阿莫西林	氯唑西林	头孢噻吩	头孢噻吩
I	a	100	0	0	ND	8000	620
	b	100	0	0	ND	350	80
	c	100	150	0	ND	2000	ND
	d	100	10	0	0	600	80
II	a	100	180	45	ND	<20	0
	b	100	160	ND	0	<20	0
III	a	100	180	10	0	140	<10
IV	a	100	120	10	<10	150	0
	b	100	125	45	20	50	<10
	c	100	170	50	20	70	0
V	a	100	950	ND	200	120	ND
	b	100	300	ND	200	50	ND
	c	100	100	60	0	20	<10
	d	100	180	80	0	40	<10

注:ND 未测定。

2. Sykes - matthew 分类法。1976 年, Sykes - Matthew 依据基因基础和分析性等电聚焦电泳(analytical isoelectric focusing electrophoresis),将 β -内酰胺酶分成 25 种。Matthew 根据等电点(isoelectric point, pI)对革兰阴性菌的 19 种质粒或转座子介导的 β -内酰胺酶进行了区分。不同 β -内酰胺酶由于氨基酸组成不同,其表面所带电荷不同,因此,在电场中泳动的速度也不一致,当达到各自的 pI 时,就会形成各自的电泳条带,用头孢硝噻吩(nitrocefin)进行染色后,可以依据 pI 的不同,对 β -内酰胺酶进行鉴别和分类。常用的等电聚焦电泳法有聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PGE)、琼脂糖凝胶等电聚焦电泳(agarose gel isoelectric focusing, AGIF)和密度梯度等电聚焦电泳(density gradient isoelectric focusing, DGIF)等,但应用 PGE 和 AGIF 测定的 pI 有差别,应在同一条件下进行比较分析。

3. 按基因位置分类法。不同的 β-内酰胺酶由不同的基因所编码, 其编码基因可位于染色体、质粒或转座子上, 因此, 可分为染色体介导的 β-内酰胺酶、质粒介导的 β-内酰胺酶和转座子介导的 β-内酰胺酶 (transposon-mediated β-lactamase) 三大类。

质粒介导的 β-内酰胺酶几乎都是青霉素酶, 产酶量大, 多表现为高度耐药性。染色体介导的 β-内酰胺酶大多为头孢菌素酶, 普遍存在于革兰阴性菌中, 但产酶量低, 多表现为中低度耐药。而转座子主要是将耐药菌株的耐药基因通过接合 (conjugation)、转导 (transduction)、转化 (transformation) 等方式, 使原来敏感的菌株获得耐药性, 并可由染色体等进行遗传, 使得耐药性得以广泛传播和分布。

4. Mitsunash-Inoue 分类法。Mitsunash 和 Inoue 根据底物轮廓和 pI, 将 β-内酰胺酶分为青霉素酶、头孢菌素酶、广谱酶和超广谱酶。

ESBLs 是指由质粒介导的能够赋予 (confer) 细菌对青霉素类, 头孢菌素类如头孢曲松 (ceftriaxone)、头孢噻肟 (cefotaxime)、头孢他啶 (ceftazidime) 等和单酰胺类如氨曲南 (aztreonam) 耐药的一类具有广谱水解活性的 β-内酰胺酶。由于 ESBLs 的编码基因常与其他类抗生素耐药的编码基因联合, 因此, 有部分产生 ESBLs 的菌株, 同时表达对氨基糖苷类 (aminoglycosides)、氟喹诺酮类 (fluoroquinolones) 的耐药性。目前, β-内酰胺酶的数量已达 500 种, 其中 ESBLs 所占数目近 250 种。大多数 ESBLs 属于 Ambler 分类法的 A 类和 Bush-J-M 分类的 2be 亚群, 少数为 Ambler 分类法的 D 类和 Bush-J-M 分类的 2d 亚群。

5. Ambler 分类法。Ambler 等测定了来源于金黄色葡萄球菌、地衣芽胞杆菌、蜡样芽胞杆菌及大肠埃希菌 TEM 的 4 类 β-内酰胺酶编码基因的核苷酸序列 (nucleotide sequence)。依据氨基酸序列的同源性、活性位点 (active site) 是否含有丝氨酸残基以及分子量 (molecular weight, MW) 的大小等, 将 β-内酰胺酶分为 A、B、C 和 D 四大类 (见表 1-2-3)。A、C 和 D 类 β-内酰胺酶活性位点为丝氨酸; B 类 β-内酰胺酶的活性部位为金属离子 (Zn^{2+})。其中 A、D 类酶可被 β-内酰胺酶抑制剂所抑制。

表 1-2-3 β-内酰胺酶的氨基酸残基

酶类	细菌	氨基酸残基
A	金黄色葡萄球菌	- Arg - Phe - Ala - Tyr - Ala - Ser - Thr - Ser - Lys - Ala -
A	地衣芽胞杆菌	- Arg - Phe - Ala - Phe - Ala - Ser - Thr - Ile - Lys - Ala -
A(β1)	蜡样芽胞杆菌	- Arg - Phe - Ala - Phe - Ala - Ser - Thr - Tyr - Lys - Ala -
A	大肠埃希菌	- Arg - Phe - Pro - Met - Met - Ser - Thr - Phe - Lys - Val -
C(AmpC)	大肠埃希菌	- Leu - Phe - Glu - Leu - Gly - Ser - Ile - Ser - Lys - Thr -
C(P99)	阴沟肠杆菌	- Leu - Phe - Glu - Leu - Gly - Ser - Ile - Ser - Lys - Thr -
	铜绿假单胞菌	- Leu - Phe - Glu - Ile - Gly - Ser - Val - Ser - Lys - Thr -
B	蜡样芽胞杆菌	- Ile - Leu - Val - Gly - Gly - Cys - Leu - Val - Lys - Ser -