

Carbapenemases 的探討

盧孝國 1 黃玉成 2

1 彰化基督教醫院小兒科 2 長庚兒童醫院兒童感染科

前 言

Carbapenems 是最廣效的 β -lactams 類的抗生素，除了沒有細胞壁的細菌，mycobacteria，以及 aeromonads 之外，其他的細菌都可以有效的控制。此類抗生素對具有 ESBL(extended-spectrum β -lactamases)的革蘭氏陰性菌以及產生 AmpC 酵素的菌種也有作用。而這兩個酵素的的存在正是諸多菌種對 oxyminoaminothiazolyl 頭芽孢素產生抗藥性的主要機制。雖此，carbapenems 仍然存在有抗藥性的問題，可以分為下列三個因素：1.target modification：因 penicillin-binding proteins 的改變所致，主要發生在一些革蘭氏陽性球菌。2.impermeability：因細菌外套膜蛋白通透性的改變所致，主要發生在一些革蘭氏陰性桿菌，如：Pseudomonas aeruginosa,Enterobacteriaceae 等。3. β -lactamases 的產生，可以是與生俱來或是後天性獲得。本次的主題在於探討後者，即 carbapenem β -lactamases 的產生。

位在染色體上的 carbapenemases

只有幾種不常見的非發酵菌(non-fermenters)和 aeromonads 細菌的染色體先天帶有會產生 carbapenemases 的基因，這是屬於 B 類的 β -lactamases。(註： β -lactamases 根據胺基酸結構及基因核酸序列而定出 A、B、C、D 四類)B 類的酵素是 β -lactamases 中唯一有鋅離子當作活化位置的酵素，也是 β -lactamases 中，carbapenemase 較為盛行的一類。在 EDTA 的作用下，此酵素的催化作用就會消失。其他 A、C、D 類的 β -lactamases 則缺乏鋅離子，但是具有以 serine 為基礎的機轉，除了少數例外，一般缺乏 carbapenemases 的活性。

染色體帶有具 carbapenemases 作用基因的細菌，如表一中所列，其個別的酵素在核酸序列及活性都是不同的，例如：Stenotrophomonas maltophilia L-1 有 4 個相同的次單位，而其他的酵素多是單一的多勝月太(polypeptide)。Aeromonads 的酵素對於 carbapenems 有抗藥性，但對於其他的 β lactams 則只有少許的作用。相對地，大部分表一所述的酵素除了 aztreonam 外，對其他的 β -lactams 都有著廣泛的活性。這些差異反映著這些酵素在演化上的差異性。另外，只有 1-3%的 Bacteroides fragilis 菌株是具有 ccrA 基因，這個基因可以是存在質體上，但是大部分還是存在細菌的染色體上。除了 monobactams 類的抗生素，CcrA 酵素可以對抗所有的 β -lactams 類抗生素，也可以成功的逃過 clavulanate 和 penicillanic acid sulphones 的作用。

對於染色體上具有 carbapenemases 的菌株而言，臨床上的重要性在目前的情況來說，還不是那麼地重要，因為 aeromonads，flavobacteria 和 Bacillus spp.這類的細菌，都是少見的致病菌，只有 S.maltophilia 倒是常常遇到。Imipenem 的使用或許會增加病患帶有 S. maltophilia，但是此菌往往只是移生的菌落(colonist)，而並非致病菌。

後天性的 carbapenemases

這類 carbapenemases 的產生是細菌經有性生殖而從染色體或質體獲得可以產生 carbapenemases 的基因所致，這類的菌種仍然相當少見，只有少數國家的少數菌株上可以偵測到，且直到近幾年才有文獻陸續報告出來。這些後天性的 carbapenemases，在 A、B、D 三類（如表二所示）中，分別有代表性的酵素，其中後天性 A 類的 carbapenemases 可在少數的 Enterobacteriaceae 中被發現，B 類 carbapenemases 可在 *Acinetobacter* spp.，*P.aeruginosa* 和 Enterobacteriaceae 中被發現，而 D 類酵素只有在 *Acinetobacter*spp.中被發現。

(一)後天性 B 類 carbapenemases：包括 IMP 及 VIM 兩類 β -lactamases。

(1)IMP lactamases

1991 年 Watanabe 等人報告了一株於 1988 年在日本收集到的 *P.aeruginosa* 具有轉移性 B 類酵素，這個酵素後來被認為就是 IMP-1，不過，IMP-1 正式的命名及定序(sequence)則是由另一株於 1991 年也是從日本分離出的 *Serratia marcescens* 菌株所帶有的酵素分析而來。在日本，於 1990 年代早期就持續有產生 IMP-1 酵素的 *P. aeruginosa* 和 *S.marcescens* 的菌株被報告出來，其中也包含了一株 *Klebsiella pneumoniae* 菌株產生 IMP-1 酵素的報告。第二種變異型 IMP-2，是從意大利分離出來的 *Acinetobacter* 菌株中，以 bla IMP-1 當 primers (引子)而得到的多聚酉每鏈反應產物當中得來的，這個變異型有 85%的胺基酸與 IMP-1 相符。第三種變異型 IMP-3，是在 1994 年到 1998 年間，從香港所分離的許多 *Acinetobacter* 菌株上所確認出來，這個酵素 95.6%的胺基酸與 IMP-1 相同，89.3%與 IMP-2 相同。除了 monobactams 類抗生素，這三個 IMP 酵素，對於其他的 β -lactams 都具有廣泛的作用。

帶有能產生 IMP 酵素的基因命名為 blaIMP，blaIMP-1 通常以一個片匣(cassette)的方式存在第一類的 integrons 當中；blaIMP-2 也發現是存在於一個 integron 當中，而 blaIMP-3 很可能也有相似的情形。這些 integrons 可以嵌入質體，而轉移到其他的菌株當中。blaIMP 基因和 carbapenems 抗藥性的關聯性其實並不完全，因為有些具有 blaIMP 基因的細菌並未發現有抗藥性，可能原因為 blaIMP 基因並非一定會表現出來，而有程度之分，例如某些 *Escherichia coli* 菌株具有 IMP-1，卻只表現低度的 carbapenems 的抗藥性。

(2)VIM β -lactamases

這型的 β -lactamases 在 1999 年第一次被報告出來，是根據 1997 年在意大利維洛納(Verona)所分離出的一株 *P. aeruginosa* 菌株所產生的酵素而命名，叫做 VIM-1。彼時回溯起來，自 1996 年起在希臘持續發生的血清型 O12 的 *P. aeruginosa* 群突發，這些菌株所帶有未定序的 blaVIM 變異也就明朗起來，於是在減少 imipenem 的使用後，在 1998 年其盛行率即明顯地降低下來。第 2 型 VIM 變異型(VIM-2)是根據 1996 年法國所分離出的一株 *P. aeruginosa* 菌株而來。此外，在阿曼及南韓同樣也發現了某些 *P. aeruginosa* 菌株帶有未定序的 VIM 相關酵素。4 年之內，分別在歐亞大陸的 3 個極端點(法國、韓國、阿曼)發現會產生 VIM 酵素的 *P.aeruginosa*，這項發現意味著某種演化上耐人尋味的問題。

比較 VIM-1 與 VIM-2，其胺基酸的一致性(homology)達 90%，而 VIM 與 IMP 相比較，則僅有不到 40%的一致性，(例如，IMP-1 與 VIM-1 僅有 31%的符合度)，但是兩者卻擁有著相似的酵素動力活性。像 IMP 一樣，VIM-1 及 VIM-2 也是以一個檔案的方式存在於 integrons 當中。

(二)後天性 D 類 carbapenemases

D 類的 β -lactamases 因為具有 oxacillinase 的活性，所以大都被歸類在表現型 OXA 的類別，常見的代表性酵素，有 OXA-1，-2 和 10 (PSE-2)，都不具 carbapenemase 的活性。OXA-2 和 10 可能產生 oxyimino-aminothiazolyl 頭芽孢素有抗性的突變種，但是到目前為止尚沒有產生 carbapenemase 的報告。

儘管 carbapenem 對一般 D 類 β -lactamases 是穩定的，但是具 oxacillinase 活性的此類 β -lactamases 同時對 carbapenem 具有抗藥性的 *Acinetobacter* 菌株已經一再地被分離出來，其中有些 oxacillinase 並已被定序(sequence)，證實為 D 類酵素(表二)。這些酵素包括，OXA-23 來自蘇格蘭，OXA-24，-25 來自西班牙，OXA-26 來自比利時，OXA-27 來自新加坡。另外，尚有一些未定序而具有 carbapenemase 活性的 OXA 酵素也從阿根廷、巴西、法國、科威特的 *Acinetobacter* 分離出來。OXA-23 和 OXA-27 酵素只有 2 個胺基酸的差異。同樣地，OXA-24, 25, 26 也只是 3 到 4 個胺基酸的取代或嵌入而已。但是 OXA-23/27 和 OXA-24/25/26 之間，胺基酸的一致性則只有 60%。OXA carbapenemases 對於 imipenem 的 V_{max} (酵素代謝速率的最大值)，僅是 enzympenicillin 的 1-3%，而對於 oxacillin，其 V_{max} 則是 benzylpenicillin 的兩倍。OXA carbapenemase 對於 oxyiminoaminothiazolyl 頭芽孢素的作用活性都是微弱的，而 tazobactam 和 clavulanate 則是 OXA carbapenemases 的抑制劑。

Carbapenem 對於會產生 OXA carbapenemases 的 *Acinetobacter* 菌株的 MICs (minimum inhibitory concentrations)一般在 4-64mg/L 之間，只是有些在體外試驗僅具有微弱 carbapenemase 活性的菌株竟然有相當高的 MICs 值，較令人吃驚，這可能的解釋是菌株在宿主體內是非通透性的，或者藉由高的親合力，低 k_m 值(註 k_m ：酵素作用的平衡係數)，使得水解的效率變好，於是酵素活性便大增。

(三)後天性 A 類 carbapenemases

A 類 carbapenemases 包含 Sme-1, Sme-2, NMC-A 和 IMI-1。這兩個 Sme 型的酵素是由英國和美國的 *Serratia marcescens* 分離而得，兩者僅有一個胺基酸的差別。IMI-1 和 NMC-A 有 96%的胺基酸相同，它們分別是從加州和法國的 *Enterobacter cloacae* 菌株分離出來。Sme 和 IMI/NMC 胺基酸的一致性為 70%。沒有任何的 A 類 carbapenemases 基因是儲存在具有傳遞性的 DNA 或是質體上面。產生 IMI-1 的原始菌株是在 1985 年被分離出來，而產生 Sme-1 的原始菌株是在 1982 年被分離出來，兩者都是在使用 imipenem 之前就已經存在了。

所有的 A 類 carbapenemases 都是 penicillinases，對於 penicillin、aztreonam 和 carbapenem 來說都有抗藥性，而對於 imipenem 的抗藥性比 meropenem 來得高；但是對於 oxyimino 類頭芽孢素不能分解，且 clavulanate 和 tazobactam 抑制這類酵素。其實，這些酵素的威脅似乎還不大，因為它們到目前為止仍然相當地稀少。

結 語

Carbapenems 仍然是最強的 β -lactams 類的抗生素，因 carbapenemases 引起的抗藥性仍然非常少。雖然如此，carbapenemases 已漸漸被發掘，特別是在 *P.aeruginosa* 和 *A. baumannii* 兩種菌株上。令人不安的包括 VIM 酵素已分別在五個相距甚遠的歐亞國家的 *P. aeruginosa* 中被發現；產生 IMP 酵素的菌株不再只是局限於日本，而且多種 OXA carbapenemases 也已出現在 *A.baumannii* 中。未來 carbapenemases 的累積會是一個危機，特別是在其他類 β -lactams 抗生素抗藥性日益增加的情形下，勢必會增加 carbapenems 的使用，再加上口服 carbapenems 類藥物和長效型 carbapenems 的開始使用，在在會加速讓產生 carbapenemases 的菌株被篩選出來。克服抗藥性並非易事，特別是對 B 類的酵素，除了 monobactams，這類的酵素有著強大的活性，而且非常穩定，難以控制。酵素抑制劑的前景較為看好，以 mercapto-acetic acid thiol esters 來抑制含鋅離子的 carbapenemases 活性，已成功地在體外試驗中完成，將來會有更好的成績。

表一 B 類酵素中位在染色體上的 carbapenemases*

酵 素	次單位數目
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> L-1	4
<i>Aeromonas hydrophila</i> CphA	1
<i>Aeromonas sobria</i> ImiS	1?
<i>Myroides odoratum</i> GN14053	1
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> BlaB	1
<i>Legionella gormanii</i> ATCC33297	1?
<i>Bacillus cereus</i> II	1
<i>Bacteroides fragilis</i> CcrA(CtiA)	1

* 資料來源：Livermore DM: Curr Opin Microbiol 2000; 3: 489-95.

表二 後天性 carbapenemases 的地理分布 *

酵素	類別	菌種	發現國家	最早年代
IMP-1 and unsequenced homologues	B	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i>	日本, 新加坡	1991
IMP-2	B	<i>Acinetobacter</i> spp.	義大利	1996
IMP-3	B	<i>Acinetobacter</i> spp. (multiple geno-species)	香港	1994
VIM-1	B	<i>P. aeruginosa</i>	義大利	1997
VIM-2	B	<i>P. aeruginosa</i>	法國	1996
VIM, unsequenced homologues	B	<i>P. aeruginosa</i>	希臘, 阿曼, 南韓	1996
OXA-23/27 cluster and unsequenced homologues	D	<i>Acinetobacter</i> spp.	蘇格蘭, 新加坡, 巴西	1985
OXA-24/25/26 cluster and unsequenced homologues	D	<i>Acinetobacter</i> spp.	西班牙, 比利時	
Sme-1, Sme-2	A	<i>S. marcescens</i>	英國, 美國	1982
IMI-1, NMC-A	A	<i>Enterobacter cloacae</i>	法國, 美國	1985

* 資料來源: Livermore DM: Curr Opin Microbiol 2000; 3: 489-95.

參考文獻

1. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA: A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1211-33.
2. Livermore DM, Woodford N: Carbapenemases: a problem in waiting? Curr Opin Microbiol 2000; 3: 489-95.
3. Livermore DM: Bacterial resistance to carbapenems. Adv Exp Med Biol 1995;390: 25-47.
4. Livermore DM: Carbapenemases. J Antimicrob Chemother 1992; 29: 609-13.
5. Payne DJ, Bateson JH, Gasson BC, et al: Inhibition of metallo-beta-lactamases by a series of mercaptoacetic acid thiol ester derivatives. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 135-40.