

文章编号: 1672-3384 (2010) -03-0031-07

革兰阳性球菌耐药机制的研究进展

【作者】 马越

中国药品生物制品检定所 国家食品药品监督管理局细菌耐药性监测中心 (北京 100050)

【摘要】 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、耐万古霉素的肠球菌和耐青霉素肺炎链球菌是革兰阳性球菌最主要的耐药问题。了解其耐药机制对于遏制革兰阳性球菌耐药性传播和蔓延, 控制感染具有重要意义。

【关键词】 耐药机制; 革兰阳性球菌; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 肺炎链球菌; 肠球菌

【中图分类号】 R915

【文献标识码】 A

革兰阳性球菌最主要的耐药菌, 包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、耐万古霉素肠球菌(VRE)和耐青霉素肺炎链球菌(PRSP)。本文简要概括上述三种阳性球菌主要耐药机制, 以期使读者能了解其耐药性, 为合理使用抗生素和控制感染提供参考依据。

1 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对多种抗生素的耐药机制

1.1 对β-内酰胺类抗生素耐药

众所周知, MRSA对β-内酰胺类抗生素的耐药机制主要是由 *mecA* 基因介导产生低亲和力青霉素结合蛋白 2a(PBP2a), 可代替正常的青霉素结合蛋白发挥作用, 肽聚糖和细胞壁合成得以继续, 细菌正常生长、繁殖。*mecA* 基因位于染色体称为 SCC-mec 可移动基因片段上, 表达受调节基因(*mecR1*)和抑制基因(*mecI*)调控, 在通常情况下, *mecI* 编码的抑制因子(*mecI* 蛋白)结合在 *mecA* 基因的启动子部位, 使 *mecA* 基因不能被转录; *mecR1* 在诱导剂(如β-内酰胺类抗生素)的作用下编码产生诱导因子(*mecR1* 蛋白), 去除 *mecI* 蛋白对 *mecA* 的阻遏作用, 转录产生 PBP2a^[1]。有时, *mecR1* 和 *mecI* 通过插入序列 IS257 (IS431) 或 IS1272, 导致 *mecA* 基因的结构性表达。

对 CA-MRSA 菌株的研究表明, *mecA* 不是介导β内酰胺耐药的唯一因素, BPB4 表达的缺失也可使菌株对苯唑西林的最低抑菌浓度(MIC)增高 16

倍。在苯唑西林存在时, BPB4 的缺失可影响 BPB2 的转录, 导致对苯唑西林的耐药^[2]。这一结果再次证明, 非 *mecA* 基因介导的 MRSA 确实存在, 所以当 *mecA* 基因和 PBP2a 检测阴性而苯唑西林 MIC 值 $\geq 4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 依然应该报告为 MRSA^[3]。

1.2 对糖肽类耐药

糖肽类抗生素如万古霉素、替考拉宁抑制细胞壁合成, 结合于肽聚糖前体的 D-丙氨酸-D-丙氨酸的 C 末端(N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰葡萄糖胺亚基), 阻止其合成粘肽基质。

对万古霉素敏感性下降的金黄色葡萄球菌分为 3 种: 耐万古霉素金黄色葡萄球菌(VRSA)、万古霉素中介敏感金黄色葡萄球菌(VISA)、万古霉素异质性耐药金黄色葡萄球菌(hetero-VRSA, hVRSA)。美国 CLSI 2006 年的新标准规定 MIC $\geq 16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为耐药, $4 \sim 8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为中介, $\leq 2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为敏感。hVRSA 是指亲代菌株对万古霉素敏感, 但含有对万古霉素中介甚至完全耐药的亚克隆, 出现频率为 $\geq 10^{-6}$, 可用万古霉素选择平板筛选出来, 并且在无抗生素的培养基上连续培养 > 9d 耐药性保持稳定。

万古霉素中介(VISA)和异质性万古霉素的(hVISA)金黄色葡萄球菌在 20 世纪 90 年代就有分离报道^[4], hVISA 最初对万古霉素敏感, 在万古霉素选择压力下产生 VISA。这种耐药性不是由于耐药基因的水平转移而获得的, 而是在万古霉素存

的情况下金黄色葡萄球菌多种因素适应的结果^[5-6],如肽聚糖合成变化而导致的细胞壁增厚及细胞壁自溶的降低,D-丙氨酰-D-丙氨酸残基的增加,造成假靶位来“亲和诱捕”或“阻塞”万古霉素。研究证明,*vraSR*操纵子和双组分传感器*graS*基因与hVISA/VISA耐药表型机制有关^[7-8]。

2002年首次报道高水平万古霉素耐药的金黄色葡萄球菌(VRSA),研究证实其耐药基因来源于共同分离的粪肠球菌,它为*VanA*基因组所编码,存在于一个57.9-Kb的多耐药性质粒(pLW1043)中,该质粒含有完整的10.8-Kb的*Tn1546*转座子,*Tn1546*编码9个多肽,这9个多肽协同作用最终形成D-丙氨酰-D-乳酸,取代了细菌肽聚糖前体中的UDP-胞壁酸五肽的D-丙氨酰-D-丙氨酸,使万古霉素失去作用位点,导致金黄色葡萄球菌对高水平万古霉素耐药^[9]。另外,粪肠球菌携带的接合*VanA*的*pAM830*质粒,可能与金黄色葡萄球菌进行菌属间万古霉素耐药基因的转移^[10];18-like质粒在另一株VRSA中是*VanA*传递的重要媒介^[11]。

1.3 对新抗生素的耐药机制

1.3.1 对噁唑烷酮类利奈唑胺耐药 噁唑烷酮类为蛋白质合成抑制药,代表药利奈唑胺作用于翻译的起始阶段,与核糖体50S亚基结合,抑制mRNA与核糖体连接,阻止70S起始复合物的形成,从而抑制了细菌蛋白质的合成^[12]。研究表明^[13],利奈唑胺结合23S rRNA V区中心环,即肽基转移酶,这一区域的突变导致利奈唑胺的耐药。23S rRNA中G2576U、U2500A、G2447U的替换均可导致利奈唑胺与靶位结合受阻而导致耐药^[14,15]。此外,质粒编码甲基化酶对23S rRNA A2503残基修饰也可造成金黄色葡萄球菌对利奈唑胺的耐药^[16-18]。

1.3.2 对达托霉素耐药 达托霉素(daptomycin)是脂肽类抗生素,在Ca²⁺存在下改变构象插入双层脂质中,引起细胞膜去极化而杀死革兰阳性菌。达托霉素耐药罕见,其机制为多因素,现尚未完全明了。染色体编码赖氨酸磷脂酰甘油合成酶基因

(*mprF*),传感器组氨酸激酶基因(*ycyG*),RNA聚合酶亚β和β'单位基因(*rpoβ*和*ropC*)的突变可导致对达托霉素敏感性的降低^[19]。在金黄色葡萄球菌达托霉素耐药株中,发现*mprF*和*ycyG*的突变,前者主要影响细胞膜磷脂浓度而导致耐药^[20]。

1.3.3 对替加环素耐药 替加环素属于甘氨酸环素类抗生素,不受四环素耐药机制的影响。由外排泵和核糖体保护而造成的四环素耐药,并不造成对替加环素的耐药。甘氨酸环素对核糖体的结合亲和性较传统的四环素要高,最近的研究表明,替加环素庞大的侧链集团可以克服四环素耐药机制的作用^[21-22]。

有报道经实验室诱导的MRSA N315和Mu3,对替加环素的敏感性降低,其MIC值增加了16~32倍。研究发现多药外排蛋白基因(*MepRBA*)编码了MarR-like转录调节子(*mepR*),可能是一个新的MATE家族外排泵基因(*mepA*),*mepR*基因的突变可能灭活*MepR*蛋白。*MepR*的功能可能是*mepA*的抑制子,*mepA*的过度表达导致金黄色葡萄球菌对替加环素外排作用的增强,使菌株对替加环素的敏感性降低^[23]。

1.4 其他

氨基糖苷类抗生素钝化酶是金黄色葡萄球菌对氨基糖苷类耐药的主要耐药机制,通常由质粒和染色体所编码,同时也与可移动遗传因子(整合子、转座子)有关。其作用机制是对氨基糖苷类抗生素分子中保持活性的基团——氨基或羟基进行共价修饰,包括N乙酰基转移酶(AAC)、腺苷转移酶(AAD)、核苷转移酶(ANT)和磷酸转移酶(APH)等^[24]。DNA旋转酶*gyrA*和*gyrB*和拓扑异构酶IV的*parC*和*parE*的核酸突变导致氨基糖苷的置换,使氟喹诺酮类药物不能与靶位结合,是金黄色葡萄球菌对喹诺酮的主要耐药机制。四环素耐药主要与主动外排蛋白Tet(K)有关,该蛋白质属于14转膜复合体,调控基因常存在于*pT181*上。*TetA(M)*编码的TetA(M)蛋白与核糖体作用,促进四环素从靶

位核糖体脱离^[25]。金黄色葡萄球菌对磺胺耐药是染色体编码的二氢叶酸合成酶的基因突变所致,降低了靶位对磺胺的亲合力。染色体编码二氢叶酸还原酶(DHFR)的 *dfrB* 基因突变导致对甲氧苄胺嘧啶中度耐药,高水平耐药多数由质粒 *dfrA* 基因介导^[26]。

2 VRE 的耐药机制

VRE 通过改变肽聚糖前体 D-丙氨酰-D-丙氨酸,使万古霉素失去作用位点,导致万古霉素耐药。这种改变是由一组耐药基因簇决定的,分为 6 型: *vanA*、*vanB*、*vanC*、*vanD*、*vanE*、*vanG*。肠球菌万古霉素耐药可分为 2 类:一类是固有耐药,见于粪肠球菌、铅黄肠球菌和黄色肠球菌,由 *vanC* 基因簇引起万古霉素低水平耐药;另一类是获得性耐药,常见于屎肠球菌和粪肠球菌^[27]。

2.1 VanA 型耐药机制

该型耐药菌株多见于屎肠球菌(*E. faecium*)和粪肠球菌(*E. faecalis*),可由万古霉素和替考拉宁诱导产生,常由质粒介导。耐药基因 *vanA* 基因簇是一个 1085bp 的转座子,包括抗性基因(*vanH*、*vanX*、*vanY*、*vanZ*)、调节基因(*vanR*、*vanS*)和转座基因(*ORF1*、*ORF2*)分别编码转座酶和解离酶。当 VRE 所在的环境中有万古霉素等糖肽类抗生素存在时,位于膜上的 VanS 蛋白接受此信号后发生自我磷酸化而激活,并将信号传递给细胞质中 VanR 蛋白而使其活化。活化的 VanR 蛋白的 DNA 结合域与调节基因 *vanR* 和抗性基因 *vanH* 的启动子 PR 和 pH 的调节区相结合,从而激活抗性基因和调节基因的转录活性,使其大量表达。在脱氢酶 VanH 和连接酶 VanA 作用下形成的 D-Ala-D-Lac 二羧肽,取代 D-Ala-D-Ala 二肽前体参与 VRE 的细胞壁合成;VanX 将细胞中的 D-Ala-D-Ala 二肽前体水解;VanY 将细胞中参与细胞壁形成的五肽糖前体 C 端-2Ala 切除,就这样 VRE 形成的细胞壁肽聚糖前体小肽就以 D-Ala-D-Lac 作为末端,从而极大地低了各种以 D-Ala-D-Ala 为靶点的抗生素的亲

力,使 VRE 产生耐药性。

2.2 VanB 型和 VanD 型的耐药机制

VanB 型耐药基因位于宿主染色体上,也可存在于质粒上,耐药性可转移。VanB 型耐药与 VanA 型耐药机制的生化基础类似,*vanB* 基因簇编码产生的 VanB 蛋白与 VanA 蛋白有 76% 的氨基酸相同,也是一种连接酶,生成 D-Ala-D-Lac 二肽,代替正常肽聚糖前体五肽中的 D-Ala-D-Ala,从而产生耐药。但与 VanA 型耐药不同的是,*vanB* 基因簇表现出很大的序列差异性,这可能与 VanB 型耐药株对万古霉素多水平耐药有关。VanD 型耐药株主要存在于粪肠球菌,耐药水平为中等,耐药表现为固有型。VanD 操纵子的构造与 VanA 和 VanB 相似,对糖肽类耐药的生化基础也相同,但相对于 VanA 和 VanB, VanD 型耐药属于固有型。

2.3 VanC 型耐药

VanC 型耐药型通常存在于鸡肠球菌(*vanC-1*)、铅黄肠球菌(*vanC-2*)和黄色肠球菌(*vanC-3*),大部分是固有型的,也有一部分菌株是可诱导的。与 VanA、VanB 和 VanD 型不同, VanC 操纵子由 *vanT*、*vanC*、*vanZyc*、*vanR* 和 *vanS* 5 个基因构成。*vanT* 基因编码产生一种膜结合的丝氨酸消旋酶催化产生 D-Ser, *vanC* 基因产生 D-Ala, D-Ser 连接酶,合成 D-Ala-D-Ser 代替 D-Ala-D-Ala 肽聚糖前体。

2.4 VanE 型耐药

VanE 在生化和表型上与 VanC 型相似,可被万古霉素诱导,在粪肠球菌中发现。VanE 操纵子的基因 *vanE* 编码连接酶, *vanXYE* 编码 D, D-二肽酶, *vanTE* 编码丝氨酸消旋酶,它们分别与 VanC 操纵子有 43% ~ 53% 的同源性。

2.5 VanG 型耐药

VanG 型仅在粪肠球菌中发现,其结构与前几型均不同,其基因簇由 7 个基因 7 个开放阅读框组成,起作用机制在进一步研究之中^[28]。

2.6 肠球菌对青霉素、氨苄西林的耐药

肠球菌对 β -内酰胺类抗生素呈中度固有耐药,

因此,CLSI 规定,任何 β -内酰胺类抗生素对肠球菌的抗菌活性,都低于青霉素和氨苄西林。肠球菌对青霉素的耐药机制是 PBP_s 与青霉素的亲和力下降,使青霉素不能与靶位 PBP 结合。粪肠球菌与屎肠球菌的 PBP_s 均有 5 个。粪肠球菌对大多数 β -内酰胺类耐药是由于 PBP-1(105kDa)与 PBP-3(79kDa)亲和力下降,并且在耐药菌中 PBP-3(或 PBP-5)不但亲和力下降并且有过量生产,显示临床分离的肠球菌对 β -内酰胺类呈高耐药株的耐药机制有关。屎肠球菌主要是 PBP-1 与 PBP-2 的亲和力下降。这可解释青霉素、氨苄西林对粪肠球菌和屎肠球菌的敏感性不同^[29]。

2.7 肠球菌对氨基糖苷类抗生素的耐药

肠球菌属对氨基糖苷类抗菌药物呈天然低水平耐药。检测高浓度庆大霉素的药敏性,可用于推测其与作用于细胞壁合成药的协同作用。高耐氨基糖苷类肠球菌(HLAR)检测已成为常规实验项目。对庆大霉素的耐药只可预知对除链霉素以外的氨基糖苷类药物的耐药情况,所以 HLAR 的检测应同时做庆大霉素和链霉素的检测。肠球菌对氨基糖苷类的耐药机制是由于氨基糖苷钝化酶对氨基糖苷类抗生素修饰灭活。肠球菌中的氨基糖苷钝化酶主要为双功能酶 AAC(6'')-APH(2''),表达这种双功能钝化酶的基因为 *aac(6'')-1e-aph(2'')*-1a,另一种基因为 *aph(2'')-1d* 也与高度耐药性有关。

3 肺炎链球菌耐药

肺炎链球菌的青霉素耐药机制:青霉素结合蛋白(PBP_s)是催化细菌细胞壁合成终末阶段的酶,是青霉素的作用靶位。PBP_s 发生变异,与抗生素的亲和力下降是肺炎链球菌对青霉素耐药的主要机制,其中 PBP1a、PBP2b 和 PBP2x 的变异起主要作用^[30]。PBP_s 由青霉素结合蛋白基因(*pbps*)编码。

分子质量由 43~100kDa;PBP-1a 与 PBP-1b 分子质量均为 100kDa, PBP-2a(89.4kDa), PBP-2x

(82kDa), PBP-2b(78kDa), PBP-3(43kDa)。敏感肺炎链球菌的 PBP-1a/1b, PBP-2a/2x/2b 都很容易被 β -内酰胺类抗生素结合而失活。肺炎链球菌耐药株则 PBP-1a, 2x, 2a 与 2b 这 4 个分子质量较大的 PBP_s 与青霉素的亲和力明显降低。编码表达这几个 PBP_s 的基因为 *pbp1a*, *pbp2x* 与 *pbp2b*, 这些耐药基因可在同种肺炎链球菌之间转移, 横向转移, 如由肺炎链球菌把耐药基因转移至草绿色链球菌, 则 *pbp2b* 基因起着重要的作用。*pbp1a*, *pbp2x* 这 2 个基因都在体外证明可把肺炎链球菌对超广谱头孢菌素的耐药性转移到敏感菌株中。

遗传学研究表明, 临床分离青霉素耐药菌株都存在 PBP1a、PBP2b 和 PBP2x 的变异, 这 3 个蛋白质的变异在肺炎链球菌青霉素耐药中起主要作用^[31]。低亲和力 PBP_s 是由变异的 *pbps* 基因编码。变异的 *pbps* 包含一些高度歧异的来自缓症链球菌、口腔草绿色链球菌等的同源基因序列, 通过种间重组而成, 呈镶嵌结构, 称为镶嵌基因(*mosaic gene*)^[32-33], 镶嵌基因序列与青霉素敏感的肺炎链球菌(PSSP)差异可达 25%^[34]。已证实 *pbp2x*、*pbp2b* 和 *pbp1a* 具有许多镶嵌区域大小和序列关系不同的等位基因变体^[35]。

对于非脑膜炎患者, 静脉用青霉素对肺炎链球菌的敏感性判定折点在 2007 年的 CLSIM100-S17 文件中为 $S \leq 0.06 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $R \geq 2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 2008 年的 CLSI M100-S18 文件中改为 $S \leq 2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $R \geq 8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。国内最近研究显示, 根据最新的折点, 在收集的 353 株肺炎链球菌中, 青霉素敏感的肺炎链球菌(PSSP)占 74.2%, 青霉素中介的肺炎链球菌(PISP)占 9.6%, 青霉素耐药的肺炎链球菌(PRSP)占 16.2%, 远低于以前有关 PRSP 的研究报道^[36]。

此外, 目前研究认为, 肺炎链球菌的四环素耐药主要由于 *tet* 基因编码的蛋白质的核糖体保护作用, 即此类蛋白质能与核糖体相互影响使细菌对四环素抑菌作用不敏感。*tetM* 作为四环素耐药基因

在肺炎链球菌最常见^[37],其次是 *tetO*^[38-39]。

4 大环内酯-林可胺类-链阳菌素(MLSB)耐药机制

细菌核糖体是菌体蛋白质合成的场所,分为 50S 大亚基和 30S 小亚基两部分,大亚基中含有 23S rRNA,是肽链合成中的一种核酶,同时也是多种抗菌药物结合的靶位点。X 射线结晶学分析核糖体三级结构模型显示,大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素类(MLS)药物可以同时接触 50S 大亚基内 23S rRNA 的 V 区中央环和 II 区的发夹 35 结构,结合区域的 23S rRNA 三维构象呈袋状结构。药物通过对 50S 大亚基的作用,促使肽-tRNA 分子从核糖体分离^[40],使肽链延伸终止和蛋白质合成可逆性的停顿。

革兰阳性球菌对 MLSB 类抗生素的耐药机制主要有主动泵出和核糖体靶位改变 2 种。细菌的细胞膜成分改变可形成一种依赖 ATP 质子泵的膜蛋白,通过耗能过程将药物排出体外而阻止药物作用于靶部位,此过程称为药物主动外排系统。膜蛋白由膜通道蛋白、融和蛋白和胞质膜外排蛋白 3 部分组成,它们的编码基因主要有 *Mef*、*Msr*^[41] 和 *MacAB* 等^[42]。*Mef* 是肺炎链球菌、化脓性链球菌的外排泵,*MsrA*、*MsrC* 分别是葡萄球菌、粪肠球菌的外排泵。这种由 *Mef* 基因编码的耐药性是 20 世纪 90 年代以后发现的耐药模式,称为 M 表型耐药,可以针对 14、15 元环大环内酯类药物,但对 16 元环大环内酯类抗生素、克林霉素和链阳性菌素 B 敏感^[43-44]。

后者与 *erm* 基因相关,耐红霉素甲基化酶基因(*erm*)介导的 23S rRNA 转录后修饰作用。*erm* 基因编码的蛋白质 Erm 为甲基化酶,催化 23S rRNA 的单个腺嘌呤(大肠埃希菌中为 A2058)成为 N6-甲基或二甲基腺嘌呤,影响 23S rRNA 和 MLSB 类药物结合的空间结构,使药物和核糖体结合减少,导致对 MLSB 类药物耐药。由 *erm* 基因介导的耐药又分为结构型和诱导型 2 种。结构型耐药表型是红

霉素和克林霉素均耐药,一般可通过药敏试验检测;诱导型耐药表型是红霉素耐药但克林霉素敏感,对克林霉素是否敏感可经大环内酯类药物诱导产生耐药现象的 D-试验检测。

但近年来 *erm* 基因以结构型表达更常见,主要是翻译弱化系统的碱基发生缺失、重复和点突变。这些菌株在诱导剂存在或不存在的条件下可对此类药物都同等程度耐药^[45]。目前 *erm* 基因系列已发现了几十种,可以位于结合型或非结合型转座子内,或由质粒携带。葡萄球菌中发现的 *erm* 基因主要有 *ermA*、*ermB*、*ermC3* 种^[45-46],各地对 3 种基因的比例报道不一致,但多以 *ermA*、*ermC* 为多见。

【参考文献】

- [1] Ito T, Ma XX, Takeuchi F, et al. Novel type V Staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase ccrC[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(7): 2637-2651.
- [2] Memmi G, Filipe SR, Pinho MG, et al. Staphylococcus aureus PBP4 Is Essential for β -Lactam Resistance in Community - Acquired Methicillin - Resistant Strains [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(1): 3955-3966.
- [3] Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement. M100 - S19^[S], CLSI, Wayne, PA, USA, 2009, 29(3): 52.
- [4] Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of Staphylococcus aureus heterogeneously resistant to vancomycin[J]. Lancet, 1997, 350(9092): 1670-1673.
- [5] Cui L, Iwamoto A, Lian JQ et al. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin - intermediate Staphylococcus aureus[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(2): 428-438.
- [6] Sieradzki K, Markiewicz Z. Mechanism of vancomycin resistance in methicillin resistant Staphylococcus aureus[J]. Pol J Microbiol, 2004, 53(4): 207-214.
- [7] Mwangi MM, Wu SW, Zhou Y et al. Tracking the in vivo evolution of multidrug resistance in Staphylococcus aureus by whole - genome sequencing[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(22): 9451-9456.
- [8] Howden BP, Stinear TP, Allen DL, et al. Genomic analysis reveals a

- point mutation in the two - component sensor gene *graS* that leads to intermediate vancomycin resistance in clinical *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(10): 3755-3762.
- [9] Weigel LM, Clewell DB, Gill SR, et al. Genetic analysis of a high - level vancomycin - resistant isolate of *Staphylococcus aureus* [J]. *Science*, 2003, 302(5650): 1569-1571.
- [10] Flannagan SE, Chow JW, Donabedian SM, et al. Plasmid content of a vancomycin - resistant *Enterococcus faecalis* isolate from a patient also colonized by *Staphylococcus aureus* with a *VanA* phenotype [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(12): 3954-3959.
- [11] Zhu W, Clark NC, McDougal LK, et al. Vancomycin - resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with *Inc18* - like *vanA* plasmids in Michigan [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(2): 452-457.
- [12] Shinabarger D. Mechanism of action of the oxazolidinone antibacterial agents [J]. *Expert Opin. Investig Drugs*, 1999, 8(8): 1195-1202.
- [13] Leach KL, Swaney SM, Colca JR, et al. The site of action of oxazolidinone antibiotics in living bacteria and in human mitochondria [J]. *Mol Cell*, 2007, 26(3): 393-402.
- [14] Meka VG, Pillai SK, Sakoulas G, et al. Linezolid resistance in sequential *Staphylococcus aureus* isolates associated with a T2500A mutation in the 23S rRNA gene and loss of a single copy of rRNA [J]. *J Infect Dis*, 2004, 190(2): 311-317.
- [15] Thompson JD, Kim F, O'Connor M, et al. Analysis of mutations at residues A2451 and G2447 of 23S rRNA in the peptidyltransferase active site of the 50S ribosomal subunit [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(6): 9002-9007.
- [16] Kehrenberg C, and Schwarz S. Distribution of florfenicol resistance genes *fexA* and *cfr* among chloramphenicol - resistant *Staphylococcus* isolates [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(4): 1156-1163.
- [17] Toh SM, Xiong L, Arias CA, et al. Acquisition of a natural resistance gene renders a clinical strain of methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* resistant to the synthetic antibiotic linezolid [J]. *Mol Microbiol*, 2007, 64(6): 1506-1514.
- [18] Kehrenberg C, Schwarz S, Jacobsen L, et al. A new mechanism for chloramphenicol, florfenicol and clindamycin resistance: methylation of 23S ribosomal RNA at A2503 [J]. *Mol Microbiol*, 2005, 57(4): 1064-1073.
- [19] Vikram HR, Havill NL, Koeth LM, et al. Clinical progression of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* vertebral osteomyelitis associated with reduced susceptibility to daptomycin [J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(10): 5384-5387.
- [20] Friedman L, Alder JD, Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(6): 2137-2145.
- [21] Bauer G, Berens C, Projan SJ, et al. Comparison of tetracycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug - directed Fe^{2+} cleavage of 16S rRNA [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 53(4): 592-599.
- [22] Bergeron J, Ammirati M, Danley D, et al. Glycylcyclines bind to the high - affinity tetracycline ribosomal binding site and evade Tet (M) - and Tet (O) - mediated ribosomal protection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40(9): 2226-2228.
- [23] McAleese F, Petersen P, Alexey R, et al. A novel MATE family efflux pump contributes to the reduced susceptibility of laboratory - derived *Staphylococcus aureus* mutants to tigecycline [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(5): 1865-1871.
- [24] Jensen SO and Bruce RL. Genetics of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. *Future Microbiol*, 2009, 4(5): 565-582.
- [25] Schmitz FJ, Krey A, Sadurski R, et al. Resistance to tetracycline and distribution of tetracycline resistance genes in European *Staphylococcus aureus* isolates [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2001, 47(2): 239-240.
- [26] Skold O. Resistance to trimethoprim and sulfonamides [J]. *Vet Res*, 2001, 32(3-4): 261-273.
- [27] Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin - resistant enterococci [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2000, 13(4): 686-707.
- [28] McKessar SJ, Berry AM, Bell JM, et al. Genetic characterization of *vanG*, a novel vancomycin resistance locus of *enterococcus faecalis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(11): 3224-3228.
- [29] Thouverez M, Talon D. Microbiological and epidemiological studies of *Enterococcus faecium* resistant to amoxicillin in a university hospital in eastern France [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(5): 441-447.
- [30] Crook DWM, Spratt BG. Multiple antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Britis Med Bull*, 1998, 54(3): 595-610.
- [31] Nagai K, Davies TA, Jacobs MR, et al. Effects of amino acid alterations in penicillin - binding proteins (PBPs) 1a, 2b, and 2x on PBP affinities of penicillin, ampicillin, amoxicillin, cefditoren, cefditoren, cefuroxime, cefprozil, and cefaclor in 18 clinical isolates of penicillin - susceptible, intermediate, and resistant pneumococci

- [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(5): 1273-1280.
- [32] Reichmann P, König A, Linares J, et al. A global gene pool for highlevel cephalosporin resistance in commensal *Streptococcus* species and *Streptococcus pneumoniae* [J]. *J Infect Dis*, 1997, 176(4): 1001-1012.
- [33] Hakenbeck R. β -lactam - resistant *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology and evolutionary mechanism [J]. *Chemotherapy*, 1999, 45(2): 83-94.
- [34] Hakenbeck R. Mosaic genes and their role in penicillin - resistant *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Electrophoresis*, 1998, 19(4): 597-601.
- [35] 姚开虎, 佟月娟, 俞桑洁, 等. 肺炎链球菌青霉素结合蛋白基因多态性与其青霉素敏感性的关系 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(12): 1107-1110.
- [36] 杨启文, 徐英春, 谢秀丽, 等. 全国 10 所医院院内与社区感染常见病原菌耐药性分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(9): 1133-1138.
- [37] 杨慧, 杨永弘, Elisabeth Nielsen, 等. 肺炎链球菌耐药基因 *ermB*、*mefA*、*tetM* 与转座子整合酶基因 *intTn* 的检测 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2005, 25(8): 677-682.
- [38] Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2001, 65(2): 232-260.
- [39] Montanar MP, Cochetti I, Mingoia M, et al. Phenotypic and molecular characterization of tetracycline and erythromycin resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(7): 2236-2241.
- [40] Vester B, Douthwaite S. Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(1): 1-12.
- [41] Nilius AM, Ma Z. Ketolides: the future of the macrolides [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2002, 2(5): 493-500.
- [42] Kobayashi N, Nishino K, Yamauchi A. Novel macrolide specific ABC type efflux transporter in *Escherichia coli* [J]. *J Bacteriol*, 2001, 183(19): 5639-5644.
- [43] Szczypa K, Sadowy E, Izdebski R, et al. Group A *Streptococci* from invasive - disease episodes in Poland are remarkably divergent at the molecular level [J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 40(11): 3975-3979.
- [44] Farrell DJ, Douthwaite S, Morrissey I, et al. Macrolide resistance by ribosomal mutation in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT 1999 - 2000 study [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(6): 1777-1783.
- [45] Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, et al. Nomenclature for macrolide and macrolide - lincosamide - streptogramin B resistance determinants [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(12): 2823-2830.
- [46] Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, et al. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(5): 1062-1066.

第十四届亚洲心身医学大会征文通知

第十四届亚洲及太平洋地区心身医学高峰论坛将于 2010 年 9 月 10 ~ 12 日在中国北京召开。本次大会主题是东西方心身医学新进展。大会由中国医师协会和亚洲心身医学会主办,可授予国家级 I 类继续教育学分。征稿内容:①东西方心身医学的新进展;②东方心身医学理论和实验研究;③心身医学的基础研究;④东方心身医学各种治疗的研究;⑤现代心身医学各种治疗的研究;⑥亚健康状态;⑦神经官能症;⑧抑郁症、焦虑症、睡眠障碍;⑨年轻人的心身障碍;⑩预防自杀及其他心身医学问题的基础、临床研究和病历报告。截止时间为 2010 年 6 月 1 日,提交至 acpm2010@yahoo.com.cn。

联系地址:北京市丰台区马家堡东路 2 号 409 室(100068) 联系人:王文娟 张静

联系电话:010 - 67534765 转 8888

大会网址:<http://www.bimtdoctor.com/asian/>