

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.04.047

肠球菌属耐药机制研究进展*

刘 丹 综述, 王佳贺[△] 审校

(中国医科大学附属盛京医院老年病科, 沈阳 110004)

关键词: 肠球菌; 糖肽类抗菌药; 氨基糖苷类抗菌药

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)04-0568-03

肠球菌是存在于人类和动物肠道的正常菌群, 既往被认为是人类无害的共栖菌。自 20 世纪 80 年代以来, 肠球菌引起的感染不断增加, 目前已成为引起医院感染的重要条件病原菌, 在革兰阳性球菌中居第 2 位, 仅次于葡萄球菌属, 可引起机体多种组织器官的严重感染, 包括尿路感染、皮肤软组织感染、心内膜炎、腹腔感染、脑膜炎、败血症等, 甚至危及患者生命。近年来, 肠球菌在临床上的分离率不断上升, 危害性越来越大, 被美国医院感染监测系统(NISS)列为医院感染的第 2 大病原菌, 其检出率仅次于大肠杆菌。由肠球菌引起的感染耐药机制复杂, 包括固有耐药和获得性耐药^[1]。随着临床抗菌药物的广泛使用, 肠球菌对抗菌药物的耐药性和耐药种类不断增加, 且临床分离的肠球菌属多为多重耐药菌株, 尤其是耐万古霉素肠球菌(VRE)和氨基糖苷类高水平耐药肠球菌(HLAR), 给临床治疗带来极大的困扰^[2]。目前尚缺乏治疗 VRE 的特效药物, 只能根据药敏检测结果和耐药基因表型检测结果选用抗菌药物。

1 肠球菌对糖肽类抗菌药物的耐药机制

目前认为糖肽类抗菌药物是治疗肠球菌感染的最后一道防线, 但已出现对糖肽类抗菌药物耐药的肠球菌。自 1988 年在英国伦敦首次分离得到 VRE 以来, 该耐药菌又相继出现在世界各地。美国疾病控制与预防中心(CDC)的数据显示, 1989 年 VRE 在美国的分离率为 0.3%, 而在 2000 年已经上升至 25.9%。我国 VRE 的分离率较欧美国国家低, 但近年来仍有不断上升的趋势。糖肽类抗菌药物通过与细菌细胞壁上的 D-丙氨酸-D-丙氨酸(D-ALA-D-ALA)为末端的肽聚糖前体特异性结合, 抑制肽聚糖的延伸和交联, 抑制细菌细胞壁的生物合成。耐糖肽类抗菌药物肠球菌的产生是由于肠球菌细胞可产生一种前体, 使其末端基因发生变化, 导致糖肽类抗菌药物分子无法与之结合, 不能阻止细菌细胞壁的合成从而产生耐药^[3]。目前已证实耐糖肽类抗菌药物肠球菌的表现型有 VanA、VanB、VanC、VanD、VanE、VanG, 除 VanC 为天然耐药外其他均为获得性耐药, 其中

VanA、VanB、VanD 的耐药原因为 D-ALA-D-ALA 被 D-丙氨酸-D-乳酸(D-ALA-D-LAC)所取代, 而 VanC、VanE、VanG 的耐药原因为 D-ALA-D-ALA 变成了 D-丙氨酸-D-丝氨酸(D-ALA-D-SER)。

1.1 VanA 由 vanA 基因编码, 对万古霉素和替考拉宁高水平耐药, 耐药机制包括 D-ALA-D-ALA 末端被 D-ALA-D-LAC 所取代和万古霉素敏感结合位点被破坏两部分。此外, 有研究证实 VanA 型菌株带有 VanA 基因的转座子 TN1546 与 IS1251 在肠球菌中传播 VanA 基因^[4]。

1.2 VanB 由 vanB 基因编码, 对万古霉素可变水平耐药, 对替考拉宁敏感, 对万古霉素特异性耐药。

1.3 VanC 由染色体上的编码基因 vanC 操纵子编码, 表现为低水平耐药, 主要耐药原因为 VanC 催化 D-ALA-D-SER 替换 D-ALA-D-ALA, 从而降低万古霉素的亲和力^[5]。

1.4 VanD 由 vanA 基因编码, 表现型不稳定, 易转化为 VanA 菌株, 对万古霉素高水平耐药, 对替考拉宁敏感或中介。

1.5 VanE 与 VanC 有较高的同源性, 对万古霉素低水平耐药, 对替考拉宁敏感。对万古霉素耐药机制与 VanC 类似, 是由于万古霉素结合靶点的 D-ALA-D-ALA 被 D-ALA-D-SER 所取代, 从而使万古霉素的亲和力降低。

1.6 VanG 临床较少见, 对万古霉素低水平耐药, 对替考拉宁敏感, 耐药机制为由 vanB 编码对万古霉素低水平耐药的蛋白酶, 该酶可使万古霉素结合靶点的 D-ALA-D-ALA 被 D-ALA-D-SER 所取代, 亲和力降低^[6-7]。

目前研究证实 VRE 耐药是由质粒介导, 由于有质粒和各种转座子的参与, VRE 的传播不仅使耐药基因克隆扩增, 而且还有耐药基因在菌株间的平行转移, 且这种平行转移易使耐药基因转移给其他的革兰阳性球菌^[8]。

2 肠球菌对氨基糖苷类高水平的耐药机制

HLAR 是医院感染的重要病原菌, 自 1979 年首

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(201602858)。

[△] 通信作者, E-mail: wangjhcmsj@163.com。

次报道耐高水平庆大霉素肠球菌(HLGRE)的出现,氨基糖苷类高水平耐药肠球菌引起医院感染的发生率迅速增加,成为肠球菌耐药严重性的又一表现^[9]。氨基糖苷类抗菌药物作用机制是通过作用于细胞核糖体的亚单位,抑制细菌蛋白质的合成,从而导致细菌死亡^[10]。目前认为肠球菌对氨基糖苷类高水平耐药的主要机制包括肠球菌产生氨基糖苷类修饰酶(AME)、氨基糖苷类抗菌药物的转移受到干预及氨基糖苷类药物作用靶点的改变等,其中最为重要的机制为 AME,参与耐药基因表达的主要 AME 包括 O-磷酸转移酶(APH)、O-核苷转移酶(ANT)和 N-乙酰转移酶(AAC)^[11]。

2.1 AME 由质粒和染色体编码,也与转座子和整合子相关,耐药基因在质粒交换和转座子转座作用的协助下可渗入敏感菌的遗传物质中,且在同种或异种细菌之间广泛传播。目前国内外已检测到与肠球菌耐药有关的 AME 有 APH、ANT、AAC 及双功能复合酶,各类 AME 又包括多种亚型。

2.1.1 APH 由 aph 基因编码,分为 7 个大种,每种又有不同的亚型。其中 aph(2'')-I b 在屎肠球菌中发现,屎肠球菌对庆大霉素呈中等水平以上耐药,并破坏青霉素或糖肽类与氨基糖苷类抗菌药物的协同作用,但对链霉素无效^[12]。aph(2'')-I c 基因出现在屎肠球菌和粪肠球菌感染中,其对庆大霉素呈中等水平耐药,并抑制庆大霉素和氨苄西林、万古霉素的协同作用。aph(2'')-I d 基因在家禽、家畜分离的肠球菌中检出率较高,可通过食物传播给人类。aph(2'')-I e 仅在屎肠球菌感染中发现,在 HLGRE 中所占比例低,可传递对庆大霉素和奈替米星的耐药性^[13]。aph(3'')-III a 基因可在革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌之间转移,产生对阿米卡星、卡那霉素等高水平耐药,在 HLAR 中检出率非常高。

2.1.2 ANT ANT 分为 ANT(4')、ANT(3'')、ANT(2'')、ANT(6')、ANT(9') 5 种,主要引起链霉素高水平耐药肠球菌的产生,通过作用于链霉素药物的 2'、3'、4'、6'、9' 位上的羟基(-OH)使其磷酸化,导致链霉素不能与核糖体亚基结合,但它不能抑制肠球菌蛋白质的合成^[14]。

2.1.3 AAC AAC 分为 AAC(2)、AAC(9)、AAC(6')、AAC(3) 4 种。目前国内外已检测到与 HLAR 有关的 AAC 有 AAC(6')-I i、AAC(6')-II、AAC(6')-I m。其中 AAC(6')-I i 存在于所有的屎肠球菌耐药中,产生对链霉素、卡那霉素等耐药,该酶可以减弱氨基糖苷类药物与氨苄西林、万古霉素的协同作用。AAC(6')-II 也对庆大霉素、妥布霉素耐药,首次发现于铜绿假单胞菌和荧光假单胞菌中。AAC(6')-I m 存在于屎肠球菌 SF11770 中,可在革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌之间传播^[15]。

2.1.4 双功能复合酶 双功能复合酶 AAC(6')-

APH(2'')是目前为止发现的最重要的 AME,由其进行酶反应的抗菌药物包括除链霉素以外的所有氨基糖苷类抗菌药物,且可抑制青霉素或糖肽类抗菌药物与氨基糖苷类的协同作用^[16]。临床上 HLGRE 的出现均由该酶介导,目前大量的研究已证实 HLGRE 的主要耐药基因为 acc-(6')-Ie-aph(2'')-Ia。

2.2 耐药基因的传播 由于 HLAR 相关质粒和转座子在肠球菌中大量存在,耐药基因通过质粒和转座子转移到敏感细菌的遗传物质中,使得 HLAR 可在肠球菌之间传播^[17]。

2.2.1 质粒介导的耐药基因 介导耐药基因传播的质粒包括性信息素应答性质粒、多宿主质粒和质粒 pMG1。性信息素应答性质粒介导粪肠球菌之间耐药基因的传播,特点是传播频率高,引起的耐药性都处于高水平。多宿主质粒可将肠球菌的耐药基因转移到葡萄球菌中,传播频率低。使耐药基因在屎肠球菌和粪肠球菌之间转移,增加多重耐药菌产生的原因是质粒 pMG1 可在液体中进行质粒转移^[18]。

2.2.2 转座子介导的耐药基因 氨基糖苷类双功能复合酶 AAC(6')-APH(2'') 的基因常形成转座子 Tn5281 结构,该结构是粪肠球菌中分离的主要 AME 耐药基因,在促进 HLGRE 基因整合到质粒上起重要作用,可在不同菌株之间传播,从而增加 HLAR 的发生率^[19]。

3 小 结

综上所述,糖肽类药物是通过抑制细菌细胞壁的生物合成来实现抗菌作用,而肠球菌属对糖肽类抗菌药物产生耐药是由于肠球菌可产生一种前体作用于其末端,从而阻碍抗菌药物发挥抑制细菌细胞壁生物合成的作用,目前国内外多项研究已经证实耐糖肽类抗菌药物肠球菌的表现型有 VanA、VanB、VanC、VanD、VanE、VanG 6 种,每种表现型对不同糖肽类抗菌药物的耐药性也存在差异。肠球菌属对氨基糖苷类药物高水平耐药的耐药机制包括肠球菌产生 AME、氨基糖苷类抗菌药物的转移受到干预及氨基糖苷类药物作用靶点的改变等,其中最为重要的机制为肠球菌产生 AME,研究证实参与耐药基因表达的主要 AME 包括 APH、ANT、AAC 及双功能复合酶^[20]。此外,耐药基因可通过存在 HLAR 的质粒和转座子转移至敏感细菌的遗传物质中,从而使 HLAR 可在肠球菌之间传播。然而,肠球菌的耐药基因簇既可天然携带,又可从外界获得,还可在不同菌株或不同菌种之间传播,VRE 和 HLAR 的耐药机制不仅局限于上述研究,对肠球菌耐药机制还需进一步研究探讨。

随着抗菌药物的广泛应用,多重耐药菌株越来越多,尤其是 VRE 和 HLAR 的检出率不断上升,使临床肠球菌引起的感染越来越难治,因此,对于预防和控制耐药菌株的产生极为重要^[21]。本综述通过对肠球菌耐药机制的研究,对临床控制耐药菌株的传播、

合理选用抗菌药物,以及对 VRE 和 HLAR 有效新药的研制提供科学依据。

参考文献

- [1] COOMBS G W, PEARSON J C, DALEY D A, et al. Molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in Australia[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(3): 897-905.
- [2] ALIPOUR M, HAJIESMAILI R, TALEBJANNAT M, et al. Identification and antimicrobial resistance of Enterococcus Spp. Isolated from the river and coastal waters in Northern Iran[J]. Sci World J, 2014, 30(14): 287-458.
- [3] IWERIEBOR B C, GAQAVU S, OBI L C, et al. Antibiotic susceptibilities of enterococcus species isolated from hospital and domestic wastewater effluents in Alice, eastern Cape Province of South Africa[J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(4): 4231-4246.
- [4] LI W X, LI J, WEI Q H, et al. Characterization of aminoglycoside resistance and virulence genes among enterococcus spp. isolated from a hospital in China[J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(3): 3014-3025.
- [5] YAMANAKA H, TAKAGI T, Ohsawa M, et al. Identification and characterization of vancomycin-resistant enterococcus species frequently isolated from laboratory mice[J]. Exp Anim, 2014, 63(3): 297-304.
- [6] JIA W, LI G, WANG W. Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococcus species: a hospital-based study in China[J]. Int J Environ Res Public Health, 2014, 11(3): 3424-3442.
- [7] WARDAL E, MARKOWSKA K, ZABICKA D, et al. Molecular analysis of VanA outbreak of enterococcus faecium in two Warsaw hospitals: the importance of Mobile genetic elements[J]. Biomed Res Int, 2014, 20(14): 575-577.
- [8] SHIWA Y, YANASE H, HIROSE Y, et al. Complete genome sequence of enterococcus mundtii QU 25, an efficient L-(1)-Lactic Acid-Producing bacterium [J]. DNA Res, 2014, 21(4): 369-377.
- [9] PADMASINI E, PADMARAJ R, RAMESH S S. High level aminoglycoside resistance and distribution of aminoglycoside resistant genes among clinical isolates of Enterococcus species in Chennai, India [J]. Sci World J, 2014, 20(14): 329-357.
- [10] ESHAGHI A, SHAHINAS D, LI A M, et al. Characterization of an enterococcus gallinarum isolate carrying a dual vanA and vanB cassette[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(7): 2225-2229.
- [11] WIJESURIYA T M, PERRY P, PRYCE T, et al. Low vancomycin MICs and fecal densities reduce the sensitivity of screening methods for vancomycin resistance in enterococci[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(8): 2829-2833.
- [12] LAM M M, SEEMANN T, TOBIAS N J, et al. Comparative analysis of the complete genome of an epidemic hospital sequence type 203 clone of vancomycin-resistant Enterococcus faecium[J]. BMC Genomics, 2013, 14(8): 595-610.
- [13] FERNANDES S C, DHANASHREE B. Drug resistance & virulence determinants in clinical isolates of Enterococcus species[J]. Indian J Med Res, 2013, 137(5): 981-985.
- [14] BOBENCHIK A M, HINDLER J A, GILTNER C L, et al. Performance of vitek 2 for antimicrobial susceptibility testing of staphylococcus spp. and enterococcus spp[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(2): 392-397.
- [15] SANTIAGO-RODRIGUEZ T M, RIVERA J I, CORADIN M, et al. Antibiotic-resistance and virulence genes in Enterococcus isolated from tropical recreational waters [J]. J Water Health, 2013, 11(3): 387-396.
- [16] ABAMECHA A, WONDAFRASH B, ABDISSA A. Antimicrobial resistance profile of Enterococcus species isolated from intestinal tracts of hospitalized patients in Jimma, Ethiopia[J]. BMC Res Notes, 2015, 8(2): 213-215.
- [17] OCHOA SA, ESCALONA G, CRUZ-CÓRDOVA A, et al. Molecular analysis and distribution of multidrug-resistant Enterococcus faecium isolates belonging to clonal complex 17 in a tertiary care center in Mexico City[J]. BMC Microbiol, 2013, 13(7): 291-311.
- [18] REPIZO G D, ESPARIZ M, BLANCATO V S, et al. Genomic comparative analysis of the environmental Enterococcus mundtii against enterococcal representative species [J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 489.
- [19] ZISCHKA M, KUENNE C T, BLOM J, et al. Comprehensive molecular, genomic and phenotypic analysis of a major clone of Enterococcus faecalis MLST ST40 [J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 175-177.
- [20] YUEN G J, AUSUBEL F M. Enterococcus infection biology: lessons from invertebrate host models[J]. J Microbiol, 2014, 52(3): 200-210.
- [21] DANIEL D S, LEE S M, DYKES G A, et al. Public health risks of Multiple-Drug-Resistant enterococcus spp. in Southeast Asia [J]. Appl Environ Microbiol, 2015, 81(18): 6090-6097.

(收稿日期: 2017-07-23 修回日期: 2017-08-29)