

*Basis and Clinic of Microbial
Drug Resistance*

微生物

耐药的**基础与临床**

张卓然 夏梦岩 倪语星 主编



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

微生物耐药的基础与临床

主 编 张卓然 夏梦岩 倪语星

编 委 (以姓氏笔画为序)

- 王镇山 (大连医科大学附属二院) 沈继龙 (安徽医科大学)
- 杨 彤 (大连医科大学) 张卓然 (大连医科大学)
- 杨世杰 (吉林大学基础医学院) 金 红 (中国医科大学)
- 李 凡 (吉林大学基础医学院) 倪语星 (上海交通大学医学院瑞金医院)
- 李淑媛 (大连医科大学) 高晓虹 (大连医科大学)
- 汪正清 (第三军医大学) 夏梦岩 (北京解放军第 263 医院)

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 晶 王 晨 王镇山 邱 阳 杨 彤 杨世杰
杨爱龙 杨淑凤 李 凡 李 庆 李 岩 李明成
李淑媛 吴 斌 汪正清 沈继龙 张卓然 金 红
孟庆丽 陈 枚 周世航 郑秋月 倪语星 高 鹏
高全成 高晓虹 袁英泽 夏梦岩 曹华军 秦 诚

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物耐药的基础与临床/张卓然等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2007.6

ISBN 978-7-117-08475-8

I. 微… II. 张… III. 微生物-抗药性-研究
IV. R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 006947 号

微生物耐药的基础与临床

主 编: 张卓然等

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 30

字 数: 711 千字

版 次: 2007 年 6 月第 1 版 2007 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-08475-8/R·8476

定 价: 58.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

◆ 本书由 ◆

大连市人民政府资助出版

前 言

任何药物都是一把双刃剑，在给病人带来疗效的欣慰和健康的同时，又会给病人带来药物副作用的伤害。抗微生物药物也不例外，它既能抑制和杀灭微生物以达到抗感染的目的，也会给病人带来诸如耳毒性、肾毒性、超敏反应等危害；同时，药物的作用对象还会对药物产生耐药性和药物依赖性。微生物耐药性问题已成为人类的一个公共卫生问题。抗生素在治疗感染性疾病中曾获得过辉煌成果，但由于微生物等对药物耐药性的广泛出现，使抗感染治疗重新成为一个棘手的问题。临床学家、药学家和微生物学家要逐渐掌握微生物的耐药特性，研制并合理用药，提高治疗感染症的成功率，降低发病率和病死率，减少病人的医药费用和负担。这就是编写该书的初衷和指导思想。

本书共分五篇 36 章。第一篇为基础理论，包括微生物的结构、生理、遗传变异和信息传递等，为阐述耐药性的产生打下基础；第二篇为细菌耐药性，阐述细菌对各种常用药物的耐药机制、分类和状况等；第三篇是细菌耐药性的研究及检测方法，主要介绍研究微生物耐药的方法与检测药物敏感性或耐药性的实验技术；第四篇为病毒、真菌等微生物的耐药性与检测方法，介绍抗病毒、真菌、支原体、衣原体和原虫等微生物药物、耐药机制和耐药性检测方法；最后一篇是临床应用，包括医生应掌握对感染症的合理治疗和微生物耐药的预防要领。本书可供广大医务人员，尤其是医药院校师生、研究生、临床医师、检验师、护师和卫生事业管理人员等使用。

本书选题击中了当前在抗感染治疗和药物开发研究中的重要问题，目的是预防耐药性发生，并成功治疗感染性疾病。本书以细菌耐药性为主，兼顾其他微生物对常用药物的耐药以及微生物对化学消毒剂的耐药性。内容丰富、全面、广泛，包括多学科的交叉内容。既重视微生物耐药的基础理论和研究方法，同时又关注临床应用实践，是理论与实践相结合的产物；从临床治疗角度强调医生应如何掌握耐药性的流行趋势，根据临床特点和实验室检测结果合理应用药物，并采取综合措施，防止耐药性的发生，使耐药菌株感染的防治得到落实与加强。

本书得到大连市政府的资助出版，同时也得到人民卫生出版社的大力支持与帮助，在此一并表示衷心的感谢。由于本书涉及的专业较多，作者的学术水平和编写能力有限，工作经验不足，难免出现文字和内容上的缺点与错误，恳请广大同仁批评、斧正。

张卓然 夏梦岩 倪语星

2006-5-1

本书常用英文缩写

缩写	英文	中文
ABC	ATP-binding cassette	ATP 结合盒
APH	aminoglycoside phosphotransferase	氨基糖苷磷酸转移酶
AAC	aminoglycoside acetyltransferase	氨基糖苷乙酰转移酶
ADR	acquired drug-resistance	获得性耐药
ANT	aminoglycoside nucleotidyltransferases	氨基糖苷核苷转移酶
ASA	allele specific amplification	等位基因特异性扩增技术
BHI	brain-heart infusion medium	脑心浸液培养基
BLA	β -lactamase	β -内酰胺酶
CAMHB	cation-adjusted Mueller-Hinton broth	调节阳离子浓度的 M-H 肉汤
Cat	chloramphenicol acetyltransferase	氯霉素转乙酰基酶
cccp	Carbonyl cyanide chloro phenylhydrazine	氰氯苯胂
CFU	colony forming units	菌落形成单位
CFLP	cleavage fragment length polymorphism	裂解片段长度多态性
DGGE	denaturing gradient gel electrophoresis	变性梯度凝胶电泳
DHFR	dihydrofolate reductase	二氢叶酸还原酶
DHPS	dihydropteroate synthetase	二氢喋酸合成酶
DR-TB	drug resistant tuberculosis	耐药结核病
erm	erythromycin ribosome methylation	红霉素甲基化酶基因
ESBL	extended-spectrum β -lactamase	超广谱 β -内酰胺酶
E-test	Epsilometer test	E-试验
FIC	fractional inhibitory concentration	分级抑菌浓度
IDR	initial drug resistance	初始耐药
I	intermediate	中介度
IQ	inhibitory quotient	抑菌指数
MBC	minimal bactericidal concentration	最低杀菌浓度
mecA	meticillin resistance gene A	耐甲氧西林基因 A
mef	macrolide efflux	大环内酯类 M 型耐药基因
MFS	major facilitator superfamily	主要易化超家族
M-H	Mueller-Hinton medium	M-H 培养基
MIC	minimal inhibitory concentration	最低抑菌浓度
MGIT	Mycobacteria Growth Indicator Tube	分枝杆菌生长指示管
MRSA	meticillin resistant staphylococci aureus	耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌

2 本书常用英文缩写

MOPS	Morpholinopropanesulfonic acid	丙磺酸吗啉缓冲液
MRSCON	meticillin-resistant coagulase-negative staphylococci	耐甲氧西林的凝固酶阴性葡萄球菌
MLS	macrolide, lincosamide, streptogramins	大环内酯类、林肯酰胺、链阳菌素类
mar	multiple antibiotic resistance operon	marRAB 操纵子
MDR-TB	multidrug resistant tuberculosis	耐多药结核病
msrA	macrolide streptogramins resistance related gene	大环内酯类、链阳菌素类耐药相关基因 (MS 型耐药相关基因)
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards	美国国家临床实验室标准
NDR	natural drug resistance	天然耐药
NR	novel resistance	NR 耐药、新耐药类型 (对红霉素耐药, 而对克林霉素敏感)
OLA	oligonucleotide ligation assay	寡核苷酸连接检测
OMP	outer membrane protein	外膜蛋白
PBP	penicillin-binding protein	青霉素结合蛋白
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PDR	primary drug resistance	原发性耐药
PhaB	phage amplified biological assay	噬菌体生物扩增法
PRSP	penicillin-resistant <i>S. pneumoniae</i>	耐青霉素肺炎链球菌
QRDR	Quinolone Resistance-determining region	喹诺酮耐药决定区
R	resistance	耐药
RND	resistance-nodulation-division	耐药结节化细胞分化家族
S	susceptible	敏感
SDR	secondary drug resistance	继发性耐药
SMR	staphylococcal multidrug resistance	小多重耐药性家族又称葡萄球菌多重耐药类
SSCP	single-strand conformation polymorphism	单链构象多态性
tet	tetracycline resistance gene	耐四环素基因
VISA	vancomycin-intermediate resistant <i>S. aureus</i>	中介度耐万古霉素的金黄色葡萄球菌
VRE	vancomycin-resistant enterococci	耐万古霉素的肠球菌
HLAR	high-level aminoglycoside resistant bacteria	氨基糖苷类高水平耐药菌

目 录

绪论	1
一、耐药的基本概念	1
二、微生物耐药的产生机制	2
三、外界因素对耐药微生物的影响	4
四、重要的耐药微生物	5
五、耐药微生物的检测	6
六、耐药微生物的生物学和流行病学特征	6
七、应对微生物耐药性的策略	7

第一篇 基础理论

第一章 微生物的表面结构	11
第一节 细菌等原核微生物的表面结构	11
一、革兰阳性菌	12
二、革兰阴性菌	13
三、荚膜	16
第二节 细菌 L 型	17
一、细菌 L 型的形成	18
二、细菌 L 型的生物学性状与致病性	18
三、细菌 L 型与耐药性	20
第三节 真核微生物的表面结构	21
一、细胞壁的外成分	22
二、细胞壁与细胞质膜	22
第四节 病毒的表面结构	23
一、基本结构	24
二、辅助结构	25
第二章 微生物的遗传物质	26
第一节 细菌的遗传物质	26
一、染色体	26

二、质粒	27
三、噬菌体	28
四、转座子和整合子	29
第二节 真核微生物的遗传物质	34
一、真菌细胞的基因组和染色体	34
二、线粒体 DNA	35
三、真菌中的质粒与转座子	35
第三节 病毒的遗传物质	36
一、病毒基因组	36
二、病毒的变异与耐药性	37
第三章 微生物的遗传变异与耐药性	39
第一节 DNA 突变	39
一、突变的分子基础	39
二、诱变剂	40
第二节 RNA 突变	42
第三节 基因的转移与重组	43
一、转化	43
二、接合	44
三、转导	46
四、溶原性转换	48
第四节 真核微生物的遗传变异	49
一、真菌的无性繁殖	49
二、真菌的有性繁殖	49
三、真菌的遗传变异与耐药	50
第五节 病毒的遗传变异	50
一、突变	51
二、基因重组	51
三、基因产物的相互作用	52
四、病毒变异的实际意义	52
第四章 细菌基因的表达和调控	54
第一节 细菌 RNA 的生物合成——转录	54
一、RNA 聚合酶与转录过程	54
二、细菌 RNA 转录后加工	56
三、RNA 聚合酶作用的专一性抑制剂	57
第二节 遗传密码	57
一、遗传密码的简并性与摆动性	58
二、遗传密码的通用性及变异性	59

三、遗传密码错译	59
四、RNA 再编码	59
五、重叠基因	60
第三节 细菌蛋白质的生物合成	60
一、核糖体 RNA 在蛋白质合成中的作用	60
二、转运 RNA 在蛋白质合成中的作用	60
三、翻译：蛋白质的合成	61
四、蛋白质合成后加工及靶向输送	63
五、蛋白质生物合成的抑制和干扰	64
第四节 细菌基因表达调控	64
一、细菌基因表达调控及意义	64
二、DNA 结合蛋白	65
三、反义核酸	65
四、阻遏和诱导	66
五、正调控与负调控系统	68
六、转录衰减	69
七、细菌的全局控制系统	70
八、信号转导和双组分调控系统	71
九、群体感应	72
十、原核生物与真核生物的基因表达比较	72
第五章 细菌细胞生物学	74
第一节 细菌生长曲线	74
一、细菌生长繁殖	74
二、细菌的个体生长繁殖	74
三、细菌的群体生长繁殖	74
第二节 自然环境中的细菌	76
一、土壤中的微生物	76
二、水中的微生物	77
三、微生物在空气中的分布	78
四、极端环境中的微生物	78
第三节 微生物的饥饿存活与耐受性	78
一、饥饿状态下细菌的形态学变化	79
二、饥饿细胞的能量来源	79
三、饥饿蛋白与耐受性	80
四、饥饿状态与细菌耐药性	81
第四节 细菌在人体的分布	81
第五节 抗菌药物对细菌的影响	83
一、抗菌药物对细菌超微结构的影响	83

二、抗菌药物对细菌形态的影响	85
三、抗菌药物对细菌质量的影响	86
四、抗菌药物对细菌毒力的影响	86

第二篇 细菌耐药性

第六章 β-内酰胺类抗生素的耐药性	91
第一节 β-内酰胺类抗生素分类	91
一、青霉素类	91
二、头孢菌素类	92
三、其他 β -内酰胺类	92
第二节 细菌对 β-内酰胺类耐药的机制	92
一、青霉素结合蛋白改变产生的耐药性	92
二、 β -内酰胺酶引起的耐药性	98
三、牵制机制产生的耐药性	111
四、细菌外膜的屏障作用产生的耐药性	111
五、细菌主动外排药物产生的耐药性	112
第三节 克服细菌耐药性的措施	113
一、研制特异性 BLA 抑制剂	113
二、针对细菌的耐药机制开发新药	114
三、合理应用抗菌药物	115
第七章 大环内酯类抗生素耐药	118
第一节 大环内酯类简介及细菌耐药机制分类	118
一、大环内酯类抗生素简介	118
二、耐药机制分类	118
第二节 耐药机制	119
一、靶位改变引起的耐药	119
二、灭活酶引起的耐药	122
三、主动外排系统引起的耐药	123
第三节 耐药分布及临床意义	124
第八章 喹诺酮类的耐药	125
第一节 喹诺酮类简介	125
第二节 靶位改变引起的耐药	126
一、DNA 旋转酶的改变	126
二、拓扑异构酶 IV 的改变	126
三、各类细菌的靶位介导耐药性的特点	127
第三节 主动外排系统	128

第四节 细菌外膜的屏障作用·····	129
一、基因突变引起的膜通透性改变·····	130
二、OmpF 减少与细菌对喹诺酮类的耐药性·····	130
第五节 质粒介导的耐药机制·····	130
一、发现·····	130
二、Qnr 介导的喹诺酮类耐药的分子机制·····	131
三、Qnr 同系物的分布·····	131
四、质粒介导的喹诺酮类耐药性的重要性·····	132
五、qnr 质粒携带相关的整合子/转座子及多重耐药基因·····	132
六、质粒和染色体耐药机制之间的相互作用·····	133
第六节 细菌对喹诺酮类的耐药现状及其对抗措施·····	133
一、耐药的现状·····	133
二、耐药性的对抗措施·····	133
第九章 糖肽类抗生素耐药性·····	136
第一节 概述·····	136
一、结构与分类·····	136
二、抗菌谱及作用机制·····	136
三、临床应用及不良反应·····	137
第二节 糖肽类抗生素的耐药性·····	138
一、对万古霉素的耐药性·····	138
二、耐药类型·····	138
第三节 耐万古霉素金黄色葡萄球菌·····	141
一、VISA 的定义·····	141
二、生物学特性·····	142
三、耐药机制·····	142
四、临床意义及对策·····	144
第十章 氨基糖苷类抗生素的耐药性·····	146
第一节 概述·····	146
一、结构与分类·····	146
二、抗菌谱及作用机制·····	147
三、临床应用及不良反应·····	147
第二节 细菌对氨基糖苷类抗生素耐药的机制·····	148
一、靶位的改变·····	149
二、通透性下降或转运能力的丧失·····	149
三、修饰酶(钝化酶)的产生·····	149
第三节 氨基糖苷修饰酶的分布与检测·····	156
一、氨基糖苷修饰酶的构效关系·····	156

二、氨基糖苷修饰酶的分布	156
三、氨基糖苷修饰酶的检测	157
第四节 控制细菌耐药性的措施与对策	157
一、对原有氨基糖苷类抗生素进行改造	157
二、开发氨基糖苷类抗生素修饰酶抑制剂	158
三、设计双功能氨基糖苷类抗生素	158
第十一章 四环素类抗生素耐药	160
第一节 概述	160
一、四环素类抗生素的分类及作用机制	160
二、临床应用及不良反应	161
第二节 四环素类抗生素的耐药机制	162
一、外排泵蛋白	163
二、核糖体保护蛋白	163
第三节 四环素耐药基因的传播与调控	166
一、革兰阳性菌的四环素耐药基因及其传播	166
二、耐药基因的表达调控	166
第四节 控制细菌耐药性的措施与对策	168
一、合理使用四环素类及研制开发新药	168
二、开发不用抗菌药物治疗感染的新策略	168
第十二章 氯霉素耐药	170
第一节 氯霉素简介	170
一、抗菌作用与机制	170
二、体内过程	171
三、临床应用	171
四、不良反应与注意事项	172
五、药物相互作用	172
第二节 耐药机制	173
第十三章 其他抗菌药物耐药	175
第一节 磺胺类和甲氧苄啶	175
一、常用磺胺类抗菌药特点及应用	175
二、甲氧苄啶	176
三、磺胺类和甲氧苄啶耐药	177
第二节 甲硝唑耐药	177
第三节 多粘菌素 B 耐药	178
第四节 其他药物耐药	179
一、新生霉素耐药	179

二、呋喃妥因耐药	179
三、磷霉素耐药	179
四、杆菌肽耐药	179
第十四章 多重耐药	181
第一节 细菌的外膜屏障	181
第二节 多重外排系统	182
一、大肠埃希菌	183
二、铜绿假单胞菌	186
三、淋病奈瑟菌	187
四、其他多重耐药细菌	188
第十五章 结核分枝杆菌耐药	190
第一节 结核杆菌及其耐药相关的概念	190
一、结核杆菌的基本特征	190
二、与结核杆菌耐药相关的几个概念	190
第二节 耐药菌产生原因及耐药机制	191
一、异烟肼耐药	193
二、利福平耐药	194
三、链霉素耐药	194
四、乙胺丁醇耐药	195
五、吡嗪酰胺耐药	195
第三节 耐药结核病的流行情况	195
一、国际情况	195
二、国内情况	197

第三篇 细菌耐药性研究及检测方法

第十六章 细菌耐药试验	201
第一节 纸片扩散法(改良 Kirby-Bauer 法)	202
一、试验原理及方法	202
二、结果判断和报告	203
三、注意事项	208
四、质量控制	211
第二节 肉汤稀释法和琼脂稀释法	215
一、肉汤稀释法	216
二、琼脂稀释法	216
第三节 E-试验	217
一、E-试验原理	217

二、试验方法及结果判断	217
第四节 联合药敏试验	218
一、联合药敏试验的意义	218
二、联合用药的基本原则	219
三、联合药敏试验的方法	219
四、联合药敏试验的适应证	219
第五节 自动微生物鉴定和药敏分析系统	220
一、半自动和自动微生物鉴定和药敏系统	220
二、全自动微生物鉴定和药敏系统	222
第六节 结果的分析与解释	226
第十七章 耐药菌的实验室选择和生物被膜模型	231
第一节 耐药菌株的实验室选择	231
一、直接选择法	231
二、诱变法	232
第二节 生物被膜模型	233
一、体外模型	233
二、体内模型	233
三、生物被膜的鉴定	233
第十八章 质粒的实验研究	236
第一节 质粒接合转移实验	236
一、F质粒的接合转移	236
二、革兰阳性细菌的质粒接合转移	237
第二节 质粒转化实验	238
一、用氯化钙制备和转化感受态大肠埃希菌	238
二、高效率的电击转化	239
第三节 质粒消除实验	240
一、质粒消除的试验方法	240
二、物理方法消除质粒	241
三、化学试剂法消除质粒	241
四、抗生素法消除质粒	242
第四节 质粒图谱	242
一、原理	242
二、方法	243
第十九章 细胞膜通透性研究的基本方法	248
第一节 细菌表面物质与通透性的关系	248
一、葡萄球菌及其他革兰阳性菌	248

二、分枝杆菌的细胞壁·····	249
三、革兰阴性细菌细胞壁·····	249
第二节 细胞膜通透性研究的基本方法·····	249
一、漏出蛋白质含量的测定·····	249
二、SDS 和溶菌酶用于检测细菌溶解的测定·····	250
三、荧光探针应用于细菌膜通透性的测定·····	251
四、银纳米微粒应用于细菌膜通透性的测定·····	252
第二十章 耐药研究中常用的分子生物学方法·····	257
第一节 耐药性的分子生物学检测·····	257
一、概述·····	257
二、耐甲氧西林葡萄球菌 (MRS) mecA 基因的检测·····	257
第二节 分子生物学基本技术·····	258
一、细菌核酸的提取·····	258
二、细菌质粒 DNA 提取·····	261
三、电泳检测技术·····	263
四、DNA 序列测定·····	266
第二十一章 β -内酰胺类抗生素耐药的相关实验·····	268
第一节 β -内酰胺酶的测定与初步鉴别·····	268
一、产色头孢菌素法·····	268
二、生物学方法·····	269
第二节 产 ESBL 肠杆菌科细菌的检测·····	270
一、纸片扩散法·····	270
二、肉汤稀释法·····	271
第三节 产酶细菌的检测·····	272
一、产 AmpC 酶细菌的检测·····	272
二、产金属酶细菌的检测·····	273
三、产 OXA 型酶细菌的检测·····	273
四、MRSA 与 MRSCON 的检测·····	274
五、耐青霉素肺炎链球菌 (PRSP) 的检测·····	274
第四节 β -内酰胺酶粗提液的制备·····	276
一、从革兰阴性菌中提取 BLA·····	276
二、从葡萄球菌中制备青霉素酶粗提液·····	276
第五节 β -内酰胺酶水解速率的测定·····	277
一、原理·····	277
二、方法及结果判定·····	277
三、注意事项·····	278
第六节 诱导酶检测·····	278

一、纸片法检测	278
二、三维实验法	278
第二十二章 糖肽类抗生素耐药相关实验	280
第一节 耐万古霉素肠球菌的检测	280
一、原理	280
二、方法及结果判定	280
第二节 中介度耐万古霉素金黄色葡萄球菌的检测	280
一、VISA 的检测	280
二、hVISA 的检测	281
第二十三章 氨基糖苷类耐药相关试验	283
第一节 耐高水平氨基糖苷类肠球菌的检测	283
第二节 氨基糖苷类耐药机制的分析	284
一、氨基糖苷类药敏纸片法	284
二、革兰阴性菌耐药机制分析法	284
第二十四章 分枝杆菌耐药性试验	286
第一节 抗分枝杆菌药物及耐药性	286
一、抗生素类药物	286
二、合成类抗结核药物	288
第二节 结核分枝杆菌耐药试验的指征与方法	290
一、耐药试验的指征	290
二、结核分枝杆菌的药敏试验方法	291
三、质量控制	295
第二十五章 微生物对消毒剂的耐药性	298
第一节 消毒剂耐药性的概念与作用机制	298
一、消毒剂概念与消毒剂耐药性判定方法	298
二、常用消毒剂及其作用机制	298
第二节 消毒剂耐药性机制	300
一、固有的耐药性	300
二、非生理性耐药	301
三、获得耐药性	301
四、抗生素耐药与消毒剂耐药的关系	307
第三节 消毒剂耐药性的检测	307
一、常用化学消毒剂对细菌的作用效果评价	307
二、使用中消毒剂污染及耐药性研究	308
三、3 种致病菌对常用消毒剂耐药性的调查	310