

肺炎支原体对大环内酯类抗生素耐药机制的研究进展

汪慧华¹, 邹映雪²

(1. 天津医科大学 研究生院, 天津, 300350; 2. 天津市儿童医院 呼吸科, 天津, 300350)

摘要: 大环内酯类抗生素是治疗儿童肺炎支原体(MP)感染的一线药物,但随着此类药物在临床中的广泛使用,对大环内酯类抗生素耐药的MP菌株检出率迅速增高。耐药机制相关研究中,对药物作用靶点的研究最多见,其中23S rRNA基因突变相关研究尤为广泛和深入。耐药性会影响药物治疗效果,探讨菌株对药物的耐药机制并合理调整药物治疗方案,可获得更好的治疗效果,现将大环内酯类抗生素的作用机制和MP对大环内酯类抗生素的耐药机制综述如下。

关键词: 肺炎支原体; 大环内酯类抗生素; 耐药机制; 儿童; 基因突变

中图分类号: R 978.1; R 375 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2023)12-136-05 DOI: 10.7619/jcmp.20230722

Research progress in mechanisms of drug-resistance of macrolide antibiotics resistance in *Mycoplasma pneumoniae*

WANG Huihua¹, ZOU Yingxue²

(1. Postgraduate College of Tianjin Medical University, Tianjin, 300350;

2. Respiratory Department, Tianjin Children's Hospital, Tianjin, 300350)

Abstract: Macrolide antibiotics are the first-line drugs for the treatment of *Mycoplasma pneumoniae* (MP) infections in children, but with the increased use of macrolides, the detection rate of resistant strains of MP to macrolides has increased rapidly. Among the studies related to the mechanisms of drug resistance, the study of drug targets has been the most extensive and intensive, with mutations in the 23S rRNA gene being studied most extensively. The emergence of drug resistance affects the therapeutic efficacy of drugs, and the mechanisms of drug resistance need to be explored to adjust the choice of therapeutic agents in order to achieve higher therapeutic efficacy. This paper reviewed the mechanisms of action of macrolides and the mechanisms of resistance to macrolides by MP.

Key words: *Mycoplasma pneumoniae*; macrolide antibiotics; drug resistance mechanisms; children; gene mutations

肺炎支原体(MP)是儿童呼吸道感染最常见的病原体之一,MP肺炎占住院儿童社区获得性肺炎(CAP)的10%~40%,每3~7年出现周期性爆发现象^[1-3]。MP是能够进行自我复制且能够在体外不依靠活体细胞生存的最小微生物^[4],缺乏细胞壁使得MP对作用于细胞壁的青霉素类、头孢菌类抗生素天然耐药,目前儿童MP感染首选大环内酯类抗生素治疗^[5]。近年来,MP感染率逐年升高,大环内酯类抗生素临床使用频繁,世界范围内MP耐药情况严重,中国的MP耐药率亦高达90%以上^[6-7],故临床重症和难治性MP感染随之增多。MP感染可导致多系统受累,

其中以呼吸系统损伤最为常见,轻症患者多数表现为自限性,但MP对大环内酯类抗生素耐药会造成治疗效果欠佳。与对大环内酯类抗生素敏感的MP菌株相比,耐药菌株会引起更为严重的肺外并发症^[8],甚至导致不可逆的远期损伤^[9-10]。鉴于此,探讨MP对大环内酯类抗生素的耐药机制具有重要的临床意义,现将MP对大环内酯类抗生素的耐药机制综述如下。

1 大环内酯类抗生素的作用机制

大环内酯类抗生素是具有大环内酯环结构的一类药物,其中红霉素是最早被发现的天然大环

内酯类抗生素；第 2 代大环内酯类抗生素为红霉素的半合成衍生物，包括阿奇霉素、罗红霉素、克拉霉素等；第 3 代大环内酯类抗生素是酮内酯类药物，以泰利霉素为代表^[11]。大环内酯类抗生素的作用机制包括抗菌作用和非抗菌作用。

1.1 抗菌作用

对于每一个细胞而言，蛋白质的合成都是不可或缺的。核糖体是细胞蛋白质合成的场所，由 30S 小亚基与 50S 大亚基组成，其中 30S 小亚基介导信使核糖核酸 (mRNA) 密码子与转移核糖核酸 (tRNA) 反密码子之间的相互作用，决定了翻译的保真性；50S 大亚基有助于蛋白质合成的起始、延长和终止，由 23S rRNA、5S rRNA 和蛋白质组成；23S rRNA 又可以分为 6 个结构域^[12-13]，其中结构域 V 与肽基转移酶活性密切相关。核糖体通过启动、延伸、终止和核糖体循环 4 个步骤引导蛋白质的合成。大环内酯类抗生素可以靶向作用于细菌核糖体的 23S rRNA，干扰核糖体的功能，阻断蛋白质的合成，抑制细菌的生长，从而起到抗菌作用^[14]。

氨基酸在核糖体 50S 大亚基的肽基转移酶中心 (PTC) 处形成肽键，合成多肽链，再通过新生多肽的出口隧道 (NPET) 离开^[11, 13]。既往研究^[13, 15-16]认为，大环内酯类抗生素可以结合在 NPET 处，缩短隧道直径，阻碍新生多肽的延长，对核糖体合成的所有蛋白质均有抑制作用，但后期越来越多的研究^[17-18]发现，大环内酯类抗生素不是翻译的全局抑制剂，而是翻译的调节剂，可以防止特定氨基酸序列聚集，抑制肽键形成，选择性地干扰蛋白质的合成，这被称为大环内酯类抗生素的“上下文特异性”。此外有研究^[19]认为，大环内酯类抗生素还能够诱导编码错误，影响翻译结果。

1.2 非抗菌作用

大环内酯类抗生素的非抗菌作用主要包括抑制炎症反应、减少气道黏液分泌和调节免疫平衡等。

大环内酯类抗生素可以通过影响炎症细胞、炎症因子、气道上皮等而抑制过度和有害的炎症反应。中性粒细胞是主要的抗菌效应细胞，也是炎症反应的重要环节，通过脱颗粒、吞噬、产生活性氧以及释放中性粒细胞胞外陷阱 (NETs) 杀灭病原菌，但嗜中性粒细胞在持续炎症时可能会释放过量的 NETs，对宿主产生损伤^[20-22]。研究^[23]发现，大环内酯类药物对中性粒细胞具有抑制或稳定作用，可影响 NETs 释放，表现为浓度依赖

性。粒细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-8 (IL-8) 等为促炎因子，对炎症反应的发生具有重要促进作用，而大环内酯类药物可以抑制这些炎症因子的表达^[24-25]。阿奇霉素可以抑制多种促炎途径，但并非完全抑制，而是以调节为主要特征。研究^[26]发现，阿奇霉素还可以保护呼吸道黏膜上皮，减轻气道炎症反应所致损伤。

慢性气道炎症的重要特点之一是气道黏液高分泌，大环内酯类药物可以通过调节氯离子通道、抑制杯状细胞增生肥大与抑制黏液分泌基因表达而减轻气道水分和黏液的高分泌状态^[27-28]。也有研究^[29]认为，大环内酯类药物是通过抑制钠离子通道而减少气道黏液分泌。

目前，关于大环内酯类抗生素对肺部疾病 (例如哮喘、慢性阻塞性肺疾病、支气管扩张症和肺囊性纤维化等^[25, 30]) 免疫调节作用的研究已广泛开展，其作用方式主要表现为抑制微生物黏附、阻断毒性因子、抑制生物膜形成以及抑制细胞群体感应^[31]，例如阿奇霉素能够抑制铜绿假单胞菌对上皮细胞的黏附以及调节上皮细胞的 pH 值^[32]。虽然大环内酯类药物似乎可以加快恢复免疫平衡的速度，并且可能对增强抗菌能力具有一定作用，但是长期使用可能导致耐药以及其他损害。

2 MP 对大环内酯类抗生素的耐药机制

2.1 药物作用靶点的基因突变

转肽酶环的突变：自红霉素被应用于临床后，相关耐药菌株亦在临床中相继出现，研究人员发现对大环内酯类抗生素耐药的细菌核糖体 50S 大亚基 23S rRNA 结构域 V 区的中心环上出现了特定位置的点突变。大环内酯类抗生素与核糖体的结合仅发生于 50S 大亚基 23S rRNA 结构域 V 区^[33]，因此当该处某些结合位点发生突变时，可能会使大环内酯类抗生素与细菌核糖体结合困难，无法有效阻止细菌蛋白合成，从而导致耐药的发生。1995 年 LUCIER T S 等^[34]对耐药 MP 菌株进行研究发现，耐药菌株的 23S rRNA 结构域 V 区中存在 A2063G 和 A2064G 突变位点，分别表现为对 14 元环和 16 元环大环内酯类抗生素的耐药性，由此提出药物作用靶点的基因突变可能是出现耐药的原因。此后日本的一项研究^[35]证实，

23S rRNA 的基因突变与耐药有关,主要为 2063 和 2064 位点发生 A 到 G 的突变,少许菌株存在 A 到 C 的突变。目前研究^[35-37]已发现的位点包括 2062、2063、2064、2067、2611 和 2617 位点,其中存在 2063、2064 位点突变的 MP 菌株对 14 元环、15 元环和 16 元环大环内酯类抗生素均有耐药性,存在 2067 位点突变的菌株主要对 16 元环大环内酯类抗生素耐药,而存在 2611、2617 位点突变的菌株更倾向于对 14 元环和 15 元环大环内酯类抗生素耐药。23S rRNA 结构域 V 区 A2063 和 A2064 位点的突变频率最高,其产生的耐药性也是最强的^[7, 38],是 MP 耐药的主要标志,亦是目前的研究重点。

核糖体蛋白的突变:该突变主要表现为核糖体 50S 大亚基上 L4 蛋白和 L22 蛋白的突变。L22 蛋白是 50S 大亚基的核心蛋白,可以与 23S rRNA 所有结构域的 RNA 序列发生相互作用^[12]。L4 蛋白和 L22 蛋白共同成为 50S 大亚基的“支架”,参与 NPET 收缩位点的构成,形成隧道的最窄部分,并对其具有调节作用^[39]。两者发生突变会引起隧道的变化,一方面使大环内酯类药物的结合位点远离该通道而表现为大环内酯类药物耐药,另一方面会影响新生多肽的延伸,使核糖体的翻译率降低^[40]。核糖体 L4 蛋白发生的突变主要表现为 H70R、H70L 的替换,在 60~62 位点处插入 1~3 个甘氨酸;L22 蛋白出现连续 3 次的突变,最终导致泰利霉素的活性完全丧失,而其他大环内酯类、林可酰胺类、链霉素类抗生素和酮内酯类抗生素的活性不变^[36]。研究^[41]发现,临床分离出的 MP 耐药菌株与红霉素体外诱导产生的 MP 耐药菌株在核糖体蛋白 L22 处存在相同的基因突变,提示使用大环内酯类药物诱导体内产生 MP 耐药菌株的可能性。中国学者^[42]发现,大多数耐药菌株的 L4 蛋白和 L22 蛋白基因中存在 C162A、A430G、T279C 和 T508C 突变,但未能明确该突变与 MP 对大环内酯类药物耐药的相关性。也有研究^[43-44]认为 L4 蛋白和 L22 蛋白突变与 MP 对大环内酯类药物的耐药性无关,但会引起其他病原菌的耐药,例如肺炎链球菌^[45]、大肠杆菌^[46]。因此,关于 L4 蛋白和 L22 蛋白对 MP 产生大环内酯类抗生素耐药性的影响有待进一步研究。

核糖体靶点的修饰:该过程也称为 RNA 的甲基化修饰,由 *Erm* 编码的 rRNA-甲基转移酶可通过催化 23S rRNA 上 A2058(大肠杆菌编号,对

应 MP 的 A2063 位点)位点发生二甲基化而引起核糖体靶点的变化,进而使大环内酯类药物失去对 MP 的抑制作用^[47-48]。*ErmB* 是常见的引起甲基化的基因^[49]。14 元环和 15 元环大环内酯类抗生素可诱导大多数 *Erm* 基因改变,但目前的研究对该基因的检测样本较少,未来需扩大检测量深入探讨。

2.2 药物主动外排增加

药物的主动外排是耐药的常见原因之一,MP 可通过改变细胞膜的成分形成一种特殊的膜蛋白,并通过各种外排泵将药物从细胞内泵出,以降低胞内药物浓度,阻止其作用于靶部位,影响抗生素发挥抑菌作用。这种外排机制并非作用于特定药物,而是对多种抗生素、多种作用机制均有效,在介导多药耐药方面具有重要意义。

对于原核生物而言,外排转运蛋白家族主要有 5 个,分别为 ATP 结合盒(ABC)家族、主要易化因子超家族(MFS)、小多耐药家族(SMR)、多重药物与有毒化合物外排家族(MATE)和耐药结节化细胞分化家族(RND)^[50]。其中,ABC 家族依赖 ATP 水解供能,其余家族则依赖质子泵功能。与支原体耐药高度相关的是 ABC 家族,但目前相关研究较少。

ABC 转运家族是目前发现的最大的转运蛋白家族之一,几乎存在于所有生物体中,依靠水解 ATP 提供能量,可将底物进行跨膜运输,在多种生理过程中发挥重要作用,当其底物为药物时,会导致耐药,因而也被称为多药耐药蛋白。迄今为止,临床已发现数百种 ABC 转运蛋白,目前结构已知的 ABC 转运蛋白均属于 IV 型和 V 型,IV 型按基因型可分为 ABCA~ABCH 8 个亚家族,其中 ABCB、ABCC 亚家族与耐药高度相关^[51]。有研究^[52]将利血平作为外排泵抑制剂,基于体外药代动力学/药效学分析探究托拉霉素对猪 MP 的抗菌作用,发现猪 MP 可通过调节不同的 ABC 转运蛋白表达而达到降低药物敏感性的目的。

由于在抗生素耐药中具有重要作用,外排泵被作为有效的抗菌靶点,相关外排泵抑制剂的的开发将有助于改善微生物的耐药情况。

2.3 药物失活(抗生素酶解)

病原体能够合成某些酶来修饰或降解抗生素,通过改变其结构使其失去活性,这些酶包括 β -内酰胺酶、四环素羟化酶、酯酶、乙酰基转移酶、核苷酸转移酶等^[53]。大环内酯类抗生素可被病

原体合成的磷酸转移酶、酯酶、甲酰还原酶和糖基转移酶灭活。

对大环内酯磷酸转移酶(MPHs)的研究始于1989年,MPHs能够将ATP或GTP的 γ -磷酸基团转移至大环内酯类底物上,取代大环内酯的羟基,从而使药物丧失活性。已被报道的MPHs类型包括MPH(A)~MPH(O)共15种亚型,其中MPH(A)编码的磷酸基团以GTP为磷酸基团供体,会导致细菌对14元环和15元环大环内酯类抗生素产生耐药,MPH(B)编码的磷酸基团也偏向于以GTP作为供体,对14元环、15元环、16元环大环内酯类抗生素均耐药^[54]。

红霉素酯酶(EREs)能够作用于大环内酯酯键,切断大环内酯环。ERE(A)是EREs中最常见也是最早被发现的,ERE(C)是其同源相似物,两者具有高度序列同源性和相似性,作用方式亦类似。研究^[55]发现,红霉素能够紧密结合在ERE(C)的活性中心上,两者结合时该活性中心关闭,反应结束后打开,为下一次催化反应做准备。ERE(A)和ERE(C)对14元环酮内酯、15元环阿奇霉素和16元环交沙霉素、麦迪霉素发挥开环作用,而ERE(B)、ERE(D)对14元环非酮内酯类抗生素和15元环阿奇霉素起效。

3 小结与展望

在MP对大环内酯类抗生素耐药机制相关研究中,23S rRNA结构域V区基因突变是目前的研究热点,众多研究发现2063位点和2064位点突变率最高,被广泛用于MP耐药检测,但耐药基因突变与临床表现的相关性尚有待进一步研究。研究^[37]认为,大环内酯类药物的使用可能诱导体内MP耐药性的出现,但也可能机体本身感染的是耐药菌株,只是由于数量少未被检测出,此后使用大环内酯类药物促进了耐药菌株的增殖,耐药菌株成为优势菌株后才被检测出。值得注意的是,体外耐药性试验与体内实际耐药情况存在一定差异,大环内酯类抗生素耐药机制复杂多样,目前尚未完全阐明,未来需要进一步深入研究。总之,耐药菌株的出现会大大增加临床治疗的难度,在日常工作中,医务人员应规范化使用大环内酯类抗生素,以减少耐药情况的发生,还应尽早识别耐药情况并及时调整与优化治疗方案,从而有效提高儿童MP感染的临床疗效。

参考文献

- [1] DIAZ M H, BENITEZ A J, WINCHELL J M. Investigations of *Mycoplasma pneumoniae* infections in the United States: trends in molecular typing and macrolide resistance from 2006 to 2013[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(1): 124-130.
- [2] CHENG Y, CHENG Y J, DAI S Z, et al. The prevalence of *Mycoplasma pneumoniae* among children in Beijing before and during the COVID-19 pandemic[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 854505.
- [3] GAO L W, YIN J, HU Y H, et al. The epidemiology of paediatric *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in North China: 2006 to 2016[J]. Epidemiol Infect, 2019, 147: e192.
- [4] 刘杨, 张泓. 肺炎支原体的临床微生物学特征[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(2): 88-90.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南(2023年版)[J]. 中国合理用药探索, 2023, 20(3): 16-24.
- [6] GUO D X, HU W J, WEI R, et al. Epidemiology and mechanism of drug resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in Beijing, China: a multicenter study[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2019, 19(3): 288-296.
- [7] GUO Z L, LIU L Y, GONG J, et al. Molecular features and antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma pneumoniae* isolates from paediatric inpatients in Weihai, China: characteristics of *M. pneumoniae* in Weihai[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2022, 28: 180-184.
- [8] 贺杰, 张新萍, 赵文姣, 等. 儿童大环内酯类耐药肺炎支原体肺炎临床特征分析[J]. 儿科药学杂志, 2022, 28(8): 36-39.
- [9] MEYER SAUTEUR P M, THEILER M, BUETTCHER M, et al. Frequency and clinical presentation of mucocutaneous disease due to *Mycoplasma pneumoniae* infection in children with community-acquired pneumonia[J]. JAMA Dermatol, 2020, 156(2): 144-150.
- [10] DAWOOD A, ALGHARIB S A, ZHAO G, et al. *Mycoplasmas* as host pantropic and specific pathogens: clinical implications, gene transfer, virulence factors, and future perspectives[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 855731.
- [11] KANNAN K, MANKIN A S. Macrolide antibiotics in the ribosome exit tunnel: species-specific binding and action[J]. Ann N Y Acad Sci, 2011, 1241(1): 33-47.
- [12] BAN N, NISSEN P, HANSEN J, et al. The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution[J]. Science, 2000, 289(5481): 905-920.
- [13] SCHLÜNZEN F, ZARIVACH R, HARMS J, et al. Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria[J]. Nature, 2001, 413(6858): 814-821.
- [14] LIN J Z, ZHOU D J, STEITZ T A, et al. Ribosome-targeting antibiotics: modes of action, mechanisms of resistance, and implications for drug design[J]. Annu Rev Biochem, 2018, 87: 451-478.
- [15] TENSON T, LOVMAR M, EHRENBERG M. The mechanism

- of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome[J]. *J Mol Biol*, 2003, 330(5): 1005 - 1014.
- [16] MANKIN A S. Macrolide myths[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2008, 11(5): 414 - 421.
- [17] VÁZQUEZ-LASLOP N, MANKIN A S. How macrolide antibiotics work[J]. *Trends Biochem Sci*, 2018, 43(9): 668 - 684.
- [18] SVETLOV M S, KOLLER T O, MEYDAN S, *et al*. Context-specific action of macrolide antibiotics on the eukaryotic ribosome[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2803.
- [19] JILL T, PRATT CATHERINE A, DAHLBERG ALBERT E. Effects of a number of classes of 50S inhibitors on stop codon readthrough during protein synthesis[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(12): 4889 - 4891.
- [20] CEDERVALL J, HERRE M, DRAGOMIR A, *et al*. Neutrophil extracellular traps promote cancer-associated inflammation and myocardial stress[J]. *Oncoimmunology*, 2022, 11(1): 2049487.
- [21] HIDALGO A, LIBBY P, SOEHNLEIN O, *et al*. Neutrophil extracellular traps: from physiology to pathology[J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(13): 2737 - 2753.
- [22] MERZA M, HARTMAN H, RAHMAN M, *et al*. Neutrophil extracellular traps induce trypsin activation, inflammation, and tissue damage in mice with severe acute pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1920 - 1931.
- [23] BYSTRZYCKA W, MANDA-HANDZLIK A, SIECZKOWSKA S, *et al*. Azithromycin and chloramphenicol diminish neutrophil extracellular traps (NETs) release[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): 2666.
- [24] OISHI K, SONODA F, KOBAYASHI S, *et al*. Role of interleukin-8 (IL-8) and an inhibitory effect of erythromycin on IL-8 release in the airways of patients with chronic airway diseases[J]. *Infect Immun*, 1994, 62(10): 4145 - 4152.
- [25] CIGANA C, ASSAEL B M, MELOTTI P. Azithromycin selectively reduces tumor necrosis factor alpha levels in cystic fibrosis airway epithelial cells[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(3): 975 - 981.
- [26] JOELSSON J P, KRICKER J A, ARASON A J, *et al*. Azithromycin ameliorates sulfur dioxide-induced airway epithelial damage and inflammatory responses[J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 233.
- [27] TAMAOKI J, ISONO K, SAKAI N, *et al*. Erythromycin inhibits Cl secretion across canine tracheal epithelial cells[J]. *Eur Respir J*, 1992, 5(2): 234 - 238.
- [28] TOJIMA I, SHIMIZU S, OGAWA T, *et al*. Anti-inflammatory effects of a novel non-antibiotic macrolide, EM900, on mucus secretion of airway epithelium[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2015, 42(4): 332 - 336.
- [29] FUJIKAWA H, KAWAKAMI T, NAKASHIMA R, *et al*. Azithromycin inhibits constitutive airway epithelial sodium channel activation in vitro and modulates downstream pathogenesis in vivo[J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(4): 725 - 730.
- [30] SUN J L, LI Y N. Long-term, low-dose macrolide antibiotic treatment in pediatric chronic airway diseases[J]. *Pediatr Res*, 2022, 91(5): 1036 - 1042.
- [31] 林江涛, 张永明, 王长征, 等. 大环内酯类药物的抗菌外作用与临床应用专家共识[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56(7): 546 - 557.
- [32] 张微青, 程明凤, 叶淑玲. 阿奇霉素在铜绿假单胞菌小鼠感染中的作用机制及对炎症因子的影响研究[J]. *全科医学临床与教育*, 2021, 19(8): 688 - 691.
- [33] 展效文. 儿童难治性肺炎支原体肺炎与耐药基因突变的相关性研究[D]. 新乡: 新乡医学院, 2020.
- [34] LUCIER T S, HEITZMAN K, LIU S K, *et al*. Transition mutations in the 23S rRNA of erythromycin-resistant isolates of *Mycoplasma pneumoniae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(12): 2770 - 2773.
- [35] OKAZAKI N, NARITA M, YAMADA S, *et al*. Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with Erythromycin in vitro[J]. *Microbiol Immunol*, 2001, 45(8): 617 - 620.
- [36] PEREYRE S, GUYOT C, RENAUDIN H, *et al*. In vitro selection and characterization of resistance to macrolides and related antibiotics in *Mycoplasma pneumoniae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(2): 460 - 465.
- [37] CARDINALE F, CHIRONNA M, DUMKE R, *et al*. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in paediatric pneumonia[J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(6): 1522 - 1524.
- [38] 吴超雄, 王爱敏, 蔡振荡. 肺炎支原体 23S rRNA 突变与患儿临床特征及耐药性的相关性[J]. *中华全科医学*, 2021, 19(4): 603 - 606.
- [39] HALFON Y, MATZOV D, EYAL Z, *et al*. Exit tunnel modulation as resistance mechanism of *S. aureus* erythromycin resistant mutant[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 11460.
- [40] ZAMAN S, FITZPATRICK M, LINDAHL L, *et al*. Novel mutations in ribosomal proteins L4 and L22 that confer erythromycin resistance in *Escherichia coli*[J]. *Mol Microbiol*, 2007, 66(4): 1039 - 1050.
- [41] LIU X J, JIANG Y, CHEN X G, *et al*. Drug resistance mechanisms of *Mycoplasma pneumoniae* to macrolide antibiotics[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 320801.
- [42] JIANG F C, WANG R F, CHEN P, *et al*. Genotype and mutation patterns of macrolide resistance genes of *Mycoplasma pneumoniae* from children with pneumonia in Qingdao, China, in 2019[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2021, 27: 273 - 278.
- [43] CAO B, ZHAO C J, YIN Y D, *et al*. High prevalence of macrolide resistance in *Mycoplasma pneumoniae* isolates from adult and adolescent patients with respiratory tract infection in China[J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 51(2): 189 - 194.
- [44] WANG N, ZHANG H, YIN Y H, *et al*. Antimicrobial susceptibility profiles and genetic characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* in Shanghai, China, from 2017 to 2019[J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 4443 - 4452.
- [45] CATTOIR V, MERABET L, LEGRAND P, *et al*. Emergence of a *Streptococcus pneumoniae* isolate resistant to streptogramins by mutation in ribosomal protein L22 during pristinamycin therapy of pneumococcal pneumonia[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 59(5): 1010 - 1012.

- 落四例[J]. 中华普通外科杂志, 2014, 29(8): 641-642.
- [66] CHEN X Y, LIU X, LIU J L, *et al.* Pulmonary embolism secondary to deep venous thrombosis: a retrospective and observational study for clinical characteristics and risk stratification[J]. *Phlebology*, 2021, 36(8): 627-635.
- [67] HOU J X, WANG W Y, CAI H, *et al.* Patients with right lower extremity deep vein thrombosis have a higher risk of symptomatic pulmonary embolism: a retrospective study of 1585 patients[J]. *Ann Vasc Surg*, 2022, 81: 240-248.
- [68] SINGH K, YAKOUB D, GIANGOLA P, *et al.* Early follow-up and treatment recommendations for isolated calf deep venous thrombosis[J]. *J Vasc Surg*, 2012, 55(1): 136-140.
- [69] BRATEANU A, PATEL K, CHAGIN K, *et al.* Probability of developing proximal deep-vein thrombosis and/or pulmonary embolism after distal deep-vein thrombosis[J]. *Thromb Haemost*, 2016, 115(3): 608-614.
- [70] SARTORI M, MIGLIACCIO L, FAVARETTO E, *et al.* Two years outcome of isolated distal deep vein thrombosis[J]. *Thromb Res*, 2014, 134(1): 36-40.
- [71] BERNARDI E, CAMPORESE G, BÜLLER H R, *et al.* Serial 2-point ultrasonography plus D-dimer vs whole-leg color-coded Doppler ultrasonography for diagnosing suspected symptomatic deep vein thrombosis: a randomized controlled trial[J]. *JAMA*, 2008, 300(14): 1653-1659.
- [72] AISSAOUI N, MARTINS E, MOULY S, *et al.* A meta-analysis of bed rest versus early ambulation in the management of pulmonary embolism, deep vein thrombosis, or both[J]. *Int J Cardiol*, 2009, 137(1): 37-41.
- [73] GRUETTNER J, VIERGUTZ T, BOLTE M, *et al.* Importance of risk factors for the evaluation of patients with a suspected pulmonary embolism[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(6): 2281-2284.
- [74] KABASHNEH S, SINGH V, ALKASSIS S. A comprehensive literature review on the management of distal deep vein thrombosis[J]. *Cureus*, 2020, 12(5): e8048.
- [75] 陈东海, 陈鑫遥, 蔡彦, 等. 肺栓塞合并下肢深静脉血栓患者的临床特征分析[J]. 临床急诊杂志, 2022, 23(5): 305-309.
- [76] LI H L, CHAN Y C, LI N, *et al.* Prevalence and predictor of pulmonary embolism in a cohort of Chinese patients with acute proximal deep vein thrombosis[J]. *Ann Vasc Surg*, 2020, 63: 293-297.
- [77] 高玉海, 高群, 魏强, 等. 下肢深静脉血栓并发肺栓塞的临床特征及危险因素分析[J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(3): 273-276.
- [78] EKICI M, EKICI A, İLERI Ş. Chronic CT features in PE patients with co-existing DVT[J]. *Am J Emerg Med*, 2021, 46: 126-131.
- [79] 韦永涵, 廖新红, 高泳, 等. 彩色多普勒超声检查联合 D-二聚体及 C 反应蛋白检测对下肢深静脉血栓合并肺血栓的预测价值[J]. 右江民族医学院学报, 2017, 39(6): 458-461, 468.
- [80] 孟燕, 田红燕, 马强, 等. C 反应蛋白在肺栓塞患者中的临床价值[J]. 中华全科医学, 2012, 10(3): 349-350.
- [81] 田锦林, 王海峰, 屈尔青, 等. Wells、修正后的 Geneva 评分与肺栓塞严重程度指数对下肢深静脉血栓患者发生肺栓塞的预测价值[J]. 临床荟萃, 2015, 30(3): 297-300.
- [82] WONG D D, RAMASESHAN G, MENDELSON R M. Comparison of the Wells and Revised Geneva Scores for the diagnosis of pulmonary embolism: an Australian experience[J]. *Intern Med J*, 2011, 41(3): 258-263.
- [83] 郗萌, 罗丹, 周蓉, 等. 下肢静脉血栓患者 Wells 评分及相关危险因素分析[J]. 中国医药, 2020, 15(7): 1058-1062.

(本文编辑: 吕振宇 钱锋)

(上接第 140 面)

- [46] TU D Q, BLAHA G, MOORE P B, *et al.* Structures of MLS-BK antibiotics bound to mutated large ribosomal subunits provide a structural explanation for resistance[J]. *Cell*, 2005, 121(2): 257-270.
- [47] HANSEN J L, IPPOLITO J A, BAN N, *et al.* The structures of four macrolide antibiotics bound to the large ribosomal subunit[J]. *Mol Cell*, 2002, 10(1): 117-128.
- [48] 郑定容, 黄龙, 周伟. 肺炎支原体培养及药敏试验和耐药基因分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(5): 1302-1304.
- [49] MANYAHI J, MOYO S J, LANGELAND N, *et al.* Genetic determinants of macrolide and tetracycline resistance in penicillin non-susceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates from people living with HIV in Dar es Salaam, Tanzania[J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2023, 22(1): 16.
- [50] BLANCO P, HERNANDO-AMADO S, REALES-CALDERON J A, *et al.* Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants[J]. *Microorganisms*, 2016, 4(1): 14.
- [51] HOU W T, XU D, WANG L, *et al.* Plastic structures for diverse substrates: a revisit of human ABC transporters[J]. *Proteins*, 2022, 90(10): 1749-1765.
- [52] XIA X R, YANG L, LING Y Z, *et al.* Emergence and mechanism of resistance of tulathromycin against *Mycoplasma hyopneumoniae* in a PK/PD model and the fitness costs of 23S rRNA mutants[J]. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 801800.
- [53] DARBY E M, TRAMPARI E, SIASAT P, *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21(5): 280-295.
- [54] FONG D H, BURK D L, BLANCHET J, *et al.* Structural basis for kinase-mediated macrolide antibiotic resistance[J]. *Structure*, 2017, 25(5): 750-761.
- [55] ZIELIŃSKI M, PARK J, SLENO B, *et al.* Structural and functional insights into esterase-mediated macrolide resistance[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1732.

(本文编辑: 陆文娟 钱锋)