

等^[5]曾观察到喂养方式与婴儿 HBV 感染无关,认为母乳喂养在婴儿出生后感染 HBV 中不起重要作用;也有报道,人类肠黏膜中存在 HBsAg 的抑制物,能使进入十二指肠的 HBsAg 失去活性,因此研究者认为乳汁中单纯 HBsAg 阳性的产妇可以哺乳^[6]。而 HBsAg 并非 HBV 复制的标志,HBV DNA 作为 HBV 的基因组成和复制模板,是病毒复制最直接和可靠的标志,母乳中检测出 HBV DNA 才具有最可靠的感染性指标,虽然乳汁中 HBV DNA 含量较低,但婴儿每日进食量较多,且进食时间较长,一旦婴儿消化道黏膜因炎症发生水肿或黏膜破损,母乳中的 HBV 仍然可能通过毛细血管进入血循环而引起感染。对于慢性乙型肝炎携带者的孕妇,适当的应用 HBV 免疫球蛋白进行免疫预防,不会增加 HBV 感染的风险^[7]。

PCR 技术是一种分子水平的病原学检测方法,能确定标本是否存在病毒颗粒,是目前用于乳汁筛选较为理想的检测手段。在乳汁 HBV 核酸提取中,加入 SDS 作为变性剂提取 DNA,容易得到阳性结果。另外加入 RNase 及蛋白酶 K,会使荧光定量的扩增曲线的强度及重复性大大提高,从而提高了检测的稳定性与灵敏度。超滤是浓缩样品的更好选择。超滤是一种膜分离技术,它的特点是使用不对称多孔膜,根据分子的大小来分离溶液中的大分子物质与小分子物质,是一种温和的、非变性的物理分离方法,尤其适用于蛋白质等大分子溶液的浓缩、纯化以及缓冲体系交换等。超滤操作最简单的工具为离心超滤管,其通过离心力,使溶液中的小分子溶液和溶剂透过超滤膜,被收集在滤过液收集瓶中,而大分子溶质则被超滤膜截流在样品浓缩管中。该方法的特点是操作简便,只需要高速离心机,无需其他特殊设备,速度快,可以有效浓缩样本,而且可以部分去除样本溶液中的盐、去垢剂等可溶性小分子,有利于更换缓冲体系^[8]。在本研究中使用美国密理博公司生产的 Microcon YM 100 超滤离心管,其最大的滤过蛋白的相对分子质量为 10×10^3 ,能过滤掉提取体系中的全部蛋白与离子盐等杂质,比起常用的酚/氯仿抽提 DNA 的经典方法,减少了

这些提取溶剂对下一步 PCR 反应体系的抑制作用^[9]。并且超滤离心管能将溶液体积从 $500 \mu\text{L}$ 浓缩至 $5 \sim 15 \mu\text{L}$ 的 DNA 样本,这样大大提高了核酸物质的检出效率,因此在本研究中使用超滤离心管不仅去除了体系中大部分的杂质,提高 DNA 的纯度,而且对 DNA 的浓度进行了浓缩,从而使乳汁中 HBV DNA 的检出率大大地提高,减少了漏诊率。

参考文献

- [1] 李甲芬,秦跃花,张良,等. HBV 标志物阳性者产妇乳汁 HBV DNA 测定[J]. 临床检验杂志,2005,23(2):119.
- [2] 王晓东,张立梅,李凤焕,等. 感染 HBV 产妇乳汁乙型肝炎病毒标志物检测的意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(9):907-908.
- [3] 马力,赵桂珍,梁争论. 孕妇血清乳汁 HBV DNA 载量与母乳喂养安全性的研究[J]. 中国现代医学杂志,2006,16(17):2851-2855.
- [4] 乐杰. 妇产科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2004:154.
- [5] Beasley RP, Stevens CE, Shiao IS, et al. Evidence against breast feeding as a mechanism for vertical transmission of hepatitis B [J]. Lancet, 1975, 2(7938):740-741.
- [6] Klaus PM, 著. 郝连杰,译. 肝炎及其后果:急性与慢性肝病的诊断、治疗和预防[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2001:97.
- [7] Hill JB, Sheffield JS, Kim MJ, et al. Risk of hepatitis B transmission in breast-fed infants of chronic hepatitis B carriers[J]. Obstet Gynecol, 2002, 99(6):1049-1052.
- [8] Schiffner LA, Bajda EJ, Prinz M, et al. Optimization of a simple, automatable extraction method to recover sufficient DNA from low copy number DNA samples for generation of short tandem repeat profiles[J]. Croat Med J, 2005, 46(4):578-586.
- [9] Greening DW, Simpson RJ. A centrifugal ultrafiltration strategy for isolating the low-molecular weight ($\leq 25\text{k}$) component of human plasma proteome[J]. J Proteomics, 2010, 73(3):637-648.

(收稿日期:2011-03-26)

• 经验交流 •

基层医院金黄色葡萄球菌的耐药现状与分析

吕卫东¹, 张平安^{2△}

(1. 湖北省蕲春县第三人民医院检验科 435300; 2. 武汉大学人民医院检验科 430060)

摘要:目的 了解金黄色葡萄球菌(SA)的分离率及耐药现状,为临床提供诊疗依据。方法 采用 K-B 纸片法进行药敏试验,采用头孢西林纸片法进行耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)鉴定。结果 本组 233 株 SA 在呼吸道标本检出率最高,在脓液中第 2。MRSA 对抗菌药物的耐药率明显高于甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)。结论 应加强对患者医院感染好发部位的监测与护理,即使在二级医院的临床微生物室也务必常规开展 MRSA 的检测工作。

关键词: 葡萄球菌,金黄色; 交叉感染; 抗药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.07.041

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)07-0803-02

金黄色葡萄球菌(staphylococcus aureus, SA)是医院感染的重要病原菌之一,可致多种感染性疾病,严重时可危及生命^[1-2]。尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(meticillin-resistant Staphylococcus aureus, MRSA)出现以来,其多重耐药性和交叉耐药性加大了临床的治疗难度,已受到广泛的关注^[3-6]。

为了解 SA 的分离率及耐药现状,为临床提供诊疗依据,对临床标本中分离的 233 株 SA 进行调查分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月至 2010 年 6 月期间,从湖北省蕲春县经三人民医院患者送检的各类临床标本(痰液、尿液、血

△ 通讯作者, E-mail: zhangpingan@yahoo.com.cn.

液、穿刺液、脓液等)中分离 233 株。SA 鉴定由 VITEK 细菌分析系统完成,严格按《全国临床检验操作规程》进行。质控菌株(金黄色葡萄球菌 ATCC 25923)来自湖北省临床检验中心。

1.2 细菌培养鉴定培养基 M-H 琼脂分别由卫生部生物制品检定所和杭州天睦微生物试剂有限公司提供。药敏纸片为青霉素 G(PEN)、苯唑西林(OXA)、庆大霉素(GEN)、环丙沙星(CTP)、复方新诺明(TMP/SMI)、四环素(TET)、氯霉素(CHL)、万古霉素(VAN)、红霉素(ERY)、克林霉素(CLI)、头孢西丁(FOX)均购自卫生部生物制品检定所。

1.3 药敏试验及 MRSA 菌株的鉴定 药敏试验采用 K-B 纸片法进行,根据 2006~2008 年 CLSI 标准判读药敏结果。MRSA 菌株的鉴定采用 CLSI2004 规则推荐的头孢西林纸片法进行,结果判定标准:抑菌环直径小于或等于 21 mm 为敏感,大

于或等于 22 mm 为耐药。

1.4 统计学处理 实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,组间比较采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 菌株分布 共分离出 SA 233 株,其中 MRSA 113 株(占 48.5%),分布在痰液标本为 93 株(82.3%)、脓液 8 株(7.1%)、血液 3 株(2.6%)、其他 9 株(8.0%)。甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(meticillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA) 120 株(占 51.5%),分布在脓液标本为 55 株(45.8%)、血液 30 株(25.0%)、伤口分泌物 17 株(14.2%)、痰液 5 株(4.2%)、其他 13 株(10.8%)。

2.2 耐药监测 SA 对 10 种抗菌剂的耐药结果见表 1。

表 1 MRSA 与 MSSA 对常用抗菌剂耐药率的比较

抗菌剂	MRSA(113 株)		MSSA(120 株)		χ^2 值	P 值
	R[n(%)]	S[n(%)]	R[n(%)]	S[n(%)]		
青霉素	113(100.0)	0(0.0)	110(91.7)	10(8.3)	9.84	0.000
苯唑西林	111(98.2)	2(1.8)	2(1.7)	118(98.3)	217.26	0.000
头孢西丁	113(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	120(100.0)	233	0.000
克林霉素	82(72.6)	31(27.4)	56(46.7)	64(53.3)	16.17	0.000
红霉素	103(91.2)	10(8.8)	96(80.0)	24(20.0)	5.81	0.017
庆大霉素	102(90.3)	11(9.7)	25(20.8)	95(79.2)	113.14	0.000
万古霉素	0(0.0)	113(100.0)	0(0.0)	120(100.0)	—	—
环丙沙星	80(70.8)	33(29.2)	26(21.7)	94(78.3)	56.65	0.000
氯霉素	10(8.8)	103(91.2)	6(5.0)	114(95.0)	1.35	0.251
复方新诺明	12(10.6)	101(89.4)	4(3.3)	116(96.7)	4.83	0.029

—:表示无数据。

3 讨 论

目前,国际上将 SA 引起的感染与乙型肝炎、艾滋病一起列为当今世界三大感染性疾病,并将 SA 称为“超级细菌”,而 MRSA 本身的高度致病性和产生的多重耐药性,导致该菌引起的全身性严重感染病死率达 75%,已受到世界卫生组织(WHO)和发达国家的高度重视^[7-10],本组 MRSA 检出率为 48.9%,值得高度重视,医院一旦发现 MRSA 感染,务必采取果断的防范措施,立即切断感染源才能遏制 MRSA 医院感染的暴发流行。本组结果表明,233 株 SA 在呼吸道标本检出率最高,在脓液中第 2,因此应加强对患者医院感染好发部位的监测与护理,预防与控制医院感染。

耐药结果显示,本组 MRSA 对抗菌剂的耐药率明显高于 MSSA,两者的治疗原则完全不同,因此,即使在二级医院的临床微生物室也务必常规开展 MRSA 的检测工作,否则会导致误诊而延误患者治疗。目前,本组 SA 对万古霉素 100%敏感。因此,对于 SA 感染的危重患者,首先考虑选用糖肽类抢救生命,但在治疗过程中,应关注糖肽类药物对患者的副反应,做到安全用药。

参考文献

[1] Appelbaum PC. The emergence of vancomycin-intermediate and van-comycin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Clin Microbiol

Infect, 2006, 12(1): 16-23.
 [2] 李金钟,刘利平. 金黄色葡萄球菌对万古霉素的耐药机制[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(7): 648-652.
 [3] 龚雅利,罗阳,刘春江,等. 1 009 株金黄色葡萄球菌耐药现状分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(11): 1586-1588.
 [4] 杨凤琴. 68 株金黄色葡萄球菌的耐药性分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2010, 13(3): 384.
 [5] 谢风,李威,李贵玲,等. 金黄色葡萄球菌的耐药性分析[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(1): 113-114.
 [6] 朱以军,李向阳. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药机制及检测[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册, 2005, 26(1): 26-31.
 [7] 蒋景华,陈文光,章泽豹,等. 金黄色葡萄球菌耐药的现状及临床治疗对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(10): 1292-1293.
 [8] 纪文军,陈亚生,杨慧. 获得性感染金黄色葡萄球菌耐药的现状及治疗对策[J]. 药物与临床, 2009, 16(7): 61-62.
 [9] 邹启富,闵文静,范文. 医院感染金黄色葡萄球菌的分布与耐药性调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(16): 2179-2180.
 [10] 张保华,付光林,余桂香,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性及分子流行病学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 131-132.

(收稿日期:2010-07-24)