

记免疫分析与临床, 2004, 11(2): 110-113.

[2] Fang VS, Selenkow HA. Determination of free thyroxine in serum by low-temperature equilibrium dialysis[J]. Clin Chem, 1970, 16(3): 185-190.

[3] 陈创奇, 冯健明, 赵可辉, 等. 游离甲状腺素时间分辨荧光免疫试剂盒的研制[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(10): 1203-1205.

[4] Frank LA, Petunin AI, Vysotski ES. Bioluminescent immunoassay of thyrotropin and thyroxine using obelin as a label[J]. Anal Biochem, 2004, 325(2): 240-246.

[5] Holm SS, Hansen SH, Faber J, et al. Reference methods for the measurement of free thyroid hormones in blood; evaluation of potential reference methods for free thyroxine [J]. Clin Biochem, 2004, 37(2): 85-93.

[6] 刘冉, 李振甲. 游离甲状腺激素分析的现状与评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2004, 11(2): 110-113.

[7] 徐立根, 孙有香, 焦岩. 甲状腺素工作标准品的研制[J]. 标记免疫分析与临床, 2003, 10(1): 25-28.

[8] 靳辉. 化学发光免疫分析在游离甲状腺素测定中的应用研究[D]. 保定: 河北大学, 2009.

[9] Wang X, Chen H, Lin JM, et al. Development of a highly sensitive and selective microplate chemiluminescence enzyme immunoassay for the determination of free thyroxine in human serum[J]. Int J Biol Sci, 2007, 3(5): 274-280.

[10] Jin H, Lin JM, Wang X, et al. Magnetic particle-based chemiluminescence enzyme immunoassay for free thyroxine in human serum[J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 50(5): 891-896.

[11] 林金明, 赵丽霞, 王栩. 化学发光免疫分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.

(收稿日期: 2016-03-20 修回日期: 2016-05-25)

• 临床研究 •

医院与社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子流行病学研究

万小涛, 钟方财, 叶帮芬, 张有辉, 袁 翊

(四川省内江市第一人民医院检验科 641000)

摘要:目的 探讨医院与社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)产生耐药的分子流行病学特征。方法 采用培养法分离出 MRSA, PCR 法检测 mecA 基因并分型。结果 189 株 MRSA 标本甲氧西林决定因子(mecA)基因检测有 178 株为阳性, 进行 mecA 基因分型, SCCmec II 型 24 株, SCCmec III 型 101 株, SCCmec IV 型 51 株, 其他 2 株未能分型, 分型结果存在差异。结论 MRSA 以 SCCmec III 型为主, MRSA 的产生与抗菌药物的使用具有相关性。

关键词:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 甲氧西林决定因子 A; 医院感染; 社区感染

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.053

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)19-2775-02

金黄色葡萄球菌无芽胞、鞭毛, 大多数无荚膜, 革兰染色阳性, 是临床感染的主要病原菌, 并逐渐向社区扩展。采用传统细菌鉴定及分型方法不能对其进行基因分型, 尤其是对病原体溯源分析时, 无法找出病原体变异的主要原因。本研究对分离出的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)株进行基因分型, 探讨使用抗菌药物与 MRSA 产生的相关性, 为临床用药提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013~2015 年该院住院和门诊患者标本, 经培养为 MRSA 的菌株, 采集患者病历资料分析抗菌药物的使用情况。

1.2 仪器与试剂 低温高速离心机, 恒温仪, ABI7500 实时荧光定量扩增仪。甲氧西林决定因子(mecA)基因检测试剂使用泰普生物有限公司试剂, SCCmec 基因分型试剂由上海生工生物公司合成。

1.3 方法

1.3.1 金黄色葡萄球菌分离后 mecA 基因检测 使用特异性引物直接扩增金黄色葡萄球菌及 mecA 基因。

1.3.2 葡萄球菌染色体盒(SCCmec)基因分型 根据研究报道^[1], 选择 4 对 PCR 引物, PCR 反应条件: 94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 40 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 60 s, 30 个循环。见表 1、2。

1.3.3 社区感染 MRSA 诊断标准 参照美国疾病预防控制中心诊断标准, 患者在门诊或入院 48 h 之内分离 MRSA 菌株; 1 年内无住院或与医疗机构接触史; 无留置各种导管及其他穿透皮肤的医用装置。其他统计为医院感染 MRSA。

表 1 SCCmec 分型扩增引物列表

目的基因	产物长度(bp)	核苷酸序列(5'~3')
mecA-IS431	359	F: TATACCAAACCCGACAACACTAC
		R: CGGCTACAGTGATAACATCC
IS1271	415	F: GCCACTCATAACATATGGAA
		R: CATCCGAGTGAAACCCAAA
CCrA2-B2	937	F: ATTGCCTTGATAATAGCCTTCT
		R: TAAAGGCATCAATGCACAAACACT

表 2 特异性基因片段与各型 SCCmec 关系

SCCmec 基因型	特异性基因片段		
	mecA-IS431	IS1271	ccrA2-B2
II	-	+	-
III	-	-	+
IV	+	+	-

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以率表示, 组间比较使用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

mecA 基因检测有 178 株阳性, 11 株为阴性, 院内感染 115 株, 社区感染 61 株, 其中院内感染 II 型和 III 型共 91 株, 社区感染为 34 株, 院内感染 IV 型为 15 株, 社区感染为 36 株, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。SCCmec 基因分型有 2 株未能分型成功。见表 3、4。

表 3 178 株 mecA 基因阳性 SCCmec 基因分型结果 (n)

感染途径	SCCmec	SCCmec	SCCmec	合计
	II 型	III 型	IV 型	
HA-MRSA	9	82	15	115
CA-MRSA	15	19	36	61
合计	24	101	51	176

表 4 SCCmec 基因分型结果在各临床科室的分布情况 (n)

SCCmec 分型	SCCmec 基因分型结果在各临床科室的分布情况 (n)											
	门诊	ICU	烧伤	骨科	普外	神外	五官	神内	儿科	皮肤	泌外	合计
II	9	4	2	2	2	2	0	3	2	2	0	24
III	14	23	7	13	6	12	13	8	8	4	3	101
IV	24	11	0	1	1	2	2	1	5	3	1	51
合计	47	38	9	16	9	16	5	12	15	9	4	176

3 讨 论

MRSA 感染一般发生于严重基础疾病、年老体弱者, 且长期运用抗菌药物类的住院治疗患者。本研究结果表明, 院内感染是 MRSA 最主要传播方式, 如果因为监测和控制不当, 可造成区域性的暴发流行, 病死率非常高。

mecA 基因作为 MRSA 的特征性耐药基因, 存于 SCCmec, SCCmec 为一种可移动盒式染色体, 分子结构主要包括 mec 基因复合体、CCr 基因复合体及 J 区^[2]。IV 型除含有 mecA 耐药基因外, 未含有其他耐药基因, 而 II、III 型还含有 CCr 耐药基因, 可对红霉素、壮观霉素等耐药。本研究未对 SCCmec I 型和 V 型进行分型, 有 2 株未分型成功, 不排除是 I 型或 V 型的可能, 与有关研究基本一致^[3]。本研究医院感染的 MRSA 主要以 SCCmec II、III 型为主, 而社区感染的 MRSA 则以 SCCmec IV 型为主 (占 59%)^[4], 由于 II、III 型耐药谱更广, 医院感染的 MRSA 更难以选择。本研究结果显示, 各科室 SCCmec II 型共占 13.6%, SCCmec III 型共占 57.4%, SCCmec IV 型占 30.0%, 与相关报道基本一致^[5-6]。但 II、III 型的比例略有上升。门诊菌株与总检测菌株比较, SCCmec IV 型占 13.6%, 而 SCCmec II、III 型占 13.1%, 门诊分型结果显示 II、III 型的比例也有上升, 其原因可能与使用抗菌药物增多有一定的相关性。由于 II、III 型还含有 CCr 耐药基因, 能对更多的抗菌药物产生耐药性^[7]。医院感染的 MRSA, SCCmec II、III 型为 79%, 这要

求临床早期用药时应更多地了解患者病史。由于 MRSA 的产生与患者本身状况密切相关, 如基础疾病、年老体弱等原因致住院时间较长, 采用更多的抗菌药物, 所以认为抗菌药物的长期运用是引起 MRSA 的主要原因, 而 SCCmec 分型, 是区分医院感染和社区感染的一个重要指标。医院感染以耐药谱更广的 SCCmec I、II、III 型为主, 社区感染则以 SCCmec IV、V 型为主, 但目前社区感染的 SCCmec II、III 型有增加的趋势, 其产生的耐药种类也更多, 甚至耐万古霉素金黄色葡萄球菌^[8-9]。

综上所述, MRSA 的预防需要医务人员和患者做到严格的消毒措施, 可起明显的防范作用; 医务人员加强对新入院及 MRSA 易感者的检查, 预防暴发流行, 有早期治疗的作用; 同时探讨 MRSA 的耐药机制, 寻找新药的开发奠定科学基础。

参考文献

- [1] Boye K, Bartels MD, Andersen IS, et al. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant Staphylococcus aureus SCCmec types I - V [J]. Clin Microbiol Infect, 2007, 13(7): 725-727.
- [2] Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in Staphylococcus aureus [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(6): 1549-1555.
- [3] 王爱玲, 纪冰, 孙万菊, 等. 65 株临床分离 MRSA 的 SCCmec 基因分型及耐药性研究 [J]. 检验医学, 2013, 28(5): 357-361.
- [4] Gulmez D, Saneak B, Ereis S, et al. Investigation of SCCmec types and Pantone-Valentine leukocidin in community-acquired and nosocomial Staphylococcus aureus strains: comparing skin and soft tissue infections to the other infections [J]. Mikrobiyol Bul, 2012, 46(3): 341-351.
- [5] 王蕾, 李武平, 刘冰, 等. 62 株临床分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 SCCmec 基因分型及耐药性分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 769-770.
- [6] 魏军, 贾伟, 赵志军, 等. 医院感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性与 SCCmec 分型及同源性研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(14): 2961-2963.
- [7] 李春, 方欣, 王中新. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性分析及基因同源性检测 [J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(9): 688-690.
- [8] Appelbaum PC. The emergence of vancomycin interm ediatc and Vailcomycin resistant Staphy lococcus aulret [J]. Clin Licrobiol Infect, 2006, 3(12): 16.
- [9] 李介华, 袁春雷, 温伟洪. 不同病区 and 标本来源金黄色葡萄球菌感染的耐药性监测 [J]. 现代预防医学, 2006, 33(10): 1946-1949.

(收稿日期: 2016-02-21 修回日期: 2016-06-16)