

1 as markers for predicting pre-eclampsia[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2008, 87(8): 837-842.

[9] Ohkuchi A, Hirashima C, Suzuki H, et al. Evaluation of a new and automated electrochemiluminescence immunoassay for plasma sFlt-1 and PlGF levels in women with preeclampsia[J]. Hypertens Res, 2010, 33(5): 422-427.

[10] Muttukrishna S, North RA, Morris J, et al. Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of pre-eclampsia[J]. Hum Reprod, 2000, 15(7): 1640-1645.

[11] Farag K, Hassan I, Ledger WL. Prediction of preeclampsia; can it be achieved[J]. Obstet Gynecol Surv, 2004, 59(6): 464-482.

[12] Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia[J]. N Engl J Med, 2006, 355(10): 992-1005.

[13] Salahuddin S, Lee Y, Vadnais M, et al. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy[J]. Am J Obstet Gynecol, 2007, 197(1): 28.

[14] Huppertz B, Sammar M, Chefetz I, et al. Longitudinal determination of serum placental protein 13 during development of pre-eclampsia[J]. Fetal Diagn Ther, 2008, 24(3): 230-236.

[15] Burger O, Pick E, Zwickel J, et al. Placental protein 13 (PP-13): effects on cultured trophoblasts, and its detection in human body fluids in normal and pathological pregnancies[J]. Placenta, 2004, 25(7): 608-622.

[16] Romero R, Kusanovic JP, Than NG, et al. First-trimester maternal serum PP13 in the risk assessment for preeclampsia[J]. Am J Obstet Gynecol, 2008, 199(2): e1-122.

[17] Sifakis S, Akolekar R, Kappou D, et al. Maternal serum insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) at 11-13 weeks in pre-eclampsia[J]. Prenat Diagn, 2011, 31(2): 196-201.

[18] Sifakis S, Akolekar R, Kappou D, et al. Maternal serum insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) at 11-13 weeks in preeclampsia[J]. J Hum Hypertens, 2012, 26(4): 253-258.

[19] D'anna R, Baviera G, Corrado F, et al. Plasma adiponectin concentration in early pregnancy and subsequent risk of hypertensive disorders[J]. Obstet Gynecol, 2005, 106(2): 340-344.

[20] 张立军, 韩玉环, 韩玉植. 妊娠期高血压疾病患者血清脂联素、内皮素-1 和一氧化氮水平变化及意义[J]. 中华妇幼临床医学杂志: 电子版, 2009, 5(5): 37-40.

[21] Fasshauer M, Waldeyer T, Seeger J, et al. Circulating high-molecular-weight adiponectin is upregulated in preeclampsia and is related to insulin sensitivity and renal function[J]. Eur J Endocrinol, 2008, 158(2): 197-201.

[22] Nanda S, Yu CK, Giurcaneanu L, et al. Maternal serum adiponectin at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia[J]. Fetal Diagn Ther, 2011, 29(3): 208-215.

[23] Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans[J]. Circulation, 2005, 111(7): 932-939.

[24] Nanda S, Poon LC, Muhaisen M, et al. Maternal serum resistin at 11 to 13 weeks' gestation in normal and pathological pregnancies[J]. Metabolism, 2012, 61(5): 699-705.

[25] Poon LC, Staboulidou I, Maiz N, et al. Hypertensive disorders in pregnancy: screening by uterine artery Doppler at 11-13 weeks[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2009, 34(2): 142-148.

[26] Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, et al. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks[J]. Prenat Diagn, 2011, 31(1): 66-74.

(收稿日期: 2013-12-30)

• 综 述 •

金黄色葡萄球菌杀白细胞素的研究进展

王 璐¹综述, 徐元宏^{2△}审校

(1. 安徽省六安市人民医院检验科, 安徽六安 237005; 2. 安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽合肥 230022)

关键词: 葡萄球菌, 金黄色; 甲氧西林抗药性; 杀白细胞素类
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 09. 029 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2014)09-1156-04

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)普遍存在, 是导致医院和社区感染的重要病原菌。MRSA 最早出现在医院内呼吸道感染中, 随着时间的推移, 逐渐向院外扩散, 社区相关性 MRSA(communitary-associated MRSA, CA-MRSA)成为院外感染的重要病原菌。有研究者发现, 几乎所有 CA-MRSA 存在杀白细胞素(panton-valentine leucocidin, PVL)^[1-4]。起先, PVL 被认为是 CA-MRSA 感染中的重要致病因子, 后来的研究却出现了分歧。笔者分析已有研究认为, PVL 可能在 MRSA 定植性、传播性和致病性方面发挥重要作用。

1 PVL 的结构

1984 年, 人们发现金黄色葡萄球菌可产生一种能引起中性粒细胞溶解的分子。1932 年, 人们又发现了一种与 α 溶血素截然不同的, 不会导致兔死亡的毒素, 此毒素后来被命名为

PVL。PVL 是由 *LukS-pv* 和 *LukF-pv* 2 种基因共同编码的双组分外毒素, 2 种基因分别编码相对分子质量为 34 000 的 S 类蛋白和相对分子质量为 33 000 的 F 类蛋白。S 类蛋白包括 HlgA、HlgC、LukM、LukE、LukS-1 及 LukS-PVL 等; F 类蛋白包括 HlgB、HlgD、LukF、LukF-1 和 LukF-PVL, 两类蛋白的氨基酸同源性为 26%^[5], S 类蛋白成员之间的氨基酸序列同源性为 59%~79%; F 类蛋白质成员的同源性为 71%~79%。S、F 类蛋白成员相互配对, 即 HlgA+HlgB、HlgC+HlgB、LukSPV+HlgB、HlgA+LukF-PV、HlgC+LukF-PV, 组成 γ 溶血素。LukF 和 LukS 相间排列成 β 桶状八聚体结构参与致病。由于检测方法不同, 所测 LukS、LukF 的比例不同, 如免疫印迹法检测显示为 2:1, 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测为 1:1。

2 PVL 的致病机制

自 PVL 被发现以来, 其致病机制一直是热门课题。表 1

作者简介: 王璐, 女, 硕士, 主要从事细菌耐药机制的研究工作。 △ 通讯作者, E-mail: xyhong1964@163. com。

总结了近年来关于 PVL 致病机制的主要研究观点。

表 1 PVL 致病机制的研究进展

年份	研究者	结论
2005	Genestier 等 ^[6]	PVL 可抑制线粒体活动,并可导致其凋亡。
2007	Labandeira-Rey 等 ^[7]	提纯后的 PVL 和过表达 PVL 的金黄色葡萄球菌都可引起小鼠坏死性肺炎。
2008	Bubeck 等 ^[8]	在啮鼠的皮肤及软组织感染(skin and soft tissue infection, SSTI)和肺炎模型研究中发现, USA300 菌株和 PVL 缺失的 USA300 菌株在致病性方面无差异。
2008	Montgomery 等 ^[9]	在小鼠肺炎模型中,野生型和 PVL 缺失的 USA300、USA400 菌株均可导致相似的疾病。
2008	Diep 等 ^[10]	在兔脓毒血症模型中,采用竞争测定法分别测量 24、48 h 肾组织中野生型 USA300 菌株和 PVL 缺失的 USA300 菌株浓度,发现野生型浓度较高,因此,PVL 对 USA300 菌株可能具有保护作用。
2009	Tristan 等 ^[11]	PVL 可能有助于金黄色葡萄球菌黏附在黏膜上。
2009	Hongo 等 ^[12]	PVL 不能引起小鼠中性粒细胞溶解,但可以导致人粒细胞溶解,抗 PVL 抗体可阻止这种溶解作用。
2010	Hermos 等 ^[13]	儿童感染 PVL 阳性的 MRSA 时,其血浆中测得含高浓度的抗 PVL 抗体,尽管这些高浓度的保护性抗体存在,PVL 阳性的 MRSA 依然可以导致儿童皮肤感染。
2010	Löffler 等 ^[14]	PVL 可引起人和兔中性粒细胞溶解,但不能引起鼠和猴的粒细胞溶解。
2010	Li 等 ^[15]	PVL 阳性菌株和 PVL 阴性菌株(USA500)可引起相似的皮肤感染疾病。
2011	Malachowa 等 ^[16]	采用微点阵法分析发现,PVL 可增加人血中 USA300 菌株的蛋白质表达。
2011	Lipinska 等 ^[17]	兔模型携带 PVL 的菌株(USA300)比 PVL 缺失菌株造成的 SSTI 病情更重。
2011	Boakes 等 ^[18]	PVL 基因可整合到金黄色葡萄球菌噬菌体上,该噬菌体特异性插入到金黄色葡萄球菌的基因组中。
2012	邓家德等 ^[19]	携带 PVL 毒素的金黄色葡萄球菌可引起严重的侵袭性感染。
2013	Shallcross 等 ^[20]	PVL 与 SSTI 的发病有显著性关系。

以上关于 PVL 致病机制的研究结论并不一致。分析 2010 年 Li 等^[15] 和 2011 年 Lipinska 等^[17] 的研究发现,实验菌株和研究设计的差别可能是导致结论差异的原因,前者试验中没有用实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术检测引起脓肿的 PVL 阳性菌株,二者所选金黄色葡萄球菌株也不相同(分别是 USA300 和 USA500)。另外,分析 Montgomery 等^[9]、Lipinska 等^[17] 和 Löffler 等^[14] 的实验发现,动物种系的不同对实验结果也可能会造成影响,其中,以鼠为模型的实验均表明 PVL 对疾病结果无影响,而 Diep 等^[10] 和 Lipinska 等^[17] 的兔模型实验都证明了 PVL 的确加强了金黄色葡萄球菌的致病作用。Löffler 等^[14] 的实验显示,兔和人的中性粒细胞比鼠的中性粒细胞对 PVL 更敏感,说明兔模型实验更能反映人类的疾病情况。此外,有研究表明低浓度 PVL 可以导致粒细胞凋亡,而粒细胞是 CA-MRSA 感染中引起免疫应答的主要成分^[21]。此外, Sina 等^[22] 指出在贝宁, PVL 阳性的 MRSA 引起的皮肤感染呈高度流行性, Shallcross 等^[20] 的 Meta 分析表明, 儿童 PVL 阳性的骨骼感染发病率呈逐年上升趋势。综上分析, PVL 可能是 MRSA 致病的重要因素。

3 PVL 基因和耐药性的关系

MRSA 耐药主要是因为产生了青霉素结合蛋白 2a (penicillin binding proteins 2a, PBP2a), PBP2a 由位于葡萄球菌染色体 mec 盒(staphylococcal cassette chromosome mec, SCCmec) 上的 mecA 基因编码。PVL 通过噬菌体溶源性转换作用为金黄色葡萄球菌提供 SCCmec 插入位点,从而参与 MRSA 的耐药。研究发现,部分 β 内酰胺类抗菌药可增加 PVL 浓度^[23], 如苯唑西林、亚胺培南;而另一些该类抗菌药,如头孢噻肟、头孢克洛、头孢西丁等则无此作用。PVL 阳性的 MRSA 对青霉素 G、苯唑西林的耐药率为 100%;对红霉素、阿奇霉素、左氧

氟沙星、利福平、庆大霉素、阿米卡星、克林霉素和环丙沙星的耐药率均为 90% 左右;对万古霉素、呋喃妥因的敏感性达 100%^[24]。高玉录^[25] 研究发现, PVL 阳性的金黄色葡萄球菌虽然对 β 内酰胺类抗菌药耐药,但其对喹诺酮类抗菌药、克林霉素、四环素、利福平、夫西地酸、卡那霉素、托达霉素较为敏感。近年来不断有研究报道 MSSA 中 PVL 携带率比 MRSA 高^[26-28]。刘玉枝等^[29] 研究发现, PVL 阳性的 MSSA 比不携带 PVL 基因的 MSSA 毒力更强,他们认为 PVL 可增强 MSSA 的耐药性,如 PVL 阳性的 MSSA 对红霉素、克拉霉素、克林霉素、环丙沙星、庆大霉素、利福平、四环素等的耐药性高于 PVL 阴性的 MSSA。这一点应引起临床的高度重视。有研究表明^[30], 亚抑菌浓度的克林霉素、利福平、利奈唑胺可抑制 PVL 的产生。由于在亚抑菌条件下,抗菌药的临床疗效与药物对细菌毒力因子释放的影响有关,寻找抑制 PVL 的抗菌药用以治疗金黄色葡萄球菌感染具有科学研究价值和重要临床意义。

4 PVL 的检测方法

PVL 阳性的 MRSA 引起严重感染,并在全球范围内呈播散趋势, Mariem 等^[31] 报道在突尼斯,携带 PVL 的新型金黄色葡萄球菌菌株 FG80 已取代 MRSA,引起社区和院内的广泛传播。在检测 MRSA 的同时,应加测 PVL 基因,提高 PVL 阳性的金黄色葡萄球菌检出率,有利于尽早采取防护措施,给予有效抗菌治疗,防止菌株的继续传播。目前常用的检测方法有:(1)琼脂凝胶扩散法^[32],利用抗原-抗体特异性结合的原理,用已知抗 PVL 抗体的血清检测待检菌株上清液是否含有 PVL 抗原;(2)PCR 检测法^[33],该法用 PVL 基因序列为引物,以待检菌株 DNA 为模板,扩增后,其产物经琼脂糖凝胶电泳后,用凝胶成像系统观察结果;(3)多重 PCR 法^[34],该方法是利用 Primer 5.0 软件分别设计金黄色葡萄球菌特异性 16S rRNA 序列引物(700 bp)、mecA 基因引物(400 bp)和 PVL 基因引物

(300 bp), 检测临床分离菌株和标准株, 同时出现 700、400 和 300 bp 3 个条带为含 *PVL* 基因的 MRSA; (4) 多重实时 PCR 检测法, 该法采用 *SCCmec* 基因、荧光标记的 *orfX* 基因、*lukF* 基因、*lukS* 基因为引物, 检测临床分离菌株。

当社区中携带或感染 MRSA 水平增加时, CA-MRSA 也可通过多种途径潜入医院而引起院内 MRSA 感染的暴发流行。以上原因使原本就已多重耐药的 MRSA 感染更难以控制。因此, PVL 及时检测和有效抗菌药的应用显得尤为重要和迫切, PVL 阳性的金黄色葡萄球菌基因检测和耐药性的关系值得人们进一步研究。

参考文献

- [1] Brown ML, O'hara FP, Close NM, et al. Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococcus aureus strains in the United States[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(1): 86-90.
- [2] Monecke S, Coombs G, Shore AC, et al. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. PLoS One, 2011, 6(4): e17936.
- [3] Costello ME, Huygens F. Diversity of community acquired MRSA carrying the PVL gene in Queensland and New South Wales, Australia[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(10): 1163-1167.
- [4] Tenover FC, Tickler IA, Goering RV, et al. Characterization of nasal and blood culture isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from patients in United States Hospitals[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(3): 1324-1330.
- [5] Kaneko J, Kamio Y. Bacterial two-component and hetero-heptameric pore-forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2004, 68(5): 981-1003.
- [6] Genestier AL, Michallet MC, Prévost G, et al. Staphylococcus aureus Pantan-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils[J]. J Clin Invest, 2005, 115(11): 3117-3127.
- [7] Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, et al. Staphylococcus aureus Pantan-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia[J]. Science, 2007, 315(5815): 1130-1133.
- [8] Bubeck Wardenburg J, Palazzolo-Ballance AM, Otto M, et al. Pantan-Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus disease[J]. J Infect Dis, 2008, 198(8): 1166-1170.
- [9] Montgomery CP, Boyle-Vavra S, Adem PV, et al. Comparison of virulence in community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus pulsotypes USA300 and USA400 in a rat model of pneumonia[J]. J Infect Dis, 2008, 198(4): 561-570.
- [10] Diep BA, Palazzolo-Ballance AM, Tattavin P, et al. Contribution of Pantan-Valentine leukocidin in community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus pathogenesis[J]. PLoS One, 2008, 3(9): e3198.
- [11] Tristan A, Benito Y, Montserret R, et al. The signal peptide of Staphylococcus aureus panton valentine leukocidin LukS component mediates increased adhesion to heparan sulfates[J]. PLoS One, 2009, 4(4): e5042.
- [12] Hongo I, Baba T, Oishi K, et al. Phenol-soluble modulin alpha 3 enhances the human neutrophil lysis mediated by Pantan-Valentine leukocidin[J]. J Infect Dis, 2009, 200(5): 715-723.
- [13] Hermos CR, Yoong P, Pier GB. High levels of antibody to panton-valentine leukocidin are not associated with resistance to Staphylococcus aureus-associated skin and soft-tissue infection[J]. Clin Infect Dis, 2010, 51(10): 1138-1146.
- [14] Löffler B, Hussain M, Grundmeier M, et al. Staphylococcus aureus panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(1): e1000715.
- [15] Li S, Skov RL, Han X, et al. Novel types of staphylococcal cassette chromosome mec elements identified in clonal complex 398 methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(6): 3046-3050.
- [16] Malachowa N, Whitney AR, Kobayashi SD, et al. Global changes in Staphylococcus aureus gene expression in human blood[J]. PLoS One, 2011, 6(4): e18617.
- [17] Lipinska U, Hermans K, Meulemans L, et al. Pantan-Valentine leukocidin does play a role in the early stage of Staphylococcus aureus skin infections; a rabbit model[J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22864.
- [18] Boakes E, Kearns AM, Ganner M, et al. Distinct bacteriophages encoding Pantan-Valentine leukocidin (PVL) among international methicillin-resistant Staphylococcus aureus clones harboring PVL[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(2): 684-692.
- [19] 邓家德, 陈惠玲, 叶惠芬, 等. 皮肤软组织及创伤感染金黄色葡萄球菌分离株的毒素基因检测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 368-371.
- [20] Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, et al. The role of the Pantan-Valentine leukocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(1): 43-54.
- [21] Rigby KM, Deleo FR. Neutrophils in innate host defense against Staphylococcus aureus infections[J]. Semin Immunopathol, 2012, 34(2): 237-259.
- [22] Sina H, Ahoyo TA, Moussaoui W, et al. Variability of antibiotic susceptibility and toxin production of Staphylococcus aureus strains isolated from skin, soft tissue, and bone related infections[J]. BMC Microbiol, 2013, 13: 188.
- [23] Dumitrescu O, Choudhury P, Boisset S, et al. Beta-lactams interfering with PBPI induce Pantan-Valentine leukocidin expression by triggering sarA and rot global regulators of Staphylococcus aureus[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(7): 3261-3271.
- [24] 刘潇, 陈锋, 朱震宏, 等. 新疆乌鲁木齐地区 PVL 阳性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性检测[J]. 新疆医科大学学报, 2013, 36(3): 330-333.
- [25] 高玉录. 金黄色葡萄球菌 Pantan-Valentine 杀白细胞毒素 (PVL) 基因的克隆表达及其抗体的制备[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [26] Ghebremedhin B, Olugbosi MO, Raji AM, et al. Emergence of a community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain with a unique resistance profile in Southwest Nigeria[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(9): 2975-2980.
- [27] 糜祖煌, 金辉, 秦玲. 葡萄球菌属连续分离株毒力与耐药基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(4): 454-456.
- [28] 赵春江. 北京地区社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的流行病学和分子机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2011.
- [29] 刘玉枝, 王凤玲, 陈洋, 等. 金黄色葡萄球菌致病毒素基因与耐药性的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(17): 2151-2153.
- [30] Yamamoto T, Nishiyama A, Takano T, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: community transmission, pathogenesis, and drug resistance[J]. J Infect Chemother,

2010, 16(4): 225-254.

- [31] Mariem BJ, Ito T, Zhang M, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant Pantone-valentine leukocidin positive staphylococcus aureus clones disseminating in Tunisian hospitals and in the community[J]. BMC Microbiol, 2013, 13: 2.
- [32] Finck-Barbançon V, Prévost G, Piémont Y. Improved purification of leukocidin from Staphylococcus aureus and toxin distribution among hospital strains[J]. Res Microbiol, 1991, 142(1): 75-85.
- [33] Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing staphylococcus aureus in primary

skin infections and pneumonia[J]. Clin Infect Dis, 1999, 29(5): 1128-1132.

- [34] McClure JA, Conly JM, Lau V, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Pantone-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from -resistant staphylococci[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(3): 1141-1144.

(收稿日期: 2013-12-30)

• 综 述 •

鲍氏不动杆菌对常用消毒剂抗性的研究进展

骆园园, 张 玲 综述; 王厚照[△] 审校

(安徽医科大学解放军 174 临床学院, 福建厦门 361003)

关键词: 鲍氏不动杆菌; 消毒剂; 抗药性; 基因

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 09. 030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)09-1159-03

鲍氏不动杆菌在医院环境中分布很广, 且可长期存活^[1], 从而成为院内, 尤其重症监护病房(intensive care unit, ICU)内感染的主要病原菌。鲍氏不动杆菌对常用抗菌药的耐药率有逐年增加的趋势, 并引起临床医师和微生物学者的关注。环境及物体表面的微生物控制主要依靠化学消毒剂的作用, 近年来, 很多学者开始关注医院环境和物体表面长期使用消毒剂是否会出现耐消毒剂菌株, 以及耐消毒剂菌株的出现是否意味着其对常用消毒剂不敏感而使消毒无效等问题。本文就有关鲍氏不动杆菌耐常用消毒剂的研究进展进行综述。

1 消毒剂抗性的定义

细菌对消毒剂的抗性是指对消毒剂的常用浓度不再有效的菌株的出现, 即在能杀灭或抑制绝大部分细菌的消毒剂浓度下, 具有消毒剂抗性的菌株不能被杀灭或抑制。另外, 某种细菌在消毒剂的作用下, 最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)超过法定浓度时, 则认为该细菌有了抗性^[2]。

2 检测方法

2.1 MIC 与最低杀菌浓度(minimal bacteriocidal concentration, MBC)的检测 测定菌株的 MIC 或 MBC, 检测结果显示高于标准菌株时, 提示菌株对测定的消毒剂可能具有抗性。吴晓松等^[3]认为使用消毒剂的根本目的不仅是抑制细菌生长, 更是要杀灭细菌, 因此, 测定 MBC 更能反映细菌对消毒剂的抗性。应当注意的是, 不能简单地说是某微生物对某种(类)消毒剂产生了抗性, 这是不正确的。抗性是一个相对概念, 与消毒剂对某微生物的作用浓度、作用时间等有关。

2.2 耐消毒剂基因的检测 国内研究多数采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)体系进行相关耐消毒剂基因检测。国外主要通过检测某些特定耐药基因来判断耐药性。目前的研究显示, 在革兰阴性杆菌中均可检测出耐消毒剂基因, 主要携带 *qacEΔ1-sulI* 基因, 也有鲍氏不动杆菌中检出 *qacA/B* 基因的少量报道^[1]。魏兰芬等^[4]报道了临床上分离的耐苯扎溴铵的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant Staphylococcus aureus, MRSA)中 *qacA/B*、*smr*、*mecA* 基因的检测和分析, 耐消毒剂基因的检出情况与 MIC 有关。目前已确定的消毒剂耐药基因不多, 国内、外尚无消毒剂微生物敏感性试验的标准出台。

3 常用消毒剂对鲍氏不动杆菌的杀菌作用

3.1 含氯消毒剂 研究表明^[5], 含 200 mg/L 有效氯的消毒剂对鲍氏不动杆菌作用 3 min 的杀菌率 99.99%, 当浓度达到 300 mg/L, 作用时间延长至 5 min 时, 其杀灭率达到 100%。白雪等^[5]在研究耐药鲍氏不动杆菌对含氯消毒剂的抗性中发现, 含有效氯 300、1 000 mg/L 的消毒剂对不同克隆株的鲍氏不动杆菌的杀灭效果有明显差异。研究报道的不一致提示, 鲍氏不动杆菌是否存在对含氯消毒剂的低浓度抗性以及作用时间的相关性问题, 这些值得进一步探讨。

3.2 醇类消毒剂 链脂肪族醇类消毒剂作用很强, 能在很短的时间内杀灭微生物。其中, 最具杀菌价值的是乙醇、异丙醇和正丙醇。医用消毒的乙醇浓度为 75%, 能杀死大部分物体及皮肤表面细菌; 异丙醇和正丙醇的特性、作用与乙醇相似, 但其毒性较乙醇高, 杀菌作用比前者强。苏裕心等^[6]研究发现, 单一乙醇的杀菌效果低于“乙醇+异丙醇”和“乙醇+正丙醇”, 这可能是由于乙醇的广泛应用, 产生了具有乙醇抗性的菌株。

3.3 苯扎溴铵类 研究显示, 500 mg/L 苯扎溴铵对多重耐药的鲍氏不动杆菌作用 5 min 以上, 可以杀死 99% 的菌株, 与标准菌株相比, 并无差别^[7]。进一步研究发现, 多重耐药的鲍氏不动杆菌中消毒剂耐药基因的携带率高, 对苯扎溴铵的耐受浓度增加。*qac* 基因表达多种消毒剂化合物外排泵蛋白, 细菌获得 *qac* 基因可将苯扎溴铵类消毒剂等排出细菌胞外, 从而使这些消毒剂失去杀菌作用, 但目前尚未发现常规浓度对医院环境消毒无效的证据。

3.4 聚维酮碘 聚维酮碘是临床常用的皮肤表面消毒剂。王晓蕾等^[8]研究 3 种革兰阴性杆菌对聚维酮碘的抗性中发现, 1 株铜绿假单胞菌对聚维酮碘的 MIC 明显高于其他标准菌株, 并从该株铜绿假单胞菌中检测出抗消毒剂基因(*qacEΔ1-sulI*)。目前鲍氏不动杆菌对聚维酮碘消毒剂的抗性株尚未见报道。

4 鲍氏不动杆菌对消毒剂的抗性

国外早在上世纪初就已发现铜绿假单胞菌对季铵盐类化合物有耐受现象, 继而陆续发现其他革兰阴性杆菌对消毒剂产生了抗性, 还发现铜绿假单胞菌对双胍类、酚类、醇类、碘类等消毒剂具有抗性。与微生物对抗菌药的耐药现象相似, 革兰阴