

## 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌相关耐药基因研究进展\*

黄郁梅, 洪正善, 杨 柯<sup>△</sup>, 曾春晖<sup>▲</sup>

(广西中医药大学, 南宁 530001)

**摘 要:**耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)现已是造成医院与社区感染的重要致病菌之一,由于具有多重耐药性,其引发的感染越来越难以治疗,成为临床上治疗的难题。MRSA 耐药性的产生可能是由于 MRSA 在受到外界刺激后激活了本身固有耐药基因或引入了外来的耐药基因,耐药基因激活,从而诱导耐药性产生。该文通过对 MRSA 相关耐药基因研究进行总结,旨在为 MRSA 耐药机制方面更深入的研究提供依据,以寻找控制 MRSA 感染蔓延的有效途径。

**关键词:**耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 多重耐药性; 耐药基因

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.03.021

**中图法分类号:**R446.5

**文章编号:**1673-4130(2018)03-0330-04

**文献标识码:**A

金黄色葡萄球菌为葡萄球菌属的一种革兰阳性菌,分布广泛,多种动物及人均有易感性,且其能引发多种严重感染,是临床上术后感染用药后常见的致病菌,也是全球范围内引起人类感染性疾病的主要致病菌。抗菌药物对金黄色葡萄球菌具有良好的杀菌作用,使金黄色葡萄球菌引发的感染得到有效的控制。但由于抗菌药物的滥用,敏感型菌株逐渐出现耐药的现象,甚至出现了高度耐药型金黄色葡萄球菌,如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、耐万古霉素金黄色葡萄球菌,从而再次引起金黄色葡萄球菌感染的蔓延。其中 MRSA 具有多重耐药性,使其导致的感染难以控制,发病率和病死率逐年增高,成为临床治疗的难题,MRSA 也被称为“超级细菌”<sup>[1-2]</sup>。MRSA 不仅对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物产生耐药,而且对氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类和喹诺酮类等抗菌药物都表现出不同程度的耐药<sup>[3]</sup>。其耐药的产生可能是由于 MRSA 受到外界刺激后本身固有耐药基因被激活,或者是引入了外来的耐药基因并激活。MRSA 可以通过激活不同的耐药基因从而对不同的抗菌药物产生耐药。

### 1 多重耐药性

金黄色葡萄球菌的耐药性多数备受广大研究者的关注。MRSA 对常用抗菌药物的耐药率一直比甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)高,多数 MRSA 具有多重耐药性,其导致的感染治疗难度更大<sup>[4-5]</sup>。徐萍等<sup>[6]</sup>对社区糖尿病患者所携带金黄色葡萄球菌的分型与耐药谱的关系进行了分析,发现 MRSA 中

有 36.36% 菌株具有多重耐药性,而 MSSA 中未发现多重耐药菌株。MRSA 对不同抗菌药物的耐药率存在很大的地域性差异,并有不同的变化趋势<sup>[7]</sup>。

### 2 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药基因

MRSA 对  $\beta$ -内酰胺抗菌药物产生耐药主要有两个原因。(1)产生  $\beta$ -内酰胺酶灭活抗菌药物,由  $\beta$ -内酰胺酶结构基因(*blaZ*)所编码,其表达受到 *blaR1* 和 *blaI* 基因调控,*blaR1* 基因编码有关信号转导的蛋白 *blaR1*,*blaI* 基因编码 *blaZ* 基因负性调控蛋白 *blaI*。在正常状态下, $\beta$ -内酰胺酶处于抑制状态。当有诱导物存在时,*blaZ* 基因被激活并开始表达,产生  $\beta$ -内酰胺酶使  $\beta$ -内酰胺环水解,使抗菌药物失效而产生耐药性<sup>[8-9]</sup>,当环境中的抗菌药物浓度下降时,*blaR1* 将失活, $\beta$ -内酰胺酶表达又会恢复到抑制状态。目前,在临床上分离的 MRSA 菌株中检测到的  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药率高于 95%。MRSA 产生的  $\beta$ -内酰胺酶除了由质粒介导,还可由染色体介导产生。(2)获得与  $\beta$ -内酰胺抗菌药物亲和力和低的青霉素结合蛋白 2a (PBP2a),其由 *mecA* 基因编码。*mecA* 基因是金黄色葡萄球菌经转座机制获得的外来基因,其转录受 *mecI*-*mecR1* 和 *blaI*-*blaR1* 两套调控基因的调控;*mecI*、*mecR1* 基因分别编码抑制蛋白 *mecI* 与传感器蛋白 *mecR1*<sup>[10]</sup>,*blaI*、*blaR1* 基因分别编码抑制蛋白 *blaI* 与诱导蛋白 *blaR1*。但有文献报道,*mecR1* 基因下游存在一个 *mecR2* 基因,其表达产物 *mecR2* 能与遏制蛋白 *mecI* 相互作用,而影响 *mecI* 与 *mecA* 基因启动子的结合,促使 *mecA* 基因表达,从而使

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81460626、81060357);广西研究生教育创新计划学位与研究生教育改革课题研究项目(JGY2014086);广西研究生教育创新计划资助项目(YJSZ201704)。

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:Kyang11@Hotmail.com。 <sup>▲</sup> 共同通信作者,E-mail:chzheng@163.com。

本文引用格式:黄郁梅,洪正善,杨柯,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌相关耐药基因研究进展[J].国际检验医学杂志,2018,39(3):

MRSA 耐药性增强,说明 *mecA* 基因的 *mec I*-*mecR1* 调控通路实际是受 *mecR1*、*mec I*、*mecR2* 三个分子的调控<sup>[11-13]</sup>。对于 MRSA 菌株,其大部分耐药是由 *mecA* 基因介导,但是小部分 MRSA 不携带 *mecA* 基因,存在其他耐药机制。在许多研究中发现,90% 以上的 MRSA 都含有 *mecA* 基因,并且对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物高度耐药的 MRSA 中 *mecA* 的检出率极高<sup>[14]</sup>。曹敏<sup>[15]</sup>从医院收集 2013—2014 年分离的 78 株 MRSA 进行 *mecA* 基因检测发现 *mecA* 基因检出率达 98% 以上。王春晓<sup>[16]</sup>从临床分离出 25 株 MRSA 进行药敏试验与耐药基因检测,发现对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药率达 100%,且均检出 *mecA* 基因。但有研究发现,*mecA* 基因存在同源基因 *mecC*,能够编码 PBP2c 蛋白,其 DNA 序列与 *mecA* 的 DNA 序列相似度高达 69%,与 *mecA* 基因编码的 PBP2a 在氨基酸水平上有 63% 的同源性<sup>[17-18]</sup>。

### 3 氨基糖苷类抗菌药物耐药基因

MRSA 对氨基糖苷类抗菌药物耐药主要是细菌含有编码氨基糖苷类抗菌药物修饰酶(AME)的耐药基因,从而获得耐药性,AMEs 通过对抗菌药物分子的氨基或羟基进行修饰使得抗菌药物与核糖体的亲和力和力下降,产生耐药性。氨基糖苷类修饰酶主要有三类分别是磷酸转移酶(APH)、核苷酸转移酶(ANT)和乙酰基转移酶(AAC)。对氨基糖苷类抗菌药物耐药的 MRSA 中检测到氨基糖苷类耐药基因常见的有 *aac(6')-aph(2')*、*ant(4')-I a*、*aph(3')-III a* 和 *ant(6)-I a*,其中以 *aac(6')-aph(2')* 基因最为重要,是 MRSA 对氨基糖苷类抗菌药物产生耐药的主要因素<sup>[19]</sup>。*aac(6')-aph(2')* 基因编码具有氨基糖苷类激酶和乙酰基转移酶活性的双功能的[*AAC(6')-APH(2')*]酶,*aph(3')-III a* 基因编码具有磷酸转移酶活性的 *APH(3')-III* 酶,*ant(4')-I a* 基因编码具有核苷酸转移酶的 *ANT(4')-I* 酶<sup>[20]</sup>。90% 以上对氨基糖苷类耐药的葡萄球菌至少包含一个 AME 基因,如果两个或三个耐药基因共存时可检测出为耐庆大霉素菌株<sup>[21]</sup>。RAHIMI 等<sup>[22]</sup>从医院分离的 MRSA 进行氨基糖苷类药物耐药特性分析发现对庆大霉素耐药的菌株中可检测出不同的氨基糖苷类耐药基因,其中 *aac(6')-aph(2')* 基因检测率最高。

### 4 大环内酯类抗菌药物耐药基因

大环内酯类抗菌药物耐药的主要机制是药物泵出和抗菌药物作用靶位改变。泵出型耐药由 *msrA* 基因编码,*erm* 基因是编码核糖体甲基化酶的基因,此酶能对细菌核糖体 50S 亚基 23S rRNA 进行特定核苷酸残基甲基化,使大环内酯类抗菌药物结合靶位发生改变,结合减少,并导致抗菌药物对 50S 核糖体的亲和力和力大大降低而表现出耐药性。在国内外均有报道,大环内酯类耐药基因中 *erm* 基因在 MRSA 对大环内酯类抗菌药物高度耐药的菌株中有较高的检

出率,且最为常见。对 MRSA 进行大环内酯类抗菌药物诱导耐药,发现 *ermA* 和 *ermC* 基因占 87.5%<sup>[23]</sup>。宁立芬等<sup>[24]</sup>采用聚合酶链反应(PCR)技术检测 MRSA 的 *erm* 基因阳性率 83.3%。JONES<sup>[25]</sup>等报道,MRSA 的 *erm* 基因以 *ermA*、*ermC* 最为常见,且 *ermA*/*ermC* 基因编码的甲基化酶是 MRSA 类对大环内酯类抗菌药物耐药的主要机制。

### 5 四环素类抗菌药物耐药基因

四环素类抗菌药物耐药机制主要分为两类<sup>[26-28]</sup>;一类为核糖体保护蛋白,由 *tetM* 基因或 *tetO* 基因编码,合成核糖体保护蛋白将四环素从 30S 亚基上释放,从而阻止了四环素对细菌蛋白合成的抑制作用而产生耐药。另一类为产四环素外排泵蛋白,由 *tetK* 基因编码,通过膜蛋白介导,将药物泵出膜外,使药物浓度降低。而 MRSA 耐四环素主要是获得 *tetM* 基因表达核糖体保护蛋白所致。LIM 等<sup>[29]</sup>检测 MRSA 的耐药基因中,发现在四环素耐药菌株中均检测到 *tetM* 和 *tetK*,并且 *tetM* 检出率最高,说明了 *tetM* 是四环素耐药产生的决定因素。

### 6 喹诺酮类抗菌药物耐药基因

MARKHAM 等<sup>[30]</sup>发现,MRSA 耐氟喹诺酮类药物与具有外排功能的 *NorA* 蛋白有关。*NorA* 蛋白由 *norA* 基因编码,*norA* 基因正常表达情况下并不导致细菌耐药,只有 *norA* 基因高度表达时,*NorA* 蛋白表达增加,对喹诺酮类药物的主动外排增加,而使 MRSA 产生耐药性。*norA* 基因的高度表达主要由两种原因引起:一是当环境中某些物质如 FQNs、溴化乙锭等诱导剂存在时,尤其是长时间或反复存在,*norA* 基因表达可明显增加,以致基因产物增加,引起耐药<sup>[31]</sup>;二是由于 *norA* 基因自身突变所致<sup>[32]</sup>。SAIFUL 等<sup>[33]</sup>对 MRSA 的主动外排基因与主动外排活性进行检测,发现具有 *NorA* 的菌株中,在溴化乙锭(EtBr)——利血平的存在下表现出主动外排活动。

### 7 总 结

MRSA 作为医院和社区获得性感染重要病原菌之一,其耐药性的不断提高,与抗菌药物的广泛使用甚至滥用密切相关,应给予足够的重视,并应严格控制对抗菌药物的使用,合理用药。在基因检测中发现 MRSA 对一种抗菌药物耐药,其能检测出相关耐药基因,对多种抗菌药物耐药时,其能同时检测出多种耐药基因。耐药基因间的关系是否相联系,对多重耐药性的影响是否有关,值得关注,了解 MRSA 对不同抗菌药物的耐药基因,以便能从基因水平针对性的对 MRSA 耐药进行研究,使人类更好地认识 MRSA,从而能寻求到更好治疗 MRSA 感染途径,控制 MRSA 感染的流行。

### 参考文献

[1] GRIFFIN B R, HAMILTON L A. Progression of a recur-

- rent Community-Acquired Methicillin-Resistant staphylococcus aureus (MRSA) infection[J]. *Lab Medicine*, 2010, 41(6):329-333.
- [2] 董鹏霞, 托妮. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染研究进展[J]. *检验医学与临床*, 2015, 01(1):116-118.
- [3] 叶莉雅, 沈静, 陆峰泉. 279 株金黄色葡萄球菌的感染分布与耐药分析[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015, 15(70):1-2.
- [4] 朱翠珍, 刘春林, 吴宝连, 等. 血流感染金黄色葡萄球菌耐药性分析及对患者预后影响[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2016, 16(1):1-4.
- [5] BHATTACHARYA S, BIR R, MAJUMDAR T. Evaluation of multidrug resistant staphylococcus aureus and their association with biofilm production in a tertiary care hospital, tripura, Northeast India[J]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9(9):1-4.
- [6] 徐萍, 雷燕, 姚振江, 等. 社区糖尿病人群携带金黄色葡萄球菌的分型与耐药谱关系研究[J]. *现代预防医学*, 2016, 43(2):292-295.
- [7] WALTER J, NOLL I, FEIG M, et al. Decline in the proportion of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolates from non-invasive samples and in outpatient settings, and changes in the coresistance profiles: an analysis of data collected within the Antimicrobial Resistance Surv[J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1):169.
- [8] 李耘, 吕媛, 薛峰, 等. 卫生部全国细菌耐药监测网 (Mohnarin) 2011-2012 年革兰阳性菌耐药监测报告[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(3):251-259.
- [9] FUDA C C, FISHER J F, MOBASHERY S. Beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*: the adaptive resistance of a plastic genome[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62(22):2617-2633.
- [10] CHA J, VAKULENKO S B, MOBASHERY S. Characterization of the beta-lactam antibiotic sensor domain of the MecR1 signal sensor/transducer protein from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Biochemistry*, 2007, 46(26):7822-7831.
- [11] BLÁZQUEZ B, LLARRULL L I, LUQUE-ORTEGA J R, et al. Regulation of the expression of the  $\beta$ -lactam antibiotic-resistance determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(10):1548-1550.
- [12] ARÉDE P, MILHEIRIÇO C, DE LENCASTRE H, et al. The anti-repressor MecR2 promotes the proteolysis of the mecA repressor and enables optimal expression of  $\beta$ -lactam resistance in MRSA[J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(7):e1002816.
- [13] ARDE P, OLIVEIRA D C. Proteolysis of mecA repressor is essential for expression of methicillin resistance by *Staphylococcus aureus*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(4):2001-2002.
- [14] 陈庆增, 罗兵, 孙迎娟, 等. mecA 基因在金黄色葡萄球菌中的分布及对耐药性的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(9):1028-1031.
- [15] 曹敏. 8 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(24):3388-3389.
- [16] 王晓春. 25 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株耐药基因检测[J]. *现代实用医学*, 2015, 27(9):1188-1189.
- [17] KRIEGESKORTE A, BALLHAUSEN B, IDELEVICH E A, et al. Human MRSA isolates with novel genetic homolog, Germany[J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(6):1016-1018.
- [18] PATERSON G K, HARRISON E M, HOLMES M A. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Trends Microbiol*, 2014, 22(1):42-47.
- [19] EMANEINI M, TAHERIKALANI M, ESLAMPOUR M A, et al. Phenotypic and genotypic evaluation of aminoglycoside resistance in clinical isolates of staphylococci in Tehran[J]. *Microb Drug Resist*, 2009, 15(2):129-132.
- [20] 战晓微, 郑秋月, 傅俊范, 等. 食源性金黄色葡萄糖球菌氨基糖苷类药物基因的多重 PCR 快速检测技术[J]. *沈阳农业大学学报*, 2015, 46(1):31-36.
- [21] SHOKRAVI Z, MEHRAD L, RAMAZANI A. Detecting the frequency of aminoglycoside modifying enzyme encoding genes among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Bioimpacts*, 2015, 5(2):87-91.
- [22] RAHIMI F. Characterization of resistance to aminoglycosides in methicillin-resistant *staphylococcus aureus* strains isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran[J]. *Jundishapur J Microbiol*, 2016, 9(1):e29237.
- [23] AMMAR A M, ATTIA A M, ABDEL-HAMID M I, et al. Genetic basis of resistance waves among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from milk and meat products in Egypt[J]. *Cell Mol Biol*, 2016, 62(10):7-15.
- [24] 宁立芬, 汪玉珍, 张家芳, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性及 erm 基因的检测与分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(5):484-486.
- [25] JONES R N, SADER H S, MOET G J, et al. Declining antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in the United States: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-2009)[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2010, 68(3):334-336.
- [26] TRISTAN A, BES M, MEUGNIER H, et al. Global distribution of Pantone-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(4):594-600.
- [27] ESPOSITO S, LEONE S, PETTA E, et al. Treatment options for skin and soft tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: oral vs. parenteral; home vs. hospital[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2009, 34(Suppl 1):30-35.
- [28] MCCALLUM N, BERGER-BAECHI B, SENN M M. Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*[J]. *Inter J Med Microbiol*, 2010, 300(2/3):118-129.
- [29] LIM K T, HANIFAH Y A, YUSOF M, et al. ErmA, ermC, tetM and tetK are essential for erythromycin and tet

racycline resistance among methicillin-resistant staphylococcus aureus strains isolated from a tertiary hospital in Malaysia[J]. Indian J Med Microbiol, 2012, 30(2): 203-207.

[30] MARKHAM P N, NEYFAKH A A. Inhibition of the multidrug transporter NorA prevents emergence of norfloxacin resistance in Staphylococcus aureus[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1996, 40(11): 2673-2674.

[31] HUET A A, RAYGADA J L, MENDIRATTA K, et al. Multidrug efflux pump overexpression in Staphylococcus aureus after single and multiple in vitro exposures to biocides and dyes[J]. Microbiology, 2008, 154(10): 3144-

3153.

[32] 冯俊明, 夏培元, 肖光夏, 等. 烧伤创面耐药金黄色葡萄球菌的分离及其 norA 基因突变分析[J]. 中华创伤杂志, 2011, 27(3): 275-279.

[33] SAIFUL A J, MASTURA M, ZARIZAL S, et al. Efflux genes and active efflux activity detection in Malaysian clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) [J]. J Basic Microbiol, 2008, 48(4): 245-251.

(收稿日期: 2017-08-20 修回日期: 2017-10-26)

• 综 述 •

## 实时荧光定量 PCR 检测临床标本的前处理方法研究进展

王 玮, 鲁清月, 李振红, 高利飞, 杜 美, 付光宇  
(郑州安图生物工程股份有限公司, 河南郑州 450016)

**摘 要:** PCR 检测技术中, 生物标本的前处理单靠一种方法也往往难以实现全覆盖、快速分析的要求, 需要多种前处理方法相结合来满足 PCR 检测的需求。目前, 临床 PCR 检测标本前处理研究缺乏统一的标准操作规程, 大多数都是根据商品 PCR 检测试剂盒厂家提供的说明书要求进行操作。各个常见病病原体的实时荧光定量 PCR 检测项目采用了不同类型临床标本, 本文对这些不同标本的检测前处理方法进行了总结。

**关键词:** 实时荧光定量 PCR; 检测前处理; 综述

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.03.022

**中图法分类号:** R446.1

**文章编号:** 1673-4130(2018)03-0333-04

**文献标识码:** A

实时荧光定量 PCR 技术于 1996 年由美国 Applied Biosystems 公司推出, 与常规 PCR 相比, 它具有特异性强、灵敏度高、重复性好、定量准确、自动化程度高、全封闭反应等优点, 现已成为分子生物学研究中的重要工具<sup>[1]</sup>。近年来, 实时荧光定量 PCR 技术在临床病原体检测领域的应用越来越广泛, 但多种类型临床标本中存在的 PCR 抑制物可能影响检测结果的准确性, 如粪便标本中的胆盐、多聚糖, 血液标本中的亚铁血红素、血红蛋白、IgG, 尿液中的尿酸、尿素等都具有抑制 PCR 的作用。目前, 临床上一般对 PCR 检测标本进行预处理, 以减少 PCR 抑制物对检测结果的影响。多种类型临床标本的不同前处理方式对后续 PCR 检测结果的影响较大, 如何在降低对 PCR 的抑制的同时保持检测的特异性至关重要。实时荧光定量 PCR 检测常常被用在临床常见传染性疾病的检测中, 不同检测项目对应不同类型的标本, 见表 1。本文对这些不同标本的检测前处理方法进行了总结。

### 1 血液前处理方法

血液是实时荧光定量 PCR 检测中重要的体液标本, 较其他标本类型成分更为复杂。血液标本类型包括血清、血浆和全血, 目前临床应用定量 PCR 法检测

病毒性肝炎, 如乙型肝炎病毒 (HBV)、丙型肝炎病毒 (HCV) 等均采用血清或血浆标本。利用多种荧光定量 PCR 法可同时检测血清、血浆中 HBV、HCV 病毒水平<sup>[2]</sup>。针对检测项目的不同血清、血浆标本类型对应的采血管也不同, 共分为普通血清管、促凝管、分离胶管、EDTA 管、枸橼酸钠管 5 种采血管, 不同采血管对应的标准前处理方式见表 2。

由于肝素是一种非特异的核糖核酸酶抑制剂, 不能通过核酸提取过程将其去除, 所以对后续 PCR 扩增检测有严重干扰。研究发现, 1 000 U/mL 肝素对荧光定量 PCR 检测确实有明显的抑制作用<sup>[3]</sup>, 所以肝素钠采血管对于定量 PCR 标本不适用。

现代医学技术快速发展, 核酸 PCR 扩增技术在我国血站中的应用也越来越广泛, 该技术能让酶免疫检测方式的窗口期有效缩短, 有效检出各种因素引起的漏检, 让输血感染病毒的概率降低<sup>[4]</sup>。一般情况下, 在血液筛查传染病检测中, 针对传统的核酸提取方法, 例如氯仿抽提, 醇试剂沉淀等方法, 对全血标本直接病毒核酸提取, 不对标本进行前处理, 但血液中的胆红素、血红蛋白对后续扩增有一定的影响<sup>[5]</sup>, 特别是脂血、溶血对定量 PCR 检测低浓度病原体标本影响很大<sup>[6]</sup>。所以文献中也报道了不同病毒核酸提