

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染研究进展^{*}

董鹏霞 综述, 托 娅[△]审校(内蒙古医科大学附属医院检验科, 呼和浩特 010050)

【关键词】耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 感染; 基因分型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.01.048 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)01-0116-03

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是造成住院患者医院感染发生及高病死率的主要病原体之一^[1-2], 由于 MRSA 具有致病性强、传播途径广的特点, 加上抗菌药物的长期使用和滥用, MRSA 的耐药范围日益扩大, 耐药程度日益严重, 给临床治疗带来巨大的困难, 也有人将其称为“超级细菌”。MRSA 感染同乙型肝炎、艾滋病(AIDS)成为世界三大感染性疾病。随着异质性万古霉素中介耐药的金黄色葡萄球菌(hVISA)检出率的增高^[3]及耐万古霉素金黄色葡萄球菌(VRSA)的不断报道^[4], MRSA 感染控制及预防措施不容忽视。本研究着重对其流行特点、基因分型方法、致病机制以及治疗和预防做一简要概述。

1 MRSA 的流行特点

1961 年英国发现了世界首例 MRSA, 随后各国 MRSA 发生率逐渐上升, 并成为医院和社区获得性感染的主要病原菌, 因获得地点的不同, MRSA 分为医院获得性 MRSA(HA-MRSA)和社区获得性 MRSA(CA-MRSA)。据美国疾病预防控制中心统计, 全世界每年大约有 10 万人感染 MRSA。在美国, 1975 年 MRSA 分离率为 2.4%, 1997 年增加到 43%, 2004~2005 年又提高到 52%; 在欧洲, 1993 年 1 417 家医院重症监护室(ICU)分离的 MRSA 达 60%; 在我国上海市 1990~2004 年 MRSA 分离率在 50%~70%。随后几年各国均有此方面的报道, MRSA 感染所引起的危害不容忽视。

Gorwitz 等^[5]研究发现人群中 MRSA 定植大约在 1.5% 左右, MRSA 在患者体表的定植是 MRSA 医院获得性感染的高危因素^[6]。蒋露等^[7]对 246 例入院患者 MRSA 定植研究中发现, 医院获得性定植患者占 53.3%, 社区获得性定植患者占 46.7%, 说明 MRSA 在医院内的传播极为重要。通常 HA-MRSA 感染多发生在 ICU、呼吸内科、烧伤内科、神经内科。可能与患者长期住院, 抗菌药物长期大量应用, 自身免疫力低下以及侵入性操作多有关, 容易形成交叉感染和接触传播。然而 CA-MRSA 患者主要为呼吸道和皮肤软组织感染, 会导致严重的、侵袭性的感染或综合征。CA-MRSA 更易感染健康人群, 过于拥挤、密切接触以及居住环境质量差等容易造成 CA-MRSA 的流行。

2 MRSA 的基因分型方法

MRSA 的基因分型可用于感染控制措施的实施, 通过对 MRSA 感染菌株的基因分型来充分了解其流行病学特征, 选择快速、可靠的分型方法对鉴别菌株及有效控制感染十分重

要。这些技术主要包括多位点序列分型(MLST)、蛋白 A 重复序列分型(SPA 分型)、葡萄球菌染色体 mec 基因盒(SCCmec)基因盒分型、脉冲场凝胶电泳(PFGE)。

2.1 MLST 分型 MLST 是基于 MRSA 的 7 个管家基因 arcC、aroE、glpF、pta、gmk、tpi 和 yqiL 内部 450 bp 左右的碱基序列的分析, 用快速测序技术对病原菌进行分型和鉴定。因管家基因属于核心基因进化缓慢, 故其对局部地区散发流行菌株的分型能力有限, 更适于长期对 MRSA 的流行监测以及对 MRSA 克隆进化的调查, 也可进行国际间比较^[8]。

2.2 SPA 分型 SPA 基因分型是基于金黄色葡萄球菌 A 蛋白基因的多形性 X 区域的 DNA 测序分析, 该区域重复序列数目、特征及排列顺序不同而具有高度的多态性, 因其较好的重复性和体内外稳定性, 是继 MLST 后又一种以测序为基础的分型方法^[9]。

2.3 SCCmec 分型 SCCmec 分型是基于菌株附属基因的分型技术, 而附属基因多与菌株的黏附、毒力以及耐药性相关。SCCmec 主要由 mec 基因复合体、染色体核重组酶基因(ccr)复合体和 J 区组成, 是 MRSA 多重耐药性产生的重要遗传学基础。根据 SCCmec 结构的不同, 目前已经发现了 11 种基因型(I~XI), 其中 III 型基因片段最大, IV 型基因片段最小。II、III 型主要由医院获得性 MRSA 所携带, IV 型和 V 型多从社区获得性感染的 MRSA 中检测到^[10]。

2.4 PFGE 分型 PFGE 需将染色体 DNA 用限制性内切酶切割后, 再用脉冲场凝胶电泳分离各酶切片段, 然后再根据其多态性进行分型。PFGE 能检测整个染色体上所有酶切位点的变化, 可以从整体上反映菌株的全部基因的相关性, 分辨力强, 是目前公认的细菌基因分型的“金标准”, 但它需要昂贵的仪器和限制性内切酶, 操作繁琐且费时, 难以广泛开展^[11]。

3 MRSA 感染的致病机制

近年来, MRSA 感染的发生率急剧增加, 特别是随着其耐药性的增加使得临床治疗越来越困难。结合宿主因素和病原学特征对其致病机制做进一步研究, 可为逐步阐明金黄色葡萄球菌毒力变异机制以及研发新型抗 MRSA 感染药物提供更为充分的实验室依据。

金黄色葡萄球菌侵入宿主并致病的能力称为毒力, 物质基础是其产生的多种毒力因子, 这些毒力因子参与菌体与宿主细胞黏附、侵入宿主细胞、在宿主体内扩散等多个环节。金黄色葡萄球菌的致病过程是复杂的, 涉及多种毒力因子的协调表

^{*} 基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2014MS0854); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJ10144);

内蒙古医科大学附属医院重大科研项目(NYFY-ZD2012015)。

[△] 通讯作者, E-mail: antuoya@163.com。

达,毒力因子对环境变化的协调表达能力说明金黄色葡萄球菌中存在着毒力调控位点。葡萄球菌附属基因调节子(agr)是最早发现的金黄色葡萄球菌调控位点,调控多种毒力基因的表达,在细菌对数生长期后期启动毒素基因的转录,抑制细菌细胞壁相关蛋白的转录与合成^[12]。sae 基因是金黄色葡萄球菌毒力因子的另一个重要调节子,由两个共转录基因 saeR 和 saeS 组成的双组分调节系统,saeRS 调节涉及黏附和侵袭基因以及 α -溶血素等的表达。

从病原学角度,侵入宿主细胞内的金黄色葡萄球菌,不仅可逃避宿主免疫系统的识别和杀灭以及抗生素的作用,并可不断释放毒素及侵袭性酶类,是造成慢性迁徙性感染的主要原因^[13];其中金黄色葡萄球菌 A 蛋白(SPA)是一个重要的毒力因子,可与吞噬细胞竞争,可抑制多形核白细胞的吞噬作用,有报道称 agr 可以抑制 SPA 基因的转录。杀白细胞素(PVL)是 CA-MRSA 的主要毒力因子,能破坏机体正常组织和部分免疫细胞,造成严重感染^[14]。 α -溶血素(hla)是一种具有细胞溶解、溶血和皮肤坏死活性的成孔毒素,干扰 β 1 整合素介导的病-宿主细胞相互作用而抑制金黄色葡萄球菌的黏附和内化。最新的研究表明,saeRS 和 agr 对金黄色葡萄球菌通过上调 lurS-PV 的表达增加细菌的毒力以及上调 hla 表达从而增加溶血能力^[15]。

从宿主角度,宿主环境因素可对金黄色葡萄球菌毒力因子表达产生明显影响^[16-17]。其中,宿主环境铁含量(主要是结合铁)是目前被认为与金黄色葡萄球菌毒力因子表达水平最为相关的宿主环境因素^[17]。铁是包括金黄色葡萄球菌在内多种细菌生长所必需的营养成分,细菌通过其获铁系统获取铁元素。铁含量对金黄色葡萄球菌毒力的影响主要是通过其铁摄取调节蛋白(fur)来执行。当环境中铁含量充足时,fur 调控子与目标基因 DNA 结合,抑制其表达;环境铁含量缺乏时,fur 调控子的抑制作用消除,目标基因表达增强。Fur 调控子目标调控基因包括编码获铁系统基因群在内的多种毒力因子编码基因。获铁系统分子不仅维持细菌生长,并参与金黄色葡萄球菌毒力调控^[18]。受 fur 调控子的其他毒力因子参与金黄色葡萄球菌与宿主细胞黏附、促进其侵袭等过程^[19-20]。现有研究结果显示,免疫抑制患者体内铁离子水平及铁利用能力显著降低,与其继发感染密切相关^[21-22]。接受化学药物治疗的恶性肿瘤患者常处于免疫抑制状态,铁利用能力显著降低^[22]。这种状态与 MRSA 在慢性感染患者体内进化为异质性万古霉素中介耐药的金黄色葡萄球菌(hVISA)相关^[23]。

4 MRSA 的治疗和预防

4.1 治疗 随着广谱抗生素的大量使用,MRSA 耐药菌株不断产生和扩散,MRSA 感染患者的治疗变得日益复杂,因此,对 MRSA 感染的治疗逐渐面向个性化。一般来说,治疗严重 MRSA 感染涉及多重步骤^[24-25],首先要清除 MRSA 菌株的感染,及时去除感染病灶来防止感染复发。清创的同时实验室要尽快对感染菌株进行分析,确定抗菌谱以便指导抗生素使用类型。另外,MRSA 鼻腔定植作为 MRSA 感染的危险因素和内源性来源^[26],选择合理的抗生素去除鼻腔定植,同时也能降低感染的发生率。

起初 β -内酰胺类抗生素是金黄色葡萄球菌感染的首选抗生素,然而,随着 MRSA 感染率的升高,低于 5% 的临床菌株对青霉素敏感,目前治疗 MRSA 感染越来越依赖于非 β -内酰胺

类抗生素^[27]。万古霉素、利奈唑胺、达托霉素、替加环素可有效对抗 MRSA 感染,其中万古霉素是治疗严重 MRSA 感染的一线治疗药物。利奈唑胺具有较好的肺组织浓度,对于 MRSA 肺部感染可发挥较好的抗菌作用。有研究显示,达托霉素对 MRSA 肺部感染的作用是无效的^[28]。王齐国等^[29]研究显示,利奈唑胺治疗 MRSA 感染的总有效率、细菌清除率及不良反应发生率优于万古霉素。替加环素治疗 MRSA 引起的皮肤软组织感染安全有效,疗效与万古霉素相当,但其不良反应多,禁用于 8 岁以下儿童^[30]。其他如头孢菌素、碳青霉烯类、长效四环素、克林霉素、利福平可单独或与其他药物联合使用,用于治疗轻度至重度 MRSA 感染。

4.2 预防 MRSA 感染率的持续上升敲响了警钟,应加强医务人员的洗手制度及环境的消毒力度,同时向医务人员进行医院感染知识宣传、增强其预防意识。实验室检出 MRSA 后,应立即通知临床科室,采取相应的感染控制措施。加强对高危科室和 MRSA 易感者的细菌监测,做到早发现、早隔离、早治疗。合理使用抗菌药物,在使用抗生素时根据药敏结果选择合理的抗生素,加强对抗菌药物的合理应用和管理,以免造成 MRSA 菌株的产生和扩散,降低 MRSA 感染率。

5 结 语

近年来,MRSA 的研究已成为热点,其中 MRSA 的流行病学监测和分子生物学研究已取得一定进展,探索更简便、快速、有效的实验室检测 MRSA 方法,使一般医院能尽早发现并且及时控制 MRSA 感染;深入研究 MRSA 致病机制以及毒力变异机制,为结合病原特征研发新型抗 MRSA 感染药物以及对 MRSA 感染控制提供新的思路 and 依据。总而言之,想要取得有效的控制效果,需从多方面做深入研究,任重道远。

参考文献

- [1] 王俊瑞,向茜,尚欣荣,等.定植压力与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌医院内交叉传播相关性研究[J].中华检验医学杂志,2010,36(10):936-941.
- [2] Xu BL,Zhang G,Ye HF,et al. Predominance of the Hungarian clone(ST-239-III) among hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered throughout mainland China[J]. J Hosp Infect, 2009, 71(3):245-255.
- [3] Sun W,Chen H,Liu Y,et al. Prevalence and characterization of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates from 14 cities in China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(9):3642-2649.
- [4] Thati V,Shivannavar CT,Gaddad SM. Vancomycin resistance among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from intensive care units of tertiary care hospitals in Hyderabad[J]. Indian J Med Res, 2011, 134(5):704-708.
- [5] Gorwitz RJ,Kruszon-Moran D,McAllister SK,et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004[J]. J Infect Dis, 2008, 197(9):1226-1234.
- [6] Reilly JS,Stewart S,Christie P,et al. Universal screening for methicillin-resistant *staphylococcus aureus*; interim results from the NHS Scotland pathfinder project [J]. J

- Hosp Infect, 2010, 74(1): 35-41.
- [7] 蒋露, 庞剑, 曾宪红, 等. RICU 患者耐甲氧西林金黄色葡萄球菌定植特点与护理[J]. 中华现代护理杂志, 2012, 18(36): 4390-4393.
- [8] 刘晔华, 王世瑜, 张坚磊, 等. 医院内感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分型及临床分析[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 35(1): 71-76.
- [9] 田素飞, 褚云卓, 年华, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 SPA 基因分型研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2010, 30(10): 900-901.
- [10] Jimenez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, et al. CC8 MRSA strains harboring SCCmec type IVc are predominant in Colombian hospitals[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38576-e38579.
- [11] 王敏, 李先平, 李文娟, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌高变区基因分型及其与耐药性的关系[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2009, 29(2): 108-112.
- [12] Cheung AL, Nishina KA, Trotonda MP, et al. The SarA protein family of Staphylococcus [J]. Int J Biochem, 2008, 40(3): 355-361.
- [13] Tuscherr L, Medina E, Hussain M, et al. Staphylococcus aureus phenotype switching: an effective bacterial strategy to escape host immune response and establish a chronic infection[J]. EMBO Mol Med, 2011, 3(3): 129-141.
- [14] Shallcross LJ, Williams K, Hopkins S, et al. Pantone-Valentine leukocidin associated staphylococcal disease: a cross-sectional study at a London hospital, England[J]. Clin Microbiol Infect, 2010, 16(11): 1644-1648.
- [15] Jeong DW, Cho H, Jones MB, et al. The auxiliary protein complex SaePQ activates the phosphatase activity of sensor kinase SaeS in the SaeRS two-component system of Staphylococcus aureus. [J]. Mol Microbiol, 2012, 86(2): 331-348.
- [16] KR, Shabb DW, Diep BA, et al. Global changes in Staphylococcus aureus gene expression in human blood[J]. PLoS One, 2011, 6(4): e18617-e18619.
- [17] Oogai Y, Matsuo M, Hashimoto M, et al. Expression of Virulence Factors by Staphylococcus aureus Grown in Serum[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(22): 8097-8105.
- [18] Visai L, Yanagisawa N, Josefsson E, et al. Immune evasion by Staphylococcus aureus conferred by iron-regulated surface determinant protein IsdH[J]. Microbiology, 2009, 155(Pt 3): 667-679.
- [19] Torres VJ, Attia AS, Mason WJ, et al. Staphylococcus aureus Fur Regulates the Expression of Virulence Factors That Contribute to the Pathogenesis of Pneumonia[J]. Infect Immun, 2010, 78(4): 1618-1628.
- [20] Friedman DB, Stauff DL, Pishchany G, et al. Staphylococcus aureus redirects central metabolism to increase iron availability[J]. PLoS Pathog, 2006, 2(8): e87-e90.
- [21] Afridi HI, Kazi TG, Kazi N, et al. Evaluation of zinc, copper and iron in biological samples (scalp hair, blood and urine) of tuberculosis and diarrhea male human immunodeficiency virus patients[J]. Clin Lab, 2011, 57(9/10): 677-688.
- [22] Prasad AS, Kaplan J, Beck FW, et al. Trace elements in head and neck cancer patients: zinc status and immunologic functions[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1997, 116(6 Pt 1): 624-629.
- [23] Howden BP, Smith DJ, Mansell A, et al. Different bacterial gene expression patterns and attenuated host immune responses are associated with the evolution of low-level vancomycin resistance during persistent methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteraemia[J]. BMC Microbiol, 2008, 8: 39-42.
- [24] Jensen AG, Wachmann CH, Espersen F, et al. Treatment and outcome of Staphylococcus aureus bacteremia: a prospective study of 278 cases[J]. Arch Intern Med, 2002, 162(1): 25-32.
- [25] Johnson LB, Almoujahed MO, Ilg K, et al. Staphylococcus aureus bacteremia: compliance with standard treatment, long-term outcome and predictors of relapse[J]. Scand J Infect Dis, 2003, 35(11/12): 782-789.
- [26] Datta R, Huang SS. Risk of infection and death due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus in long-term carriers[J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(2): 176-181.
- [27] Hersh AL, Chambers HF, Maselli JH, et al. National trends in ambulatory visits and antibiotic prescribing for skin and soft-tissue infections [J]. Arch Intern Med, 2008, 168(14): 1585-1591.
- [28] Pertel PE, Bernardo P, Fogarty C, et al. Effects of prior effective therapy on the efficacy of daptomycin and ceftriaxone for the treatment of community-acquired pneumonia[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(8): 1142-1151.
- [29] 王齐国, 龙训辉, 徐测梁. 老年人院内耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染流行状况及利奈唑胺疗效评价[J]. 中国全科医学, 2013, 16(18): 2175-2178.
- [30] Nathwani D, Morgan M, Masterton RG, et al. Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections presenting in the community[J]. J Antimicrob Chemother, 2008, 61(5): 976-994.