

金黄色葡萄球菌致病毒素基因分布特性及与致病性的相关性

王凤玲¹, 张金艳², 刘玉枝¹, 刘国华³, 刘 静³ (1. 河北省沧州医学高等专科学校 061001; 2. 河北医科大学第四医院, 石家庄, 050011; 3. 河北省沧州中西医结合医院 061001)

【摘要】 目的 研究金黄色葡萄球菌(简称金葡菌)致病毒素基因的分布特性及与致病性的关系。**方法** 对临床收集的 80 株金葡菌, 采用头孢西丁纸片法检测耐甲氧西林金葡菌(MRSA), 多重聚合酶链反应法检测致病毒素基因中毒休克综合征毒素-1(TSST-1)、杀白细胞毒素(PVL), 分析 TSST-1、PVL 基因阳性金葡菌的临床分布特性及与致病性的相关性。**结果** 80 株金葡菌中 MRSA 总检出率为 58.8%, PVL 基因阳性金葡菌在医院的分布范围较广, 主要引起呼吸道感染、化脓性感染, 也可引起其他感染性疾病, 严重的可导致败血症; TSST-1 基因阳性的 MRSA 均 PVL 基因阳性, 均取自重症监护室肺部感染和化脓性感染的患者。**结论** MRSA 已成为医院感染的重要致病菌, 携带致病毒素基因 TSST-1、PVL 的金葡菌也占有一定的比例, 在医院的分布范围较广, 致病毒素基因 TSST-1、PVL 可增强 MRSA 的致病力, 这增加了临床治疗难度。

【关键词】 金黄色葡萄球菌; 致病毒素基因; 分布特性; 致病性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 16. 025 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)16-1967-02

Study on the correlation of pathogenicity and distribution characters of pathogenic genes in staphylococcus aureus

WANG Feng-ling¹, ZHANG Jin-yan², LIU Yu-zhi¹, LIU Guo-hua³, LIU jing³ (1. Cangzhou Senior Medical School, Hebei 061001, China; 2. The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; 3. Cangzhou Combinational Hospital of Chinese and Western Medicine, Hebei 061001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the correlation of pathogenicity and distribution character of pathogenic genes in staphylococcus aureus. **Methods** 80 staphylococcus aureus were isolated from the various clinical specimens. PVL gene and TSST-1 gene were conducted using a novel multiplex PCR, and MRSA was screened by Cefoxitin disk diffusion. Then the correlation of pathogenicity and distribution character of staphylococcus aureus with PVL gene and TSST-1 gene was analyzed. **Results** The incidence of MRSA was 58.8%. Staphylococcus aureus with PVL gene had wide distribution, and mainly caused the infection of respiratory system and pyogenic infection, and also caused other infect diseases, even the septicemia. Staphylococcus aureus with TSST-1 gene simultaneously had PVL gene. The patients from ICU suffered from pulmonary infection and pyogenic infection. **Conclusion** MRSA are main pathogenic strains of infection in hospital, and staphylococcus aureus with TSST-1 gene and PVL gene also could be found in hospital infection. PVL gene and TSST-1 gene can increase pathogenic power of MRSA. This brings difficulty to clinic treatment.

【Key words】 staphylococcal aureus; pathogenic gene; distribution character; pathogenicity

金黄色葡萄球菌(简称金葡菌)为临床感染常见的病原菌, 可致人体所有组织和器官感染, 尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)具有传播途径广、致病性强、多重耐药性等特点, 已成为临床治疗难点^[1]。本研究对 80 株金葡菌进行致病毒素基因杀白细胞毒素(PVL)基因和中毒休克综合征毒素-1(TSST-1)基因检测, 综合分析携带致病毒素基因金葡菌的临床分布特性及与致病性的关系, 结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 80 株金葡菌分离自 2007 年至 2008 年住院患者各种临床标本, 无重复分离株, 经全自动微生物分析仪鉴定为金葡菌。质控菌株为 ATCC25923。

1.2 仪器 WalkAway-40 型全自动微生物分析仪(美国 Dade-Bering 公司), 聚合酶链反应(PCR)仪(美国 Eppendorf 公司)、凝胶成像仪(美国 Fotodyne 公司)、电泳仪(瑞典 Pharmacia 公司)。

1.3 试剂 PVL、TSST-1 检测的 PCR 引物、TaqDNA 酶、10×Buffer、三磷酸脱氧核糖核苷(dNTP)、MgCl₂ 均为上海生物工程有限公司产品。

1.4 PVL、TSST-1 的 PCR 反应体系及扩增条件 参考孙桂珍和于艳华^[2]报道的方法, 20 μL 反应体系: TaqDNA 酶 1 μL, 10×Buffer 2 μL, 模板 2 μL, 上、下引物各 2 μL, dNTP 1.5 μL, Mg²⁺ 离子 2 μL, 双蒸水补足体积。PCR 反应条件: 93.0 ℃ 2 min; 93.0 ℃ 1 min, 55.0 ℃ 1 min, 72.0 ℃ 2 min, 35 个循环; 72.0 ℃ 2 min。PCR 产物在 20 g/L 的琼脂糖凝胶中进行电泳, 然后在溴化乙锭溶液中染色 20 min, 清水冲洗后用凝胶成像系统观察结果。

1.5 MRSA 鉴定方法 将分离的金葡菌采用头孢西丁纸片法检测 MRSA, 判读标准: 抑菌圈直径小于或等于 19 mm 为耐药, 抑菌圈直径大于或等于 20 mm 为敏感^[3]。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学处

理,行 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MRSA 检出率 80 株金葡萄菌中 47 株为 MRSA,检出率为 58.8%。

2.2 PVL、TSST-1 基因检测结果及标本分布情况 80 株金葡萄菌中检出 PVL 基因阳性 22 株(27.5%), TSST-1 基因阳性检出 5 株(6.3%)。其中 MRSA 中 PVL 基因阳性 15 株(31.9%),甲氧西林敏感金葡萄菌中 7 株(21.2%);5 株 TSST-1 基因阳性的菌株 PVL 基因也阳性,全部是 MRSA。PVL、TSST-1 基因阳性金葡萄菌的标本分布情况见表 1。

表 1 PVL、TSST-1 基因阳性金葡萄菌标本分布

标本	金葡萄 (株)	PVL 阳性 菌株(株)	PVL 阳性 检出率(%)	TSST-1 阳性 菌株(株)	TSST-1 阳性 检出率(%)
痰液	46	12	26.1	4	8.7
脓液	15	6	40.0	1	6.7
血液	5	1	20.0	0	0
腹腔引流液	4	1	25.0	0	0
脓疱液	3	1	33.3	0	0
其他	7	1	14.3	0	0

2.3 致病毒素基因阳性金葡萄菌感染患者分布的科室 22 例检出携带 PVL 基因金葡萄菌的患者分布在 8 科室,重症监护室 7 例,呼吸内科 5 例,肿瘤科 4 例,心内科 2 例,神经内科 1 例,血液科 1 例,外科 1 例,骨科 1 例。5 例检出携带 TSST-1 基因金葡萄菌的患者均在重症监护室。

3 讨 论

金葡萄菌可引起一系列的化脓性感染、食物中毒及中毒性休克综合征等,其致病性与其产生的多种毒素因子(如肠毒素、PVL、TSST-1 等)有关。携带 PVL 基因的 MRSA 致病性强,能引起金葡萄菌感染性疾病暴发流行。本研究结果显示 80 株金葡萄菌中 MRSA 的检出率为 58.8%,与杨长顺等^[4]报道基本一致。PVL 属于 synergohymenotropic 毒素家庭,由 LukS-PV 和 LukF-PV 基因编码共同转录的,该基因可以通过噬菌体溶源性转换或质粒介导传入金葡萄菌,并整合到其染色体上。由于存在这种基因传导机制,临床 PVL 基因携带株有逐年上升趋势^[5],PVL 基因可引起靶细胞释放多种炎症反应因子、坏死或凋亡等效应。TSST-1 是由噬菌体 I 群金葡萄菌产生的外毒素,属于致热原性超抗原家族,其超抗原活性很强,由 TSST-1 基因编码,位于细菌染色体上,它能增强机体对内毒素的敏感性,引起机体发热、脱屑性皮疹、多个器官系统的功能紊乱,严重的还导致中毒性休克综合征,病死率高^[6]。本研究结果显示 PVL 基因在金葡萄菌中检出率为 27.5%,明显高于蔡朝阳等^[7]报道的 7.8%,TSST-1 基因检出率为 6.3%,低于王敏等^[8]报道的结果。Magira 等^[9]认为 PVL 基因阳性的 MRSA 会对肺部有严重的损害,是肺炎的重要致死性原因。结果显示 PVL 基因阳性的金葡萄菌主要来自痰液、脓液,血液、腹腔引流液、腔疱液

等标本中也检出 PVL 基因阳性的菌株,表明产 PVL 的金葡萄菌引起的感染以呼吸系统感染、化脓性感染为主,也可引起其他感染性疾病,严重的可导致败血症。甲氧西林敏感金葡萄菌中 PVL 基因检出率低于 MRSA,两者间差异有统计学意义。从菌株分离的科室可看出,医院有较多科室检出携带 PVL 基因的金葡萄菌,表明 PVL 基因阳性的金葡萄菌分布范围较广,应对其可能造成的感染引起高度的重视。5 株 TSST-1 基因阳性的菌株来自痰液、脓液和血液,均取自重症监护室患者,并且 PVL 基因均阳性、均是 MRSA,说明 MRSA 同时携带 TSST-1、PVL 基因可增强细菌的致病力,多造成呼吸系统感染、化脓性感染,重者可导致败血症。

综上所述,MRSA 已成为医院感染的重要致病菌,携带致病毒素基因 TSST-1、PVL 的金葡萄菌也占有一定的比例,在医院的分布范围较广,携带多种毒素基因的 MRSA 其致病力更强,这增加了临床治疗难度。应进一步研究携带致病毒素基因金葡萄菌的临床分布特性及其致病性,为今后指导临床采取有效预防措施,控制感染,阐明细菌的致病机制,开发新的抗菌药物提供理论依据。

参考文献

[1] 曾令晓,韦明新.金葡萄菌的耐药性研究[J].国际检验医学杂志,2009,30(9):902-903.

[2] 孙桂珍,于艳华.50 株耐甲氧西林金葡萄菌 PVL 基因检测及同源性分析[J].中华医院感染学杂志,2009,19(12):1471-1474.

[3] 喻华,刘小琦,黄文方,等.头孢西丁纸片扩散法检测耐甲氧西林葡萄球菌的临床应用评价[J].国际检验医学杂志,2006,27(12):1085-1087.

[4] 杨长顺,刘文恩,廖经忠,等.耐甲氧西林金葡萄菌感染的流行病学调查[J].中国感染控制杂志,2009,8(2):77-85.

[5] 周信云,胡龙华.携带杀白细胞素基因金葡萄菌的研究进展[J].中国微生态学杂志,2010,22(8):763-765.

[6] 王凤玲,候英荣,冯秀河.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药基因及致病基因的研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2010,10(1):72-75.

[7] 蔡朝阳,马筱玲,纪冰,等.金黄色葡萄球菌毒素基因的检测及临床应用[J].蚌埠医学院学报,2008,33(1):9-12.

[8] 王敏,付灵,李先平.金黄色葡萄球菌中毒性休克综合征毒素 1 基因的检测[J].中国生物制品学杂志,2008,21(4):295-297.

[9] Magira EE, Zervakis D, Routsis C, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Panton-Valentine leukocidin genes: a lethal cause of pneumonia in an adult immunocompetent patient[J]. Scand J Infect Dis, 2007, 39(5):466-469.