

- [17] 蒋宝国,黎秋菊,陈晓朝,等. 双源 CT 双能定量扫描测量骨密度的临床研究[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(11): 1980-1981.
- [18] Lang TF. Quantitative computed tomography[J]. Radiol Clin North Am, 2010, 48(3): 589-600.
- [19] 明洁,陈德才. 定量 CT 测量骨密度研究进展[J]. 四川解剖学杂志, 2007, 15(2): 22-23.
- [20] 李冠武. Micro-CT 及 <sup>1</sup>H-MRS 在骨质疏松骨质量研究中的应用[J]. 国际医学放射学杂志, 2010, 33(6): 525-528.
- [21] Morgan EF, Mason ZD, Chien KB, et al. Micro-computed tomography assessment of fracture healing: relationships among callus structure, composition, and mechanical function[J]. Bone, 2009, 44(2): 335-344.
- [22] Ascenti G, Siragusa C, Racchiusa S, et al. Stone-targeted dual-energy CT: a new diagnostic approach to urinary calculosis[J]. AJR Am J Roentgenol, 2010, 195(4): 953-958.
- [23] 邵伟光,刘典美,赵兴圣,等. 宝石 CT 能谱成像测定成人骨密度初步研究[J]. 实用放射学杂志, 2014, 30(9): 1524-1527.
- [24] 陈靖,董越,葛莹,等. 探讨能谱 CT 宝石能谱成像技术用于骨密度测量的可行性[J]. 中国医学影像技术, 2013, 29(1): 133-137.
- [25] 黄仁军. 能谱 CT 的临床应用与研究进展[J]. 放射学实践, 2015, 30(1): 81-83.
- [26] Cao H, Nazarian A, Ackerman JL, et al. Quantitative (31) PNMRSpectroscopy and (1) HMRI measurements of bone mineral and matrix density differentiate metabolic bone diseases in rat models[J]. Bone, 2010, 46(6): 1582-1590.
- [27] 段丽霞. 磁共振检查在骨质疏松症的应用[J]. 影像诊断与介入放射学, 2011, 20(5): 390-393.
- [28] 吴何嘉,刘斯润,弓健,等. MR 弛豫技术与双能 X 线吸收法评价大鼠骨质疏松的比较研究[J]. 中华放射学杂志, 2010, 44(1): 96-100.
- [29] 刘智,蔡跃增. 氢质子磁共振波谱在骨质疏松诊断中的应用价值[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(12): 1417-1420.
- [30] 李展春,刘祖德,戴力扬,等. MicroPET/CT 评价去卵巢大鼠骨代谢变化的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(8): 875-879.

(收稿日期:2015-12-13 修回日期:2016-02-14)

• 综述 •

## 慢性心力衰竭诊治的研究进展

孙雪梅 综述,白文伟<sup>△</sup>审校(昆明医科大学第二附属医院心血管内科一病区 650101)

【关键词】 慢性心力衰竭; 诊断; 治疗

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.08.055 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)08-1139-04

慢性心力衰竭是各种心脏病如急性心肌梗死、高血压性心脏病、风湿性心脏瓣膜病、扩张性心肌病、先天性心脏病、肺心病等疾病发展的最后阶段。心力衰竭发病率、病死率高,4 年生存率与恶性肿瘤相当,严重者 1 年内病死率高达 50%<sup>[1]</sup>。因此,明确心力衰竭诊断及有效治疗,可以减轻家庭及社会经济负担,提高患者生存率及生存质量。

### 1 生物学标志物

**1.1 脑钠肽** 当左室功能不全时分泌 B 型脑钠肽(BNP)、N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP),它由 B 型脑钠肽前体(proBNP)分泌而来,proBNP 裂解为有活性的 BNP 及无活性的 NT-proBNP。健康人 BNP<100 pg/mL,充盈压增高者 BNP>400 pg/mL<sup>[2]</sup>。BNP 具有利尿、扩血管、抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统的作用,BNP 受性别、年龄、肾功能、体质量等影响较小。NT-proBNP 与年龄有关:<50 岁,诊断截点为 NT-proBNP≥450 pg/mL;50~75 岁,诊断截点为 NT-proBNP≥900 pg/mL;>75 岁,诊断截点为 NT-proBNP≥1 800 pg/mL。NT-proBNP 在体内浓度高,体外稳定性好,半衰期长,易于检测,但无生物学活性。BNP 与 NT-proBNP 浓度与左室舒张压呈正相关,与左心功能呈逆相关,因此,血中 BNP 及 NT-proBNP 水平的变化对心力衰竭的早期诊断具有重要价值。

当前针对心力衰竭患者的血液检测在体内及个体之间存在差异,因此很难通过检测指标发现患者的病情动态变化。唾

液是反映人体健康较好的手段,约 20% 的蛋白存在于血液,同时也存在于唾液中。唾液作为体液检测其中的一种,相对于血液检测,唾液检测无创、安全、方便等优点。唾液中的 NT-proBNP 免疫测定法灵敏度为 82.2%,特异度为 100.0%,阳性预测值为 100.0%,阴性预测值为 83.3%,总诊断准确率为 90.6%。唾液中脑钠肽因经济实用,可以避免抽血及样本处理,可用于人群普查<sup>[3]</sup>。

**1.2 丙酮** 慢性心力衰竭患者呼出气体中的丙酮含量升高。研究中排除了糖尿病患者,以年龄或性别作为对照组配对因素,心力衰竭患者呼出气中的丙酮浓度与对照组相比是升高的,急性心力衰竭组高于慢性心力衰竭组。这种方法对心力衰竭患者及急性心力衰竭患者的诊断准确度及灵敏度约 85.0%。其价值类似于 BNP,丙酮与 BNP 呈正相关。呼出丙酮水平可用于心力衰竭患者分级[纽约心功能(NYHA)分级]。NYHA 心功能 I 级:呼出丙酮中位数 0.60 mg/L(0.50~0.70 mg/L);心功能 II 级:中位数 1.50 mg/L(0.80~2.20 mg/L);心功能 III 级:中位数 5.60 mg/L(1.70~10.1 mg/L);心功能 IV 级:中位数 8.10 mg/L(3.60~17.10 mg/L)。可见临床症状越重,呼出气中丙酮浓度越高(P<0.001)。丙酮检测价值等同于 BNP,它不仅可作为一种无创的心力衰竭诊断方法,而且可用于心力衰竭分级<sup>[4]</sup>。

**1.3 肌钙蛋白** 心力衰竭患者因神经内分泌激素及炎性因子

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: bwwzhanghui@126.com。

的长期慢性刺激导致心肌细胞损伤和死亡,最终导致肌钙蛋白的释放。心肌收缩机制中的肌钙蛋白包括 T、I、C 3 种亚型。但只有 T、I 两型为心肌细胞特异性。C 型存在于心肌及骨骼肌中,故难以鉴别。高敏肌钙蛋白测量更为精确且检测阈值更低,现已用于临床。稳定期心力衰竭患者通过高灵敏度的试剂可检测出损伤心肌细胞持续少量释放入循环中的肌钙蛋白。肌钙蛋白可用于评估患者预后(全因病死亡率及再住院率)。高敏肌钙蛋白不受人口统计学及临床因素的影响,是独立的预后因子。随着时间推移,心力衰竭患者的病情在不断变化。通过简单检测血中肌钙蛋白水平,就可监测患者整个病情演变过程,有助于患者的诊断及管理(住院或出院)。除此之外,肌钙蛋白可用于预防及监测抗肿瘤药物的心脏毒性<sup>[5]</sup>。

**1.4 微小 RNA(miRNA)** miRNA 是一种长度为 20~25 个核苷酸的内源性 RNA,通过两种方式调节基因表达:一是阻断翻译;二是降低 mRNA 配对准确性,使 mRNA 错配至 3' 端的非编码区。以上两种调节方式在细胞的增殖、凋亡及血管重建中扮演了非常重要的角色。miRNA 被释放入血,且不被降解,所以 miRNA 非常适合作生物标志物。研究表明,针对心力衰竭患者诊断 miRNA 比 mRNA 更准确、更有价值。心力衰竭患者在心肌肥厚增殖过程中,miRNA 的表达谱如下:表达上调的有 miR-21、miR-29b、miR-129、miR-210、miR-211、miR-212、miR-423;表达下调的有 miR-30、miR-182、miR-526。在这个研究中,miRNA182 与动脉硬化及血管退化有关,miRNA182 水平的升高与心力衰竭有关,且首次发现可作为心血管疾病患者预后的监测指标。同时 miRNA-182 在心脏移植患者中也会升高<sup>[6]</sup>。

**1.5 和肽素** 1972 年,Holwerda 首次提出和肽素,它与精氨酸加压素(AVP)同源,含有 39 个氨基酸残基的糖肽,即精氨酸加压素原。精氨酸加压素原由下丘脑室旁核产生,呈脉冲式释放。健康人和和肽素水平在 1~12 pmol/L 之间,平均水平低于 5 pmol/L,男性较女性稍高,与年龄无明显关系。AVP 主要与血小板结合,放射免疫法不能精确测定,半衰期短,稳定性差,保存要求高,相对分子质量较小,酶联免疫法不适用。而和肽素在血中较稳定,无酶切位点和受体,体内几乎不降解,经肾脏排泄,不用特殊处理就可快速、可靠地检测等特点,可作为 AVP 的替代物。因此,可通过检测血清中和肽素水平观察 AVP 的释放情况。慢性心力衰竭患者血清中和肽素水平升高,长期升高则预后不良,和肽素作为心力衰竭诊断指标及预测因子与心力衰竭的发生、发展密切相关<sup>[7]</sup>。

## 2 治 疗

### 2.1 药物治疗

**2.1.1 盐皮质激素受体拮抗剂** 醛固酮通过一系列的病理生理改变导致心血管及肾脏疾病。应用盐皮质激素受体拮抗剂是治疗其相关疾病行之有效的方法。目前应用的药物有螺内酯及依普利酮。大量临床试验研究表明,螺内酯及依普利酮均可降低心力衰竭的发病率及病死率。尽管螺内酯及依普利酮对心、肾疾病有利,但因为药物本质缺陷导致其临床应用受限。螺内酯是第一代盐皮质激素受体拮抗剂,高效但缺乏选择性,可产生男性乳腺发育、阳痿、女性月经不调等不良反应。依普利酮是第二代盐皮质激素受体拮抗剂,高选择性但低效价、低效力,其作用只是螺内酯的 1/40。依普利酮可抑制心肌重构进展,延缓慢性心力衰竭的发展<sup>[8-9]</sup>。研究发现,依普利酮还可用于射血分数降低但临床症状较轻的患者,即便患者已应用了高剂量标准治疗的药物(如血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧

张素受体拮抗剂、 $\beta$ 受体阻滞剂等)亦可以使用,且可降低主要心血管事件<sup>[10]</sup>,主要不良反应是高钾血症。近年来,有几种非甾体盐皮质激素受体拮抗剂被发现,但是都经不住临床考验。如 2004 年有研究人员发现了 1,4-二氢吡啶类药物(DHPs),具有 L-型钙通道调节作用的复合制剂,在体外试验中的作用类似盐皮质激素受体拮抗剂。但是在体内代谢稳定性低、无亲水性及与 L-型钙通道相互作用影响。当提高代谢稳定性及亲水性,DHPs 就丧失了原有的药物活性,而后通过研究发现了一种高效、高选择性、可口服的新型二氢吡啶类药物 BAY 94-8862,目前此药正在进行 II 期临床试验<sup>[11]</sup>。

**2.1.2 重组人脑利钠肽(rhBNP)** rhBNP 是 DNA 技术合成的生物制剂。2005 年欧洲心脏病学会将其列入心力衰竭的治疗指南<sup>[12]</sup>。目前 rhBNP 有美国 FDA 批准的奈西利肽(Nesiritide)及我国的新活素(目前处于 IV 期临床试验)。有关 rhBNP 的研究及临床应用已从急性失代偿性心力衰竭拓展到慢性心功能不全。rhBNP 主要作用有利钠、利尿、拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统、去甲肾上腺素、内皮素,以及拮抗和逆转心脏重构,低血压是其主要不良反应<sup>[13]</sup>。rhBNP 无正性肌力作用,不增加心肌耗氧,不导致心律失常。但有研究表明,30 min 内静脉应用奈西利肽可导致慢性心力衰竭患者收缩功能降低<sup>[14]</sup>。

**2.1.3 血管紧张素受体-脑啡肽酶抑制剂(ARNI)** LCZ696 是一种 ARNI,由缬沙坦及脑啡肽酶组合而成。LCZ696 在降低全因病死亡率、心力衰竭住院率及其他终点事件方面明显优于依那普利<sup>[15]</sup>。空白对照研究表明,LCZ696 针对射血分数降低的严重心力衰竭患者在降低全因病死亡率及心血管事件中取得压倒性优势<sup>[16]</sup>。在不久的将来,LCZ696 可能成为治疗射血分数降低型慢性心力衰的一类核心药物<sup>[17]</sup>。

### 2.2 非药物治疗

**2.2.1 器械治疗** 慢性心力衰竭晚期患者治疗策略:短期机械循环支持、长期左心室辅助装置(LVAD)治疗、心脏再同步化治疗(CRT)及最后心脏移植。慢性心力衰竭晚期患者通常需要加强肌肉收缩或主动脉内球囊反搏术来维持循环,但是这些治疗都有一定时限。此类患者接受心脏移植及 LVAD 效果差。短期的机械循环支持不仅可以提供有效循环支持、稳定血流动力学状态,而且可以中止或逆转随后的器官衰竭。紧急心脏移植术相对于择期手术,存在更多高危并发症,如:最主要的是心脏移植失败,需要主动脉内球囊反搏,机械循环支持时间延长,需要肾替代治疗,细菌感染增加,住 ICU 治疗时间延长。短期循环支持是慢性心力衰竭患者康复、LVAD 治疗及心脏移植的过渡阶段。由于心脏移植器官的短缺,短期的循环支持使得心力衰竭患者心脏移植变成可能。研究表明,30 d 短期机械循环支持证明是安全的,生存率可观且不增加仪器治疗相关并发症。但是因其需要严格的抗凝治疗,所以这些患者的主要风险就是出血<sup>[18]</sup>。

LVAD 治疗通过减少肌细胞体积、胶原沉淀及炎性因子来逆转心脏重构,可通过改变电机械运动来逆转心脏重构<sup>[19]</sup>。LVAD 治疗可作为慢性心力衰竭患者心脏移植的过渡阶段,同时 LVAD 治疗也是无心脏移植条件患者的最终治疗手段。植入左心室辅助装置可改善心力衰竭患者的生活方式,延长寿命。目前连续流动式左室辅助装置已常规应用于晚期心力衰竭的患者。

CRT 可通过调整心力衰竭患者左右心室运动节律使心脏电机械运动同步来逆转左心室重构、改善患者生活质量、提高

运动耐量、降低发病率及病死率。心脏再同步化治疗通过减少细胞体积、炎症及纤维化以达到延缓慢性心力衰竭患者病情进展的目的<sup>[19]</sup>。但是合并有严重三尖瓣返流及右心功能不全的心力衰竭患者心脏再同步化治疗效果不明显。合并左束支传导阻滞及宽 QRS 波群的慢性心力衰竭患者心脏再同步化治疗有效。

植入埋藏式除颤仪(ICD)治疗用于心力衰竭患者心源性猝死的一级预防。心力衰竭患者有室性心律失常及心源性猝死抢救病史,应予 ICD 二级预防。老年心力衰竭患者应用 ICD 可获益。但是有研究表明,老年女性患者有严重并发症如终末期肾脏衰竭患者应用 ICD 治疗不能获益<sup>[20]</sup>。

**2.2.2 干细胞治疗** 心脏不再被认为是具有丝分裂后的器官,但被认为是一个自我更新的器官<sup>[21]</sup>。研究表明,25 岁的成人心脏分裂产生心肌细胞的能力为 1.00%,而 75 岁的老年人为 0.45%。虽然概率低,但心脏仍然具有再生能力,临床治疗的策略就是刺激放大这个过程。从 20 世纪 90 年代开始,大量学者对骨骼肌母细胞治疗充血性心力衰竭进行了广泛的研究。既往骨骼肌母细胞移植存在一些问题,如:骨骼肌母细胞与宿主心肌细胞不能融合,且不能转移分化为心肌细胞。最近研究表明,骨骼肌源性干细胞采取心肌细胞表型在体外试验中表现有活力<sup>[22]</sup>。在动物试验中,胚胎源性心肌样细胞可以改善缺血心肌的功能。冠心病合并慢性心力衰竭的患者冠状动脉内注射骨髓源性细胞,可减少 30% 的梗死面积,射血分数改善 15%。心肌梗死边缘衰弱的心肌细胞注射 CD133<sup>+</sup> 骨髓干细胞射血分数从 37% 提高至 47%。心脏干细胞治疗晚期心力衰竭的单纯治疗存在一定局限,有关干细胞修复损伤心肌正在研究中。

### 3 总 结

近年来用于诊断慢性心力衰竭的生物学标志物不断涌现,但是临床实践与理论之间仍然存在差距。慢性心力衰竭的药物治疗,尤其是血管紧张素受体-脑啡肽酶抑制剂的发现,将有可能成为治疗心力衰竭的一种核心药物。晚期心力衰竭患者药物治疗作用效果不明显,可考虑器械治疗、干细胞移植及心脏移植。

### 参考文献

[1] 高海,金彦彦.慢性心力衰竭国内外指南浅析[J].中国临床医生,2014,42(9):3.  
 [2] Almeida JGL, Xavier SS, Garcia MI, et al. Hemodynamic assessment in heart failure: role of physical examination and noninvasive methods[J]. Arq Bras Cardiol, 2012, 98(1):15-21.  
 [3] Foo JYY, Wan Y, Kostner K, et al. NT-ProBNP levels in saliva and its clinical relevance to heart failure[J]. PLoS One, 2012, 7(10):e48452.  
 [4] Marcondes-Braga FG, Gutz IGR, Batista GL, et al. Exhaled Acetone as a new biomarker of heart failure severity[J]. Chest, 2012, 142(2):457-466.  
 [5] Latini R, Masson S. Significance of measurable cardiac troponin by high-sensitivity assays in patients with chronic stable heart failure[J]. Coron Artery Dis, 2013, 24(8):716-719.  
 [6] Cakmak HA, Coskunpinar E, Ikitimur B, et al. The prognostic value of circulating microRNAs in heart failure;

preliminary results from a genome-wide expression study [J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2015, 16(6):431-437.  
 [7] 赵正春,邓平.和肽素及硫化氢在慢性心衰中的研究进展[J].中华心血管病杂志,2014,42(3):259-261.  
 [8] Krum H, Massie B, Abraham WT, et al. Direct rennin inhibition in addition to or as an alternative to angiotensin converting enzyme inhibition in patients with chronic systolic heart failure: rationale and design of the Aliskiren Trial to Minimize Outcomes in Patients with Heart failure (ATMOSPHERE) study[J]. Eur J Heart Fail, 2011, 13(1):107-114.  
 [9] McMurray JJ, Packer M, Desai AS, et al. Dual angiotensin receptor and neprilysin inhibition as an alternative to angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with chronic systolic heart failure: rationale for and design of the Prospective comparison of ARNI with ACEI to Determine Impact on Global Mortality and morbidity in Heart Failure trial (PARADIGM-HF) [J]. Eur J Heart Fail, 2013, 15(9):1062-1073.  
 [10] Krum H, Shi H, Pitt B, et al. Clinical benefit of eplerenone in patients with mild symptoms of systolic heart failure already receiving optimal best practice background drug therapy: analysis of the EMPHASIS-HF study[J]. Circ Heart Fail, 2013, 6(4):711-718.  
 [11] Bärfacker L, Kuhl A, Hillisch A, et al. Discovery of BAY 94-8862: a nonsteroidal antagonist of the mineralocorticoid receptor for the treatment of cardiorenal diseases[J]. Chem Med Chem, 2012, 7(8):1385-1403.  
 [12] Karl S, John C, Henry D, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary [J]. Euro Heart J, 2005, 26(6):1115-1140.  
 [13] 许红蕾,杜欣,孙婧.抗心衰药物治疗研究进展[J].天津药学,2014,26(5):63-67.  
 [14] Shah SJ, Michaels AD. Acute effects of intravenous nesiritide on cardiac contractility in heart failure[J]. J Card Fail, 2010, 16(9):720-727.  
 [15] Gradman AH. LCZ696: the next step in improving RAS inhibition? [J]. Curr Hypertens Rep, 2015, 17(5):37.  
 [16] McMurray J, Packer M, Desai A, et al. A putative placebo analysis of the effects of LCZ696 on clinical outcomes in heart failure[J]. Euro Heart J, 2015, 36(7):434-439.  
 [17] Minguet J, Sutton G, Ferrero C, et al. LCZ696: a new paradigm for the treatment of heart failure? [J]. Expert Opin Pharmacother, 2015, 16(3):435-446.  
 [18] Mohite PN, Zych B, Banner NR, et al. Refractory heart failure dependent on short-term mechanical circulatory support: what next? Heart transplant or long-term ventricular assist device[J]. Artif Organs, 2014, 38(4):276-281.  
 [19] Orrego CM, Nasir N, Oliveira GH, et al. Cellular evidence of reverse cardiac remodeling induced by cardiac resynchronization therapy [J]. Congest Heart Fail, 2011, 17(3):140-146.

- [20] Freeman JV, Masoudi FA. Effectiveness of implantable cardioverter defibrillators and cardiac resynchronization therapy in heart failure[J]. Heart Fail Clin, 2013, 9(1): 59-77.
- [21] Anversa P, Kajstura J, Rota M, et al. Regenerating new heart with stem cells[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 62-

70.

- [22] Hassan N, Tchao J, Tobita K. Concise review: skeletal muscle stem cells and cardiac lineage: potential for heart repair[J]. Stem Cells Transl Med, 2014, 3(2): 183-193.

(收稿日期:2015-10-25 修回日期:2015-12-26)

## • 综 述 •

## 细菌快速药敏试验方法研究进展

李 珍 综述, 李从荣<sup>△</sup> 审校(武汉大学人民医院检验科 430060)

【关键词】 细菌; 快速检测; 抗菌药物; 药敏试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.08.056 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)08-1142-03

抗菌药物的发现与使用,是人类医学史上重要的里程碑。药敏试验是指在体外测定病原菌对某种抗菌药物的敏感或耐受程度,以指导临床合理选用抗菌药物的微生物学试验。然而,随着多重耐药菌在世界范围内的播散,细菌耐药情况日趋严重,准确且快速的抗菌药物敏感性试验结果对于指导治疗临床各种类型细菌感染显得更加重要<sup>[1]</sup>。目前,在常规的临床微生物工作中,药敏试验多采用稀释法、纸片法和 E-test 法等,这些方法均需经过较长的孵育时间,在这段时间内,临床医生根据当地流行病学情况采用经验性用药治疗患者感染。因此,快速抗菌药物敏感性试验是实验室快速提供科学、准确的抗菌药物活性信息的重要前提,也是临床实施有效药物治疗的保障。现将近年来针对细菌性病原体兴起的快速药敏试验方法最新研究进展作如下综述。

## 1 分子生物学技术

**1.1 聚合酶链反应(PCR)技术** PCR 技术包括普通 PCR 和实时定量 PCR,其根据 DNA 热变性原理,通过控制温度来控制双链的解聚和结合。PCR 技术可灵活、快速、同时检测临床标本中多种病原菌和已确定病原菌中的耐药基因<sup>[2]</sup>。现在已有许多商品化仪器利用 PCR 技术通过检测 *mecA* 和(或)*mecC* 基因的存在来鉴定耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA),如运用实时荧光定量 PCR 原理检测 *mecA* 和 *mecC* 基因的全自动检测分析系统 Xpert MRSA Gen 3。有研究表明,Xpert MRSA Gen 3 可以在非常短的时间内(58 min)完成 MRSA 分析,灵敏度和特异度分别为 95.7% 和 100.0%<sup>[3]</sup>,而 BD-Max MRSA XT assay 整个检测过程用时较长,约 120 min,灵敏度(87.5%)和特异度(97.1%)与 Xpert MRSA Gen 3 相比略显逊色。此外,PCR 技术也已用于万古霉素耐药相关的 *vanA* 和 *vanB* 基因的检测,如肠球菌的耐药性检测<sup>[4-5]</sup>,不同的研究其灵敏度和特异度不同。当然,近几年检测革兰阴性菌耐药基因的方法研究也越来越多,尤其是检测编码碳青霉烯酶<sup>[6]</sup>、Amp<sup>C</sup><sup>[7]</sup>、广谱 β-内酰胺酶及超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)<sup>[6,8]</sup> 等酶基因的方法。这些方法的主要优点在于它们可以在相对短的时间内,有时甚至可以直接用临床标本即可完成检测。然而,耐药基因的出现不总与耐药表型一致,PCR 技术检测耐药基因易产生假阴性结果,故不能检测新的或不典型的耐药机制,特别是在革兰阴性菌中存在的碳青霉烯酶,因其不断出现

新的突变,此法可能不能准确检测耐药性而导致一个耐药菌株被不恰当地分类为敏感株。此外,这些方法不能提供对于指导临床治疗有用的最低抑菌浓度(MIC)值。

除了用 PCR 技术检测与耐药相关的基因以外,最近又有一种利用实时定量 PCR 法可准确定量标本中特殊核酸的拷贝数的特点来测量细菌生长量的方法,以此来判断药敏结果,这给临床微生物药敏试验提供了新的思路。这种方法通过在非常短的时间内(约 6 h)监测分离菌株在抗菌药物存在情况下细菌基因组 DNA 拷贝数变化,可以区分耐药株与敏感株。如 2013 年西班牙学者针对鲍曼不动杆菌中高度保守序列 *ompA* 基因,用实时定量 PCR 法检测临床分离的鲍曼不动杆菌对亚胺培南、环丙沙星和多粘菌素的耐药性<sup>[9]</sup>。这种方法也被用于血培养阳性标本病原菌及其药敏的快速检测<sup>[10]</sup>。相对于上文描述的检测耐药基因的方法,此法有一个优势,即不依赖于细菌耐药机制,且可以通过检测在抗菌药物存在情况下细菌的生长情况间接测量耐药表型。但这种方法也存在缺陷:即它需要先培养分纯,不能直接检测临床标本。

**1.2 基因芯片法** 基因芯片技术是同时将大量的探针分子固定到固相支持物上,借助核酸分子特异性杂交配对的特性对 DNA 样品的序列信息进行高效的解读和分析。从 20 世纪 90 年代开始,国外就有利用基因芯片技术鉴定细菌的报道,现今已经有大量研究报道用这种方法检测细菌菌株中大量耐药基因,如革兰阴性菌中的 β-内酰胺酶基因<sup>[11]</sup>。利用这种快速、特异、高通量技术检测细菌耐药性,可以在 1 个工作日内提供报告。Naas 等<sup>[12]</sup> 报道运用基因芯片技术在一次试验中可以检测大量不同的耐药基因,这一点与只能检测少量基因的 PCR 技术不同。因此,基因芯片非常适于检测有大量明确的耐药机制或同一机制的多种变体的细菌(如在革兰阴性菌中的 β-内酰胺酶)的耐药性。然而,同上文描述的方法类似,从基因芯片上获得的数据可能不总与表型耐药一致,且此方法不能提供 MIC 值。除此之外,这种方法在检测含有新的或非特异性耐药基因的菌株的耐药性时具有局限性。

**1.3 全基因组测序法** 全基因组测序是对未知基因组序列的物种进行个体的基因组测序。随着 DNA 测序技术的进步,人们可以极快的速度完成整个细菌基因组的测序,再加上生物信息学工具快速地收集和分析这些测序得到的海量数据,全基因

△ 通讯作者, E-mail: congongli33@hotmail.com。