

部分通过脊丘系及脊髓网状系统,作用于更高级神经中枢产生脊髓上和皮质反应,最终形成了疼痛感受<sup>[4,5]</sup>。小儿大脑皮质发育不完善,剧烈的术后疼痛可能对患儿的身心健康造成永久损害,故更需要完善术后镇痛。然而,由于常规阿片类药物的嗜睡、呼吸抑制、恶心呕吐等并发症较多,应用于小儿时有诸多顾虑。地佐辛主要通过激动  $\kappa$ 、 $\mu$  受体产生剂量相关但却有天花板效应的镇痛作用,由于对  $\mu$  受体具有激动和拮抗双重作用,使呼吸抑制和成瘾的发生率降低,且地佐辛对  $\delta$  阿片受体活性极弱,不产生烦躁焦虑感<sup>[6,7]</sup>。所以,为小儿术后镇痛提供了一个新的选择。

本研究表 2 显示无论肌内注射或者静脉注射地佐辛,均可在围术期产生显著的镇痛作用,拔管以及出 ICU 时刻,血流动力学更加平稳,且小儿镇痛镇静评分也均有临床满意效果。与肌内注射组相比,静脉注射组镇痛、镇静效果在术后早期差异无统计学意义。然而在术后 30min 出 ICU 时,镇痛作用较肌内注射组较弱,可能与肌内注射时药物吸收代谢速度较慢、作用时间更持久相关。在给予地佐辛组别中无 1 例术后寒战反应的发生,与 Sibille 等<sup>[8]</sup>的研究结果相符,其认为在手术结束前激动拮抗药的应用可有效地减少术后寒战的发生。本研究 A、C 两组各有 1 例发生恶心呕吐,可能与术中未提前给予镇吐药相关,此

为本研究的一项缺陷。

综上所述,地佐辛注射液术后镇痛效果良好,无明显不良反应,能有效减轻小儿术后疼痛,可安全用于小儿快通道心脏麻醉。

#### 参考文献

- 1 Merkel S, Malviya S. Pediatric pain, tools, and assessment[J]. J Peri-anesth Nuts, 2000, 15(6): 408-414
  - 2 Narsinghani U, Anand KJ. Developmental neurobiology of pain in neonatal rats[J]. Lab Anim(NY), 2000, 29(9): 27-39
  - 3 Silbert BS, Santamaria JD, Kelly WJ, et al. Early extubation after cardiac surgery: emotional status in the early postoperative period[J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2001, 15: 439-444
  - 4 Scawn NDA, Pennefather SH, Soorae A, et al. Ipsilateral shoulder pain after thoracotomy with epidural analgesia: the influence of phrenic nerve infiltration with lidocaine[J]. Anesth Analg, 2001, 52(93): 260
  - 5 Morton Neil S. Management of postoperative pain in children[J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2007, 92: 14-19
  - 6 靳红绪, 张同军, 孙学飞, 等. 地佐辛复合舒芬太尼用于恶性肿瘤根治术后静脉自控镇痛的临床研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(3): 264-266
  - 7 高玮, 赵琳, 段满林, 等. 地佐辛联合舒芬太尼在上腹部及髋关节置换术后镇痛的临床研究[J]. 临床麻醉学杂志, 2014, 30(6): 532-535
  - 8 Sibille KT, Kindler LL, Glover TL, et al. Individual differences in morphine and butorphanol analgesia: a laboratory pain study[J]. Pain Med, 2011, 12(7): 1076-1085
- (收稿日期: 2014-08-29)  
(修回日期: 2014-10-27)

## 胆汁分离携带 Panton valentin 杀白细胞基因金黄色葡萄球菌流行情况及 SCCmec 分型

应孙科 曹寒沁 吴敏瑾 金胜航

**摘要** **目的** 调查消化内科患者胆汁分离携带 Panton valentin 杀白细胞基因的金黄色葡萄球菌流行情况及 SCCmec 分型。**方法** 收集浙江大学医学院附属第一医院 2008 年 7 月~2013 年 7 月消化内科患者 815 名分离的金黄色葡萄球菌 75 株, 采用 VITEK 2 COMPACT 全自动微生物分析仪分析其药敏结果, 采用 PCR 检测 PVL 基因, 采用多重 PCR 对所有耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 SCCmec 分型。**结果** 消化内科金黄色葡萄球菌的感染率为 9.2%, 25 例为社区获得性感染, 其 PVL 阳性菌株 16 例, 占 64.0%; 50 例为医院获得性感染, 其中 PVL 阳性菌株 11 例, 占 22%。SCC 分型显示以 SCCmec III 型为主, 占 43.3% (13/30), SCCmec II 型 2 株, SCCmec IV 型 10 株, 未检出 SCCmec I 型和 V 型。16 株 PVL 基因阳性 MRSA 菌株中 SCCmec III 型有 9 株 (56.25%), IV 型有 6 株 (37.5%), 另外有 1 株未成功分型。**结论** 消化内科胆汁分离的金黄色葡萄球菌 PVL 基因携带及分子流行情况显示主要以 SCCmec III 型为主, 携带 PVL 基因率较高, 存在区域性流行的特点。

作者单位: 321300 浙江省永康市第一人民医院检验科(应孙科); 310003 杭州, 浙江大学医学院附属第一医院检验科(曹寒沁、吴敏瑾); 310009 杭州, 浙江大学医学院附属第二医院检验科(金胜航)

通讯作者: 金胜航, 电子信箱: jinshenghanghz@163.com

关键词 金黄色葡萄球菌 胆汁 杀白细胞基因 SCCmec 分型  
中图分类号 R393 文献标识码 A DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.034

**Prevalence and SCCmec Typing of Panton Valentin Leukocidin Genes in Staphylococcus Aureus Isolated from Bile in the Gastroenterology Department.** Ying Sunke, Cao Hanxin, Wu Minjin, et al Department of Laboratory Medicine, The First People's Hospital of Yongkang, Zhejiang 321300, China

**Abstract Objective** To investigate the prevalence and SCCmec typing of Panton valentin leukocidin genes in Staphylococcus aureus isolated from bile in the gastroenterology department. **Methods** Seventy – five Staphylococcus aureus isolated from 815 patients in the gastroenterology department July 2008 to July 2013. We used the VITEK 2 COMPACT automatic microbial analyzer to determine the susceptibility to all the antimicrobial drugs. Additionally, we detected the PVL gene by PCR, and detected the SCCmec type of the MRSA strains by multiplex PCR. **Results** The infection rate of Staphylococcus aureus in gstroenterology department was 9.2%. There were 25 cases of community – acquired infections, which contained 16 cases PVL – positive strains, accounting for 64.0%. There were 50 cases of hospital – acquired infections, which contained 11 cases of PVL – positive strains, accounting for 22.0%. Among the MRSA isolates, 43.3% (13/30) were SCCmec III, 33.3% (10/30) were SCCmec IV, and 2 were SCCmec II. Five strains were non – genotyping. None of the isolates were genotyped as SCCmec I or V. However, among the 16 PVL – positive MRSA strains, 56.25% (9/16) were SC-Cmec III, 37.5% (6/16) were SCCmec IV. In addition, one strain was not successful genotyping. **Conclusion** The PVL gene detection and molecular epidemiology of Staphylococcus aureus isolated from bile in the gastroenterology department showed that the SCCmec III was the main genotype and the rate of PVL genes was high, with a regional popular feature.

**Key words** Staphylococcus aureus; Bile; Leukocidin genes; SCCmec typing

材料与方法

1. 材料:(1)菌株来源:收集2008年7月~2013年7月浙江大学医学院附属第一医院消化内科815份胆汁中分离的金黄色葡萄球菌75株。标准菌株为金黄色葡萄球菌ATCC25923和ATCC29213。(2)主要仪器和试剂:ExTaq酶、DNA纯化回收试剂盒、DNA Marker和质粒小量提取试剂盒购自大连TaKaRa公司;VITEK2 COMPACT全自动微生物鉴定仪购自法国梅里埃生物公司、PCR仪购自德国Eppendorf公司产品、电泳仪购自美国BIO RAD公司、凝胶成像仪购自北京六一公司产品。mecA扩增引物参照文献设计<sup>[1~4]</sup>。I、II、III、IV、V型分型引物参照报道<sup>[5,6]</sup>。引物由上海生工生物技术有限公司合成(表1)。

2 方法:(1)细菌鉴定和药物敏感度试验:采用VITEK 2 COMPACT全自动微生物鉴定仪对细菌进行鉴定及药敏分析,药敏结果按照美国临床和实验室标准协会(CLSI)2012推荐标准进行判读。(2)细菌基因组DNA提取:吸取250μl双蒸水,挑取血平板过夜培养的金黄色葡萄球菌菌落2~3个,加入双蒸水中,混匀后,再加入蛋白酶K(0.2mg/ml)和溶葡萄球菌素(16U/ml),37℃作用1h,加热煮沸15min,以15000r/min在低温高速离心机中离心5min。将上清液转移到一干净的无菌微量离心管中,即为细菌总DNA溶液,-20℃保存备用。(3)PCR检测mecA基因:PCR扩增反应体系体积为25μl,上下游引物(20μmol/L)各0.5μl,dNTP(100mmol/L)2μl,模板DNA 3μl,MgCl<sub>2</sub>(25mmol/L)1.5μl,10×PCR buffer 2.5μl,EX Taq酶(5U/μl)0.125μl,ddH<sub>2</sub>O 14.375μl,混匀后离心置PCR仪上进行扩增反应。循环参数为:94℃预变性5min,然后94℃30s、53℃30s、72℃1min,共30个循环,最后

表1 PCR相关引物序列及产物长度

| 引物         | 序列(5'→3')                      | 产物长度(bp) |
|------------|--------------------------------|----------|
| SCCmecIF   | GCTTTAAAGAGTGTGCTTACAGG        | 613      |
| SCCmecIR   | GTTCTCTCATAGTATGACGTCC         |          |
| SCCmecIIIF | CGTTGAAGATGATGAAGCG            |          |
| SCCmecIIIR | CGAAATCAATGGTTAATGGACC         | 398      |
| SCCmecIIIF | CCATATTGCTGACGATGCG            |          |
| SCCmecIIIR | CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG         |          |
| SCCmecIVaF | GCCTTATTCGAAGAAACCG            | 280      |
| SCCmecIVaR | CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG          |          |
| SCCmecIVbF | TCTGGAATTACTTCAGCTGC           |          |
| SCCmecIVbR | AAACAATATTGCTCTCCCTC           | 493      |
| SCCmecIVcF | ACAATATTGTATTATCGGAGAGC        |          |
| SCCmecIVcR | TTGGTATGAGGTATTGCTGG           |          |
| SCCmecIVdF | CTCAAAATACGGACCCCAATACA        | 881      |
| SCCmecIVdR | TGCTCCAGTAATTGCTAAAG           |          |
| SCCmecVF   | GAACATTGTTACTTAAATGAGCG        |          |
| SCCmecVR   | TGAAAGTTGTACCCTTGACACC         | 325      |
| mecAF      | GTGAAGATATACCAAGTGATT          |          |
| mecAR      | ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT         |          |
| Luk – PVF  | ATCATTAGGTAAATGTCTGGACATGATCCA | 433      |
| Luk – PVR  | GCATCAAGTGTATTGGATAGCAAAAGC    |          |

72℃延伸10min。(4)SCCmec分型方法:反应体系为25μl,模板加入3μl。反应条件为:94℃预变性5min,然后94℃45s、56℃45s、72℃1min,35个循环,最后72℃延伸10min。IV型引物反应条件同mecA的扩增条件。

结 果

1. 胆汁分离金黄色葡萄球菌的分布及PVL检

测:2008 ~ 2013 年 5 年间消化内科的 815 例胆汁标本中分离的金黄色葡萄球菌共 75 株,分离率为 3.7%,其中 30 株为 MRSA 菌株,45 株为 MSSA 菌株。PVL 基因的 PCR 扩增检测结果显示 45 株 MSSA 菌株中检测到 11 株 PVL 阳性菌株,占 24.4%,30 株 MRSA 菌株中检测到 16 株 PVL 阳性菌株,占 53.3%。扩增产物电泳结果见图 1。在 75 株金黄色葡萄球菌中,25 例为社区获得性感染,其 PVL 阳性菌株 16 例,占 64.0%;50 例为医院获得性感染,其中 PVL 阳性菌株 11 例,占 22.0%。

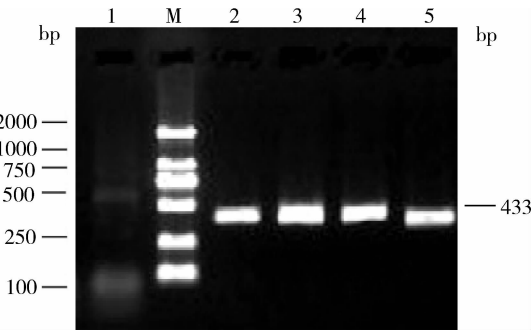


图 1 PCR 检测 PVL 扩增电泳图

1. 阴性对照;2 ~ 5. PVL 阳性菌株;M. DNA marker

2. MRSA 菌株 SCCmec 分型及 PVL 分布:30 株 MRSA 菌株中仅仅检测出 II 型、III 型和 IV 型,未检测到 I 和 V 型。30 株 MRSA 临床分离株中检出的 SCCmec 型别分布见表 2。其中 SCCmec 分型 II 型 2 株,占 3.3% (2/30); III 型 13 株,占 43.3% (13/30); IV 型 10 株,占 33.3% (10/30);另外还有 5 株未分型成功。电泳图分别见图 2、图 3。16 株 PVL 基因阳性 MRSA 菌株中 SCCmec III 型有 9 株 (占 56.25%), IV 型有 6 株 (占 37.5%),另外有 1 株未成功分型。

表 2 30 株临床分离菌株 SCCmec 分型情况

| SCCmec 分型 | 菌株数 | HA - MRSA | CA - MRSA |
|-----------|-----|-----------|-----------|
| II        | 2   | 2         | 0         |
| III       | 13  | 8         | 5         |
| IV        | 10  | 1         | 9         |
| 未分型株      | 5   | 2         | 3         |

讨 论

金黄色葡萄球菌是近些年来导致消化道感染的常见革兰阳性球菌,其毒力和传播能力强,给临床治疗带来了极大的困难。随着 MRSA 菌株广泛出现,临床对消化道金黄色葡萄球菌感染的重视也逐渐增加,尤其以胆管感染最为多见。近年来的研究也表明,金

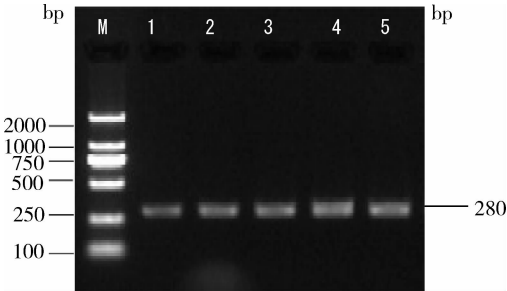


图 2 PCR 检测 SCCmec III 型扩增电泳图

1 ~ 5. SCCmec III 型阳性菌株;M. DNA marker

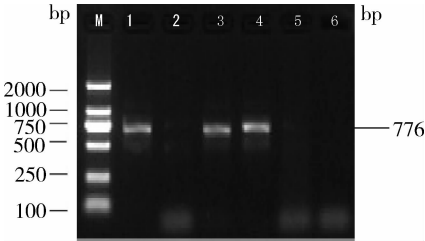


图 3 PCR 检测 SCCmec IV 型扩增电泳图

2,5 ~ 6. 阴性菌株;1,3 ~ 4. SCCmec IV 型阳性菌株. M. DNA marker

黄色葡萄球菌引起的胆管感染已经成为了消化道感染的主要难题,其主要因为金黄色葡萄球菌可携带多种毒力基因,其中 PVL 基因是最重要的一种,也逐渐成为国内外研究的热点<sup>[7,8]</sup>。PVL 基因是一种杀白细胞素基因,可分泌杀白细胞素,破坏人体白细胞,使人体组织遭到破坏,导致临床严重的化脓性感染,严重威胁患者的生命安全。因此,针对胆管感染金黄色葡萄球菌 PVL 基因的检测及其流行病学的调查具有十分重要的意义。

在本研究中消化内科 5 年来从 815 份胆汁标本中分离出金黄色葡萄球菌 75 株,分离率与以往报道相似,且在所有分离的革兰阳性菌中居于前列,表明金黄色葡萄球菌或已成为胆管感染的主要革兰阳性球菌。75 株金黄色葡萄球菌中,25 株社区获得性感染菌株,50 株医院获得性感染菌株,表明笔者医院金黄色葡萄球菌引起的胆管感染多以院内获得性感染为主,但社区获得性感染呈现出增长的趋势,应予以临床重视。对所有金黄色葡萄球菌 PVL 基因检测发现,MSSA 菌株的 PVL 携带率为 24.4%,而 MRSA 菌株的 PVL 携带率为 53.3%,这与以往报道相似,表明 MRSA 仍是 PVL 携带的主要菌株,这也是导致其在胆管感染中发挥主要作用的原因之一<sup>[9]</sup>。30 株 MRSA 菌株均携带 mecA 基因,针对此点进行 SCCmec 分型

发现,Ⅲ型为 MRSA 主要的基因分型,其次为Ⅳ和Ⅱ型,未检出Ⅰ和Ⅴ型,这和国内报道一致<sup>[10]</sup>。这也充分表明了笔者医院消化内科胆管感染 MRSA 具备一定区域流行的特点——以Ⅲ型为主。而 PVL 阳性 MRSA 菌株或许作为未来消化内科胆管感染的又一新型的超级细菌,对其流行病学研究具有重要的意义。笔者研究发现,Ⅲ型和Ⅳ型为这种超级细菌的主要基因分型,未检测到Ⅱ型,这与胆管感染中整体的 MRSA 流行学存在差异,反映出胆管感染中 MRSA 的传播与携带 PVL 的能力存在一定的差异<sup>[11]</sup>。这提示在针对不同毒力和不同耐药的金黄色葡萄球菌的流行病学控制或应区别对待,对控制区域内 MRSA 胆管感染有着积极意义。

此外,笔者还针对胆管感染的 MRSA 菌株在社区获得性感染和医院获得性感染方面的流行病学进行调查发现,两者之间的 SCC 分型存在差异,这也表明了胆管感染 MRSA 菌株的来源方面或存在社区和医院内感染两种途径,且两者之间存在不同的流行特点。其中社区获得性 MRSA 主要以 SCCmec Ⅳ型为主,而医院获得性感 MRSA 则主要以 SCCmec Ⅲ型为主,这与以往报道有所不同<sup>[12]</sup>。

综上所述,消化内科胆汁分离的金黄色葡萄球菌比例不断升高的现象,给临床治疗由金黄色葡萄球菌导致的胆管感染带来挑战。在分子流行病学上,胆汁源性分离的 MRSA 菌株在本地区存在区域性流行,临床应该为此加强病原学监测,防止多重耐药菌株的出现。

#### 参考文献

- 1 薛峰,肖永红. 2006-2007 年 Mohnarin 胆汁培养病原菌构成与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2008,18(9):1248-1251
- 2 杨启文,徐英春,谢秀丽,等. 全国 10 所医院院内与社区感染常见

- 病原菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(9):1133-1138
- 3 Kawaguchiya M,Urushibara N,Yamamoto D,*et al.* Characterization of PVL/ACME-positive methicillin-resistant staphylococcus aureus (genotypes ST8-MRSA-Ⅳ and ST5-MRSA-Ⅱ) isolated from a university hospital in Japan[J]. Microbial Drug Resistance,2013,19(1):48-56
  - 4 黄辉,周建党,聂新民,等. MecA 基因在耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对  $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药中的作用[J]. 中南大学学报:医学版,2012,37(6):567-571
  - 5 程建平,曾浩,邹全明,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌基因诊断及多重 PCR SCCmec 基因分型方法的建立[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(11):2244-2247
  - 6 王爱玲,纪冰,孙万菊,等. 65 株临床分离 MRSA 的 SCCmec 基因分型及耐药性研究[J]. 检验医学,2013,28(5):357-361
  - 7 Kaur H,Purwar S,Saini A,*et al.* Status of methicillin resistant Staphylococcus aureus infections and evaluation of PVL producing strains in Belgaum, South India[J]. Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University,2012,01(02):43-51
  - 8 张传领,秦瑞雨,倪克明,等. 烧伤创面携带 Pantone-Valentine 杀白细胞素基因金黄色葡萄球菌的流行情况及基因分型[J]. 中华烧伤杂志,2013,29(5):473-476
  - 9 张丽红,王宏斌,王文娟,等. 社区获得性和医院获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 PVL 基因检测[J]. 中国微生态学杂志,2013,25(4):447-449
  - 10 陈迎晓,黄瑜,王晓东,等. 医院与社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的临床特点和耐药性的对比分析[J]. 中国全科医学,2013,16(1):93-94,104
  - 11 叶晓涛,卢月梅,马焕丽,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌杀白细胞素基因检测与耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(4):289-292
  - 12 栾一鸣,颜泽敏,黄海,等. 医院获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 57 株的葡萄球菌染色体 mec 基因盒基因分型及耐药性分析[J]. 上海医学,2013,36(1):19-22

(收稿日期:2014-09-16)

(修回日期:2014-10-20)

## 欢迎订阅 2015 年《医学研究杂志》

《医学研究杂志》(原名《医学研究通讯》)于 1972 年创刊,是由国家卫生和计划生育委员会(原卫生部)主管、中国医学科学院主办的国家级医学学术期刊。本杂志为“中国精品科技期刊”以及“领跑者 F5000——中国精品科技期刊顶尖论文”来源期刊,中国科技论文统计源期刊,中国科技核心期刊,世界卫生组织西太区医学索引(WRPIM)收录期刊。月刊。CN11-5453/R,ISSN1673-548X。

本杂志信息量大,装帧精美。每册定价 10 元,全年 120 元(含邮费)。国内外公开发行人。邮发代号:2-590。编辑部电话:010-52328677,010-52328678,010-52328679;传真:010-65230946。E-mail:xyz85637883@126.com。投稿网址: <http://www.yxyjzz.cn>。编辑部地址:北京市朝阳区雅宝路 3 号(邮编:100020)。