

金黄色葡萄球菌引起食物中毒的作用机制与其耐药性的研究进展

李彦媚¹ 赵喜红² 徐泽智³ 徐振波^{4 5△}

(1 广州医学院 广东 广州 510120 2 武汉工程大学 化工与制药学院 绿色化工过程省部共建教育部重点实验室 武汉 430073 ;
3 南海水产研究所 广东 广州 510300 4 华南理工大学 轻工与食品学院 广东 广州 510640 ;
5 美国马里兰大学生物医学科学系 巴尔的摩 21201)

摘要 葡萄球菌广泛分布于自然界中,如空气、土壤、水以及物体的表面,在人和动物的皮肤表面、鼻咽、肠道也常可发现葡萄球菌。大部分葡萄球菌是非致病菌,少数可引起人或动物致病,金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*,金葡菌)即为最主要的致病性葡萄球菌。金葡菌是一种革兰氏阳性球菌,是医院感染常见的病原体之一,同时也是引起食品污染和细菌性食物中毒的一种重要细菌,其产生的毒素可使人中毒,带来非常严重的公共卫生负担。本文拟对金葡菌的病原与病理学特性,金葡菌与食物中毒、抗生素滥用与金葡菌耐药性等方面做简要综述。

关键词 金黄色葡萄球菌 食品安全 细菌性食物中毒 肠毒素

中图分类号 R378.11 R595.6 文献标识码 A 文章编号 :1673-6273(2011)14-2786-07

Development of *Staphylococcus Aureus* in both Food-Borne Pathogen and Antibiotic Resistance

LI Yan-Mei¹, ZHAO Xi-hong², XU Ze-zhi³, XU Zhen-bo^{4 5△}

(1 Guangzhou Medical College, Guangzhou 510120, China; 2 Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430073, Hubei, China;
3 South China Fishery Institute, Guangzhou 510300, China;
4 College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China ;
5 Department of Microbial Pathogenesis, Dental School, University of Maryland, Baltimore, Maryland 21201, USA)

ABSTRACT: *Staphylococci* strains are widely distributed in nature, including air, soil, water and many other things, such as the skins of animals and human beings. Most of these organisms are non-pathogenic, however, some of them can also cause very severe diseases, of which, *Staphylococcus aureus* is the major one. Food samples contaminated by this organism will decay rapidly, in the mean time the a toxin named enterotoxin, which is produced by *S. aureus*, would result in severe food poisoning in human being and remains a leading reason for food-borne contamination. This study aims at giving a brief introduction to the development of *S. aureus* in the field of both food safety and antibiotic resistance.

Key words: *Staphylococcus aureus*; Food-borne bacteria; Antibiotic resistance; MRSA

Chinese Library Classification(CLC): R378.11, R595.6 **Document code:**A

Article ID:1673-6273(2011)14-2786-07

前言

金葡菌是引起人类食物中毒最常见的病原菌,在全球范围内具有很高的发病率和病死率,是全球公共卫生与医疗健康领域中的重要话题。金葡菌能分泌 20 多种毒性蛋白质,其产生的毒素主要有肠毒素、杀白细胞毒素、表皮剥脱毒素和和中毒休克综合征毒素-1,侵袭性酶类主要有血浆凝固酶、脱氧核糖核酸酶、脂肪酶、磷酸酶、透明质酸酶、胶原酶和溶纤维蛋白酶等。些毒素可引起全身非特异性炎症反应,可引起肺炎、伪膜性肠炎、心包炎等疾病,甚至会导致败血症、脓毒症等全身性感染,严重者可造成多器官功能障碍甚至死亡,其致病力的强弱主要取决于产生毒素和侵袭性酶的能力。

1 金葡菌的生物学与病理学特性

1.1 金葡菌的生物学特性

1.1.1 金葡菌的形态与染色特性 典型的金葡菌为球型,无芽胞、鞭毛,大多数均无荚膜,直径约为 0.5-0.8 μ m 左右,不能运动,在显微镜下可见其呈葡萄串状排列。金葡菌为革兰氏阳性菌的代表,衰老或死亡后可转为阴性。

1.1.2 金葡菌的培养特性 金葡菌对营养的要求不高,可在普通的培养基上良好生长,为兼性厌氧菌。金葡菌的最适生长温度为 35-37 $^{\circ}$ C,最适生长 pH 为 7.4。金葡菌在平板培养时菌落厚、有光泽,直径约为 1-2mm。

1.1.3 金葡菌的适应性 金葡菌具有很强的环境适应性,可耐受 70 $^{\circ}$ C 的温度 1h,80 $^{\circ}$ C 的温度 30min 而不被杀死,可在冷冻食物中不被冻死,在 15% 的氯化钠溶液和 40% 的胆汁中还可生长,故此它可在多种食物中生存。含有 50%-66% 蔗糖或者 5% 以上食盐的食品才可抑制其生长。

作者简介 李彦媚(1982-) 女 硕士研究生 研究方向 临床基因检测
△通讯作者 徐振波 邮箱 zhenbo.xu@hotmail.com
(收稿日期 2010-11-15 接受日期 2010-12-12)

1.1.4 金葡菌的生化特性 金葡菌可分解葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖等有机物质,产酸不产气。甲基红反应阳性,VP反应弱阳性。许多菌株还可分解精氨酸、水解尿素、还原硝酸盐、液化明胶。金葡菌具有较强的抵抗力,对磺胺类药物敏感性低,但对青霉素、红霉素等高度敏感。

1.1.5 金葡菌的分布 金葡菌在空气、水、灰尘中都可找到,在人体主要寄殖于鼻前庭粘膜、腹股沟、会阴部和新生儿脐带残端等部位,偶尔也寄生于口咽部、皮肤、肠道及阴道口等,50%以上健康人的皮肤上都有葡萄球菌的存在,30%-80%的人群为该病原菌的携带者^[1],人畜化脓性感染部位常成为污染源。

1.2 金葡菌的病理学特性

金葡菌是引起人类感染最常见的病原菌,在全球范围内具有很高的发病率和病死率。金葡菌能分泌20多种毒性蛋白质,其产生的毒素主要有肠毒素、杀白细胞毒素、表皮剥脱毒素和中毒休克综合征毒素-1,侵袭性酶类主要有血浆凝固酶、脱氧核糖核酸酶、脂肪酶、磷酸酶、透明质酸酶、胶原酶和溶纤维蛋白酶等。这些毒素可引起全身非特异性炎症反应,可引起肺炎、伪膜性肠炎、心包炎等疾病,甚至会导致败血症、脓毒症等全身性感染,严重者可造成多器官功能障碍甚至死亡。金葡菌致病力的强弱主要取决于产生毒素和侵袭性酶的能力。

1.2.1 金黄色葡萄球菌肠毒素 金黄色葡萄球菌肠毒素(Staphylococcal enterotoxins,SEs)主要是指在特定条件下由金葡菌所产生的一类结构相似、毒力相似、而抗原性各不相同的胞外单链小分子蛋白质。经典的SEs可依据其抗原性和等电点的不同分为SEA、SEB、SEC、SED、SEE等5种类型^[2],SEs可耐受100℃高温煮沸30min而不被破坏,能抵抗胃肠道中蛋白酶的水解作用,此外还具有的超抗原活性,属于超抗原蛋白,可以刺激非特异性T细胞增殖。

当金葡菌污染了含淀粉及水分较多的食品,如肉与肉制品、牛奶和奶制品等,在温度条件适宜时,经8-10h即可产生相当数量的SEs。SEs可导致中毒性休克及许多过敏和自身免疫疾病。无论是在发达的工业化国家和发展中国家,由SEs而引起的食物中毒一直威胁着人类健康,SEs是引起人类细菌性食物中毒的主要原因,其引起食物中毒的特征是潜伏期短,大约在进食后2-6h发作,一般还伴有恶心、呕吐、腹痛以及腹泻等症状。

SEs导致食物中毒症状的机制还未完全证实,Marrack,Kappler,Kortz和Kalland^[3-5]等人认为SEs并不直接作用于胃肠道的细胞,而主要是通过T细胞、其次是巨噬细胞、单核细胞、肥大细胞等产生的细胞因子和代谢产物的间接作用而导致呕吐和腹泻,此外,SEs的超抗原作用刺激T细胞增殖,导致宿主在感染初期IgM的合成受到抑制,加以单核巨噬细胞的消除功能障碍,细菌大量生长繁殖,产生内毒素,并使宿主对内毒素休克及心、肝坏死的敏感性增加,而大量的细胞因子可引起发热、减轻体重和渗透性失衡以至死亡。另外还可能是SEs随食物进入胃肠道,毒素与肠道神经细胞受体作用,并被吸收入血液后到达中枢神经系统刺激呕吐中枢,导致以呕吐为主的食物中毒。

1.2.2 金黄色葡萄球菌杀白细胞毒素 金黄色葡萄球菌杀白细

胞毒素(Panton-Valenti,PVL)是由金葡菌产生的细胞外双组份打孔细胞溶解毒素。PVL由F蛋白和S蛋白(LukF-PV、LukS-PV)两种蛋白质组成,分子量分别为34ku和33ku,两种组分各有不同的生物活性和功能,LukF-PV和LukS-PV蛋白之间有36%的氨基酸序列同源性,对人体的多形核白细胞(PMNs)和巨噬细胞具有高度的特异性。

产PVL的金葡菌毒力非常强,它可通过细胞凋亡和细胞坏死变性等方式对人的多形核细胞产生特异性的杀伤作用,从而导致人体皮肤软组织反复感染,产生慢性骨髓炎和坏死性肺炎。从罹患蜂窝组织炎、脓肿和疖肿等疾病的感染者身上获取的金葡菌PVL阳性率达50%-93%,引起甲沟炎的金葡球菌中PVL阳性率为13%。坏死性肺炎一般发生在先前健康的儿童或成人身上,多有感冒、高热、四肢肌肉痛严重、心动过速、咯血、血压降低等症状,有显著的白细胞减少、CRP异常增高、胸部X片显示纹理增多等现象,通常伴有渗出和空洞形成^[6]。坏死性肺炎的病情进展迅速,死亡率高,患者入院48小时死亡率为37%,最终死亡率达75%,而PVL阴性的金葡菌感染患者入院48小时死亡率仅为6%。

1.2.3 表皮剥脱毒素 金葡菌分泌的表皮剥脱毒素(Exfoliative toxin,ET)可引起葡萄球菌烫伤样皮肤综合征(Staphylococcal scalded skin syndrome,SSSS),约5%的金葡菌株可产生ET。目前已证实ET有A、B、C、D四种血清型,其中ETA和ETB与人类SSSS的发病有关^[7]。ETA和ETB的基因序列具有40%的同源性。ETA基因位于细菌染色体上,而ETB基因位于质粒上。ETA、ETB分别由242、246个氨基酸组成,分子量分别为26.9kDa、27.3kDa。

该皮肤病主要影响婴幼儿,但也可累及有肾功能衰竭或免疫缺陷的成年人。根据临床表现SSSS可分为局限型和全身型。Yamasaki^[8]发现从临床表现为局限型的病例中分离出来的金葡菌以产ETA为主,而ETB则与全身型相关。局限型也即大疱性脓疱疮,患者的表现为局部浅表的松弛性大疱,疱液无色透明呈脓性,疱周皮肤正常且无全身系统症状,全身型患者的表现为皮肤弥漫性红斑再加出现松弛性大疱,皮肤大面积剥脱后留有潮红的糜烂面,似烫伤样的外观。

1.2.4 中毒休克综合征毒素-1 中毒休克综合征毒素-1(Toxic shock syndrome toxin-1,TSST-1)是由噬菌体群金葡菌产生的外毒素,是一种多肽蛋白质,分子量约为22kDa,DNA序列有708对碱基,585对碱基编码194个氨基酸残基,等电点为7.2,属于致热原性超抗原家族,它的超抗原活性很强^[9]。TSST-1由TSST-1基因编码,该基因位于细菌染色体上,当金葡球菌携带的TSST-1基因被激活时即产生TSST-1毒素,该基因仅存在于5%-15%的金葡菌株之中。TSST-1可导致机体发热、脱屑性皮疹及休克,并增加机体对内毒素的敏感性,感染后可引起机体多个器官系统的功能紊乱。

TSST-1和SEA有34%的氨基酸同源,存在许多相似的免疫效应。Todd^[10]等于1978年首次介绍TSS并报道了典型TSS病例,认为此病是由金葡菌引起的。1981年从TSS相关的金黄色葡萄球菌中分离到与发病密切相关的毒素中毒休克综合征毒素-1,是TSS最主要的致病因子。20世纪80年代早期,TSS

多见一于经期使用月经塞的妇女及术后或创伤后感染。从与经期相关的 TSS 患者体内分离的金葡菌,几乎全部产生 TSST-I^[11]。现在 TSS 不仅在年轻月经期妇女中发生,而且非月经期的妇女、男性及儿童也可发病。Recsei^[12]首先发现了非月经性 TSS 即流行性感冒相关性 TSS 和顽固性红斑脱皮综合征,前者所致感染虽然轻微,无明显发热,但在儿童中死亡率极高,可达 90%,后者是一种发生于艾滋病患者的严重金黄色葡萄球菌性 TSS,病程持续 70d 以上,常导致死亡。20 世纪 80 年代以后的文献报道,烧伤、鼻部手术后、脓肿、皮肤移植、外科手术发生感染后也能并发 TSS。

2 金葡菌与细菌性食物中毒

在食品安全领域的众多问题中,食源性疾病的发病率居各类疾病总发病率的前列,其中最常见的是细菌性食物中毒问题,由于污染食物的病原体种类繁多,故此其发生率居高不下。食物中毒是指人体因食用了含有致病性微生物及其毒素、化学性有害物质而出现的非传染性的中毒,包括化学性食物中毒与微生物性食物中毒,其中后者根据致病微生物类群不同,又分为细菌性食物中毒和真菌性食物中毒。葡萄球菌食物中毒是因进食含有葡萄球菌肠毒素的食物而引起的急性疾病。

2.1 金葡菌的中毒现状

据美国疾病控制中心报告,在美国由金葡菌引起的食物中毒数量仅次于大肠埃希菌,居第 2 位,占细菌性食物中毒的 33%,而在加拿大则占 45%,在某些欧洲国家如匈牙利、芬兰等则占食物中毒事件的 50%以上。

研究显示,在 1983-1997 年之间,美国每年约平均有 18.5 万人因葡萄球菌而发生中毒,其中有 1750 人住院,2 人死亡,引起的医疗损失达 15 亿美元。在欧洲,15 个欧盟国家在 1993-1998 年之间共有 926 起葡萄球菌中毒事件。根据日本卫生部的研究显示,在 1980-1999 年之间日本共有 2525 起由葡萄球菌引起的中毒报道,受感染人数达 59964 人,其中 3 人死亡;而 2000 年发生的“雪印奶粉”事件,14000 多人受感染^[13]。在我国,每年由金葡菌引起的食物中毒事件也是屡见不鲜,一般金黄色葡萄球菌在食物样品中的分离率在 5%以下,如广州、深圳和佛山的检出率分别为 3%(6/195)、3%(9/340)和 4%(10/257)^[14-16];吉林报道为 2.45%(22/898),其中 21 株来自速冻食品,1 株来自乳制品^[17];河南则为 4.17%(15/356)^[18]。在西安和扬州分别为 2%(11/696)、2.72%(26/957)^[19,20]。在某些地区报道中,金葡菌的检测率较高,如河北报道为 21.2%(108/510)^[21],北京则为 21.2%(44/204),其中生奶生肉与水产品检出率较高,均超过 30%,而在 44 株金葡菌中有产肠毒素的达 27 株,占 61%^[22]。在杭州、南京和潮州,检出率达 15%(8/53)、20%(2/10)和 25%(14/56)^[23-25]。在广西、宁波、银川和台州,分离率均超过 30%,分别为 30%(12/40)、39%(13/34)、30%(12/40)和 33%(31/89)^[26-29]。金葡菌在不同地区的分离检出率差别较大,除了调查还不够系统和全面外,各地不同的饮食习惯和食品类型也是主要原因之一,此外,菌株差异也可能是引起差别的原因之一。

2.2 金葡菌的传播

金葡菌引起食物中毒的传染源,主要包括被金葡菌污染了的动物或人,被污染食品的危害程度与肠毒素的数量呈正相

关。

一般影响肠毒素形成的条件包括:细菌污染的程度,如污染程度严重,即单位食物中含大量金葡菌并快速繁殖,则易于形成毒素;保存温度,如食物存放的温度越高,则产毒时间越短;保存环境,食物存放的环境通风不良易形成肠毒素;食品成分,如含蛋白质丰富、水分多,同时含一定量淀粉的食物,或含油脂较多的食物,由于细菌更容易滋生,因此肠毒素易于生成。在季节分布方面,金葡菌一般多见于春夏季。在污染食品种类方面,如上所述,一般营养丰富、水分充足以及一些含淀粉较多的食品,如各类生肉制品、牛奶和乳制品、速冻食品、肉、蛋及蛋制品及熟食等,有利于金葡菌的大量繁殖。例如在温度条件适宜时,污染的金葡菌在 8-10 小时内即可积累相当数量的肠毒素,而肠毒素可耐受 100℃煮沸 30 分钟而不被破坏。

根据我国各地的研究和调查报道,金葡菌主要在生肉、牛奶和各种乳制品、速冻食品以及熟食等发生传染,其所占比例分别为 38%、20%、16%和 14%;其余在豆类、蔬菜类及水产品中也有报道。生肉中金葡菌主要来源于肉类来源即动物本身、加工人员、加工处理方法及环境。生肉在食物链中对食源性致病菌的传播起重要的作用,因为受污染的生肉往往成为其它产品(如熟食熟肉制品等)污染的重要来源^[30]。一般不同的动物种属、饲养环境和销售环境,分离率也会有一定差异。而相比之下,生肉制品由于加工工序较多,因此污染状况高于生鲜肉(T)。在牛奶和各种乳制品中,金葡菌的检出率在不同国家及地区有较大的差异,一般波动在 12%-79%之间^[20],在我国一般在 15%-38%^[20,21,30,31,32]。污染来源主要包括:1、患有乳腺炎的奶牛,据报道,世界上约有 1%-2%的奶牛患有各种类型的乳腺炎,而金葡菌是引起乳腺炎的重要病原菌,这种患有乳腺炎的奶牛则对生鲜乳产生污染^[33]。2、贮藏环境与加工处理,在生鲜乳挤出后,由于贮藏罐、保存环境等消毒不合格,会造成生鲜乳的二次污染;据报道,奶桶和农场奶罐中金葡菌的污染率分别为 65.9%和 65.4%^[21];这些原因共同导致了生鲜乳中金葡菌的高检出率。在冷冻食品中,由于细菌在低温下仍能生存,据报道,冰棍中金葡菌可存活 2 年以上,而在模拟冰淇淋中可存活 7 年之久^[21,34]。因此冷冻食品一旦污染金葡菌,则可长时间带菌,在食用后引起中毒。

3 抗生素滥用及细菌耐药性

随着一种半合成青霉素-甲氧西林在 1960 年被首次应用于临床以来,仅仅一年之后,在英国就发现了首例耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistance Staphylococcus aureus, MRSA),之后 MRSA 以惊人的速度在世界范围内蔓延,成为医院内最常见的病原菌,由 MRSA 引起的感染在世界许多国家具有很高的发病率和病死率。从 20 世纪 90 年代开始,院内 MRSA 有向社区扩散的趋势,社区感染 MRSA 的现象与报道日益增多,这种 MRSA 经常在没有医院经历和院内感染可能的健康人群分离获得,而且呈日益增长的趋势^[35]。

3.1 金葡菌的耐药状况

目前,MRSA 已经在世界范围内普遍存在,在院内感染革兰氏阳性菌高居首位。同时,其分离率在大多数地区呈逐年增加的趋势。

在美国,1975年MRSA在临床分离出的金葡菌中仅占2.4%,而1991年则迅速增至29%,2002年则占到30%-50%^[36];在1997-2000年间,血液中MRSA的分离率从22.4%上升至34.4%^[37]。在2001年MRSA已占有院内感染的25%^[38]。在欧洲,MRSA的分离率差别较大,在荷兰、丹麦、瑞典等少数国家,感染率较低(约10%)^[39],但在其它国家,则普遍较高,如在葡萄牙和意大利,MRSA在临床分离出的金葡菌中占50%^[40]。在我国,近年来的报道也一般在40%-70%之间,各个地区和医院MRSA检出率都明显有逐年增加的趋势。广州地区12家医院在2000-2003年间,MRSA的检出率分别为50.8%、65.0%、61.1%和70.8%,呈递增趋势^[41]。深圳2005年MRSA分离率为67.6%^[42]。上海地区MRSA的分离率在80年代约为24%^[43],近年来升至60%-65%,湖北地区MRSA的分离率从1996年的16.9%升至2002年的31.0%^[44]。在我国的住院患者中,每年约有5%-10%发生MRSA院内感染,总体呈上升的趋势,这些患者因感染MRSA而不得不延长住院时间,从而支付更多的医疗费用^[45]。MRSA以其多重耐药的特性不但增加了治疗的复杂性和难度,也增加了抗生素的消耗量和医疗费用。

3.2 金葡菌的耐药机制

除对 β -内酰胺类抗生素耐药外,临床分离到MRSA还呈现对多种抗生素的耐药表型。其耐药性主要来源有:一、由质粒介导,通过耐药基因转导、转化或其他类型的重组插入,导致各种耐药表型,属获得性耐药;其二,由一种具有移动能力的新型基因元件-葡萄球菌染色体盒(Staphylococcal Cassette Chromosome, SCCmec)携带mecA或各种耐药基因,通过特异性重组作用插入金葡菌的染色体中,并由此引起耐药。该机制为MRSA耐药的主要机制,在此加以详细介绍。

3.2.1 SCCmec SCCmec是SCC家族中最大且最重要的一员,是一种携带mecA基因的新型移动基因元件,能作为载体在葡萄球菌属中交换基因信息。S根据发现时间的先后,SCCmec分为、、、、五种类型和多种亚型。SCCmec携带三个基本的基因元件:(1)ccr复合物(ccr gene complex),包括编码位点特异性重组酶基因ccrA和ccrB,以及在其周围的一些开放阅读框(ORFs)。其中位点特异性重组酶CcrA和CcrB通过位点特异性重组作用,可以使多种耐抗生素和耐重金属基因嵌入到SCCmec中;同时不同类型的重组酶CcrA和CcrB识别相应的SCCmec,通过精确的切除和整合作用,使SCCmec整合到葡萄球菌属的染色体上,使不同的葡萄球菌能交换基因信息,适应不同环境和抗生素选择压力。

3.2.2 mecA MRSA之所以表现对 β -内酰胺类抗生素耐药原因在于MRSA携带了mecA基因,mecA基因编码一种新型的青霉素结合蛋白(penicillin binding protein PBP)PBP2a(78 KD)。PBP是一种膜结合转肽酶,催化胞壁酸短肽链的连接,从而构成细胞壁肽聚糖的多层网状立体结构。正常金葡菌内源性的PBP主要有5种,即PBP1(87 KD)、PBP2(80 KD)、PBP3(75 KD)、PBP3'(70 KD)和PBP4(41 KD)。 β -内酰胺类抗生素与PBP结合,使其丧失催化活性,从而抑制细胞壁合成,阻止细菌繁殖。但与金葡菌内源性的PBP相比,PBP2a对 β -内酰胺类抗生素的亲合力很低,因此抗生素无法结合并作用于PBP2a。当

其他PBP被抑制时,PBP2a则能起PBP的作用,持续催化合成细胞壁,使细菌得以生存。PBP2a的结构高度保守,目前报道的所有MRSA均可表达具有相同抗生素结合特性的PBP2a。除去其它抑制 β -内酰胺类抗生素作用的机制,MRSA仅通过PBP2a便能持续合成细胞壁,从而使MRSA表现对 β -内酰胺类抗生素耐药。

3.2.3 其它耐药基因 除mecA基因外,不同类型的SCCmec上还存在多种携带耐药基因的质粒和转座子,介导MRSA对多种抗生素的耐药。如型SCCmec在J3区域携带质粒pUB110,型SCCmec则除质粒pUB110外还携带插入序列IS1182与转座子Tn554,而型SCCmec大小为67kb,为携带最多耐药基因的染色体盒,其J1区域虽相对较小,但携带多个耐药基因。

4 金葡菌感染的治疗与防治

4.1 金葡菌治疗

鉴于MRSA菌株携带mecA耐药基因,故此不论金葡菌对 β -内酰胺类抗生素体外药敏结果如何,均应作为耐药处理,在治疗上应避免选用 β -内酰胺类抗生素,包括青霉素类、头孢菌素、单环菌素类、碳青霉烯类、青霉素+青霉素酶抑制剂类等药物。同时,某些类别的MRSA(如SCCmec III型)为多重耐药菌,除对 β -内酰胺类抗生素耐药外,还表现对多种抗生素耐药。因此对金葡菌的治疗具有独特性,其用药原则包括^[46]:(1)根据药敏结果结合临床进行科学用药,采用PK/PD(药代动力学/药效学)及最低抑菌浓度相结合的理论对患者进行用药;(2)一般情况下尽量不用或少用广谱抗菌药,对于重症和混合多重耐药菌株感染使用联合用药方案;(3)谨慎使用头孢菌素类抗生素,尤其是第三代头孢菌素。

目前治疗MRSA的主要药物有(1)糖肽类:糖肽类抗生素万古霉素和teicoplanin一直被认为是治疗MRSA最有效的方法,临床上主要应用于革兰阳性菌的治疗。其作用机制是通过与一个或多个肽聚糖合成中间产物D-丙氨酰-D-丙氨酸结合形成复合物,阻断肽聚糖合成中的转糖基酶、转肽酶以及D-D羧基酶作用,使细胞壁无法合成,进而造成细菌死亡。

1996年日本报告了第一例对万古霉素敏感性下降的金葡菌,相隔一年后,美国又分离到两例对万古霉素显示中介耐药的金葡菌(MIC = 8 μ /ml),随后,在欧洲与亚洲多个国家均有相继报道。2002年夏天,美国密歇根州一妇女在截肢手术后感染耐万古霉素金黄色葡萄球菌(Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus, VRSA),为世界上首次报道^[47],随后在宾夕法尼亚州(2002)与纽约州(2004)又相继报道了2例VRSA感染,对治疗MRSA的最后一道防线提出了严峻的挑战,引起了世界医学界的高度重视。万古霉素的失效,使另一类糖肽类抗生素teicoplanin日渐受到关注。该药对VRSA有一定的抑菌作用,与万古霉素相比其半衰期更长,然而研究报道金葡菌对其更易产生耐药变异株^[48],因此建议不将teicoplanin作为治疗MRSA的首选药物,但万古霉素治疗效果不佳时,或出现VRSA菌株时可考虑使用。不过,目前在国内尚未有VRSA或VISA的报道,提示万古霉素依然是治疗MRSA感染的最有效的药物。(2)利奈唑胺:一种唑酮类药物,在肽链合成的初始阶段起作

用,交叉耐药现象较少,2001年在英国被批准用于临床,目前在临床上广泛应用革兰阳性菌的广谱抗菌药(包括MRSA)。但花费较高,同时有引起神经病变的副作用。(3)链阳菌素类:如达福普汀(Dalfopristin),喹努普汀(Quinupristin),该类抗生素可与细菌70s核糖体的50s亚基不可逆地结合,抑制细菌蛋白质的合成,对革兰阳性菌有较强的杀菌效果,治疗MRSA的成功率为64%-76%,与利奈唑烷联合可应用于治疗VISA感染;但常常导致肠杆菌的重复感染,且副作用较高。(4)脂肽类:如达托霉素(Daptomycin),为广谱的治疗革兰氏阳性菌抗生素,疗效较高,同时毒副反应和耐药性较低,无交叉耐药。

4.2 金葡菌感染的预防

对待金葡菌院内感染的问题,应以防治控制为主;由于菌株的来源、患者的年龄性别、院内环境、侵袭性操作和入侵损伤、不卫生的饮食和医用器械,以及抗生素的滥用等等,都是MRSA院内感染的危险因素。因此,针对MRSA的防治控制措施,应从以上几个方面着手考虑。

4.2.1 加强医院感染的控制 防止MRSA的传播,首先要对其传染来源进行隔离控制,感染携带MRSA的患者或医务人员是其传播的主要来源,通过他们和其他人员的接触,可能会导致MRSA在医院内的定植和感染,此外医疗器械的使用也可导致MRSA的传播。故此医疗机构必须坚持基础的感染控制措施,应坚持对环境卫生和医疗器械进行彻底消毒,加强对医务人员操作和卫生意识的规范,对病人或疑似病人采取正确的隔离方式,医疗器械应进行严格的消毒,早期检查带菌者,医院应加强对新入院患者的检查,尤其是ICU、烧伤病区、I呼吸病区及小儿患者。这些措施均可有效降低传播和交叉感染的发生。

4.2.2 对易感人群的保护 研究表明,MRSA的感染率与患者的性别、年龄、病情和免疫状态(如并发症、危重症、多脏器功能不全、慢性病如糖尿病等)等有关,若感染MRSA,则加重病情,延长住院时间和增加治疗难度,因此应采取保护性隔离的措施,避免与MRSA携带者接触的机会。同时,处于危险因素下或有感染风险的正常人,也属于易感人群,对此应通过消除潜在危险因素或是提高自我保护意识,来避免MRSA的感染。

4.2.3 对MRSA的监测和流行病学研究 开展全面的院内MRSA的监测工作,包括患者、医护人员和探视人员携带MRSA的情况,医院环境和医疗器械等的监测。通过长期的监测,可以掌握MRSA的分布特点、危险因素和流行规律,可以对MRSA院内感染的发生和进展进行预测,从而为控制和预防提供科学依据。

4.2.4 合理使用抗生素 从长远来说,一切细菌耐药性的根本来源都是抗生素的使用,尽可能减少其滥用,对防止耐药性的传播和变异发展,具有重大意义。在治疗金葡菌感染的过程中,要合理选择和使用抗生素,可借助药敏结果等辅助手段。在选择抗生素时应慎重,以免产生MRSA菌株。如对大手术后预防深部金葡菌感染,使用第一代、第二代头孢菌素为好。第三代头孢菌素抗葡萄球菌效果反而不如第一代的好。第三代头孢菌素的长期使用与MRSA的耐药率呈平行关系。对分离菌株进行药敏试验,必要时可进行分子生物学分型。

另外,开展MRSA耐药性以及抗生素使用种类和数量的监测,能进一步掌握了解MRSA的耐药状况,从而制订更加科学合理的抗生素治疗方案。

4.2.5 免疫学方法 金葡菌疫苗接种可提升体内特异性抗体滴度,同时也增加机体细胞免疫力,与抗生素有协同作用,能降低抗生素所产生的选择压力,延缓耐药菌的产生。但由于金葡菌疫苗为灭活全菌疫苗,含有很多不相关的和有毒的成分,毒副反应较大,使临床应用受限。研究者们也在积极致力于新型疫苗的研制。

5 结语

当前,关于金葡菌的研究一直成为临床医学与食品科学领域中的热点;总的来说,研究方向不外乎与临床医院感染相关的耐药和病原性^[49-54],与食品科学相关的细菌性食物中毒与食品微生物快速检测。作为细菌性食物中毒的重要致病菌以及与医院感染和抗生素耐药相关的超级细菌,对金葡菌在食品安全领域中的细菌性食物中毒与抗生素滥用问题引起的耐药菌的研究有待进一步深入与发展。

参考文献(References)

- [1] Atanassova V, Meindl A, Ring C. Prevalence of staphylococcus aureus and staphylococcal Enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham—a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR[J]. Int J Food Microbiol, 2001, 68(1-2):105-113
- [2] Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus[J]. Clin Microbiol Rev, 2000, 13(1):16-34
- [3] Marrack P and J Kappler. The staphylococcal enterotoxins and their relatives[J]. Science, 1990, 248:705-711
- [4] Kotzin BL. Super antigens and their Potential role in human disease[J]. Adv Immunol, 1993, 54:99-166
- [5] Kalland T. Staphylococcal enterotoxins: Application for targeted immunotherapy[J]. Zbl Bakt, 1994, suppl 27:211-224
- [6] Morgan MS. Diagnosis and treatment of Panton-Valentine leukocidin (PVL)-associated staphylococcal pneumonia[J]. Antimicrobial Agents, 2007, 30:289-296
- [7] Iwatsuki K, Yamasaki O, Morizane, et al. Staphylococcal cutaneous infections: invasion, evasion and aggression[J]. Dermatological Science, 2006, 42(3): 203-214
- [8] Yamasaki O, Yamaguchi T, Sugai M, et al. Clinical manifestations of staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(4): 1890-1893
- [9] Deresiewicz RL, Wov J, Chan M, et al. Mutations affecting the activity of toxic shock syndrome toxin-1[J]. Biochem, 1994, 33(43):12844-12851
- [10] Todd JK, Kapral FA, Fishaut M, et al. Toxic shock syndrome associated with page 1 staphylococci[J]. Lancet, 1978, 2:1116-1118
- [11] Bonventre PF, Weckbach L, Harth G, et al. Distribution and expression of toxic shock syndrome toxin 1 gene among staphylococcus aureus isolated of toxic shock syndrome and non-toxic shock syndrome origin[J]. Rev Infect Dis, 1989, 11(Sup.1):S90
- [12] Reese P, Kreiswirth B, Oreilly M, et al. Regulation of exoprotein gene expression in staphylococcus aureus by agar [J]. Mol Genet, 1986, 202(1): 58-61
- [13] Alarcon, B., Vicedo, B., & Aznar, R. PCR-based procedures for detec-

- tion and quantification of *Staphylococcus aureus* and their application in food[J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100 (2), 352-364
- [14] 张健,邓志爱,李钊华等. 广州市市售食品食源性致病菌污染状况调查[J]. 热带医学杂志,2007,7(8):804-806
Zhang Jian, Deng Zhi-ai, Li Chuan-hua. Investigation on the Food-borne Pathogen Contamination in Commercial Food Products in Guangzhou City[J]. Journal of Tropical Medicine, 2007,7(8):804-806 (In Chinese)
- [15] 贺连华,吴平芳,刘涛等. 深圳市熟食中食源性致病菌污染状况的调查研究[J]. 中国热带医学,2005,5(2):537-538
He Lian-hua, Wu Ping-fang, Liu Tao, et al. Analysis of results in sterilization of table wares in restaurants of Shenzhen City [J]. China Tropical Medicine, 2005,5(2):537-538(In Chinese)
- [16] 梁景涛,余淑冰.糕点中金黄色葡萄球菌的污染状况及其理化特性分析[J]. 广东卫生防疫, 2001,27(4) : 87-89
Liang jing-tao, Yu shu-bing.Cakes in *Staphylococcus aureus* and its physical and chemical characteristics of pollution [J]. Guangdong Journal of Health and Epidemic Prevention, 2001,27 (4) : 87-89(In Chinese)
- [17] 杨修军,刘桂华,孔祥云等. 2002~2007年吉林省食品中食源性致病菌监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(7): 1400-1402
Yang Xiu-jun, Liu Gui-hua, Kong Xiang-yun,et al.Result analysis of food borne pathogens in food in Jilin Province during 2002~2007[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008, 18 (7): 1400-1402(In Chinese)
- [18] 陈丽颖,苗丽,王亚宾等. 河南省部分出口食品微生物检验结果与分析[J]. 中国食品卫生杂志. 2008,20(5): 431-433
Chen Li-ying, Wang Ya-bin, Jin Yue. Analysis on microbiological Examination in Export Foods in Henan Province [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2008,20(5): 431-433(In Chinese)
- [19] 相应娣,许西爱,肖红卫. 食品中检出金黄色葡萄球菌的分析报告[J].职业与健康,2005, 21(2): 215-216
Xiang ying-di, Xu xi-ai, Xiao Hong-wei. *Staphylococcus aureus* in food analysis report[J]. Occupation and Health, 2005, 21(2): 215-216 (In Chinese)
- [20] 巢国祥,焦新安,钱晓勤等. 扬州市食品中 7 种食源性致病菌污染状况及耐药性[J]. 研究中国食品卫生杂志,2006,18(1):23-25
Chao Guo-xiang, Jiao Xi-nan, Qian Xiao-qin, et al.Contamination Status and Drug Resistance of Foodborne Pathogens in Yangzhou[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2006,18(1):23-25(In Chinese)
- [21] 索玉娟,于宏伟,凌巍等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况研究[J]. 中国食品学报 2008, 8, 3: 88-93
Suo Yujuan, Yu Hongwei, Ling Wei, et al. Analysis on the Contamination of *Staphylococcus Aureus* in Food[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2008, 8, 3: 88-93(In Chinese)
- [22] 张兰荣,王连秀,张文利. 食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及耐药性分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2004,16(1):35-36
Zhang lanrong, Wang lianxiu, Zhang wenli,et al.Contamination and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2004,16(1):35-36(In Chinese)
- [23] 方叶珍,徐丹戈,包芳珍等. 2006 年杭州市江干区食源性致病菌污染状况分析[J]. 中国卫生检验杂志. 2008,18(3):488-490
Fang Ye-zhen, Xu Dang-e, Bao Fang-zhen. Analysis of contamination status of foodborne pathogen in Jianggan District of Hangzhou City in 2006 [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008,18 (3):488-490(In Chinese)
- [24] 江晓,丁洁,陈晓蔚. 2005-2006 南京市食品致病菌污染分析[J]. 预防医学情报杂志. 2008,24:16-18
Jiang Xiao, Ding Jie, Chen Xiao-wei. Analysis on Contamination Status of Food-borne Pathogen in Nanjing From 2005 to 2006[J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2008,24:16-18(In Chinese)
- [25] 林秋云,杜光文,曾树权等. 潮州市食品中食源性致病菌污染状况及耐药性监测结果[J]. 中国热带医学,2008,8(6):1015-1017
Lin qiuyun, Du guangwen, Zeng shuquan, et al. Status of contamination of foods with food-borne pathogenic bacteria and results of monitoring of drug resistance in Chaozhou City [J]. China Tropical Medicine, 2008,8(6):1015-1017(In Chinese)
- [26] 李秀桂,吕素玲,唐振柱等. 市售速冻米面制品微生物污染状况调查[J]. 应用预防医学,2007,13(3): 146-148
Li xiugui, Lu suling, Tang zhenzhu, et al. Microbial contamination of frozen rice products marketed Survey [J]. Journal of Applied Preventive Medicine, 2007,13(3): 146-148(In Chinese)
- [27] 于梅,徐景野,扬元斌. 速冻食品中金黄色葡萄球菌的检出与存活情况[J].现代预防医学,2004,31 (1):104-105
Yu mei, Xu jingye, Yang yuanbin. Frozen food in the detection of *Staphylococcus aureus* and survival [J]. Modern Preventive Medicine, 2004,31 (1):104-105(In Chinese)
- [28] 郝琼,谢明英,闫立群等. 银川市市售食品食源性致病菌监测结果分析[J]. 宁夏医学杂志, 2008,30(3):. 273-274
Hao qiong, Xie mingying, Yan liquan, et al. Yinchuan City Commercial Food Surveillance of foodborne pathogens[J]. Ningxia Medical Journal, 2008,30(3):273-274(In Chinese)
- [29] 郑官增,裘丹红,沈伟伟等. 5 类市售食品 5 种致病菌污染状况的主动监测. 生检验杂志. 2006,16(12):1513-1515
Zheng guaizeng, Qiu danhong, Shen weiwei, et al. Category 5 of 5 commercially available pathogen contamination of food in the active monitoring [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006,16(12):1513-1515(In Chinese)
- [30] 陈倩,骆海朋,赵春玲等. 北京市食品中 5 种食源性致病菌污染状况调查研究[J]. 中国卫生检验杂志. 2003,13(5): 570-571
Chen qian, Luo haipeng, Zhao chunling, et al.5 kinds of food contamination of foodborne pathogens in research,Beijing[J] Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2003,13(5): 570-571(In Chinese)
- [31] 高玉春,巢国祥. 2005 年扬州市食源性致病菌污染状况研究[J].江苏预防医学,2006,17(4): 34-36
Gao Yu-chun, Chao Guo-xiang. Contamination status of food-borne pathogens in food during 2005, Yangzhou [J]. Jiangsu Journal of Preventive Medicine, 2006,17(4): 34-36(In Chinese)
- [32] 杨红,刘桂华,龚云伟等. 食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及检测方法[J]. 中国卫生工程学, 2006,5(2): 107-108
Yang hong, Liu guihua, Gong yunwei, et al. *Staphylococcus aureus* in food contamination and detection methods [J]. Chinese Journal of Public Health Engineering, 2006,5(2): 107-108(In Chinese)
- [33] Minor.T.E, et al. *Staphylococcus aureus* and staphy lococal food intoxication, A review . staphy lococci in dairy foods [J] . J. Milk Food Technol, 1972, 35 (2) : 77-82

- [34] 徐景野,傅小红,张恩敏等. 冷冻状态下微生态中金黄色葡萄球菌的存活极限观察[J].中国医学检验杂志,2001,2(2):107
Xu jingye, Fu xiaohong, Zhang enmin, et al.Frozen state of microbial survival of Staphylococcus aureus in the limit of observation [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine,2001,2(2):107(In Chinese)
- [35] Hardy K J, Hawkey P M, Gao F, et al. Methicillin resistant Staphylococcus aureus in the critically ill [J]. Br J Anaesth, 2004, 92(1): 121-130
- [36] 朱德妹,汪复,张婴元. 2004 年上海地区细菌耐药性监测[J]. 中国抗感染化疗杂志 2005 5(4) :195-200
Zhu De-mei, Wang Fu, Zhang Ying-Yuan.Surveillance of bacterial resistance from hospitals in Shanghai in 2004 [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2005, 5(4):195-200(In Chinese)
- [37] Sievert D M, Boulton M L, Stoltman G, et al. Staphylococcus aureus resistant to Vancomycin-United States.2002 [J]. MMWR, 2002, 51 (26): 565
- [38] Bo Shopsin, Barry N K. Molecular epidemiology of methicillin resistant Staphylococcus aureus [J]. Emerg Infect Dis, 2001, 7(2): 323
- [39] Shorr A F. Epidemiology of staphylococcal resistance [J]. Clin Infect Dis, 2007, 45(Suppl 3): S171-S176
- [40] Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999 [J]. Clin Infect Dis, 2001, Suppl 2: 114-132
- [41] 李红玉,李国成,潘昆贻等. 2000-2003 年广州地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药变迁及治疗对策[J].广东药学 2005 15 31-33
Li Hong-yu, Li Guo-cheng, Pan Kun-yi.Resistance Changes and treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Guangzhou during 2000 -2003 [J]. Guangdong Pharmaceutical Journal, 2005,15: 31-33(In Chinese)
- [42] 徐小平,高霞,池晓霞等. 葡萄球菌属和肠球菌属耐药性监测研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(3):324
Xu Xiao-ping, Gao Xia, Chi Xiao-xia, et al. Surveillance of Antimicrobial Resistance in Staphylococcus spp and Enterococcus spp [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2006, 16(3):324 (In Chinese)
- [43] 汪复,朱德妹. 上海地区细菌耐药性监测[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2002, 2(1):129
Wang fu, Zhu demei.Surveillance of bacterial resistance in Shanghai [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2002, 2(1):129
- [44] 申正义,孙自镛,王洪波. 湖北地区临床细菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(2):91
Shen zhengyi, Sun ziyong,Wang jiangbo.Surveillance of Clinical Bacterial Resistance in Hubei Area[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2002, 12(2):91(In Chinese)
- [45] 吕星,郭文学,王淑香等. 天津市某医院 2002~2003 年临床分离金黄色葡萄球菌耐药谱及 MRSA 流行趋势分析[J].中国感染控制杂志 2006 5(2) :172-173
Lv xing, Guo wenxue, Wang shuxiang, et al. Analysis on the drug resistant pattern of clinical-isolated Staphylococcus aureus and MRSA epidemic trends in a hospital of Tianjin between 2002 and 2003 [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2006, 5(2): 172-173(In Chinese)
- [46] 邹红波,江凌晓. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌院内感染研究进展[J]. 实用医学杂志 2008 24(8) :1280-1282
Zou hongbo, Jiang lingxiao. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus nosocomial infection Progress [J]. The Journal of Practical Medicine, 2008 24(8) :1280-1282(In Chinese)
- [47] Chang S, et al. Infection with vancomycin-resistant Staphylococcus aureus containing the vanA resistance gene [J]. N Engl J Med, 2003. 348: 1342-1347
- [48] Charlesworth R, Warner M, Livermore DM, et al. Comparison of four methods for detection of teicoplanin resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J].J Antimicrob Chemother, 2006, 58 (1): 186-189
- [49] Xu Z, Shi L, Zhang C, et al. Nosocomial infection caused by class 1 integron-carrying Staphylococcus aureus in a hospital in South China [J]. Clin Microbiol Infect, 2007, 13: 980-984
- [50] Xu Z, Shi L, Alam MJ, et al. Integron-bearing methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in South China, 2001-2004 [J]. Fems Microbiol Lett,2008, 278: 223-230
- [51] Xu Z, Li L, Alam MJ, et al. First confirmation of integron-bearing methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. Curr Microbiol, 2008, 57: 264-268
- [52] Xu Z, Li L, Shirtliff ME, et al. Occurrence and Characteristics of Class 1 and 2 Integrons in Pseudomonas aeruginosa Isolates from Patients in Southern China[J]. J Clin Microbiol,2009, 47: 230-234
- [53] Xu Z, Li L, Shirtliff ME, et al. First report of class 2 integron in clinical Enterococcus faecalis and class 1 integron in Enterococcus faecium in South China[J]. Diag Microbiol Infect Dis, 2010, 68: 315-317
- [54] Xu Z, Li L, Shirtliff ME, et al. Resistance class 1 integron in clinical methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in Southern China, 2001-2006. Clin Microbiol Infect (DOI: 10.1111/j. 1469-0691. 2010.03379.x) (2010)