

高湿地区不同海拔人群鼻腔 *nuc-mecA* 基因定植研究*

胡娟¹, 薛怀裕¹, 呼永河²

(1. 成都军区临床医学检验中心, 成都 610083; 2. 成都军区总医院, 成都 610083)

摘要:目的 调查高湿地区不同海拔高度世居人群鼻腔内 *nuc-mecA* 基因定植情况, 为高原高湿地区金黄色葡萄球菌及甲氧西林耐药病原菌的防治和抗生素的合理使用提供数据。方法 收集 1 000 m, 1 200 m 和 1 400 m 三个不同海拔高度人群鼻拭子样本, 采用多通道实时荧光 PCR 技术检测其鼻腔 *nuc-mecA* 基因, 比较不同海拔高度人群鼻腔 *nuc* 基因及 *mecA* 基因差异。结果 1 000 m, 1 200 m 和 1 400 m 三个不同海拔高度地区人群鼻腔内 *nuc* 基因定植率分别为 4.878%, 2.899% 和 7.143%, 差异无统计学意义 (P 均 >0.05)。1 000 m, 1 200 m 和 1 400 m 三个海拔高度地区人群鼻腔 *mecA* 基因定植率分别为: 14.634%, 31.884% 和 41.837%。海拔 1 000 m 人群与海拔 1 200 m 人群相比, 其鼻腔内 *mecA* 基因定植率差异有统计学意义 ($P<0.05$); 海拔 1 000 m 人群与海拔 1 400 m 人群相比, 其鼻腔内 *mecA* 基因定植率差异有统计学显著性意义 ($P<0.01$)。1 000 m, 1 200 m 和 1 400 m 三个海拔高度地区人群鼻腔 *nuc-mecA* 基因定植率分别为: 0%, 1.449% 和 3.061%, 差异无统计学意义 (P 均 >0.05)。结论 随着海拔的升高, 耐甲氧西林 *mecA* 基因在鼻腔内的定植显著增多。较高海拔地区居民应注意保持鼻腔等病原菌易定植部位的清洁, 患病后应及时去医院就诊, 不得擅自使用抗生素; 医务人员应合理谨慎使用抗菌药物, 避免抗生素的滥用和过度医疗。

关键词: 高湿; 高原; *nuc-mecA* 基因; 定植; 实时荧光 PCR 技术

中图分类号: Q503; Q786 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)01-011-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.01.004

Differences of Nuc-mecA Gene Carriage in the Noses among Different Altitudes in High Humidity District

HU Juan¹, XUE Huai-yu¹, HU Yong-he²

(1. Clinical Medical Inspection Center, Chengdu Military Region of PLA, Chengdu 610083, China;

2. General Hospital of Chengdu Military Region of PLA, Chengdu 610083, China)

Abstract: **Objective** To investigate the carriage of *nuc-mecA* gene among different altitudes in high humidity district, providing guiding data for prevention of staphylococcus aureus and drug-resistant bacteria, standardizing the usage for antibiotics. **Methods** The nose swabs were collected in different altitudes: 1 000 m, 1 200 m and 1 400 m, *nuc-mecA* gene was confirmed by multi-channel real-time PCR. **Results** The carrier of *nuc* gene in the noses were 4.878%, 2.899% and 7.143%, in 1 000 m, 1 200 m and 1 400 m respectively, and there were no statistical significant among the altitudes ($P>0.05$). The carrier of *mecA* gene were 14.634%, 31.884% and 41.837% in the 1 000 m, 1 200 m and 1 400 m respectively, the difference showed statistical significance ($P<0.05$). The carrying rate of *mecA* gene showed statistically significant differences between 1 000 m and 1 200 m ($P<0.05$), and showed statistically significant differences between 1 000 m and 1 400 m ($P<0.01$) also. The carrier of *nuc-mecA* gene were 0%, 1.449% and 3.061% in 1 000 m, 1 200 m and 1 400 m respectively, there were no statistical significant ($P>0.05$). **Conclusion** The carrier of *mecA* gene in noses was increased with the increasing of the altitude. The residents who living at higher altitude should keep the colonization sites of pathogens clean, and needed timely medical when got sick, shouldn't abuse the antibiotics without authorization. Medical staff should rational use of antibiotic drugs, avoided overusing of antibiotics and overtreatment.

Keywords: high humidity; plateau; *nuc-mecA* gene; planting; real-time fluorescent PCR

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 是一种广泛存在于自然界以及人与动物皮肤和粘膜的革兰氏阳性菌, 毒力很强, 可引起人类多种感染和疾病。金黄色葡萄球菌获得外源性甲氧西林决定子 A (*mecA*) 后, 成为耐甲氧西林金黄色葡萄球

菌 (MRSA), 是医院和社区最常见的耐药致病菌。*mecA* 基因存在于携带有多种耐药基因的葡萄球菌盒式染色体 (SCC*mec*) 上, 因此, MRSA 常呈多重耐药性^[1], 一旦暴发感染, 将导致严重后果。高湿环境有利于细菌的生长和繁殖, 不同的海拔高

* 基金项目: 美国医学研究基金(亚洲区)临床微生物学研究基金(CNSC-J2011-A330), 全军医学科技“十二五”重点项目(BWS11J067)。

作者简介: 胡娟(1959-), 女, 博士, 主任技师, 从事临床检验医学和流行病学研究工作, Tel: 028-86571260, E-mail: 13880731591@163.com。

度,由于温度和气压的改变,使得细菌的生命活动发生变化,可能导致其在人体的定植和耐药情况发生变化。本研究对高湿环境下不同海拔高度世居人群细菌定植部位鼻腔进行细菌采集检测,探讨金黄色葡萄球菌及其耐药情况的差异,为高原地区世居人群的抗生素合理使用和日常生活中病原菌的防治提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 病例选择 本研究的调查对象为世居海拔 1 000 m 以上人群,共 208 例。其中,1 000 m 人群 41 例,男性 27 例,女性 13 例,年龄 33~78 岁,平均年龄 51.1 岁;世居海拔 1 200 m 人群 69 例,男性 28 例,女性 41 例,年龄 20~87 岁,平均年龄 51.4 岁;世居海拔 1 400 m 人群 98 例,男性 46 例,女性 52 例,年龄 20~89 岁,平均年龄 50.4 岁。本研究通过无菌鼻拭子采集调查人群鼻腔分泌物,提取病原菌 DNA,检测其金黄色葡萄球菌(nuc 基因)及其耐药基因(mecA 基因)携带情况。

1.2 试验方法 用无菌鼻拭子取调查对象鼻腔分泌物,采样当天进行金黄色葡萄球菌及耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的检测。金黄色葡萄球菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)购自泰普生物科学(中国)有限公司;Mx3000P 荧光定量 PCR 仪由 Stratagene 公司提供;生物安全柜购自赛特净化设备有限公司;洁净工作台购自素净集团苏州安泰空气技术有限公司;冷冻离心机购自赛默飞世尔科技公司。

1.3 实验结果判定 PCR 扩增结束后,查看软件自动分析结果和扩增曲线,得到各样本 Ct 值。内参通道具有较好的对数增长曲线,同时对应的检测基因 Ct 值为 NoCt,说明未携带该基因;内参通道和检测基因通道均有较好的对数增长曲线,判定为携带该基因;内参通道 Ct 为 NoCt,为无效检测。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 软件进行数据统计和分析,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同海拔高度 nuc 基因携带率比较 1 000 m,1 200 m 和 1 400 m 海拔高度世居人群鼻腔 nuc 基因携带率分别为 4.878%(2/41),2.899%(2/69)和 7.143%(7/98)。经统计分析差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

2.2 不同海拔高度 mecA 基因携带率比较 1 000 m,1 200 m 和 1 400 m 海拔高度世居人群鼻腔 mecA 基因携带率分别为 14.634%(6/41),31.884%(22/69)和 41.837%(41/98)。海拔 1 000 m 与 1 200 m 相比差异有统计学意义($P <$

0.05);海拔 1 000 m 与 1 400 m 相比差异有统计学极显著意义($P < 0.01$);海拔 1 200 m 与 1 400 m 相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 不同海拔高度 nuc-mecA 基因携带率 41 例居住于海拔 1 000 m 的人群中,无鼻腔定植 nuc-mecA 基因,阳性率为 0%;69 例居住于海拔 1 200 m 人群中,有 1 例为鼻腔定植 nuc-mecA 基因,阳性率为 1.449%;98 例居住于海拔 1 400 m 的人群中,有 3 例为鼻腔定植 nuc-mecA 基因,阳性率为 3.061%;三个海拔高度人群鼻腔 nuc-mecA 基因携带率无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论 金黄色葡萄球菌是最主要和最危险的医院和社区致病菌^[2,3],常引起局部化脓感染,也可导致肺炎、心包炎等疾病,以及败血症、脓毒症等全身感染^[4],甚至威胁生命。人类皮肤表面和上呼吸道是金黄色葡萄球菌的常见定植部位,特别是鼻腔^[5],而细菌定植是皮肤、血液、肺部、心脏和深部组织临床感染的先决条件。降低致病菌定植是最有效的防止病原菌传播的措施^[6]。金黄色葡萄球菌强劲的毒力来自于其通过噬菌体整合的杀白细胞毒基因产生的毒素^[7~9]和会快速活化极少量 T 细胞的超级抗原外毒素,使人体致病^[10]。特别是社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌,其感染会造成更加严重的后果。报道指出,在 2010~2011 年中,分离出的金黄色葡萄球菌中社区感染高于医院感染,而在社区感染金黄色葡萄球菌中,MRSA 检出率高达 52%^[11]。

海拔高度不同,气压、温度等气候条件也会随之改变。随着海拔的升高,气温和大气压力会逐渐降低。有研究表明,温度的降低会使真菌比例下降,细菌比例上升^[12]。而在良好的水分条件下,细菌的竞争优势更加明显^[13]。

本研究首次对高湿地区人群鼻腔内携带 nuc-mecA 基因细菌定植情况进行调查,探讨不同海拔高度致病菌及耐药基因常见定植部位的定植率差异,了解高原高湿地区世居人群金黄色葡萄球菌、耐药菌定植情况以及致病菌的分布,对于指导抗生素的合理使用非常重要,可为我国高原高湿地区流行病学调查提供数据。

比较 1 000 m,1 200 m 和 1 400 m 三个海拔高度世居人群鼻腔金黄色葡萄球菌(nuc 基因)定植率发现,1 000 m 人群 nuc 基因定植率高于 1 200 m 人群,但低于 1 400 m 人群,三个海拔高度 nuc 基因携带率差异无统计学意义。这可能由于 1 000 m 地区与平原地区较近,人口流动性较强,各种病原菌携带比较复杂。而随着海拔的升高,人口流动性变低,同时,随着海拔的增加,空气变得稀薄,而

金黄色葡萄球菌携带率升高,这有可能与革兰氏阴性菌更易生长在营养丰富的土壤中,而革兰氏阳性菌在资源受限的土壤中占优势^[14]有关;mecA基因定植率随着海拔的升高亦呈上升趋势,1 000 m,1 200 m和1 400 m三个海拔高度,其阳性率分别为14.634%,31.884%,41.837%,并且海拔1 000 m与1 200 m,1 400 m相比,mecA基因阳性率分别呈显著差异和极显著差异,说明随着海拔的升高,耐药基因定植增多。同时,1 400 m人群中3例携带nuc-mecA基因和1 200 m人群中1例携带nuc-mecA基因提示,随着海拔的升高,耐药致病菌定植逐渐增加,较高海拔世居人群应养成良好的用药和卫生习惯,不乱用抗生素等药品,定期清洁卫生,提高自身免疫力,防止耐药致病菌的感染和传播。

在调查中我们发现,45例居住在海拔1 400 m携带nuc或mecA基因阳性人群中,有41例患有慢性胃肠道、呼吸道疾病或心脑血管疾病;24例居住在海拔1 200 m携带nuc或mecA基因阳性人群中,有14例患有慢性胃肠道、呼吸道疾病或心脑血管疾病;8例居住在海拔1 000 m携带nuc或mecA基因阳性人群中,有6例患有慢性胃肠道、呼吸道疾病或心脑血管疾病。这些疾病病程长、迁延不愈、病因复杂,可间接影响人的感受和心情,同时可造成人体免疫力的降低。该地区医疗条件有限,在病情发作不严重时,人们为了方便,一般不会去正规医院就医,而且往往会根据以往经验,擅自服用药物,其中很大一部分属于抗生素。这就使得病原菌在抗生素的环境下不断选择和演化,使本来免疫力不高的疾病人群再暴露在更多的耐药菌中,极易引起病原微生物的感染和暴发。

抗生素的习惯性滥用,使得新抗生素的研发远远落后于致病菌耐药性的发展和临床治疗的需要。自万古霉素问世以来,已拯救了数以万计的MRSA感染的重症患者,但目前全球已经发现耐万古霉素细菌的存在^[15],如果仍然不能合理利用抗生素,随着多耐药性致病菌的肆意发展,人类即将面临的是对付细菌最后一道防线的崩溃。社区是社会有机体的最基本内容,同一个社区在地理区域、意识和利益方面具有一致性和不可分割性,掌握社区居民泛耐药现状和抗生素使用的规范情况,使居民意识到抗生素滥用的危害,减少抗生素的不必要使用,可从根本上减缓泛耐药的演进,为新抗生素的研发和人类对抗致病菌的进程争取更多时间,使抗生素能造福于人类,而不是成为超级细菌筛选的培养基。

参考文献:

[1] 高炎超,马展成,梁志华.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

呼吸道定植与感染的临床意义[J].中华医院感染学杂志,2014,24(4):785-786,789.

Gao YC, Ma ZC, Liang ZH. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in respiratory tract[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2014,24(4):785-786,789.

[2] 贾珉,王永涛,贾征夫.临床不同标本分离金黄色葡萄球菌的药物敏感性[J].中国感染控制杂志,2013,12(6):454-456,460.

Jia M, Wang YT, Jia ZF. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from different clinical specimens[J]. Chin J Infect Control, 2013,12(6):454-456,460.

[3] Romano-Bertrand S, Filleron A, Mesnage R, et al. *Staphylococcus aureus* in a neonatal care center; methicillin-susceptible strains should be a main concern[J]. Antimicrob Resist and Infect Control, 2014, 3(1):2047-2994.

[4] Chen J, Luo YP, Zhang S, et al. Community-acquired necrotizing pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Pantone-Valentine leukocidin in a Chinese teenager; case report and literature review[J]. Int J Infect Dis, 2014,26(2):17-21.

[5] Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation[J]. Sci Prog, 2002,85(Pt 1):57-72.

[6] Cosgrove SE, Qi YL, Kaye KS, et al. The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes; mortality, length of stay, and hospital charges[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2005,26(2):166-174.

[7] Aqel AA, Alzoubi HM, Vickers A, et al. Molecular epidemiology of nasal isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Jordan[J]. J Infect Public Health, 2012,8(1):90-97.

[8] Deleo FR, Otto M, Kreiswirth BN, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Lancet, 2010,375(9725):1557-1568.

[9] Otto M. MRSA virulence and spread[J]. Cell Microbiol, 2012,14(10):1513-1521.

[10] Tilahun AY, Chowdhary VR, David CS, et al. Systemic inflammatory response elicited by superantigen destabilizes T regulatory cells, rendering them ineffective during toxic shock syndrome[J]. J Immunol, 2014,193(6):2919-2930.

[11] 温伟洪,李介华,钟国权.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌医院感染与社区感染比较分析[J].实用医学杂志,2013,29(5):810-812.

Wen WH, Li JH, Zhong GQ. J Pract Med, 2013,29(5):810-812.

[12] Djukic I, Zehetner F, Mentler A, et al. Microbial community composition and activity in different Al-

- pine vegetation zones[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(2): 155-161.
- [13] 张 地, 张育新, 曲来叶, 等. 海拔对辽东栎林地土壤微生物群落的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(8): 2041-2048.
- Zhang D, Zhang YX, Qu LY, et al. Effects of altitude on soil microbial community in *Quercus liaotungensis* forest[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(8): 2041-2048.
- [14] Li B, Dietrich M, Li Y, et al. Isolation and classification of cold-adapted microorganisms and pattern of membrane fatty acids in cold-adaptation[J]. Microbiology China, 2010, 37(8): 1110-1116.
- [15] Sukhumungoon P, Hayeebilan F, Yadrak P, et al. Molecular characterization and relationship of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among strains from healthy carriers and university hospital patients, southern Thailand[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2014, 45(2): 402-412.

收稿日期: 2014-12-22

修回日期: 2014-12-30

(上接 10 页)而套细胞淋巴瘤时如果看不到萎缩、变形的 FDC 网那就不是套细胞淋巴瘤;同样如果一个边缘区淋巴瘤的 CD21 显示 FDC 网消失,那么这个诊断也是有问题的,因为没有淋巴滤泡 FDC 网的存在,何来边缘区的存在,那么也就不会出现边缘区淋巴瘤了,而可能是其它类型的淋巴瘤。此外,AITL 的诊断中,FDC 网具有独特的特点,就是“FDC 网增多、变形、紊乱,似树枝样分布”,这种特点在其它淋巴瘤中几乎看不到,因此在鉴别诊断中也就很有意义^[4]。

为什么不同类型的淋巴瘤中会出现 FDC 网的不同形态学变化?我们认为这和淋巴瘤的发生特点有关系。淋巴瘤的产生往往是在这些正常的淋巴细胞分化的某一个阶段出了问题,它变成了淋巴瘤。比如 B 淋巴母细胞淋巴瘤,是在前驱 B 细胞阶段形成的,还未出现淋巴滤泡,故 FDC 网是阴性;弥漫大 B 细胞淋巴瘤,分为生发中心细胞起源和生发中心外细胞起源,如果生发中心外细胞起源,往往可能还有 FDC 网的破碎残留;小淋巴细胞淋巴瘤或浆细胞瘤已经处于 B 细胞分化成熟的终末阶段,淋巴瘤的形成已经和 FDC 网没有关系,因此通常 FDC 网阴性。而上面已经讨论的套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤以及边缘区淋巴瘤因为都和滤泡树突状细胞有关,因此都会观察到 FDC 网的变化,包括增殖、萎缩、撕裂。而外周 T 细胞淋巴瘤是由淋巴滤泡外的 T 区淋巴细胞异常增生引起,因此,常常存在淋巴滤泡的侵蚀和破坏,如果淋巴滤泡完全破坏,则 FDC 网消失,否则有残存破损的 FDC 网。而 AITL 则是一个具有独特临床表现和免疫表型的 T 淋巴瘤,目前认为是一种免疫性疾病,它不同于其它 T 细胞淋巴瘤,来源于生发中心 CD4+TFH 细胞^[7],因此肿瘤细胞常 CD10+, BCL-6+,并且因为生发中心 T 细胞起源,因此出现了 FDC 网的增多、紊乱、变形特点,滤泡树突状形态特点也是其免疫性疾病的一个佐证。

由此可见,FDC 网的变化可以反映淋巴结结

构的变化,不同淋巴瘤具有不同的 FDC 网形态变化特点,因此 FDC 网的形态学变化在淋巴瘤的病理诊断及鉴别诊断中发挥着重要的作用,具有重要的临床应用价值。当然,淋巴瘤的诊断并不能只依靠 FDC 来判断,需要结合形态学特点、其它免疫表型、临床信息等结合起来综合判断,才能得到一个正确的淋巴瘤的病理诊断。

参考文献:

- [1] El Shikh ME, El Sayed RM, Sukumar S, et al. Activation of B cells by antigens on follicular dendritic cells[J]. Trends Immunol, 2010, 31(6): 205-211.
- [2] 王 焱, 周晓军. 滤泡树突细胞增生性病变及肿瘤[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(3): 230-233.
- Wang Y, Zhou XJ. J Chin Exp Pathol, 2011, 27(3): 230-233.
- [3] 陈 欢, 姜拥军, 高 杰. 滤泡树突状细胞及相关细胞标志物在淋巴结中的分布[J]. 中国医科大学学报, 2008, 37(4): 524-525.
- Chen H, Jiang YJ, Gao J. Distribution of follicular dendritic cells and related cell markers in the lymph node[J]. J China Med Univer, 2008, 37(4): 524-525.
- [4] 李文生, 高 雪, 谢建兰, 等. 195 例淋巴组织病变病理会诊病例分析[J]. 中华病理学杂志, 2013, 42(4): 286-288.
- Li WS, Gao X, Xie JL, et al. Chinese Journal of Pathology, 2013, 42(4): 286-288.
- [5] Carbone A, Gloghini A. Follicular dendritic cell pattern in early lymphomas involving follicles[J]. Adv Anat Pathol, 2014, 21(4): 260-269.
- [6] Shi YF, Li XH. Immunohistochemical patterns of follicular dendritic cell meshwork and Ki-67 in small B-cell lymphomas[J]. Chinese Journal of Pathology, 2013, 42(4): 222-226.
- [7] Li WS, Zhou XG. Update on relation between follicular helper T cells and lymphoma[J]. Chinese Journal of Pathology, 2013, 42(9): 634-637.

收稿日期: 2014-12-24

修回日期: 2015-01-10