

· 基础研究 ·

利奈唑胺与万古霉素对小鼠耐甲氧西林金黄色葡萄球菌血流感染的疗效评估

褚静英¹, 陆玉霞¹, 周惠琴²

(1. 苏州卫生职业技术学院检验药学系, 江苏苏州 215009; 2. 苏州大学附属第二医院检验科, 江苏苏州 215004)

摘要:目的 利用临床分离株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)菌株感染 BALB/c 小鼠, 建立小鼠的血流感染模型, 再用该模型比较利奈唑胺与万古霉素对感染小鼠的治疗效果。方法 分别对 MRSA 感染组、利奈唑胺治疗组和万古霉素治疗组小鼠的临床症状、生存时间曲线和血液中的细菌计数进行时相性的观察和检测。结果 MRSA 感染组小鼠的生存率明显低于利奈唑胺治疗组和万古霉素治疗组, 且利奈唑胺治疗组要高于万古霉素治疗组, 但二者之间差异无统计学意义。另外, MRSA 感染组小鼠血液中的菌量较高, 而在利奈唑胺治疗组或万古霉素治疗组血液中的菌量明显减少, 但二者之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 利奈唑胺和万古霉素治疗小鼠 MRSA 血流感染的疗效基本相当。

关键词: 甲氧西林抗药性; 葡萄球菌, 金黄色; 血流感染; 利奈唑胺; 万古霉素; 模型, 动物

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.16.018

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)16-1844-02

Efficacy of linezolid versus vancomycin in an a bacteriemia model in mice infected by methicillin-resistant staphylococcus aureus

Chu Jingying¹, Lu Yuxia¹, Zhou Huiqin²

(1. Suzhou Health College, Inspection and Pharmacy Department, Suzhou, Jiangsu 215009, China; 2. the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Clinical Laboratory, Suzhou, Jiangsu 215004, China)

Abstract: Objective To established a bacteriemia model of BALB/c mice after infection with clinical methicillin-resistant staphylococcus aureus(MRSA) strain and then evaluated by linearly versus vancomycin in the treatment of MRSA experimental bacteraemia. **Methods** We monitored the clinical signs, gross observations of MRSA infected mice, vancomycin-treated mice and linezolid-treated mice and counted the bacteria in blood among different groups. **Results** The survival rate in MRSA infected group was significantly lower than that in vancomycin-treated group or linezolid-treated group. The survival rate in linezolid-treated group was higher than that in vancomycin-treated group, however, there was no significant difference between them. Otherwise, bacterial blood concentrations was higher in MRSA infected group, but there was no significant difference between linezolid-treated group and vancomycin-treated group. **Conclusion** The efficacy of linezolid versus vancomycin regimens against the MRSA isolate is not statistically different, although both treatments are significantly different from MRSA infected group.

Key words: methicillin resistant; staphylococcus aureus; bacteraemia; linezolid; vancomycin; models, animal

血流感染是目前临床上感染中较严重的一种感染模式, 其主要是指细菌通过体内的感染灶(如牙根周炎、副鼻窦炎、疖疮、扁桃体炎、体表伤口等)侵入血流后引起的感染。血流感染患者通常须立即药物治疗, 否则预后多不良, 重者甚至引起死亡。金黄色葡萄球菌是临床上常见血源性感染的病原菌, 据统计, 目前排名前 3 位, 而且不断有文献报道耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的出现以及其引起的菌血症的比例逐年增高^[1-3], 使得 MRSA 菌血症的治疗变得越来越棘手。

万古霉素在临床上一度被认为是治疗 MRSA 感染的首选药物, 但近年来在美国和日本已经报道有耐万古霉素的 MRSA 菌株出现^[4]。利奈唑胺是新一代合成的抗菌药物, 对 MRSA、耐万古霉素葡萄球菌、耐万古霉素肠球菌均有抗菌活性, 目前已经在临床上用来治疗 MRSA 引起的肺炎和皮肤组织感染^[5-6]。但是, 二者在 MRSA 血流感染的疗效方面的比较目前报道的不多^[7], 本研究是通过小鼠的 MRSA 血流感染模型比较利奈唑胺与万古霉素的治疗效果, 为临床上治疗 MRSA 血流感染的药物选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株 MRSA 来源于苏州大学附属第二医院检验科。

1.2 菌液制备 在 37℃ 条件下, 将琼脂平板上 MRSA 单克

隆菌株接种到 3 mL 新鲜的 TSB(trypsin casein soy broth)液体培养基中振荡过夜小量培养, 第 2 天再重新接种至新鲜的 500 mL TSB 培养基(1:100)中进行大量培养, 当细菌生长至对数中期时($OD_{600} \approx 0.8$), 6 000 g 离心收集细菌, 用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)快速洗涤 2 次, 然后悬浮细菌至 1×10^9 CFU/mL。

1.3 60 只 SPF 级 BALB/c 小鼠购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司[SCXK(沪)-0001]。小鼠饲养和感染在 ABSL2 动物室。实验过程中供给专用的饲料及水, 并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.4 动物感染实验 60 只小鼠预饲 7 d 后, 随机分成 MRSA 感染组(15 只), 利奈唑胺治疗组(15 只), 万古霉素治疗组(15 只)和 PBS 对照组(15 只)共 4 组, 通过小鼠的尾静脉注射 100 μ L MRSA 菌液(前 3 组)和 100 μ L PBS(对照组), 且治疗组小鼠在 MRSA 感染后 24 h 称体质量, 按 30 mg/kg 静脉给予万古霉素和利奈唑胺溶液。所有实验动物在 24 h 内每 3 h 观察 1 次, 24 h 后每天观察 3~4 次, 连续观察 5 d^[8-9]。

1.5 观测指标 小鼠临床症状: 对感染组、治疗组和对组小鼠的采食、饮水、精神状况等进行连续性观察, 并做好记录。小鼠生存曲线: 记录整个试验周期内各组小鼠的死亡情况, 绘制生存曲线, 评估本菌血症模型以及两种不同药物的治疗效

果。细菌计数:用药后 24 h 无菌条件下取血液铺板计数细菌,第 5 天处死所有剩余的小鼠,同时无菌操作条件下取肝脏、脾脏、肾脏等器官称重,进行组织研磨铺板计数。

1.6 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行分析,计数资料以率表示,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 MRSA 感染后小鼠的临床症状 取 10^8 CFU/100 μ L MRSA 菌液经尾静脉注射 BALB/c 小鼠后,感染后第 1 天小鼠的状态比较差,采食量与饮水量都明显较 PBS 对照组小鼠少,部分小鼠甚至出现寒战,毛发竖立的体征。但随着利奈唑胺和万古霉素给药后,两组治疗组小鼠的症状减轻较感染组快,到第 5 天时,治疗组存活的小鼠数明显多于感染组,且存活的治疗组小鼠大多都较正常,而感染组小鼠精神状态持续较差,到第 5 天只有 1 只存活。PBS 对照组小鼠在整个实验过程中一直都正常。

2.2 小鼠的生存曲线 在整个实验期间,感染组小鼠的病死率和死亡数都明显高于两组治疗组(图 1),实验结束时感染组仅有 1 只存活,存活率 6.7%;在两组治疗组中,利奈唑胺治疗组的存活率高于万古霉素治疗组,分别是 66.7%和 53.3%,但是二者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 细菌计数 在用药后 24 h,无菌条件下从感染组、万古霉素治疗组和利奈唑胺治疗组小鼠尾静脉抽血进行铺板(各随机抽取 7 只),37 $^{\circ}$ C 条件下恒温箱中过夜培养后计数。结果发现在用药后 24 h,万古霉素治疗组和利奈唑胺治疗组小鼠血液中的细菌量与感染组相比都显著减少,差异有统计学意义($P < 0.05$),但两组治疗组之间比较差异无统计学意义(图 2);同时,最后 1 d 处死小鼠时,在感染组小鼠的脾脏、肾脏及肝脏中发现有大量的细菌,而两组治疗组小鼠脏器中发现的细菌较少。

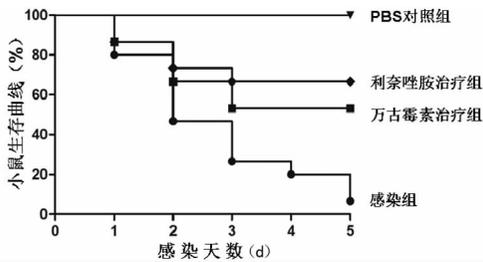


图 1 感染组、治疗组和对照组的小鼠生存曲线

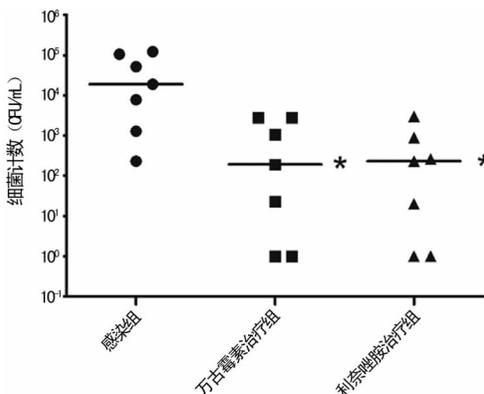


图 2 感染组和治疗组小鼠血液中细菌 CFU 计数

3 讨 论

MRSA 于 1961 年被首次报道之后迅速在全球蔓延开来。据估计,在北美、欧洲等国家每年大约有 10 万人因感染 MRSA

而发病。由于其传播快,耐药谱广,发病率高,MRSA 被喻为“超级细菌”^[10-11],且 MRSA 感染的流行,目前,已经成为严重的临床及公共卫生问题。在 MRSA 感染众多的途径中,血流感染是一种后果较严重的感染方式,严重威胁着患者的健康和生命。2006~2007 年的 Mohnarin 资料显示,金黄色葡萄球菌占血流感染的 6.8%,其中 MRSA 分离率为 51.2%。因此,MRSA 引起的血流感染目前日益受到重视^[12]。

目前,临床上治疗 MRSA 感染的抗菌药物有很多种,其中万古霉素多年来一直作为治疗 MRSA 的首选药物。万古霉素是一种三环糖肽类抗菌药物,它主要阻碍细菌细胞壁的合成,因此,具有抗大多数革兰阳性细菌的作用。但由于近年来在一些临床分离株中发现了耐万古霉素的 MRSA 以及万古霉素会引起肾毒性和耳毒性的不良反应,它在临床上的使用受到一定的限制。而利奈唑胺是新一代全合成的噁唑烷酮类抗菌药物,其主要抗菌的原理是抑制细菌蛋白质合成,而对 DNA 和 RNA 无影响,与其他抗革兰阳性菌的抗菌药无交叉耐药^[13]。因此,近年来它在临床的应用逐渐增多。Falagas 等^[14]通过 Meta 分析比较了利奈唑胺和糖肽类/ β -内酰胺类抗菌药物对 6 093 例革兰阳性球菌感染者的临床疗效,结果发现在治疗皮肤软组织感染和败血症方面,利奈唑胺比糖肽类/ β -内酰胺类抗菌药物更有效,但在治疗肺炎方面,二者疗效无显著性差异。而在 MRSA 小鼠动物肺炎模型中发现在治疗高毒力的 MRSA 引起的肺炎时利奈唑胺比优化剂量的万古霉素更有效。本研究利用小鼠模型直接模拟菌血症的发病过程,在相对简单的操作下观察 2 种抗菌药物对 MRSA 感染引起的血流感染的治疗效果,通过小鼠的精神状态、存活数也得到类似的结果。当相同剂量给药时利奈唑胺治疗组小鼠的存活数多于万古霉素治疗组,但两组的存活率比较差异无统计学意义,说明利奈唑胺在治疗 MRSA 感染引起的血流感染时具有与万古霉素相当的效果。另外,通过不同组小鼠血液的铺板计数也发现这两种药物都有同样的疗效,对血液中细菌的杀灭程度类似。

参考文献:

- [1] Gnmdmann H, Aires-de-Soma M, Boyce J, et al. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public health threat[J]. *Lancet*, 2006, 36(8):874-885.
- [2] Daum Rs, Seal JB. Evolving antimicrobial chemotherapy for *Staphylococcus aureus* infections: Our backs to the wall[J]. *Crit Care Med*, 2001, 29(1):92-96.
- [3] Otter JA, French GL. Nosocomial transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: all emerging threat[J]. *Lancet Infect Dis*, 2006, 12(6):753-755.
- [4] Chang S, Sievert DM, Hageman JC, et al. Infection with vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* containing vanA resistance gene[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(14):1342-1344.
- [5] Fung HB, Kirschenbaum HL, Ojofeitimi BO. Linezolid: an oxazolidinone antimicrobial agent[J]. *Clin Therapeutics*, 2001, 23(3):356-391.
- [6] Kaplan SL, Patterson L, Edwards KM, et al. Linezolid for the treatment of community-acquired pneumonia in hospitalized children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2001, 20(3):488-494.
- [7] Shorr AF, Kunkel MJ, Kollef M. Linezolid versus vancomycin for *Staphylococcus aureus* bacteraemia: (下转第 1848 页)

相应的风险识别、评估、应对和控制体系;借助先进的信息技术,建立信息数据库,采集医院风险信息,进行风险等级分级,针对医疗纠纷的易发科室、易发环节、易发因素、易发群体等进行重点监测和管理,及时发现和解决隐患。(2)强化质量管理,重视业务培训。医疗质量和医疗安全是医院管理的重要内容,良好的质量管理体系是医院安全的基础,也是降低医疗纠纷的重要保障。持续质量改进、ISO9000 质量认证体系、循证医学应用、临床路径管理、医疗质量实时控制、质量保证体系、人本管理等管理模式的引入和应用,对医疗质量管理的创新有极大的推动作用^[9]。要从医院体制建设入手,建立完善的质量管理体系,积极推进临床路径建设,实施医院质量管理体系认证,有效降低医疗纠纷的发生率。加强医务人员的技能培训也是提高质量的关键。医疗技术的高低是医院水平的象征,医院必须把对医务人员的业务培训作为坚持不懈的工作,建立相应的考核管理制度,构建“学习型医院”,从根本上提高医疗质量,降低医疗纠纷。(3)坚持医德医风建设,尊重患者“知情权”。总结医疗纠纷的发生原因,除技术因素外,医患沟通和服务态度是另一重要原因。调查显示,有近 10% 的医疗纠纷与沟通有关,而全国 326 所医院问卷调查也表明,由于医务人员态度不好引发纠纷的占 49.5%^[10]。因此,医院应树立“以患者为中心”的服务理念,加强人员的医德医风教育,提高医疗服务质量。医务人员要正确认识和理解“知情同意”原则,加强与患者的沟通,规范沟通行为、用语和过程,切实保障患者的“知情权”,把知情作为医疗行为的基础,有效降低医疗纠纷。(4)规范和改善医疗纠纷的解决方式。自行协商是医疗纠纷的主要处理方式。由于缺乏统一的标准,通过协商解决医疗纠纷会导致最终责任不明确、赔偿标准不统一、周期不确定等,并在客观上给医院带来大量的非医疗性事务工作^[11]。通过诉讼解决,则由于医疗案件的特殊性,涉及取证、鉴定、举证、质证等诸多环节,耗时长,花费大,诉讼效率低下^[12]。因此,寻求合理有效的解决途径,有利于医疗机构迅速医疗纠纷。

引导、鼓励采用非诉讼机制解决医疗纠纷,是一条快速、有效解决医疗纠纷的途径^[13-14]。通过立法,完善医疗协商制度,在遵循民事法律基本原则前提下,创造宽松的法律环境来促进医疗纠纷的协商解决,并在立法上对协商的条件、内容、协议书的效力加以规范和约束^[15]。诉讼和非诉讼方式并用,借鉴国外经验,建立仲裁机制,完善现有的医疗纠纷解决机制,从制度

上规范医疗纠纷的解决,降低医疗纠纷。

参考文献:

- [1] 林文学. 医疗纠纷解决机制研究[M]. 北京:法律出版社, 2008:6-13.
 - [2] 王才亮. 如何应对医疗事故争议[M]. 北京:中信出版社, 2004:23-29.
 - [3] 植牧哲,冷罗生,陶芸. 医疗法律学[M]. 北京:法律出版社, 2006:38-40.
 - [4] 郝浩,孙纽云,石玉柱,等. 2009 年上海市某区医疗纠纷案例分布情况调查与分析[J]. 中国医院, 2011,15(5):3.
 - [5] 李恒,张良,高蕾,等. 哈尔滨市某医院 312 例医疗纠纷分析及防范对策[J]. 中国医院管理, 2011,31(1):32-24.
 - [6] 植牧哲,冷罗生,陶芸. 医疗法律学[M]. 北京:法律出版社, 2006:45-65.
 - [7] 夏莽,侯胜田. 对不同类型医疗纠纷处理机制的探讨——基于全国卫生系统信访数据的分析[J]. 中国医院管理, 2012,32(1):51-53.
 - [8] 樊震林,杨兴辰,吴宏,等. 医疗风险调查结果的分组分析[J]. 中国卫生质量管理, 2009,16(1):11-13.
 - [9] 杨国斌,易学明,干振华. 论现代医疗服务质量管理的创新思维[J]. 中国医院管理, 2009,29(1):2-4.
 - [10] 赵茜,赵亮. 医患沟通行为及其规范化管理探讨[J]. 中国医学伦理学, 2009,22(2):127-129.
 - [11] 陈美雅. 医疗纠纷诉讼外解决机制比较研究[J]. 法律与医学杂志, 2006,13(3):181-190.
 - [12] 李冀宁,覃红. 医疗纠纷非诉讼解决机制与和谐医患关系[J]. 医学与哲学, 2007,28(1):33-36.
 - [13] 蒲川,峻怡. 医疗纠纷非诉讼解决方式:美国的经验及其启示[J]. 重庆医学, 2010,39(15):2074-2075.
 - [14] 刘小宁. 论我国医疗纠纷处理的非诉讼机制及其完善[J]. 中国卫生事业管理, 2007,11(3):351-353.
 - [15] 王安富,高其明,史蕾. ADR 机制在解决医疗纠纷中的应用与完善[J]. 中国卫生事业管理, 2009,4(2):256-258.
- (收稿日期:2012-12-08 修回日期:2013-01-12)
-
- (上接第 1845 页)
- Pooled analysis of randomized studies[J]. J Antimicrobial Chemother, 2005, 56(5):923-929.
- [8] Voyieh JM, Bmughton KR, Sturdevant DE, et al. Insights into mechanisms used by Staphylococcus aureus to avoid destruction by human neutrophils[J]. J Immunol, 2005, 175(6):3907-3919.
 - [9] 王德成,王星,周文江,等. 耐甲氧西林金葡萄球菌小鼠菌血症感染模型的建立与评估[J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2010,30(7):603-606.
 - [10] Faria NA, Oliveim D, Westh H, et al. Epidemiology of emerging methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Denmark; a nationwide study in a country with low prevalence of MRSA infection[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(14):1836-1842.
 - [11] Haddadin AS, Fappiano SA, Lipsett PA. Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in the intensive care unit[J]. Postgrad Med J, 2002, 78(3):385-392.
 - [12] 王进,肖永红. 2006~2007 年 Mohnarin 血流感染病原菌构成及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(11):1238-1242.
 - [13] 朱德妹,张雯元,周乐,等. 利奈唑胺的体外抗菌作用研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(2):81-88.
 - [14] Falagas ME, Siempos II, Vardakas KZ. Linezolid versus glycopeptides or (beta)-lactam for treatment of Gram-positive bacterial infections; meta-analysis of randomised controlled trials[J]. Lancet Infect Dis, 2008, 8(1):53-66.
- (收稿日期:2012-12-01 修回日期:2013-01-29)