

亚抑菌浓度的抗生素对金黄色葡萄球菌杀白细胞素表达及释放的影响

王璐^{1,2}, 徐元宏¹

摘要 目的 观察亚抑菌浓度抗生素对金黄色葡萄球菌(金葡萄)杀白细胞素(PVL)表达的影响。方法 利用PCR筛选出8株PVL阳性金葡萄。常量稀释法测定克林霉素、替加环素、利奈唑胺和万古霉素最低抑菌浓度值(MIC);荧光定量PCR测定前3种抗生素对PVL阳性金葡萄在1/8、1/4、1/2 MIC作用下PVL mRNA相对变化。ELISA法测定4种抗生素1/4、1/2 MIC时PVL蛋白含量。结果 克林霉素、利奈唑胺和替加环素在1/8、1/4、1/2 MIC时均可降低PVL表达。PVL mRNA在3种抗生素作用下分别降低17%~82%、8%~85%和11%~78%;PVL蛋白水平在1/4、1/2 MIC克林霉素和利奈唑胺作用下,分别下降了65%和83%、40%和61%,替加环素仅1/2 MIC时降低较明显,达64%。万古霉素不影响PVL表达。结论 不同抗生素亚抑菌浓度时对PVL表达影响不同。克林霉素和利奈唑胺可明显降低PVL表达,且呈剂量依赖性,替加环素只在较高浓度时抑制PVL表达,万古霉素对PVL表达无影响。

关键词 金黄色葡萄球菌;杀白细胞素;亚抑菌浓度

中图分类号 R 446.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)08-1086-05

金黄色葡萄球菌(简称金葡萄)是一种可产生多种毒素因子并导致人类感染的革兰阳性球菌。这些毒素中有一种被称为杀白细胞素(panton-valentine leukocidin, PVL)的毒力因子,可以引起包括皮肤软组织感染、坏死性骨髓炎以及病死率极高的坏死性肺炎^[1-3]在内的各种疾病。而且,近几年来不断涌现出关于检测出PVL的报道,说明PVL阳性的金葡萄已经在世界范围内播散开来。随着金葡萄耐药性的日益增强,临床上治疗金葡萄感染的抗生素选择范围也越来越窄,找到可抑制其毒力因子(如PVL)表达释放的抗生素,将为临床治疗金葡萄感染或是缓解患者感染症状提供一个新思路。

2015-04-29 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81171606);安徽省科技厅临床检验技术公共服务平台项目(编号:PT20081011)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院检验科,合肥 230022

²六安市人民医院检验科,六安 237005

作者简介:王璐,女,硕士研究生;

徐元宏,男,教授,主任技师,硕士生导师,责任作者,E-mail:xyhong1964@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 2013年10月~2014年10月安徽医科大学第一附属医院从住院患者送检的各种标本分离的385株金黄色葡萄球菌。其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 160株,甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA) 225株。PVL阴性和PVL阳性标准菌株(CCUG46923)均由安徽省立医院检验科马筱玲教授惠赠。

1.1.2 试剂和仪器设备 VITEK32全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司);Biometra-Tgradient PCR扩增仪(德国Biometra公司);DYY-40C凝胶电泳仪(北京六一仪器厂);NanoDrop 2000浓度仪(美国Thermo Scientific公司);ABI 7300荧光定量分析仪(美国应用生物公司);PCR引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成;克林霉素(clindamycin, CLI)、利奈唑胺(linezolid, LZD)购自美国Sigma公司;替加环素(tigecycline, TGC)以及万古霉素(vancomycin, VAN)购自美国Cayman公司;酪蛋白水解酵母提取物培养基(casein hydrolysate-yeast extract medium, CCY)肉汤细菌总RNA提取纯化试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司);SYBR® Premix Ex Taq试剂盒(日本TaKaRa公司);ELISA试剂盒(美国CLOUD-CLONE公司)。

1.1.3 引物设计与合成 根据文献^[4]报道设计引物序列,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成引物。*gyrB*上游引物:GGTGGCGACTTT-GATCTAGC; *gyrB*下游引物:TTATACAACGGTG-GCTGTGC; Luk-pv-F: AATAACGTATGGCAGAAATA TGGATGT; Luk-pv-R: CAAATGCGTTGTGTATTCTA GATCCT。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取 采用普通加热法粗提DNA,取200 μl TAE缓冲液加入到高压灭菌过的1.5 ml EP管中,挑取血平板18~24 h培养的金黄色葡萄球菌

菌落 3~4 个,充分研磨,再加入溶葡萄球菌素 10 μl ,干式恒温器 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 15 min,快速冷却 10 min,在低温高速离心机中以 15 000 r/min 离心 5 min,将上清液转移至高压灭菌过的 EP 管中, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 聚合酶链反应(PCR) 总反应体积为 50 μl , 10 $\times$ 缓冲液 5 μl , Taq 酶 0.25 μl , dNTP 3 μl , 引物各 1 μl , 模板 3 μl , 加灭菌去离子水至 50 μl , 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 初变性 10 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 30 个循环后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 6 min。PCR 产物置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2.3 凝胶电泳 电子天平称取 0.3 g 琼脂糖, 加入 30 ml TAE 缓冲液, 微波炉加热煮沸 2 min, 加入溴化乙锭(ethidium bromide, EB) 液 3 μl , 配成 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳, 110 V, 25 min 后置凝胶成像仪中观察结果。

1.2.4 金葡菌 MIC 值的测量 按照 CLIS 操作规程采用常量稀释法测金葡菌最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC) 值。

1.2.5 亚抑菌耐药的诱导 挑取血琼脂平板上经 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 的菌落用水解酪蛋白(MH)肉汤稀释(添加有 50 mg/L 的钙离子和 12.5 mg/L 的镁离子), 浊度调整为 0.5 麦氏标准。上述菌液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、300 r/min 条件下振荡培养。当菌液的光密度(optical density, OD) 值达 2.0 麦氏浊度时, 将配置好的 1/2、1/4、1/8 MIC 的克林霉素、利奈唑胺、替加环素和万古霉素加入玻璃培养管中, 与未加抗生素的(正常对照组)菌液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下振荡培养。孵育 6 h 后达到最佳生长浓度时取样, 进行下一步试验。

1.2.6 荧光定量 PCR 按上海生工细菌总 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA。cDNA 合成及实时荧光定量 PCR: 取上述方法提取的总 RNA 2 μg , 用 TaKaRa SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 试剂盒分别进行逆转录。PVL 为目的基因, gyrB 为内参基因^[4]。按 SYBR[®] Premix Ex Taq 试剂盒说明书用荧光染料嵌合法同时检测 PVL 和 gyrB 表达水平, 以 PVL/gyrB 比值反映 PVL mRNA 表达水平的高低。反映在 ABI7300 实时荧光 PCR 仪上进行, 试验重复 3 次。

1.2.7 ELISA 法定量测定 PVL ELISA 法分别测量 8 株 PVL 阳性金葡菌在无抗生素及亚抑菌抗生素浓度(1/4、1/2 MIC) 时的 PVL 含量。取含上述亚抑菌耐药菌株的肉汤, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 进行 ELISA(按说明书操作) 实验, 在 450 nm 波长测量各孔的 OD 值, 每份样本均设置 2 个复

孔。将各抗生素浓度时的 PVL 含量($\mu\text{g/L}$) 与无抗生素时测得的含量($\mu\text{g/L}$) 进行比较(试验进行 3 次取平均值)。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 12.0 软件进行分析, 采用 One-Way ANOVA 及两两比较方法 Dunnett-*t* 检验。

2 结果

2.1 金葡菌 PVL PCR 产物扩增结果 用 PCR 法检测 385 株金葡菌, 显示 3 株 MRSA 和 5 株 MSSA 在 433 bp 处有明显单一条带, PCR 产物测序结果证实 8 株金葡菌均为 PVL 阳性。见图 1。

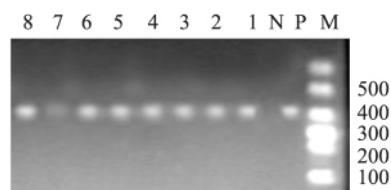


图1 阳性标本 PVL 基因电泳图

M: Marker; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 1~8: 阳性标本

2.2 8 株 PVL 阳性的金葡菌 MIC 值测定 对上述 PVL 阳性菌进行 MIC 值测定, CLI MIC: 0.13~16 mg/L; TGC MIC: 0.063~0.250 mg/L; LZD MIC: 0.5~2 mg/L; VAN MIC: 0.5~2 mg/L。见表 1。

表1 8 株 PVL 阳性金葡菌在 CCY 肉汤中的 MIC 值(mg/L)

菌株	CLI	TGC	LZD	VAN
1	8.00	0.250	1.0	2.0
2	8.00	0.125	2.0	1.0
3	2.00	0.125	1.0	1.0
4	16.00	0.063	2.0	1.0
5	0.13	0.125	1.0	2.0
6	0.13	0.125	2.0	0.5
7	0.50	0.250	1.0	1.0
8	2.00	0.125	0.5	1.0

2.3 抗生素对 PVL mRNA 表达的影响 经由 8 株 PVL 阳性菌进行测试, 孵育 6 h, 克林霉素和利奈唑胺从 1/8 MIC、1/4 MIC 到 1/2 MIC 对 PVL mRNA 表达具有很强的剂量依赖性降低作用, 克林霉素降低水平从 17%~82% 不等, 利奈唑胺降低了 8%~85% 不等。替加环素对 6 株的 PVL mRNA 表达具有抑制作用, 可降低 11%~78%, 其中 2 株金葡菌在 1/8 MIC 浓度时, PVL mRNA 表达量反而轻微增加。1/4 MIC(克林霉素 $F = 1.92$ 、利奈唑胺 $F = 2.45$); 1/2 MIC(克林霉素 $F = 2.05$ 、利奈唑胺 $F =$

1. 11、替加环素 $F = 1.27$); $1/8$ MIC 替加环素 ($F = 3.13$)。万古霉素对 PVL mRNA 表达无影响。见图 2。其中 $1/8$ MIC TGC, $1/4$ MIC CLI、LZD、TGC 和 $1/2$ MIC CLI、LZD、TGC 相较于无抗生素组, 差异有统计学意义。

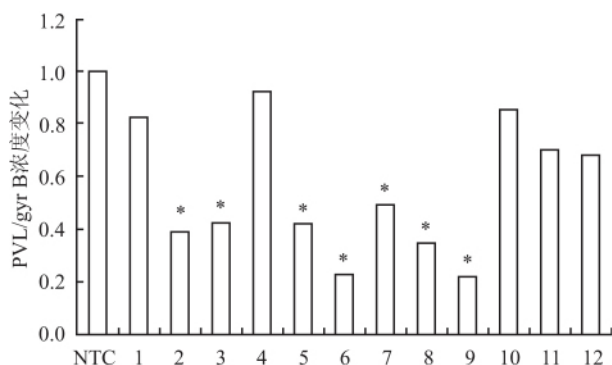


图2 亚抑菌浓度抗生素对 PVL mRNA 表达的影响

与无抗生素组比较: * $P < 0.05$; NTC: 无抗生素组; 1: $1/8$ MIC CLI; 2: $1/4$ MIC CLI; 3: $1/2$ MIC CLI; 4: $1/8$ MIC LZD; 5: $1/4$ MIC LZD; 6: $1/2$ MIC LZD; 7: $1/8$ MIC TGC; 8: $1/4$ MIC TGC; 9: $1/2$ MIC TGC; 10: $1/8$ MIC VAN; 11: $1/4$ MIC VAN; 12: $1/2$ MIC VAN

2.4 不同亚 MIC 浓度下 PVL 阳性金葡菌 PVL 蛋白含量变化 克林霉素和利奈唑胺在 $1/4$ MIC 和 $1/2$ MIC 及替加环素的 $1/2$ MIC 时相较于无抗生素时, PVL 含量的变化有统计学意义 ($P < 0.05$): $1/4$ MIC (克林霉素 $F = 1.02$ 、利奈唑胺 $F = 2.45$); $1/2$ MIC (克林霉素 $F = 0.85$ 、利奈唑胺 $F = 2.11$ 、替加环素 $F = 1.97$)。万古霉素作用下, PVL 蛋白含量无变化。见图 3、4。

3 讨论

亚抑菌浓度的抗生素可以调控金葡菌毒力因子的表达, 影响金葡菌所致感染疾病的转归。有学者

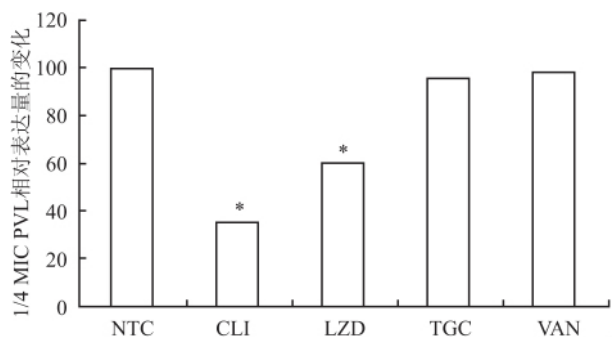


图3 金葡菌 PVL 在 $1/4$ MIC 抗生素作用下蛋白表达量的变化

与 NTC 组比较: * $P < 0.05$; NTC: 无抗生素组

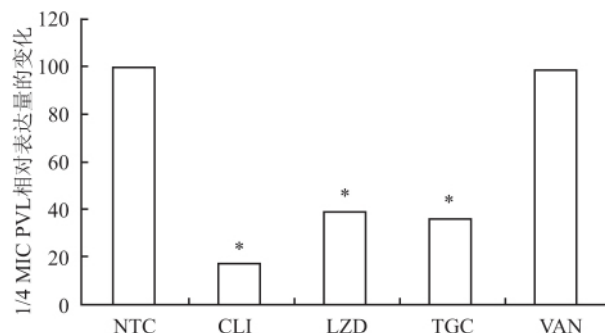


图4 金葡菌 PVL 在 $1/2$ MIC 抗生素作用下蛋白表达量的变化

与 NTC 组比较: * $P < 0.05$; NTC: 无抗生素组

进行体内 PVL 试验, 结果表明 PVL 可以影响坏死组织部位的最低抑菌浓度形成障碍, 从而有碍于病原菌的清除和感染灶的修复。因此本次试验测定亚抑菌浓度抗生素对 PVL 表达的影响, 以期对严重感染的临床用药及日后转归提供一个新思路。

经检测 385 株金葡菌, 其中 PVL 基因阳性有 8 株, 阳性率为 2.1%。稍低于同地区李春等^[5]的 4.9%。可能本次研究的菌株均是来源于医院获得性金葡菌 (hospital acquired *Staphylococcus aureus*, HA-SA), 而李春等^[5]选用的标本还包括了社区获得性金葡菌 (community-associated methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*, CA-MRSA), 现在已有普遍报道指出 CA-MRSA 中 PVL 阳性率远远高于 HA-MRSA^[6-7]。本次实验显示, 160 株 MRSA 中检出 PVL 阳性菌株 3 株, 阳性率为 1.9%, 225 株 MSSA 中有 5 株 PVL 阳性菌株, 阳性率为 2.2%。

本次实验选用了 8 株分离自临床标本的 PVL 阳性金葡菌和 4 种抗生素, 结果显示, 亚抑菌浓度的克林霉素、利奈唑胺和替加环素均可减少 PVL 表达, 从试验中可以看出 PVL 是在 mRNA 的转录水平上进行调控, 从而降低 mRNA 的翻译, 减少 PVL 的合成和释放, 这与相关研究^[4,8]结果相似。8 株金葡菌的 PVL 蛋白合成在替加环素的作用下全部降低, $1/2$ MIC 时降低达 64%。有研究^[4]显示, 替加环素可与金葡菌核糖体 30s 亚基结合, 阻断细菌蛋白质肽链延伸, 可能抑制了 PVL 的合成。试验中两种亚抑菌浓度的万古霉素对 PVL 蛋白表达影响均不明显。

利奈唑胺作为新型抗生素, 用于治疗包括 MRSA 引起的院内和社区获得性肺炎、复杂性皮肤软组织感染。Elisabeth et al^[9]认为利奈唑胺对治疗 PVL 阳性的 MRSA 和 MSSA 均有效, 并且报道了 3 例

PVL 阳性金葡菌感染病例,临床均给予克林霉素和利奈唑胺联合治疗,3种感染均得到治愈,并且预后良好。

替加环素是用于成人复杂皮肤及软组织感染和腹内感染的新型抗生素,美国外科感染协会尤其指出替加环素应当用于进展较快的由金葡菌引起的皮肤软组织感染^[10]。

如今细菌耐药率不断上升以及超级细菌的出现,寻找合适的替代万古霉素的抗生素显得尤为重要。Puzniak et al^[11]对替加环素和万古霉素在治疗金葡菌感染中的作用同时进行评估,发现替加环素在治疗 MRSA 引起的皮肤软组织感染时,作用等同于万古霉素,而且有研究^[12-13]表明万古霉素在治疗严重 MRSA 感染时发挥的作用正逐渐减小。因此,可以认为在治疗 PVL 阳性金葡菌引起的皮肤软组织及包括切口放置物引起的外科感染时,替加环素或可做为首选用药。

本研究是国内首次报道 PVL 在亚抑菌浓度抗生素作用下的合成及释放,但由于目前 CA-MRSA 中 PVL 阳性率远远高于 HA-MRSA,因此应当继续收集门诊患者的金葡菌标本,选取更多样的抗生素,以期为临床治疗 PVL 阳性的金葡菌感染提供更多方法。

参考文献

- [1] Hu Q, Cheng H, Yuan W, et al. Pantone-Valentine leukocidin (PVL)-positive health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates are associated with skin and soft tissue infections and colonized mainly by infective PVL-encoding bacteriophages[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(1): 67-72.
- [2] Jin T, Zhu Y L, Li J, et al. Staphylococcal protein A, Pantone-Valentine leukocidin and aggravate the bone loss and bone destruction in osteomyelitis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(2): 322-33.
- [3] Chen J, Luo Y, 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(9): 17-21.
- [4] Otto M P, Martin E, Badiou C, et al. Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on virulence factor expression by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(7): 1524-32.
 - [5] 李春, 王中新, 方欣. 41株金黄色葡萄球菌耐药性分析及 PVL 基因检测[J]. *安徽医药* 2013, 17(3): 434-6.
 - [6] Brown M L, O'Hara F P, Close N M, et al. Prevalence and sequence variation of Pantone-Valentine leukocidin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in the United States [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(1): 86-90.
 - [7] Tenover F C, Tickler I A, Goering R V. Characterization of nasal and blood culture isolates of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from patients in United States Hospitals [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(3): 1324-30.
 - [8] Olson M W, Ruzin A, Feyfant E, et al. Functional, biophysical and structural bases for antibacterial activity of tigecycline [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(6): 2156-66.
 - [9] Elisabeth P, Maria S, Irene G, et al. Success stories about severe pneumonia caused by Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* [J]. *Braz J Infect Dis*, 2014, 18(3): 341-5.
 - [10] May A K, Stafford R E, Bulger E M, et al. Treatment of complicated skin and soft infections [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2009, 10(5): 467-99.
 - [11] Puzniak L A, Quintana A, Wible M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection epidemiology and clinical response from tigecycline soft tissue infection trials [J]. *Diag Microbiol Infect Dis*, 2014, 79(2): 261-5.
 - [12] Martinez-Orondris P, Rigol M, Soy D, et al. Efficacy of linezolid compared to vancomycin in an experimental model of pneumonia induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in ventilated pigs [J]. *Crit Care Med*, 2012, 40(1): 162-8.
 - [13] Diep B A, Afasizheva A, Le H N, et al. Effects of linezolid on suppressing *in vivo* production of Staphylococcal toxin and improving survival outcomes in a rabbit model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia [J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(1): 75-82.

Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on *Staphylococcus aureus* producing pantone-valentine leukocidin

Wang Lu^{1,2}, Xu Yuanhong¹

(¹Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001,

²Clinical Laboratory Center, Lu'an People's Hospital, Lu'an 237005)

Abstract Objective To explore the effect of subinhibitory concentrations (sub-MICs) of four antibiotics on pantone-valentine leukocidin (PVL) expression by *Staphylococcus aureus*. **Methods** Eight strains of PVL-positive

miRNA-34a 对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖、凋亡的影响

邓晓晶^{1,2}, 邓 敏², 宋育林¹, 王启之²

摘要 目的 研究 microRNA-34a (mir-34a) 在人胃癌细胞中的表达水平及对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、凋亡的影响。方法 通过实时定量 PCR (RT-PCR) 检测人正常胃黏膜上皮细胞 GES 及人胃癌细胞株 AGS、SGC-7901、MKN-45、BGC-823 中 mir-34a 的表达水平。体外将表达人 mir-34a (has-mir-34a) 慢病毒感染人胃癌 SGC-7901 细胞。荧光显微镜观察评估细胞感染情况, MTT 实验、流式细胞术检测感染后胃癌 SGC-7901 细胞的增殖、细胞周期及凋亡情况。结果 胃癌细胞 AGS、SGC-7901、MKN-45、BGC-823 中 mir-34a 的表达水平较正常胃黏膜上皮细胞 GES 明显降低, 其中以胃癌 SGC-7901 细胞降低最为明显 ($P < 0.01$)。与阴性对照组相比, mir-34a 感染组 SGC-7901 细胞增殖明显减慢 ($P < 0.01$), G1/G0 期细胞比例显著增加 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$)。结论 mir-34a 在多种人胃癌细胞, 尤其是 SGC-7901 细胞中呈低表达。mir-34a 可以抑制胃癌 SGC-7901 细胞的增殖, 诱导细胞周期停滞及细胞凋亡。

关键词 胃癌; SGC-7901 细胞; 微小 RNA; microRNA-34a; 增殖; 凋亡

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)08-1090-05

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 在世界范围内, 胃癌位居癌症发病率第 4 位, 死亡率第 2 位^[1]。胃癌的发生、发展是一个复杂过程, 涉及到多种致癌的信号传导通路, 其中表观遗传学变化的作用越来越受到重视^[2]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 作为一类高度保守的、非编码、小分子调节 RNA 参与癌症发生、发展的表观遗传调控机制已备受瞩目^[3]。研究^[4]显示, miRNA 的表达水平失调出现在众多恶性肿瘤中, 而人类一半以上的 miRNA 基因位于染色体上肿瘤相关性基因位点, 这提示 miRNA 具有癌基因或抑癌基因的功能。miRNA-34 家族 (mir-34s) 受著名的“基因守护者”p53 直接调控^[5], 其肿瘤抑制功能在多种恶性肿瘤中 (结直肠癌、肺癌、恶性胶质瘤、胰腺癌等) 均被证实^[6-7]。该研究通过检测多种人胃癌细胞株中 mir-34a 的表达水平, 最终选定胃癌 SGC-7901 细胞为研究对象, 通过稳定转染外源性 has-mir-34a 进一步研究其对细胞增殖、周期及凋亡的影响, 旨在为 miRNA 作为胃癌分子靶向治疗的可能性提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂 人正常胃黏膜上皮细胞

2015-04-08 接收

基金项目: 安徽省优秀青年人才基金重点项目 (编号: 2013SQRL053ZD)

作者单位: ¹安徽医科大学第一附属医院消化内科, 安徽省消化系统疾病重点实验室, 合肥 230022

²蚌埠医学院第一附属医院消化内科, 蚌埠 233004

作者简介: 邓晓晶, 女, 硕士研究生, 主治医师;

宋育林, 男, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ylsongen@163.com

Staphylococcus aureus were isolated by PCR. The MICs of these antibiotics were determined by constant dilution. then, PVL expression of *Staphylococcus aureus* was measured at different MICs of these antibiotics by ELISA. **Results** Clindamycin, linezolid and tigecycline all could reduce the expression of PVL at 1/8 MIC ~ 1/2 MIC. after 4 and 6 hours of culturing, the relative PVL mRNA expression was reduced about 17% ~ 82%, 8% ~ 85% and 11% ~ 78% by clindamycin, linezolid and tigecycline, respectively. The protein expression of PVL was reduced by 65% and 83% under 1/4 and 1/2 MIC of clindamycin, and reduced by 40% and 61% under 1/4 and 1/2 MIC of linezolid, and reduced by 61% only at 1/2 MIC of tigecycline. There had no effect of vancomycin on PVL expression. **Conclusion** The effects of four antibiotics on PVL expression at sub-MICs were different. Clindamycin and linezolid could significantly reduced PVL expression. Tigecycline could reduced PVL expression only at high sub-MICs. Vancomycin had no effect.

Key words *Staphylococcus aureus*; panton-valentine leucocidin; subinhibitory concentrations