

的疾病,并通过 X 线片、MRI 和 CT 及三维重建了解疾病的特征,在术前进行对患者的全身情况仔细评估,以及手术者的熟练程度、医院设备条件。随着后路固定手术日趋完善,颈后路颈椎侧块螺钉胸椎椎弓根螺技术目前已成熟,并能解决绝大多数颈胸段脊柱病变。而胸腔镜辅助小切口手术是目前颈胸段脊柱病变的微创方向。

参考文献

- [1] Mazel C, Balabaud L, Bennis S, et al. Cervical and thoracic spine tumor management: surgical indications, techniques, and outcomes[J]. Orthop Clin North Am, 2009, 40(1): 75-92.
- [2] Prybis BG, Tortolani PJ, Hu N, et al. A comparative biomechanical analysis of spinal instability and instrumentation of the cervicothoracic junction: an in vitro human cadaveric model[J]. J Spinal Disord Tech, 2007, 20(3): 233-238.
- [3] Ilgenfritz RM, Gandhi AA, Fredericks DC, et al. Considerations for the use of C7 crossing laminar screws in subaxial and cervicothoracic instrumentation[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2013, 38(4): E199-E204.
- [4] Bulger RF, Rejowski JE, Beatty RA. Vocal cord paralysis associated with anterior cervical fusion: Consideration for prevention and treatment[J]. J Neurosurg, 1985, 62(5): 657-661.
- [5] 范伟力,柳峰,刘明永,等. 颈胸段脊柱骨折的临床特点及后路手术疗效探讨[J]. 局解手术学杂志, 2010, 19(5): 371-373.
- [6] Roldan H, Ribas-Nijkerk JC, Perez-Orribo L, et al. Stabilization of the Cervicothoracic Junction in Tumoral Cases with a Hybrid Less Invasive-Minimally Invasive Surgical Technique; Report of Two Cases[J]. J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg, 2013, 10(2): 330-331.
- [7] Ramieri A, Domenicucci M, Ciappetta P, et al. Spine surgery in neurological lesions of the cervicothoracic junction: multicentric experience on 33 consecutive cases[J]. Eur Spine J, 2011, 20(Suppl 1): 13-19.
- [8] Lan X, Xu JZ, Liu XM, et al. Debridement and bone grafting with internal fixation via the anterior approach for treatment of cervicothoracic tuberculosis[J]. Int Surg,

- 2012, 25(4): 291-294.
- [9] 周建伟,马华松,邹德威,等. 颈胸段处病变的颈前路手术治疗[J]. 中国矫形外科杂志, 2011, 19(4): 545-548.
- [10] Manson NA, Phillips FM. Minimally invasive techniques for the treatment of osteoporotic vertebral fractures[J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88(8): 1862-1872.
- [11] Weng C, Tian W, Li ZY, et al. Surgical management of symptomatic os odontoideum with posterior screw fixation performed using the magerl and harms techniques with intraoperative 3-dimensional fluoroscopy-based navigation[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2012, 37(21): 1839-1846.
- [12] 杨新文,王勇,杨开明. 颈胸段脊柱椎体前方重要结构的解剖特点及其临床意义[J]. 中国临床解剖学杂志, 2009, 27(1): 32-34.
- [13] Fuentes S, Malikov S, Blondel B, et al. Cervicosternotomy as an anterior approach to the upper thoracic and cervicothoracic spinal junction[J]. J Neurosurg Spine, 2010, 12(2): 160-164.
- [14] 吕国华. 关于开展微创脊柱外科的若干问题思考[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(5): 331-332.
- [15] Watanabe K, Yabuki S, Konno S, et al. Complications of endoscopic spinal surgery: a retrospective study of thoracoscopy and retroperitoneoscopy[J]. J Orthop Sci, 2007, 12(1): 42-48.
- [16] 董健,陈瑜,李熙雷,等. 电视胸腔镜辅助下小切口前路手术治疗胸椎疾病[J]. 脊柱外科杂志, 2007, 5(4): 213-217.
- [17] Hrabálek L, Vaverka M, Klein J. Anterior cervicothoracic junction surgery with partial sternotomy using an operative microscope[J]. Acta Chir Orthop Traumatol Cech, 2008, 75(6): 465-470.
- [18] Khoo LT, Beisse R, Potulski M. Thoracoscopic-assisted treatment of thoracic and lumbar fractures: a series of 371 consecutive cases[J]. Neurosurgery, 2002, 51(5 Suppl): 104-117.
- [19] 周跃. 脊柱前路微创手术面临的问题与挑战[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(3): 177-178.

(收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-05-17)

医院感染同源性基因分型研究进展

李传杰 综述, 罗晋卿 审校(广西壮族自治区梧州市红十字会医院 543002)

【关键词】 医院感染; 同源性; 基因分型

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 20. 078 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)20-2767-03

近年国内外对医院感染的感染源、传播途径、细菌定植等同源性分析成为医院感染预防和控制的研究热点之一^[1-2]。本文仅就医院感染同源性的分子生物学检测分析方法及应用进展简要综述。

1 检测与分析方法

随着分子生物学技术的快速发展,细菌分子生物学基因分型方法不断增多,脉冲场凝胶电泳(PFGE)、随机扩增引物多态性(RAPD)、基因外重复回文序列(Rep-PCR)、肠杆菌科基

因重复序列 (ERIC-PCR)、稀有限制区聚合酶链反应 (IRS-PCR)、多位点序列分析 (MLST) 和 DiversiLab 系统等是医院感染同源性分析的常用方法。限制性片段长度多态性分析 (RFLP)、扩增片段长度多态性 (AFLP)、裂解酶片段长度多态性 (CFLP) 等分型技术也用于某些医院感染的同源性研究。

1.1 PEGE 通过电场的改变使包埋在琼脂糖凝胶中 DNA 分子泳动,而在凝胶上按染色体大小呈现出电泳带型,可用于大分子 DNA 的分离,以重复性好、分辨能力强,有标准操作流程等优势,被誉为细菌分子生物学分型技术的“金标准”^[1,3],同时也存在仪器昂贵、操作复杂、耗时、结果不易于室间比较、图谱差异不排除同源和一般实验室难以普及等不足。

1.2 RAPD 应用随机引物对基因组 DNA 进行任意扩增,所需的 DNA 样本量少,可以快速检测全基因组的多态性。优点是分辨率高,不需预先了解基因序列,同一引物可用于不同细菌感染的调查。缺点是重复性差,分型结果仅用于批内比较,不适于批间比对^[4]。

1.3 Rep-PCR 以细菌基因组中广泛分布的短重复序列为引物的靶序列,通过对特定序列 PCR 产物的电泳结果进行 DNA 指纹图谱分析。Rep-PCR 退火温度较高,错配少,不需要重复设计引物,重复性和稳定性较好,操作方便,费用低,适用于多种菌属分型和大样本分析^[5]。

1.4 ERIC-PCR 利用革兰阴性杆菌存在一段重复序列、遗传稳定、不同种系间仅有拷贝数和位置变化等特性进行 PCR 扩增分析。该方法快速、简便,基因型的划分结果与 PEGE 方法相近,可以替代 PEGE 用于常见革兰阴性杆菌医院感染的同源性分析^[6]。

1.5 IRS-PCR 选择性扩增染色体基因组稀有酶切位点 Hha I 和非稀有酶切位点 Xba I 之间的片段,扩增结果因含有稀有限制性位点能高度反应细菌的变异性,与 PEGE 具有很好的一致性,几乎适用于任意细菌的分型,具有分辨率强、易操作、重复性好、耗时短等优点^[7];较早用于铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌型别分析。

1.6 MLST MLST 的优势在于分辨率可以与 PFGE 媲美,操作简便,不需培养,可从感染、腐烂的材料中或死亡细胞悬液获得核苷酸,数据易于室间比对,能较好反映菌群生物学变异^[8]。缺点是某些菌株的变异程度低或无变异可导致分型失效。

1.7 DiversiLab 是一种基于 Rep-PCR 技术的 DiversiLab 标准化和自动化系统,其结果的搜集和处理不受主观因素影响,操作简便、快速(1-2h 即可完成)、重复性好,可通过网络在线数据库比对分析和追踪不同时间分离株的同源性^[9]。

2 应用进展

2.1 细菌的定植与移位感染 张庆玲等^[10]用 IRS-PCR 分析 24 h 内同时取患者口咽部、气管吸出物、胃液进行培养和分型,揭示呼吸机相关肺炎胃内定植先于口咽部和呼吸道。刘帅等^[7]的 IRS-PCR 调查报告显示,265 例患者中发现鼻前庭耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)。定植者 14 例(5.28%),8 例 MRSA 感染患者临床标本和鼻前庭标本分离出的 MRSA 具有很高的同源性。董玉梅等^[11]用 RAPD 研究汶川地震后 14 例阴沟肠杆菌创面感染,发现同一患者上、下肢分泌物中分离的菌株同源性为 100.0%。王俊瑞等^[12]研究发现,MRSA 腹股沟定植者是造成环境污染的主要传染源,认为高定植压力是

MRSA 交叉传播的重要危险因素。叶林阳等^[13]采用 PFGE 方法对 14 例切口感染和术后泌尿系感染的同源性分析报告显示,同一患者分离株多为同型或不同亚型。

2.2 医患分离菌的同源关系 病原微生物可通过在患者、陪护或医务人员之间的转移而播散。魏军等^[14]研究发现,医护人员 MRSA 带菌率较高,部分医务人员、住院患者中分离的 MRSA 有较高的同源性,存在人与人之间的 MRSA 传播。毛璞等^[15]研究结果表明,重症病区多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB)流行主要是由于 E1 和 E2 基因型在患者之间的相互传播所致。张亚莉等^[2]发现,部分医务人员和患者之间以及患者与患者之间鼻前庭携带的金黄色葡萄球菌(SA)有较高的同源性。

2.3 病原菌与环境相关性 吴华等^[16]从临床和环境分离的肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、不动杆菌属经质粒指纹图谱及 ERIC-PCR 基因检测,证实临床分离株与环境分离株存在同源性。张正银等^[9]应用 DiversiLab 系统发现 9 株患者来源的 MRSA 和 3 株环境来源的 MRSA 具有高度同源性。黎明等^[17]报道超声探头是医院感染的一种传播方式,用 PFGE 分析超声探头带菌情况发现检查前探头分离株(表皮葡萄球菌)与检查后患者皮肤分离株图谱一致。毛璞等^[15]采用 Rep-PCR 对重症监护病房(ICU)患者及病房环境样本分离的 MDR-AB 指纹图谱分析发现,3 例床边回风口防护网分离株、5 例吸痰管分离株与病区主要流行株同源,2 例感染者床栏分离株、4 例呼气管冷凝水分离株、2 例吸痰管消毒瓶分离株与临床分离株同源。

2.4 病区间流行株的同源性 病原菌通过患者和被污染的医护人员的双手、衣物、医疗器械以及物体表面等媒介可在不同科室或同一科室不同病房传播。侯铁英等^[2]对 50 株不同科室来源的 MRSA 进行 Rep-PCR 基因分型,结果 20 株 A 型主要来自 ICU、呼吸科等 11 个病区,提示该院存在着以 A 型 MRSA 克隆株形式播散的感染流行。乔昀等^[18]使用 DiversiLab 分析 23 株来自不同科室的 MRSA,发现该院中医外科存在以 B 型、C 型基因型为流行株的 MRSA 医院感染暴发。周云芳等^[19]采用 ERIC-PCR 检测 40 株来自三个不同重症监护室患儿和医务人员衣襟分离的 MDR-AB 和泛耐药鲍曼不动杆菌(PDR-AB),结果显示医务人员衣襟和呼吸机接头分离株与呼吸道分泌物中分离株均有同源性;相同时段中细菌往往集中于某些固定病区;不同时段病区频繁转换患儿可导致耐药菌通过质粒传播或患儿直接带入,患儿较少交换病区分离株的同源性不排除医务人员的流动或医疗仪器共用传播的可能。

2.5 耐药菌流行病学监测 研究菌株之间的遗传差异可以通过对细菌的分型为患者的诊断和治疗提供线索,也可用于多重耐药菌的分子分型^[20]。简翠等^[21]采用 PEGE 检测 29 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌(IRPA)显示,A 型集中在呼吸内科,B、C 型来自神经外科 ICU,D、E 型来自器官移植病房,IRPA 感染呈上升趋势。吴锦等^[22]应用 RAPD 分析 34 家不同级别医院的 188 株嗜麦芽窄食单胞菌(SMA),发现部分 SMA 亚型来自于同一医院同一科室,说明存在同一克隆株在院内感染传播的隐患。芮晓艳等^[6]采用 ERIC-PCR 检测 64 株痰标本鲍曼不动杆菌亚胺培南耐药菌株,其中 47 株 OXA-23 型为同一基因谱。赵霞等^[23]收集 1 周内住院患者 MDR-AB,采用 rep-PCR 同源性鉴定发现,10 株 MDR-AB 中有 9 株同源,强化控

制措施后 1 个月内检出的 12 株 MDR-AB 仅 2 株与原流行株同源,提示医院发生 MDR-AB 流行后采取强化控制措施,有效遏制了流行株的蔓延。耐药菌的同一克隆株可在同一病房内交叉感染引起流行暴发。陈海红等^[24]对复活后的 63 株耐碳青霉烯酶鲍曼不动杆菌(CRAB)PFGE 同源分型发现克隆株 C 和 E 各 20 株,同期外科 ICU 分离的 25 株 CRAB 主要来源于流行株 C(72.0%),说明克隆株 C 和 E 是该院近两年 CRAB 医院感染的主要流行株,并在病区长期生存引起病区内持续感染。

3 展 望

分子生物学基因分型是医院感染源性分析的重要方法。通过 PEGE、RAPD、Rep-PCR、ERIC-PCR 等分子生物学基因分型方法分析医院感染相关菌株的同源性,协助追踪感染来源、感染途径和定植规律,分析源自不同患者、不同部位、不同病区、患者与周围环境分离菌株的相关性,对医院感染的流行病学调查、监测和追踪以及耐药菌的诊治具有重要意义。由于分子生物学基因分型方法较多,不同的基因分型法存在方法学差异和适用性差别,所以各级医院在开展医院感染流行病学调查和同源性分析时,应结合医院感染的流行趋势和自身技术条件选择适当的方法,确定感染的源头和传播途径,分析同源性相关特征,研判感染的暴发,采取必要的措施,加强医院感染的诊治和防控,减少医院感染的发生和耐药菌的播散。

参考文献

- [1] Hunter SB, Vauterin P, Lambert-Fair MA, et al. Establishment of a Universal size standard strain for use with the PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocols: converting the National databases to the new size standard[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(3): 1045-1050.
- [2] 侯铁英, 黄德弘, 陈子龙, 等. 医院感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌基因分型[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(5): 638-639.
- [3] 王丽丽, 徐建国. 脉冲场电泳技术(PFGE)在分子分型中的应用现状[J]. 疾病监测, 2006, 21(5): 276-279.
- [4] Cartelle M, del Mar TM, Pertega S, et al. Risk factors for colonization and infection in a hospital outbreak caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to expanded-spectrum cephalosporins[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(9): 4242-4294.
- [5] 刘丹, 王培昌, 赵霞, 等. RAPD、ERIC-PCR 联合 REP-PCR 对多重耐药鲍曼不动杆菌基因型的鉴定[J]. 山东医药, 2010, 50(40): 99-100.
- [6] 芮晓艳, 胡杰贵, 熊自忠. 耐亚胺培南鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶检测及同源性分析[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(2): 154-157.
- [7] 刘帅, 韩雪琳, 尹丽霞, 等. 住院患者耐甲氧西林金黄色葡萄球菌定植与感染相关研究[J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(5): 302-305.
- [8] 姬小微, 廖亚玲, 毛旭虎. MLST 分析在病原微生物基因分型应用中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32

- (2): 246-249.
- [9] 张正银, 窦蓉, 卜方, 等. 外科重症监护室分离 MRSA 的流行病学研究[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(4): 270-273.
- [10] 张庆玲, 刘明华, 刘玉馥, 等. 呼吸机相关性肺炎胃源致病菌分子流行病学研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(1): 38-41.
- [11] 董玉梅, 王飞, 靳桂明, 等. 开放性伤口分离阴沟肠杆菌的耐药性及多态性 DNA 分型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(20): 4205-4207.
- [12] 王俊瑞, 向茜, 尚欣荣, 等. 定植压力与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌医院内交叉传播相关性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(10): 936-941.
- [13] 叶林阳, 林茂虎, 郁华亮, 等. 泌尿系感染与手术切口感染相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(12): 1512-1514.
- [14] 魏军, 贾伟, 赵志军, 等. 医院感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性与 SCCmec 分型及同源性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(14): 2961-2963.
- [15] 毛璞, 单靖岚, 叶丹, 等. ICU 多重耐药鲍曼不动杆菌医院感染的同源性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(1): 6-9, 14.
- [16] 吴华, 李丹. 重症监护病房临床与环境、手分离耐药革兰阴性杆菌的同源性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(7): 909-912.
- [17] 黎明, 刘丽红, 甘莉萍, 等. 超声探头表皮葡萄球菌分子流行病学同源性研究[J]. 临床超声医学杂志, 2010, 12(4): 222-224.
- [18] 乔昀, 陈君灏, 罗云桃, 等. 医院感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌基因分型研究[J]. 检验医学, 2012, 27(12): 1031-1034.
- [19] 周芳芳, 袁维荣, 曹清. 医院多重/泛耐药鲍曼不动杆菌的同源性分析[J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(6): 518-522.
- [20] Sonntag AK, Prager R, Bielaszewska M, et al. Phenotypic and genotypic analyses of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O145 strains from patients in Germany[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(3): 954-962.
- [21] 简翠, 孙自镛. 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌金属 β 内酰胺酶的检测和同源性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(2): 107-111.
- [22] 吴锦, 胡立芬, 沈为华, 等. 嗜麦芽窄食单胞菌基因同源性分析[J]. 安徽医药, 2013, 17(1): 43-45.
- [23] 赵霞, 王力红, 张京利, 等. 多药耐药鲍曼不动杆菌的同源性鉴定与控制[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(12): 2492-2494.
- [24] 陈海红, 李华茵, 何礼贤, 等. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌的同源性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(3): 421-424.