

2006~2012 年院内感染金黄色葡萄球菌耐药性监测及 同源性分析*

王震¹, 施瑜¹, 曹珍娣², 印夏微² (江苏省镇江市第二人民医院: 1. 检验科; 2. 感染管理科 212000)

【摘要】 目的 调查 2006~2012 年院内感染金黄色葡萄球菌耐药性并作同源性分析, 为控制其院内感染提供依据。**方法** 回顾分析 2006~2012 年院内感染金黄色葡萄球菌的分布及耐药性, 并采用随机引物 DNA 扩增多态性(RAPD)技术进行同源性分析。**结果** 共检出院内感染金黄色葡萄球菌 121 株, 以呼吸科、泌尿外科和普外科患者居多, 在痰液样本中分离率最高。对万古霉素、替考拉宁以外的其他 14 种抗菌药物表现为不同程度耐药, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌检出率 65.29%(79/121)。通过 RAPD 分型, 将 21 株院内感染金黄色葡萄球菌分成 8 个型。**结论** 医院应严格控制抗菌药物的应用, 执行消毒隔离措施, 加强医疗器械的使用和消毒管理, 防止院内感染流行。

【关键词】 院内感染; 金黄色葡萄球菌; 同源性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.07.005 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)07-0873-02

Analysis of drug resistance and homology of nosocomial Staphylococcus aureus from 2006 to 2012 WANG Zhen¹, SHI Yu¹, CAO Zhen-di², YIN Xia-wei² (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Nosocomial Infection Control, the Second People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China)

【Abstract】 **Objective** To study the drug resistance and homology of Staphylococcus aureus from 2006 to 2012, and to provide scientific proof for controlling nosocomial infection. **Methods** Distribution and drug resistance of nosocomial Staphylococcus aureus from 2006 to 2012 were retrospectively analyzed. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) were performed to analyze the homology of isolates. **Results** A total of 121 strains of nosocomial Staphylococcus aureus were isolated. The infected inpatients were mainly in Departments of Respiration, Urology Surgery and General Surgery. The isolated rate was the highest in sputum specimens. All strains were sensitive to vancomycin and teicoplanin, but resistant to the other 14 kinds of antimicrobials in different degrees. The isolated rate of methicillin-resistant Staphylococcus aureus was 65.29%(79/121). Twenty-one strains of nosocomial Staphylococcus aureus were classified into 8 genotypes by RAPD. **Conclusion** Administration of antimicrobials should be strictly controlled, disinfection and isolation measures should be implemented, and the management of using and sterilization of medical apparatus and instrument should be strengthened to avoid nosocomial infection.

【Key words】 nosocomial infection; staphylococcus aureus; homology

近年来, 金葡菌的耐药情况日趋严峻, 其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)引起的院内感染尤其严重, 且呈多重耐药性^[1-2]。本研究对院内感染金黄色葡萄球菌的分布及耐药性进行统计分析, 并采用简便、经济、快速的随机引物 DNA 扩增多态性(RAPD)技术^[3], 对同一病区或同一时期从患者标本及院感监测标本中分离出的金黄色葡萄球菌进行同源性分析, 现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 2006 年 1 月至 2012 年 12 月, 收集住院时间大于 10 d 患者的血液、胸腹腔积液、痰、咽拭子、尿液、胆汁、分泌物、静脉导管等标本中分离的金黄色葡萄球菌 82 株; 与住院患者密切接触的医护人员手以及患者使用过的床单、床头柜、门把手和医疗器械等医院感染采样标本中分离的金黄色葡萄球菌 39 株。

1.2 方法 按《全国临床检验操作规程》进行细菌分离和培养。药物敏感性试验采用 Kirby-Bauer 琼脂扩散法, 结果解释依照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2008 年标准。

1.3 MRSA 检测 头孢西丁纸片扩散法: 在 MHA 平皿上接种 0.5 麦氏浊度的细菌悬液, 贴 30 μg 头孢西丁药敏纸片,

35 ℃ 培养 24 h, 判断结果。抑菌圈直径小于或等于 19 mm 为阳性。质控菌株采用金黄色葡萄球菌 ATCC 25923。确认试验: 采用 PCR 扩增 nuc 基因和 mecA 基因, 以 279 bp 及 310 bp 处有扩增条带判为 MRSA。具体方法见文献[4]。

1.4 随机引物 DNA 扩增多态性(RAPD)技术 采用 ERIC-2 引物: 5'-AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G-3' [5] (日本 TaKaRa 生物技术有限公司合成)。扩增体系: 在 25 μL 体系中, 10× 缓冲液(含 Mg²⁺) 2.5 μL, dNTP 混合液各 0.2 mmol/L, 引物各 20 pmol, TaqDNA 聚合酶 2 U, 模板 DNA 3 μL。扩增条件: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 1 min, 35 ℃ 1 min, 72 ℃ 2 min, 循环 40 次; 72 ℃ 终延伸 10 min。15 g/L 琼脂糖凝胶电泳分离, 0.5 μg/mL 溴乙啶染色, 紫外线观察。

1.5 统计学处理 用 WHONET 5.3 进行数据处理, 用统计软件 SPSS 10.0 进行统计分析。采用 χ^2 检验进行统计学分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 分布情况 检出金黄色葡萄球菌 121 株, 临床科室分布以呼吸科、泌尿外科、普外科为主。临床标本以呼吸道标本中分离率最高。MRSA 检出率 65.29%(79/121)。院感监测阳

* 基金项目: 江苏省镇江市社会发展基金资助项目(SH2005032)。

作者简介: 王震, 男, 本科, 副主任检验师, 主要从事临床微生物学检验相关研究。

性标本主要来自与患者密切接触过的医护人员手以及患者使用过的床单、床头柜、门把手和医疗器械等。见表 1、2。

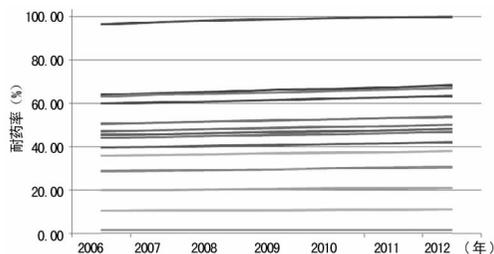
表 1 MRSA 在临床标本中的分布[n(%)]

临床标本	金黄色葡萄球菌	MRSA
痰、咽拭子	35(42.68)	18(35.29)
伤口分泌物	16(19.51)	14(27.45)
尿液	14(17.07)	11(21.57)
胆汁	6(7.32)	3(5.89)
血液	3(3.66)	2(3.92)
静脉导管	2(2.44)	1(1.96)
各种积液	2(2.44)	1(1.96)
其他	4(4.88)	1(1.96)
合计	82(100.00)	51(100.0)

表 2 MRSA 在医院感染采样标本中的分布

采样标本	金黄色葡萄球菌	MRSA
医护人员手	10(25.64)	8(28.57)
床单	9(23.08)	6(21.43)
床头柜、门把手	9(23.08)	6(21.43)
呼吸机管道	6(15.38)	4(14.29)
导尿管	4(10.26)	3(10.71)
其他	1(2.56)	1(3.57)
合计	39(100.00)	28(100.00)

2.2 耐药性监测 分离的 121 株金黄色葡萄球菌除对万古霉素、替考拉宁 100% 敏感外,对其他 14 种常用抗菌药物表现为不同程度耐药,耐药率由高到低依次为氨苄西林、红霉素、阿奇霉素、诺氟沙星、环丙沙星、克林霉素、丁胺卡那、四环素、氯霉素、氧氟沙星、复方磺胺甲噁唑、米诺环素、利福平、莫匹罗星,且耐药率呈逐年上升趋势,见图 1。MRSA 呈多重耐药性,且 MRSA 耐药率明显大于甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA),差异有统计学差异($P < 0.05$)。



注:从上至下依次为氨苄西林、红霉素、阿奇霉素、诺氟沙星、环丙沙星、克林霉素、丁胺卡那、四环素、氯霉素、氧氟沙星、复方磺胺甲噁唑、米诺环素、利福平、莫匹罗星的耐药率曲线。

图 1 2006~2012 年院内感染 121 株金黄色葡萄球菌对 14 种抗菌药物耐药率曲线

2.3 RAPD 同源性分析 对同一病区或同一时期从患者标本及院感监测标本中分离出的 21 株金黄色葡萄球菌,采用 RAPD 技术进行基因同源性分析,扩增图谱见图 2。共分为 8 个型,其中同源性较高的有:Ⅰ型(菌株号为 1、6);Ⅱ型(菌株号为 2、3、4、5);Ⅲ型(菌株号为 7、8);Ⅳ型(菌株号为 9、10);Ⅴ型(菌株号为 11、12、17、20);Ⅵ型(菌株号为 13、14、18);Ⅶ型(菌株号为 15、16);Ⅷ型(菌株号为 19、21)。与患者接触后的医护

人员手、物体表面及医疗器械等是引起金黄色葡萄球菌医院内传播的主要原因。

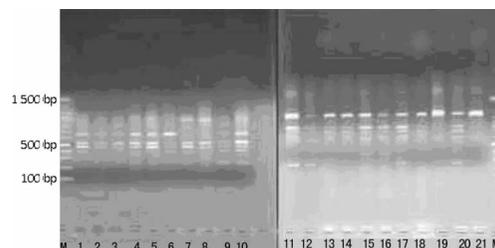


图 2 21 株院内感染金黄色葡萄球菌 RAPD 分型结果

3 讨论

本研究发现,金黄色葡萄球菌引起的院内感染以呼吸科、泌尿外科、普外科患者为主,以呼吸道标本中分离率最高;对万古霉素、替考拉宁以外的其他 14 种抗菌药物表现为不同程度耐药,且耐药率呈逐年上升趋势;MRSA 检出率为 65.29% (79/121),呈多重耐药性。同源性分析发现,院感监测阳性标本主要来自与患者密切接触过的医护人员手以及患者使用过的床单、床头柜、门把手和医疗器械等。患者-医护人员-医疗器械间的交叉感染,是引起金黄色葡萄球菌医院内传播的主要原因。

由医务人员手导致的院内感染不容忽视^[6]。目前主要存在以下几个方面的问题:(1)医务人员手卫生依从性低,是制约手卫生规范化管理的关键问题所在^[7]。因此,要提高手卫生的效果,必须采取有效措施,强化医务人员手卫生意识。(2)医院应加强手卫生规范的宣传和培训,不断提高医务人员对手卫生重要性的认知度。(3)医院应不断完善手卫生设施,使医务人员做到洗手高效、方便易行。(4)积极推广使用速干型手消毒剂,达到快速、高效的杀菌效果,有利于提高工作效率^[8]。

同时,医院应严格控制抗菌药物的使用,执行消毒隔离措施,加强医疗器械的使用和消毒管理,方可有效控制医院内感染发生。

参考文献

- [1] 马凤玲.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的医院感染及耐药性分析[J].广西医科大学学报,2008,25(6):930-931.
- [2] 刘惠容,林定忠.临床标本耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分布及药敏分析[J].中国当代医药,2011,18(10):70-71.
- [3] 郭爱玲,谢跻,粟婉媛,等.随机扩增多态性 DNA 技术在沙门氏菌同源性分析中的应用[J].食品科学,2008,29(4):355-357.
- [4] 吴晓红,王震.多重 PCR 快速检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J].疑难病杂志,2010,9(11):851-853.
- [5] 王震,周丽萍,庄建伟,等.大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌耐药基因分析[J].中国公共卫生,2008,24(7):818-820.
- [6] 李瑜珍,谢懿,何绪屏.医务人员手耐甲氧西林葡萄球菌携带调查及药敏分析[J].中国感染控制杂志,2008,7(6):416-418.
- [7] 孔庆芳,程科萍,叶南圆.医务人员手卫生知识及其依从性调查分析[J].现代医学,2009,37(3):246-248.
- [8] 夏玉珍,王春梅.速干手消毒剂与六步洗手法在临床应用中的探讨[J].临床护理杂志,2010,9(4):74-75.