

• 临床探讨 •

耐亚胺培南多重耐药鲍曼不动杆菌中 β -内酰胺酶基因的研究探讨

黄艳梅, 满宝华, 杨传莲, 王海英
(云南省第三人民医院检验科, 昆明 650011)

摘要:目的 探讨多重耐药鲍曼不动杆菌中的 β -内酰胺酶基因。方法 收集该院住院患者中分离出的鲍曼不动杆菌 72 株, 其中观察组为 36 株多重耐药鲍曼不动杆菌, 对照组为非多重耐药鲍曼不动杆菌 36 株。对所有菌种进行鉴定及确认后采用纸片扩散法对菌株进行药敏试验。采用聚合酶链反应(PCR)法对 β -内酰胺酶进行相关耐药基因检测。计算其药敏率及 β -内酰胺酶阳性基因测序。结果 通过对两组菌株的耐药谱进行比较, 在对所有药物的观察中, 观察组耐药率均明显高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 通过两组菌株阳性基因比较, 观察组各项基因阳性率均明显高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 鲍曼不动杆菌产 β -内酰胺酶是其产生耐药的主要机制, 对其基因的调控是改善鲍曼不动杆菌耐药的根本方法, 可有效提高其治愈率, 改善患者预后。

关键词:多重耐药鲍曼不动杆菌; β -内酰胺酶基因; 耐药谱
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.16.040 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)16-2336-03

鲍曼不动杆菌(Ab)是一种非发酵革兰阴性需氧杆菌, 属条件致病菌, 广泛存在于土壤及水体等自然环境中, 也存在于人体皮肤、口腔黏膜、呼吸道、胃肠道和泌尿道等部位^[1]。并且由于其黏附力强, 极易黏附于各类医疗材料上, 在湿润、温暖条件下易生存, 是院内感染的主要致病菌, 近年来在全球范围内由鲍曼不动杆菌引起的院内感染不断增多^[2]。在我国相关报道指出, 2010~2011 年在多家医院临床细菌分离中, 鲍曼不动杆菌为第 3 位, 在重症监护室(ICU)病菌分离中居首位^[3]。因此, 对其的研究、治疗就显得十分重要。在临床治疗中, 随着对广谱抗菌药物越来越广泛的应用, 在院内多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Ab)的检出率逐渐提高, 研究认为, β -内酰胺酶的产生使其耐药的重要机制, 临床中主要表现为对头孢菌素、氟喹诺酮类、氨基糖苷类、 β -内酰胺类的耐药, 这使得在临床中对鲍曼不动杆菌感染的治疗十分困难。因此, 本研究通过对该院院内分离的多重耐药鲍曼不动杆菌的 β -内酰胺酶耐药基因进行研究, 探讨其耐药机制。

1 材料与与方法

1.1 菌株来源 收集 2014 年 3 月至 2015 年 2 月于本院住院患者中分离出的鲍曼不动杆菌 72 株, 其中多重耐药鲍曼不动杆菌 36 株, 为观察组, 非多重耐药鲍曼不动杆菌 36 株, 为对照组, 其中男 49 例, 年龄 51(22~71)岁, 女 23 例, 年龄 54(16~68)岁。标本来源: 痰液 58 例, 胸水 6 例, 分泌物 3 例, 全血 3 例, 腹水 2 例。

1.2 菌种鉴定及药敏试验 采用法国 BioMerieux VITEK 2 compact System 进行微生物的鉴定和药敏的 MIC 试验, 细菌鉴定卡和药敏卡均为法国梅里埃公司生产, 将对 β -内酰胺类药物、氨基糖苷类药物、喹诺酮类药物三类中有两类及以上耐药的菌株定义为多重耐药鲍曼不动杆菌^[4]。

1.3 耐药基因检测 采用 PCR 法(聚合酶链反应)按照 PCR 扩增引物序列对 β -内酰胺酶进行相关耐药基因检测, 引物由北京赛百盛生物技术有限公司合成, 细菌质粒提取用百泰克生物技术有限公司试剂盒(Cat No. DP1002), DNA 提取用德国 QIAGEN 试剂(Cat No. 69506), PCE 产物送北京擎科生物技术有限公司双向测序, 采用 NCBI 网站 Blast 平台进行序列同源比较, 全部操作严格按照说明书进行。

1.4 观察指标及检测方法

1.4.1 耐药谱 对两组菌种进行耐药测试的结果进行统计, 并计算其药敏率。

1.4.2 阳性基因检测 应用美国 ABI 公司 3730 型毛细管全自动测序仪对 β -内酰胺酶基因阳性者进行进一步的基因测序(由北京新尚生物科学创新医疗有限公司提供技术支持)。

1.5 统计学处理 选用 Chromas 读序工具软件, 其测序结果直接应用 Chromas 进行 BLAST Search 进行比对。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 SPSS19.0 统计软件进行单因素方差分析法, 即 one-way ANOVA 进行差异性统计, 使用 Turkey 检验进行组间检验、校正。所有数据比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株一般资料 本研究共收集菌株 72 例, 在各项基本特征数据中, 两组之间差异均无统计学意义($P>0.05$), 见表 1。

表 1 两组菌株一般资料对照

一般资料	观察组	对照组
例数(<i>n</i>)	36	36
患者性别(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	25/11	24/12
年龄(岁)	52.33±29.79	55.31±27.65
标本来源(<i>n</i>)		
痰液	29	27
胸水	3	3
分泌物	1	2
全血	1	2
腹水	1	1
尿液	1	1

2.2 耐药谱比较 通过对两组菌株的耐药谱进行比较, 在对所有药物的观察中, 观察组耐药率均明显高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 2。

2.3 阳性基因检测比较 通过两组菌株阳性基因比较, 观察组各项基因阳性率均明显高于对照组, 差异有统计学意义

($P<0.05$),见表 3。

表 2 两组菌株的药敏率(%)

药物名称	n	观察组			对照组		
		耐药(R)	中介(I)	敏感(S)	耐药(R)	中介(I)	敏感(S)
头孢他啶	36	35(97.22)	0(0.0)	1(2.78)	5(13.89)	3(8.33)	28(77.78)
头孢吡肟	36	36(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	5(13.89)	1(2.78)	30(83.33)
哌拉西林	36	36(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	5(13.89)	10(27.78)	21(58.33)
亚胺培南	36	36(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	36(100.00)
左氧氟沙星	36	8(22.22)	27(75.00)	1(2.78)	3(8.33)	1(2.78)	32(88.89)
阿米卡星	36	32(88.89)	0(0.00)	0(0)	4(11.11)	1(2.78)	31(86.11)
环丙沙星	36	35(97.22)	0(0.00)	1(2.78)	5(13.89)	0(0.00)	31(86.11)
庆大霉素	36	33(91.92)	0(0.00)	3(8.08)	5(13.89)	0(0.00)	31(86.11)
复方磺胺甲噁唑	36	7(19.40)	0(0.0)	29(80.60)	5(13.89)	0(0.0)	31(86.11)
氨苄西林/舒巴坦	36	32(88.70)	3(9.90)	1(1.4)0	2(3.20)	1(1.60)	33(95.20)
哌拉西林/他唑巴坦	36	35(98.50)	0(0.00)	1(1.50)	2(3.30)	4(10)	30(86.70)
头孢曲松	36	35(98.60)	1(1.40)	0(0.00)	6(15.40)	26(72.30)	4(12.30)

表 3 两组菌株阳性基因情况(%)

β-内酰胺酶基因	n	观察组(%)	对照组(%)
TEM	36	29(80.56) [△]	10(27.78)
PER	36	22(61.11) ^{△△}	8(22.22)
OXA-51	36	36(100.00) [*]	8(22.22)
OXA-23	36	31(86.11) [*]	7(19.44)
ADC	36	34(94.44) [#]	16(44.44)
IMP1	36	19(52.78) ^{##}	7(19.44)

注:观察组与对照组比较,差异有统计学意义,△ $P<0.05$,△△ $P<0.05$,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.05$,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.05$ 。

3 讨 论

在我国院内感染中,鲍曼不动杆菌已成为最重要的病原菌之一,并且随着抗菌药物的大量使用以及不规范应用,过去曾被认为是低毒力条件致病菌的鲍曼不动杆菌的耐药率呈现不断上升趋势,而多重耐药鲍曼不动杆菌的分离率随之不断上升。研究认为鲍曼不动杆菌生存力强,在医院内,其可污染吸痰器、输液系统、呼吸机、空调等院内医疗器械、医疗设备或生活设施进而将病原菌传播给患者,而鲍曼不动杆菌的感染部位以下呼吸道最为常见^[5-6]。在提取的菌株样本中,也印证了这一结果,有 77.78%的来源为痰液,但由于其临床表现缺乏特异性,易与其他肺炎混淆,治疗上易缺乏针对性、疗效不佳,临床病死率高,治愈率低。因此,加强对多重耐药鲍曼不动杆菌的监测,分析其耐药原因,并减少其耐药情况,降低其致死率、改善预后十分重要。

在本研究中,通过对多重耐药鲍曼不动杆菌的药敏试验,发现其对头孢菌素、氨基糖苷类、碳青霉烯类、氟喹诺酮类及含有β-内酰胺酶抑制剂的复合制剂抗菌素均普遍耐药,而对照组鲍曼不动杆菌则并无这一表现,这与国内外的研究结果均基本吻合^[7-8]。在对其耐药机制的研究中发现,鲍曼不动杆菌体外生存能力强,可长期存活,极易造成克隆性传播。在对于其耐药机制的探讨中,研究通常认为可分为 2 种不同机制:(1)细菌

可借助如质粒、插入序列、整合子等可移动遗传元件获得性耐药;(2)认为细菌自身的抗菌药物作用靶位编码基因突变造成了细菌的耐药^[9]。在研究中,对其耐药阳性基因进行了检测,发现观察组多重耐药鲍曼不动杆菌的耐药阳性基因为 TEM 基因 80.56%,PER 基因 61.11%,OXA-51 基因 100%,OXA-23 基因 86.11%,ADC 基因 94.44%,IMP1 基因 52.78%。研究已发现,这些基因均与产β-内酰胺酶相关。因此,认为这些相关基因影响的鲍曼不动杆菌产β-内酰胺酶是其产生耐药的主要机制^[10]。同时研究还认为受到基因的调控,细胞外膜蛋白会发生突变,突变导致的通透性改变会使药物不能进入细菌体内将其杀灭。细胞膜结合蛋白对药物亲和力降低,但细胞壁的合成不会受到基因调控的影响,细菌外排基因的过表达也会促使药物被细菌排出体外。以上这些因素的共同影响,是鲍曼不动杆菌产生了耐药性。

同时在对耐药基因的研究中,还将其分成了 4 类,本研究中的 TEM 基因、PER 基因属于 A 类,可导致细菌对青霉素类、单环酰胺类、第 1~3 代头孢菌素、部分第 4 代头孢菌素药物普遍耐药,但对碳青霉烯类药物敏感;IMP1 基因为 B 类,除青霉素类、碳青霉烯类、第 1~3 代头孢,还可导致细菌对氨基南耐药;ADC 属于 C 类,可造成鲍曼不动杆菌对青霉素类、单环酰胺类、第 1~3 代头孢菌素耐药;OXA-51 基因、OXA-23 基因属于 D 类,是导致细菌对碳青霉烯类耐药的主要基因。

本实验通过对 72 株鲍曼不动杆菌的耐药谱及β-内酰胺酶基因的观察,证实了鲍曼不动杆菌产β-内酰胺酶是其产生耐药的主要机制,因此,对其基因的调控是改善鲍曼不动杆菌耐药的根方法,可有效提高其治愈率,改善患者预后。在下一步研究中,将进一步探讨不同β内酰胺酶基因多重耐药鲍曼不动杆菌耐药的各自贡献率,为本实验所反映的现象做出进一步论证和分析。

参考文献

[1] Cerqueira GM, Peleg AY. Insights into Acinetobacter baumannii pathogenicity[J]. IUBMB Life, 2011, 63(12):

- 1055-1060.
- [2] Asghar AH, Faidah HS. Frequency and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from 2 hospitals in Makkah, Saudi Arabia[J]. Saudi Med J, 2009, 30(8):1017-1023.
- [3] 朱德妹, 汪复, 胡付品, 等. 2010 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(5): 321-329.
- [4] 傅爱玲, 于翠香, 李希华, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌 β -内酰胺酶基因和膜孔蛋白基因研究[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(7): 549-552.
- [5] NNIS System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003[J]. Am J Infect Control, 2003, 31(8): 481-498.
- [6] 沈彩红, 欧森. 122 株鲍曼不动杆菌的感染分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(8): 853-854.
- [7] 傅爱玲, 于翠香, 李希华, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌 β -内酰胺酶基因和膜孔蛋白基因研究[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(7): 549-552.
- [8] Mar Tomas M, Cartelle M, Pertega S, et al. Hospital outbreak caused by acarbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(7): 540-546.
- [9] 邢丽丹, 糜祖煌, 徐鑫鑫, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌中 β -内酰胺酶基因的检测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(1): 54-57.
- [10] Tian GB, Adams-Haduch JM, et al. Extended-Spectrum AmpC cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*: ADC-56 confers resistance to cefepime[J]. Antimicrob Agent Chemother, 2011, 55(10): 4922-4925.

(收稿日期: 2016-02-06 修回日期: 2016-04-12)

• 临床探讨 •

腹外疝患者术后排尿困难的原因分析及护理对策

梁 颖

(海南省农垦三亚医院普通外科, 海南三亚 572000)

摘 要:目的 探讨分析腹外疝患者术后排尿困难的原因, 并对其实施有效的护理对策。方法 对 2013 年 7 月至 2015 年 7 月期间入住该院进行腹外疝手术的 380 例患者作为研究对象, 对造成其术后排尿困难的原因进行分析, 并比较患者经护理后排尿情况的改善情况。结果 影响患者术后排尿情况的原因主要有麻醉影响、手术操作不当、排尿方式改变的影响、药物因素、术后舒适度的影响及心理因素等, 各原因之间差异无明显统计学意义($P>0.05$); 实施护理对策后, 380 例患者在术后 1~3 h 内即完成排尿的比率有 50.00%, 较其他组别差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 影响患者术后排尿情况的原因包括麻醉影响、手术操作不当、排尿方式改变的影响、药物因素、术后舒适度的影响及心理因素等, 对患者术后实施积极有效的护理对策后, 绝大部分患者都能够在术后 6 h 内排尿, 对患者改善术后排尿情况有显著的作用。

关键词: 腹外疝; 术后; 排尿困难; 原因分析; 护理对策

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.16.041 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)16-2338-03

体内某个脏器离开其正常解剖部位, 通过薄弱区进入另一部分称为疝, 腹腔内的脏器或组织连同腹膜壁层, 经腹壁缺损或薄弱区, 向体表突出而形成的包块成为腹外疝^[1]。手术治疗腹外疝常带来术后尿潴留的并发症, 患者排尿困难, 术后生活质量较低, 因此临床上对腹外疝患者排尿困难的原因进行分析是非常有必要的^[2]。为进一步探讨分析有效的护理对策对腹外疝术后患者排尿情况的影响, 特选取在该院进行腹外疝手术的 380 例患者, 对其分析后现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 7 月至 2015 年 7 月期间入住本院进行腹外疝手术的患者有 380 例, 将其作为研究对象, 其中男 296 例, 女 84 例患者, 年龄 14~88 岁, 平均年龄 (49.88±13.76) 岁, 病程 3 个月至 8 年, 平均病程 (3.04±1.24) 年。所有患者经过体检及胸部透视等检查后, 均确诊为腹外疝, 排除心、肝、肾等严重疾病患者, 排除精神神经障碍患者。其中腹股斜沟疝患者 198 例, 腹股沟直疝患者 89 例, 股疝患者 48 例, 切口疝患者 45 例。按照病理类型分类: 易复性疝 39 例, 难复性疝 170 例, 嵌顿性疝 87 例, 较窄性疝 84 例。本组研究通过了医学伦理委员会的批准, 对本组治疗方案均已详细了解, 患者

及患者家属均同意治疗并签署了知情同意书。

1.2 方法 对照组患者实施常规的术后护理对策, 观察组患者在对照组基础上实施健康教育、心理疏导、排尿方式的护理指导及术后舒适度的改善几方面的护理对策, 具体方法如下。

1.2.1 健康指导及心理疏导 护理人员在术前做好对患者疾病知识的指导, 并介绍手术过程, 根据患者不同心理状况因人施教, 鼓励患者家属常伴患者左右以消除患者恐惧、焦虑的情绪, 鼓励患者, 时刻增强患者自行排尿的信心。

1.2.2 麻醉药的控制 术前护理人员与手术麻醉师沟通, 向麻醉师详细介绍各患者情况, 以方便麻醉师根据患者情况合理使用麻醉药的种类及用量。此外, 本手术麻醉方式为硬膜外椎麻醉, 麻醉师应对该方法熟练掌握。

1.2.3 排尿方式的护理指导 术前护理人员叮嘱患者排尽尿液, 以防止手术期间误伤膀胱; 术后护理人员积极指导患者排尿, 首先对患者进行床上排尿知识的指导, 并让患者及其家属加以重视。术前指导患者少食多餐, 术后 6 h 鼓励排尿。对于有排尿感的患者, 叮嘱患者不宜憋尿, 鼓励其对排尿的自我感觉观察; 对于尿意不明显的患者, 护理人员触摸其膀胱区, 若有尿则鼓励患者试行排尿; 对于采取相应护理对策后, 在术后 6 h