

志, 2014, 18(22): 15-16.

- [9] 李晴, 周婷婷, 李韬彧, 等. 延续护理在腹膜透析治疗肾病综合征伴急性肾损伤患者中的应用[J]. 中华护理杂志, 2012, 47(2): 114-117.
- [10] 黄梅, 黄唯麟, 丁晓渝, 等. 血液透析患者自我感受负担与临床探讨 •

自我效能、应对方式的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(22): 3411-3413.

(收稿日期: 2016-03-15 修回日期: 2016-06-03)

超广谱 β -内酰胺酶在多重耐药鲍曼不动杆菌中的作用*

侯盼飞, 祝丽晶

(山东省乳山市人民医院 264500)

摘要:目的 探讨超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)在多重耐药鲍曼不动杆菌中的作用。方法 收集该院 2014 年临床分离的 158 株鲍曼不动杆菌, 采用纸片扩散法(K-B)测定其对临床常用 20 种抗菌药物的敏感性。采用 PCR 对其中 100 株多重耐药进行 ESBLs 基因扩增, 通过序列分析明确基因型。结果 鲍曼不动杆菌对多黏菌素 B 均敏感, 对米诺环素、亚胺培南、头孢哌酮-舒巴坦和丁胺卡那霉素的耐药率分别为 3.9%、45.8%、48.1% 和 39.1%, 其余抗菌药物耐药率均大于 50%。多重耐药菌株中, 32 株 SHV-12 型基因阳性, 54 株 PER-1 型基因阳性, 16 株 TEM-1 型基因阳性, 有 2 株同时携带这 3 种基因, 6 株同时携带 SHV-12 和 PER-1 型基因。结论 鲍曼不动杆菌耐药情况较严重, 多重耐药与携带 SHV-12、PER-1 和 TEM-1 型基因相关。

关键词:多重耐药鲍曼不动杆菌; 超广谱 β -内酰胺酶; 耐药

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.17.030 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)17-2484-03

鲍曼不动杆菌为条件致病菌, 广泛分布于人体皮肤、黏膜, 以及自然界、医院等环境中。近年来, 随着抗菌药物的广泛应用, 该菌的临床分离率和耐药率逐年升高。目前多重耐药鲍曼不动杆菌(MRAB)已成为临床抗感染治疗的一大难题^[1]。本课题组对鲍曼不动杆菌的耐药性进行检测, 并对几种常见的超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)基因携带情况进行检测, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 临床菌株为 2014 年 1~12 月本院临床分离的鲍曼不动杆菌 158 株, 标本种类包括痰液、引流液、尿液、血液、胸腔积液、腹水、脑脊液、咽拭子等。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

1.2 药敏纸片 丁胺卡那霉素、庆大霉素、氨苄西林、氨苄西林-舒巴坦、哌拉西林、哌拉西林-他唑巴坦、头孢哌酮、头孢哌酮-舒巴坦、头孢唑林、头孢克洛、头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、环丙沙星、左氧氟沙星、复方磺胺甲噁唑、亚胺培南、米诺环素、头孢美唑、多黏菌素 B 购自英国 Oxoid 公司。

1.3 仪器与试剂 PCR 反应试剂盒购自大连宝生物有限公司。仪器包括 Vitek-32 细菌鉴定仪(法国生物梅里埃公司产品), PCR 扩增仪(美国 MJ 公司产品), 凝胶成像仪为上海天能科技有限公司产品。

1.4 方 法

1.4.1 药物敏感性试验 用纸片扩散(K-B)法检测 158 株鲍曼不动杆菌对 20 种抗菌药物的耐药性。具体方法及结果解释标准参照 CLSI 2014 年版标准^[2]。

1.4.2 细菌处理 将细菌在血平板培养过夜, 挑取单个纯菌落于 500 μ L 0.85% 的生理盐水中, 制成细菌悬液, 混匀。10 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 加入 500 μ L 无菌双蒸水, 混匀。细菌悬液 100 $^{\circ}$ C 水浴 15 min 后离心, 12 000 r/min 离心 2 min, 取上清液即为 DNA 模板。

1.4.3 引物设计与合成 TEM 引物序列参照文献^[3], 其他引物序列参照 GenBank 中相关基因序列采用引物搜索软件 Oligo 6.0 设计引物, 并由大连宝生物工程有限公司合成。引物序列(5'~3')如下。PER-P1: TAC CTG GGC TCC GAT AAT; PER-P2: TAA CCG CTC TGG TCC TGT; TEM-P1: TAG GCT GCA CGA GTG GGT TA; TEM-P2: TAC TTG ATG CCG GGA AGC TA; CTX-M-P1: ACA GCG ATA ACG TGG CGA TG; CTX-M-P2: TCG CCC AAT GCT TTA CCC AG; SHV-P1: CCG CTG GGA AAC GGA ACT; SHV-P2: CCC GCA GAT AAA TCA CCA CAA T。

1.4.4 基因扩增 采用 50 μ L 反应体系, 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 再 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 54 $^{\circ}$ C 复性 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s, 共 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳, 紫外凝胶电泳成像仪下观察特异性扩增条带, 记录结果。

1.4.5 测序 由大连宝生物工程有限公司完成。

2 结 果

2.1 药敏试验 158 株鲍曼不动杆菌对多黏菌素 B 均敏感, 其次对米诺环素耐药率最低, 仅为 3.9%, 对亚胺培南、头孢哌酮-舒巴坦和丁胺卡那霉素的耐药率分别为 45.8%、48.1% 和 39.1%, 对其余测试药物的耐药率均在 50% 以上, 耐药率最高为头孢唑林(99.2%)和头孢哌酮(98.4%)。见表 1。

2.2 PCR 检测结果 100 株 MRAB 进行 PCR 扩增, 54 株(54%)PER 基因阳性, 32 株(32%)SHV 基因阳性, 16 株(16%)TEM 基因阳性, 有 2 株(2%)同时携带这 3 种基因, 6 株(6%)同时携带 SHV 和 PER 型基因。未扩增出 CTX-M 基因。

2.3 PCR 产物测序结果 随机各取 1 份 PER、SHV、TEM 基因阳性的 PCR 产物送检测序, 测序结果经 BLAST 比对, 与 GenBank 上注册的 PER-1、SHV-12、TEM-1 基因同源性分别为 99%、100%、99%。

* 基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2014HP061); 山东省医药卫生科技发展项目(2013WS0066)。

表 1 158 株鲍曼不动杆菌药物敏感性分析结果 (%)

抗菌药物	耐药	中介	敏感
丁胺卡那霉素	39.1	4.7	56.2
庆大霉素	67.2	1.6	31.3
氨苄西林	97.7	1.6	0.8
哌拉西林	69.5	11.7	18.8
头孢唑林	99.2	1.6	-0.8
头孢克洛	97.7	2.3	0.0
头孢噻肟	68.8	28.1	3.1
头孢他啶	64.1	2.3	33.6
头孢哌酮	98.4	0.0	1.6
头孢美唑	74.2	4.7	21.1
头孢吡肟	64.8	4.7	30.5
环丙沙星	68.8	1.6	29.7
左氧氟沙星	68.8	1.6	29.7
复方磺胺甲噁唑	68.0	0.8	31.3
氨苄西林-舒巴坦	57.0	10.2	32.8
头孢哌酮-舒巴坦	48.1	14.8	37.1
哌拉西林-他唑巴坦	63.3	9.4	27.3
亚胺培南	45.8	0.0	54.2
米诺环素	3.9	2.3	93.8
多黏菌素 B	0.0	0.0	100.0

3 讨论

鲍曼不动杆菌是重要的院内感染病原菌,近年来随着临床分离菌株增加,耐药率也逐年上升,多重耐药株甚至泛耐药株不断检出。我国 2014 年 CHINET 对 17 家教学医院耐药性监测显示,鲍曼不动杆菌对亚胺培南的耐药率也达到 62.8%,且泛耐药株较 2013 年有所上升^[4]。国外还有报道它对多黏菌素和替加环素的耐药^[5-7]。本研究收集的 158 株鲍曼不动杆菌均对多黏菌素 B 均敏感,对米诺环素耐药率为 3.9%,对其他多数抗菌药物耐药率均较高,这与国内外相关报道基本一致^[8-9];对碳青霉烯类的亚胺培南耐药率也达 45.8%,应引起临床医生的高度重视。临床在治疗鲍曼不动杆菌引起的感染时,选用单一抗菌药物疗效较差,因此可考虑联合用药。本院鲍曼不动杆菌对青霉素类及头孢菌素类耐药率较高,相比之下对丁胺卡那霉素的耐药率(39.1%)相对较低,可能与本院经常应用青霉素类及头孢菌素类抗菌药,而使用氨基糖苷类药物较少有关。

ESBLs 是细菌产生的能水解大多数青霉素、头孢菌素和氨基南等 β-内酰胺类抗菌药物的一类 β-内酰胺酶,其活性可被酶抑制剂克拉维酸、舒巴坦等抑制^[10]。自 1983 年在联邦德国首次从臭鼻克雷伯菌分离出产 SHV-2 型 ESBLs 以来,世界各地在肠杆菌、非发酵菌中检出大量产 ESBLs 菌株,而且新的 ESBLs 亚型不断被发现^[11-12]。因此,加强对 ESBLs 基因型监测,控制 ESBLs 菌株的传播,防止其暴发流行显得尤为必要。

在不同的地区鲍曼不动杆菌的耐药基因表型不同。目前,国内外在鲍曼不动杆菌中分离的由质粒介导的 ESBLs 主要为 PER-1,其具有较强的扩散能力,可在不同菌株、菌种间传递耐药性,具有引起暴发流行的潜在危险性^[13-15]。本研究对收集的 100 株多重耐药菌株进行 PCR 扩增,发现 54 株携带 PER-1

基因,32 株携带 SHV-12 基因,16 株携带 TEM-1 基因,并有两株同时携带这 3 种基因。同一菌株携带多种 ESBLs 编码基因,分析其产生原因可能为产 ESBLs 菌株通过质粒进行菌株间耐药基因的交换,从而使得在同一质粒上包含多个耐药基因,这会造成耐药基因的扩散能力大幅度提高,同时引起鲍曼不动杆菌的耐药谱明显扩大。

本研究显示本院的鲍曼不动杆菌耐药现象较严重,PER-1、SHV-12、TEM-1 基因与多重耐药相关。这提示医务工作者在临床治疗中要注意根据药敏结果合理使用抗菌药物,避免诱导耐药;同时注意监测产 ESBLs 情况,及时发现新的耐药基因型,从而预防感染的暴发,减少耐药株的播散。

参考文献

- [1] Nie XM, Huang PH, Ye QF, et al. The distribution, drug resistance, and clinical characteristics of acinetobacter baumannii infections in solid organ transplant recipients [J]. Transplant Proc, 2015, 47(10): 2860-2864.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, nineteenth informational supplement document. [S]. Wayne, PA USA: CLSI, 2014.
- [3] Tasli H, Bahar IH. Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey [J]. Jpn J Infect Dis, 2005, 58(3): 162-167.
- [4] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
- [5] Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(9): 2946-2950.
- [6] Peleg AY, Potoski BA, Rea R, et al. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report [J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(1): 128-131.
- [7] Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Nat Rev Microbiol, 2007, 5(12): 939-951.
- [8] 侯盼飞, 应春妹, 汪雅萍, 等. 鲍曼不动杆菌产 β-内酰胺酶研究 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(7): 285-289.
- [9] 王辉, 孙宏莉, 廖康, 等. 北京和广州地区四家医院不动杆菌碳青霉烯酶基因型研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(6): 636-641.
- [10] Kim BN, Peleg AY, Lodise TP, et al. Management of meningitis due to antibiotic-resistant *Acinetobacter* species [J]. Lancet Infect Dis, 2009, 9(4): 245-255.
- [11] Vahaboglu H, Oztürk R, Aygün G, et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1997, 41(10): 2265-2269.
- [12] Freire MP, Pierrotti LC, Oshiro IC, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* acquired before liver

transplantation; Impact on recipient outcomes [J]. Liver Transpl, 2016, 22(5): 615-626.

[13] Endimiani A, Luzzaro F, Migliavacca R, et al. Spread in an Italian hospital of a clonal Acinetobacter baumannii strain producing the TEM-92 extended-spectrum beta-lactamase [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(6): 2211-2214.

[14] 周奉娟, 杨细媚, 万祥辉. 80株鲍曼不动杆菌产超广谱β-临床探讨 •

内酰胺酶检测及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(9): 1052-1054.

[15] Fallah F, Noori M, Hashemi A, et al. Prevalence of bla NDM, bla PER, bla VEB, bla IMP, and bla VIM Genes among Acinetobacter baumannii Isolated from two hospitals of Tehran, Iran [J]. Scientifica(Cairo), 2014: 245162.

(收稿日期: 2016-01-09 修回日期: 2016-04-05)

维、汉、哈族酒依赖患者幽门螺杆菌感染的影响因素研究*

李书群¹, 李晓勤^{2△}, 王梦远¹

(1. 乌鲁木齐市第四人民医院检验科, 新疆 830002; 2. 乌鲁木齐市妇幼保健院检验科, 新疆 830002)

摘要:目的 研究维吾尔族(维族)、汉、哈萨克族(哈族)酒依赖患者幽门螺旋杆菌(Hp)感染的影响因素, 探索不同民族酒依赖患者 Hp 感染的病因线索, 为防治提供依据。方法 采用问卷调查和 14C 呼气试验, 分别对 2014 年 9 月至 2015 年 8 月符合入组条件的 94 例维族、124 例汉族和 106 例哈族酒依赖患者进行 Hp 感染的影响因素研究。14C 尿素呼气试验用于评估研究对象 Hp 现症感染情况。计数资料的比较采用 χ^2 检验; 等级资料的比较采用秩和检验; 对 Hp 感染率与多个因素的关系采用多因素 logistic 逐步回归分析。结果 维族患者 Hp 感染率为 83.0%, 汉族为 75.0%, 哈族为 86.8%。多因素 logistic 逐步回归分析提示: 饮酒年限和家族饮酒史是维族患者 Hp 感染的危险因素; 年龄和文化程度是汉族 Hp 感染的保护因素; 年龄是哈族 Hp 感染的保护因素, 而饮酒频率和烟龄是哈族 Hp 感染的危险因素。结论 维、汉、哈族酒依赖患者 Hp 感染率均高于全国平均水平(55%), 过度饮酒可能导致 Hp 感染的发生, 且维、汉、哈族 Hp 感染的危险因素不尽相同。针对性地开展高风险饮酒的健康教育, 对预防 Hp 感染有积极作用。

关键词: 幽门螺杆菌; 感染; 民族; 危险因素; 酒依赖

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.17.031 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)17-2486-04

幽门螺杆菌(Hp)是世界上感染范围最广的细菌之一, 感染了全球半数以上人口^[1], 我国 Hp 的现症感染率为 42%~64%, 平均 55%, 属于 Hp 高感染率国家^[2]。目前, Hp 确切的感染途径尚不完全明确^[3]。酒依赖患者属于饮酒人群, 过度饮酒是其最为显著的特征。本课题组研究了维吾尔族(维族)、汉、哈萨克族(哈族)酒依赖患者 Hp 感染的影响因素, 旨在探讨不同民族酒依赖患者 Hp 感染的病因, 为 Hp 感染的防治提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2014 年 9 月至 2015 年 8 月在戒酒科住院的酒精依赖患者纳入本研究。酒精依赖的诊断标准, 符合国际诊断标准(ICD-10)中“F10 因使用酒精所致的精神和行为障碍”。(1)纳入标准: ①喝中高度白酒; ②性别不限; ③近 4 周内未服用过质子泵抑制剂、H₂受体拮抗剂、铋制剂及各种抗生素等药物; ④愿意签署书面知情同意书者。(2)排除标准: ①既往接受过胃切除手术者; ②不能正确表达自己的主述, 不能合作本试验者。共收集符合条件的患者 324 例, 均为男性, 其中, 维族 94 例, 年龄(42.24±6.53)岁; 哈族 106 例, 年龄(43.52±7.01)岁; 汉族 124 例, 年龄(42.54±6.78)岁, 维、汉和哈族之间年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 YH04 Hp 检测仪由安徽养和医疗器械设备有限公司提供, 尿素 14C 胶囊为上海欣科医药有限公司提供, 按说明书操作。

1.3 方法

1.3.1 问卷内容 包括一般人口学资料(性别、民族、年龄、职业、文化程度)和饮酒情况(初饮年龄、饮酒年限、成瘾年限、饮酒频率、每日饮酒量、是否共用酒具、是否吸烟、每日吸烟量、家族嗜酒史等), 由调查员以面对面的方式指导患者逐项填写完成。

1.3.2 14C 呼气试验(14C-UBT) 测定指标为 14C 每分钟衰变数(DPM); 结果判定: DPM 值 0~<100 为(-), 150~<500 之间为(+), 500~<1 500 为(++), 1 500~<2 500 为(+++), ≥2 500 为(++++)。DPM 实测值在 100~150 的范围内者, 需要重复测量。若结果为阳性则为 Hp 感染^[4]。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2007 软件整理数据, 运用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析。对职业、饮酒频率等计数资料 Hp 感染率的比较采用 χ^2 检验; 对年龄、文化程度、初饮年龄、饮酒年限等等级资料的比较采用秩和检验; 对 Hp 感染率与年龄、职业、文化程度、初饮年龄、饮酒年限、成瘾年限、饮酒频率等多个因素的关系采用多因素 logistic 逐步回归分析, 设检验水准 $\alpha=0.1, P<0.1$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三个民族酒依赖患者 Hp 感染状况 维族 Hp 阳性 78 例, 感染率为 83.0%; 汉族 Hp 阳性 93 例, 感染率为 75.0%; 哈族 Hp 阳性 92 例, 感染率为 86.8%。

2.2 三个民族酒依赖患者 Hp 感染的单因素分析 见表 1。

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市局级项目(201406)。

△ 通讯作者, E-mail: 495049967@qq.com。