

with poorly controlled acute urticaria[J]. Dermatol Sin, 2017, 28(7):340-341.

- [8] ABUL M H, ORHAN F, TOPCU Z I, et al. Clinical and Epidemiological Differences in Patients with Acute Urticaria and Chronic Urticaria[J]. J Aller Clin Immunol, 2016, 137(2):AB58-AB62.

[9] 龚君芳, 王春燕, 陈娇磊. 小儿哮喘非急性发作期 IgE、EOS、LTE-4 含量的变化及其临床意义[J]. 中国生化药物杂志, 2017, 37(2):300-301.

(收稿日期:2017-08-21 修回日期:2017-11-02)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.05.037

烧伤患者亚胺培南耐药铜绿假单胞菌耐药情况和耐药基因研究

眭 阳¹, 王 滢², 于 文², 王莹超¹, 尹 娟¹

(南京医科大学附属苏州医院:1. 检验科;2. 感染管理科, 江苏苏州 215008)

摘要:目的 探讨烧伤患者亚胺培南耐药铜绿假单胞菌耐药情况和耐药基因。方法 选取 2015 年 2 月至 2017 年 2 月该院烧伤科收集的 31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌, 采用纸片扩散法进行药敏试验, 聚合酶链反应(PCR)检测铜绿假单胞菌亚胺培南耐药相关基因及外膜蛋白基因 OprD2, 琼脂稀释法检测氯氯苯胺对亚胺培南最小抑菌浓度(MIC)的影响。结果 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌对庆大霉素、头孢哌酮、头孢吡肟、氨曲南耐药率较高, 耐药率均大于 60.00%; 31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌中, IMP 基因阳性 6 株, 阳性率为 19.35%; VIM 基因阳性 3 株, 阳性率为 9.68%; OprD2 基因缺失 5 株, 阳性率为 16.13%。OXA-10 和 GES 耐药基因未检测到; 16.13% 的菌株存在主动外排的耐药机制。结论 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌对大部分抗菌药物耐药率较高, 其耐药机制与细菌膜微孔蛋白基因 OprD2 缺失、细菌产 IMP 型金属-内酰胺酶及细胞主动外排机制有关; 临床上应加强细菌耐药的监测以及抗菌药物的合理应用, 减少耐药菌株的产生。

关键词:铜绿假单胞菌; 耐亚胺培南; 耐药基因; 药敏试验

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)05-0688-03

烧伤是一种常见的外科创伤, 其能破坏皮肤的屏障功能并导致患者体内水分、电解质、蛋白质的丢失, 且烧伤创面为开放创面, 容易发生污染和细菌定植, 导致脓毒症的发生, 甚至导致死亡^[1-2]。研究表明, 细菌感染是烧伤患者最严重的并发症之一^[3-4]。但随着抗菌药物的广泛应用, 各种耐药菌株也在不断增加, 尤其是亚胺培南耐药铜绿假单胞菌的出现, 给临床上治疗带来了较大的难度, 而研究探讨细菌耐药的机制并寻找有效的治疗方法对于提高患者的预后具有重要的意义。为了进一步探讨分析烧伤患者亚胺培南耐药铜绿假单胞菌耐药情况和耐药基因, 本研究对本院烧伤科收集的 31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌进行了药敏试验和聚合酶链反应(PCR)检测, 旨在为临床上提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 2 月至 2017 年 2 月在本院治疗的烧伤患者 31 例, 收集其临床标本中分离出的亚胺培南耐药铜绿假单胞菌 31 株(剔除同一患者同一部位标本中获得的重复菌株), 其中男 22 例, 女 9 例; 年龄 2~70 岁, 中位年龄 46 岁; 标本来源: 创面 13 例, 导管 1 例, 呼吸道 15 例, 血液 1 例, 中段尿 1 例。

1.2 方法

1.2.1 药敏试验 采用纸片扩散法(K-B 法)进行药

敏检测, 哌拉西林、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮、头孢他啶、头孢吡肟、美罗培南、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星和氨曲南抗菌药物纸片均为 Oxoid 公司产品, 具体检测步骤按照说明书进行操作。

1.2.2 PCR 检测 将菌株置于 LB 培养基进行培养, 取约 2 g 培养物利用 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 在聚合酶的作用下进行扩增, 扩增条件如下: 94 ℃、5 min 后以 94 ℃、30 s 进行变性, 55 ℃、60 s 进行退火, 72 ℃、1 min 后延伸 2 min, 此为 1 个循环, 共进行 30 个循环, 取 PCR 扩增后的产物电泳后用凝胶成像系统观察结果并照相, 以双蒸水为阴性对照, 出现目的基因色带即为阳性。

1.2.3 氯氯苯胺对主动外排系统的检测 采用倍比稀释法制成含不同浓度亚胺培南的 M-H 琼脂平皿, 将待测菌落分别接种于含氯氯苯胺(浓度为 5 mg/L)的琼脂平皿和普通琼脂平皿上, 再将平皿均置于 35 ℃ 孵箱中培养 16~18 h。各取两种平皿上生长的铜绿假单胞菌落制成 0.5 麦氏浓度菌液, 均匀涂布在已配制好的含不同浓度亚胺培南的平皿表面, 最后再置 35 ℃ 恒温箱培养 20 h, 观察氯氯苯胺对亚胺培南的最小抑菌浓度(MIC)的逆转作用。若发现从含氯氯苯胺琼脂平皿挑取的菌落的亚胺培南 MIC 值降至普通琼脂上菌落 MIC 值的 1/4 以下时, 则表示此菌株存

在主动外排系统。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行数据处理和分析。计数资料采用百分数表示。

2 结 果

2.1 药敏试验结果 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌对庆大霉素、头孢哌酮、头孢吡肟、氨曲南耐药率较高，耐药率均大于 60.00%，见表 1。

表 1 31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌药敏结果[n(%)]			
抗菌药物	耐药	中介	敏感
哌拉西林	14(45.16)	7(22.58)	10(32.26)
头孢哌酮/舒巴坦	17(54.84)	7(22.58)	7(22.58)
哌拉西林/他唑巴坦	10(32.26)	9(29.03)	12(38.71)
头孢哌酮	23(74.19)	3(9.68)	5(16.13)
头孢他啶	14(45.16)	2(6.45)	15(48.39)
头孢吡肟	21(67.74)	1(3.23)	9(29.03)
氨曲南	19(61.29)	5(16.13)	7(22.58)
美罗培南	17(54.84)	4(12.90)	10(32.26)
阿米卡星	11(35.48)	0(0.00)	20(64.52)
庆大霉素	22(70.97)	0(0.00)	9(29.03)
环丙沙星	7(22.58)	9(29.03)	15(48.39)
左氧氟沙星	9(29.03)	6(19.35)	16(51.62)

2.2 耐药基因检测 31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌中,IMP 基因阳性 6 株,阳性率为 19.35%;VIM 基因阳性 3 株,阳性率为 9.68%;OprD2 基因缺失 5 株,阳性率为 16.13%;OXA-10 和 GES 耐药基因未检测到。

2.3 主动外排系统检测结果 在 31 株细菌中,氯氮苯酮的存在使亚胺培南的 MIC 值下降 1/4 的有 5 株,占 16.13%,其余 26 株无变化,提示有 16.13%的菌株存在主动外排的耐药机制。

3 讨 论

烧伤一般是指由热力(包括热液、蒸汽、高温气体、火焰、电能、化学物质、放射线,灼热金属液体或固体等)所引起的组织损害,主要是指皮肤或黏膜的损害,严重者可伤及其他组织^[5-7]。深度烧伤能破坏皮肤的屏障功能,导致体内水分、电解质、蛋白质的丢失,而微生物也可经烧伤创面侵入引起局部或全身感染,严重影响患者的生活质量^[8]。细菌感染是烧伤患者的严重并发症之一,患者的皮肤屏障被破坏,且烧伤创面为开放创面,极易发生污染和细菌定植^[9-10]。虽然新型抗菌药物不断被研发并使用于临床,但细菌也在升级自己的耐药系统与之抗衡,因此及时监测细菌耐药性及其变化趋势,对于抗菌药物的合理应用有着积极意义。

铜绿假单胞菌是一种重要的条件致病菌,也是烧伤科感染常见的致病菌,其对多种抗菌药物均具有天然耐药和多重耐药,给临床上治疗带来了较大的难

度^[11-12]。碳青霉烯类抗菌药物是一类新型的 β-内酰胺类抗菌药物,具有抗菌活性强、对酶稳定性高、不良反应少的优点,常被用于控制烧伤科重症感染,尤其对多重耐药革兰阴性杆菌和铜绿假单胞菌感染的治疗效果较好^[13]。但临床医生对该类药物的使用日益频繁,铜绿假单胞菌对碳青霉烯类药物的耐药率在逐年上升,且其耐药性强、耐药谱广,极易在抗菌药物的选择压力下产生获得性耐药,且多重耐药现象比较普遍^[14],这与本研究的结果基本一致。本研究选取本院烧伤科收集的 31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌进行药敏试验发现,亚胺培南耐药铜绿假单胞菌对庆大霉素、头孢哌酮、头孢吡肟、氨曲南耐药率较高,耐药率均大于 60.00%,提示亚胺培南耐药铜绿假单胞菌对大部分抗菌药物耐药率较高,这无疑给临床上治疗带来了极大的难度,而研究探讨亚胺培南耐药铜绿假单胞菌耐药的机制对于提高烧伤患者的治疗效果具有重要的意义。

目前针对铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制的研究较多,发现其耐药机制较为复杂多样,可能与外膜孔道蛋白 OprD2 的缺失、主动外排系统、金属酶产生、青霉素结合蛋白改变和生物膜形成等有关,且可能单独存在或是协同存在^[15]。OprD2 蛋白是一种微孔蛋白,也是亚胺培南进入菌体内的特异性通道,编码基因 OprD2 的突变可能会使 OprD2 蛋白的表达减少甚至缺失,导致菌体外膜蛋白对亚胺培南的通透性降低,最终引起铜绿假单胞菌对亚胺培南耐药。金属 β-内酰胺酶能够水解包括碳青霉烯类抗菌药物在内的几乎所有 β-内酰胺类抗菌药物,且耐药基因能够在菌种间转移和传播,从而给临床的抗感染治疗带来了严重的威胁。本研究通过 PCR 检测铜绿假单胞菌亚胺培南耐药相关基因及外膜蛋白基因 OprD2 发现,31 株亚胺培南耐药铜绿假单胞菌中 IMP 基因阳性 6 株,VIM 基因阳性 3 株,OprD2 基因缺失 5 株,而 OXA-10 和 GES 耐药基因未检测到,提示其耐药机制可能与细菌膜微孔蛋白基因 OprD2 缺失和细菌产 IMP 型金属-内酰胺酶等有关。

主动外排主要是指细菌通过外排泵把进入菌体内的抗菌药物排出体外,这也是铜绿假单胞菌多重耐药的一个重要原因。本研究同时发现,在 31 株细菌中,氯氮苯酮的存在使亚胺培南的 MIC 值下降 1/4 的有 5 株,提示有部分亚胺培南耐药铜绿假单胞菌菌株存在主动外排的耐药机制。但本研究限于研究样本的不足,对于烧伤患者亚胺培南耐药铜绿假单胞菌耐药机制的分析仍需作进一步的深入研究。

综上所述,亚胺培南耐药铜绿假单胞菌对大部分抗菌药物耐药率较高,其耐药机制与细菌膜微孔蛋白基因 OprD2 缺失、细菌产 IMP 型金属-内酰胺酶及细胞主动外排机制有关;临床上应加强细菌耐药的监测以及抗菌药物的合理应用,减少耐药菌株的产生。

参考文献

[1] ROWAN M P, CANCIO L C, ELSTER E A, et al. Burn wound healing and treatment; review and advancements [J]. Crit Care, 2015, 19(1): 243-247.

[2] SERFONTEIN D E, MULDER E J, REITSMA F. Optimisation of deep burn incineration of reactor waste Plutonium in a PBMR DPP-400 core [J]. Nucl Eng Des, 2014, 271(6): 99-105.

[3] HARTANTO D, KIM Y, VENNERI F. Neutronics evaluation of a super-deep-burn with TRU Fully Ceramic Microencapsulated (FCM) fuel in CANDU [J]. Prog Nucl Energ, 2015, 83(3): 261-269.

[4] 唐慧琴, 陈定强, 吴爱武. 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌的耐药性与相关耐药基因 [J]. 实用医学杂志, 2016, 32(23): 3947-3950.

[5] JESCHKE M G, PINTO R, KRAFT R, et al. Morbidity and survival probability in burn patients in modern burn care [J]. Crit Care Med, 2015, 43(4): 808-815.

[6] 靳妍, 王淑珍, 胡静. 负压封闭引流术在深度烧伤创面护理中的应用 [J]. 中国继续医学教育, 2015, 2(3): 14-16.

[7] 杨焕纳, 田社民, 魏莹, 等. 四肢深度烧伤切削痂植皮治疗的临床疗效分析 [J]. 中国继续医学教育, 2015, 24(6): 225-226.

[8] 石梦娜, 李娜, 王冰水, 等. 早期超短波联合序贯压力治疗对手深度烧伤后功能恢复的作用 [J]. 中华烧伤杂志, 2014, 30(6): 472-476.

[9] 罗雪平, 周云, 黄支密. 烧伤患者创面细菌感染的分布及其耐药性分析 [J]. 蚌埠医学院学报, 2015, 40(9): 1247-1249.

[10] 姚新宝, 李娟, 刘利华, 等. 烧伤患者创面感染病原菌分布及耐药性监测 [J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39(12): 1538-1540.

[11] 陈咏君, 陈咏玫, 张立群, 等. 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌产金属 β -内酰胺酶基因的流行病学研究简 [J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(9): 1471-1474.

[12] 张为华, 牛司强, 袁喆. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌的耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(1): 38-39.

[13] 陈倩, 王茹, 孙亚娟, 等. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类药物的耐药率变迁 [J]. 中国消毒学杂志, 2015, 32(9): 937-939.

[14] 李情操, 卢雯君, 吴巧萍, 等. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌整合子检测与耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(10): 2172-2175.

[15] 刘涛, 修清玉. 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌金属 β -内酰胺酶和外膜蛋白机制研究 [J]. 国际呼吸杂志, 2015, 35(18): 1361-1364.

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.05.038

(收稿日期:2017-08-28 修回日期:2017-11-14)

不同时间应用米非司酮结合米索前列醇的流产效果对比

文 蓉¹, 彭 艳², 文远凤², 罗小平¹

(1. 江苏省无锡市妇幼保健院妇产科 214000; 2. 湖北省松滋市第二人民医院妇产科 434200)

摘要:目的 探讨不同时间应用米非司酮结合米索前列醇的流产效果。方法 选取 2013 年 11 月至 2016 年 11 月自愿要求停止妊娠的 10~14 周孕妇 1 109 例,按随机数表法将孕妇分为第 1 组 369 例、第 2 组 370 例和第 3 组 370 例,3 组孕妇先服用米非司酮,连服用 2 d 后第 1 组孕妇在 1~12 h 内服用米索前列醇,第 2 组孕妇在 12~24 h 内服用米索前列醇,第 3 组孕妇在 24~36 h 内服用米索前列醇,对 3 组孕妇服用药物后的流产效果、妊娠物排出时间、阴道出血量、流产后不良反应进行比较。结果 第 1 组完全流产 277 例(75.1%)、不全流产 45 例(12.2%)、无效流产 47 例(12.7%)和总有效 322 例(87.3%);第 2 组孕妇完全流产 299 例(80.8%)、不全流产 62 例(16.8%)、无效流产 9 例(2.4%)和总有效 361 例(97.6%);第 3 组孕妇完全流产 286 例(77.3%)、不全流产 65 例(17.6%)、无效流产 19 例(5.1%)和总有效 351 例(94.9%),第 1 组与第 2、3 组差异有统计学意义($P<0.05$)。第 1、2、3 组妊娠物排除时间和阴道出血量分别为(7.83±3.92)h、(54±2)mL、(6.85±3.76)h、(38±5)mL、(7.58±3.94)h、(48±3)mL,第 2 组与第 1、3 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);第 1 组流产后出现胃肠道反应 68 例(18.4%)、严重过敏反应 1 例(0.3%),第 2 组流产后出现胃肠道反应 58 例(15.7%),第 3 组流产后出现胃肠道反应 61 例(16.5%),3 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 服用米非司酮后,12~24 h 内服用米索前列醇有最好的流产效果。

关键词:米非司酮; 米索前列醇; 流产; 时机

中图分类号:R714.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2018)05-0690-03

流产是指妊娠不足 28 周且胎儿体质量不足 1 000 g,因为自然因素或药物作用而终止妊娠的现象^[1]。流产按时间划分又可以分为早期流产和晚期流产^[2]。早期流产发生在妊娠 12 周内,而晚期流产发生在妊娠 12~28 周^[3]。使用药物流产的最佳时期应该在妊娠 49 d 之内,但在实际过程中有许多超出最