

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 04. 021

IRPA 对 β -内酰胺酶类抗菌药物主要耐药机制研究

沈佳丽, 蒋 逸, 蒋文玥

(江苏省常州市武进人民医院 213161)

摘要:目的 研究该院耐亚胺培南的铜绿假单胞菌 β -内酰胺酶的基因分布、膜孔蛋白 OprD2 的缺失情况及外排泵 MexAB-OprM 的表达情况。方法 收集该院 2015 年 4 月至 2016 年 7 月由全自动细菌鉴定仪筛选出来的耐亚胺培南的铜绿假单胞菌,采用 K-B 法进行耐药表型确认,采用聚合酶链反应(PCR)检测耐亚胺培南铜绿假单胞菌金属酶基因 IMP、VIM、SIM、GIM、SPM,超广谱 β -内酰胺酶基因 TEM、VEB、SHV、PER、OXA-2、OXA-10;对扩增阳性产物进行基因测序,采用实时荧光定量 PCR 检测铜绿假单胞菌膜孔蛋白 OprD2 的缺失情况及 mexA 的表达水平。结果 该院耐亚胺培南铜绿假单胞菌金属酶基因均未检出;超广谱 β -内酰胺酶基因 TEM 阳性 20 株(83.3%),其他型未有检出;阳性产物基因测序经比对确认为 TEM-1 型;膜孔蛋白 OprD2 缺失 6 株(25%),外排泵 MexAB-OprM 过度表达 6 株(25%)。结论 该院耐亚胺培南铜绿假单胞菌对 β -内酰胺酶类的耐药机制主要以超广谱 β -内酰胺酶基因 TEM-1 型介导为主,膜孔蛋白 OprD2 缺失以及主动外排泵 MexAB-OprM 过度表达为辅。

关键词:铜绿假单胞菌; 亚胺培南; 金属酶; 膜孔蛋白; 外排泵**中图法分类号:**R378**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2019)04-0506-05

Study on main drug resistance mechanism of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactam antibacterial drugs

SHEN Jiali, JIANG Yi, JIANG Wenyue

(Changzhou Municipal Wujin People's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213161, China)

Abstract: Objective To investigate the gene distribution of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (IRPA) β -lactamase, deletion of porin protein OprD2 and expression of efflux pump MexAB-OprM in this hospital. **Methods** IRPA in this hospital from April 2015 to July 2016 screened out by the automatic bacteriological analyzer were collected and conducted the drug resistance phenotype confirmation by adopting the K-B method. Metalloenzyme gene IMP, VIM, SIM, GIM, SPM, extended-spectrum β -lactamase gene TEM, VEB, SHV, PER, OXA-2 and OXA-10 in IRPA were detected by adopting PCR; the products of amplification positive conducted the gene sequencing. *Pseudomonas* membrane porin OprD2 deletion and expression level of mexA were detected by adopting real time fluorescence quantitative PCR. **Results** Metalloenzyme genes of IRPA were not detected in this hospital, and 20 (83.3%) strains were positive for extended-spectrum β -lactamase TEM. Other types were not detected. The positive products gene sequencing by comparison was confirmed as the type TEM-1, there were 6 strains (25%) of membrane pore proteins OprD2 deletion and 6 strains (25%) of efflux pump MexAB-OprM overexpression positive. **Conclusion** The drug resistance mechanism of IRPA to β -lactams in this hospital is mainly mediated by extended-spectrum β -lactamase gene TEM-1 type, membrane pore protein OprD2 deletion and is supplemented by active efflux pump MexAB-OprM.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; imipenem; metalloenzyme; membrane pore protein; efflux pump

铜绿假单胞菌是临床常见的病原菌之一。碳青霉烯类药物曾被认为是抵御革兰阴性菌感染最有效的药物^[1],亚胺培南作为第 1 个获批准用于临床的碳青霉烯类药物,也是目前应用最广的该类物质之一。但是近年来不断有耐亚胺培南的铜绿假单胞菌(IRPA)被检出,根据全国耐药监测网数据显示,2015 年铜绿假单胞菌的检出率为 12.9%,位于革兰阴性菌的

第 3 位,对碳青霉烯类药物耐药率全国为 22.4%,江苏省为 27.2%^[2],而本院 2015 年 IRPA 的检出率为 27.3%,与江苏省水平持平。铜绿假单胞菌的耐药机制十分复杂,了解本院 IRPA 的耐药特征及耐药机制,对临床有效控制感染具有十分积极的意义。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集本院 2015 年 4 月至 2016 年 7

月由临床送检标本中检出的 IRPA 24 株,剔除同一患者的重复菌株。

1.2 仪器与试剂 亚胺培南纸片(10 μg/L)为 Oxoid 公司产品,购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。细菌 DNA 提取试剂盒(产品编号 B518225)、UNIQ-10 柱式琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(产品编号 B511139)、细菌总 RNA 快速抽提试剂盒(产品编号 B518625)、M-MuLV 第 1 链 cDNA 合成试剂盒(产品编号 B532435)、聚合酶链反应(PCR)上下游引物、DEPC 水、琼脂糖凝胶 Agarose B、Low EEO、100 bp Marker 均购自生工生物(上海)有限工程公司。PCR 检测试剂盒、实时荧光定量 PCR(RT-PCR)试剂盒均购自 TAKARA 公司,实验所用平板及肉汤购自上海科玛嘉公司。全自动细菌药敏鉴定仪 Vitek-2 Compact 及 BD Phoneix100 为本院微生物实验室仪器,MyGo Pro™ 荧光定量 PCR 仪、ABI96 孔 PCR 扩增仪、紫外分光光度仪、EPS-300 电泳仪及凝胶成像系统均为本院肿瘤实验室仪器,质控菌株为铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定与药敏试验 全自动细菌鉴定仪筛选出 IRPA,采用 K-B 法进行确认,结果判读标准为美国临床和实验室标准协会(CLSI)2014 年标准,仪器法和 K-B 法亚胺培南均为耐药者入选本研究。

1.3.2 PCR 检测 β-内酰胺酶 采用细菌基因组 DNA 快速抽提试剂盒提取细菌 DNA 作为 PCR 模板,提取完成后置-20℃备用。PCR 分别扩增铜绿假单胞菌 5 种金属 β-内酰胺酶(MBLs)基因——IMP、VIM、SIM、GIM、SPM,6 种超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)基因——TEM、VEB、SHV、PER、OXA-2、OXA-10,引物序列、相关参数及参考文献见表 1。PCR 扩增体系采用 50 μL 体系:TE buffer 5 μL, dNTP 4 μL,上、下游引物各 1 μL, Taq 酶 0.25 μL, DNA 模板 2 μL, ddH₂O 36.75 μL。PCR 扩增条件如下:金属酶,94℃预变性 5 min,然后 94℃ 30 s→退火 30 s→72℃ 60 s,循环 40 个周期,最后 72℃ 延伸 7 min,具体退火温度见表 1。ESBLs:扩增产物>500 bp,93℃预变性 2 min,94℃ 60 s→55℃退火 60 s→72℃延伸 60 s,共 35 个循环,最后 72℃延伸 5 min; PCR 产物<500 bp,93℃预变性 5 min,93℃ 30 s→55℃退火 30 s→72℃延伸 30 s,共 35 个循环,最后 72℃延伸 5 min。PCR 扩增产物加入 10 μL 6×DNA loading buffer,经 1%琼脂糖凝胶,120 mV 电泳 30~40 min,紫外灯下观察结果,出现与目的条带大小一致即认为阳性,拍照保存,切胶回收。

1.3.3 基因测序 目的条带胶块经 UNIQ-10 柱式琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收纯化后,送上海生工测序部测序,测序结果登录 NCBI 对比序列。

1.3.4 RT-PCR 测定膜孔蛋白 OprD2 及 mexA 表达

水平

1.3.4.1 铜绿假单胞菌总 RNA 的提取 取 35℃过夜培养的铜绿假单胞菌,按细菌总 RNA 快速抽提试剂盒说明提取 RNA,用紫外分光光度仪检测所提取的总 RNA 的浓度和质量,计算 RNA 水平。

1.3.4.2 反转录 cDNA 合成 采用 M-MuLV 第 1 链 cDNA 合成试剂盒对提取的细菌 RNA 进行反转录,生成的 cDNA 置于-20℃备用。

1.3.4.3 RT-PCR 检测膜孔蛋白 OprD2 及 mexA 表达水平 以 cDNA 稀释至 1/10 作为模板,分别以目的基因 OprD2 (F: 5'-CTA GCC TCC TAT GGC GTT CC-3'; R: 5'-AGG TTG GTT TCG TGG TGC TT-3')、mexA (F: 5'-AAG CGC CTG TTC AAG GAA GG-3'; R: 5'-CCT TGG TGT AGC GCA GGT TG-3')、内参基因 rspL (F: 5'-CGG CAC TGC GTA AGG TAT GC-3'; R: 5'-CCC GGA AGG TCC TTT ACA C-3')作为引物进行 RT-PCR,铜绿假单胞菌 ATCC27853 作为正常对照,反应体系:SYBR Green 染料 5 μL,上下游引物各 1 μL, cDNA 模板 1 μL, ddH₂O 2 μL,共计 10 μL。反应条件:95℃ 420 s, 95℃ 30 s→60℃ 15 s→72℃ 15 s,共 40 个循环。相对表达量以 2^{-ΔΔCt} 法表示, ΔΔCt = (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{实验株} - (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{对照株}。结果判定:以对照菌株 ATCC27853 基因表达水平记为 1,实验菌株的 OprD2 表达与对照菌株相比,表达下降 30%以上,则认为 OprD2 表达有缺失;实验菌株的 mexA 表达与对照菌株相比表达≥1,则即认为外排泵 MexAB-OprM 表达升高。

表 1 PCR 引物序列

基因	引物序列 5'~3'	产物大小 (bp)	退火温度 (℃)	参考文献
IMP	CGGCTCAGGAGAGTCTTT	587	55	[3-4]
	AACCAGTTTTCGCTTACCAT			
VIM	ATTCGGTCGGAGAGGTCGG	633	55	[3-4]
	GAGCAAGTCTAGACGCCCG			
SIM	TACAAGGGATTTCGGCATCG	571	54	[5]
	TAATGGCCTGTTCCTCAIGTG			
SPM	CTGCTTGGATTTCATGGGCGCG	786	56	[5]
	CCTTTTCCGCGACCTTGCTCG			
GIM	CTTGTCGCTTGCCAGCTTTA	562	49	[5]
	CAGCCCAAGAGCTAAATTGAGG			
TEM	AGGAAGAGTATGATCAACA	535	55	[3-4]
	CTCGTCGTTTGGTATGGC			
SHV	TGCGCAAGCTGCTGACCAGC	305	55	[3-4]
	TTAGCGYTGCCAGTGCTCGA			
PER	AGTCAGCGGCTTAGATA	978	55	[3-4]
	CGTATGAAAAGGACAATC			

续表 1 PCR 引物序列				
基因	引物序列 5'~3'	产物大小 (bp)	退火温度 (℃)	参考文献
VEB	GCGGTAATTTAACCAGA	961	55	[3-4]
	GCCTATGAGCCAGTGTT			
OXA-2	CAGGCGCYGTTTCGYGATGAGTT	233	55	[3-4]
	GCCYTCTATCCAGTAATCGCC			
OXA-10	GTCTTTCAAGTACGGCATT	822	55	[3-4]
	GATTTTCTTAGCGCAACTTA			

2 结 果

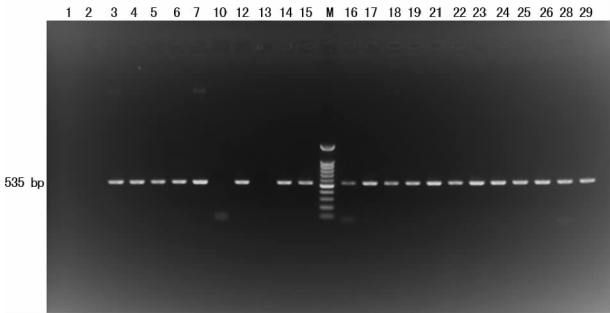
2.1 酶基因检测结果 24 株 IRPA 显示金属酶基因均为阴性,ESBLs 基因 TEM 有 20 株为阳性,阳性率为 83.3%,其余基因检测均为阴性。见图 1。

2.2 PCR 检测阳性产物基因测序结果 经比对,PCR 阳性产物 TEM 均为 TEM-1 型。

2.3 膜孔蛋白 OprD2 表达水平 实验菌株的 OprD2 表达水平与对照菌株相比下降 30%以上,认为

OprD2 表达有缺失。结果显示 6 株菌株(15001、15005、15013、15016、15017、15026)表达量有明显下降,阳性率为 25%。见表 2。

2.4 mexA 表达水平 根据实验菌株的 mexA 表达水平与对照菌株相比表达≥1,即认为外排泵 MexAB-OprM 表达升高,结果显示 6 株菌株(15006、15012、15014、15019、15021、15025)表达量有明显上升,阳性率为 25%。见表 2。



注:M 为 DNA 标记物;1~29 为实验菌株编号;目的条带 535 bp

图 1 24 株 IRPA 的 TEM 基因 PCR 结果

表 2 IRPA 的 MBLs、ESBLs、膜孔蛋白 OprD2、mexA 结果

菌株	MBLs	TEM	SHV	PER	VEB	OXA-2	OXA-10	OprD2	mexA
15001	—	—	—	—	—	—	—	0.681	0.593
15002	—	—	—	—	—	—	—	0.798	0.561
15003	—	+	—	—	—	—	—	0.758	0.722
15004	—	+	—	—	—	—	—	0.820	0.825
15005	—	+	—	—	—	—	—	0.413	0.311
15006	—	+	—	—	—	—	—	0.829	2.337
15007	—	+	—	—	—	—	—	1.068	0.565
15010	—	—	—	—	—	—	—	1.055	0.625
15012	—	+	—	—	—	—	—	1.291	1.104
15013	—	—	—	—	—	—	—	0.627	0.384
15014	—	+	—	—	—	—	—	1.058	1.178
15015	—	+	—	—	—	—	—	0.722	0.856
15016	—	+	—	—	—	—	—	0.145	0.113
15017	—	+	—	—	—	—	—	0.678	0.859
15018	—	+	—	—	—	—	—	2.558	0.348
15019	—	+	—	—	—	—	—	1.230	1.169
15021	—	+	—	—	—	—	—	0.961	1.063
15022	—	+	—	—	—	—	—	0.913	0.623
15023	—	+	—	—	—	—	—	0.754	0.532
15024	—	+	—	—	—	—	—	0.842	0.499
15025	—	+	—	—	—	—	—	0.988	1.011
15026	—	+	—	—	—	—	—	0.646	0.474
15028	—	+	—	—	—	—	—	0.726	0.791
15029	—	+	—	—	—	—	—	1.186	0.869

注:MBLs 包括 IMP、VIM、SIM、GIM、SPM

3 讨 论

铜绿假单胞菌对碳青霉烯类的耐药机制比较复杂,主要认为与以下几点有关^[5-7]:(1)药物灭活酶的产生,包括 ESBLs、头孢菌素酶(AmpC 酶)、MBLs 等;(2)外膜通透性障碍即膜孔蛋白的改变或缺失引起耐药,铜绿假单胞菌携带多种膜孔蛋白,其中 OprD2 被认为是亚胺培南进入铜绿假单胞菌的特异性通道;(3)外排泵系统的过度表达,有研究认为,铜绿假单胞菌外排泵基因的表达式与特定种类的耐药程度有关,且外排泵的高表达加剧了铜绿假单胞菌的耐药性^[8-9];(4)药物作用靶位的改变;(5)生物膜的形成。铜绿假单胞菌的耐药机制比较复杂,不同的药物有不同的耐药机制,对同一药物耐药通常可能是多种耐药机制共同参与的结果,不同地区、不同医院的耐药机制也存在的差异。蒋月婷等^[10]研究分析了广州地区耐药株,认为耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(CR-PA)主要以产 IMP 型金属酶为主。而陈华彬等^[11]的研究则认为耐多药铜绿假单胞菌对头孢菌素的耐药主要与 A 类和 D 类 ESBLs 基因有关,OprD2 基因缺失亦是一个主要原因。明德松等^[12]荟萃分析了 16 个省市的 CRPA 的耐药基因分布,发现我国 CRPA 以 OprD2 基因缺陷为主,金属酶基因 VIM、IMP 及丝氨酸酶基因 OXA 表达异常为辅,主动外排系统基因也是一个重要因素。

本研究分析了 5 种金属酶基因(IMP、VIM、SIM、GIM、SPM),并未检测出阳性。分析 6 种 ESBLs 基因(TEM、VEB、SHV、PER、OXA-2 及 OXA-10),结果显示,本院 IRPA 多携带 TEM 型 ESBLs 基因,阳性率为 83.3%,基因测序提示均为 TEM-1 型。TEM 属于广谱酶,能水解广谱青霉素、第 3 代头孢菌素及单环类抗菌药物。分析膜孔蛋白 OprD2 的缺失情况,发现有 6 株表达明显低于标准菌株的 30%,阳性率为 25%,另有 11 株菌株相对于标准菌株略有下降,但未达到 30%的标准,这部分的缺失是否对铜绿假单胞菌耐药表型有所影响,还需要进一步研究。MexAB-OprM 过度表达 6 株,阳性率为 25%,但是否有其他外排泵的激活还需要进一步分析。分析实验菌株的耐药表型与耐药机制,仅膜孔蛋白 OprD2 表达降低的菌株是 15001 与 15013。OprD2 被认为是亚胺培南进入铜绿假单胞菌的特异性通道,回顾分析其耐药表型发现:15001 是 1 株对头孢他啶敏感、美罗培南敏感而亚胺培南耐药的菌株,OprD2 表达降低正好解释了这一耐药表型,而 15013 是 1 株对头孢他啶、美罗培南和亚胺培南均耐药的菌株,现有的耐药机制无法解释这一表型,说明可能存在着其他的耐药机制,需要进一步的分析。共有 10 株菌株(15005、15006、15012、15014、15016、15017、15019、15021、15025、15026)两种耐药机制均有检出,但其耐药表型却并不完全一致,这可能存在着其他耐药机制造成耐药表型的不一

致。而 15002 两种机制均未检出,这些菌株的耐药机制均需要进一步研究。杨菁菁等^[13]探讨了泛耐药铜绿假单胞菌(PDR-PA)的 3 种主要耐药机制发现,65%的 PDR-PA 存在 2 种或 2 种以上耐药机制,并以 ESBLs 合并膜孔蛋白缺失最多见。

本研究收集的 24 株菌株,部分菌株对亚胺培南和(或)美罗培南耐药,但对阿米卡星、环丙沙星、哌拉西林/他唑巴坦仍然敏感的,因此,对于此类铜绿假单胞菌的感染,可以考虑联合用药,根据 CLSI 建议,对于铜绿假单胞菌感染严重的患者,推荐使用大剂量 ESBLs 类药物或加酶抑制剂复合制剂,并与氨基糖苷类或氟喹诺酮类药物联合应用。而本实验室曾经将头孢他啶、美罗培南、阿米卡星、亚胺培南、环丙沙星及哌拉西林/他唑巴坦体外联合应用对 CRPA 的抗菌效应进行研究发现,头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦与阿米卡星联合应用是最佳方案,这与 CLSI 的建议一致。

本研究中 IRPA 的耐药机制主要是产 TEM-1 型 ESBLs 基因为主,合并膜孔蛋白的缺失或外排泵系统的过度激活。对于铜绿假单胞菌的感染,一方面期待不断开发新型药物,建立靶向治疗;另一方面需要加强抗菌药物的管理,根据药敏试验报告合理选用抗菌药物,努力避免抗菌药物的滥用,降低抗菌药物的选择压力,减缓耐药菌的产生,控制耐药菌流行的局面。

参考文献

- [1] PAPPWALLACE K M. Endimiani andrea, taracila magdalena a, bonomo robert a. carbapenems: past, present, and future[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(11): 4943-4960.
- [2] 国家卫生计生委合理用药专家委员会, 全国细菌耐药监测网. 2015 年全国细菌耐药监测报告[J]. 中国执业药师, 2016, 13(3): 3-8.
- [3] 刘春明, 朱胜波, 韦柳华, 等. 多药耐药铜绿假单胞菌 β -内酰胺酶与膜孔蛋白基因的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(10): 2005-2008.
- [4] 渠巍, 莫非, 黄志卓, 等. 铜绿假单胞菌 β -内酰胺酶类获得性耐药基因及外膜孔蛋白基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(21): 4684-4687.
- [5] 万强, 吕秋月, 陈杨. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌金属 β -内酰胺酶和基因捕获元件基因检测及同源性分析[J]. 中国微生态杂志, 2016, 28(7): 786-790.
- [6] 郑璇儿, 杨杰. 铜绿假单胞菌耐药性的基因学研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2014, 8(1): 123-125.
- [7] 唐瑜, 蒋晓飞. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类药物耐药机制的研究进展[J]. 国外医药(抗生素分册), 2015, 36(2): 49-54.
- [8] 吕锦, 刘瑞康, 段晓晶, 等. 绿假单胞菌外排泵基因表达与表型和耐药程度的关系[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(7): 549-552.

(下转第 513 页)

疝修补术麻醉方式的选择上, I-TAP+LA 可以作为一种更优的麻醉方法。T 组恶心呕吐、尿潴留的发生率要明显低于 C 组, 这可能是由于 C 组麻醉引起的低血压和节段性神经阻滞所造成的。本研究中 C 组因 3 例患者硬膜穿刺失败而改用全身麻醉, 这可能是由于老年患者脊柱常发生退行性变化, 给硬膜外麻醉造成一定的难度。T 组的麻醉操作时要短于 C 组, 这得益于超声技术在本研究的应用, 同时借助旋髂深动脉来辅助定位髂腹下髂腹股沟神经有效减少了操作时间, 亦提高了神经阻滞的精准性。本研究中 30 例行超声引导下 I-TAP+LA 的患者无 1 例发生肌肉血肿、局部麻醉药中毒、刺穿腹膜等严重并发症。值得注意的是, 本研究排除了体质量指数 $>35\text{ kg/m}^2$ 的患者, 关于肥胖患者选用周围神经阻滞是否具有优势还有待进一步研究考证。T 组的麻醉费用要低于 C 组, 这可能是由于硬膜外麻醉后血压降低, 麻醉医生需使用胶体、血管活性药物来调整所造成费用较高。

综上所述, 超声引导下 I-TAP+LA 的麻醉效果与椎管内麻醉的效果类似, 操作较为简单, 对老年患者重要生命系统的影响小, 术后并发症少, 麻醉花费较少, 可以提供长时间的术后镇痛, 值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 丁超, 孙莉, 牛丽娟, 等. 肺叶切除术病人超声引导下肋间神经阻滞的效果[J]. 中华麻醉学杂志, 2009, 29(8): 767-768.
- [2] MARHOFER P, GREHER M, KAPRAL S. Ultrasound guidance in regional anaesthesia[J]. Br J Anaesth, 2005, 94(1): 7-17.
- [3] 宁吉顺, 高成杰, 王惠霞. 老年患者麻醉的相关研究进展[J]. 实用医药杂志, 2009, 26(9): 77-80.
- [4] 秦朝生, 柳元铭, 刘敬臣. 腹横肌平面阻滞的临床应用进展[J]. 临床麻醉学杂志, 2016, 32(7): 713-716.
- [5] BISCHOFF J M, KOSCIELNIAK-NIELSEN Z J, KEHLET H, et al. Ultrasound-Guided ilioinguinal/iliohypogastric nerve blocks for persistent inguinal postherniorrhaphy pain: a randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, crossover trial[J]. Anesth Analg, 2012, 114(6): 1323-1329.
- [6] WEINTRAUD M, LUNDBLAD M, KETTNER S C, et al. Ultrasound versus Landmark-Based technique for Ilioinguinal-Iliohypogastric nerve blockade in children: the implications on plasma levels of ropivacaine[J]. Anesth Analg, 2009, 108(5): 1488-1492.
- [7] YAMADA K, INOMATA S, TANAKA M. The ropivacaine concentration required for Ultrasound-Guided ilioinguinal/iliohypogastric nerve block in pediatric patients[J]. Anesth Analg, 2016, 123(1): 175-178.
- [8] 陈娟. 不同浓度罗哌卡因腹横肌平面阻滞用于腹腔镜妇科手术的效果观察[D]. 芜湖: 皖南医学院, 2016.
- [9] ABDELLATIF A A. Ultrasound-guided ilioinguinal/iliohypogastric nerve blocks versus caudal block for postoperative analgesia in children undergoing unilateral groin surgery[J]. Saudi J Anaesth, 2012, 6(4): 367-372.
- [10] FRASSANITO L, PITONI S, GONNELLA G, et al. Utility of ultrasound-guided transversus abdominis plane block for day-case inguinal hernia repair[J]. Korean J Anesthesiol, 2017, 70(1): 46-51.
- [11] WANG Y E, WU T, TERRY M J, et al. Improved perioperative analgesia with ultrasound-guided ilioinguinal/iliohypogastric nerve or transversus abdominis plane block for open inguinal surgery: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. J Phys Ther Sci, 2016, 28(3): 1055-1060.
- [12] LUNDBLAD M, MARHOFER D, EKSBERG S, et al. Dexmedetomidine as adjunct to ilioinguinal/iliohypogastric nerve blocks for pediatric inguinal hernia repair: an exploratory randomized controlled trial [J]. Paediatr Anesth, 2015, 25(9): 897-905.
- (收稿日期: 2018-09-04 修回日期: 2018-11-06)

(上接第 509 页)

- [9] 杨祚明, 谭孟源, 符春花, 等. 绿假单胞菌外排泵基因表达与耐药表型和耐药程度的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2016, 30(1): 86-88.
- [10] 蒋月婷, 麦嘉玲, 陈定强, 等. 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌的耐药基因检测及分析[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(7): 552-556.
- [11] 陈华彬, 王冬国, 王红戟, 等. 多重耐药铜绿假单胞菌耐药基因的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(3): 488-491.
- [12] 明德松, 邓勇. 铜绿假单胞菌耐碳青霉烯类相关基因研究的荟萃分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(16): 3821-3823.
- [13] 杨菁菁, 艾效曼, 胡云建, 等. 泛耐药铜绿假单胞菌对 β 内酰胺类抗生素的耐药机制研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(1): 14-18.
- (收稿日期: 2018-06-04 修回日期: 2018-09-18)