

- 京:人民卫生出版社,2018.
- [2] 黄敬亨.健康教育学[M].上海:复旦大学出版社,2009:36-44.
- [3] 徐淑华,孙静,钱金明,等.脑卒中高危人群知信行调查及其影响因素分析[J].中华疾病控制杂志,2017,21(8):857-859.
- [4] 阮燕梅,张晋蔚,李嘉辉,等.2018年广州市某区职业卫生管理人员的职业卫生知、信、行调查[J].职业与健康,2019,35(11):1495-1498.
- [5] 周陈晨,舒睿,李小兵,等.浅谈社区开展儿童口腔健康管理教育的意义[J].北京口腔医学,2020,28(3):167-169.
- [6] 香富辉,陈爱兰,岑蔼儿.朋辈教育对改善小学生口腔卫生知信行及卫生状况的效果分析[J].中国慢性病预防与控制,2019,27(2):111-114.
- [7] 白一秀,李艳秋,王兵,等.多元化健康教育对慢性牙周炎患者口腔保健自我效能和口腔健康的影响[J].中国预防医学杂志,2019,20(5):470-474.
- [8] 聂溶冰,唐军,王宇华,等.种植牙患者口腔保健自我效能表的设计与应用[J].上海口腔医学,2019,28(3):293-296.
- [9] 黄鑫,刘怡然,沈红,等.江苏省中老年人群口腔健康知信行抽样调查报告[J].口腔医学,2020,40(8):746-750.
- [10] 郑真真,周云.中国老年人的健康行为与口腔健康[J].人口研究,2014,38(2):83-91.
- [11] 杨云娟,戴璟,闵杰青,等.社会经济地位对云南省老年人口腔健康的影响[J].医学与社会,2017,30(10):61-62,69.
- [12] 涂斌,樊英姿,汪旭东,等.浦东新区儿童第一恒磨牙窝沟封闭质量及效果[J].中国学校卫生,2017,38(7):1030-1032.
- 临床探讨 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.18.025

(收稿日期:2020-12-23 修回日期:2021-06-20)

金黄色葡萄球菌基因检测及耐药性分析*

王欢,胡焱,陆惠慧,秦玲莎,赵贵芳,齐玲,徐令清[△]

广州医科大学附属第六医院/广东省清远市人民医院临床生物样本库,广东清远 511518

摘要:目的 了解清远地区金黄色葡萄球菌(SA)的耐药性及耐药基因的分布情况,为临床合理使用抗菌药物提供依据。方法 收集2018年7月至2019年7月清远市人民医院检验科微生物室分离的80株SA,采用BD PhoenixTM100全自动微生物鉴定和药敏试验系统以及纸片扩散法进行细菌鉴定与药敏试验,采用聚合酶链反应(PCR)检测耐药基因。结果 80株SA中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)各40株。在抗菌药物中,SA对青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率较高,分别为95.00%、55.00%、55.00%,其中MRSA对这三种抗菌药物的耐药率均为100.00%,未发现SA对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁和替加环素耐药。80株SA中均未检测到mecC与sasX基因;MSSA中mecA基因的阳性率为20.00%(8/40),PVL基因的阳性率为7.50%(3/40);MRSA中mecA基因的阳性率为100.00%(40/40),PVL基因的阳性率为20.00%(8/40)。结论 该院耐药基因mecA、PVL检出率较高,可能是产生耐药的重要原因,临床上应予以足够重视。

关键词:金黄色葡萄球菌; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 耐药性; 耐药基因

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)18-2722-04

2019年清远地区细菌耐药监测报告显示金黄色葡萄球菌(SA)占本地区革兰阳性菌分离率的第一位,其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)占多重耐药菌检出率的32.6%,耐药菌是院内外感染的重要病原菌之一,是世界范围内耐药性监测的重点对象,其流行是一个严重的临床医学及公共卫生问题^[1-2]。本研究对本院临床分离的80株非重复SA进行耐药性分析及基因检测,为临床合理治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集从2018年7月至2019年7月

清远市人民医院检验科临床检测分离到的SA菌株,菌株均来自不同科室患者的临床标本,包括脓液、血液、穿刺液、痰液、引流液等,剔除出重复菌株,最后纳入研究的SA共80株。SA质控菌株:ATCC25923, ATCC29213, ATCC43300。

1.2 仪器与试剂 仪器:BD PhoenixTM100全自动细菌鉴定药敏系统、复合鉴定板及相关配套试剂均为美国BD公司产品,生物安全柜ESCO LA2-4A1来自新加坡艺思高科技有限公司,基因扩增仪Bio-Rad T100、电泳仪、凝胶成像仪Bio-Rad ChemiDoc MP均

* 基金项目:2020年度广东省清远市社会发展领域自筹经费科技计划项目(200808144560882);广东省中医药局科研项目(20201407);广东省清远市人民医院医学科研基金项目(20190209);广东省清远市科技局项目(2019110)。

[△] 通信作者,E-mail:13927663288@126.com。

本文引用格式:王欢,胡焱,陆惠慧,等.金黄色葡萄球菌基因检测及耐药性分析[J].检验医学与临床,2021,18(18):2722-2725.

来自美国伯乐公司,微量移液器 Eppendorf 来自德国艾本德公司。试剂:血琼脂培养基购自广州迪景微生物科技有限公司;TaqPCRMaster Mix 试剂、Marker II DNA Ladder、核酸染料 GelRed 等均为北京天根生化科技有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 SA 鉴定及药敏试验 试验菌株经哥伦比亚血琼脂培养基培养后,挑取单个菌落,经革兰染色和触酶试验证实后,用传统划线法接种于血琼脂培养基上进行分离纯化,用 PhoenixTM100 全自动微生物鉴定和药敏试验系统以及纸片扩散法鉴定细菌并进行药敏检测,鉴定后的菌株保存于一80℃冰箱备用。药敏试验严格遵守临床试验标准研究所/美国临床实验室标准委员会(CLSI/NCCLS)2017 年操作及判读标准进行。采用纸片扩散法将 SA 配置为 0.5 个麦氏浊度(1.5×10^8 CFU/mL),接种于 MH 琼脂培养基上,贴入 30 μg 头孢西丁纸片,培养后测量抑菌圈直径。抑菌圈直径≤19 mm 确定为 MRSA。

1.3.2 菌株收集和保存 将鉴定出的 SA 置于装有纯牛奶的无菌 EP 管中,于一80℃冰箱保存。

1.3.3 DNA 模板制备 将保存菌株复苏,接种于哥伦比亚血平板上,CO₂ 孵箱中培养 24 h。挑取纯分的新鲜 SA 菌落 1~2 个,置于含 200 μL TE 缓冲液的 5 mL Eppendorf 管中混匀,然后于恒温金属浴中 100℃加热 10 min,再以 12 000 r/min 离心 1 min,取上清液作为 SA 的 DNA 模板。

1.3.4 聚合酶链反应(PCR) 采用 25 μL 体系:ddH₂O 9.5 μL,DNA 模板 2 μL,上下游引物各 0.5 μL,MIX 12.5 μL。扩增反应条件:预变性 94℃,5 min;循环条件:94℃,30 s、51℃(mecA)/50℃(mecC)/53℃[杀白细胞毒素(PVL)]/51℃(sasX),30 s,72℃,50 s,循环 35 次;延伸 72℃,5 min;保存 4℃。

1.3.5 PCR 引物 根据相应文献委托上海生物工程有限公司合成 PCR 引物^[3],详见表 1。

表 1 PCR 引物序列

基因	引物名称	产物大小(bp)	引物序列(5'-3')
mecA	mecA-F	310	GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA
	mecA-R		CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA
sasX	sasX-F	522	AGAATTAGAAGTACGTCTAAATGC
	sasX-R		GCTGATTATGTAAATGACTCAAATG
PVL	PVL-F	433	ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA
	PVL-R		GCATCAAGTGTATTGGATAGCAAAAGC
mecC	mecC-F	138	GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC
	mecC-R		GAAGATCTTTTCCGTTTTCAGC

1.4 统计学处理 采用 Excel365 对数据进行处理。计数资料采用频数、率表示。

2 结果

2.1 鉴定结果 80 株 SA 中,MRSA 40 株,甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)40 株。

2.2 耐药性分析 SA 对青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率较高,分别为 95.00%、55.00%、55.00%;未发现 SA 对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁和替加环素耐药;MRSA 对青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸耐药率均为 100.00%,对克林霉素、红霉素耐药率均为 75.00%,对甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、庆大霉素、利福平较敏感,耐药率<17.50%,见表 2。

2.3 耐药基因检测 分别对 80 株临床分离的 SA 菌株进行 PCR 扩增,琼脂糖电泳,结果显示,80 株 SA 均未检测到 mecC 与 sasX 基因;在 mecA 基因检测中,MSSA 的阳性率为 20.00%(8/40),MRSA 的阳性率为 100.00%(40/40),见图 1。

表 2 MRSA 和 MSSA 对常见抗菌药物的耐药情况[% (n/n)]

抗菌药物	MRSA	MSSA	总耐药
甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	7.50(3/40)	0.00(0/40)	3.75(3/80)
青霉素	100.00(40/40)	90.00(36/40)	95.00(76/80)
苯唑西林	100.00(40/40)	10.00(4/40)	55.00(44/80)
阿莫西林/克拉维酸	100.00(40/40)	10.00(4/40)	55.00(44/80)
庆大霉素	17.50(7/40)	0.00(0/40)	8.75(7/80)
红霉素	75.00(30/40)	22.50(9/40)	48.75(39/80)
利奈唑胺	0.00(0/40)	0.00(0/40)	0.00(0/80)
克林霉素	75.00(30/40)	17.50(7/40)	46.25(37/80)
万古霉素	0.00(0/40)	0.00(0/40)	0.00(0/80)
利福平	15.00(6/40)	0.00(0/40)	7.50(6/80)
替考拉宁	0.00(0/40)	0.00(0/40)	0.00(0/80)
替加环素	0.00(0/40)	0.00(0/40)	0.00(0/80)

2.4 PVL 基因检测 运用 PVL 基因的 PCR 引物分

别对 80 株临床分离的 SA 进行 PCR 扩增,琼脂糖电泳,结果显示,MSSA 的 PVL 基因阳性率为 7.50%(3/40),MRSA 中有 8 株具有 PVL 基因的 PCR 扩增阳性条带,阳性率为 20.00%(8/40),见图 2。

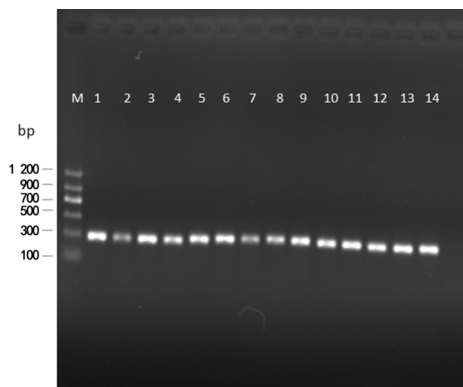


图 1 MRSA 的 mecA 基因 PCR 扩增图

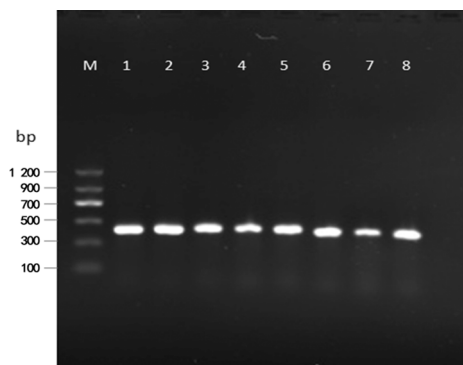


图 2 MRSA 的 PVL 基因 PCR 扩增图

3 讨 论

清远市细菌耐药监测网于 2019 年成立,本监测网要求网点医院采用统一的药敏判断标准,采用专业认可的手工法或仪器法进行细菌鉴定和药敏检测,获取清远地区细菌耐药特征及变迁信息,为临床医生经验选择抗菌药物提供参考,为政务、卫生行政部分制定相关政策及评估干预措施的有效性提供科学依据。

本研究对本院近年来临床科室送检标本分离出来的 80 株 SA 进行检测,通过 SA 对 12 种抗菌药物的药敏试验结果可看出,12 种抗菌药物当中,SA 对青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率较高,分别为 95.00%、55.00%、55.00%,而 MRSA 对这 3 种抗菌药物的耐药率均为 100.00%,由此可见,MRSA 对青霉素类抗菌药物的耐药情况严重;80 株 SA 对甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、庆大霉素、利福平较敏感,其中 MRSA 对三者的耐药率分别为 7.50%、17.50%、15.00%;80 株 SA 未发现对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁和替加环素耐药。

80 株 SA 中均未检测到耐药基因 mecC 与 sasX,但是在 mecA 基因检测中,MSSA 的阳性率为 20.00%(8/40),MRSA 的阳性率为 100.00%(40/40),提示本院临床分离的 MRSA 主要为 mecA 介导。mecA 基因编码的产物为青霉素结合蛋白 2a

(PBP2a),是细菌的一种耐抗菌药物抑制作用的替代性靶位蛋白,它决定细菌对甲氧西林的耐药性^[4-5]。SA 转化为 MRSA 的基本原因是由于其基因组获得了一种编码 PBP2a 酶的 mecA 基因,意味着可产生正常的 PBP,继续合成肽聚糖,使细菌拥有结构完好的细胞壁免受抗菌药物的作用而产生耐药性^[6-9]。本研究中 MRSA 对青霉素、苯唑西林、阿莫西林/克拉维酸的耐药率均为 100.00%,同时 40 株 MRSA 的 mecA 基因均为阳性,提示 mecA 基因大量表达是引起 MRSA 对 β-内酰胺类抗菌药物耐药的主要原因。另外 PVL 是一种杀白细胞的外毒素,携带 PVL 基因的 SA 毒力增强,破坏人体白细胞,使机体吞噬异物并产生抗体的作用减弱,机体对伤病的治愈能力下降^[10-12]。本研究中 PVL 基因阳性率为 13.75%(11/80),比曾云祥等^[13]报道的 7.4%要高,低于叶千红等^[14]报道的 46.9%,与杨颖等^[15]的 17.1%较接近,可见 PVL 基因的阳性率存在地区差异。在 11 例 PVL 基因阳性菌株中,1 例为血液感染,2 例为肺部感染,其余 8 例均为皮肤或软组织化脓性感染,与赖奋强等^[16]报道的 PVL 基因可以显著影响皮肤和肺部感染模型中的 MRSA 毒力结论一致,是临床上引起皮肤或软组织化脓性感染的常见致病菌^[17]。

综上所述,SA 耐药问题日益突出,具有多种耐药机制,由大量耐药基因所编码,以基因组学大数据为依托,深入解析了耐药基因在细菌间的传播网络和规律,对深入认识细菌耐药性的进化、细菌耐药的形成机制等具有重要意义。本院耐药基因 mecA、PVL 检出率较高,可能是产生耐药的重要原因,临床上应予以足够重视。

参考文献

- [1] CASTILLO-RAMÍREZ, S, CORANDER J, MARTTIN-EN P, et al. Phylogeographic variation in recombination rates within a global clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Genome Biol*, 2012, 13(12):126-138.
- [2] 胡庆花,朱德全,刘卫东,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药机制[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2018, 45(5):349-352.
- [3] 郭燕,吴提,傅祝英杰,等.血液和无菌体液分离金黄色葡萄球菌对抗菌药物的敏感性及其毒力基因检测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2017, 17(2):127-133.
- [4] 赵吴静,徐进强,武中庸,等.苯唑西林敏感耐甲氧西林金黄色葡萄球菌研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44(8):2458-2464.
- [5] 钟一鸣,袁瑞,丁健生,等.医院获得性感染中出现携带 SCCmec IV/V 的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(7):861-865.
- [6] 徐银海,纵帅,顾兵,等.106 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性分析与 SCCmec 基因分型及 PLV 基因研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(20):4561-4564.

- [7] 徐小玲,李爱玲,贾红. 医院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的系统评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(2): 296-299.
- [8] 邹玉涵,刘庆中,张骥,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性分析及 SCCmec 分型[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2): 159-162.
- [9] 贾珉,江元山,朱建华,等. 临床分离金黄色葡萄球菌的耐药特点和 MRSA 分子分型[J]. 中国感染控制杂志 2018, 17(4): 289-293.
- [10] KREIENBUEHL L, CHARBONNEY E, EGGIMANN P. Community-acquired necrotizing pneumonia due to methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* secreting Pantone-Valentine leukocidin: a review of case reports [J]. Ann Intensive Care, 2011, 1(1): 52-58.
- [11] LOFFLER B, HUSSAIN M, GRUNDMEIER M, et al. *Staphylococcus aureus* Pantone-Valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(1): 1-12.
- [12] JERICM L P, KAPULICA N K, RISTANOVIC E, et al. Prevalence of Pantone-Valentine leucocidin genes in
- community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the disteict of Pomoravlje [J]. Vojnosanit Pregl, 2016, 73(3): 256-260.
- [13] 曾云祥,林高贵,梁世周,等. 携带杀白细胞素基因金黄色葡萄球菌临床感染菌株的回顾性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(2): 276-279.
- [14] 叶千红,吴许文,李沛樟. 澳门特别行政区医院金黄色葡萄球菌耐药性分析及杀白细胞素基因的检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(24): 5525-5529.
- [15] 杨颖,张传领,楚旭,等. 杀白细胞素基因阳性金黄色葡萄球菌的流行及耐药性[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(23): 4150-4152.
- [16] 赖奋强,郭庆听,杨滨,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌杀白细胞素基因检测[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(8): 726-731.
- [17] 朱玉林,李惠春,丁圣刚. 抗菌素对杀白细胞素基因阳性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染兔的疗效[J]. 江苏医药, 2019, 45(6): 547-551.

(收稿日期: 2021-01-21 修回日期: 2021-06-18)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 18. 026

精密型摄食训练监管护理在脑卒中后吞咽障碍者中的应用研究^{*}

王 文, 朱文欣, 刘康永[△]

上海市浦东新区周浦医院神经内科, 上海 200120

摘要:目的 探讨将精密型摄食训练监管护理应用于脑卒中后吞咽障碍患者中的效果。方法 选取 2017 年 6 月至 2020 年 6 月该院收治的 120 例脑卒中后吞咽障碍患者为研究对象, 奇数病室收治的 60 例患者设为试验组, 偶数病室收治的 60 例患者设为对照组, 对照组接受脑卒中后吞咽障碍常规护理, 试验组在对照组基础上加用精密型摄食训练监管护理, 对 2 组干预后的饮食意外事件发生率、生活质量评分及临床治疗效果进行比较。结果 试验组干预后的呛咳、误吸、窒息等饮食意外事件发生率低于对照组, 生活质量评分与治疗效果优于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在脑卒中后吞咽障碍患者中引入精密型摄食训练监管护理, 可降低饮食意外事件发生率, 提升护理对象生活质量与吞咽障碍治疗效果。

关键词:精密型护理; 摄食训练护理; 脑卒中; 吞咽障碍

中图分类号:R743.3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)18-2725-04

吞咽障碍是脑卒中的典型后遗症^[1], 可阻断人体所摄入食物自口腔向胃部的正常传输路径与过程^[2], 引发水分、营养摄入障碍等问题^[3], 表现为窒息与营养不良、气道受阻与吸入性肺炎等症状^[4], 成为脑卒中患者生活质量受损甚至步入死亡的独立危险因素^[5-6]。因此, 有必要就如何对脑卒中后吞咽障碍患者施以安全性和有效性兼备的康复护理模式展开研究^[7-8], 笔者尝试在脑卒中后吞咽障碍患者中引入精密型摄食训练监管护理, 效果较好, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 6 月至 2020 年 6 月本院收治的 120 例脑卒中后吞咽障碍患者为研究对象。纳入标准: (1) 符合脑卒中后吞咽障碍确诊标准; (2) 洼田饮水试验 2 级及以上。排除标准: (1) 肝、肺、心、肾严重功能障碍患者; (2) 既往存在进食/吞咽障碍史患者; (3) 认知、沟通、意识、精神障碍患者; (4) 血液系统疾病重症患者; (5) 既往存在肺部病种史/支气管病种史者。奇数病室收治的 60 例患者设为试验组, 男

^{*} 基金项目: 上海市浦东新区卫生和计划生育委员会学科建设基金项目(PWZxk2017-25)。

[△] 通信作者, E-mail: liukangyong5555@163.com。

本文引用格式:王文, 朱文欣, 刘康永. 精密型摄食训练监管护理在脑卒中后吞咽障碍者中的应用研究[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(18): 2725-2728.