

- 指南(2021年版)》要点解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2021, 37(9): 933-936.
- [5] 张丽丹. 基于跨理论模型的动机性访谈对老年 2 型糖尿病患者效果分析[J]. 中国社区医师, 2022, 38(26): 124-126.
- [6] 郭雪梅, 罗嘉懿, 朱朕男, 等. 基于跨理论模型的健康自我管理干预对 2 型糖尿病患者自我管理效能、健康信念及血糖水平的影响[J]. 循证护理, 2022, 8(23): 3181-3185.
- [7] 吴梦然. 益气活血方联合基于跨理论模型干预 2 型糖尿病临床研究[J]. 光明中医, 2022, 37(22): 4040-4042.
- [8] 俞朝阳, 刘正, 张华芳, 等. 提高糖尿病饮食与运动治疗依从性的方法[J]. 绍兴文理学院学报(自然科学), 2013, 33(3): 58-60.
- [9] 于文林, 夏萍. 糖尿病特异性生存质量量表 ADDQoL 的研究进展[J]. 中国慢性病预防与控制, 2018, 26(9): 710-712.
- [10] 周小英, 刘淑秋, 李沈沈, 等. 饮食干预联合运动指导对妊娠期糖尿病患者血糖水平与生活质量的影响[J]. 糖尿病新世界, 2022, 25(21): 151-154.
- [11] 邹玉姣, 魏丽丽, 张艳, 等. 妊娠期糖尿病高危孕妇基于跨理论模型的护理干预[J]. 护理学杂志, 2022, 37(4): 20-23.
- [12] 郭珍珍. 跨理论模型的干预策略对妊娠期糖尿病患者的影响[J]. 实用糖尿病杂志, 2021, 17(1): 128.
- [13] 何京京, 陈贝贝, 张红丽. 基于跨理论模型的动机性访谈对 2 型糖尿病患者自我管理效能及健康行为的影响[J]. 健康研究, 2021, 41(6): 635-639.
- [14] 朱清秀. 跨理论模型的干预对糖尿病前期患者血糖的影响[J]. 中国继续医学教育, 2022, 14(5): 189-194.
- [15] 孙昕霁, 陈雪莹, 闵鹤葳, 等. 跨理论模型在社区医生干预 2 型糖尿病患者饮食行为中的应用效果[J]. 中国健康教育, 2022, 38(8): 686-690.
- [16] 邹玉姣, 魏丽丽, 张艳, 等. 妊娠期糖尿病高危孕妇基于跨理论模型的护理干预[J]. 护理学杂志, 2022, 37(4): 20-23.

(收稿日期: 2022-10-16 修回日期: 2023-03-08)

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2023.15.033

30 株不同来源的金黄色葡萄球菌耐药性及分型分析

李玲, 熊华利[△], 蒋远娅, 王兰

重庆市荣昌区疾病预防控制中心, 重庆 462460

摘要:目的 分析不同来源的金黄色葡萄球菌(SAU)的耐药性及分型, 为临床科学用药提供指导。
方法 对 2021—2022 年荣昌区各级医疗机构细菌耐药监测点送检的分泌物、脓液、血液、鼻咽部、尿液样本 368 份, 按照规范方法开展 SAU 的分离、鉴定和培养, 采用梅里埃全自动微生物鉴定及药敏分析系统进行药敏实验, 采用脉冲场凝胶电泳进行 SAU 的分型及聚类分析。
结果 共检测出 SAU 30 株, 检出率为 8.15% (30/368), 菌株主要来自痰液(53.33%), 其次是分泌物(20.00%)和脓液(13.33%)。SAU 对青霉素耐药率为 100.00%, 对红霉素(60.00%)、克林霉素(40.00%)、四环素(36.67%)、头孢西丁(30.00%)、苯唑西林(26.67%)、左氧氟沙星(16.67%)、庆大霉素(13.33%)、呋喃妥因(3.33%)、利福平(3.33%)均产生一定程度的耐药性; 未检出对替考拉宁、万古霉素、达托霉素、复方磺胺甲噁唑、利奈唑胺、红霉素/克林霉素复合物的耐药菌株。
结论 荣昌区 SAU 检出率相对较低, 应进一步加强对 SAU 耐药性的监测, 动态掌握 SAU 耐药性的变化。

关键词:金黄色葡萄球菌; 耐药性; 分型分析

中图分类号: R387.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)15-2281-03

金黄色葡萄球菌(SAU)是医院获得性感染中最常见、最重要的病原体, 可引起菌血症、心内膜炎、伤口感染、肺炎等多种疾病^[1]。近年来, 随着抗菌药物的广泛使用, SAU 的耐药性逐渐显现。地区政策、抗菌药物使用习惯及用量等均会导致 SAU 的耐药性存在地区差异^[2]。了解本地区 SAU 的耐药情况有益于指导临床医生用药并延缓 SAU 耐药性的产生。本文对荣昌区各级医疗机构送检的不同来源的样本进行回顾性分析, 了解不同来源 SAU 的耐药性并进行分型分析, 为临床用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 菌株源于 2021—2022 年荣昌区各级医疗机构细菌耐药监测点送检的分泌物、脓液、血液、鼻咽部、尿液样本, 所有送检样本均得到本人或家属的知情同意, 排除同一送检对象同一部位的重复菌株, 共计 368 份, 共分离出 30 株 SAU。

1.2 仪器与试剂 (1)主要仪器: 梅里埃全自动微生物鉴定及药敏分析系统(型号: VITEK2 Compact30); Vizion 药敏判读仪; Sensititre[®] AIM[™] 药敏接种仪; 凝胶成像仪(Gel Doc XR+); 脉冲场凝胶电泳仪

[△] 通信作者, E-mail: woaijbs@126.com。

(Mapper XA)。(2)主要试剂:葡萄球菌分离鉴定用的血琼脂(批号:A65627)、血浆凝固酶冻干兔血浆(批号:A37662)等购自北京陆桥生物有限公司;国家致病菌识别网定制药敏板 CHN5GOVF(批号:B1015A)、CAMHT 肉汤培养基(批号:359682)、Sensititre[®] 去离子水[T3339](批号:166449)均来自 Thermo 厂家。耐药性质控菌株(粪肠球菌 ATCC29212, SAUATCC29213)。Xba I 内切酶(TAKARA)、Sma I 内切酶(TAKARA)、蛋白酶 K(SIGMA)、溶葡萄球菌酶(SIGMA)、金胶琼脂糖(SeaKem Gold, SKG)(Solarbio)、0.5×TBE 稀释缓冲液(Solarbio)、Gelred 染色液(Solarbio)、质控菌株 H9812。所有仪器均可正常使用,所有试剂均在有效期内。

1.3 方法

1.3.1 SAU 的分离与鉴定 参照《食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验》^[3] 中的方法进行菌株的分类和鉴定,通过观察菌落在血平板上的形态、溶血环情况、革兰染色结果、血浆凝固酶实验及全自动细菌生化鉴定仪结果进行判定。

1.3.2 耐药实验 参照国家致病菌识别网定制药敏板 CHN5GOVF(批号:B1015A)试剂说明书进行操作,实验前校准比浊仪,从新鲜制备的琼脂平板上挑取 3~5 个菌落,在无菌水试管中乳化,充分混匀,使用比浊仪调节到 0.5 McFarland 浊度;将配制好的菌悬液 10 μL 加入到含 CAMHB 肉汤培养基的 11 mL 试管内,混匀,细菌数为 5.0 × 10⁴ ~ 5.0 × 10⁵ CFU/mL。取 50 μL 接种液到药敏板,进行纯度检查,混匀,避免产生气泡等;用封膜盖上所有微孔,避免褶皱;在普通的生化培养箱内 34~36 °C 下孵育 18~24 h,然后使用 Vizion 药敏判读仪,自动读取结果。

1.3.3 脉冲场凝胶电泳分型及聚类分析 首先将经过 18 h 培养的菌落制成菌悬液,取 250 μL 菌悬液加入 3 μL 溶葡萄球菌酶(1 mg/mL)混匀,将菌悬液与 56 °C 的 1% SKG 琼脂糖等体积混匀,制备胶块。将胶块置于细胞裂解液,54 °C 裂解 60 min,然后用超纯水和 TE 缓冲液清洗。切下 2 mm 宽的胶块,标准株 H9812 用限制性内切酶 Xba I 在 37 °C,SAU 用限制性内切酶 Sma I 在 30 °C 进行酶切 3~4 h,酶切后的胶块用于脉冲场凝胶电泳。设置电泳参数:初始转换时间=4.0 s,终末转换时间=40.0 s,4 cm×13 cm 的胶电泳时间为 19 h,电场强度=6 V/cm,电场夹角=120°。电泳结束后,Gelred 染料染色 30 min,纯水中脱色 60 min,凝胶成像仪生成指纹图谱保存。用 BioNumeric 生物分析软件对 30 株 SAU 的指纹图谱进行聚类分析。

2 结果

2.1 菌株分布及 SAU 检出情况 368 份菌株标本

中痰液标本 182 份,占 49.46%,其次是分泌物、脓液、血液、鼻咽部、尿液样本,分别占 19.57%、11.96%、8.70%、6.79%、3.53%;共检出 SAU 30 株,检出率为 8.15%(30/368),主要来自痰液标本(16 株,占 53.33%),其次是分泌物标本(6 株,占 20.00%)和脓液标本(4 株,占 6.67%)。见表 1。

表 1 菌株分布及 SAU 检出情况

标本类型	标本		SAU 阳性		检出率 (%)
	n	构成比 (%)	n	构成比 (%)	
痰液	182	49.46	16	53.33	8.79
分泌物	72	19.57	6	20.00	8.33
脓液	44	11.96	4	13.33	9.09
血液	32	8.70	2	6.67	6.25
鼻咽部	25	6.79	2	6.67	8.00
尿液	13	3.53	0	0.00	0.00
合计	368	100.00	30	100.00	8.15

2.2 30 株 SAU 耐药情况分析 耐药实验发现,30 株不同来源的 SAU 对青霉素耐药率为 100.00%,对红霉素(60.00%)、克林霉素(40.00%)、四环素(36.67%)、头孢西丁(30.00%)、苯唑西林(26.67%)、左氧氟沙星(16.67%)、庆大霉素(13.33%)、呋喃妥因(3.33%)、利福平(3.33%)均产生一定程度的耐药性;未检出对替考拉宁、万古霉素、达托霉素、复方磺胺甲噁唑、利奈唑胺、红霉素/克林霉素的耐药菌株。见表 2。

表 2 30 株 SAU 耐药情况(n=30)

抗菌药物	耐药菌株数(n)	耐药率 (%)
青霉素	30	100.00
红霉素	18	60.00
克林霉素	12	40.00
四环素	11	36.67
头孢西丁	9	30.00
苯唑西林	8	26.67
左氧氟沙星	5	16.67
庆大霉素	4	13.33
呋喃妥因	1	3.33
利福平	1	3.33
替考拉宁	0	0.00
万古霉素	0	0.00
达托霉素	0	0.00
复方磺胺甲噁唑	0	0.00
利奈唑胺	0	0.00
红霉素/克林霉素	0	0.00

2.3 脉冲场凝胶电泳分型结果 30 株 SAU 经酶切、电泳后,将指纹图谱导入 BioNumeric 生物分析软件进行聚类分析,结果显示有 3 株 SAU 相似度为 100.00%。见图 1。

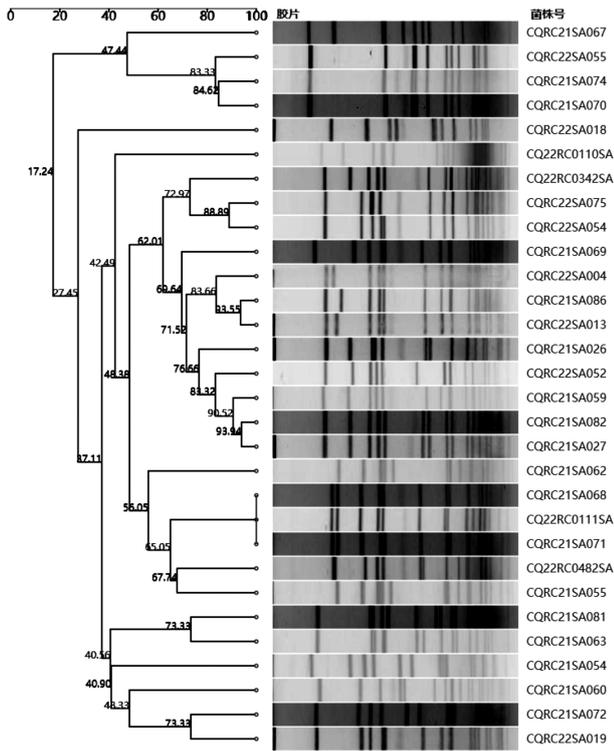


图 1 30 株 SAU 聚类分析图

3 讨 论

SAU 在自然界中广泛存在,为机会致病菌,可引起医院和社区感染^[4],对临床治疗带来极大挑战。SAU 耐药性的产生,已成为重要的公共卫生问题^[5-6]。本研究发现,2021—2022 年荣昌区 SAU 的检出率为 8.15%,略低于 2016—2019 年东莞市 22 家医疗机构平均水平(8.42%)^[2],低于樊芙蓉等^[7]报道的某医院 SAU 检出率(9.30%),也低于 2018 年中国 SAU 平均检出率(34.00%)^[8],分析原因:(1)2021—2022 年新型冠状病毒感染肺炎流行,医院内部常态化消毒工作可能造成 SAU 检出率较低;(2)不同医生对药物的使用习惯、药物用量存在差异;(3)不同医院的院感管理政策和管理力度也存在差异,以上原因都可能造成医院 SAU 检出率的差异。

本研究 30 株 SAU 菌株主要来自痰液,其次是分泌物和脓液,提示荣昌区 SAU 主要是来自伤口感染和呼吸道感染、与陈日寿等^[2]、杨媚等^[9]报道结果相似。近年来,随着抗菌药物在医院的广泛应用及居民的自我用药比例不断提升,SAU 不断对各类药物产生耐药性^[10]。本研究 30 株 SAU 菌株中,对青霉素的耐药率为 100.00%,高于东莞市 2019 年青霉素的耐药率(87.30%)^[2],也高于杨媚等^[9]的报道(青霉素耐药率>94.10%),提示青霉素可能已不再适用于 SAU 的临床治疗,应尽量避免该类药物,以减轻患者反复感染和经济负担。30 株 SAU 菌株中,对红霉素的耐药率为 60.00%,高于东莞市 2016—2019 历年平均水平(45.70%、47.40%、43.00%、42.60%)^[2],低于 CHEN 等^[10]报道的江西省某教学医院 2008—

2013 年平均水平,提示红霉素的耐药性应予以足够重视,进行动态监测。SAU 对克林霉素、四环素、头孢西丁、苯唑西林、左氧氟沙星、庆大霉素、呋喃妥因、利福平的耐药率相对相低,未检出对替考拉宁、万古霉素、达托霉素、复方磺胺甲噁唑、利奈唑胺、红霉素/克林霉素的耐药菌株,与文献^[2,9]报道类似,说明该类药物对于 SAU 还具有良好的抗菌活性。但陈日寿等^[2]、CHEN 等^[10]等发现,随着时间的推移,SAU 的耐药性都会发生一定的趋势变化。由此可见,开展 SAU 的耐药性监测,动态掌握 SAU 的耐药情况,对于指导临床用药具有重要意义。本研究脉冲场凝胶电泳分型结果显示,有 3 株 SAU 相似度为 100.00%,通过查阅送检资料,为同一患者不同类型的标本,提示在医院或者社区中,可能暂未发生聚集性感染的情况。

综上所述,荣昌区 SAU 检出率相对较低,但对多种抗菌药物均产生不同程度的耐药性,应进一步加强 SAU 的耐药性监测,加强抗菌药物的管理应用,动态掌握 SAU 耐药性的变化,以便更科学地指导临床用药。

参考文献

- [1] LU M, CUI L, JIAO K, et al. Analysis of clinical characteristics and drug resistance of *Staphylococcus aureus* nosocomial infection [J]. *Minerva Surg*, 2022, 77(6): 616-618.
- [2] 陈日寿, 段俊林, 谢树金, 等. 2016—2019 年东莞市金黄色葡萄球菌临床分布及耐药性变迁 [J]. *华南预防医学*, 2022, 48(9): 1103-1106.
- [3] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验: GB4789.4-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [4] 丁新玲, 李曼. 金黄色葡萄球菌标本分布及耐药情况分析 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(12): 1442-1445.
- [5] 谢艳斌. 不同来源金黄色葡萄球菌的分布特征及耐药性分析 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(20): 3082-3084.
- [6] 唐丽, 靳英丽. 金黄色葡萄球菌预防及治疗研究进展 [J]. *微生物学免疫学进展*, 2022, 50(5): 66-71.
- [7] 樊芙蓉, 王华, 张亚妮, 等. 2012—2015 年某院金黄色葡萄球菌临床分布及耐药性分析 [J]. *现代预防医学*, 2018, 45(6): 1105-1108.
- [8] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2018 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(1): 1-10.
- [9] 杨媚, 吴柳, 刘智勇, 等. 某教学医院近 5 年金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(5): 596-599.
- [10] CHEN K, HUANG Y, SONG Q, et al. Drug-resistance dynamics of *Staphylococcus aureus* between 2008 and 2014 at a tertiary teaching hospital, Jiangxi Province, China [J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1): 97.