

• 调查报告 •

996 例伤口分泌物常见细菌感染及其耐药性分析

郑宇浩,陈文静,吕丽珍
(广东省佛山市中医院检验科 528000)

摘要:**目的** 对某市中医院 996 例伤口分泌物细菌培养及其耐药性分析,为临床快速、合理用药提供依据。**方法** 细菌鉴定采用法国生物梅里埃公司的 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定分析仪,药敏试验采用 K-B 纸片扩散法。**结果** 996 株病原菌中,革兰阳性菌 292 株(29.3%),革兰阴性菌 704 株(70.7%),分离率居前 3 位的分别是铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的检出率为 23.3%,未发现耐万古霉素葡萄球菌和肠球菌;产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的大肠埃希菌的检出率是 32.1%,各种肠杆菌科细菌对亚胺培南敏感,耐药率为 0.0%,鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌对亚胺培南的敏感率 100.0%和 98.3%。**结论** 本研究对伤口分泌物细菌性感染的治疗和抗菌剂的合理选用具有重要的参考价值。

关键词:细菌感染; 抗药性; 伤口分泌物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.17.034 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)17-1990-03

近年来,由于抗菌剂在临床上的广泛应用,临床对经验用药的过分依赖,许多对不同抗菌剂耐药性增强的细菌相继出现,甚至出现了“超级细菌”,给临床抗菌剂的使用带来了新的挑战。由于本院以骨伤科为主,伤口感染是医院院内感染的最主要方式,通过对 2010 年 7 月至 2011 年 6 月 996 例的伤口分泌物感染标本进行细菌鉴定及耐药性分析,为临床快速、合理地选择抗菌剂提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 收集佛山市中医院 2010 年 7 月至 2011 年 6 月临床伤口分泌物标本,质控菌株是大肠埃希菌 ATCC25922、大肠埃希菌 ATCC35218、肺炎克雷伯菌 ATCC700603、金黄色葡萄球菌 ATCC25923、铜绿假单胞菌 ATCC27853、白色假丝酵母菌 ATCC64548。

1.2 仪器与试剂 采用法国生物梅里埃公司的 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定药敏分析仪。Mueller-Hinton 琼脂(郑州安图绿科生物工程有限公司)。药敏纸片(英国 Oxoid 公司)。Vitek 2 Compact GN/GP/YST 细菌鉴定试剂条(法国生物梅里埃公司产品)。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定 采用法国生物梅里埃公司的 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定药敏分析仪。

1.3.2 药敏试验 采用纸片扩散法(K2B 法),根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)2006 年版标准进行操作和结果判读。

1.4 统计学处理 将数据输入 Excel 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 在 996 例细菌感染的标本中,其中肠杆菌科为 288 例(占 29.0%)、非发酵菌为 416 例(占 41.8%)、葡萄球菌为 184 例(占 18.4%)、肠球菌为 100 例(占 10%)、链球菌为 8 例(占 0.8%)。

2.2 肠杆菌科以大肠杆菌为主(112 例)占 11.2%,其中产 ESBLs 的为 36 例,其次为阴沟杆菌(76 例)占 7.6%;葡萄球菌以金黄色葡萄球菌为主(172 例)占 17.2%,其中 MRSA 为 40 例、 β -内酰胺酶阳性为 116 例;非发酵菌以铜绿假单胞菌为主(236 例)占 23.7%,其中对亚胺培南耐药的为 4 例,其次为鲍曼不动杆菌(88 例)占 8.8%;肠球菌以粪肠球菌为主(68 例)占 6.8%,对万古霉素耐药的为 0 例;链球菌(8 例)占 0.8%。

2.3 大肠杆菌对碳青霉烯类抗菌剂高度敏感,其次为氨基糖苷类、头霉素类;阴沟杆菌对青霉素类呈高度耐药,但对单环 β -内酰胺类抗菌剂氨曲南则敏感度较高,结果见表 1。

表 1 大肠杆菌及阴沟杆菌的药物敏感试验结果(敏感度%)

抗菌剂	大肠杆菌	阴沟杆菌
氨苄西林	3.5	0.0
氨苄西林/克拉维酸	42.8	0.0
头孢西丁	82.1	0.0
头孢他啶	67.9	84.2
头孢噻肟	57.1	68.4
头孢吡肟	71.4	89.5
亚胺培南	100.0	100.0
美罗培南	100.0	100.0
氨曲南	71.4	84.2
庆大霉素	53.6	79.0
阿米卡星	82.1	89.5
甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	32.1	79.0
环丙沙星	32.1	84.2

2.4 金黄色葡萄球菌对 β -内酰胺类、大环内酯类、喹诺酮类耐药率均高,对万古霉素和利奈唑胺、磺胺类均高度敏感,结果见表 2。

表 2 金黄色葡萄球菌的药物敏感试验结果(%)

抗菌剂	敏感度	抗菌剂	敏感度
青霉素	9.3	甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	100.0
苯唑西林	76.7	庆大霉素 10	86.0
红霉素	53.5	左氧氟沙星	53.6
克林霉素	53.5	利福平	93.0
四环素	60.5	万古霉素	100.0
氯霉素	81.4	利奈唑胺	100.0

2.5 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌剂高度敏感、对头孢菌素也有较高的敏感性。鲍曼不动杆菌对亚胺培南敏感度高于美罗培南,对其他抗菌剂耐药性较高,结果见表 3。

表 3 铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌的药物敏感试验结果(%)

抗菌剂	铜绿假单胞菌	鲍曼不动杆菌
哌拉西林	90.0	42.9
哌拉西林/他唑巴坦	93.2	46.7
头孢他啶	91.5	60.0
头孢吡肟	91.5	46.7
亚胺培南	98.3	100.0
美罗培南	100.0	93.3
环丙沙星	72.9	53.3
左氧氟沙星	72.9	53.3
庆大霉素	88.1	60.0
妥布霉素	88.1	66.7
阿米卡星	98.3	66.7
氨基曲南	78.0	53.3
米诺环素	—	60.0
甲氧苄啶/磺胺甲恶唑	—	60.0

—:无数据

2.6 粪肠球菌对氨苄西林仍高度敏感,同时对庆大霉素的敏感率也很高,提示上述两种抗菌剂联合应用时可产生一定的协同抗菌作用,同时对万古霉素和利奈唑胺高度敏感,结果见表 4。

表 4 粪肠球菌的药物敏感试验结果(%)

抗菌剂	粪肠球菌
青霉素	94.1
氨苄西林	100.0
利奈唑胺	100.0
万古霉素	100.0
庆大霉素	76.5
链霉素	76.5

3 讨 论

996 株病原菌的监测结果表明,革兰阴性杆菌是伤口感染的主要致病菌,占 70.6%;革兰阳性球菌占 29.4%;而真菌检出菌株为 0。革兰阴性菌中以铜绿假单胞菌为主,其次为大肠杆菌,而革兰阳性菌以金黄色葡萄球菌为主,这与一些文献报道不同^[1-4]。

在革兰阴性杆菌中大肠杆菌 ESBLs 阳性菌株占 32.1%,比文献报道的要低^[5],ESBLs 菌株由质粒介导或通过其他形式使耐药基因在细菌间扩散,能水解第三代头孢菌素及氨基曲南等抗菌剂,由于耐药质粒在细菌之间传播,且产 ESBLs 编码质粒可以携带氨基糖苷类、喹诺酮类等抗菌剂的耐药基因,导致临床上产 ESBLs 菌株不仅对青霉素类、头孢菌素类产生耐药,而且也对其他药物耐药,表现为多药耐药现象^[6]。ESBLs 阳性菌株对头孢西丁、亚胺培南有较高的敏感性,但亚胺培南是 AmpC 酶的强诱导剂,所以采用亚胺培南作为经验用药应当慎

重。铜绿假单胞菌对亚胺培南敏感度为 98.3%,对美罗培南的敏感度为 100.0%,故临床上对亚胺培南耐药的患者可用美罗培南替代,亚胺培南、美罗培南是目前治疗铜绿假单胞菌感染非常有效的药物,但是不规则的使用很容易诱导其对这两种药物产生耐药,从而导致对第三代头孢菌素也耐药。其耐药机制主要是与外膜通道蛋白的缺失、金属酶的产生和主动外排系统有关^[7-8],不耐药株对第三代头孢菌素等抗菌剂均呈较高的敏感性,鲍曼不动杆菌对大多数抗菌剂呈较高的耐药性,除亚胺培南及美罗培南外,其他类的抗菌剂敏感率只在 40%~70%之间,所以碳青霉烯类为治疗首选。

在革兰阳性球菌中,MRSA 占 23.3%。SA 对大多数 β -内酰胺类、大环内酯类、喹诺酮类药物的耐药性较强,对氨基糖苷类、磺胺类等药物较为敏感,耐药率均小于 20.0%,可以考虑作为 SA 感染经验用药的首选药物。喹诺酮类抗菌剂的耐药性较高,这与文献报道的不同^[9]。本次调查未发现万古霉素的中介株(VIS)和耐药株(VRS)。肠球菌属亦是目前医院感染的主要革兰阳性病原菌之一,临床分离株以粪肠球菌为主,未检出万古霉素耐药(VRE)的菌株。

由于抗菌剂的广泛且不恰当的使用,导致了细菌的耐药性呈逐年上升的趋势。主要是因为:(1)在细菌的培养鉴定的过程中,由于受到细菌生长周期所限,从分离到鉴定往往需要 3~4 d 的时间,使临床难以及时地选择敏感的抗菌剂,从而迫使只能培养鉴定前采用广谱的抗菌剂进行治疗,但是这种盲目的抗菌剂使用极容易诱使细菌耐药性的增加。(2)长期使用单一种类的抗菌剂,使细菌产生的耐药性,并通过质粒介导或其他形式使耐药基因在细菌间扩散。这最终导致临床面临着“无药可用”的尴尬局面。

为了避免抗菌剂的滥用,临床可以对手术前后的患者伤口进行严格的消毒处理,再结合临床上常用的一些感染的试验指标,如白细胞计数、降钙素原、超敏 C 反应蛋白、外周血碱性磷酸酶积分等判断是否存在细菌的感染^[10];检验科则通过标本涂片或一些简单的生化试验,如氧化酶、触酶等对细菌做出初步的分类。结合检验科的初步报告,临床就可以选择敏感度较高的抗菌剂进行治疗,待鉴定及药敏结果出来后再根据结果对抗菌剂的使用做出调整,这或许可以使抗菌剂的使用更加的合理。

参考文献

[1] 梁建国,张才仕,王慧. 2008~2009 年基层医院常见病原菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(1):134-135.
[2] 卓超,黄文祥,郑行萍,等. 2004~2005 年我院临床常见细菌耐药性监测[J]. 中国抗生素杂志,2007,32(5):308-312.
[3] 曲彩红,郑琼良,席云. 2006 年我院病原菌的检测情况及耐药性分析[J]. 中国医院用药评价与分析,2007,7(5):347-349.
[4] 汪丽,吕婉飞,张媛媛,等. 2007~2008 年医院常见病原菌的耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(23):3244-3246.
[5] 朱建未,张小军,左荣,等. 泌尿系感染的病原菌分布及耐药性分析[J]. 实验与检验医学,2008,26(6):694-695.
[6] 张文庆,毛一鸣,熊桂贞,等. 肺炎克雷伯菌多重耐药性及氨基糖苷类修饰酶基因研究[J]. 实验与检验医学,2008,5(26):481-483.
[7] 马骥,黄彬,蓝锴. 重症监护室多重耐药铜绿假单胞菌耐药基因分型研究[J]. 广东医学,2010,31(10):1268-1269.
[8] Toleman MA, Biedenbach D, Bennett D, et al. Genetic characterization of a novel metallo- β -lactamase gene, blaIMP213, harbored by a novel TnS051-type trans-positron-disseminating carbapenemase

genes in Europe; report from the SENTRY world-wide antimicrobial surveillance programme[J]. J Antimicrob Chemother, 2003, 52(4): 583-590.

[9] 刘军辉,李鹏,王淑梅,等. 葡萄球菌的耐药性分析[J]. 西安交通大学学报:医学版,2011,32(1):135-137.

• 调查报告 •

[10] 陈自武. 降钙素原、超敏 C 反应蛋白与外周血碱性磷酸酶积分在细菌感染中应用探讨[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(8): 572-573.

(收稿日期:2011-06-09)

某地区人乳头瘤病毒感染现状调查及结果分析

李辉腾¹, 郑 凯¹, 刘国强²

(1. 广东同江医院检验科, 广东佛山 528300; 2. 广东省佛山市顺德人口和计划生育服务中心 528300)

摘要:目的 探讨某地区各年龄段人群感染人乳头瘤病毒(HPV)基因类型分布。分析 HPV 感染相关因素,了解某地区 HPV 的分布流行病学。方法 利用导流杂交基因芯片技术分别对从 2010 年 8 月至 2011 年 4 月来就诊的 757 例疑有 HPV 感染患者的生殖系分泌物标本进行 HPV-DNA 21 种基因亚型检测筛查。结果 HPV(包括单一感染及多重感染)总阳性检测率为 27.9%(211/757),其中高危亚型检出率 23.6%(179/757);低危亚型检测率 10.4%(79/757);3 种中国人群常见亚型检测率 5.5%(42/757)。结论 某地区患者以 HPV-52 感染为主,其次为 HPV-16, HPV-11 等,女性发病率明显高于男性,易感人群组以 21~30 岁最高(占感染人数 54.6%),并且有年轻化的趋势(11~20 岁年龄组占 9.2%)。

关键词:感染; 人乳头瘤病毒; 基因分型; 导流杂交

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.17.035 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)17-1992-02

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)能引起人类皮肤的多种乳头状瘤或疣及黏膜生殖道上皮增生性损伤。感染生殖道的 HPV 可分为两种:低危型和高危型。常见的低危型如 HPV-6、HPV-11 等能导致生殖道尖锐湿疣;高危型如 HPV-16、HPV-18 等感染现已证实具有潜在的致癌性,与宫颈癌的发生、发展有密切联系。由于近年来 HPV 感染率呈上升趋势且超过 90%的宫颈癌都有 HPV 感染,同时,年轻宫颈癌患者发病率以每年 2%~3%的速度增长,因此其流行病学及可能病因一直被广泛关注及研究^[1-2]。基因芯片技术对于检测 HPV 的多种型别和 HPV 多型别混合感染具有重要意义,可为 HPV 感染和宫颈癌的防治提供重要依据^[3]。本研究采用核酸分子快速反向斑点印迹导流杂交基因芯片分型技术同时可检测 23 种 HPV 型别,包括 18 种高危型和 5 种低危型^[4-5]。本院对 757 例就诊的疑似 HPV 感染患者进行了分型检测研究。通过本研究,笔者掌握了本地区 HPV 感染现状,为临床控制调整其治疗方案提供了有力的实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 8 月至 2011 年 4 月到本院做生殖系疾病筛查者(包括 HPV DNA 检测)757 例,年龄 11~70 岁,其中感染有低危型和高危型 HPV。采集的标本类别为生殖系统分泌物。

1.2 仪器与试剂 采用 PCR 扩增仪(KP-TC48);导流杂交仪(医用核酸分子快速杂交仪 HHM-2);HPV DNA 提取试剂盒;HPV 基因分型检测 PCR 试剂盒;HPV 基因分型检测杂交试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 上述研究对象采集的标本类别为生殖系统分泌物(包括疣体、尿道分泌物和宫颈脱落细胞)。男性采样前禁止小便,女性在非月经期间采样,48 h 内禁止性生活和阴道冲洗及阴道内用药物。

1.3.2 实验方法 采用 HPV 基因分型检测试剂盒,运用反向斑点印迹杂交原理,利用导流杂交技术,严格按照标准操作

规程进行 HPV 21 种亚型分型检测,肉眼观察判读结果,按芯片上 HPV 亚型分布的相应着色位点判断,单个着色位点即为单一 HPV 感染,多个着色位点即为多重 HPV 感染。每张基因芯片上有杂交质控点和 PCR 扩增质控点各一个。21 种 HPV 分为 13 种高危亚型(包括 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型),5 种低危亚型(包括 6、11、42、43、44 型)和 3 种中国人群常见亚型(53、66 和 Cp8304 型)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,统计 HPV 感染的阳性百分率, χ^2 检验比较 HPV 感染的阳性率差异。

2 结果

2.1 HPV 21 种亚型分型检测结果 HPV 21 种亚型基因型均在所有被检标本中检测到,无一漏空。

2.2 HPV 感染亚型分布 HPV 感染总阳性率 27.9%(211/757),其中感染亚型阳性率由高到低依次为: HPV-52 型(7.1%、54/757), HPV-16 型(5.5%、42/757), HPV-11 型(4.8%、36/757), HPV-58 型(4.0%、30/757), HPV-6 型(3.8%、29/757), HPV-53 型(2.8%、21/757), HPV-Cp8304 型(2.0%、15/757), HPV-18 型(1.5%、11/757), HPV-44 型(1.3%、10/757), HPV-33 型(1.2%、9/757)和 HPV-68 型(1.2%、9/757), HPV-31、39、66 型(各 0.8%、6/757), HPV-51、56、59、42 型(各 0.4%、3/757), HPV-35 型(0.3%、2/757), HPV-45、43 型(0.1%、1/757);其中高危亚型占 23.6%(179/757),低危亚型占 10.4%(79/757),3 种中国人群常见亚型占 5.5%(42/757);单一感染亚型占 19.9%(150/757),多重感染亚型占 8.0%(61/757)。

2.3 HPV 感染亚型性别、年龄段分布 其中男性(0.5%、4/757);女性(27.4%、207/757);11~20 岁(2.6%、20/757);21~30 岁(15.2%、115/757);31~40 岁(7.8%、59/757);41~50 岁(1.6%、12/757);51~60 岁(0.6%、4/757);61~70 岁(0.1%、1/757)。

2.4 HPV 各亚型阳性分布率结果 见表 1。