

参考文献

[1] 赵果园,张正君,杨洪芬,等. 院内快速血糖分析检测仪与检验科生化分析仪比对结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(14): 1612-1613.

[2] 张静. POCT 便携式血糖仪与全自动生化分析仪比对结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(6): 734-735.

[3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples

[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.

[4] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 60.

[5] 申子瑜,李萍. 临床实验室管理学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 147-149.

[6] 魏昊,从玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[J]. 北京: 中国计量出版社, 2004: 72-75.

(收稿日期: 2015-07-28)

• 临床研究 •

延安某院近 3 年产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌监测的动态性研究

屈 玲¹, 艾 芳², 李芳芹¹

(延安大学附属医院: 1. 检验科; 2. 神经外科, 陕西延安 716000)

摘要:目的 了解该院 2012 年 1 月至 2014 年 12 月产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌检出率及耐药谱的变化情况。方法 2012 年 1 月至 2014 年 12 月该院临床送检的标本中分离出的大肠埃希菌 1 016 株, 其中产 ESBLs 558 株, 采用 MicroScan WalkAway 40 Si 全自动微生物分析仪进行菌种鉴定及药敏试验, 用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的双纸片扩散确证法检测 ESBLs, 用 Whonet5.6 及 SPSS20.0 软件进行数据处理及统计分析。结果 近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌检出率分别为 61.1%、54.7%、50.0%; 主要来源于尿液、分泌物、痰液、血液标本; 产 ESBLs 大肠埃希菌与非产 ESBLs 菌株对头孢哌酮-舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、阿米卡星耐药率差异无统计学意义($P>0.05$), 均有较好的抗菌活性; 对参检的其余 11 种抗菌药物的耐药率产 ESBLs 菌株明显高于非产 ESBLs 菌株, 差异有统计学意义($P<0.05$), 且具有多重耐药性。结论 该院近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌检出率有逐年下降趋势, 但仍处于较高水平, 其对多种抗菌药物均存在不同程度的耐药现象。

关键词: 大肠埃希菌; 超广谱 β-内酰胺酶; 抗菌药物; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.22.043

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)22-3316-03

大肠埃希菌是医院临床标本中分离的常见细菌^[1]。近年来随着三代头孢菌素等广谱 β-内酰胺类抗菌药物的大量使用, 使大肠埃希菌耐药率逐渐上升, 主要原因是其产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)^[2]。ESBLs 能水解青霉素、头孢菌素及单环类抗菌药物, 其由质粒介导, 通过接合转移引起耐药基因在细菌间的传播, 易引起医院感染的爆发流行。本研究对本院产 ESBLs 大肠埃希菌检出及耐药谱的动态变化进行研究, 以指导临床合理使用抗菌药物。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 2012 年 1 月至 2014 年 12 月延安大学附属医院临床送检的标本中分离出大肠埃希菌 1 016 株, 其中产 ESBLs 558 株。

1.2 仪器与试剂 MicroScan WalkAway 40 Si 全自动微生物分析仪及配套试剂由西门子公司提供, ESBLs 试剂购自杭州天和生物试剂有限公司, 所有试剂均在有效期内使用并进行严格质控。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、肺炎克雷伯菌 ATCC700603, 购自卫生和计划生育委员会临床检验中心。

1.3 细菌鉴定与药敏试验 采用 MicroScan WalkAway 40 Si 全自动微生物分析仪进行菌种鉴定及药敏试验。

1.4 ESBLs 确证试验 ESBLs 确证试验参照临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的双纸片确证扩散法标准进行, 采用头孢噻肟(30 μg), 头孢噻肟/克拉维酸(30 μg/10 μg); 头孢他啶(30 μg), 头孢他啶/克拉维酸(30 μg/10 μg)纸片检测, 任何一种药物加克拉维酸的抑菌环直径比不加克拉维酸的抑菌环直径相比, 差值大于或等于 5 mm 时, 可确证该菌为产 ESBLs 菌。

1.5 统计学处理 Whonet5.6 及 SPSS20.0 统计软件进行数

据处理及统计学分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 产 ESBLs 大肠埃希菌检出率 共检出大肠埃希菌 1 016 株, 其中产 ESBLs 大肠埃希菌, 占 55.0% (558/1 016), 2012、2013、2014 年产 ESBLs 大肠埃希菌检出率分别为 61.1% (179/293)、54.7% (204/373)、50.0% (175/350), 呈逐年下降趋势。

2.2 产 ESBLs 大肠埃希菌标本类型分布 产 ESBLs 大肠埃希菌主要来源于尿液、分泌物、痰液、脓液标本, 分别占 36.0%、14.2%、14.0%、11.8%。见表 1。

表 1 产 ESBLs 大肠埃希菌标本类型分布[n(%)]

标本类型	产 ESBLs 大肠埃希菌
尿液	201(36.0)
分泌物	79(14.2)
痰液	78(14.0)
脓液	66(11.8)
血液	64(11.5)
穿刺液	19(3.4)
前列腺液	17(3.1)
引流液	15(2.7)
胆汁	8(1.4)
脑脊液	6(1.1)
其他	5(0.9)
合计	558(100.0)

2.3 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药率 产 ESBLs 大肠埃希菌对氨苄西林、哌拉西林、头孢吡肟、头孢他啶、头孢曲松、头孢噻肟、氨曲南的耐药率均高于 90.0%；对庆大霉素、左氧氟沙星、环丙沙星、复方磺胺甲噁唑的耐药率均高于 54.0%；对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南及阿米卡星耐药率均低于 13.0%。3 年间产 ESBLs 大肠埃希菌对各抗菌药物的耐药率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药率 (%)

抗菌药物	耐药率		
	2012 年 (n=179)	2013 年 (n=204)	2014 年 (n=175)
阿米卡星	12.7	4.0	5.8
氨苄西林	99.1	98.9	99.5
复方磺胺甲噁唑	78.6	83.5	82.4
氨曲南	99.1	98.9	99.0
头孢吡肟	90.5	95.0	93.2
头孢他啶	99.3	99.0	98.1
头孢曲松	100.0	100.0	99.5
环丙沙星	84.9	81.7	78.5
头孢噻肟	98.9	99.2	98.7
庆大霉素	69.5	54.3	60.9
左旋氧氟沙星	80.1	76.7	72.5
哌拉西林/他唑巴坦	10.2	5.5	7.4
哌拉西林	97.4	98.4	96.4
亚胺培南	4.5	1.5	1.0
头孢哌酮/舒巴坦	0.6	0.6	0.7

2.4 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药率比较 2012~2014 年产 ESBLs 大肠埃希菌与非产 ESBLs 菌株对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南及阿米卡星的总耐药率比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),均有较好的抗菌活性。产 ESBLs 菌株对其余 11 种抗菌药物的耐药率与非产 ESBLs 菌株比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),且有多重耐药性。见表 3。

表 3 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药率比较

抗菌药物	耐药率 (%)		χ^2	P
	产 ESBLs (n=558)	非产 ESBLs (n=458)		
阿米卡星	6.6	4.7	1.542	0.218
氨苄西林	99.2	71.6	173.371	0.000
复方磺胺甲噁唑	81.8	57.0	74.530	0.000
氨曲南	98.5	11.3	797.303	0.000
头孢吡肟	92.2	4.3	774.294	0.000
头孢他啶	98.5	4.5	904.045	0.000
头孢曲松	99.7	10.4	839.290	0.000
环丙沙星	80.8	38.5	189.391	0.000

续表 3 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药率比较

抗菌药物	耐药率 (%)		χ^2	P
	产 ESBLs (n=558)	非产 ESBLs (n=458)		
头孢噻肟	98.9	4.9	906.045	0.000
庆大霉素	68.6	44.2	60.659	0.000
左旋氧氟沙星	75.2	34.3	169.994	0.000
哌拉西林/他唑巴坦	6.4	1.2	3.012	0.062
哌拉西林	95.6	65.5	159.393	0.000
亚胺培南	2.2	0.7	3.503	0.061
头孢哌酮/舒巴坦	0.4	0.0	1.005	0.316

3 讨论

本研究显示近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌检出率虽然从 2012 年 61.1% 降至 2014 年的 50.0%,但仍处于较高水平^[3],可能与第三代头孢菌素在临床仍大量使用有关。本院临床科室应高度重视抗菌药物合理使用,以防止产 ESBLs 菌株在本院的感染爆发。

本研究结果还表明近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌检出标本类型主要为尿液标本,占 36.0%,伤口分泌物标本占 14.2%,痰液标本占 14.0%,血液标本占 11.5%。检出标本主要为尿液的原因可能与大肠埃希菌是一种条件致病菌有关,正常菌群多分布于人体的泌尿道、呼吸道,通常在人体免疫力低下时在这些部位发展成致病菌而感染致病^[4-5]。其次伤口分泌物、痰液、血液标本构成比也占较大比例。提示本院产 ESBLs 大肠埃希菌主要引起泌尿系统、手术伤口、呼吸道的感染,严重者可引起败血症。

近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌对氨苄西林、哌拉西林、头孢吡肟、头孢他啶、头孢曲松、头孢噻肟、氨曲南的耐药率均高于 90.0%,原因是 ESBLs 是丝氨酸蛋白酶的衍生物,存在于细菌中的酶,它不仅水解青霉素和第 1、2、3 代头孢菌素,还能水解单酰胺类抗菌药物^[6]。对庆大霉素、左氧氟沙星、环丙沙星、复方磺胺甲噁唑的耐药率均高于 54.0%,可能与产 ESBLs 细菌在携带 ESBLs 质粒的同时,携带对氨基糖苷类、喹诺酮类耐药基因有关,使产 ESBLs 菌株形成多重耐药^[7]。对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、阿米卡星的耐药率均低于 13.0%,有较好的抗菌活性。因舒巴坦、他唑巴坦属于 β -内酰胺酶抑制剂,对酶有灭活作用^[8-9];亚胺培南结构具有特殊性,使其具有对 β -内酰胺酶稳定,从而具有超广谱、极强的抗菌活性^[10],目前国内外均将其视为治疗产 ESBLs 菌感染的首选药物。但选择用药时应慎重,因为亚胺培南抗菌谱极广,抗菌效果极强,易造成耐药菌株产生和真菌感染;阿米卡星耐药率低,具有一定的抗菌作用,这是因为它对细菌产生的钝化酶更稳定,从而对产酶菌有更高的抗菌活性,临床可与 β -内酰胺类联合使用,但因具有肾毒性、耳毒性,使用时需慎重。

近 3 年产 ESBLs 大肠埃希菌与非产 ESBLs 菌株对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南及阿米卡星的耐药率差异无统计学意义 ($P > 0.05$),均有较好的抗菌活性。对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南及阿米卡星以外的 11 种抗菌药物的耐药率产 ESBLs 菌株明显高于非产 ESBLs 菌株,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。主要原因与产

ESBLs 菌株携带 ESBLs 质粒的同时带有对氨基糖苷类、喹诺酮类耐药基因,因而出现多重耐药现象有关^[10]。故临床治疗大肠埃希菌引起的感染时,应及时关注是否产 ESBLs,以便合理使用抗菌药物。

综上所述,建议临床医生应积极关注产 ESBLs 大肠埃希菌监测的动态性,了解和掌握病原菌的耐药性变迁及抗菌药物使用的变化趋势,根据药敏试验及病原菌耐药谱检测选用抗菌药,减少多重耐药菌株的产生,控制产 ESBLs 大肠埃希菌在医院内的传播和流行。

参考文献

[1] 李家泰,李耘,齐慧敏. 2002 年-2003 年中国革兰氏阴性细菌耐药性检测研究[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(1):19-29.
 [2] 张继付. 尿路感染大肠埃希菌产超广谱 β-内酰胺酶和头孢菌素酶的检测及耐药性分析[J]. 药物研究,2009,18(21):3-4.
 [3] 杨澍,徐强胜,王雪刚,等. 990 株大肠埃希菌的耐药性及 β-内酰胺酶基因的检测[J]. 中国医院用药评价与分析,2011,11(12):1113-1115.
 [4] 蒋冬香,陈刚,王玉春,等. 产 ESBLs 大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌

的临床分布与耐药[J]. 中华医院学杂志,2011,8(11):1366-1367.
 [5] 陈怡丽,郭鹏豪,黄汉,等. 某院 2008-2012 年儿科血培养病原菌变迁及耐药谱分析[J]. 检验医学与临床,2014,5(11):589-594.
 [6] 汪复. 革兰氏阴性杆菌对 β-内酰胺类的耐药性及防治[J]. 中华传染病杂志,2000,18(3):207-210.
 [7] 高春明,李家斌,程君,等. 超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌耐药性分析[J]. 蚌埠医学院学报,2008,33(5):531-532.
 [8] 汪复,朱德妹,胡付晶,等. 2007 年中国 CHNET 细菌耐药性检测[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(5):325-333.
 [9] 杨小影,宋慧萍,杨萍芝,等. 超广谱 β-内酰胺酶大肠杆菌院内感染分布及耐药性研究[J]. 检验医学与临床,2014,11(12):1613-1617.
 [10] 沈定霞, Jones RN, 吴坚, 等. 产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌的测定及其耐药表型和基因型[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000,20(3):273-276.

(收稿日期:2015-07-18)

• 临床研究 •

感染毛滴虫女性的人乳头瘤病毒感染情况分析

孟少志

(武汉市中心医院,湖北武汉 430014)

摘要:目的 分析感染毛滴虫女性的人乳头瘤病毒(HPV)感染率及基因型分布情况。方法 2010 年 1 月至 2014 年 12 月该院收治的滴虫感染,且同时做了 HPV 检查的女性患者 673 例,分析 HPV 感染率及基因型分布。结果 HPV 总感染率为 42.20%(284/673),40~<50 岁年龄段感染率最高,达 46.36%(121/261),其次为大于或等于 50 岁年龄段感染率,达 40.78%(84/206),但是不同年龄段的感染率差异无统计学意义($\chi^2=3.450, P=0.329$)。在 284 例同时感染滴虫、HPV 女性中,高危型感染以 16 型为主,其次是 52、58、18 型等。低危型感染以 11 型为主。结论 感染毛滴虫女性的 HPV 感染率高于一般人群,但是感染的 HPV 基因型分布与一般人群相似。

关键词:毛滴虫; 人乳头瘤病毒; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.22.044

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)22-3318-03

阴道炎是女性常见的生殖系统疾病,引起感染的常见病原菌为细菌、酵母菌和毛滴虫。毛滴虫是一种常见的性传播厌氧性寄生物。感染毛滴虫的女性可能通过相同途径感染其他性传播疾病,其中人乳头瘤病毒(HPV)与宫颈癌前病变及宫颈癌的发生密切相关。HPV 病毒家族有 100 多种基因型,其中 15 种高危型具有很强的致癌作用^[1-3]。本研究分析了感染毛滴虫女性的 HPV 感染的频率及基因型分布情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2014 年 12 月武汉市中心医院收治的滴虫感染,且同时做了 HPV 检查的女性患者 673 例。

1.2 仪器与试剂 HPV 分型检测试剂盒、DNA 提取试剂盒和 DNA 扩增试剂盒及 HB2009A 快速杂交仪购自潮州凯普生物化学有限公司;CFX96 伯乐公司 PCR 仪。

1.3 标本采集 采用阴道扩张器充分暴露宫颈,用棉拭子插入宫颈内 1~2 cm,停留 15 s,旋转 2 周,取得的阴道分泌物放入无菌试管中立即送检,采用直接涂片显微镜检查。然后拭去宫颈口过多的分泌物,将采样宫颈刷置于宫颈口,将宫颈刷旋转 4~5 圈,然后取出,折断刷头并放入洗脱管中,旋紧管盖并标记,置-20℃冰箱保存待检。

1.4 检测方法

1.4.1 DNA 的提取 取保存有宫颈细胞的细胞保存液 0.5 mL,以 14 000 r/min 离心 1 min,弃上清后,采用潮州凯普生物化学有限公司的细胞裂解液提取 DNA,具体操作按照厂家说明书操作。

1.4.2 PCR 扩增 将 PCR Mix 23.25 μL, DNA Taq 酶 0.75 μL,上述提取的 DNA 1 μL 混匀。扩增反应体系为 25 μL。同时设立空白对照,阳性对照。扩增条件为:95℃预变性 9 min;95℃变性 20 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 40 个循环;72℃保存 5 min。

1.4.3 杂交、孵育和显色 打开杂交仪,使其处于准备状态。取 PCR 产物 25 μL 在 95℃加热 5 min,然后立即冰水浴 3 min。将上面变性好的 PCR 产物加入 0.5 mL 预热至 45℃的杂交液中,然后加在薄膜上,盖上盖板温育 10 min 后,开泵进行导流杂交。杂交后用 45℃的杂交液冲洗膜三次,每次 0.8 mL。然后在 25℃用 0.5 mL 封阻液封闭 5 min。排干封阻液,加入 0.5 mL 酶标液孵育 5 min。用溶液 A 洗膜 4 次,每次 0.8 mL。加入 0.5 mL 的 NBT/BCIP 溶液,显色 5 min。完后排干 NBT/BCIP 溶液,用溶液 B 洗膜 3 次,每次 1 mL,再用 2 mL 的