

· 短篇论著 ·

铜绿假单胞菌临床感染的耐药性及毒力基因分析*

林雅宁, 刘惠娜, 占景华, 徐忠玉[△]

(第九〇九医院/厦门大学附属东南医院检验科, 福建漳州 363000)

摘要:目的 了解铜绿假单胞菌在医院感染的临床分布、对抗菌药物的耐药性特点及多药耐药菌株毒力基因的携带与耐药性关系, 为合理用药提供依据。方法 对该院 2016 年 1 月至 2017 年 12 月临床分离的铜绿假单胞菌引起的感染分布及药敏结果进行回顾性分析。同时收集 43 株多药耐药铜绿假单胞菌, 运用聚合酶链反应(PCR)法对毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 进行检测, 对携带 *exoS*(-)/*exoU*(+) 和 *exoS*(+)/*exoU*(-) 两组菌株的耐药率进行 χ^2 检验。结果 共分离出 1 000 株铜绿假单胞菌, 以痰液标本为主, 为 72.6%; 铜绿假单胞菌对阿米卡星敏感度最好, 耐药率为 9.6%, 对头孢他定耐药率最高为 42.2%。43 株多药耐药菌株中以 *exoS*(+)/*exoU*(-) 基因型为主, 有 33 株, 占 78.6%, *exoS*(-)/*exoU*(+) 基因型有 6 株, 占 14.3%, *exoS*(-)/*exoU*(+) 菌株对环丙沙星和左氧氟沙星等抗菌药耐药率均明显高于 *exoS*(+)/*exoU*(-), 耐药率差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 铜绿假单胞菌在医院表现出多药耐药, 且以 *exoS* 为主, 虽然携带 *exoU* 的菌株所占比例较低, 但其耐药率高。

关键词: 铜绿假单胞菌; 耐药性; 毒力基因

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.16.023

文章编号: 1673-4130(2019)16-2012-03

中图法分类号: R446.5

文献标识码: B

铜绿假单胞菌(PA)是临床上常见的条件致病菌, 在自然界分布广泛, 对环境抵抗力较强^[1]。随着广谱抗菌药物的普遍使用, 该菌耐药性明显上升。PA 的致病机制与Ⅲ型分泌系统(T3SS)密切相关, 毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 在 PA 致病中起着重要作用。为了提高医院抗菌治疗效果和指导临床合理使用抗菌药物, 现对 2016—2017 年本院临床分离的 1 000 株 PA 和 43 株多药耐药 PA 菌株的毒力基因进行研究分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 1 000 株 PA 来自 2016—2017 年全院临床各科室送检的住院患者标本, 包括痰液标本 726 株, 分泌物 144 株, 中段尿 44 株, 血液 28 株, 胸腔积液 26 株, 其他 32 株。同一患者多次分类的菌株不重复计入。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定及药敏试验 细菌培养鉴定按照《全国临床检验操作规程》进行, 运用 WalkAway 96 Plus 全自动微生物分析仪对菌株进行鉴定及药敏试验, 以 PA ATCC 27853 作为质控菌株。

1.2.2 毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的检测 采用煮沸法提取 DNA 模板, 委托上海生工合成两对特异度引物对其进行 PCR 扩增, 上下游引物参考文献[2]。

1.2.3 统计学处理 在 Excel 上进行数据分析及统

计学处理, 计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 耐药率 1 000 株 PA 对 9 种常用抗菌药物均有不同程度的耐药, 其中对阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦、环丙沙星、美罗培南和亚胺培南有较好的药物敏感活性, 对头孢他定和头孢吡肟耐药率较高。见表 1。

表 1 1 000 株 PA 对 9 种抗菌药物的耐药率

抗菌药物	耐药株数(<i>n</i>)	耐药率(%)
阿米卡星	96	9.6
美罗培南	224	22.4
亚胺培南	234	23.4
环丙沙星	218	21.8
左氧氟沙星	242	24.2
头孢他定	422	42.2
头孢吡肟	378	37.8
哌拉西林	358	35.8
哌拉西林/他唑巴坦	186	18.6

2.2 毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的检测 以 *exoS* 和 *exoU* 特异度引物扩增相应片段, 43 株多药耐药 PA 中 *exoS*(+) 33 株, *exoU*(+) 6 株。根据 PCR 结果统计

* 基金项目: 中国人民解放军第一七五医院青年苗圃项目(15Y002)。

[△] 通信作者, E-mail: lyyyn@163.com。

本文引用格式: 林雅宁, 刘惠娜, 占景华, 等. 铜绿假单胞菌临床感染的耐药性及毒力基因分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(16): 2012-2014.

这 43 株 PA 的毒素基因携带情况,其中 exoS(+)/exoU(-) 基因型共有 33 株,占 78.6%; exoS(-)/exoU(+) 基因型有 6 株,占 14.3%; exoS(-)/exoU(-) 基因型有 4 株,占 7.1%。

2.3 不同基因型的耐药率比较 exoS(-)/exoU(+) 基因型对抗菌药物耐药率基本高于 exoS(+)/exoU(-) 组,尤其对环丙沙星、头孢他啶、美罗培南和头孢吡肟的耐药性 exoS(-)/exoU(+) 明显高于 exoS(+)/exoU(-), 耐药率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组含毒力基因的 PA 对 9 种抗菌药物的耐药情况

抗菌药物	exoS(+)/exoU(-) (n=33)		exoS(-)/exoU(+) (n=6)	
	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)
	阿米卡星	3	9.1	2
美罗培南	5	15.2	5	83.3
亚胺培南	6	18.2	5	53.3
环丙沙星	4	12.1	6	100.0
左氧氟沙星	5	15.2	4	66.7
头孢他啶	23	69.7	6	100.0
头孢吡肟	15	45.5	5	83.3
哌拉西林	27	81.8	4	66.7
哌拉西林/他唑巴坦	9	27.3	3	50.0

3 讨 论

PA 是一种重要的医院感染条件致病菌,可以感染人体任何组织部位。医院 2016—2017 年共检出 1 000 株,标本类型构成比由高至低依次为痰液 726 株 (72.6%),分泌物 144 株 (14.4%),尿液 44 株 (4.4%),血液标本 28 株 (2.8%),胸腹腔积液 26 株 (2.6%),其他标本 32 株 (3.2%)。其中分离到的痰液标本略低于同类报道的 78.01%^[3],但远比余昊等^[4]报道的 61.7% 高。说明呼吸道为 PA 医院感染的高发部位,应注意预防呼吸道发生医院感染。

PA 耐药情况很严重,这与 PA 的内外因密切相关,外因就是抗菌药物的广泛使用,内因就是该菌具有特殊的细胞壁和细胞膜结构,对许多抗菌药物存在固有耐药,其耐用机制复杂。表 1 显示 PA 对阿米卡星的药物敏感度最好,可能是阿米卡星对该菌产生的钝化酶比较稳定,与杨燕等^[5]、孙敏等^[6]报道一致。其次对哌拉西林/他唑巴坦、环丙沙星、美罗培南和亚胺培南也有较好的药物敏感度,这与全国 2012—2013 年的“中国 CHINET 细菌耐药性监测”资料吻合^[7-8]。对三代头孢他啶耐药率为 42.2%,略高于王静等^[9]报道的 32.39%。这可能与近年来该抗菌药物的广泛使用有关。

PA 致病是由多种致病因子实现的,其中 T3SS

是 PA 的一个重要毒力因子分泌系统,可以将编码的毒力蛋白直接注入宿主细胞中,导致细胞死亡^[10]。本研究对临床分离的 43 株多药耐药 PA 进行毒力基因 exoS 和 exoU 检测与分析。结果表明,exoS 基因携带率 78.6% 远高于 exoU 基因的 14.3%,且只存在 exoS(+)/exoU(-)、exoS(-)/exoU(+) 或 exoS(-)/exoU(-) 3 种基因型。据报道,对于 exoU 和 exoS 基因,一般情况下,每株 PA 只携带其中的一种基因,exoS 和 exoU 不同时存在同一菌株^[11-12]。本研究没有发现基因型为 exoS(+)/exoU(+) 的菌株。但是鞠晓红等^[13]分离的 63 株铜绿假单胞菌中 34 株菌 (53.97%) 同时携带两种毒力基因。

通过对两组含不同毒力基因的 PA 对 9 种抗菌药物的耐药率的分析,exoS(+)/exoU(-) 和 exoS(-)/exoU(+) 基因型的 PA 对美罗培南、环丙沙星、左氧氟沙星和头孢吡肟等的耐药率差异具有统计学意义。国外研究,WONG 等^[14]研究者分离到的临床 PA 携带 exoS 菌株高于 exoU (62% vs. 27%),且对左氧氟沙星耐药率 exoS 菌株高于 exoU 菌株 (92.0% vs. 61.0%)。可能的机制为 exoS(-)/exoU(+) 菌株多表现为主动外排泵相关基因的过度表达或者突变^[15]。本研究也表明 exoU 菌株对于环丙沙星等喹诺酮类抗菌药的耐药率高于 exoS,但未对其具体机制进行深入研究探讨。

综上所述,PA 在医院表现出多药耐药,且以 exoS 为主,虽然携带 exoU 的菌株所占比例较低,但其耐药率高,对其具体机制值得深入研究与探讨。

参考文献

- [1] BARBIER F, ANDREMONTE A, WOLFF M, et al. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia; recent advances in epidemiology and management[J]. Curr Opin Pulm Med, 2013, 19(3): 216-228.
- [2] 周晓娟,徐根隆,应华永. 烧伤科耐药铜绿假单胞菌耐药性与毒力基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(7): 1580-1582.
- [3] 陈富,罗蕙芬,张文,等. 广州地区 4 家中医院铜绿假单胞菌的分布及耐药谱分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(10): 1427-1428.
- [4] 余昊,杨虹. 673 例铜绿假单胞菌感染的分布特点及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(16): 2327-2329.
- [5] 杨燕,刘冬梅. 重庆某院近 4 年铜绿假单胞菌的感染分布与耐药率分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(14): 1997-1999.
- [6] 孙敏,徐永成,权城. 某院铜绿假单胞菌的分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(14): 2020-2023.
- [7] 陈越,孙景勇,倪语星,等. 2012 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(3): 199-203.
- [8] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 365-

374.

[9] 王静,张海燕,胡永芳.铜绿假单胞菌临床分离株药敏试验结果分析[J].检验医学与临床,2012,9(17):2147-2148.

[10] SAWA T. The molecular mechanism of acute lung injury caused by *Pseudomonas aeruginosa*: from bacterial pathogenesis to host response[J]. J Intensive Care, 2014, 2(1): 10-26.

[11] MIN-HYUN PARK, SO YOUNG KIM, EUN YUN ROH, et al. Difference of Type 3 secretion system (T3SS) effector gene genotypes (exoU and exoS) and its implication to antibiotics resistances in isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from chronic otitis media[J]. Auris Nasus Larynx, 2017, 44(3): 258-265.

[12] SULLIVAN E, BENSMAN J, LOU M, et al. Risk of developing pneumonia is enhanced by the combined traits of fluoroquinolone resistance and type III secretion virulence

in respiratory isolates of *pseudomonas aeruginosa*[J]. Crit Care Med, 2014, 42(1): 48-56.

[13] 鞠晓红,李瑶,王月华,等.铜绿假单胞菌毒力基因 exoS、exoU 临床分布及耐药性研究[J].中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 48-51.

[14] WONG BERINGER A, WIENER-KRONISH J, LYNCH S, et al. Comparison of type III secretion system virulence among fluoroquinolone-susceptible and resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(4): 330-336.

[15] FERREIRA ML, DANTAS RC, FARIA AL, et al. Molecular epidemiological survey of the quinolone- and carbapenem-resistant genotype and its association with the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Med Microbiol, 2015, 64(3): 262-271.

(收稿日期:2018-12-06 修回日期:2019-03-20)

• 短篇论著 •

2014—2018 年成都市某三级医院肠道寄生虫检出结果分析*

朱丽娜,李云霞,高 阳,陈 静

(成都市新都区人民医院医学检验科,四川成都 610500)

摘要:目的 了解近 4 年来该院患者肠道寄生虫感染情况,为寄生虫病的防治提供理论依据。方法 收集该院 2014 年 7 月至 2018 年 6 月共 83 305 例大便常规的检查结果,并回顾性分析临床病例资料,对 204 例寄生虫阳性的结果进行分析。结果 83 305 例标本中,寄生虫阳性检出率为 0.245%(204/83 305),共检出 5 种蠕虫,均为轻度感染。钩虫感染率最高,为 0.172%(143/83 305);蛔虫、蛲虫、粪类圆线虫的感染率分别为 0.004%(33/83 305)、0.026%(22/83 305)、0.006%(5/83 305);1 例同时感染蛔虫和鞭虫,感染率为 0.001%(1/83 305);男、女性患者肠道寄生虫感染率分别为 0.179%(69/38 466)、0.301%(135/44 839),女性感染率高于男性;感染率最高的是 60 岁及以上的人群(0.418%,136/32 532)。结论 该院患者肠道寄生虫检出以钩虫为主,老年人群中肠道寄生虫感染率高于其他年龄组,是该地区寄生虫病防控和监测的重点对象。

关键词:肠道寄生虫; 寄生虫感染; 寄生虫病; 蠕虫

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.16.024

文章编号:1673-4130(2019)16-2014-02

中图法分类号:R446.13+2

文献标识码:B

肠道蠕虫是危害人体健康的常见寄生虫,在卫生条件较差的地区及卫生习惯不良的人群中广泛流行。四川省位于经济欠发达的西部地区,人群中寄生虫感染情况较为严重,根据 2004 年全国人体重要寄生虫病现状调查结果,四川省肠道蠕虫感染人数约为 3 314 万,蠕虫平均感染率为 42.16%^[1]。成都市位于四川盆地西部,境内地势平坦、河网纵横,属亚热带季风性湿润气候,其特殊的地理位置和适宜的气候条件非常适宜寄生虫的传播与流行。本研究收集了本院 2014 年 7 月至 2018 年 6 月大便常规寄生虫镜检的数据并

结合临床病例资料,对本院近 4 年来门急诊及住院患者的寄生虫感染情况进行回顾性分析,为临床寄生虫病的诊断和治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 标本来源 成都市新都区人民医院 2014 年 7 月至 2018 年 6 月,门急诊和住院患者的大便标本共 83 305 例。其中男 38 466 例,女 44 839 例;根据年龄分为 3 组,儿童组(≤ 14 岁)20 912 例,中青年组(15~59 岁)29 861 例,老年组(≥ 60 岁)32 532 例。

1.2 检查方法 收集被调查者的新鲜粪便,采用生

* 基金项目:四川省卫生健康委员会科研项目(17PJ523)。

△ 通信作者,E-mail:616127161@qq.com。

理盐水直接涂片镜检法,检查肠道寄生虫虫卵或成虫。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行统计学分析,计数资料以率表示,差异性比较采用 χ^2 检验,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总体情况 2014年7月至2018年6月本院门急诊及住院患者肠道寄生虫镜检阳性的标本204例,阳性检出率0.245%(204/83305)。共检出5种肠道寄生虫,分别是钩虫、蛔虫、蛲虫、粪类圆线虫和鞭虫,多为单一虫种感染,仅1例混合感染蛔虫和鞭虫。

2.2 虫种分布 204例阳性标本中以钩虫感染率最高,占0.172%(143/83305),其次依次为蛔虫,占0.004%(33/83305);蛲虫,占0.026%(22/83305);粪类圆线虫,占0.006%(5/83305);混合感染蛔虫和鞭虫,占0.001%(1/83305)。

2.3 性别分布 男、女性患者肠道寄生虫感染率分别为0.179%(69/38466)、0.301%(135/44839),女性感染率高于男性,且差异具有统计学意义($\chi^2=10.228, P<0.05$)。

2.4 年龄分布 不同年龄组的人群肠道寄生虫感染率老年组最高,为0.418%(136/32532),儿童组与中青年组的感染率分别为0.163%(34/20912)、0.114%(34/29861),各组间的差异具有统计学意义($\chi^2=70.958, P<0.05$),儿童组肠道寄生虫检出为钩虫、蛔虫和蛲虫,中青年组和老年组人群以钩虫为主。

3 讨论

寄生虫感染是影响居民身体健康的重要因素之一,是阻碍社会与经济发 展的公共卫生问题^[2]。肠道寄生虫主要寄生在人体肠道内,靠吸收人体营养而生存和繁殖后代,引起宿主营养不良、机械损伤或免疫病理损害^[2-5],导致患者出现腹胀、恶心、呕吐、腹泻等消化道症状。

2001—2004年全国人体重要寄生虫病调查报告显示,四川省土源性线虫的感染率高达39.66%,主要以蛔虫和钩虫为主^[2]。此次回顾性分析显示,本院2014年7月至2018年6月就诊患者新鲜大便检出的肠道寄生虫均为土源性线虫,总体感染率较低,为0.245%,以钩虫为主,感染率为0.172%,远低于2005年报道的四川省居民钩虫感染率(18.01%)^[2],可能与成都近年来进行居民健康教育、改善农村卫生状况和用水条件、开展土源性线虫病综合防治工作有关^[6-7]。本研究多数患者为单一肠道寄生虫感染,仅1例患者混合感染蛔虫与鞭虫,且均为轻度感染。本院患者肠道寄生虫感染女性高于男性,这与近年来全国其他省市土源性线虫病的监测结果基本一

致^[8-12]。老年组肠道寄生虫感染率为0.418%,明显高于其他人群,可能与老年人群生活习惯和卫生观念欠佳及农耕劳作方式易接触土壤有关^[13],同时也提示需要对60岁以上人群进行寄生虫病重点监测。

本院门急诊和住院患者肠道寄生虫感染率较低,以钩虫为主,且临床症状不明显,多为轻度感染。60岁以上的老年人是土源性线虫感染的高发人群,需重点防治和监测。生理盐水直接涂片镜检法阳性率较低,实验室宜改进寄生虫检测方法,避免出现漏检漏诊。

参考文献

- [1] 许隆祺,陈颖丹,孙凤华,等.全国人体重要寄生虫病现状调查报告[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2005,23(S1):332-340.
- [2] 廖永仪,凌娟,杨益超.人体肠道寄生虫感染现状及防治效果分析[J].医学动物防制,2015,31(2):165-167.
- [3] 李雍龙.人体寄生虫学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2007.
- [4] 邓艳,张雅兰,陈伟奇,等.2015年河南省豫东地区人体肠道寄生虫感染现状调查[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2017,35(5):450-455.
- [5] 朱慧慧,周长海,陈颖丹,等.全国人体重点寄生虫病现状调查SWOT分析[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2015,33(5):377-381.
- [6] 罗静雯,田洪春,钟波,等.四川省土源性线虫病相关知识与行为调查分析[J].预防医学情报杂志,2014,30(10):838-842.
- [7] 田洪春,唐猛,谢红,等.综合防治模式控制土源性线虫病效果评价[J].中国血吸虫病防治杂志,2011,23(5):518-523.
- [8] 金伟,郭见多,刘道华,等.安徽省人体重点寄生虫病现状调查报告[J].热带病与寄生虫学,2017,15(1):14-18,6.
- [9] 范道勇,王力,许汉英,等.四川泸定县人体重点寄生虫感染现状调查分析[J].热带病与寄生虫学,2017,15(1):50-52.
- [10] 马霄,赵存哲,张静宵,等.2015年青海省人体蛔虫感染情况调查[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2017,35(6):614-616.
- [11] 赵德维,赵琳.江油市小学生肠道寄生虫病防治效果分析[J].寄生虫病与感染性疾病,2012,10(2):109-110.
- [12] 何卓,唐阳,李正祥,等.2015年湖南省人体重点寄生虫病流行现状调查[J].实用预防医学,2017,24(3):291-296.
- [13] 陈颖丹,臧炜.我国土源性线虫病监测现状及今后监测工作重点[J].中国血吸虫病防治杂志,2015,27(2):111-114.