

· 短篇及病例报道 ·

铜绿假单胞菌 I 类整合子阳性株对细菌耐药的影响

胡昌俊, 朱艮苗[△]

(重庆市开县人民医院检验科 405400)

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.25.055

文献标识码:C

文章编号:1671-8348(2013)25-3078-02

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)的耐药机制十分复杂,几乎具有细菌所有的耐药机制。而从外部获得耐药基因已被认为是细菌耐药性形成的主要机制。I类整合子具有独特的捕获外源基因的能力,耐药基因一旦被整合子捕获,很容易形成抗菌药物的普遍抗性^[1]。本文对临床分离的耐药性 PA I类整合子携带情况及其耐药性进行分析,初步探讨 I类整合子对 PA 耐药性形成的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 实验菌株:17株 PA 耐药菌来自河北医科大学附属医院住院患者的各类标本;质控菌株:铜绿假单胞菌(ATCC27853)及大肠埃希菌(ATCC25922)购自杭州天和生物公司。

1.2 仪器与试剂 荧光定量 PCR 仪(德国 Eppendorf),电泳系统(美国 BIO-RAD),凝胶成像分析系统(法国 VL),核酸蛋白检测仪(德国 Beckman)。抗菌药物纸片、MH 琼脂及 LB 培养基(杭州天和生物公司)。聚合酶链反应(PCR)试剂盒、DNA 提取试剂盒及 PCR 产物回收试剂盒(大连宝生物公司)。

1.3 方法

1.3.1 药敏试验 采用琼脂纸片扩散(K-B)法检测 17 株 PA 药物敏感性。操作及结果判读,严格按照临床实验室标准化协会(CLSI)2006 年制订的标准进行^[2]。

1.3.2 I类整合子基因检测 采用 PCR 检测 I类整合子基因。扩增模板:提取的 17 株 PA 基因组 DNA。PCR 引物:根据文献^[3]设计 I类整合子引物,上游:5'-ACG AGC GCA AGG TTT CGG T-3',下游:5'-GAA AGG TCT GGT CAT ACA TG-3'。50 μL PCR 体系:10×PCR 缓冲液 5 μL,dNTP 4 μL,DNA 模板 2 μL,引物各 2 μL,Taq DNA 聚合酶(5 U/μL)0.25 μL,灭菌去离子水 34.75 μL。PCR 扩增参数:94℃裂解 5 min;每个循环 94℃变性 30 s,52℃退火 30 s,72℃延伸 40 s,30 个循环;最后 72℃延伸 7 min。扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳分析。

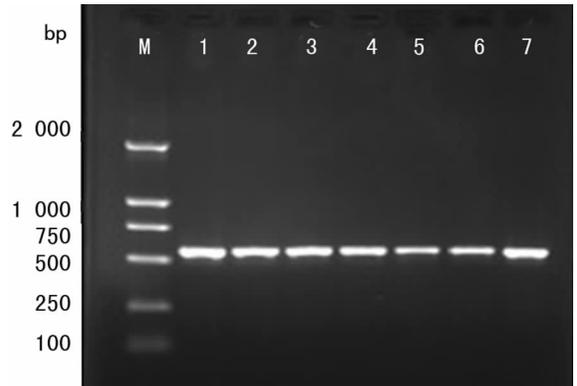
1.3.3 统计学处理 测得的耐药率数据用 SPSS17.0 统计软件分析。I类整合子阳性株与阴性株的耐药率差异经 Wilcoxon 秩和检验分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 I类整合子检测结果 17 株 PA 菌株中,检出 I类整合子阳性菌株 7 株,阳性率为 41.2%。PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,为 564 bp 的产物,与目的片段大小一致,见图 1。

2.2 I类整合子与耐药性的关系分析 I类整合子阳性株 PA 对 13 种抗菌药物的耐药率由高到低依次为庆大霉素(100.00%),头孢噻肟和环丙沙星(85.71%),氨曲南、氧氟沙星和丁胺卡那霉素(71.43%),氨苄青霉素及头孢哌酮(57.14%),头孢吡肟、美罗培南和哌拉西林(42.86%),头孢他

啶和亚胺培南(28.57%);阴性株 PA 耐药率为头孢噻肟(30.00%),氨苄青霉素和庆大霉素(20.00%),头孢他啶、环丙沙星和丁胺卡那霉素(10.00%),头孢吡肟、氨曲南、头孢哌酮、哌拉西林、美罗培南、亚胺培南及氧氟沙星耐药率为 0。I类整合子阳性株与阴性耐药率经统计学分析,其差异有统计学意义($Z = -3.185; P < 0.05$)。结果见表 1。



M:标志物;1~7:I类整合子 PA 株。

图 1 I类整合子 PCR 电泳图

表 1 I类整合子与 PA 耐药性的关系

抗菌药物	阳性株耐药率(%)	阴性株耐药率(%)
氨苄青霉素	57.14	20.00
头孢噻肟	85.71	30.00
头孢吡肟	42.86	0.00
头孢他啶	28.57	10.00
美罗培南	42.86	0.00
亚胺培南	28.57	0.00
头孢哌酮/舒巴坦	57.14	0.00
哌拉西林/他唑巴坦	42.86	0.00
氨曲南	71.43	0.00
环丙沙星	85.71	10.00
氧氟沙星	71.43	0.00
丁胺卡那霉素	71.43	10.00
庆大霉素	100.00	20.00

3 讨论

I类整合子是一种细菌基因捕获和表达的遗传单位,通过其编码的整合酶从环境中捕获耐药基因盒并将其组装在可变区中,形成耐药基因多基因座,使菌体具有多重耐药性,又因其常存在于质粒或转座子等可移动的基因元件上,在同种菌属和

不同种菌属间进行基因的水平转移,从而使细菌的耐药性得以在细菌间广泛播散,形成对抗菌药物的普遍抗性^[1,4-5]。本研究对 17 株耐药 PA I 类整合子携带情况及耐药性进行了分析,以探讨 I 类整合子对 PA 耐药性的影响。结果发现 I 类整合子的携带率为 41.2%(7/17),I 类整合子阳性株的耐药率明显高于阴性株,其中,阳性株对 β -内酰胺类耐药率最高,其次是喹诺酮类,且表现为对多种抗菌药物耐药,而 I 类整合子阴性株只表现为对少数抗菌药物耐药;阳性株与阴性株的耐药性差异有统计学意义($Z = -3.185; P < 0.01$)。结果表明 I 类整合子与 PA 耐药性关系密切,与相关研究报道一致^[6-7]。

I 类整合子介导细菌耐药主要是由其携带的耐药基因盒引起。目前,发现整合子携带的耐药基因有 blaP1、blaCEF、blaVEB、blaVIM、blaIMP、aadA、aadB、aacA 及 aphA15 等,主要介导 β -内酰胺类及氨基糖苷类耐药,亦有报道耐药基因 qnr 可介导对喹诺酮类抗生素的耐药^[1,8-10]。本研究表明 I 类整合子阳性株对 β -内酰胺类及喹诺酮类耐药率较高,可能与其携带相应耐药基因盒有关。可见 I 类整合子与 PA 耐药性关系密切,其耐药类型也主要受到 I 类整合子基因盒的影响。

参考文献:

- [1] Cambray G, Guerout AM, Mazel D. Integrons[J]. Annu Rev Genet, 2010, 44(2): 141-166.
- [2] Kader AA, Kamath KA, Dass SM. Accelerated detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Enterobacteriaceae[J]. Br J Biomed Sci, 2006, 63(4): 151-154.
- [3] 杨维青,殷长甫,石磊,等.整合子及相关基因盒在临床分离铜绿假单胞菌中的分布[J].中国人兽共患病学报,

2006, 22(9): 855-857.

- [4] Il'ina TS. Bacterial superintegrons, a source of new genes with adaptive functions[J]. Genetika, 2006, 42(11): 1536-1546.
- [5] Rodriguez I, Martin MC, Mendoza MC, et al. Class 1 and class 2 integrons in non-prevalent serovars of Salmonella enterica: structure and association with transposons and plasmids[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 58(6): 1124-1132.
- [6] Patzer J, Toleman MA, Deshpande LM, et al. Pseudomonas aeruginosa strains harbouring an unusual blaVIM-4 gene cassette isolated from hospitalized children in Poland (1998-2001) [J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 53(3): 451-456.
- [7] 杨维青,石磊,尹晓琳,等.不同地区铜绿假单胞菌第一类整合子和整合子相关基因盒的分布[J].中国抗生素杂志, 2006, 31(1): 15-18.
- [8] Rowe-Magnus DA, Mazel D. Resistance gene capture[J]. Curr Opin Microbiol, 1999, 2(5): 483-488.
- [9] Ploy MC, Lambert T, Couty JP, et al. Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system[J]. Clin Chem Lab Med, 2000, 38(6): 483-487.
- [10] Ke X, Gu B, Pan S, et al. Epidemiology and molecular mechanism of integron-mediated antibiotic resistance in Shigella[J]. Arch Microbiol, 2011, 193(11): 767-774.

(收稿日期: 2013-03-25 修回日期: 2013-05-22)

• 短篇及病例报道 •

孕 29 周患者经腹腔镜行胆囊切除术麻醉的个案报道

闫红, 胡戈, 毛庆祥, 葛衡江[△]

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所麻醉科, 重庆 400042)

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.25.056

文献标识码: C

文章编号: 1671-8348(2013)25-3079-02

在发达国家大约有 0.2%~1.0% 的妊娠妇女在妊娠期间因为非分娩手术而接受麻醉^[1-2]。近年来,腹腔镜手术率增加超过了传统手术,妊娠期腹腔镜手术包括诊断性和治疗性手术,如胆囊切除术、阑尾切除术和卵巢扭转手术。为确保妊娠期腹腔镜手术安全进行,必须考虑与非孕患者的重要差异^[3]。本文报道 1 例孕 29 周患者经腹腔镜下行胆囊切除术的麻醉管理,以期对中晚期孕妇施行腹腔镜手术的管理有所借鉴。

1 临床资料

患者,孕 29 周。1 个月前因进食“鸡汤”后感腹痛,以上腹部明显,呈持续性,无放射痛及牵涉性疼痛。入院后腹部 B 超提示胆囊结石,无胆管扩张。胰腺形态正常。血常规提示白细胞(WBC) $16.0 \times 10^9/L$,中性粒细胞(NEUT%) 85.2%。淀粉酶 104 U/L,脂肪酶 131.7 U/L,尿淀粉酶 102 U/L。产科 B 超提示孕中期、单活胎。诊断明确:(1)孕 1 产 0 29 周;

(2)胆囊结石;(3)急性胰腺炎。入院后予以抗感染、抑酸、补液和营养支持等对症治疗后,患者腹痛有所好转。但患者近 1 个月以来进食差,且伴呕吐,体质量反较 1 个月前降低,认为孕妇自身营养不能满足胎儿需要。经患者及其家属反复商量后,决定先行胆囊切除术,同时希望保证胎儿安全。经肝胆、麻醉和产科等相关科室会诊后,决定在全身麻醉下行腹腔镜行胆囊切除术。术前 48 h 使用地塞米松,每 12 小时 1 次,每次 6 mg;术前 24 h 静脉滴注硫酸镁 15 g 以防早产。

进入手术室后常规心电图、血压和氧饱和度监护。同时将监护胎心的探头用透明辅料贴固定在患者下腹部,建立连续胎心监护,并且在术前和术后进行宫缩监护。左上肢建立静脉通道,同时静脉滴注硫酸镁。去氮给氧 8 min 后,开始全麻诱导,咪达唑仑 2 mg,芬太尼 0.1 mg,得普利麻、阿曲库铵 25 mg 静脉推注后气管内插管,常规建立呼吸末 CO₂ 浓度监测。诱导