102-105
维普资讯 http://www.cqvip.com



# 铜绿假单胞菌的联合分型及其在医院感染中的运用

临床学院流行病学教研室 魏启欧* 卢仙娥

**提 要** 对某教学医院从各种标本分离得到的117株铜绿假单胞菌进行了研究。分型表明，引起医院感染的主要血清型是11型、3型和6型；细菌素型别主要为243112、173235和122411。对铜绿假单胞菌敏感的抗生素为多粘菌素B和丁胺卡那霉素，耐药较高的有复方新诺明、头孢唑啉、庆大霉素等。感染菌株主要来源于泌尿外科和神经内科。外膜蛋白图谱分析表明、部分环境分离株和临床标本分离株可能具有相同遗传来源。

**关键词** 医院感染；铜绿假单胞菌分型；外膜蛋白图谱分析
**中图分类号** R378.911 R181.34

铜绿假单胞菌 (Pseudomonas-aeruginosa,Pa)广泛分布于医院的环境中，是一种重要的条件致病菌，当机体免疫功能低下时，容易发生Pa感染，而且病死率很高[1]。我们于1995年10月至1996年3月从某教学医院各种临床标本和环境分离得到117株Pa，进行了联合分型和外膜蛋白图谱分析，现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

*1.1 研究对象* 某教学医院1995年10月至1996年3月的住院患者，按卫生部医院感染诊断标准[2]认定为医院感染者，取其感染部位的相应标本(痰、小便、脓液等)以及患者所在病房的地板、床单、床头柜、水龙头、肥皂盒、雾化器、拖把等环境样品进行检测。

**1.2 培养基**

1.2.1 改良NAC液体及琼脂培养基[3]，前者用于增菌，后者用于分离培养。

1.2.2 King A培养基、荧光——脱氨培养基、乙酰胺培养基、5%NaCl肉汤用于鉴定Pa。

**1.3 Pa的分离培养和鉴定**

按参考文献[4,5]进行。

**1.4 Pa血清学分型**

国际抗原分型系统(IATS)20种标准血清购于卫生部成都生物制品研究所，批号:950601。以玻片凝集法按说明书进行。

**1.5 细菌素分型**

分型指示菌Py1-Py18，购于卫生部成都生物制品研究所，采用点滴法，按参考文献[6]进行。

**1.6 抗生素敏感性分析**

抗生素纸片购于北京天坛生物制品研究所、采用K-B法，以Pa ATCC 27853和E.coli ATCC 25922为对照。

**1.7 外膜蛋白图谱分析**

OMP的提取：参考Kakl等方法[7,8]。离心收获100ml培养过夜的细菌，重悬于0.1体积的100mmol/L tris-HCl、100mmol/L $MgCl_2$(pH 7.8)中，冰浴超声破碎10分钟，3600g15min离心去除未破碎细菌。上清100,000g、4℃离心10分钟，沉淀中含所有膜蛋白，用等体积tris-$MgCl_2$、2%triton x-100洗涤沉淀一次，重复上一步骤并室温孵育30min以溶解内膜蛋白，100,000g 4℃温离心15min。适量体积tris-$MgCl_2$、2%triton x-100重悬沉淀，保存于-20℃。

SDS-PAGE分析：适量OMP提取液，加入等体积2×SDS上样缓冲液(含100mmol/L Tris-HCl、pH6.8;4%SDS;0.2%溴酚蓝、20%甘油;400mmol/L β-巯基乙醇)，室温放置10min，沸水煮沸3min使蛋白变性。离心取上清点样电泳。在tris-甘氨酸电泳缓冲液中，5%浓缩胶，10%分离胶电泳。蛋白标准采用牛血清白蛋白(66.3 KD) 和溶菌酶(17.5KD)。电泳后考马斯亮蓝R250染色。

## 2 结果

共分离Pa117株，其中来自病人标本有103株，来自环境标本有14株(表1)。从表中可以看出，Pa感染以泌尿科(主要是尿路感染)为最多见，占

* 男，1972-08出生，硕士研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com



42.7%，这同泌尿科手术、尿道插管等危险因素是相关的[5,6]，其次是神经内科和骨科，分别有28.2%和13.6%的菌株来源于这两个科。另外，分离的Pa主要标本为小便(48.5%)、痰(28.2%)、伤口(18.5%)。这说明，泌尿道、呼吸道和伤口是最容易受到Pa侵袭和感染的。

14株由环境分离得到的Pa，标本采自床头柜的有4株、床单3株、拖把3株、水龙头2株、雾化器1株、肥皂盒1株。

表1 医院感染绿脓杆菌的来源

| | 内一 | 神内 | 骨科 | 烧伤 | 泌尿 | 脑外 | 合计(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 小便 | 2 | 4 | 2 | 0 | 39 | 3 | 50(48.5) |
| 痰 | 3 | 23 | 1 | 0 | 0 | 2 | 29(28.2) |
| 伤口分泌物 | 0 | 0 | 11 | 3 | 5 | 0 | 19(18.5) |
| 其它(血,粪便) | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 5(4.8) |
| 合计(%) | 6(5.8) | 29(28.2) | 14(13.6) | 3(2.9) | 44(42.7) | 7(6.8) | 103(100) |

## 2.2 血清学分型

在分离的117型Pa中，共有107株能够分型，分型率为91.5%，主要以11型(占51.4%)、3型(占21.5%)和6型(占17.8%)为多见，详见表2。

表2 107株绿脓杆菌的血清学分型

| 血清型 | 1 | 3 | 4 | 6 | 11 | 18 | 19 | 合计 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 内一 | 0 | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 6 |
| 神内 | 1 | 5 | 0 | 4 | 15 | 0 | 1 | 26 |
| 骨科 | 1 | 3 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 | 12 |
| 烧伤 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 泌尿 | 0 | 8 | 1 | 6 | 23 | 1 | 1 | 40 |
| 脑外 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 环境 | 1 | 2 | 1 | 3 | 6 | 0 | 0 | 13 |
| 合计(%) | 3(2.8) | 23(21.5) | 2(1.8) | 19(17.8) | 55(51.5) | 2(1.8) | 3(2.8) | 107(100) |

## 2.3 细菌素分型

117株Pa作细菌素分型，112株能够分型，分型率为95.7%。根据相差两个或不及两个号码为同型的原则[6]，去除实验误差，结果:43.8%(49/112)为243112，28.6%(32/112)为173235，13.4%(15/112)为122411。其它型别为杂型，占14.2%(16/112)。

## 2.4 抗生素敏感性分析

117株Pa对复方新诺明(SXT)全部耐药，对头孢唑啉($C_2$)和庆大霉素(GM)耐药率分别为92%(107/117)和86%(101/117)，对氨苄青霉素(Am)的耐药率为82%(101/117)，对氯洁霉素(CM)和去甲万古霉素(NVA)的耐药率也较高。97%(113/117)的菌株对多粘菌素B(PB)敏感，94%(110/117)的菌株对丁胺卡那霉素(AN)敏感，先锋噻肟(CTX)75%(87/117)敏感，羟苄青霉素(CB)50%(58/117)敏感。由环境分离得到的菌株和医院感染患者分离株具有相同的型别和抗生素敏感图谱(表3)。

表3 部分感染菌株和环境分离株的比较

| 来源 | 菌素型 | 血清型 | 株数 | 抗生素敏感性 PB | AN | CTX | CB | AM | GM | $C_2$ | SXT | CM | NVA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 医院感染 | 243112 | 11 | 31 | S | S | S | S | R | R | R | R | R | R |
| 环 境 | 243112 | 11 | 6 | S | S | S | S | R | R | R | R | R | R |
| 医院感染 | 173235 | 6 | 11 | S | S | S | R | R | S | R | R | R | R |
| 环 境 | 173235 | 6 | 3 | S | S | S | R | R | S | R | R | R | R |

S:敏感 R:耐药

## 2.5 OMP图谱分析

对来自泌尿外科的部分菌株作OMP图谱分析。显示，患者的Pa同床头柜、拖把分离的Pa具有相同的OMP图谱(图1)。从图中可以看出，6株血清11型Pa尽管来源不同，均具有一致的外膜蛋白条带，是泌尿外科主要型别；血清6型同血清11型的外蛋白图谱模式显著不同，可以肯定Pa8和其它株不是同一克隆。血清18型、19型各一株同血清11型有相同的OMP图谱，它们是否为一个克隆，尚需进一步研究。

# 3 讨论

医院感染是当前流行病学和临床微生物学工作的重要问题。从本次结果看来，在该教学医院，

维普资讯 http://www.cqvip.com



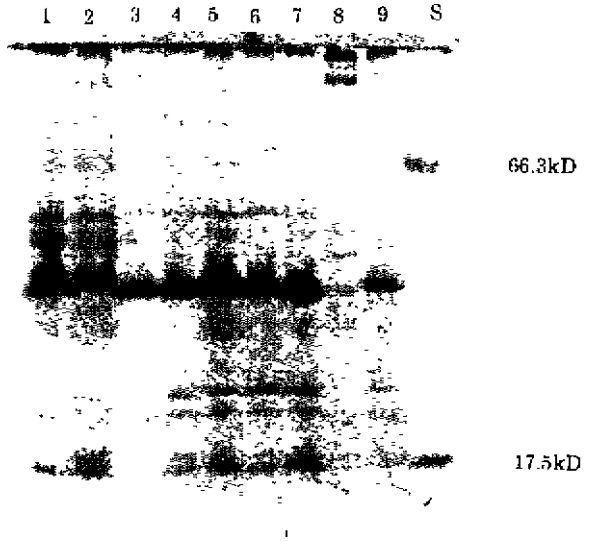



**图1 部分Pa的OMP图谱分析**
1:血清19型，来自小便
2:血清18型，来自拖把
3.4.5:血清11型，分别来自床头柜、床单、拖把
6.7.9:血清11型，来自小便
8:血清6型，来自小便

有Pa的交叉感染和流行，并涉及到多个科室。对Pa的分型有利于鉴别和发现流行株，并可进行初步的流行机制探讨。传统的Pa分型方法包括血清学、细菌素、噬菌体分型方法等。血清学分型最方便，不需特殊设备，只需十分钟便可得到结果。分型率也比较高，但较为粗糙，细菌素分型可作为血清学分型的补充，但二者并非一一对应。噬菌体分型操作比较繁杂，结果稳定性较差。总的说来，以细菌表型特征为分型基础的传统方法，能够提供一定信息，在实际运用中，常常联合用一种或几种方法进行研究[11]。

OMP图谱和质粒指纹图谱(Plasmid fingerprinting)被愈来愈广泛地应用于分子流行病学领域。Pa的质粒携带率较低，国内报道Pa质粒携带率为24.3%～73.8%不等[12,13]。Poh等报道检出率为15%[14]。一般认为，Pa的质粒指纹图谱分析能够对分子流行病学监测提供信息，但容易受到质粒携带率的影响，不能单独作为监测的工具。革兰阴性杆菌的外膜蛋白主要包括有孔蛋白、OMPA、热修饰蛋白、LamB蛋白等。OMP的SDS－PAGE作为流行病学标记系统(分型系统)有几个优点:①特异性高。OMP是基因表达的产物，它能相应地反映核酸的某些特性。②稳定性、重复性好。③OMP图谱可以从所有菌株中获得。④结果容易比较[8]。OMP图谱现已成功地用于淋球菌、脑膜炎球菌、霍乱弧菌、大肠杆菌等细菌的分子流行病学分型上。郭晓奎等认为[15]，Pa的OMP图谱同血清型一一对应，在缺乏分型血清时，可以作为替代。Lacy则认为[16]，Pa的血清学分型基础是细菌外膜糖脂和脂多糖，同OMP图谱不一定一一对应。本次结果显示，Pa的OMP图谱由5～8条主要区带组成，分子量分布在15KD～60KD之间，在一定程度上能够反映各菌株的遗传特征。

Pa对抗生素的广泛耐药也是容易引起医院感染的另一重要因素。近年来，对一代、二代头孢菌素耐药的Pa迅速增多，多重耐药菌株也不断出现。本次结果说明，在治疗和预防Pa感染时，首选抗生素为多粘菌素B、丁胺卡那霉素和第三代头孢类抗生素。另外，从患者和环境分离株的比较看，环境在Pa的感染中具有重要作用。在预防Pa感染时，医院相关环境的消毒、灭菌是不容忽视的。

## 参考文献

1.Chit Laa Poh, et al. J Hosp Infect 1993,24:175
2.卫生部医政司医院感染监控小组，中华医院管理杂志 1990,6(5):306
3.盛淳颖.中国消毒学杂志 1992,9(3):152
4.张颖悟等.临床微生物学(下册)，大连出版社，1990,615
5.王世鹏，等.中华医院管理杂志 1987,3(1):36
6.Eye JAM.J Clin Microbiol,1984;20:47
7.Kakl G,et al. J Bacteriol,1991,73:2420
8.李蓉，等.克隆识别，北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1994,194;190
9.Emerson A.M, et al. J Hosp Infect, 1996,32:175

维普资讯 http://www.cqvip.com



10.薛国文等.中华医院感染学杂志 1996.6(1):19
11.Orsi G.B, et al. J Hosp Infect 1994,27:49
12.吴桐,等.中华流行病学杂志 1993.14(5):304
13.余加林,等.中华儿科杂志 1993,31(4):197
14.Poh C.L, et al. J Med Microbiol, 1988,25:109
15.郭晓奎,等.中国微生态学杂志 1996.8(2):21
16.Lucy M.et al. J Infect Dis, 1982,146(6):770
(收稿日期 1996－10－28)

# Combined typing methods of Pseudomonas aeruginosa and applications in nosocomial infection

*Wei Qiou*, et al

Dept. of epidemiology, The college of clinical medicine

A total of 117 Pseudomonas aeruginosa strains were scparated from various samples in a teaching hospital. Serotyping showed that type 11,3 and 6 were epidemic types in nosocomial infection. The main pyocin types were 243112, 173235 and 122411. Most of these strains were sensitive to Polymycin B, Amikacinum and resistant to Sulfamethoxazolum, Cefazolin.Gentamycin, Strains mainly distributed in Urology and Nurolgy. Outer membrane protein analysis suggested that the clinic and environmental strains probably had the same genetic source.

**KEY WORDS** Nosocomial infection; Typing of Pseudomonas aeruginosa; Outer membrane analysis

105-108

# 优立新治疗急性细菌性感染的临床观察

临床学院传染科 段明纲* 王其南 蒋玉富 郑行萍 李崇智 陈 海

**提 要** 优立新与头孢噻肟随机对照治疗呼吸道和泌尿道感染40例，临床有效率各为100％和95％($P>0.05$)，细菌阴转率各为94.1％和100％($P>0.05$)，无显著性差异。优立新共治疗30例，临床有效率和细菌阴转率分别为100％和96％。两药副反应均轻微，无因副反应而停药。在优立新治疗病例中，有2例出现皮疹，另2例为肝功能ALT和AST暂时性轻度增高。

**关键词** 优立新 头孢噻肟 细菌感染 临床评价
**中图分类号** R453
R515.05 R978.11

随着抗生素的广泛应用，细菌耐药性日趋严重，细菌对抗生素耐药的主要机理是产生β－内酰胺酶[1,2]。优立新(Unasyn)含β－内酰胺酶抑制剂青霉烷砜(sulbactam)和氨苄青霉素，其重量比为1:2。优立新临床应用的国内文献较少。我们从1992年11月至1993年8月，进行了优立新治疗急性细菌性感染的临床疗效和安全性观察，并和头孢噻肟作开放性随机对照研究，现将结果报告如下。

## 1 材料和方法

* 男，1945－11出生，副主任医师

### 1.1 临床资料

1.1.1 病例选择(表1) 本研究共收治急性细菌性感染50例。50例中，呼吸道感染24例，泌尿道感染22例，其它感染4例。前40例按随机表分为优立新治疗组(优立新1)和头孢噻肟对照组，各组有20例。前者男7例，女13例，年龄21～65岁，平均38.4±13.6岁；后者男女各10例，年龄18～65岁，平均41.7±15.2岁。后10例为优立新开放组(优立新2)，其中男3例，女7例，年龄18～63岁，平均38.6±14.5岁。

1.1.2 观察项目 全部病例逐日观察症状和体征变化。治疗前后各作血、尿常规，肝、肾功能和细菌学检查。呼吸道感染治疗前后摄胸片或胸透。

1.1.3 药品及给药方案 优立新由辉瑞公司提供，每瓶0.75或1.5g。头孢噻肟为哈尔滨制药厂产品，每瓶0.5g或