

心外科重症监护室患者感染致病菌分子流行病学调查

黄小芳

首都医科大学附属北京安贞医院 心外六科 100029

摘要: 目的: 对心外科重症监护室患者感染致病菌分子进行流行病学调查。方法: 选取我院心外科ICU的13名患者作为调查对象, 所有患者在ICU中均接受机械通气治疗, 收集这些患者的呼吸道分泌物和血液标本, 并将其分离到鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌进行抗菌药物敏感试验, 运用PFGE技术对所有菌株进行观察、分析。结果: 从这些样本总一共分离了17株菌株, 其中8株为鲍曼不动杆菌, 其余9株为铜绿假单胞菌, 所有的铜绿假单胞菌均有同源性, 是院内发生感染的主要感染源, 并可在院内进行交叉传播; 所有鲍曼不动杆菌为散发感染或定植菌株。结论: 心外科重症监护室并未爆发鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌流行感染, 但有铜绿假单胞菌小范围交叉感染现象。

关键词: 心外科重症监护室; 流行病学; 鲍曼不动杆菌

非发酵菌是一种需氧革兰阴性杆菌, 鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌均属于这类菌, 是院内感染的主要病菌源, 近年因此类病菌发生院内感染事件的频率呈上升趋势, 并且这类病菌耐药性极高, 治疗起来较为困难, 一直是各大医院治疗的难点^[1]。为此本文就这类菌群的典型代表——鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌进行流行病学调查, 希望能够为我院日后的院感防控工作提供有价值的依据, 现将结果报道如下。

1. 资料与方法

1.1 一般资料

从我院2020年期间心外科重症监护室的住院患者中选取13名患者作为调查对象, 患者疾病类型: 冠状动脉粥样硬化性心脏病、急性心肌梗死、风湿性心脏病, 人数分别为4、5、4人。所有患者入院后均接受心脏手术治疗并入住重症监护室, 在ICU治疗期间均接受机械通气治疗, 其中有10名患者经过胸部X线、CT扫描被诊断为肺部出现感染。

1.2 方法

本次流行病学调查研究所涉及使用到的仪器试剂分别为: 脉冲场凝胶电泳仪、紫外线透照仪、一次性成像照相系统, 菌株鉴定采用VITEK细菌鉴定系统^[2]。

药物敏感性实验

随后对所有细菌进行药物敏感性实验, 鲍曼不动杆菌采用的抗生素纸片为头孢噻肟、哌拉西林、舒巴坦、氨苄西林、头孢吡肟、复方磺胺、头孢哌酮、左氧沙星、阿米卡星等, 铜绿假单胞菌抗生素纸片则选用为美罗培南、头孢他啶、氨曲南、哌拉西林、舒巴坦、哌拉西林^[3]。所有药敏试剂检验结果均按照CLSI标准制定^[4]。

脉冲场凝胶电泳

将细菌和低熔点琼脂糖(2%)混合均匀, 取100ul混合液导入模板中, 待其在模板中凝固成形后再向里面加入1ml的蛋白酶K(1mg/ml)令其进行裂解和原位纯化^[5]。选择50℃温度将细菌混合液进行孵育, 经过一夜时间后向其

中依次加入5ml的清洗缓冲液(200l/L)、5ml的PMSF清洗胶块(10l/L)。将模具中孵育完成的胶块切成个数大小差不多的块状, 再向每块胶块加入1ml的TE(PH=7.4), 让所有胶块在室温下静置1个小时。静置后将50u的限制性内切酶缓冲液过夜酶切后加入到电泳系统进行电泳处理。鲍曼不动杆菌电泳条件: 14、120℃、6V/cm、脉冲5~20s、电泳24h; 铜绿假单胞菌电泳条件: 120℃、脉冲15~45s、电泳10h。电泳结束后对其进行染色处理并形成DNA指纹图像。

菌株同源性判断标准

根据所有细菌染色后生成的DNA指纹图像, 对其运用PFGE技术进行分析, 若其带型的差距≥3条则判断其属于同一克隆且基因组同源性差异较大, 可下定义: 流行病学和该菌株具有密切关联。

2. 结果

2.1 流行病学调查数据

本次研究调查总共从13名心外科重症监护室患者检测分离出了17株细菌, 编号为1到8的菌株均为鲍曼不动杆菌; 标号为9到17号的菌株均为铜绿假单胞菌。所有细菌的标本来源和致病菌编号详见表2-1。

2.2 药物敏感性实验结果

本次研究使用的是Etest法对所有鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌进行敏感性测试, 评价结果S为敏感、I为中敏感、R为耐药, 取得地试验结果详情见表2-2以及表2-3。

2.3 临床分离致病菌PFGE基因分型结果

根据PFGE的结果发现本研究分离出的8株鲍曼不动杆菌的指纹图谱完全不一样, 根据标准可评价这几株鲍曼不动杆菌的基因组同源性很差, 所有菌株之间并无亲缘关系, 各自来自不同克隆。另外9株铜绿假单胞菌中其中编号为9、10、11、14号的4株菌其指纹图谱完全相同, 按照标准可认定其基因组同源性较高且有密切的亲缘关系, 均来自于同

表 2-1 所有心外科 ICU 患者和 17 株致病菌的流行病学资料

序号	性别	主要诊断	标本来源	致病菌(菌株编号)
1	女	冠心病,急性心梗,双肺感染	支气管分泌物	铜绿假单胞菌(14)
2	女	冠心病,心绞痛,左肺感染	支气管分泌物血	鲍曼不动杆菌(1)
3	男	冠心病,二尖瓣置换术,右肺感染	支气管分泌物	铜绿假单胞菌(12)
4	男	冠心病,二尖瓣及主动脉瓣置换术,左肺感染	支气管分泌物	铜绿假单胞菌(13)
5	女	冠心病,心绞痛,双肺感染	支气管分泌物	铜绿假单胞菌(11)
6	男	冠心病,急性心梗,冠脉搭桥术,双肺感染	支气管分泌物血	鲍曼不动杆菌(2)
7	男	冠心病,急性心梗,冠脉搭桥术,右肺感染	静脉导管	铜绿假单胞菌(15)
8	女	冠心病,二尖瓣置换术,左肺感染	支气管分泌物	铜绿假单胞菌(17)
9	男	冠心病,心绞痛,冠脉搭桥术	支气管分泌物	鲍曼不动杆菌(3)
10	男	冠心病,心绞痛,冠脉搭桥术	支气管分泌物	铜绿假单胞菌(16)
11	男	冠心病,COPD,冠脉搭桥术,双肺感染	支气管分泌物	鲍曼不动杆菌(4)
12	女	冠心病,急性心梗,冠脉搭桥术,右肺感染	支气管分泌物血	鲍曼不动杆菌(5)
13	女	冠心病,急性心梗,双肺感染	支气管分泌物	鲍曼不动杆菌(6)

表 2-2 8 株鲍曼不动杆菌 Etest 法药物敏感实验结果

细菌编号	哌拉西林	舒巴坦	他唑巴坦	头孢哌酮	头孢吡肟	头孢他啶	头孢噻肟	左氧沙星	复方磺胺	米诺环素	阿米卡星	亚胺培南
1	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
5	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	R	S	S	S	I	I	I	S	S	S	S	S
7	R	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
8	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S

表 2-3 9 株铜绿假单胞菌 Etest 法药物敏感实验结果

细菌编号	哌拉西林	环丙沙星	他唑巴坦	阿米卡星	头孢他啶	头孢吡肟	氨基糖苷	美罗培南	舒巴坦
9	S	S	S	S	S	I	R	R	I
10	S	S	S	S	S	R	R	R	I
11	S	S	S	S	S	R	R	R	I
12	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	S	R	S	S
14	S	S	S	S	S	R	S	R	I
15	S	S	S	S	R	R	R	R	I
16	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17	S	S	S	S	S	S	R	S	I

一克隆。编号为 13、17 的 2 株菌的指纹图谱则完全相同,应该全部来自于同一克隆,剩余 3 株编号为 12、15、16 的菌指纹图谱完全不一样,应该是属于不同克隆。

3. 分析讨论

鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌作为非发酵菌中的典型代表菌,都拥有革兰阴性条件,属于可致病菌类。随着现代医疗技术的发展,国内外各大医疗机构都经常会涉及运用到有创治疗和广谱抗生素,导致近年来因非发酵菌引发的院内感染事件的发生率在不断提高。尤其是重症监护室,据相关

医学调查报告显示,ICU 是院内感染事件发生的重要致病菌来源,且这类非发酵菌给院内感染带来的危险极高,控制起来非常困难。在重症监护室中,很多患者需要使用到机械通气,患者病情本身就较为危急,加上发生感染,其通气时间就需要延长,由于脱机困难导致患者治愈率大幅度降低,死亡率急剧增高。

因此各大医院必须要重视起对非发酵菌的防控工作,避免非发酵菌爆发院内感染,如果发现其分离率出现异常升高状况,就需要提高警惕防止其爆发感染。目前我国医学研究界对这类菌的研究方法主要有抗生素型分析、PAPD、

PFGE、

ERIC-PCR、Rep-PCR, 上述这些方式均属于分子流行病学分析术。本次研究主要运用的是 PFGE 技术, 该技术是目前临床公认的细菌分型金标准。本次调查研究对象均属于心外科需接受心脏手术治疗和机械通气辅助治疗, 经调查多数患者出现了肺部感染, 符合院内获得性感染高危因素。本次研究通过 PFGE 法发现在我院心外科 ICU 机械通气患者中连续分离出的铜绿假单胞菌中确实含有部分细节可以引发我院发生交叉传播感染, 因此我院各科室需要合理用药并加强对感染的防控措施, 才能有效阻止此类菌进一步形成爆发感染。

参考文献

[1] 梁亮, 刘晓春, 陈杏春, 赵丽, 庞广保, 何毅, 唐娟, 周向阳. 鲍

曼不动杆菌血流感染预后危险因素分析 [J/OL]. 华西医学 :1-6[2021-01-22].

[2] 耿磊, 贾肇一, 孙汝春, 刘晴, 王颖童. 脉冲场凝胶电泳应用于一起肠炎沙门菌引起的食物中毒调查 [J]. 医学动物防制, 2021, 37 (02) :149-151.

[3] 袁志坤, 罗国静, 何巨伦, 彭昌贵, 李日旺, 周将浪, 梁坤铃, 薛珍, 袁小静. 骨科手术患者发生院内感染情况调查及与免疫功能的相关性分析 [J]. 中国现代医药杂志, 2020, 22 (12) :5-9.

[4] 高磊, 吕媛, 崔兰卿, 孙立颖. 心外科重症监护室患者感染致病菌分子流行病学调查 [J]. 中华医学杂志, 2015, 95 (40) :3269-3272.

[5] 王晓萌, 有田世乃, 增田志高. 脉冲场电凝胶技术在肠道致病菌分子流行病学调查中的应用研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005 (11) :28-29+78.