

气,不用地毯,多晒被褥、枕头、床垫等,都是有效的防范措施。尘螨过敏可导致过敏性鼻炎、哮喘和荨麻疹的发生。因此对经常规治疗及减螨接触处理,症状仍不能得到很好控制的患儿,可进行特异性免疫治疗(SIT)以减轻对尘螨的过敏程度,通常能取得良好的疗效。

此外,本研究显示猫毛与狗上皮也是重要的过敏原,阳性率在过敏原谱中占到第 3 位,这与当前人们生活水平的提高,宠物饲养在城市越来越普遍有关,但反应级别达 3 个加号(+++)以上的仅 2%,过敏程度多不重,给予合理指导即可。结果还显示,食物性过敏原前 4 位是海虾 62%、牛肉和鸡蛋黄 58%、花生 56%,在各年龄段食物性过敏原有所不同,学龄前儿童主要为鸡蛋黄和花生,学龄组为海虾和牛肉,但两组间阳性率差异均无显著性($P > 0.05$),且食物性过敏原皮试阳性的过敏程度多为 2 个加号(++)以下,这可能与幼儿的特异性 IgE 免疫功能发育不完善及接触食物种类不同有关,所以过敏性疾病的儿童应尽量避免食用海虾等海产品等,尤其是有过敏性体质的患儿,以减少过敏性疾病的发生和发展。

本研究得到了铜陵地区儿童过敏性疾病主要过敏原的可靠数据,为临床更好地诊断和防治儿童过敏性疾病提供了科学的依据,并可有针对性地指导过敏性疾病患儿的日常生活,尽量避免高危过敏原的接触,或者通过 SIT,逐步增加患儿对过敏原的耐受性,从而控制或减少过敏性疾病的发生,进一步提高生活质量。

参考文献

- 1 Hanson L, Telemo E. The growing anergy problem[J]. *Acta Paediatr*, 1997, 86(9): 916-918
 - 2 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. *中华儿科杂志*, 2008, 46(10): 745-753
 - 3 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组、小儿学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童变应性鼻炎诊断与治疗指南[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2011, 46(1): 7-8
 - 4 张学军. 皮肤性病学[M]. 5 版, 北京: 人民卫生出版社, 2002: 92-93
 - 5 Chane Y, Dundas I, Bridge PD, *et al*. Skin prick testing as a diagnostic aid for childhood asthma [J]. *Pediatric Pulmonology*, 2005, 39: 558-562
 - 6 Wainstein BK, Yee A, Jelley D, *et al*. Combining skin prick, immediate skin application and specific IgE testing in the diagnosis of peanut allergy in children [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2007, 18: 231-239
 - 7 Garcia ML, Sanchez SM, Martinez TAE, *et al*. Phadiatop™ compared to skin prick test as a tool for diagnosing atopy in epidemiological studies in school children [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2007, 18(3): 240-244
 - 8 王元, 孔宪明, 曹立芳, 等. 上海地区过敏性疾病患者过敏原研究[J]. *上海医学*, 2008, 31(4): 241-244
 - 9 孙立英, 郭胤仕, 王菁兰, 等. 上海地区过敏患者皮肤点刺试验临床分析[J]. *现代免疫学*, 2011, 31(1): 66-70
 - 10 陈欢, 刘光辉, 祝戎飞. 武汉地区支气管哮喘患者常见吸入变应原调查[J]. *临床内科杂志*, 2004, 21: 785-786
 - 11 孙宝清, 赖克方, 李靖, 等. 广州地区支气管哮喘患者常见吸入变应原调查分析[J]. *现代临床医学生物医学杂志*, 2004, 10: 217-219
- (收稿: 2011-12-20)
(修回: 2011-12-27)

22 株耐亚胺培南肠杆菌科细菌 KPC 酶及整合子分布

陶 月 宁明哲 张 葵 张之烽

摘 要 目的 了解耐亚胺培南的肠杆菌科细菌 KPC 酶(klebsiella pneumoniae carbapenemase)及整合子分布情况。**方法** 收集南京市鼓楼医院 22 株耐亚胺培南的肠杆菌科细菌, 进行改良 Hodge 试验, PCR 扩增检测细菌 KPC 酶与整合子基因并行序列分析。**结果** 22 株肠杆菌科细菌中, 改良 Hodge 试验阳性 15 株(68.2%), KPC 酶扩增阳性 15 株(68.2%), 整合子 PCR 扩增阳性 6 株(27.3%)。**结论** KPC 酶的流行需引起实验室及临床的关注。

关键词 肠杆菌科细菌 KPC 酶 整合子

基金项目: 南京市卫生局资助项目(YKK09115)

作者单位: 210008 南京市鼓楼医院检验科

通讯作者: 张葵, 电子信箱: zkangkui@yahoo.com.cn

Distribution of KPC and Integrins in 22 Imipenem – resistant Enterobacteriaceae. Tao Yue, Ning Mingzhe, Zhang Kui, Zhang Zhifeng.

Department of Clinical Laboratory, Drum Tower Hospital of Nanjing, Jiangsu 210008, China

Abstract Objective To investigate the distribution of KPC and integrins in imipenem – resistant Enterobacteriaceae. **Methods** We modified Hodge test and PCR amplification for 22 imipenem – resistant Enterobacteriaceae from Nanjing Drum Tower Hospital, detected KPC and integron of bacterial and did sequence analysis. **Results** In 22 Enterobacteriaceae, 15 strains (68.2%) were positive in the modified Hodge, 15 strains (68.2%) were positive in KPC amplification, 6 strains (27.3%) were positive in PCR amplification of integron. **Conclusion** KPC Should be paid attention as it may to cause the prevalence of laboratory and clinical attention.

Key words Enterobacteriaceae; KPC; Integron

碳青霉烯类药物是临床治疗革兰阴性杆菌感染的最有效药物之一,它可用于治疗产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)及AmpC酶等多重耐药菌引起的感染,包括亚胺培南、美罗培南和厄他培南等。但随着其广泛使用,耐药菌株也随之出现。先是在鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌等非发酵菌中出现对碳青霉烯类药物耐药的细菌,而产KPC酶的肺炎克雷伯菌于2001年在美国北卡罗来纳州首次被发现,之后数年间,产KPC酶菌株已在美国各州蔓延,且在多种肠杆菌科细菌中均有报道^[1]。2010年4月,笔者医院首次检出出现耐亚胺培南的肺炎克雷伯菌,至2011年6月共出现22株耐亚胺培南的肠杆菌科细菌。现对该22株菌进行改良Hodge实验、KPC酶及整合子基因检测。

材料与方法

1. 菌株来源:收集南京市鼓楼医院2010年4月~2011年4月临床分离的耐亚胺培南的肠杆菌科细菌共22株。

2. 鉴定方法:全部菌株均使用法国生物-梅里埃公司ATB鉴定系统进行鉴定。质控菌株为大肠杆菌ATCC25922,金黄色葡萄球菌ATCC25923,铜绿假单胞菌ATCC27853。

3. 药敏试验:细菌采用纸片扩散(K-B)法,结果按CLSI2010年版标准判定。药敏纸片均购自英国Oxoid公司。质控菌的试验结果均在CLSI规定范围内。

4. 试剂:PCR引物由上海英骏生物技术有限公司合成,Taq酶购自日本Takara公司,凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司),普通DNA产物纯化试剂盒(北京天根生化科技有限公司)。

5. 改良Hodge试验:将0.5麦氏浊度单位的大肠杆菌ATCC25922菌液均匀涂布在MH平板上,中间贴美罗培南(10 μ g)纸片,将实验菌株以美罗培南纸片为起点,用无菌接种环自纸片外缘向平板边缘以离心方向划线,以肺炎克雷伯菌ATCC1705为阳性对照,肺炎克雷伯菌ATCC1706为阴性对照,35℃培养16~18h后观察结果,美罗培南抑菌圈内出现待检菌矢状生长者为阳性。阳性表明产KPC酶,见图1。

6. 耐药基因检测:(1)模板和引物:加热煮沸法制备DNA模板,参考文献合成KPC酶基因引物,引物F:5'-GCTACAC-CTAGCTCCACCTTC-3';引物R:5'-ACAGTGGTTGTAATC-

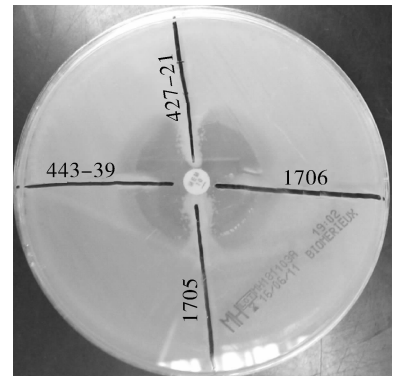


图1 改良Hodge实验结果

ATCC1705. 阳性对照;ATCC1706. 阴性对照;443-39. 产酸克雷伯菌阴性;427-21. 肺炎克雷伯菌阳性

CATGC-3'。根据文献设计可同时检测Ⅰ类、Ⅱ类和Ⅲ类整合子的整合酶基因(intI1、intI2和intI3)的简并引物,引物1:5'-TGCGGGTYAARGATBTKGATTT-3';引物2:5'-CARCA-CATGCGTRTA RAT-3'^[2-4]。(2)耐药基因PCR:KPC酶50 μ l反应体系含10 $\times$ PCR Buffer 5 μ l, Mg²⁺ 4 μ l, dNTP (2.5mmol/L) 4 μ l, TaqDNA聚合酶0.5 μ l, 引物各1 μ l (10 μ mol/L), DNA模板2 μ l, 灭菌双蒸水补足体积。反应条件:94℃预变性5min;94℃45s、55℃40s、72℃70s,共35个循环;72℃延伸5min。目的条带920bp。整合酶25 μ l反应体系含10 $\times$ PCR Buffer 2.5 μ l, Mg²⁺ 2.5 μ l, dNTP (2.5mmol/L) 2 μ l, TaqDNA聚合酶0.5 μ l, 引物各1 μ l (10 μ mol/L), DNA模板2 μ l, 灭菌双蒸水补足体积。反应条件:95℃预变性5min;94℃30s、50℃40s、72℃40s,共35个循环;72℃延伸10min。目的条带491bp。PCR扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳120V 20min,凝胶成像系统成像,观察记录结果。阳性产物经纯化后用HITACHI 3130测序仪测序,所得DNA序列用BLAST程序与GenBank中的NR数据库进行在线比对。

结 果

1. 菌株构成:收集的22株待检菌中,有肺炎克雷伯菌14株(63.6%),大肠杆菌5株(22.8%),产酸克雷伯菌、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌各1株(各占4.5%)。

2. 实验结果:22株待检菌中,改良Hodge实验阳

性菌有 15 例(68.2%),KPC 基因检测阳性有 15 例(68.2%),整合子检测阳性有 6 例(27.3%)。KPC 扩增产物进行测序比对,均为 KPC-2 型(图 2)。15 株肺炎克雷伯菌中,改良 Hodge 实验与 KPC 基因检测阳性菌有 12 例(80.0%),整合子检测阳性有 4 例(26.7%)。其他 7 株肠杆菌科细菌中,改良 Hodge 实验与 KPC 基因检测阳性有 3 例(20.0%),整合子检测阳性有 2 例(28.6%,图 3~图 4 及表 1~表 3)。

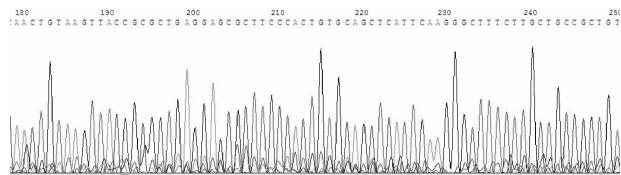


图 2 PCR 扩增产物测序结果序列

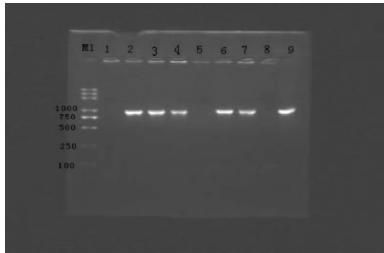


图 3 部分肠杆菌科细菌 KPC 基因 PCR 产物电泳图
M1. DC2000 分子质量标准;1~7. 样本菌株(2、3、4、6、7 为阳性;1、5 为阴性);8. 阴性对照;9. 阳性对照

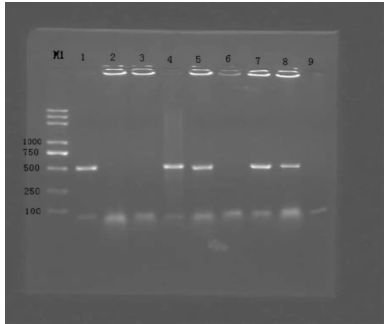


图 4 部分肠杆菌科细菌整合子基因 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

M1. DC2000 分子质量标准;1~7. 样本菌株(1、4、5、7 为阳性;2、3、6 为阴性);8. 阳性对照;9. 阴性对照

表 1 22 株待检菌检测结果		
检测项目	阳性(+)	阴性(-)
改良 Hodge 实验	15	7
KPC 基因检测	15	7
整合子基因检测	6	16

表 2 15 株肺炎克雷伯菌改良 Hodge 实验、KPC 酶、整合子检测结果分类

Hodge	KPC	整合子	数量
+	+	+	3
+	+	-	9
-	-	+	1
-	-	-	2

表 3 其他 7 株肠杆菌科细菌改良 Hodge 实验、KPC 酶、整合子检测结果分类

Hodge	KPC	整合子	数量
+	+	+	1
+	+	-	2
-	-	+	1
-	-	-	3

经卡方检验,22 株待检菌中,KPC 与整合子基因检测有明显差异($\chi^2 = 7.37, P < 0.01$),改良 Hodge 实验和 KPC 酶基因检测符合率为 100%。而在 15 株肺炎克雷伯菌中 KPC 阳性 12 例(80.0%),7 株其他肠杆菌科细菌中 KPC 阳性 3 株(42.9%),KPC 阳性率在肺炎克雷伯菌与其他肠杆菌科细菌中没有明显差异($\chi^2 = 1.56, P > 0.05$)。

讨 论

肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素耐药最主要的机制是产生碳氢酶烯酶,以 KPC 酶为主。此酶可水解青霉素类、头孢菌素类、单酰胺类和碳氢酶烯类抗生素。这种活性可被克拉维酸和他唑巴坦所抑制,但对 EDTA 不敏感。目前已发现的 KPC 型酶已有 11 种,分别从 KPC-1 型至 KPC-11 型酶^[3]。据相关文献报道,中国地区均以 KPC-2 型检出率较高,国内先后分离到产 KPC-2 型肺炎克雷伯菌,大肠杆菌,黏质沙雷菌^[4~6]。本研究中,共检测到 15 株菌产 KPC 酶,经测序亦均为 KPC-2 型。

2009 年 CLSI 提出用改良 Hodge 实验作为检测碳氢酶烯酶的筛选实验。本实验中,改良 Hodge 实验与 KPC-PCR 检测结果完全吻合,未出现假阳性和假阴性。这次检测的 22 株细菌均为对亚胺培南耐药的肠杆菌科细菌,未出现中介,使得改良 Hodge 实验准确度提高^[7]。整合子是抗生素耐药基因的重要存储库,在细菌多重耐药机制中发挥重要作用^[8]。本实验中,整合子检出率较低,可见整合子在耐碳青霉烯过程中并非其主要作用。本实验耐碳青霉烯类的肠杆菌科细菌中,KPC 酶检测仍有 7 株为阴性,其中 2 株为整合子检测阳性,余下 5 株可能与其他耐药机

制相关:①外膜蛋白丢失合并 AmpC 等酶高产^[9];②药物作用靶位的改变;③产生其他碳青霉烯酶,如 IMP 等。KPC 酶的出现给肠杆菌科细菌感染的治疗带来不小的困难。如何防止其流行,加强对其监测,是临床和实验室共同关注的目标。

参考文献

- 1 Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, *et al.* Novel carbapenem - hydrolyzing beta - lactamase, KPC - 1, from a carbapenem - resistant strain of *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45 (4):1151 - 1161
- 2 Bell JM, Turmidge JD, Wiedemann B. Role of penicillin - binding proteins in the initiation of the AmpC β - lactamase - producing *Enterobacter cloacae* in the Asia - Pacific region: results from the STNTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1998 to 2001 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47:3989 - 3993
- 3 胡付品, 朱德妹. KPC 型碳氢酶烯酶研究进展 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2011, 11(1):76 - 80

- 4 张幸国, 杜小幸, 张嵘, 等. 发现一株产 KPC - 2 型碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(9):824 - 826
- 5 Wei ZQ, Du XX, Yu YS, *et al.* Plasmid - mediated KPC - 2 in a *klebsiella pneumoniae* isolate from China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(2):763 - 765
- 6 Cai JC, Zhou HW, Zhang R, *et al.* Emergence of *Serratia marcescens*, *klebsiella pneumoniae*, and *escherichia coli* isolates possessing the plasmid - mediated carbapenem - hydrolyzing beta - lactamase KPC - 2 in intensive care units of a Chinese hospital [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008 Jun, 52(6):2014 - 2018
- 7 施德仕, 邵海枫, 王卫萍, 等. 用改良 Hodge 实验筛查低产碳氢酶烯酶肠杆菌科细菌 [J]. *临床检验杂志*, 2010, 28(11):455 - 457
- 8 Labbate M, Case RJ, Stokes HW. The integron gene cassette system: an active player in bacterial adaptation [J]. 2009, 532(2):103 - 125
- 9 李轶, 张嵘, 周宏伟, 等. 亚胺培南耐药大肠埃希菌的耐药机制研究 [J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(10):1167 - 1169

(收稿:2011 - 11 - 26)

(修回:2011 - 12 - 16)

左室功能正常的不稳定型心绞痛患者血清 NT - pro - BNP 水平的影响因素探讨

高 微 王宁夫 沈 芸 叶显华 杨建敏 童国新 徐 鹏 钟益刚

摘 要 **目的** 探讨左室功能正常的不稳定型心绞痛患者血清 NT - pro - BNP 水平的影响因素。**方法** 选取 133 例临床诊断不稳定型心绞痛患者,心超证实左室射血分数 $>50\%$,入院后收集患者的一般临床资料,并行冠脉造影,任何一支主要血管狭窄 $>75\%$ 定义为冠脉造影阳性。所有患者采用罗氏 CARDIAC proBNP + 检测仪测定 NT - proBNP 水平。**结果** 采用多重线性回归分析探讨 NT - proBNP 水平的影响因素,纳入变量包括患者年龄、性别、高血压、抽烟、糖尿病、心房纤颤、冠脉支架置入 (PCI 术)史、左室射血分数 (LVEF)值、冠脉造影结果等。结果提示,年龄、心房纤颤和冠脉造影阳性和 NT - proBNP 水平呈显著正相关,其中冠脉造影结果对 NT - proBNP 水平的影响最大,心房纤颤其次,年龄的影响最小。**结论** 冠状动脉狭窄可导致心功能正常的不稳定型心绞痛患者血 NT - proBNP 水平显著升高,同时,心房纤颤和年龄也是 NT - proBNP 水平升高的独立预测因子。

关键词 不稳定性心绞痛 氨基末端脑钠肽前体 冠脉造影

Determinants of N - terminal proBNP Levels in Unstable Angina Patients with Preserved Left Ventricular Function. Gao Wei, Wang Ning-fu, Shen Yun, Ye Xianhua, Yang Jianmin, Tong Guoxin, Xu Peng, Zhong Yigang. Hangzhou Hospital Affiliated with Nanjing Medical University, Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang 310006, China

Abstract Objective To investigate the factors influencing plasma NT - proBNP levels in unstable angina patients with preserved left ventricular function. **Methods** A total of 133 patients with primary diagnosis of unstable angina were enrolled into this study. The left ventricular ejection fraction of all patients were $>50\%$ confirmed by echocardiogram. The clinical data were collected after admission and angiography was performed by experienced cardiologist. Stenosis $>75\%$ in any major vessels was defined as angiography positive. NT - proBNP level was determined by CARDIAC proBNP + machine. **Results** Multiple linear regression was performed to investigate the factors influencing NT - proBNP levels and the included variables were age, gender, hypertension, smoke, diabetes, atrial fibrillation, histo-

基金项目:杭州市科技局重点项目(20080333Q03)

作者单位:310006 南京医科大学附属杭州医院/杭州市第一人民医院心内科

通讯作者:王宁夫,电子信箱:wangningfu@hotmail.com