

· 论 著 ·

# 自动化药敏系统与 K-B 纸片扩散法在肠杆菌科细菌中对阿米卡星药敏结果差异的探讨

牛冬梅<sup>1,2</sup>, 周万青<sup>3</sup>, 洪 骏<sup>2</sup>, 陈 云<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨自动化微生物药敏系统与 K-B 纸片扩散法对阿米卡星 (AMK) 药敏结果的差异。**方法** 收集临床 K-B 纸片扩散法对 AMK 敏感、完全耐药及双圈耐药的肠杆菌科细菌分别为 4 株、4 株和 13 株; 其中大肠埃希菌 12 株, 肺炎克雷伯菌 8 株, 产气肠杆菌 1 株; 分别采用 Vitek-2 Compact, Phoenix 和 MicroScan 药敏系统对以上菌株进行 AMK 的复核, 并采用琼脂稀释法测定最低抑菌药物浓度 (MIC) 值。采用 PCR 方法检测氨基糖苷类修饰酶基因、整合子及 16S rRNA 甲基化酶相关基因。**结果** 三种自动化药敏系统对于敏感及完全耐药菌株的药物敏感性结果与 K-B 纸片扩散法相符; 对于在 K-B 纸片扩散法中呈双圈耐药 13 株菌, Phoenix 和 MicroScan 药敏系统结果均为耐药 ( $>32$  mg/L); 而 Vitek 2 Compact 药敏卡出现不同结果, 其中 4 株菌株为敏感 ( $\leq 16$  mg/L), 4 株为中介 (32 mg/L), 5 株为耐药 ( $\geq 64$  mg/L); 琼脂稀释法结果显示双圈耐药表型菌株的 MIC 均  $>512$  mg/L。所测菌株携带不同的氨基糖苷类修饰酶基因及整合子基因盒, 主要为 *aac*(6')-I 和 *aadA5-dfrA17*; 双圈耐药表型菌株均扩增出 *armA* 基因, 而敏感菌株和完全耐药菌株均未扩增出该基因。**结论** 在 K-B 纸片扩散法中出现对 AMK 呈双圈耐药结果时, 自动化鉴定药敏系统中的 Vitek 系统可能会产生偏差, 造成这种差异的出现可能与菌株产 *armA* 基因相关。

**[关键词]** 阿米卡星; 自动化系统; 双圈; K-B 纸片法; 肠杆菌科

**[中图分类号]** R446.5 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2015.02.006

## Investigation of the susceptibility difference between automation systems and K-B disk diffusion method in Enterobacteriaceae to amikacin

NIU Dong-mei<sup>1,2</sup>, ZHOU Wan-qing<sup>3</sup>, HONG Jun<sup>2</sup>, CHEN Yun<sup>1</sup>. 1. Department of Immunization, NJMU, Nanjing, Jiangsu 210029, China; 2. Institute of Laboratory Medicine, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 3. Laboratory Medicine, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu 210008, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the susceptibility difference between automation systems and K-B disk diffusion methods in Enterobacteriaceae to amikacin. **Methods** The strains which showed sensitive (4 isolates), resistant (4 isolates) and double zone resistant (13 isolates) to amikacin on clinical K-B disk diffusion method were collected, and including 12 strains of *E. coli*, 8 strains of *K. pneumoniae* and 1 strain of *Enterobacter aerogenes*. The susceptibility to amikacin was tested with Vitek-2 Compact, Phoenix and MicroScan systems respectively, and the MICs to amikacin were detected by agar dilution method. The aminoglycoside modifying genes, integron and 16S rRNA methylases genes were determined by using PCR and DNA sequence analysis. **Results** The susceptibility to amikacin was consistent between three kinds of automation systems and K-B disk diffusion method for the sensitive and resistant group strains. The susceptibility results of the 13 strains which showed double zone resistant in disk diffusion method were resistant in Phoenix and MicroScan systems ( $>32$  mg/L), while different results were shown in Vitek-2 Compact system, including 4 strains of sensitive ( $\leq 16$  mg/L), 4 strains of intermediary (32 mg/L) and 5 strains of resistant ( $\geq 64$  mg/L). The MICs were all above of 512 mg/L for the double zone resistant strains in the agar dilution method. The isolates carried different aminoglycoside modification genes and gene box of integron with the main were *aac*(6')-I and *aadA5-dfrA17* respectively. All the strains with double zone resistant to amikacin were positive for *armA* and the control strains were negative. **Conclusion** The Vitek-2 Compact system might not be suitable for the detection of susceptibility of Enterobacteriaceae with the double zone resistant to amikacin in the K-B method. The double zone drug resistance of Enterobacteriaceae to amikacin was correlated with the expression of 16S rRNA methylase *armA*.

**[Key words]** amikacin; automation systems; double zone drug resistance; K-B disk diffusion; Enterobacteriaceae

作者单位: 1. 210029 江苏南京, 南京医科大学免疫学系; 2. 210002 江苏南京, 南京军区南京总医院全军临床检验医学研究所; 3. 210008 江苏南京, 南京大学医学院附属鼓楼医院检验科

通讯作者: 陈 云, E-mail: chenyun@njmu.edu.cn

氨基糖苷类抗生素作为一类高效、广谱的抗生素, 由于该类抗菌药物的过度使用, 使得临床分离株的耐药率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。细菌对该类药物耐药主要通过产氨基糖苷类修饰酶、16S rRNA 甲基化酶以及整合子携带相关基因等途径<sup>[2-4]</sup>。氨基糖苷

类药物中抗菌谱较宽的阿米卡星 (AMK) 在临床上应用较为广泛。然而在 K-B 纸片扩散法药敏检测试验中,革兰阴性杆菌对 AMK 耐药表型可表现为单纯的耐药表型和诱导耐药表型<sup>[5]</sup>。对于导致 AMK 双圈 (double zone, DZ) 耐药的鲍曼不动杆菌相关耐药机制研究已有报道<sup>[5-7]</sup>,也进行了一些探讨<sup>[8-9]</sup>。目前一些自动化的微生物鉴定及药敏系统已得到了广泛应用,应用较为广泛的自动化鉴定及药敏系统主要有 Vitek、Phoenix 和 MicroScan 三种。为评估以上药敏系统对在 K-B 纸片扩散法中对 AMK 呈双圈耐药的肠杆菌科细菌药敏试验情况及相关耐药机制,我们进行了以下试验。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2011 年 11 月-2013 年 09 月间从南京鼓楼医院分离的 K-B 纸片扩散法对 AMK 呈双圈耐药的大肠埃希菌 8 株 (编号 Eco35、Eco85、Eco110、Eco122、Eco126、Eco174、Eco235、Eco290)、肺炎克雷伯菌 4 株 (编号 Kpn94、Kpn110、Kpn113、Kpn201) 和产气肠杆菌 1 株 (E112),分别分离自尿液 6 例,分泌物 4 例、胆汁 2 例和引流液 1 例。同期分离的 AMK 完全耐药和敏感的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌各两株作为对照菌株。菌株经 Vitek 2 Compact 鉴定卡 (法国梅里埃公司产品) 鉴定。ATCC *Escherichia coli* 25922、ATCC *Pseudomonas aeruginosa* 27853 作为质控菌株,

1.2 仪器及试剂 Taq DNA 聚合酶、10 × buffer (含 Mg<sup>2+</sup>)、dNTPs (TaKaRa 公司); DNA marker (美国 Ferments 公司);AMK 药敏纸片 (英国 Oxoid 公司)、AMK 粉剂 (中国药品生物制品检定所); Vitek 2 Compact 及配套 AST-GN13 药敏卡 (法国生物梅里

埃公司); Phoenix<sup>TM</sup>-100 及配套 NMIC/ID4 药敏卡 (美国 BD 公司); MicroScan AS-4 及配套药敏 NC50 卡 (西门子公司);蛋白酶 K (德国 Merck 公司);PCR 扩增仪 (美国 PE 公司);生物电泳图像分析及 Smart View 分析软件 (上海复日公司)。

1.3 药敏试验 自动化药敏系统试验: 分别按 Vitek 2 Compact、Phoenix 和 MicroScan 仪器操作要求及配套的药敏卡检测最低抑菌浓度 (MIC); K-B 纸片扩散法及琼脂稀释法操作参照美国临床和实验室标准化协会 (CLSI) 2013 年标准。MIC 结果判断依据 CLSI 规定的肠杆菌科细菌 AMK 药敏折点: MIC ≥ 64 mg/L 为耐药 (R)、32 mg/L 为中介 (I)、≤ 16 mg/L 为敏感 (S)。

1.4 细菌 DNA 提取 挑取纯培养菌落置于 0.5 mL 离心管内 (内预置 200 ng/mL 蛋白酶 K 溶液 200 μL), 56 ℃ 水浴 2 h, 改 95 ℃ 水浴 10 min, 13 000 g 离心 30 s。上清液即为基因检测的模板液, 置 -20 ℃ 冰箱备用。

1.5 耐药相关基因 PCR 扩增 参照文献<sup>[2-4]</sup> 分别合成氨基糖苷类修饰酶基因、I ~ III 类整合酶基因及整合子可变区以及 16S rRNA 甲基化酶基因扩增引物, 序列见表 1, 由上海英骏公司合成。总反应体系为 50 μL, 其中 10 × buffer (含 Mg<sup>2+</sup>) 5 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 各 4 μL, DNA 模板 2 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 2 μL, Taq DNA 酶 0.3 μL, ddH<sub>2</sub>O 34.7 μL。PCR 反应条件: 预变性 94 ℃ 5 min; 94 ℃ 30 s, 55 ℃ 50 s, 72 ℃ 50 s, 共 30 个循环; 最后延伸 72 ℃ 7 min。PCR 产物经 15 g/L 的琼脂糖凝胶电泳观察。将 PCR 扩增阳性产物送上海美吉公司测序, 结果在 Genbank 上比对。

表 1 靶基因 PCR 引物序列及产物大小

基因名称	引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
<i>aac</i> (3)-I	P1 ACC TAC TCC CAA CAT CAG CC; P2 ATA TAG ATC TCA CTA CGC GC	169
<i>aac</i> (3)-II	P1 ACT GTG ATG GGA TAC GCG TC; P2 CTC CGT CAG CGT TTC AGC TA	237
<i>aac</i> (6)-I	P1 TAT GAG TGG CTA AAT CGA; P2 CCC GCT TTC TCG TAG CA	394
<i>aac</i> (6)-II	P1 TTCA TGTCCGCGA GCACCCC; P2 GACTCTTCCGCCA TCGCTCT	178
<i>ant</i> (3")-I	P1 TGA TTTGCTGGTTACGGTGAC; P2 CGCTA TGTCTCTTGCTTTTG	284
<i>ant</i> (2")-I	P1 GA GCGAAA TCTGCCGCTCTGG; P2 CTGTTACAACGGACTGGCCGC	320
<i>intl</i> I	P1 CAGTGACATAAGCCTGTTC; P2 CCCGAGGCATAGACTGTA	160
<i>intl</i> II	P1 TTGCGAGTATCCATAACCTG; P2 TTACCTGCACTGGATTAAGC	228
<i>intl</i> III	P1 GCCTGTTCTGGGTGTTTCC; P2 GCGTGTAGATCATCGTCGTGCT	258
可变区	P1 GGCATCCAAGCAGCAAG; P2 AAGCAGACTTGACCTGA	-
<i>armA</i>	P1 ATGGATAAGAATGATGTTGTTAAG; P2 TTATTTCGAAATCCACTAGTAATTA	774
<i>rmtB</i>	P1 ATGAACATCAACGATGCCCTC; P2 CCTTCTGATTGGCTTATCCA	769

2 结 果

**2.1 药敏结果** 13 株双圈表型肠杆菌科细菌对常规药物呈现出多重耐药性,仅对亚胺培南、厄他培南、哌拉西林/他唑巴坦、头孢替坦较为敏感,敏感率在 75% 以上,对其他检测药物的耐药率均在 50% 以上。药敏结果见表 2。K-B 纸片扩散法药敏试验显示所测 13 株菌株对 AMK 均呈现双圈耐药表型;琼脂稀释法结果显示,13 株双圈表型菌株与 4 株完全耐药对照菌株对 AMK 均耐药, MIC 值均 > 512 mg/L,4 株敏感菌株对 AMK 均敏感, MIC 值均 ≤ 2 mg/L。见表 3。

三种自动化药敏系统对于敏感及完全耐药菌株的药物敏感性结果与 K-B 纸片扩散法相符。而对于双圈表型菌株,Phoenix 和 MicroScan 药敏系统结果均为耐药;而 Vitek 2 Compact 药敏卡出现不同结果,其中 4 株菌株为敏感,4 株为中介,5 株为耐药。见表 3。

**2.2 PCR 检测结果** 13 株双圈菌株和 8 株对照菌株中 17 株菌株检出不同的氨基糖苷类修饰酶基因,其中单独携带 *aac* (6′)-I 基因 10 株;Eco126、Kpn94

和 Eco1113 同时检出 *aac* (6′)-I 和 *ant* (2″)-I 基因;Eco174 和 Kpn201 同时检出 *aac* (3)-Ⅱ 和

表 2 13 株对 AMK 双圈耐药的肠杆菌科细菌对 17 种抗菌药物的耐药性 (株)

抗菌药物	敏感	中介	耐药
氨苄西林	0	0	13
氨苄西林/舒巴坦	0	1	12
头孢唑林	0	0	13
头孢替坦	11	0	2
头孢曲松	0	0	13
头孢他啶	1	0	12
头孢吡肟	2	1	10
亚胺培南	13	0	0
厄他培南	13	0	0
哌拉西林/他唑巴坦	10	2	1
庆大霉素	0	0	13
妥布霉素	0	0	13
环丙沙星	0	0	13
左氧氟沙星	0	0	13
氨基南	0	0	13
复方新诺明	1	0	12
呋喃妥英	6	0	7

表 3 双圈耐药和对照菌株药敏结果及相关基因检测结果

菌株编号	药敏结果					整合子基因盒	氨基糖苷类 修饰酶基因 <sup>a</sup>	armA
	K-B 法	MIC (mg/L)						
		琼脂稀释法	Vitek	MicroScan	Phoenix			
Eco35	DZ	> 512	16	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	—	+
Eco85	DZ	> 512	32	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	<i>aac</i> (6') - I	+
Eco110	DZ	> 512	32	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	—	+
Eco122	DZ	> 512	32	> 32	> 32	<i>aadA2-dfrA12</i>	<i>aac</i> (6') - I	+
Eco126	DZ	> 512	32	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	<i>aac</i> (6') - I / <i>ant</i> (2'') - I	+
Eco174	DZ	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>	<i>aac</i> (3)-Ⅱ/ <i>aac</i> (6')-I	+
Eco235	DZ	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>dhfr12-orfF-aadA2</i>	<i>aac</i> (6') - I	+
Eco290	DZ	> 512	16	> 32	> 32	—	<i>aac</i> (6') - I	+
Kpn94	DZ	> 512	≥64	> 32	> 32	—	<i>aac</i> (6')-I/ <i>ant</i> (2'') -I	+
Kpn110	DZ	> 512	16	> 32	> 32	<i>aadA2-dfrA12</i>	<i>ant</i> (3'') - I	+
Kpn113	DZ	> 512	4	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	—	+
Kpn201	DZ	> 512	≥64	> 32	> 32	—	<i>aac</i> (3)-Ⅱ/ <i>aac</i> (6')-I	+
E112	DZ	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>dfrA12-orfF-aadA2</i>	<i>aac</i> (3) - Ⅱ	+
Eco1113	CR	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>aadA2-dfrA12</i>	<i>aac</i> (6')-I/ <i>ant</i> (2'') -I	—
Eco1116	CR	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	<i>aac</i> (6') - I	—
Kpn1118	CR	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	<i>aac</i> (6') - I	—
Kpn1119	CR	> 512	≥64	> 32	> 32	<i>aadA5-dfrA17</i>	—	—
Eco197	S	≤2	≤2	≤2	≤2	—	<i>aac</i> (6') - I	—
Eco198	S	≤2	≤2	≤2	≤2	<i>dhfrA17-aadA5</i>	<i>aac</i> (6') - I	—
Kpn1988	S	≤2	≤2	≤2	≤2	—	<i>aac</i> (6') - I	—
Kpn1997	S	≤2	≤2	≤2	≤2	—	<i>aac</i> (6') - I	—

注:a 包括所检测的六种氨基糖苷类修饰酶基因:*aac* (3)- I、*aac* (3)- Ⅱ、*aac* (6′)- I、*aac* (6′)- Ⅱ、*ant* (3″)- I 和 *ant* (2″)- I。DZ:双圈耐药;CR:耐药;S:敏感

*aac*(6')-I; Kpn110 检出 *ant*(3")-I 基因; E112 检出 *aac*(3)-II 基因; 其余 4 株菌株均未检出以上 6 种氨基糖苷类修饰酶基因。

13 株双圈菌株和 8 株对照菌株中 18 株扩增出 I 类整合酶基因, 其中 15 株携带可变区基因盒。携带基因盒为 *aadA5-dfrA17* (1.6 kb) 菌株 8 株, 携带基因盒为 *aadA2-dfrA12* (1.8 kb) 3 株, 携带基因盒 *dfrA12-orfF-aadA2* (2.0 kb) 2 株, 未检出 II 类、III 类整合酶基因。13 株双圈耐药表型菌株均扩增出 *armA* 甲基化酶基因, 测序结果未发现基因突变, 未检出 *rmtB* 基因; 而 8 株对照菌株均未扩增出 *armA*、*rmtB* 基因。结果见表 3。

### 3 讨 论

双圈耐药表型菌株和完全耐药、敏感对照菌株大多检出 1 种以上氨基糖苷类修饰酶基因, 其中 *aac*(6')-I 和 *aac*(3)-II 基因的检出率较高, 这与国内的调查大体一致<sup>[10]</sup>。*aac*(6')-I 基因是肠杆菌科细菌对氨基糖苷类药物耐药的重要修饰酶基因, 可修饰妥布霉素、奈替米星、卡那霉素和阿米卡星。*aac*(3)-II 可使细菌对妥布霉素、奈替米星及庆大霉素耐药。本实验中 4 株 AMK 敏感细菌均检出 *aac*(6')-I 基因, 但菌株却对 AMK 敏感, 这可能与菌株耐药基因表达量少致外表型试验尚不能检测出有关<sup>[11]</sup>。研究显示, 由于氨基糖苷类修饰酶基因的多样性, 虽然耐药菌株携带不同的氨基糖苷类修饰酶基因, 但却与耐药表型不具一致性, 这可能与氨基糖苷类药物耐药的其他相关机制有关<sup>[12]</sup>。

整合子是一系列遗传元件构成的能够识别和捕获移动性基因盒的位点特异性重组系统, 是细菌尤其是革兰阴性菌多重耐药迅速传播的重要原因<sup>[13]</sup>。13 株双圈耐药菌株和 8 株对照菌株中 18 株扩增出 I 类整合酶基因, 其中 15 株携带基因盒。可变区携带基因盒分别为 *aadA5-dfrA17*、*aadA2-dfrA12* 和 *dfrA12-orfF-aadA2* 三种。*dfrA12* 和 *dfrA17* 造成菌株对甲氧苄啶耐药, 而 *aadA2* 和 *aadA5* 则造成菌株对链霉素和壮观霉素耐药, 并不造成对 AMK 耐药<sup>[4]</sup>。另据张跃进等<sup>[14]</sup>对肺炎克雷伯菌中携带的整合子基因盒调查发现, *aadA5-dfrA17* 基因盒最为多见。

16S rRNA 甲基化酶可造成菌株对氨基糖苷类药物的高水平耐药 (> 512 mg/L), 而 *armA* 基因则是最常见的一种甲基化酶<sup>[3]</sup>。本文双圈耐药菌株均检出 *armA* 基因, 而完全耐药菌株和敏感菌株均未检出。由此推测, AMK 双圈耐药表型的出现与 16S rRNA 甲基化酶 *armA* 基因的表达相关。Jung

等<sup>[7]</sup>研究发现, 鲍曼不动杆菌 AMK DZ 耐药表型与 *armA* 基因表达相关, 同时外排机制也发挥着重要作用。在肠杆菌科细菌 AMK DZ 耐药表型中是否与外排机制相关尚待进一步研究。

对于双圈耐药表型, 用自动化药敏系统检测结果会产生一定的偏倚<sup>[7-8]</sup>。我们所检测的 13 株 K-B 纸片扩散法对 AMK 呈 DZ 耐药表型的肠杆菌科细菌中, 琼脂稀释法结果均为耐药; 三种自动化药敏系统中的 Phoenix 和 MicroScan 两种系统均为耐药, 而 Vitek 2 Compact 鉴定系统结果 4 株菌株为敏感, 4 株为中介, 5 株为耐药。Vitek 2 Compact 药敏卡 ASTGN-13 的使用说明中指出其使用限制: 鲍曼不动杆菌对 AMK 的 MIC 值为 8 或 16mg/L 时, 需用其他药敏方法确认, 尤其对于多重耐药的鲍曼不动杆菌<sup>[15-16]</sup>, 而对肠杆菌科细菌并未有特别说明。对于氨基糖苷类药物在自动化药敏系统中检测的准确性也有文献报道<sup>[7, 15-16]</sup>。在检测鲍曼不动杆菌对 AMK 的敏感性试验中发现, 自动化仪器出现敏感结果而纸片扩散法结果却为耐药<sup>[12, 16]</sup>。其中 Phoenix 和 MicroScan 两种自动化仪器的结果比 Vitek2 结果更加接近于实际的 MIC 结果<sup>[16]</sup>。纸片扩散法和 E-test 方法在这类药物敏感性的检测上具有明显的优越性, 而且这种错误的产生与是否产特异性氨基糖苷类修饰酶基因不具相关性<sup>[16]</sup>。

准确的菌株药敏试验对于感染的治疗至关重要, 尤其对于目前细菌耐药性逐渐升高的状况<sup>[17-19]</sup>。目前绝大多数的现代化微生物实验室很大程度上依赖自动化的微生物鉴定药敏系统。然而, 自动化药敏系统有时却产生差错<sup>[12, 15-16, 20-23]</sup>。Vitek 2 Compact 自动化微生物系统在检测肠杆菌科细菌 AMK 敏感性时可能出现假敏感, 避免这种差错的简便方法就是用 K-B 纸片扩散法复检。

### 【参考文献】

- [1] Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future[J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(3): 430-450.
- [2] 段建春, 吕晓菊. 革兰氏阴性菌对氨基糖苷类抗生素耐药机制的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2004, 29(6): 329-331.
- [3] 吴 琼, 倪语星. 一种新的氨基糖苷类耐药决定因子: 质粒介导的 16S rRNA 甲基化酶[J]. 微生物与感染, 2009, 4(1): 45-48.
- [4] 陈 辉, 李 翔, 伍 勇, 等. 革兰阴性菌中整合子携带氨基糖苷类耐药基因的分布[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(4): 248-251.
- [5] 邓进进, 邵海枫, 王卫萍, 等. 鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类抗菌药物双圈耐药现象的初步探讨[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(2): 90-92.

- [10] 廖常菊,丁娟,张会礼,等. HFMEA 应用于气管插管非计划性拔管的效果观察[J]. 护理研究,2015,29(1):88-90.
  - [11] 江开达. 精神病学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2013:261-269.
  - [12] 潘夏蓁,林碎钗,黄海萍,等. 持续质量改进在降低 ICU 非计划拔管中的应用[J]. 护理研究,2007,21(4):1015-1016.
  - [13] 钱援芳,徐东娥. 根因分析法在住院患者非计划性拔管管理中的应用[J]. 中华护理杂志,2012,47(11):979-980.
  - [14] 姚丽琴,苏冰莲,谢月霞. 集束化护理策略在预防消化内科患者胃管非计划拔管中的应用[J]. 中国临床护理,2014,6(2):111-113.
  - [15] 杨艳杰. 护理心理学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2012:143-144.
  - [16] 徐月花. 康复训练综合疗法治疗脑梗死后吞咽困难[J]. 现代中西医结合杂志,2008,17(8):1252-1253.
  - [17] 徐俐,孙慧君,王岩梅. 意识模糊评估法预防术后胃管非计划性拔管的作用[J]. 上海护理,2012,12(3):55-57.
  - [18] 李加平,刘瑞洁,沈芳,等. 留置胃管非计划拔管 78 例原因分析与护理对策[J]. 山西医药杂志,2014,43(22):2706-2708.
  - [19] 许翠花,张玉侠,顾莺,等. 儿科胃管非计划拔管的现况调查与分析[J]. 上海护理,2013,13(2):21-24.
  - [20] 潘夏蓁,方希敏,包向燕,等. 身体约束在 ICU 的应用研究[J]. 中华护理杂志,2011,46(10):1031-1033.
  - [21] 吴光珍,杨敏,王静慧. 循证护理联合简易分指板在预防胃管非计划性拔管中的应用价值[J]. 温州医学院学报,2013,43(7):483-485.
  - [22] 王姗姗. 多功能约束手套的制作与应用[J]. 护理学杂志,2012,27(11):94.
  - [23] 董丽,韩红梅,许蕾,等. 防对指手套式约束带的设计与应用[J]. 护理研究,2011,25(3):252.
  - [24] 周晶,陈麒羽,马晶,等. 手腕一体保护性约束带的设计与应用[J]. 护理学杂志,2011,26(14):7.
- (收稿日期:2015-01-21;修回日期:2015-03-10)  
(本文编辑:黄攸生)

(上接第 134 页)

- [6] 张晓文,邵海枫,王卫萍,等. 导致氨基糖苷类药物双圈耐药型鲍曼不动杆菌的相关携带基因研究[J]. 临床检验杂志,2011,29(1):19-21.
  - [7] Jung S, Yu JK, Shin SH, et al. False susceptibility to amikacin by VITEK 2 in acinetobacter baumannii harboring armA[J]. Ann Clin Lab Sci,2010,40(2):167-171.
  - [8] 周万青,沈瀚,宁明哲,等. 肠杆菌科细菌对阿米卡星双圈耐药机制探讨[J]. 临床检验杂志,2013,31(7):490-493.
  - [9] 周万青,沈瀚,宁明哲,等. 导致阿米卡星双圈耐药肠杆菌科细菌耐药性研究[J]. 检验医学,2013,28(11):1012-1015.
  - [10] 周军,史伟峰,糜祖煌. 肺炎克雷伯菌  $\beta$ -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶、氯己定-磺胺耐药基因研究[J]. 中国抗生素杂志,2007,32(10):627-630.
  - [11] 黄支密,糜祖煌,储秋菊,等. 肺炎克雷伯菌临床分离株中出现 16S rRNA 甲基化酶基因 *rmtB* [J]. 中华流行病学杂志,2008,29(9):909-914.
  - [12] Akers KS, Chaney C, Barsoumian A, et al. Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in acinetobacter baumannii-calcoaceticus complex[J]. J Clin Microbiol,2010,48(4):1132-1138.
  - [13] Labbate M, Case, RJ, Stokes HW. The integron/gene cassette system; an active player in bacterial adaptation[J]. Methods Mol Biol,2009,532:103-125.
  - [14] 张跃进,常清利,汪倩,等. 临床分离肺炎克雷伯菌 I 类整合子的结构与功能[J]. 遗传,2014,36(6):603-610.
  - [15] Gilad J, Giladi M, Poch F, et al. "All-in-one-plate" E-test and disk diffusion susceptibility co-testing for multiresistant Acinetobacter baumannii[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2006, 25: 799-802.
  - [16] Gilad J, Schwartz D. Need for verification of imipenem (IPM), meropenem (MER) and amikacin (AK) VITEK-2 susceptibility results for Acinetobacter baumannii (Ab) [C] 48th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC, 2008: Abstract D-284.
  - [17] 杨燕,孙长贵,陈坚,等. 用改良 Hodge 试验检测产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌[J]. 东南国防医药,2011,13(3):223-225.
  - [18] 石晓卉,刘琪,于湘友. 外科重症监护室临床细菌分布及耐药性监测[J]. 东南国防医药,2014,16(4):349-352.
  - [19] 冯俊明,肖光夏,夏培元,等. 烧伤创面的细菌分离及其耐药性的初步分析[J]. 华南国防医学杂志,2011,25(1):32-34.
  - [20] Stone ND, O'Hara CM, Williams PP, et al. Comparison of disk diffusion, Vitek 2, and broth microdilution antimicrobial susceptibility test results for unusual species of Enterobacteriaceae[J]. J Clin Microbiol,2007,45(2):340-346.
  - [21] Jang W, Park YJ, Park KG, et al. Evaluation of MicroScan Walk-Away and Vitek 2 for determination of the susceptibility of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates to cefepime, cefotaxime and ceftazidime[J]. J Antimicrob Chemother,2013,68(10):2282-2285.
  - [22] Lee SY, Shin JH, Lee K, et al. Comparison of the Vitek 2, MicroScan, and Etest methods with the agar dilution method in assessing colistin susceptibility of bloodstream isolates of Acinetobacter species from a Korean university hospital[J]. J Clin Microbiol, 2013,51(6):1924-1926.
  - [23] Sader HS, Fritsche TR, Jones RN. Accuracy of three automated systems (MicroScan WalkAway, VITEK, and VITEK 2) for susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa against five broad-spectrum beta-lactam agents[J]. J Clin Microbiol,2006,44(3):1101-1104.
- (收稿日期:2015-01-26;修回日期:2015-02-15)  
(本文编辑:张仲书; 英文编辑:王建东)