

正如有些研究所证实的,患者对护士护理行为的评价与人文关怀度呈正相关^[6],有效的护理行为必然包含人文关怀,只有根据不同患者的需求差异来进行针对性的关怀,才能促进患者尽快康复。对于基层医院来说,虽然医院硬件与大型医院还有很大差距,目前不能得到迅速改善,但是可以通过营造人文氛围,使护患关系更加和谐^[12]。

目前,我国人文关怀护理教育还处于摸索阶段,院校缺乏关怀型教师,教学体系上主要照搬西方国家的教材,人文关怀只停留在知识层面,对临床实践能力培训不够^[4]。因此,学校需要不断完善人文课程,多角度培养学生的关爱情怀,医院提倡人文管理,创建良好的文化环境,加强人文关怀理念^[13]。

参考文献

[1] 张理花,陈娅薇.以人文关怀为主的优质护理干预在老年重症肺炎患者的应用评价[J].护士进修杂志,2018,33(5):419-422.

[2] CHIANG H H, LIAW J J. Correspondence in humanistic care[J]. Hu Li Za Zhi, 2017, 64(5): 50-58.

[3] 吴为,吕楚凤,刘义兰.住院患者护理人文关怀体验研究进展[J].护理学杂志,2016,31(23):96-99.

[4] 费冬雪,盛丽娟,彭德珍,等.我国护士人文关怀能力现状及影响因素的研究进展[J].全科护理,2017,15(12):1429-1432.

[5] 刘文君,周艳,陈亚飞,等.住院患者护理满意度量表的研究进展[J].中华护理杂志,2016,51(2):190-195.

[6] 刘翔宇,湛永毅,周钰娟,等.住院患者护理服务满意度评价指标体系的构建[J].中华护理杂志,2015,50(1):18-21.

[7] WALDROP D, LIGHTSEY J O R, ETHINGTON C A, et al. Self-efficacy, optimism, health competence, and recovery from orthopedic surgery[J]. J Counsel Psychol, 2001, 48(2):233-238.

[8] 张瑞星,李丽,霍保利.人文护理模式对精神科护理质量的影响研究[J].郑州铁路职业技术学院学报,2011,23(1):74.

[9] 范卢明,梁桂仙,官庆妮,等.临床护理人员人文关怀能力研究进展[J].护理研究,2015,29(16):1929-1932.

[10] 刘义兰.优质护理服务工作中加强人文关怀的思考[J].护理学杂志,2012,27(9):1-2.

[11] KARLOU C, PAPATHANASSOGLOU E, PATIRAKI E. Caring behaviours in cancer care in greece comparison of patients', their caregivers' and nurses' perceptions[J]. Eur J Oncol Nurs, 2015, 19(3):244-250.

[12] 唐小涵.人文关怀在眼科优质护理服务工作中的应用[J].全科护理,2011,9(13):1188-1189.

[13] 张秀伟,姜安丽.护理人文关怀概念的研究现状与分析[J].中华护理杂志,2013,48(6):540-543.

(收稿日期:2018-12-03 修回日期:2019-03-02)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.028

6 493 例泌尿生殖道感染患者解脲支原体和 人型支原体感染情况及药敏试验分析*

杨书才¹,唐景云¹,周杰¹,刘慧²,张莉^{1△}

广东省深圳市坪山区人民医院:1.检验科;2.药剂科,广东深圳 518118

摘要:目的 了解深圳市坪山地区泌尿生殖道感染患者解脲支原体(Uu)和人型支原体(Mh)感染情况及对常用抗菌药物的敏感性,为临床合理使用抗菌药物提供参考。**方法** 采用支原体检测试剂盒对 6 493 例疑诊为泌尿生殖道感染患者的泌尿生殖道分泌物进行 Uu、Mh 检测及药敏试验,并对检测结果进行统计学分析。**结果** 6 493 例患者中支原体培养阳性 3 014 例(46.4%),其中 Uu 单纯感染 2 300 例(35.4%),Mh 单纯感染 75 例(1.2%),二者混合感染 639 例(9.8%)。1 941 例男性患者支原体培养阳性 575 例(29.6%),4 552 例女性患者培养阳性 2 439 例(53.6%),女性患者支原体感染率明显高于男性,差异有统计学意义($P<0.05$)。药敏试验结果显示,Uu、Mh 及二者混合感染患者对多西环素、交沙霉素、米诺环素表现高度敏感性。**结论** 泌尿生殖道感染患者支原体感染以单纯 Uu 感染为主,女性患者感染率高于男性,多西环素、交沙霉素和米诺环素是治疗泌尿生殖道支原体感染的有效药物。

关键词:泌尿生殖道感染; 解脲支原体; 人型支原体; 药敏试验

中图分类号:R446.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2019)13-1888-04

支原体是一类没有细胞壁,能通过滤器、可在人工培养基上生长的最小原核细胞型微生物^[1]。目前,从人体中分离出的支原体有 16 种,与泌尿生殖道感

染相关的支原体主要有解脲支原体(Uu)、人型支原体(Mh)和生殖支原体,由于生殖支原体培养时间缓慢,目前临床上泌尿生殖道支原体感染主要检测 Uu 和

* 基金项目:广东省深圳市科技创新委员会基础研究项目(JCYJ20160429173544879)。
△ 通信作者,E-mail:doudouding722@126.com。

Mh^[2]。Uu 和 Mh 常可引起男性患尿道炎、前列腺炎;引起女性患宫颈炎、子宫内膜炎、盆腔炎等;还会导致不孕不育及新生儿感染^[3-6]。由于我国抗菌药物使用不规范,临床上常能分离到多重耐药支原体,因此,通过对分离的支原体进行抗菌药物敏试验,以帮助临床合理使用抗菌药物进行支原体感染治疗就显得很有必要。本研究对 6 493 例泌尿生殖道感染患者的泌尿生殖道标本进行支原体培养及药敏试验分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 8 月至 2018 年 10 月本院泌尿外科、妇科、产科及皮肤性病科收治的泌尿生殖道感染患者 6 493 例,其中男 1 941 例,女 4 552 例。

1.2 方法

1.2.1 标本采集方法 对于男性患者,先用消毒棉球清洁尿道口,取男性拭子缓慢插入尿道口内 2~3 cm 旋转数圈并停留 30 s 后取出送检,或用前列腺按摩法取前列腺液送检,也可嘱患者用手淫法取精液送检;对于女性患者,先用窥阴器扩张阴道,用无菌棉签拭去宫颈表面的黏液,然后用专用拭子插入宫颈口内 1~3 cm,旋转数圈并停留 30 s 后取出送检。

1.2.2 Uu、Mh 检测及药敏试验方法 支原体培养鉴定及药敏试剂盒购自众爱生河北生物科技有限公司,该试剂盒由液体培养基、固体培养基及含有 28 个微量反应孔的试剂条组成。试剂条由阴性对照孔、阳性对照孔、Uu 检测孔、Mh 检测孔及阿奇霉素、环丙沙星、克拉霉素、多西环素、罗红霉素、交沙霉素、左氧氟沙星、米诺环素、诺氟沙星、氧氟沙星、司帕沙星、大观霉素的高、低浓度药敏检测孔组成。支原体培养及药敏试验严格按照说明书进行操作,首先将标本按照 S

型曲线在固体培养基上划线接种(固体培养基旁放入 1 片 CO₂ 发生片),然后将标本在液体培养基充分洗脱后在微量反应孔中每孔加 100 μL(空白孔在液体培养基未洗脱前加入),每孔滴加 1 滴石蜡油,放入 35 ℃ 温箱培养 24~48 h。

1.2.3 结果判断 以固体培养基在低倍显微镜下看到褐色海胆样菌落或/和油煎蛋样菌落为诊断 Uu 或/和 Mh 生长的主要依据,参考液体培养基和微量反应孔由黄色变为红色,得出 Uu 或/和 Mh 生长报告。药敏试验结果:当高、低浓度反应孔均由黄色变为红色为耐药;低浓度反应孔红色、高浓度反应孔黄色为中介;高、低浓度反应孔均黄色为敏感。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析处理,计数资料以例数或百分率表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 6 493 例泌尿生殖道感染患者支原体检测结果比较 见表 1。6 493 例泌尿生殖道感染患者中支原体感染 3 014 例,其中 1 941 例男性患者检出阳性 575 例(29.6%),4 552 例女性患者检出阳性 2 439 例(53.6%),女性支原体感染率明显高于男性,差异有统计学意义($P<0.05$);Uu 感染率高于 Mh 感染率及 Uu+Mh 感染率,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 6 493 例泌尿生殖道感染患者支原体检测结果比较[n(%)]

性别	n	Uu 阳性	Mh 阳性	Uu+Mh 阳性	合计
男	1 941	465(23.9)	14(0.7)	96(5.0)	575(29.6)
女	4 552	1 835(40.3)	61(1.4)	543(11.9)	2 439(53.6)
合计	6 493	2 300(35.4)	75(1.2)	639(9.8)	3 014(46.4)

表 2 3 014 例支原体阳性标本对常用抗菌药物体外药敏试验结果(%)

抗菌药物	敏感			中介			耐药		
	Uu	Mh	Uu+Mh	Uu	Mh	Uu+Mh	Uu	Mh	Uu+Mh
阿奇霉素	80.5	2.7	4.6	16.8	4.0	3.9	2.7	93.3	91.5
环丙沙星	3.0	25.3	0.0	17.8	14.7	4.5	79.2	60.0	95.5
克拉霉素	93.8	2.7	5.4	2.5	4.0	3.1	3.7	93.3	91.5
多西环素	93.9	97.3	87.2	2.8	2.7	5.6	3.3	0.0	7.2
罗红霉素	81.4	0.0	3.5	13.3	2.7	3.9	5.3	97.3	92.6
交沙霉素	94.0	100.0	83.9	5.3	0.0	10.5	0.7	0.0	5.6
左氧氟沙星	29.2	28.0	4.1	63.1	30.7	37.2	7.7	41.3	58.7
米诺环素	94.8	97.3	90.3	2.8	2.7	3.9	2.4	0.0	5.8
诺氟沙星	2.0	4.0	0.1	7.7	6.7	0.8	90.3	89.3	99.1
氧氟沙星	5.2	18.7	0.0	28.8	10.7	4.5	66.0	70.6	95.5
司帕沙星	26.1	41.3	5.6	51.0	10.7	25.2	22.9	48.0	69.2
大观霉素	4.0	52.0	0.9	16.3	34.7	10.0	79.7	13.3	89.1

2.2 药敏试验结果 见表 2。对 3 014 例支原体检出阳性标本进行 12 种抗菌药物药敏试验测定,其中

2 300 例 Uu 阳性标本对 12 种抗菌药物的敏感率排名前 3 位的依次是米诺环素(94.8%)、交沙霉素(94.0%)、

多西环素(93.9%),耐药率排名前 3 位的依次是诺氟沙星(90.3%)、大观霉素(79.7%)、环丙沙星(79.2%);75 例 Mh 阳性标本对 12 种抗菌药物敏感率排名前 3 位的依次是交沙霉素(100.0%)、多西环素(97.3%)、米诺环素(97.3%),耐药率排名前 3 位的依次是罗红霉素(97.3%)、阿奇霉素(93.3%)、克拉霉素(93.3%);639 例 Uu 和 Mh 混合感染的阳性标本对 12 种抗菌药物敏感率排名前 3 位的依次是米诺环素(90.3%)、多西环素(87.2%)、交沙霉素(83.9%),耐药率排名前 3 位的依次是诺氟沙星(99.1%)、氧氟沙星(95.5%)、环丙沙星(95.5%)。Uu、Mh、Uu+Mh 对 12 种抗菌药物的敏感率排名前 3 位的均为多西环素、交沙霉素、米诺环素。

3 讨 论

Uu 和 Mh 是引起泌尿生殖道感染的主要病原菌之一,因各地卫生条件、人员构成、检测方法的不同,各地报道的支原体感染率有所不同。本研究结果显示,6 493 例疑似泌尿生殖道支原体感染患者中,支原体感染 3 014 例,感染率为 46.4%,低于深圳光明地区报道的 54.1%^[7]。同在深圳地区,支原体感染率却有所不同,分析原因可能有试剂方面的因素,因为本研究采用的是固体和液体结合的方法进行支原体检测,可通过固体培养基上没有生长来排除一些液体培养基的假阳性,而深圳光明地区只是单纯采用了液体培养基进行培养。本研究男性支原体感染率为 29.6%,女性感染率为 53.6%,女性支原体感染率明显高于男性,这可能是因为男女生殖器局部微环境不同所致,女性生殖道内环境和 pH 值可能更有利于支原体在其黏膜表面繁殖^[8]。在 3 014 例支原体感染者中,Uu 感染率最高,为 35.4%,其次是 Uu+Mh 混合感染率,为 9.8%,Mh 感染率最低,为 1.2%,说明支原体感染以 Uu 单纯感染为主,这与杨瑞霞等^[9]报道一致。泌尿生殖道支原体感染以 Uu 为主,相关研究认为,Uu 主要通过黏附素与宿主细胞上的受体结合后进行繁殖和感染,其感染后造成的上皮细胞受损较完整上皮细胞更易于 Uu 入侵^[10]。

支原体菌属因天然缺失细胞壁,因此对一些针对细胞壁的药物,如青霉素、头孢菌素等 β -内酰胺类药物天然耐药。临床上常用于治疗支原体感染的药物有大环内酯类、四环素类及喹诺酮类,但是近年来随着抗菌药物的不规范使用,支原体对这些药物也表现出一定的耐药性。本研究结果表明,单纯 Uu 感染敏感率最高的药物为米诺环素(94.8%),其次为交沙霉素和多西环素;Mh 单纯感染对交沙霉素全部敏感,其次为多西环素和米诺环素;Uu 和 Mh 混合感染敏感率最高的药物是米诺环素(90.3%),其次为多西环素和交沙霉素。Uu 单纯感染对大观霉素及喹诺酮类的诺氟沙星、环丙沙星及氧氟沙星均表现出高度耐药;Mh 单纯感染对大环内酯类的罗红霉素、阿奇霉素及

克拉霉素,对喹诺酮类的诺氟沙星、环丙沙星及氧氟沙星均表现出高度耐药性;Uu 和 Mh 混合感染对抗菌药物的耐药性与 Mh 对抗菌药物的耐药性具有相似之处。Uu 和 Mh 对喹诺酮类药物的耐药机制主要是因为编码 DNA 促旋酶及拓扑异构酶 IV 的 GyrA、ParC 基因突变导致靶酶结构改变,也有可能和生物膜形成、细菌外排系统、基因重排机制及环境因素相关^[11-12]。Mh 对大环内酯类药物高度耐药主要是因为其 23SrRNA 2611 位点突变,从而导致对该类抗菌药物高度耐药^[13]。本地区 Uu 和 Mh 对抗菌药物的敏感性和耐药性与周丽华等^[14]的报道一致,但与龚娅等^[15]的报道有所区别,说明不同地区泌尿生殖道分离的支原体对抗菌药物的敏感性和耐药性有所不同。本研究结果表明,通过培养明确支原体感染类型及其敏感性,对临床有针对性的治疗具有很好的帮助。

综上所述,泌尿生殖道最常见的支原体感染为 Uu 感染,Mh 是以合并感染的方式出现。Uu 对喹诺酮类药物表现出高度耐药性、Mh 对大环内酯类及喹诺酮类药物均表现出高度耐药性。Uu、Mh 对多西环素、交沙霉素、米诺环素仍表现出高度敏感性,可作为本地区治疗泌尿生殖道支原体感染的经验用药,临床医生也可根据药敏试验结果选择敏感的抗菌药物进行治疗。

参考文献

- [1] 柯永坚,朱红军.解脲支原体和人型支原体药敏分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(3):383-385.
- [2] 赵越.支原体的研究现状[J].中国性科学,2006,15(7):34-35.
- [3] 李仕伟,傅雷,刘艳秋.泌尿生殖道支原体感染及耐药性分析[J].现代预防医学,2015,42(4):762-763.
- [4] 陈建炜,陈玲玲,沈华.宫颈炎患者支原体感染相关因素分析及预防策略[J].实用预防医学,2015,22(2):200-202.
- [5] LEE J S,KIM K T,LEE H S,et al. Concordance of ureaplasma urealyticum and mycoplasma hominis in infertile couples; impact on semen parameters[J]. Urology,2013,81(6):1219-1224.
- [6] SOBOUTI B,FALLAH S,MOBAYEN M,et al. Colonization of mycoplasma hominis and ureaplasma urealyticum in pregnant women and their transmission to offspring[J]. Iran J Microbiol,2014,6(4):219-224.
- [7] 曾凡杞,卢见行,张志云,等.深圳光明地区泌尿生殖道支原体感染状况及药敏分析[J].中国性科学,2014,23(2):8-11.
- [8] 刘伟民.3 135 例泌尿生殖道感染支原体的体外培养及药敏试验结果分析[J].检验医学与临床,2012,9(18):2295-2297.
- [9] 杨瑞霞,宋为娟. 疑诊非淋菌性泌尿生殖道炎症患者局部分泌物解脲支原体和人型支原体检测及药敏试验[J].山东医药,2015,55(43):14-16.

[10] 周琼艳,赵敬军,许素玲,等. 13 181 例疑似生殖道支原体感染患者支原体分布及耐药性分析[J]. 中华临床感染病杂志,2016,9(2):186-189.

[11] 朱小飞,彭红新,李岷,喹诺酮抗性决定区域位点突变诱导解脲脲原体耐喹诺酮类药物的系统评价[J]. 临床检验杂志,2015,33(1):46-48.

[12] 于静波,薛文成,张明磊,等. 人型支原体耐药性监测及耐药机制的研究[J]. 沈阳药科大学学报,2012,29(10):788-791.

[13] PEREYRE S,RENAUDIN H,CHARRON A,et al. E-mergence of a 23S rRNA mutation in mycoplasma hominis associated with a loss of the intrinsic resistance to erythromycin and azithromycin [J]. J Antimicrob Chemother,2006,57(4):753-756.

[14] 周丽华,沈梦远,李曦,等. 12 548 例泌尿生殖道标本解脲脲原体和人型支原体检测及药物敏感性分析[J]. 中国卫生检验杂志,2018,28(1):106-108.

[15] 龚娅,段德令,何宗忠,等. 19 530 例泌尿生殖道感染患者支原体感染及药敏结果分析[J]. 重庆医学,2015,44(25):3539-3541.

(收稿日期:2019-01-13 修回日期:2019-04-14)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.029

小鼠 Cdc14A 基因真核表达载体的构建

刘 儒¹,谢基明²,孟 峻¹,李瑞林¹

1. 内蒙古医科大学附属医院检验科,内蒙古呼和浩特 010050;2. 内蒙古自治区人民医院检验科,内蒙古呼和浩特 010017

摘要:目的 构建小鼠 pcDNA3.1-MYC-细胞分裂周期 14A(Cdc14A)真核表达载体,并观察和验证其在真核细胞中的表达。方法 将化学合成的目的基因 Cdc14A 定向克隆至真核表达载体 pcDNA3.1(+)中,经酶切和测序鉴定正确后,采用脂质体法转染 HEK293 细胞,通过 Western blot 检测细胞内 Cdc14A 的表达,并检测 Cdc14A 基因序列。结果 pcDNA3.1-MYC-Cdc14A 真核表达载体构建成功,将其转染 HEK293 细胞 48 h,提取细胞蛋白,采用 Western blot 检测到细胞内 Cdc14A 的表达,并且测序结果与预期结果一致。结论 成功构建了真核表达载体 pcDNA3.1-MYC-Cdc14A,为研究 Cdc14A 在小鼠一细胞期受精卵 G2/M 期转换中的作用奠定了基础。

关键词:真核表达载体; 细胞分裂周期 14A; HEK293 细胞

中图分类号:R394.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2019)13-1891-03

人类基因组编码 518 个激酶,其中仅有 147 个蛋白磷酸酶。磷酸酶与来源于同一祖系的蛋白激酶相反,能由若干进化的祖细胞独立进化为不同的磷酸酶家族。由于编码磷酸酶的基因数量相对较少,而且分离的磷酸酶在体外仅表现出低底物特异性,因此,磷酸酶已被广泛认为是混杂酶^[1-2]。细胞分裂周期 14A(Cdc14A)是真核细胞生物中广泛表达的一类特殊的高度保守的双重特异性磷酸酶,是 Cdc14 家族的一个亚型。从酵母到人类体细胞的多种研究表明,Cdc14 涉及的作用广泛,如减数分裂、细胞质分裂、有丝分裂、DNA 损伤修复、肿瘤发生、发展及生殖等^[2]。本文通过构建小鼠 Cdc14A 基因真核表达载体,为 Cdc14A 在小鼠一细胞期受精卵 G2/M 期转换作用的研究奠定了基础,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 目的基因、细胞株、菌种和质粒:目的基因 Cdc14A 由鸿讯生物科技有限公司化学合成;真核表达载体 pcDNA3.1(+),DH5a 感受态大肠杆菌为广州辉骏生物科技有限公司产品;HEK293 细胞购于北京全式金生物技术有限公司。

1.2 试剂与仪器 限制性内切酶 KpnI、XhoI 和

ApaI(Thermo Scientific);DMEM 培养基(GIBCO 公司);微量琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(上海生工 B518131-0100);质粒小量抽提试剂盒(上海生工 B518191-0050);ClonExpress II One Step Cloning Kit 连接酶(诺唯赞 C112-2);DNA 测序均由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。低温超速离心机(美国,Sigma 公司);基因扩增仪(HEMA,9600);台式高速离心机(TG17-WS,上海卢湘仪器有限公司);凝胶自动成像仪 GDS9000(美国,Bio-Rad 公司);紫外分光光度计(北京思博全公司);洁净工作台(AIRTECH,SW-OJ-2F);CO₂ 培养箱 CB115(德国 WTB-binder);恒温空气振荡器(上海艾测电子科技有限公司);电泳仪(君意,JY600E)。

1.3 方法

1.3.1 获取目的基因 带有 WYC 标签的 Cdc14A 目的基因由鸿讯生物科技有限公司化学合成。

1.3.2 载体双酶切 (1)载体双酶切。在无菌的 0.2 mL EP 反应管,取 5 μg 的 pcDNA3.1(+)载体,用 KpnI 和 XhoI 双酶切,酶切体系如下:10×Buffer 5 μL;pcDNA3.1(+) 5 μg;KpnI 1.5 μL;XhoI 1.5 μL;加无酶水补充到总体积为 50 μL,37℃酶切反应 20 min;