

表达增强和PG合成增加,而COX-2和PG的增加又进一步增强EGFR的活性。

本实验中,COX-2、EGFR在尖锐湿疣组中的表达均显著高于正常皮肤组,提示HPV感染人表皮组织后,可诱导角质形成细胞层EGFR表达上调及COX-2过表达,同时EGFR介导COX-2衍生PGE2的早期效应部分,加快VEGF合成,导致血管通透性增加,另外,EGFR加速PGE2介导的细胞迁移和侵袭,促进细胞增殖。综上,COX-2、EGFR相互作用,共同参与尖锐湿疣的发生和发展。本实验结果提示,阻断COX-2和EGFR信号通路的相关治疗手段可能是未来临床治疗尖锐湿疣的新思路。

参考文献:

- [1] Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase 2: a molecular target for cancer prevention and treatment[J]. Trends Pharmacol Sci,2003,24(2):96-102.
- [2] Ranger GS1, Thomas V, Jewell A, et al. Elevated cyclooxygenase-2 expression correlates with Distant metastases in breast cancer[J]. Anticancer Res, 2004,24(4):2349-2351.
- [3] Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 transcription is regulated by human papillomavirus 16 E6 and E7 oncoproteins: evidence of a corepressor/coactivator exchange[J]. Cancer Res,2007,67(8):3976-3985.
- [4] Hee Seung Kim, Taehun Kim, Mi-Kyung Kim, et al. Cyclooxygenase-1 and -2: Molecular Targets for Cervical Neoplasia[J]. J Cancer Prev,2013,18(2): 123-134.
- [5] 黄朝霞,王荣跃,黄永刚,等.尖锐湿疣组织中COX-2的表达及意义[J].中国妇幼保健,2011,26(3):398-399.
- [6] 李海,邓志勇,陈金珍.环氧合酶-2在尖锐湿疣组织中的表达及意义[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2009,8(5):292-293.
- [7] Maiorano E, Favia G, Maisonneuve P, et al. Prognostic implications of epidermal growth factor receptor immunoreactivity in squamous cell carcinoma of the oral mucosa[J]. J Pathol,1998,185(2):167-174.
- [8] Tomakidi P, Cheng H, Kohl A, et al. Modulation of the epidermal growth factor receptor by the human papillomavirus type 16 E5 protein in raft cultures of human keratinocytes[J]. Eur J Cell Biol,2000,79(6):407-412.
- [9] Gr ü nwald V, Hidalgo M. Developing inhibitors of epidermal growth factor receptor for cancer treatment[J]. J Natl Cancer Inst,2003,95(12):851-867.
- [10] 陈海霞,肖君刚.表皮生长因子受体和PTEN蛋白在尖锐湿疣皮损中的检测及意义[J].中国皮肤性病学杂志,2006,20(10):592-594.
- [11] Supryniewicz FA, Krawczyk E, Hebert JD, et al. The human papillomavirus type 16 E5 oncoprotein inhibits epidermal growth factor trafficking independently of endosome acidification [J]. J Virol,2010,84(20):10619-10629.
- [12] Buchanan FG, Wang D, Bargiacchi F, et al. Prostaglandin E2 regulates cell migration via the intracellular activation of the epidermal growth factor receptor[J]. J Biol Chem,2003,278(37):35451-35457.
- [13] Moraitis D, Du B, De Lorenzo MS, et al. Levels of cyclooxygenase-2 are increased in the oral mucosa of smokers: evidence for the role of epidermal growth factor receptor and its ligands[J]. Cancer Res,2005,65(2):664-670.

## 长效抗菌材料预防腹膜透析导管相关性感染的临床研究\*

于云霞<sup>1</sup>, 王鹏飞<sup>2\*</sup>, 曹颖<sup>1</sup>, 赵云珠<sup>1</sup>, 左兰<sup>1</sup>, 杨明莹<sup>3\*</sup>

(1.昆明医科大学第二附属医院肾内科,云南 昆明 650101;2.昆明医科大学第二附属医院中心试验室,云南 昆明 650101;3.昆明医科大学第二附属医院护理部,云南 昆明 650101)

**【摘要】** 目的 研究长效抗菌材料对腹膜透析导管皮肤出口处细菌繁殖和抑制效果。方法 对进行腹膜透析的20例患者,应用长效抗菌材料和蒸馏水对照处理导管皮肤出口处,观察细菌繁殖和抑制效果。结果 16s rRNA扩增灰度分析表明4h时间点实验组相比对照组的皮肤表面核酸水平更低,二代高通量测序分析16s rRNA扩增子表明所有患者皮肤样本组成丰度最高的为鞘脂单胞菌目(Sphingomonadales)下的多种鞘氨醇单胞菌。组间物种丰度差异性分析显示2h时间点对照组在丰度较高的物种上比实验组丰度更高,而4h时间点,对照组相较于试验组存在更多的物种丰度,且贡献差异性的主要为稀有OUT的种类水平。结论 使用长效抗菌材料在防治腹膜透析导管相关性感染在长效时间点(2h和4h)具有细菌抑制效果。

**【关键词】** 腹膜透析;出口处细菌;长效抗菌材料

中图分类号: R459.5; R197.323.4 文献标志码: B doi: 10.3969/j.issn.1002-1310.2019.03.010

## Clinical study on the efficacy of long-acting antibacterial materials in preventing catheter-related infection in peritoneal dialysis

YU Yun-xia<sup>1</sup>, WANG Peng-fei<sup>2\*</sup>, CAO Ying<sup>1</sup>, ZHAO Yun-zhu<sup>1</sup>, ZUO Lan<sup>1</sup>, YANG Ming-ying<sup>3\*</sup>

(1. Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650101; 2. Center Laboratory, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650101)

**【Abstract】** Objective To study the effect of long-acting antibacterial materials on bacterial reproduction and inhibition at the outlet of peritoneal dialysis catheter skin. Methods Twenty patients undergoing peritoneal dialysis were treated with long-acting antibacterial materials and distilled water to observe the bacterial growth and inhibition at the skin exit of the catheter by using self-controlled study. Results The 16s rRNA amplification gradation analysis

**【收稿日期】** 2019-03-15 \*通信作者 Email: 196545723@qq.com ★基金项目: 云南省卫生内设研究机构(2016NS258)

showed that the skin surface nucleic acid level of the experimental group was lower than that of the control group at the 4h time point. The second-generation high-throughput sequencing analysis of the 16s rRNA amplicon showed that a variety of Sphingomonas species under Sphingomonadales was the highest of the skin abundance in all patients. The analysis of species abundance between groups showed that the control group was higher in the higher abundance species than the experimental group at the 2 h time point, while at the 4 h time point, the control group had more species than the experimental group, mainly in the level of rare OUT. **Conclusion** Using long-acting antibacterial materials in the prevention and treatment of peritoneal dialysis catheter-related infections has a bacterial inhibitory effect at long-term time points (2 h and 4 h).

【Key words】 Peritoneal dialysis; Bacteria at the exit; long-acting antibacterial materials

随着人口老龄化和预期寿命的延长,老年终末期肾脏病患者显著增加。而该人群接受肾脏替代治疗的比例也明显增加<sup>[1]</sup>。据有关报道,截止2008年,全球约有196 000名腹膜透析(PD)患者,占透析总人口的11%<sup>[2]</sup>。在美国,尽管血液透析(HD)仍然是主要的治疗方式,但近年来家庭透析在终末期肾脏病(ESRD)患者中已经普及。根据2014年美国肾脏年度数据报告,9 947名家庭透析患者中95%选择接受PD<sup>[3]</sup>。随着该技术的进步,腹膜透析相关性腹膜炎的发生率虽有所下降,但仍是常见的并发症<sup>[4]</sup>,而隧道口感染、导管出口感染仍是导致腹膜炎的重要因素。长效抗菌材料(JUC)是一种长效物理抗菌技术,其杀菌成分主要为有机硅季铵盐,采用JUC喷洒于皮肤、黏膜表面,固化后可形成正电荷膜,能强力吸附并杀死带负电荷的细菌、真菌、病毒等病原微生物。目前,应用长效抗菌材料预防各类感染的临床研究逐渐增多,但在预防腹膜透析导管相关性感染的研究鲜少。本研究应用长效抗菌材料和蒸馏水对照处理PD患者隧道口周围皮肤,分析不同处理区域细菌的生长活跃性及种类丰度。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 入选患者均于我院行手术植入腹膜透析导管(Tenckhoff管),采用百特乳酸盐透析液行持续不卧床腹膜透析(CAPD)治疗,透析方案根据临床症状和透析充分性指标调整,腹膜透析插管术后的患者20例。纳入标准:①年龄(20~70)岁;②维持性腹膜透析治疗时间达3个月以上;③腹膜透析导管出口处无感染征象;④未接受其他并发症药物治疗;⑤患者无其他系统疾病。排除标准:①资料不完整;②近期服用抗生素治疗

## 1.2 研究方法

**1.2.1 样本收集** 本研究为自身配对实验,即在同一病人身上的不同区域应用碘伏+长效抗菌材料和对照(碘伏+蒸馏水)处理,分析不同区域细菌的生长活跃性及种类丰度。

**1.2.1.1 实验样本** 腹膜透析患者隧道口周围皮肤采用碘伏消毒,10min干燥后,随后进行喷射固定量长效抗菌材料,等待10min自然干燥。使用以生理盐水湿润的无菌棉签以固定力度擦拭3处固定面积(3次重复)皮肤,采集皮肤干燥后0h样本,2h,4h和8h样本。上述采样的3次重复拭子合并至同一2ml离心管当中。

**1.2.1.2 对照样本** 采样方法同实验样本,仅将长效抗菌材料替换成蒸馏水。

**1.2.1.3 质控样本** 对照组与实验组腹膜透析患者隧道口周围皮肤经过碘伏消毒10min后,在隧道口上部的消毒区域进行采样,使用以生理盐水湿润的无菌棉签擦拭固定面积(圆形离心管盖住面积)皮肤。质控样本将进行细菌涂板培养检验,在12h内培养出大量细菌的样本为不合格样本不进行后续实验。未检出细菌的样本可进行后续实验。

**1.3 细菌平板涂布** 每份实验组E和对照组C样本(2ml离心管)中含有3个拭子头,质控组(2ml离心管)中含有1个拭子头,分别加入500μl无菌生理盐水后旋涡震荡30s后成菌液。取菌液50μl均匀涂布于LB平板培养基上,于37℃恒温培养24h。培养结束后计算菌落生长数目。

## 1.4 皮肤表面细菌丰度分析

**1.4.1 细菌16s rRNA扩增** 应用CTAB法对剩余菌液总DNA进行提取。本研究扩增细菌16s rRNA基因的V1-V3高变区,扩增过程采用正向引物不变,反向引物5'端携带index序列的PCR方法,即将含有不同index序列的反向引物分配至不同的样本,每个样本平行扩增三次。为了减轻index序列对扩增效率的影响,分配10位index序列至2h、4h、8h时间点样本分配8位index序列至0h时间点样本,分配7位index序列至质控样本。

扩增引物如下。

27F序列:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'。

反向引物534R序列:5'-index序列+ATTA CCGCGGCTGCTGG-3'。

扩增体系:25μl反应体系中加入细菌DNA模板1μl; ddH<sub>2</sub>O 18.2μl; 10×Buffer 2.5μl; MgCl<sub>2</sub> 2.5μl; 引物F/R(100pmol/μl)各0.05μl; dNTP(10mmol/l) 0.5μl; DNA聚合酶(5U/μl) 0.2μl。反应程序:预变性95℃ 5min; 变性95℃ 30s; 退火56℃ 30s; 延伸72℃ 30s; 终延伸72℃ 5min。经前期优化发现,样本核酸含量较低,荧光定量PCR结果显示样本在(32~35)循环起峰,故设置共40个循环进行普通PCR扩增。

**1.4.2 细菌16s rRNA扩增子半定量分析** 每个样本三次平行扩增产物取5μl上样电泳检测,1.5%琼脂糖凝胶,140V/20min, Marker=DL2000(2000/1000/750/500/200/100),排除三次平行扩增中的阴性结果,并补充扩增。三次成功扩增的电泳结果以DL2000作为对照,应用imageJ软件进行灰度扫描,样本三个重复扩增取平均值,应用SPSS 20配对t检验分析实验处理对产物灰度的影响。

**1.4.3 细菌16s rRNA扩增子高通量测序** 所有3

次成功扩增的剩余产物均转移至一只 15ml 离心管当中,旋涡震荡 10s 后在 65 rpm 摇床上混匀 1h。混匀后样本与 6×loading buffer 混合上样跑胶(点满胶孔),80V/1h,转 120V/30min,切 500 bp 条件回收。采用天根凝胶回收试剂盒,12 支回收柱,应用加热的 TE 溶液洗脱,每柱洗脱体积为 50 μl+50 μl 两次。洗脱的 DNA 经 Nanodrop 测量浓度和纯度,随后分别上样 5 μl 和 15 μl 进行回收效率电泳检测。样本送北京安诺优达公司进行基于 Illumina HiSeq PE300 平台进行测序。

1.4.4 细菌 16s rRNA 扩增子高通量测序数据分析 去除测序接头的下机数据 (Raw data),以 Pair-

end reads 数据格式导入 CLC genomic workbench 12,依次进行序列质量评估,Pair-end reads 重叠组装,组装后 reads 修剪,正向引物 demultiplex 操作,反向引物按 index 序列进行 demultiplex 操作,OUTclustering,Alpha 多样性评估及 Beta 多样性评估。

## 2 结果与分析

2.1 细菌平板涂布 病人采样菌液 LB 平板涂布结果显示,绝大多数平板上不可见细菌生长,其原因可能是经过碘伏消毒的皮肤,绝大部分细菌已被杀死或 LB 培养基不适合某些皮肤细菌类群的生长。样本进行配对 *t* 检验,统计结果显示,4 个时间点的实验组与对照组之间均不存在显著性差异,见表 1。

表 1 LB 平板涂布成对样本 *t* 检验

	成对差分			差分的 95% 置信区间		<i>t</i>	df	sig( 双侧 )
	均值	标准差	均值的标准误	差分的 95% 置信区间				
				下限	上限			
对 1E)-CO	-2.352 94	9.259 73	2.245 82	-7.113 86	2.407 97	-1.048	16	310
对 2E2)-C2	-3.882 35	10.804 41	2.620 45	-9.437 47	1.672 76	-1.482	16	158
对 3E4)-C4	-1.647 06	10.499 65	2.546 54	-7.045 48	3.751 36	-647	16	527
对 4E8)-C8	-3.176 47	14.934 17	3.622 07	-10.854 91	4.501 97	-877	16	393

2.2 细菌 16s rRNA 基因扩增、检测及产物灰度分 对 20 个样本的 4 个时间点菌液提取 DNA 并进行 16s rRNA 基因扩增,为了确保各个 index 之间的工作无差异,提取 DH5a 细菌总 DNA 作为阳性对照,进行阳参验证(图 1);并增加各 index 引物加入下,不加入模板 DNA 而加入等量 TE 的阴性对照(图 2)。由结果可知 DH5a 阳参扩增反应充分, index 引物全部工作,且 index 引物对之间无明显扩增差异;而阴性对照则无扩增或存在极弱扩增,与预期情况相符。随后进行病人样本的 16s rRNA 基因扩增,从扩增结果可知(图 3),样本扩增情况良好。

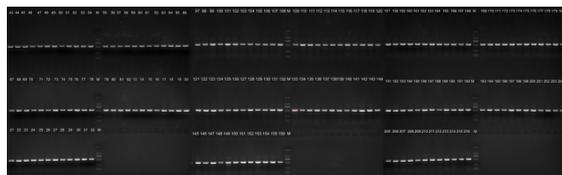


图 1 DH5a 阳参扩增结果

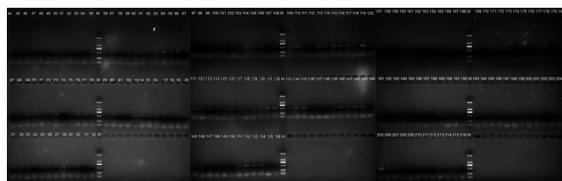


图 2 不加模板的阴参扩增结果

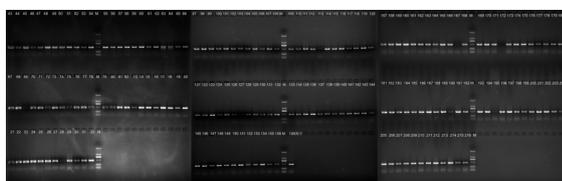


图 3 部分病人样本的扩增电泳条带

通过将 PCR 产物电泳条带转换成灰度值,以 marker 亮度作为均一性参照,分析实验处理对 PCR 产物产率之间的影响(图 4)。结果表明,随着采样时间的进行,细菌核酸量在(0~2)h 之内逐渐降低,而(4~8)h 内逐渐恢复。且 0h/2h/8h 采样时间点组间无显著差异,而 4h 采样时间点组间存在显著差异(表 2)。这说明实验处理对细菌核酸总量水平产生了一定的抑制作用,这个作用时间周期为 4h。

## 2.3 细菌 16s rRNA 扩增子高通量测序分析

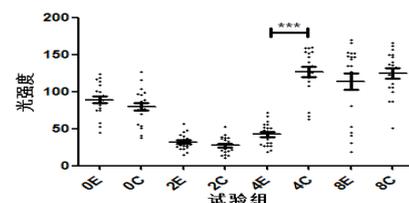


图 4 PCR 产物的条带灰度值统计分析

2.3.1 测序质量评估 Raw data 共包含 7 145 566 个序列,对测序 reads 进行长度分布统计,结果表明 99% 的 reads 长度介于(300~304)之间。对每条测序 reads 的 GC 含量进行统计分析,结果表明大多数 reads 的 GC 含量介于 55%~60% 之间。对每条测序 reads 中的模糊碱基(未知核苷酸 -N)的含量进行统计分析,结果表明存有 N 碱基的 reads 中,99% 的个体 N 碱基数目占整个 reads 长度的极小部分,约等于 0%。分析测序碱基质量值 Phred quality score (PHRED) 表明,绝大多数 reads 的 PHRED 值均大于 20,表明 reads 测序的碱基准确性达到 99%~99.99%。reads 重复性度量分析显示,重复次数在(1~10)次之内的序列占总序列的 71.85%,

表2 PCR产物的条带灰度值成对样本检验

	成对差分					t	df	sig(双侧)
	均值	标准差	均值的标准误	差分的95%置信区间				
				下限	上限			
对1E-CO	9.286 38	36.993 49	8.272 00	-8.027 11	26.599 87	1.123	19	276
对2E-C2	4.757 68	16.315 24	3.648 20	-2.878 09	12.393 45	1.304	19	208
对3E4-C4	-84.438 34	33.889 42	7.577 91	-100.299 08	-68.577 60	-11.143	19	000
对4E8-C8	-11.029 14	54.083 19	12.093 37	-36.340 85	14.282 57	-912	19	373

说明序列没有存在PCR过程引发富集偏差效应。

2.3.2 序列组装及 demultiplex 7 145 566 条 pair-end reads 成对重叠组装后共产生 3 090 500 条 reads (618 100 条序列可配对), 综合组装率为 86.50%。随后对组装 reads 进行修剪, 去除序列中存在大于 2 个模糊碱基, 测序准确性低于 95% 以及序列长度低于 400 bp 和大于 600 bp 的序列。结果可知, 大部分序列都通过了修剪程序, 总通过序列为 3 097 957, 综合通过率达到 97%。随后对序列进行 demultiplex 操作, 其中通过正向引物序列 demultiplex 共获得 2 969 009 (97.73%) 条序列, 而后进行反向引物 demultiplex 后获得 2 537 613 条最终可分析序列, 占初始序列的 82.11%。

2.3.3 序列 OUT 划分 依据 greengenes 数据库中的 Greengenes v13\_8 97% (含有 99 322 条参考序列), 在 97% 的相似性水平上进行 open-reference OTU picking, 对 2 537 613 条 demultiplex 序列进行 OTU 聚类划分及注释。嵌合体序列检测参数设置为 chimera crossover cost=31, Kmer size=10。

总共划分出 427 个 OUT, 为了直观查看和比较各样品在目 (Order) 和种 (Species) 分类水平上丰度较高的物种及其所占比例, 选择在目和种分类层级按最大丰度排名前 10 的种类, 生成累积柱状图。结果表明, 目级别 OTU 含有 31 类, 目水平前 10 丰度中包括鞘脂单胞菌目 (Sphingomonadales), 根瘤菌目 (Rhizobiales), 蓝细菌目 (Streptophyta),  $\alpha$  变形杆菌门下一种未鉴定目, 一种 De novo 划分的目, 伯克霍尔德氏菌目 (Burkholderiales), 放线菌目 (Actinomycetales), 假单胞菌目 (Pseudomonadales), 真枝藻目 (Stigonematales) 及红螺菌目 (Rhodospirillales)。其中, 鞘脂单胞菌目下的 OTU 占各样本 OTU 数目约 96% 以上。种级别 OTU 含有 99 种, 而前 10 丰度的物种中能准确鉴定的仅两种, 即占比排名第二的不解糖鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas asaccharolytica*) 和占比排名第五的一种甲基杆菌 (*Methylobacterium komagatae*)。

2.3.4 分析实验组 (E) 及对照组 (C) 在 2h/4h/8h 时间点 OTU 的 Alpha 多样性 以最小采样序列 200 bp 作为采样区间, 重复采样 1 000 次计算采样区间中的 OTU 丰度情况。Chao1 指数常用来估算物种总数。统计结果表明实验组与对照组之间不存在显著差异。Simpson 指数用来估算微生物多样性指数之一, 既考虑了物种的丰度 (Richness) 也考虑了均

匀性 (Evenness)。统计结果表明 Simpson 指数在实验组和对照组之间不存在显著差异。香农-维纳指数 (Shannon-Wiener index), 是一种基于信息理论的测量指数, 结果包含物种数及均匀性两种成分, 值越大说明群落多样性越高。统计结果表明实验组与对照组之间不存在显著差异。Phylogenetic Diversity 是最常用的系统发育多样性度量方法, 其计算方法是对进化树的所有枝长求和, 因此需要用到进化树。统计结果表明实验组与对照组之间不存在显著差异。

2.3.5 分析实验组 (E) 及对照组 (C) 在 2h/4h/8h 时间点 OTU 的 Beta 多样性 最常用的分析方式是首先基于物种丰度数据 (OTU 表) 计算样本间的距离, 微生物的研究中最常用的是 Unifrac 距离, 计算包括 Weighted Unifrac 和 Unweighted Unifrac 两种距离方式, Weighted Unifrac 使用物种的丰度信息, 其最为常用, Unweighted Unifrac 只考虑物种的有无, 所以 Unweighted Unifrac 距离对稀有物种比较敏感, 而 Weighted Unifrac 距离则对丰度较高的物种变化比较敏感。为了基于计算得到的各种常用样本间距离指标进行后续分析, 同时方便观察样本间的差异程度以及差异变化规律, 使用主坐标分析 (PCoA, Principal Co-ordinates Analysis) 进行探索, PCoA 是一种降维排序方法, 是分析 Beta 多样性 (Beta-diversity) 的常用方法。PCoA-Unweighted UniFrac 分析结果表明, 三个坐标维度共解析了 43% 的距离差异, 虽然样本可以分为两个群体, 但两个群体当中的实验组及对照组中均占有对等比例, 说明 E/C 两组在 beta 多样性中物种的有无水平上并不存在明显差异, 见图 5。

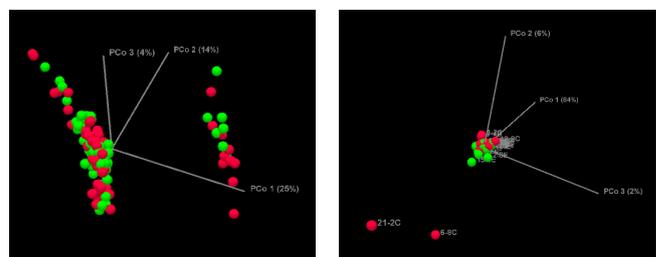


图5 PCoA-Weighted UniFrac 分析结果表明, 三个坐标维度共解析了 92% 的距离差异, 虽然样本之间的相似性很高, 但是 21-2C 和 6-8C 两个样本偏离了主要集群, 说明对照组 C 中在加权的计算方式下 (物种数量) 个别样本具有与其他样本明显的区别。

2.3.4 分析实验组 (E) 及对照组 (C) 在 2h/4h/8h

时间点 OTU 在组间的差异显著性 为了计算实验组 (E) 及对照组 (C) 之间在样本间距离上有没有显著差异, 使用 PerMANOVA 进行分析。PerMANOVA (Permutational multivariate analysis of variance) 是基于置换检验的多元方差分析, 最常用来检验组间差异的显著性。多项距离计算参数中, Bray-Curtis ( $F=3.110, P=0.045$ ) 和 Unweighted UniFrac ( $F=2.760, P=0.042$ ) 距离参数表明 4h 时间点对对照组比实验组存在显著的 OTU 组成差异, Jaccard 参数临界显著 ( $F=2.536, P=0.055$ ), 而对稀有 OUT 不敏感的 Weighted UniFrac 则不显著 ( $F=0.688, P=0.738$ )。说明 4h 采样点, 对照组 C 相较于试验组 E 存在更多的物种丰度, 且贡献差异性的主要为稀有 OUT 的种类水平。此外, Weighted UniFrac ( $F=1.096, P=0.039$ ) 参数指出在 2h 时间点对对照组相比实验组中存在显著的 OUT 丰度差异, 这说明 2h 时间点在丰度较高的物种变化上面存在组间差异。

2.3.4 分析实验组 (E) 及对照组 (C) 在 2h/4h/8h 时间点 OTU 在组间的差异丰度物种 分析结果表明: 2h 时间点实验组 (E) 相较对照组 (C) 有 6 个差异丰度物种; 4h 时间点实验组 (E) 相较对照组 (C) 有 3 个差异丰度物种; 8h 时间点实验组 (E) 相较对照组 (C) 有 3 个差异丰度物种, 见图 6。

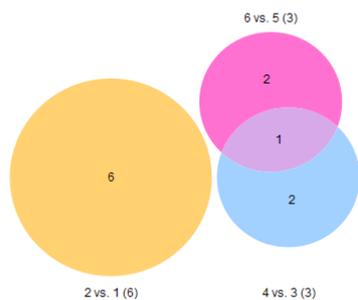


图 6

### 3 讨论

腹膜透析是一种侵入性治疗方法, 其导管置入膀胱直肠窝或子宫直肠窝后, 会增加机体感染的几率, 而腹膜透析液的主要成分为葡萄糖, 又为细菌的繁殖提供了天然的培养基。有研究表明, 腹膜炎是导致腹膜透析技术失败的主要因素<sup>[5, 6]</sup>, 而导管出口感染、隧道口感染等都可诱发腹膜炎的发生。因此, 预防和降低腹膜透析导管相关性感染, 具有重大的临床意义。

本研究中应用长效抗菌材料在同一个体上进行对比试验, 比较使用抗菌材料和不使用抗菌材料 (蒸馏水) 的皮肤表皮区域细菌生长和丰度的差异。本研究在细菌涂布结果中并未发现采样组间存在显著差异, 且大多数平板中细菌生长数目为 0, 其原因可能是, 20 位患者均为长期持续性腹膜透析患者, 治疗过程长达 3 个月以上, 病患日常使用三型安尔碘

进行消毒作业, 且采样前事先经过碘伏消毒, 皮肤表层细菌可能已经大量灭活; 此外本研究采样采用湿棉签擦拭皮肤表面, 可能无法触及皮肤深层细菌; 另外细菌涂布的 LB 培养基和培养方式并不完全适合所有类型细菌的生长。16s rRNA 扩增灰度分析表明 4h 时间点实验组相比对照组的皮肤表面细菌核酸水平细菌更低, 表面长效抗菌材料的抑菌效果至少可达 4h。本研究应用 index 标签技术混合 16s rRNA 扩增子以一个独立样本进行二代高通量测序, 结果表明样本组成丰度最高的为鞘脂单胞菌目 (Sphingomonadales) 下的多种鞘氨醇单胞菌。鞘氨醇单胞菌是一种严格需氧革兰氏阴性细菌, 其广泛存在于自然环境中, 对营养物质需求很低且耐消毒处理, 在医院环境中可通过污染供水系统、医疗设备器械等进行传播。近年已有鞘氨醇单胞菌引发院内感染和耐药性增强的报道 (少动鞘氨醇单胞菌临床感染分析及药敏监测)。本研究所有样本中均检测到大量的鞘氨醇单胞菌物种, 应引起警惕。组间物种丰度差异性分析显示 2h 时间点对对照组在丰度较高的物种上比实验组丰度更高, 而 4h 时间点, 对照组相较于实验组存在更多的物种丰度, 且贡献差异性的主要为稀有 OUT 的种类水平。上述结果表明, 长效抗菌材料在 2h 和 4h 对皮肤表面细菌产生了抑制作用。

选择高效的抗菌材料更有利于腹膜透析导管相关性感染的防治。近年来采用长效抗菌材料预防各类感染的临床研究逐年增多, 并都取得了较好的效果。吉冬丽<sup>[7]</sup>将长效抗菌材料应用于 PICC 皮肤护理中, 发现洁悠神对预防 PICC 穿刺点局部感染及皮肤过敏均有良好的效果。苏红侠等<sup>[8]</sup>比较了长效抗菌材料与洗必泰对留置尿管患者尿路感染 (CAUTI) 的预防效果, 结果表明, 长效抗菌材料的抗菌效果优于洗必泰。唐瑜<sup>[9]</sup>也开展了类似的临床研究, 对长效抗菌材料、莫匹罗星与炉甘石治疗新生儿脓疱疮的临床效果进行比较, 虽长效抗菌材料组和莫匹罗星组的治疗效果差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 但可避免抗生素长期使用而引起的耐药性, 且不良反应发生率低于莫匹罗星组。长效抗菌材料作为一种长效的物理抗菌药物, 能保持 8h 以上的抗菌功效。在本研究结果中已证明其在 2h 开始表现出抑菌效果。抑菌效果可达 (4 ~ 8) h。在药物长期使用导致耐药性、安全性和不良反应等方面均优于生物制剂。总之, 采用长效抗菌材料结合传统碘伏消毒液可充分利用碘伏短时间的强大杀菌能力和长效抗菌材料长时效的抑菌效果, 且无药物耐药性和不良反应, 可有效提高患者依从性, 对预防腹膜透析导管相关性感染的发生有良好效果, 值得临床推广应用。

#### 参考文献:

- [1] Berger JR, Hedayati SS. Renal replacement therapy in the elderly population [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2012, 7(6): 1039-1046.
- [2] Jain AK, Blake P, Cordy P, et al. Global trends in rates of peritoneal di-

·性病、艾滋病防治·

瑞丽市(1989~2016)年HIV/AIDS死亡病例空间分布与聚集性分析\*

李四乐<sup>1</sup>, 李洲林<sup>2</sup>, 郑尔达<sup>3</sup>, 汪沉波<sup>2</sup>, 刘 邦<sup>2</sup>, 彭 霞<sup>3</sup>, 李 洪<sup>3\*</sup>

(1. 昆明医科大学, 云南 昆明 650500; 2. 瑞丽市疾病预防控制中心, 云南 瑞丽 678500; 3. 云南省疾病预防控制中心, 云南 昆明 650022)

【摘要】目的 分析云南省瑞丽市28年来HIV感染者和患者死亡病例空间自相关及空间分布特征, 分析死亡病例热点区域随时间变化趋势, 得到其空间分布特征。方法 对瑞丽市(1989~2016)年HIV感染者和患者死亡病例进行全局空间自相关分析和局部空间自相关分析。结果 瑞丽市(1989~2016)年HIV感染者和患者死亡病例Moran's I值大于0, P值小于0.05, 全局空间呈正相关。空间分布有聚集性。局部空间自相关显示, 随着时间的累积, 热点区域逐渐增多, 冷点区域逐渐减少。从瑞丽市注射吸毒与异性传播两条传播途径感染的死亡病例分布来看, 注射吸毒途径感染死亡病例在(1989~1997)和(1998~2006)年间, 热点区域逐渐增加, 且主要聚集在中缅边境口岸及周边地区; 异性传播途径感染死亡病例在(2007~2016)年Moran's I值大于0, P值小于0.05, 全局空间呈正相关, 开始出现聚集分布。结论 瑞丽市HIV感染者和患者死亡病例存在空间聚集性, 聚集区域主要在中缅边境地区姐告口岸及周边区域。且聚集范围正在向中部地区扩散。今后应根据瑞丽市HIV感染者和患者死亡病例空间聚集性特点, 对死亡病例存在聚集性的地区应采取针对性的措施, 加强该地区HIV/AIDS防治。

【关键词】 HIV/AIDS; 空间分布; 自相关分析

中图分类号: R512.91; R195.4 文献标志码: B doi: 10.3969/j.issn.1002-1310.2019.03.011

瑞丽市位于德宏州南部, 其三面与缅甸山水相连, 自1989年首次在瑞丽市静脉吸毒人员中发现成批HIV感染者以来, 已成为云南省HIV/AIDS的重灾区。因瑞丽市特殊的地理位置, 且其流动人口与吸毒人员较多, HIV/AIDS病例在空间分布上有一定的规律, 为了解28年来瑞丽市HIV/AIDS死亡病例的空间分布与聚集性特征, 发现HIV/AIDS病例死亡聚集性地区, 加强该区域HIV/AIDS的防治。现对瑞丽市(1989~2016)年间HIV感染者和患者死亡病例空间分布与聚集性进行分析。

1 资料与方法

1.1 资料来源 瑞丽市上报到中国疾病预防控制中心信息系统-艾滋病综合防治信息系统中(1989~2016)年HIV/AIDS病例数据, 剔除地址不详及外籍病例。按报告和死亡时间整理HIV/AIDS病例并按住址统计病例所在行政村。本研究中所选地图为黄津等<sup>[1]</sup>在瑞丽市2003版地理信息系统(Geographic information system, GIS)电子地图的基础上制作的精确到行政村级别的电子地图。

1.2 方法

1.2.1 全局空间自相关 空间自相关(Spatial au-

tocorrelation)是指根据某一空间区域某种地理现象属性值与相邻空间区域的同一现象或属性值的相关程度, 通常分为全局自相关与局部空间自相关<sup>[2]</sup>。全局空间自相关常用Moran's I系数表示<sup>[3]</sup>。Moran's I指数取值范围为[-1, 1], 若Moran's I > 0且Z ≥ 1.96(即P ≤ 0.05)表示空间正相关性, 且Moran's I值越大, 空间相关性越明显, 表示该地区HIV感染者和患者死亡病例空间聚集性越明显; 若Moran's I < 0且Z ≤ -1.96(即P ≤ 0.05), 则认为空间自相关性为负相关性, Moran's I越小, 空间差异越大, 即该地区HIV/AIDS死亡病例空间分布越分散。若Moran's I = 0, 则空间呈随机性, 即该地区HIV/AIDS死亡病例空间分布呈随机分布。

1.2.2 局部空间自相关 通常用于检测整个研究区域内聚集区域的具体位置, 常用的统计量为Local Moran's I<sup>[4]</sup>指数和G<sub>i</sub><sup>\*</sup>指数<sup>[5, 6]</sup>。当G<sub>i</sub><sup>\*</sup>Z > 1.96时, 表示存在高值聚集区, 即为聚集热点区域; 当G<sub>i</sub><sup>\*</sup>Z < -1.96时, 表示存在低值聚集区, 即为聚集冷点区域。可根据冷热点区域变化来描述瑞丽市HIV感染者和患者死亡病例的分布变化情况。

1.2.3 统计分析 本研究用Microsoft Excel 2016

alysis[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(3):533-544.  
 [3] Saran R, Li Y, Robinson B, et al. US Renal Data System 2014 annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States[J]. Am J Kidney Dis, 2015, 66(Suppl1):S1-S305.  
 [4] Li PK, Szeto CC, Piraino B, et al. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update[J]. Perit Dial Int, 2010, 30(4):393-423.  
 [5] Jose MD, Johnson DW, Mudge DW, et al. Peritoneal dialysis practice in Australia and New Zealand: a call to action[J]. Nephrology, 2011, 16(1):19-29.

[6] Cho Y, Johnson DW. Peritoneal dialysis-related peritonitis: towards improving evidence, practices, and outcomes[J]. Am J Kidney Dis, 2014, 64(2):278-289.  
 [7] 吉冬丽. 洁悠神在PICC皮肤护理中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2011, 15(10):63-64.  
 [8] 苏红侠, 南存金, 周彬瑜, 等. 洁悠神预防留置尿管伴随机性尿路感染的临床研究[J]. 中华全科医学, 2015, 13(2):299-301.  
 [9] 唐瑜. 洁悠神、莫匹罗星与炉甘石治疗新生儿脓疱疮临床对比研究[J]. 当代医学, 2015, 21(27):129-130.

【收稿日期】 2019-01-25 ※ 通信作者: Email: lihongkmyn.cn@aliyun.com ★ 基金项目: 云南省院士工作站科技专项基金支持(2015IC031)