

重症监护室医院下呼吸道感染常见非发酵菌的耐药性与危险因素

贾育红,袁天柱,刘 滨

(广西医科大学第四附属医院,广西 柳州 545005)

[摘要] **目的** 探讨某院重症监护室(ICU)3种常见非发酵菌医院获得性下呼吸道感染的耐药性及多重耐药非发酵菌下呼吸道感染的危险因素。**方法** 对该院2009年1月—2010年12月ICU患者下呼吸道分离的182株3种常见非发酵菌分布及耐药情况进行分析;Logistic回归分析其中91例多重耐药菌医院获得性下呼吸道感染的危险因素。**结果** ICU下呼吸道感染最常见的3种非发酵菌分别是铜绿假单胞菌(41.36%,79/191)、鲍曼不动杆菌(40.32%,77/191)及嗜麦芽窄食单胞菌(13.62%,26/191)。鲍曼不动杆菌对第三、四代头孢菌素及喹诺酮类、氨基糖苷类药物耐药率达80%以上;铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药率在35%以上,对头孢曲松、头孢噻肟的耐药率达70%以上;嗜麦芽窄食单胞菌对复方磺胺甲噁唑的耐药率,2010年(66.67%)与2009年(7.14%)相比,显著上升($\chi^2 = 7.66, P = 0.00$),并出现了耐米诺环素菌株(8.33%)。医院感染持续时间 >2 周($OR = 4.53, P = 0.03$)、联合用药时间 >72 h($OR = 3.51, P = 0.03$)是独立的ICU多重耐药非发酵菌医院获得性下呼吸道感染危险因素。**结论** 非发酵菌为ICU医院获得性下呼吸道感染的重要病原菌,耐药严重。严格把握入住ICU临床标准,针对有意义的危险因素采取相应措施预防与控制医院感染的发生,严格控制抗菌药物使用指征等对防止下呼吸道多重耐药非发酵菌感染非常重要。

[关键词] 医院感染;重症监护室;下呼吸道感染;非发酵菌;多重耐药菌;抗药性;微生物;危险因素

[中图分类号] R563.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2012)02-0104-05

Drug resistance and risk factors of non-fermentative bacterial healthcare-associated lower respiratory tract infection in an intensive care unit

JIA Yu-hong, YUAN Tian-zhu, LIU Bin (The Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the drug resistance of three common non-fermentative bacterial healthcare-associated lower respiratory tract (LRT) infection in an intensive care unit (ICU), and risk factors of multidrug resistant (MDR) non-fermentative bacterial infection. **Methods** Distribution and drug resistance of 182 non-fermentative isolates causing LRT in ICU patients from January, 2009 to December, 2010 were analyzed; risk factors for 91 cases infected with MDR non-fermentative bacteria were analyzed by Logistic regression analysis. **Results** The three most common non-fermentative bacteria were *Pseudomonas aeruginosa* (41.36%, 79/191), *Acinetobacter baumannii* (40.32%, 77/191), and *Stenotrophomonas maltophilia* (13.62%, 26/191); drug-resistant rate of *Acinetobacter baumannii* to the third and fourth generation cephalosporins, quinolones, and aminoglycosides were up to above 80%; drug-resistant rate of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem was above 35%, to ceftriaxone and cefotaxime was up to more than 70%; drug-resistant rate of *Stenotrophomonas maltophilia* to trimethoprim/sulfamethoxazole increased from 7.14% in 2009 to 66.67% in 2010 ($\chi^2 = 7.66, P = 0.00$), resistant rate to minocycline was 8.33%. Duration of healthcare-associated infection (HAI) >2 weeks ($OR = 4.53, P = 0.03$), drug combination use >72 hours ($OR = 3.51, P = 0.03$) were independent risk factors for MDR non-fermentative bacterial healthcare-associated LRT infection ($OR = 3.51, P = 0.03$). **Conclusion** Non-fermentative bacteria is the important pathogen in healthcare-associated LRT infection in ICU, with high rate of drug resistance. It is important to prevent MDR non-fermentative bacterial LRT infection by strict limitation on the indication of ICU admission, proper measures accord-

[收稿日期] 2011-11-02

[作者简介] 贾育红(1968-),女(汉族),河南省辉县市人,副主任医师,主要从事医院感染管理研究。

[通讯作者] 袁天柱 E-mail: yuanjiak@163.com

ing to risk factors, and strict control of antimicrobial agents.

[Key words] healthcare-associated infection; intensive care unit; lower respiratory tract infection; non-fermentative bacteria; multi-drug resistant bacteria; drug resistance, microbial; risk factor

[Chin Infect Control, 2012, 11(2): 104-108]

非发酵菌广泛分布于水、土壤及医院环境中, 营养条件要求较低, 近年来已成为医院感染的重要病原菌, 最常见的为铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌。笔者分析本院 2009 年 1 月—2010 年 12 月重症监护室 (ICU) 住院患者下呼吸道标本分离的非发酵菌的分布特点、对抗菌药物的耐药性以及医院获得性多重耐药非发酵菌下呼吸道感染的危险因素, 以便针对性地采取预防控制措施。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2009 年 1 月—2010 年 12 月本院 ICU 送检的下呼吸道标本分离细菌, 其中非发酵菌 191 株, 3 种常见非发酵菌铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌共 182 株。符合诊断标准^[1]的非发酵菌医院获得性下呼吸道感染患者 142 例, 其中男性 113 例 (79.58%), 女性 29 例 (20.42%); 年龄 1~88 岁, 平均年龄 67.24 岁; 入住 ICU 时间 3~186 d, 平均 12.73 d。

1.2 方法 入住 ICU > 48 h 的患者涂片合格痰液、支气管肺泡灌洗液培养出铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌共 182 株 (同一患者多次分离到同一菌株不重复计入), 分别统计 2009 年、2010 年各菌种对抗菌药物的耐药率, 并收集 142 例医院获得性下呼吸道感染患者的临床资料。根据药敏试验, 将 142 例医院获得性下呼吸道感染患者分为多重耐药组 91 例, 非多重耐药组 51 例^[2], 分别记录各组年龄、基础疾病、病程、各种侵入性操作持续应用时间、抗菌药物使用情况以及是否留置胃管、吸痰、气道湿化、无创通气, 是否使用肾上腺糖皮质激素和制酸剂等; 留取标本前留置导尿管时间、深静脉置管时间、气管切开或插管时间、有创通气时间分别以 > 5 d 和 ≤ 5 d 记录。

1.3 细菌鉴定与药敏试验 采用 Microscan Auto-scan-4 微生物分析仪对细菌进行鉴定及药敏试验。抗菌药物纸片为: 替卡西林/克拉维酸 (TIM)、亚胺培南 (IPM)、头孢他啶 (CAZ)、头孢噻肟 (CTX)、头孢曲松 (CRO)、头孢吡肟 (FEP)、氨基曲南 (ATM)、庆大霉素 (GEN)、阿米卡星 (AMK)、妥布霉素 (TOB)、环丙沙

星 (CIP)、左氧氟沙星 (LVX)、哌拉西林 (PFP)、复方磺胺甲噁唑 (SXT)、米诺环素 (MIN)、哌拉西林/他唑巴坦 (TZP)。药敏试验判断标准和结果解释参照美国临床实验室标准化研究所 (CLSI) 标准^[3], 并定期用标准菌株进行药敏质量控制。大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853, 由中国普通微生物菌种保藏中心提供。

1.4 统计方法 应用 WHONET5.4 软件对病原学培养原始数据进行分析; SPSS 13.0 统计软件作统计学分析, 两组间率的比较采用 χ^2 检验; 危险因素分析, 先进行单因素 Logistic 回归分析筛选可能的危险因素, 再进行多因素 Logistic 回归分析, 均计算比值比 (OR) 及 95% 可信区间 (CI), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非发酵菌分离率和构成情况 下呼吸道标本分离出细菌 435 株, 其中非发酵菌 191 株, 占 43.91%, 以铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌为主, 共 182 株, 占 95.29% (182/191), 详见表 1。

表 1 ICU 下呼吸道标本分离的非发酵菌菌种构成
Table 1 Non-fermentative bacteria isolated from LRT of ICU patients

Non-fermentative bacteria	No. of isolates	Constituent ratio (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	79	41.36
<i>Acinetobacter baumannii</i>	77	40.32
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	26	13.62
<i>Acinetobacter lwofii</i>	4	2.10
<i>Pseudomonas oxytrophilans</i>	1	0.52
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	0.52
<i>Empedobacter brevis</i>	1	0.52
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	1	0.52
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0.52
Total	191	100.00

2.2 3 种常见非发酵菌下呼吸道感染者基础疾病构成 颅脑疾病是 3 种常见非发酵菌医院获得性下呼吸道感染基础疾病的主要病种, 占 34.51% (49/

142),其次是恶性肿瘤,占 19.01%(27/142)。

2.3 2009、2010 年 3 种常见非发酵菌下呼吸道感染情况 142 例 3 种常见非发酵菌下呼吸道感染者

中,2009 年多重耐药菌感染 45 例,2010 年 46 例,两年间变化差异无统计学意义($P = 0.40$),详见表 2。

表 2 3 种常见下呼吸道感染多重耐药非发酵菌分离情况(株)

Table 2 Isolation of three common non-fermentative bacteria in LRT infection(isolate)

Non-fermentative bacteria	2009(n=74)		2010(n=68)		χ^2	P
	Non-MDR	MDR	Non-MDR	MDR		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	26	6	26	0.15	0.70
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	11	15	14	0.80	0.37
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	8	1	6	0.16	0.69
Total	29	45	22	46	0.72	0.40

2.4 3 种常见非发酵菌耐药情况 鲍曼不动杆菌与铜绿假单胞菌相比,总体耐药率较高,对第三、四代头孢菌素、喹诺酮类及氨基糖苷类部分药物耐药率达 80%以上;对 IPM 耐药率最低,仅在 2010 年出现 1 株(2.56%)耐药株。2010 年铜绿假单胞菌对 IPM 的耐药率为 35.71%,对 CRO、CTX 的耐药率达 70%以上,但 2010 年与 2009 年相比,对 TIM、氨

基糖苷类抗菌药物耐药率均有下降,且对 TIM、AMK 耐药率明显降低,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.88, P = 0.03; \chi^2 = 4.23, P = 0.04$)。嗜麦芽窄食单胞菌天生耐 IPM, TIM、LVX 耐药率较低;2010 年与 2009 年相比,其对 SXT 的耐药率上升,差异有统计学意义($\chi^2 = 7.66, P = 0.00$),并出现了耐 MIN 菌株,详见表 3。

表 3 下呼吸道标本分离的 3 种常见非发酵菌耐药情况(耐药株数,%)

Table 3 Drug resistance of three common non-fermentative bacteria isolated from LRT(No. of resistant isolate,%)

Antimicrobial agent	<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	
	2009(n=38)	2010(n=39)	2009(n=37)	2010(n=42)	2009(n=14)	2010(n=12)
TIM	30(78.95)	29(74.36)	29(78.38)	23(54.76)*	3(21.43)	1(8.33)
IPM	0(0.00)	1(2.56)	13(35.14)	15(35.71)	14(100.00)	12(100.00)
CAZ	33(86.84)	33(84.62)	16(43.24)	19(45.24)	6(42.86)	4(33.33)
CTX	33(86.84)	33(84.62)	29(78.38)	32(76.19)	8/8(100.00)	4/5(80.00)
CRO	33(86.84)	33(84.62)	28(75.68)	31(73.81)	8/8(100.00)	5/5(100.00)
FEP	33(86.84)	33(84.62)	14(37.84)	16(38.10)	8/8(100.00)	5/5(100.00)
ATM	23(60.53)	22(56.41)	18(48.65)	20(47.62)	8/8(100.00)	5/5(100.00)
GEN	32(84.21)	32(82.05)	8(21.62)	5(11.90)	8/8(100.00)	5/5(100.00)
AMK	31(81.58)	29(74.36)	7(18.92)	1(2.38)*	8/8(100.00)	5/5(100.00)
TOB	31(81.58)	31(79.49)	7(18.92)	3(7.14)	8/8(100.00)	5/5(100.00)
CIP	34(89.47)	33(84.62)	17(45.95)	19(45.24)	3/8(37.50)	1/5(20.00)
LVX	20(52.63)	24(61.54)	20(54.05)	22(52.38)	1(7.14)	2(16.67)
PFP	33(86.84)	33(84.62)	19(51.35)	23(54.76)	-	-
SXT	32(84.21)	39(100.00)	-	-	1(7.14)	8(66.67)*
MIN	-	-	-	-	0(0.00)	1(8.33)
TZP	-	-	16(43.24)	18(42.86)	-	-

* : There was significant difference in drug-resistant rate between 2009 and 2010

2.5 多重耐药非发酵菌下呼吸道感染危险因素分析 142 例医院获得性常见非发酵菌下呼吸道感染病例中,多重耐药菌感染 91 例,非多重耐药菌感染 51 例。单因素 Logistic 回归分析结果表明,入住 ICU >5 d 发生多重耐药非发酵菌下呼吸道感染的风险是入住 ICU ≤5 d 的 5.79 倍(OR = 5.79);医院感染持续时间 >2 周者出现多重耐药非发酵菌下

呼吸道感染的风险是医院感染持续时间 ≤2 周者的 6.60 倍(OR = 6.60);留置导管时间 >5 d、有创通气时间 >5 d、吸痰、合并其他微生物感染、前期碳青霉烯类或喹诺酮类抗菌药物的使用、抗菌药物使用品种 >3 种、联合用药 >72 h 均是有意义的单因素。多重耐药非发酵菌下呼吸道感染的死亡风险是非多重耐药菌株感染病例的 3.04 倍(OR = 3.04)。多因素

Logistic 回归分析结果表明,医院感染持续时间>2 周、联合用药时间>72 h 是独立的危险因素,详见表 4 和表 5。

表 4 多重耐药非发酵菌下呼吸道感染危险因素单因素 Logistic 回归分析

Table 4 Univariate Logistic regression analysis on risk factors for MDR non-fermentative bacterial LRT infection

Risk factor	MDR (n = 91)	Non-MDR (n = 51)	Regression coefficient	Standard error	Wald	P	OR	95% CI
Age >65 years	58	29	0.29	0.36	0.65	0.42	1.33	0.66~2.68
Male	76	37	0.65	0.42	2.38	0.12	1.92	0.84~4.39
Length of stay>30 days	30	10	0.70	0.42	2.83	0.09	2.02	0.89~4.57
* In ICU >5 days	73	21	1.76	0.39	20.55	0.00	5.79	2.71~12.38
* Duration of HAI >2 weeks	38	5	1.89	0.52	13.33	0.00	6.60	2.40~18.16
* Indwelling urethral catheterization>5 days	73	21	1.76	0.39	20.55	0.00	5.79	2.71~12.38
Indwelling gastric tube	73	37	0.43	0.41	1.09	0.30	1.54	0.69~30.42
* Central venous catheterization>5 days	73	21	1.76	0.39	20.55	0.00	5.79	2.71~12.38
* Tracheotomy or tracheal intubation>5 days	60	17	1.35	0.37	13.36	0.00	3.87	1.87~8.00
* Suctioning	89	45	1.78	0.84	4.53	0.03	5.93	1.15~30.59
* Invasive ventilation>5 days	50	13	1.27	0.38	10.94	0.00	3.57	1.68~7.57
Non-invasive ventilation	13	8	-0.11	0.49	0.05	0.82	0.90	0.34~2.33
Use of hormone	30	23	-0.51	0.36	2.04	0.15	0.60	0.30~1.21
Use of antacid	71	32	0.76	0.39	3.76	0.05	2.11	0.99~4.48
Use of airway humidification	83	42	0.80	0.52	2.35	0.13	2.22	0.80~6.18
* Associated with fungal infection	49	18	0.76	0.36	4.44	0.04	2.14	1.06~4.34
* Associated with other bacterial infection	71	30	0.91	0.38	5.71	0.02	2.49	1.18~5.24
* Use of carbapenem	33	8	1.12	0.44	6.38	0.01	3.06	1.29~7.28
Use of third and fourth generation cephalosporins	89	48	1.02	0.93	1.21	0.27	2.78	0.45~17.22
* Use of quinolones	50	17	0.89	0.36	5.99	0.01	2.35	1.20~4.98
* Antimicrobial use>3 kinds	73	25	1.44	0.38	14.02	0.00	4.22	1.99~8.96
* Drug combination use>72 hours	77	24	1.82	0.40	20.36	0.00	6.19	2.80~13.66
Hospitalization>2 times per year	38	21	0.02	0.36	0.01	0.95	1.02	0.51~2.06
Death	65	23	1.11	0.37	9.31	0.00	3.04	1.49~6.22

* : Meaningful risk factors in univariate Logistic regression analysis

表 5 多重耐药非发酵菌下呼吸道感染危险因素多因素 Logistic 回归分析

Table 5 Multivariate Logistic regression analysis on risk factors for MDR non-fermentative bacterial LRT infection

Risk factor	Regression coefficient	Standard error	χ^2	P	OR	95% CI
Duration of HAI>2 weeks	1.51	0.68	4.99	0.03	4.53	1.20~17.05
Drug combination use>72 hours	1.26	0.57	4.92	0.03	3.51	1.16~10.64
Constant	-3.42	1.58	4.68	0.03	0.03	

3 讨论

非发酵菌是医院常见定植菌和条件致病菌,感染部位以下呼吸道多见,耐药率高,给临床抗感染治疗带来严峻挑战。本次调查 ICU 非发酵菌分离率达 43.91%,与国内报道^[4]一致。提示应重视对非发酵菌的检测并加强感染控制。

分析本组资料发现,伴有严重基础疾病如颅脑疾病、恶性肿瘤、慢性阻塞性肺病(COPD)合并呼吸衰竭、糖尿病、尿毒症、严重烧伤等患者因免疫功能低下,常导致非发酵菌感染,且多为多重耐药菌感染,临床治疗棘手,病死率高。本组多重耐药非发酵

菌下呼吸道感染者死亡风险是非多重耐药株感染病例的 3.04 倍(OR = 3.04)。

铜绿假单胞菌对 IPM 的耐药率(达 35%以上)较鲍曼不动杆菌高,但低于国内相关报道^[4]。考虑与 2008 年起,医院规范抗菌药物使用,尤其限制碳青霉烯类抗生素及万古霉素等药物使用权限,严格控制用量有关。铜绿假单胞菌对 TIM、氨基糖苷类药物耐药性,2010 年与 2009 年相比,均有下降,且对 TIM、AMK 耐药性下降明显,差异有统计学意义(P<0.05)。分析其原因,与严格掌握医院感染病原学诊断标准,减少对污染及定植菌不必要的治疗,且 TIM 为医院非常规购入药品,日常用量较少有

关;而 AMK 临床使用范围相对较广,用量较大,其耐药性下降原因尚不明确。虽然铜绿假单胞菌对氨基糖苷类药物耐药性较低,但此类药物肾毒性较大,主要在联合治疗时使用,临床较少单独使用。嗜麦芽窄食单胞菌对 SXT 的耐药率,2010 年较 2009 年上升明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。因为本院临床 SXT 用量少,考虑其耐药率上升是否与细菌存在 *sul1*、*sul2* 基因有关^[5],尚待进一步证实;2010 年嗜麦芽窄食单胞菌对 LVX、TIM、MIN 耐药率较低(分别为 16.67%、8.33%、8.33%),但临床效果不理想,与何清等报道结果^[6]相似。从耐药情况分析,非发酵菌耐药种类较多,耐药率高,尤其是对多重耐药菌感染者的临床治疗药物选择范围窄,治疗难度较大。IPM 仍是治疗鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌感染的有效选择,应重视 IPM 的规范使用,防止其耐药率快速上升。

危险因素单因素 Logistic 回归分析表明,入住 ICU > 5 d、医院感染持续时间 > 2 周、合并真菌感染、合并其他细菌感染、使用碳青霉烯类或喹诺酮类药物、使用抗菌药物品种 > 3 种、联合用药时间 > 72 h 均为发生多重耐药非发酵菌下呼吸道感染的危险因素,与国内报道^[7]类似。本组患者均有侵入性操作史,各种侵入性操作增加了细菌获得耐药基因的机会。侵入性操作应用时间 > 5 d 与 ≤ 5 d 者相比,发生多重耐药菌感染的危险明显增加,提示应对留置管路进行评估,尽早拔除。合并其他菌种感染使不同种属细菌间相互传播耐药基因的概率增加;反复发生医院感染及抗菌药物长期使用或联合应用导致菌株产生获得性耐药。近年的研究^[8]显示,细菌对药物的主动外排可导致细菌发生高水平耐药,碳青霉烯类、喹诺酮类药物均可诱导主动外排高表达,而与碳青霉烯类、喹诺酮类药物耐药性有关的主动外排系统多为多重耐药泵,导致细菌对多种抗菌药物的耐药性增加。危险因素多因素 Logistic 回归分析结果显示,医院感染持续时间 > 2 周、联合用药时间 > 72 h 是产生多重耐药非发酵菌下呼吸

道感染的独立危险因素。

非发酵菌感染宿主多为免疫功能低下和实施侵袭性操作者,针对上述危险因素,本院 ICU 已采取以下措施加以防控:(1)加强医务人员及探视人员手卫生培训教育,提高手卫生依从性,2011 年上半年手消毒剂消耗量达 26.3 mL/床日;(2)在已开展 ICU 目标性监测的基础上,对留置导尿管、气管插管、机械通气、深静脉置管患者每日评估其留置的必要性,尽早拔除;(3)针对监测发现的问题,每月对 ICU 医护人员进行医院感染相关知识专题培训;(4)加强 ICU 日常清洁、消毒管理,每年对科室内部进行彻底封闭消毒 1 次;(5)呼吸机螺纹管、湿化瓶等交由消毒供应中心统一清洗消毒;(6)继续加强抗菌药物的管理,尤其是碳青霉烯类药物及万古霉素的管理;(7)严格掌握入住 ICU 临床标准,及时转出病情好转患者,缩短 ICU 入住时间。

[参 考 文 献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[S]. 北京, 2001.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 多重耐药菌感染预防和控制技术指南(试行)[S]. 北京, 2011.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eighteenth informational supplement[S]. CLSI, 2008; M100-S18.
- [4] 肖永红. Mohnarín 2008 年度 ICU 细菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(16): 2384 - 2388.
- [5] 黄金伟, 陈苏伟, 黄建胜, 等. 嗜麦芽寡养单胞菌 *sul1*、*sul2* 基因与复方新诺明耐药关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(6): 618 - 620.
- [6] 何清, 陈燕涛, 曾丽萍, 等. 外科重症监护室 5 年医院感染资料回顾性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(4): 251 - 254.
- [7] 蔡兴东, 胡成平, 钟有清, 等. 院内外呼吸道非发酵菌感染的调查及多重耐药非发酵菌下呼吸道感染危险因素分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2009, 8(1): 28 - 32.
- [8] 潘晓娴, 唐英春. 喹诺酮类抗菌药耐药机制研究进展[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2005, 5(3): 187 - 191.