

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2015.07.004

· 论 著 ·

新生儿病房分离金黄色葡萄球菌耐药性及耐消毒剂基因检测

雷新云, 金正江

(湖北省妇幼保健院, 湖北 武汉 430070)

[摘要] 目的 了解新生儿病房送检标本中金黄色葡萄球菌的耐药谱及耐消毒剂基因携带情况。方法 收集 2013 年 1—12 月某院新生儿病房住院新生儿送检标本分离的金黄色葡萄球菌, 采用 VITEK 2 Compact 细菌鉴定分析系统进行细菌鉴定及药敏试验, 采用聚合酶链反应 (PCR) 检测耐消毒剂 *qacA/B* 基因。结果 新生儿科送检标本中共分离 225 株金黄色葡萄球菌, 主要来源于呼吸道 (72.44%) 和脐部分泌物 (14.33%); 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 检出率为 8.89% (20 株); 耐药监测中, MRSA 的耐药率普遍高于甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA)。左氧氟沙星、莫西沙星、替加环素、万古霉素、利奈唑胺及呋喃妥因对所有金黄色葡萄球菌均显示出良好的抗菌活性, 敏感率均为 100%。携带 *qacA/B* 基因的金黄色葡萄球菌有 21 株, 阳性率为 9.33%, 其中 MRSA 3 株 (15.00%), MSSA 18 株 (8.78%)。结论 新生儿病房分离的 MRSA 耐药严重, 同时携带 *qacA/B* 基因, 应引起临床重视。

[关键词] 新生儿; 金黄色葡萄球菌; 抗药性; 微生物; 耐消毒剂基因

[中图分类号] R181.3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)07-0447-03

Drug resistance and disinfectant-resistant genes of *Staphylococcus aureus* from neonates at a neonatal ward

LEI Xin-yun, JIN Zheng-jiang (Hubei Maternal and Child Health Hospital, Wuhan 430070, China)

[Abstract] **Objective** To realize drug resistance pattern and disinfectant-resistant genes (*qacA/B*) of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) from neonates at a neonatal ward. **Methods** *S. aureus* from neonates between January and December 2013 were identified and performed antimicrobial susceptibility testing by VITEK 2 Compact system, *qacA/B* gene was detected by polymerase chain reaction (PCR). **Results** 225 *S. aureus* strains were isolated, which were mainly from respiratory tract (72.44%) and umbilical secretion (14.33%); isolation rate of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) was 8.89% ($n = 20$); antimicrobial resistant rate of MRSA was generally higher than methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA); levofloxacin, moxifloxacin, tigecycline, vancomycin, linezolid, and nitrofurantoin were all had high antimicrobial activity against all *S. aureus*, susceptibility rates were all 100%. 21 (9.33%) *S. aureus* carried *qacA/B*, 3 (15.00%) of which were MRSA, and 18 (8.78%) were MSSA. **Conclusion** Drug resistance of MRSA isolated from neonates in neonatal ward is serious, MRSA strains carry *qacA/B*, which should be paid more attention.

[Key words] neonate; *Staphylococcus aureus*; drug resistance, microbial; disinfectant-resistant gene

[Chin Infect Control, 2015, 14(7): 447-449]

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, SA) 分布广泛, 毒力强, 易引起新生儿各种感染。一旦发生感染, 由于新生儿自身原因, 多种抗菌药物使用受限, 除 β -内酰胺类, 可选用药物不多。耐甲氧西林金黄色

葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 对 β -内酰胺类、红霉素类等多种抗菌药物耐药, 该菌的出现给临床治疗带来极大困难。因此, 预防感染尤为重要, 消毒剂的使用是有效的措施之一。

[收稿日期] 2014-09-12

[基金项目] 湖北省自然科学基金资助项目 (2011CHB002)

[作者简介] 雷新云 (1968-), 女 (汉族), 湖北省鄂州市人, 副主任护师, 主要从事医院感染防控管理研究。

[通信作者] 金正江 E-mail: king199735@126.com

近年来,不断有文献报道 MRSA 携带耐消毒剂基因,对多种消毒剂产生抗性,携带率各地区各有不同^[1-2]。为了解本院新生儿病房 SA 的耐药性及耐消毒剂的情况,本研究对新生儿病房送检标本分离的 SA 耐药谱进行了分析,并对其是否携带耐消毒剂基因 *qacA/B* 进行了检测,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 菌株来源 2013 年 1—12 月新生儿科住院新生儿送检标本分离的 225 株 SA,标本类型包括:痰、尿、胃液、粪便等,剔除同一患者重复菌株。

1.2 细菌鉴定及药敏试验 细菌鉴定及药敏试验采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动鉴定系统。试剂采用系统配套的 GP 卡和 GP67 卡。质控菌株为 SA ATCC 29213,频率为每周一次。

1.3 *qacA/B* 基因检测 采用聚合酶链反应(PCR)方法对耐消毒剂基因 *qacA/B* 进行检测,特异性引物为 5'-GCAGAAAGTGCAGAGTTCG-3' 和 5'-CCAGTCCAATCATGCCTG-3',产物长度为 361 bp,PCR 体系参数设置为:25 μL PCR 反应体系包括 10×PCR 缓冲液 2.5 μL,DNTP 2.0 μL (2.5 mmol/L),引物各 2.5 μL (10 μmol/L),无菌去离子水 12.7 μL,DNA 模板 2.5 μL,0.3 μL TaqDNA 聚合酶。96℃ 预变性 3 min,然后 94℃ 20 s,53℃ 20 s,72℃ 20 s,循环 25 个周期,最后 72℃ 5 min^[3]。

2 结果

2.1 标本来源 225 株 SA 标本来源以呼吸道分泌物为主,占 72.44%;20 株 MRSA 中,呼吸道分泌物占 65.00%。见表 1。

表 1 225 株 SA 标本来源分布

Table 1 Specimen distribution of 225 *S. aureus* isolates

标本类型	株数	构成比 (%)	MRSA 株数	构成比 (%)
呼吸道分泌物	163	72.44	13	65.00
脐部分泌物	39	17.33	5	25.00
眼分泌物	13	5.78	1	5.00
脓液	5	2.22	1	5.00
粪便	4	1.78	0	0.00
尿	1	0.45	0	0.00
合计	225	100.00	20	100.00

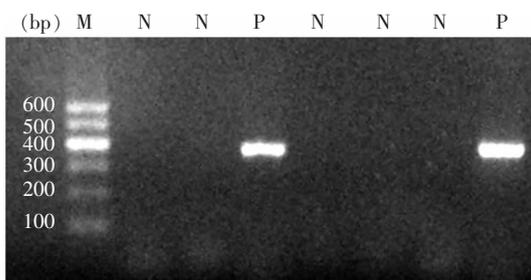
2.2 药敏试验 225 株 SA 中,MRSA 20 株(占 8.89%),甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA)205 株(占 91.11%)。耐药率见表 2。

表 2 225 株 SA 对常用抗菌药物的耐药率(%)

Table 2 Resistant rates of 225 *S. aureus* isolates to commonly used antimicrobial agents(%)

抗菌药物	MRSA(n=20)	MSSA(n=205)
青霉素	100.00	96.10
苯唑西林	100.00	0.00
庆大霉素	10.00	3.90
万古霉素	0.00	0.00
利奈唑胺	0.00	0.00
四环素	75.00	2.44
红霉素	85.00	44.88
替加环素	0.00	0.00
克林霉素	85.00	41.46
左氧氟沙星	0.00	0.00
环丙沙星	20.00	1.46
莫西沙星	0.00	0.00
呋喃妥因	0.00	0.00
复方磺胺甲噁唑	75.00	2.44
利福平	10.00	0.00

2.3 *qacA/B* 基因检测 225 株 SA 中 21 株携带 *qacA/B* 基因,阳性率为 9.33%。其中 MRSA 3 株,阳性率为 15.00%(3/20);MSSA 18 株,阳性率为 8.78%(18/205),两者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 148.84, P < 0.01$)。PCR 电泳图见图 1。



M:DNA Marker;P:阳性标本;N:阴性标本

图 1 *qacA/B* 基因检测电泳图

Figure 1 Electrophoresis map of PCR product of *qacA/B* gene

3 讨论

革兰阳性球菌在新生儿细菌感染中占重要地位,其细菌谱分布中 SA 居首位^[4]。SA 是一种需氧或兼性厌氧革兰阳性球菌,可存在于外界环境及人

体口腔、鼻咽等部位,是人类化脓性感染中最常见的病原菌,可引起局部化脓性感染,也可引起肺炎、假膜性肠炎、心包炎等,甚至可引起败血症、脓毒症等全身感染。本研究中,从标本来源分析,呼吸道分泌物占 72.44%,可见在 SA 引起的新生儿感染中,呼吸道感染占主要地位;其次为胃肠道感染,粪便标本占 1.78%。在局部感染中,脐部、眼及其他部位的化脓性分泌物共占 25.33%。新生儿抵抗力差,如消毒隔离措施不到位,护理不当,极易引起脐部等部位的化脓性感染,一旦感染需及时合理选用抗菌药物,采取有效护理措施,防止感染症状向全身蔓延。

本研究中,MRSA 检出率为 8.89%,低于相关文献^[5-6]报道,可能存在地区及人群之间的差异。MRSA 的耐药性与青霉素结合蛋白 2a (penicillin-binding protein 2a, PBP2a) 有关^[7]。PBP2a 由 *mecA* 基因编码,具有高度保守性,*mecA* 基因检测阳性即为 MRSA。但近年来有文献^[8]报道,MRSA 菌株中并非均携带 *mecA* 基因,说明可能还存在其他耐药机制,值得关注。本研究中,SA 对红霉素、克林霉素、四环素、庆大霉素、环丙沙星及复方磺胺甲噁唑的耐药率高低不等,但 MRSA 的耐药率普遍高于 MSSA。左氧氟沙星、莫西沙星、替加环素、万古霉素、利奈唑胺及呋喃妥因对所有 SA 均显示出良好的抗菌活性,敏感率均为 100%。因此,在 MRSA 感染危重患儿中,万古霉素可作为经验治疗的首选。但随着万古霉素的应用越来越多,近年来不断有万古霉素中介 SA 和异质性万古霉素耐药 SA 的报道,本研究中虽未发现,但也应引起警惕,注意合理用药,严防该类菌株的出现。

SA 由于其毒力强,感染广泛及耐药严重而一直受到人们的关注。近年来,由于各种消毒剂在临床被广泛使用,SA 对消毒剂的抗性及耐消毒剂机制的研究也日益受到各界的重视。SA 对消毒剂的抗性主要与外排泵系统有关,由质粒或染色体上的相关蛋白基因编码,种类繁多,作用机制均为借助质子泵的动力将胞内抗菌物质排出胞外,使其达不到有效抗菌浓度而产生耐药。季胺类消毒剂基因 (*qac*) 在 SA 耐消毒剂机制中发挥重要作用,*qac* 基因由于在亲脂性消毒剂外排机制中发挥重要作用而得名,编码蛋白型的外排系统。目前 *qac* 基因家族已发现有 10 余种,其中 *qacA/B* 基因存在于葡萄球菌的质粒中。*qacA* 基因与 *qacB* 基因虽然作用底物不同,但结构十分相似,相差仅为几个核苷酸,普通

PCR 方法无法区分^[9]。因此,本研究中参考有关文献设计通用引物对其进行检测。结果显示,225 株 SA 中检出 *qacA/B* 基因 21 株,阳性率为 9.33%,其中 MRSA 菌株 3 株,阳性率为 15.00%,MSSA 菌株 18 株,阳性率为 8.78%,结果与有关报道^[10]相似。研究表明,MRSA 菌株的耐消毒剂机制可能与其耐药机制协同发挥作用,本研究中是否存在该现象有待进一步研究。

总之,新生儿 SA 感染中,在关注耐药性的同时应关注其对消毒剂的抗性。在医院感染控制中应以预防为主,加强消毒管理,提高手卫生依从性,加强新生儿基础疾病护理,合理使用抗菌药物和消毒剂,切实有效做好预防感染的发生或流行,保障新生儿生命健康安全。

[参 考 文 献]

- [1] 姜爱英, 应俊, 管瑜, 等. 临床分离的金黄色葡萄球菌 *mecA* 和 *qacA/B* 基因检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(9): 1212-1215.
- [2] 陈迎晓, 刘俊, 李小四, 等. 金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因及抗生素耐药相关基因检测[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(12): 1103-1105.
- [3] Noguchi N, Suwa J, Narui K, et al. Susceptibilities to anti-septic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999[J]. J Med Microbiol, 2005, 54(Pt6): 557-565.
- [4] 王维鹏, 金正江. 新生儿葡萄球菌属感染及防治对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(11): 1250-1251.
- [5] 吴旭琴, 冯薇, 乔美珍, 等. 2007—2010 年金黄色葡萄球菌临床分离与耐药变迁[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(1): 55-58.
- [6] 贾云霞, 刘兴莉, 彭旭华, 等. 儿科重症监护室病原菌分布及其耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(3): 211-213, 216.
- [7] 王辉, 陈宏斌. 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌的实验室诊断[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(6): 420-422.
- [8] 李晓芳, 范昕建, 过孝静. 金黄色葡萄球菌耐药机制的研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2006, 37(3): 365-368.
- [9] 卢中一, 陈勇, 陈伟, 等. 金黄色葡萄球菌对消毒剂的抗性及其流行病学研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2014, 13(7): 442-446.
- [10] 周庭权, 黄文祥, 贾蓓, 等. 金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因 *qacA* 的流行病学研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(4): 283-285.

(本文编辑:陈玉华)