

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2015.01.004

· 论 著 ·

消毒剂耐药基因 *qacEΔ1* 对新生儿科常见革兰阴性菌耐药性的影响

雷新云, 金正江

(湖北省妇幼保健院, 湖北 武汉 430070)

[摘要] 目的 研究消毒剂耐药基因 *qacEΔ1* 对常见革兰阴性(G^-)菌耐药性的影响。方法 对 2013 年 7—12 月某院新生儿科住院患儿送检标本分离的 G^- 菌进行检测和药敏试验, 应用聚合酶链反应(PCR)法对其 *qacEΔ1* 基因进行检测。结果 共收集 608 株 G^- 菌, 以肺炎克雷伯菌(216 株)居多, 其次为大肠埃希菌(128 株)、阴沟肠杆菌(77 株)、鲍曼不动杆菌(62 株)及铜绿假单胞菌(19 株)。5 种主要细菌 *qacEΔ1* 基因阳性率为 62.75%(315/502), 其中鲍曼不动杆菌 *qacEΔ1* 基因阳性率最高(87.10%)。主要细菌中, *qacEΔ1* 基因阳性和阴性菌株对哌拉西林、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、复方磺胺甲噁唑的耐药率比较, 差异有统计学意义(均 $P \leq 0.05$)。5 种主要细菌对哌拉西林、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南耐药率均高。结论 新生儿病房中分离的 5 种主要 G^- 菌耐消毒剂基因阳性率高, *qacEΔ1* 基因阳性菌株对哌拉西林、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、复方磺胺甲噁唑耐药率更高。

[关键词] 革兰阴性菌; 耐药; 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)01-0020-04

Effect of disinfectant resistance gene *qacEΔ1* on the drug resistance of commonly isolated gram-negative bacteria in neonatal intensive care unit

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

[Abstract] **Objective** To study the effect of disinfectant resistance gene *qacEΔ1* on the drug resistance of commonly isolated gram-negative bacteria. **Methods** Gram-negative bacteria isolated from neonates in a neonatal intensive care unit (NICU) in July-December 2013 were detected and performed antimicrobial susceptibility testing, *qacEΔ1* gene were detected by polymerase chain reaction. **Results** A total of 608 gram-negative bacteria were collected, the major isolates were *Klebsiella pneumoniae* ($n = 216$), followed by *Escherichia coli* ($n = 128$), *Enterobacter cloacae* ($n = 77$), *Acinetobacter baumannii* ($n = 62$), and *Pseudomonas aeruginosa* ($n = 19$). The positive rate of *qacEΔ1* gene in above five bacteria was 62.75%(315/502), *Acinetobacter baumannii* was the highest (87.10%). *qacEΔ1*-positive and negative strains showed statistical difference in the resistance rates to piperacillin, cefepime, aztreonam, imipenem, and compound sulfamethoxazole (all $P \leq 0.05$). The resistance rate of five strains to piperacillin, ceftazidime, cefepime, and aztreonam were all high. **Conclusion** The positive rates of *qacEΔ1* in five major gram-negative bacteria from neonates in NICU are all high, *qacEΔ1*-positive strains have even higher resistance rates to piperacillin, cefepime, aztreonam, imipenem, and compound sulfamethoxazole.

[Key words] gram-negative bacteria; drug-resistance; drug-resistance, microbial; disinfectant resistant gene

[Chin Infect Control, 2015, 14(1):20-22,34]

革兰阴性(G^-)菌广泛存在于外界环境, 在新生儿细菌性感染中占重要地位; 其耐药机制复杂, 耐药性强, 且容易通过质粒水平或垂直传播。同时, 由于

消毒剂的广泛使用, G^- 菌对消毒剂的抗性不断增加, 细菌耐药的同时是否耐消毒剂, 成为人们关注的热点^[1]。为了解新生儿病房 G^- 菌的耐药及耐消毒剂的

[收稿日期] 2014-07-18

[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

情况,本研究对新生儿病区分离的主要 G⁻ 菌进行了分析,检测其是否携带耐消毒剂基因 *qacEΔ1*,并分析细菌携带耐消毒剂基因 *qacEΔ1* 对其耐药性的影响,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 菌株来源 2013 年 7—12 月新生儿科住院患儿送检标本分离 G⁻ 菌 608 株,标本类型包括血液、痰液、尿液、胃液、气管末端分泌物等,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分别采用 VITEK 2 Compact 鉴定仪,以及药敏系统配套的 GN 卡、GN13 卡和 GN09 卡。按仪器要求进行质量控制。采用最低抑菌浓度(MIC)法做体外药物敏感试验。

1.3 *qacEΔ1* 基因检测 应用聚合酶链反应(PCR)法对耐消毒剂基因 *qacEΔ1* 进行检测,PCR 反应体系和反应条件参照文献[2]。特异性引物为 P1: TAGCGAGGGCTTTACCTAAGC 和 P2: ATTCA-GAATGCCGAACACCG,产物长度为 300 bp;PCR 反应条件为 93℃ 预变性 2 min;94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 90 s,30 个循环;72℃ 延伸 5 min。扩增产物置于 2% 琼脂糖凝胶电泳 30min 后观察结果。

2 结果

2.1 标本来源 608 株菌,78.45%(477 株)分离自新生儿重症监护病房,43.59%(265 株)分离自早产儿。标本来源部位以呼吸道为主(66.45%),其次为胃液(10.69%)、脐部分泌物(4.93%)等。详见表 1。

2.2 病原菌 608 株 G⁻ 菌以肺炎克雷伯菌(216 株)居多,其次为大肠埃希菌(128 株)、阴沟肠杆菌(77 株)、鲍曼不动杆菌(62 株)及铜绿假单胞菌(19 株),上述 5 种细菌占总数的 82.57%(502 株)。

2.3 *qacEΔ1* 基因检测结果 对 5 种主要细菌进行 *qacEΔ1* 基因检测,结果显示阳性率为 62.75%(315/502)。结果见表 2。

2.4 主要细菌耐药性 主要细菌中,*qacEΔ1* 基因阳性和阴性菌株对哌拉西林、头孢吡肟、氨基曲南、亚胺培南、复方磺胺甲噁唑等抗菌药物的耐药率比较,差异有统计学意义(均 $P \leq 0.05$)。见表 3。肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌对哌拉西林、头孢他啶、头孢吡

肟及氨基曲南的耐药率均高;而对哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南及阿米卡星的敏感率均 $>90\%$ 。鲍曼不动杆菌对美罗培南、阿米卡星、复方磺胺甲噁唑耐药率均 $<10\%$;铜绿假单胞菌对头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星、阿米卡星的耐药率较低($<15\%$)。5 种常见细菌耐药情况见表 4。

表 1 608 株 G⁻ 菌标本来源分布

Table 1 Distribution of specimen sources of 608 gram-negative bacteria

标本来源	分离株数	构成比(%)
痰液	404	66.45
胃液	65	10.69
脐部分泌物	30	4.93
导管末端	28	4.61
血液	20	3.29
尿液	18	2.96
其他	43	7.07
合计	608	100.00

表 2 5 种主要 G⁻ 菌 *qacEΔ1* 基因阳性率

Table 2 Positive rates of *qacEΔ1* in five kinds of gram-negative bacteria

细菌	检测株数	阳性株数	阳性率(%)
肺炎克雷伯菌	216	135	62.50
大肠埃希菌	128	72	56.25
阴沟肠杆菌	77	43	55.84
鲍曼不动杆菌	62	54	87.10
铜绿假单胞菌	19	11	57.89
合计	502	315	62.75

表 3 *qacEΔ1* 基因阳性和阴性菌株对常用抗菌药物的耐药率(%)

Table 3 Antimicrobial resistant rates between *qacEΔ1*-positive and negative strains(%)

抗菌药物	<i>qacEΔ1</i> 基因		χ^2	P
	(+) (n=315)	(-) (n=187)		
哌拉西林	82.22	66.31	14.93	0.01
头孢他啶	66.03	45.45	4.71	0.32
头孢吡肟	59.05	40.11	9.67	0.05
氨基曲南	61.27	42.78	9.32	0.05
哌拉西林/他唑巴坦	11.21	3.21	4.53	0.34
头孢哌酮/舒巴坦	10.48	4.28	5.01	0.29
亚胺培南	9.84	6.42	9.74	0.05
美罗培南	3.81	4.81	4.73	0.32
环丙沙星	13.97	8.56	5.48	0.24
阿米卡星	2.86	1.07	2.04	0.73
复方磺胺甲噁唑	14.29	25.13	10.62	0.01

表 4 5 种常见细菌耐药情况(%)

Table 4 *qacEΔ1* gene effects on the resistant rate of five kinds of gram-negative bacteria(%)

抗菌药物	肺炎克雷伯菌		大肠埃希菌		阴沟肠杆菌		鲍曼不动杆菌		铜绿假单胞菌	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	(n=135)	(n=81)	(n=72)	(n=56)	(n=43)	(n=34)	(n=54)	(n=8)	(n=11)	(n=8)
哌拉西林	87.41	81.48	87.50	73.21	81.40	29.41	74.07	62.50	27.27	25.00
头孢他啶	77.78	53.09	72.22	48.21	60.47	26.47	42.59	50.00	18.18	25.00
头孢吡肟	72.59	65.43	80.56	26.79	13.95	8.83	42.59	37.50	9.09	12.50
氨曲南	70.37	56.79	62.50	42.86	23.26	11.76	75.93	62.50	18.18	12.50
哌拉西林/他唑巴坦	8.89	1.29	2.78	1.79	4.65	2.94	35.19	25.00	9.09	12.50
头孢哌酮/舒巴坦	4.44	2.47	6.94	5.36	11.63	0.00	29.63	25.00	9.09	12.50
亚胺培南	2.96	7.41	5.56	0.00	2.33	2.94	35.19	37.50	27.27	25.00
美罗培南	2.96	7.41	2.78	1.79	2.33	0.00	5.56	0.00	18.18	25.00
环丙沙星	0.74	2.47	36.11	19.64	2.33	2.94	27.78	25.50	9.09	0.00
阿米卡星	2.96	2.47	1.39	0.00	2.33	0.00	3.70	0.00	9.09	0.00
复方磺胺甲噁唑	11.11	9.88	27.78	64.29	11.63	5.88	9.26	12.50	-	-

+ : *qacEΔ1* 基因阳性; - : *qacEΔ1* 基因阴性

3 讨论

G⁻ 菌在新生儿细菌感染性疾病中占重要地位, 多数 G⁻ 菌为外界自然环境中的常见菌, 分布广泛, 多为条件致病菌, 当机体免疫力低下或下降时易引起感染。本研究结果显示, 477 株 (78.45%) G⁻ 菌来自于新生儿重症监护病房, 可能与重症监护病房新生儿基础病情较重, 使用各种侵入性操作较多等有关。本调查结果显示, 标本来源以痰液为主 (66.45%), 说明 G⁻ 菌引起的新生儿感染中, 呼吸道感染居多。另外, 居前 5 位的病原菌依次为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、鲍曼不动杆菌及铜绿假单胞菌, 占 82.57% (502 株)。本组调查中, 鲍曼不动杆菌的分离株数占非发酵菌的首位, 鲍曼不动杆菌的耐药机制复杂, 耐药性强, 且耐消毒剂基因携带率高, 应引起人们的重视。

消毒是预防医院感染的有效手段之一, 各种消毒剂在临床被广泛使用, 导致细菌与其频繁接触, 随之对消毒剂产生抗性。发展至今, 细菌抵抗消毒剂已成为预防控制领域的重要问题, 耐消毒剂基因的研究也逐渐引起人们的重视。其中, 季胺类消毒剂基因 (*qac*) 尤其受到人们的关注。*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, 编码膜蛋白型的多药转运蛋白。目前, *qac* 基因家族已发现 10 余种, 其中 *qacEΔ1* 基因广泛存在于革兰阳性菌和 G⁻ 菌, 由整合子介导, 与消毒剂的低水平耐药有关。本研究中, 对 5 种常见 G⁻ 菌 *qacEΔ1* 基因检测结果显示, 总阳性率为 62.75%, 各细菌

qacEΔ1 基因阳性率均 >55%, 与国内有关报道^[1,3] 一致。

耐药监测结果表明, 5 种细菌对抗菌药物的耐药率各有不同。肠杆菌科细菌对哌拉西林、头孢他啶、头孢吡肟及氨曲南的耐药率均高; 而哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星及阿米卡星对肠杆菌科均保持较高的抗菌活性, 除大肠埃希菌对环丙沙星的耐药率高于 20% 外, 其余抗菌药物的敏感率均 >90%。非发酵菌中, 鲍曼不动杆菌的耐药率普遍高于铜绿假单胞菌, 美罗培南、阿米卡星、复方磺胺甲噁唑对鲍曼不动杆菌保持较强的活性, 耐药率均 <10%; 而铜绿假单胞菌对头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星、阿米卡星的耐药率较低。因此, 对于新生儿 G⁻ 菌感染, 哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星及阿米卡星等抗菌药物均有良好的抗菌活性。临床可根据实际情况及药敏结果, 选择合适药物进行治疗, 但环丙沙星及阿米卡星影响新生儿生长发育, 肾毒性作用大, 不推荐用于新生儿感染的常规治疗^[3]。

研究^[4] 表明, 细菌对消毒剂的抗性机制与其对抗菌药物的耐药机制相互作用, 导致耐药率与耐消毒剂基因的携带率成正比。本研究中, 鲍曼不动杆菌和肺炎克雷伯菌的阳性率最高 (分别为 87.10% 和 62.50%), 耐药率在非发酵菌和肠杆菌科细菌中也较高。*qacEΔ1* 基因阳性和阴性菌株对哌拉西林、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、复方磺胺甲噁唑等抗菌药物的耐药率差异有统计学意义 (均 $P \leq 0.05$), *qacEΔ1* 基因阳性菌株对上述抗菌药物耐药率更高。

- acin before percutaneous nephrolithotomy significantly reduces upper tract infection and urosepsis; a prospective controlled study[J]. BJU Int, 2006, 98(5):1075-1079.
- [9] Draga R O, Kok E T, Sorel M R, et al. Percutaneous nephrolithotomy: factors associated with fever after the first postoperative day and systemic inflammatory response syndrome[J]. J Endourol, 2009, 23(6):921-927.
- [10] Kukreja R A, Desai M R, Sabnis R B, et al. Fluid absorption during percutaneous nephrolithotomy: does it matter? [J]. J Endourol, 2002, 16(4): 221-224.
- [11] Troxel S A, Low R K. Renal intrapelvic pressure during percutaneous nephrolithotomy and its correlation with the development of postoperative fever[J]. J Urol, 2002, 168(4 Pt 1):1348-1351.
- [12] Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs[J]. Am J Med, 2002, 113 (Suppl 1A):5S-13S.
- [13] Seitz C, Desai M, Hacker A, et al. Incidence, prevention, and management of complications following percutaneous nephrolitholapaxy[J]. Eur Urol, 2012, 61(1):146-158.
- [14] Mariappan P, Smith G, Bariol S V, et al. Stone and pelvic urine culture and sensitivity are better than bladder urine as predictors of urosepsis following percutaneous nephrolithotomy: a prospective clinical study[J]. J Urol, 2005, 173(5):1610-1614.
- [15] Karami H, Mazloomfard M M, Golshan A, et al. Does age affect outcomes of percutaneous nephrolithotomy [J]. Urol J, 2010, 7(1):17-21.
- [16] 韩辉,张静瑜,王宇虹. 免疫衰老的研究进展[J]. 国际免疫学杂志,2008, 31(2): 125-129.
- [17] 胡辰,申吉泓. 脓毒症急性肾损伤的病理机制研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志,2011,31(5): 686-689.
- [18] Langenberg C, Bellomo R, May C, et al. Renal blood flow in sepsis [J]. Crit Care, 2005, 9(4):R363-R374.
- [19] Gutierrez J, Smith A, Geavlete P, et al. Urinary tract infections and post-operative fever in percutaneous nephrolithotomy [J]. World J Urol, 2013, 31(5):1135-1140.
- [20] Assimos D. The use of triclosan eluting stents effectively reduces ureteral stent symptoms: a prospective randomized trial [J]. J Urol, 2012, 188(2):458.
- [21] 钟文,曾国华,杨后猛,等. 微创经皮肾镜穿刺取石术中肾盂内压变化对术后发热的影响[J]. 中华泌尿外科杂志,2008, 29(10): 668-671.
- [22] Liu C, Zhang X, Liu Y, et al. Prevention and treatment of septic shock following mini-percutaneous nephrolithotomy: a single-center retrospective study of 834 cases[J]. World J Urol, 2013, 31(6):1593-1597.

(本文编辑:左双燕)

(上接第 22 页)

当然,*qacEΔ1* 基因的存在及表达与其对消毒剂抗性、细菌耐药性的关系,有待进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 何晓锋,刘芳,曹晋桂,等. 多重耐药革兰阴性杆菌耐消毒剂基因 *qacEΔ1-sul1* 监测[J]. 中国感染控制杂志,2011,10(2):97-99.
- [2] Abuzaid A, Hamouda A, Amyes S G. *Klebsiella pneumoniae* susceptibility to biocides and its association with *cepA*, *qacΔE* and *qacE* efflux pump genes and antibiotic resistance [J]. J Hosp Infect, 2012, 81(2):87-91.
- [3] 魏兰芬,张磊,潘协商,等. 186 株革兰阴性菌耐消毒剂基因携带情况及抗药性观察[J]. 中国消毒学杂志,2012,29(10):869-870,873.
- [4] 金凤玲,易思华,王蓓,等. 多重耐药革兰阴性杆菌耐药谱及其抗消毒剂基因检测[J]. 中国消毒学杂志,2010,27(3):253-256.

(本文编辑:左双燕)