

286 株铜绿假单胞菌耐药谱及其 I 类整合子的相关性研究^{*}

陈 富, 李岳军, 周 强[△], 廖焕兰, 许振杰, 陈中华 (广东省中医院检验科, 广州 510120)

【摘要】 目的 通过分析 2013 年分离的 286 株铜绿假单胞菌对 16 种抗菌药物的耐药情况, 明确 I 类整合子在铜绿假单胞菌多重耐药中所起的作用。**方法** 采用纸片扩散法进行药物敏感试验, 并以聚合酶链反应 (PCR) 进行 I 类整合子的检测, 用 χ^2 检验对 I 类整合子携带率与铜绿假单胞菌多重耐药的相关性进行统计学分析。**结果** 在分离出的 286 株细菌中, 检出 I 类整合子 89 株, 检出率为 31.1%; I 类整合子阳性株对多种抗菌药物的耐药率明显高于整合子阴性株。**结论** 铜绿假单胞菌的耐药情况严重, I 类整合子是铜绿假单胞菌多重耐药的重要因素。

【关键词】 铜绿假单胞菌; I 类整合子; 多药耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.02.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)02-0157-02

Study on correlation between drug resistance spectrum and class I integron in 286 strains of *Pseudomonas aeruginosa*^{*}

CHEN Fu, LI Yue-jun, ZHOU Qiang[△], LIAO Huan-lan, XU Zhen-jie, CHEN Zhong-hua (Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

【Abstract】 Objective To clarify the role of class I integron in multi-drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* by analyzing the resistance situation of 286 strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from our hospital in 2013 to 16 kinds of antibacterial drugs. **Methods** The drug susceptibility test was performed by the K-B test. The class I integron gene was detected by PCR. The correlation between the class I integron carrying rate and multi-drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* was statistically analyzed with chi-square test. **Results** In isolated 286 strains of *Pseudomonas aeruginosa*, 89 strains were the class I integron with the detection rate of 31.1%; the resistance rate to various antimicrobial agents in class I integron-positive strains was significantly higher than that in integron-negative strains. **Conclusion** The drug resistance situation in *Pseudomonas aeruginosa* is serious. The class I integron is an important factor in multi-drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa*.

【Key words】 *Pseudomonas aeruginosa*; class I integron; multidrug-resistance

铜绿假单胞菌是目前引起人类感染的最重要的条件致病菌之一, 仅次于大肠埃希菌, 在医院感染中占了很重要的地位, 特别是由于近年来抗菌药物的广泛应用, 其耐药情况日益严峻, 对医院抗感染的治疗增加了难度。引起铜绿假单胞菌多重耐药的原因多种多样, 其耐药机制主要涉及整合子、外膜通透性障碍、作用靶位改变、产生灭活酶、形成生物膜和主动外排泵系统等, 而整合子高效的整合和表达作用使其在细菌耐药传播中起着重要的作用^[1]。目前发现的整合子中与细菌的耐药机制有密切关系的主要有 3 类, 其中 I 类整合子在多重耐药的细菌中最为常见, 并在耐药性方面起着重要作用。因此本文通过对本院 2013 年临床分离的 286 株铜绿假单胞菌进行耐药谱研究和 I 类整合子的检测, 进一步探讨 I 类整合子与铜绿假单胞菌耐药的关系。

1 材料与方法

1.1 菌株和鉴定 本实验菌株均是本院 2013 年 1~12 月的初次分离株, 共 286 例, 采用 VITEK-32 全自动微生物鉴定仪进行菌种鉴定。

1.2 药敏试验 采用美国临床实验室标准委员会 (CLSI) 推荐的标准方法 (K-B 纸片法), 由英国 Oxoid 公司提供的 16 种药敏试纸对亚胺培南、美罗培南、环丙沙星、左氧氟沙星、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢吡肟、头孢唑啉、头孢他啶、庆大霉素、丁胺卡那霉素、复方磺胺甲噁唑、呋喃妥因、头孢曲松等进行药敏试验。

1.3 设计引物与 PCR 扩增检测 I 类整合子 根据文献和

pubmed 检索设计 int I 1 引物: 5'-GGG TCA AGG ATC TGG ATT TCG-3', 3'-ACA TGC GTG TAA ATC ATC GTC G-5'。通过对所收集菌株进行 PCR 扩增, 电泳后检测扩增产物并进行 DNA 测序。

1.4 统计学处理 全部药敏结果采用世界卫生组织 (WHO) 推荐的细菌耐药性监测软件 WHONET 5.4, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 铜绿假单胞菌中 I 类整合子的检测结果 286 例铜绿假单胞菌中检出 I 类整合子 89 例, 检出率为 31.1%, 见图 1。

P 1 2 N 3 4 5 6 M 7 8 9

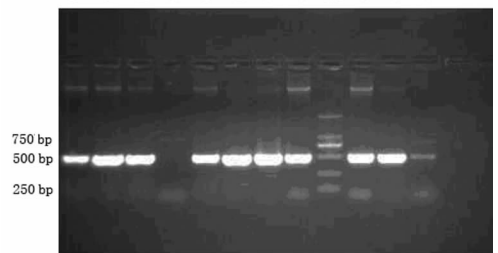


图 1 铜绿假单胞菌 I 类整合子的凝胶电泳图

2.2 286 例铜绿假单胞菌的耐药谱 见表 1。所有菌株对亚胺培南和美罗培南敏感率最高, I 类整合子阳性株对多种抗菌药物的耐药率明显高于 I 类整合子阴性株, 其中 I 类整合子阳性株中的头孢吡肟、头孢唑啉、庆大霉素和呋喃妥因全部耐药。

^{*} 基金项目: 广东省科技厅科研项目 (2011B031800028)。

作者简介: 陈富, 男, 主管技师, 大学本科, 主要从事临床检验工作。 [△] 通讯作者, E-mail: 13631412228@163.com。

表 1 铜绿假单胞菌的耐药谱

抗菌药物	耐药株/耐药率(%)	耐药率(%)		与整合子关系	
		I 类整合子阳性株(<i>n</i> =89)	I 类整合子阴性株(<i>n</i> =197)	χ^2	<i>P</i>
亚胺培南	46/16.1	36.0	7.1	63.3	<0.05
美罗培南	42/14.7	36.0	5.1	79.3	<0.05
环丙沙星	146/51.0	90.0	33.5	0.5	>0.05
左氧氟沙星	96/33.6	80.9	12.2	50.1	<0.05
哌拉西林	92/32.2	71.9	14.2	40.2	<0.05
哌拉西林/他唑巴坦	76/26.6	57.3	12.7	43.3	<0.05
氨苄西林	113/39.5	83.1	19.8	22.0	<0.05
氨苄西林/舒巴坦	102/35.7	78.7	16.2	33.1	<0.05
头孢吡肟	156/54.5	100.0	34.0	0.3	>0.05
头孢唑啉	212/74.1	100.0	62.4	52.6	<0.05
头孢他啶	92/32.2	71.9	14.2	40.2	<0.05
庆大霉素	197/68.9	100.0	54.8	27.1	<0.05
丁胺卡那霉素	124/43.4	67.4	24.4	11.1	<0.05
复方磺胺甲噁唑	189/66.1	94.4	53.3	21.8	<0.05
呋喃妥因	201/70.3	100.0	56.9	33.1	<0.05
头孢曲松	175/61.2	95.5	56.9	7.0	<0.05

2.3 DNA 测序结果 选取 I 类整合子的阳性扩增产物 2 例纯化后直接双向测序,结果显示,I 类子扩增片段大小为 484 bp,与预期扩增片段大小相符,经 GenBank 数据库同源性比对,与库中的 I 类整合子的同源性均为 100%。

3 讨 论

铜绿假单胞菌作为目前引起医院感染的常见菌,可引起呼吸道病房、重症监护室等重症患者病区医院感染的爆发^[2],但铜绿假单胞菌的耐药率却不断升高,所以近年来对于细菌的耐药问题已引起医学界的严重关注。当务之急就是要找出引起耐药的基因或传播基因,深究耐药的源头。近年来国内外有大量的文献报道,整合子可介导各种耐药基因,可以在同种细菌菌株之间甚至不同种细菌菌株之间传递^[3-4],整合子在耐药机制中就扮演着重要的角色,其中 I 类整合子起着主要的作用。因此,有必要将本院铜绿假单胞菌感染的标本进行 I 类整合子的检测及耐药情况分析。

本组通过对进行实验的 16 种抗菌药物的耐药率的比较可发现,发现对亚胺培南(16.1%)和美罗培南(14.7%)的耐药率最低,比孙珊等^[5]报道的结果还低。而头孢唑啉和呋喃妥因的耐药率较高,达到 70%以上;头孢吡肟、头孢曲松、庆大霉素、环丙沙星、复方磺胺甲噁唑等的耐药率都超过 50%,常见的这几种药的耐药率都如此高,给临床的用药选择增加了难度。

在对留取的 286 例铜绿假单胞菌的 I 类整合子的检测中,总检出 89 株,检出率为 31.1%,比国内其他地区的报道还低一点^[6-7],可能由于本院是中医院,抗菌药物与中药的混合使用,与各地区的抗菌药物的使用习惯不同和标本的类型不同引起。按照目前各地区的抗菌药物的使用情况,随着时间的推移,I 类整合子的检出率也会不断增高^[8]。

对比 I 类整合子阳性和阴性株的耐药谱可发现,I 类整合子阳性菌株的头孢吡肟、头孢唑啉、庆大霉素和呋喃妥因的耐药率达 100.0%;而环丙沙星和左氧氟沙星的耐药率超过 80%;其他的耐药率也比 I 类整合子阴性株的耐药率高,具有统计学意义。由此可以推断 I 类整合子可能就是铜绿假单胞菌耐药增加的重要原因^[9]。而 I 类整合子阳性菌株中的头孢吡肟、头孢唑啉、庆大霉素和呋喃妥因全部耐药,说明 I 类整合

子严重地影响着铜绿假单胞菌的耐药情况,在以后的治疗中必须非常注意是否为 I 类整合子的菌株感染。

总之,由于铜绿假单胞菌的耐药水平不断增高,感染所导致的治疗的难度也会越来越高。本文只研究了铜绿假单胞菌的 I 类整合子所引起的耐药水平,而其他更多的耐药机制并未涉及^[1],因此,除了合理地选择抗菌药物的使用外,找出铜绿假单胞菌耐药的机制则更为重要。

参考文献

[1] 宋玉兰,赵丽,申子路,等. 铜绿假单胞菌耐药机制研究现状[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(6):898-900.

[2] 施梦萍,章可谓. 临床分离的铜绿假单胞耐药性检测[J]. 中国消毒学杂志,2010,27(4):439-440.

[3] 章清,魏丽,王金铎. 多耐药铜绿假单胞菌可移动遗传元件研究[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(18):2742-2745.

[4] 杜娟. 医院感染铜绿假单胞菌的临床分布及多重耐药分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2013,16(1):29-30.

[5] 孙珊,张莉萍. 1 274 株铜绿假单胞菌在临床细菌感染中的分布及耐药性分析[J]. 重庆医学,2011,40(3):226-228.

[6] 姚慧琳,刘培明,陆士海,等. 铜绿假单胞中整合子的分布及其可转移耐药性研究[J]. 中国抗生素杂志,2009,34(8):S4-S6.

[7] 黄金平. 431 株铜绿假单胞菌在临床科室分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(15):2317-2317.

[8] 廖如燕,陈玲珍,周霓,等. 广东地区医院分离铜绿假单胞菌整合子及其携带耐药基因的研究[J]. 中国消毒学杂志,2012,29(3):183-187.

[9] 郭宇,王欢,张正. 铜绿假单胞菌整合子与其多药耐药的相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(1):6-8.