

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.04.003

广西地区耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌的流行特征、耐消毒剂基因检测及同源性分析*

梁琼¹, 李素艳^{1△}, 蒙华莹¹, 唐娟¹, 覃卫娟², 李春燕³

广西医科大学第二附属医院:1. 医院感染管理科;2. 医学检验科;

3. 遗传与基因组医学研究中心,广西南宁 530000

摘要:目的 了解耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(CRPA)临床分离菌株的流行特征,检测、分析耐消毒剂基因携带情况及菌株同源性。方法 回顾性分析该院 2020—2022 年临床分离得到的 252 株 CRPA 的临床分布特点、耐药趋势。并随机选取其中 30 株菌株,采用聚合酶链反应检测耐消毒剂基因 *qacEΔ1-sul1* 及 *ace I* 的表达情况;采用肠杆菌科基因间重复序列-聚合酶链反应检测菌株同源性。结果 CRPA 的标本来源主要为痰液(63.49%)、肺泡灌洗液(17.06%);来自综合重症监护病房(ICU)和其他 ICU 占比为 40.87%,来自非 ICU 的占比为 59.13%,非 ICU 病区主要分布在康复医学科(14.68%)和呼吸科(12.70%)。除头孢吡肟、头孢他啶/阿维巴坦、阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、多黏菌素外,CRPA 对其他临床常用抗菌药物的耐药率均在 30.00% 以上。CRPA 在 ICU 及非 ICU 病区的耐药率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。30 株临床分离的 CRPA *qacEΔ1-sul1* 和 *ace I* 基因检出率分别为 16.67%、26.67%。同源性分析结果显示 A 型和 B 型为主要流行株。结论 CRPA 对常用抗菌药物普遍耐药,应加强对 CRPA 菌株的耐药性监测,根据药敏试验结果合理选择抗菌药物,减少耐药株的产生。CRPA 中 *qacEΔ1-sul1* 和 *ace I* 两种耐消毒剂基因均有检出,但检出率均较低,实际工作中应加强对各病区的消毒效果监测。CRPA 中存在 A、B 两种优势型别的克隆流行,应作为铜绿假单胞菌院内感染防控的重点。

关键词:耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌; 耐消毒剂基因; 同源性分析; 耐药性; 流行特征

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)04-0444-06

Epidemic characteristics, antiseptics resistance gene detection and homology analysis of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Guangxi*

LIANG Qiong¹, LI Suyan^{1△}, MENG Huaying¹, TANG Juan¹, QIN Weijuan², LI Chunyan³

1. Department of Nosocomial Infection; 2. Medical Clinical Laboratory; 3. Center for Medical Genetics and Genomics, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530000, China

Abstract: Objective To investigate the drug resistance characteristics of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA) isolates, and to detect the antiseptics resistance genes and homology of CRPA. **Methods** The clinical distribution characteristics and drug resistance trend of 252 CRPA isolates from the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University from 2020 to 2022 were analyzed retrospectively. The polymerase chain reaction method was used to amplify antiseptics genes. The homology of the strains was analyzed by enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction. **Results** The main sources of CRPA were sputum (63.49%) and alveolar lavage fluid (17.06%). The proportion of patients from the comprehensive intensive care unit (ICU) and other ICU was 40.87%, and the proportion from the non-ICU was 59.13%, and the non-ICU was mainly distributed in the rehabilitation medicine department (14.68%) and the respiratory department (12.70%). In addition to cefepime, ceftazidime/avibactam, ampicillin, gentamicin, tobramycin, the drug resistance rate of CRPA to other commonly used clinical antibiotics was more than 30.00%. There was no significant difference in drug resistance rate of CRPA in ICU and non-ICU ($P>0.05$). The positive rates of *qacEΔ1-sul1* and *aceI* genes in 30 CRPA isolates were 16.67% and 26.67% respectively. Homology analysis showed that type A and type B were the main epidemic stains. **Conclusion** CRPA is gener-

* 基金项目:广西壮族自治区卫生健康委员会自筹课题(Z20201496)。

作者简介:梁琼,女,主管技师,主要从事医院感染预防与控制研究。△ 通信作者,E-mail:376966195@qq.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20240204.1421.006.html>(2024-02-05)

ally resistant to common antibiotics. It is necessary to strengthen the drug resistance monitoring of CRPA strains and rationally select antibiotics according to the drug sensitivity results to reduce the generation of drug-resistant strains. qacEΔ1-sul1 and aceI are detected in CRPA, but the positive rates are low. It is suggested to strengthen the monitoring of disinfection effect in each medical area. The homology analysis finds that type A and type B are main epidemic clonal strains, and should be the key objects of hospital infection control for PA.

Key words: carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; antiseptics resistance gene; homology analysis; drug resistance; epidemic characteristic

铜绿假单胞菌(PA)属于非发酵革兰阴性杆菌,广泛分布于人体皮肤、呼吸道和肠道、医院各类物体表面,为医院感染主要的条件致病菌之一,其感染可发生在人体任何部位和组织,其中呼吸道是其主要感染部位^[1]。近年来,随着碳青霉烯类抗菌药物的广泛应用,耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(CRPA)的检出率不断上升^[2-3],给临床抗感染治疗带来了严峻挑战。多重耐药菌的感染与住院患者的病死率密切相关,已成为医院感染防控工作的重点。对医疗环境及器械的合理消毒是高效、简易的切断多重耐药菌传播途径策略。但是随着各种消毒剂的广泛使用或不恰当使用,出现了越来越多的消毒剂耐药菌株^[4-5],增加了院内感染控制的难度。不同地区 PA 的耐药性及对消毒剂的抗性均可能存在差异^[6-7]。目前,鲜有针对广西地区细菌耐消毒剂基因检测和菌株同源性的研究。为了解医院 CRPA 流行特征及耐消毒剂基因携带情况,本研究对 2020—2022 年本院临床分离的 CRPA 的耐药性、耐消毒剂基因的携带情况及同源性进行研究,旨在为临床抗菌药物的使用及院内感染控制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集本院 2020—2022 年临床科室送检的住院患者分离培养的 CRPA,剔除同一患者相同部位分离出的同种细菌,共获得不重复菌株 252 株。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 和 PA ATCC27853。本研究获得本院医学伦理委员会批准[伦理审批号:2020 第(KY-0143)号]。

1.2 方法

1.2.1 细菌鉴定与药敏试验 所有细菌的分离培养均按照《全国临床检验操作规程》进行,获得目的菌后,采用全自动飞行质谱检测系统(VITEK MS)进行鉴定。药敏试验采用美国 BD 公司 Phoenix-100 全自动微生物鉴定药敏分析仪及纸片琼脂扩散法进行。药敏试验结果判断和解释参照美国临床和实验室标准协会(CLSI,2019 版)M100 标准^[8]。

1.2.2 耐消毒剂基因的检测 (1)菌株复苏:将菌株冻存管从-80℃冰箱中取出,平衡至室温后,在管中加入 2 mL 营养肉汤,35℃培养箱中孵育过夜,将菌悬液分区划线接种至哥伦比亚血琼脂培养基上,35℃培养 18~24 h 后待用。(2)DNA 模板的制备:从哥伦比亚血琼脂培养基上挑取适量典型的新鲜菌落,用一

次性无菌接种环研磨溶解于含 1 mL 灭菌 ddH₂O 的 1.5 mL EP 管中,配制成 0.5 麦氏浓度菌悬液,按天根细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书制备细菌 DNA 模板,置于-20℃冰箱保存、备用。(3)引物设计与合成:引物参照文献^[9-10]设计,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,见表 1。(4)扩增体系与条件:采用聚合酶链反应(PCR)进行扩增,2×SanTaq PCR Mix 25 μL,DNA 模版 2 μL,上、下游引物(100 μmol/L)各 2 μL,无菌去离子水 19 μL。反应条件为 qacEΔ1-sul1 基因 95℃5 min,94℃变性 20 s,58℃退火 20 s,75℃延伸 30 s,35 个循环后,72℃延伸 5 min;ace I 基因 94℃5 min,94℃变性 30 s,58℃退火 30 s,72℃延伸 60 s,30 个循环后,72℃延伸 10 min。(5)琼脂糖凝胶电泳:取 5 μL PCR 扩增产物和 5 μL DAN 标记物用 1%琼脂糖凝胶电泳后在多功能成像仪下观察并拍照,如在基因相应大小位置出现目的条带则判为阳性,阳性产物 DNA 经测序证实,阴性对照为纯水。

表 1 检测耐消毒剂基因的引物序列

基因	引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
qacEΔ1-sul1	F:TAGCGAGGGCTTTACTAAGC	300
	R:ATTCAGAATGCCGAACACCG	
ace I	F:CCGCGCAITTAATCTCGATCTGTACA	966
	R:GCAGCTCAGACACCACAACAATAGT	

1.2.3 同源性分析 采用肠杆菌科基因间重复序列-聚合酶链反应(ERIC-PCR)对本标进行同源性分析,引物序列参考文献^[11]:ERIC-PCR 上游 5'-ATG-TAAGCTCCTGGGGATTAC-3',下游 5'-AAGTA-AGTGACTGGGGTGAGCG-3'。扩增体系:2×SanTaq PCR Mix 25 μL,DNA 模版 5 μL,上、下游引物(100 μmol/L)各 2 μL,无菌去离子水 16 μL。反应条件:95℃预变性 60 s,95℃变性 30 s,52℃退火 30 s,72℃延伸 60 s,35 个循环后,72℃延伸 10 min。扩增产物用 1%琼脂糖凝胶电泳后在多功能成像仪下观察并拍照。电泳结果分型:图谱完全相同的为同一基因型;主条带相同,负条带相差 1~2 条为基因相似或密切相关;不符合上述条件者为不同基因型^[11]。

1.3 统计学处理 采用 WHONET5.6 软件和

SPSS22.0 软件进行数据处理及统计学分析。计数资料以例数或百分率表示,采用 χ^2 检验进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CRPA 的检出概况 2020—2022 年共检出不重复的 CRPA 252 株,每年 CRPA 的检出率分别为 17.23%、26.51%、24.62%,平均检出率为 22.79%。分离出 CRPA 最多的标本是痰液标本(63.49%),其次为肺泡灌洗液标本(17.06%);主要来源于综合重症监护病房(ICU)和其他 ICU(40.87%),来自非 ICU 病区的占比为 59.13%,非 ICU 病区主要分布在康复医学科(14.68%)和呼吸科(12.70%)。CRPA 在 ICU 和非 ICU 病区内的检出率(包括重复检出菌)分别为 41.09(159/387)和 16.82%(208/1 237),CRPA 在 ICU 的检出率明显高于非 ICU 病区的检出率,差异有统计学意义($P < 0.001$)。ICU 及非 ICU 病区 CRPA 不同标本来源比例比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.2 CRPA 药敏试验结果

2.2.1 不同年度 CRPA 耐药率 除头孢吡肟、头孢他啶/阿维巴坦、阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、多黏菌素外,CRPA 对其他临床常用抗菌药物的耐药率均

在 30.00% 以上。2020—2022 年 CRPA 对亚胺培南、左氧氟沙星及氨曲南的耐药率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。经趋势 χ^2 检验分析,CRPA 对亚胺培南耐药率随年份变化呈线性上升趋势($P < 0.05$);CRPA 对左氧氟沙星、氨曲南的耐药率随年份变化存在线性下降趋势($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 CRPA 标本来源分布[n(%)]

标本类型	ICU 病区 (n=103)	非 ICU 病区 (n=149)	合计 (n=252)
痰液	62(60.19)	98(65.77)	160(63.49)
肺泡灌洗液	25(24.27)	18(12.08)	43(17.06)
留置管	6(5.83)	0(0.00)	6(2.38)
血液	3(2.91)	5(3.36)	8(3.17)
脓液	2(1.94)	3(2.01)	5(1.98)
分泌物	2(1.94)	3(2.01)	5(1.98)
尿液	1(0.97)	8(5.37)	9(3.57)
引流液	1(0.97)	5(3.36)	6(2.38)
胆汁	1(0.97)	0(0.00)	1(0.40)
胸腔积液	0(0.00)	4(2.68)	4(1.59)
咽拭子	0(0.00)	2(1.34)	2(0.79)
其他	0(0.00)	3(2.01)	3(1.19)

表 3 2020—2022 年 CRPA 耐药率(%)

抗菌药物	2020 年	2021 年	2022 年	合计	趋势 χ^2	P
碳青霉烯类						
亚胺培南	87.88	89.74	98.13	92.86	5.597	0.018
美罗培南	94.12	85.71	78.50	82.47	2.038	0.144
单酰胺环类						
氨曲南	56.25	50.00	45.79	51.43	4.109	0.043
头孢类						
头孢他啶	42.42	29.87	34.58	34.26	0.193	0.660
头孢吡肟	39.39	14.29	26.17	26.03	2.557	0.110
含酶抑制剂						
哌拉西林/他唑巴坦	39.39	26.03	33.00	31.67	0.060	0.807
头孢哌酮/舒巴坦	51.61	27.63	37.38	36.29	0.470	0.493
替卡西林/克拉维酸	—	81.25	70.27	73.58	—	—
头孢他啶/阿维巴坦	16.67	8.11	12.50	11.30	0.072	0.789
喹诺酮类						
环丙沙星	31.25	41.03	28.97	35.06	1.845	0.174
左氧氟沙星	48.48	59.74	43.93	52.99	4.806	0.028
氨基糖苷类						
阿米卡星	12.12	8.97	8.41	9.52	0.544	0.461
庆大霉素	18.75	11.29	14.49	15.23	0.682	0.409
妥布霉素	4.35	11.27	14.29	13.57	0.004	0.952
脂肽类						
多黏菌素	0.00	1.41	0.00	0.45	—	—

注:—表示无数据。

2.2.2 ICU 与非 ICU 病区 CRPA 的耐药率比较
ICU 病区分离出的 CRPA 对亚胺培南、美罗培南、氨曲南、替卡西林/克拉维酸及左氧氟沙星的耐药率基本均在 50% 左右或远超过 50.00%。ICU 与非 ICU 病区的 CRPA 对 15 种常用抗菌药物的耐药率比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 ICU 与非 ICU 病区 CRPA 的耐药情况比较 [% (n/n)]

抗菌药物	ICU	非 ICU	χ^2	P
碳青霉烯类				
亚胺培南	92.23(95/103)	93.29(139/149)	0.332	>0.05
美罗培南	81.37(83/102)	83.22(124/149)	0.143	>0.05
单酰胺环类				
氨曲南	48.00(48/100)	53.79(78/145)	0.795	>0.05
头孢类				
头孢他啶	33.01(34/103)	35.14(52/148)	0.121	>0.05
头孢吡肟	22.45(22/98)	28.47(41/144)	1.098	>0.05
含酶抑制剂				
哌拉西林/他唑巴坦	27.08(26/96)	34.72(50/144)	1.297	>0.05
头孢哌酮/舒巴坦	36.89(38/103)	35.86(52/145)	0.027	>0.05
替卡西林/克拉维酸	63.64(14/22)	80.65(25/31)	1.915	>0.05
头孢他啶/阿维巴坦	12.28(7/57)	10.34(6/58)	0.107	>0.05
喹诺酮类				
环丙沙星	28.43(29/102)	39.60(59/149)	3.315	>0.05
左氧氟沙星	47.57(49/103)	56.76(84/148)	2.056	>0.05
氨基糖苷类				
阿米卡星	9.71(10/103)	9.40(14/149)	0.006	>0.05
庆大霉素	12.35(10/81)	17.24(20/116)	0.885	>0.05
妥布霉素	15.96(15/94)	11.81(15/127)	0.791	>0.05
脂肽类				
多黏菌素	1.06(1/94)	0(0/130)	0.026	>0.05

2.3 CRPA 的耐消毒剂基因检出情况 根据近几年 CRPA 在院内不同标本中的检出情况, 确定耐消毒剂基因的检测对象选择原则: 从 2022 年 6—11 月临床科室住院患者检出的 CRPA 中, 按标本类型分布比例 (痰液标本约 65%, 肺泡灌洗液约 15%, 其他标本约 20%) 为筛选原则留取标本, 最终收集到 30 株非重复菌株。其中 16 株来自 ICU 病区 (主要分布在综合 ICU 及呼吸科 ICU), 14 株来自非 ICU 病区 (分布于 8 个不同科室)。其中来自痰液标本 20 株, 肺泡灌洗液 5 株, 其他标本 5 株。共检出 5 株 qacE Δ 1-sul1 基因阳性, 8 株 ace I 基因阳性。2 种耐消毒剂基因的表达在 ICU 与非 ICU 病区间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。qacE Δ 1-sul1 基因阳性菌株 80% 来自呼吸道标本, 其在不同类型标本中检出率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); ace I 基因阳性菌株 75% 来

自呼吸道标本, 其在不同类型标本中检出率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 不同科室及整体耐消毒剂基因检出率 [% (n/n)]

项目	qacE Δ 1-sul1	ace I
ICU 病区	3(18.75)	6(37.50)
综合 ICU	0(0.00)	1(14.29)
呼吸科 ICU	3(42.86)	4(57.14)
其他 ICU	0(0.00)	1(100.00)
非 ICU 病区	2(14.29)	2(14.29)
合计	5(16.67)	8(26.67)

2.4 qacE Δ 1-sul1 基因阳性和阴性菌株的耐药率
qacE Δ 1-sul1 基因阳性菌株对头孢他啶、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、头孢他啶/阿维巴坦、环丙沙星、阿米卡星、庆大霉素及妥布霉素耐药率均高于 qacE Δ 1-sul1 基因阴性菌株, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 对其他抗菌药物的耐药率比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 6。

表 6 qacE Δ 1-sul1 基因阳性和阴性菌株的耐药率比较 [% (n/n)]

抗菌药物	qacE Δ 1-sul1(+)	qacE Δ 1-sul1(-)	χ^2	P
碳青霉烯类				
亚胺培南	5(100.00)	23(92.00)	0.107	>0.05
美罗培南	5(100.00)	20(80.00)	0.192	>0.05
单酰胺环类				
氨曲南	2(40.00)	11(44.00)	0.108	>0.05
头孢类				
头孢他啶	5(100.00)	3(12.00)	12.306	<0.05
头孢吡肟	5(100.00)	3(12.00)	12.306	<0.05
含酶抑制剂				
哌拉西林/他唑巴坦	4(100.00)	3(12.00)	10.173	<0.05
头孢哌酮/舒巴坦	5(100.00)	7(28.00)	6.25	<0.05
替卡西林/克拉维酸	1(100.00)	2(66.67)	0.444	>0.05
头孢他啶/阿维巴坦	2(66.67)	1(4.55)	4.661	<0.05
喹诺酮类				
环丙沙星	5(100.00)	6(24.00)	7.349	<0.05
左氧氟沙星	5(100.00)	11(44.00)	3.241	>0.05
氨基糖苷类				
阿米卡星	4(80.00)	0(0.00)	16.673	<0.05
庆大霉素	3(75.00)	1(4.55)	8.061	<0.05
妥布霉素	4(80.00)	0(0.00)	14.807	<0.05
脂肽类				
多黏菌素	0(0.00)	0(0.00)	—	—

注: 部分菌株无哌拉西林/他唑巴坦或替卡西林/克拉维酸或头孢他啶/阿维巴坦或庆大霉素的药敏结果; — 为无数据。

2.5 ERIC-PCR 基因分型结果及菌株同源性分析
30 株 CRPA 经 ERIC-PCR 基因分型, 电泳条带长度为 100~2 000 bp, 根据电泳图谱差异进行同源性分

析,30 株菌株被分为 A、B、C、D、E、F、G、H 8 个型别。其中 A 型 13 株,B 型 7 株,D 型 4 株,E 型 2 株,C 型、F 型、G 型及 H 型各为 1 株。A 型和 B 型为主要的流行株,在多个主要科室如呼吸科 ICU、胸心血管外科、综合 ICU、神经外科及康复医学科均有分布。13 株 A 型标本中,9、18 号标本在综合 ICU 住院时间上有交叉,17、28、65、74 号标本在呼吸科 ICU 住院时间上有交叉,16、37 号标本在康复医学科住院时间上有交叉,58、62 号标本在神经外科住院时间上有交叉。综合 ICU 病区分离的菌株存在多种(6 种)基因型。呼吸科 ICU 病区有 A(4 株)、B(2 株)、C(1 株)3 种基因型。

3 讨 论

PA 在自然界中广泛存在,是医院感染常见的革兰阴性条件致病菌之一,也是医院获得性肺炎患者的主要感染病原菌。全国细菌耐药监测网数据显示,2014—2019 年 PA 检出率每年均居临床标本分离的革兰阴性菌前 5 名,且主要来源于呼吸道标本^[12-13]。陶春梅等^[6]对重庆某院的研究,吴振安等^[14]对北京某院的研究均显示 PA 主要来源于呼吸道标本。本研究的数据与以上研究结果相吻合,从标本来源和科室分布来看,CRPA 主要来源于呼吸道标本(80.6%),康复医学科、呼吸科和 ICU 病区分离率较高,说明 CRPA 多来源于肺部感染的内科患者,因此,该群体应该成为 PA 感染防控的重点目标人群。2021、2022 年 CRPA 的检出率分别为 26.51%、24.62%,高于全国同等级医院 CRPA 的检出率(18.8%~21.4%)^[12]。本研究中 CRPA 对亚胺培南耐药率随年份变化呈上升趋势。YU 等^[15]的研究发现,亚胺培南耐药-头孢他啶敏感的 PA 耐药机制为外排泵基因(*mexB*、*mexD*、*mexF* 和 *mexY*)的过度表达及 *Oprd* 表达降低,而非碳青霉烯酶的作用,CRPA 对头孢他啶的耐药率为 34.26%,对亚胺培南的耐药率高达 92.86%,提示本研究中 CRPA 的作用机制可能为外排泵基因(*mexB*、*mexD*、*mexF* 和 *mexY*)的过度表达及 *Oprd* 表达降低。因此,头孢他啶仍是治疗 CRPA 的重要选择。

本研究中的 CRPA 对氨基糖苷类抗菌药物的耐药率较低(均低于 20.00%),对第 3 代、第 4 代头孢类抗菌药物的耐药率分别为 34.26%、26.03%,低于浙江省朱建铭等^[16]报道的 CRPA 对氨基糖苷类抗菌药物的[头孢他啶(76.53%)、头孢吡肟(60.20%)]耐药率,低于南京地区尹娟等^[17]报道的 CRPA 对阿米卡星(30.60%)、庆大霉素(57.14%)、头孢他啶(59.18%)、头孢吡肟(83.6%)的耐药率,可能与各医院的临床用药习惯不同有关。

本研究结果显示,ICU 分离出的 CRPA 对亚胺培南、美罗培南、氨曲南、替卡西林/克拉维酸及左氧氟沙星的耐药率在 50.00% 左右或远超过 50.00%。CRPA 在 ICU 及非 ICU 病区内的耐药率比较,差异

无统计学意义($P > 0.05$),与既往报道的 PA 在 ICU 内的耐药率明显高于非 ICU 的结果不一致^[18]。

2020—2022 年正是全球新型冠状病毒肺炎疫情大流行阶段,消毒剂的使用量激增,消毒剂不合理使用及耐药问题越来越突出。细菌通过生物膜的形成、外排泵的表达、染色体或质粒介导等一系列机制抵抗消毒剂的作用^[19]。目前研究较多的是由质粒介导的 *qac* 基因家族,细菌获得 *qac* 基因家族后表达多种化合物外排泵。多项研究表明,*qacEΔ1-sul1* 基因在各类革兰阴性菌中广泛存在,*qacEΔ1-sul1* 基因的携带可使细菌对临床常规消毒剂抗性增加,导致医院消毒的失败及院内感染的发生^[7,20]。本研究中 *qacEΔ1-sul1* 基因检出率为 16.67%,远低于邓晶荣等^[7]研究的 60%。ICU 病区来源的标本 *qacEΔ1-sul1* 基因的检出率为 18.75%,同样低于张福华等^[10]研究中 40.95%。有研究结果显示,携带 *qacEΔ1-sul1* 耐消毒剂基因可使某些抗菌药物的耐药性和消毒剂最低抑菌浓度(MIC)值均升高^[21]。本研究中 *qacEΔ1-sul1* 基因阳性菌株对头孢类、氨基糖苷类及多数含酶抑制剂类抗菌药物的耐药率均高于 *qacEΔ1-sul1* 基因阴性菌株,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示抗菌药物和消毒剂可能存在交叉耐药现象,这可能是由于消毒剂与抗菌药物的化学分子结构,以及其对细菌的作用机制在某种程度上存在相同之处所致。

多项研究发现,新的外排泵家族“变形杆菌抗菌剂外排泵家族”的外排泵基因 *ace I* 基因以氯己定为特异性底物^[22-25]。蔺飞^[9]的研究发现 *ace I* 基因在鲍曼不动杆菌中携带率达 100%。本研究结果显示,*ace I* 基因在 CRPA 中的检出率为 26.67%。本研究有一定的局限性,检测标本数较少,不一定能准确反映两种基因的整体携带情况,但仍能在一定程度上反映出该类细菌对日常消毒剂的抗性。本研究对 *ace I*、*qacEΔ1-sul1* 基因在广西地区 CRPA 中的分布进行了初步探索,发现 *ace I*、*qacEΔ1-sul1* 基因均有一定的检出率,且在 ICU 与非 ICU 病区的检出率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示院内各病区在合理规范使用抗菌药物的同时,也应关注细菌对消毒剂产生的抗性现象,降低细菌对消毒剂的抗药性,对医院环境进行综合治理。

由于 PA 耐药性较强,能天然抵抗多种抗菌药物和杀菌剂,容易引起暴发、流行。因此,对细菌进行基因水平的同源性分析对医院感染的流行病学调查和监测极为重要。对细菌基因分型的方法目前包括脉冲场凝胶电泳(PFGE)、多位点序列分型(MLST)、随机引物 PCR(RAPD-PCR)和 ERIC-PCR 等。目前,不少医院对细菌的分子流行病学分型仍按细菌的耐药模式进行,但实际上并不准确,不同耐药模式可能会有相同基因型别。ERIC-PCR 技术具有成本低、操作简便、分辨率高和重复性较好等特点,目前应用较

为普遍,适合基层医院日常进行分子流行病学监测。本研究根据标本类型比例对 CRPA 进行分层随机抽样,选择了 2022 年 6—11 月检出的 30 株非重复 CRPA 进行 ERIC-PCR 分型。其中 13 株为相同基因型(A 型),表明这 13 株 CRPA 可能具有同源性,这 13 株细菌均在短期(2022 年 7—10 月)内检出,散布于 9 个不同科室;经深入分析发现 A 型菌株在本院呈科室间流行且可能存在交叉感染,这一结果可为后续医院感染控制工作提供分子流行病学依据。

综上所述,30 株 CRPA 中检出一定比例的 ace I、qacEΔ1-sul1 基因阳性菌株,主要存在 A、B 两种优势型别的克隆流行,应严格做好各病区 CRPA 患者的安置、接触、隔离、预防及环境清洁消毒等措施,进而有效阻断其在病区内的交叉传播。

参考文献

[1] HU Y Y, QING Y, CHEN J W, et al. Prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of intestinal carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Microbiol Spectr*, 2021, 9(3): e0134421.

[2] YUSUF E, VAN HERENDAEL B, VERBRUGGHE W, et al. Emergence of antimicrobial resistance to *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit: association with the duration of antibiotic exposure and mode of administration[J]. *Ann Intensive Care*, 2017, 7(1): 72.

[3] TACCONELLI E, CARRARA E, SAVOLDI A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(3): 318-327.

[4] ALEKSHUN M N, LEVY S B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance[J]. *Cell*, 2007, 128(6): 1037-1050.

[5] DOI Y, MURRAY G, PELEG A. *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance—treatment options [J]. *Semin Resp Crit Care*, 2015, 36(1): 85-98.

[6] 陶春梅, 龚雅利. 铜绿假单胞菌 280 株基因分型及耐药性分析[J]. *安徽医院*, 2019, 23(5): 1032-1035.

[7] 邓晶荣, 牟凤林, 邵林, 等. 多耐药铜绿假单胞菌抗药基因检测及对常用消毒剂的抗性分析[J]. *甘肃医院*, 2017, 36(7): 562-564.

[8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Supplement M100[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2019.

[9] 蔺飞. 鲍曼不动杆菌耐消毒剂 and 抗菌药物基因分析及联合抗菌作用研究[D]. 成都: 成都医学院, 2018.

[10] 张福华, 万言珍, 陈佳红, 等. ICU 铜绿假单胞菌耐药性和消毒剂-磺胺耐药基因的监测及分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(7): 1445-1473.

[11] 沈进, 孙少君, 杨茜云, 等. 某医院耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌耐药基因研究和同源性分析[J]. *当代医学*, 2021, 27(23): 5-7.

[12] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年不同等级医院细菌耐药监测报告[J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(2): 95-111.

[13] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2022, 22(5): 521-529.

[14] 吴振安, 张亮. 铜绿假单胞菌的临床分布及耐药性分析[J]. *中国临床医生杂志*, 2021, 49(1): 55-57.

[15] YU M W, KERRY L E G, AUDREY N S, et al. Activity of ceftolozane-tazobactam against carbapenem-resistant, non-carbapenemase-producing *pseudomonas aeruginosa* and associated resistance mechanisms[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 62(1): e01970-17.

[16] 朱建铭, 翁幸璧, 姜如金, 等. 铜绿假单胞菌临床分离株新型氨基糖苷类修饰酶基因分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(15): 2251-2255.

[17] 尹娟, 王莹超, 睦阳, 等. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌毒力基因检测及同源性分析[J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(1): 45-47.

[18] 许丽君. 某院肺炎克雷伯菌及铜绿假单胞菌在 ICU 及非 ICU 中的耐药性研究[J]. *中国处方药*, 2023, 21(1): 156-160.

[19] TONG C Y, HU H, CHEN G, et al. Disinfectant resistance in bacteria: mechanisms, spread, and resolution strategies[J]. *Environ Res*, 2021, 195: 110897.

[20] SHAFATI M, BOROUMAND M, NOWROOZI J, et al. Correlation between qacE and qacEΔ1 efflux pump genes, antibiotic and disinfectant resistant among clinical isolates of *E. coli*[J]. *Recent Pat Anti Infect Drug Disc*, 2016, 11(2): 189-195.

[21] HASSAN K A, LIU Q, HENDERSON P J, et al. Homologs of the *Acinetobacter baumannii* AceI transporter represent a new family of bacterial multidrug efflux systems[J]. *Mbiol*, 2015, 6(1): 1-5.

[22] HUANG J, CUI C, ZHOU S, et al. Impact of multicenter unified enhanced environmental cleaning and disinfection measures on nosocomial infections among patients in intensive care units [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(8): 300060520949766.

[23] HASSAN K A, JACKSON S M, PENESYAN A, et al. Transcriptomic and biochemical analyses identify a family of chlorhexidine efflux proteins[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(50): 20254-20259.

[24] HASSAN K A, ELBOURNE L D, LI L P, et al. An ace up their sleeve: a transcriptomic approach exposes the Ace I efflux protein of *Acinetobacter baumannii* and reveals the drug efflux potential hidden in many microbial pathogens[J]. *Front Microbiol*, 2015, 4(6): 333.

[25] BOLLA J R, HOWES A C, FIORENTINO F, et al. Assembly and regulation of the chlorhexidine specific efflux pump AceI[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(29): 2003271117.