

## · 临床论著 ·

院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌质粒介导的喹诺酮类耐药基因及qacE $\Delta$ 1基因检测

李树旺 姜梅杰 张开刚

**【摘要】目的** 调查院内不同时间临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌中, 质粒介导的喹诺酮类耐药基因qnrA、qnrB、qnrS、aac (6') -Ib-Cr及季胺类化合物耐药基因 (qacE $\Delta$ 1) 的存在情况。方法 采用自动化微生物仪进行菌种鉴定和药敏试验, 对部分抗菌药物的敏感性采用纸片扩散法。PCR法检测qnrA、qnrB、qnrS、aac (6') -Ib、qacE $\Delta$ 1基因在2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌和在2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中的存在情况。**结果** 2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中, 43株 (93.5%) 携带qacE $\Delta$ 1耐药基因, 未检出qnrA、qnrB、qnrS和aac (6') -Ib基因。2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中, 41株 (97.6%) 携带qacE $\Delta$ 1基因, 未检出qnrA、qnrB、qnrS基因, 7株 (17.1%) aac (6') -Ib基因阳性, 经测序均为aac (6') -Ib基因。**结论** 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌qacE $\Delta$ 1基因检出率一直很高, 临床上应注意消毒剂的选择。

**【关键词】** 多重耐药; 鲍曼不动杆菌; 不同时间; 喹诺酮类耐药基因; 消毒剂

**Detection of the plasmid-mediated quinolone-resistance gene and qacE $\Delta$ 1 gene in clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*** LI Shu-wang\*, JIANG Mei-jie, ZHANG Kai-gang. \*Tumor Hospital of Taian, Taian 271000, China

Corresponding author: ZHANG Kai-gang, Email: tachzkg@163.com

**【Abstract】 Objective** To research the plasmid-mediated quinolone-resistance gene [qnrA, qnrB, qnrC and aac (6') -Ib-Cr] and quaternary ammonium compounds resistance gene (qacE $\Delta$ 1) in clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Methods** Automatic microorganism analyzer was used for bacterial identification and susceptibility testing, and the disk diffusion method was used for part of antimicrobial susceptibility. Drug resistance were analyzed through microdilution method and K-B method. PCR was used to analyze qnrA, qnrB, qnrS, aac (6') -Ib, qacE $\Delta$ 1 gene in 46 isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* collected during June 2010 to June 2011 and 42 isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* collected during December 2012 to January 2013. **Results** Among the 46 isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* collected during June 2010 to June 2011, 43 isolates (93.5%) carried qacE $\Delta$ 1 gene. qnrA, qnrB, qnrS and aac (6') -Ib genes were not detected in the 46 isolates. Among the 42 isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* collected during December 2012 to January 2013, 41 isolates (97.6%) carried qacE $\Delta$ 1 gene, 7 isolates (17.1%) carried aac (6') -Ib gene. qnrA, qnrB and qnrS gene were not detected in the 42 isolates. **Conclusion** The qacE $\Delta$ 1 gene carrying rate of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from our hospital has been high in different times, selection of clinical disinfectants should be paid more attention.

**【Key words】** Multi-drug resistant; *Acinetobacter baumannii*; Different times; Quinolone resistance genes; Disinfectants

鲍曼不动杆菌是我院临床分离的常见革兰阴性杆菌之一<sup>[1]</sup>。已有报道称泰安中心医院的鲍曼不动杆菌菌株分离数逐年增多<sup>[2]</sup>。近年来临床分离的鲍曼不动杆菌菌株数增加,特别是多重耐药鲍曼不动杆菌的增加,使喹诺酮类抗菌药物对鲍曼不动杆菌的耐药率迅速升高。有报道<sup>[3-5]</sup>称,质粒介导的喹诺酮类耐药基因可影响喹诺酮类抗菌药物的耐药性,但在鲍曼不动杆菌检出质粒介导的喹诺酮类耐药基因的报道较少。鲍曼不动杆菌消毒剂耐药基因qacE $\Delta$ 1的阳性率已有报道<sup>[6-7]</sup>,为探讨不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌多重耐药性与质粒介导的喹诺酮类耐药基因和消毒剂耐药基因qacE $\Delta$ 1关系,针对院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌质粒介导的喹诺酮类耐药基因qnrA、qnrB、qnrS、aac(6')-Ib-Cr及qacE $\Delta$ 1的存在情况进行研究,现报道如下。

## 材料与方法

### 一、菌株来源

2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌,其中痰液44株、穿刺液1株、分泌物1株。2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌,其中痰液39株、穿刺液1株、分泌物1株、尿液1株。

### 二、细菌鉴定及药敏试验

采用自动化微生物仪进行菌种鉴定和药敏试验,鲍曼不动杆菌对部分抗菌药物的敏感性采用纸片扩散法。

### 三、耐药基因检测

采用PCR方法,引物参照文献<sup>[5,8]</sup>。采用煮沸法提取细菌DNA,质粒介导的喹诺酮类耐药基因、qacE $\Delta$ 1基因的PCR扩增引物序列见表1,PCR扩增反应参照文献<sup>[5,8]</sup>方法进行。

## 结 果

### 一、抗菌药物敏感试验结果

2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌和2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中,有3株对左氧氟沙星中介水平耐药、85株耐药,88株多重耐药鲍曼不动杆菌对环丙沙星均耐药。临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对15种抗菌药物的药敏情况及变迁情况见表2。

### 二、qnr基因检测结果

院内不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌中,经PCR证实qnrA、qnrB和qnrS基因均阴性。

### 三、aac(6')-Ib-Cr基因检测结果

2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重

表1 PCR扩增引物序列

靶基因	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
aac(6')-Ib	P1: TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482
	P2: CTCGAATGCCTGGCGTGTIT	
qnrA	P1: ATTCTCACGCCAGGATTG	516
	P2: GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	
qnrB	P1: GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	469
	P2: ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	
qnrS	P1: ACGACATTCGTCAACTGCAA	417
	P2: TAAATTGGCACCCCTGTAGGC	
qacE $\Delta$ 1	P1: TAGCGAGGGCTTTACCTAAGC	300
	P2: ATTCAGAATGCCGAACACCG	

表2 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对15种抗菌药物的药敏情况(%)

抗菌药物	2010年6月至2011年6月(n=46)			2012年12月至2013年1月(n=42)		
	敏感率	中介率	耐药率	敏感率	中介率	耐药率
阿米卡星	6.5	0.0	93.5	57.1	0.0	42.9
头孢他啶	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
头孢曲松	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
环丙沙星	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
头孢吡肟	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
庆大霉素	4.3	2.2	93.5	0.0	0.0	100.0
亚胺培南	0.0	0.0	100.0	2.4	0.0	97.6
左氧氟沙星	0.0	4.3	95.7	0.0	2.4	97.6
美罗培南	0.0	0.0	100.0	2.4	0.0	97.6
哌拉西林	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
复方新诺明	2.2	0.0	97.8	0.0	0.0	100.0
哌拉西林/他唑巴坦	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
妥布霉素	6.5	0.0	93.5	47.6	0.0	52.4
头孢哌酮/舒巴坦	14.0	32.0	54.0	4.8	40.5	54.7
米诺环素	54.3	43.5	2.2	0.0	40.5	59.5

耐药鲍曼不动杆菌中,经PCR证实aac(6')-Ib基因均阴性,未检出aac(6')-Ib-Cr。2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中,7株aac(6')-Ib基因阳性,经测序均为aac(6')-Ib基因,未检出aac(6')-Ib-Cr。

#### 四、qacE $\Delta$ 1基因检测结果

2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中,有43株携带qacE $\Delta$ 1耐药基因;2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中,有41株携带qacE $\Delta$ 1基因,见图2。

### 讨 论

鲍曼不动杆菌是我国下呼吸道常见细菌之一<sup>[9]</sup>。2012年本院临床分离的鲍曼不动杆菌中,91.9%的标本来源于痰液。说明院内分离的鲍曼不动杆菌主要引起呼吸道感染。本研究在院内不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌中,仅3株细菌对左氧氟沙星中介,其余菌株均耐药;其对环丙沙星均耐药。质粒介导的喹诺酮类耐药基因的研究在我国各地已有报道,但主要在肠杆菌科中检出<sup>[4-5]</sup>,在鲍曼不动杆菌中质粒介导的喹诺酮类耐药基因检出较少,有报道<sup>[10]</sup>在115株鲍曼不动杆菌中,检出2株(1.74%)qnrB基因。为了解本院不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对左氧氟沙星和环丙沙星的耐药性是否与质粒介导的喹诺酮类耐药基因有关,

本研究对88株多重耐药鲍曼不动杆菌进行了qnrA、qnrB、qnrS和aac(6')-Ib-Cr基因的研究,有7株细菌检出了aac(6')-Ib基因,与基因库里aac(6')-Ib同源100%,未检出质粒介导的喹诺酮类耐药基因qnrA、qnrB、qnrS和aac(6')-Ib-Cr。说明本院院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对喹诺酮类耐药与qnrA、qnrB、qnrS和aac(6')-Ib-Cr喹诺酮类耐药基因无关。

有报道<sup>[11]</sup>细菌对消毒剂产生抗药性主要通过质粒介导的qac基因家族表达多种化合物外排,qac基因家族有qacA、qacB、qacC、qacD、qacE、qacE $\Delta$ 1、qacF、qacH和qacJ,其中qacE $\Delta$ 1是qacE的缺失型。在2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中,43株携带qacE $\Delta$ 1基因,阳性率为93.5%。2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中,有41株携带qacE $\Delta$ 1基因,阳性率为97.6%。院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌qacE $\Delta$ 1基因携带率一直很高,多重耐药鲍曼不动杆菌对消毒剂耐药与qacE $\Delta$ 1基因携带率高有关,院内消毒部门应注意消毒剂的选择。

本研究药敏结果显示,本院不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌,对氨基糖苷类抗菌药物阿米卡星和妥布霉素的耐药率显著降低;对米诺环素的耐药率由2.2%升至59.5%;对其余12种抗菌药物的耐药率变化不大。因此,临床医师应及时掌握地区鲍曼不动杆菌的耐药特性,应根据药敏结果合理选

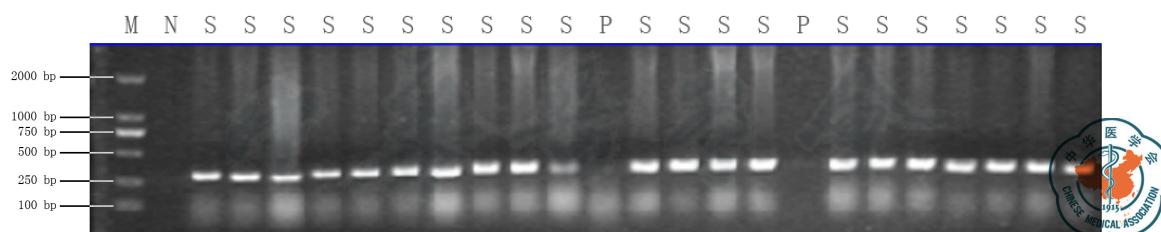
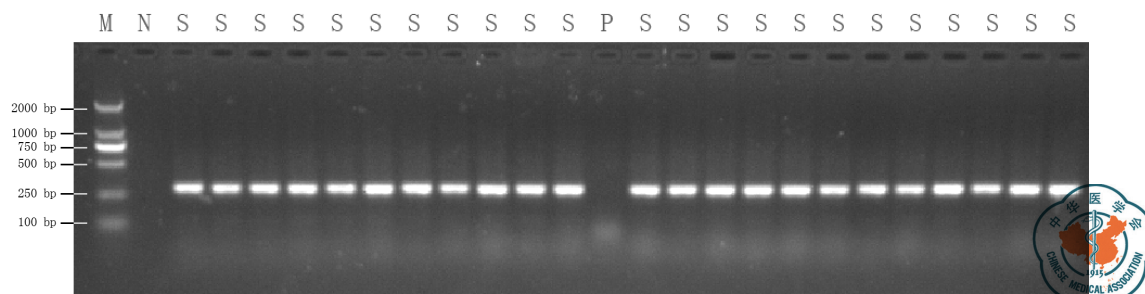


图1 2010年6月至2011年6月46株多重耐药鲍曼不动杆菌qacE $\Delta$ 1基因PCR电泳图



注: M: 分子量单位,由上而下分别为2000、1000、750、500、250、100 bp; S: 阳性标本; P: 阴性标本; N: 阴性对照

图2 2012年12月至2013年1月42株多重耐药鲍曼不动杆菌qacE $\Delta$ 1基因PCR电泳图

用抗菌药物。

### 参考文献

- 1 赵书平, 姜梅杰, 王桂明. 泰安地区临床常见革兰阴性杆菌的耐药性及分布. 中华临床医师杂志, 2011, 5(19): 179-181.
- 2 姜梅杰, 孙启英, 李玉臣. 2006-2010年鲍氏不动杆菌的耐药性分析. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(7): 1469-1470.
- 3 Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet, 1998, 351(9105): 797-799.
- 4 李红, 宋诗铎, 王玉宝, 等. 肠杆菌科临床株质粒介导的喹诺酮类耐药机制的研究. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1257-1259.
- 5 杨虹, 王辉, 彭黎明, 等. 中国九家教学医院肠杆菌科细菌质粒介导的喹诺酮耐药机制研究. 中华检验医学杂志, 2008, 31(9): 969-974.
- 6 林健濂, 伍晓锋, 邓思健, 等. 鲍曼不动杆菌携带消毒剂耐受相关基因的研究. 今日药学, 2012, 22(12): 712-715.
- 7 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. 中国消毒学杂志, 2012, 29(10): 869-873.
- 8 王伟, 毛剑锋, 徐伟珍. 大肠埃希菌连续分离株耐药性与季胺类化合物耐药基因研究. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(3): 247-249.
- 9 骆骥才, 杨青, 俞云松, 等. 2010年中国CHINET呼吸道病原菌分布及耐药性分析. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 340-347.
- 10 杨仁国, 俞汝佳, 高燕渝, 等. 临床分离鲍曼不动杆菌耐药性及qnr基因检测. 中国抗生素杂志, 2009, 34(12): 747-749.
- 11 陈辉英. 鲍氏不动杆菌消毒剂耐药基因qacE $\Delta$ 1的检测. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(6): 1429-1433.

(收稿日期: 2013-07-30)

(本文编辑: 李卓)

李树旺, 姜梅杰, 张开刚. 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌质粒介导的喹诺酮类耐药基因及qacE $\Delta$ 1基因检测[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(5): 717-720.

