

嗜麦芽窄食单胞菌 Topo II α 耐药途径阻断后的药敏结果分析*

林列坤, 刘青, 赵志敏, 吴祥林, 张松, 杨菊红 (广东省深圳市光明新区人民医院检验科 518106)

【摘要】目的 探讨多重耐药医院获得性嗜麦芽窄食单胞菌(SMA)耐药途径阻断后的药敏情况,为其临床治疗与合理用药提供试验依据和思路。**方法** 选取2013年11月至2014年10月临床分离的SMA 87株作为监测对象,通过阻断SMA耐药性的Topo II α 途径,来观察其对医院获得性SMA多重耐药性的生长、增殖及转移的抑制作用。**结果** SMA菌株检测在呼吸科检出率最高,为25.29%,高于其他科室来源菌株检出率;在痰液中检出率最高,为35.63%,高于其他标本类型菌株,差异均有统计学意义($P < 0.05$);阻断SMA耐药性Topo II α 途径前,87株SMA的药敏检测结果显示,对复方磺胺甲噁唑的敏感率最高,为87.36%;对亚胺培南耐药率最高,为100.00%,分别高于其他抗菌药物的敏感率和耐药率,差异均有统计学意义($P < 0.05$);阻断SMA耐药性Topo II α 途径后,SMA对亚胺培南耐药率最高,为83.91%;对复方磺胺甲噁唑的敏感率最高,为94.25%,与阻断SMA耐药性Topo II α 途径前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);氨曲南、头孢吡肟、亚胺培南的敏感性较阻断SMA耐药性Topo II α 途径前增加,耐药性下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 通过阻断SMA耐药性的Topo II α 途径来沉默基因的表达,对医院获得性SMA耐药性的生长、增殖及转移有一定抑制作用,值得临床推广。

【关键词】 多重耐药; 医院获得性; 嗜麦芽窄食单胞菌; 耐药机制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.17.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)17-2510-03

Analysis on drug susceptibility results after blocking Topo II α drug resistance pathway in *Stenotrophomonas maltophilia** LIN Lie-kun, LIU Qing, ZHAO Zhi-min, WU Xiang-lin, ZHANG Song, YANG Ju-hong (Department of Clinical Laboratory, Guangming New District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518106, China)

【Abstract】Objective To investigate the drug susceptibility situation after blocking Topo II α drug resistance pathway in multi-drug resistant hospital-acquired *Stenotrophomonas maltophilia* (SMA) to provide the experimental evidence and thinking for its clinical treatment and rational drug use. **Methods** 87 clinically isolated strains of SMA in our hospital from November 2013 to October 2014 were selected as the monitoring objects. By blocking the Topo II α pathway of SMA drug-resistance, its inhibiting role on the SMA growth, proliferation and transferring was observed. **Results** The detection rate of SMA strain was highest (25.29%) in the respiration department, which was higher than the detection rate in the other departments; the highest detection rate was in sputum (35.63%), which was higher than that in the other types of specimen, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); before blocking the SMA drug-resistance Topo II α pathway, the drug susceptibility test results of 87 strains of SMA displayed that the sensitive rate to compound sulfamethoxazole was highest (87.36%) and the resistance rate to imipenem was highest (100.00%), which were higher than the sensitivity rate and resistance rate of other antibacterial drugs respectively, the differences were statistically significant ($P < 0.05$); after blocking the SMA drug resistance Topo II α pathway, SMA had the highest resistance rate to imipenem (83.91%) and the highest sensitive rate (94.25%) to compound sulfamethoxazole, the differences had no statistical significance compared with before blocking ($P > 0.05$); while the its sensitivity to aztreonam, cefepime and imipenem was increased comparing with before blocking the SMA drug resistance Topo II α pathway, and the drug resistance was dropped, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Silencing gene expression by blocking the Topo II α pathway of SMA has certain inhibitory effect on the growth, proliferation and transferring of hospital acquired SMA, which is worthy of clinical promotion.

【Key words】 multidrug-resistant; hospital-acquired; *Stenotrophomonas maltophilia*; resistance mechanisms

嗜麦芽窄食单胞菌(SMA)作为院内感染的重要病原菌之一,近年来明显呈上升趋势,且多重耐药现象严重,其根本原因与还未能完全阐明多重耐药医院获得性SMA的耐药机制

有关^[1]。因此,本研究通过阻断SMA耐药性的Topo II α 途径来沉默基因的表达,观察能否有效抑制医院获得性SMA耐药性的生长、增殖及转移,现报道如下。

* 基金项目:广东省深圳市科技计划项目(201303253)。

作者简介:林列坤,女,本科,副主任技师,主要从事临床医学检验研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 11 月至 2014 年 10 月临床各科室负责采集和送检的 SMA 87 株作为监测对象,采用 MicroScan WalkAway-40 全自动微生物鉴定仪对所有菌株进行 SMA 鉴定。

1.2 方法及指标 对 87 株耐药性 SMA 进行基因沉默转导体系的设计、合成,根据 Genbank 数据库中提供的 SmeDEF、SmeABC 序列, β -内酰胺酶即 L1 和 L2 酶序列和 aac(6)2IZ 序列,由中山大学达安基因股份有限公司利用计算机软件设计合成 10 条 siRNA 序列;以 shRNA 的 Topo II α 质粒为载体分别和上述 10 种 siRNA 序列相连,构建 10 种质粒,然后分别转染 SMA 菌株^[2]。利用实时荧光定量 PCR 技术,在细胞分子水平通过阻断 SMA 耐药性的 Topo II α 途径来沉默基因的表达;观察基因沉默前后,医院获得性 SMA 多重耐药性的情况。

1.3 药敏试验 药敏试验采用 K-B 试验法进行,选择药敏纸片(英国 Oxoid 公司生产),抗菌药物种类根据本院临床常用确定氨曲南、头孢他啶、替卡西林/克拉维酸、左氧氟沙星、米诺环素、复方磺胺甲噁唑等 12 种,选择大肠埃希菌(ATCC 25922)和铜绿假单胞菌(ATCC 27853)为质控菌株。试验结果判读按 2012 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)推荐鉴定和检测多重耐药医院获得性 SMA 菌株的标准进行^[3]。

1.4 统计学处理 选用 SPSS18.0 统计学软件,计数资料应用 χ^2 检验,计量资料采用 t 检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SMA 的菌株检测结果 SMA 菌株检测在呼吸科检出率最高,为 25.29%,高于其他科室来源菌株检出率;在痰液中检出率最高,为 35.63%,高于其他标本类型菌株,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 SMA 的菌株检测结果[n(%)]

科室来源	检出数	标本类型	检出数
心内科	7(8.05)	痰液	31(35.63)*
呼吸科	22(25.29)#	尿液	12(13.79)
消化科	13(14.94)	胸腔积液	9(10.34)
泌尿外科	5(5.75)	血液	9(10.34)
重症病房	15(17.24)	脑脊液	3(3.45)
内分泌科	8(9.20)	心包积液	4(4.60)
血液科	11(12.64)	脓液	5(5.75)
肾内科	6(6.90)	伤口分泌物	14(16.09)
合计	87(100.00)	合计	87(100.00)

注:与其他比较,*# $P < 0.05$ 。

2.2 阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前 87 株 SMA 的药敏检测结果 阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前,87 株 SMA 的药敏检测结果显示对复方磺胺甲噁唑的敏感率最高,为 87.36%,对亚胺培南耐药率最高,为 100.00%,分别高于其他抗菌药物的敏感率和耐药率,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径后 SMA 的药敏检测结果 阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径后,SMA 对亚胺培南耐药率最高,为 83.91%;对复方磺胺甲噁唑的敏感率最高,为

94.25%,与阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);氨曲南、头孢吡肟、亚胺培南的敏感性较阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前增加,耐药性下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前 SMA 的药敏检测结果[n(%)]

抗菌药物	耐药	中介	敏感
头孢他啶	42(48.28)	2(2.30)	43(49.43)
庆大霉素	62(71.26)	1(1.15)	24(27.59)
左氧氟沙星	23(26.44)	2(2.30)	62(71.26)
氨曲南	71(81.61)	1(1.15)	15(17.24)
阿米卡星	51(58.62)	2(2.30)	34(39.08)
环丙沙星	41(47.13)	3(3.45)	43(49.43)
米诺环素	15(17.24)	—	72(82.76)
复方磺胺甲噁唑	11(12.64)	—	76(87.36)
头孢吡肟	51(58.62)	4(4.60)	32(36.78)
头孢哌酮/舒巴坦	12(13.79)	2(2.30)	73(83.91)
亚胺培南	87(100.00)	—	0(0.00)
替卡西林/克拉维酸	32(36.78)	1(1.15)	54(62.07)

注:—表示无数据。

表 3 阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径后 SMA 的药敏检测结果[n(%)]

抗菌药物	耐药	中介	敏感
头孢他啶	43(49.43)	1(1.15)	43(49.43)
庆大霉素	55(63.22)	1(1.15)	31(35.63)
左氧氟沙星	11(12.64)	2(2.30)	74(85.06)
氨曲南	40(45.98)#	1(1.15)	46(17.24)*
阿米卡星	45(51.72)	1(1.15)	41(52.87)
环丙沙星	38(43.68)	2(2.30)	47(54.02)
米诺环素	9(10.34)	—	78(89.66)
复方磺胺甲噁唑	5(5.75)	—	82(94.25)
头孢吡肟	42(48.28)#	2(2.30)	43(49.43)*
头孢哌酮/舒巴坦	10(11.49)	1(1.15)	76(87.35)
亚胺培南	73(83.91)#	—	14(16.09)*
替卡西林/克拉维酸	21(24.14)	1(1.15)	65(74.71)

注:与阻断前比较,*# $P < 0.05$;—表示无数据。

3 讨论

SMA 可引起医院获得性肺炎、皮肤软组织感染和尿道感染,严重者可引起导致心内膜炎和菌血症的发生^[4]。且医院获得性 SMA 患者的多重耐药现象十分严重,并未随着抗菌药物的不断更新而减轻^[5]。如何特异性地阻断医院获得性 SMA 耐药途径,有效抑制医院获得性 SMA 的生长及增殖,亟待进一步研究。

在医院获得性 SMA 多重耐药的发生发展中,各种耐药基因(转换因子)可能起重要作用^[6];染色体遗传基因介导的天然或突变产生的耐药;质粒介导的耐药性,所携带耐药基因易

于传播;医院中长期大量使用抗菌药物,对许多耐药菌株的产生起促进作用。

医院获得性 SMA 外膜具有低渗透性特点,对多种抗菌药物天然耐药^[7]。该菌主动外排系统 SmeDEF 可对大环内脂类、喹诺酮类、四环素等进行外排,SmeABC 的菌株表达则对 β -内酰胺酶、喹诺酮类和氨基糖苷类的耐药性增强^[8]。碳青霉烯类或头孢菌素类抗菌药物进入人体内后会迅速诱导 SMA 产生 L1 和 L2 酶。L1 型酶属 β -内酰胺酶 3 型,表现为对碳青霉烯类抗菌药物高度耐药;L2 型酶属 β -内酰胺酶 2e 型,能水解青霉素类和头孢菌素类抗菌药物,克拉维酸可抑制其活性^[9]。SMA 菌临床株可有染色体上存在 aac(6) 2IZ 基因的氨基糖苷类等修饰酶,可使菌株对阿米卡星尤其妥布霉素耐药。

自发现 RNA 干扰(RNAi)作用后,其一直受到关注,并发展成为对特定基因功能实施关闭的新技术^[10]。近几年 RNAi 研究领域发展迅速,目前 RNAi 已经成为筛选新基因、探索基因功能和寻找有效药物靶位的重要工具,利用短发卡结构 RNA 的质粒载体系统 psilence4.1-拓扑异构酶 II α (Topo II α),筛选出对目的基因沉默效果最佳的 iRNA 序列,从而对 SMA 耐药性的生长、增殖及转移产生影响^[11]。

本研究发现,阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径后,SMA 对亚胺培南耐药率最高,为 83.91%,对复方磺胺甲噁唑的敏感率最高,为 94.25%,与阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但对亚胺培南耐药率有所下降,对复方磺胺甲噁唑的敏感率有所上升;氨曲南、头孢吡肟、亚胺培南的敏感性较阻断 SMA 耐药性 Topo II α 途径前增加,耐药性下降,差异均有统计学意义($P<0.05$),提示通过阻断 SMA 耐药性的 Topo II α 途径来对基因表达进行沉默,对 SMA 耐药性的生长、增殖及转移有一定抑制作用。

综上所述,通过阻断 SMA 耐药性的 Topo II α 途径来沉默基因的表达,对医院获得性 SMA 耐药性的生长、增殖及转移有一定抑制作用,值得临床推广。

(上接第 2509 页)

同时,通过比对试验能够保证血液标本结果的正确率,从而使血液更安全、更好地维护用血者的身体健康。

综上所述,血液标本检测结果的正确性受到多个方面的影响,对于血液标本检测结果的质控工作应该要在多个环节中开展,以求在每个环节都能够做到质控,保证用血安全。对于血液标本的检测结果,则需要在检验的每一个环节中要求,完善相关的管理和质控制度,规范相关的实验室检查操作,才能够保证标本检测结果的正确性,保证临床用血的安全,为临床提供优质的服务,保证患者的利益。

参考文献

- [1] 姚瑞英. 血站血液检验的空间质量控制及管理研究[J]. 中外健康文摘, 2013, 10(44): 50-51.
- [2] 周兰, 王知秋, 王斌, 等. 血站血液检验的空间质量控制和管理初探[J]. 中国医药指南, 2013, 11(13): 445-446.
- [3] 田东媚. 血站血液检验实验室的质量控制及管理分析[J]. 中国保健营养: 下旬刊, 2014, 21(6): 3630.

参考文献

- [1] 郝会青, 胡利民. 嗜麦芽窄食单胞菌医院感染分布及耐药性分布[J]. 实验与检验医学, 2012, 30(4): 414-417.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing Standards: twentieth Informational Supplement [S]. M100-S20, 2010.
- [3] 艾效曼, 胡云建, 俞云松, 等. 中国 CHINET 嗜麦芽窄食单胞菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(2): 105-109.
- [4] 平天洲. 浅谈呼吸机相关性肺炎的临床分析[J]. 中国医药指南, 2012, 10(14): 71-72.
- [5] 胡亚兰, 张彦华, 韦慧玲. 我院 2007~2009 年临床检出细菌分布及药敏结果分析[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(10): 111-113.
- [6] 胡雪梅. 我院医院获得性嗜麦芽窄食单胞菌的临床耐药分布[J]. 实用心脑血管病杂志, 2011, 19(12): 2113.
- [7] 吴锦, 胡立芬, 沈为华, 等. 嗜麦芽窄食单胞菌基因同源性的临床耐药分布[J]. 安徽医药, 2013, 17(1): 43-45.
- [8] 胡田雨. 嗜麦芽窄食单胞菌感染的危险因素及耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(2): 112-115.
- [9] 钱耀先, 王燕, 胡忠惠, 等. 嗜麦芽窄食假单胞菌 64 株临床分布及耐药分析[J]. 现代诊断与治疗, 2012, 28(7): 956-957.
- [10] 李雷, 刘健, 刘静. 嗜麦芽窄食单胞菌的耐药现状及临床药物选择[J]. 临床合理用药, 2013, 6(5): 83-84.
- [11] 刘灿. 嗜麦芽窄食单胞菌对磺胺类抗菌药物耐药机制的研究进展[J]. 安徽医药, 2014, 18(5): 961-963.

(收稿日期: 2015-03-15 修回日期: 2015-04-18)

- [4] 李金明. 临床酶免疫测定技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2006: 90.
- [5] 瞿红梅. 血站血液检验实验室质量管理问题及对策[J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(6): 80-81.
- [6] 刘丽. 血站血液检验标本误差的原因及对策探讨[J]. 中国卫生产业, 2014, 12(17): 19-20.
- [7] 关茵, 何秋荣, 刘丽敏, 等. 血站血液检验实验室质量管理探讨[J]. 医药前沿, 2013, 3(7): 367.
- [8] 张国平. 血站血液检验实验室试剂管理探讨[J]. 医药前沿, 2014, 4(11): 381-382.
- [9] 施欣, 孙莉, 高波, 等. 从新版血站技术操作规程看我国血站管理的发展[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(5): 109-115.
- [10] 董雪, 赵曦, 里天初, 等. 中国三版艾滋病检测技术工作规范的对比分析[J]. 中国艾滋病性病, 2010, 16(6): 595-598.

(收稿日期: 2015-04-25 修回日期: 2015-05-20)