

医院感染与微生物耐药专栏

细菌的消毒剂耐药性

邢玉斌^{1,2} 索继江¹ 贾 宁¹ 魏 华¹ 袁云娥¹(中国人民解放军总医院 北京 100853)¹ (中国科学院研究生院 北京 100049)²

摘要: 细菌的消毒剂耐药性指细菌与消毒剂多次接触后, 使该类消毒剂的最小抑菌浓度或最小杀菌浓度升高的现象。细菌的消毒剂耐药性普遍存在, 多种细菌可对一种消毒剂耐药, 一种细菌可对多种消毒剂耐药。消毒剂选择性压力是耐药性产生的外在原因, 产生的机制包括生化结构、遗传学途径和酶学途径。消毒剂耐药与抗生素耐药之间存在一定的关系。应加强研究, 制定统一标准, 加强监测, 并制定合理应用消毒剂规范, 以减少消毒剂耐药性的发生。

关键词: 细菌, 消毒剂, 耐药性

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0184-05

Bacterial Disinfectant Resistance

XING Yu-Bin^{1,2} SUO Ji-Jiang¹ JIA Ning¹ WEI Hua¹ YUAN Yun-E¹(General Hospital of PLA, Beijing 100853)¹(Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)²

Abstract: Bacterial disinfectant resistance is the phenomenon that minimal inhibitory concentration or minimal bactericidal concentration of a certain disinfectant increases after a certain bacterium contacts with it many times. It exists widespread. Many species of bacteria are may resistant to a certain disinfectant, and a species of bacterium is may resistant to many disinfectant. Disinfectant selectivity pressure is the extrinsic agent of bacterial disinfectant resistance. Resistance mechanisms include bacterial biochemistry structure, genetics pathway and enzymology pathway. There is relationship in disinfectant resistance and drug resistance. We should strengthen study and monitoring, enact unified standard and application specification to reduce bacterial disinfectant resistance.

Key words: Bacteria, Disinfectant, Resistance

在对细菌的抗生素耐药性取得越来越深刻的认识之后, 人们对其消毒剂耐药性(也常译作“抗性”)也投入了很大的关注和研究。

1 消毒剂耐药性概念与判定、检测方法

细菌的消毒剂耐药性是指对消毒剂的常用浓度不再敏感的菌株出现, 也指那些在能杀灭或抑制绝大部分该种细菌的消毒剂浓度下不能被杀灭或抑制的菌株的出现^[1]。定量概念即指细菌与消毒剂多次接触后, 使该类消毒剂的最小抑菌浓度或最小杀菌浓度(MIC 或 MBC)升高的现象。薛广波等提出将分离菌株与标准菌株的 MIC 或 MBC

进行对比来判定有无耐药性^[2]。在尚未建立消毒剂耐药性法定判定标准情况下,这一判定依据是可行的,在实际操作中已被大多数人采用。文细毛等应用此法在检测 ESBLs 阳性菌株对常用消毒剂的敏感性时发现,在测定消毒剂对细菌的 MIC 值时受营养肉汤的影响较大,当消毒剂对细菌 MBC 值较低时,不能用消毒剂加营养肉汤的方法测定其对细菌 MIC 值^[3]。

随着分子生物学的迅猛发展,国外主要是通过检测某些特定耐药基因来判断耐药性。国内黄支密等根据国外报道的消毒剂耐药基因 *qac* 基因序列,自行设计了 PCR 检测体系,目前国内基本采用这一体系进行相关检测^[4]。因其成本较高,实际开展的检测项目较少。但可以预见,分子生物学方法将成为消毒剂耐药性检测的常用方法,并将形成相应的标准。

2 消毒剂耐药性现状

细菌的消毒剂耐药性普遍存在。自 20 世纪 50 年代开始,人们首先发现细菌对季铵盐(quaternary ammonium compound, QAC)类消毒剂产生耐药性;之后发现越来越多的消毒剂对很多细菌不能在其“常用”浓度时发挥其曾经强大的杀菌效能。

2.1 各类消毒剂的耐药性^[5,6] 对季铵盐类消毒剂耐药的菌株较多,包括铜绿假单胞菌、产碱杆菌属、白色念珠菌等,甚至还有凝固酶阴性葡萄球菌。酚类消毒剂中有人报道六氯双酚皂液和乳霜中可分离出革兰氏阴性菌,成为皮肤感染的潜在原因。双胍类消毒剂中主要是对醋酸氯己定的耐药,包括斯氏普罗威登斯菌、铜绿假单胞菌、奇异变形杆菌、肺炎克雷伯杆菌、粪链球菌等。Kearns 等报道抗次氯酸的 3 株肠球菌能在 100mg/L 有效氯中耐受 5min,而敏感菌只需 0.5mg/L 有效氯 2min 即可杀灭,这些耐药菌成了医院感染传播的潜在病原菌;据报道克雷伯杆菌和铜绿假单胞菌中有 4%~13% 对氯胺有耐药性。80 年代初有人发现碘伏中存在假单胞菌,随后报道了洋葱假单胞菌、铜绿假单胞菌、MRSA 菌株对碘伏耐药性。近年对碘及含碘消毒剂的抗性报道不多,且结果不一致,尚待确证。Kaulfers 报告了大肠埃希菌对甲醛的耐药情况;Griffiths 报道从内镜清洗消毒剂中分离出对戊二醛抗性的龟分枝杆菌,并显示对 1% 的过氧化物、1000mg/L 的二氯异氰尿酸钠很高的耐药性^[7]。上述结果说明,各类消毒剂不同程度地存在着细菌耐药情况。

像抗生素耐药一样,细菌对消毒剂也存在交叉耐药性。Nagai 等报道了 3 株对醋酸氯己定有抗性的菌株同时对 QAC 有交叉抗性^[8],提示在消毒工作中应予以重视。Shiraishi 等人报道,对临床分离的假单胞菌和沙雷菌,在普遍使用推荐浓度的葡萄糖酸氯己定和苯扎氯铵期间,短时间内不能杀死许多耐药菌株;后期改用碘伏后不仅可杀灭对前两种消毒剂耐药的菌株,而且这种菌株的数量明显减少。这一现象表明,随着某种消毒剂普遍使用,细菌对其耐受性会逐渐增强,而当改用其他消毒剂后,这种耐受性又可随之消失,且说明几种消毒剂之间并无产生抗性的内在联系^[9]。还有作者发现,细菌对消毒剂的交叉耐药性不仅发生在同类消毒剂,也发生于不同类消毒剂^[10]。

2.2 国内近年来对常见感染菌株的消毒剂耐药性检测情况 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA):继国外学者从金黄色葡萄球菌中检出耐消毒剂菌株后^[11],国内多位作者先后报告从 MRSA 检出 *qacA* 基因。黄支密等从同一家医院分离的 20 株 MRSA 中均检出 *qacA* 基因,这在国内为首次发现^[12]。陆亚华

等从 4 家医院的 131 株 MRSA 中检出 *qacA* 基因 72 株 (55.0%), 检出 *qacA/B* 基因 80 株 (61.1%)。张艳红等发现 38 株 MRSA 与 18 株 MSSA 对碘伏的抗性有着明显区别, 34.2% MRSA 的 MIC 高于标准菌株。王 鑫等将 MRSA、MSSA 临床分离株和标准株作用于三氯异氰尿酸, 结果表明 MRSA 抗性比 MSSA 强, 而标准株的 MBC 值均小于临床分离株。许志芳等对 51 株 MRSA 进行新洁尔灭体外抑菌试验, MIC 大于标准菌株的占 71%。国外大量研究表明, MRSA 对氯己定、碘伏有抗性, 而对乙醇、含醇氯己定敏感。

铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, Pa): 黄支密等检测 28 株 Pa, 24 株 (85.7%) 的消毒剂-磺胺耐药相关基因 *qacEΔ1-sul1* 呈阳性。李智山等报告 35 株 Pa 菌中 *qacE* 基因的阳性率为 54.3%。蒋伟等检测 35 株多重耐药的 Pa *qacEΔ1* 基因阳性率达 94.13%。

大肠埃希菌 (*Escherichia coli*): 王家平等检测了 65 株临床分离的大肠埃希菌, 38 株检测到 *qacE-sul1* 基因, 阳性率 58.46%。王楚平等通过定量杀菌试验表明, ESBL 阳性大肠杆菌对碘伏和“921”消毒剂抗力比 ESBL 阴性菌株更强。张 本等对四川省分离的 67 株大肠杆菌 O157: H7 进行 MIC 和 MBC 检测, 几乎所有从外环境中得到的菌株对二氯异氢尿酸钠、酒精、戊二醛、季铵盐等 4 种常用消毒剂的抗力均大于质量控制菌, 而从生物体内和食品中分离的菌株则部分对二氯异氢尿酸钠、酒精、碘伏、季铵盐等 4 种消毒剂产生了抗性。

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*, ABA): 张金艳等报告, 36 株 ABA 中共检出 30 株携带消毒剂耐药基因 *qacEΔ1*, 检出率为 83.13%。同时发现 *qacEΔ1-sul* 阳性的 30 株均为抗生素多重耐药。周月清等的检测显示, 20 株鲍氏不动杆菌 *qacEΔ1* (包括 *qacEΔ1-sul*) 基因的携带率为 90.0%。

其它菌株: 林爱红等发现分支杆菌在 2% 强化中性戊二醛作用达到灭菌水平以前, 医院感染株抗力大于标准株。徐简等在 4 类 5 种消毒剂的杀菌试验中, 分离出对双胍类消毒剂洗必太耐药的肺炎克雷伯杆菌。另外, 国外学者对 103 株阴沟肠杆菌、费劳地枸橼酸杆菌、Pa、嗜麦芽窄食单胞菌进行扩增分析, *qacEΔ1* 检出率 10.10%, 但从中挑选出 15 株多重耐药菌扩增时, *qacEΔ1* 检出率为 81.10%^[13]

3 消毒剂耐药性产生的原因和机制

3.1 消毒剂耐药性产生的原因 如同抗生素的滥用情况一样, 在医疗卫生机构、社区和家庭、畜牧和食品生产企业中, 各种消毒剂也在被广泛而不尽合理地使用着。医院是消毒剂应用最频繁、使用量最大的场所。近年来, 季铵盐类、双胍类等消毒剂被引入日化用品, 如在湿巾纸、洗手液、牙膏中添加了洗必太等; 同时, 由于养殖业已普遍认识到滥用抗生素的危害, 转而使用消毒剂, 在我国的家畜、家禽、水产和食用真菌的养殖业中广为应用, 这些情况称为选择性压力^[14], 是细菌对消毒剂产生耐药性的主要原因。尤其是中低效消毒剂在低于 MBC 的浓度使用时, 在亚致死剂量的作用下, 每一次的应用都可能促成细菌生态学的改变, 能够不断诱导耐药性产生。有报道食品工业中消毒剂使用的增加, 引起微生物抗性的产生^[15]。应该说, 只要有消毒剂, 细菌就会受到选择性压力的作用, 就有可能发生消毒剂耐药。虽然其严重程度尚不及抗生素耐药性, 但也必然越来越引起人们注意。

3.2 消毒剂耐药机制

3.2.1 细菌的天然耐药性—生化结构形成的耐药性：某些菌株具有特殊的结构，从而起到消毒剂屏蔽作用，产生天然耐药，如外膜蛋白、脂多糖等。Russell 等将司徒茨假单胞菌在浓度递增的洗必太和四价铵复合物 (QACs) 中反复筛选培养后，获得稳定耐药性，耐洗必太的菌株对三氯生、QACs 和一些抗生素的耐药性更强。这种耐药性均不可传递。电子显微镜观察发现，对消毒剂敏感和不敏感的菌株其外膜脂多糖及外膜蛋白存在着明显的差异^[16]。这些发现表明，细菌的表层结构对增加细菌对一些非化学抑制剂的耐药性有一定作用。铜绿假胞菌对苯扎溴铵的耐药性研究表明，敏感及耐药菌株的菌壁脂类含量不同^[17]。典型的细菌芽胞多层厚膜更是对消毒剂抵抗强大的结构。许多研究表明，生物被膜的形成也是消毒剂耐药性的一种机制。生物被膜阻碍消毒剂的有效扩散，并与消毒剂产生交互作用，影响消毒剂与细菌的接触，而表现出耐药性^[18]。

3.2.2 耐药性获得的遗传学途径：细菌可通过获得质粒、转座子或发生基因突变而产生对消毒剂的耐药性。质粒介导的耐药性的获得为主要途径。Brown 证明金黄色葡萄球菌对汞离子的耐药性与大肠杆菌对甲醛的耐药性均有其相应的基因，同时还证明对金属离子、六氯双酚、甲醛、苯扎氯铵和氯己定的耐药性是由质粒介导的^[19]。

有关质粒与细菌对消毒剂（和防腐剂）耐药性关系的研究有以下 4 个方面：质粒介导的葡萄球菌对消毒剂的抗性；质粒介导的革兰阴性菌对消毒剂的抗性；质粒介导的流出泵；质粒介导的其他革兰阳性菌对消毒剂的抗性^[20]。其中研究最多的是 *qac* 基因家族。*qac* 基因是指位于金黄色葡萄球菌不同质粒上消毒剂抗性决定因子。*qac* 基因家族目前已发现的有 A、B、C、D、E、EA1、F、G、H、J 10 种，表达多种化合物外排泵 (multidrug efflux pump)。绝大多数对消毒剂有耐药性的菌株都含有 *qacA* 基因。在重金属抗性质粒中检测到了 *qacB* 基因。40% 的凝固酶阴性葡萄球菌有 *qacA* 和 *qacC* 基因。*qac EA1* 亦为重要的消毒剂耐药基因，是 *qacE* 基因的截断衍生物，由整合子介导，可被革兰阳性和革兰阴性菌广为获取，其表达产物可将季铵类化合物、双胍类化合物、胍类化合物、碱性染料等排出菌体，从而显示出耐药性。

3.2.3 耐药性获得的酶学途径：这个途径是基因途径的延续，即细菌的耐药基因可产生某些酶，使消毒剂降解而表现出耐药性，与产酶细菌对抗生素的酶降解有相似之处。对甲醛耐药的大肠杆菌和对汞耐药的金黄色葡萄球菌即通过这种途径产生耐药。

4 消毒剂耐药与抗生素耐药的关系

实际中确实存在大量这类细菌，可以称之为“抗生素—消毒剂耐药菌株”。例如前面提到的 MRSA、Pa 等临床分离的多重耐药（抗生素）菌株，其消毒剂耐药基因携带率非常高。从澳大利亚、北美和欧洲分离的质粒中发现 *qac* 基因，这些质粒中存在多重耐药质粒，含有多种转座子 (Tn)，编码对一些抗生素的抗性，同时对某些消毒剂（季铵盐类、双胍类等）也产生抗性^[21]。有些学者认为抗生素耐药性与消毒剂耐药性存在某种内在的联系；也有人认为两者彼此独立产生，两种耐药性之间是非共轭的，无遗传学上的必然联系，各自有相对独立的耐药机制^[22]。

无论机制如何，这个问题的探讨仍是有其现实意义的。因为如果医院病房环境中存在同时对抗生素和消毒剂均耐药的致病菌，而常规消毒不能消除该菌株，就会通过各种可能的途径传播给患者，使得抗生素耐药性也呈现出来，并继续传播，将造成比

某种单纯耐药菌株更大的危害。能够及时发现这类细菌,采取适当的方法杀灭,使之不再作为耐药菌传播,意义非常重大。

5 减少消毒剂耐药性的对策

消毒剂耐药菌株的出现可能会导致对某些病原菌消毒的失败,可能加快“抗生素-消毒剂耐药菌株”的传播,造成感染的流行。为防止消毒剂耐药出现现象抗生素耐药性泛滥一样的情况,提出以下建议:

5.1 制定标准,加强监测 可以参照 WHO 对抗生素耐药监测的 NCCLs,建立全球统一的消毒剂耐药检测标准,实现国际间的标准化。同时建立消毒剂耐药性监测网,定期监测和报告耐药情况。医院在检测抗生素药敏时,可加测“消毒剂药敏”项目,明确耐药情况,为消除耐药菌株和消毒剂选择和使用提供依据。

5.2 制定规范,合理使用 建立健全消毒剂使用规范,谨慎和合理使用消毒剂,减少盲目使用。应改变消毒越多越“干净”的观念,减少不必要的消毒剂使用,同时采用恰当的处理方法。使用足量(浓度、时间等因素充分)的消毒剂,在尽量保护环境的情况下,以超过 MBC 的剂量一次将致病菌全部杀死为宜。建立消毒剂轮换使用制度,避免对同一种消毒剂的长期耐受;同时要考虑交叉耐药的情况。减少或禁止医院保洁工作中的消毒剂应用。严格控制非医用消毒剂的使用。

5.3 加强研究 加强消毒剂耐药机制的研究,针对不同机制提出相关措施。加强实验室力量,使检测鉴定工作及时和准确。

参考文献

- [1] Russell A D, Chopra I. Understanding Antibacterial Action and Resistance, 2nd edn, Chichester; Ellis Horwood, 1996.
- [2] 薛广波, 顾春英. 疾病预防和消毒灭菌, 1998, 11.
- [3] 文细毛, 黄 勋, 徐秀华, 等. 中华医院感染学杂志, 2002, 12 (9): 683 ~ 685.
- [4] 黄支密, 廉祖煌, 石晓霞, 等. 中华医院感染学杂志, 2005, 15 (7): 721 ~ 724.
- [5] 顾春英, 薛广波. 中华医院感染学杂志, 1997, 7 (4): 252 ~ 256.
- [6] 杨 柳, 许 欣. 预防医学情报杂志, 2005, 21 (6): 676-679.
- [7] Griffiths P A, Babb J R, Bradley C R. ApplMicrobiol, 1997, 82 (4): 519 ~ 526.
- [8] Nagai I, Ogase H. J HospInfect, 1990, 15: 149.
- [9] Shiraishi T, Nakagawa Y. Pastgrad Med J, 1993, 69 (suppl 3): 70 ~ 77.
- [10] Costerton J W, Lewandowski I, Caldwell D E, et al. Annu Rev Microbiol. 1995, 49: 711 ~ 745.
- [11] Mitchell BA, Brown M H, Skurray. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42 (2): 475.
- [12] 黄支密, 陆亚华, 诸葛青云, 等. 中国抗生素杂志, 2005, 30 (5): 270 ~ 273.
- [13] Delmar K, Heinz H F, Paul M K. FEMS Microbiol Lett, 2000, 183 (1): 95 ~ 98.
- [14] Fred C, enover PhD, James M. JAMA, 1996, 15 (4): 199.
- [15] Langsrud S, Sidhu M S, Heir E, et al. International Biodeterioration and Biodegradation 2003, 51 (4): 283 ~ 290.
- [16] Russell A D, Tattawassart U. Antimicrob Ag Chemother 1998, 42: 2151.
- [17] Kaulfers P M. Zentralbl-Hg Umweltmed, 1995, 197 (1 ~ 3): 252 ~ 257.
- [18] Cloete T E. International Biodeterioration and Biodegradation, 2003, 51 (4): 277 ~ 282.
- [19] Brown M R W. The role of the cell envelope in resistance. In: Resistance of Pseudomonas aeruginosa, London; John Wiley and sons, 1975: 71.
- [20] 张 本, 刘衡川, 张朝武, 等. 预防医学情报杂志, 2003, 19 (6): 513 ~ 515.
- [21] 弗雷费尔德 D. 分子生物学(下册), 蔡武城译. 北京: 科学出版社, 1991. 142 ~ 189.
- [22] Balakiets N I, Tsyganenko A T. Antibiot Khimioter, 1990, 35 (11): 14.