• 临床检验研究论著 •

呼吸科重症监护病区患者下呼吸道标本多药耐药鲍曼 不动杆菌耐药性及同源性分析

王 璐,万 楠△,孟冬娅

(沈阳军区总医院检验科,辽宁沈阳 110840)

摘 要:目的 分析多药耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Aba)的耐药性和同源性。方法 2007年10月至2008年12月该院呼吸科 ICU患者下呼吸道标本 MDR-Aba 12株,K-B纸片扩散法检测菌株对等14种抗菌药物的敏感性,脉冲场凝胶电泳(PFGE)分析菌株同源性。结果 12株 MDR-Aba 对头孢菌素类、碳青霉烯类、氨基糖苷类、氟喹诺酮类等抗菌药物耐药性较高;PFGE分型显示11株来源于相同克隆株,另外1株为不同亚型。结论 2007年10月至2008年12月该院呼吸科 ICU存在相同克隆株MDR-Aba的流行。

关键词:鲍氏不动杆菌; 多重耐药性; 同源性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130, 2012, 06, 017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)06-0679-02

Drug resistance and homology analysis of multi-drug resistant Acinetobacter baumanni in lower respiratory tract specimens from patients in intensive care unit of respiration department

Wang Lu, Wan Nan[△], Meng Dongya

(Department of Laboratory, General Hospital of Shenyang Military Area Command, Shenyang Liaoning 110840, China)

Abstract:Objective To investigate the drug resistance and homology of multi-drug resistant Acinetobacter baumannii(MDR-Aba). Methods 12 strains of MDR-Aba, isolated from lower respiratory specimens of patients in intensive care unit of Respiratory Department in this hospital during Oct. 2007 and Dec. 2008, were analyzed for resistance to 14 antibacterials by K-B method and for homology by pulsed-field gel electrophoresis(PFGE). Results Total 12 trains of MDR-Aba were highly resistant to cephalosporins, carbopenems, aminoglycosides and fluoroquinolones. According to PFGE typing, 11 in the 12 strains were from the same clone and 1 was of different sub-clone. Conclusion There might be prevalence of MDR-Aba from the same clone in this hospital during Oct, 2007 and Oct, 2007 and Dce. 2007.

Key words: Acinetobacter baumannii; multiple resistance; homology

鲍曼不动杆菌(Aba)可长期存活在医院环境中,危重症患者和重症监护病区(ICU)患者因免疫功能低下或接受侵入性诊疗等易继发医院获得性 Aba 感染。由于 Aba广泛存于自然界,并具有复杂的耐药机制,导致部分医院存在 Aba 院内感染的流行^[1-3]。随着广谱抗菌药物广泛应用,对β-内酰胺类、喹诺酮类、大环内酯类、氨基糖苷类等多种抗菌药物同时耐药的多药耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Aba)临床分离率越来越高^[4]。本研究对分离自重症呼吸系统感染患者下呼吸道标本的 12 株MDR-Aba 进行了药物敏感性分析,并用脉冲场凝胶电泳(PF-GE)对其同源性进行了研究,以期获得准确的流行信息,为控制院内感染提供确切的试验数据。

1 材料与方法

- 1.1 一般资料 12 株 Aba 分离自 2007 年 10 月至 2008 年 12 月于本院呼吸科 ICU 收治患者的呼吸道标本(11 例痰标本,1 例肺泡灌洗液)。痰标本均符合涂片显微镜检查鳞状上皮小于 10 个/低倍视野,白细胞大于 25 个/低倍视野的要求。所有患者均具备使用呼吸机治疗、年龄超过 60 岁、免疫力低下 3 项高危因素中的任意 1 项。
- 1.2 仪器与试剂 API 手工鉴定板(法国生物梅里埃公司), 药敏纸片及 MH 琼脂(英国 OXOID 公司), 蛋白酶 K(美国 GIBCO BRL 公司), Apa I (美国 Promega 公司), 低熔点琼脂糖、高密度琼脂糖(PFGE 级)[生工生物工程(上海)有限公司]; 标准菌株大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 由本科室保存。

1.3 方法

- 1.3.1 细菌鉴定及药敏试验 所有菌株严格按 Aba 常规鉴定规程进行鉴定,不发酵糖、动力阴性且 API 手工鉴定板鉴定为 Aba。采用 K-B 法检测菌株对 14 种抗菌药物的敏感性,以大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 作为质控菌株,操作方法及结果判读参照美国临床和实验室标准化协会文件 M100-S17。头孢哌酮/舒巴坦无判读标准,药敏试验结果判读标准头孢哌酮。
- 1.3.2 PFGE 检测与菌株分型 将菌株包埋在固体小胶块中,800 μ g/mL 蛋白酶 K 消化,Apa I 37 ℃酶切 24 h 后进行 PFGE 检测;14 ℃、6 V/cm 条件下电泳 22 h;电泳结束后进行 0.5% 溴化乙锭染色,紫外灯下成像观察。PFGE 分型参照 Tenover 等^[1]提出的分型方法,酶切图谱存在 3 个及其以上条带差异者为不同的型,3 个条带差异者为同一型的不同亚型。

2 结 果

2.1 药敏试验结果 12株 Aba 药敏试验结果见表 1~2。

表 1 β-内酰胺类抗菌药物抑菌圈直径

编号	标本类型 -	抑菌圈直径(mm)								
		PIP	ATM	CTX	CAZ	FEP	IPM	MEM	TZP	CSL
1	Sp	6	13	6	6	7	6	6	7	23
2	Sp	6	14	6	8	6	6	6	8	24
3	Sp	6	13	6	6	6	6	6	6	21
4	Sp	6	10	6	6	6	6	6	6	17

[△] 通讯作者, E-mail: arthurl wan@gmail. com。

续表 1 8-内酰胺类抗菌药物抑菌圈直径

编号	标本类型·	抑菌圈直径(mm)								
		PIP	ATM	CTX	CAZ	FEP	IPM	MEM	TZP	CSL
5	Sp	6	12	6	8	6	6	6	6	17
6	Sp	6	10	6	6	6	6	6	8	16
7	Sp	6	6	6	6	6	6	6	8	18
8	Ca	6	12	6	6	6	6	6	6	17
9	Sp	6	10	6	6	6	6	6	6	14
10	Sp	6	8	6	6	6	6	6	10	18
11	Sp	6	6	6	6	6	6	6	10	18
12	Sp	6	13	6	6	6	8	6	8	20

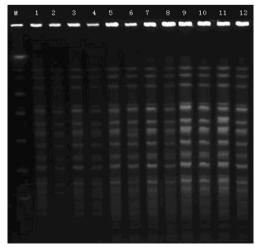
SP:痰;Ca:灌洗液;PIP:哌拉西林;ATM:氨曲南;CTX:头孢噻肟;CAZ:头孢他啶;FEP:头孢吡肟;IPM:亚胺培南;MEM:美罗培南;TZP:哌拉西林/他唑巴坦;CSL:头孢哌酮/舒巴坦。

表 2 喹诺酮类、氨基糖苷类、复方新诺明类等 抗菌药物抑菌圈直径

冶口	+= + 36 mi	抑菌圈直径(mm)							
编号	标本类型	LVX	AK	TOB	SXT	MNO			
1	Sp	11	6	8	8	20			
2	Sp	6	6	6	8	18			
3	Sp	10	6	6	6	20			
4	Sp	8	6	6	6	17			
5	Sp	8	6	6	6	16			
6	Sp	6	6	6	6	17			
7	Sp	6	6	6	6	15			
8	Ca	10	6	6	6	18			
9	Sp	8	6	6	6	17			
10	Sp	6	6	6	6	12			
11	Sp	6	6	6	6	14			
12	Sp	12	6	8	8	20			

SP:痰;Ca:灌洗液;LVX:左氧氟沙星;AK:阿米卡星;TOB:妥布霉素;SXT:复方新诺明;MNO:米诺环素。

2.2 PFGE 指纹图谱分析 除 6 号菌株外,其他菌株 PFGE 分型一致,属相同克隆株,6 号菌株为不同亚型,见图 1。



M:DNA 分子标记物;1~12:菌株编号。

图 1 12 株 MDR-Aba PFGE 指纹图谱

3 讨 论

2006~2008年,本院细菌耐药性监测结果显示,不动杆菌 分离率呈现明显上升趋势,由 2006年的第5位迅速上升至 2008年的第1位。2007年中国院内感染病原菌调查结果显示,不动杆菌所致感染在院内感染中排名第4位(占总分离株的13.4%),成为仅次于铜绿假单胞菌的又一重要的非发酵糖细菌^[5-7]。本研究检出的 MDR-Aba 对第三、四代头孢菌素以及含酶抑制剂、碳青霉烯类、氟喹诺酮类、氨基糖苷类均耐药。PFGE 分型可用于 Aba 的同源性分析,也是常见的细菌基因分型中的一种。其他基因分型还包括质粒分型、核糖体分型及PCR 指纹图谱分型等。PFGE 对院内感染暴发流行的鉴定意义与 PCR 指纹图谱分型相近,并具有其独特优势,在院内感染的暴发流行中有着确证意义^[8-10]。

本研究结果表明,2007年10月至2008年12月期间,本院呼吸科ICU存在相同克隆株的流行。本次流行病学调查不仅有助于在分子水平上明确耐药株传播来源,在制定院内感染针对性控制措施方面也有重大意义[11-12]。

参考文献

- [1] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis criteria for bacterial strain typing[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(9):2233-2239.
- [2] Villalón P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, et al. Clonal diversity of nosocomial epidemic Acinetobacter baumannii strains isolated in Spain[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(3):875-882.
- [3] Marra AR, Camargo LF, Pignatari AC, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals; analysis of 2 563 cases from a prospective nationwide surveillance study[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(5); 1866-1871.
- [4] Falagasm E, Bliziotis IA, Kasiakou SK, et al. Outcome of infections due to pandrug-resistant(PDR) Gram-negative bacteria[J]. BMC Infect Dis, 2005, 5(1):24-30.
- [5] Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp[J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 27(4): 351-353.
- [6] 汪复. 2007 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(5);325-333.
- [7] 李文波, 贾晓冬, 张文杰, 等. 鲍曼不动杆菌临床分布及耐药表型检测分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 6(11): 1063-1065.
- [8] Graser Y, Klare I, Halle E, et al. Epidemiological study of an Acinetobacter baumannii outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting [J]. J Clin Microbiol, 1992, 31 (9): 2417-2420.
- [9] Peterson LR, Noskin GA. New technology for detecting multidrug resistant pathogens in the clinical microbiology laboratory [J]. Emerg Infect Dis, 2001, 7(2): 306-311.
- [10] 杨莉,韩立中,孙景勇,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌中仅粘菌素敏 感菌株的分子流行病学研究[J]. 中华医学杂志,2006,86(9): 592-595
- [11] 金红,曹银光.神经外科病房鲍曼不动杆菌耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,7(10);1159-1160.
- [12] Jamal W, Salama M, Dehrab N, et al. Role of tigecycline in the control of a carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii outbreak in an intensive care unit[J]. J Hosp Infect, 2009, 72(3): 234-242.

(收稿日期:2011-10-08)