

• 临床检验研究论著 •

ICU 多药耐药鲍曼不动杆菌耐药监测分析

蒋海燕, 孙露阳, 季 捷, 唐国建[△]
(江苏大学附属金坛人民医院检验科, 江苏金坛 213200)

摘 要:**目的** 分析重症监护病房(ICU)多药耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB)耐药性及耐药基因。**方法** 对分离自 ICU 送检痰标本的 5 株鲍曼不动杆菌进行药敏试验,采用聚合酶链反应(PCR)及测序技术进行耐药基因分析。**结果** 5 株鲍曼不动杆菌对对 β-内酰胺类、喹诺酮类药物耐药,均检出 C、D 类 β-内酰胺酶基因 ADC 和 OXA-23,及外膜蛋白 CarO 突变。**结论** 应采取有效措施控制鲍曼不动杆菌的传播,加强耐药性监测,防止鲍曼不动杆菌院内扩散及耐药性变迁。

关键词: 鲍氏不动杆菌; β 内酰胺酶类; CarO 基因; 抗药性,细菌

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 19. 015 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)19-2333-02

Monitoring and analysis of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii in ICU
Jiang Haiyan, Sun Luyang, Ji Jie, Tang Guojian[△]
(Clinical Laboratory, the People's Hospital of Jintan Affiliated to Jiangsu University, Jintan, Jiangsu 213200, China)

Abstract:**Objective** To monitor and analyze the drug resistance and related genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii(MDR-AB) in intensive care unit(ICU). **Methods** Susceptibility test was performed among 5 strains of Acinetobacter baumannii, and polymerase chain reaction and sequencing were performed for the analysis of drug-resistant genes. **Results** All strains were resistant to β-lactamases and quinolones. The mutation of class C β-lactamase ADC, class D β-lactamase OXA-23 and outer membrane protein CarO was detected in all strains. **Conclusion** Valid measures should be taken to control the spread of Acinetobacter baumannii and strengthen the monitoring of the resistance rate to prevent the further proliferation in hospital and the development of drug resistance.

Key words: Acinetobacter baumannii; beta-lactamases; CarO gene; drug resistance, bacterial

鲍曼不动杆菌是一种条件致病菌,广泛分布于自然环境和人体皮肤表面。近年来,鲍曼不动杆菌耐药率不断上升,多药耐药(MDR)和泛耐药(PDR)鲍曼不动杆菌感染已成为临床的难题^[1-2]。笔者从本院重症监护病房(ICU)送检的痰标本中检出 5 株多药耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB),现对其耐药基因检测结果分析如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月 29 日至 2 月 10 日 ICU 送检的痰标本。

1.2 仪器与试剂 Walk Away40 全自动微生物鉴定、药敏分析仪及配套试剂(美国德灵),Line-Gene PCR 扩增仪(杭州博日);质控菌株大肠埃希菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)购于江苏省临床检验中心;聚合酶链反应(PCR)试剂及引物由无锡市克隆遗传技术研究所提供(引物序列见表 1)。

1.3 方法 细菌分离、培养、鉴定及药敏试验参照《全国临床检验操作规程》。煮沸法制备 PCR 模板;PCR 反应条件为 93 ℃ 2 min,93 ℃ 60 s、55 ℃ 60 s、72 ℃ 60 s 循环 35 次,72 ℃ 10 min;2%琼脂糖凝胶电泳 PCR 产物,出现与阳性对照相当的条带为阳性^[1]。PCR 扩增阳性产物由上海博尚生物技术有限公司测序。

2 结 果

2.1 分别从 5 例痰标本中分离获得耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌,对青霉素类、头孢菌素类、单环 β-内酰胺类、喹诺酮类、碳青霉烯类全部耐药,对庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素敏感,药敏结果见表 2。

| 表 1 PCR 引物序列 | | |
|--------------|----------------------------------|--------------|
| 引物名称 | 引物序列(5'-3') | 产物长度 (bp) |
| TEM | 上游:AGGAAGAGTATGATTCAACA | 535 |
| | 下游:CTCGTCGTTTGGTATGGC | |
| IMP | 上游:CGGCKCAGGAGMGKCTTT | 587 |
| | 下游:AACCAGTTTTCGYTTACYAT | |
| ADC | 上游:GGTATGGCYGTGGGBGTYATTC | 739 |
| | 下游:CTAAGASTTGGTCRAARGGT | |
| OXA-23 | 上游:GATGTGTCATAGTATTCGTCG | 1 067 |
| | 下游:TCACAACAATAAAAGCACTG | |
| carO | 上游:ATGAAAGTATTACGTGTTTTAGTGACAAC | 729 |
| | 下游:TTACCAGTAGAATTCNACCAACT | |

| 表 2 5 株鲍曼不动杆菌药敏结果 | | | | | |
|-------------------|------|---|---|---|---|
| 抗菌药物 | 菌株编号 | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 阿米卡星 | S | S | S | S | S |
| 氨苄西林/舒巴坦 | R | R | R | R | R |
| 氨曲南 | R | R | R | R | R |
| 环丙沙星 | R | R | R | R | R |
| 哌拉西林 | R | R | R | R | R |

[△] 通讯作者,E-mail:tguojian1971@sina. com。

| 续表 2 | 5 株鲍曼不动杆菌药敏结果 | | | | |
|-----------|---------------|---|---|---|---|
| | 菌株编号 | | | | |
| 抗菌药物 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 庆大霉素 | S | S | S | S | S |
| 替卡西林/克拉维酸 | R | R | R | R | R |
| 头孢吡肟 | R | R | R | R | R |
| 头孢曲松 | R | R | R | R | R |
| 头孢噻肟 | R | R | R | R | R |
| 头孢他啶 | R | R | R | R | R |
| 妥布霉素 | S | S | S | S | S |
| 亚胺培南 | R | R | R | R | R |
| 左氧氟沙星 | R | R | R | R | R |

2.2 基因检测结果 PCR 产物电泳结果显示 5 株 MDR-AB 均检出 2 种 β -内酰胺酶基因(ADC,OXA-23),均未检出 TEM、IMP 基因。测序结果显示 5 株 MDR-AB 外膜蛋白 CarO 基因与抗菌药物敏感鲍曼不动杆菌不一致,均存在突变。

3 讨 论

鲍曼不动杆菌是院内感染主要病原菌之一,特别是 MDR-AB 及泛耐药鲍曼不动杆菌(PDR-AB),极易在 ICU 患者中导致暴发流行^[3-5]。ICU 患者因病情危重、长期使用抗菌药物、免疫力低下、接受较多的侵入性操作、长期留置导管及使用呼吸机等,更易被感染^[9]。本研究从 5 例患者痰标本中分离获得 MDR-AB,通过分析相关患者病历资料,初步判断其中 4 例患者可能为 MDR-AB 所致院内感染。

鲍曼不动杆菌对氨基青霉素,一、二代头孢菌素和一代喹诺酮类抗菌药物天然耐药,临床常用头孢哌酮-舒巴坦及亚胺培南治疗鲍曼不动杆菌感染,但鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药的耐药性呈上升趋势^[6-7]。本次检出的 5 株鲍曼不动杆菌对包括亚胺培南在内的所有 β -内酰胺类药物均耐药。鲍曼不动杆菌耐药机制较为复杂,对 β -内酰胺类耐药机制主要为:(1)产生一种或多种水解酶(β -内酰胺酶),包括 A 类(超广谱 β -内酰胺酶)、B 类(金属酶)、C 类(头孢菌素酶)、D 类(碳青霉烯酶);(2)外膜通道蛋白表达下调或缺失,导致细菌胞膜通透性改变,使透过细菌外膜的药量减少;(3)青霉素结合位点改变;(4)细菌主动处排系统过度表达。和碳青霉烯类耐药相关的酶主要是 B、D 类 β -内酰胺酶,且常合并外膜蛋白改变^[8-11]。5 株 MDR-AB 均检出 C、D 类 β -内酰胺酶基因 ADC 和 OXA-23,以及外膜蛋白 CarO 突变,未检出 A、B 类 β -内酰胺酶基因 TEM

和 IMP,说明该 5 株 MDR-AB 的耐药机制主要是产生 ADC 型头孢菌素酶、OXA-23 型碳青霉烯酶,且同时存在外膜蛋白 CarO 改变。

为预防鲍曼不动杆菌的院内流行及控制其耐药率上升,应采取切实可行的措施:高度重视鲍曼不动杆菌院内感染监测和耐药机制分析,高危病房患者和高危人群怀疑感染时应立即采集标本送检,及时发现病原菌,合理使用抗菌药物,加强医护人员无菌意识,严格无菌操作规程,加强病房消毒处理,阻断细菌传播途径,控制 MDR-AB 院内定植和播散。

参考文献

[1] 唐国建,苏建华,姜文明,等. 多耐药鲍氏不动杆菌 β -内酰胺酶与膜孔蛋白 CarO 基因研究[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(1): 5-8.

[2] Perez F, Hujer AM, Hujer KM, et al. Global challenge of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(10): 3471-3484.

[3] 王箭,罗君,王丽娟. 医院内鲍曼不动杆菌感染调查及泛耐药情况分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(3): 746-748.

[4] 胡耀华,王红梅,谢小武. ICU 多重耐药鲍曼不动杆菌的耐药性和同源性分析[J]. 中南医学科学杂志, 2011, 39(3): 333-336.

[5] 张丽,杨文航,肖盟,等. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测网报告: ICU 来源细菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(1): 34-38.

[6] 陈柳勤,孙诚,张莉滢,等. 2006~2009 年临床分离 958 株鲍曼不动杆菌分布状况及其耐药趋势分析[J]. 广东医学, 2010, 31(22): 2962-2964.

[7] 马玲,袁喆. 2006~2009 年鲍曼不动杆菌感染分布特征入耐药性变迁[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(11): 1737-1741.

[8] 王辉,孙宏莉,宁永忠,等. 不动杆菌属多重耐药及泛耐药的分子机制研究[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(1): 17-22.

[9] Poirel L, Nordmann R. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2006, 12(6): 826-836.

[10] Zarrilli R, Giannouli M, Tomssone F, et al. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities [J]. *J Infect Dev Ctries*, 2009, 3(5): 335-341.

[11] 汪丽,王峰,王卫华,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌的分子流行病学及耐药机制研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2011, 31(4): 343-344.

(收稿日期:2012-04-28)

(上接第 2332 页)

[2] Kaleem Z, Crawford E, Pathan MH, et al. Flow cytometric analysis of acute leukemias. Diagnostic utility and critical analysis of data [J]. *Arch Pathol LabMed*, 2003, 127(1): 42-48.

[3] 马军,王建祥,邵宗鸿,等. 造血系统疾病临床诊疗规范教程[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2008: 64-65.

[4] 吴丽娟,刘霞,赵文利,等. 129 例急性白血病免疫表型特点分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(2): 133-134.

[5] 刘斌,李睿,吴辉菁,等. 急性白血病 LY⁺ AML 型和 MY⁺ ALL 型预后因素的临床研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(2): 421-

442.

[6] 王雪华,林少微,焦晓阳,等. 儿童与成人急性 B 淋巴细胞白血病的免疫分型特点[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 954-955.

[7] Muller-Hermelink HK, Montserrat E, Catovsky D, et al. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma in WHO classification of tumours//Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. Lyon: IARC, 2001: 127-130.

(收稿日期:2012-06-17)