

• 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; 耐药性, 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 °C 2 min, 93 °C 60 s, 55 °C 60 s, 72 °C 60 s 循环 35 次, 72 °C 10 min; 2% 琼脂糖凝胶电泳 PCR 产物, 出现与阳性对照相当的目的条带为阳性^[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 下游:CTCGTCGTTGGTATGGC	535
IMP	上游:CGGCCKCAGGAGMGKCTTT 下游:AACCAGTTTGCYTTACYAT	587
ADC	上游:GGTATGGCYGTGGGBGTYATT 下游:CTAAGASTTGGTCRAARGGT	739
OXA-23	上游:GATGTGTACAGTATTCGTCG 下游:TCACAACAACAAAGCACTG	1 067
carO	上游:ATGAAAGTATTACGTGTTTAGTGACAAC 下游:TTACCACTAGAATTNCACACCAACT	729

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

抗菌药物	菌株编号				
	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
头孢哌肟	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^[5]。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)细菌主动外排系统过度表达。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

(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 Lab Med, 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-

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, 张莉滟, 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及耐药性变迁[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)

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 tumors//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)