

• 临床检验研究论著 •

鲍曼不动杆菌耐药性与分子分型相关性研究

尤 涛,辛 那,井发红,康 炜[△]
(西安医学院附属医院,陕西西安 710077)

摘 要:**目的** 初步研究 11 株鲍曼不动杆菌临床分离株药敏试验结果与脉冲场电泳分子分型结果之间的相关性。**方法** 利用常规方法对从临床标本中分离的鲍曼不动杆菌进行培养鉴定后进行药敏实验,利用脉冲场电泳方法进行分子分型,并比较二者结果。**结果** 4 株对所有抗菌药物均敏感的菌株带型数为 10~13 条,而 1 株对所有抗菌药物全耐药为 19 条带型,其余 6 株带型在二者之间。**结论** 分子分型结果初步可以显示耐药情况,相同的分子分型菌株药敏试验结果一致性较高。
关键词:鲍氏不动杆菌; 微生物敏感性试验; 电泳; 细菌分型技术
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.012 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)22-2717-02

Preliminary study of the relationship between drug sensitivity and molecular typing of acinetobacter baumannii

You Tao, Xin Na, Jing Fahong, Kang Wei[△]
(The First Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shanxi 710077 China)

Abstract: Objective To study the correlation between the antimicrobial susceptibility and pulsed-field gel electrophoresis molecular classification of 11 strains of acinetobacter baumannii. **Methods** 11 strains of acinetobacter baumannii were isolated from clinical samples. Conventional methods were used for culturing and drug sensitivity testing. Pulsed-field gel electrophoresis method was performed for molecular typing. The two results were compared by using statistical methods. **Results** 4 strains that sensitive to all antibiotics had 10-13 electrophoresis strips, and 1 strain that resistance to all antibiotics had 19 electrophoresis strips. The rest strains were with electrophoresis strip between the two results mentioned above. **Conclusion** Molecular typing results could preliminarily show drug resistance, and molecular typing of the same results, higher consistency of antibiotic susceptibility.
Key words: acinetobacter baumannii; microbial; electrophoresis; bacterial typing techniques

鲍曼不动杆菌是引起医院感染的重要病原菌,可通过获得质粒的方式产生对抗菌药物的耐药性,临床上治疗比较困难。多重耐药鲍曼不动杆菌(MDRAb)是医院感染的重要病原体,耐干燥并借助携带多个耐药基因的移动元件(如转座子和整合子)可快速获得多重耐药性,从而能在医院环境中长期存在,进而导致医院感染的流行或暴发,甚至导致重症监护病房患者的间接死亡^[1-2]。脉冲场凝胶电泳(PFGE)是目前流行病学调查中基因分型的标准方法,但用于研究医院感染中与耐药基因及耐药表型之间存在何种关联还少见报道^[3]。因此,本研究拟基于临床药敏试验结果,并与 PFGE 分型相结合,判断鲍曼不动杆菌耐药性与分子分型结果的相关性,从而为鲍曼不动杆菌的进一步研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2011 年 10 月 9 日至 2011 年 12 月 22 日临床标本 11 份,其中痰 8 份及脓液、尿液、血液各 1 份。

1.2 方法

1.2.1 细菌鉴定和药敏试验 标本接种血平板及麦康凯平板,35~37℃培养 18~24 h 后,按常规方法分离,作涂片革兰染色,氧化酶试验,采用 Siemens 公司的 MicroScan WalkAway 40 SI 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行鉴定及药敏试验,并按 2009CLSI 标准进行判定。用标准菌株铜绿假单胞菌 ATCC27853 和大肠埃希菌 ATCC25922 进行质量控制。

1.2.2 PEGE 分型 分纯后的细菌用低熔点琼脂糖(BIO-RAD 公司)进行包被,在含 20 mg/mL 的蛋白酶 K 缓冲液中消化,用限制性内切酶 Apa(TAKARA 公司)酶切过夜。0.5×TBE 缓冲液、14℃、6 V/cm 条件下电泳 19 h,溴乙锭染色洗胶

后在紫外光成像仪下观察^[4]。用 Apa 酶进行酶切,根据 Tenover 等^[3]的方法,肉眼对 PFGE 条带进行分类,酶切图谱差异 3 个条带以上者为不同类型,3 个条带以下者为同一型中不同亚型。

2 结 果

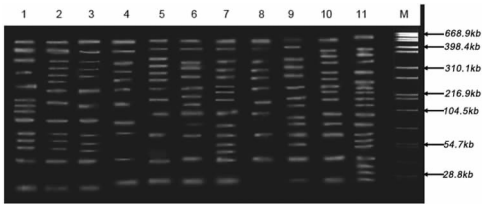
2.1 11 株鲍曼不动杆菌药敏结果,见表 1。

表 1 11 株鲍曼不动杆菌药敏试验结果											
菌株号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
亚胺培南	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
头孢他啶	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
哌拉西林/他唑巴坦	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
阿米卡星	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R
哌拉西林	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
替卡西林/棒酸	I	S	R	S	S	S	R	S	R	R	R
氨基曲南	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
妥布霉素	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R
左氧氟沙星	I	I	R	S	S	S	R	S	R	R	R
头孢吡肟	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
环丙沙星	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
庆大霉素	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
头孢曲松	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R
头孢噻肟	R	R	R	S	S	S	R	I	R	R	R

R:耐药;I:中介;S:敏感。

[△] 通讯作者,E-mail:yoto73915@sina.com。

2.2 PFGE 分型结果 4、5、6、8 号菌株为全敏感株,电泳条带有 10~13 条;11 号菌株为全耐药株,条带有 19 条;其余 6 个菌株,即 1、2、3、7、9、10 号菌株介于全敏感和全耐药之间,条带数介于前二者之间,见图 1。



M:DNA 分子标记物;1~11:菌株。

图 1 11 株鲍曼不动杆菌 PFGE 分型结果

3 讨 论

鲍曼不动杆菌可通过多种机制对抗菌药物产生耐药性,尤其是对碳青霉烯类的耐药,已成为院内感染尤其是重症监护病房内感染的主要病原^[5-6]。尽管抗菌药物分型可以提示临床上出现的耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌,但无法通过比较抗菌谱之间的细小差异来区分它们。因此,基因分型在鲍曼不动杆菌研究中有重要地位^[7]。常见的基因分型有质粒分型、核糖分型、PFGE、PCR 指纹图谱等。PFGE 被证明与 PCR 指纹图谱在院内感染暴发流行的鉴定上同样有效,并且优于其他基因分型方法^[8]。本研究中,11 株鲍曼不动杆菌中有 4 株为全敏感菌株,1 株为全耐药菌株,6 株的药敏实验结果介于前二者之间,PFGE 分型结果显示这 3 种不同耐药类型的菌株的条带数分别为 10~13 条、19 条带和介于二者之间。可见,菌株的药敏实验结果和 PFGE 分型的条带数具有相关性。

不动杆菌属条件致病菌,是惟一能在人类皮肤表面生存的革兰阴性杆菌,可广泛存在自然环境及医院环境中。医务人员手部、患者使用的枕头、床垫、桌子,病床围栏或围帘、门把手、呼吸机管道及湿化瓶都发现有不动杆菌的存在。环境的污染在不动杆菌暴发流行中有重要意义。随着广谱抗菌药物的广

泛使用,鲍曼不动杆菌的检出率及耐药率呈现上升的趋势^[9]。研究表明,合理的使用抗菌药物可以有效地降低鲍曼不动杆菌的传播流行^[10]。而分子生物学分型与药敏试验结果之间相关性的研究为该菌的分子流行病学调查提供了一定的依据^[7]。

参考文献

[1] Wang H,Guo P,Sun H,et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2007,51(11):4022-4028.

[2] Mak JK,Kim MJ,Pham J,et al. White PA. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. *J Antimicrob Chemother*,2009,63(1):47-54.

[3] Tenover FC,Arbeit RD,Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections:a review for healthcare epidemiologists[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*,1997,18(6):426-439.

[4] Seifert H,Schulze A,Baginski R,et al. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii* [J]. *J Clin Microbiol*,1994,32(7):1816-1819.

[5] 孙丽. 鲍曼不动杆菌感染分布及对常用 β -内酰胺类抗菌药物的耐药性分析[J]. *国际检验医学杂志*,2012,33(4):451-452.

[6] 张晓梅,王苏建,宋静玉,等. 多药耐药鲍曼不动杆菌抗菌剂外排泵基因研究[J]. *国际检验医学杂志*,2011,32(16):1811-1813.

[7] 朱冰泉,沈萍,俞云松,等. 对亚胺培南耐药的鲍曼不动杆菌同源性及其碳青霉烯酶基因型研究[J]. *浙江医学*,2008,30(5):459-462.

[8] 金辉,徐小敏,糜祖煌,等. 鲍曼不动杆菌的耐药基因分型与脉冲场凝胶电泳分型的比较[J]. *劳动医学*,2010,27(4):219-221.

[9] 汪志方,张益辉,王泽球. 鲍曼不动杆菌感染的危险因素及耐药性分析[J]. *临床肺科杂志*,2012,17(1):14-16.

[10] 瞿洪平,杨莉,王枫,等. 泛耐药鲍曼不动杆菌 ICU 交叉感染的防控策略[J]. *中国急救医学*,2007,27(12):1057-1059.

(收稿日期:2012-06-02)

(上接第 2716 页)

血清中与两种脂蛋白结合的 γ -谷氨酰基转移酶活性及其诊断肝癌的价值[J]. *中华检验医学杂志*,2003,26(3):371-373.

[3] 姚登福,孟宪镛,徐克成,等. 肝癌特异性 GGT 发生本质及部分性质的研究[J]. *交通医学*,1994,8(3):15-17.

[4] Yao DF,Dong ZZ,Yao M. Specific molecular markers in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*,2007,6(3):241-247.

[5] Tsuchida S,Yamazaki T,Cambal EM,et al. Comparison of the peptide and saccharide moieties of gamma-glutamyltransferase isolated from neoplastic and non-neoplastic human liver tissue[J]. *Clin Chim*,1985,152(1/2):17-26.

[6] Yamashita K,Hitoi A,Taniguchi N,et al. Comparative study of the sugar chains of gamma-glutamyltranspeptidases purified from rat liver and rat AH-66 hepatoma cells[J]. *Cancer Res*,1983,43(21):5059-5065.

[7] 龙宪连,于嘉屏,王爱华. 肝癌 γ -谷氨酰转肽酶糖链的凝集素亲和分析[J]. *临床检验杂志*,2002,20(4):337-339.

[8] Wen J,Wang N,Chen ZQ,et al. A simple and specific method for detection of hepatoma specific GGT by affinity chromatography [J]. *Lab Med*,2007,38(1):160-164.

[9] Shaw LM,London JM,Petersen LE. Isolation of gamma-glutamyltransferase from human liver, and comparison with the enzyme from human kidney[J]. *Clin Chem*,1978,24(6):905-915.

[10] 王念跃,赵伟,李勇,等. 用欧曼陀罗凝集素分离纯化人肝癌组织

中强结合的 γ -谷氨酰转移酶[J]. *临床检验杂志*,2006,24(3):332-334.

[11] 王念跃,赵伟,刘晨,等. 人肝癌组织中 DSA 强结合的 γ -谷氨酰转移酶 McAb 的制备[J]. *临床检验杂志*,2007,25(3):336-338.

[12] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会,肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华传染病杂志*,2011,19(1):56-62.

[13] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准[J]. *中华肝脏病杂志*,2001,9(2):324-325.

[14] Macdonald RA,Hocking CS,Jones CL. The measurement of relative antibody affinity by ELISA using thiocyanate elution[J]. *J Immunol Methods*,1988,106(2):191-194.

[15] 陈卫中,潘晓平,宋兴勃,等. ROC 曲线中最加工作点的选择[J]. *中国卫生统计*,2006,23(2):157-158.

[16] 徐立根. ELISA、MAIA、CLIA 和 TRFIA 试剂盒质量标准探讨[J]. *放射免疫杂志*,2006,19(2):230-233.

[17] 王念跃,王惠民,李鹤林,等. 凝集素亲和层析分析血清 GGT 寡糖链结构[J]. *陕西医学检验杂志*,2001,16(3):1-4.

[18] 司维柯,李士敏,罗朝学,等. 伴刀豆蛋白 A 识别正常与肝癌 γ -谷氨酰转移酶的实验观察[J]. *第三军医大学学报*,2000,22(3):294-296.

[19] 祁小乐,崔保安. 猪伪狂犬病毒双抗双夹心 ELISA 法的构建[J]. *河南农业大学学报*,2004,38(3):387-393.

(收稿日期:2012-05-25)