

## · 临床论著 ·

## 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌氨基糖苷类修饰酶基因和16S rRNA甲基化酶基因的研究

赵书平 包健 姜梅杰

**【摘要】目的** 调查氨基糖苷类修饰酶基因(AME<sub>s</sub>)和16S rRNA甲基化酶基因在院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌中的存在情况。**方法** 采用PCR法检测aac(3)-I、aac(3)-II、aac(3)-III、aac(3)-IV、aac(6')-I、aac(6')-II、aph(3')-VI、ant(3'')-I、ant(2'')-I和16S rRNA甲基化酶基因在临床不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌中的存在情况。**结果** 2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中,41株(89.1%)含ant(3'')-I基因,33株(71.7%)含aac(3)-I基因,2株(4.3%)含aac(3)-II基因,1株(2.2%)含aac(6')-II基因,1株(2.2%)含aph(3')-VI基因,40株(87%)含armA基因。2012年12月至2013年1月本院临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中,41株(97.7%)含ant(3'')-I基因,34株(81%)含aac(3)-I基因,7株(16.7%)含aac(6')-I基因,16株(38.1%)含armA基因。**结论** 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌ant(3'')-I、aac(3)-I和armA基因检出率一直很高,对其氨基糖苷类耐药与AMES和16S rRNA甲基化酶基因有关。

**【关键词】** 多重耐药; 鲍曼不动杆菌; 氨基糖苷类修饰酶; 16S rRNA甲基化酶

**Study on the genes of aminoglycoside modifying enzymes and 16S rRNA methylases in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in hospital at different times** ZHAO Shu-ping\*, BAO Jian, JIANG Mei-jie. \*Central Hospital of Taian, Taian 271000, China  
Corresponding author: ZHAO Shu-ping, Email: dczhshp@126.com

**【Abstract】Objective** To investigate the prevalence of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and 16S rRNA methylases in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in hospital at different times. **Methods** The genes of aac(3)-I, aac(3)-II, aac(3)-III, aac(3)-IV, aac(6')-I, aac(6')-II, aph(3')-VI, ant(3'')-I, ant(2'')-I and 16S rRNA methylases in the samples of 88 multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* stains isolated at different times were analyzed by polymerase chain reaction (PCR). **Results** Among the 46 multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* stains collected from June 2010 to June 2011, aminoglycoside modifying enzymes gene ant(3'')-I was found in 41 strains (89.1%), aac(3)-I was identified in 33 strains (71.7%), aac(3)-II in 2 strains (4.3%), aac(6')-II in 1 strain (2.2%), aph(3')-VI in 1 strain (2.2%), and 40 strains (87.0%) carried armA gene. Among the 42 multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* stains collected from December 2012 to January 2013, aminoglycoside modifying enzymes gene ant(3'')-I was found in 41 strains (97.7%), aac(3)-I was identified in 34 strains (81.0%), aac(6')-I in 7 strains (16.7%), and 16 strains (38.1%) carried armA gene. **Conclusions** The detection rate of the genes as ant(3'')-I, aac(3)-I and armA has been high in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in hospital at different times, and the aminoglycoside resistance of them is closed with the genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and 16S rRNA methylases.

**【Key words】** Multi-drug resistant; *Acinetobacter baumannii*; Aminoglycoside modifying enzyme; 16S rRNA methylase

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.06.016

作者单位: 271000 泰安市, 泰安中心医院检验科(赵书平、姜梅杰); 莱钢集团莱芜矿业有限公司医院外科(包健)  
通讯作者: 赵书平, Email: dczhshp@126.com

鲍曼不动杆菌是下呼吸道常见病原菌之一<sup>[1-5]</sup>。本院临床分离的鲍曼不动杆菌呈逐年增多趋势<sup>[6]</sup>。鲍曼不动杆菌氨基糖苷类修饰酶和16S rRNA甲基化酶基因的研究已有报道<sup>[7-12]</sup>,为调查本院不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌的对氨基糖苷类抗菌药物的耐药性与氨基糖苷类修饰酶基因和16S rRNA甲基化酶基因关系,本文对院内不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌进行了氨基糖苷类修饰酶基因和16S rRNA甲基化酶基因的研究,现报道如下。

## 资料与方法

### 一、菌株来源

88株多重耐药鲍曼不动杆菌分别来自2010年6月至2011年6月和2012年12月至2013年1月临床分离的标本中,痰液83株、穿刺液2株、分泌物2株、尿液1株。

### 二、细菌鉴定及药敏试验

采用自动化微生物仪进行菌种鉴定和药敏试验,部分抗菌药物的敏感性采用纸片扩散法。

### 三、耐药基因检测

采用PCR方法,引物参照文献<sup>[13-14]</sup>。采用煮沸法提取细菌DNA、AMES基因和16S rRNA甲基化酶基因的PCR扩增引物序列见表1。

## 结 果

### 一、抗菌药物敏感试验结果

本研究中不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌对阿米卡星、妥布霉素和米诺环素的耐药性变化很大,对其余抗菌药物的耐药性变化不大。2010年6月至2011年6月和2012年12月至2013年1月临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对15种抗菌药物的药敏情况,见表2。

表1 PCR扩增引物序列

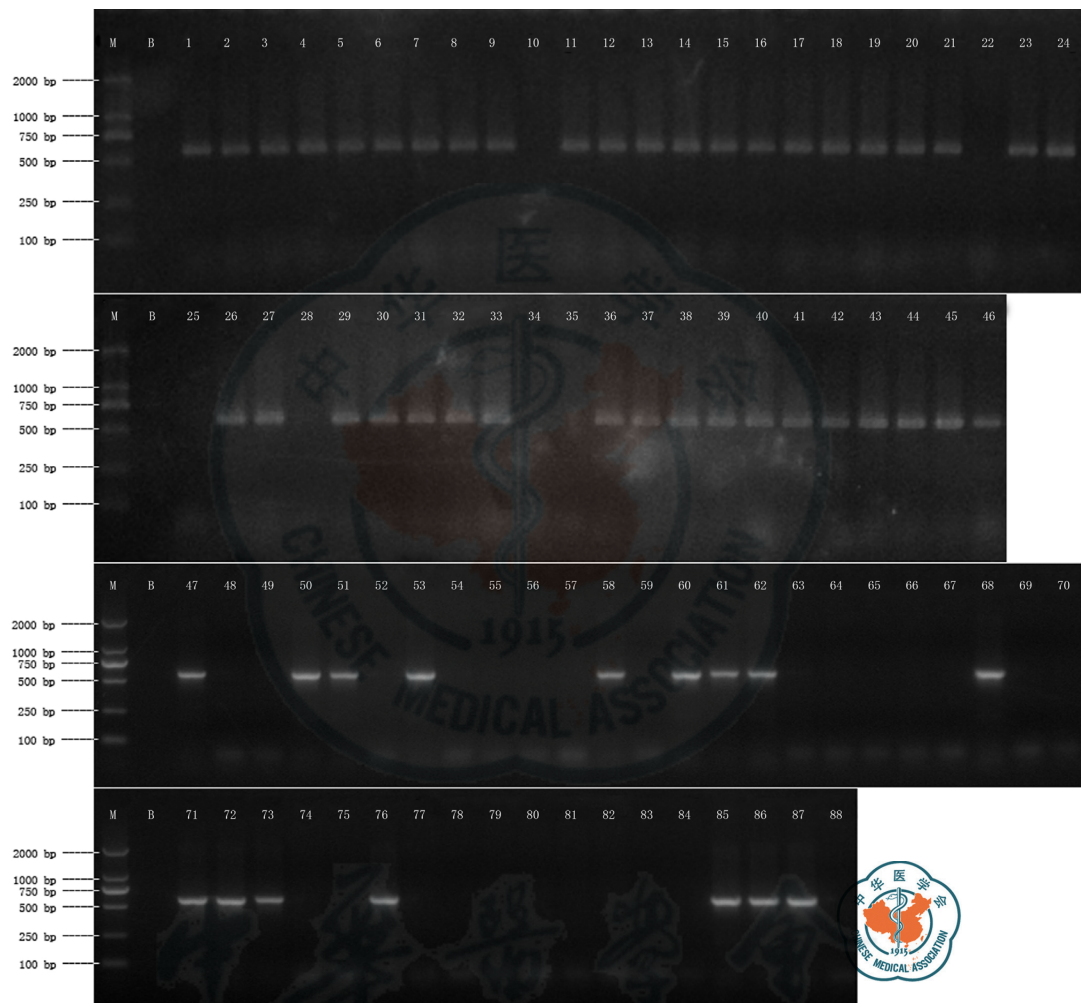
靶基因	引物序列 (5'→3')	产物长度 (bp)
aac (3) - I	P1: ACCTACTCCCAACATCAGCC P2: ATATAGATCTCACTACGCGC	169
aac (3) - II	P1: ACTGTGATGGGATACGCGTC P2: CTCCGTGAGCGTTTCAGCTA	237
aac (3) - III	P1: CACAAGAACGTGGTCCGCTA P2: AACAGGTAAGCATCCGCATC	185
aac (3) - IV	P1: CTTCAGGATGGCAAGTTGGT P2: TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	286
aac (6') - I	P1: TATGAGTGGCTAAATCGA P2: CCCGCTTCTCGTAGCA	394
aac (6') - II	P1: TTCATGTCCGCGAGCACCCC P2: GACTCTTCCGCCATCGCTCT	178
aph (3') - VI	P1: ATACAGAGACCACCATACAGT P2: GGACAATCAATAATAGCAAT	234
ant (3'') - I	P1: TGATTGCTGGTTACGGTGAC P2: CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG	284
ant (2'') - I	P1: GAGCGAAATCTGCCGCTCTGG P2: CTGTTACAACGGACTGGCCGC	320
armA	P1: AGGTTGTTTCCATTCTGAG P2: TCTCTTCCATTCCCTTCTCC	591
rmtB	P1: ATGAACATCAACGATGCC P2: CCTTCTGATTGGCTTATCCA	769

表2 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对15种抗菌药物的药敏情况 (%)

抗菌药物	2010年6月至2011年6月 (n = 46)			2012年12月至2013年1月 (n = 42)		
	敏感率	中介率	耐药率	敏感率	中介率	耐药率
阿米卡星	6.5	0.0	93.5	57.1	0.0	42.9
头孢他啶	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
头孢曲松	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
环丙沙星	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
头孢吡肟	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
庆大霉素	4.3	2.2	93.5	0.0	0.0	100.0
亚胺培南	0.0	0.0	100.0	2.4	0.0	97.6
左氧氟沙星	0.0	4.3	95.7	0.0	2.4	97.6
美罗培南	0.0	0.0	100.0	2.4	0.0	97.6
哌拉西林	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
复方新诺明	2.2	0.0	97.8	0.0	0.0	100.0
哌拉西林/他唑巴坦	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
妥布霉素	6.5	0.0	93.5	47.6	0.0	52.4
头孢哌酮/舒巴坦	14.0	32.0	54.0	4.8	40.5	54.7
米诺环素	54.3	43.5	2.2	0.0	40.5	59.5

表3 AMES阳性基因和armA基因检出率 [株 (%)]

基因	2010年6月至2011年6月 (n = 46)	2012年12月至2013年1月 (n = 42)
ant (3'') - I	41/46 (89.1)	41/42 (97.7)
aac (3) - I	33/46 (71.7)	34/42 (81.0)
aac (3) - II	2/46 (4.3)	0/42 (0.0)
aac (6') - II	1/46 (2.2)	0/42 (0.0)
aph (3') - VI	1/46 (2.2)	0/42 (0.0)
aac (6') - I	0/46 (0.0)	7/42 (16.7)
armA	40/46 (87.0)	16/42 (38.1)



注：M：分子量单位，由上而下分别为2000、1000、750、500、250和100 bp；B：阴性对照

图1 armA基因PCR产物电泳图

二、AMES和16S rRNA甲基化酶基因检测结果

2010年6月至2011年6月本院临床所分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中，41株（89.1%）含ant（3''）- I 基因，33株（71.7%）含aac（3）- I 基因，2株（4.3%）含aac（3）- II 基因，1株（2.2%）含aac（6'）- II 基因，1株（2.2%）含aph（3'）- VI 基因，40株（87.0%）含armA 基因。2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中，41株（97.7%）含ant（3''）- I 基因，34株（81%）含aac（3）- I 基因，7株（16.7%）含aac（6'）- I 基

因，16株（38.1%）含armA 基因。本院不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌含AMES和armA 基因情况见表3。88株多重耐药鲍曼不动杆菌携带armA 基因的情况见图1。

讨 论

有报道显示细菌对氨基糖苷类抗菌药物耐药与细菌产生AMES和16S rRNA甲基化酶基因有关<sup>[15]</sup>。AMES按酶的功能可分为乙酰转移酶、磷酸转移酶



和核苷转移酶3类。本研究于2010年6月至2011年6月临床分离的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中发现, ant (3") - I 基因携带率为89.1%, aac (3) - I 基因携带率为71.7%, aac (3) - II、aac (6') - II 和aph (3') - VI 基因携带率分别为4.3%、2.2%和2.2%。于2012年12月至2013年1月临床分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中, ant (3") - I 基因携带率为97.7%, aac (3) - I 基因携带率为81%, aac (6') - I 基因携带率为16.7%。提示本院不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌产生的AMES以ant (3") - I 基因和aac (3) - I 基因为主。本研究对7株aac (6') - I 阳性基因进行测序分析, 结果均与基因库中JQ664644同源100%, 证实为aac (6') - I 基因。2012年12月至2013年1月分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌, 对庆大霉素均耐药; 对阿米卡星和妥布霉素的耐药率分别为42.9%和52.4%, 提示多重耐药鲍曼不动杆菌对庆大霉素耐药可能与ant (3") - I 基因和aac (3) - I 基因密切相关。

有报道显示16S rRNA甲基化酶可导致临床常用的氨基糖苷类抗菌药物耐药<sup>[16]</sup>。本研究88株多重耐药鲍曼不动杆菌中有56株携带16SrRNA甲基化酶基因armA, 含armA基因的菌株对阿米卡星、妥布霉素和庆大霉素菌均耐药。2012年12月至2013年1月所分离的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中, 有1株菌仅检出16S rRNA甲基化酶基因armA, 但对阿米卡星、妥布霉素和庆大霉素均耐药。提示16S rRNA甲基化酶基因armA可能引起氨基糖苷类抗菌药物阿米卡星、妥布霉素和庆大霉素同时耐药。本研究在院内不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌中, 94.3%的标本来源于痰液, 提示鲍曼不动杆菌一直是引起本院呼吸道感染的主要病原菌之一。

本研究药敏结果显示, 本院分离的多重耐药鲍曼不动杆菌, 对阿米卡星和妥布霉素的耐药率有降低趋势, 但对米诺环素的耐药率升高, 对其他抗菌的耐药性变化不大。因此, 临床医师应根据药敏试验结果合理选用抗菌药物。

赵书平, 包健, 姜梅杰. 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌氨基糖苷类修饰酶基因和16S rRNA甲基化酶基因的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(6): 865-868.

## 参 考 文 献

- 1 骆骥才, 杨青, 俞云松, 等. 2010年中国CHINET呼吸道病原菌分布及耐药分析. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 340-247.
- 2 贾育红, 袁天柱, 刘滨. 重症监护室医院下呼吸道感染常见非发酵菌的耐药性与危险因素. 中国感染控制杂志, 2012, 11(2): 104-108.
- 3 唐晓铃, 杨缙. 重症监护病房鲍曼不动杆菌感染现状及耐药性分析. 重庆医学, 2013, 42(3): 302-303.
- 4 郑力, 高永红, 陈予新, 等. 呼吸机相关性肺炎中鲍曼不动杆菌耐药性的动态分析. 中国现代医药杂志, 2011, 13(3): 11-13.
- 5 王文晶, 黄茂, 王艳丽, 等. 下呼吸道感染不动杆菌属流行和药敏变迁分析. 现代生物医学进展, 2009, 19(16): 3089-3091.
- 6 姜梅杰, 孙启英, 李玉臣. 2006-2010年鲍氏不动杆菌的耐药性分析. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(7): 1469-1470.
- 7 刘晓庆, 陈娇, 李华, 等. 鲍曼不动杆菌质粒上氨基糖苷类耐药基因的研究. 中国抗生素杂志, 2012, 37(5): 335-335.
- 8 胡少春, 童先丽, 雷旦生. 鲍曼不动杆菌中16S rRNA甲基化酶基因的分布与耐药性分析. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(6): 446-448.
- 9 朱健铭, 姜如金, 吴康乐, 等. 多耐药鲍氏不动杆菌中发现氨基糖苷类修饰酶基因新亚型. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(18): 2371-2375.
- 10 冯吁珠, 张扬, 姚堃, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌16S rRNA甲基化酶、氨基糖苷类修饰酶基因研究. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(4): 303-306.
- 11 张利娟, 郝邵生, 毕玲. 天津地区鲍曼不动杆菌16S rRNA甲基化酶基因的检测与耐药性分析. 天津医药, 2012, 40(5): 456-459.
- 12 刘振茹, 凌保东. 鲍曼不动杆菌16S rRNA甲基化酶与氨基糖苷类修饰酶基因检测研究. 中国抗生素杂志, 2012, 37(5): 338-342.
- 13 植志全, 何志恒, 江鹏, 等. 多重耐药绿脓假单胞菌β-内酰胺类氨基糖苷类耐药相关基因研究. 中华检验医学杂志, 2005, 28(11): 1121-1124.
- 14 杨银梅, 叶惠芬, 张伟红, 等. 臭鼻克雷伯和鲍曼不动杆菌中检出NDM-1型金属β-内酰胺酶基因. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1407-1409.
- 15 Galimand M, Gerbaud G, Courvalin P. Spectinomycin resistance in *Neisseria* spp. Due to mutations in 16S rRNA. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(5): 1365-1366.
- 16 Yokoyama K, Doi Y, Yamanc K, et al. Acquisition of 16S rRNA methylase gene *Pseudomonas aeruginosa*. Lancet, 2003, 362(9399): 1888-1893.

(收稿日期: 2013-08-09)

(本文编辑: 孙荣华)