

· 临床论著 ·

不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌

 β -内酰胺类耐药基因的研究

姜梅杰 赵立军 滕清良

【摘要】 目的 调查 β -内酰胺类耐药基因在院内不同时间段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 β -内酰胺类相关耐药基因,并对部分阳性基因进行测序。**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,其中41株(89.1%)含OXA23组基因、17株(37.0%)含PER基因、6株(13.0%)含IMP基因,6株(13.0%)膜孔蛋白基因carO缺失。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(97.6%)含OXA23组基因,35株(83.3%)含TEM基因,42株(100%)含OXA64组基因和膜孔蛋白基因carO。经测序IMP阳性基因为IMP-4型金属酶基因,OXA23组阳性基因为OXA-23型碳青霉烯酶基因,OXA64组均为OXA-66型碳青霉烯酶基因,PER为PER-1型超广谱 β -内酰胺酶基因、TEM为TEM-1型 β -内酰胺酶基因。**结论** 院内不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌OXA-23型碳青霉烯酶基因和膜孔蛋白基因carO检出率一直很高,IMP、PER、TEM和OXA64组 β -内酰胺类耐药基因不同时间段检出情况差异很大。

【关键词】 多重耐药; 鲍曼不动杆菌; β -内酰胺类; 耐药基因

Study on β -lactamase genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated at different times
JIANG Meijie*, ZHAO Lijun, TENG Qingliang. *Department of Clinical Laboratory, Central Hospital of Taian, Taian 271000, China

Corresponding author: TENG Qingliang, Email: tatql@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the prevalence of β -lactamase genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in our hospital at different times. **Methods** The β -lactamase genes were analyzed by polymerase chain reaction (PCR), and part of the positive genes were verified by DNA sequencing. **Results** In the 46 multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* stains collected from June 2010 to June 2011, OXA23 group genes were found in 41 (89.1%) strains, PER in 17 (37.0%) stains; there were 6 (13.0%) stains carried IMP and loss of Porin gene (carO) was identified in 6 (13.0%) stains. In the 42 multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* stains collected from December 2012 to January 2013, OXA23 group genes was found in 41 (97.6%) strains, 35 (83.3%) stains carried TEM, OXA64 group genes and Porin gene (carO) was identified in 42 (100%) stains. By DNA sequencing, the positive genes IMP were verified as IMP-4 type metal enzyme gene, OXA23 group genes were OXA-23-type carbapenemase gene, OXA64 group genes were all OXA-66-type carbapenemase genes, PER was PER-1 type extended-spectrum β -lactamase gene, and TEM was TEM-1-type β -lactamase gene. **Conclusions** The detection rates of the genes as OXA-23-type carbapenemase gene and Porin gene (carO) have been high in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in hospital at different times, and detection rates of β -lactamase genes IMP, PER, TEM and OXA64 group varied greatly at different times.

【Key words】 Multi-drug resistant; *Acinetobacter baumannii*; β -lactam; Drug resistance gene

β -内酰胺类抗菌药物是临床治疗鲍曼不动杆菌引起感染的常用药物,但近年来由于本院多重耐药鲍曼不动杆菌的增加,鲍曼不动杆菌对亚胺培南、

哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦等 β -内酰胺类抗菌药物的耐药率迅速增加。鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类耐药基因的检测已有报道^[1-4]。为调查本院不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类抗菌药物的耐药性与 β -内酰胺类耐药基因的相关性,本研究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 β -内酰胺类耐药基因的分析,现

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.05.023

作者单位: 271000 泰安市,泰安市中心医院检验科(姜梅杰),血液科(滕清良);泰安军分区卫生科(赵立军)

通讯作者: 滕清良, Email: tatql@163.com

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,其中来自痰液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^[5-7]。采用煮沸法提取细菌DNA。

四、DNA测序

对IMP阳性基因和部分OXA23组、OXA64组、PER和TEM阳性基因PCR产物送上海桑尼生物科技

有限公司进行测序,测序结果在GenBank网上查询。

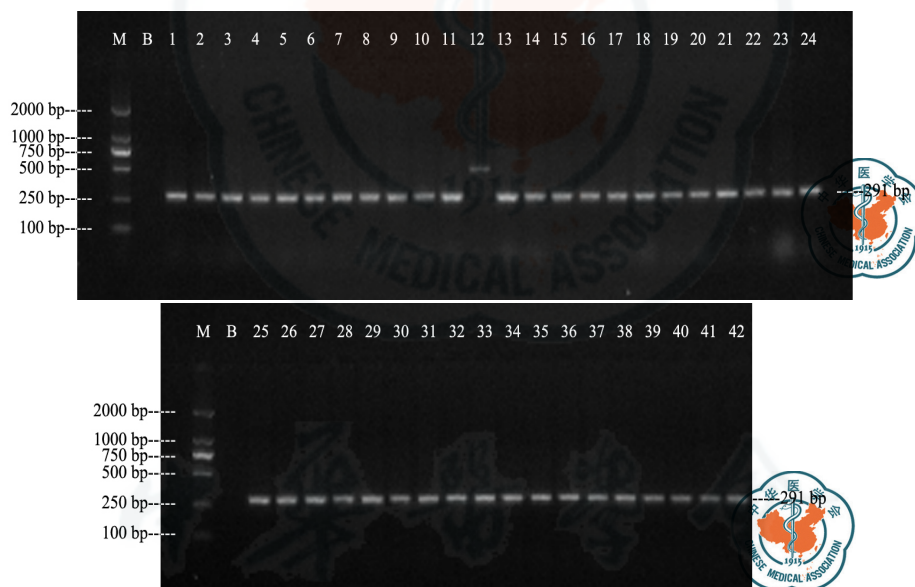
结 果

一、抗菌药物敏感试验结果

不同时间分离的88株多重耐药鲍曼不动杆菌对头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、哌拉西林和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率均为100%,1株对亚胺培南和美罗培南敏感。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1。

二、β-内酰胺类相关耐药基因的检测结果

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OXA23组基因、17株(37.0%)含PER基因、6株(13.0%)含IMP基因,6株(13.0%)膜孔蛋白基因carO缺失。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(97.6%)含OXA23组基因(图1)、42株(100%)含OXA64组基因

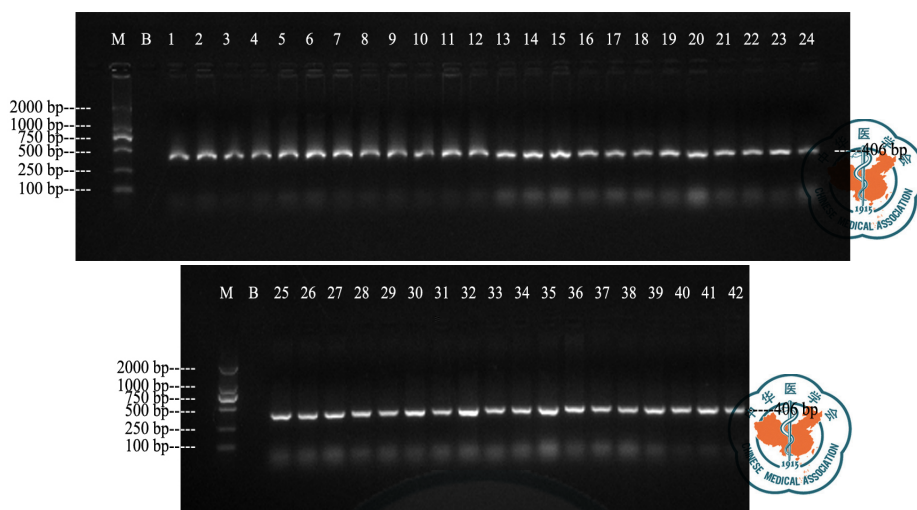


注: M: Marker; B: 阴性对照; 12: 阴性标本; 其余菌株: 阳性标本

图1 OXA23组基因PCR产物电泳图

表1 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[株(%)]

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	3 (6.5)	0 (0.0)	43 (93.5)	24 (57.1)	0 (0.0)	18 (42.9)
头孢他啶	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
头孢曲松	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
环丙沙星	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
头孢吡肟	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
庆大霉素	2 (4.3)	1 (2.2)	43 (93.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
亚胺培南	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	1 (2.4)	0 (0.0)	41 (97.6)
左氧氟沙星	0 (0.0)	2 (4.3)	44 (95.7)	0 (0.0)	1 (2.4)	41 (97.6)
美罗培南	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	1 (2.4)	0 (0.0)	41 (97.6)
哌拉西林	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
复方新诺明	1 (2.2)	0 (0.0)	45 (97.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
哌拉西林/他唑巴坦	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	42 (100.0)
妥布霉素	3 (6.5)	0 (0.0)	43 (93.5)	20 (47.6)	0 (0.0)	22 (52.4)
头孢哌酮/舒巴坦	6 (13.0)	15 (32.6)	25 (54.3)	2 (4.8)	17 (40.5)	23 (54.7)
米诺环素	25 (54.3)	20 (43.5)	1 (2.2)	0 (0.0)	17 (40.5)	25 (59.5)



注: M: Marker; B: 阴性对照; 1~42: 阳性标本

图2 OXA64 组基因 PCR 产物电泳图

(图2)、35株(83.3%)含TEM基因。膜孔蛋白基因carO均阳性,膜孔蛋白基因carO未缺失。

三、OXA-23 基因 PCR 扩增产物的测序结果

取6株OXA23组阳性基因PCR扩增产物进行测序,结果均为OXA-23基因,与编码JN207493序列100%同源。对6株IMP阳性基因PCR扩增产物进行测序,结果均为IMP-4基因,其中4株与编码JN106667序列100%同源,2株99%同源。取4株PER阳性基因PCR扩增产物进行测序,结果均为PER-1基因与编码FE535600序列99%同源。取5株OXA64组阳性基因PCR扩增产物进行测序,结果均为OXA-66基因,与编码FJ360530序列100%同源。取3株TEM阳性基因PCR扩增产物进行测序,结果均为TEM-1基因,与编码EF035598序列100%同源。

讨 论

已有报道显示,鲍曼不动杆菌是引起下呼吸道感染的常见病原菌^[8-11]。近年来,本院下呼吸道感染病原菌中鲍曼不动杆菌的分离率增多,鲍曼不动杆菌主要在重症监护病房患者的痰标本中检出,这可能与重症监护病房患者使用吸痰器、呼吸机等侵入性诊疗操作有关。本院耐药监测结果显示,近年来鲍曼不动杆菌对临床常用的各类抗菌药物的耐药率都很高,与临床分离的鲍曼不动杆菌中多重耐药鲍曼不动杆菌比例增加有关。多重耐药鲍曼不动杆菌甚至泛耐药鲍曼不动杆菌的增加已给临床治疗带来了很大困难。

本院院内不同时间检出的88株多重耐药鲍曼不

动杆菌中,标本主要来源于重症监护病房,有83株来源于患者的痰标本,提示本院多重耐药鲍曼不动杆菌主要引起呼吸道感染,并主要分布在重症监护病房。本科室在前期研究中已对本院2010年6月至2011年6月住院患者分离出的46株多重耐药鲍曼不动杆菌进行了β-内酰胺类相关耐药基因的研究,发现本院多重耐药鲍曼不动杆菌以OXA23组碳青霉烯酶基因为主,检出率为89.1%(41/46);同时发现37%的多重耐药鲍曼不动杆菌含PER基因,13%含IMP-4金属酶基因。在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,97.6%含OXA23组基因,100%含OXA64组基因和膜孔蛋白基因carO。随机取出的5株OXA64组阳性基因,均为OXA-66型碳青霉烯酶基因。3株TEM基因,均为TEM-1广谱β-内酰胺酶基因。提示本院近段时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌主要产OXA-66型和OXA-23型碳青霉烯酶基因。碳青霉烯酶是指水解碳青霉烯类抗菌药物的一类β-内酰胺酶,主要包括B类金属酶,A类及D类丝氨酸酶。OXA-23型碳青霉烯酶为D类丝氨酸酶,能水解碳青霉烯类抗菌药物,2012年12月至2013年1月本院临床分离出的多重耐药鲍曼不动杆菌中,有1株细菌未检出OXA-23型碳青霉烯酶基因,该菌对亚胺培南和美罗培南敏感,本院在不同时间段分离出的多重耐药鲍曼不动杆菌中,OXA-23型碳青霉烯酶基因检出率一直很高,提示OXA-23型碳青霉烯酶一直是本院鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药的主要原因之一。

IMP-4金属酶能水解亚胺培南等β-内酰胺类抗菌药物,PER-1超广谱β-内酰胺酶能水解头孢菌素

等 β -内酰胺类抗菌药物,但在2012年12月至2013年1月分离出的42株多重耐药鲍曼不动杆菌中,未检出IMP-4金属酶和PER-1超广谱 β -内酰胺酶,在2010年6月至2011年6月分离出的46株多重耐药鲍曼不动杆菌中,未检出OXA64组碳青霉烯酶基因和TEM型 β -内酰胺酶基因。提示院内不同时间段分离的多重耐药鲍曼不动杆菌OXA-23型碳青霉烯酶基因检出率一直很高,而IMP基因、PER基因、OXA64组基因和TEM基因不同时间检出情况相差很大。因此,临床应动态监测 β -内酰胺类耐药基因在多重耐药鲍曼不动杆菌中的存在情况,为医院感染控制提供依据。本研究88株多重耐药鲍曼不动杆菌中,有6株膜孔蛋白基因carO缺失。提示本院少数多重耐药鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类药物耐药与膜孔蛋白基因carO缺失有关。

参考文献

- 1 周奉娟,杨细媚,万祥辉. 80株鲍曼不动杆菌产超广谱 β -内酰胺酶检测及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(9):1052-1056.
- 2 费红军,岑叶平,裘莉佩,等. 多药耐药鲍曼不动杆菌 β -内酰胺酶基因和膜孔蛋白基因研究[J]. 中国抗生素杂志,2011,36(4):315-319.
- 3 王春新,耿先龙,徐亚丰,等. 泛耐药鲍曼不动杆菌 β -内酰胺类药物基因的研究[J]. 中国抗生素杂志,2012,37(5):329-334.
- 4 杜坤,应春妹,汪雅萍,等. 上海地区四家医院鲍曼不动杆菌产 β -内酰胺酶研究[J]. 检验医学,2012,27(2):103-109.
- 5 沈继录,朱德妹,吴卫红,等. 革兰阴性杆菌碳青霉烯酶产生与细菌耐药性关系的研究[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(4):408-414.
- 6 胡付品,朱德妹,叶信予,等. 对头孢吡肟敏感的疑似产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和克雷伯菌的分子生物学特征[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(10):1128-1133.
- 7 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[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(11):1121-1124.
- 8 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[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(5):340-247.
- 9 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[J]. 中国感染控制杂志,2012,11(2):104-108.
- 10 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[J]. 重庆医学,2013,42(3):302-303.
- 11 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[J]. 中国现代医药杂志,2011,13(3):11-13.

(收稿日期: 2013-08-22)

(本文编辑: 孙荣华)

姜梅杰,赵立军,滕清良. 不同时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌 β -内酰胺类耐药基因的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(5): 683-686.