

· 临床论著 ·

多重耐药鲍曼不动杆菌同源性分析的研究

李艳萍¹ 张志军² 满思金³

【摘要】目的 研究本院某时间段内临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌的同源性及β-内酰胺类耐药基因存在情况。**方法** 对2013年9月26日~2013年12月8日临床分离的10株多重耐药鲍曼不动杆菌采用脉冲场凝胶电泳(PFGE)进行同源性分析,PCR法检测β-内酰胺类相关耐药基因,对不同谱型的阳性基因进行测序。**结果** 10株多重耐药鲍曼不动杆菌中,PFGE谱型共有2种,其中A谱型9株(90%),B型1株(10%);2种谱型多重耐药鲍曼不动杆菌均携带OXA-51基因、OXA-23基因和OXA-66基因;80%(8株)的标本来源于痰液,20%(2株)的标本来源于尿液。**结论** 本院多重耐药鲍曼不动杆菌以A谱型为主要流行株,均同时携带多种β-内酰胺类耐药基因,主要引起呼吸道感染。

【关键词】 鲍曼不动杆菌; 多重耐药; 脉冲场凝胶电泳; 耐药基因

Homogeneous analysis of epidemic strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

Li Yanping¹, Zhang Zhijun², Man Sijin³. ¹Department of Operating Room, ²Clinical Laboratory, The Center Hospital of Tai'an, Tai'an 271000, China; ³Clinical Laboratory of The Center Hospital of Tengzhou, Tengzhou 277500, China

Corresponding author: Zhang Zhijun, Email: ghwtzj@163.com

【Abstract】Objective To investigate the distribution and β-lactamase coding genes of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in hospital at a certain time. **Methods** Total of 10 strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* were isolated from September 26, 2013 to December 8, 2013. Homology analysis were performed by pulsed field gel electrophoresis (PFGE), resistance genes for β-lactam were detected by polymerase chain reaction (PCR), and the positive genes in different spectral types were sequenced. **Results** There were 2 types of PFGE profiles, including 9 type A strains (90%) and 1 type B strain (10%). Both of the two kinds of spectral type carried OXA-51 gene, OXA-23 gene and OXA-66 gene. There were 8 (80%) strains were separated from sputum, and 2 (20%) strains were separated from urine. **Conclusions** Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with type A spectral were the predominant strains, which carried a variety of β-lactam resistance genes, and mainly caused respiratory tract infections.

【Key words】 *Acinetobacter baumannii*; Multidrug-resistant; Pulsed field gel electrophoresis; Drug-resistance gene

鲍曼不动杆菌是院内感染的主要致病菌之一。已有报道显示,鲍曼不动杆菌引起的院内感染有逐年增多的趋势^[1-2]。碳青霉烯类等β-内酰胺类抗菌药物是治疗鲍曼不动杆菌引起感染的常用抗菌药物,但近年来鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类等β-内酰胺类抗菌药物的耐药性都逐步升高。本研究对院内某时间段内分离的多重耐药鲍曼不动杆菌进行了β-内酰胺类耐药基因的研究,报道如下。

资料与方法

一、菌株来源

收集2013年9月26日~2013年12月8日于本院住院患者标本中分离出的10株多重耐药鲍曼不动杆菌,其中分离自痰液8株,尿液2株。

二、细菌鉴定及药敏试验

采用VITEK-2全自动细菌鉴定及药敏仪,GN卡进行细菌鉴定,GN13卡进行药敏试验,用纸片扩散法测定对头孢哌酮/舒巴坦的敏感性。

三、耐药基因检测

采用多聚酶链反应(PCR)方法,采用煮沸法

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.02.023

作者单位: 271000 泰安市,泰安市中心医院手术室¹、检验科²; 277500 滕州市,滕州市中心人民医院检验科³

通讯作者: 张志军, Email: ghwtzj@163.com

提取细菌DNA, β -内酰胺类相关耐药基因引物参照文献^[3-4]。

四、DNA 测序

对不同谱型的阳性基因进行测序, 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。

五、菌株同源性分析

采用脉冲场凝胶电泳法, 以 90% 同源性作为临界值进行分型。

结 果

一、抗菌药物敏感试验结果

10株多重耐药鲍曼不动杆菌中, 有2株对左氧氟沙星敏感、7株中介、1株耐药; 有1株对阿米卡星和头布霉素敏感、9株对阿米卡星和妥布霉素耐药; 2对头孢哌酮/舒巴坦中介、8株耐药; 对头孢他啶、头孢曲松、环丙沙星、头孢吡肟、庆大霉素、亚胺培南、复方新诺明、哌拉西林/他唑巴坦、头孢噻肟和氨苄西林/舒巴坦菌耐药。10株多重耐药鲍曼不动杆菌对14种抗菌药物的的敏感性, 详表1。

二、PFGE结果

10株多重耐药鲍曼不动杆菌PFGE谱型有2种(图1)。9株为A谱型(90%)流行株, 1株为B谱

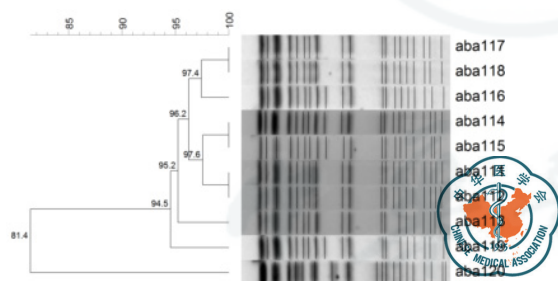


图1 10株MDRAB的PFGE结果

型(10%)流行株。A谱型是本研究时间段内的主要流行株。

三、 β -内酰胺类相关耐药基因检测结果及测序结果

10株多重耐药鲍曼不动杆菌中, OXA51基因、OXA23qc基因、OXA23组基因和OXA64gp组基因均阳性。取A谱型的1株多重耐药鲍曼不动杆菌和B谱型的1株多重耐药鲍曼不动杆菌进行OXA23qc基因、OXA23组基因和OXA64gp组基因PCR扩增产物进行测序, 结果OXA23qc基因为OXA-23基因, 见图2; OXA23组基因为OXA-23基因, OXA64gp组基因为OXA-66基因, 见图3。

四、重耐药鲍曼不动杆菌标本的分布

2013年9月26日~2013年12月8日临床分离的10株多重耐药鲍曼不动杆菌中, 8株来源于痰液, 占80%; 2株来源于尿液, 占20%。

讨 论

鲍曼不动杆菌是院内感染的主要革兰阴性杆菌^[5-10], 是重症监护病房下呼吸道常见的非发酵菌^[11]。本院耐药监测结果显示, 近年来多重耐药鲍曼不动杆菌有增加的趋势, 其原因是鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类、头孢菌素类、喹诺酮类和氨基糖苷类等抗菌药物的耐药率增高, 多重耐药鲍曼不动杆菌的增加已给临床治疗带来很大的困难。本院2013年9月26日~2013年12月8日临床分离的10株多重耐药鲍曼不动杆菌有8株来源于痰液, 2株来源于尿液, 提示院内分离的重耐药鲍曼不动杆菌主要引起下呼吸道感染。PFGE同源性分析发现10株多重耐药鲍曼不动杆菌PFGE谱型有2种, 9株为A谱型, 1株为B谱型。提示本院这段时间存在A谱型的流行株, 因此, 本院医务人员应注意手、物体表面等院内环境卫生, 防止院内

表1 10株多重耐药鲍曼不动杆菌对14种抗菌药物的的敏感性

抗菌药物	敏感		中介		耐药	
	株数	敏感率(%)	株数	中介率(%)	株数	耐药率(%)
阿米卡星	1	10	0	0	9	90
头孢他啶	0	0	0	0	10	100
头孢曲松	0	0	0	0	10	100
环丙沙星	0	0	0	0	10	100
头孢吡肟	0	0	0	0	10	100
庆大霉素	0	0	0	0	10	100
亚胺培南	0	0	0	0	10	100
左氧氟沙星	2	20	7	70	1	10
复方新诺明	0	0	0	0	10	100
哌拉西林/他唑巴坦	0	0	0	0	10	100
妥布霉素	1	10	0	0	9	90
头孢哌酮/舒巴坦	0	0	2	20	8	80
头孢噻肟	0	0	0	0	10	100
氨苄西林/舒巴坦	0	0	0	0	10	100

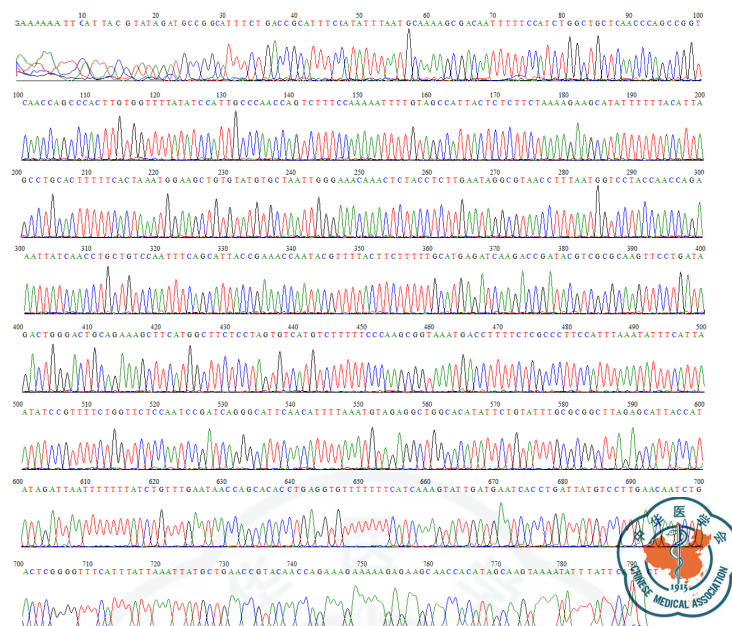


图2 OXA23-23 基因测序结果

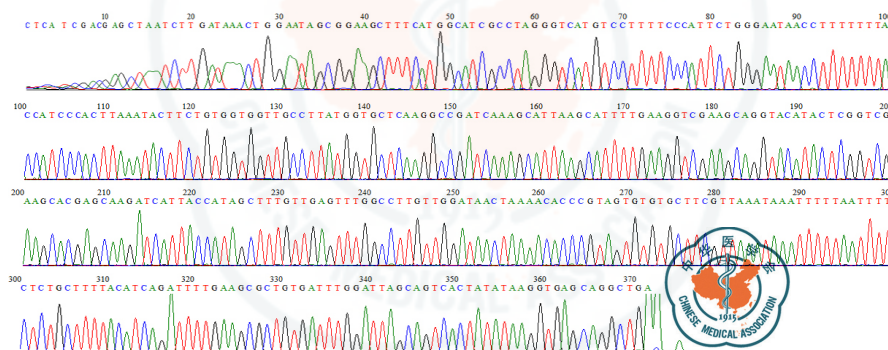


图3 OXA-66 基因测序结果

感染的暴发流行。

碳青霉烯类抗菌药物是临床治疗革兰阴性杆菌严重感染的常用抗菌药物,但近年来在临床治疗中有治疗失败的现象,其原因是鲍曼不动杆菌对亚胺培南等碳青霉烯类抗菌药物的耐药率增高。孙艳霞等^[12]报道大连地区鲍曼不动杆菌对碳青霉烯耐药主要原因是产生OXA-23基因。本研究结果显示,10株多重耐药鲍曼不动杆菌OXA51基因、OXA23基因和OXA64组基因均阳性,A谱型的1株多重耐药鲍曼不动杆菌和B谱型的1株多重耐药鲍曼不动杆菌,经测序OXA23qc基因为OXA-23型碳青霉烯酶基因,OXA64组基因为OXA-66型碳青霉烯酶基因。提示本院这段时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌中, β -内酰胺类耐药基因是碳青霉烯酶基因OXA-23和OXA-66。提示本院这段时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对 β -内酰胺类药物耐药可能与产OXA-23和OXA-66型碳青霉烯酶有关。

亚胺培南是本院临床治疗革兰阴性杆菌引起严重感染的常用抗菌药物。本研究药敏试验结果显示,10株多重耐药鲍曼不动杆菌,对亚胺培南均耐药,因此,本院临床用亚胺培南等碳青霉烯类抗菌药物治疗多重耐药鲍曼不动杆菌引起的感染时,必须根据药敏试验结果,以防止治疗失败。10株菌对头孢菌素类抗菌药物头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟和头孢噻肟均耐药,因此,临床用头孢类抗菌药物治疗多重耐药鲍曼不动杆菌引起的感染时也必须根据药敏试验。10株菌对喹诺酮类抗菌药物有2株对左氧氟沙星敏感、7株中介、1株耐药,但对环丙沙星均耐药,因此,临床用左氧氟沙星或环丙沙星喹诺酮类抗菌药物经验治疗多重耐药鲍曼不动杆菌引起的感染应首选左氧氟沙星。10株多重耐药鲍曼不动杆菌有2株对头孢哌酮/舒巴坦中介、有8株耐药,对氨苄西林/舒巴坦都耐药,有1株对阿米卡星和头布霉素敏感、9株对阿米卡星和妥布霉素耐

药。因此, 临床治疗多重耐药鲍曼不动杆菌引起的感染时, 必须根据药敏试验, 以防止治疗失败。

综上所述, 本院在研究时间段内分离的多重耐药鲍曼不动杆菌存在克隆株流行, 多重耐药鲍曼不动杆菌均携带多种 β -内酰胺类耐药基因, 临床医师应了解本地区鲍曼不动杆菌的特性, 在经验用药之前应先留取血液、痰液、尿液等标本, 以防止治疗失败。应注意加强多重鲍曼不动杆菌院内感染途径的教育, 合理使用抗菌药物防止耐药菌株的产生及流行。

参考文献

- 1 姜梅杰, 孙启英, 李玉臣. 2006-2010年鲍氏不动杆菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(7): 1469-1470.
- 2 官琳妹, 蔡溢, 孙悦波. 694株鲍曼不动杆菌的耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(3): 269-270.
- 3 沈继录, 朱德妹, 吴卫红, 等. 革兰阴性杆菌碳青霉稀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.
- 4 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.
- 5 黄朝晖, 范晓玲, 胡瑜. 2007-2011年医院感染主要病原菌的耐药趋势分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(8): 1911-1913.
- 6 王世瑜, 刘晔华, 陈锦艳. 2005-2010年临床分离革兰阴性杆菌耐药性变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(8): 1917-1919.
- 7 毛海芳. 老年患者下呼吸道感染常见病原菌分布及其耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(1): 210-212.
- 8 李跃进, 李蓓. 我院ICU患者革兰阴性杆菌的流行趋势及耐药性分析[J]. 临床合理用药, 2013, 6(4): 26-27.
- 9 陈映, 乔岩, 赵燕. 医院感染细菌的临床分布及耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(1): 91-94.
- 10 刘佳, 刘泽秀, 王伟. 老年患者医院获得性肺炎的病原菌及耐药性探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(10): 2481-2483.
- 11 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.
- 12 孙艳霞, 聂大平. 鲍曼不动杆菌OXA 基因的检测及ISAba1对其表达的影响[J]. 大连医科大学学报, 2011, 23(6): 590-594.

(收稿日期: 2014-05-24)

(本文编辑: 孙荣华)

李艳萍, 张志军, 满思金. 多重耐药鲍曼不动杆菌同源性分析的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(2): 245-248.