

· 论 著 ·

重症监护病房耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌的分子流行病学研究

刘 丁,王 政,王 豪,陈 萍,成 瑶

(第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所/重庆市医院感染控制中心,重庆 400042)

摘要:目的 研究监护病房中暴发耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌(CRAB)的同源性以及感染暴发控制措施。方法 收集 2009 年 10 月 28 日至 11 月 9 日监护病房 8 株从患者及 3 株从环境分离的对碳青霉烯类耐药的 CRAB,用琼脂稀释法测定 14 种抗菌药物的最小抑菌浓度,脉冲场电泳(PEGE)分析其同源性。结果 所有对碳青霉烯类耐药的 CRAB 对喹诺酮类和氨基糖苷类的部分药物保持一定敏感性外,对其余抗菌药物耐药率均为 100%。PEGE 分为 3 种克隆型,以 A 型为主。采取接触隔离措施、加强手卫生及环境清洁后可有效的控制感染暴发的扩散。结论 创伤监护病房暴发的耐碳青霉烯类的 CRAB 大多属于克隆株。医务人员手部和呼吸机控制面板可能成为传播途径。

关键词:鲍曼不动杆菌;碳青霉烯类;脉冲场电泳;医院感染;重症监护室

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.23.023

中图分类号:R378;R969.3

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)24-3355-02

The study of molecular epidemiology characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Intensive care unit

LIU Ding, WANG Zheng, WANG Hao, et al.

(Daping Hospital, the Third Military Medical University/Chongqing center for hospital infection control, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To explore the genotype of Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*(CRAB) and the measure for preventing nosocomial infection(NI). **Methods** Collected 8 CRAB strains isolated from patients and 3 strains from environment in ICU. Broth dilution method detected patterns of resistant against 14 antimicrobial agents, Pulsed-field gel electrophoresis(PFGE) were analyzed to find the relationship among these isolates. **Results** All CRAB kept low susceptibility to amikacin, gentamicin and levofloxacin, but resistance to other agents. Eleven strains were classified into 3 clones based on PFGE pattern, Clone A was the main genotype. No new infections appeared in the follow week, and did not isolate any CRAB from hands of staff or environment. **Conclusion** Outbreak of nosocomial infection is due to transmission of the same strains among different individuals, effective measure to control infection included strengthening the hand hygiene and disinfection of bed.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Carbapenemase, Pulsed field gel electrophoresis, Nosocomial infection, Intensive care unit

鲍曼不动杆菌(*acinetobacter baumannii*, CRAB)是引起医院感染的重要病原菌,其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。碳青霉烯类药物对不动杆菌有较好的抗菌活性。但随着碳青霉烯类药物的广泛使用,对碳青霉烯类耐药的 CRAB 日益增多,造成临床感染暴发^[1]。为了解 CRAB 在创伤监护室的耐药性及流行情况,本研究对发生暴发的 CRAB 进行耐药性分析,并采用脉冲场电泳(PEGE)进行同源性分析,现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 菌株 收集 2009 年 10 月 28 日至 11 月 9 日某教学医院监护病房 8 株从患者分离的 CRAB,其中包括痰液标本 5 株,分泌物标本 3 株。从环境分离的 3 株 CRAB,包括护士手部、呼吸机控制面板和病床护栏。

1.2 药敏试验 采用琼脂稀释法检测最小抑菌浓度(MIC),根据临床与实验室标准协会(CLSI)说明^[2]判断结果。质控菌为大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3 PEGE 分纯后的细菌用低熔点琼脂糖(上海生物工程公司)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 I (TAKARA, 日本)酶切过夜。0.5×TBE 缓冲液,14℃,6 V/cm,120°,脉冲时间 5~20 s,电泳 19 h,溴乙锭染色洗胶后在紫外光成像仪下观察。Apa I 酶切 H9812 作为相对分子量标记物,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。

1.4 控制措施 将感染 CRAB 的患者与其他患者进行物理区域隔离,启用接触隔离措施,加强医护人员手卫生,增加每日用酸性氧化水清洁消毒床单元的次数。

2 结 果

2.1 药敏试验 所有 CRAB 只对阿米卡星、庆大霉素和左氧氟沙星保持一定的敏感性,其余药物均为耐药(表 1)。

2.2 PEGE 结果 PEGE 分析结果显示存在 A、B、C 3 个克隆型,A 克隆型包括 A1 亚型 7 株,A2 亚型 1 株;B 型 2 株,C 型 1 株(图 1、2)。从 PFGE 结果可以推断,本次 ICU 暴发 CRAB 可能与护士手部以及呼吸机控制面板有关系。

表 1 碳青霉烯类耐药的 CRAB 对常用抗菌药物的药敏试验结果

抗菌药物	MIC(μg/mL)			药敏试验(%)		
	范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	R	I	S
氨苄西林	32~32	32	32	100	0	0
氨苄西林/舒巴坦	32~32	32	32	100	0	0
哌拉西林/他唑巴坦	128~128	128	128	100	0	0
氨曲南	64~64	64	64	100	0	0
头孢吡肟	32~64	64	64	100	0	0
头孢噻肟	64~64	64	64	100	0	0

表 1(续) 碳青霉烯类耐药的 CRAb 对常用抗菌药物的药敏结果

抗菌药物	MIC($\mu\text{g}/\text{mL}$)			药敏试验(%)		
	范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	R	I	S
头孢他啶	64~64	64	64	100	0	0
头孢唑肟	64~64	64	64	100	0	0
庆大霉素	1~16	16	16	80	5	15
美罗培南	16~16	16	16	100	0	0
亚胺培南	16~16	16	16	100	0	0
阿米卡星	2~64	4	64	12	0	88
环丙沙星	4~4	4	4	100	0	0
左氧氟沙星	1~8	8	8	79	16	5

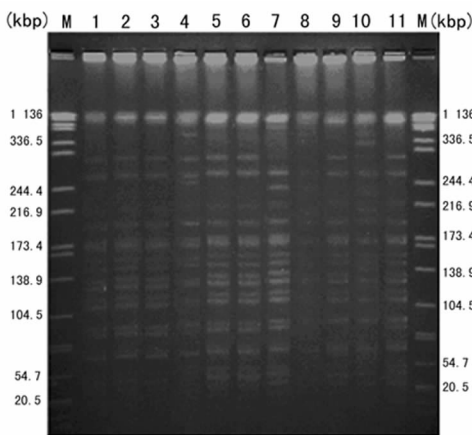
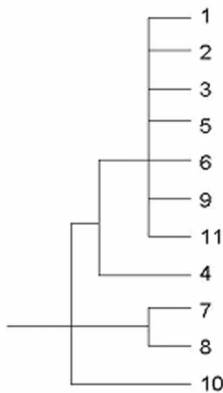


图 1 11 株 CRAb 脉冲场电泳分析结果



克隆 A1: 1, 2, 3, 5, 6, 9, 11; 克隆 A2: 4; 克隆 B: 7, 8; 克隆 C: 10。

图 2 细菌同源性分析

3 讨论

CRAb 普遍存在于环境中,是临床重症感染患者常见的革兰阴性非发酵菌。随着广谱抗菌药物应用所形成的选择性压力^[4],多重耐药的 CRAb 日趋增多。碳青霉烯类是治疗多重耐药 CRAb 感染的首选抗菌药物之一^[5-6],因为在所有 β -内酰胺类药物中,碳青霉烯类药物抗菌谱最广,抗菌活性最强,其对革兰阴性菌产生的超广谱 β -内酰胺酶、AmpC 酶具有较高稳定性。然而随着碳青霉烯类药物的广泛使用,CRAb 对碳青霉烯

类的敏感性也在逐年下降^[7-8],其耐药株引起的医院感染的暴发流行已成为日益严重的医疗事件和公共卫生问题。

本次感染暴发的 CRAb 的 MIC 结果显示,亚胺培南和美罗培南的 MIC 均大于 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$,对 β -内酰胺类的耐药率已达 100%,只对氨基糖苷类和奎诺酮类药物保持较低敏感性。

本研究运用 PFGE 方法分析所有菌株的同源性,共分为 3 个克隆型,导致本次感染暴发的克隆型为 A 型,与医务人员手部及呼吸机控制面板上分离到的 CRAb 的基因型相同,提示手部和控制面板成为 CRAb 传播的途径^[9]。通过执行严格的隔离措施,加强医务人员的手卫生及有效的监督^[10],加强对床单元及仪器的清洁消毒可有效控制感染暴发的扩散^[11-12]。

本研究发现本次 ICU 暴发的 CRAb 主要为 A 克隆型,对头孢菌素类的耐药率均已达 100%。利用有效的分子生物学实验技术可及时有效的发现感染暴发模式^[13-14],临床应对抗菌药物的使用进行分级管理,以免增加 CRAb 的抗生素选择性压力,并且加强手卫生与床单元的清洁和消毒^[15],以防 CRAb 等多重耐药菌发生医院感染暴发。

参考文献:

- [1] Mugnier PD, Poirel L, Naas T, et al. Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16(1):35.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard[M]. 8th ed. Wayne: PA, 2009.
- [3] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis; criteria for bacterial strain typing[J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(9):2233.
- [4] 吴小林. 肺炎链球菌和流感嗜血菌耐药性之间的关系:选择性压力的依据[J]. *国外医药抗生素分册*, 2003, 24(1):48.
- [5] 陈海红, 李华茵, 何礼贤. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌的耐药机制研究进展[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2010, 9(4):439.
- [6] 冯国和. 碳青霉烯类抗菌药物的新选择[J]. *中国全科医学:医生读者版*, 2010, 5(13):44.
- [7] 王辉, 孙宏莉, 廖康, 等. 北京和广州地区 4 家医院不动杆菌碳青霉烯酶基因型研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(6):636.
- [8] 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.
- [9] Podnos YD, Cinat ME, Wilson SE, et al. Eradication of multi-drug resistant *Acinetobacter* from an intensive care unit[J]. *Surg Infect(Larchmt)*, 2001, 2(4):297.
- [10] McAteer J, Stone S, Fuller C, et al. Development of an observational measure of healthcare worker hand-hygiene behaviour: the hand-hygiene observation tool (HHOT)[J]. *J Hosp Infect*, 2008, 68(3):222.
- [11] Touati A, Achour W, Cherif A, et al. Outbreak of *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit: antimicrobial susceptibility and genotyping (下转第 3359 页)

兰阴性非发酵菌。随着广谱抗菌药物应用所形成的选择性压力,多重耐药的 CRAB 日趋增多。碳青霉烯类是治疗多重耐药 CRAB 感染的首选抗菌药物之一。然而随着碳青霉烯类药物的广泛使用,CRAB 对碳青霉烯类的敏感性也在逐年下降^[4-5],其耐药株引起的医院感染的暴发流行已成为日益严重的医疗事件和公共卫生问题。

本研究的 MIC 结果显示,亚胺培南和美罗培南的 MIC 均大于 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$,对 β -内酰胺类的耐药率已达 100%,只对氨基糖苷类和奎诺酮类药物保持较低敏感性。而 2009 年内 ICU 分离的所有 CRAB 对亚胺培南、环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率较 2007 年分别上升了 66.8%、39.0%、48.3%^[6]。

中国浙江、杭州等沿海地区报道了产 OXA-23 型碳青霉烯酶的 CRAB 导致医院感染暴发的事件^[7-8],而最近 1 年时间西南地区也相继发现导致医院感染的 CRAB 同样产 OXA-23 型碳青霉烯酶^[9-10],这表明了该型酶在 7 年内从我国沿海发达地区迅速传入西南欠发达地区^[11]。本研究所有菌株均携带 *bla*_{OXA-23} 和 *bla*_{OXA-51} 型碳青霉烯酶基因,同中国其他报道相同,说明我国内陆地区分布的 CRAB 均以 OXA-23 为主。此外,只在 *bla*_{OXA-23} 基因上游发现 ISAbal 1 启动子,插入序列 ISAbal 1 可能与 D 类碳青霉烯酶编码基因的同源重组以及表达调控有关^[12]。

本研究发现重庆地区对碳青霉烯类耐药的 CRAB 对头孢菌素类的耐药率均已达 100%,对庆大霉素、阿米卡星、左氧氟沙星耐药性正逐年递增。且全部携带 *bla*_{OXA-23} 型碳青霉烯酶基因。随着 CRAB 耐药性的增强^[13-15],临床医务工作者及感染控制专家应重视并积极采取有效措施加以预防和控制。

参考文献:

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard[M]. 8th ed. Wayne: PA, 2009.

[2] Chu YW, Cheung TK, Ngan JY, et al. EDTA susceptibility leading to false detection of metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* by Etest and an imipenem-EDTA disk method[J]. Int J Antimicrob Agents, 2005, 26(4):338.

[3] Turton JF, Ward ME, Woodford N, et al. The role of ISAbal 1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acine-

tobacter baumannii[J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, 258(1):72.

[4] Barisic GB, Bedenic B, Tonkic M, et al. First report of molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in different intensive care units in university hospital split, Croatia[J]. J Chemotherapy, 2007, 19(4):416.

[5] 王辉,孙宏莉,廖康,等.北京和广州地区 4 家医院不动杆菌碳青霉烯酶基因型研究[J].中华检验医学杂志,2005,28(6):636.

[6] 王政,刘丁,陈萍,等.2008 年重庆大坪医院细菌耐药性监测[J].重庆医学,2009,38(19):2400.

[7] 裘莉佩,潘登,徐炜烽,鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶基因型及分子流行病学研究[J].中华流行病学杂志,2007,28(4):381.

[8] Zhou H, Yang Q, Yu YS, et al. Clonal spread of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* among different cities of China[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(12):4054.

[9] 杜蓉,冯萍,陈慧莉,等.鲍曼不动杆菌临床分离株耐药性与 OXA-碳青霉烯酶基因型研究[J].四川大学学报:医学版,2009,40(2):272.

[10] 谭湘淑,刘原,韩新鹏,等.西安地区鲍曼不动杆菌耐亚胺培南的机制研究[J].南方医科大学学报,2009,29(7):1391.

[11] Wang H, Liu YM, Chen MJ, et al. Mechanism of carbapenems resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao, 2003, 25(5):567.

[12] Segal H, Garny S, Elisha BG. Is ISAbal-1 customized for *Acinetobacter*? [J]. FEMS Microbiol Lett, 2005, 243(2):425.

[13] 梅燕萍,王一杉.635 株鲍曼不动杆菌的分布及耐药性分析[J].检验医学与临床,2009,6(24):2085.

[14] 郑丽玲,黄仲玲.新生儿病房鲍曼不动杆菌感染者的临床特点及耐药情况分析[J].海南医学,2010,21(1):92.

[15] 刘旗明.痰标本不动杆菌属细菌分离及药敏分析[J].安徽医药,2006,10(7):531.

(收稿日期:2010-10-14)

(上接第 3356 页)

analysis[J]. Ann Epidemiol, 2009, 19(6):372.

[12] Choi WS, Kim SH, Jeon EG, et al. Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care units and successful outbreak control program[J]. J Korean Med Sci, 2010, 25(7):999.

[13] 王自林,冯中伟,张世武.重症监护病房分离大肠埃希菌耐药性及分子流行病学检测[J].安徽医药,2008,12(6):

521.

[14] 姚贝,张捷.耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌分子流行病学研究[J].现代检验医学杂志,2010(1):78.

[15] Chen YY, Sun YX, Chen JW, et al. Quantification of the severity of an outbreak in human infection control[J]. Int J Infect Dis, 2010, 14(3):3.

(收稿日期:2010-10-14)