

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20203727

· 论 著 ·

某院耐亚胺培南鲍曼不动杆菌耐药基因及临床特征

姜梅杰¹, 张志军¹, 赵书平¹, 董春忠²

(1. 泰安市中心医院检验科, 山东 泰安 271000; 2. 滨州市人民医院检验科, 山东 滨州 256610)

[摘要] **目的** 分析某院临床分离的耐亚胺培南鲍曼不动杆菌(IRAB)耐药基因携带情况,为医院感染防控和指导临床治疗提供实验室依据。**方法** 采用聚合酶链反应(PCR)方法检测该院临床分离的 26 株 IRAB 碳青霉烯类耐药基因(*bla*IMP、*bla*KPC、*bla*NDM-1、*bla*OXA-23、*bla*OXA-50、*bla*OXA-51、*bla*OXA-58)、氨基糖苷类耐药基因[*ant*(3'')-I、*aac*(6')-I、*armA*]和消毒剂耐药基因 *qacE*Δ1 携带情况。**结果** 26 株 IRAB 均携带碳青霉烯酶基因 OXA-23 和 OXA-51,检出率为 100%,未检出其他碳青霉烯类耐药基因。氨基糖苷类耐药基因 *ant*(3'')-I、*aac*(6')-I 和 *armA* 检出率均为 96.15%,消毒剂耐药基因 *qacE*Δ1 基因携带率为 65.38%。临床分离 IRAB 菌株 92.31%来源于患者的痰液。**结论** 该院临床分离 IRAB 多数携带相同的碳青霉烯类耐药基因和氨基糖苷类耐药基因,需加强医院感染防控措施。

[关键词] 鲍曼不动杆菌;耐亚胺培南鲍曼不动杆菌;碳青霉烯类耐药基因;氨基糖苷类耐药基因;消毒剂耐药基因

[中图分类号] R181.3⁺2

Drug resistance genes and clinical characteristics of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a hospital

JIANG Mei-jie¹, ZHANG Zhi-jun¹, ZHAO Shu-ping¹, DONG Chun-zhong² (1. Department of Laboratory Medicine, Taian City Central Hospital, Taian 271000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Peoples' Hospital of Binzhou, Binzhou 256610, China)

[Abstract] **Objective** To analyze carrying status of drug-resistant genes of clinically isolated imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (IRAB) in a hospital, provide laboratory basis for prevention and control as well as guidance for clinical treatment of HAI. **Methods** Polymerase chain reaction (PCR) was used to detect carrying status of carbapenem-resistant genes (*bla*IMP, *bla*KPC, *bla*NDM-1, *bla*OXA-23, *bla*OXA-50, *bla*OXA-51, and *bla*OXA-58), aminoglycoside-resistant genes (*ant*[3'']-I, *aac*[6']-I, *armA*) and disinfectant-resistant gene *qacE*Δ1 of 26 clinically isolated IRAB strains in this hospital. **Results** 26 strains of IRAB all carried carbapenem-resistant genes OXA-23 and OXA-51, detection rate was 100%, other carbapenem-resistant genes were not found. The detected rates of aminoglycoside-resistant genes *ant*(3'')-I, *aac*(6')-I and *armA* were all 96.15%, the carrying rate of disinfectant-resistant gene *qacE*Δ1 was 65.38%. 92.31% of clinically isolated IRAB strains were from sputum of patients. **Conclusion** The majority of clinically isolated IRAB strains in this hospital carry the same carbapenem-resistant gene and aminoglycoside-resistant gene, it is necessary to strengthen the prevention and control measures of HAI.

[Key words] *Acinetobacter baumannii*; imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*; carbapenem-resistant gene; aminoglycoside-resistant gene; disinfectant-resistant gene

[收稿日期] 2019-12-14

[基金项目] 山东省自然科学基金(ZR2016HL44)

[作者简介] 姜梅杰(1963-),女(汉族),山东省泰安市人,主任技师,主要从事细菌耐药机制与分子流行病学研究。

[通信作者] 赵书平 E-mail:dczhshp@126.com

中国 CHINET 细菌耐药监测结果显示,2012—2016 年非发酵革兰阴性杆菌中,鲍曼不动杆菌分离率一直位居首位,对亚胺培南和美罗培南的耐药率逐渐增高,耐药率均>56.0%^[1-5],鲍曼不动杆菌已成为导致医院感染的最重要病原菌之一。亚胺培南等碳青霉烯类抗生素是临床治疗革兰阴性杆菌感染的重要抗菌药物,耐亚胺培南鲍曼不动杆菌(imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, IRAB)的出现给临床治疗带来了极大挑战。山东省滨州市人民医院细菌耐药监测结果显示,近年来,临床分离鲍曼不动杆菌数量逐渐增加,且主要分布在重症监护病房(ICU)。医院对此非常重视,立即制定医院感染控制策略加强医院感染防控,随后医院内分离 IRAB 菌株数减少。对 2013 年 8—11 月医院分离的 IRAB 进行碳青霉烯类耐药基因、氨基糖苷类耐药基因和消毒剂耐药基因分析,为医院感染防控和指导临床治疗提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集 2013 年 8—11 月滨州市人民医院住院患者临床分离 IRAB 菌株,剔除同一患者分离的重复菌株,所有菌株均进行药敏试验。

1.2 细菌鉴定及药敏试验 采用 BD Phoenix-100PHOENIX NMIC/ID-4 复合板对菌种进行鉴定和药敏试验,检测菌株对亚胺培南、美罗培南、头孢吡肟、头孢他啶、头孢噻肟、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦、左氧氟沙星、环丙沙星、阿米卡星、庆大霉素、复方磺胺甲噁唑的敏感性。对亚胺培南耐药的鲍曼不动杆菌则定义为 IRAB。

1.3 临床资料收集 采用回顾性分析方法,通过病例系统收集患者的临床数据,包括标本来源、科室、患者基础疾病,既往是否使用过碳青霉烯类抗生素、是否使用呼吸机等治疗设备、是否有 ICU 病房住院史等相关临床资料。

1.4 耐药基因检测及测序 采用煮沸法提取细菌 DNA,采用多聚酶链反应(PCR)方法检测 IRAB 菌株相关耐药基因。参照相关文献^[6-8]设计部分碳青霉烯酶耐药基因、氨基糖苷类相关耐药基因、消毒剂耐药基因的引物序列,NDM-1 基因引物序列参照中国疾病预防控制中心传染病预防控制所公布的引物序列,见表 1。PCR 扩增阳性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 网上进行比对。

表 1 耐药基因引物序列

Table 1 Primer sequences of drug-resistant genes

| 引物名称 | 引物序列(5'→3') | 产物长 度(bp) | 退火温 度(℃) |
|--------------|-----------------------|--------------|-------------|
| IMP-1gp-F | TCTCATTTCATAGRGACAG | 353 | 51 |
| IMP-1gp-R | ACCAGTTTTCGCTTACCATA | | |
| KPC-gp-F | GCGGAACCATTCGCTAAACTC | 340 | 55 |
| KPC-gp-R | CGCCCAACTCCTTCAGCAACA | | |
| NDM-1-F | CAGCACACTTCTATCTC | 292 | 55 |
| NDM-1-R | CCGCAACCATCCCCTCTT | | |
| OXA23gp-F | CCCCGAGTCAGATTGTTC | 291 | 55 |
| OXA23gp-R | GCTTCATGGCTTCTCTAG | | |
| OXA50gp-F | GCCAGCGAATGGAACGACAG | 152 | 55 |
| OXA50gp-R | TAGGTGGAAGCGGGAACGAA | | |
| OXA-51-F | TAATGCTTTGATCGGCCTTG | 353 | 55 |
| OXA-51-R | TGGATTGCACTTCATCTTGG | | |
| OXA58gp-F | TGGCACGCATTTAGACCG | 507 | 52 |
| OXA58gp-R | AAACCCACATACCAACCC | | |
| ant(3'')-I-F | TGATTTGCTGGTTACGGTGAC | 284 | 55 |
| ant(3'')-I-R | CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG | | |
| aac(6')-I-F | TATGAGTGGCTAAATCGA | 394 | 55 |
| aac(6')-I-R | CCCCTTTCTCGTAGCA | | |
| armA-F | AGGTTGTTTCCATTCTGAG | 591 | 55 |
| armA-R | TCTCTCCATTCCCCTCTC | | |
| qacEΔ1-F | TAGCGAGGGCTTACCTAAGC | 300 | 55 |
| qacEΔ1-R | ATTCAGAATGCCGAACACCG | | |

2 结果

2.1 一般资料 2013 年 8—11 月共收集 26 株 IRAB 菌株,来自 26 例患者。标本来源分别为痰 24 株,穿刺液 1 株,分泌物 1 株。14 株来源于 ICU,5 株来源于神经外科病房,4 株来源于呼吸内科病房,2 株来源于烧伤科病房,1 株来源于保健病房。

2.2 临床资料 26 例 IRAB 感染患者均患有各种急性和(或)慢性疾病。21 例(80.77%)曾在 ICU 接受过治疗,其中 14 株来自 ICU 患者,5 株来自神经外科患者(3 例曾住 ICU),4 株来自呼吸科病房的患者(2 例曾住 ICU 病房),2 株来自烧伤科病房的患者(均曾住 ICU 病房)。26 例 IRAB 感染均有呼吸道感染症状,其中 18 例(69.23%)使用过碳青霉烯类抗生素,19 例(73.08%)患者使用过呼吸机等治疗设备。92.31%(24/26)的标本来源于患者痰液,痰涂片镜检均为合格标本。

2.3 抗菌药物敏感试验结果 26 株 IRAB 中,对临床常用的抗菌药物如亚胺培南、美罗培南、头孢吡肟、头孢他啶、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦、左氧氟沙星、环丙沙星、阿米卡星、庆大霉素均耐药。26 株 IRAB 菌株均对多粘菌素敏感,1 株(3.85%)对复方磺胺甲噁唑敏感。

2.4 碳青霉烯酶耐药基因检测及测序结果 26 株 IRAB 均检测出碳青霉烯酶耐药基因 OXA-51 和 OXA-23,随机选取 2 株 OXA-23 基因阳性菌株 PCR 扩增产物进行测序,结果比对后均显示为 OXA-23 碳青霉烯酶基因。除 OXA-51 和 OXA-23 基因外,未检出其他碳青霉烯酶基因。见图 1~3。



图 1 IRAB OXA-51 基因 PCR 扩增产物电泳图

Figure 1 Electrophoresis map of PCR amplification products of IRAB OXA-51 gene



图 2 IRAB OXA-23 基因 PCR 扩增产物电泳图

Figure 2 Electrophoresis map of PCR amplification products of IRAB OXA-23 gene

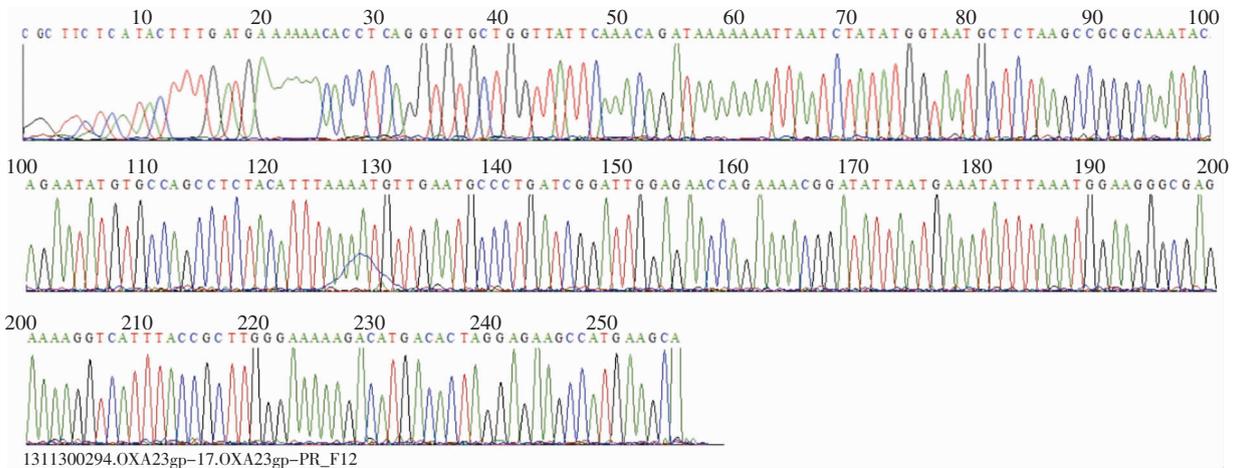


图 3 IRAB OXA-23 基因测序图

Figure 3 Sequencing map of IRAB OXA-23 gene

2.5 氨基糖苷类相关耐药基因和耐消毒剂基因 *qacE*Δ1 检测及测序结果 26 株 IRAB 氨基糖苷类相关耐药基因 *ant*(3'')-I、*armA* 和 *aac*(6')-I 携带率均为 96.15%。消毒剂耐药基因 *qacE*Δ1 携带率为

65.38%(17/26)。见图 4、5。随机选取 1 株 *armA* 基因、*aac*(6')-I 基因和 *ant*(3'')-I 基因阳性菌株 PCR 扩增产物进行测序,测序结果进行比对后均确认为该耐药基因。

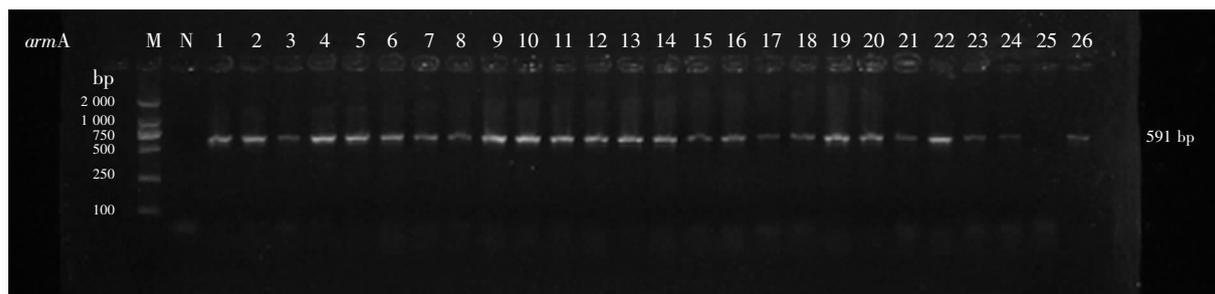


图 4 IRAB *armA* 基因 PCR 扩增产物电泳图

Figure 4 Electrophoresis map of PCR amplification products of IRAB *armA* gene



图 5 IRAB *qacEΔ1* 基因 PCR 扩增产物电泳图

Figure 5 Electrophoresis map of PCR amplification products of IRAB *qacEΔ1* gene

3 讨论

鲍曼不动杆菌是引起医院感染的常见病原菌之一,近年来 IRAB 菌株分离数迅速增加,给临床治疗带来了极大的挑战。Gong 等^[9]报道减少鲍曼不动杆菌医院感染的关键措施是避免交叉污染。某三甲医院 IRAB 菌株数迅速增加引起了医院的高度重视,医院感染管理科迅速在全院临床科室开展加强医院感染控制措施的相关培训,对重点科室(包括 ICU)环境卫生及患者使用的监护仪、鼻门注射器、微量泵、呼吸机、气管插管接口等医疗用品进行全面检测、消毒。通过加强医院感染防控措施,医院内分离鲍曼不动杆菌和 IRAB 明显减少,进一步证实了加强医院感染防控措施可有效减少患者 IRAB 医院感染。

多重耐药鲍曼不动杆菌主要分布在重症监护病房^[10-11]。Lautenbach 等^[12]报道许多鲍曼不动杆菌分离株呈现出对亚胺培南耐药,与先前碳青霉烯类抗生素的广泛使用密切相关。本研究临床分离的 26 株 IRAB 菌株中,24 株(92.30%)来自患者的痰标本,24 例 IRAB 感染患者均有呼吸道感染症状,说明 IRAB 主要引起呼吸道感染。本研究 26 例患者中,21 例(80.77%)有 ICU 住院史,18 例(69.23%)患者使用过碳青霉烯类抗生素,19 例(73.08%)患者使用过呼吸机等医疗设备。本研究 ICU 患者 IRAB 感染率相对较高,可能与 ICU 患者

本身病情重,需要使用呼吸机等医疗设备和碳青霉烯类抗生素的概率较高有关,提示医院相关部门应重点关注 ICU 医院感染防控,防止耐药菌医院内的克隆株传播。

研究^[13-14]报道,鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗生素耐药与产生 OXA-23 型碳青霉烯酶相关。产 OXA-23 鲍曼不动杆菌在世界各地均有流行^[15-18]。研究报道,41 株对美罗培南/亚胺培南耐药的鲍曼不动杆菌 OXA-23 检出率为 68.3%^[19];98 株 MDR-AB 中,71.4% 携带 OXA-23 基因^[20];119 株 IRAB 中 95.8% 携带 OXA-23 基因^[21];40 株 IRAB 均检出 OXA-23 基因^[22]。本研究 26 株 IRAB 中,碳青霉烯酶基因 OXA-51 和 OXA-23 均为阳性,且 26 株 IRAB 对亚胺培南、美罗培南、头孢吡肟、头孢他啶、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦均耐药。鲍曼不动杆菌染色体天然携带 OXA-51 基因^[23],提示鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗生素耐药与 OXA-23 碳青霉烯酶基因密切相关。

16S rRNA 甲基化酶可导致临床常用的氨基糖苷类抗生素耐药^[24]。本研究 26 株 IRAB 对阿米卡星和庆大霉素均耐药,且所有菌株均发现氨基糖苷类耐药基因。26 株 IRAB 中,仅 1 株 IRAB 未检出 16S rRNA 甲基化酶基因 *armA*,但检出氨基糖苷类修饰酶基因 *ant(3'')-I* 和 *aac(6')-I*,提示 IRAB 对氨基糖苷类抗生素耐药与菌株携带 16S rRNA 甲基化酶基因 *armA* 和氨基糖苷类修饰酶基因 *ant(3'')-I*

和 $\text{aac}(6')\text{-I}$ 有关。陈秋霞等^[25]报道,在多重耐药鲍曼不动杆菌中 $\text{qacE}\Delta 1\text{-sul1}$ 的携带率为 59.5%; 80 株多重耐药鲍曼不动中 $\text{qacE}\Delta 1\text{-sul1}$ 阳性率为 82.5%^[26]。本组 26 株 IRAB 中,消毒剂耐药基因 $\text{qacE}\Delta 1$ 携带率为 65.38%,提示医院应重视加强对医疗物品及环境的消毒,细菌对消毒剂耐药也可能是该院 IRAB 增多的重要因素之一。

综上所述,通过调查 IRAB 的耐药基因和临床特征,为医院相关部门进行 IRAB 医院感染的防控和治疗提供了实验室依据,同时,调查结果也证实了加强医院感染防控措施的必要性。

[参 考 文 献]

[1] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 321-330.

[2] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 365-374.

[3] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.

[4] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2015 年 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(6): 685-694.

[5] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.

[6] 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): 1211-1214.

[7] 王伟,毛剑锋,徐伟珍. 大肠埃希菌连续分离株耐药性与季胺类化合物耐药基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(3): 247-249.

[8] 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[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1407-1409.

[9] Gong Y, Shen X, Huang G, et al. Epidemiology and resistance features of *Acinetobacter baumannii* isolates from the ward environment and patients in the burn ICU of a Chinese hospital[J]. J Microbiol, 2016, 54(8): 551-558.

[10] 姜梅杰. 重症监护病房常见革兰阴性杆菌的分布及耐药性研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2012, 6(1): 42-45.

[11] Jiang M, Zhang Z, Zhao S. Epidemiological characteristics and drug resistance analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a China hospital at a certain time[J]. Pol J Microbiol, 2014, 63(3): 275-281.

[12] Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, et al. Epidemiology and impact of imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009, 30(12): 1186-1192.

[13] Mosqueda N, Espinal P, Cosgaya C, et al. Globally expanding carbapenemase finally appears in Spain: nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing plasmid-encoded OXA-23 in Barcelona, Spain[J]. Antimicrob Agents Chemother,

2013, 57(10): 5155-5157.

[14] 邹玖明,张爱平,李智山,等. OXA-23 基因阳性耐亚胺培南鲍曼不动杆菌感染暴发调查研究[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(4): 235-237.

[15] Cieslinski JM, Arend L, Tuon FF, et al. Molecular epidemiology characterization of OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolated from 8 Brazilian hospitals using repetitive sequence-based PCR[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 77(4): 337-340.

[16] Liu S, Wang Y, Xu J, et al. Genome sequence of an OXA23-producing, carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strain of sequence type ST75[J]. J Bacteriol, 2012, 194(21): 6000-6001.

[17] Le Hello S, Falcot V, Lacassin F, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in New Caledonia[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(10): 977-981.

[18] Jeannot K, Diancourt L, Vaux S, et al. Molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in France[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e115452.

[19] 周之昊,王鹤. 鲍曼不动杆菌耐药基因分析及抗菌药物耐药性研究[J]. 今日药学, 2016, 26(10): 732-735.

[20] 李光荣,卢灵峰,向成玉,等. 医院分离多重耐药鲍曼不动杆菌耐药基因的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(5): 602-605.

[21] 陈璐,李凌竹,刘宝,等. 耐碳青霉烯鲍氏不动杆菌耐药性与耐药基因检出关系探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(17): 3848-3851.

[22] 周云题,姜飞,陆召军,等. 医院内感染碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌的耐药基因及同源性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(15): 2105-2107.

[23] Turton JF, Woodford N, Glover J, et al. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the *bla*OXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(8): 2974-2976.

[24] Yokoyama K, Doi Y, Yamane K, et al. Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Lancet, 2003, 362(9399): 1888-1893.

[25] 陈秋霞,赵苏瑛. 鲍曼不动杆菌中耐消毒剂基因 $\text{qacE}\Delta 1\text{-sul1}$ 和 I 类整合酶的携带情况调查[J]. 海南医学, 2017, 28(3): 426-428.

[26] 张静,张之烽. 多重耐药鲍曼不动杆菌中耐消毒剂基因 $\text{qacE}\Delta 1$ 的存在现状及其阳性菌株的同源性分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(7): 888-890.

(本文编辑:孟秀娟、左双燕)

本文引用格式:姜梅杰,张志军,赵书平,等. 某院耐亚胺培南鲍曼不动杆菌耐药基因及临床特征[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(11): 996-1000. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20203727.

Cite this article as: JIANG Mei-jie, ZHANG Zhi-jun, ZHAO Shu-ping, et al. Drug resistance genes and clinical characteristics of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a hospital[J]. Chin J Infect Control, 2020, 19(11): 996-1000. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20203727.