

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2016.07.003

· 论 著 ·

耐替加环素鲍曼不动杆菌的同源性及其临床分布

刘延媛¹, 张瑞凌², 刘汉冕¹, 曹海燕¹, 周仕丹², 张扣兴²

(1 中山大学附属惠州中心人民医院, 广东 惠州 516001; 2 中山大学附属第三医院, 广东 广州 510000)

[摘要] **目的** 了解某院耐替加环素鲍曼不动杆菌的同源性及其临床分布。**方法** 选取该院 2013—2014 年各临床科室送检标本分离的多重耐药鲍曼不动杆菌(88 株), 检测其对替加环素的敏感性; 应用脉冲场凝胶电泳(PFGE)分析替加环素耐药菌株的同源性, 以及感染患者的临床特征和科室分布。**结果** 88 例患者在检出多重耐药鲍曼不动杆菌前未曾使用过替加环素。88 株多重耐药鲍曼不动杆菌中 4 株(4.55%)对替加环素耐药, 分别为 10、31、33 和 87 号菌株。PFGE 结果显示, 31、33 和 87 号菌株同一基因型, 同源性高, 分布于医院 3 个不同的独立病区; 31 号菌株在综合重症监护病房(ICU)检出, 33 号菌株在急诊 ICU 检出, 虽在不同科室检出, 但在检出前患者有转科情况, 曾同时期住胃肠外科和急诊 ICU; 87 号菌株在神经外科 ICU 检出, 此患者从未转科, 检出时间距 31、33 号菌株检出晚 7~8 个月。10 号菌株于急诊 ICU 检出, 该患者未曾转科。**结论** 该院多重耐药鲍曼不动杆菌中替加环素耐药菌株检出率低, 检出菌株大部分具有同源性, 不同病区可能存在交叉感染。

[关键词] 鲍曼不动杆菌; 替加环素耐药; 传播; 同源性; 临床分析

[中图分类号] R181.3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2016)07-0452-05

Homology and clinical distribution of tigecycline-resistant *Acinetobacter baumannii*

LIU Yan-yuan¹, ZHANG Rui-ling², LIU Han-mian¹, CAO Hai-yan¹, ZHOU Shi-dan², ZHANG Kou-xing² (1 The Huizhou Municipal Central Hospital Affiliated to Sun Yat-sen University, Huizhou 516001, China; 2 The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510000, China)

[Abstract] **Objective** To study the homology and clinical distribution of tigecycline-resistant *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) in a hospital. **Methods** Multidrug-resistant *A. baumannii* (MDRAB, $n = 88$) from specimens from clinical departments of a hospital in 2013–2014 were collected and detected susceptibility to tigecycline; homology of tigecycline-resistant strains were detected by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), clinical characteristics and distribution of infected patients were analyzed. **Results** 88 patients didn't use tigecycline before MDRAB were isolated. Of 88 MDRAB strains, 4 (4.55%) were resistant to tigecycline, which were No. 10, 31, 33, and 87 strains. PFGE results revealed that No. 31, 33, and 87 strains were of the same genotype, and with high homology, which distributed in three different departments; No. 31 strain was detected from general intensive care unit (ICU), No. 33 strain was detected from emergency ICU, although strains were detected from different departments, patients were transferred before strains were isolated, and were admitted to departments of gastrointestinal surgery and emergency ICU during the same period; No. 87 strain was detected from neurosurgical ICU and patient had never been transferred, the detection time was 7–8 months later than No. 31 and 33 strains. No. 10 strain was isolated from emergency ICU, patient was not transferred. **Conclusion** Of MDRAB isolated in this hospital, tigecycline-resistant strains are low, most strains are homologous, cross infection may be exists in different departments.

[收稿日期] 2015-10-15

[基金项目] 广东省惠州市科技局基金资助项目(20150801)

[作者简介] 刘延媛(1976-), 女(汉族), 广东省惠州市人, 副主任医师, 主要从事脓毒血症相关研究。

[通信作者] 张扣兴 E-mail: kxz6210@126.com

[Key words] *Acinetobacter baumannii*; tigecycline resistance; transmission; homology; clinical analysis

[Chin J Infect Control, 2016, 15(7): 452 - 456]

鲍曼不动杆菌是医院获得性感染的重要病原菌之一。近年来随着抗菌药物的广泛使用,鲍曼不动杆菌耐药率上升,多重耐药鲍曼不动杆菌的产生和医院内传播给患者带来威胁。目前,替加环素耐药鲍曼不动杆菌临床检出并不多。我国 CHINET 监测 14 所教学医院数据显示,2013 年替加环素耐药率为 3.2%^[1],但是多重耐药鲍曼不动杆菌一旦对替加环素耐药,意味着我们将无更好的药物治疗,因此,研究耐替加环素鲍曼不动杆菌的耐药机制及传播途径意义重大。本研究检测 2013—2014 年本院临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对替加环素敏感性,分析替加环素耐药菌株的同源性,及其感染患者临床特征和科室分布情况,了解本院耐替加环素鲍曼不动杆菌菌株感染情况。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 留取 2013—2014 年中山大学附属惠州医院各临床住院科室送检的痰、血、伤口分泌物等各类标本检出的 88 株多重耐药鲍曼不动杆菌,即对 5 类常用抗菌药物,头孢类、碳青霉烯类、氟喹诺酮类、氨基糖苷类、加酶抑制剂均耐药。同一患者菌株选取首次检出的耐药株,菌株标本和对应患者按 1~88 编码。

1.2 患者临床资料来源 患者信息资料来源于本院 WHONET 数据库和医院临床电子病历系统。本研究通过本院医学伦理委员会审批。

1.3 药敏试验 采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统鉴定菌株,使用 AST GN16 药敏板进行药物敏感性试验,结果判读按美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 2013 版标准。

使用法国生物梅里埃公司 E-test 试条对 88 株多重耐药株进行替加环素药敏试验,检测其最低抑菌浓度 (MIC)。鲍曼不动杆菌对替加环素耐药采用美国食品药品监督管理局 (FDA) 判读标准: ≤ 2 mg/L 为敏感, ≥ 8 mg/L 为耐药。质控菌株: 大肠埃希菌 ATCC 25922, 铜绿假单胞菌 ATCC 27893。

1.4 同源性分析 采用脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 方法进行同源性分析,具体步骤参照文献 [2]。用 Gel Doc XR, Gel Doc 2000 或其他设备拍摄图像。将 *.1sc 文件转换成 *.tiff 文件,用 Bionumerics 软件分析。结果判读参照 Tenover 等^[3]推荐的方法: PFGE 图谱一致,为相同菌株; 1~3 条条带不同,菌株间有相近关系,只有单基因的改变; 4~6 条条带不同,菌株间可能有相近关系,有 2 个基因的改变; 6 条及以上条带不同,说明有 3 个或更多基因的变化,视为无相关性。

2 结果

2.1 一般资料及药敏结果 88 例患者在检出多重耐药鲍曼不动杆菌前未曾使用过替加环素。替加环素 E-test 药敏试验结果显示,88 株多重耐药鲍曼不动杆菌中 4 株菌替加环素 MIC ≥ 8 mg/L,按 FDA 判读标准,为耐药。见图 1。4 株替加环素耐药株编号为 10、31、33 和 87 号,分别分离自急诊重症监护病房 (ICU) 75 岁男性慢性阻塞性肺疾病患者的痰,综合 ICU 76 岁女性十二指肠恶性肿瘤患者的血,急诊 ICU 86 岁男性慢性阻塞性肺疾病、糖尿病患者的痰,神经外科 ICU 57 岁男性小脑出血并脑疝患者的痰。4 例感染患者基本情况见表 1。

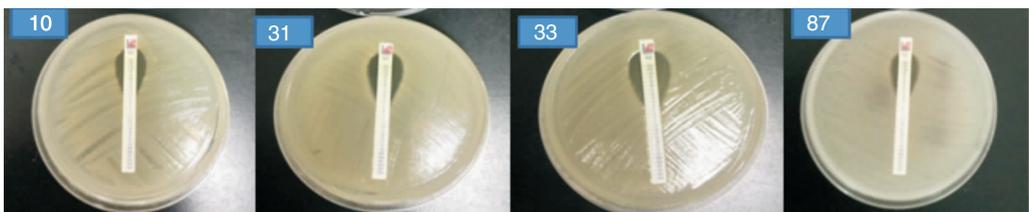


图 1 4 株对替加环素耐药的鲍曼不动杆菌 E-test 药敏试验结果

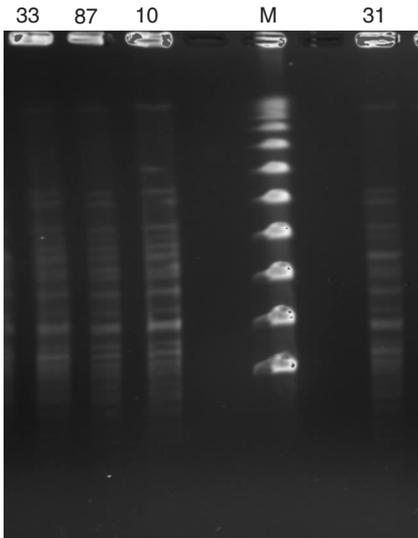
Figure 1 E-test results for antimicrobial susceptibility of 4 isolates of tigecycline-resistant MDRAB

表 1 耐替加环素鲍曼不动杆菌感染患者临床情况

Table 1 Clinical conditions of patients infected with tigecycline-resistant *A. baumannii*

编号	性别	年龄 (岁)	检出科室	全身情况	检出前使用抗菌药物	检出后调整抗菌药物	检出到死亡/出院时间(d)	患者预后	标本来源	基础疾病
10	男	75	急诊 ICU	低热	美罗培南+左氧氟沙星	哌拉西林/舒巴坦	495	死亡	痰	慢性阻塞性肺疾病
31	女	76	综合 ICU	高热伴休克	美罗培南+奥硝唑+万古霉素	复方磺胺甲恶唑+哌拉西林/舒巴坦+万古霉素	5	死亡	血	十二指肠恶性肿瘤
33	男	86	急诊 ICU	高热伴休克	美罗培南+万古霉素	哌拉西林/三唑巴坦	36	死亡	痰	慢性阻塞性肺疾病, 糖尿病, 左腹股沟疝
87	男	57	神经外科 ICU	低热	头孢曲松钠	未调整抗菌药物	74	好转出院	痰	小脑出血并脑疝

2.2 同源性分析 对 4 株替加环素耐药鲍曼不动杆菌进行 PFGE 基因分型, 结果显示 31、33 和 87 号菌株为同一基因型(A 型), 10 号株为不同基因型菌株(B 型)。见图 2。



M: Marker, 参考菌株 H9812 基因组 XbaI 酶切图谱

图 2 4 株耐替加环素鲍曼不动杆菌 PFGE 基因图谱

Figure 2 PFGE patterns of 4 isolates of tigecycline-resistant *A. baumannii*

2.3 流行情况 4 例耐替加环素鲍曼不动杆菌感染患者住院时间、菌株检出时间与住院过程、住院科室见图 3。31、33 和 87 号菌株为同源性菌株。31 号菌株在综合 ICU 检出, 33 号菌株在急诊 ICU 检出, 虽在不同科室检出, 但在检出前患者有转科情况, 曾同时期住胃肠外科和急诊 ICU, 不排除交叉感染情况。87 号菌株在神经外科 ICU 检出, 此患者从未转科, 检出时间距 31、33 号菌株检出晚 7~8 个月。

2.4 患者临床情况 10 号患者收入急诊 ICU 使用呼吸机辅助呼吸治疗, 入院后低热, 痰量增加, 痰中检出耐替加环素鲍曼不动杆菌, 加强痰液引流及调整抗菌药物后, 全身炎症症状缓解。31 号患者十二指肠肿瘤手术后因血压下降、呼吸急促转入急诊 ICU 治疗, 在急诊 ICU 发现肠漏、腹膜炎, 予穿刺引流后, 生命体征平稳转胃肠外科; 胃肠外科住院期间出现高热, 伴休克转入综合 ICU, 血中检出耐替加环素鲍曼不动杆菌, 菌株检出时患者出现高热、感染性休克, 5 日后死于严重脓毒症。33 号患者入院时收入干部病区, 后因呼吸困难转入急诊 ICU 给予呼吸机辅助呼吸, 呼吸情况好转; 后转入胃肠外科行左腹股沟疝手术, 胃肠外科住院期间出现烦躁、气促、血氧饱和度下降, 血压下降, 再转回急诊 ICU 治疗。87 号患者长期在神经外科 ICU 住院, 住院后出现低热、痰量增加、肺部 X 线显示渗出影增加, 痰检出耐替加环素鲍曼不动杆菌, 未调整头孢类抗生素使用, 仅加强痰液引流后, 炎症反应消失。

3 讨论

鲍曼不动杆菌为非发酵革兰阴性杆菌, 广泛存在于自然界中, 容易引起住院患者发生肺炎、切口感染和血流感染等。近年来, 随着鲍曼不动杆菌耐药率的增高, 其耐药和传播机制受到重视。替加环素作为多重耐药鲍曼不动杆菌的治疗用药之一, 鲍曼不动杆菌对其产生耐药并传播, 给患者带来灾难性的后果。鲍曼不动杆菌的耐药和传播机制很多, 目前鲍曼不动杆菌对替加环素的耐药机制及其传播情况尚不明确。

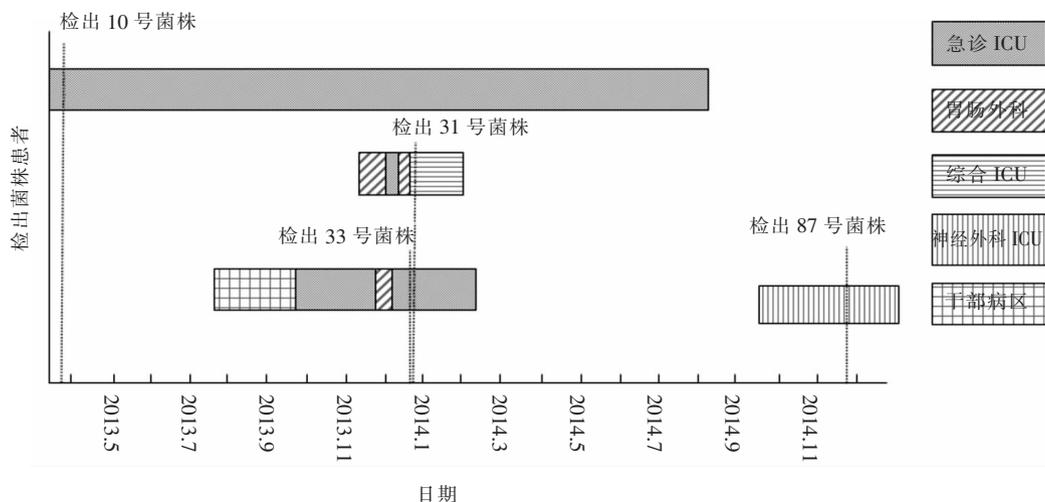


图3 耐替加环素鲍曼不动杆菌感染患者住院时间和临床科室分布

Figure 3 Length of hospital stay and clinical distribution of patients infected with tigecycline-resistant *A. baumannii*

本组 88 株多重耐药鲍曼不动杆菌中 4 株对替加环素耐药, PFGE 方法基因分型结果显示, 3 株菌株属于同一基因型。分析 3 例感染患者科室分布、患者转科及出入院情况, 发现环境污染导致交叉感染和医务人员接触传播为可能因素。研究^[4]发现, 鲍曼不动杆菌感染患者出院 9 d 后, 其床栏上仍可找到保持活性的鲍曼不动杆菌。本研究在前例感染患者出院 7~8 个月后, 在不同病房的患者身上检出具有同源性的耐替加环素鲍曼不动杆菌, 其具体传播途径有待深入研究。数据驱动数学模型研究^[5]证明, 护士和医生的接触传播和环境污染传播在医院获得性多重耐药鲍曼不动杆菌传播中起重要作用。这可能与鲍曼不动杆菌能形成荚膜, 定植在皮肤表面有关^[6]。本研究中, 3 例同一基因型鲍曼不动杆菌感染患者分别住在不同的 ICU 病区, 3 个 ICU 病区分布在医院不同区域和楼层。本院 ICU 病区家属不能进入, 医务人员需更换 ICU 工作服才能进入, 可能的传播途径是患者转科时导致环境污染, 医务人员及受污染的医疗用品在传播中起重要作用。

2013—2014 年 4 株耐替加环素鲍曼不动杆菌在不同病区的不同患者中检出, 其中 3 株具有同源性, 未出现暴发流行。可能与本院 ICU 这两年开展的环境监测和手卫生消毒有关, 同时, 耐替加环素鲍曼不动杆菌的致病力也有待进一步研究。

目前, 替加环素耐药株的产生机制尚并不清楚。研究^[7-8]指出, 鲍曼不动杆菌对替加环素产生耐药与鲍曼不动杆菌外排泵 AdeABC 表达活性过度增加

有关。目前, 体外诱导成功制造替加环素耐药菌株报道并不多, 尚不清楚何种条件下会使外排泵 AdeABC 表达活性过度增加。有报道^[9]指出, 白和蓝光使鲍曼不动杆菌对替加环素敏感性降低。

耐替加环素鲍曼不动杆菌感染患者感染部位不同, 患者病情的严重程度存在差别。患者血流感染后, 易出现严重脓毒症, 并在短期内死亡。鲍曼不动杆菌对患者的致病力仍不明确。研究^[10]表明, 鲍曼不动杆菌的外排泵与致病力有关。由于本组耐替加环素鲍曼不动杆菌感染患者病例数太少, 无法进一步统计分析, 有待增加样本量继续研究。

综上所述, 本组研究虽未有直接证据证明替加环素耐药菌株的确切传播途径, 但是通过分析临床患者住院和菌株检出情况, 间接反映了替加环素耐药多重鲍曼不动杆菌的传播与患者交叉传播、环境污染和医务人员接触传播有重要关系。2013—2014 年 88 株多重耐药鲍曼不动杆菌检出替加环素耐药株 4 株, 检出率较低 (4.55%)。目前, 临床替加环素耐药多重鲍曼不动杆菌感染形势尚不算严峻, 但是如何避免替加环素耐药菌株的产生及切断传播途径, 值得我们深入思考。

[参考文献]

- [1] 赵春江, 陈宏斌, 王辉, 等. 2013 年全国 13 所教学医院院内血流感染及院内获得性肺炎和院内获得性腹腔感染常见病原菌分布和耐药性研究[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(22): 1739-1745.
- [2] Durmaz R, Otlu B, Koksall F, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of

Acinetobacter baumannii, *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.*

[J]. Jpn J Infect Dis, 2009, 62(5):372-377.

- [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):2233-2239.
- [4] Catalano M, Quelle LS, Jeric PE, et al. Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases[J]. J Hosp Infect, 1999,42(1): 27-35.
- [5] Wang X, Chen Y, Zhao W, et al. A data-driven mathematical model of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* transmission in an intensive care unit[J]. Sci Rep, 2015, 5: 9478.
- [6] de Breij A, Haisma EM, Rietveld M, et al. Three-dimensional human skin equivalent as a tool to study *Acinetobacter baumannii* colonization [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(5): 2459-2464.
- [7] Deng M, Zhu MH, Li JJ, et al. Molecular epidemiology and mechanisms of tigecycline resistance in clinical isolates of

Acinetobacter baumannii from a Chinese university hospital

[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(1): 297-303.

- [8] Krishnamoorthy S, Shah BP, Lee HH, et al. Microbicides alter the expression and function of RND-type efflux pump AdeABC in biofilm-associated cells of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 60(1): 57-63.
- [9] Ramirez MS, Traglia GM, Pérez JF, et al. White and blue light induce reduction in susceptibility to minocycline and tigecycline in *Acinetobacter spp.* and other bacteria of clinical importance[J]. J Med Microbiol, 2015,64 (Pt 5):525-537.
- [10] Li ZT, Zhang RL, Bi XG, et al. Outer membrane vesicles isolated from two clinical *Acinetobacter baumannii* strains exhibit different toxicity and proteome characteristics [J]. Microb Pathog, 2015, 81: 46-52.

(本文编辑:孟秀娟)

· 信息 ·

《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》2016 征订征稿启事

《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》是中华人民共和国教育部主管,中南大学、中南大学湘雅医院主办,国内外公开发行的医学学术性期刊,本刊以耳鼻咽喉颅底外科工作者为主要读者对象,重点报道耳鼻咽喉颅底外科领域内领先的科研成果、基础理论研究及先进的临床诊疗经验。本刊设有专家论坛、专家笔谈、述评、论著、短篇论著、临床报道、临床交流、技术与方法、病例报道、教学园地、综述等栏目。本刊为双月刊,定价 12.00 元,全年 72.00 元,全国各地邮局均可订阅,邮发代号:42-171。本刊编辑部可免费为读者代办邮购。

通讯地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号湘雅医院《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》编辑部(湘雅医院内) 邮编:410008

电话:0731-84327210;84327469

E-mail: xyent@126.com.

投稿网址: <http://www.xyosbs.com>

欢迎踊跃投稿、积极订阅