

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20195340

· 论 著 ·

某院 ICU 患者及环境分离鲍曼不动杆菌同源性分析

汪 洋¹, 吴晓松², 陈越英², 王 崑², 徐 燕²

(1. 苏州市疾病预防控制中心, 苏州 江苏 215000; 2. 江苏省疾病预防控制中心, 南京 江苏 210009)

[摘要] **目的** 调查某院 ICU 患者及环境分离鲍曼不动杆菌的同源性。**方法** 对江苏省该院 ICU 采集的 180 份患者和环境标本进行鲍曼不动杆菌分离、药敏分析以及脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型。**结果** 从 180 份样本中分离出 41 株鲍曼不动杆菌, 其中临床菌株 9 株, 环境菌株 32 株。药敏结果显示除对左氧氟沙星耐药率较低外(34.1%), 对其他抗菌药物的耐药率均高于 70%。41 株鲍曼不动杆菌 PFGE 基因分型分成 19 型, 其中 I、M、N、O、P 5 个型别每型包含 2 株及以上, 其余均为 1 株一型别; P 型 16 株, 其中有 5 株来自于医院感染患者, 其余株来自于患者的呼吸机、治疗车以及周围环境, 同时该型 AB 的检出时间跨度长达 141 d。**结论** 该院 ICU 患者及环境分离鲍曼不动杆菌具有同源性, 存在医院内传播及医院感染的流行。应加强消毒措施实施的监管, 尽量避免医院感染的发生及流行。

[关键词] 鲍曼不动杆菌; 医院感染; 脉冲场凝胶电泳; 同源性

[中图分类号] R181.3⁺2 R378.99

Homology analysis on *Acinetobacter baumannii* isolated from patients and environment in intensive care unit of a hospital

WANG Yang¹, WU Xiao-song², CHEN Yue-ying², WANG Wei², XU Yan² (1. Suzhou Center for Disease Control and Prevention, Suzhou 215000, China; 2. Jiangsu Provincial Center for Disease Prevention and Control, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the homology of *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) isolated from patients and environment in intensive care unit(ICU) of a hospital. **Methods** 180 specimens from patients and environment in ICU of a hospital in Jiangsu Province were performed *A. baumannii* isolation, antimicrobial susceptibility analysis and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) typing. **Results** 180 specimens were isolated 41 strains of *A. baumannii*, including 9 clinical strains and 32 environmental strains. Antimicrobial susceptibility testing result showed that resistance rates of *A. baumannii* to other antimicrobial agents were all higher than 70%, except for levofloxacin (34.1%). 41 strains of *A. baumannii* were classified into 19 PFGE genotypes, there were at least 2 strains in each of the five types(type I, M, N, O, and P), the others were all one type; there were 16 strains of type P, 5 of which were from patients with HAI, and the rest were from patients' ventilators, treatment vehicles and the surrounding, the detection time span of this type of *A. baumannii* was 141days. **Conclusion** *A. baumannii* isolated from patients and environment in ICU of this hospital has homology, and there is transmission in hospital and epidemic of HAI. Supervision of disinfection measures should be strengthened in order to avoid the occurrence and epidemic of HAI as far as possible.

[Key words] *Acinetobacter baumannii*; healthcare-associated infection; pulsed-field gel electrophoresis; homology

[收稿日期] 2019-04-03

[基金项目] 江苏省卫生计生委青年医学人才项目(QNRC2016538)

[作者简介] 汪洋(1991-),男(汉族),安徽铜陵人,公共卫生医师,主要从事消毒和医院感染控制管理研究。吴晓松为共同第一作者。

[通信作者] 徐燕 E-mail: cdcxy@vip.sina.com

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)是导致医院感染的几种重要条件致病菌之一,尤其在重症监护病房(intensive care unit, ICU)。AB 积累耐药机制的特性使其能快速对使用的抗菌药物产生耐药,且能在医院环境中存活长达数月,国内外均有 AB 医院感染流行和暴发的报道^[1-2],本研究对江苏省某医院 ICU 患者及环境进行采样,从中分离 AB 并进行药敏试验及同源性分析,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 从 2016 年 6 月 1 日—10 月 20 日江苏省某医院 ICU 采集患者和环境标本 180 份,分离 AB 41 株,其中 9 株分离自患者,32 株分离自医院环境及医务人员手。质控菌株为大肠埃细菌 ATCC 25922,购自中国食品药品检定研究院。参考菌株为沙门菌 H9812,由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所赠送。

1.2 试剂 Seakem Gold Agarose 购自 Lonza 公司,Tris-HCl 购自上海碧云天生物技术有限公司,EDTA 购自北京索莱宝科技有限公司,TBE 缓冲液购自上海生工,Gel Red 购自 Biotium 公司,革兰阴性菌鉴定卡片及药敏卡片购自生物梅里埃公司,蛋白酶 K、Apa I 酶、Xba I 酶购自宝生物工程有

1.3 仪器 CHEF-DR III、成像系统购自 Bio-Rad 公司,Bionumerics 软件(Version No. 4.5)购自 Applied Maths 公司,VITEK 2 全自动微生物鉴定及药敏分析系统购自法国生物梅里埃公司。

1.4 菌株鉴定及药敏试验 采用 VITEK 2 全自动微生物鉴定及药敏分析系统对菌株进行鉴定及药敏试验。药敏结果的判断按美国临床实验室标准化协会(CLSI)2013 年版的标准,以敏感(S)、中介(I)、耐药(R)报告结果。多重耐药、泛耐药 AB 依据文献^[3]进行判断。

1.5 脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)分型 按照 PulseNet International《鲍曼不动杆菌脉冲场凝胶电泳标准操作程序》操作,AB 选用 Apa I 酶,H9812 选用 Xba I 酶。电泳条件为:起始转换时间为 5 s,终止转换时间为 20 s,电场角度为 120°,电泳时间为 18 h 45 min。电泳结束后将凝胶放入 3×Gel Red 染液中染色 30 min,去离子水中洗脱 10 min。Bio-Rad 成像分析系统拍照。用 BioNumerics 软件对电泳图谱进行数据分析。

2 结果

2.1 病床分布 该 ICU 共有病床 27 张,分布在大厅、单人间和双人间,其中 1~12 床分布于双人间,26、27 床为单人间,其余床位均位于外部大厅。见图 1。

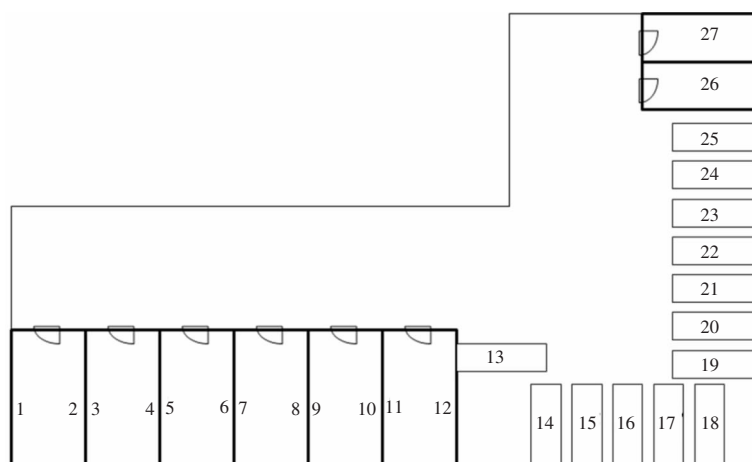


图 1 ICU 病床分布示意图

Figure 1 Distribution of ICU beds

2.2 病原学检测结果 共采集 ICU 物体表面、医护人员手、湿化水及患者标本 180 份,经不动杆菌属筛

选培养基筛选阳性 60 份,其中 41 份经 VITEK 2 全自动微生物鉴定药敏分析系统鉴定为 AB。见表 1。

表 1 ICU 环境、医务人员手及患者标本 AB 病原学检测结果

Table 1 Detection results of *A. baumannii* from environment, hands of health care workers and patient specimens in ICU

标本	标本份数	阳性份数	AB(株)
床栏	13	6	4
床头柜	14	6	4
心电监护按钮	13	3	3
输液泵	12	4	3
治疗车台面	13	5	4
呼吸机管道连接处	11	3	2
写字台	14	8	4
门把手	10	0	0
电脑键盘鼠标	14	5	4
抹布	5	0	0
血压计袖带	10	2	0
拖把	3	0	0
呼吸机操作按钮	10	4	2
呼吸机空气加热器	11	3	2
护士手	4	1	0
护工手	4	0	0
医生手	5	1	0
湿化水	5	0	0
患者	9	9	9
合计	180	60	41

2.3 药敏结果 41 株 AB 除对左氧氟沙星耐药率为 34.1% 外,对其他抗菌药物的耐药率均 >70%。除对左氧氟沙星耐药率分别为 37.5%、22.2% 外,32 株环境株、9 株临床株 AB 对其他抗菌药物的耐药率均分别 >65%、>88%。见表 2。41 株 AB 中,34 株为多重耐药菌,7 株为泛耐药菌。其中环境 AB 菌株中,多重耐药菌 25 株,泛耐药菌 7 株;9 株临床株均为多重耐药株。

表 2 AB 对常用抗菌药物的耐药率(%)

Table 2 Resistance rates of *A. baumannii* to commonly used antimicrobial agents(%)

抗菌药物	环境菌株 (n = 32)	临床菌株 (n = 9)	合计 (n = 41)
氨苄西林/舒巴坦	75.0	100.0	80.5
哌拉西林/他唑巴坦	75.0	100.0	80.5
头孢他啶	81.3	100.0	85.4
头孢吡肟	81.3	100.0	85.4
亚胺培南	65.6	88.9	70.7
庆大霉素	78.1	88.9	80.5
妥布霉素	71.9	88.9	75.6
环丙沙星	84.4	100.0	87.8
左氧氟沙星	37.5	22.2	34.1
复方磺胺甲噁唑	68.8	88.9	73.2

2.4 PFGE 分型结果 PFGE 同源性分析,结果显示,41 株 AB 分成 19 型,其中 I、M、N、O、P 5 个型别每型包含 2 株及以上,其余均为 1 株一型别。I 型 2 株,来自于 2 床患者病房电脑及治疗车。M 型 2 株,来自于 18 床患者写字台、治疗车。N 型 3 株,来自于 18 床患者床栏、床头柜,心电监护仪。O 型 3 株,均来自于患者的临床标本,分别为 14、13、25 床患者。最早入科的是 14 床患者,于 2016 年 5 月 18 日入科,6 月 6 日检出 AB,6 月 9 日出科;13 床患者于 6 月 20 日入科,6 月 21 日痰标本中检出 AB,确诊为 AB 医院感染。P 型 16 株,其中有 5 株分别来自于 25、14、15、24、8 床患者,其余株来自于患者的呼吸机、治疗车以及周围环境。患者菌株中最早检出时间为 2016 年 6 月 6 日,环境中最早检出时间为 2016 年 6 月 1 日,由患者入科时间来判断,P 型中 25、15 和 8 床患者为入科后发生的感染,均为医院感染,同时该型 AB 的检出时间从 6 月初跨至 10 月末(共 141 d)。见表 3。同源性分析结果见图 2。

表 3 2016 年 6 月 1 日—10 月 20 日 ICU 7 例 AB 医院感染患者基本情况

Table 3 Basic conditions of 7 patients with *A. baumannii* infection in ICU from June 1 to October 20, 2016

床号	年龄(岁)	性别	入科日期	标本	AB 检出日期	诊断	出科日期
8	45	男	6 月 21 日	痰	6 月 26 日	肺部感染	7 月 5 日
13	33	男	6 月 20 日	痰	6 月 21 日	肺部感染	7 月 21 日
14	46	女	5 月 18 日	痰、渗出液、腹腔引流液	6 月 6 日	切口感染	6 月 9 日
15	21	男	6 月 23 日	痰	6 月 25 日	肺部感染	7 月 2 日
24	57	男	5 月 5 日	痰	6 月 6 日	肺部感染	6 月 10 日
25-1 [#]	39	男	4 月 16 日	痰	6 月 12 日	肺部感染	6 月 19 日
25-2 [#]	18	男	10 月 14 日	痰	10 月 20 日	肺部感染	11 月 14 日

#:25 床先后收治 2 例患者

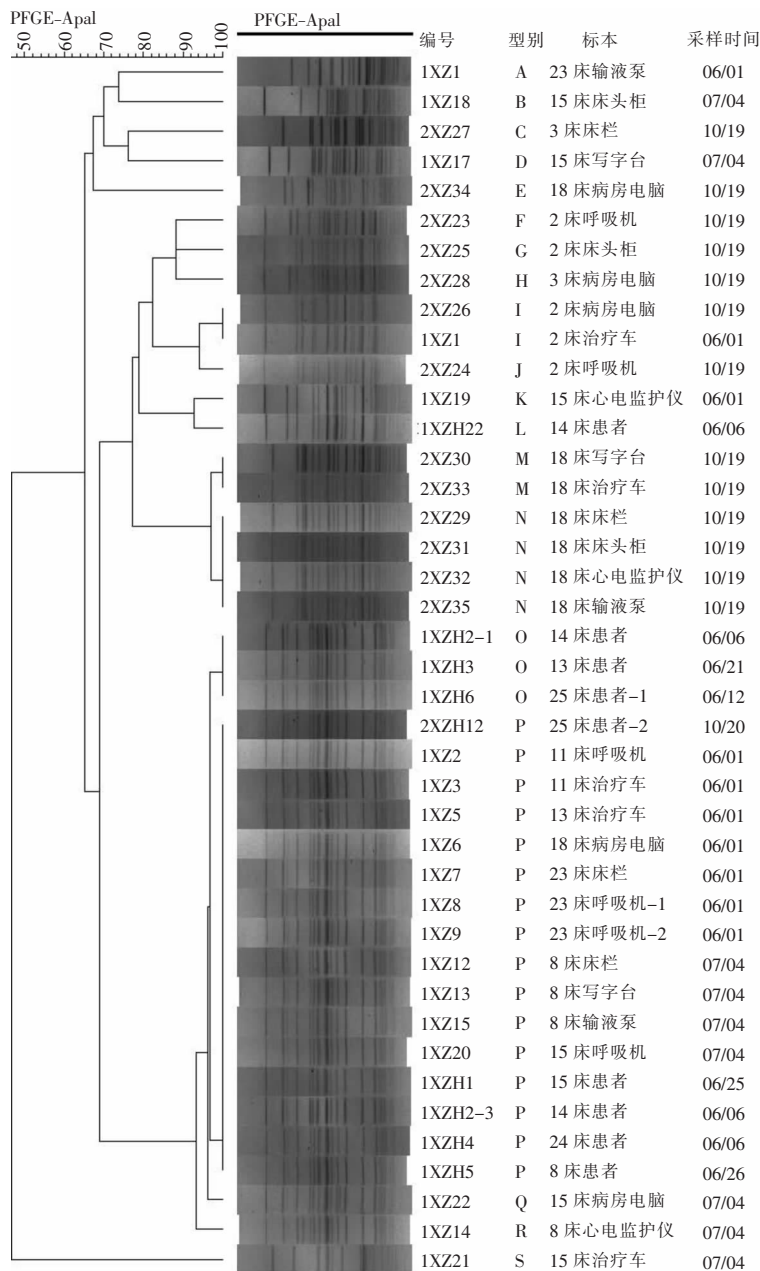


图 2 41 株 AB PFGE 分型结果

Figure 2 PFGE typing result of 41 strains of *A. baumannii*

3 讨论

在不动杆菌属中,AB 是引起医院感染最重要的细菌之一^[4],由于 AB 在医院环境广泛存在,因此,在对医院 ICU 环境进行采样时,尽可能选择存在 AB 定植的物体表面,与研究^[5-6]一致。采样数量较多的位置为床栏、床头柜、写字台、输液泵、心电监护按钮、治疗车台面、电脑键盘鼠标,床栏和床头柜是患者常接触的部位,其余均为医护人员常接触的

部位,AB 检出率较高,均超过 20%。未从护士、医生的手检出 AB。医务人员手的采样时机往往是采样的重点,尤其是处理一例患者到下一例患者之间非常关键,如未进行手卫生很有可能造成医院感染的传播。在实际采样操作过程中往往未能捕捉到这段时间,更有可能是在医护人员洗手后进行采样。

药敏分析结果显示,除对左氧氟沙星的耐药率为 34.1% 以外,AB 对其他抗菌药物的耐药率均 >70%。从多重耐药和泛耐药结果来看,所有泛耐药菌均来自环境,若清洁、消毒、隔离措施执行不到

位则可能导致泛耐药 AB 传播,导致患者发生 AB 医院感染,给临床治疗带来难度。

同源性分析是对患者发生 AB 医院感染溯源调查的金标准,多项研究^[7-11]均在不同的环境物体表面检出与患者同源的 AB,但此类研究均无具体采样位置和采样时间,且未报道患者发生 AB 医院感染的具体时间,不能清晰说明 AB 的传播方向及路径,也不能显示 AB 在同一环境中存在的时间长短,无法有力论证 AB 环境污染的危害。本研究详细记录了 AB 采样的时间、位置以及发生感染的患者的出入科时间,有助于分析 AB 的传播方向、传播范围及存在时间。从结果可以看出,AB 在 ICU 分布广泛,病房家具、医疗器械均有定植,结合病房的床单元分布和本次的同源性分析结果发现,同源 AB 集中分布于大厅中的病床周围,且部分同源菌株检出时间跨度长达 141 d,在此时间内,该基因型菌株一直存在于 ICU 环境中,对患者造成威胁。结合患者的入院时间、AB 检出时间和 PFGE 图谱,可以确定有 5 例患者(14、24、15、25 和 8)发生 P 型 AB 医院感染。

揭示 AB 医院传播的目的是为了更好地控制医院感染。AB 在该院传播范围广,相同 PFGE 型的 AB 在该院 ICU 存在时间跨度长。物体表面采样中无论是患者经常接触的床栏、床头柜,还是医护人员经常接触的医疗器械设施都有不同程度的污染,因此,物体表面的清洁消毒和医护人员、患者、清洁人员的手消毒应并重。本研究描述了江苏省某医院医院感染的部分情况,对医院 ICU 大多数环境物体表面进行采样,覆盖全面,但研究中的患者标本数目不多,由于条件限制未在患者发生感染后持续采样,无法追踪后续的病原体传播。且未对医护人员手进行医疗操作后及时采样,而医护人员手是病原体传播的重要媒介。本研究未提出具体的控制措施和评价方案,因此后续的工作应该着力于如何对环境及手进行有效、可行的消毒,优化清洁消毒程序,寻找合适的评价措施评估清洁消毒效果。

[参 考 文 献]

- [1] Guo-Xin M, Dan-Yang S, Xi-Zhou G, et al. Laboratory to clinical investigation of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in a general hospital[J]. Jundishapur J Microbiol, 2014, 7(1): e13120.
- [2] Chang HL, Tang CH, Hsu YH, et al. Nosocomial outbreak

of infection with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical center in Taiwan[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009, 30(1): 34-38.

- [3] 李春辉,吴安华. MDR、XDR、PDR 多重耐药菌暂行标准定义——国际专家建议[J]. 中国感染控制杂志,2014,13(1):62-64.
- [4] Lin MF, Lan CY. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside[J]. World J Clin Cases, 2014, 16, 2(12): 787-814.
- [5] Chuang YY, Huang YC, Lin CH, et al. Epidemiological investigation after hospitalising a case with pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection[J]. J Hosp Infect, 2009, 72(1): 30-35.
- [6] 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.
- [7] Xia Y, Lu C, Zhao J, et al. A bronchofiberoscopy-associated outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit in Beijing, China[J]. BMC Infect Dis, 2012, 12: 335.
- [8] Tjoa E, Moehario LH, Rukmana A, et al. *Acinetobacter baumannii*: Role in blood stream infection in Neonatal Unit, Dr. Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta, Indonesia[J]. Int J Microbiol, 2013, 2013: 180763.
- [9] Ye D, Shan J, Huang Y, et al. A gloves-associated outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit in Guangdong, China[J]. BMC Infect Dis, 2015, 15: 179.
- [10] Scott P, Deye G, Srinivasan A, et al. An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex infection in the US military health care system associated with military operations in Iraq[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(12): 1577-1584.
- [11] Turton JF, Kaufmann ME, Warner M, et al. A prevalent, multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii* in Southeast England[J]. J Hosp Infect, 2004, 58(3): 170-179.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式:汪洋,吴晓松,陈越英,等.某院 ICU 患者及环境分离鲍曼不动杆菌同源性分析[J].中国感染控制杂志,2019,18(6):556-560. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20195340.

Cite this article as: WANG Yang, WU Xiao-song, CHEN Yueying, et al. Homology analysis on *Acinetobacter baumannii* isolated from patients and environment in intensive care unit of a hospital[J]. Chin J Infect Control, 2019, 18(6): 556-560. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20195340.