

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2015.09.001

· 论 著 ·

ICU 患者血流感染耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌同源性分析

毛 璞¹, 李建春², 叶 丹¹, 刘晓青^{1,2}, 何为群^{1,2}, 黎毅敏^{1,2}

(1 广州医科大学附属第一医院, 广东 广州 510120; 2 呼吸疾病国家重点实验室 广州呼吸疾病研究所, 广东 广州 510120)

[摘要] 目的 了解某院重症监护病房(ICU)血流感染患者分离的耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌(CRAB)同源性。方法 收集该院 ICU 2012 年 1—12 月血流感染患者血液、下呼吸道和静脉导管尖端分离的 CRAB, 进行药物敏感试验, 以及运用脉冲场凝胶电泳(PFGE)分析菌株同源性。结果 50 株 CRAB 分离自患者血液 26 株、下呼吸道 20 株、静脉导管 4 株; 对哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦、头孢曲松、头孢噻肟、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、环丙沙星的耐药率均为 100%。对分离自患者血液(26 株)、呼吸道(6 株)和静脉导管尖端(4 株)的 36 株 CRAB 进行 PFGE, 结果表明主要为 7 个 PFGE 型(A~G), 其中 A 克隆 5 株, B 克隆 2 株, C 克隆 3 株, D 克隆 4 株, E 克隆 3 株, F 克隆 8 株, G 克隆 3 株; 其余 8 株菌为散发。该 ICU 分为 I、II 区, 其中 A、B、F 克隆在两个病区均存在。3 例患者不同部位分离的 CRAB 为同一克隆, 其中 2 例血液、下呼吸道、静脉导管尖端为同一克隆, 另 1 例血液和下呼吸道为同一克隆。对其中 6 例患者下呼吸道分离的 CRAB 进行 PFGE 分型, 3 例同属 D 克隆。对 12 例血流感染患者静脉导管尖端进行培养, 4 例患者培养阳性, 且为 CRAB, 分别与各自血液分离株为同一克隆。结论 ICU 存在 CRAB 血流感染流行, 患者间交叉传播是医院流行的主要方式。

[关键词] 鲍曼不动杆菌; 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌; 血流感染; 静脉导管; 脉冲场凝胶电泳; 流行; 医院感染

[中图分类号] R378 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)09-0577-05

Homology analysis on carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from patients with bloodstream infection in intensive care unit

MAO Pu¹, LI Jian-chun², YE Dan¹, LIU Xiao-qing^{1,2}, HE Wei-qun^{1,2}, LI Yi-ming^{1,2} (1 The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China; 2 State Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou Institute of Respiratory Disease, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] **Objective** To study the homology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) isolated from patients with bloodstream infection in an intensive care unit (ICU). **Methods** CRAB isolated from bloodstream, lower respiratory tract, and venous catheter tips of patients with bloodstream infection in January-December 2012 were collected and performed antimicrobial susceptibility testing, homology of isolates were identified by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). **Results** 50 CRAB strains were isolated from patients' bloodstream ($n = 26$), lower respiratory tract ($n = 20$), and venous catheters ($n = 4$); the resistant rates of CRAB to piperacillin, piperacillin / tazobactam, ampicillin / sulbactam, ceftriaxone, cefotaxime, cefepime, imipenem, meropenem, and ciprofloxacin were all 100%. 36 CRAB isolates from patients' bloodstream ($n = 26$), respiratory tract ($n = 6$), and venous catheter tips ($n = 4$) were performed PFGE, 7 major PFGE genotypes (A-G) were identified, including clone A ($n = 5$), B ($n = 2$), C ($n = 3$), D ($n = 4$), E ($n = 3$), F ($n = 8$), and G ($n = 3$); the other 8 isolates were sporadic strains. This ICU was divided into section I and II, clone A, B, and F all existed in both sections. CRAB isolated

[收稿日期] 2015-01-08

[基金项目] 广州市教育局创新团队科研基金(B94117); 广州市科技计划项目(2010J-E171)

[作者简介] 毛璞(1981-), 女(汉族), 湖北省宜昌市人, 副研究员, 主要从事医院感染管理研究。

[通信作者] 黎毅敏 E-mail: dryiminli@vip.163.com

from different sites of 3 patients were of the same clone, 2 of these patients isolated the same clone of CRAB from bloodstream, lower respiratory tract, and venous catheter tips, 1 isolated the same clone of CRAB from bloodstream and lower respiratory tract. PFGE genotyping of CRAB from 6 patients' lower respiratory tract revealed that 3 strains were clone D. Venous catheter tips of 12 patients were performed culture, 4 were positive for CRAB, and CRAB was of the same clone as that from patient's respective bloodstream. **Conclusion** CRAB bloodstream infection prevail in ICU, cross transmission among patients is the main mode of hospital epidemic.

[Key words] *Acinetobacter baumannii*; carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*; bloodstream infection; venous catheter; pulsed-field gel electrophoresis; epidemic; healthcare-associated infection

[Chin Infect Control, 2015, 14(9): 577 - 581]

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)是革兰阴性非发酵菌,广泛分布于自然环境,为条件致病菌。近年来,AB已成为引起重症监护病房(ICU)医院感染的主要病原菌,并伴有碳青霉烯类耐药率逐年升高^[1-3]。AB可以引起多种感染,包括肺炎、脑膜炎、心内膜炎、腹膜炎、皮肤软组织感染、血流感染及导管相关尿路感染等。据卫生部全国细菌耐药监测网调查显示,2011年AB位于引起血流感染最常见病原菌的第6位^[4],其中ICU耐药AB血流感染患者病死率已超过50%^[5]。本研究对我院ICU血流感染患者分离的耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌(carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, CRAB)进行同源性分析,探讨血流感染的途径。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2012年1—12月ICU血流感染患者分离的50株CRAB。按照卫生部颁发的《医院感染诊断标准(试行)》^[6]进行诊断。入院时不存在血流感染且不处于潜伏期,入院48h后血培养分离出病原微生物,并伴有以下症状或体征中的一项:(1)体温 $>38^{\circ}\text{C}$ 或 $<36^{\circ}\text{C}$,可伴有寒战;(2)有入侵门户或迁徙病灶;(3)有全身中毒症状而无明显感染灶;(4)有皮疹或出血点、肝脾大、血液中中性粒细胞增多伴核左移,且无其他原因可以解释;(5)收缩压 $<12\text{ kPa}$ (90 mmHg),或较原收缩压下降 $>5.3\text{ kPa}$ (40 mmHg)。血培养污染定义:同时双侧送检的两瓶血培养中仅1瓶阳性,细菌为凝固酶阴性葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、微球菌、丙酸杆菌、芽孢杆菌,阳性报告时间 $>24\text{ h}$ 。

1.2 试剂与仪器 New England Biolabs限制性内切酶 *Apa* I, cleancut agarose 购自美国 Bio-rad 公司。Pulsed Field Certified Agarose、凝胶成像系

统、CHEF-DR III 脉冲场电泳仪均为美国 Bio-rad 公司产品。

1.3 菌株鉴定及药敏试验 使用 VITEK-2 Compact 微生物自动检测仪鉴定菌种,以及检测如下 13 种抗菌药物敏感性:哌拉西林(PIP)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、头孢曲松(CRO)、头孢噻肟(CTX)、头孢吡肟(FEP)、亚胺培南(IPM)、美罗培南(MEM)、环丙沙星(CIP)、庆大霉素(GEM)、左氧氟沙星(LVX)、复方磺胺甲噁唑(SXT)、妥布霉素(TOB)。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922,铜绿假单胞菌 ATCC 27853,金黄色葡萄球菌 ATCC 25923。结果判定参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)2011年标准。

1.4 脉冲场凝胶电泳(PFGE) 具体方法参考文献[7]。应用 BioNumerics 软件对图像进行分析,选择 UPGMA(unweighted pair group method with arithmetic mean)方法,条带位置差异容许度 2%,优化值 0.8%,相似度 $\geq 85\%$ 为同一亚型,代表同一克隆株; $<85\%$ 者为不同的基因型,代表散发株。

2 结果

2.1 一般资料 50 株 CRAB 分离自 26 例患者,男性 25 例,女性 1 例;平均年龄(69.00 ± 14.15)岁。25 例患者入院诊断为重症肺炎,1 例患者为蛇咬伤。其中分离自患者血液 26 株、下呼吸道 20 株、静脉导管尖端 4 株。

2.2 CRAB 药敏试验 26 例患者血液、静脉导管尖端及下呼吸道分离的 CRAB 对 PIP、TZP、SAM、CRO、CTX、FEP、IPM、MEM、CIP 的耐药率均达 100%。除 10、13—15、23 号患者,同一患者不同部位培养的 CRAB 对 GEM、LVX、SXT、TOB 的耐药情况一致。见表 1。

表 1 CRAB 对 4 种抗菌药物的药敏结果

Table 1 Antimicrobial susceptibility results of CRAB to 4 kinds of antimicrobial agents

患者编号	分离部位	抗菌药物				患者编号	分离部位	抗菌药物			
		GEN	LVX	SXT	TOB			GEN	LVX	SXT	TOB
1	血液	R	R	R	R	15	血液	I	I	R	S
	呼吸道	R	R	R	R		呼吸道	R	I	R	R
2	血液	R	R	R	R	16	静脉导管尖端	I	I	R	S
	血液	R	R	R	R		血液	R	I	S	S
3	血液	R	R	R	R	17	呼吸道	R	I	S	S
	呼吸道*	R	R	R	R		血液	I	R	R	S
4	血液	R	R	R	R	18	血液	R	I	R	R
	血液	R	R	R	R		19	血液	R	S	S
5	血液	R	R	R	R	20	呼吸道*	R	S	S	R
	血液	R	R	R	R		血液	R	R	R	R
6	血液	R	R	R	R	21	呼吸道	R	R	R	R
	呼吸道*	R	R	R	R		静脉导管尖端	R	R	R	R
7	血液	R	R	R	R	22	血液	R	R	R	R
	呼吸道*	R	R	R	R		呼吸道	R	R	R	R
8	血液	R	I	R	R	23	静脉导管尖端	R	R	R	R
	呼吸道	R	I	R	R		血液	R	R	R	R
9	血液	R	R	R	R	24	呼吸道	R	R	R	R
	呼吸道*	R	R	R	R		血液	R	R	R	R
10	血液	R	I	R	R	25	呼吸道	R	R	R	R
	呼吸道	R	R	R	R		血液	R	R	R	S
11	血液	R	R	R	S	26	呼吸道	R	R	R	R
	血液	R	I	R	R		呼吸道*	R	R	R	R
12	血液	R	I	R	R	26	静脉导管尖端	R	R	R	R
	呼吸道	R	I	R	R		血液	R	R	R	R
13	血液	R	I	R	R	26	呼吸道	R	R	R	S
	呼吸道	R	R	R	R		血液	R	R	R	R
14	血液	S	R	R	S	26	呼吸道*	R	R	R	R
	呼吸道	R	I	R	R		静脉导管尖端	R	R	R	R

* :呼吸道标本中进行 PFGE 分析的菌株

2.3 PFGE 同源性分析 对分离自患者血液 (26 株)、呼吸道 (6 株, 分离自 3、6、7、9、19、26 号患者) 和静脉导管尖端 (4 株) 的 36 株 CRAB 进行同源性分析, 结果显示主要为 7 个 PFGE 型, 分别命名为 A~G, 克隆 A 包括 5 株 CRAB (122534、124286、122560、122297、121724), 克隆 B 包括 2 株菌 (121083、121561), 克隆 C 包括 3 株 (121103、120654、121594), 克隆 D 包括 4 株 (120606、121767、B23684、122127), 克隆 E 包括 3 株 (121028、121229、121112), 克隆 F 包括 8 株 (120740、120818、121232、B20370、120180、121099、122856、121736), 克隆 G 包括 3 株 (120712、120907、B23661); 其余菌株均为散发。见图 1。

2.4 流行情况 ICU 分为 I 区和 II 区, 其中克隆 A、B 和 F 在两个病区间均存在。3 例患者 (编号: 3、7、26) 不同部位 (血液、下呼吸道、静脉导管尖端) 分离的 CRAB 为同一克隆, 其中 3 号患者同属 D 型, 7、26 号患者分别同属 E、C 克隆。对其中 6 例患者 (编号: 3、6、7、9、19、26) 下呼吸道分离的 CRAB 进行 PFGE 分型, 3 例 (编号: 3、6、9) 同属 D 克隆。对 12 例

血流感染患者静脉导管尖端进行培养, 其中 4 例患者 (编号: 7、15、20、26) 培养阳性, 且为 CRAB, 分别与各自血液分离株为同一克隆。见表 2。

3 讨论

血流感染是一种严重感染性疾病。尽管新的广谱抗菌药物投入临床使用, 但并未控制其发病率和病死率。ICU 患者由于原发病, 住院时间长, 长期使用抗菌药物, 接受各种侵入性操作等原因, 是血流感染发病率最高的科室。血流感染可延长患者住院时间, 通气时间, 增加病死率及医疗成本。

本研究发现血流感染 CRAB 存在相同克隆株, 表明 ICU 存在 CRAB 医院血流感染流行。具有以下特点: (1) CRAB 克隆扩散的时间跨度长, 其中克隆 F 扩散时间达 8 个月之久, 克隆 A 达 6 个月。(2) 克隆株在病区间传播。本院 ICU 分为两个独立的区域 (I 区和 II 区), 其中克隆 A、B 和 F 在两个病区间传播。CRAB 克隆株长时间存在, 提示 ICU 环境已经被其污染。ICU 医护人员不轮岗, 但部分仪器

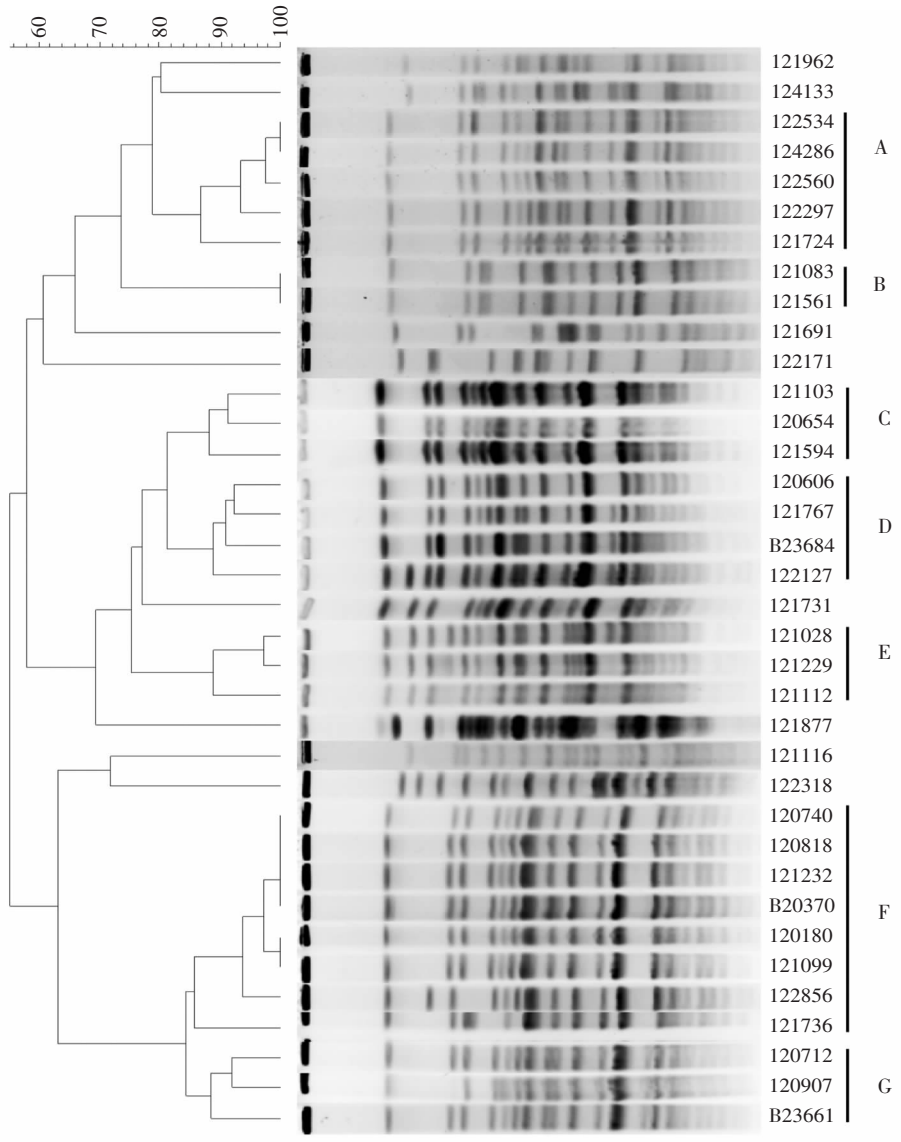


图 1 36 株 CRAB PFGE 电泳图谱及系统树状图

Figure 1 PFGE electrophoresis map and dendrogram of 36 CRAB strains

表 2 26 例患者分离的 CRAB 基本信息

Table 2 Characteristics of CRAB isolated from 26 patients

患者编号	病区	血液			下呼吸道			静脉导管尖端		
		送检日期 (月/日)	CRAB 编号	PFGE 分型	送检日期 (月/日)	细菌培养结果 /CRAB 编号	PFGE 分型	送检日期 (月/日)	细菌培养结果 /CRAB 编号	PFGE 分型
1	II	01/30	120180	F	01/21	CRAB	未分型	未送检	-	-
2	II	02/01	B20370	F	01/21	培养阴性	-	未送检	-	-
3	II	03/09	120606	D	03/06	121767	D	03/09	培养阴性	-
4	II	03/19	120740	F	03/11	培养阴性	-	未送检	-	-
5	II	03/27	120818	F	03/20	培养阴性	-	未送检	-	-
6	II	04/04	121877	sporadic	01/27	B23684	D	未送检	-	-
7	II	04/15	121229	E	04/03	121112	E	04/15	121028	E
8	II	04/19	121083	B	04/10	CRAB	未分型	未送检	-	-
9	II	04/20	121099	F	04/05	122127	D	未送检	-	-
10	I	04/23	121116	sporadic	04/16	CRAB	未分型	04/23	培养阴性	-
11	II	05/01	121232	F	04/21	培养阴性	-	未送检	-	-
12	I	05/22	121561	B	05/19	CRAB	未分型	未送检	-	-
13	II	06/01	120712	G	05/25	CRAB	未分型	06/01	培养阴性	-

续表 2 (Table 2, continued)

患者编号	病区	血液			下呼吸道			静脉导管尖端		
		送检日期 (月/日)	CRAB 编号	PFGE 分型	送检日期 (月/日)	细菌培养结果 /CRAB 编号	PFGE 分型	送检日期 (月/日)	细菌培养结果 /CRAB 编号	PFGE 分型
14	I	06/10	121736	F	06/01	CRAB	未分型	未送检	-	-
15	II	06/12	122297	A	06/02	CRAB	未分型	06/12	121724	A
16	II	06/28	121962	sporadic	06/17	CRAB	未分型	未送检	-	-
17	I	07/07	121691	sporadic	07/01	产气肠杆菌	-	未送检	-	-
18	I	07/12	124133	sporadic	07/01	奇异变形杆菌	-	07/12	培养阴性	-
19	II	07/24	122318	sporadic	07/18	121731	sporadic	07/24	培养阴性	-
20	II	07/30	120907	G	07/30	CRAB	未分型	07/30	B23661	G
21	I	08/09	122534	A	08/09	CRAB	未分型	08/09	培养阴性	-
22	II	08/14	122560	A	08/14	CRAB	未分型	08/14	培养阴性	-
23	I	09/05	122856	F	09/05	CRAB	未分型	09/05	培养阴性	-
24	II	09/27	122171	sporadic	09/27	CRAB	未分型	未送检	-	-
25	I	12/20	124286	A	12/20	CRAB	未分型	未送检	-	-
26	II	12/20	120654	C	12/04	121594	C	12/20	121103	C

sporadic: 指散发株

共用,如床旁血气分析仪。因此我们推测可能是共用仪器后清理消毒不彻底,导致病区间传播。本研究是回顾性分析,无法对 CRAB 流行时环境和所怀疑污染仪器进行采样分析,是本研究的缺陷。

本研究涉及的 26 例患者,其中 20 例(76.92%)存在下呼吸道感染且分离菌株为 CRAB。与报道^[8-9]一致,下呼吸道感染是血流感染最主要感染源。对 6 例患者下呼吸道分离的 CRAB 进行 PFGE 分型,3 例同属 D 克隆,表明存在下呼吸道交叉感染;3 例患者血液与下呼吸道分离的 CRAB 为同一克隆,其中 2 例患者静脉导管尖端也分离出 CRAB,同一患者不同部位的分离株为同一克隆。医护人员的手卫生和诊疗设备的清洁消毒不当是导致耐药鲍曼不动杆菌感染暴发的重要因素^[10]。结合分离时间,我们推测此 2 例患者治疗过程中肺部病原菌通过医护人员的手或其他途经污染了血管内导管,最终导致血流感染。患者 3 可能由肺部病原菌突破血管上皮屏障进入血液,但也无法排除其他途径引起的感染。

本研究对 12 例血流感染患者静脉导管尖端物进行培养,其中 4 例患者培养阳性且为 CRAB。该 4 例患者静脉导管尖端分离 CRAB 分别与各自血液分离株为同一克隆,推测 4 例血流感染患者可能由导管引起。

针对上述可能存在的问题,制定了以下改进方案:增加血管导管尖端的送检率。当怀疑血流感染且进行导管移除时,要求将血管导管尖端进行培养;小型仪器避免病区间共用,若无法避免,则要求在使

用前进行清洁消毒;同时,加强手卫生与标准预防隔离。

[参 考 文 献]

- [1] 肖永红,王进. 2006-2007 年 Mohnarin ICU 病原菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(9): 1223-1227.
- [2] 陈宏斌,张小江,赵颖,等. 卫生部全国细菌耐药监测网(Mohnarin)2009 年度报告: ICU 来源细菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(7): 483-489.
- [3] 张丽,杨文航,肖盟,等. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测网报告: ICU 来源细菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(1): 34-38.
- [4] 吕媛,李耘,薛峰,等. 卫生部全国细菌耐药监测网(Mohnarin) 2011-2012 年度血流感染细菌耐药监测报告[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(3): 278-288.
- [5] Abbo A, Navon-Venezia S, Hammer-Muntz O, et al. Multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Emerg Infect Dis, 2005, 11(1): 22-29.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2011, 81(5): 314-320.
- [7] 毛璞,傅威,杨淳,等. ICU 分离的多重耐药鲍曼不动杆菌 PFGE 分型及 I 型整合子介导的耐药研究[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(6): 417-421.
- [8] 沈宁,姚婉贞,刘振英. 鲍曼不动杆菌血流感染临床分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(2): 126-129.
- [9] 乔莉,张劲松,梅亚宁,等. 鲍曼不动杆菌血流感染预后的危险因素分析[J]. 中华危重症急救医学, 2013, 25(8): 471-474.
- [10] 刘艳. 一起泛耐药鲍曼不动杆菌感染暴发调查[J]. 中国感染控制杂志, 2014, 13(11): 688-689, 695.

(本文编辑:左双燕)