

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2015.09.002

· 论 著 ·

## RICU 患者鲍曼不动杆菌感染临床特点及同源性

宋争昌<sup>1,2</sup>, 张萍<sup>1</sup>, 陈愉<sup>1</sup>, 孟玲<sup>2</sup>, 赵立<sup>1</sup>

(1 中国医科大学附属盛京医院, 辽宁 沈阳 110000; 2 泰山医学院附属医院, 山东 泰安 271000)

**[摘要]** **目的** 研究某院呼吸科重症监护室(RICU)鲍曼不动杆菌克隆传播特点及感染患者的临床特点,以指导临床有效防控鲍曼不动杆菌的传播。**方法** 对 40 株分离自 RICU 住院患者的鲍曼不动杆菌进行脉冲场凝胶电泳(PFGE)同源性及聚类分析,比较并确定菌株间的亲缘关系,同时对其耐药性及临床资料进行分析。**结果** 40 株鲍曼不动杆菌分为 A~K 11 种基因型,主要流行株为 A、B、E 型。耐药率最低的抗菌药物是亚胺培南(70.00%),其次是左氧氟沙星(77.50%)。40 例感染者的平均年龄为 67 岁,平均住院时间 41 d,12 例感染者经治疗无效死亡。感染 A 型及 E 型菌株患者在各自住院时间上均存在交叉;而感染 B 型菌株的患者,后 6 例与前 6 例并无住院时间上的交叉。**结论** 该组 RICU 鲍曼不动杆菌感染流行株为 A、B、E 基因型,耐药率高;感染者平均年龄较高,住院时间长。合理应用抗菌药物,严格执行无菌操作,加强对医疗环境和医疗器械的消毒灭菌,对减少鲍曼不动杆菌的传播至关重要。

**[关键词]** 鲍曼不动杆菌;同源性;医院感染;多重耐药;脉冲场凝胶电泳;流行病学;基因型

**[中图分类号]** R181.3<sup>+</sup>2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)09-0582-05

## Clinical characteristics and homology of *Acinetobacter baumannii* infection in patients in a respiratory intensive care unit

SONG Zheng-chang<sup>1,2</sup>, ZHANG Ping<sup>1</sup>, CHEN Yu<sup>1</sup>, MENG Ling<sup>2</sup>, ZHAO Li<sup>1</sup> (1 Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110000, China; 2 Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Taian 271000, China)

**[Abstract]** **Objective** To study transmission characteristics of *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) clone and clinical features of infected patients in a respiratory intensive care unit (RICU), so as to guide the effective prevention and control of *A. baumannii* transmission. **Methods** 40 *A. baumannii* strains isolated from RICU patients were performed homology analysis by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and cluster analysis, relationship of strains was determined, antimicrobial resistance and clinical data were analyzed. **Results** 40 *A. baumannii* strains were divided into 11 genotypes (A-K), the main epidemic strains were type A, B and E. The resistant rate to imipenem was the lowest (70.00%), the next was levofloxacin (77.50%). The average age of 40 infected patients was 67 years old, the average length of hospital stay was 41 days, 12 patients died because of invalid treatment. There was overlapping hospitalization among patients infected with type A and E strains; among patients infected with type B strain, there was no overlapping hospitalization among the last 6 and first 6 infected patients. **Conclusion** The main epidemic strains of *A. baumannii* were type A, B and E, antimicrobial resistant rate is high; the infected patients are with high average age and long length of hospital stay. It is important to reduce the transmission of *A. baumannii* through rational use of antimicrobial agents, strict aseptic operation, and intensified disinfection and sterilization of hospital environment and medical devices.

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

[Chin Infect Control, 2015, 14(9): 582-586]

[收稿日期] 2014-10-12

[作者简介] 宋争昌(1988-),男(汉族),山东省泰安市人,医师,主要从事肺部感染及细菌耐药机制研究。

[通信作者] 陈愉 E-mail: chenylusy@hotmail.com

鲍曼不动杆菌广泛存在于自然界、医院环境、人体皮肤表面,属于条件致病菌。其具有强大的获得耐药性和克隆传播的能力,多重耐药、广泛耐药、全耐药鲍曼不动杆菌呈世界性流行<sup>[1]</sup>,是医院内流行的主要致病菌之一。近年来,在重症监护病房(intensive care unit, ICU)中,鲍曼不动杆菌感染发病率不断上升,也迅速出现了多重耐药菌株,这对临床诊疗造成一定困难。本研究组对某院呼吸科 ICU(respiratory intensive care unit, RICU) 2011 年 11 月—2012 年 10 月住院患者标本分离的 40 株鲍曼不动杆菌进行了脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)同源性分析及聚类分析,并总结其临床特点、耐药性及传播特点,以指导临床加强防控,提高治疗有效率。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌株来源 40 株鲍曼不动杆菌分离自某院 RICU 2011 年 11 月—2012 年 10 月住院且符合医院感染诊断标准<sup>[2]</sup>的患者,其中 34 株分离自痰标本,肺灌洗液和导管引流液标本各分离 3 株。

1.1.2 主要试剂与仪器 蛋白酶 K、Xba I 限制性内切酶、 $\lambda$ Ladder(日本 TaKaRa 公司);低温高速台式离心机(美国科峻公司);CHEF-Mapper XA 型脉冲电泳仪、低熔点琼脂糖、GIS-700D 数码图像扫描分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 资料收集 收集 RICU 40 例鲍曼不动杆菌感染患者的临床资料。

### 1.3 PFGE 检测

1.3.1 增菌 细菌接种于 LB 肉汤振荡培养过夜,12 000 r/min 离心 1 min;CSB 缓冲液 1 mL 冲洗后,8 000 r/min 离心 5 min,弃上清。

1.3.2 DNA 原位纯化 应用 EC 缓冲液调整菌液浊度为 4 麦氏单位后,用 2%低熔点琼脂糖 200  $\mu$ L 迅速混匀,加入模具,4℃冰箱放置 20 min;用蛋白酶 K 1.5 mL 进行裂解。

1.3.3 酶切 在 PF 管中加入限制性内切酶 Xba I 50 U,37℃、24 h 酶切。

1.3.4 电泳 酶切后小胶块包埋于 1%琼脂糖凝胶中,使用 CHEF Mapper XA 系统进行电泳。

1.3.5 染色、拍照 将凝胶置于 EB 溶液中染色,

应用紫外透射仪进行拍照。

1.3.6 结果判定 参照文献<sup>[3]</sup>中方法判定 PFGE 结果:PFGE 图谱一致,为相同菌株;1~3 条带不同,菌株间有相近关系,只有单基因的改变;4~6 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。

1.4 聚类分析 根据 PFGE 电泳的基因图谱,将条带转换为二进制数据,其中“1”代表有,“0”代表无。将数据导入 SPSS 13.0 统计软件中,应用谱系聚类分析绘制树状图。

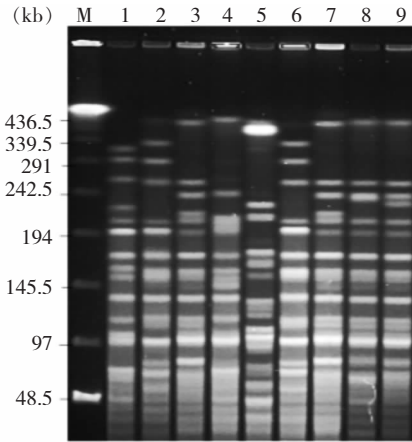
1.5 药敏试验 采用美国临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的纸片扩散(K-B)法进行药敏试验,敏感性判定根据 CLSI 标准进行。

## 2 结果

2.1 一般情况 40 例鲍曼不动杆菌感染患者中,男性 19 例,女性 21 例;年龄 16~84 岁,平均 67 岁,其中 25 例年龄 >60 岁;住院时间 3~129 d,平均 41 d;既往有高血压、糖尿病及冠心病等不同基础疾病的患者 24 例,气管切开后 9 例,人工髋关节置换术后 1 例。

2.2 PFGE 电泳结果 40 株菌染色体经酶切后,产生 15~20 条 DNA 片段,片段大小约为 30~420 kb,见图 1。PFGE 聚类分析结果显示,分离的鲍曼不动杆菌分为 A~K 共 11 型,其中 A、B、E 型为主要流行株。A 型包括 5 株菌,分 4 个亚型,38 及 39 号为同一亚型;B 型包括 12 株菌,分 7 个亚型,8、14 及 7 号为同一亚型,26 及 29 号为同一亚型,21、33 及 9 号为同一亚型;E 型包括 7 株菌,分为 6 个亚型,31 及 34 号为同一亚型。见图 2。

2.3 传播特点 40 例患者感染的鲍曼不动杆菌主要包括 A、B、E 3 种基因型,菌株分离先后顺序见图 3~5。图 3 显示,感染 A 型菌株的 5 例患者在住院时间上存在交叉;图 4 显示,感染 B 型菌株的前 6 例患者在住院时间上有交叉,后 6 例患者也存在交叉,而第 7 例患者于 2012 年 6 月分离出鲍曼不动杆菌,后 6 例患者与分离出同种克隆菌株的前 6 例患者并无住院时间上的交叉;图 5 显示,感染 E 型菌株的 7 例患者在住院时间上存在交叉。



M: Marker; 1—9: 鲍曼不动杆菌临床株  
B: 3、7、8、9; D: 2; F: 4; G: 1; K: 5; I: 6

图 1 鲍曼不动杆菌 PFGE 图谱

Figure 1 PFGE map of *A. baumannii*

2.4 药敏结果 40 株鲍曼不动杆菌对 19 种常用抗菌药物的敏感性,结果显示,40 株菌对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、替卡西林/克拉维酸、头孢唑林、头孢替坦、氨曲南及呋喃妥因 7 种抗菌药物均耐药;对复方磺胺甲噁唑、妥布霉素、头孢曲松、环丙沙星、头孢噻肟、哌拉西林、头孢他啶、阿米卡星、庆大霉素及头孢吡肟的耐药率较高,在 87.50%~97.50% 之间;对左氧氟沙星的耐药率稍低,为 77.50%;对亚胺培南

耐药率最低,为 70.00%。见表 1。基因 A 型的 5 株菌对亚胺培南及复方磺胺甲噁唑敏感;基因 B 型的 12 株菌对 19 种抗菌药物均耐药;基因 E 型的 7 株菌对亚胺培南敏感。

表 1 40 株鲍曼不动杆菌对常用抗菌药物的耐药情况  
Table 1 Resistance of 40 *A. baumannii* strains to commonly used antimicrobial agents

抗菌药物	耐药菌株数	耐药率(%)
氨苄西林	40	100.00
哌拉西林	37	92.50
氨苄西林/舒巴坦	40	100.00
替卡西林/克拉维酸	40	100.00
头孢唑林	40	100.00
头孢他啶	37	92.50
头孢曲松	39	97.50
头孢噻肟	37	92.50
头孢吡肟	39	97.50
头孢替坦	40	100.00
氨曲南	40	100.00
亚胺培南	28	70.00
阿米卡星	39	97.50
庆大霉素	36	90.00
妥布霉素	36	90.00
左氧氟沙星	31	77.50
环丙沙星	37	92.50
呋喃妥因	40	100.00
复方磺胺甲噁唑	35	87.50

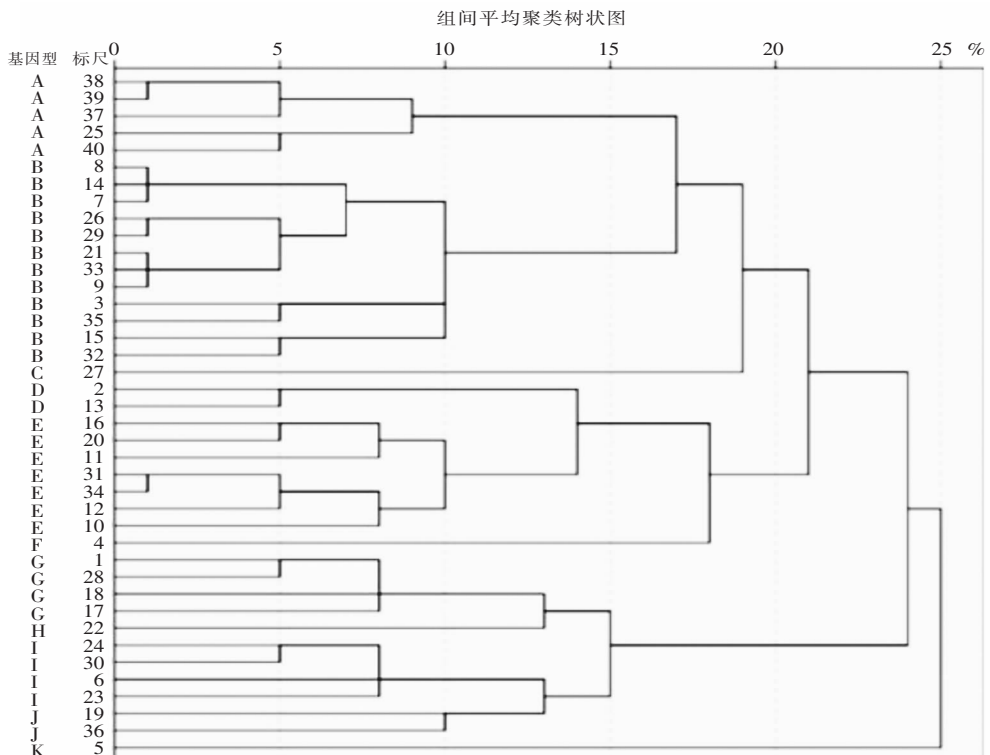


图 2 鲍曼不动杆菌 PFGE 的聚类分析

Figure 2 Cluster analysis of *A. baumannii* PFGE

2.5 鲍曼不动杆菌感染的临床特点及治疗 40 例鲍曼不动杆菌感染患者中,发热 24 例,体温 37.5~39.5℃;咳嗽咳痰 35 例;气短 24 例;心动过速 15 例;所有患者均无胸痛及咯血症状,无神经系统症状,肺部听诊为呼吸音粗或散在干湿性啰音。实验室检查结果:白细胞升高 32 例,血红蛋白降低 21 例,血小板减少 2 例;尿蛋白阳性 22 例;血清丙氨酸转氨酶升高 8 例;低蛋白血症 28 例;血清肌酐升高 7 例。所有患者胸部放射线检查均提示肺部多叶段炎症。在检出鲍曼不动杆菌前,19 例患者住 ICU 时间

>2 周,14 例患者气管插管>1 周,行呼吸机治疗 25 例,留置导尿管 24 例,全部使用过抗菌药物,24 例应用广谱抗菌药物 2 周以上,应用肾上腺糖皮质激素 6 例。在检出鲍曼不动杆菌后,根据药敏结果选用敏感抗菌药物治疗,给予患者亚胺培南或美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦及米诺环素等药物联合治疗;同时予以化痰及调节免疫等治疗。

2.6 转归 12 例患者死亡,其中年龄>60 岁者 11 例,有基础疾病者 8 例;24 例患者好转出院;4 例患者未待病情稳定自动出院。

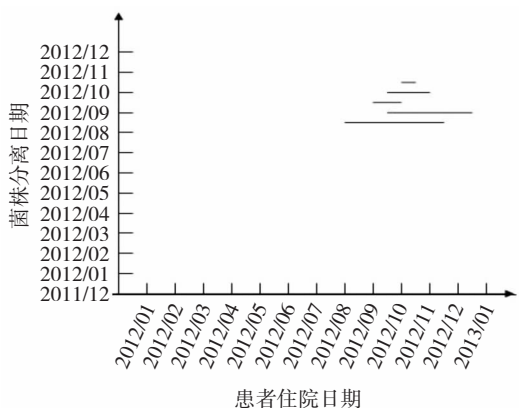


图 3 基因 A 型组鲍曼不动杆菌传播特点

Figure 3 Transmission characteristics of *A. baumannii* with type A gene

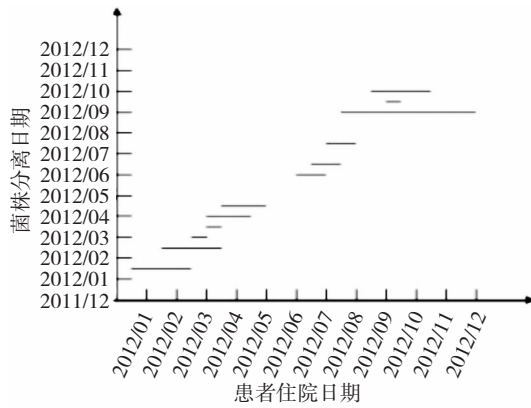


图 4 基因 B 型组鲍曼不动杆菌传播特点

Figure 4 Transmission characteristics of *A. baumannii* with type B gene

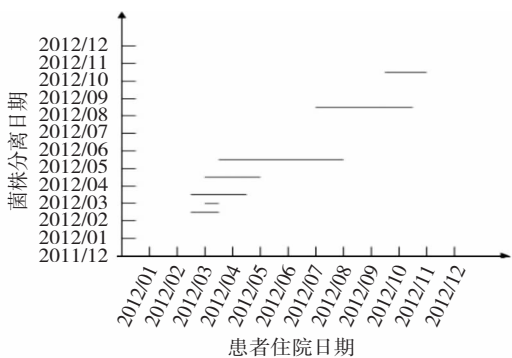


图 5 基因 E 型组鲍曼不动杆菌传播特点

Figure 5 Transmission characteristics of *A. baumannii* with type E gene

### 3 讨论

鲍曼不动杆菌为非发酵革兰阴性杆菌,是广泛分布于外界环境中的条件致病菌。由于该菌具有强大的传播能力,目前已成为我国医院感染重要的致病菌<sup>[4]</sup>。近年来,鲍曼不动杆菌出现了严重的耐药现象,耐药率逐年增高,给临床治疗带来了严峻的

挑战。本组 40 例鲍曼不动杆菌感染患者平均年龄达 67 岁,平均住院时间 41 d,60% 的患者有基础疾病。在分离出鲍曼不动杆菌之前,19 例患者住 ICU 时间>2 周,长时间应用广谱抗菌药物患者达 60%。25 例患者病情危重行机械通气治疗,14 例气管插管,9 例为气管切开后,患者气道开放,更易感染病菌。气管插管及留置导尿等处置,使患者感染鲍曼不动杆菌的风险进一步增加<sup>[5]</sup>。6 例患者应用过肾上腺糖皮质激素,低蛋白血症患者达 70%。病情危重的患者机体免疫力低下,肾上腺糖皮质激素的应用,也可降低机体免疫力,使患者极易发生医院感染。以上结果与文献<sup>[6]</sup>报道的鲍曼不动杆菌危险因素为住院时间长、入住 ICU、使用广谱抗菌药物、有严重基础疾病、创伤性操作等相一致。虽经积极治疗,仍有 12 例患者死亡,其中 11 例年龄>60 岁,8 例有基础疾病。本研究结果及相关文献<sup>[7]</sup>均表明,有基础疾病的患者和高龄患者,其感染鲍曼不动杆菌后的病死率较高,应引起临床医生高度重视。

本组 RICU 患者分离的 40 株鲍曼不动杆菌对

氨曲南、头孢唑林、替卡西林/克拉维酸、头孢替坦、氨苄西林/舒巴坦、呋喃妥因及氨苄西林均耐药,临床上针对鲍曼不动杆菌感染治疗时上述药物不作首选。舒巴坦为联合治疗药物之一,但本研究中氨苄西林/舒巴坦耐药率为 100%,考虑其原因之一是由于药敏试验的舒巴坦浓度低,而临床治疗时要求 4~6 g/d;原因二是氨苄西林/舒巴坦的敏感性不如头孢哌酮/舒巴坦,临床上常用后者与亚胺培南联合治疗。亚胺培南在本研究中耐药率为 70%,与相关文献<sup>[8]</sup>报道的亚胺培南耐药率相符。鲍曼不动杆菌耐药现象的不断增加,使其临床治疗成为棘手问题,合理使用抗菌药物是减慢其耐药率增高的最佳途径。

本研究 PFGE 图谱及聚类分析树图显示,40 株鲍曼不动杆菌主要表现为 A、B、E 基因型,为主要流行株,说明 RICU 中存在鲍曼不动杆菌的克隆传播。感染 A 及 E 基因型菌株患者在各自住院时间上均存在交叉,说明出现了同一医疗单元即同病房的同型菌株的克隆传播,考虑通过医疗器械及处置时造成交叉感染的可能性大<sup>[9]</sup>。相关研究<sup>[10]</sup>也报道,环境消毒不彻底及无菌操作不规范,甚至可能造成医院感染的暴发。感染不同型别鲍曼不动杆菌的患者之间在住院时间上也存在交叉,考虑一为不同型别菌株的单独感染;二为亚型之间发生了基因突变,产生了新亚型感染。B 基因型菌株中的首株菌与末株菌分离时间间隔 326 d,后 6 例患者与前 6 例患者并无住院时间上的交叉,提示鲍曼不动杆菌在医疗环境中的长期存留可能是出现交叉感染的主要原因。

因此,应加强对医疗环境的消毒和医疗器械的彻底消毒灭菌,以避免及减少医院交叉感染的发生。

#### [参 考 文 献]

- [1] Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen [J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3): 538-582.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[S]. 北京,2001.
- [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] 刘又宁,曹彬,王辉,等. 中国九城市成人医院获得性肺炎微生物学与临床特点调查[J]. 中华结核和呼吸杂志,2012,35(10): 739-746.
- [5] 谢少清,左改珍,范恒梅,等. 重症监护病房鲍氏不动杆菌医院感染暴发及控制[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(12): 1015-1017.
- [6] Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection [J]. N Engl J Med,2008,358(12):1271-1281.
- [7] 齐激扬,余素飞,冯志强,等. 老年人鲍曼不动杆菌肺部感染 115 例临床分析[J]. 临床内科杂志,2006,23(7):480-482.
- [8] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2009,9(5):321-329.
- [9] 陈佰义,何礼贤,胡必杰,等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中国医药科学,2012,2(8):3-8.
- [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.

(本文编辑:任旭芝)