

我院2014—2017年鲍曼不动杆菌的临床分布、耐药性及耐药基因研究^Δ

张宇琼*,高晶晶,陆文香,张宇茵,袁 垚,徐卫东*(苏州市立医院本部检验科,江苏苏州 215002)

中图分类号 R446.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)06-0794-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.06.17

摘要 目的:为临床合理用药与医院感染控制提供参考。方法:收集我院2014年1月—2017年6月检出的鲍曼不动杆菌(AB),采用纸片扩散法和最低抑菌浓度法进行药敏试验。采用聚合酶链反应法对多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB)耐药基因进行扩增,并与GenBank数据库进行Blast比对。结果:共检出AB 1 758株,主要来自于痰液及咽拭子标本(65.24%),其次为尿液标本(18.49%);主要分布于重症医学科(ICU)(38.51%)和呼吸内科(24.00%)。AB对复方磺胺甲噁唑、哌拉西林钠他唑巴坦钠、庆大霉素、头孢吡肟、左氧氟沙星、米诺环素、亚胺培南等大部分常用抗菌药物的耐药率均超过了40%,且有逐年上升的趋势;对黏菌素的耐药率<5%,且逐年下降。共检出MDR-AB 673株,各年度检出率依次为22.77%、29.82%、52.09%、54.33%。110株检测耐药基因的MDR-AB菌株中,TEM、AmpC、IMP、VIM、OXA-23、OXA-24、OXA-51、aac(6′)-I、aac(3)-I、ant(3′)-I、anmA、gyrA、parC基因的检出率分别为97.27%、91.82%、49.09%、12.73%、90.91%、12.73%、98.18%、34.55%、60.91%、89.09%、87.27%、77.27%、82.73%。Blast比对结果显示,gyrA基因第83、121位碱基发生点突变,parC基因第144位碱基发生点突变。结论:我院AB主要来自于痰液及咽拭子标本,主要集中在ICU和呼吸内科;耐药情况严重,MDR-AB的检出率逐年升高。多重耐药菌株检出的主要基因包括TEM、AmpC、OXA-23、OXA-51、ant(3′)-I、anmA等,且gyrA、parC基因存在突变。临床应加大抗菌药物分级使用管理力度,加强AB耐药性监测,并根据药敏试验结果合理选择抗菌药物,防止或延缓AB耐药菌株在医院内定植与交叉传播。

关键词 鲍曼不动杆菌;多重耐药;耐药性;临床分布;耐药基因

Clinical Distribution, Drug Resistance and Drug-resistance Genes of *Acinetobacter baumannii* in Our Hospital during 2014-2017

ZHANG Yuqiong, GAO Jingjing, LU Wenxiang, ZHANG Yulin, YUAN Lu, XU Weidong (Dept. of Clinical Laboratory, Suzhou Municipal Hospital, Jiangsu Suzhou 215002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide reference for rational drug use in clinic and nosocomial infection control. METHODS: *Acinetobacter baumannii* (AB) were collected from our hospital during Jan. 2014-Jun. 2017. Drug sensitivity tests were conducted by using K-B method and MIC method. Drug-resistance genes of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDR-AB) were

- [15] 舒文,钱颖,刘庆中.上海市某教学医院2010至2014年铜绿假单胞菌耐药性变迁分析[J].检验医学,2016,31(12):1055-1060.
- [16] 中华医学会呼吸病学分会感染学组.铜绿假单胞菌下呼吸道感染诊治专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2014,37(1):9-15.
- [17] 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].中华医学杂志,2012,92(2):76-85.
- [18] 王珏鑫,余广超,温旺荣.鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药机制研究进展[J].中国抗生素杂志,2016,41(11):824-828.
- [19] 吴建均,鲍颖菲,赵扬,等.鲍曼不动杆菌耐药率与抗菌药物用量的相关性分析[J].药学实践杂志,2015,33(5):467-470.
- [20] 汪震,刘东,熊姝颖,等.武汉地区7家医院碳青霉烯类抗生素连续5年用药密度与细菌耐药性分析[J].中国医院药学杂志,2012,32(11):897-899.
- [21] DEL MAR TOMAS M, CARTELLE M, PERTEGA S, et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2005, 11(7):540-546.
- [22] LEE SO, KIM NJ, CHOI SH, et al. Risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: a case-control study[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(1):224-228.
- [23] 周华,李光辉,卓超,等.中国嗜麦芽窄食单胞菌感染诊治和防控专家共识[J].中华医学杂志,2013,93(16):1203-1213.

Δ 基金项目:苏州市“科教兴卫”青年科技项目(No.KJXW-2016025)

* 检验技师,硕士。研究方向:细菌耐药机制。电话:0512-62362411。E-mail:zhangyuqiong2007@163.com

通信作者:主任技师。研究方向:细菌耐药机制。电话:0512-62362411。E-mail:xwdxhx@163.com

(收稿日期:2017-04-20 修回日期:2017-12-11)

(编辑:张元媛)

amplified by PCR, and compared with GenBank database by using Blast comparison. RESULTS: A total of 1 758 strains of AB were detected, and mainly came from sputum and throat swab (65.24%), followed by urine (18.49%). These infected patients were mainly distributed in the departments of ICU (38.51%) and respiratory medicine (24.00%), respectively. Drug resistance of clinical isolated AB to most commonly used antibiotics were more than 40%, such as compound sulfamethoxazole, piperacillin sodium and tazobactam sodium, gentamicin, cefepime, levofloxacin, minocycline, imipenem, etc.; it had increased year after year. Drug resistance to colistin was lower than 5% and decreased year by year. A total of 673 strains of MDR-AB were detected, and detection rates were 22.77%, 29.82%, 52.09%, 54.33%, respectively. Among 110 strains of MDR-AB, detection rates of *TEM*, *AmpC*, *IMP*, *VIM*, *OXA-23*, *OXA-24*, *OXA-51*, *aac(6')*-I, *aac(3)*-I, *ant(3'')*-I, *anmA*, *gyrA*, *parC* gene were 97.27%, 91.82%, 49.09%, 12.73%, 90.91%, 12.73%, 98.18%, 34.55%, 60.91%, 89.09%, 87.27%, 77.27%, 82.73%, respectively. Results of Blast comparison showed that point mutation occurred in 83rd and 121st base of *gyrA* gene, 144th base of *parC* gene. CONCLUSIONS: AB mainly come from sputum and throat swab specimens in our hospital, and infected patients are mainly distributed in the departments of ICU and respiratory medicine. Drug resistance is serious, and the detection rate of MDR-AB is increased year by year. Main genes of multidrug-resistant strains mainly include *TEM*, *AmpC*, *OXA-23*, *OXA-51*, *ant(3'')*-I, *anmA*, etc., and mutation of *gyrA* and *parC* gene are found. It is necessary to strengthen the management of classification use of antibiotics and strengthen the monitoring of AB drug resistance. According to the results of drug sensitivity test, antibiotics are selected rationally to prevent or delay planting and cross transmission of AB-resistant strain.

KEYWORDS *Acinetobacter baumannii*; Multidrug-resistance; Drug resistance; Clinical distribution; Drug-resistance gene

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)生存条件简单,且广泛存在于自然环境中,并可长期定植于人体皮肤、呼吸道、消化道和泌尿生殖道等部位,是医院最常见的条件致病菌之一,可引起呼吸道感染、伤口及术后感染、继发性脑膜炎、败血症和尿路感染等^[1-2]。住院患者由于免疫力下降、大量应用抗菌药物而导致菌群失调,已成为AB的易感人群,尤其是多重耐药AB(Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, MDR-AB);同时,MDR-AB已成为医院内感染爆发流行的重要病原菌,给临床治疗带来很大困难^[3-4]。笔者通过收集我院2014—2017年临床分离的AB的病原学资料,回顾性分析其科室分布、耐药性及耐药基因,以期为临床合理用药、医院感染控制提供参考。

1 资料与方法

1.1 菌株来源

收集我院2014年1月—2017年6月临床各科室送检标本中分离的AB(剔除同一患者检出的重复菌株)的病原学资料。

1.2 材料

Phoneix™ 100型全自动微生物分析仪(美国BD公司);Microflex LT型基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)(德国Bruker公司);5804R型离心机(德国Eppendorf公司);琼脂糖(美国Sigma公司);Syngene 1467型紫外凝胶电泳成像仪、T100 Thermal Cycle型扩增仪(美国Bio-Rad公司);血琼脂平板、麦康凯琼脂平板和M-H琼脂平板均购自郑州安图生物工程股份有限公司;药敏纸片购自英国Oxoid公司;聚合酶链反应(Polymerase chain reaction, PCR)相关

试剂(dNTP mixture、10×Ex Taq buffer、Ex Taq 酶、6×Loading buffer、DNA Ladder marker)和电泳试剂均购自大连TaKaRa公司;质控菌株大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)由北京中原公司提供。

1.3 菌株分离、培养、鉴定和药敏试验

菌株的分离、培养参照《全国临床检验操作规程》(第4版)^[5]进行。所有菌株均首先采用Microflex LT型MALDI-TOF MS仪进行快速鉴定,然后采用Phoneix™ 100型全自动微生物分析仪进行鉴定与药敏试验。其中,米诺环素和头孢哌酮钠舒巴坦钠的药敏试验采用纸片扩散(Kirby-Bauer, K-B)法,其余均采用最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)法。药敏试验数据采用WHONET 5.6软件进行处理,结果判定参照美国临床与实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)各年的标准。MDR-AB是指对5类抗菌药物(包括氨基糖苷类、β-内酰胺酶抑制剂、头孢菌素类、碳青霉烯类和喹诺酮类抗菌药物)中的3类及以上耐药的菌株^[3-4]。

1.4 耐药基因检测

本研究采用简单随机抽样法从2016年分离的MDR-AB中抽取了110株菌株进行耐药基因检测。采用加热裂解法提取MDR-AB的DNA;挑取约5个菌落,加入双蒸水500 μL,混匀,于100℃水浴中静置20 min,以20 913×g离心2 min,取上清液,即得模板DNA,置于-20℃保存,备用。根据GenBank数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)提供的耐药基因,采用Oligo 7软件(美国Molecular Biology Insights公司)设计引物,部分引物参考相关文献^[6-7]。引物(序列见表1)由金斯瑞生物科技有限公司合成。采用PCR法进行扩

增。PCR反应体系(20 μL)严格按照PCR相关试剂说明书配制。PCR反应条件:94 °C预变性10 min,94 °C变性30 s,在各基因类型对应的退火温度下退火60 s,72 °C延

伸90 s,共35个循环;72 °C再延伸10 min。扩增完成后,PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳后,在紫外凝胶电泳成像仪上观察,检测菌株相关基因的表达情况。

表1 靶基因PCR引物序列

Tab 1 PCR primer sequences of target genes

基因类型	靶基因	引物序列	扩增产物长度, bp	退火温度, °C
丝氨酸蛋白酶	TEM	上游: 5'-CAGAAACGCTGGTGAAAG-3'	701	56
		下游: 5'-AACTACGATACGGGAGGG-3'		
头孢菌素酶	AmpC	上游: 5'-GCCTGGTAAGTATTGGAAAG-3'	696	52
		下游: 5'-CCGAAACGGTTAGTTGAGCC-3'		
金属β-内酰胺酶	IMP	上游: 5'-GCTCAGCAACTGGTCGC-3'	913	53
		下游: 5'-CCGCCTGCTCTAATGTAAG-3'		
	VIM	上游: 5'-GTTTGGTCGCATATCGCAAC-3'	382	55
		下游: AATGCGCAGCACCAGGATAG-3'		
苯唑西林酶	OXA-23	上游: 5'-GATGTGTCATAGTATTCGTCGT-3'	1 058	58
		下游: 5'-TCACAACAATAAAAAGCACTGT-3'		
	OXA-24	上游: 5'-GTACTAATCAAAGTTGTGAA-3'	1 024	52
		下游: 5'-TGTTAAGTACAATCCCCTT-3'		
	OXA-51	上游: 5'-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3'	353	52
		下游: 5'-TGGATTGCACCTTCATCTTGG-3'		
氨基糖苷类修饰酶	aac(6')-I	上游: 5'-TATGAGTGGCTAAATCGA-3'	394	58
		下游: 5'-CCCCTTTCTCGTAGCA-3'		
	aac(3)-I	上游: 5'-ACCTACTCCCAACATCAGCC-3'	237	58
		下游: 5'-ATATAGATCTCACTACGCGC-3'		
	ant(3'')-I	上游: 5'-TGATTTGCTGGTTACGGTGAC-3'	284	58
		下游: 5'-CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG-3'		
armA	上游: 5'-ATGGATAAGAATGATGTTGTTAAG-3'	774	56	
	下游: 5'-TTATTTCTGAAATCCACTAGTAATTA-3'			
喹诺酮类耐药基因	gyrA	上游: 5'-AAATCTGCCCGTGTGCGTTGGT-3'	343	55
		下游: 5'-GCCATACCTACGGCGATACC-3'		
	parC	上游: 5'-AAACCTGTTTCAGCGCCGATT-3'	327	55
		下游: 5'-AAAGTTGCTTGCCATTCACT-3'		

1.5 基因测序及比对

鉴于AB对喹诺酮类药物的耐药机制^[9],本研究采用简单随机抽样法选取部分敏感菌株和耐药菌株的gyrA和parC基因扩增产物,纯化后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。应用Chromas 2.4分析软件(澳大利亚Technelysium公司)读取测序结果,并采用美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)在线分析工具Blast程序

(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行比对,以确定耐药基因的突变情况。

2 结果

2.1 AB的标本来源

2014—2017年,我院共分离AB 1 758株。所有菌株经Microflex LT型MALDI-TOF MS仪及Phoneix™ 100型全自动微生物分析仪鉴定为AB。AB主要来自于痰液及咽拭子标本(65.24%),其次为尿液标本(18.49%),详见表2。

表2 2014—2017年我院AB的标本分布

Tab 2 Specimen distribution of AB in our hospital during 2014-2017

标本类型	2014年		2015年		2016年		2017年(1—6月)		合计	
	株数	构成比, %	株数	构成比, %	株数	构成比, %	株数	构成比, %	株数	构成比, %
痰液及咽拭子	264	61.97	351	63.82	400	69.69	132	63.46	1 147	65.24
尿液	94	22.07	110	20.00	82	14.29	39	18.75	325	18.49
创口分泌物	30	7.04	44	8.00	48	8.36	16	7.69	138	7.85
血液	3	0.70	4	0.73	4	0.70	1	0.48	12	0.68
胸腹水	20	4.69	31	5.64	10	1.74	8	3.85	69	3.92
其他	15	3.52	10	1.82	30	5.23	12	5.77	67	3.81
合计	426	100	550	100	574	100	208	100	1 758	100

AB主要来源于重症医学科(Intensive care unit, ICU)和呼吸内科,分别占38.51%和24.00%,详见表3。

2.2 AB的耐药情况

与2014年相比,2015年我院AB对阿米卡星和氨苄西林钠舒巴坦钠的耐药率有所降低,而2016、2017年又迅速上升。AB对复方磺胺甲噁唑、哌拉西林钠他唑巴

表3 2014—2017年我院AB的科室分布

Tab 3 Department distribution of AB in our hospital during 2014-2017

科室	株数	构成比, %
ICU	677	38.51
呼吸内科	422	24.00
神经外科	281	15.98
神经内科	149	8.48
心内科	82	4.66
肾内科	68	3.87
其他	79	4.49
合计	1 758	100

坦钠、庆大霉素、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢他啶、左氧氟沙星、米诺环素、头孢哌酮钠舒巴坦钠、亚胺培南、美罗培南等抗菌药物的耐药率均超过了40%，且有逐年上升的趋势。其中，AB对亚胺培南和美罗培南的耐药率已高达77.5%和78.3%。AB对黏菌素的耐药率最低(耐药率<5%)，且逐年下降，详见表4。

表4 2014—2017年我院AB对常用抗菌药物的耐药率(%)

Tab 4 Drug resistance raet of AB to commonly used antibiotics in our hospital during 2014-2017 (%)

抗菌药物	2014年 (n=426)	2015年 (n=550)	2016年 (n=574)	2017年(1-6月) (n=208)
阿米卡星	40.51	34.42	65.84	73.01
氨苄西林钠舒巴坦钠	75.39	55.54	79.51	74.84
复方磺胺甲噁唑	41.33	49.08	68.27	76.63
哌拉西林钠他唑巴坦钠	49.74	57.19	71.78	77.52
庆大霉素	54.52	59.80	75.19	80.19
头孢吡肟	54.19	59.79	71.23	77.28
头孢噻肟	77.90	81.74	88.33	77.49
头孢他啶	52.01	59.54	71.24	78.44
左氧氟沙星	49.22	60.09	69.79	78.38
米诺环素	41.83	52.39	67.19	74.14
头孢哌酮钠舒巴坦钠	40.81	51.23	69.21	70.34
亚胺培南	48.57	57.73	69.74	77.48
美罗培南	50.01	59.21	70.58	78.34
黏菌素	2.84	2.38	0.94	0

2.3 MDR-AB的检出情况

2014—2017年，我院共检出MDR-AB 673株，其每年的检出率依次为22.77%、29.82%、52.09%、54.33%，呈逐年上升的趋势，详见表5。

表5 2014—2017我院MDR-AB的检出情况

Tab 5 Detection of MDR-AB in our hospital during 2014-2017

年份	AB, 株	MDR-AB, 株	MDR-AB 检出率, %
2014年	426	97	22.77
2015年	550	164	29.82
2016年	574	299	52.09
2017年(1-6月)	208	113	54.33
合计	1 758	673	38.28

2.4 MDR-AB耐药基因的检测结果

110株MDR-AB中，有107株检出丝氨酸蛋白酶基因TEM，101株检出头孢菌素酶基因AmpC。金属β-内酰胺类相关耐药基因中，IMP和VIM基因的检出率分别为49.09%和12.73%。苯唑西林酶基因(OXA群)OXA-23、OXA-24、OXA-51的检出率分别为90.91%、12.73%、98.18%。氨基糖苷类修饰酶基因aac(6′)-I、aac(3)-I、ant(3′′)-I、armA的检出率分别为34.55%、60.91%、89.09%、87.27%。喹诺酮类相关耐药基因gyrA、parC的检出率分别为77.27%、82.73%，详见表6。Blast比对结果显示，gyrA、parC均存在基因突变，其中gyrA可见第83位(TCA→TTA)和121位(TGT→CGT)碱基发生点突变，parC可见第144位(AGC→AAC)碱基发生点突变。

表6 MDR-AB耐药基因的检测结果

Tab 6 Detection results of MDR-AB drug-resistant genes

基因名称	阳性株数	检出率, %
TEM	107	97.27
AmpC	101	91.82
IMP	54	49.09
VIM	14	12.73
OXA-23	100	90.91
OXA-24	14	12.73
OXA-51	108	98.18
aac(6′)-I	38	34.55
aac(3)-I	67	60.91
ant(3′′)-I	98	89.09
armA	96	87.27
gyrA	85	77.27
parC	91	82.73

3 讨论

AB具有较强的环境适应能力并在自然界中广泛存在，长期住院、免疫力低下以及行气管插管或机械通气的患者更容易被AB感染^[9]。我院2014—2017年分离出的革兰氏阴性杆菌中，AB的检出量仅次于大肠埃希菌和铜绿假单胞菌，位居第3位，与国内文献结果^[4, 10-11]基本一致，提示AB的流行具有一定的共性。我院AB主要来源于痰液及咽拭子标本(包括上呼吸道标本)，其次为尿液和创口分泌物标本，而血液和其他无菌体液标本所占比例较小，提示AB主要引发上呼吸道感染。但值得注意的是，本研究尚无法排除上呼吸道定植菌群的影响，特别是部分没有肺部感染症状却检出AB的患者。因此，临床应树立和强化痰液标本质量控制意识，送检标本必须来自于实际感染部位，必要时可采集支气管肺泡灌洗液，提高送检标本的合格率；此外，由于痰液标本较易获得，在临床送检标本中所占的比例略高，故为保证微生物检验结果的准确性并正确指导临床用药，应提高血液及其他无菌体液标本的送检比例^[12]。

ICU和呼吸内科是AB检出率较高的科室，这与相关文献结果^[13-14]相似。这2个排名靠前的科室具有以下

共同点:患者多有严重的基础疾病,且长期卧床,并伴有免疫力低下、住院时间长、广泛应用抗菌药物、治疗过程中常需接受气管插管、反复吸氧以及留置导管等高危因素,容易受AB感染并引发交叉感染^[3]。已有报道表明,需要持续机械通气或烧伤/创伤患者分离培养出AB的概率更高^[9]。

本研究发现,2014—2017年我院AB对大部分常用抗菌药物的耐药率呈逐年上升的趋势,对头孢菌素类抗菌药物(头孢他啶、头孢噻肟、头孢吡肟)的耐药率均超过了50%。耐药率明显升高的抗菌药物包括复方磺胺甲噁唑、阿米卡星、米诺环素,其耐药率分别从2014年的41.3%、40.5%、41.8%上升至2017年的76.6%、73.0%、74.1%。因 β -内酰胺酶抑制剂舒巴坦对不动杆菌属细菌具有直接杀灭作用,故含舒巴坦的复合制剂对不动杆菌具有良好的抗菌活性,可作为联合用药的基础^[15]。本研究结果显示,AB对于限制使用级抗菌药物如哌拉西林钠他唑巴坦钠、头孢哌酮钠舒巴坦钠等的耐药率也有逐年上升的趋势;此外,尽管2014—2015年AB对特殊使用级抗菌药如亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为48.6%~57.7%、50.0%~59.2%,低于同期中国细菌耐药性监测网(CHINET)所报道的62.0%~62.4%、66.7%~70.5%^[16-17],但2016年其耐药率均明显上升(69.7%和70.6%),临床应予以高度重视。

本研究结果显示,2014—2017年我院MDR-AB的检出率从22.77%上升至54.33%,笔者认为很可能与碳青霉烯类抗菌药物在我院临床使用率较高有关;另一方面,AB对黏菌素的耐药率从2.8%降至0,可能与临床用药过程中发现该药常致肾脏和神经损害而致临床使用明显减少有关^[18]。相关文献表明,AB一旦对碳青霉烯类抗菌药物耐药,则多呈多重耐药或泛耐药,可供选择的抗菌药物也极为有限^[9]。因此,临床应正确区分感染与定植,同时加大抗菌药物合理应用的管理力度;对于严重感染者,建议根据药敏试验结果谨慎合理用药,并及时调整用药剂量,以避免或延缓多重耐药或泛耐药菌株的出现。

随着广谱抗菌药物的大量使用,加之AB耐药基因易水平传播,从而导致了MDR-AB的出现^[20]。AB的耐药机制复杂,包括多种药物主动外排泵参与介导了 β -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类及四环素类等多种药物的耐药,耐药基因参与,生成药物灭活酶,抗菌药物作用靶点和外膜通透屏障的改变等^[3,21-22]。本课题组前期研究显示,MDR-AB菌株中 β -内酰胺类耐药基因(如TEM、AmpC、OXA23等)以及对四环素和复方磺胺甲噁唑耐药的相关基因(如tetA、tetB、mdfA等)均呈高表达,一定程度上反映了AB耐药机制的复杂性^[23]。本研究从2016年

临床分离的MDR-AB中随机抽取110株菌株(样本量超过当年MDR-AB检出总量的1/3),对其耐药基因进行分析。结果显示,产生 β -内酰胺酶是AB对 β -内酰胺类抗菌药物耐药的主要原因。其中,110株MDR-AB中A类丝氨酸蛋白酶基因TEM的检出率为97.27%;B类金属 β -内酰胺酶基因IMP、VIM的检出率相对较低,分别为49.09%和12.73%;C类头孢菌素酶基因AmpC的检出率为91.82%;D类苯唑西林酶基因OXA-23、OXA-24、OXA-51检出率分别为90.91%、12.73%、98.18%。这提示AB主要产生A类酶和C类酶,这可能也是导致AB对头孢吡肟、头孢噻肟等 β -内酰胺类抗菌药物的耐药率较高的主要原因;同时,D类酶基因OXA-23、OXA-51的检出率也较高,这可能是介导碳青霉烯类抗菌药物耐药的主要因素^[23];此外,氨基糖苷类耐药基因ant(3'')-I、armA亦有较高的检出率,可见MDR-AB对氨基糖苷类药物耐药可能与氨基糖苷类修饰酶、16S rRNA甲基化酶有关^[24]。有研究表明,AB菌株对喹诺酮类药物耐药主要是由gyrA和parC基因突变所致^[8],故本研究对gyrA和parC基因进行了序列测定与比对。结果显示,喹诺酮类相关耐药基因gyrA、parC的检出率分别为77.27%和82.73%,且均存在突变位点,提示苏州地区(我院同时也是苏州市临床检验中心、苏州市社区卫生临床集中检测中心,检测数据基本能反映苏州地区的病原学特征)AB对喹诺酮类药物耐药与gyrA、parC基因突变有关。

综上所述,我院AB主要来自于痰液及咽拭子、尿液标本,主要分布于ICU和呼吸内科,且耐药情况严重,但对黏菌素敏感。MDR-AB的检出率逐年升高,检出的主要基因包括TEM、AmpC、OXA-23、OXA-51、ant(3'')-I、armA、gyrA、parC等,且gyrA、parC存在基因突变。医院应加强抗菌药物分级使用管理的力度,减缓耐药菌株产生;临床应合理使用 β -内酰胺酶抑制剂复合制剂,慎用碳青霉烯类抗菌药物,联合使用新型抗菌药物如替加环素等^[16];此外,临床还应严格落实手卫生规范,加强环境清洁与消毒,严格执行隔离防护措施,并进行细菌耐药性筛查,从而阻止或延缓AB耐药菌株在医院内定植和交叉传播。本研究虽初步反映了AB耐药机制的多样性,但其菌株耐药基因的来源还有待于进一步探讨,同时也仍需对MDR-AB进行更全面的基因检测,从耐药性与基因表达程度、酶产量、稳定性等方面入手,深入探讨耐药表型与基因型之间的相关性。

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] MUNOZ-PRICE LS, WEINSTEIN RA. Acinetobacter in-

- fection[J]. *N Engl J Med*, 2008,358(12):1271-1281.
- [3] CERCEO E, DEITELZWEIG SB, SHERMAN BM, et al. Multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in the hospital setting: overview, implications for clinical practice, and emerging treatment options[J]. *Microb Drug Resist*, 2016,22(5):412-431.
- [4] LEE HS, LOH YX, LEE JJ, et al. Antimicrobial consumption and resistance in five Gram-negative bacterial species in a hospital from 2003 to 2011[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015,48(6):647-654.
- [5] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M].4版. 南京:东南大学出版社,2015:827-831.
- [6] 丁梦珊,蔡蕊,花璇,等. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶耐药基因及整合子检测与分析[J]. *临床检验杂志*, 2016,34(10):795-797.
- [7] 贾宁,于季红,谢丽君,等. ICU环境鲍曼不动杆菌存在情况及耐药基因型调查[J]. *解放军医学院学报*, 2014,35(1):4-6.
- [8] 李燕,宋瑛,宋晓红. 耐环丙沙星鲍氏不动杆菌的 *gyrA* 基因及 *parC* 基因突变分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2006,16(1):6-8.
- [9] CHEN CH, LIN LC, CHANG YJ, et al. Infection control programs and antibiotic control programs to limit transmission of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections: evolution of old problems and new challenges for institutes[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2015,12(8):8871-8882.
- [10] 李竟,郭普,钟政荣,等. 2012—2014年某医院常见革兰氏阴性杆菌耐药率的变移[J]. *中华疾病控制杂志*, 2015,19(10):1042-1046.
- [11] JEAN SS, COOMBS G, LING T, et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of pathogens causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: results from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART): 2010-2013[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2016,47(4):328-334.
- [12] 王辉. 规范临床微生物标本送检流程需要你我他[J/CD]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2013,1(1):15-17.
- [13] 刘延媛,张瑞凌,曹海燕,等. 1476株鲍曼不动杆菌的临床分布及耐药性特点[J]. *热带医学杂志*, 2017,17(1):103-105.
- [14] 尧荣凤,沈菊英,许国祥,等. 综合医院鲍曼不动杆菌的临床分布及耐药分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2017,38(2):194-197.
- [15] β -内酰胺类抗生素/ β -内酰胺酶抑制剂合剂临床应用专家共识编写委员会. β -内酰胺类抗生素/ β -内酰胺酶抑制剂合剂临床应用专家共识[J]. *浙江医学*, 2016,38(1):1-8.
- [16] 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.
- [17] HU FP, GUO Y, ZHU DM, et al. Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance: 2005-2014[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016,22(Suppl 1):S9-S14.
- [18] 陈迁,梁蓓蓓,李悦,等. 多黏菌素肾毒性的文献计量学分析[J]. *药物不良反应杂志*, 2014,16(2):95-99.
- [19] 马序竹,李湘燕,薛峰,等. 亚胺培南诱导耐药鲍曼不动杆菌 *adeB* 表达变化研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014,30(8):696-700.
- [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] BISWAS I. Genetic tools for manipulating *Acinetobacter baumannii* genome: an overview[J]. *J Med Microbiol*, 2015,64(7):657-669.
- [22] NOWAK P, PALUCHOWSKA P. *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance-role of carbapenemases[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2016,54(2):61-74.
- [23] 高晶晶,邢丽丹,吴元健,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌相关耐药基因的分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2015,36(2):187-188.
- [24] 黄支密,糜祖煌,储秋菊,等. 鲍曼不动杆菌 16S rRNA 甲基化酶基因及氨基糖苷类修饰酶基因研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2008,28(8):727-728.

(收稿日期:2017-07-02 修回日期:2018-01-16)

(编辑:张元媛)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅