

某院院内耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌分子流行病学研究

吴海燕¹ 谭斌² 张志军³ 姜梅杰³

【摘要】目的 研究本院某段时间分离的耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌(CRAB)的分子流行病学特征,为医院感染的防控提供依据。**方法** 对2015年10月至2016年2月本院临床分离的55株CRAB,采用多位点序列分型(MLST)分析菌株之间的克隆关系。采用PCR法筛选碳青霉烯酶基因和消毒剂基因qacE Δ 1。**结果** 55株CRAB共检出6种已报道的STs,依次为ST208(38.2%)、ST369(25.5%)、ST195(20%)、ST451(10.9%)、ST195(3.6%)和ST381(1.8%)。碳青霉烯酶基因OXA-51和OXA-23均为阳性,96.4%(53/55)菌株携带qacE Δ 1基因。90%以上样本分离自本院各重症监护病房患者的痰液。**结论** 本院该时间段分离的CRAB发生过克隆株流行,产OXA-23 ST208、ST369和ST195型CRAB为本院主要的流行克隆株。

【关键词】 耐碳青霉烯; 鲍曼不动杆菌; 多位点序列分型; 碳青霉烯酶耐药基因; 消毒剂耐药基因

Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from a hospital Wu Haiyan¹, Tan Bin², Zhang Zhijun³, Jiang Meijie³. ¹Intensive Care Unit, ²Department of Blood Transfusion, ³Department of Clinical Laboratory, Central Hospital of Taian, Taian 271000, China
Corresponding author: Jiang Meijie, Email: xtingw@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the molecular epidemiological characteristics of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) isolated from our hospital at a certain time, and to provide the basis for the prevention and control of nosocomial infections. **Methods** Total of 55 stains of CRAB were isolated from the hospital from October 2015 to February 2016. Cloning relationship were conducted by multi-site sequence typing (MLST). The screening of carbapenemase gene and disinfectant gene (qacE Δ 1) were detected by PCR. **Results** Six kinds of STs were detected by MLST, which were ST208 (38.2%), ST369 (25.5%), ST195 (20%), ST451 (10.9%), ST195 (3.6%) and ST381 (1.8%). Carbapenemase genes, such as OXA-51 and OXA-23 were both positive, and 96.4% (53/55) of the stains carried qacE Δ 1 gene. More than 90% of the specimens were isolated from sputum separated from the patients in Intensive Care Unit. **Conclusions** There was a prevalence caused by CRAB stains of clones during this period. ST208, ST369 and ST195 CRAB carrying OXA-23 gene were the main clones in our hospital.

【Key words】 Carbapenem-resistant; *Acinetobacter baumannii*; Multiple-site sequence typing; Carbapenem-resistance gene; Disinfectant-resistant gene

碳青霉烯类耐药的鲍曼不动杆菌(carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, CRAB)已成为一个世界性的问题^[1]。2012年至2014年中国CHINET

细菌耐药性监测显示,鲍曼不动杆菌在不发酵糖的革兰阴性杆菌中一直位居首位^[2-4]。有报道显示,痰样本中分离的鲍曼不动杆菌也位于不发酵糖革兰阴性杆菌中的第一位^[5]。碳青霉烯类抗菌药物是临床治疗革兰阴性杆菌引起严重感染的常用抗菌药物,CRAB给临床治疗带来了很大的困难。为寻找鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药的原因及菌株

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2017.02.012

基金项目: 山东省自然科学基金(No. ZR2013MH009)

作者单位: 271000 泰安市, 山东省泰安市中心医院ICU¹、输血科²、检验科³

通信作者: 姜梅杰, Email: xtingw@126.com

的相关性, 现对本院2015年10月至2016年2月本院临床分离出的55株CRAB进行了多位点序列分析、碳青霉烯酶基因和qacE Δ 1基因检测, 报道如下。

资料与方法

一、菌株来源

收集2015年10月至2016年2月于本院住院患者临床样本中分离出的55株CRAB, 其中51株CRAB分别来自4个重症监护病房感染者的临床样本, 其余4株分别来自4个普通病房感染者的样本。

二、细菌鉴定及药敏试验

细菌的分离培养参照《全国临床检验操作规程》(第3版)操作。形成的单个菌落采用WalkAway 96 PLUS全自动微生物鉴定及药敏系统及其配套的NC50复合板(德国西门子公司)进行细菌鉴定及药敏试验, 同时用纸片扩散法检测头孢哌酮/舒巴坦的敏感性, E-test法检测替加环素和多黏菌素B的敏感性。M-H琼脂和药敏纸片均为英国Oxoid产品。药敏试验结果的判断标准参照CLSI 2015版。

三、耐药基因检测

采用多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)方法进行耐药基因检测。常见的引起鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药的OXA类碳青

霉烯类基因(OXA-24、OXA-48、OXA-50、OXA-51、OXA-23和OXA-64组基因)以及消毒剂耐药基因qacE Δ 1引物的设计参照文献^[6-8], NDM-1基因PCR扩增引物序列参照中国疾病预防控制中心传染病预防控制所公布的引物序列。

四、MLST检测

参照Bartual等^[9]研究中方法进行检测分析。

五、DNA测序

随机选取部分阳性基因进行测序, PCR产物送上海桑尼生物科技有限公司进行测序, 测序结果在GenBank比对。

结 果

一、抗菌药物敏感试验

选择15种常用的抗菌药物, 55株CRAB除对多黏菌素B和替加环素较为敏感外, 对其余13种抗菌药物均高度耐药。55株CRAB对15种抗菌药物的敏感性见表1。

二、MLST分子分型结果

将55株CRAB进行MLST分子分型, 结果发现6种STs, 依次为ST208(38.2%)、ST369(25.5%)、ST195(20%)、ST451(10.9%)、ST195(3.6%)和ST381(1.8%), 其均属克隆复合体CC92。

表1 55株CRAB对15种抗菌药物的敏感性

抗菌药物	敏感		中介		耐药	
	株数	敏感率(%)	株数	中介率(%)	株数	耐药率(%)
阿米卡星	1	1.8	0	0.0	54	98.2
头孢他啶	0	0.0	0	0.0	55	100.0
头孢曲松	0	0.0	0	0.0	55	100.0
环丙沙星	0	0.0	0	0.0	55	100.0
头孢吡肟	0	0.0	0	0.0	55	100.0
庆大霉素	1	1.8	0	0.0	54	98.2
亚胺培南	0	0.0	0	0.0	55	100.0
左氧氟沙星	0	0.0	0	0.0	55	100.0
美罗培南	0	0.0	0	0.0	55	100.0
复方新诺明	2	3.6	0	0.0	53	96.4
哌拉西林/他唑巴坦	0	0.0	0	0.0	55	100.0
妥布霉素	1	1.8	0	0.0	54	98.2
头孢哌酮/舒巴坦	3	5.4	15	27.3	37	67.3
替加环素	41	74.5	14	25.5	0	0.0
多黏菌素B	55	100.0	0	0.0	0	0.0

三、碳青霉烯酶基因和 $\text{qacE}\Delta 1$ 基因检测及测序

55株CRAB中, OXA51基因(见图1)、OXA23基因(见图2)和OXA64组基因均为阳性。53株(96.4%)携带 $\text{qacE}\Delta 1$ 耐药基因(见图3)。

未检测到NDM-1基因等其他碳青霉烯酶基因。随机取OXA-51阳性基因PCR扩增产物进行测序, 结果均为OXA-51碳青霉烯酶基因(见图4)。随机取OXA23qc阳性基因PCR扩增产物进行测序, 结

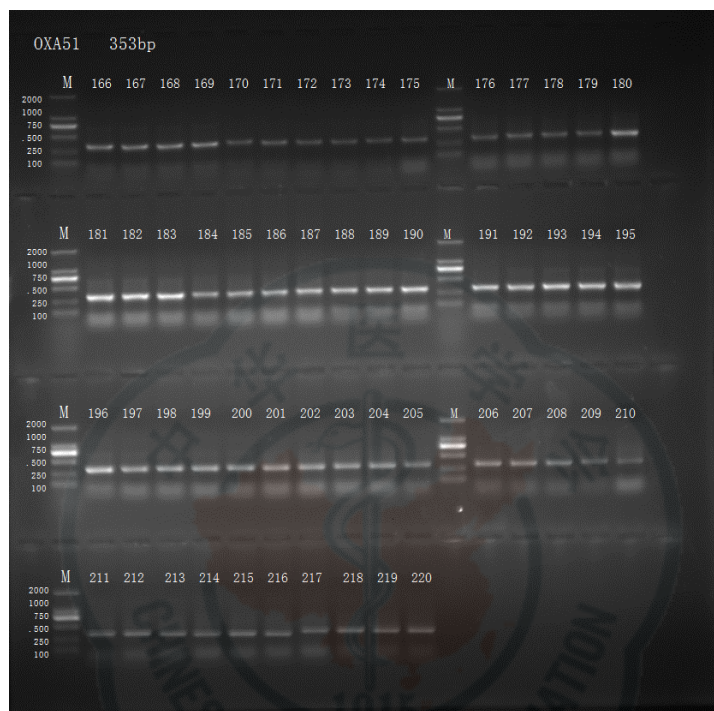


图1 OXA51基因PCR产物电泳图

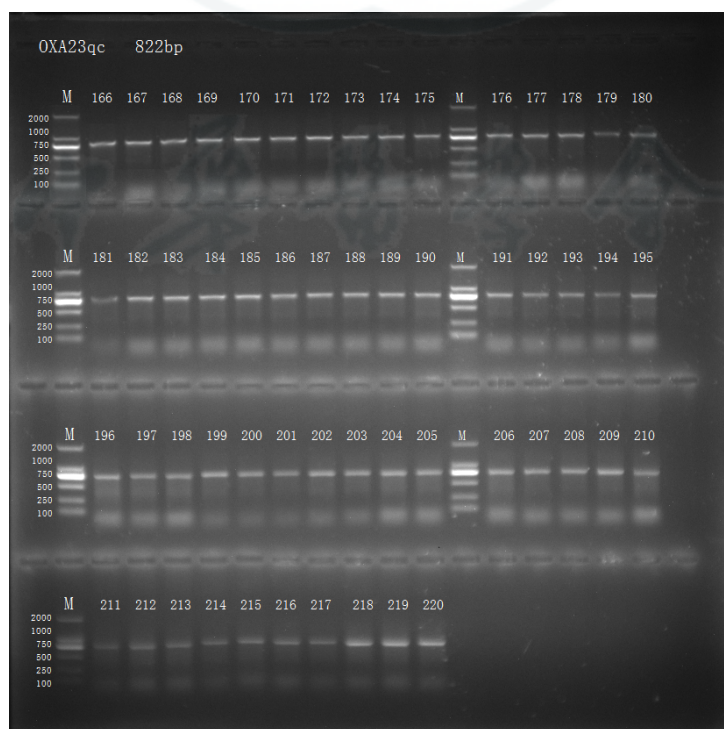


图2 OXA23qc基因PCR产物电泳图

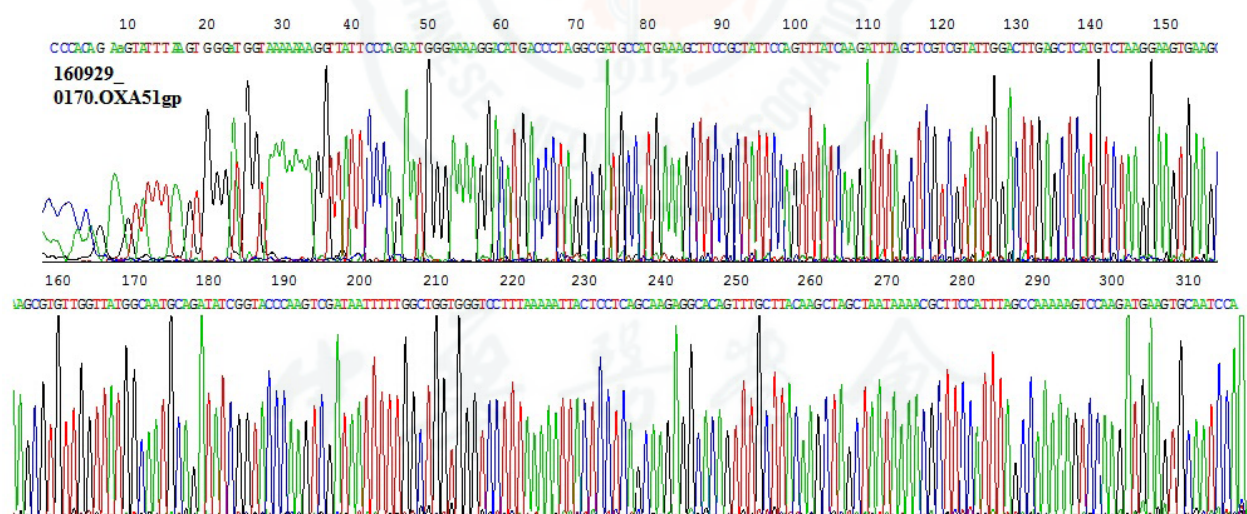
图3 qacE Δ 1基因PCR产物电泳图

图4 OXA51基因测序图

果均为OXA-23碳青霉烯酶基因(见图5)。随机取OXA64组阳性基因PCR扩增产物进行测序,结果均为OXA-51碳青霉烯酶基因。

讨 论

鲍曼不动杆菌是医院感染的重要病原菌之一。有报道显示,患者因素与医院环境因素共同导

致了医院感染,医院内常见耐药基因传播^[10]。本研究通过分析院内耐药监测数据发现,2008年至2015年临床分离的鲍曼不动杆菌波动很大,2008年至2011年本院鲍曼不动杆菌数逐年迅速增多,CRAB菌株数也逐年迅速增多,2012年至2015年鲍曼不动杆菌数逐年降低,CRAB菌株数也逐年减少。CRAB菌株数减少的原因与本院2012年7月开始对感染或定植多重耐药鲍曼不动杆菌的患者实行隔离

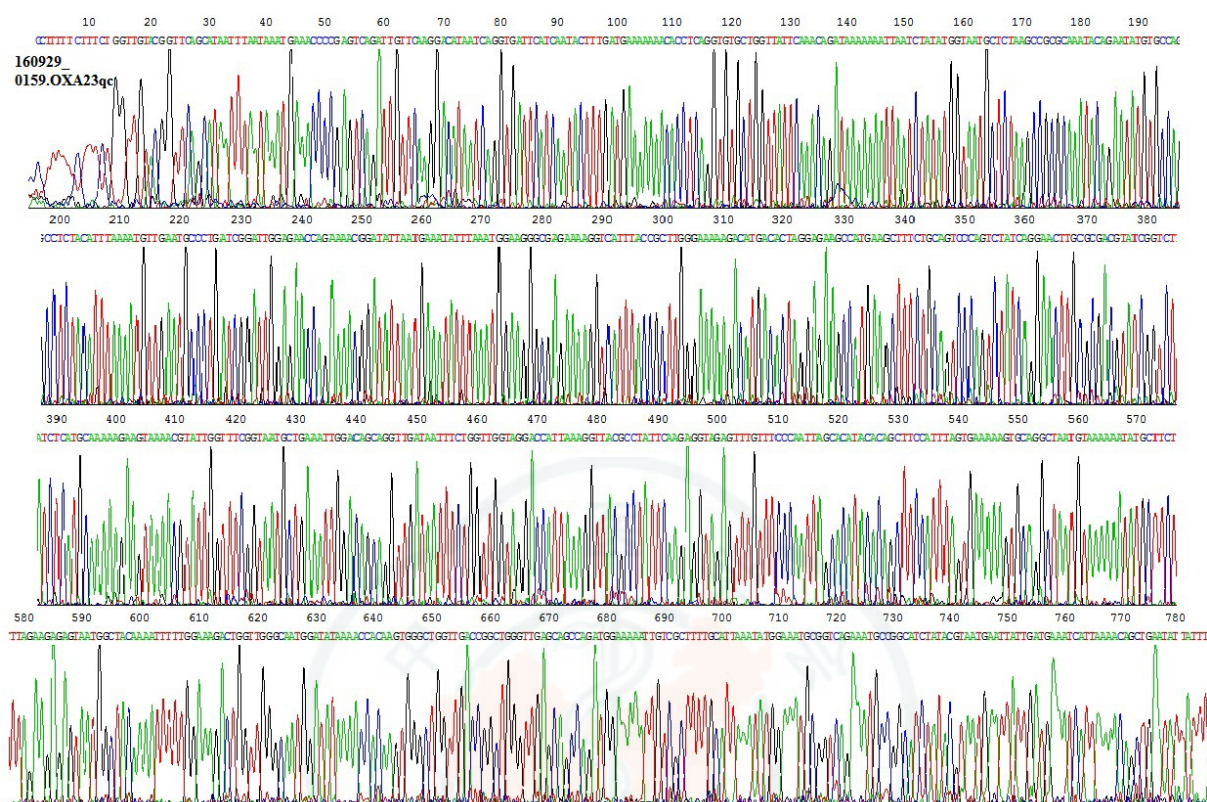


图5 OXA23基因测序图

措施密切相关。

有报道显示,某三级医院18年来鲍曼不动杆菌菌株一半来源于呼吸道样本^[11]。本研究55株CRAB中,54株(98.2%)来源于患者的痰标本,提示CRAB主要引起患者呼吸道感染。有51株(92.7%)分布在各重症监护病房,提示CRAB主要引起重症病房患者感染。而在不同国家与地区,CRAB流行序列有所差异。Gurung等^[12]报道2009年至2010年韩国某医院69株CRAB中,51株为ST191型。伊朗德黑兰某家医院烧伤科病房CRAB主要ST类型为ST108和ST405^[13]。本课题组前期研究中^[14]对山东省10家医院分离的CRAB进行流行病学分析发现ST369、ST208及ST195为山东地区流行主要的序列类型。而本院2015年10月至2016年2月临床分离的55株CRAB中,ST208(38.2%)、ST369(25.5%)和ST195(20%)为主要ST类型,这与山东地区的总体情况基本一致。提示本院该段时间发生过克隆株的流行,医院感染控制部门应密切关注医院内耐药菌的传播。

本研究结果显示,55株CRAB中仅有2株(3.6%)对复方新诺明敏感,3株(5.5%)对头孢

哌酮/舒巴坦敏感,有1株(1.8%)对庆大霉素、妥布霉素和阿米卡星同时耐药,提示CRAB的耐药性很高。因此,临床医师治疗重症监护病房患者鲍曼不动杆菌引起的感染时,应根据体外药敏试验结果选择敏感的抗菌药物。

已有报道中国多省份耐碳青霉烯类、产OXA-23型碳青霉烯酶、CC92型鲍曼不动杆菌广泛分布^[15-18]。鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类耐药与OXA-23型碳青霉烯酶相关^[19-20]。本研究55株CRAB均同时携带OXA-51型碳青霉烯酶基因和OXA-23型碳青霉烯酶基因。OXA-64组阳性基因经测序均为OXA-51型碳青霉烯酶基因,未检出均其他碳青霉烯酶基因。所有菌株对亚胺培南和美罗培南耐药,说明OXA-23型碳青霉烯酶与亚胺培南和美罗培南耐药密切相关,与有关报道结果一致^[21-24]。55株CRAB中96.4%携带qacE Δ 1基因,提示本院消毒部门应注意选择消毒剂。

参 考 文 献

- [1] Chuang YC, Sheng WH, Lauderdale TL, et al. Molecular epidemiology, antimicrobial susceptibility and carbapenemase resistance determinants among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2014, 47(4): 324-32.

- [2] 汪复, 朱德妹, 胡付品等. 2012年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 321-330.
- [3] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2013年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 369-377.
- [4] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
- [5] 赵书平, 牛淑香, 宗桂珍. 院内痰培养中常见病原菌的耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2014, 8(6): 101-102.
- [6] 王伟, 毛剑锋, 徐伟珍. 大肠埃希菌连续分离株耐药性与季胺类化合物耐药基因研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(3): 247-249.
- [7] 沈继录, 朱德妹, 吴卫红, 等. 革兰阴性杆菌碳青霉烯酶产生与细菌耐药性关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(4): 408-414.
- [8] Brown S, Young HK, Amyes SG. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(1): 15-23.
- [9] Bartual SG, Seifert H, Hippler C, et al. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(9): 4382-4390.
- [10] Dai XT, Sun FJ, Chen ZH, et al. The epidemiology and resistance mechanisms of *Acinetobacter baumannii* isolates from the respiratory department ICU of a hospital in China[J]. Microb Drug Resist, 2014, 20(6): 618-622.
- [11] Munoz-Price LS, Arheart K, Nordmann P, et al. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital[J]. Crit Care Med, 2013, 41(12): 2733-2742.
- [12] Gurung M, Rho JS, Lee YC, et al. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* sequence type 191 in a Korean hospital[J]. Infect Genet Evol, 2013, 19(10): 219-222.
- [13] Farshadzadeh Z, Hashemi FB, Rahimi S, et al. Wide distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in burns patients in Iran[J]. Front Microbiol, 2015, 20(6): 1146.
- [14] Jiang MJ, Liu LJ, Ma YH, et al. Molecular epidemiology of multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in Shandong, China[J]. Front Microbiol, 2016, 21(7): 1687.
- [15] Ruan Z, Chen Y, Jiang Y, et al. Wide distribution of CC92 carbapenem-resistant and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in multiple provinces of China[J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 42(4): 322-328.
- [16] 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.
- [17] Liu X, Chen J, Li H, et al. Study of aminoglycoside drug-resistant gene on the plasmid of *Acinetobacter baumannii*[J]. Chin J Antibiot, 2012, 37(5): 335-337.
- [18] Wang X, Qiao F, Yu R, et al. Clonal diversity of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates revealed by a snapshot study[J]. BMC Microbiol, 2013, 13(1): 234.
- [19] Mosqueda N, Espinal P, Cosgaya C, et al. Nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing a plasmid-encoded OXA-23 in Barcelona, Spain[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(10): 5155-5157.
- [20] Runnegar N, Sidjabat H, Goh HM, et al. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a single institution over a 10-year period[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 4051-4056.
- [21] Chusri S, Chongsuvivatwong V, Rivera JI, et al. Molecular epidemiology and spatiotemporal analysis of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a tertiary care hospital in southern Thailand[J]. J Hosp Infect, 2017, 95(1): 53-58.
- [22] Rodriguez CH, Balderrama Yaruhui N, Nastro M, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in South America[J]. J Med Microbiol, 2016, 65(10): 1088-1091.
- [23] Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, et al. Rapid discrimination of *Acinetobacter baumannii* international clone II lineage by pyrosequencing SNP analyses of bla (OXA-51-like) genes[J]. J Microbiol Methods, 2013, 94(2): 121-124.
- [24] Zheng YL, Wan YF, Zhou LY, et al. Risk factors and mortality of patients with nosocomial carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia[J]. Am J Infect Control, 2013, 41(7): 59-63.

(收稿日期: 2016-12-18)

(本文编辑: 孙荣华)

吴海燕, 谭斌, 张志军, 等. 某院院内耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌分子流行病学研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2017, 11(2): 162-167.