

• 论 著 •

## 多重耐药鲍曼不动杆菌氨基糖苷类耐药基因的研究\*

马云华<sup>1</sup>, 张志军<sup>2</sup>, 苏芬<sup>3</sup>, 吴海燕<sup>4△</sup>

(1. 山东省济宁市邹城市人民医院检验科 273500; 2. 山东省泰安市中心医院检验科 271000; 3. 山东省潍坊市人民医院检验科 261000; 4. 山东省泰安市中心医院重症医学科 271000)

**摘要:**目的 调查山东省潍坊市人民医院临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌氨基糖苷类耐药基因的流行情况,为院内感染控制提供依据。方法 采用 VITEK2 全自动微生物仪对 2013 年 11 月 26 日至 12 月 12 日山东省潍坊市人民医院临床分离的 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌进行细菌鉴定和药敏试验,部分抗菌药物的敏感度检测采用纸片扩散法。聚合酶链反应检测氨基糖苷类耐药基因,对部分阳性基因进行测序。结果 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌中,2 株 aac(3)-I 基因阳性,3 株 ant(3'')-I 基因阳性,3 株 aac(6')-I 基因阳性,9 株 armA 基因阳性。所有菌株对氨基糖苷类抗菌药物阿米卡星、庆大霉素和妥布霉素耐药。5 株标本来源于重症监护病房,3 株标本来源于神经外科病房。所有标本来源于痰液。结论 该院这段时间分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对阿米卡星、庆大霉素和妥布霉素同时耐药与携带 armA 氨基糖苷类耐药基因有关。院感部门应重点监测重症监护病房和神经外科病房多重耐药鲍曼不动杆菌引起的院内感染。

**关键词:**多重耐药; 鲍曼不动杆菌; 氨基糖苷类耐药基因; 标本分布

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.02.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)02-0151-03

Study on the aminoglycoside resistance gene of nosocomial multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*\*MA Yunhua<sup>1</sup>, ZHANG Zhijun<sup>2</sup>, SU Fen<sup>3</sup>, WU Haiyan<sup>4△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital, Zoucheng, Shandong 273500, China;  
2. Department of Clinical Laboratory, the Central Hospital of Taian, Taian, Shandong 271000, China;  
3. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital, Weifang, Shandong 261000, China;  
4. Intensive Care Unit, Central Hospital of Taian, Taian 271000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the prevalence of aminoglycoside resistance gene in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in clinical at a certain time, and to provide the basis for the control of nosocomial infection. **Methods** 9 strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* were isolated in First People's Hospital of Weifang from November 26, 2013 to December 12, 2013. Identification of bacteria and susceptibility testing were conducted by VITEK2, and partial antimicrobial drug susceptibility tests were performed by the disk diffusion method. Aminoglycoside resistance genes were detected by PCR and the positive genes were partly sequenced. **Results** Among the 9 strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, 2 strains carried aac(3)-I gene, 3 carried ant(3'')-I gene, 3 carried aac(6')-I gene. And armA gene was positive in 9 strains. All strains were resistant to aminoglycosides, such as amikacin, gentamicin and tobramycin. There were 5 specimens isolated in ICU, while 3 specimens were isolated in neurosurgery ward. All specimens were separated from sputum. **Conclusion** Antimicrobial resistance to aminoglycosides of *Acinetobacter baumannii* isolated in the hospital during this time was related to aminoglycoside resistance gene. Nosocomial infection caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in ICU and neurosurgery ward should be vigorously monitored.

**Key words:** multidrug-resistant; *Acinetobacter baumannii*; aminoglycoside resistance gene; distribution of specimens

鲍曼不动杆菌是医院感染常见病原菌之一,有报道,鲍曼不动杆菌主要分布在重症监护病房<sup>[1-2]</sup>。近年来,由于临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类抗菌药物耐药率增加,已给临床治疗多重耐药鲍曼不动杆菌引起的感染带来了很大的困难。本研究对 2013 年 11 月 26 日至 12 月 12 日临床分离的 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌的标本分布及氨基糖苷类耐药基因的流行情况进行研究,分析临床分离的多重耐药鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类抗菌药物耐药的原因,现将情况报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 收集 2013 年 11 月 26 日至 12 月 12 日山东省潍坊市人民医院住院患者标本中分离出的 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌,其中 5 株来自重症监护病房患者的痰标本,3 株来自神经外科病房患者的痰标本,1 株来自神经内科病房患者的痰标本。所有痰标本经涂片镜检均判断为合格。

**1.2 细菌鉴定及药敏试验** 采用 VITEK2 全自动细菌鉴定及药敏仪,GN 卡进行细菌鉴定,GN13 卡进行药敏试验,用纸片扩散法检测头孢哌酮/舒巴坦等抗菌药物的敏感度。

\* 基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2013HM009)。

作者简介:马云华,男,主管技师,主要从事临床微生物检验方面的研究。△ 通信作者,E-mail:why\_wuhaiyan@126.com。

**1.3 耐药基因检测** 采用聚合酶链反应,用煮沸法提取细菌 DNA。氨基糖苷类耐药基因引物参照文献[3-4]。

**1.4 DNA 测序** 对部分阳性基因进行测序,聚合酶链反应产物送上海桑尼生物科技有限公司进行测序,测序结果在 Gen-Bank 网上查询。

## 2 结 果

**2.1 抗菌药物敏感度试验结果** 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌对头孢他啶、头孢曲松、左氧氟沙星、环丙沙星、头孢吡肟、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢噻肟、阿米卡星、妥布霉素和庆大霉素都耐药。有 1 株多重耐药鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南敏感,8 株耐药。有 1 株多重耐药鲍曼不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦耐药,8 株中介。有 5 株多重耐药鲍曼不动杆菌对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑耐药,4 株敏感。有 2 株多重耐药鲍曼不动杆菌对米诺环素敏感,3 株中介,4 株耐药。

**2.2 氨基糖苷类耐药基因检测结果及测序结果** 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌中,2 株 *aac(3)-I* 基因阳性(见图 1),3 株 *ant(3'')-I* 基因阳性(见图 2),3 株 *aac(6')-I* 基因阳性(见图 3),9 株 *armA* 基因阳性(见图 4)。

**2.3 多重耐药鲍曼不动杆菌标本分布及来源** 2013 年 11 月 26 日至 12 月 12 日临床分离的 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌中,5 株来源于重症监护病房,3 株来源于神经外科病房,1 株来自神经内科病房。所有标本来源于下呼吸道痰液。



图 1 *aac(3)-I* 基因聚合酶链反应产物电泳图

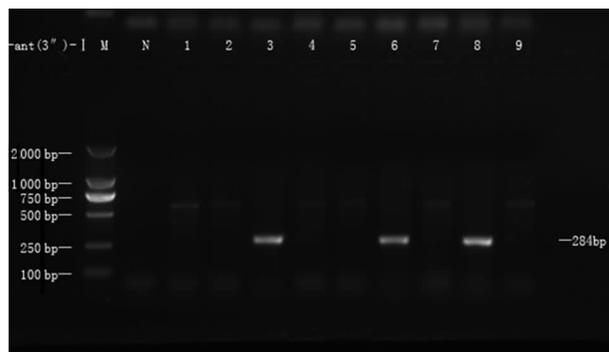


图 2 *ant(3'')-I* 基因聚合酶链反应产物电泳图



图 3 *aac(6')-I* 基因测序结果



图 4 *armA* 基因测序结果

## 3 讨 论

鲍曼不动杆菌已是该院临床重要的病原菌之一。有报道,鲍曼不动杆菌主要分布在重症监护病房<sup>[5-7]</sup>。山东省潍坊市人民医院细菌耐药监测结果显示,2012 年临床分离出 767 株鲍曼不动杆菌中,多重耐药鲍曼不动杆菌 402 株(52.4%),鲍曼不动杆菌分离率位于临床分离病原菌中的第 1 位。2013 年临床分离出 657 株鲍曼不动杆菌,其中多重耐药鲍曼不动杆菌 320 株(48.7%),鲍曼不动杆菌分离率位于临床分离病原菌中的第 4 位。2014 年临床分离出 707 株鲍曼不动杆菌,其中多重耐药鲍曼不动杆菌 432 株(61.1%),鲍曼不动杆菌分离率位于临床分离病原菌中的第 3 位。山东省潍坊市人民医院 2013 年 11 月 26 日至 12 月 12 日临床分离的 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌中,5 株来源于重症监护病房,3 株来源于神经外科病房,这与胡美春等<sup>[8]</sup>报道的鲍曼不动杆菌感染大多以重症监护病房和神经外科较为突出相同。本研究中的 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌都来自患者的痰液,对这 9 例患者进行回顾性分析发现,其都具有感染症状,说明多重耐药鲍曼不动杆菌主要引起呼吸道感染。

本研究药敏结果显示,9 株多重耐药鲍曼不动杆菌中,仅 1 株多重耐药鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南敏感,其余菌株耐药。有 1 株多重耐药鲍曼不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦耐药,8 株中介。有 5 株多重耐药鲍曼不动杆菌对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑耐药,4 株敏感。有 2 株多重耐药鲍曼不动杆菌对米诺环素敏感,3 株中介,4 株耐药。对其余 11 种抗菌药物头孢他啶、头孢曲松、左氧氟沙星、环丙沙星、头孢吡肟、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢噻肟、阿米卡星和庆大霉素的耐药率都高于非重症监护病房分离的鲍曼不动杆菌的耐药率。山东省潍坊市人民医院细菌耐药检测结果显示,重症监护病房分离的鲍曼不动杆菌对临床常用抗菌药物的耐药也显著高于儿科等非重症监护病房分离的鲍曼不动杆菌的耐药率。因此,临床医生在治疗重症监护病房和神经外科病房的患者因鲍曼不动杆菌引起的感染时,必须根据药敏试验结果选用抗菌药物。刘薇等<sup>[9]</sup>报道,重症监护病房分离的鲍曼不动杆菌对亚胺培南、美罗培南、头孢他啶、左氧氟沙星、环丙沙星、头孢吡肟、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢噻肟、阿米卡星和庆大霉素的耐药率都高于非重症监护病房分离的鲍曼不动杆菌的耐药率。因此,临床医生应了解主要病原菌的分布及耐药性,以提高经验用药的准确性。

Galimand 等<sup>[10]</sup>报道,细菌对氨基糖苷类抗菌药物产生耐药是因为产 AMEs 和氨基糖苷类抗菌药物作用靶位 16S rRNA 基因突变所致。本研究 9 株多重耐药鲍曼不动杆菌中,有 2 株同时携带 4 种氨基糖苷类耐药基因[*aac(3)-I*、*ant(3'')-I*、*aac(6')-I*、*armA*],有 1 株同时携带 3 种氨基糖苷类耐药基因[*ant(3'')-I*、*aac(6')-I*、*armA*],有 6 株仅检出氨基糖苷类耐药基因 *armA*。6 株仅检出氨基糖苷类耐药基因 *armA* 的多重耐药鲍曼不动杆菌对阿米卡星、妥布霉素(下转第 156 页)

涉及抑制肿瘤增殖及其侵袭转移等,而应用肝癌抗肿瘤分子机制探讨则少见报道。本研究显示,当归贝母苦参丸加味方发挥对 H22 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用与下调 MMP13、bFGF mRNA 和蛋白的表达。

参考文献

[1] Mcglynn KA, Petrick JL, London WT. Global epidemiology of hepatocellular carcinoma: an emphasis on demographic and regional variability[J]. Clin Liver Dis, 2015, 19(2): 223-238.

[2] Wallace MC, Preen D, Jeffrey GP, et al. The evolving epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global perspective[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2015, 9(6): 765-779.

[3] Umemura T, Ichijo T, Yoshizawa K, et al. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan[J]. J Gastroenterol, 2009, 44(19): 102-107.

[4] Shu X, Mcculloch M, Xiao H, et al. Chinese herbal medicine and chemotherapy in the treatment of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Integr Cancer Ther, 2005, 4(3): 219-229.

[5] 师金凤, 李海龙, 王红蕾, 等. 当归贝母苦参丸含药血清对胃癌细胞 SGC-7901 侵袭转移能力和周期的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 10: 30-33.

[6] 闫德祺, 白雪峰, 刘群才. 加味当归贝母苦参丸辅助经肝动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌临床研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 5(5): 33-36.

[7] Yan DQ, Liu YQ, Li YD, et al. Tumor inhibition effects and mechanisms of Angelica sinensis and Sophorae flavescens ait decoction combined with cisplatin in xenograft mice[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(11): 4609-4615.

[8] El-Assal ON, Yamanoi A, Ono T, et al. The clinicopathological significance of heparanase and basic fibroblast growth factor expressions in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(5): 1299-1305.

[9] Imura S, Miyake H, Izumi K, et al. Correlation of vascular endothelial cell proliferation with microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in hepatocellular carcinoma[J]. J Med Invest, 2004, 51(3/4): 202-209.

[10] Sun B, Xu H, Zhang G, et al. Basic fibroblast growth factor upregulates survivin expression in hepatocellular carcinoma cells via a protein kinase B-dependent pathway [J]. Oncol Rep, 2013, 30(1): 385-390.

[11] Yang B, Gao J, Rao Z, et al. Clinicopathological significance and prognostic value of MMP-13 expression in colorectal cancer[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2012, 72(6): 501-505.

[12] 侯文权, 周凌云, 侯文锋, 等. 原发性肝癌患者 VEGF、MMP-13、SF 和 BXTM 联合检测的临床研究[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(17): 1842-1843.

[13] 任雪霞, 徐正府, 黄介飞, 等. MMP-13 及 MMP-13 mRNA 在人肝细胞肝癌及癌旁组织中的表达[J]. 江苏医药, 2009, 35(1): 44-46.

[14] 徐正府, 任雪霞, 黄介飞, 等. MMP-13 及 p38 MAPK 在肝细胞癌侵袭和转移中的作用[J]. 苏州大学学报(医学版), 2008, 28(6): 966-969.

[15] 郑会聪, 沈波, 聂玉强, 等. 原发性肝癌中 MMP-9、MMP-13 和 TIMP-3 的表达及意义[J]. 广东医学, 2013, 34(13): 1995-1998.

(收稿日期: 2016-09-11 修回日期: 2016-10-30)

(上接第 152 页)

和庆大霉素都耐药,说明氨基糖苷类耐药基因 armA 与阿米卡星、妥布霉素和庆大霉素耐药密切相关。因此,应加强重症监护病房和神经外科病房耐药菌的监测,以预防和控制多重耐药鲍曼不动杆菌引起的院内感染。

参考文献

[1] 谢强, 曹明杰, 王金丽, 等. 34 株鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(15): 2112-2113.

[2] 宋彩虹, 陆水英, 张秀瑜, 等. 鲍曼不动杆菌临床分离株的耐药性及同源性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(2): 161-164.

[3] 植志全, 何志恒, 江鹏, 等. 多重耐药绿脓假单胞菌 β 内酰胺类氨基糖苷类耐药相关基因研究[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(11): 1211-1214.

[4] 杨银梅, 叶惠芬, 张伟红, 等. 臭鼻克雷伯和鲍曼不动杆菌中检出 NDM-1 型金属 β 内酰胺酶基因[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1407-1409.

[5] 陆德胜. 重症监护病房病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(8): 1026-1028.

[6] 刘和艳. 鲍曼不动杆菌感染情况及耐药性监测[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 229-231.

[7] 王磊, 宋立强, 徐修礼, 等. 我院 2009—2011 年重症监护病房病原菌分布及耐药性分析[J]. 临床合理用药杂志, 2013, 6(3): 28-30.

[8] 胡美春, 杨西宁, 韦柳青, 等. 鲍氏不动杆菌医院感染流行病学调查及对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(7): 1523-1525.

[9] 刘薇, 李禄俊, 龙云, 等. 2012 年某院鲍曼不动杆菌感染分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(5): 576-577.

[10] Galimand M, Gerbaud G, Courvalin P. Spectinomycin resistance in Neisseria spp. due to mutations in 16S rRNA [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(5): 1365-1366.

(收稿日期: 2016-09-06 修回日期: 2016-10-25)