

## · 烧伤感染与免疫 ·

## 烧伤病房鲍氏不动杆菌耐药性趋势和同源性分析

孙珍 向军 宋菲 邰京宁



**【摘要】** 目的 监测烧伤病房鲍氏不动杆菌耐药性趋势和同源性情况。方法 收集 2008 年 11 月—2009 年 2 月、2010 年 6—9 月笔者单位住院烧伤患者创面、血液和静脉导管分离的鲍氏不动杆菌 26 株,采用 K-B 纸片扩散法检测该菌对阿米卡星、庆大霉素等 13 种临床常用抗生素的耐药性,用重复序列 PCR 法检测基因型。对细菌耐药率数据进行  $\chi^2$  检验。结果 (1) 26 株鲍氏不动杆菌中多药耐药菌株 16 株、泛耐药菌株 9 株,菌株对庆大霉素、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、环丙沙星、亚胺培南和美罗培南的耐药率均高达 90.00% 以上;对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率最低,为 42.31% (11/26)。26 株鲍氏不动杆菌对 13 种抗生素的耐药率比较,差异有统计学意义 (42.31% ~ 100.00%,  $\chi^2 = 97.371$ ,  $P < 0.05$ )。 (2) 26 株鲍氏不动杆菌共分为 7 个基因型: A 型 17 株, B 型 3 株, C 型 2 株, D、E、F、G 型各 1 株。17 株 A 型菌株中, 2008、2009 年各 1 株, 2010 年 15 株; 创面来源 11 株、血液和静脉导管来源共 6 株。结论 笔者单位烧伤病房近年来存在鲍氏不动杆菌同一克隆株 A 型的流行, 对临床常用抗生素呈多药耐药或泛耐药趋势。目前头孢哌酮/舒巴坦是治疗烧伤患者鲍氏不动杆菌感染的首选药物。

**【关键词】** 烧伤; 鲍氏不动杆菌; 基因型; 抗菌药; 抗药性; 重复序列 PCR

#### Drug-resistance of *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wards and analysis of homogeneity

SUN Zhen, XIANG Jun, SONG Fei, HUAN Jing-ning. Department of Burns and Plastic Surgery, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Corresponding author: HUAN Jing-ning, Email: jnhuan@yahoo.com, Tel: 021-64374116

**【Abstract】 Objective** To monitor genotypes and drug-resistance trend of *Acinetobacter baumannii* (AB) isolated from burn wards. **Methods** Twenty-six strains of AB isolated from wound secretion, venous catheter, and blood were collected from burn patients hospitalized in our burn wards from November 2008 to February 2009, and June to September 2010. Homogeneous genotype analysis was performed with repetitive extragenic palindromic PCR, and drug-resistance rate to 13 antibiotics including amikacin, gentamicin, etc., which were commonly used in clinic, was tested by K-B paper disk diffusion. The data of drug-resistance rate were processed with chi-square test. **Results** (1) Sixteen AB strains were multi-drug resistant (MDR), 9 AB strains were pan-drug resistant (PDR). Among all strains, the resistance rate to gentamicin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, ciprofloxacin, imipenem, and meropenem was respectively higher than 90.00%; the resistance rate against cefoperazone/sulbactam was the lowest (11/26, 42.31%). There were obvious difference among the drug-resistance rates of AB strains to 13 antibiotics (with rates from 42.31% to 100.00%,  $\chi^2 = 97.371$ ,  $P < 0.05$ ). (2) There were 7 genotypes among 26 AB strains, respectively type A (17), type B (3), type C (2), type D (1), type E (1), type F (1), and type G (1). Out of the 17 AB strains in A genotype, 1 strain was from 2008, 1 strain was from 2009, 15 strains were from 2010, and among them 11 strains were collected from wound secretion and 6 strains were obtained from blood and venous catheter. **Conclusions** AB strains in A genotype are dominant in our burn wards in recent years, which are MDR or PDR to commonly used antibiotics. Cefoperazone/sulbactam is the drug of choice for burn patients with AB infection.

**【Key words】** Burns; *Acinetobacter baumannii*; Genotype; Anti-bacterial agents; Drug resistance; Repetitive extragenic palindromic polymerase chain reaction

鲍氏不动杆菌是目前烧伤病房的优势菌种之

一<sup>[1]</sup>,其耐药率逐年上升<sup>[2]</sup>。多药耐药和泛耐药鲍氏不动杆菌成为烧伤病房的流行菌株<sup>[3]</sup>,由于缺乏有效的抗菌药物,治疗极其困难。泛耐药鲍氏不动杆菌的感染多为院内交叉感染,烧伤病房是其感染高危病区之一。笔者应用重复序列 PCR 法对鲍氏

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2011.02.004

作者单位: 200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院烧伤整形科

通信作者: 邰京宁, Email: jnhuan@yahoo.com, 电话: 021-64374116



不动杆菌进行同源性研究,了解鲍氏不动杆菌感染在烧伤病房的流行情况,并检测其耐药性以指导临床合理用药。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

收集 2008 年 11 月—2009 年 2 月及 2010 年 6—9 月笔者单位住院烧伤患者创面来源和血源性(血液和静脉导管)鲍氏不动杆菌(经鉴定)26 株,剔除同一患者同一来源的重复菌株。其中 2008 年创面来源 2 株,2009 年创面来源与血源性分别为 1、2 株,2010 年创面来源与血源性分别为 14、7 株。质控标准菌株:铜绿假单胞菌 ATCC 27853 与鲍氏不动杆菌 ATCC 19606,分别购自上海市临床检验中心与上海三踏生物科技有限公司。

### 1.2 主要试剂与仪器

药物敏感试验培养基购自英国 Oxoid 公司,引物由上海生工生物工程技术有限公司生产,Taq 酶购自天根生化科技(北京)有限公司。抗生素纸片购自英国 Oxoid 公司,血平板和 Vitek 型全自动细菌鉴定仪购自法国生物梅里埃公司,CO<sub>2</sub> 培养箱购自德国 Heraeus 公司,PCR 扩增仪购自德国 Eppendorf 公司,凝胶电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司,凝胶成像系统购自上海天能科技有限公司。

### 1.3 药物敏感试验

采用 K-B 纸片扩散法测定鲍氏不动杆菌对庆大霉素、阿米卡星等 13 种常用抗生素的敏感性,结果判定参照美国临床实验室标准化协会标准。

### 1.4 重复序列 PCR 法检测基因分型

**1.4.1 基因检测** 煮沸法提取细菌 DNA,制备基因检测模板液。用重复序列 PCR 法进行基因分型。参照文献[4]设计引物,上游引物:5'-IIIIGCGCCG-CATCAGGC-3',下游引物:5'-ACGTCTTATCAGGCCTAC-3'。PCR 扩增体系:总反应体积中含 2 倍 Taq Master Mix 12.5 μL,上、下游引物各为 16 pmol,模板液 5 μL,去离子水补至 25 μL。扩增条件:95 °C 预变性 3 min,90 °C 变性 30 s,45 °C 退火 1 min,65 °C 延伸 8 min,30 个循环,最后 65 °C 延伸 16 min。

**1.4.2 DNA 同源性分析** 取 20 μL 扩增产物进行 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳,超过 1 条 PCR 条带不同即被认为属于不同基因型。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件对鲍氏不动杆菌耐药率数据进行  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 鲍氏不动杆菌耐药情况

1 株鲍氏不动杆菌为敏感菌株,对大多数抗生素敏感;16 株为多药耐药菌株;9 株为泛耐药菌株。26 株鲍氏不动杆菌对庆大霉素、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、环丙沙星、亚胺培南和美罗培南的耐药率均高达 90.00% 以上,对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率最低。鲍氏不动杆菌对各种抗生素的耐药率比较,差异有统计学意义( $\chi^2=97.371, P<0.05$ )。见表 1。

表 1 烧伤患者鲍氏不动杆菌的耐药情况[株(率, %)]

| 抗菌药物      | 敏感       | 中度敏感      | 耐药         |
|-----------|----------|-----------|------------|
| 庆大霉素      | 1(3.85)  | 0(0.00)   | 25(96.15)  |
| 阿米卡星      | 4(15.38) | 0(0.00)   | 22(84.62)  |
| 氨苄西林/舒巴坦  | 2(7.69)  | 5(19.23)  | 19(73.08)  |
| 哌拉西林      | 0(0.00)  | 2(7.69)   | 24(92.31)  |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 1(3.85)  | 1(3.85)   | 24(92.31)  |
| 头孢唑啉      | 1(3.85)  | 0(0.00)   | 25(96.15)  |
| 头孢噻肟      | 0(0.00)  | 0(0.00)   | 26(100.00) |
| 头孢他啶      | 0(0.00)  | 1(3.85)   | 25(96.15)  |
| 头孢哌酮/舒巴坦  | 4(15.38) | 11(42.31) | 11(42.31)  |
| 头孢吡肟      | 1(3.85)  | 0(0.00)   | 25(96.15)  |
| 环丙沙星      | 1(3.85)  | 0(0.00)   | 25(96.15)  |
| 亚胺培南      | 2(7.69)  | 0(0.00)   | 24(92.31)  |
| 美罗培南      | 1(3.85)  | 1(3.85)   | 24(92.31)  |

注:鲍氏不动杆菌对各种抗菌药物耐药率比较,  $P<0.05$

### 2.2 基因分型

26 株鲍氏不动杆菌分为 7 个基因型,其中 A 型 17 株, B 型 3 株, C 型 2 株, D、E、F、G 型均各为 1 株。见图 1。



注: M. marker; 2、4、6~15、17、20、23、24 和 26 基因型为 A 型; 16、18、21 基因型为 B 型; 1、3 基因型为 C 型; 5、19、22、25 基因型分别为 D、E、F、G 型; 27. 鲍氏不动杆菌标准菌株; 28. 空白对照

图 1 鲍氏不动杆菌基因分型 PCR 电泳图

17 株 A 型菌株中 2008、2009 年各 1 株, 2010 年 15 株; 创面来源 11 株、血源性 6 株。结合药物敏感试验结果分析, A 型菌株中 6 株为泛耐药菌株; 11 株多药耐药菌株中 2 株对氨苄西林/舒巴坦和头孢哌酮/舒巴坦均敏感, 2 株对氨苄西林/舒巴坦和头孢哌酮/舒巴坦均中度敏感, 7 株仅对头孢哌酮/舒巴坦中度敏感。

### 3 讨论

本研究 26 株鲍氏不动杆菌中 17 株 A 型菌的年份分布提示,笔者单位烧伤病房多年来存在鲍氏不动杆菌为同一克隆株 A 型的流行。本烧伤病房在 2008 年年底经过一次搬迁,鲍氏不动杆菌流行株可能通过患者从旧病房流传到新病房;2010 年短期内分离到 21 株鲍氏不动杆菌,说明该菌在笔者单位有暴发流行趋势。17 株 A 型菌株中创面来源 11 株、血源性 6 株,提示烧伤患者鲍氏不动杆菌创面和血源性感染基本为同一流行株,鲍氏不动杆菌存在院内交叉感染。而 17 株流行菌株中 6 株泛耐药,其余为多药耐药,提示治疗和控制感染面临极大困难。

A 型血源性鲍氏不动杆菌菌株中,2 株为血液来源的泛耐药菌株,4 株为静脉导管来源的泛耐药或多药耐药菌株,而 2 例血培养为 A 型菌株的患者均因全身侵袭性感染死亡。鲍氏不动杆菌可通过创面、胃肠道等移位引起内源性感染,或通过外界置入静脉导管等引起外源性感染,其中以静脉导管感染可能性最大。严重烧伤患者由于治疗的需要,长时间静脉置管,静脉导管相关性感染发生率高,这可能和鲍氏不动杆菌在血管内易形成生物膜,并且耐药菌株在血管内形成生物膜的能力和厚度均大于普通菌株<sup>[5]</sup>有关。2010 年采集的 21 株鲍氏不动杆菌中有 7 株来源于血液和静脉导管,警示医务人员一定要遵循无菌操作原则,烧伤病房必须采取切实有效的防控措施,以控制耐药菌株的医源性感染。

鲍氏不动杆菌对庆大霉素、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢呋辛、头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、环丙沙星、亚胺培南和美罗培南的耐药率均高达 90.00% 以上,这与文献报道鲍氏不动杆菌对广谱  $\beta$  内酰胺类、碳青霉烯类和氟喹诺酮类药物耐药率明显增加相一致<sup>[6]</sup>。20 世纪 90 年代,亚胺培南是治疗鲍氏不动杆菌感染的最有效药物之一。但近年来随着碳青霉烯类抗生素的过度使用,鲍氏不动杆菌感染呈不断上升趋势,对碳青霉烯类抗生素的耐药性也明显增加。笔者单位 2006 年鲍氏不动杆菌对碳青霉烯类抗生素的耐药率为 48.2%,2008 年时上升至 80.3%<sup>[3]</sup>,本研究结果显示已上升至 92.31%。鲍氏不动杆菌可产生能水解碳青霉烯类的  $\beta$  内酰胺酶,从而对该类抗生素耐药,使之不再是治疗鲍氏不动杆菌感染的有效药物。本研究结果显示,鲍氏不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率最

低,仅为 42.31%。舒巴坦是酶抑制剂,能够直接不可逆地结合不动杆菌中的青霉素结合蛋白,从而直接杀灭细菌<sup>[7]</sup>,而且舒巴坦对部分碳青霉烯类抗生素耐药鲍氏不动杆菌也有良好抗菌活性<sup>[8]</sup>。有文献报道,碳青霉烯类抗生素耐药鲍氏不动杆菌对甘氨酸环素类抗生素——替加环素的体外试验敏感率为 100%<sup>[9]</sup>。此外研究显示,多黏菌素、米诺环素或替加环素联合阿米卡星均对多药耐药鲍氏不动杆菌有良好的抗菌活性<sup>[6]</sup>,但其临床疗效尚需验证。

本研究由于病例数不多,采集标本量有限,研究结果可能有一些局限性。除与抗生素选择性压力有关外,造成多药耐药和泛耐药鲍氏不动杆菌临床流行的原因很多,耐药性趋势也会发生变化,有待于更进一步的临床研究。

### 参考文献

- [1] 王文奎,韩立中,杨莉,等. 2004—2006 年瑞金医院烧伤病房病原菌分布及分子流行病学分析. 中华烧伤杂志,2009,25(2):94-97.
- [2] 于沁,刘嘉琳,谭若铭,等. 瑞金医院重症监护病房和烧伤病房鲍曼不动杆菌的流行病学监测和分析. 诊断学理论与实践,2009,8(5):487-491.
- [3] 王辉,孙宏莉,宁永忠,等. 不动杆菌属多重耐药及泛耐药的分子机制研究. 中华医学杂志,2006,86(1):17-22.
- [4] Snelling AM, Gerner-Smidt P, Hawkey PM, et al. Validation of use of whole-cell repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR (REP-PCR) for typing strains belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex and application of the method to the investigation of a hospital outbreak. J Clin Microbiol, 1996,34(5):1193-1202.
- [5] 向军,孙珍,宋菲,等. 烧伤患者深静脉导管细菌生物膜的形成及意义. 中华烧伤杂志,2010,26(2):95-99.
- [6] 张小江,徐英春,俞云松,等. 2009 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌细菌耐药性监测. 中国感染和化疗杂志,2010,10(6):441-446.
- [7] Rafailidis PI, Ioannidou EN, Falagas ME. Ampicillin/sulbactam: current status in severe bacterial infections. Drugs, 2007, 67(13):1829-1849.
- [8] Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). Clin Microbiol Infect, 2006, 12(4):315-321.
- [9] 张小江,徐英春,原英,等. 替加环素等 14 种抗菌药物对多重耐药菌的体外抗菌活性研究. 中国感染与化疗杂志,2009,9(5):365-368.

(收稿日期:2010-12-13)

(本文编辑:谢秋红)