文章编号:2095 - 1116(2013)01 - 0075 - 03 ·临床医学·

衡阳地区鲍曼不动杆菌基因分型及医院感染分布情况

段 飞
(南华大学附属第一医院检验科,湖南 衡阳 421001)

摘 要: **目的** 研究鲍曼不动杆菌医院感染分子流行病学的情况,为控制医院感染提供直接、可靠的参考依据。 **方法** 对衡阳地区 2011 年 1 月 ~ 12 月临床送检 18 000 份标本中分离出的 480 例鲍曼不动杆菌的药敏试验结果等进行回顾性分析,了解鲍曼不动杆菌医院感染现状;建立随机扩增多态性 DNA(RAPD)基因分型方法对其中 140 株多重耐药鲍曼不动杆菌进行基因分型。 **结果** 480 例鲍曼不动杆菌标本主要来自 ICU、呼吸内科、烧伤科等;标本分布以痰标本最高占 65.0%,其次为伤口分泌物标本占 20.0%,中段尿 10.0%,其它类型标本占 5.0%;480 株鲍曼不动杆菌的多重耐药情况非常严重,对亚胺培南/美罗培南耐药率分别为 36.0% 和 38.0%,对其它大多数抗菌药物的耐药率为 80% 以上;140 株多重耐药鲍曼不动杆菌用 RAPD 分型方法分为 8 种类型:A ~ H,其中 A、B、C 3 型共占 70.0%。 **结论** 鲍曼不动杆菌耐药性呈上升趋势,且具有多重耐药性;衡阳地区医院感染多重耐药鲍曼不动杆菌可能存在院内的克隆传播。

关键词: 鲍曼不动杆菌; 医院感染; 随机扩增多态性 DNA; 基因分型
中图分类号:R446.5 **文献标识码:**A

Molecular Epidemiology Study on Hospital Infection and Genotype in Acinetobacter Baumann in Hengyang

DUAN Fei
(*Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan* 421001, *China*)

Abstract: **Objective** To study the molecular epidemiology of Acinetobacter baumann in hospital infection for providing direct and reliable reference of hospital infection control. **Method** Totally 480 strains of Acinetobacter baumann were collected and statistically analyzed. Establish random amplification polymorphism deoxyribonucleic acid (RAPD) Genotyping system to analyze the genotype of 140 strains of Multi-resistance Acinetobacter baumann. **Result** The most specimen were acquired in intensive care unit (ICU), department of respiratory medicine and department of burns and so on. Acinetobacter baumann isolated from sputum specimen is 65.0%, secretion of wound is 20.0% and medistream urine is 10.0%. The resistant rates of Acinetobacter baumannii to meropenem and imipenem were 36.0% and 38.0% respectively, the resistance rate to other antibacterial drugs was above 80%. 140 strains of Multi-resistance Acinetobacter baumann were divided into 8 types(A-H) by RAPD typing. Types A, B and C was above 70%. **Conclusion** Multi-resistance Acinetobacter baumannii is one of the most important pathogens with multiple antibiotic resistances, and nosocomial infection may exist.

Key words: Acinetobacter baumann; nosocomial infection; RAPD; Genotyping

鲍曼不动杆菌是重要的条件致病菌,是一种常见诱发社区和医院感染的重要非发酵菌[1-3]。进行鲍曼不动杆菌的感染现状及分子流行病学研究,对于预防和控制其传播、指导临床感染控制工作,特别是进行传染源和传播途径的追踪调查具有非常重要的意义。本研究将本院 2011 年所检出的 480 株鲍曼不动杆菌的药敏结果及其中 140 例多重鲍曼不动杆菌的基因分型结果报道如下。

收稿日期:2012 - 04 - 20
作者简介:段飞,本科,检验师,研究方向:临床检验,E-mail:dantelliu@163.com.

1 资料与方法

1.1 菌株来源

480 株鲍曼不动杆菌分离于本院 2011 年 1 月～12 月住院患者送检的标本。标本包括痰液、中段尿、伤口分泌物、引流液、血液、脓液等。

1.2 试剂

氨曲南、环丙沙星、头孢吡肟、亚胺培南、头孢他啶、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、庆大霉素药敏纸片均购自 OXOID 公司；随机引物 5′-GTT GGT GGC T-3′，PCR 扩增试剂盒及细菌基因组 DNA 抽提试剂盒均购自上海生工公司，引物由上海生工公司合成。

1.3 培养鉴定

所有分离菌株的培养鉴定严格按照美国国家临床实验室标准委员会（CLSI）标准，采用 BD 全自动微生物鉴定系统对所有收集的菌株进行菌种鉴定。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.4 RAPD 分型

挑取其中 140 株多重耐药鲍曼不动杆菌采用随机扩增多态性 DNA（randomly amplifiled polymorphic DNA，RAPD）基因分型方法进行细菌分子流行病学分型。

1.4.1 细菌 DNA 提取 取培养的纯菌落接种于 5 mL LB 肉汤培养基，恒温水浴 37 ℃，150 r/min 振荡培养，16～24 h 培养至细菌生长对数期。提取细菌基因组 DNA 模板置于 -20 ℃保存备用。

1.4.2 RAPD 基因分型 PCR 反应体系参照上海生工公司 Taq DNA Polymerase 说明。PCR 反应循环：94 ℃ 5 min；94 ℃ 35 s，42 ℃ 30 s，72 ℃ 40 s（30 个循环）；72 ℃ 5 min。PCR 产物电泳，用凝胶成像系统观察 PCR 结果。

2 结 果

2.1 送检标本分布情况

2011 年 1 月～12 月从临床送检 18 000 份标本中其分离出 480 例鲍曼不动杆菌，其在标本中的分布情况是：痰 312 株（65.0%）、伤口分泌物 96 株（20.0%）、尿液 48 株（10.0%）、其它临床标本 24 株（5.0%）。

480 株鲍曼不动杆菌在临床科室的分布情况是：ICU 245 株（51.0%），呼吸内科 56 株（11.7%）、烧伤科 48 株（10.0%）、神经外科 42 株（8.8%）、神经内科 35 株（7.3%），其他科室 54 株（11.2%）。

2.2 480 株鲍曼不动杆菌的药敏结果

480 株鲍曼不动杆菌的多重耐药情况非常严重，对亚胺培南/美罗培南耐药率分别为 36.0% 和 38.0%，对其它大多数抗菌药物的耐药率为 80% 以上，具体见表 1。

表 1 480 株鲍曼不动杆菌的药敏结果（%）

抗生素	耐药	中介	敏感
替卡西林	85.0	5.0	10.0
阿莫西林	98.0	2.0	0.0
替卡西林 + 棒酸	75.0	5.0	20.0
头孢他定	82.0	6.7	11.3
头孢呋辛	92.0	4.0	4.0
阿米卡星	77.0	3.3	19.7
环丙沙星	87.0	2.7	10.3
头孢西丁	91.0	2.0	7.0
头孢噻肟	85.7	0.0	14.3
头孢吡肟	72.3	8.3	19.4
亚胺培南	36.0	5.0	59.0
美罗培南	38.0	10.0	52.0
阿莫西林/棒酸	88.3	1.0	10.7
哌拉西林/三唑巴坦	69.3	0.0	30.7
哌拉西林	90.7	0.0	9.3
复方新诺明	89.3	0.0	10.7
庆大霉素	90.7	0.0	9.3
妥布霉素	85.0	0.0	15.0

2.3 RAPD 分型

挑取其中 140 株多重耐药鲍曼不动杆菌用 RAPD 分型（基因分型的判断标准：以每一分离物的所有可见带具有相同的移动距离定为一型，带的形状、移动的距离不同或所有可见带的移动距离相同但缺少两条带以上定为另一型）共分为 8 种类型：A～H。其中 A 型 48 株，B 型 31 株，C 型 21 株，D 型 14 株，E 型 10 株，F 型 7 株，G 型 6 株和 H 型 3 株。具体见图 1。

3 讨 论

鲍曼不动杆菌是一类生化反应不活跃的革兰阴性细菌，它广泛存在于自然界和人体表面，由于有较强的抵抗力，可在医院环境中长期生存，在机体抵抗力下降或免疫功能受损时易引起各种感染，是目前引起医院内感染的重要病原菌[1-3]。由鲍曼不动杆菌引发的医院感染可涉及各个部位，可引起呼吸道、尿道炎和菌血症等，尤其是医源性肺炎，在重症监护

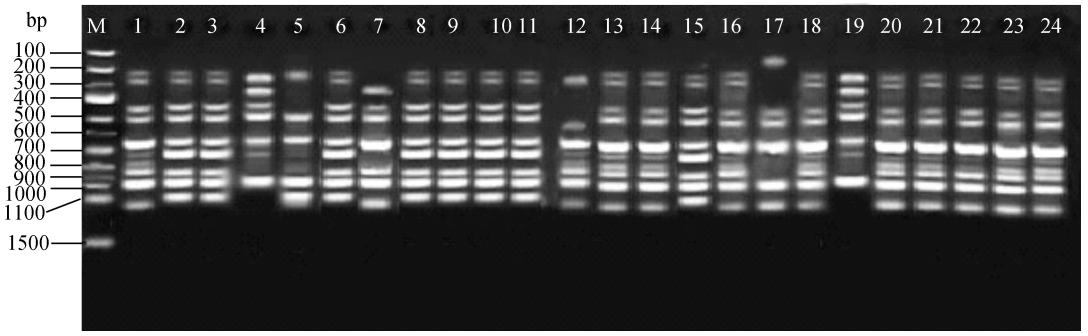

图 1　多重耐药鲍曼不动杆菌基因分型电泳图　1～24：鲍曼不动杆菌多重耐药株；M：marker

室常引起医院感染流行甚至暴发[4]。本研究结果显示，鲍曼不动杆菌最主要来源于痰标本，其次是伤口分泌物标本和泌尿道标本。临床科室分布以 ICU 为最多（占 51.0%），其次为呼吸内科（占 11.7%）和烧伤科（占 10.0%），引起上述现象的主要原因是患者年老体弱，营养不良，导致患者的抵抗力下降；或者合并颅脑外伤及其他系统的疾病；或者患者在住院过程中使用过大量高效广谱抗菌药物、接受各类侵袭性操作，导致易引起多重耐药的条件致病菌感染[1-4]。

由于细菌的耐药性受多种遗传因子的综合影响，耐药谱分型只能作为流行病学调查的筛选，而不宜作为可靠的调查方法，因此单用耐药谱分型是不可靠的[5]。RAPD 技术是在聚合酶链反应基础上建立的揭示基因组多态性的分型方法，该技术的最大特点是不需要预先知道基因组序列，因而具有巨大的应用前景。现已广泛用于细菌等微生物的基因分型，且方法简单易行，可用于分子流行病学调查，追踪传染源；同时由于 RAPD 分型对种和株的分辨率高，可作为鲍曼不动杆菌鉴定和分型的有效手段，可在分子水平上对鲍曼不动杆菌感染提供病原学及流行病学的研究，在早期发现和预防其交叉感染有重要意义[5-6]。本研究结果显示，衡阳地区 2011 年检出的多重耐药鲍曼不动杆菌分为中 8 个基因型，其中主要以 A、B、C 3 型为主，表明本地区医院感染鲍曼不动杆菌可能存在院内的克隆传播。

总之，细菌耐药性特别是鲍曼不动杆菌耐药问题是目前临床抗感染治疗的一个难题，为了减少耐药菌的产生，临床应该要常规监测常见细菌的耐药性和分子流行病学现状，预测细菌耐药性变迁，并合理使用抗生素。

参考文献：

[1] 陈玉玉，刘双全，谢海涛. 鲍曼不动杆菌医院感染的分布特点和耐药性分析[J]. 南华大学学报：医学版，2008，36(1)：96-99.

[2] Le HS，Falcot V，Lacassin F，et al. Risk factors for carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii infections at a tertiary care hospital in New Caledonia，South Pacific[J]. Scand J Infect Dis，2010，42(11/12)：821-826.

[3] Landman D，Butnarius M，Bratu S，et al. Genetic relatedness of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii endemic to New York City[J]. Epidemiol Infect，2009，137(2)：174-180.

[4] Hou PF，Chen XY，Yan GF，et al. Study of the correlation of imipenem resistance with efflux pumps AdeABC，AdeIJK，AdeDE and AbeM in Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii[J]. Chemotherapy，2012，58(2)：152-158.

[5] Bin Dajem SM，Ibrahim EH，Al-Quraishy SA，et al. Fingerprint of Biomphalaria arabica，the intermediate host of Schistosoma mansoni in Saudi Arabia，using RAPD-PCR[J]. Gene，2011，485(2)：69-72.

[6] Karakulska J，Pobucewicz A，Nawrotek P，et al. Molecular typing of Staphylococcus aureus based on PCR-RFLP of coa gene and RAPD analysis[J]. Pol J Vet Sci，2011，14(2)：285-286.

（此文编辑：朱雯霞）