

# 鲍曼不动杆菌医院感染的危险因素及基因分型研究

刘丁 陈萍 陈伟 练向群 俞志海

**【摘要】** 目的 了解鲍曼不动杆菌医院感染现状及危险因素,并证实院内危重病人监护病房(ICU)是否存在由鲍曼不动杆菌同源菌株引起的感染。方法 对重庆市4所医院内由鲍曼不动杆菌引发的院内感染140例患者的危险因素进行1:1病例对照研究,同时将近期内某院ICU分离的鲍曼不动杆菌进行M<sub>13</sub>-PCR扩增分型。结果 研究表明与鲍曼不动杆菌医院感染相关的危险因素依次为病情(OR=8.691)、免疫抑制剂(OR=4.85)、机械通气(OR=3.68)、抗生素使用种类(OR=3.014)。基因分型结果显示从ICU分离的11株鲍曼不动杆菌,其中有5株的基因型完全相同。结论 病情、免疫抑制剂、机械通气和抗生素使用种类为鲍曼不动杆菌医院感染危险因素,院内ICU存在多重耐药鲍曼不动杆菌的感染,应加以控制。

**【关键词】** 鲍曼不动杆菌;医院感染;危险因素;基因分型;聚合酶链反应

**Study on risk factors and molecular typing of *Acinetobacter baumannii* in nosocomial infections** LIU Ding\*, CHEN Ping, CHEN Wei, LIAN Xiang-qun, YU Zhi-hai. \*Center of Nosocomial Infection, The Daping Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

**【Abstract】 Objective** To study the risk factors of *Acinetobacter baumannii* in nosocomial infections, and to verify the nature of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from intensive care unit (ICU). **Methods** A hundred and forty patients associated with nosocomial infection of *Acinetobacter baumannii* from four teaching hospitals were selected and compared with controls through a case control study to identify risk factors. The strains isolated from the ICU were typed by polymerase chain reaction (PCR) with the primer M<sub>13</sub> following electrophoresis in agarose gel. **Results** The odds ratios (ORs) were: state of the illness (OR = 8.69), using immunosuppressant (OR = 4.85), mechanical ventilation (OR = 3.68) and treatment with 3 kinds of antibiotics (OR = 3.014). Data from PCR studies indicated that these strains were sharing identical band pattern from the five strains. **Conclusion** Risk factors for nosocomial infection with *Acinetobacter baumannii* included state of an illness, immunosuppressant, mechanical ventilation, and treatment with antibiotics. A multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* was identified in ICU.

**【Key words】** *Acinetobacter baumannii*; Nosocomial infection; Risk factors; Molecular typing; Polymerase chain reaction

鲍曼不动杆菌是一种常见的条件致病菌,随着抗生素的广泛使用,其耐药现象日益严重,已成为医院感染的重要病原菌<sup>[1,2]</sup>。为了解鲍曼不动杆菌引起医院感染的现状及危险因素,我们对重庆地区4所医院临床分离的140株鲍曼不动杆菌医院感染现状及危险因素进行了病例对照研究,拟找出引起鲍曼不动杆菌医院感染的危险因素;同时采用M<sub>13</sub>-PCR分型方法,对危重病人监护病房(ICU)分离的11株鲍曼不动杆菌进行基因分型,现报告如下。

## 对象与方法

### 1. 研究对象的来源和选择标准:

(1)病例:来源于重庆市4所教学医院。并符合以下要求:①2000年1月1日至12月31日间确诊为鲍曼不动杆菌医院感染病例140例;②医院感染诊断根据国家卫生部医政司制定的医院感染标准(试行)<sup>[3]</sup>。

(2)对照:按1:1配对方法选择对照,其标准为同期入院(入院时间相差<7天)、同性别、年龄相差±5岁、疾病相似、住同一病房的非医院感染病例140例。

(3)菌株来源:2001年1~6月从我院ICU病房

基金项目:全军青年科研基金课题资助项目(01Q096)

作者单位:400042 重庆,第三军医大学大坪医院感染中心(刘丁、陈萍、陈伟、俞志海),解放军第二〇二医院(练向群)

不同患者的痰、脓液、血液及创面分泌物等临床标本中分离的鲍曼不动杆菌。

2. 资料收集方法 :调查内容包括 :①一般情况 :姓名、性别、年龄、诊断、基础疾病、病情、住院天数 ;②介入性操作 :手术、麻醉、引流、机械通气、泌尿插管、动静脉插管以及其他介入操作等 ;③药物治疗情况 :抗生素使用与种类、免疫抑制药的应用 ;④医院感染情况 :医院感染发生部位及分布、病原菌。

3. 统计分析方法 :采用 SAS 6.12 软件包 ,用 1:1 配比先进行单因素分析 ,分别计算各研究因素的 OR 值和 95% CI ,选出  $P < 0.05$  因素再进行多因素条件 logistic 回归模型分析 ,对相对危险因素进行估计。各因素赋值见表 1。

表1 鲍曼不动杆菌各感染因素赋值

变量	危险因素	赋值
X <sub>1</sub>	ICU	无=0,有=1
X <sub>2</sub>	住院天数	<7=0,7~15=1,15~21=2,≥30=3
X <sub>3</sub>	病情	一般=0,重=1
X <sub>4</sub>	手术	无=0,有=1
X <sub>5</sub>	机械通气*	无=0,有=1
X <sub>6</sub>	其他介入**	无=0,有=1
X <sub>7</sub>	创伤	无=0,有=1
X <sub>8</sub>	免疫抑制剂	无=0,有=1
X <sub>9</sub>	抗生素使用	<7=0,7~15=1,15~21=2,≥30=3
X <sub>10</sub>	抗生素使用种类	无=0,1种=1,2种=2,≥3种=3

\* 其他介入包括 :泌尿插管、动静脉插管、胃管、引流等 ;

\*\* 机械通气包括 :气管插管、鼻导管给氧、气管切开等

4. 试验方法 :

(1)主要试剂 :引物(5'-GAGAATGGCGGTTCT-3')<sup>[4]</sup>、dNTP、Taq DNA 聚合酶、PCR 反应配套试剂及 DNA Marker(100 bp DNA Ladders)均来自上海 Sangon 生物工程有限公司。

(2)主要仪器 :VITEK 细菌鉴定系统(法国 Bio Merieux 公司)、PCR 扩增仪(英国 Eppendorf 公司)、凝胶成像系统(美国 Bio Rad 公司)。

(3)反应体系 :总体积 50 μl,其中 10×PCR 缓冲液 5.0 μl;MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L; dNTP 200 μmol/L;引物 2 μmol/L, DNA 模板(菌悬液) 3 μl;Taq 酶 2.5 U<sup>[4]</sup>。

(4)扩增条件 :94℃ 预变性 4 min,然后 94℃ 变性 30 s,50℃ 退火 60 s,72℃ 延伸 30 s,进行 27 个循

环,最后 72℃ 6 min 后结束反应<sup>[4]</sup>。

(5)产物检测 :PCR 产物在 1.2% 琼脂糖凝胶中,电压 5 V/cm,电泳 1 h 后用凝胶成像仪观察结果。

结 果

1. 鲍曼不动杆菌医院感染情况 :140 例鲍曼不动杆菌感染者感染涉及各个部位,主要以呼吸道(55.35%)、手术切口(12.57%)、泌尿道(9.43%)为主。感染主要分布的科室为 ICU(50.50%)、呼吸科(35.64%)。患者的病种包括创伤、肿瘤、呼吸疾病等。

2. 单因素分析情况 :从单因素分析的结果来看,根据危险因素大小排序依次是病情、ICU、机械通气、其他介入操作、创伤、抗生素使用种类、免疫抑制剂、手术、抗生素使用、住院天数,10 项因素指标 OR 值均较大;与医院感染的发生有显著关系的危险因素,病例组与对照组差异有显著统计学意义( $P < 0.05$ ) (表 2)。

表2 鲍曼不动杆菌医院感染单因素分析

变量	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR 值(95% CI)
X <sub>3</sub>	29.147 70	0.000 1	24.029(7.576 4~76.207 4)
X <sub>1</sub>	28.498 90	0.000 1	12.000(4.819 0~29.881 1)
X <sub>2</sub>	29.528 35	0.000 1	2.862(1.958 6~4.182 3)
X <sub>4</sub>	15.282 28	0.000 1	3.583(1.889 6~6.795 0)
X <sub>7</sub>	7.164 41	0.007 4	7.500(1.715 1~3.490 3)
X <sub>5</sub> *	35.729 00	0.000 1	9.250(1.495 1~19.184 0)
X <sub>6</sub>	30.748 99	0.000 1	8.000(3.836 0~16.683 8)
X <sub>8</sub>	24.067 03	0.000 1	4.750(2.548 8~8.852 1)
X <sub>9</sub>	34.981 31	0.000 1	3.278(2.211 8~4.858 7)
X <sub>10</sub>	32.327 33	0.000 1	5.700(3.128 3~10.385 8)

\* 主要为呼吸道插管

3. 多因素条件 logistic 分析 :多因素经条件 logistic 回归分析结果见表 3。通过对单因素中的危险因素进行 logistic 多因素的分析,发现病情、免疫抑制药、机械通气、抗生素使用种类是鲍曼不动杆菌医院感染产生的独立危险因素( $P < 0.05$ )。

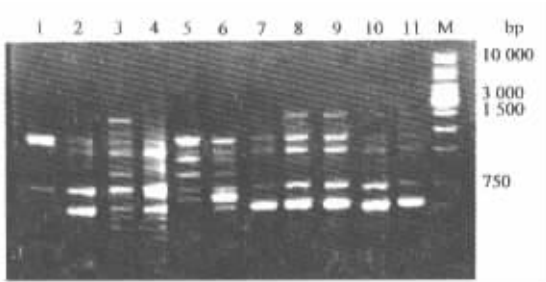
4. 基因分型 :将 ICU 分离的 11 株鲍曼不动杆菌进行 M<sub>13</sub>-PCR 扩增,其结果显示片段数目为 3~

表3 鲍曼不动杆菌医院感染危险因素多因素 logistic 分析

变量	偏回归系数( $\beta_c$ )	标准误( $\beta_k$ )	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR 值(95% CI)
X <sub>3</sub>	2.162 288	0.655 83	10.870 53	0.001 0	8.691(2.403 344~31.428 49)
X <sub>5</sub> *	1.302 846	0.528 86	6.068 76	0.013 8	3.680(1.305 101~10.375 13)
X <sub>8</sub>	1.579 013	0.557 56	8.020 22	0.004 6	4.850(1.626 118~14.466 43)
X <sub>10</sub>	1.103 330	0.371 94	8.799 52	0.003 0	3.014(1.454 013~6.248 444)

\* 同表 2

11 条, 片段大小为 0.2~1.5 kb 之间, 根据条带数目和位置, 按其条带完全相同或只有一条差异者为同一型的分型标准, 可分为 5 个基因型 (A~E), 见图 1。



1. A 型; 2. B 型; 3. C 型; 4. D 型; 5. E 型; 6. E 型; 7~11. E 型; M. 标准

图 1 11 株鲍曼不动杆菌  $M_{13}$ -PCR 电泳图谱

## 讨 论

从本次调查中显示, 鲍曼不动杆菌在 4 所医院中的感染情况大致相似, 常引起肺炎、尿道炎、伤口感染、菌血症等, 其感染不仅涉及部位广, 而且遍及临床各科室, 尤以 ICU 更为常见, 已成为医院感染的重要病原菌。

通过单因素研究表明, 病情、ICU、机械通气、其他介入操作、创伤、抗生素使用种类、免疫抑制剂、手术、抗生素使用、住院天数 10 项因素与其感染相关; 经条件 logistic 回归分析, 病情、免疫抑制药、机械通气、抗生素使用种类 4 种因素是鲍曼不动杆菌医院感染产生的独立危险因素。首先病情的轻重与其感染的发生有关系, 本研究中 140 例病例组中有 85 例患者下了病危通知, 其中 9 例因抢救无效而死亡。一般而言, 病情危重的患者在住院时间、治疗手段、机体免疫力缺损等方面与普通患者存在差异, 使患者极易发生医院感染<sup>[5]</sup>, 因此加强危重病人感染的预防十分重要。其次, 免疫抑制剂应用, 也是鲍曼不动杆菌医院感染的危险因素之一, 由于正常人皮肤、口腔及呼吸道常带有鲍曼不动杆菌<sup>[6]</sup>, 免疫抑制剂的应用降低了机体免疫力, 增加了内源性感染的机会。再次, 机械通气常被认为是引起鲍曼不动杆菌肺炎的重要因素<sup>[6-8]</sup>, 从本次研究可见, 140 例病例中机械通气 88 例 (占 62.85%), 且呼吸道感染高达 55.35%, 进一步证实了该因素在此类感染中的作用。此外, 多种类抗生素的使用也增加了鲍曼不动杆菌的感染。有研究表明, 鲍曼不动杆菌存在复杂

的耐药机制<sup>[6]</sup>, 临床上各种新广谱抗生素的使用, 在治愈原发感染的同时由于选择性压力也增加了严格需氧的鲍曼不动杆菌的双重感染机会, 合理的选用抗菌药物显得十分重要。

通过对 9 例 ICU 患者中分离的 11 株鲍曼不动杆菌基因分型比较, 结果可分为 5 个型, 其中 A、B 型为不同患者分离的耐药株, 而 C 型的 2 株均分离于同一例严重爆炸伤患者的面部和腿部创面, 经抗菌药物治疗后感染未愈, 2 周后再次分离其两个创面分泌物, 感染菌仍为鲍曼不动杆菌, 但由敏感株转化成了耐药株, 其基因型也发生了相应改变 (C→D), 说明经过抗菌药物的压力选择出了耐药菌。E 型 5 株菌分离于不同患者, 基因分型结果表明来源于同一克隆的菌株, 说明 ICU 中确实存在 E 型鲍曼不动杆菌的感染流行; 由于标本均分离于痰, 从病历资料来看患者都曾有呼吸机或呼吸道插管等治疗史, 通过治疗器械交叉感染的可能性极大, 应加强呼吸器械的消毒。

(本项工作经重庆医科大学流行病学和统计学教研室卢仙娥、周燕荣教授大力支持, 一并致谢)

## 参 考 文 献

- Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med*, 1998, 129:182-189.
- Koelman JGM, Parlevliet GA, Dijkshoorn L, et al. Nosocomial outbreak of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* on a surgical ward: epidemiology and risk factors for acquisition. *J Hosp Infect*, 1997, 37:113-123.
- 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准 (试行). *中华医学杂志*, 2001, 81:314-320.
- Grundmann HJ, Towner KJ, Dijkshoorn L, et al. Multicenter study using standardized protocols and reagents for evaluation of reproducibility of PCR-based fingerprinting of *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, 1997, 35:3071-3077.
- Tejada AA, Bello DS, Chacon VE, et al. Risk factors for nosocomial pneumonia in critically ill trauma patients. *Crit Care Med*, 2001, 29:304-309.
- Bergogne-Berezin EJ, Towner K. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, 1996, 9:148-165.
- Husni RN, Goldstein LS, Arroliga AC, et al. Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter* nosocomial pneumonia among intubated patients. *Chest*, 1999, 115:1378-1382.
- Barraib J, Correa H, Mariscal D, et al. Risk factors for infection by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients with nosocomial pneumonia. *Chest*, 1997, 112:1050-1054.

(收稿日期 2001-12-20)

(本文编辑:张林东)