

· 临床研究 ·

泛耐药鲍曼不动杆菌对消毒剂抗药性分析

温隽珉*, 卢月梅, 张国超, 杨建, 吴胜楠, 周广涛

(暨南大学医学院附属二院, 深圳市人民医院重症监护室, 深圳 518020)

【摘要】目的 探讨泛耐药鲍曼不动杆菌(PDR-AB)对普通消毒剂的抗药性。方法 应用K-B法进行抗菌药物敏感性试验,筛选出鲍曼不动杆菌泛耐药菌株5株,采用纸片法和肉汤培养进行消毒剂敏感试验。结果 泛耐药鲍曼不动杆菌对0.5%聚维酮碘(PVP-I)、0.1%醋酸氯己定溶液(洗必泰)、即配0.2%三氯异氰尿酸、2%强化戊二醛(浸泡)敏感性好,而对75%乙醇、0.1%二氧化氯、0.1%PVP-I和配制30min后0.2%三氯异氰尿酸等不敏感。结论 0.5%PVP-I、0.1%醋酸氯己定溶液、即配0.2%三氯异氰尿酸、2%强化戊二醛(浸泡)对PDR-AB具有良好的杀灭效果,推荐采用;而低浓度含碘、含氯消毒剂以及75%乙醇效果差,不宜采用。

【关键词】泛耐药鲍曼不动杆菌; 抗药性; 消毒剂

【中图分类号】 R187

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00031

Drug resistance of pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* to disinfectants

WEN Junmin*, LU Yuemei, ZHANG Guochao, YANG Jian, WU Shengnan, ZHOU Guangtao

(Intensive Care Unit, Shenzhen People's Hospital, Second Affiliated Hospital, Medical School, Jinan University, Shenzhen 518020, China)

【Abstract】 Objective To investigate the drug resistance of pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii*(PDR-AB) to common disinfectants. **Methods** K-B paper method was used in routine drug susceptibility test. Paper method and broth cultivation were used in disinfectants susceptibility test. **Results** The PDR-AB was sensitive to 0.5% povidone iodine (PVP-I) disinfectant, 0.1% chlorhexidine acetate solution, 2000ppm trichlorosocynuric acid (freshly prepared), and 2% glutaraldehyde(soak), but resistant to 75% ethanol, 0.1% chlorine oxide, 0.1% PVP-I, and 2000ppm trichlorosocynuric acid(prepared 30 minutes later). **Conclusion** The 0.5% PVP-I disinfectant, 0.1% chlorhexidine acetate solution, 2000ppm trichlorosocynuric acid (freshly prepared), and 2% glutaraldehyde(soak) show excellent efficacy in killing clinically isolated PDR-AB, but low concentration of PVP-I and chlorine-containing disinfectants and 75% ethanol show poor efficacy.

【Key words】 pan-drug resistant acinetobacter baumannii; drug resistance; disinfectants

耐药鲍曼不动杆菌感染导致患者死亡率上升,住院及住重症监护室(intensive care unit, ICU)时间延长,医疗费用增加,已成为目前抗感染治疗领域十分棘手及亟待解决的问题。迄今认为,对环境进行有效消毒是控制耐药鲍曼不动杆菌流行的有效和重要的手段。为了解泛耐药鲍曼不动杆菌(pan-drug resistant *acinetobacter baumannii*, PDR-AB)对常用化学消毒剂的敏感性,使临床能进行更加有效的消毒,我们对2009年8月至2009年12月我院爆发感染的PDR-AB菌株进行了常用消毒剂抗药性研究,希望为临床有效消毒提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

2009年8月~12月,深圳市人民医院住院患者

中分离出的PDR-AB 34株。标本分布情况为:痰液21株、血液3株、深静脉导管1株、伤口分泌物4株、胸腔引流液5株。其临床科室分布为:综合ICU 17株,呼吸科ICU 6株,胸外科6株,骨科4株,老年病科1株。对其中5株PDR-AB进行培养及消毒剂敏感试验。

1.2 药物敏感试验

采用K-B纸片扩散法,药敏纸片为英国Oxoid公司产品,选用的抗生素包括氨苄西林/舒巴坦、头孢他啶、头孢曲松、环丙沙星、庆大霉素、亚胺培南、美罗培南、米诺环素、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、妥布霉素、复方新诺明、阿米卡星、头孢吡肟、头孢哌酮/舒巴坦共15种。结果参照2008年美国临床实验室标准化研究所(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)的抗菌药物敏感试验操作标准进行判定。

1.3 消毒剂的纸片法敏感试验

采用 K-B 纸片扩散法。K-B 法纸片制作是使用标准的 6 mm 三号新华滤纸吸饱药液, 制备后立即放在长好 PDR-AB 的培养皿上, 过夜 (16~18h) 后观察。选用的消毒剂为: 2% 强化戊二醛、0.1% 聚维酮碘 (Povidone Iodine, PVP-I) 消毒液 (大瓶) 0.5% PVP-I 消毒液 (大瓶) 75% 乙醇溶液、0.1% 醋酸氯己定溶液 (洗必泰) 0.5% PVP-I 消毒液 (小瓶, 已开盖使用) 三氯异氰尿酸 (健之素, 含氯消毒液; 配制 30min 后, 0.2%, 4 片/L) 0.1% 二氧化氯 (病房气雾消毒) 三氯异氰尿酸 (健之素; 即配 0.2%, 4 片/L)。将纸片分别在上述消毒液中浸泡后使用, 按规定时间观察并记录抑菌圈直径。

1.4 消毒剂与肉汤培养

将上述消毒液按一定比例 (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32) 稀释后与肉汤混合, 作为培养基培养收集到的 PDR-AB; 采用标准微量肉汤稀释法转接菌株 (约 10^5 cfu/ml), 24h 后观察结果, 肉汤依然清澈视为此浓度消毒液对该菌株有效, 肉汤变浑浊则视为此浓度消毒剂对该株无效。

2 结果

2.1 药物敏感试验

34 株 AB 只有 2 株为敏感菌, 其余 32 株或对所有药物均不敏感, 或仅对一种药物敏感 (susceptible, S) 或中敏 (intermediate, I), 而对其他药物均耐药 (resistant, R) (表 1)。证明我们所分离出的 32 株鲍曼不动杆菌是 PDR-AB。

表 1 32 株 PDR-AB 对 15 种抗生素的药敏率

Table 1 Susceptibility rate of 32 PDR-AB to 15 antibiotics (%)

抗生素	对药物反应		
	S	I	R
氨苄西林/舒巴坦	0.00	9.38	90.62
头孢他啶	0.00	3.13	96.87
头孢曲松	0.00	0.00	100.00
环丙沙星	0.00	0.00	100.00
庆大霉素	0.00	0.00	100.00
亚胺培南	0.00	0.00	100.00
美罗培南	0.00	0.00	100.00
米诺环素	43.75	43.75	12.50
哌拉西林	0.00	0.00	100.00
哌拉西林/他唑巴坦	0.00	3.13	96.87
妥布霉素	3.13	0.00	96.87
复方新诺明	0.00	0.00	100.00
阿米卡星	0.00	0.00	100.00
头孢吡肟	0.00	0.00	100.00
头孢哌酮/舒巴坦	0.00	43.75	56.25

注: S: 敏感; I: 中敏; R: 耐药

2.2 消毒液的纸片法敏感试验

结果显示, 消毒剂 0.5% PVP-I 消毒液 (大瓶) 0.1% 醋酸氯己定溶液 (洗必泰) 0.5% PVP-I 消毒液 (小瓶, 已开盖使用) 和三氯异氰尿酸 (健之素; 即配 0.2%, 4 片/L) 抑菌圈较大, 对鲍曼不动杆菌具有很好的抑制作用, 消毒剂 2% 强化戊二醛 (通常仅用于金属器械浸泡) 0.1% PVP-I 消毒液 (大瓶) 75% 乙醇溶液、三氯异氰尿酸 (健之素, 含氯消毒液; 配制 30min 后, 0.2%, 4 片/L) 和 0.1% 二氧化氯 (病房气雾消毒) 则抑制作用较差。用各种消毒剂浸泡过的纸片 (直径 6mm) 在 5 株 PDR-AB 培养基中所产生的抑菌圈直径见表 2。

表 2 不同消毒剂的抑菌圈直径

Table 2 Inhibition zone of different disinfectants

(mm)

消毒剂	菌株1	菌株2	菌株3	菌株4	菌株5
2% 强化戊二醛溶液	7	7	7	8	8
0.1% PVP-I 消毒液 (大瓶)	6	6	6	6	6
0.5% PVP-I 消毒液 (大瓶)	12	11	11	11	11
75% 乙醇溶液	7	6	6	6	6
0.1% 醋酸氯己定溶液 (洗必泰)	10	10	11	10	11
0.5% PVP-I 消毒液 (小瓶, 已开盖使用)	11	11	11	11	8
三氯异氰尿酸 (健之素, 含氯消毒液; 配制 30min 后, 0.2%, 4 片/L)	6	6	6	6	6
0.1% 二氧化氯 (病房气雾消毒)	7	7	6	6	6
三氯异氰尿酸 (健之素; 即配 0.2%, 4 片/L)	17	18	20	20	19

2.3 消毒剂与肉汤培养试验

消毒剂按一定比例稀释后与肉汤混合, 作为培养基培养收集到的 5 株 PDR-AB。结果显示, 2% 强化戊二醛、0.5% PVP-I 消毒液 (大瓶) 0.5% PVP-I 消毒液 (小瓶, 已开盖使用) 0.1% 二氧化氯 (病房气雾消毒) 三氯异氰尿酸 (健之素; 即配 0.2%,

4 片/L) 在较低浓度时即可对 PDR-AB 产生较强的杀灭能力, 0.1% PVP-I 消毒液 (大瓶) 75% 乙醇溶液、三氯异氰尿酸 (健之素, 含氯消毒液; 配制 30min 后, 0.2%, 4 片/L) 则杀灭能力较差。0.1% 醋酸氯己定溶液 (洗必泰) 因药液本身混浊, 无法判断。肉汤清澈与变浑浊的临界浓度见表 3。

表3 消毒剂抑菌临界浓度
Table 3 Critical antiblastic concentration of disinfectants (dilution ratio)

消毒剂	菌株1	菌株2	菌株3	菌株4	菌株5
2%强化戊二醛	1:8	1:16	1:8	1:8	1:16
0.1% PVP-I消毒液(大瓶)	1:4	1:4	1:2	1:4	1:4
0.5% PVP-I消毒液(大瓶)	1:16	1:16	1:16	1:32	1:16
75%乙醇溶液	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
0.1%醋酸氯己定溶液(洗必泰)	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
0.5% PVP-I消毒液(小瓶, 已开盖使用)	1:16	1:16	1:32	1:32	1:16
三氯异氰尿酸(健之素, 含氯消毒液; 配制30min后, 0.2%, 4片/L)	1:4	1:4	1:4	1:2	1:4
0.1%二氧化氯(病房气雾消毒)	1:8	1:8	1:8	1:8	1:16
三氯异氰尿酸(健之素; 即配0.2%, 4片/L)	1:16	1:16	1:16	1:32	1:32

3 讨论

近年来AB临床分离率逐年上升, 在ICU中尤其显著^[1,2], 已成为医院获得性感染的主要致病菌之一。2003年美国院内感染监测系统资料显示, AB在医院获得性感染中占第4位, 在非发酵菌中仅次于铜绿假单胞菌。2004年以来我国北京、上海、浙江等地均报告出现PDR-AB, 并有逐渐蔓延的趋势^[3,4]。

尽管AB的毒力低于铜绿假单胞菌, 但由于其生存力强, 对抗生素的敏感性日益降低; 且多重耐药、泛耐药菌株日益增多。据国内学者最近报道, 在培养出的AB中PDR-AB已占50%以上, PDR-AB感染已经成为目前抗感染治疗领域十分棘手和亟待解决的问题。

迄今为止, 对PDR-AB感染的治疗尚无突破性的进展。因此, 对其流行的防控显得尤为重要。而交叉感染来源推测应是病房环境如病床、床单、办公用具等。深圳市人民医院在2009年10月对中心ICU的环境监测中就在1名医师的手、床栏、办公电话等处培养到PDR-AB, 说明ICU的环境消毒及交叉感染等方面存在缺陷, 特别是在工作繁忙时通过工作人员的手可发生细菌的播散, 国外也发现类似情况^[5]。在所有防控措施中, 医护人员手卫生、患者接触物及环境消毒等环节均涉及到消毒剂的使用。在目前普遍使用的众多消毒剂中, 哪些品种、何种浓度对PDR-AB更为有效, 阐明这些问题, 对临床防控PDR-AB具有十分重要的意义。本研究显示, 0.5% PVP-I消毒液、0.1%醋酸氯己定、即配0.2%三氯异氰尿酸、2%强化戊二醛(浸泡)对PDR-AB具有良好的杀灭效果。而0.1% PVP-I、75%乙醇、配制30min后的0.2%三氯异氰尿酸、0.1%二氧化氯对PDR-AB的杀灭效果均不理想。0.1% PVP-I效果不佳的原因可能是因其浓度过低, 达不到有效的杀菌浓度; 非浸泡2%强化戊二醛、75%乙醇溶液、配制30min后的0.2%三氯异氰尿酸、0.1%二氧化氯等则可能由于其挥发过快, 从而导致作用时间不足或消毒药物浓度已明

显下降, 使得其对PDR-AB杀菌效果不佳。AB对消毒剂产生抗药性的机制尚未完全明了, 已有研究证实非多耐药鲍曼不动杆菌对常用消毒剂敏感^[6], 而多耐药菌株对消毒剂, 特别是对含氯和碘消毒剂可产生抗药性, 其机制可能是通过细胞膜 *qacEΔ1-sulI* 外排泵基因表达的蛋白而发挥作用^[7,8]。PDR-AB感染主要来源于重症监护室环境污染, 经过积极治疗和采取消毒隔离, 可有效控制感染流行^[9,10]。

消毒剂的灭菌效果与其杀菌机制有关外, 还与浓度和时间相关, 本研究根据临床实际使用情况, 比较0.1% PVP-I与0.5% PVP-I、配制30min后的0.2%三氯异氰尿酸与即配0.2%三氯异氰尿酸对PDR-AB的杀菌效果, 发现对PDR-AB杀菌效果的确存在明显的差异, 需在临床工作中特别注意。

4 结论

AB是目前医院获得性感染的常见致病菌, 由于其生存力强, 对抗生素的耐药性不断上升, PDR-AB感染已经成为目前十分严重的临床问题。迄今, 对PDR-AB感染的治疗尚无突破性进展。因此, 对其流行的防控显得尤其重要。在普遍使用的消毒剂中, 0.5% PVP-I消毒液、0.1%醋酸氯己定溶液、即配0.2%三氯异氰尿酸对PDR-AB有较好的杀灭效果, 推荐采用。而非浸泡2%强化戊二醛、0.1% PVP-I、75%乙醇溶液、配制30min后的0.2%三氯异氰尿酸、0.1%二氧化氯对PDR-AB的杀灭效果均不理想, 不宜采用。

【参考文献】

- [1] Hidron AI, Edwards JR, Patel J, *et al.* NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2008, 29(11): 996-1011.
- [2] Stephens C, Francis SJ, Abell V, *et al.* Emergence of resistant *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients within an

- acute care teaching hospital and a long-term acute care hospital[J]. *Am J Infect Control*, 2007, 35(4): 212-215.
- [3] 徐小用, 许淑珍, 闫东辉. 鲍氏不动杆菌耐药性及同源性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(6): 611-613.
- [4] 陈童恩, 许小敏, 刘 鹏, 等. ICU 泛耐药鲍曼不动杆菌分离株相关耐药基因检测[J]. *现代实用医学*, 2009, 21(1): 47-48.
- [5] Barbolla RE, Centrón D, Maimone S; *et al.* Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* spread in an adult intensive care unit under an endemic setting[J]. *Am J Infect Control*, 2008, 36(6): 444-452.
- [6] 林 辉, 郑 剑, 金春光, 等. 五种消毒剂对鲍曼不动杆菌杀菌效果的实验研究[J]. *中国消毒学杂志*, 2009, 26(1): 15-17.
- [7] 徐 燕, 吴晓松, 谈 松, 等. 鲍曼不动杆菌抗药基因检测及对消毒剂抗性研究[J]. *中国消毒学杂志*, 2008, 25(4): 341-343.
- [8] Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picão RC, *et al.* Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2010, 8(1): 71-93.
- [9] 张晓春, 郑 谨, 黄德生. 重症监护病房鲍曼不动杆菌感染现场调查及风险管理研究[J]. *实用预防医学*, 2011, 18(2): 199-202.
- [10] 陈超男. 重症监护室泛耐药鲍曼不动杆菌感染暴发流行调查与控制[J]. *中国消毒学杂志*, 2010, 27(2): 202-203.
- (编辑: 任开环)

· 消 息 ·

诚征广告

《中华老年多器官疾病杂志》是由中国人民解放军总医院主管、中国人民解放军总医院老年心血管病研究所主办、国内外公开发行的医学学术期刊, 主要交流老年心血管疾病, 尤其是老年心血管疾病合并其他疾病、老年两个以上器官疾病以及其他老年多发疾病的诊治经验与教训。刊登内容包括心血管系统、呼吸系统、神经系统、内分泌系统、肾脏系统、消化系统、骨骼系统等各个方面疾病, 涉及临床和基础研究等诸多领域, 为从事老年医学及其相关疾病专业的医疗、科研及教学人员必读的刊物。

过去的几年, 本刊以严谨的态度、诚实的信誉赢得了厂商和读者的信赖, 与许多公司建立了良好的长期合作关系。

《中华老年多器官疾病杂志》真诚欢迎国内外厂商来此发布药物、产品、技术和服务信息。我刊除彩色四封外, 还有精美彩色、黑白插页供选择。

需要刊登广告的客户, 可电话告知您的传真, 我们会立即将报价单传真给您, 洽商确定版位后, 将与您签订正式的刊登合同。

地址: 100853 北京市复兴路 28 号, 解放军总医院老年心血管病研究所

100088 北京市西城区德胜门外大街 83 号德胜国际中心 B 座 301 室, 北京中科期刊出版有限公司

电话: 010-66936756/59790736-8087

E-mail: zhlnqg@mode301.cn