

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20256579

· 论 著 ·

## 多重耐药鲍曼不动杆菌对替加环素不敏感的耐药机制研究

郭俊妙<sup>1,3</sup>, 袁润奇<sup>1,3</sup>, 邓晓龙<sup>1,3</sup>, 毛 璞<sup>1,3</sup>, 邱桂霞<sup>2,3,4,5,6</sup>

(1. 广州医科大学附属第一医院医院感染管理科, 广东 广州 510120; 2. 广州医科大学附属第一医院医院临床检验中心, 广东 广州 510120; 3. 呼吸疾病全国重点实验室, 广东 广州 510120; 4. 国家呼吸医学中心, 广东 广州 510120; 5. 国家呼吸系统疾病临床研究中心, 广东 广州 510120; 6. 广州呼吸健康研究院, 广东 广州 510120)

**[摘要]** **目的** 探讨多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB)对替加环素不敏感的耐药机制, 为临床合理用药及医院感染防控提供参考。**方法** 收集 2022 年 4 月—2023 年 5 月广州医科大学附属第一医院临床分离的替加环素不敏感 MDR-AB(TIS-MDR-AB)及替加环素敏感 MDR-AB(TS-MDR-AB)各 22 株。应用外排泵抑制剂羰基氰化物间氯苯胺(CCCP)进行外排泵表型抑制试验, 采用聚合酶链式反应(PCR)技术对主要外排泵基因(*adeB*、*adeG*、*adeJ*)和替加环素耐药基因 *tet(X)* 进行筛选, 并应用实时荧光定量 PCR 检测其 mRNA 表达水平; Sanger 测序分析外排泵调控基因 *adeRS* 的突变。**结果** 两组 MDR-AB 外排泵基因 *adeB*、*adeG*、*adeJ* 的检出率均 >95%, 未检测到 *tet(X)* 基因。外排泵抑制剂试验显示, TIS-MDR-AB 菌株在加入 CCCP 后最低抑菌浓度(MIC)下降, 且有 3 株菌株外排泵表型阳性。TIS-MDR-AB 组 MDR-AB *adeB* 的 mRNA 表达水平高于 TS-MDR-AB 组 ( $P < 0.01$ ), *adeG* 和 *adeJ* 基因的表达差异无统计学意义。*adeR* 基因和 *adeS* 基因中发现多个突变, 且有 2 株菌株 *adeS* 基因中插入 ISAb<sub>a1</sub>, 3 株菌株插入 ISAb<sub>a13</sub>。**结论** 外排泵系统 *adeABC* 过度表达可能在 MDR-AB 对替加环素敏感性下降机制中起重要作用, 且其过度表达可能与外排泵调控基因 *adeRS* 中出现插入序列或突变有关。

**[关键词]** 鲍曼不动杆菌; 多重耐药; 替加环素; RND 外排泵

**[中图分类号]** R181.3<sup>+</sup>2 R378

## Mechanism of tigecycline insensitivity of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

GUO Junmiao<sup>1,3</sup>, YUAN Runqi<sup>1,3</sup>, DENG Xiaolong<sup>1,3</sup>, MAO Pu<sup>1,3</sup>, QIU Guixia<sup>2,3,4,5,6</sup> (1. Department of Healthcare-associated Infection Management, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China; 2. Center of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China; 3. State Key Laboratory of Respiratory Diseases, Guangzhou 510120, China; 4. National Center for Respiratory Medicine, Guangzhou 510120, China; 5. National Clinical Research Center for Respiratory Diseases, Guangzhou 510120, China; 6. Guangzhou Institute of Respiratory Health, Guangzhou 510120, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the resistance mechanism of tigecycline insensitivity of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, and provide reference for clinical rational antimicrobial use as well as prevention and control of healthcare-associated infection. **Methods** 22 strains of tigecycline insensitive multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (TIS-MDR-AB) and 22 strains of tigecycline sensitive multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (TS-MDR-AB) isolated clinically from the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University from April 2022 to

**[收稿日期]** 2024-09-05

**[基金项目]** 广东省钟南山医学基金会新冠病毒肺炎防控专项项目(第二批)项目(ZNSA-2020012)

**[作者简介]** 郭俊妙(1997-), 女(汉族), 湖南省常德市人, 硕士研究生在读, 主要从事病原微生物及医院感染控制研究。

**[通信作者]** 邱桂霞 E-mail: 550901906@qq.com

May 2023 were collected. Efflux pump phenotype inhibition assay was performed using efflux pump inhibitor carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP). The main efflux pump genes (*adeB*, *adeG*, *adeJ*), as well as tigecycline-resistant gene *tet* (X), were screened by polymerase chain reaction (PCR) technique, and their mRNA expression levels were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. Mutations in the efflux pump regulatory gene *adeRS* were analyzed by Sanger sequencing analysis. **Results** The detection rates of efflux pump genes *adeB*, *adeG* and *adeJ* were all above 95% in two MDR-AB groups, and *tet* (X) gene was not detected. Efflux pump inhibitor assay showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) of TIS-MDR-AB strains decreased after adding CCCP, 3 strains showed positive efflux pump phenotype. The mRNA expression level of MDR-AB *adeB* in the TIS-MDR-AB group was higher than that in the TS-MDR-AB group ( $P < 0.01$ ), while the expression of *adeG* and *adeJ* genes was no statistically different. Multiple mutations were found in the *adeR* and *adeS* genes, the *adeS* of 2 strains was inserted IS*Aba1*, and 3 strains were inserted IS*Aba13*. **Conclusion** The overexpression of *adeABC* in the efflux pump system may play an important role in the mechanism of reduced sensitivity of MDR-AB to tigecycline, and its overexpression may be related to the insertion sequence or mutation in the efflux pump regulatory gene *adeRS*.

[Key words] *Acinetobacter baumannii*; multidrug resistance; tigecycline; RND efflux pump

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB) 主要引起肺炎、菌血症、尿路感染、继发性脑膜炎等多种感染性疾病<sup>[1]</sup>,是导致全球医院获得性感染的ESKAPE(屎肠球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、AB、铜绿假单胞菌和肠杆菌属)病原体的成员之一。近年来,随着抗菌药物的广泛使用和滥用,导致多重耐药 AB (multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, MDR-AB) 的检出率与日俱增。2023 年 CHINET 细菌耐药监测网<sup>[2]</sup> 数据显示,AB 对临床常用抗菌药物表现出较高耐药率,仅对替加环素、米诺环素及多黏菌素 B 表现出较低耐药率。替加环素是第三代四环素类抗生素,可有效解决因细菌外排及核糖体保护所引起的耐药问题<sup>[3-4]</sup>,其在治疗多重耐药菌感染中起到重要作用。但自从 2007 年第一例替加环素耐药菌株出现以来,世界各地不断有替加环素不敏感菌株检出。目前 AB 对替加环素的耐药机制有外排泵的过度表达、替加环素失活酶的产生、外膜通透性的改变及替加环素作用靶点的改变等<sup>[5]</sup>。其中,耐药结节细胞分化(resistance-nodulation cell division, RND)外排泵系统及替加环素灭活酶的产生在替加环素耐药过程中发挥重要作用。因此,研究 RND 外排泵及替加环素灭活酶在某院住院患者分离的 MDR-AB 菌株中的作用,并探讨其对替加环素不敏感的耐药机制,对指导临床合理用药和医院感染防控起到重要作用。

## 1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集 2022 年 4 月—2023 年 5 月广州医科大学附属第一医院住院患者分离的对替加

环素不敏感的 MDR-AB (tigecycline insensitive multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, TIS-MDR-AB) 22 株,并选取同一时期对替加环素敏感的 22 株 MDR-AB (tigecycline sensitive multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, TS-MDR-AB) 作为研究对象。所有菌株经基质辅助激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱确定为 AB。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922。多重耐药定义为对三类或三类以上抗菌药物不敏感,且对这三类或三类以上抗菌药物中的每一类抗菌药物至少有一种药物获得性不敏感<sup>[6]</sup>。

1.2 药敏试验 应用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定药敏系统对所有菌株进行体外抗菌药物敏感性试验,采用微量肉汤稀释法测定替加环素的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。替加环素 MIC 参照美国食品药品监督管理局(FDA)判读标准,头孢哌酮/舒巴坦的 MIC 值根据《CHINET 中国细菌耐药监测网技术方案》(2022 年版)进行判读,其他抗菌药物根据 2022 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准进行药敏判断<sup>[7]</sup>。

1.3 外排泵抑制剂试验 通过微量肉汤稀释法测定加入 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  外排泵抑制剂羰基氰化物间氯苯胺(carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone, CCCP)处理前后的 MIC 值,若 CCCP 存在时 MIC 值下降至原值的 1/4 或以下,则判定为外排泵表型阳性菌株。

1.4 聚合酶链式反应(PCR)扩增外排泵基因及替加环素耐药基因 采用煮沸法提取菌株 DNA。刮取适量新鲜培养的菌落于加入 200  $\mu\text{L}$  无菌水的无菌管中,100  $^{\circ}\text{C}$  煮沸 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,

吸取上清液作为模板，-20℃保存备用。PCR 引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成，PCR 反应试剂及 2 000 bp DNA marker 购自南京诺唯赞生物科技有限公司。PCR 反应条件：预变性 95℃ 3 min；变性 95℃ 15 s，退火 30 s，延伸 72℃ 15 s，循环数 35 个；72℃ 彻底延伸 5 min。取 PCR 扩增产物 5 μL 分别加入到 2% 琼脂糖凝胶电泳加样孔中，在 120 V 电压下电泳 30 min，凝胶成像分析系统观察结果。相关引物见表 1。

表 1 外排泵基因的引物序列及扩增产物大小

Table 1 Primer sequences and amplified product size of efflux pump genes

基因名称	引物序列(5'—3')	扩增产物大小 (bp)	参考文献
<i>adeB</i>	F: TTAACGATAGCGTTGTAACC R: TGAGCAGACAATGGAATAGT	541	[8]
<i>adeG</i>	F: TTCATCTAGCCAAGCAGAAG R: ATGTGGGCTAGCTAACGGC	652	[8]
<i>adeJ</i>	F: ATTGCACCACCAACCGTAAC R: TAGCTGGATCAAGCCAGATA	463	[8]
<i>tet(X)</i>	F: TTAGCCTTACCAATGGGTGT R: CAAATCTGCTGTTTCACTCG	243	[9]
<i>adeR</i>	F: ATGTTTGATCATTCTTTTCTTTTG R: TAAATGACATAACCCAGT	876	[10]
<i>adeS</i>	F: AGCTGTAAAAGATGACGCCTAAATA R: ACTTTTTCGAGCCTTGATTGCTATAT	1 094	[10]
<i>adeB-RT</i>	F: GAATAAGGCACCACAACAAT R: TTTCGCAATCAGTTGTTCCA	124	[11]
<i>adeG-RT</i>	F: ATCGCGTAGTCACCAGAACC R: CGTAACTATGCGGTGCTCAA	92	[11]
<i>adeJ-RT</i>	F: GAATGGACGTATGGTTCTCC R: CATTGCTTTCATGGCATCAC	111	[11]
<i>gyrB-RT</i>	F: GAGTCTAATGGCGGTGGTTC R: ATTGCTTCATCTGCTGGTTG	110	[11]

1.5 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测外排泵表达水平 采用 Trizol 法分别提取 AB 标准菌株 ATCC 19606、TIS-MDR-AB 组、TS-MDR-AB 组菌株对数生长期细菌总 RNA。每 20 μL 反转录体系使用 0.8 ng 总 RNA 合成第 1 链 cDNA，反应条件：37℃ 15 min，85℃ 5 s。采用 RT-qPCR 检测外排泵基因 *adeB*、*adeG* 和 *adeJ* 转录水平，高通量实时荧光定量 PCR 仪配套软件分析得到各个样本管家基因 *gyrB* 和  $C_t$  值，以管家基因 *gyrB* 为内参，标准菌

株 ATCC 19606 为参考菌株，采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算各外排泵基因的相对表达量。相关引物见表 1。

1.6 双组份调节系统基因插入序列检测 对外排泵基因 *adeB* 表达水平升高的 14 株 TIS-MDR-AB 菌株，采用 PCR 对其 *adeR* 和 *adeS* 基因进行扩增，并将扩增产物送至深圳华大基因科技有限公司进行 Sanger 测序。应用 Snapgene 软件对获得的测序数据进行序列比对分析，并通过 ISFinder 数据库进行插入序列的查找与比对。

1.7 统计分析 应用 WHONET 5.6 软件对药敏结果统计分析。应用 SPSS 25.0 版本软件包进行统计分析。符合正态分布的数据采用 *t* 检验或 Fisher 确切概率法进行连续变量的组间比较，不符合正态分布的数据采用非参数秩和检验进行组间比较。采用卡方检验进行分类变量的组间比较。应用 Grapad prism 9.0 软件对数据进行统计分析及作图。 $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 菌株分布 22 株 TIS-MDR-AB 菌株分离自呼吸内科(10 株)、重症监护病房(10 株)及其他科室(2 株)。22 株 TS-MDR-AB 菌株分离自呼吸内科(4 株)、重症监护病房(10 株)、器官移植科(1 株)、心脏外科(1 株)、胸外科(1 株)及其他科室(5 株)。TIS-MDR-AB 和 TS-MDR-AB 菌株主要从下呼吸道标本中分离(分别为 20、19 株)，其他标本来源检出率较低。

2.2 体外药敏试验结果 22 株 TIS-MDR-AB 菌株对米诺环素耐药率较低，对其他抗菌药物耐药率较高，所有菌株均对黏菌素敏感。见表 2。22 株 TIS-MDR-AB 菌株对哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、妥布霉素、左氧氟沙星及环丙沙星的耐药率均为 100%。

表 2 TIS-MDR-AB 对抗菌药物药敏试验结果[株(%)]

Table 2 Antimicrobial susceptibility testing results of TIS-MDR-AB (No. of isolates [%])

抗菌药物	敏感	中介	耐药
头孢吡肟	0(0)	2(9.1)	20(90.9)
头孢哌酮/舒巴坦	2(9.1)	3(13.6)	17(77.3)
米诺环素	3(13.6)	13(59.1)	6(27.3)
替加环素	0(0)	11(50.0)	11(50.0)
黏菌素	22(100)	0(0)	0(0)

2.3 外排泵基因检出情况 为探究外排泵基因的存在与替加环素耐药机制的关系,通过 PCR 技术检测外排泵基因在两组间的分布情况。22 株 TIS-MDR-AB 中, *adeB*、*adeG* 和 *adeJ* 的检出率均为 100%。22 株 TS-MDR-AB 中, *adeJ* 检出率为 100%, *adeB*、*adeG* 检出率均为 95.5%(各有 1 株菌未检出,分别为 34 号、166 号)。两组均未检测到 *tet(X)* 基因。见表 3。

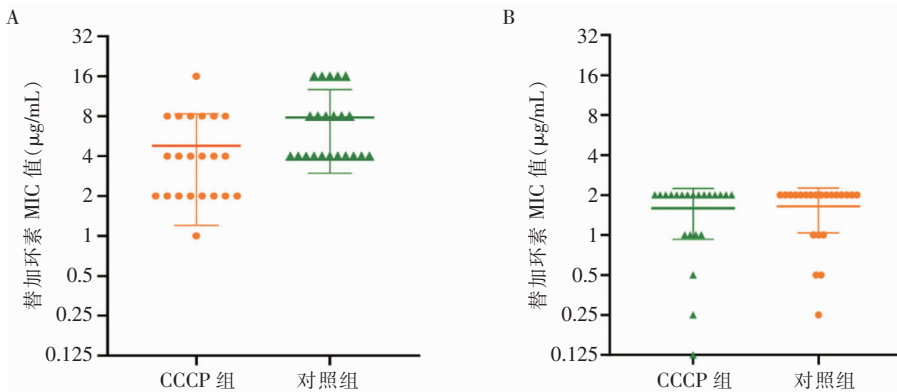
2.4 外排泵抑制试验结果 外排泵过度表达是导致替加环素耐药的原因之一,故使用外排泵抑制剂 CCCP 来探究外排泵对 TIS-MDR-AB 和 TS-MDR-AB 菌株的作用。结果显示,TIS-MDR-AB 菌株加入 CCCP 后(CCCP 组)MIC 下降趋势明显,与不加 CCCP 时(对照组)的 MIC 值相比,差异具有统计学意义( $P = 0.001$ ),且有 3 株菌株加入 CCCP 后的

表 3 MDR-AB 菌株替加环素耐药基因检出情况[株(%)]  
Table 3 Detection results of tigecycline-resistant genes in MDR-AB strains (No. of isolates [%])

基因	TIS-MDR-AB (n=22)	TS-MDR-AB (n=22)	P
<i>adeB</i>	22(100)	21(95.5)	1.000
<i>adeG</i>	22(100)	21(95.5)	1.000
<i>adeJ</i>	22(100)	22(100)	-
<i>tet(X)</i>	0(0)	0(0)	-

注: - 表示数据不存在。

MIC 值是不加 CCCP 时的 1/4 及以下,为外排泵表型阳性菌株。而 TS-MDR-AB 组在加入 CCCP 前后 MIC 无变化( $P = 0.066$ )。以上结果表明 CCCP 抑制剂能够降低替加环素对 TIS-MDR-AB 菌株的 MIC 值,菌株存在对替加环素的主动外排作用,见图 1。



注:A 为 TIS-MDR-AB 组菌株;B 为 TS-MDR-AB 组菌株;组间比较采用非参数秩和检验。

图 1 44 株 MDR-AB 菌株加入 CCCP 前后替加环素 MIC 值变化情况

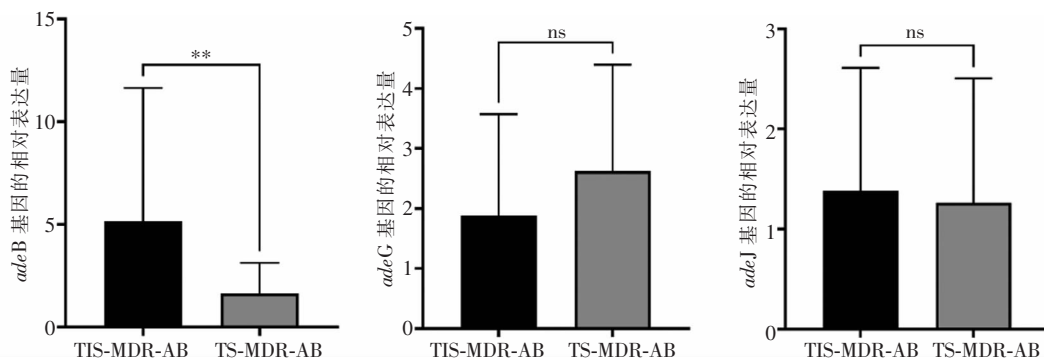
Figure 1 Changes in MIC values of tigecycline to 44 MDR-AB strains before and after adding CCCP

2.5 RND 外排泵表达情况 为证实外排泵的过度表达与替加环素的耐药机制有关,通过实时荧光定量 PCR 技术检测各外排泵基因 mRNA 的表达水平。在 TIS-MDR-AB 组中,不同菌株间的 *adeB* 表达水平差异明显,一些菌株的表达水平约是参考菌株 ATCC 19606 的 21~25 倍。与 TS-MDR-AB 组相比,TIS-MDR-AB 组中 *adeB* 基因的 mRNA 表达水平增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。然而, *adeG*、*adeJ* 的 mRNA 的表达水平在两组菌株间差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。见图 2。

2.6 外排泵调控基因 *adeRS* 突变情况 外排泵表达水平的高低受到上游双组份调节系统 *adeRS* 基因的调控, *adeRS* 基因中存在突变或插入序列均可导致外排泵的高表达。因此,为探究 *adeB* 基因的过度表达是否与 *adeRS* 基因突变有关,通过 Sanger

测序检测外排泵基因 *adeB* 表达水平升高的 14 株 TIS-MDR-AB 菌株中 *adeRS* 基因的突变情况。与 AB 标准菌株 ATCC 19606 相比, *adeR* 基因中 V120I、A136V 氨基酸取代存在于所有菌株(14 株), D26G、R41Q 各 1 株。 *adeS* 基因中, L172P、G186V、N268H、T303P 和 V348I 氨基酸取代存在于所有菌株(14 株), G319C 取代存在于 3 株菌株, S136F、G103V、R313W 各 1 株。见表 4。以上结果表明, *adeS* 基因更易发生突变,且该院 AB 对替加环素的耐药性可能与上述 *adeR* 和 *adeS* 基因突变有关。

此外,14 株 TIS-MDR-AB 菌株中 3 号和 9 号菌株在 *adeS* 基因的 1 165 bp 位置插入 ISAb<sub>a</sub>1,188 号、207 号和 208 号菌株在 *adeS* 基因的 13 bp 位置插入 ISAb<sub>a</sub>13,见图 3。



注：\*\* 表示  $P < 0.01$ , ns 表示差异无统计学意义。

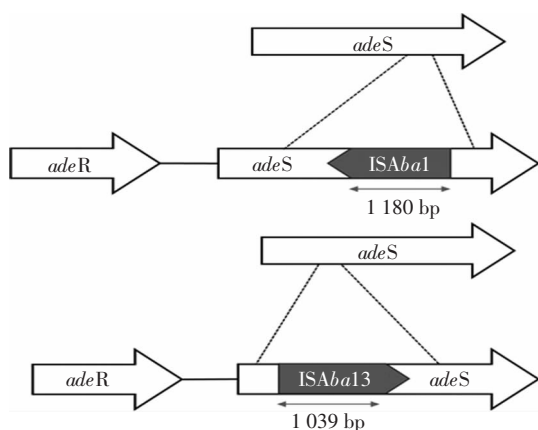
图 2 TIS-MDR-AB 和 TS-MDR-AB 菌株外排泵基因的表达量

Figure 2 Expression levels of efflux pump genes in TIS-MDR-AB and TS-MDR-AB strains

表 4 TIS-MDR-AB 菌株外排泵调节基因氨基酸取代和插入情况

Table 4 Amino acid substitution and insertion of efflux pump regulatory genes in TIS-MDR-AB strains

菌株号	替加环素 MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	<i>adeR</i>	<i>adeS</i>
1	8	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
2	16	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
3	8	V120I,A136V	S136F,L172P,G186V,N268H,T303P,V348I,ISAba1
6	4	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
9	8	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I,ISAba1
10	4	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
82	16	V120I,A136V	G103V,L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
124	4	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
162	8	V120I,A136V,D26G,R41Q	L172P,G186V,N268H,T303P,R313W,V348I
167	4	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I
188	16	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,G319C,V348I,ISAba13
207	16	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,G319C,V348I,ISAba13
208	8	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,G319C,V348I,ISAba13
90	4	V120I,A136V	L172P,G186V,N268H,T303P,V348I



注：箭头表示编码序列和转录方向。

图 3 ISAba1 及 ISAba13 插入示意图

Figure 3 Schematic diagram of ISAba1 and ISAba13 insertion

### 3 讨论

近年来,AB 耐药情况越来越严峻,使其成为临床治疗中难以应对的病原菌之一,给临床用药和医院感染带来了极大挑战。目前,替加环素因其具有广谱高效的体外抗菌活性,成为了治疗 MDR-AB 感染的有效药物之一<sup>[12]</sup>。在 MDR-AB 感染缺乏新型抗菌药物治疗的时代,探索替加环素耐药机制尤为重要。

研究<sup>[13]</sup>显示,RND 外排泵过度表达在 AB 对替加环素耐药性中发挥着主要作用。CCCP 是一种氧化磷酸化的解偶联剂<sup>[14]</sup>,可以破坏细菌膜的质子

梯度,从而抑制 RND 外排泵的功能<sup>[15]</sup>。本研究中,加入 CCCP 后, TIS-MDR-AB 组替加环素 MIC 下降程度大于 TS-MDR-AB 组,表明阻断外排泵的激活可以有效降低替加环素 MIC 值,同时也提示,协同使用外排泵抑制剂可以有效抑制菌株的耐药性。TIS-MDR-AB 组有 36.4%(8/22)的分离株对 CCCP 抑制剂没有反应,这表明可能存在其他机制导致替加环素耐药。

RND 家族主要由 AdeABC、AdeFGH 和 AdeIJK 组成,它们分别受 *adeRS* 双组份调控系统(TCS)、LysR 型转录调节因子 AdeL 和 TetR 样转录调节因子 *adeN* 控制<sup>[16]</sup>。本研究发现 TIS-MDR-AB 菌株 *adeB*、*adeG* 和 *adeJ* 的检出率均为 100%,但与替加环素敏感的菌株相比,替加环素不敏感菌株中 *adeB* 基因的转录水平上升,表明 *adeABC* 的高表达可能在替加环素耐药中起到了关键作用。

此外,所有菌株未检测到与质粒相关的 *tet(X)* 基因,表明该院尚不存在此类基因的流行现象。*Tet(X)* 是一种黄素依赖性的单加氧酶,通过氧依赖性机制催化替加环素的裂解,较多出现于动物源性分离株。近年来,在中国<sup>[17]</sup>、非洲国家<sup>[18]</sup> 发现了含有 *tet(X)* 及其变异体的临床分离株。尽管相关报道较少,但随着动物和人类中出现了此类可移动的替加环素耐药基因,提醒需要迫切监测 *tet(X)* 变异在临床替加环素耐药病原体中发生,以免造成暴发流行。

*AdeR* 由一个跨膜传感器激酶和一个反应调节因子组成。在此系统中,组氨酸激酶 *AdeS* 感知环境刺激,而反应调节因子 *AdeR* 通过接收 *AdeS* 的磷酸化信号介导细胞反应,并进一步刺激其靶基因的表达<sup>[19]</sup>。本研究发现 *adeR* 基因中存在 V120I、A136V、D26N 和 R41Q 四种突变,其中 V120I、A136V、D26N 氨基酸取代在 Li 等<sup>[20]</sup> 和 Gerson 等<sup>[21]</sup> 研究也有报道,其氨基酸取代可能与替加环素耐药性有关。此外,在更容易发生突变的 *adeS* 基因中,存在 G103V、L172P、G186V、N268H 等氨基酸取代,其他研究<sup>[8,22-23]</sup> 中亦有报道。以上结果表明该院 AB 对替加环素的耐药性可能与上述 *adeR* 和 *adeS* 基因突变有关。Sun 等<sup>[24]</sup> 研究证实发现,*adeS* 中插入 ISAb<sub>1</sub> 可突变为 1 个 N 末端截短的 *adeS*,截短的 *adeS* 能够激活 *adeR*,并增强 *adeABC* 基因持续高表达,导致替加环素耐药。本研究也发现有 2 株分离株在 *adeS* 基因中插入了 ISAb<sub>1</sub>。此外,发现有 3 株分离株在 *adeS* 基因中检测到 ISAb<sub>13</sub>,这是首次在 AB 中观察到 ISAb<sub>13</sub> 插

入 *adeS* 基因。

综上所述,本文研究了该院 MDR-AB 对替加环素耐药的机制,*adeABC* 外排泵的过度表达及其调控系统内特定核苷酸替换和插入序列的存在可能是导致其耐药的机制之一。由于 AB 对替加环素的耐药机制十分复杂且多样,因此本研究的局限性在于未能探究外膜通透性蛋白 PlsC 和 Abp 及替加环素作用靶点 *rpsJ* 和 *trm* 的改变是否在该院菌株替加环素耐药性中发挥重要作用,今后将更多地关注替加环素耐药的分子机制,为寻找新的治疗策略提供参考。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

- [1] Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections [J]. Lancet Infect Dis, 2008, 8(12): 751-762.
- [2] 郭燕, 胡付品, 朱德妹, 等. 2023 年 CHINET 中国细菌耐药监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2024, 24(6): 627-637. Guo Y, Hu FP, Zhu DM, et al. Antimicrobial resistance profile of clinical isolates in hospitals across China: report from the CHINET antimicrobial resistance surveillance program, 2023 [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2024, 24(6): 627-637.
- [3] Bauer G, Berens C, Projan SJ, et al. Comparison of tetracycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug-directed Fe<sup>2+</sup> cleavage of 16S rRNA [J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 53(4): 592-599.
- [4] Someya Y, Yamaguchi A, Sawai T. A novel glycylicycline, 9-(N,N-dimethylglyclamido)-6-demethyl-6-deoxytetracycline, is neither transported nor recognized by the transposon Tn10-encoded metal-tetracycline/H<sup>+</sup> antiporter [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(1): 247-249.
- [5] Sun CL, Yu YS, Hua XT. Resistance mechanisms of tigecycline in *Acinetobacter baumannii* [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1141490.
- [6] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(3): 268-281.
- [7] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 32nd edition [S]. Malvern, PA, USA: CLSI, 2022.
- [8] Salehi B, Ghalavand Z, Yadegar A, et al. Characteristics and diversity of mutations in regulatory genes of resistance-nodulation-cell division efflux pumps in association with drug-resis-

- tant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2021, 10(1): 53.
- [9] Ghalavand Z, Eslami G, Hashemi A, et al. Characterization of sequence types and mechanisms of resistance to tigecycline among *Acinetobacter baumannii* isolated from children [J]. Curr Microbiol, 2022, 79(9): 285.
- [10] 王健. 鲍曼不动杆菌对替加环素耐药机制的研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2018.
- Wang J. Study on the mechanism of dug resistance to tigecycline in *Acinetobacter baumannii* [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2018.
- [11] Foong WE, Wilhelm J, Tam HK, et al. Tigecycline efflux in *Acinetobacter baumannii* is mediated by TetA in synergy with RND-type efflux transporters [J]. J Antimicrob Chemother, 2020, 75(5): 1135 - 1139.
- [12] Sader HS, Flamm RK, Jones RN. Tigecycline activity tested against antimicrobial resistant surveillance subsets of clinical bacteria collected worldwide (2011) [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 76(2): 217 - 221.
- [13] Nowak J, Schneiders T, Seifert H, et al. The Asp20-to-Asn substitution in the response regulator AdeR leads to enhanced efflux activity of AdeB in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(2): 1085 - 1090.
- [14] Nakajima Y. Mechanisms of bacterial resistance to macrolide antibiotics [J]. J Infect Chemother, 1999, 5(2): 61 - 74.
- [15] Park YK, Ko KS. Effect of carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone (CCCP) on killing *Acinetobacter baumannii* by colistin [J]. J Microbiol, 2015, 53(1): 53 - 59.
- [16] Xu C, Bilya SR, Xu W. adeABC efflux gene in *Acinetobacter baumannii* [J]. New Microbes New Infect, 2019, 30: 100549.
- [17] Deng M, Zhu MH, Li JJ, et al. Molecular epidemiology and mechanisms of tigecycline resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Chinese university hospital [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(1): 297 - 303.
- [18] Leski TA, Bangura U, Jimmy DH, et al. Multidrug-resistant tet(X)-containing hospital isolates in Sierra Leone [J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 42(1): 83 - 86.
- [19] Groisman EA. Feedback control of two-component regulatory systems [J]. Annu Rev Microbiol, 2016, 70: 103 - 124.
- [20] Li HN, Wang XJ, Zhang YW, et al. The role of RND efflux pump and global regulators in tigecycline resistance in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates [J]. Future Microbiol, 2015, 10(3): 337 - 346.
- [21] Gerson S, Nowak J, Zander E, et al. Diversity of mutations in regulatory genes of resistance-nodulation-cell division efflux pumps in association with tigecycline resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(6): 1501 - 1508.
- [22] Hornsey M, Ellington MJ, Doumith M, et al. AdeABC-mediated efflux and tigecycline MICs for epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* [J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(8): 1589 - 1593.
- [23] Sun JR, Jeng WY, Perng CL, et al. Single amino acid substitution Gly186Val in AdeS restores tigecycline susceptibility of *Acinetobacter baumannii* [J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 71(6): 1488 - 1492.
- [24] Sun JR, Perng CL, Chan MC, et al. A truncated AdeS kinase protein generated by ISAbal1 insertion correlates with tigecycline resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49534.

(本文编辑: 翟若南)

**本文引用格式:**郭俊妙,袁润奇,邓晓龙,等.多重耐药鲍曼不动杆菌对替加环素不敏感的耐药机制研究[J].中国感染控制杂志,2025,24(1):45-51. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20256579.

**Cite this article as:** GUO Junmiao, YUAN Runqi, DENG Xiaolong, et al. Mechanism of tigecycline insensitivity of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Chin J Infect Control, 2025, 24(1): 45 - 51. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20256579.