陕西省科学技术进步奖提名书

(2021年度)

**项目名称：**粘质沙雷菌耐药机制及联合用药模式的研究

**主要完成人：**扈会整、李俊海、刘婧、王欣、张晔婷、吴斌艳、王瑞营

**主要完成单位：**陕西省核工业二一五医院

**提名单位：**中陕核工业集团公司

**提名意见：**三等奖

该项目立意新颖，思路清晰，通过合理设计临床试验，应用分子生物学、微生物学等技术得出可靠的结论。运用PCR技术和DNA序列分析技术确认引起粘质沙雷菌耐碳青霉烯酶的基因型；将粘质沙雷菌与大肠埃希菌进行接合并测定接合后大肠埃希菌对碳青霉烯类药物的MIC值。研究发现咸阳地区耐碳青霉烯酶的粘质沙雷菌的主要耐药基因为KPC-2、IMP-2、VIM，接合实验阳性提示耐药基因通过接合转录的方式在不同种属细菌间进行传播。通过药敏试验计算FIC指数和细菌酶学检测得出耐药性粘质沙雷菌的联合用药方案：对于产金属 β-内酰胺酶的粘质沙雷菌，FEP与AMK、TZP与CIP、MEM与 AMK（或 CIP） 、SCF与CIP联合用药28.57%能起相加作用，而对于FEP与CIP及SCF与AMK拮抗率达71.42% ，不宜选用；对于产AmpC酶的粘质沙雷菌，TZP与CIP（或AMK）、MEM与AMK（或CIP） 联合用药22.22% 起相加作用，且拮抗率为0，而对于FEP与CIP、SCF与AMK（或CIP）拮抗率较高，不宜选用。此研究成果在本院及兄弟医院应用均达到理想的效果，为感染多重耐药粘质沙雷菌的患者提供了可靠的用药依据，避免了无效用药，减轻患者的身体痛苦和经济负担，同时减少医院耐药菌的产生，对控制院内感染有重要意义。

同意提名该项目为陕西省科技进步奖三等奖。

**一、项目简介**

|  |
| --- |
| 1、立项背景  粘质沙雷菌（*Serratia* *marcescens*）是一种兼性厌氧革兰氏阴性杆菌，属于肠杆菌科沙雷菌属，广泛分布于自然界和医院环境中。该菌在人体抵抗力低下、外科手术、输血、侵入性操作等条件下可导致肺部感染、泌尿系感染、血流感染及创口感染等，并可引起院内感染的暴发流行，近年来已成为医院感染重要的条件致病菌。2017年世界卫生组织（WHO）将其列为具有严重威胁并迫切需要新抗生素的病原体。碳青霉烯类抗生素是一类广谱β-内酰胺类抗生素，是目前治疗产酶肠杆菌重症感染最有效的药物之一。随着抗生素的大量使用临床粘质沙雷菌的耐药率在逐步上升，给医院感染防控和临床抗感染治疗工作带来极大的挑战。  细菌利用不同的机制抵御抗生素的侵害，包括抗生素靶标基因的突变、细胞膜通透性降低、释放水解酶和通过外排泵或孔蛋白增加外排等。研究发现粘质沙雷菌可通过携带碳青霉烯酶基因、外膜孔蛋白的改变或缺失、抗菌药物作用靶点的改变、主动外排机制等产生耐药性。地域的差异也可能导致其耐药性的差异，因此研究清楚本地区粘质沙雷菌的耐药机制并探究出一套合理的用药方案对有效治疗由粘质沙雷菌引起的感染具有重要意义。  2、主要技术内容       （1）常规培养分离临床标本细菌，应用VITEK-2 compact全自动细菌分析仪鉴定细菌种属。根据CLSI 要求，采用微量倍比稀释法进行MIC实验；  （2）收集2011-2015年15株咸阳地区对亚胺培南和美罗培南耐药的粘质沙雷菌株 ，改良的Hodge实验筛选碳青霉烯酶；  （3）采用PCR扩增和DNA序列分析技术，鉴定引起粘质沙雷菌耐碳青霉烯酶的基因型；  （4）应用琼脂糖凝胶电泳和质粒接合实验分析菌株的同源性和质粒转移特性；  （5）通过改良三维实验对细菌酶学进行检测和棋盘稀释法进行细菌联合用药的药敏试验，探究针对多重耐药粘质沙雷菌联合用药模式。 3、技术经济指标  中国细菌耐药监测网（CHINET）数据显示，随着抗生素的广泛使用，耐碳青霉烯类粘质沙雷菌的临床分离率和耐药率均逐年上升，其耐药机制复杂，单一抗生素已不能对其进行有效治疗。通过本地区耐药性粘质沙雷菌的研究，发现KPC-2 、IMP-2、VIM等基因是引起粘质沙雷菌耐药的主要原因；耐药基因通过接合转录的方式在不同种属细菌间进行传播。进一步研究发现，针对多种耐药机制并存的粘质沙雷菌首选美洛培南及含酶抑制剂的抗菌药物（哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦）联合阿米卡星或环丙沙星进行治疗，可以有效的控制其感染及耐药性的产生。通过研究粘质沙雷菌的产酶现状、耐药性及联合用药模式为临床治疗粘质沙雷菌感染提供合理用药的实验依据，避免无效用药使患者受到抗菌药物对身体的摧残等负面影响，为社会及患者家庭减轻经济负担。  4、应用推广及效益情况  （1）该研究项目在《现代医学检验杂志》以临床研究形式发表，题目“黏质沙雷菌的耐药率分析及碳青霉烯酶的检测”； 该研究项目在《中国卫生检验杂志》以论著的形式发表，题目“碳青霉烯酶在黏质沙雷菌中的耐药基因研究”； 该研究项目在《临床检验杂志》以临床研究形式发表，题目“多重耐药黏质沙雷菌抗菌药物联合应用模式的初步研究”； 该研究项目在《国外医药抗生素分册》以临床研究形式发表，题目“黏质沙雷菌的产酶现状及抗菌药物耐药性的研究”；在《International Journal of Clinical and Experimental Medicine》杂志发表SCI论文“In vitro efficacy of meropenem in combination with colistin, ampicillin-sulbactam against multidrug-resistant blaNDM-1-positive *acinetobacter baumannii* strains”。多项研究成果的发表为同行在治疗多重耐药性粘质沙雷菌的感染提供了参考； （2）该方法已对陕西省核工业 二一五医院及咸阳其他兄弟医院感染粘质沙雷菌的住院患者实施，取得了不错的效果，得到患者的一致好评。此研究成果的成功使用避免之前的经验用药导致患者住院时间过长、抗生素药物不针对性使用对患者身体造成的影响等，为社会及患者家庭减轻经济负担，有良好的经济效益和社会效益。 |

**二、客观评价**

|  |
| --- |
| 1、项目为陕西省科学技术研究发展计划项目，经过近四年的具体实施，发表论文4篇，此项目在陕西省核工业二一五医院及咸阳市其他兄弟医院得到较好的推广，并取得了很好的经济效益和社会效益。2015年12月15日由陕西省科学技术厅专家组（尹维宏、何爱丽、陈明伟、闫小宁、武胜昔）对“陕西省粘质沙雷菌产酶性、耐药基因及机制研究”（2014K11-02-03-09）项目进行了验收，验收意见如下：  1）验收材料基本齐全，符合验收要求。  2）该研究通过粘质沙雷菌的最低浓度（MIC）检测、粘质沙雷菌基因组DNA模板的提取、粘质沙雷菌碳青霉烯酶的检测、粘质沙雷菌碳青霉烯酶耐药基因的检测、外模蛋白是否缺失的检测，了解陕西地区粘质沙雷菌的产酶现状及耐药菌的基因分型和抗菌药物的应用，为临床避免无效用药提供依据，减少了社会及家庭的经济负担。同时，对减少耐药菌的产生，控制院内感染也有一定帮助。  3）项目经费到位，使用合理 。验收委员会认为，该项目完成合同任务要求，一致同意通过验收。  2、2012年11月22日咸阳市科技局、咸阳市卫生局组织有关专家对陕西省核工业二一五医院完成的“对多重耐药粘质沙雷菌的抗菌药物联合应用模式的初步研究”进行科技成果评审，与会专家通过听取课题组的汇报、查看资料、质疑答辩、讨论后一致认为：  1）课题组提供的技术资料完整、详实、符合评审要求。  2）该研究课题立意新颖，临床试验设计合理、实施得当、资料及结果可靠，从分子水平阐明了粘质沙雷菌耐药机制，对多重耐药的粘质沙雷菌的病人提供可靠用药依据，减少了临床盲目用药，避免无效用药，为临床医学发展和人类健康提供依据。  3）此项目研究用于临床具有良好的经济效益和社会效益。综上所述，此项研究填补了省内空白，居国内先进水平。  3、（1）2013年2月，项目“对多重耐药粘质沙雷菌的抗菌药物联合应用模式的初步研究”荣获咸阳市科学技术奖二等奖；  （2）2016年4月，项目“调查粘质沙雷菌产酶性耐药的基因分型”荣获咸阳市科学技术奖三等奖；  （3）2018年5月，论文“碳青霉烯酶在粘质沙雷菌中的耐药基因的研究”荣获自然科学优秀学术论文三等奖。  4、本研究通过陕西科技大学图书馆的查新，得到未与该课题内容相同的文献报道。 |

**三、应用情况**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 本研究项目主要通过分子生物学技术联合微生物学技术研究本地区耐药性粘质沙雷菌的产酶特性及耐药基因分型，从而进一步探究其联合用药方案。项目完成后，该研究成果已对陕西省核工业二一五医院感染粘质沙雷菌的住院患者实施，同时向兄弟医院进行宣传及推广，取得了一定的效果，获得了兄弟医院及患者的一致好评。   |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | **主要应用单位情况表** | | | | | | | **序号** | **单位名称** | **应用的技术** | **应用对象及规模** | **应用起止时间** | **单位联系人/电话** | | **1** | 陕西省核工业二一五医院 | 耐药性粘质沙雷菌的联合用药 | 耐药性粘质沙雷菌患者/200余例 | 2013-01/2015-08 | 任阿兰/029-33570895 | | **2** | 咸阳彩虹医院 | 耐药性粘质沙雷菌的联合用药 | 耐药性粘质沙雷菌患者/150余例 | 2013-01/2015-12 | 郝肖伟/029-33326708 | | **3** | 陕西中医药大学附属医院 | 耐药性粘质沙雷菌的联合用药 | 耐药性粘质沙雷菌患者/230余例 | 2013-01/2015-06 | 马艳侠/029-33341362 | | **4** | 陕西中医药大学第二附属医院 | 耐药性粘质沙雷菌的联合用药 | 耐药性粘质沙雷菌患者/140余例 | 2013-01/2015-11 | 郭瑞林/029-33573800 | | **5** | 咸阳市中心医院 | 耐药性粘质沙雷菌的联合用药 | 耐药性粘质沙雷菌患者/260余例 | 2013-01/2015-11 | 高玉芳/029-33222222 |   通过此项目研究成果的应用，每一个感染病人如果每天药物治疗费用按节省200元计算，疗程5-7天，每个病人将节省约1000元-1400元；针对感染耐药性粘质沙雷菌的患者，通过联合用药，在治疗患者病情上效率得到了有效的提高，避免无效用药使患者受到抗菌药物对身体的摧残等负面影响；减少医院耐药菌的产生，对控制院内感染有重要意义。 |

**四、主要知识产权和标准规范等目录**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **知识产权类别** | **知识产权具体名称** | **国家**  **（地区）** | **授权号** | **授权日期** | **证书编号** | **权利人** | **发明人** |
| 1 | 论文 | 多重耐药黏质沙雷菌抗菌药物联合应用模式的初步研究 | 中国 | 2012年5月30卷390-391页 | 2012-05-01 | 临床检验杂志 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整、刘婧 |
| 2 | 论文 | 碳青霉烯酶在黏质沙雷菌中的耐药基因研究 | 中国 | 2015年第25卷4338-4239 | 2015-12-12 | 中国卫生检验杂志 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整、吴斌艳、张晔婷 |
| 3 | 论文 | 黏质沙雷菌的产酶现状及抗菌药物耐药性的研究 | 中国 | 2011年3月第32卷第2期 | 2011-03-20 | 国外医药抗生素分册 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整、刘婧 |
| 4 | 论文 | 黏质沙雷菌的耐药率分析及碳青霉烯酶的检测 | 中国 | 2015年第30卷118-120 | 2015-01-25 | 现代检验医学杂志 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整 |
| 5 | 论文 | In vitro efficacy of meropenem in combination with colistin, ampicillin-sulbactam against multidrug-resistant blaNDM-1-positive *acinetobacter baumannii* strains | 中国 | 2018年第11卷13251-13258 | 2018年12月30日 | International Journal of Clinical and Experimental Medicine | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整、刘婧 |
| 6 | 其他 | 对多重耐药黏质沙雷菌的抗菌药物联合应用模式的初步研究 | 中国 | 12G002 | 2013年2月16日 | 咸阳市人民政府 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整、刘婧 |
| 7 | 其他 | 调查粘质沙雷菌产酶性耐药的基因分型 | 中国 | 15K49-02 | 2016年4月17日 | 咸阳市人民政府 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整 |
| 8 | 其他 | 碳青霉烯酶在粘质沙雷菌中的耐药基因的研究 | 中国 | 20188342 | 2018年5月1日 | 咸阳市人民政府 | 陕西省核工业二一五医院 | 扈会整、吴斌艳、张晔婷 |

**五、主要完成人情况**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **姓名** | **排名** | **行政职务** | **工作单位** | **完成单位** | **对本项目贡献** |
| 1 | 扈会整 | 1 | 主任 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | 项目整体规划及论文撰写 |
| 2 | 李俊海 | 2 | 院长 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | 实验思路设计与指导 |
| 3 | 刘婧 | 3 | 无 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | 采集及分析处理数据 |
| 4 | 王欣 | 4 | 无 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | 收集整理资料、细菌接合实验 |
| 5 | 张晔婷 | 5 | 无 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | 标本采集、菌株收集及药敏试验检测 |
| 6 | 吴斌艳 | 6 | 无 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | 菌株的培养鉴定 |
| 7 | 王瑞营 | 7 | 无 | 陕西省核工业二一五医院 | 陕西省核工业二一五医院 | PCR扩增和DNA序列分析 |

**六、主要完成单位及创新推广贡献**

陕西省核工业二一五医院是一所集医疗、教学、科研、预防为一体的综合性医院，根据医院的发展，结合科室的实际情况，我院检验科设有微生物室、PCR室等多个工作室，同时配备有先进的仪器设备，例如VITEX-2全自动细菌药敏鉴定系统、荧光PCR仪、酶标仪等，对课题立项、设计及顺利完成提供了基本的保障；该项目的研究成果得到医院的肯定和大力推广，多次向本院临床及其他医护人员宣传推广，大力支持其应用于临床；同时我院领导也积极向咸阳彩虹医院、陕西中医药大学附属医院、咸阳市中心医院等兄弟医院介绍推广，使我院及兄弟医院获得了更好的口碑及更高的效益。

**七、完成人合作关系说明**

1、2011-2013年，本人与刘婧等研究者进行粘质沙雷菌的相关实验，共同发表论文“多重耐药黏质沙雷菌药物联合应用模式的初步探究”；

2、2011-2018年，本人与吴斌艳、张晔婷等研究者进行合作，吴斌艳、张晔婷负责粘质沙雷菌株的收集、临床试验、数据进行分析整理等，本人完成论文的撰写，发表论文“碳青霉烯酶在黏质沙雷菌中的耐药基因研究”；

3、2011年，本人与刘婧等研究者进行合作，发表论文“黏质沙雷菌的产酶现状及抗菌药物耐药性研究”；

4、2011-2015年，本人与王欣等研究者进行粘质沙雷菌的相关实验，共同发表论文“黏质沙雷菌的耐药率分析及碳青霉烯酶的检测”；

5、2013-2018年，本人与刘婧等研究者进行鲍曼不动杆菌的耐药基因、生长的测定、联合用药等相关实验，发表SCI论文“In vitro efficacy of meropenem in combination with colistin, ampicillin-sulbactam against multidrug-resistant blaNDM-1-positive acinetobacter baumannii strains”；

6、2013年2月，本人与刘婧等研究者进行相关实验思路的设计和项目书的撰写，联合申报陕西省科研立项“对多重耐药黏质沙雷菌的抗菌药物联合应用模式的初步研究”荣获咸阳市科学技术奖二等奖；

7、2016年4月，本人与其他研究者合作的项目“调查粘质沙雷菌产酶性耐药的基因分型”荣获咸阳市科学技术奖三等奖；

8、2018年5月，本人与张晔婷、吴斌艳等研究者合作的论文“碳青霉烯酶在粘质沙雷菌中的耐药基因的研究”荣获咸阳市自然科学优秀学术论文三等奖；

9、李俊海、王瑞营在微生物耐药菌机制研究方面有丰富的经验，李俊海主要负责实验思路的设计及指导，王瑞营主要负责相关文献的查阅，与本人共同参与完成省级科技进步奖申请书的撰写。