

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.33.021

# 医院感染 nosocomialis 不动杆菌的研究进展\*

袁文丽 综述, 邓德耀<sup>△</sup> 审校

(云南省第二人民医院检验科, 昆明 650021)

**[摘要]** 鲍曼不动杆菌、pittii 不动杆菌和 nosocomialis 不动杆菌是近年来最常出现的可引起严重人类疾病的医院获得感染条件致病菌,也是各医院中最常被分离的不动杆菌。这 3 种不动杆菌表型相近,然而 nosocomialis 不动杆菌无论在临床价值、产碳青霉烯酶的耐药机制上,还是毒力研究方面均与鲍曼不动杆菌存在较多差异。本文就 nosocomialis 不动杆菌的鉴定方法、分子流行病学研究进展、临床预后、产碳青霉烯酶和相关毒力因子的研究现状作一综述。

**[关键词]** nosocomialis 不动杆菌;医院感染;分子流行病学;碳青霉烯酶;外膜蛋白 A;外膜囊泡

**[中图分类号]** R378.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)33-4282-03

醋酸钙不动杆菌-鲍曼不动杆菌复合体(A. calcoaceticus-A. baumannii complex, ACB)是由醋酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*, A. calcoaceticus)、鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, A. baumannii)、pittii 不动杆菌(*Acinetobacter pittii*, A. pittii)和 nosocomialis 不动杆菌(*Acinetobacter nosocomialis*, A. nosocomialis)组成<sup>[1]</sup>。醋酸钙不动杆菌多分布于自然环境中,临床送检标本中分离到的不动杆菌则多为 A. baumannii、A. pittii 和 A. nosocomialis。这 3 种细菌生化反应相近,多数临床微生物实验室采用的商品化表型鉴定方法很难将其准确区分开来。然而,这 3 种细菌的检出率、临床表现、碳氢酶烯类耐药机制、治疗选择用药,以及相关毒力因子均存在较多差异。因此,将菌株鉴定到种的水平是临床微生物人员下一步的工作方向。笔者所在科研小组已对 A. pittii 的部分进展进行了综述,并引起了临床医师和微生物工作者的关注<sup>[2]</sup>。本文继续就 nosocomialis 不动杆菌的鉴定方法、分子流行病学研究进展、临床预后、产碳青霉烯酶的耐药机制和毒力相关因子的研究现状予以综述。

## 1 A. nosocomialis 的鉴定

细菌分类鉴定方法通常分为表型鉴定法和分子遗传学鉴定法两大类。多数临床实验室采用的是基于生化反应的商品化鉴定方法,如 Vitek 2 等。基于生化表型的鉴定系统在细菌为鲍曼不动杆菌时具有较多优势,但是菌株若为 A. nosocomialis 时则极有可能将其判断为“ACB”或“鲍曼不动杆菌”。随着临床实验室商品化鉴定仪的不断升级,其也有可能准确鉴定出 A. pittii 和 A. nosocomialis。然而,在临床实践和文献查阅中,利用 Vitek 2 等准确鉴定 A. pittii 和 A. nosocomialis 仍较为少见。分子遗传学鉴定法是

核酸水平的鉴定,较常使用的有 rpoB 基因测序和 16S-23SrRNA 基因间隔序列分析等等。这些方法虽然可以准确鉴定到种的水平,但成本较高,耗时、费力,且对实验室和操作人员要求较高。MALDI-TOF MS 是近年发展起来用于微生物鉴定分型的生物质谱技术,通过产生特征性的蛋白质指纹图谱并与数据库中的参考图谱进行快速地对比如获得鉴定结果,已越来越多地被用于临床微生物的鉴定,具有操作简便、快速、成本低,重复性好的优点,有望在未来成为日常临床微生物鉴定的理想工具<sup>[1,3]</sup>。

## 2 A. nosocomialis 的临床价值

近年来,临床微生物及感染控制等领域的研究团队都对 A. nosocomialis 相关的医院感染进行了文献报道。总的来说,在大部分临床 ACB 分离株中,A. baumannii 检出率最高,A. nosocomialis 的检出率最低,多在 10% 以下。值得重视的是,在血液来源的临床标本中,A. nosocomialis 不动杆菌的感染率出现了显著升高的趋势,甚至在部分文献报道中远远高于 A. baumannii。KARAH 等<sup>[4]</sup>收集了挪威地区 2005—2007 年的 113 份血液培养来源的不动杆菌属临床分离株,通过 16SrRNA 和 recA 序列分析进行鉴定,发现这些不动杆菌属分离株中最常见的是 A. nosocomialis (46.9%),其后依次为 A. pittii (19.5%)、A. baumannii (8.8%) 和鲁氏不动杆菌/基因型 9 型不动杆菌 (7.1%)。此研究认为,A. nosocomialis 是挪威地区血液培养分离到的主要不动杆菌属菌株。不同国家和地区学者的研究结果也显示,血液培养来源的 A. nosocomialis 临床检出率约在 20%~40%,是不动杆菌属中分离到的除 A. baumannii 以外最主要的菌株<sup>[5-6]</sup>。WU 等<sup>[7]</sup>也认为 A. nosocomialis 必须被考虑为主要的引起医院性感染菌血症的病原菌,尤其是

\* 基金项目:云南省科技厅应用基础研究联合专项基金资助项目(2015FB081);云南省教育厅科学研究基金资助项目(2014Z071)。作者简介:袁文丽(1980—),主管检验师,硕士,主要从事临床微生物学与分子生物学的研究。△ 通信作者,E-mail:dengdeyao2007@sina.com。

对于无中性白细胞减少的晚期癌症患者。

虽然在不同文献报道中 *A. nosocomialis* 的临床检出率存在较大的差异,但绝大多数的研究均认为,与感染 *A. baumannii* 的患者相比,感染 *A. nosocomialis* 或 *A. pittii* 的患者往往表现出更低的病死率、更轻的并发症及更好的临床预后<sup>[8]</sup>。因此 *A. baumannii* 和 *A. nosocomialis/A. pittii* 应该被视为两种不同的临床存在而区分对待<sup>[9-12]</sup>。需要引起重视并进行下一步研究的是,*A. nosocomialis* 和 *A. pittii* 感染的临床价值并不尽相同。近年来,LIU 等<sup>[12]</sup> 的研究观察到,较 *A. pittii* 感染而言,*A. nosocomialis* 感染患者接受了更多的诸如导尿管、鼻胃管、气管插管及机械通气等侵袭性操作,表现出更多的终末期肾病、心血管疾病、手术史及 ICU 住院史。复习相关临床回顾性研究,可以看到 *A. pittii* 感染患者的病死率约为 9%~14%,*A. nosocomialis* 感染患者的病死率则为 14%~17%,较 *A. pittii* 感染患者略高,但差异并无统计学意义<sup>[4-8]</sup>。

### 3 *A. nosocomialis* 产碳青霉烯酶与抗生素治疗

有研究发现,较多的 *A. baumannii* 临床分离株对亚胺培南和替加环素在内的绝大多数抗生素均表现为耐药,即多重耐药或泛耐药<sup>[9-12]</sup>。然而,*A. nosocomialis/A. pittii* 则对大多数抗生素表现为敏感,碳氢酶烯类耐药的 *A. nosocomialis/A. pittii* 临床检出率也大大低于 *A. baumannii*。

目前的研究认为碳氢酶烯类耐药的 *A. baumannii* 和 *A. nosocomialis/A. pittii* 的耐药机制不尽相同。总体而言,*A. baumannii* 以产 D 类碳氢酶烯酶为主,而 *A. nosocomialis/A. pittii* 较常见的是产 B 类金属  $\beta$ -内酰胺酶如 IMP、VIM 等,但也有见产 D 类 OXA 酶的文献报道。ZHANG 等<sup>[13]</sup> 在浙江省报道产 NDM-1 的 *A. nosocomialis*。此研究团队发现了 1 株 *A. nosocomialis* 同时携带了 NDM-1 和 OXA-23,且碳青霉烯类耐药性可通过接合实验从 *A. nosocomialis* 和 *A. pittii* 转移到大肠埃希菌 EC600;通过质粒分析、DNA 杂交和提取实验发现 NDM-1 定位于 1 个大约 50 kb 的质粒。YAMADA 等<sup>[14]</sup> 鉴定的 18 株 ACB 中,4 株 *A. pittii* 和 4 株 *A. nosocomialis* 中均检测出 B 类碳青霉烯酶耐药基因。邓德耀等<sup>[15]</sup> 研究显示 blaOXA-23 和 blaOXA-51 基因仅仅与 *A. baumannii* 有联系,但是近年来也出现了许多关于该基因出现在非鲍曼不动杆菌即 *A. nosocomialis/A. pittii* 的文献报道。PARK 等<sup>[6]</sup> 在南韩和泰国均分离得到 blaOXA-23 阳性的 *A. nosocomialis* 分离株。不仅如此,LEE 等<sup>[16]</sup> 在中国台湾发现 blaOXA-51 先于 ISAbal 存在于碳青霉烯耐药的 *A. nosocomialis* 中。TEIXEIR 等<sup>[17]</sup> 在巴西阿雷格里港地区 *A. nosocomialis* 临床分离株中发现了质粒携带的 blaOXA-23 和 blaOXA-51 基因,并在这些 D 类碳青霉烯酶耐药

序列前观察到了与其表达相关的插入序列 ISAbal。这也是在拉丁美洲首次报道携带 ISAbal-blaOXA-23 的耐碳青霉烯类抗生素的 *A. nosocomialis*。

对于碳氢酶烯类耐药的 *A. baumannii*,临床医生可以选用的抗生素种类有限,小范围的临床试验认为,联合用药的效果可能优于替加环素或多粘菌素的单药使用。联合用药可以选用粘菌素联合利福平,或者替加环素联合粘菌素。然而,*A. nosocomialis/A. pittii* 对大多数抗生素均表现为敏感,其一线用药多推荐广谱的  $\beta$ -内酰胺类和氟喹诺酮类抗生素。需要注意的是,较 *A. baumannii* 而言,*A. nosocomialis/A. pittii* 对多粘菌素(粘菌素)的敏感性是降低的,特别是有的研究小组还观察到 *A. nosocomialis* 对粘菌素和替加环素的耐药率接近 20%<sup>[18]</sup>。

### 4 *A. nosocomialis* 的毒力相关研究

目前,鲍曼不动杆菌中发现的毒力因子主要包括外膜蛋白 A(OmpA)、脂多糖(LPS)、荚膜多糖、磷脂酶 D(PLD)、青霉素结合蛋白(PBP)和外膜囊泡(OMV),其发病机制的特点主要涉及运动性、黏附性、生物膜的形成和铁的获取。OmpA 和 OMV 则是近年来国内外医务工作者关注的重点。

OMV 是细菌在生长过程中分泌到细胞外的一些 10~300 nm 的球形微粒,OMV 含有细菌细胞外膜中的组分,包括脂多糖、磷脂,以及一些外膜蛋白,同时细菌细胞周质中的某些成分也选择性的包裹进入 OMV。鲍曼不动杆菌 OmpA 相对分子质量大小为  $38 \times 10^3$  (以前称为 Omp38),是高度保守的外膜孔蛋白,在鲍曼不动杆菌黏附和侵入真核细胞、生物膜形成、血清抗性、免疫调节、外膜囊泡起源等方面起重要作用,是目前功能研究得较为透彻的毒力因子之一。KIM 等<sup>[19]</sup> 利用基因删除技术构建了 *A. nosocomialis* ATCC 17903T  $\Delta$ ompA 突变菌株,并观察到:较野生型 *A. nosocomialis* 而言,ompA 基因缺失突变株 14、24、48 h 生物膜形成能力显著下降;然而 ompA 基因补偿性敲入后, $\Delta$ ompA 突变菌株各时段生物膜形成能力则均恢复到野生株水平。在上皮细胞 A549 黏附能力方面,每 90 个 A549 细胞能够黏附  $(188.0 \pm 8.5)$  个野生型 *A. nosocomialis* 集落形成单位,而仅能黏附  $(80.5 \pm 7.8)$  个 ompA 基因缺失突变株。虽然 OmpA 在 *A. nosocomialis* 生物膜形成和上皮细胞黏附方面经该实验证实具有重要作用,但是 KIM 等<sup>[19]</sup> 仍观察到 ompA 基因缺失或补偿性敲入并不直接影响 *A. nosocomialis* 对上皮细胞 HEp-2 的细胞毒作用,OmpA 可能通过 *A. nosocomialis* 产生和分泌的 OMVs 来发挥其对上皮细胞的细胞毒作用,且这种细胞毒作用还具有细胞特异性。野生型 *A. nosocomialis*、 $\Delta$ ompA 突变菌株和 ompA 基因补偿性敲入菌株产生的  $\leq 15 \mu\text{g/mL}$  的 OMVs 均不能对 A549 细胞产生细胞毒作用。然而野生型 *A. nosocomialis* 产生的

15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 OMVs 就能引起 HEP-2 的细胞毒作用, 但  $\Delta\text{ompA}$  突变菌株分泌的任何浓度的 OMVs 均不能产生 HEP-2 细胞毒作用。

近年来, 作为条件致病菌的 nosocomialis 不动杆菌已经成为重要的院内感染病原菌之一, 并在部分文献报道中超过了鲍曼不动杆菌。鉴于其表型相近, 临床现有的商品化方法鉴定正确率有限, 临床实验室应创造条件, 通过其他方法对 Acb 进行准确鉴定。较临床常见的鲍曼不动杆菌而言, nosocomialis 不动杆菌在流行方式、耐药性上均存在一定差异。既往大多数的研究是描述了 nosocomialis 不动杆菌的流行病学、危险因素、结局, 或者旨在优化多重耐药菌感染的抗生素治疗, 这些基础数据为 nosocomialis 不动杆菌的流行病学和临床管理提供了有价值的信息, 但较少的文献涉及了 nosocomialis 不动杆菌毒力相关因子这些具有潜在临床价值的生物学基础, 这就需要临床医务人员特别是临床微生物实验室工作人员对医院感染 nosocomialis 不动杆菌进行更加全面的研究和临床实践。

## 参考文献

- [1] 吴伟根, 黄永禄, 杨旭峰, 等. 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱仪在醋酸钙鲍曼不动杆菌复合群鉴定中的应用研究[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(12): 1115-1119.
- [2] 邓德耀, 袁文丽, 张唤. 医院感染 pittii 不动杆菌的研究进展[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 1(16): 239-241.
- [3] GHEBREMEDHIN M, HEITKAMP R, YESUPRIYA S, et al. Accurate and rapid differentiation of acinetobacter baumannii strains by raman spectroscopy: a comparative study[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(8): 2480-2490.
- [4] KARAH N, HALDORSEN B, HEGSTAD K, et al. Species identification and molecular characterization of Acinetobacter spp. blood culture isolates from Norway[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(4): 738-744.
- [5] WISPLINGHOFF H, PAULUS T, LUGENHEIM M, et al. Nosocomial bloodstream infections due to Acinetobacter baumannii, Acinetobacter pittii and Acinetobacter nosocomialis in the United States[J]. J Infect, 2012, 64(3): 282-290.
- [6] PARK Y K, JUNG S I, PARK K H, et al. Changes in antimicrobial susceptibility and major clones of Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex isolates from a single hospital in Korea over 7 years[J]. J Med Microbiol, 2012, 61(1): 71-79.
- [7] WU H S, KUO S C, LEE Y T, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of Acinetobacter nosocomialis bacteraemia in patients with solid tumours[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(9): E373-376.
- [8] CHIANG M C, KUO S C, CHEN S J, et al. Clinical characteristics and outcomes of bacteremia due to different genomic species of Acinetobacter baumannii complex in patients with solid tumors[J]. Infection, 2012, 40(1): 19-26.
- [9] LEE Y T, KUO S C, YANG S P, et al. Bacteremic nosocomial pneumonia caused by Acinetobacter baumannii and Acinetobacter nosocomialis: a single or two distinct clinical entities? [J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(7): 640-645.
- [10] DE VOS D, PIRNAY JP, BILOCQ F, et al. Molecular epidemiology and clinical impact of acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex in a Belgian burn wound center [J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0156237.
- [11] LI P, NIU W, LI H, et al. Rapid detection of Acinetobacter baumannii and molecular epidemiology of carbapenem-resistant A. baumannii in two comprehensive hospitals of Beijing, China[J]. Front Microbiol, 2015(6): 997.
- [12] LIU Y M, LEE Y T, KUO S C, et al. Comparison between bacteremia caused by Acinetobacter pittii and Acinetobacter nosocomialis[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2017, 50(1): 62-67.
- [13] ZHANG R, HU Y Y, YANG X F, et al. Emergence of NDM-producing non-baumannii Acinetobacter spp. isolated from China[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014, 33(5): 853-860.
- [14] YAMADA Y, ENDO K, SAWASE K, et al. Rapid species identification and epidemiological analysis of carbapenem-resistant Acinetobacter spp. by a PCR-based open reading frame typing method[J]. J Med Microbiol, 2016, 65(9): 923-927.
- [15] 邓德耀, 袁文丽, 张唤, 等. 碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌同源性及其碳青霉烯酶基因分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 20(20): 3537-3540.
- [16] LEE Y T, KUO S C, CHIANG M C, et al. Emergence of carbapenem-resistant non-baumannii species of Acinetobacter harboring a blaOXA-51-like gene that is intrinsic to A. baumannii [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(2): 1124-1127.
- [17] TEIXEIRA A B, MARTINS A F, BARIN J, et al. First report of Carbapenem-Resistant acinetobacter nosocomialis isolates harboring ISAbal-bla(OXA-23) genes in Latin America[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(8): 2739-2741.
- [18] HUA H Z, Zhang J S, QIAO L, et al. The acinetobacter baumannii group: a systemic review[J]. World J Emerg Med, 2013, 4(3): 169-174.
- [19] KIM S W, OH M H, JUN S H, et al. Outer membrane Protein A plays a role in pathogenesis of Acinetobacter nosocomialis[J]. Virulence, 2016, 7(4): 413-426.