

- 临床价值[J]. 华夏医学, 2009, 22(1): 55-56.
- [41] Ay C, Vormittag R, Dunkler D. D-dimer and prothrombin fragment 1 + 2 predict venous thromboembolism in patients with cancer: results from the vienna cancer and thrombosis study[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(25): 4124-4129.
- [42] Sodeck G, Domanovits H, Schillinger M, et al. D-dimer in ruling out acute aortic dissection: a systematic review and prospective cohort study[J]. Eur Heart J, 2007, 28(24): 3067-3075.

(收稿日期: 2012-01-11)

• 综 述 •

类鼻疽伯克霍尔德菌感染临床诊断与治疗研究进展

诸葛宝忠¹, 朱德全¹, 邱晓丽¹ 综述, 冯尚彩² 审校

(1. 山东省临沂市人民医院临床检验中心 276003; 2. 临沂大学山东省鲁南中药材资源开发工程技术研究中心, 山东临沂 276003)

关键词: 伯克霍尔德杆菌, 类鼻疽; **诊断;** **治疗;** **综述**
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 15. 027 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2012)15-1853-04

类鼻疽菌是人兽共患病类鼻疽的病原体。1911 年 Whitmore 首先在缅甸仰光发现了该病, 直到 20 世纪 70 年代初, 美军在越南战争中因该病遭受严重损失后, 才引起重视。类鼻疽在我国的分布北至福建莆田, 南至海南三亚, 包括海南、广西、广东、福建、香港、台湾等省区。类鼻疽菌在自然界存在于地方流行区的浅水(死水)和土壤中, 特别多见于稻田^[1], 潮湿的石油中类鼻疽博克霍德菌生存率 9%~18%^[2], 未消毒的地下水 55 份中 18 份培养阳性, 阳性率 33%^[3], 在 pH3~4、含有 4% 盐水的表面或雨水中存活, 并发生形态学的变化, 可自然播散造成暴发流行^[4], 40 份来自稻田湿泥标本, 检出类鼻疽伯克霍尔德菌 12 株, 检出率 30%, 对头孢他啶、亚胺培南、阿莫西林/克拉维酸、氯霉素、强力霉素和复方新诺明敏感^[5]。

类鼻疽菌为两端钝圆、两极浓染、无芽孢的革兰阴性杆菌。该菌生长营养要求不高, 在普通肉汤琼脂上生长良好; 在胰酶大豆培养基平板上培养 24 h, 出现圆形隆起、表面光滑、半透明菌落, 直径约 1 mm, 培养 48 h 后, 呈表面褶皱、黄褐色、粗糙型菌落, 直径达 1.5 mm 以上; 在血琼脂上缓慢溶血, 菌落周围有溶血环。培养物有特殊霉臭味。

类鼻疽菌根据热敏感性抗原的有无, 分为血清 I 型和 II 型。血清 I 型具有热敏感性抗原和耐热抗原, 主要分布于亚洲; II 型仅有耐热抗原, 主要分布于澳大利亚和非洲^[6,7]。我国军事医学科学院研究人员用 Sephadex 200 从一株具有热敏感性抗原的菌株纯化出该抗原, 用双向琼脂扩散试验证明了我国大部分菌株为血清 I 型^[7]。另一种分型方法是把能否利用 L-阿拉伯糖(arabinose, Ara)作为分型的依据, 将其分为 Ara- 和 Ara+ 菌株。不能利用 Ara 者为 Ara-, 一般为有毒株, 几乎所有临床分离株和大部分动物分离株均属 Ara-; 反之为 Ara+, 一般为无毒株, 主要分离于环境和部分动物中^[8-9]。Heiss 等^[10]首次报道该致病菌表达 2 个不同结构的 6 脱氧庚烷 3)-2-O-Ac-b-D-6dHepp-、3)-a-D-Manp-。

1 危害

该病主要流行于东南亚(泰国、越南、马来西亚等)和澳大利亚北部, 在中美洲、加勒比地区、中东、南亚和非洲等一些国家和地区也时常有病例报道。我国类鼻疽疫源地主要位于北纬 25°以南的亚热带地区, 包括海南、广东、广西、福建、香港和台湾等省区。海南的环岛周边地带和广东的雷州半岛是我国类鼻疽菌分离率最高的两个地区。2003 年广东医学院附属医院对雷州半岛地区寒战发热患者血标本进行了检测, 共鉴定出

42 例类鼻疽患者, 其中死亡 25 例, 死亡率为 59.5%; 2003~2005 年海南医学院附属医院共检出 12 例类鼻疽病例, 死亡 8 例; 新加坡卫生部报道, 2004 年 1~7 月份共有 24 人死于类鼻疽, 病死率 40%, 远远高于 SARS 和禽流感; 2005 年台湾南部由洪水冲刷泛引起类鼻疽疫情局部暴发, 20 人发病, 7 人死亡; 2008 年北京奥运会期间发现 1 例输入性类鼻疽病例。此外, 类鼻疽菌对动物的感染谱较为广泛, 与人有密切关系的动物如马、牛、羊、猪、犬、猫、鸟类等均有病例报道。1970 年法国巴黎各个动物园和赛马场发生类鼻疽疫情, 大量动物死亡或扑杀处理, 此外还造成 2 人感染死亡。针对此次暴发, 法国政府花费了大量代价, 但环境污染依然持续多年。动物类鼻疽的暴发或流行不仅会带来严重的经济损失, 更是一个不容忽视的公共卫生问题。

人群对该病普遍易感, 主要经口、鼻和皮肤、黏膜的伤口或吸入气溶胶而感染。一般认为吸入 10~100 个细菌就足以使人发病。其临床症状表现多样, 分为急性败血症型、亚急性型、慢性型和亚临床型^[11-12]。该病病死率高, 泰国东北部高达 50%, 澳洲为 19%, 其中急性败血症型病死率高达 90% 以上, 而且该病易复发和重感^[13]。此外, 该病潜伏期长短不一, 急性或暴发性类鼻疽潜伏期为 4~5 天, 慢性类鼻疽 3 个月至 15 年或更长。在侵越美军中有 9% 的亚临床型病例, 回国后相继发病, 其中最长的潜伏期为 26 年, 故类鼻疽菌有定时炸弹之称。类鼻疽博克霍德菌 25℃蒸馏水中可存活 16 年^[14], 澳大利亚报道鸟感染类鼻疽博克霍德菌后可传播此病^[15]。

由于类鼻疽菌的高致病性和强抵抗力以及易获取、好培养和易传播的特性, 具有被敌对势力、恐怖分子和邪教组织所利用发动生物恐怖袭击的潜在危险, 目前美国疾病预防控制中心将其列为 B 类生物恐怖剂。

2 临床诊断和实验室检测

2.1 流行病学 有患者接触史, 或生活在疫区, 或参与过该菌研究。

2.2 临床表现 急性败血症型患者常见于糖尿病患者, 表现有寒战、高热、气喘、胸痛、腹痛、肌痛、咳脓血性痰, 以及不同部位脓疡形成的症状和体征。亚急性症状变化多, 类似支气管炎、肺结核、肾盂肾炎、膀胱炎、骨髓炎或皮下脓肿。慢性型患者常有类似空洞肺结核表现。

2.3 实验室检查 (1) 细菌培养: 细菌分离培养是类鼻疽诊断的金标准。采集患者的血、分泌物、脏器标本或现场采集

污水、土壤等送检进行细菌分离培养。类鼻疽菌菌落形态独特, 24 h 内通常呈小而光滑菌落, 48 h 后逐渐变成表面褶皱、粗糙型菌落, 有霉臭味。可靠的方法是将病料直接接种于金黄地鼠(腹腔或皮下), 动物 3~5 天后发病死亡, 剖检肝、脾、睾丸见典型病变, 再进一步作分离培养鉴定。Limmathurotsakul 等^[1]报道了一种简单方法从环境标本中选择类鼻疽伯克霍尔德菌。(2) 血清学诊断: 目前, 类鼻疽血清学诊断方法主要有间接血凝(IHA)、胶乳凝集、免疫荧光、酶联免疫吸附(ELISA)和免疫层析试验(ICA)。临床上最常用的血清学方法仍然是间接血凝(IHA), 可作为流行病学调查或大规模样本筛选的工具。但该法敏感性与特异性较低, 特别是在疫区由于人群血清抗体阳性率较高, 容易产生假阳性, 而且容易与鼻疽产生交叉反应。为了区分临床感染和既往感染, 我国研究人员将类鼻疽杆菌的外毒素连接于醛化的绵羊红细胞使该技术在临床上具备了一定的实用性。一种针对类鼻疽菌 200 kDa 抗原的单克隆抗体胶乳凝集试验在泰国广泛应用, 其敏感性与特异性分别高达 95% 和 97.5%。免疫荧光试验应用抗脂多糖或菌体其他蛋白的特异性抗体以直接检测患者痰液、尿液或脓液标本, 其特异性较 IHA 要高, 但其敏感性较低, 而且该法需要镜检和有经验的专业人员, 不适合基层使用。随着高度特异敏感抗体的发展及方法的简化, 该法将具有较好的应用前景。ELISA 检测患者血清中的特异性的 IgG 和 IgM 抗体, 与 IHA 相比具有更高的敏感性与特异性, 此法被推荐用于未知来源发热病例的鉴别诊断。2000 年澳大利亚 PanBio 公司开发了一种检测血清中 IgG 和 IgM 抗体的 ICA 方法, 该法与 IHA 相比, 其敏感性 IgG 和 IgM 分别为 100% 和 93%, 特异性均为 95%。2003 年我室相继开发出分别检测类鼻疽抗体和抗原的 ICA 试纸条, 具有较好的敏感性与特异性。ICA 法简便、快速, 10 min 内可报告结果, 不需要专门仪器设备, 非专业技术人员按照说明书即可操作, 非常适合突发事件中疾病的快速诊断及病原的快速检测, 山羊免疫的诊断血清 ELISA 法对类鼻疽博克霍尔德菌抗体无特异性^[16]。(3) 分子生物学方法: 目前类鼻疽菌分子生物学检测鉴定技术主要是基于 PCR 的方法, 特别是实时定量 PCR 的出现为其提供了一种快速准确、高度敏感特异的检测方法。原位荧光杂交技术(FISH)从培养和病理组织中快速鉴定鼻疽和类鼻疽博克霍尔德菌^[17]。

PCR 靶基因的选择尤为重要, 目前可用于类鼻疽菌检测的靶基因主要有 16S rRNA、23S rRNA、脂多糖(LPS)、groEL、fliC 和Ⅲ型分泌系统(Type Ⅲ secretion system, TTS)基因簇等。近年来, 研究人员开发了一种针对 TTS 基因簇的多重实时定量 PCR。TTS 基因簇包括 orf11、orf13 和 scU2 等多个读码框, 是类鼻疽菌检测鉴定的可靠分子靶标, 多重 PCR 鉴定鼻疽、类鼻疽和洋葱博克霍尔德复合菌^[18]。应用针对 16S rRNA、23S rRNA、LPS、groEL 和 fliC 基因的 PCR 检测菌体培养物时具有较高的敏感性与特异性, 但直接用于检测临床患者标本时其检测结果不理想。肺泡灌洗液 PCR 检测类鼻疽博克霍尔德菌具有特异性诊断^[19]。

3 预防和治疗措施

3.1 预防 目前尚无可用的疫苗, 灭活的类鼻疽菌不能使动物产生免疫力。联合疫苗、DNA 疫苗、亚单位疫苗正在研究开发中。研究显示抗类鼻疽菌鞭毛蛋白抗体可明显降低菌体活力并能提供被动免疫保护作用, LPS 或荚膜多糖亚单位疫苗在小鼠模型中可起部分免疫保护作用^[9]。

预防本病主要是防止病菌扩散和切断传播途径。发现类

鼻疽患者应立即进行隔离治疗, 对可疑感染者应进行医学观察; 潜在的带菌动物可将病菌从流行区带至新的环境造成污染, 因此疫源地进口的动物应进行严格检疫, 发现传染源应立即做焚烧或深埋处理; 接触患者和病畜时应注意个人防护, 对其排泄物和脓性分泌物应彻底消毒; 在疫区, 伤口要立即作消毒处理, 并避免与土壤或死水接触, 接触前要做好个人防护, 注意个人卫生; 加强疫情的监测与报告, 一旦发现异常情况, 应立即上报。实验室生物安全问题也不容忽视。类鼻疽菌操作应在生物安全 3 级实验室进行, 生物实验室必须建立监管体系, 健全监督机制, 实验人员必须严格落实制度, 提高自身应急处置能力, 确保实验室生物安全, 防止类鼻疽菌的泄露和逃逸事件发生。此外, 应建立类鼻疽疫情监测、流行病学调查、防治方面的应急储备, 包括类鼻疽菌快速检测试剂、疫苗、抗生素药品等, 以应对将来可能发生的类鼻疽疫情或生物恐怖事件。

3.2 治疗 由于类鼻疽菌存在荚膜和 AmrAB-OprA 主动外排泵, 对多种抗生素具有天然耐药性。文献报道类鼻疽菌对四环素、氯霉素、多西霉素、复方新诺明和头孢他啶等敏感。四环素、氯霉素、多西霉素和复方新诺明是临床上类鼻疽治疗的传统药物, 头孢他啶是治疗急性类鼻疽如败血症的首选药。类鼻疽治疗抗生素用药应早期、大剂量、长疗程。Pibalkpakdeea 等^[20]报道复方新诺明对类鼻疽伯克霍尔德菌生物被膜株和正常株抗菌活性无差异, 而头孢他啶和泰能对类鼻疽伯克霍尔德菌生物被膜株无活性, 说明该菌生物被膜形成对细菌的耐药性提出了挑战。Roesntita 等^[21]报道无环倍半萜木姜子属植物中的无环倍半萜的金合欢烷增加类鼻疽伯克霍尔德菌对 β -内酰胺类抗生素敏感性。人感染类鼻疽后抗生素应用 10~14 d, 包括头孢他啶、亚胺培南、美罗培南等^[22], 多利培南 MIC 范围 0.19~2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 分别是 0.5、0.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[23]。

类鼻疽临床症状表现复杂多样。局部脓肿进行外科切除和引流是必要的。败血症型类鼻疽的治疗一般比较困难。阿莫西林可作为类鼻疽疫区败血症治疗的经验性用药, 一旦确诊, 应立即采用头孢他啶。头孢他啶的应用可使类鼻疽死亡率降低 50%。对于孕妇和儿童, 类鼻疽治疗应选用阿莫西林。类鼻疽预后, 儿童好于成人, 而且复发率低。预后成年患者应终生随访。

糖尿病、肾衰竭和酗酒是类鼻疽症状发展的重要影响因素。这些因素与中性粒细胞功能损伤有关。而 G-CSF 细胞因子能提高体内循环的中性粒细胞数并激发其功能, 从而使细胞内抗生素浓度增加。澳大利亚进行的一项回顾性研究显示应用 G-CSF 辅助治疗能显著降低败血症患者的死亡率。目前泰国正在进行相关临床试验^[24]。

4 研究趋势

类鼻疽菌作为经典的生物战剂和潜在的生物恐怖剂, 已经成为世界各国生物安全应急准备的重要内容, 并制订了相应的应急策略, 特别是生物剂的检测诊断及防治研究更是倍受关注的课题。

4.1 检测诊断 快速、准确地检测诊断是有效控制类鼻疽的重要环节。在疫区由于人群血清抗体阳性率较高, 血清学方法的应用受到一定限制。分子生物学技术的发展和完善为类鼻疽的检测诊断提供了新方法, 如上述提到的以 PCR 技术为基础的各种检测方法。

Novak 等^[25]发展了一种针对 TTS 基因 orf2 读码框的实时定量 PCR 技术, 通过对 224 株不同来源的 Bp 菌株进行检测

鉴定从而对该方法的检测性能进行评价。结果显示该法特异性达 100%, DNA 最低检出量为 76 μg , 血标本检测灵敏度可达 5.2×10^3 cfu/mL。

有研究者报道类鼻疽伯克霍尔德菌常规应用选择培养基阳性率普遍低,特别是发展中国家地方病资源受到限制^[16]。作者曾对 154 例社区获得感染呼吸道标本应用常规选择琼脂和肉汤培养基,选择性培养基检出 3 例和类鼻疽患者标本检出 1 例,74 例糖尿病足分泌物标本为检出色鼻疽伯克霍尔德菌,说明常规应用选择培养基具有重要意义,糖尿病易感类鼻疽伯克霍尔德菌,该菌对中性粒细胞抗吞噬作用^[26]。Weissert 等^[27]报道 1 例心脏脓肿自动化系统 BD Phoenix UNMIC/ID-62 卡误定洋葱伯克氏菌。

4.2 分型溯源 随着分子生物学技术及基因组学的发展,各种分子分型技术被用于类鼻疽菌基因分型研究,在类鼻疽流行病学调查、病原鉴定溯源和系统发生分析中发挥了重要作用。

脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)技术以其重复性好、分辨力强而被誉为细菌分子生物学分型技术的“金标准”。2005 年台湾局部暴发类鼻疽疫情,研究人员通过 PCR 及 PFGE 对所分离的类鼻疽菌株进行鉴定溯源,发现此次疫情菌株的 PFGE 型别与 2000 年水源分离株基因型一致,据此推断此次疫情为洪水冲刷泛起菌体所致。2006 年有研究者应用多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)技术对泰国和澳大利亚土壤分离株进行了序列分型分析。研究显示这两组样本菌株基因型并不是随机分布的,其序列型(sequence type, ST)与地理分布和毒力相关,在地理定位及毒力上存在很大遗传差异。其中 ST70、167、58 菌株具有较高侵袭性。这为类鼻疽疫情暴发或生物恐怖袭击时病原的追踪溯源提供了数据支持。2006 年有研究者应用多位点可变数目串联重复序列分析(multiple locus variable-number tandem repeat analysis, MLVA)技术对新加坡 2004 年类鼻疽暴发期间分离到的菌株进行基因分型研究,以期对这些分离株溯源追踪,探索暴发感染是否由单一污染源或人为故意投放引起。结果显示 32 株分离株被分成 30 个不同型别,证明暴发感染不可能由单一污染源或人为故意投放引起,很可能是大雨冲刷泛起类鼻疽菌而引起的暴发流行。该研究强调 MLVA 是一种快速、简便的基因分型方法,可用于感染疫情暴发特别是生物恐怖袭击时的流行病学调查与追踪溯源。2007 年研究者对 121 株澳大利亚分离株进行 MLVA 分析。研究显示其中 104 株分离株与 9 个流行病学组群相关,这些分离株在一个很小的地理区域即存在遗传差异,甚至单一感染也会存在低水平的遗传差异。该技术为贝叶斯定理系统发生分析提供一个平台,为流行病学相关分离株提供了一种规模化的鉴别、分型及溯源工具。巴西报道了 1 例血培养阳性类鼻疽博克霍德菌,经 16S 核糖去氧核糖核酸分析与泰国 MSHR346 具有同源性^[28]。

4.3 疫苗研究 研究显示类鼻疽菌灭活疫苗无免疫保护力,减毒活疫苗仅对小鼠起部分免疫保护作用, LPS、TTS 等亚单位疫苗在小鼠模型中亦仅起部分免疫保护作用。今后,随着对类鼻疽菌致病机制研究的深入及基因组学和蛋白质组学的发展,可筛选具有较好免疫原性和免疫保护力的靶标抗原用于疫苗研究。

参考文献

[1] Limmathurotsakul D, Wuthiekanun V, Amornchai P, et al. Effectiveness of a simplified method for isolation of burkholderia pseud-

omallei from soil[J]. Appl. Environ. Microbiol, 2012, 78(3): 876-877

[2] Lin HH, Chen YS, Li YC, et al. Burkholderia multivorans acts as an antagonist against the growth of Burkholderia pseudomallei in soil[J]. Microbiol Immunol, 2011, 55(3): 616-624.

[3] Mayo M, Kaestli M, Harrington G, et al. Burkholderia pseudomallei in unchlorinated domestic bore water, tropical Northern Australia[J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(7): 1283-1285.

[4] Robertson J, Levy A, Sagripanti JL, et al. The survival of Burkholderia pseudomallei in Liquid Media[J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 82(1): 88-94.

[5] Wuthiekanun V, Pheaktra N, Puthachat H, et al. Burkholderia pseudomallei antibodies in children cambodia[J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(2): 301-303.

[6] 蒋忠军, 宋阳, 陆振多. 我国类鼻疽研究的历史与现状[J]. 热带医学杂志, 2002, 2(2): 176-180.

[7] 韩藕儿, 李俐, 赵忠利. 类鼻疽菌血清分型[J]. 微生物学报, 1990, 30(5): 393-396.

[8] Smith MD, Angus BJ, Wuthiekanun V, et al. Arabinose assimilation defines a nonvirulent biotype of Burkholderia pseudomallei [J]. Infect Immun, 1997, 65(10): 4319-4321.

[9] Sonthayanon P, Krasao P, Wuthiekanun V, et al. A simple method to detect and differentiate Burkholderia pseudomallei and Burkholderia thailandensis using specific flagellin gene primers[J]. Mol Cell Probes, 2002, 16(3): 217-222.

[10] Heiss C, Burntack MN, Wang Z, et al. Structural analysis of capsular polysaccharides expressed by Burkholderia mallei and Burkholderia pseudomallei[J]. Carbohydr Res, 2012, 349: 90-94.

[11] Raja NS, Ahmed MZ, Singh NN. Melioidosis: an emerging infectious disease[J]. J Postgrad Med, 2005, 51(2): 140-145.

[12] Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(2): 383-416.

[13] Peacock SJ. Melioidosis[J]. Curr Opin Infect Dis, 2006, 19(5): 421-428.

[14] Pumpuang A, Chantratita N, Wikraiphat CH, et al. Survival of Burkholderia pseudomallei in distilled water for 16 years[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2011, 105(10): 598-600.

[15] Hampton V, Kaestli M, Mayo M, et al. Melioidosis in birds and Burkholderia pseudomallei dispersal, Australia[J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(7): 1310-1311.

[16] Mekaprateep M, Tharavichitkul P, Srikitjakarn L, et al. Application of a non-species dependent ELISA for the detection of antibodies in sera of Burkholderia pseudomallei-immunized goats[J]. J Microbiol Methods, 2010, 19(8): 266-269.

[17] Hagen RM, Frickmann H, Elschner M, et al. Rapid identification of Burkholderia pseudomallei and Burkholderia mallei by fluorescence in situ hybridization (FISH) from culture and paraffin-embedded tissue samples[J]. Int J Med Microbiol, 2011, 301(7): 585-590.

[18] Ho CC, Lau CC, Martelli P, et al. Novel pan-genomic analysis approach in target selection for multiplex PCR identification and detection of Burkholderia pseudomallei, Burkholderia thailandensis, and Burkholderia cepacia complex species: a proof-of-concept study[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(3): 814-821.

[19] Couto MS, Cordeiro RA, Rocha MF, et al. A diagnosis of Burkholderia pseudomallei directly in a bronchoalveolar lavage by polymerase chain reaction[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 65(5): 73-75.

[20] Pibalkpakdeea P, Wongratanacheewinb S, Taweechaisupapong S, et al. Diffusion and activity of antibiotics against *Burkholderia pseudomallei* biofilms[J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(4): 356-359.

[21] Roesnita B, Tay ST, Puthucheary SD, et al. Diagnostic use of *Burkholderia pseudomallei* selective media in a low prevalence setting[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2012, 106(1): 131-133.

[22] Mima T, Kvitko BH, Rholl DA, et al. In vitro activity of BAL30072 against *Burkholderia pseudomallei*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 38(3): 157-159.

[23] Thamlikitkul V, Trakulsomboon S. In vitro activity of doripenem against *Burkholderia pseudomallei*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(7): 3115-3117.

[24] Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(2): 383-416.

[25] Novak RT, Glass MB, Gee JE, et al. Development and evaluation of a real-time PCR assay targeting the type III secretion system of *Burkholderia pseudomallei*[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(1): 85-90.

[26] Chanchamroen S, Kewcharoenwong C, Sussaengrat W, et al. Human polymorphonuclear neutrophil responses to *Burkholderia pseudomallei* in healthy and diabetic subjects[J]. Infect Immun, 2009, 77(1): 456-463.

[27] Weissert CH, Dollenmaier G, Rafeiner P, et al. *Burkholderia pseudomallei* misidentified by automated system[J]. Emerg Infect Dis, 2009, 29(11): 1799-1801.

[28] Sidrim JJC, Rocha MFG, Bandeira TJPG, et al. Mycotic aneurysm caused by *Burkholderia pseudomallei*: report of a Brazilian strains [J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(9): 719-721.

(收稿日期: 2012-01-21)

• 综 述 •

鲍曼不动杆菌多重耐药机制研究进展*

宋彩虹 综述, 陈维贤[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院检验科 400010)

关键词: 鲍氏不动杆菌; 抗药性, 多药; β 内酰胺酶类; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 15. 028 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2012)15-1856-03

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)是一类广泛存在于自然界的革兰阴性条件致病菌,是目前引起医院感染最主要的病原菌之一^[1]。近年来,鲍曼不动杆菌的耐药情况日趋严重,具有多重耐药、高耐药水平及存在地域性差异的特点,其在世界各地的爆发流行引起的感染已对全球的公众健康构成威胁。鲍曼不动杆菌的耐药机制非常多而复杂,主要有产生多种水解抗菌药物的灭活酶、青霉素结合蛋白的改变、外膜通道蛋白表达下调或缺如、主动外排泵活性增加,以及质粒、整合子等携有多种耐药基因的移动元件的传播作用等,多重耐药常是多种耐药机制共存的结果^[2],本文就鲍曼不动杆菌的多重耐药相关机制作一综述,重点介绍水解酶类研究进展。

1 产生多种水解抗菌药物的灭活酶

鲍曼不动杆菌产生多种水解抗菌药物的灭活酶是耐药鲍曼不动杆菌最重要的耐药机制。

1.1 β -内酰胺酶 β -内酰胺酶主要包括 A 类超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamase, ESBLs)、B 类金属 β -内酰胺酶(metallo- β -lactamase, MBL)、C 类头孢菌素酶(AmpC 酶)和 D 类苯唑西林酶(oxacillinases, OXA)。 β -内酰胺酶是一群数量相当庞大的抗菌药物灭活酶,作用于 β -内酰胺类抗生素的 β -内酰胺环,使酰胺键断裂而失去抗菌活性。鲍曼不动杆菌中已发现多种 β -内酰胺酶基因,但各地发现或流行的 β -内酰胺酶型别不同,导致细菌的耐药特性也不尽相同,产 β -内酰胺酶是鲍曼不动杆菌耐药的主要机制,其中超广谱 β -内酰胺酶和头孢菌素酶是介导其耐药的最主要的两种酶。

1.1.1 超广谱 β -内酰胺酶 ESBLs 是一类由质粒介导的 β -内酰胺类酶,大部分属 A 类酶,少量属于 D 类酶,据编码基因的

同源性可分为 TEM 型、SHV 型和非 TEM、SHV 型(包括 PER 型、CTX-M 型、SHV 型、SIM 型、VEB-1 型及 OXA 型等)^[3]。该酶类家族成员超过 200 多种,大多数都是 TEM 和 SHV 型金属酶的变异体,能水解青霉素类、广谱的头孢菌素及单环类等抗生素,从而引起对这些抗菌药物的耐药,但可受到克拉维酸、舒巴坦和他唑巴坦等酶抑制剂的抑制作用。ESBLs 基因位于质粒上,可在同种甚至不同种菌株之间转移和传播,从而介导耐药菌株的流行。由于各地 ESBLs 基因和抗生素使用情况不同,造成各地产 ESBLs 菌株耐药性表现出多样化。已在鲍曼不动杆菌中发现的 ESBLs 基因型主要有 TEM、SHV、CTX、PER-1 和 VEB-1。TEM-1 是革兰阴性菌中最为常见的 β -内酰胺酶,绝大多数的 TEM 都是由 TEM-1 衍生而来^[4]。SHV-2 是被报道的第 1 个 ESBLs,所有的 SHV 都是由 SHV-1 基因点突变衍生而来,SHV 型以 SHV-12 为代表,有研究发现 30% 鲍曼不动杆菌携带 SHV 酶^[2,5]。我国鲍曼不动杆菌 ESBLs 基因型仍以 TEM-1 型为主,但 SHV-5、12、2a 型 ESBLs 亦有报道^[6]。PER-1 是最先在鲍曼不动杆菌中发现的 ESBLs,PER-1 型酶具有克隆多样性的特点,产 PER-1 型酶的鲍曼不动杆菌菌株对青霉素和广谱头孢菌素类显示出较高水平的耐药,但不会导致对碳青霉烯类抗生素耐药。产 PER-1 型酶菌株主要在土耳其和韩国流行,在匈牙利、罗马尼亚、俄罗斯和中国分布也较广泛^[4],在法国、玻利维亚、美国也有该型酶的报道^[2]。在南美发现了能产 ESBLs 的与 PER-1 有较远亲缘关系的 PER-2^[7]。VEB 型由位于整合子的基因编码,定位于 1 类整合子,包括 VEB-1、VEB-1a、VEB-1b 和 VEB-2。其中 VEB-1 是较为常见的一种 ESBLs,是鲍曼不动杆菌中第二重要的

* 基金项目:“十一五”科技重大专项“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”——“传染病监测技术平台项目(2009ZX10004)”。
[△] 通讯作者, E-mail: achell@163. com。