

## 隐源性食酸丛毛单胞菌血流感染调查研究

张亚莉, 孙树梅, 汪能平, 姚翠军, 于 芳, 李海兰, 王茵茵

(南方医科大学南方医院, 广东 广州 510515)

**[摘要]** **目的** 调查某医院临床科室分离的 8 株食酸丛毛单胞菌的同源性, 探讨其导致医院血流感染的途径。**方法** 对分离的食酸丛毛单胞菌, 采用随机引物扩增多态性 DNA 技术检测并进行同源性分析, 同时采集病房环境和医疗用品样本进行培养。**结果** 8 株食酸丛毛单胞菌为同一基因型, 而病房环境和医疗用品中未分离出此菌。**结论** 此起食酸丛毛单胞菌血流感染为集中发病, 病原菌为同一基因型, 但感染源未明。

**[关键词]** 食酸丛毛单胞菌; 医院感染; 血流感染; 随机引物扩增多态性 DNA; 同源性; 流行病学

**[中图分类号]** R181.3<sup>+</sup>2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2010)04-0238-03

### Cryptogenic bloodstream infection with *Comamonas acidovorans*

ZHANG Ya-li, SUN Shu-mei, WANG Neng-ping, YAO Cui-jun, YU Fang, LI Hai-lan, WANG Yin-yin (Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the homology of 8 strains of *Comamonas acidovorans* (*C. acidovorans*) isolated from a clinical department of a hospital, and evaluate the routes of bloodstream infections caused by *C. acidovorans*.

**Methods** Eight strains of *C. acidovorans* were isolated from samples collected from patients and medical devices. *C. acidovorans* were identified with biochemical analysis, and their homology were determined with randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). **Results** Eight strains of *C. acidovorans* had the same genotype, no *C. acidovorans* was isolated from hospital environment and medical devices. **Conclusion** Bloodstream infection with *C. acidovorans* in hospital is concentrative and cryptogenic, pathogens were of the same genotype.

**[Key words]** *Comamonas acidovorans*; nosocomial infection; bloodstream infection; randomly amplified polymorphic DNA (RAPD); homology; epidemiology

[Chin Infect Control, 2010, 9(4): 238-240]

随着病原学诊断水平的不断提高, 各种条件致病菌引起的感染, 特别是医院感染, 经常会发现一些并不常见的细菌, 如食酸丛毛单胞菌 (*Comamonas acidovorans*), 也可从临床标本 (如血液、脓液、脑脊液、尿液、呼吸道分泌物等) 中分离到, 但均为个案报道, 且均未提到感染来源<sup>[1-4]</sup>。本文就 6 例食酸丛毛单胞菌血流感染患者的病原菌同源性初步调查报告如下, 为探讨其感染的来源提供参考。

### 1 材料与方法

1.1 菌株来源 临床分离菌株为康复科 2009 年 7 月 8 日—20 日的 13 d 内先后血培养或导管尖端培养分离出的 8 株食酸丛毛单胞菌。8 份标本分别来自

于 6 例患者; 5 份为血培养, 3 份为导管尖端培养; 3 人单纯血培养, 2 人同时血和导管尖端培养, 1 人单纯导管尖端培养, 标本编号为 1—8。

1.2 感染患者基本情况 6 例患者住院时间在 3~6 个月以上; 基础疾病分别为截瘫 3 例, 缺血缺氧性脑病 2 例, 脊髓损伤 1 例; 均长期卧床, 患者在发病时均应用了经外周穿刺中心静脉置管 (PICC), 插管时间约 1 个月。6 例患者均因高热 (体温 39℃~40.2℃)、寒战而做血液和 (或) 导管尖端培养, 诊断血流感染可以成立, 但 6 例患者全身其他部位无此菌引起的局灶性感染。

1.3 细菌鉴定与药敏试验 采用美国 BD 公司生产的 PHOENIX-100 型全自动细菌鉴定和药敏测试

[收稿日期] 2009-12-24

[作者简介] 张亚莉 (1962-), 女 (汉族), 江苏省扬州市人, 副主任技师, 主要从事微生物学检验与医院感染管理研究。

[通讯作者] 张亚莉 E-mail: zhylish@sohu.com

系统进行细菌鉴定与药敏试验,其测试板条由美国 BD 公司提供。每批次和每月进行质控检验,质控菌株:大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213。抗菌药物为:哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、头孢他啶、头孢噻肟、头孢哌酮/舒巴坦、头孢吡肟、氨曲南、亚胺培南、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、四环素、米诺环素、氯霉素和复方磺胺甲噁唑。

#### 1.4 食酸丛毛单胞菌基因组提取与随机引物扩增多态性 DNA(RAPD)检测<sup>[5]</sup>

1.4.1 基因组 DNA 提取 分别挑单菌落于 5 mL LB 中培养过夜,取 1 mL 过夜菌液,离心去上清。加 10% SDS 62.5  $\mu$ L, 2  $\mu$ L 20 mg/mL 蛋白酶 k, 37 $^{\circ}$ C, 1 h。加酚、氯仿、异戊醇抽提,转移上清至清洁 EP 管中。加 1 倍体积的冰异丙醇充分沉淀 DNA。50  $\mu$ L 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 溶解 DNA, 5  $\mu$ L 0.7% 琼脂糖凝胶电泳。

1.4.2 聚合酶链反应(PCR)引物扩增 以细菌基因组 DNA 为模板,随机引物扩增 DNA 分子标志,以检测基因型的异同。随机引物序列为:5'-AGCGGGCCAA-3'(10 bases)<sup>[5]</sup>,由上海英骏生物技术有限公司合成。扩增体积 50  $\mu$ L[含模板 DNA (1 ng/ $\mu$ L) 1  $\mu$ L, 25  $\mu$ mol/L 的引物各 2  $\mu$ L, 25 mmol/L 的 MgCl<sub>2</sub> 6  $\mu$ L, 10 mmol 的 dNTPs 1  $\mu$ L, 5 U/ $\mu$ L Taq 酶 0.2  $\mu$ L, 10 $\times$  PCR Buffer 5  $\mu$ L, 余为蒸馏水],置 PCR 仪预变性 94 $^{\circ}$ C 3 min,变性 94 $^{\circ}$ C 1 min,退火 38 $^{\circ}$ C 1 min,延伸 72 $^{\circ}$ C 2 min,共 45 个循环。

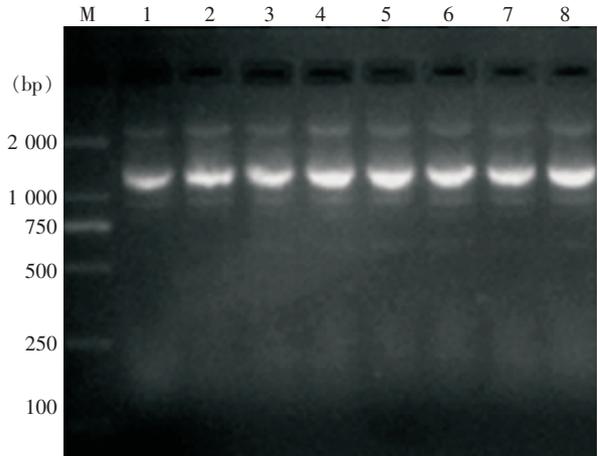
1.5 环境及医疗用品样本采集 采集同期工作人员手、感染患者的床栏及床头柜、各种把手、抹布、医护办公用电脑键盘、鼠标等环境样本和肝素封管液、注射器、输液器、针头等医疗用品样本共 60 份,进行细菌培养鉴定。

## 2 结果

2.1 食酸丛毛单胞菌耐药表型 8 株食酸丛毛单胞菌对常用抗菌药物的耐药表型基本一致。对哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢噻肟、头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、米诺环素、复方磺胺甲噁唑敏感;对阿莫西林/克拉维酸、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、四环素、氯霉素耐药。

2.2 RAPD 电泳结果 8 株食酸丛毛单胞菌 RAPD 电泳结果显示,以基因组 DNA 为模板随机扩增得到的 DNA 分子标志条带的位置完全相同,表明其均为同一基因型。见图 1。

2.3 环境及医疗用品采样培养结果 对环境和患者使用的医疗用品样本进行细菌培养,60 份样本均未分离出食酸丛毛单胞菌。



M: 标准蛋白; 1: A 患者血培养; 2: A 患者导管尖端培养; 3: B 患者血培养; 4: B 患者导管尖端培养; 5: C 患者导管尖端培养; 6: D 患者血培养; 7: E 患者血培养; 8: F 患者血培养

图 1 8 株食酸丛毛单胞菌 RAPD-DNA 电泳图

Figure 1 RAPD-DNA electrophoresis map of 8 strains of *Comamonas acidovorans*

## 3 讨论

食酸丛毛单胞菌归属于丛毛单胞菌属,在自然界分布广泛,可从河水、沟渠水、土壤中分离出。对免疫力低下的患者而言为条件致病菌,在住院患者的血液、脓液、尿液、呼吸道分泌物等标本中分离出来,多为医院感染<sup>[1-4]</sup>。

从本次调查的 6 例食酸丛毛单胞菌感染患者临床表现与细菌学检验结果判断,此次感染为医院感染。6 例患者因基础疾病均需长期卧床,患者不能下床活动,不存在他们之间的相互接触而交叉感染;但不能排除医务人员的手接触传播,且患者都应用了静脉导管(如 PICC 管),时间 1 个月不等,6 例患者先后血培养和(或)导管尖端培养阳性,不能排除存在共同的感染途径与感染来源,因细菌的耐药表型基本一致,随机引物 DNA 检测细菌为同源。

我们从环境和患者使用的医疗用品采集样本 60 份,均未分离到食酸丛毛单胞菌,因此,无助于判断其感染来源,也不能断定是哪一个具体环节的问

题;在检验科微生物室同期检验的几百份标本中除此 8 株,未分离出食酸丛毛单胞菌,不存在检验过程的污染问题;由于此起彼伏血流感染的患者有较严重的基础疾病,或存在免疫屏障被破坏等因素,特别是均有 PICC 管应用史,由此推测感染的发生可能与输液过程的操作有一定关系。

通过有效地治疗患者,进行严格的消毒隔离,规范医疗操作等措施,我们跟踪随访了 4 个多月,自 2009 年 7 月 21 日,该科再无新发生的食酸丛毛单胞菌感染病例,医院其他科室也未见同一细菌感染的患者。以上提示,即使是致病性较弱或毒力较低的条件致病菌,对于免疫力低下、具有较严重基础疾病的患者,我们在临床医疗操作过程中任何一个环节无菌操作和管理不规范,都可能导致医院感染的发生。因此,我们强调在临床工作中,提高医务人员的无菌意识,严格执行无菌操作规程及消毒隔离制度;在诊疗过程中严格按照洗手和手消毒的指征,做好手卫生;加强输液环境的空气流通和物体表面的清洁、消毒工作,从而减少医院感染的发生。医院感染管理工作人员要注意相同细菌感染的患者,及时

发现医院感染暴发流行的苗头,采取积极有效的应对措施,把医院感染暴发流行遏制在萌芽状态。即使在未找到或无法判明感染来源时,亦应严格遵循标准预防的原则,及时有效地治疗与隔离患者,防止感染患者的进一步扩散。尽管食酸丛毛单胞菌是不常见的病原菌,在某个病区集中引起感染,应按暴发流行及时处理,以保障医疗安全。

#### [参 考 文 献]

- [1] 李桂雪,曲安生,佟忠山,等. 食酸丛毛单胞菌致输液反应 1 例[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(7):780.
- [2] 姚美娟,张俭峰,杨仁宏. 食酸丛毛单胞菌感染 1 例报告[J]. 临床检验杂志,2007,25(6):478.
- [3] 卢兰芬,何庭宇. 食酸丛毛单胞菌 31 株耐药性分析[J]. 广东医学院学报,2006,24(6):604-605.
- [4] 姚毅,严仔敦. 食酸丛毛单胞菌致感染一例[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(11):11.
- [5] 张亚莉,耿穗娜,孙树梅,等. 重症监护病房鲍氏不动杆菌感染暴发的监控[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(17):2252-2254.

(上接第 244 页)

总之,早期应用国产磷酸奥司他韦治疗甲型 H1N1 流感临床诊断病例,可以快速有效缓解症状,减少抗菌药物的应用,有效降低密切接触人群的第二代流感发病率,且不良反应少,应用安全。

#### [参 考 文 献]

- [1] Cao B, Li X-W, Mao Y, *et al.* Clinical features of the initial cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection in China[J]. *N Engl J Med*, 2009,361(26):2507-2517.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 甲型 H1N1 流感诊疗方案(2009 年第三版)[EB/OL]. [2009-10-13]. [http://www.gov.cn/gzdt/content\\_1437636.htm](http://www.gov.cn/gzdt/content_1437636.htm).
- [3] Moscona A. Global transmission of oseltamivir-resistant influenza[J]. *N Engl J Med*, 2009,360(10):953-956.
- [4] Garten R J, Davis C T, Russell C A, *et al.* Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A (H1N1) influenza viruses circulating in humans[J]. *Science*, 2009,325(5937):197-201.
- [5] Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, *et al.* Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico[J]. *N Engl J Med*, 2009,361(7):680-689.
- [6] Treanor J J, Hayden F G, Vrooman P S, *et al.* Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treat-

ing acute influenza[J]. *JAMA*, 2000,283(8):1016-1024.

- [7] Nicholson K G, Aoki F Y, Osterhaus A D, *et al.* Efficacy and safety of the oseltamivir in treatment of acute influenza: a randomized controlled trial[J]. *Lancet*, 2000,355(9218):1845-1850.
- [8] Mejer C R, Napalkov P N, Negmiileo Y, *et al.* Population-based study on incidence, risk factors, clinical complications and drug utilization associated with influenza in the United Kingdom[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000,19(11):834-842.
- [9] Kaiser L, Wat C, Mills T, *et al.* Impact of oseltamivir treatment on influenza-related lower respiratory tract complications and hospitalizations[J]. *Arch Intern Med*, 2003,163(14):1667-1672.
- [10] Wetherall N T, Trivedi T, Zeller J, *et al.* Evaluation of neuraminidase enzyme assays using different substrates to measure susceptibility of influenza virus clinical isolates to neuraminidase inhibitors: report of the Neuraminidase Inhibitor Susceptibility Network[J]. *J Clin Microbiol*, 2003,41(2):742-750.
- [11] Hayden F G, Treanor J J, Fritz R S, *et al.* Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza: randomized controlled trials for prevention and treatment[J]. *JAMA*, 1999,282(13):1240-1244.