

医学参考报

微生物与感染专刊

Microbiology and Infection

第十一期 NO.11

执行主编简介



李一荣 教授

武汉大学中南医院检验科主任，湖北省首届公共卫生领军人才，免疫学博士、主任技师、博士、硕士研究生导师。兼任《中华检验医学杂志》编委，中国医促会基层检验技术标准化分会副主任委员，湖北省医学检验分会副主任委员，国家自然科学基金同行评议专家。先后主持国家重大研发计划课题，国家自然科学基金和教育部留学回国人员启动基金等项目。以第一作者或通讯作者在 *JAMA*、*STTT*、*Molecular Microbiology* 和 *Emerging Microbes & infections* 等杂志发表论文 50 余篇。先后获全国创新争先奖章、湖北省抗击新型冠状病毒肺炎疫情先进个人和湖北省科技进步二等奖。

导 读

新型传感器可快速联检 SARS-CoV-2 和甲型流感病毒

2版

荚膜通过干扰肝脏巨噬细胞促进血流病原细菌的致病性

3版

支气管扩张症患者铜绿假单胞菌耐药机制及分子流行病学特点

4版

新的生物膜形成模型：聚集、生长和分解

5版

AmpC-E、CRAB 和嗜麦芽窄食单胞菌感染治疗指南

6版

ESBL-PE 肠道定植率与抗生素摄入无关

7版

万孚生物：以科技创新驱动，助力国家公共卫生体系建设

8版

基于纳米孔的病毒 RNA 修饰的检测

【据《mBio》2022 年 5 月报道】题：基于纳米孔的病毒 RNA 修饰的检测（美国纽约大学医学院微生物学系 作者 Abebe JS 等）

RNA 的化学修饰在病毒的生物学行为中起重要作用，因此，RNA 修饰的特征、位置和丰度是众多研究的重要目标。过去十余年中，通过短读长测序方法识别 RNA 修饰取得了重要进展，但也受限于固有偏倚和连锁信息的缺乏。另外，病毒基因组的紧凑特性导致其转录时会出现多种重叠的转录异构体，采用短读长测序方法无法分辨这些转录异构体。最近出现的纳米孔测序，能够对 RNA 进行直接测序，不仅提供了一种新的方法来研究 RNA 修饰，而且还提供了分析测序数据的新概念框架。本文主要介绍 dRNA-seq 的工作原理、策略及其在病毒 RNA 修饰检测中的应用。

一、纳米孔直接 RNA 测序（dRNA-seq）

自 1957 年发现假尿嘧啶核苷（ Ψ ）起，目前共有 170 余种化学修饰的 RNA 被发现。大多数修饰的 RNA 的功能及其调控尚不清楚。N6-甲基腺苷（ m^6A ），最早发现于 1975 年，是目前研究最清楚的 RNA 修饰方式。其他重要的 RNA 修饰方式包括 Ψ 、N6，2'-O 双甲基腺苷（ m^6Am ）、5-甲基胞苷（ m^5C ）、1-甲基腺苷（ m^1A ）、7-甲基鸟苷（ m^7G ）和 2'-O 甲基化（Nm）。多种技术可用于 RNA 修饰的检测，但大部分方法检测通量低或不适合分析病毒重叠的 RNA 转录异构体。

在 2017 年，牛津纳米孔公司采用纳米孔测序方法对天然 RNA 分子进行测序，称为纳米孔 dRNA-seq，该法建库相对简单与快速（约 2 小时）。建好的库置于一个流动池中，该池中含有 2 个被绝缘体隔离的电极，众多的蛋白纳米孔包埋在绝缘体中，每个纳米孔均有自己的传感芯片用以持续记录通过纳米孔的离子流。当马达蛋白定位纳米孔后，RNA-cDNA 双链解离，RNA 按 3'~5' 方向通过纳米孔，并通过电流表记录通过纳米孔最狭窄处（约 5 个碱基的长度，5-mer）的离子流。每 5 个碱基产生的离子流称为一个“事件”，该“事件”至少包括发生时间、离子信号强度和偏倚等。随后采用机器学习法将“事件”解码为核苷酸。Guppy 是最常用的机器学习法，其判读 DNA 的准确性可达 94%~98%，而判读 RNA 的准确性也可高达 86%~91%。到目前，dRNA-seq 法可用于检测多种类型的 RNA 修饰，如 Ψ 、 m^6A 、 m^7G 、 m^5C 、Nm 和 5hmC 。

二、基于碱基判读错误率推测 RNA 修饰

RNA 修饰显著影响通过纳米孔的离子流，从而直接影响碱基判读的准确性，导致一个或多个判读错误的核苷酸被分配到指定的 5-mer 中。通过计算相同位置核苷酸判读的错误率，可以发现错误率高的热点区域。大多数错误率计算方法使用了比较策略，即只有当热点出现在已知包含特定 RNA 修饰（如 m^6A ）的区域时，才会被认为是真实的。至于对照组中的未发生修饰的 RNA，可通过多种方式实现，包括抑制、沉默或敲除特定蛋白，或者通过体外转录 RNA 来验证。EpiNano 是第一个基于碱基判读错误率分析 RNA 修饰的软件，该软件依赖于监督学习方法，并已成功用来预测酵母菌株中 RACH 结构域的 m^6A 修饰。这一方法后来被 EpiNano-Error 的比较法所取代。EpiNano-Error 法基于碱基质量评分、插入缺失和（或）错配等特征来识别 2 个配对样本之间的错误率差异，并已成功用于检测环状 RNA 中的 m^6A 。其他分析软件还包括 Eligoes 2、DRUMMER、JACUSA2 和 DiffErr。

三、通过测序信号强度的变化推测 RNA 修饰

信号强度的方法指直接利用纳米孔测序过程中收集到的原始电信号强度的变化来推测 RNA 修饰。其第一步是对原始数据进行“重新处理”，这样每条单一核苷酸产生的原始信号被分解成多个小的“事件”，随后通过 nanopolish 和 Tombo 等软件包中的算法对这些“事件”进行比对分析，可采用建模或比较两种方法来进行比对分析。建模需要 k-mer 中的序列信息、修饰状态和信号强度。通过这种方法可以在没有对照样本的情况进行 RNA 修饰的研究。然而，这种建模的方法需要输入的数据只能通过同源数据集（如 miCLIP）

或从在线数据库（如 REPIC）手动检索获得。相比之下，比较法是通过比较来自两个不同数据集（如治疗与对照）的信号数据，以识别信号偏离的位点。目前认为信号强度分析法比碱基判读错误率法具有更大的应用潜力，因此，基于信号强度分析法开发了多种分析工具，如 Tombo，一种可用于 DNA 和 RNA 修饰检测的工具，最近已被用于研究猪生殖、呼吸综合征病毒及拟南芥转录组中 m^5C 修饰；Yanocomp 是一种利用比较分析法来识别 RNA 修饰的软件包，已成功应用于拟南芥转录组内 m^6A 修饰的鉴定。其他分析软件还包括 MINES、nanom⁶A、nanoRMS、Nanocompore、m⁶Anet、xPore、Penguin、NanoPsu 和 DENA。

四、纳米孔 dRNA-seq 检测 RNA 修饰的不足之处

目前已有多种基于纳米孔 dRNA-seq 的算法用于检测 RNA 的修饰。测序信号强度的变化和碱基判读错误率为研究者提供了分析相同数据集的两种方法。然而，最近一项研究表明，以上两种推断 RNA 修饰的方法均存在“盲点”，可能导致潜在的假阴性。另外，目前几种算法工具（xPore、m⁶Anet、nanoRMS、NanoPsu）提供单个异构体水平的化学计量估计的准确性也存在疑问，部分原因是缺乏已知所有 RNA 修饰的位置和丰度的基础数据集。鉴于完成这样一个数据集存在技术挑战和成本过高，这个问题可能不会很快被解决。因此，当选择何种方法/工具检测 RNA 修饰时，需要考虑分析效能与可行性。由于测序深度与检测灵敏度密切相关，在测序深度非常深的情況下，碱基判读错误率法分析 RNA 异构体效能更强大。通过信号强度的变化推断 RNA 修饰也限于 RNA 异构体分析，但只需较低的测序深度即能做出准确的判读。虽然目前其均不能识别单个 RNA 分子内的 RNA 修饰，但其潜能仍大于短读测序法。

五、纳米孔 dRNA-seq 检测病毒 RNA 的修饰

目前，仅有 6 种算法可用于病毒 dRNA-seq 数据集的分析，包括 DRUMMER、Nanocompore、Eligos2、Tombo、MINES 和 m6Anet。Viehweger 及其同事于 2019 年首次报道基于 dRNA-seq 数据集分析病毒的 RNA 修饰。他们利用 Tombo 工具发现了人类冠状病毒 HCoV-229E 的几个亚基因组 RNA（sgRNAs）的前导序列和下游开放阅读框中均含有 m^5C 。随后由于 SARS-CoV-2 于 2019 年底出现，采用 Tombo 工具的比较分析法，对 SARS-CoV-2 的 sgRNAs 进行分析，发现 SARS-CoV-2 的转录组结构中有 41 个位点发生了 RNA 修饰。序列分析显示大部分修饰位点的序列为 AAGAA，且修饰较易发生在病毒 sgRNAs 的 3' 端和较长的转录子中。另外他们也进行了 m^5C 的比较性分析，采用预建模的方法发现了大量的信号强度的改变，但是由于在未发生 RNA 修饰的对照中也出现类似现象，提示存在一定的假阳性。随后的一个研究显示 SARS-CoV-2 和人 β 冠状病毒 HCoV-OC43 的 sgRNAs 均发生了 m^6A 修饰，而最早使用 DRUMMER 和 Eligos2 分析 SARS-CoV-2 的 RNA 修饰，则是采用比较性方法分析了经特异的 m^6A 甲基转移酶 METTL3 抑制的 SARS-CoV-2 和 HCoV-OC43 感染细胞株的 dRNA-seq 数据集。研究发现 SARS-CoV-2 的少量 sgRNAs 发生了 m^6A 修饰且能被 Tombo、MINES 和 m⁶Anet 工具所证实，而且抑制 METTL3 的活性会降低 SARS-CoV-2 和 HCoV-OC43 的复制能力。另一个研究调查了 m^6A 在 1 型单纯疱疹病毒（HSV-1）生命周期中的作用。值得注意的是，HSV-1 可诱导与 RNA 修饰相关的多种宿主蛋白从细胞核到细胞质，从而以病毒 ICP27 蛋白介导的方式使宿主和病毒 mRNA 中 RNA 修饰消失，包括 m^6A 。

六、展望

近年来，随着化学、分子生物学及人工智能的有机融合，纳米孔测序技术发展迅速，已在基因序列分析、基因结构变异以及染色体核型分析等方面展示出良好的应用前景，而且作为一种高通量长读长测序技术，未来也会成为 RNA 修饰与表观遗传学研究的重要方法。（武汉大学中南医院 赵瑾 李一荣 编译）



新型传感器可快速联检 SARS-CoV-2 和甲型流感病毒

【据《J Med Virol》2022 年 7 月报道】题：使用可重复利用的双通道光纤免疫传感器快速通用检测 SARS-CoV-2 和甲型流感病毒（中国人民解放军疾病预防控制中心 作者 Yang Y 等）

SARS-CoV-2 的高传染性和强突变能力可能导致其与人类长期共存。SARS-CoV-2 感染患者通常会出现流感样症状，类似于甲型流感病毒（FluA）引起的症状。因此，仅根据症状很难区分早期 SARS-CoV-2 和 FluA 感染。此外，SARS-CoV-2 大流行和 FluA 流行的重叠季节可能使大量人群面临同时感染这两种病毒的风险增加。许多病例报告显示，与单一病毒感染相比，SARS-CoV-2 和 FluA 的共同感染会

导致更严重的临床症状，且体内实验表明，FluA 感染会增加细胞对 SARS-CoV-2 感染的敏感性，因此，快速、灵敏地区分 SARS-CoV-2 和 FluA 感染对流感样疾病患者的管理和治疗具有重要意义。

这项研究开发了一种可重复使用的双通道光纤免疫传感器（dual-channel optical fiber immunosensor, DOFIS），用于 SARS-CoV-2 和 FluA 病毒的现场多类型通用检测与识别。为评估 DOFIS 平台的检测性能，采用模拟和真实临床样本进行了检测与评价，并将检测结果与胶体金试纸法、ELISA 或 RT-PCR 进行比较。

为了验证 DOFIS 对多种 FluA 亚型和 SARS-CoV-2 不同

病毒毒株的通用检测能力，研究选择 H1N1、H3N2、H7N9 和 SARS-CoV-2 原始毒株、Omicron、Delta、SARS-CoV、MERS-CoV、HCoV-OC43 作为测试样本。结果显示，DOFIS 能检测到所有 FluA 亚型和 SARS-CoV-2 不同病毒毒株，且与空白对照组相比差异显著（ $P < 0.05$ ）。SARS-CoV、MERS-CoV 和 HCoV-OC43 组仅能引起极弱的信号反应，可能由于这三种冠状病毒的刺突蛋白与 SARS-CoV-2 相似。

为探究 DOFIS 对模拟病毒的检测能力，使用 SARS-CoV-2 假病毒和 H1N1 毒株作为模拟样本；ELISA 和胶体金法用作平行比较。结果显示，通道 1 对 100、200 TCID₅₀/ml

H1N1 敏感，且与空白对照组差异显著（ $P < 0.01$ ）。用 FluA 胶体金和 ELISA 对模拟样本进行检测发现，胶体金试剂盒无法检测到滴度小于 2×10^3 TCID₅₀/ml 的 H1N1；ELISA 仅对滴度高于 400 TCID₅₀/ml 的 H1N1 有反应。另外，通道 2 对 SARS-CoV-2 假病毒敏感，最低滴度为 20 TCID₅₀/ml，与对照组相比差异极显著（ $P < 0.001$ ），而 ELISA 对滴度低于 100 TCID₅₀/ml 的样本无反应。此外，通道 1 和 2 均表现出良好特异性，通道 1 仅对 H1N1 敏感，通道 2 仅对 SARS-CoV-2 假病毒敏感。

为探索 DOFIS 对临床 COVID-19 样本的检测能力，选用 RT-PCR 确定后的阴性样

本 9 例，阳性样本 17 例，Ct 值在 17.76 ~ 32.70。结果表明，DOFIS 的检测灵敏度达到 94%，远高于胶体金试剂 35%，但两者特异性均为 100%。Ct 值能反映样本病毒载量，DOFIS 的归一化信号值（I）与 Ct 值高度相关，证实 DOFIS 具有定量检测病毒载量的能力。

综上，这项研究开发的 DOFIS 可在 10 分钟内普遍检测到 SARS-CoV-2 或 FluA 的存在，这对减少两类重要疾病的负担具有重要意义，且 DOFIS 可重复利用 80 次以上，这种可重用性不仅大大降低了检测成本，为传染病实时监测的进一步发展提供了潜在的平台。

（广州万孚生物技术股份有限公司 邹嘉琪 康可人 编译）

“长期新冠”期间发生糖尿病的风险和负担显著增加

【据《Lancet Diabetes Endocrinol》2022 年 5 月报道】题：“长期新冠”期间发生糖尿病的风险和负担：一项队列研究（美国圣路易斯大学 作者 Yan X 等）

新型冠状病毒肺炎患者急性期 30 天之后可能会出现急性期后遗症——“长期新冠”，“长期新冠”可能涉及全身器官系统的表现，包括糖尿病，但目前关于糖尿病的风险、负担，以及新冠肺炎急性期后的相关结果的了解较少，需要对新冠肺炎急性期后糖尿病的风险和负担进行详细评估，以制定新冠肺炎急性期后护理策略。

研究者根据美国退伍军人事务部国家数据库招募了在 2020 年 3 月 1 日至 2021 年 9 月 30 日期间新冠肺炎检测结果阳性且在新冠肺炎发病后 30 天内存活的 181 280 名参与者队列，4118 441 名新冠检测阴性的同期对照组，4 286 911 名在 2018 年 3 月 1 日至 2019 年 9 月 30 日期间新冠检测阴性的历史对照组。所有参与者在进入队列前均未患糖尿病。新冠肺炎组根据疾病严重程度分为未住院、住院、疾病急性期入住 ICU。对这些队列进行纵向随访，估计糖尿病发病、抗高血糖药物使用的风险和负担，以及整个队列中这些终点的综合结果。

与同期对照组相比，新冠肺炎组新发糖尿病、降糖药物使用的风险和额外负

担均增加。意外使用抗高血糖药的风险增加和负担过重。与同期对照组相比，长期新冠组新发糖尿病、使用降糖药物和复合结局的风险和负担随着急性感染的严重程度（未住院、住院、入住 ICU）增加而增加。新冠肺炎组与历史总体对照组的比较与评估新冠肺炎组与同期对照组的分析结果一致。

新冠肺炎组随着糖尿病风险评分的增加，新发糖尿病风险和负担呈分级增加。65 岁以上人群的风险和负担高于 65 岁以下人群。黑人患者比白人患者表现出更高的风险和负担。患有心血管疾病、高血压、高脂血症或糖尿病前期阶段的人比没有这些疾病者表现出更高的糖尿病发病风险和负担。 $25 \text{ kg/m}^2 < \text{体重指数 (BMI)} \leq 30 \text{ kg/m}^2$ 、 $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ 比 $18.5 \text{ kg/m}^2 < \text{BMI} \leq 25 \text{ kg/m}^2$ 患者的糖尿病发病风险和负担显著升高。

综上所述，在新冠肺炎急性期后，患者患糖尿病的风险和负担及降糖药物的使用均增加，且随着急性感染严重程度增大而增加，因此，糖尿病应该被视为“长期新冠”的一个组成部分。新冠肺炎患者的急性后护理策略还应整合糖尿病筛查和管理。

（广州万孚生物技术股份有限公司 汪小芳 康可人 编译）

医学参考报

微生物与感染专刊

理事长兼总编辑：巴德年
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等
理事会秘书长：周 赞

社 长：魏海明
副社长：吕春雷
副社长：周 赞

社 址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦
B0403
邮 编：100055
总 机：010-63265066
网 址：www.yxckb.com

第二届编辑委员会

学术顾问：（按姓氏笔画排序）
张秀珍 陈民钧 倪语星 童明庆
名誉主编：（按姓氏笔画排序）
夏 薇 薛博仁
主 编：徐英春
副主 编：（按姓氏笔画排序）
卓 超 郑 波 俞云松 逢崇杰 顾 兵 韩崇旭
常务编委：（按姓氏笔画排序）
李 轶 余方友 张 菁 周志慧 单 斌
赵 鸿 徐和平 徐雪松 曹 壮 韩艳秋 辜依海 喻 华
鲁辛辛 廖 康 魏莲花
编 委：（按姓氏笔画排序）
王琳淇 王福祥 王豫萍 方秋红 邓淑文 石 荔 占 萍
叶 枫 包学英 朴文花 朱 镭 江 雁 李俊明 杨 青
沈继录 张 华 张 静 阿祥仁 陈丽萍 陈益国 范铁艳
林 宁 国钰梅 赵建宏 胡辛兰 姚立琼 郭大文 郭经济
黄 涛 黄文辉 曹存巍 康 梅 褚云卓
企业编委：（按姓氏笔画排序）
李永军 麻锦敏 康可人 韩剑锋 鲁炳怀
本期执行主编：李一荣

第二届青年编辑委员会

主任委员：徐英春
副主任委员：（按姓氏笔画排序）
王 贺 王俊瑞 任传利 李 刚 张 丽
青年编委：（按姓氏笔画排序）
王 毅 王凯飞 方文捷 朱鹏飞 刘 旭 刘笑芬
孙于谦 李 雪 李 楠 李 颖 李征途 李俊峰
李晓波 吴 华 时景伟 邹盛华 宋贵波 张 杰
张 莉 张 琦 张任飞 陈良远 范 欣 郑 瑞
栾艳森 程敬伟 曾令兵
编辑部主任：王 贺
广告部主任：张 琪
办公室主任：杨 洋
宣传组组长：王 瞳
副主任：郁 静 刘亚丽
主任助理：黄晶晶 井 然
项目组组长：杨文航
财务组组长：张 戈
责任编辑：黄晶晶 井 然 杨 洋 李琰冰 何南豪 闫梦瑶
王银萍 张 弘 赵云虎 李玉武

荚膜通过干扰肝脏巨噬细胞促进血流病原细菌的致病性

【据《Journal of Experimental Medicine》2022年3月报道】题：荚膜通过干扰肝脏巨噬细胞促进血流病原细菌的致病性（中国清华大学医学院 作者 Zhang JR 等）

脓毒症是一种常见的、致命的急性器官功能障碍综合征，携带荚膜结构的细菌是造成脓毒症主要的病原体。荚膜是细菌重要的毒力因子，人们普遍认为荚膜的主要功能是保护细菌不被血液中的免疫细胞（例如中性粒细胞）吞噬，然而荚膜在体内真实的致病机制仍然不清楚。

针对这个科学问题，清华大学医学院张敬仁课题组利用丰富的临床菌株资源和遗传转化构建的荚膜置换菌株，在小鼠菌血症模型中证明了荚膜的类型（血清型）是直接决定其毒力的关键因素。荚膜对细菌致病性的贡献集中体现在血流感染早期阶段。超过 50% 的荚膜敲除菌株在感染 5 分钟内即从血液中清除，而野生型菌株即使在 30 分钟内仍然有 50% 以上细菌在血液存活。系统

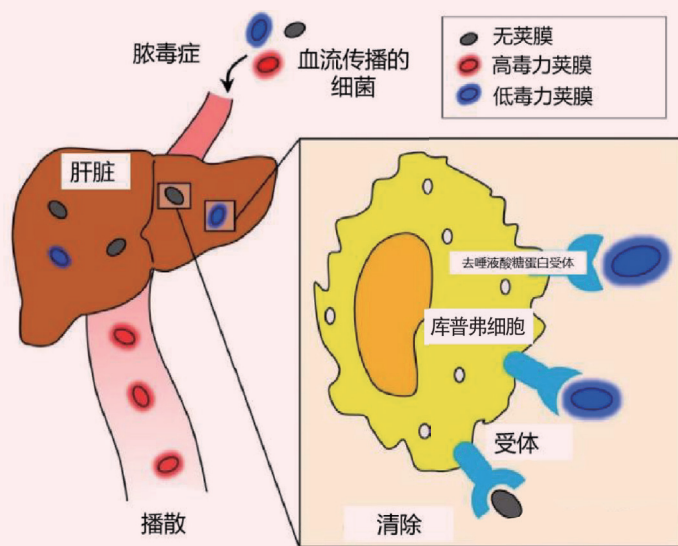


图1 血流感染中细菌荚膜促进病原体逃逸肝脏天然免疫的新机制
(引自清华大学医学院微信公众号)

比较表明，荚膜血清型决定了肺炎链球菌在菌血症早期的清除速度，其清除速率与菌株的毒力强弱具有强相关性。

宿主免疫系统如何识别不同毒力的肺炎链球菌并影响其命运呢？进一步研究发现，早期血液中快速清除的荚膜敲除菌株和低毒力菌株并非被血液中的免疫细胞杀死，而是被肝脏截留，特别是低毒力 14 型菌

株，在感染 5 分钟后 98.7% 的细菌富集在肝脏，然而，高毒力 8 型菌株仅有 11.6% 被肝脏捕获。肝脏包含多种天然免疫细胞，包括驻留巨噬细胞——库普弗细胞（Kupffer cell, KC）、中性粒细胞和单核细胞等吞噬细胞。利用特异性消耗策略，该课题组证实肝脏 KC 是早期清除无荚膜和低毒力荚膜型菌株的关键免疫细胞，高毒力荚

膜型菌株能逃逸 KC 的免疫监视。借助先进的活体免疫荧光成像（IVM）技术，课题组实时观测到了肝脏微环境中 KC 对不同荚膜型肺炎链球菌的捕捉，为研究宿主固有免疫和病原体的互作提供了崭新的视角。

为什么 KC 对不同荚膜型肺炎链球菌的捕获能力存在差异呢？由于荚膜置换菌株仅仅存在荚膜的差异，因此，荚膜多糖（capsular polysaccharide, CPS）是介导肝脏 KC 和细菌相互作用的关键，课题组推测 CPS 是 KC 上天然免疫受体识别的配体。为了证实这一猜想，课题组通过对小鼠感染模型提前注射纯化的 CPS，发现小鼠对低毒力荚膜型菌株的清除速率急剧降低，并且呈现剂量和类型的依赖性，IVM 显示 CPS 确实阻碍了肝脏 KC 对细菌的结合；反之，高毒力菌株的 CPS 不会影响早期免疫清除。以上结果表明低毒力荚膜型 CPS 能够被 KC 上的特异性受体识别，从而介导了这些菌株的快速清除，而高毒力荚膜型 CPS 能逃

逸 KC 的免疫监视。

研究进一步发现，由于低毒力 14 型肺炎链球菌的肝脏捕获不依赖于补体系统，研究者试图通过亲和力抑制 CPS14 包被的小鼠非实质细胞（NPCs）的蛋白来识别 KCs 上的 CPS14 受体。在此基础上，课题组成功鉴定到了去唾液酸糖蛋白受体（ASGR）是 14 型肺炎链球菌 CPS 的受体，并且在体外和体内验证了 ASGR 对肝脏 KC 清除 14 型肺炎链球菌的免疫功能。此外，ASGR 还能够结合 7F 型荚膜多糖。更重要的是，课题组利用细胞系和人原代 KC 模型证实了人源 ASGR 同样是人 KC 上重要的天然免疫受体。

综上所述，本研究工作创新性地提出了肺炎链球菌荚膜与肝脏 KC 免疫受体的特异性相互作用，此为宿主和病原菌较量的关键阶段，并最终决定了菌血症感染疾病的两种截然相反的发展趋势——免疫清除或免疫逃逸（图 1）。

（中山大学附属第一医院
陈怡丽 廖康 编译）

中国 IncX8 质粒介导地产 KPC-3 肠杆菌目细菌感染

【据《Emerg Infect Dis》2022年7月报道】题：中国一家医院发生 IncX8 质粒介导地产 KPC-3 肠杆菌目细菌感染暴发（中国宁波市第一医院 作者 Chen L 等）

碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌（carbapenem-resistant enterobacterales, CRE）是医院感染的重要病原菌，其主要耐药机制是产碳青霉烯酶。KPC 酶是全球最重要的碳青霉烯酶，自 1996 年首次发现以来，已发现超过 90 种 KPC 变体，其中 KPC-2 和 KPC-3 最常见。与 KPC-2 相比，KPC-3 有 1 个氨基酸置换（H272Y），对氧亚胺头孢菌素和碳青霉烯类水解效率更高。美国和欧洲等大多数 KPC 流行地区，KPC-3 与 KPC-2 的流行率相似，而中国主要流行 KPC-2，KPC-3 仅见零星报道。

来自中国的 Lan Chen 等报道了中国宁波一家三级医院发生的一次产 KPC-3 肠杆菌目细菌感染暴发。研究人员对 2020 年 8 月至 2021 年 6 月所在医院分离的来自 24 例患者的 25

株产 KPC-3 的非重复 CRE 菌株进行了研究。这些菌株包括 18 株黏质沙雷菌（sma），3 株肺炎克雷伯菌（kpn）、1 株大肠埃希菌（eco）、2 株霍氏肠杆菌（ehm）和 1 株奇异变形杆菌（pmi）。除了 1 株同时产 NDM 的 ehm，所有菌株对头孢他啶-阿维巴坦敏感。核心基因组系统发育分析发现，18 株 sma 形成一个独立的 KPC-3 簇，在系统发育上与另一个来自中国的 44 个菌株组成的 KPC-2 簇很接近。核心单核苷酸多态性（SNP）距离分析发现，该 KPC-3 簇的 sma 差异仅有平均 7 个核心 SNPs，表明其属于一个克隆。全基因组（WGS）分析发现 25 株 CRE 的 bla_{KPC-3} 基因由 IncX8 质粒携带，其中 23 株携带 pCG2111-KPC-3 质粒，2 株携带 pFK3112-KPC-3 质粒。pCG2111-KPC-3 与另外 2 个来自中国的携带 bla_{KPC-2} 基因 IncX8 质粒几乎相同。以其中 8 株菌为供体菌，EC600 为受体菌进行接合试验，质粒 pCG2111-KPC-3 菌株全部接合成功，接合频率高（ $10^{-3} \sim 10^{-4}$ ），

而 pFK316-KPC-3 菌株未能接合。对其中 24 株头孢他啶/阿维巴坦敏感 KPC-3 菌株进行了亚抑制浓度抗菌药物诱导筛选试验，91.7% 转为耐药菌株，而产 KPC-2 的对照组只有 4.2% 诱导为耐药菌株，表明产 KPC-3 菌株可以很容易地诱导出对头孢他啶/阿维巴坦的耐药性。通过大蜡螟幼虫感染模型对其中 2 株 ST65 型 K2 肺炎克雷伯菌进行了毒力研究，发现其具有高毒力，表明获得携带 bla_{KPC-3} IncX8 质粒并不降低其毒力。

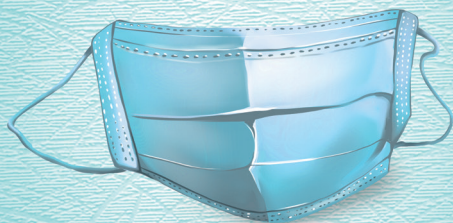
综上，与中国 IncFII 质粒介导的携带 bla_{KPC-2} ST11 型肺炎克雷伯菌的流行不同，本文报道了中国罕见的 IncX8 质粒介导的携带 bla_{KPC-3} 的 CRE 导致的医院感染，bla_{KPC-3} 质粒可以在不同菌株间水平转移，是感染暴发的重要原因。临床高毒力 ST65 K2 肺炎克雷伯菌株获得携带 bla_{KPC-3} 的 IncX8 质粒不会降低其毒力。头孢他啶/阿维巴坦暴露可诱导 IncX8 bla_{KPC-3} 菌株产生耐

药性。这对其治疗 CRE 感染带来了重大挑战。

（哈尔滨医科大学附属第一医院 郭大文 编译）

公益广告

戴口罩 预防新冠肺炎



去人员密集的公共场所、办公场所，
乘公共交通工具、电梯，家有医学观察者，
到医疗机构就诊等，请佩戴口罩。

中宣部宣教局、国家卫生健康委宣传司 指导
中国健康教育中心 制作

支气管扩张症患者铜绿假单胞菌耐药机制及分子流行病学特点

【据《J Antimicrob Chemother》2022 年 5 月报道】题：分离自支气管扩张症患者的铜绿假单胞菌（*pseudomonas aeruginosa*）的耐药机制及分子流行病学研究（西班牙巴塞罗那大学医学院生物特征研究所 作者 Cabrera R 等）

非囊性纤维化支气管扩张（BE）是一种慢性结构性肺疾病，铜绿假单胞菌是其重要的致病菌之一。

来自西班牙巴塞罗那大学医学院生物特征研究所的 Cabrera R 等研究者从 BE 患者痰中分离出共 43 株铜绿假单胞菌。采用纸片扩散法和稀释法检测了这些菌株对环丙沙星、亚胺培南、头孢他啶 / 阿维巴坦、头孢洛扎 / 他唑巴坦、黏菌素等抗生素的敏感性；采用分子测序和实时定量荧光 PCR 方法对各菌株的耐药机制进行检测；采用 MLST 法分析分子流行病学。

药敏结果显示，BE 患者分离出的铜绿假单胞菌对环丙沙星的耐药率较高，为 44.19%，对亚胺培南耐药率为 32.55%，而对头孢他啶 / 阿维巴坦、头孢洛扎 / 他唑巴坦、黏菌素全敏感。喹诺酮耐药决定区（QRDR）基因突变的数量越多，则对环丙沙星 MIC 值越高，并检出一株菌有 4 个喹诺酮耐药基因突变，MIC 为 32mg/L。与以往研究的 *gyrA*、*parC* 为主要突变基因不同，此研究耐环丙沙星的铜绿假单胞菌 *gyrA*、*gyrB*、*parC* 和 *parE* 基因均存在突变，其中有氨基酸 GyrA 中的 T83I（21.05%）、GyrB 中的 S466F（21.05%）、ParC 中的 S87W（21.05%）和 ParE 中的 D539E（36.84%），*parE* 基因的突变是此研究铜绿假单胞菌对喹诺酮类药物耐药的主要靶点。

检测到所产 β -内酰胺酶中 *bla*_{OXA50}

检出率最高，占 97.67%，还发现了一株 MBLs（GIM-1），而不是其他研究中铜绿假单胞菌检出的 VIM 和 IMP，同时菌株携带 *bla*_{GES-2} 达 44.18%。检测到 OprD 缺失与碳青霉烯类耐药有关，多个基因（*nalC*、*nalD*、*mexR*、*nfxB*、*mexT*、*mexS* 和 *mexZ*）突变共同参与。通过实时定量荧光 PCR 方法，基因表达显示在 MexAB-OprM 外排系统中过表达。*mexB*（46.5%）基因的表达水平显著高于 *mexD*、*mexF* 和 *mexY* 基因。在两株菌株中均观察到 *mexB* 和 *mexF* 之间的相互作用。在一株菌株中观察到 *mexD* 和 *mexY* 之间的相互作用。MexCD-OprJ 操纵子的表达明显较低。然而，由于每株菌都结合了多种耐药机制，因此很难建立明确的因果关系，需进一步研究验证。头孢他啶 / 阿维巴坦、头孢洛扎 / 他唑巴坦和黏菌素敏感性最高，是慢

性呼吸道疾病中多重耐药（multi-drug resistant，MDR）革兰阴性菌的最后选择药物，虽然检出一株携带有 *mcr-1* 菌株，但与其黏菌素的耐药性无关。

通过 MLST 分析，在此研究的菌株中鉴定出 27 个 STs，并没有明显集中的型别，频率最高的克隆为 ST619、ST676、ST532 和 ST109，其中泛耐药（extensively-drug resistant，XDR）菌株与 ST619、ST532 相关，全球与 XDR/MDR 有关的 ST175、ST111 并未被检出。

综上所述，此研究是第一次对 BE 患者分离的铜绿假单胞菌的耐药机制进行研究，重点阐述耐喹诺酮、 β 内酰胺类药物机制到 MLST 分型种类，以及与非 BE 的差别，为后续研究和相关治疗提供参考。

（宁夏医科大学总医院
邵艳霞 李刚 编译）

2012—2017 年美国艰难梭菌药物敏感性和基因组特征

【据《Clin Infect Dis》2022 年 10 月报道】题：美国艰难梭菌标准药敏试验和基因组监测（2012—2017 年）（美国疾病预防控制中心 作者 Gargis AS 等）

艰难梭菌感染（CDI）是医疗机构常见的感染。2017 年，美国 CDI 患者达 462 100 人，其中有 224 000 人住院治疗。对于多数细菌感染，可参考药敏试验结果指导抗菌药物使用。艰难梭菌（*clostridioides difficile*）属于厌氧菌，CLSI 推荐使用琼脂稀释法测定其 MIC 值，但该方法操作繁琐，费时费力，不适合临床常规实验室。目前，临床试实验室艰难梭菌药敏数据较少，耐药监测显得尤为重要。联合药敏试验与全基因组测序（WGS）可确定艰难梭菌的耐药表型和基因组特征。



来自美国疾病预防控制中心的 Gargis AS 等研究者收集了 2012—2017 年美国 10 大州共计 6 964 株艰难梭菌，并对所有菌株进行 PCR 核糖体分型；每年选 100 株（10 种最常见的型别）进行药敏试验和全基因组测序，最终纳入 593 株艰难梭菌。采用琼脂稀释法测定六种抗菌药物的 MIC 值，包括头孢曲松、克林霉素、美罗培南、甲硝唑、莫西沙星和万古霉素。全基因组测序采用的是 MiSeq 平台，数据分析使用 QuAISAR-H 方法。

研究结果显示，RT027 型为最常见的核糖体型别（23.1%），其他主要型别包括 RT106（16.9%）、RT002（13.3%）、RT020（11.3%）、RT014（11.0%）等。在 593 株艰难梭菌中，万古霉素的 MIC₅₀ 为 0.5 μ g/ml，MIC₉₀ 为 2 μ g/ml。98.5% 的菌株对万古霉素的 MIC $\leq$ 2 μ g/ml；甲硝唑 MIC₅₀ 为 0.5 μ g/ml，MIC₉₀ 为 2 μ g/ml，97.3% 的菌株对甲硝唑的 MIC $\leq$ 2 μ g/ml；克林霉素的 MIC₅₀ 为 4 μ g/ml，MIC₉₀ $>$ 16 μ g/ml；莫西沙星的 MIC₅₀ 为 2 μ g/ml，MIC₉₀ $>$ 8 μ g/ml；头孢曲松的 MIC₅₀ 为 32 μ g/ml，MIC₉₀ 为 64 μ g/ml；美罗培南的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 为 2 μ g/ml。RT027 型菌株对万古霉素、甲硝唑、克林霉素和莫西沙星的 MIC 分布高于非 RT027 型菌株。2012—2017 年，未发现艰难梭菌对上述抗菌药物的耐药率逐年变化的趋势。所有菌株未检出 *vanA/B* 基因。137 株 RT027 型菌株对 *erm* 和 *cfr* 基因的携带率分别为 49.6% 和 21.9%，高于其他型别菌株。RT027 型菌株 *gyrA* 突变（T82I）和 *gyrB* 突变（R447K/D426N）的比例分别为 81% 和 5.1%，高于其他型别菌株。

综上所述，治疗艰难梭菌感染所使用的万古霉素和甲硝唑，其 MIC 值随着时间推移并没有明显增高。高毒力 RT027 型菌株对多种抗菌药物的 MIC 值较高，携带耐药基因或耐药基因突变率也较高。对艰难梭菌药物敏感性和基因组特征进行持续监测十分重要。

（北京友谊医院 程敬伟 编译）

新的生物膜形成模型：聚集、生长和分解

【据《Nat Rev Microbiol》2022年10月报道】题：生物膜生命周期：扩展生物膜形成的概念模型（美国宾汉姆顿大学作者 Karin Sauer 等）

细菌生物膜通常被定义为附着于物体表面的被细胞外基质包裹的细菌群体，但近年研究显示，非表面附着的聚集细菌具有和生物膜相似的特性，并广泛存在于体内、临床及一些工作环境。本文通过描述传统五步法生物膜形成模式并分析该模型存在的一些局限，拟提出一个更为灵活广泛的生物膜模型，促进对生物膜和抗生物膜策略的理解。以往研究表明，生物膜的形成始于单个浮游细胞在物体表面的附着，传统生物膜模型的建立基于对铜绿假单胞菌生物膜的研究提出，该模型指出生物膜的形成是一个受调控的生长发育过程，包括特定的五个阶段：可逆附着、不可逆附着、成熟（成熟 I 和成熟 II）和分散。其他物种如金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及藻类生物膜的研究均基于该模型。

然而该模型存在以下局限：首先，尚未确定在实验室研究物种以外生物膜的形成是否遵循该发育过程；其次，该模型不包括自然界其他生物膜结构，如水底生物垫；第三，

该模型没有考虑到细菌不同的聚集和分散机制；最后，该模型没有考虑到开放性生物膜中新定植菌加入的动态演替过程。在不同的系统中，细菌附着、聚集、与生物或非生物物体接触相互作用、生长和成熟，以及分散的过程可能有很大的不同，因此，该模型推广到自然界、工程系统和医学中受到了很大的限制。

除此之外，近年大量研究表明许多生物膜相关的慢性感染中存在非附着的聚集性细菌。不同类型的聚集集体包括

嵌入宿主组织中的细菌，如囊性纤维化患者肺部的黏液、废水处理厂和土壤中的外部材料絮状物等。非附着的聚集细菌显示出与表面附着生物膜相似的表型，包括对抗菌药物和宿主防御的耐受增加，以及基质生成和生长缓慢。自由漂浮细胞聚集体的形成有五种主要机制。一是由于营养物质缺乏、物理磨损等因素使表面附着的生物膜脱落形成聚集物。二是细胞产生胞外多聚体（EPS）促进细菌聚集体的形成。三是细胞通过表面分子相互黏附。

四是聚合物损耗驱动聚集，聚合物之间的熵力导致悬浮液中的颗粒在细胞之间靠近时“挤出”聚合物，形成聚合体。五是液相环境中的聚合物连接单个细胞形成桥接聚集体。

本文提出了一个更新的、更全面的模型来描述生物膜的形成，包含3个过程（图1）。

①聚集和附着：细菌相互聚集或附着在生物和非生物表面。②生长和积累：聚集或附着的细菌菌落通过周围细胞的生长和募集而扩大。③分解和离散：根据不同的机制细

菌可以离开生物膜成为聚集物或单细胞。这个新模型代表了各种情况下无论是体内、体外，还是原位，生物膜从单个悬浮细胞形成的三个基本事件，它以包容的方式连接了生物膜形成的不同可能性和路径。与五步模型相比，它考虑了不同的黏附环境、条件和微环境，以及微生物可以在任何时间点进入该模型，更适合环境或人体肠道等可能不断加入新的生物膜成员的开放系统。此外，新模型还包括表面附着（外环）和非表面附着（内环）的生物膜。

综上所述，传统的五步模型提供了对生物膜统一但不全面的理解，导致一些偏离该模型生物膜被排除在外，且该模型无法用于描述部分临床现象。本文提出了一个新的生物膜形成的整体模型，它考虑了最广泛的见解，展示了3个主要事件：聚集、生长和分解。这个更简单的模型将减少生物膜在工业系统、定植环境、医疗环境等不同环境中形成方式的误解，以促进对生物膜和生物膜形成的跨学科讨论，为未来快速诊断生物膜相关感染，并发展更有效的抗生物膜治疗方案奠定基础。

（厦门大学 吴云 北京协和医院 李琰冰 徐英春 编译）

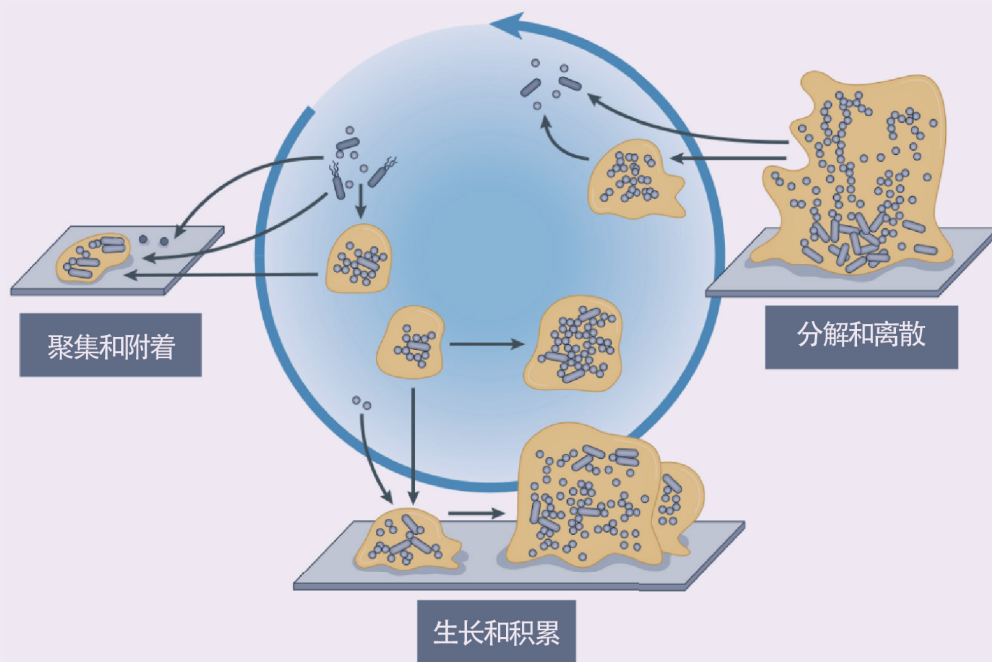


图1 新的生物膜形成模型，包括聚集、生长、分解3个主要事件

揭开微生物生物膜耐受性及耐药性的神秘面纱

【据《Nat Rev Microbiol》2022年10月报道】题：微生物生物膜耐受性及耐药性（丹麦哥本哈根大学作者 Ciofu O 等）

生物膜是指包裹于细胞外聚合物基质中的微生物群落，广泛分布于水生和陆地环境中，如湖泊、河流、土壤等，可以促进微生物的生存。在人体内，一些共生微生物可以在皮肤、口腔或阴道和肠道黏膜上形成生物膜。然而，病原微生物的定植和生物膜的形成可以导致反复和慢性感染。这些感染可分为生物或非生物表面的生物膜感染，或分泌物和组织的生物膜感染。本篇综述探讨了不同类型生物膜感染和临床问题的重要性，以及生物膜对免疫系统的耐受机制和对抗菌药物的耐药机制，提出了成功根除生物膜感染的治疗原则。

1. 临床问题

临床上由非生物表面生物膜引起的最常见感染之一是导管相关性血流感染，导致死亡率和医疗费用的增加。除此之外，由于植入物手术的增多，由假体关

节引起的感染也需要引起临床重视。由无毒力菌株引起的感染特征是病程延长，全身炎症体征不明显，通常与异物周围持续的炎症损伤有关；而毒性菌株感染往往会导致严重的局部感染和败血症，全身感染症状明显。当异物将无菌部位与共生菌群连接在一起时，也可在无菌部位引起感染。生物表面最常见的生物膜感染是引起龋病和牙周炎的牙菌斑生物膜。位于分泌物和组织的生物膜感染通常导致持续的炎症和受感染组织的破坏。

2. 生物膜对免疫系统的耐受

生物膜的存在可以使细菌在先天免疫反应激活的条件下增殖。生物膜中细菌聚集物通常大于多形核白细胞（PMN）可以吞噬的颗粒大小，从而阻碍后者对细菌的吞噬。铜绿假单胞菌的基质胞外多糖 Psl 可以保护生物膜免受调理作用，防止被补体系统杀死；海藻酸盐保护生物膜免受中性粒细胞和巨噬细胞杀死。细胞外聚合物（EPSs）通过屏蔽细菌表面的病原体相关分子模式（PAMPs）

来触发免疫逃逸。由群体感应系统（QS）控制合成的鼠李糖脂可以通过诱导细胞坏死和组织损伤来保护生物膜，防止接近功能性 PMN 等。

3. 生物膜对抗菌药物的耐受

生物膜由具有不同代谢活性的细菌亚群组成，代谢活跃亚群位于生物膜的含氧表面，而非生长亚群位于中心缺氧区。生物膜表面代谢活跃的亚群表现出外流泵或 β -内酰胺酶的表达增加，低生长速率的代谢不活跃亚群显示抗生素靶蛋白表达减少，并减少抗生素的主动吸收。基质成分如带负电荷的多糖、细胞外 DNA（eDNA）和丝状噬菌体，与带正电荷的抗生素如氨基糖苷类和多黏菌素结合，降低其扩散速率。代谢不活跃亚群应激反应的激活和代谢活跃亚群对抗菌药物的适应性耐药有助于生物膜建立对抗菌药物的耐受性。

4. 耐药性

与耐受性不同，抗菌药物耐药性（AMR）不是短暂的，是由细菌基因组

突变或通过水平基因转移（HGT）获得 AMR 因子引起。处于耐受的缓慢生长的亚群和持留菌的存在，以及适应性应激反应（SOS、氧化应激、严格应激或 RpoS）的激活，使生物膜突变率增加。生物膜中细菌活动受限，且距离很近，有利于 HGT 的发生。基质中的膜囊泡可以在细菌之间转移质粒和耐药基因（ARGs），从而加速了细菌之间耐药性的传播。

5. 应对策略

未来需要多学科的努力来开发预防生物膜感染的植入体材料，改进局部治疗的药物递送系统，以及寻找有效破坏生物膜基质的策略。此外，需要加强目前抗菌药物治疗生物膜感染方案的药理学和药效学相关研究，通过疫苗预防感染或减轻感染期间免疫反应效力，以避免周围组织的附带损伤。只有更好地理解微生物生物膜的耐受性和耐药机制，才能有效应对生物膜感染带来的挑战。

（北京协和医院 罗征宇 李琰冰 徐英春 编译）

AmpC-E、CRAB 和嗜麦芽窄食单胞菌感染治疗指南

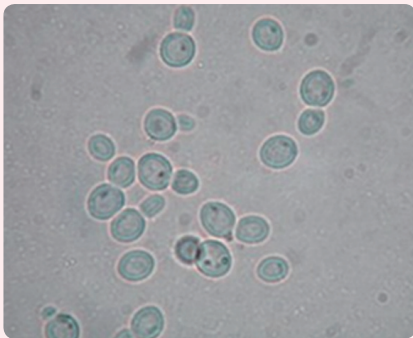
【据《Clinical Infectious Diseases》2022 年 6 月报道】题：美国感染病学会产 AmpC β -内酰胺酶肠杆菌、耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌感染治疗指南（美国感染病学会 作者 Pranita DT 等）

近期美国感染病学会（IDSA）发布了抗生素耐药革兰阴性菌感染的治疗指南 2.0 版本（简称《指南》），《指南》中对产 AmpC 酶肠杆菌（AmpC-E）、耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌（CRAB）和嗜麦芽窄食单胞菌感染的治疗提供了指导。

《指南》指出，阴沟肠杆菌、产气克雷伯菌和弗氏柠檬酸杆菌有产生具临床意义的 AmpC 酶的风险，当治疗这些细菌感染时，应根据诱导 AmpC 基因的能力和耐受 AmpC 水解的能力选择抗生素。若头孢吡肟的 MIC ≤ 2 mg/ml，首选头孢吡肟；头孢吡肟的 MIC ≥ 4 mg/ml 时，建议在碳青霉烯敏感前提下使用碳青霉烯。不建议用头孢曲松或头孢他啶治疗上述细菌引起的侵袭性感染。

不推荐使用哌拉西林他唑巴坦治疗产 AmpC 细菌感染。新型药物如头孢地尔和头孢他啶阿维巴坦对产 AmpC 酶细菌感染有效，但应优先用于碳青霉烯耐药的病原体感染。氟喹诺酮类、氨基糖苷类、磺胺类或其他非 β -内酰胺类抗菌药物既不诱导产生 AmpC 酶，也不是 AmpC 酶水解的底物，在药敏试验证实敏感后，可用于此类感染。

单一药物可治疗由 CRAB 引起的轻度感染，首选氨苄西林舒巴坦，延长输注时间或持续输注。对于中、重度 CRAB 感染，鉴于支持任何单药治疗有效的临床数据有限，推荐至少使用两种具有体外活性的药物联合治疗。多黏菌素 B 可考虑作为单一药物治疗轻度感染，并与至少 1 种其他药物联合治疗中重度感染。尿 CRAB 感染建议使用黏菌素而非多黏菌素 B。四环素衍生物（推荐米诺环素）同样可选。大剂量、长时间输注美罗培南



可考虑作为联合治疗的一部分，但在没有第三种药物时，不建议多黏菌素和美罗培南联合治疗 CRAB 感染（临床试验均未证明该联合用药对治疗有益）。头孢地尔仅用于其他抗生素难治性的或对其他药物不耐受而无法使用的感染，并建议将其作为联合治疗方案的一部分。《指南》中不推荐使用利福霉素治疗 CRAB 感染，也不推荐雾化抗生素来治疗 CRAB 引起的呼吸道感染。

嗜麦芽窄食单胞菌引起的轻症感

染，可以采用磺胺类、米诺环素、替加环素、左氧氟沙星或头孢地尔单药治疗，首选磺胺类和大剂量米诺环素。嗜麦芽窄食单胞菌产生 β -内酰胺酶，无论感染严重程度如何，都不建议用于该菌的治疗。中重度 CRAB 感染有三种治疗方案：①联合治疗，首选磺胺类联合米诺环素。②若磺胺类单药治疗无明显改善，则需联用，首选大剂量米诺环素。③预期其他药物不耐受或无活性时，联合使用头孢他啶阿维巴坦或氨曲南。

抗菌药物管理需要感染病、药学和微生物专家共同参与，经验性治疗决策应遵循最可能的病原体、患者疾病的严重程度、感染的可能来源，以及其他特定因素。对于 CRAB 和嗜麦芽窄食单胞菌，区分定植和感染非常重要，因为不必要的抗生素治疗可能诱导细菌耐药，并对患者造成抗生素相关损害。

（天津医科大学总医院 马睿
逢崇杰 编译）

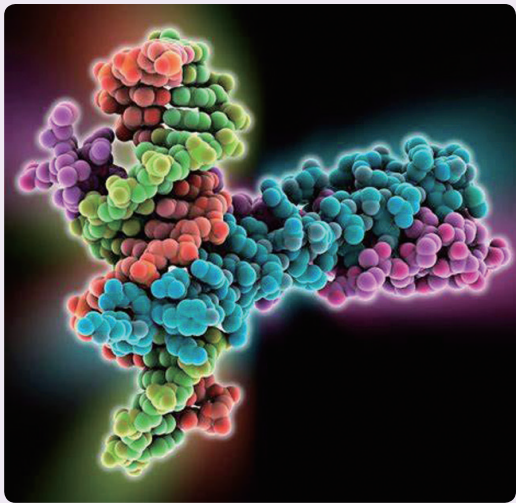
基于 EB 病毒目标抗原分子特性的 EB 病毒疫苗研发进展

【据《Pathogens》2022 年 7 月报道】题：基于 EB 病毒目标抗原分子特性的 EB 病毒疫苗研发进展（克罗地亚萨格勒布大学 作者 Marija R 等）

EB 病毒（EBV）属于疱疹病毒科，人群普遍易感。EBV 感染通常发生在儿童期，不会出现明显临床症状。成年人原发感染后一般会表现为传染性单核细胞增多症。EBV 是具有高细胞转化能力的致癌病毒，近年来 EBV 相关的恶性肿瘤发病率不断增长，并且 EBV 可以降低患者的免疫功能，使其宿主细胞易向恶性转化。迫切需要研发 EBV 疫苗。

由于 EBV 复制周期的复杂性及其宿主细胞的广泛性，目前 EBV 疫苗的研发进展缓慢。尚没有获得使用批准许可的疫苗。EBV 可以通过未知的机制感染 T 细胞和 NK 细胞，这使得目前不可能开发出一种疫苗来预防所有 EBV 靶细胞的感染。目前正在进行临床试验的 EBV 疫苗有预防性疫苗和治疗性疫苗两种。

预防性疫苗的目的是预防原发感染并诱导适应性免疫，主要靶点是包膜糖蛋白，主要是 gp350/220 糖蛋白，这是 EBV 表面上最丰富的蛋



白质。Gp350 疫苗可以与 Gp350 亚单位疫苗一起作为抗原使用，从而触发中和抗体的攻击并防止感染。另一方面，基于 gp350/220 蛋白触发 T 淋巴细胞的 CD8⁺T 淋巴细胞表位疫苗旨在识别释放细胞毒性颗粒的 EBV 感染细胞，从而触发细胞凋亡。基于表位的疫苗可防止感染的进一步传播和移植后淋巴增生性疾病的发生，而不是预防原发感染。其他参与融合的糖蛋白，如 gH、gL 和 gB 也是预防性疫苗靶点。主要策略是开发中和抗体，以抑制宿主细胞（主要是 B 淋巴细胞和上皮细胞）的 EBV 感染。有不同类型的潜在预防性疫苗，包括基于蛋白质、抗体和表位的疫苗。此外，重组痘苗病毒及重组腺病毒经常被用作基因输入的载体。

治疗性疫苗的目的是刺激免疫反应，破坏 EBV 感染的细胞。目前治疗性疫苗主要针对易患 EBV 相关恶性肿瘤或移植后淋巴增生性疾病的患者。大多数治疗性疫苗的临床试验都是在鼻咽癌患者身上进行的。EBV 潜伏期基因是治疗性疫苗的主要靶点。EBV 治疗性疫苗研发中常用的载体是树突状细胞、病毒载体或两者的组合。霍奇金淋巴瘤和鼻咽癌中表达的一些潜伏期基因如 EBNA1、LMP1 和 LMP2，是 EBV 治疗性疫苗的潜在表位，树突状细胞可以通过这些表位转化。树突状细胞和病毒载体的结合经常被用来通过靶向具有潜伏基因的 B 淋巴细胞来刺激免疫反应。疫苗策略的组合也被用于基于蛋白质的疫苗和病毒载体。基于蛋白质的疫苗，如 EBNA1 或 LMP2，也可用作治疗性疫苗。然而这种疫苗策略实现的免疫应答通常仅基于 CD4⁺T 淋巴细胞，由于病毒载体的使用主要基于 CD8⁺T 淋巴细胞反应诱导，病毒载体和基于蛋白质的疫苗的组合通常用于实现消除感染传播和进展所需的完全免疫应答。目前 EBV 疫苗有两个临床试验，一个基于 mRNA-1189，另一个基于 gp350 铁蛋白纳米粒。

尽管对 EBV 疫苗研发的研究已经进行了几十年，目前尚无获得批准的疫苗。在 EBV 疫苗研发方面取得的进展表明，第一个获得许可的 EBV 疫苗将是治疗性的。在进一步了解其复杂的感染机制及宿主细胞的广泛嗜性之前，用预防性疫苗完全消除原发性 EBV 感染似乎是不可行的，在不久的将来也是一个很大的挑战。

（天津医科大学总医院 袁金花 逢崇杰 编译）

公益广告



接种新冠病毒疫苗是有效防护手段，要积极配合疫苗接种。任何一款疫苗都不能百分之百的预防感染，接种疫苗之后，仍要继续做好个人防护。

中宣部宣教局、国家卫生健康委宣传司 指导
中国健康教育中心 制作

ESBL-PE 肠道定植率与抗生素摄入无关

【据《Clin Microbiol Infect》2022年9月报道】题：抗生素摄入对撒哈拉以南非洲地区产超广谱 β -内酰胺酶肠杆菌发生率的影响：一项基于社区的纵向研究（德国汉堡埃彭多夫大学医学中心 作者 Heinemann M 等）

超广谱 β -内酰胺酶（ESBLs）能水解大多数 β -内酰胺类抗生素，包括青霉素、氨基糖苷及大多数头孢菌素。产超广谱 β -内酰胺酶肠杆菌（ESBL-PE）被世界卫生组织（WHO）列为关键优先类别病原体。社区ESBL-PE肠道定植的全球总流行率约为17%，不同地区的定植率差异较大：东南亚地区定植率最高，为27%；其次是西太平洋（25%）和非洲（21%）。住院和抗生素摄入通常被认为是ESBL-PE定植的重要危险因素。这项前瞻性纵向研究的目的是评估抗生素摄入对非洲加纳药房顾客ESBL-PE肠道定植率的影响。

研究人员于2018年10月至2019年3月在加纳库马西市的四家独立药店招募参与者。使用问卷调查评估研究队列的基线特征，包括抗生素近期摄入量、住院情况和国际旅行情况等。使用直肠拭子和ESBL-PE选择性培养基开展肠道定植筛查。第0天，要求参与者在服用药物之前自行采集直肠拭子，获得ESBL-PE定植的基线情况。该研究在第0天共招募到404名参与者，其中302名（75%）被

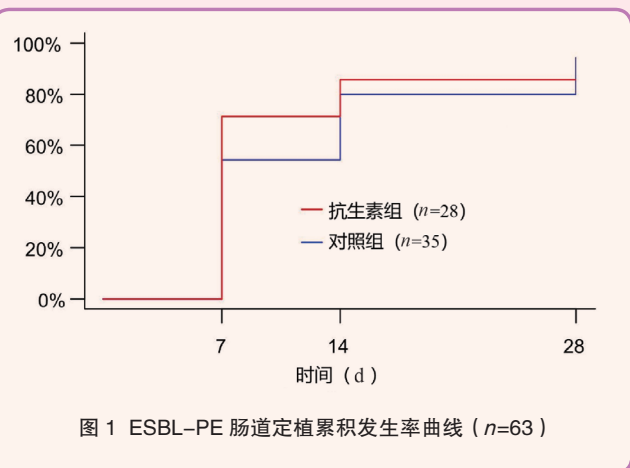


图1 ESBL-PE 肠道定植累积发生率曲线 (n=63)

ESBL-PE定植，183名抗生素购买者中，有140名参与者（77%）被ESBL-PE定植。

根据购买药物的种类，将63名ESBL-PE筛查阴性的参与者分配到两组：抗生素组（28名抗生素购买者）和对照组（35名非抗生素类药物购买者），开展28天的随访调查。随访参与者在第7、14和28天自行采集后续直肠拭子，直到样本对ESBL-PE选择性培养基呈阳性反应或研究结束。28天随访研究中，抗生素组购买的抗生素种类包括青霉素类（n=16）、硝基咪唑类（n=6）、头孢菌素类（n=4）、喹诺酮类（n=3）、四环素（n=2）、氨基糖苷类（n=2）和大环内酯类（n=1）。第一次随访时，抗生素组和对照组的ESBL-PE肠道定植累积阳性率分别为71%（20/28）vs 54%（19/35）， $P=0.258$ ；第二次随访时分别为86%（24/28）vs 80%（28/35）， $P=0.741$ ；第三次随访时分别为86%（24/28）vs 94%（33/35）， $P=0.393$ （图1）。

综上所述，医院外药房患者的ESBL-PE肠道定植率高于预期，并在28天随访期间进一步增加，定植率与抗生素摄入情况无关。临床医生在使用抗生素治疗门诊患者时需要考虑ESBL-PE的肠道定植情况，改进预防策略。为获得更多的研究数据，需要在药房以外的社区对ESBL-PE定植情况开展进一步的纵向研究。

（浙江大学 王银萍 俞云松 编译）

氨苄西林治疗CAP可减少艰难拟梭菌感染发生

【据《Clin Microbiol Infect》2022年8月报道】题：比较头孢曲松与氨苄西林治疗社区获得性肺炎：一项倾向匹配队列研究（以色列特拉维夫大学 作者 Guz D 等）

美国传染病学会与美国胸科学会（IDSA/ATS）指南推荐使用呼吸氟喹诺酮类药物或 β -内酰胺类药物（氨苄西林舒巴坦、头孢曲松或头孢呋辛）经验性治疗非重症监护病房的成年社区获得性肺炎（CAP）患者。近年来，由于耐青霉素肺炎链球菌患病率不断升高，头孢曲松加大环内酯类药物被推荐作为成年CAP住院患者的一线治疗抗生素，但第三代头孢菌素的暴露通常被认为与产超广谱 β -内酰胺酶肠杆菌（ESBL-PE）的出现、艰难拟梭菌感染（*Clostridioides difficile* infection, CDI）的增加有关。使用窄谱 β -内酰胺类抗生素如氨苄西林可减少耐药病原菌的出现和CDI的发生概率。这项单中心回顾性观察性队列研究的目的是探究氨苄西林与头孢曲松（均加用大环内酯类药物）治疗成年CAP住院患者的临床结局是否具有可比性。

研究者于2015年1月至2020年2月在以色列拉宾医疗中心招募参与者，纳入因CAP住院并接受氨苄西林或头孢曲松（均加用大环内酯类药物）治疗的成年患者。根据药物暴露情况将患者分为两组：静脉注射氨苄西林的患者定义为氨苄西林组，静脉注射头孢曲松的患者定义为头孢曲松

组。选择临床结局相关混杂因素构建倾向评分模型，利用最近邻匹配算法对氨苄西林组和头孢曲松组进行1:2匹配。定义主要结局为入院后第30天的全因死亡率，次要结局包括入院后第90天的全因死亡率、90天内CDI发生率等。通过多元逻辑回归模型和Kaplan-Meier生存分析评价两组的结局差异。

该研究最终收集到5268名CAP住院患者，其中，1586人符合纳入标准。倾向评分1:2匹配后，氨苄西林组纳入197名患者，头孢曲松组纳入394名患者。总体而言，两组的30天全因死亡率差异无统计学意义（氨苄西林组 vs 头孢曲松组=12% vs 15%， $P=0.184$ ）。多元逻辑回归模型分析（ $OR=0.67$ ，95% CI 0.37~1.2， $P=0.189$ ）和Kaplan-Meier生存分析（ $\chi^2=2.57$ ， $P=0.108$ ）显示，两组30天全因死亡率无显著性差异。两组未调整90天全因死亡率差异无统计学意义（16% vs 20%， $P=0.252$ ）。接受氨苄西林治疗的患者，90天内CDI发生率显著降低（0% vs 2%， $P=0.044$ ）。

综上所述，对因CAP住院的成年患者，氨苄西林与头孢曲松的临床治疗结局具有可比性，且氨苄西林与显著降低的CDI发生率相关，但该研究不能排除头孢曲松组较高的CDI发生率与更长的治疗时间或出院时给予左氧氟沙星有关，需要更可靠的研究设计来证实。

（浙江大学 王银萍 俞云松 编译）

COVID-19 患者 90 天死亡率的新预测手段——快速侧流试验检测 N 抗原血症

【据《Clin Microbiol Infect》2022年10月报道】题：通过快速侧流试验检测N抗原血症预测COVID-19患者的90天死亡率：一项前瞻性队列研究（西班牙巴亚多利德大学 作者 Almansa R 等）

血浆中严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2型（SARS-CoV-2）RNA的存在与新冠病毒（COVID-19）感染者宿主反应失调、危重症和死亡相关。病毒成分在血液中的传播会引发严重的肺炎，并损害肺泡血管屏障。此外，病毒成分可以通过刺激先天性免疫反应和（或）介导内皮细胞和组织损伤来诱发肺外疾病。目前已有可靠证据证明SARS-CoV-2 RNA血症与严重疾病和不良预后相关，但血液中SARS-CoV-2 N抗原的存在即抗原血症对COVID-19患者预后的潜在影响尚未得到充分探讨。基于此，来自西班牙的Almansa R等学者开展了一项前瞻性队列研究，评估快速侧流试验检测血浆中SARS-CoV-2 N抗原对COVID-19住院患者90天死亡率的预测价值。

该研究纳入从2020年7月2日至2021年3月10日期间入住西班牙重症监护病房的患者。纳入标准如下：①SARS-CoV-2鼻咽拭子PCR阳性且连续住院的成年患者。②在入院后36小时内，获得患者或其法定代表人对此研究的知情同意，获得EDTA抗凝血浆并储存于-80℃。排除标准如下：①入院时合并感染的患者。②接种过SARS-CoV-2疫苗的患者。③无法获得知情同

意的患者。最终，1333名COVID-19住院患者中的600名患者作为受试对象纳入此项研究。利用Panbio COVID-19抗原快速检测法检测血浆中SARS-CoV-2 N抗原水平，检测结果阳性者诊断为N抗原血症。依托雅培核心实验室平台，利用SARS-CoV-2 IgG II定量分析法评估SARS-CoV-2 N抗体和S1抗体水平。利用微滴式数字PCR分析血浆中的病毒RNA载量。使用多变量Cox回归模型分析确定90天死亡率的相关因素。

研究发现：①死亡患者住院期间N抗原血症的发生率较高（69% vs 52%， $P<0.001$ ）。②N抗原血症患者出现RNA血症的概率更高（45.7% vs 19.8%， $P<0.001$ ），且更容易缺乏抗SARS-CoV-2 N抗体（80.7% vs 26.6%， $P<0.001$ ）和S1抗体（73.4% vs 23.6%， $P<0.001$ ）。③N抗原血症患者更容易出现急性呼吸窘迫综合征（30.1% vs 18.7%， $P=0.001$ ）和院内感染（13.6% vs 7.9%， $P=0.026$ ）。④多变量分析结果显示N抗原血症是90天死亡率的危险因素（ $HR=1.99$ ，95% CI 1.09~3.61），而抗SARS-CoV-2 N抗体是90天死亡率的保护因素（ $HR=0.47$ ，95% CI 0.26~0.85）。

综上，住院治疗后出现N抗原血症或缺乏抗SARS-CoV-2 N抗体，与未接种疫苗的COVID-19患者的90天死亡率增加有关。侧流试验检测N抗原血症是一种快速、广泛可行的手段，有助于早期识别有恶化风险的COVID-19患者。

（浙江大学 黄唯一 俞云松 编译）

万孚生物：以科技创新驱动，助力国家公共卫生体系建设

行业领先 承担百余项科技攻关项目

广州万孚生物技术股份有限公司成立于1992年，是一家专业从事即时检测/床旁检测（POCT）快速检测诊断试剂及配套仪器的研发、生产制造、营销及服务的国家高新技术企业。公司于2015年6月在深圳证券交易所创业板上市（股票代码：300482），成为国内POCT第一股。

三十年来，万孚生物始终坚持以科研创新推进高质量发展，锻造了强大的科研实力。公司先后承担国家863项目、国家重点研发计划、国家科技重大专项等科技攻关项目100余项，研发项目先后获得14项国家、省、市科技进步奖和7项国家、省、市专利奖，其中公司的疟疾产品获2017年度国家科技进步奖二等奖，标志着公司的传染病POCT检测产品技术水平国内领先。公司的科研实力多次获得国家认可，先后组建“国家地方联合工程实验室”“国家企业技术中心”等国家级研发资质平台。

全球化科研创新体系 练就多项“国内首个”

抓创新就是抓发展，谋创新就是谋未来。为了促进业务的持续发展，为中长期战略目标的实现打下坚实的业务基础，万孚生物坚持现有产品线品类拓展与新技术平台开发升级“双轨并行”的研发策略，多年稳步提高在研发能力建设和新品开发方面的资金投入，研发投入强度和研发团队实力均位居行业领先地位。

目前，万孚生物以广州为总部，布局全球研发，在国内外多地建立研发中心，拥有海内外一流科研人才800余人。公司构建了以国家地方联合工程实验室、国家企业技术中心为核心创新平台的高水平、全球化的研发创新体系，同时获得广东省企业重点实验室、广东省省级企业技术中心、广东省免疫学快速检测工程技术研究中心、广东省自检型快速诊断工程实验室、广东省院士工作站、广东省博士工作站等多个省级以上科研创新资质，为技术开发、产品转化、人才联合培养提供有力支撑。

万孚生物专注POCT领域，始终引领国内POCT行业产品持续升级迭代，经过多年的自主创新和发展，多项技术成果国内首创，打破了国外厂家长期垄断中国市场的局面。

- ◆ 在成熟的免疫胶体金领域，拥有全国唯一的流感检测全系列产品（H7、FluA、FluB、FluA&B），国内首创术前四项联检（HIV+HCV+TP+HbsAg）产品。
- ◆ 在免疫荧光技术领域，国内首次推出“飞测”系列分析仪，国内装机数量第一；试剂种类业内最全，打破进口设备长期垄断中国市场的局面，实现分析仪国产化替代。
- ◆ 在化学发光技术领域，上市国内首家“新血栓六项”检测产品，全面助力国内心脑血管病重大慢病检测。
- ◆ 在电化学技术领域，国内首家推出可测PT、APTT、TT、FIB、ACT 5项的POCT凝血分析仪，进入长期被外资垄断的血气检测市场。
- ◆ 在分子诊断技术领域，推出boxarray®全自动多重核酸分析仪，成为仅有的3款获批的国产核酸POCT一体机之一，同时推出国内首个在结肠癌中进行液体活检的试剂盒。整体技术水平达到国内领先、国际先进水平。

全平台全品类 高质量走向全球

经过三十年的创新与发展，万孚生物成功打造了免疫胶体金、免疫荧光、电化学、干式生化、化学发光、分子诊断、病理诊断、仪器和生物原材料九大技术平台，并形成了心脑血管疾病、炎症、肿瘤、传染病、毒检（药物滥用）、优生优育等检验领域的丰富产品线，广泛应用于基层和诊所医疗、危急重症、临床检验、疫情监控、血站、灾难救援、现场执法及家庭个人健康管理等领域。目前，万孚生物已构建了较为完善的技术平台和产品线。现已实现POCT产品的全平台、全品类覆盖，定性产品和定量产品齐头并进，是国内POCT企业中技术平台布局最多、产品线最为丰富的企业。

作为POCT行业内少有的立足中国、面向全球的企业，万孚生物自2004年开

导 读

公共卫生是以保障公众和促进公众健康为宗旨的公共事业，是健康国家的基础。广州万孚生物技术股份有限公司（以下简称“万孚生物”）作为国内POCT行业技术创新龙头企业，也是最早建立辐射全球的销售网的民族企业之一。自新冠疫情暴发以来，万孚生物全力以赴为全球疫情防控提供技术支撑，已在全球范围内提供了数亿人份的新冠快速检测试剂，覆盖欧洲、亚洲、拉美、中东的100多个国家和地区，获得广泛的肯定。

始大力开拓海外市场，经过20年的不懈耕耘，在海外市场准入方面、海外渠道建设方面已经构建起较为突出的优势，为全球140多个国家和地区客户提供产品解决方案和技术支持。

万孚生物已建立符合中国、美国、加拿大、澳大利亚、巴西等国家和世界卫生组织等组织适用法律法规要求的国际化质量管理体系，获得ISO13485:2016、ISO9001:2015、MDSAP、IVDR质量管理体系证书。为提高公司产品溯源，万孚生物建立代谢物、酶学、电解质和血细胞等15项参考测量程序，获得中国合格评定国家认可委员会（CNAS）医学参考测量实验室的认可，并成为JCTLM利益相关成员，将为促进检验医学测量结果的溯源性发挥更多作用。

屡次投身公共卫生事件应对 不让生命等候

多年来，万孚生物凭借国内传染病POCT快检产品领域中不可替代的快速应急及产业化能力，积极践行“不让生命等候”的核心理念，屡次投身公共卫生事件的应急攻关，多次在国内突发新发疫情时快速推出针对传染病的POCT产品。

在近年应对突发传染病的挑战上，万孚生物从未缺席。2003年SARS疫情暴发后，公司率先研发出SARS抗原胶体金法检测试剂；2009年应对甲型H1N1流感疫情，公司承担了国家“863计划”“流感病毒适用的抗原快速诊断试剂盒（免疫层析法）的研制”项目，快速研发出甲型H1N1流感试剂注册上市，并荣获国家甲型流感检测评比第一名；2013年多地发现新亚型H7N9禽流感病毒传播，公司首创人感染H7亚型禽流感

抗原检测试剂；2016年，世界卫生组织宣传寨卡病毒构成国际突发公共卫生事件，公司承担广东省防控寨卡病毒病科技攻关专项、广州市健康医疗协同创新重大专项，成功开发了寨卡病毒NS1抗原快速检测试剂盒；2018年，全球登革热疫情形势较严重，万孚生物参与的“登革热现场适宜防控技术及策略研究”获得广东省科技进步奖二等奖，为及早发现登革热传染源、阻断疾病传播赢取宝贵时间。

新冠肺炎疫情暴发后，万孚生物快速响应党中央、国务院提出的“生命至上、人民至上”的号召，充分发挥POCT领军企业技术优势，以科技支撑战疫，第一时间启动应急开发机制，紧急攻关研发新冠快速检测产品，基于多技术平台先后推出“核酸PCR+抗原+抗体”新冠全场景解决方案，成为国内首批研发2019新型冠状病毒（2019-nCoV）快速检测试剂并获得国内抗体、抗原检测试剂（抗原自测）注册证的企业之一，为全球抗击新型冠状病毒肺炎疫情持续贡献专业力量。

近期，在Omicron成为占主导地位的大流行毒株的背景之下，新冠抗原居家自测逐渐成为重要的防疫手段。万孚生物积极推进新冠抗原自测产品在世界各国的注册准入，截至目前公司新冠抗原自测产品已经通过欧盟CE认证，并获得巴西、俄罗斯、澳大利亚、泰国、马来西亚、缅甸等国家的新冠抗原自测证书。公司的新冠系列检测试剂已销售覆盖欧洲、亚洲、拉美、中东等超过100个国家和地区。

在新型冠状病毒肺炎疫情暴发的3年来，万孚生物作为国内抗疫先锋企业之一，先后组织先锋队火速驰援武汉、广州、香港、上海等疫情防控，并持续助力全球抗疫，多次获得国家省市各级政府部门的肯定与表彰。万孚生物获得国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制（医疗物资保障组）的感谢信；荣获国家科技部授予的万孚生物新冠病毒快速检测（POCT）试剂攻关组“全国科技系统抗击新冠肺炎疫情先进集体”称号；荣获广东省卫生健康委员会颁发的“携手抗疫 共克时艰”牌匾；荣获广东省新冠肺炎防控指挥部授予的“广东省新冠肺炎疫情防控物资保障工作重要贡献企业”称号；荣获中国医学装备协会检验医学分会的“火线抗疫奖”；荣获中共广州市委统战部、广州市工业和信息化局及广州市工商联联合授予的“广州市抗击新冠肺炎疫情突出贡献民营企业”称号。

站在“十四五”的新起点，万孚生物将继续秉承“不让生命等候”的核心理念，坚守为公众健康提供技术、产品和服务的初心，加强核心关键技术攻关，加速科技成果转化应用，用高质量产品及服务不断提升医疗机构诊断效率，为服务经济社会发展作出新的更大贡献。

（广州万孚生物技术股份有限公司 报道）

微生物与感染 专刊 长期合作伙伴

