

• 经验交流 •

# 低温致奴卡菌 R-S 变异株生物学性状的研究

王 华<sup>1</sup>, 李岳西<sup>2</sup>, 苍金荣<sup>3△</sup>

(1. 陕西省临床检验中心, 陕西西安 710068; 2. 西安市卫生学校, 陕西西安 710054;

3. 陕西省人民医院检验科, 陕西西安 710068)

**摘要:**目的 了解和研究低温所致奴卡菌 R-S 变异株生物学性状的变化情况。方法 将从住院患者痰液、血液、胸腔积液分离获得的 5 株奴卡菌置 4 ℃ 冰箱放置 40~60 d, 诱导其变异, 对诱导所得 R-S 变异株进行培养、形态染色、生化反应、药敏试验等生物学性状观察。结果 5 株奴卡菌在 4 ℃ 低温下放置 40~60 d 均发生变异, 变异株菌落发生 R-S 变异, 由于干燥、白色粉末样菌落变为黄色较湿润的光滑型菌落; 菌体形态由 G<sup>+</sup> 长丝状、分枝状变为 G<sup>+</sup> 球杆状, 抗酸染色失去原有的部分抗酸性而呈抗酸染色阴性, 除此之外, 生化反应、药敏试验也发生明显改变。结论 低温下奴卡菌容易发生变异, 这种变异不仅仅是表形变异, 变异株的其他生物学性状也随之发生改变。

**关键词:** 奴卡菌; R-S 变异株; 生物学性状

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.062

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1673-4130(2013)17-2329-02

奴卡菌是临床常见的致病菌之一, 可引起肺部、胸腔感染, 也可引起菌血症。有文献报道念珠菌极易发生类细菌样改变<sup>[1-3]</sup>, 且变异后其他生物学性状甚至基因也随之发生类细菌样改变<sup>[4-6]</sup>, 有关奴卡菌变异方面的有关研究目前尚未见有报道, 笔者通过研究发现: 象念珠菌一样, 奴卡菌也容易发生变异, 这种变异不仅仅是表形变异, 而且其他生物学性状也随之改变, 现将低温所致奴卡菌 R-S 变异株生物学性状变化情况报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 质控菌株 ATCC25922 大肠埃希菌, ATCC25923 金黄色葡萄球菌, ATCC27853 铜绿假单胞菌。实验菌株选取 2011 年 9 月至 2013 年 3 月从本院患者的痰液、血液、胸腔积液中检出 5 株非重复计数的奴卡菌。药敏纸片 OXOID 药敏纸片。普通血液琼脂培养基、MH 培养基, 购买 OXOID 商品干粉, 按照说明配制使用。

**1.2 方法** 将临床患者的痰液、胸腔积液和血液标本, 接种于血液琼脂培养基及沙氏培养基, 对疑似奴卡菌进行革兰染色、抗酸染色及生化鉴定, 证实 5 株菌均为奴卡菌, 将奴卡菌置 4 ℃ 冰箱放置 40~60 d, 观察菌落形态、革兰染色、生化反应、药敏试验等生物学性状。

## 2 结 果

**2.1 菌落形态和革兰染色结果** 将奴卡菌置 4 ℃ 放置 40~60 d, 发现白色粉末状菌落部分变异为黄色、较干燥、椭圆形、边沿不整、突起较坚硬的硫磺颗粒状菌落, 将黄色硫磺颗粒状变异菌落传血平皿得到黄色、中圆、突起、光滑、湿润、边沿较整齐的光滑型菌落, 变异株涂片革兰染色呈 G<sup>+</sup> 球菌状, 且失去奴卡菌固有的部分抗酸性而变为抗酸染色阴性。

**表 1 奴卡菌及 R-S 变异株生化结果**

| 生化项目           | 奴卡菌 | 奴卡菌 R-S 变异株 |
|----------------|-----|-------------|
| 硝酸盐还原          | +   | -           |
| 吡嗪胺酶           | -   | +           |
| 焦谷氨酸芳胺酶        | -   | +           |
| 碱性磷酸酶          | +   | +           |
| α 葡萄糖苷酶        | +   | +           |
| 七叶灵水解          | -   | +           |
| 明胶水解           | -   | +           |
| 其他 API 棒杆菌生化项目 | -   | -           |

**2.2 生化试验和药敏结果** 奴卡菌 R 型与 S 型变异菌生化反应有较大差异, 20 项生化反应中有 7 项生化项目分别为阳性, 共同阳性项目 2 项, 另有 5 项生化项目发生改变, 见表 1。奴卡菌 R-S 变异株不仅仅生化反应发生改变且药敏试验也随之改变, 在进行的药物敏感试验中, 22 项药敏试验结果有 13 项明显改变, 9 种药物对奴卡菌 R 型无抑菌作用, 见表 2。

**表 2 奴卡菌及 R-S 变异株药敏结果(抑菌环直径 mm)**

| 药物  | 奴卡菌 | 奴卡菌 R-S 变异株 |
|---|-----|-------------|
| 庆大霉素  | 28  | >35         |
| 红霉素   | 15  | 26          |
| 头孢西丁  | 20  | >35         |
| 头孢哌酮/舒巴坦、青霉素、头孢西林、<br>哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦、<br>克林霉素、左氧氟沙星、头孢唑林、环丙<br>沙星 | 7   | >35         |
| 替考拉宁、复方新诺明、利奈唑胺、莫西<br>沙星、氯霉素、利福平、四环素、头孢吡<br>肟、亚胺培南                    | >35 | >35         |

## 3 讨 论

奴卡菌是一群需氧放线菌、革兰染色阳性的长丝状分枝菌, 抗酸染色部分阳性。该菌属广泛分布于土壤中, 不属于人体的正常菌群, 主要通过呼吸道吸入或创口侵入机体, 大部分感染者有基础疾病, 尤其是免疫力低下的感染者<sup>[7]</sup>, 如 AIDS、恶性肿瘤患者, 长期应用肾上腺皮质激素、免疫抑制剂和广谱抗生素的患者以及严重肺部疾病的患者, 可引起原发性化脓性感染, 局灶性或播散性感染。近年来, 随着疾病结构的改变, 在免疫功能低下或缺损的疾病如慢性肉芽肿性疾病、白血病、淋巴瘤、艾滋病(CD4<250/μL)、接受细胞毒药物化疗或长期大量使用免疫抑制剂等患者中, 奴卡菌病的发病率有所增加。有关奴卡菌致病性、耐药性的报道较多, 尚未见有关该菌变异方面的报道。本研究对低温致奴卡菌 R-S 变异株的生物学性状进行研究, 发现奴卡菌发生 R-S 变异后, 其他生物学性状也相应发生改变, 菌体形态由 G<sup>+</sup> 长分枝状变为 G<sup>+</sup> 球杆状且抗酸性消失, 20 项生化反应中有 7 项分别为阳性, 共同阳性项目 2 项, 另有 5 项生化项目发生改变。对抗菌药物敏感性改变尤为

△ 通讯作者, E-mail: cang1963@163.com.

明显,22 项药敏试验结果有 13 项明显改变,9 种药物对奴卡菌 R 型无抑菌环,而奴卡菌变异株 S 型均有较大的抑菌环,纵观药敏实验结果,发现奴卡菌对抗菌药物敏感性较差,而变异株敏感很好。导致变异株生物学性状改变的机制是什么;药物、生长环境、营养条件能否引起其变异;这种变异对奴卡菌病的诊断、治疗影响如何等这些问题尚待进一步研究。

参考文献

[1] 苍金荣,任健康,王华,等. 唑类抗真菌药物诱导白色念珠菌 L 型的实验研究[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(5):42.

[2] 苍金荣,任健康,王华,等. 临床分离类细菌样变异念珠菌的实验诊断[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(1):59.

[3] 苍金荣,任健康,王华,等. 变异念珠菌常见菌落和菌体形态[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(2):12-14.

[4] 王华,苍金荣,任健康,等. 类细菌样念珠菌变异株对普通抗细菌药物敏感性观察[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(4):45-47.

[5] 王华,任健康,苍金荣,等. 白色念珠菌 L 型的生化实验观察[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(5):48-49.

[6] 王华,苍金荣,任健康,等. 类细菌样念珠菌变异株真菌保守基因检测[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(3):39-40.

[7] 蓝珂,覃善芳,岳静. 获得性免疫缺陷综合征合并奴卡菌误诊为结核病复发一例[J]. 中华结核和呼吸杂志,2012,35(8):623-624.

(收稿日期:2013-05-26)

• 经验交流 •

## 青岛部分老年患者呼吸道流感嗜血杆菌感染及耐药分析

江秀爱<sup>1</sup>,刘淑慧<sup>2</sup>,赵白云<sup>1</sup>

(1. 山东省青岛市中心医院检验科,山东青岛 266042;2. 山东省即墨市第三人民医院检验科,山东即墨 266200)

**摘要:**目的 了解山东省青岛部分老年患者呼吸道感染中临床分离流感嗜血杆菌的耐药性,为临床合理用药提供依据。方法 用手工法和 Mic SCAN4 半自动细菌鉴定分析仪,HNID 鉴定板对分离培养的 119 株流感嗜血杆菌进行菌种鉴定。用纸片琼脂扩散(K-B)法进行药敏试验,采用头孢硝噻吩纸片法进行 β 内酰胺酶检测。结果 临床分离流感嗜血杆菌 119 株,β 内酰胺酶产生率为 36.1%。药敏结果显示对美罗培南、头孢呋辛、头孢噻肟的耐药率较低,均小于 5%,是治疗流感嗜血杆菌的首选药物。结论 青岛部分老年患者呼吸道感染流感嗜血杆菌感染可选美罗培南、头孢呋辛、头孢噻肟作为治疗流感嗜血杆菌的首选药物。

**关键词:**流感嗜血杆菌; 药物耐受性; 呼吸道感染; β 内酰胺酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)17-2330-02

流感嗜血杆菌是革兰阴性小杆菌,属苛养性细菌,是口腔、鼻咽部的正常菌群,也是重要的机会致病菌,是健康人鼻咽部常见菌之一,引起感染的机会与机体的免疫有关。当老年人机体免疫力下降时,可引起局部和侵入性感染如中耳炎、会厌炎、脑膜炎和支气管炎、肺炎及其他呼吸道疾病<sup>[1]</sup>。由于老年人的生理特点,该菌引起的在老年人呼吸道感染发病中占重要地位。因此,对老年人呼吸道感染流感嗜血杆菌的感染及耐药情况进行分析,为临床治疗提供实验室的依据。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2009 年 10 月至 2012 年 9 月自青岛市中心医院、青岛市肿瘤医院、青岛市职业病防治院、四方区及李沧区周边的社区医院采集 5 682 份门诊及住院呼吸道感染老年患者的痰液和咽拭子标本,共检出 119 株,其中痰液标本 5 416 份,检出流感嗜血杆菌 116 株,咽拭子标本 266 份,检出流感嗜血杆菌 3 株,患者年龄 60~99 岁,剔除同一患者同一部位分离的重复菌株。

**1.2 抗菌药敏纸片** 氨苄西林、头孢噻肟、阿奇霉素、氯霉素、头孢呋辛、左氧氟沙星、美罗培南、复方磺胺甲噁唑、阿莫西林-克拉维酸抗菌药敏纸片均为英国 OXOID 公司产品。头孢硝噻吩纸片为法国生物梅里埃公司产品。

**1.3 培养基** 哥伦比亚琼脂、流感嗜血杆菌药敏试验培养基(HTM)和营养补充剂 SRO158E 均为英国 OXOID 公司产品。

### 1.4 方法

**1.4.1 痰标本质量控制** 痰标本留取晨痰,患者清晨漱口后深部咳痰,留取于无菌痰杯内,立即送检,对排痰困难或机械通气的患者采用一次性吸痰管或纤维支气管镜从气道内吸痰留取,直接涂片革兰染色镜检,白细胞大于 25 个/低倍视野,上皮细胞小于 10 个/低倍视野,为合格痰培养标本。

**1.4.2 咽拭子标本** 清晨漱口后,将咽拭子在咽后壁或悬雍垂后侧涂抹数次,勿接触口腔和舌黏膜,立即送检接种,经培养后为优势菌或纯培养,考虑为呼吸道感染的病原菌。

**1.4.3 嗜血杆菌分离及鉴定** 根据《临床检验操作规程》第 3 版<sup>[2]</sup>的要求,取临床送检的合格标本立即接种在巧克力平皿及血平皿上,在 5%~10% CO<sub>2</sub> 环境中 35℃ 培养 18~24 h,挑取在血平皿上不生长,巧克力平皿上生长的表面光滑、细小、透明或半透明、有光泽似露滴状的菌落,进行革兰染色,镜检为革兰阴性小杆菌(多形性)。然后将该菌与金葡菌 ATCC 25923 共同接种在羊血平皿及 M-H 平皿上,观察有无“卫星现象”,如血平皿上卫星试验阳性,M-H 平皿上卫星试验阴性者,为流感嗜血杆菌。再将纯分的革兰阴性杆菌用 Mic SCAN4 半自动细菌鉴定分析仪,HNID 鉴定板进行菌种鉴定。

**1.4.4 抗菌药物敏感性试验** 采用纸片扩散法(Kirby-Bauer 法),以 HTM 琼脂为培养基,并根据 CLSI 2009 年标准判定结果。质控菌株为流感嗜血杆菌 ATCC 49247。

**1.4.5 β 内酰胺酶检测试验** 采用头孢硝噻吩纸片法,按照说明书操作,纸片变红表示 β 内酰胺酶试验阳性,不变色为阴性。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS11.0 统计学软件进行处理。所有数据均采用 χ<sup>2</sup> 检验对各组数据进行统计学分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 呼吸道感染患者流感嗜血杆菌的分离情况** 5 682 份呼吸道感染老年患者的痰液及咽拭子标本中共分离出流感嗜血杆菌 119 株,检出率为 2.09%,痰液标本 116 株占 97.5%,咽拭子 3 株占 2.5%。119 株流感嗜血杆菌,其中住院患者分离出 114 株,占 95.8%,门诊患者分离出 5 株,占 4.2%。这与门