

· 论 著 ·

## 86 株库克菌的鉴定与抗菌药物敏感性试验

杨 锐<sup>1</sup>, 郭玉荣<sup>2</sup>, 魏晓红<sup>1</sup>, 孔玉洁<sup>1</sup>, 朱丽林<sup>2</sup>

(1. 张掖市甘州区人民医院检验科, 甘肃张掖 734000;

2. 张掖市民乐县人民医院检验科, 甘肃张掖 734500)

**摘要:**目的 对医疗环境中分离的库克菌进行鉴定与抗菌药物敏感性试验, 为临床经验治疗库克菌感染提供循证医学证据。方法 收集在医院感染卫生学监测中, 采集医务人员手、皮肤黏膜、空气、物体表面等样本中分离的 86 株库克菌, 应用 ATB Expression 半自动细菌鉴定药敏分析仪配套 ID32 Staph 鉴定试条和 Staph 5 药敏试条, 进行菌株鉴定和药敏试验。结果 86 株库克菌鉴定检出玫瑰库克菌 62 株、变异库克菌 16 株、克库克菌 8 株。库克菌对诺氟沙星(16.3%)和呋喃妥因(20.9%)敏感率较低, 对红霉素(69.3%)和庆大霉素(67.4%)敏感率接近 70.0%, 对青霉素等其他 12 种抗菌药物敏感度在 80.0% 以上, 甚至为 100.0%。结论 库克菌对大多数敏感, 临床医生和微生物检验人员应加强库克菌临床感染认识和诊治水平, 合理使用抗菌药物。

**关键词:** 库克氏菌; 鉴定; 药物敏感试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)09-1214-03

## 86 strains of Kocuria bacteria identification and antimicrobial susceptibility test

Yang Rui<sup>1</sup>, Guo Yurong<sup>2</sup>, Wei Xiaohong<sup>1</sup>, Kong Yujie<sup>1</sup>, Zhu Lilin<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Zhangye Municipal Ganzhou District People's Hospital of Gansu, Zhangye, Gansu 734000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Zhangye Municipal Minle County People's Hospital of Gansu, Zhangye, Gansu 734500, China)

**Abstract: Objective** To provide clinical experience in treatment of cook's fungus infection of evidence-based medical evidence, separation of medical environment of cook's bacteria identification and antimicrobial susceptibility test. **Methods** Collected in the hospital infection of hygiene monitoring, collection and medical staff hands, skin and mucous membrane, air and object surface samples from 86 strains of cook, application ATB Expression semi-automatic bacteria identification of susceptibility analyzer supporting article try ID32 Staph identification and drug susceptibility test Staph 5, strain identification and drug sensitive test. **Results** 86 strains bacteria identification cook 62 strains bacteria, mutation detection rose cook bacteria strains of 16, cook eight strains of bacteria. Cook bacterium of norfloxacin(16.3%), and with nitrofurantoin low because of the sensitive rate(20.9%), of erythromycin(69.3%) and gentamycin(67.4%), the sensitive rate at nearly 70.0%, sensitivity to penicillin and other 12 kinds of antimicrobial agents more than 80.0%, even 100.0%. **Conclusion** Cook for most still sensitive, clinicians and microorganism inspection personnel should strengthen the cook.

**Key words:** Kocuria; identification; drug sensitive test

库克菌是需氧生长的革兰阳性球菌, 广泛分布于自然界空气、水、土壤中, 一般被认为是无害的腐生菌, 寄生或污染人体皮肤、黏膜, 也可累积口咽部, 是重要的机会致病菌。近年来库克氏菌引发的临床感染数量和类型不断增加, 可引起呼吸道感染、泌尿、生殖系感染、皮肤软组织感染、消化道感染、血流感染等人体所有组织系统感染, 须引起临床医生和微生物检验人员的高度重视。研究者对常规医院感染卫生学监测中分离的 86 株库克氏菌进行菌株鉴定与抗菌药物敏感性试验, 现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 2013 年 1 月至 2014 年 6 月医院感染卫生学监测中采集医务人员手、皮肤黏膜、空气、物体表面等样本中分离的 86 株库克氏菌。

**1.2 仪器与试剂** 法国梅里埃 ATB Expression 半自动细菌鉴定及药敏分析仪。ID32 Staph 鉴定试条和配套试剂、ATB Staph 5 药敏试条、显色触酶试剂、血浆凝固酶试剂由法国生物

梅里埃公司提供。试验用革兰染色液、葡萄糖(OF)、乳糖、甘露糖、氧化酶、7.5% NaCl、硝酸盐还原、明胶水解、枸橼酸盐、七叶苷、甘油等生化反应管购自杭州天和微生物公司。哥伦比亚血琼脂平板, 营养琼脂平板购自英国 Oxoid 公司。

**1.3 菌株鉴定和药敏试验** 细菌分离培养鉴定参照《全国临床检验操作规程(第 3 版)》执行。库克氏菌的属间鉴定从菌落形态、性状、色素、生长速度等做初步判定, 再依据镜下形态、排列方式、有无鞭毛、有无荚膜等特性, 根据触酶、氧化发酵试验、氧化酶试验(改良法)、杆菌肽、红霉素和呋喃唑酮敏感性试验等试验生化反应做出鉴定<sup>[1]</sup>, 联合应用 ATB Expression 半自动微生物仪鉴定到种, 仪器提示的种间鉴别补充实验用生化反应管完成。采用法国梅里埃 ATB Staph 5 药敏试条, 用 ATB 比浊仪调节麦氏单位菌悬液, 用 ATB 电子加样枪精确的在每个实验杯中加入 135  $\mu$ L 菌悬液, 完成 86 株库克氏菌对 16 种抗菌药物敏感试验。依照厂商说明书推荐的方法认真操作。

**1.4 质量控制** 细菌鉴定药敏仪由专人负责保养、维护、校

准,保证仪器设备的正常运行。质控菌株金黄色葡萄球菌(ATCC29213),对照菌株藤黄微球菌(CMCC28001)购自杭州天和微生物公司。

## 2 结 果

2.1 鉴定结果 86 株库克氏菌鉴定检出玫瑰库克菌 62 株、

变异库克菌 16 株、克氏库克菌 8 株。

2.2 药敏结果 86 株库克氏菌除对诺氟沙星(16.3%)和呋喃妥因(20.9%)敏感率较低,对红霉素(69.3%)和庆大霉素(67.4%)敏感率接近 70.0%,对青霉素等其他 12 种抗菌药物敏感性在 80.0%以上,甚至 100.0%。见表 1。

表 1 86 株库克氏菌抗菌药物敏感性

抗菌药物	玫瑰色库克菌(n=62)	变异库克菌(n=16)	克氏库克菌(n=8)	库克菌总数(n=86)
青霉素	83.9	100.0	100.0	88.4
复方磺胺甲噁唑	96.8	100.0	100.0	97.7
庆大霉素	67.7	75.0	50.0	67.4
红霉素	71.0	75.0	50.0	69.8
克林霉素	83.9	75.0	75.0	81.4
四环素	100.0	100.0	100.0	100.0
米诺环素	100.0	100.0	100.0	100.0
万古霉素	100.0	100.0	100.0	100.0
替考拉宁	100.0	100.0	100.0	100.0
利福平	100.0	100.0	100.0	100.0
诺氟沙星	9.7	37.5	25.0	16.3
左氧氟沙星	100.0	100.0	100.0	100.0
夫西地酸	100.0	100.0	100.0	100.0
呋喃妥因	12.9	50.0	25.0	20.9
奎奴普汀/达福普汀	100.0	100.0	100.0	100.0
苯唑西林	83.9	62.5	100.0	81.4

## 3 讨 论

人类与外环境的接触是持续的、密切的,环境中存在着很多对人致病的微生物,尤其是在医院这个特殊的环境中,病原体种类繁多、来源广泛,很多细菌呈高度耐药性,患者又往往存在着一些易感因素。因此,病原体很容易侵入机体引起感染<sup>[2]</sup>。

库克菌以前被称作四联球菌、乳葡萄球菌及微球菌等。在医院环境分布广泛,是人体的皮肤及呼吸道黏膜表面的正常菌群。2010 年有研究报道<sup>[3]</sup>,1 株玫瑰色库克菌引发青壮年手拇指及鱼际间隙感染,该菌有溶血毒素,初代培养菌落周围出现透明溶血环,对青霉素、氨苄青霉素、红霉素、克林霉素、庆大霉素、左氧氟沙星、利福平、呋喃妥因、四环素、米诺环素、复方磺胺甲噁唑、万古霉素等多种抗菌药物敏感。检索中国知网,万方数据库,并复习文献发现库克氏菌可引起呼吸道感染、泌尿生殖系感染、皮肤软组织感染、消化道感染、血流感染等人体所有组织系统感染,其中血流感染报道居多。早在 1985 年李云珠等<sup>[4]</sup>就报道上海第二医科大学附属瑞金医院儿内科新生儿机会菌感染性败血症 38 例,其中检出四联球菌 12 株;2000 年张华彬等<sup>[5]</sup>报道烧伤四联球菌败血症 33 例报告;2006 年魏升云<sup>[6]</sup>报道新生儿玫瑰色微球菌感染 8 例,其中 6 例确诊为新生儿败血症。以往临床微生物试验室认为库克菌(四联球菌或微球菌),是自然环境及人体的非致病菌,血培养和伤口中分离的四联球菌常以“污染”菌对待,在临床上未引起重视。近年来库克氏菌除临床感染数量和类型不断增加外,对常用抗菌药物均有不同程度耐药,更有多重耐药现象<sup>[7]</sup>,已是临床重要的机会

致病菌,临床医生和微生物检验人员要高度重视,循证、合理使用抗菌药物,以减少耐药菌株的产生。目前,国内外尚没有针对库克氏菌的药敏方法和标准,国内也没有报道过有关库克氏菌对抗菌药物敏感性方面的内容。国内外自动化细菌鉴定及药敏分析系统一般提供革兰阳性球菌药敏和革兰阴性杆菌药敏两种试验板条,研究者考虑库克氏菌与葡萄球菌同属于微球菌科,生物学特性很相近,所以尝试应用法国梅里埃 ATB Expression 半自动细菌鉴定及药敏分析仪配套 ATB Staph 5 药敏试条,对库克氏菌进行药敏试验,结果判断准确,重复性好。显示库克氏菌对大多数抗菌药物敏感,除对诺氟沙星(16.3%)和呋喃妥因(20.9%)敏感率低,对红霉素(69.3%)和庆大霉素(67.4%)敏感率在接近 70.0%,对青霉素等其他 12 种抗菌药物敏感性在 80.0%以上,甚至 100.0%。为临床经验治疗库克氏菌感染提供循证医学证据。

多年以来,库克氏菌(微球菌)一直被认为是机会致病菌,当机体患某些疾病(糖尿病、肝硬化、肿瘤等)导致防御机能减退时,或有侵入性的诊疗措施(透析、穿刺、放置导管等),以及新生儿、婴幼儿、老年人等低免疫人群才可能发生感染。2013 年李世荣等<sup>[8]</sup>报道 1 例玫瑰色库克菌导致正常免疫力成人发生败血症。因此,加强医院临床微生物学实验室学科的建设,积极开展病原学检验,深入研究和监测库克氏菌感染特征,对抗菌药物的敏感性特点,协助临床根据药敏试验结果合理使用抗菌药物,从而有效地预防、控制和治疗库克氏菌感染,提高诊疗效果。(下转第 1218 页)

胞中的 SS-A 抗原在细胞表面表达,因此光敏感性皮损在抗 SS-A 抗体阳性的 SLE 患者较常见。

抗 AnuA 抗体由双链 DNA 分子环绕组蛋白组成,在细胞凋亡过程中从细胞核内裂解释放的染色质成分。使用传统的生物制品检测抗 AnuA 抗体时可与硬皮病患者血清发生反应,因此对 SLE 诊断特异度较差。欧蒙印迹法中使用改良的核小体制品,仅含核小体单体,不含其他染色质 DNA 成分,该试剂检测抗核小体抗体对 SLE 的特异度很高。研究报道抗 AnuA 抗体对 SLE 的诊断敏感度为 56.00%,特异度为 97.00%,对 SLE 诊断的可信度为 90.00%<sup>[14]</sup>,且与患者疾病活动性、肾炎和精神因素等紧密相关<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,SLE 患者中抗核小体抗体阳性率最高可达 68.75%,显著高于健康对照组及疾病对照组( $P < 0.05$ ),提示该抗体对 SLE 的诊断具有重要的意义,已成为 SLE 的标志性抗体<sup>[16]</sup>。

多种风湿性疾病中可出现,抗组蛋白抗体包括 H1、H2A、H2B、H3、H4 等亚型,在药物诱导的红斑狼疮中也常见此抗体<sup>[17]</sup>。本研究中尽管 SLE 组阳性率(52.50%)显著高于疾病对照组及健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但疾病对照组仍然有 15.00%的阳性率,特异度相对较差。

抗 JO-1 抗体和多发性肌炎相关,抗 CENP-B 抗体与局限型进行性系统硬化症相关,抗 Scl-70 抗体与系统性硬化症相关,高滴度的抗 M2 抗体与原发胆胆汁性肝硬化相关,抗 PM-Scl 抗体与重叠综合征患者相关,本研究中以上抗体的阳性率在 SLE 组及疾病对照组中均很低。抗 RO-52 抗体在 SLE 组中阳性率为 47.50%,而疾病对照组阳性率可为 38.75%,健康对照组也可检出阳性,该抗体疾病特异度较差。抗 PCNA 抗体虽然对 SLE 具有很高的特异度,但其阳性率很低,本研究中仅为 2.50%。

本研究 80 例 SLE 患者中,IIF-ANA 阳性率为 96.25%;IBT-ANAs 阳性率为 97.50%。80 例 SLE 患者中两种检测方法共同阳性的有 76 例,有 1 例 IIF 法阳性而 IBT 法为阴性,可能由于 ANA 靶抗原分布整个细胞,而 ANAs 检测的特异性抗体数量十分有限,无法涵盖所有抗体,所以会导致 IIF 检测阳性而 IBT 检测阴性;有 2 例 IBT 法阳性而 IIF 法为阴性,可能由于 IBT 包被抗原经亲和层析纯化后包被在膜条上,敏感度相对较高,能够检测较低含量的抗体。

综上所述,IIF 和 IBT 作为目前主要的自身抗体检测方法,两者检测结果比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。IIF-ANA 筛查具有涵盖 ANA 抗体面广的特点,而 IBT-ANAs 检测具有较高的敏感度及较好的疾病特异度,两者联合检测可相互补充,提高检出率。对于检测结果不符时,则按照实际检测

结果报告,提示临床医生做进一步的检查,避免疾病的漏诊及误诊。

参考文献

- [1] Hochberb MC. Updating the american college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(1): 1725.
- [2] 梅长林. 中国内科年鉴[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2004: 573-653.
- [3] 罗斌, 曾永龙, 黄玮, 等. 联合检测抗核抗体、抗 ENA 谱、抗 dsDNA 抗体对 SLE 的临床价值分析[J]. 右江医学, 2009, 3(3): 272-273.
- [4] 程玉萍, 李丽. 检测抗核抗体谱在系统性红斑狼疮诊治中的意义[J]. 解放军医药杂志, 2013, 20(1): 63-66.
- [5] 蒋素莹, 卢永芳, 谢丹萍, 等. 抗核抗体谱检测在诊断系统性红斑狼疮中的意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 30(3): 161-163.
- [6] 姚曦, 李向培, 倪进东, 等. SLE 患者临床表现、自身抗体的相关性分析及其性别、年龄特征调查[J]. 安徽医科大学学报, 2008, 43(1): 75-78.
- [7] 徐晓莉, 张逸. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮的临床诊断应用[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 19(19): 8989-8990.
- [8] Sato S, Hasegawa M, Ihn H, et al. Clinical significance of autoantibody in serum from patients with anti U1RNP antibody [J]. Arch Dermatol Res, 2000, 292(2/3): 55-59.
- [9] 程玉萍, 李丽. 检测抗核抗体谱在系统性红斑狼疮诊治中的意义[J]. 解放军医药杂志, 2013, 22(1): 63-66.
- [10] 张煜, 张小萍, 张奉春, 等. 抗核糖体 P 抗体的临床分析[J]. 中华风湿病学杂志, 2000, 34(4): 242-243.
- [11] 蒋素莹, 卢永芳, 谢丹萍, 等. 抗核抗体谱检测在诊断系统性红斑狼疮中的意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 32(3): 161-163.
- [12] 王霞平, 欧阳淑兰. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮诊断价值的探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 20(5): 1299.
- [13] 吴建农, 陈顺乐. 系统性红斑狼疮抗核抗体及其变化的临床意义[J]. 中国热带医学, 2005, 9(9): 1893-1894.
- [14] 丁福顺. 三种自身抗体联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值[J]. 中国现代医生, 2013, 51(5): 88-89.
- [15] 李峥, 毕胜, 杨曦, 等. 抗核抗体谱检测对系统性红斑狼疮的诊断价值[J]. 云南医药, 2005, 26(5): 6-8.
- [16] 马悦, 邓春艳, 徐国莉, 等. 抗核小体抗体在系统性红斑狼疮诊治中的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(1): 135-136.
- [17] 袁伟, 崔刘福. 系统性红斑狼疮自身抗体的研究进展[J]. 华北煤炭医学院学报, 2008, 10(3): 325-327.

(收稿日期: 2016-01-11)

(上接第 1215 页)

参考文献

- [1] 陈东科, 孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 185-194.
- [2] 陈萍, 陈伟, 刘丁. 医院感染学教程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 38.
- [3] 杨锐. 玫瑰色库克菌致手深部感染 1 例[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(3): 174.
- [4] 李云珠, 陈舜年, 俞善昌. 新生儿机会菌感染性败血症(附 38 例临床报告)[J]. 临床儿科杂志, 1985, 9(5): 284-285.

- [5] 张华彬, 叶尔明, 王典齐, 等. 烧伤四联球菌败血症 33 例报告[J]. 广东医学, 2000, 21(9): 773-774.
- [6] 魏升云. 新生儿玫瑰色微球菌感染 8 例临床分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2006, 14(5): 529-530.
- [7] 赵德军, 张碧霞, 曹雁, 等. 血中检出多药耐药玫瑰微球菌 1 例[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(12): 1585.
- [8] 李世荣, 王红, 任爱民, 等. 玫瑰色库克菌致正常免疫力成人败血症 1 例[J]. 中国医刊, 2013, 48(2): 109-110.

(收稿日期: 2015-12-22)