

· 论 著 ·

# 少见诺卡菌的鉴定及其药物敏感性分析

冯 雪, 魏 华, 马依努尔·阿布都热合曼, 徐菲莉<sup>△</sup>

(新疆医科大学附属中医医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830000)

**摘要:**目的 探讨少见诺卡菌的鉴定方法及药物敏感性, 提高对诺卡菌的认识。方法 采用菌落形态、显微镜检查和质谱分析仪的方法鉴定菌株, 采用微量肉汤稀释法检测药物敏感性。结果 对该院近 2 年分离到的 3 例少见诺卡菌进行鉴定和药物敏感性试验, 分别为皮疽诺卡菌、乔治教堂诺卡菌和豚鼠耳炎诺卡菌, 其中皮疽诺卡菌对亚胺培南、莫西沙星、复方磺胺甲氧嘧啶、环丙沙星、头孢曲松、阿莫西林/克拉维酸、米诺环素、利奈唑胺、阿米卡星 9 种抗菌药物均敏感; 乔治教堂诺卡菌对环丙沙星和阿莫西林/克拉维酸耐药, 对其余 7 种药物敏感; 豚鼠耳炎诺卡菌对亚胺培南、头孢曲松和阿莫西林/克拉维酸耐药, 对其余 6 种药物敏感。结论 质谱仪有助于提高诺卡菌菌种的鉴定水平。诺卡菌属的抗菌药物敏感性因菌种不同而异, 临床医生应结合药物敏感性试验结果指导临床治疗。

**关键词:**诺卡菌; 鉴定; 药物敏感性分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.018

中图法分类号: R372

文章编号: 1673-4130(2020)04-0454-04

文献标识码: A

## Identification of rare Nocardia and analysis of its drug sensitivity

FENG Xue, WEI Hua, Mayinuer · Abudureheman, XU Feili<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

**Abstract: Objective** To explore the identification method and drug sensitivity of Nocardia and improve the recognition of Nocardia. **Methods** Bacterial strains were identified by colony morphology, microscopic examination and mass spectrometry, and the drug susceptibility tests were determined by broth microdilution method. **Results** Three rare Nocardia strains isolated from our hospital in the past two years were defined as Nocardia farcinica, Nocardia cyriacigeorgica, Nocardia otitidiscaviarum and the drug susceptibility tests showed that the Nocardia farcinica was sensitive to nine antibiotics, including imipenem, moxifloxacin, compound sulfamethoxazole, ciprofloxacin, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanic acid, minocycline, linezolid and amikacin; the Nocardia cyriacigeorgica was resistant to ciprofloxacin and amoxicillin/clavulanic acid, and sensitive to the other seven drugs above; The Nocardia otitidiscaviarum was resistant to imipenem, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanic acid, and sensitive to the other six drugs above. **Conclusion** Mass spectrometer is helpful to improve the identification level of Nocardia. The sensitivity of Nocardia to antibiotics varies with species. Clinicians should guide clinical treatment with the results of drug sensitivity test.

**Key words:** Nocardia; identification; drug sensitivity analysis

诺卡菌属为革兰阳性需氧放线菌, 感染通常由创伤相关细菌侵入或通过吸入方式导致<sup>[1]</sup>。利用表型和分子生物学方法, 诺卡菌属已被鉴定出 89 个种<sup>[2]</sup>。临床感染患者标本中分离到的诺卡菌以星形诺卡菌和巴西诺卡菌最常见, 而皮疽诺卡菌、乔治教堂诺卡菌和豚鼠耳炎诺卡菌报道中较少见。本文对本院近 2

年收治患者中 3 例少见诺卡菌的临床鉴定和药物敏感性试验进行分析, 以提高对诺卡菌感染的认识, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取本院于 2017 年 3 月至 2019 年 3 月确诊诺卡菌病的 3 例患者, 具体资料如下。

作者简介: 冯雪, 女, 主管技师, 主要从事微生物检验方面的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xfl6284@163.com。

本文引用格式: 冯雪, 魏华, 马依努尔·阿布都热合曼, 等. 少见诺卡菌的鉴定及其药物敏感性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(4): 454-

病例 1, 男性, 59 岁, 以“脑脓肿术后”于 2017 年 12 月 29 日收住本院。入院诊断: 小脑脓肿术后; 肺部感染; 类风湿性关节炎; 2 型糖尿病; 营养不良。脑 CT 提示右侧小脑半球多发感染灶; 肺 CT 提示双肺多发感染并胸腔少量积液, 双侧后壁胸膜增厚。临床给予伏立康唑片, 头孢哌酮钠/他唑巴坦抗感染治疗, 治疗效果不佳, 1 月 14 日送脑部感染灶脓液细菌培养。

病例 2, 男性, 52 岁, 以“咳嗽、咳痰反复半年余, 加重伴咯血 3 d”于 2019 年 1 月 7 日收住本院。入院诊断: 咯血原因待查。肺部 CT 提示双肺多发支扩并感染。临床给予哌拉西林/他唑巴坦联合乳酸环丙沙星氯化钠抗感染治疗。1 月 9 日行支气管镜检查送肺泡灌洗液细菌培养。

病例 3, 男性, 77 岁, 以“反复呛咳伴进行性吞咽困难、食欲下降 2 月余”于 2019 年 2 月 7 日收住本院。入院诊断为“肺恶性肿瘤、鳞状细胞癌、声门下恶性肿瘤、肺栓塞(L7、R4、L8、L9)、支气管扩张伴感染、双侧胸腔积液、声门下喉恶性肿瘤、2 型糖尿病、低钾血症、支气管哮喘(非危重)”。患者 10 余年前患有“肺结核”。胸片提示两肺多发感染。患者入院当晚出现昏迷转入重症监护室, 使用美罗培南针抗感染治疗。2 月 8 日行纤维支气管镜取痰送痰细菌培养。

**1.2 仪器与试剂** VITEK MS 微生物鉴定仪购自法国梅里埃公司; 试验所用哥伦比亚血平板、中国蓝平板、巧克力平板均购自中国广州迪景公司; 试剂购自中国温州康泰生物科技有限公司, 均在有效期内。质控菌株包括大肠埃希菌 ATCC 8739、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213、大肠埃希菌 ATCC 35218。

**1.3 方法**

**1.3.1 细菌鉴定** 参照《临床检验操作规程》第 4 版中的细菌鉴定方法<sup>[2]</sup>, 取呼吸道标本接种哥伦比亚血平板、中国蓝平板和巧克力平板, 且肺泡灌洗液采用定量接种; 脓液标本接种哥伦比亚血平板和中国蓝平板, 置 5% CO<sub>2</sub>、35 °C 培养 24 h 后观察菌落。通过菌落形态、革兰染色和改良抗酸染色初步鉴定到诺卡菌属, 后采用 VITEK MS 微生物鉴定仪鉴定(可信度 60.0%~99.9%)菌种。

**1.3.2 药物敏感性试验** 根据美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准, 诺卡菌应采用微量肉汤稀释法检

测药物敏感性, 并选用 CLSI 推荐用于诺卡菌的药物, 试验药物包括: 亚胺培南、莫西沙星、复方磺胺甲基异噁唑、环丙沙星、头孢曲松、阿莫西林/克拉维酸、米诺环素、利奈唑胺、阿米卡星 9 种抗菌药物。药物敏感性试验接种物的制备参照 CLSI M24 的推荐方法: 将培养 5 d 的菌落用无菌棉签刮取至装有玻璃珠的培养管中, 震荡培养管将菌块打碎, 取上清菌悬液配制成 0.5 麦氏水平, 调节菌液水平为 5 × 10<sup>5</sup> cfu/mL。将配制好的菌悬液加入试验药物, 放置 35 °C 孵育 3 d, 每日观察结果直至第 5 日, 判读最低抑菌浓度(MIC)值。

**2 结果**

**2.1 细菌鉴定结果** 病例 1: 脓液培养 24 h 血平板上长出白色、细小、干燥菌落, 48 h 变成颗粒状, 延长培养时间, 白色干燥菌落变得湿润, 5~7 d 后变成橙黄色。革兰染色菌落易乳化, 镜下可见革兰阳性细菌呈球状、短杆状, 长杆状细菌少见, 大小不一、有分支、着色不均匀。改良抗酸染色弱阳性, 初步鉴定为诺卡菌属, 用 VITEK MS 鉴定为皮疽诺卡菌, 仪器鉴定率为 99.9%。2018 年 1 月 18 日向临床回报鉴定结果。病例 2: 肺泡灌洗液培养 24 h 血平板上未见明显生长, 48 h 可见白色、干燥、颗粒状菌落, 部分菌落表面有皱褶, 3~7 日后干燥、皱褶菌落堆叠, 呈黄色。革兰染色菌落不易乳化, 镜下可见革兰阳性细菌呈细长丝状、大小不一、有分支, 着色不均匀。改良抗酸染色弱阳性, 初步鉴定为诺卡菌属, 用 VITEK MS 鉴定为乔治教堂诺卡菌, 仪器鉴定率为 99.9%。2019 年 1 月 14 日, 2 份肺泡灌洗液培养结果一致, 且菌量大于 10<sup>5</sup> cfu/mL。临床补充诊断: 诺卡氏菌肺炎。病例 3: 2019 年 2 月 9 日痰涂片回报, 查见革兰阳性杆菌形似诺卡菌。痰细菌培养 24 h 血平板上未见明显生长, 48 h 可见白色、干燥、粗颗粒状菌落, 3~7 d 后菌落变大、干燥、皱褶卷曲、由白色变为黄色。革兰染色菌落较难乳化(可用压片的方式), 镜下可见革兰阳性细菌呈细长、分支状菌落、大小不一、形态不规则。改良抗酸染色弱阳性, 初步鉴定为诺卡菌属, 用 VITEK MS 鉴定为豚鼠耳炎诺卡菌, 仪器鉴定率为 99.9%。2 月 12 日痰培养结果回报, 由于患者病情较重家属放弃治疗, 于 2019 年 2 月 14 日宣布死亡。

表 1 3 种诺卡菌对 9 种抗菌药物的 MIC 值(μg/mL)

菌种	亚胺培南	莫西沙星	复方磺胺甲氧基异噁唑	环丙沙星	头孢曲松	阿莫西林/克拉维酸	米诺环素	利奈唑胺	阿米卡星
皮疽诺卡菌	0.25	0.125	0.05	0.125	2	2	0.125	0.5	2
乔治教堂诺卡菌	0.50	0.250	0.05	4.000	1	2	0.250	0.5	2
豚鼠耳炎诺卡菌	32.00	0.500	0.05	0.250	64	2	0.125	0.5	4

**2.2 药物敏感性试验结果** 判断标准参照 CLSI 诺卡菌微量肉汤稀释法药物敏感性试验解释标准,见表 1。

**2.3 临床治疗效果** 病例 1:皮疽诺卡菌对检测的 9 种药物均敏感。临床根据药物敏感性结果改用复方磺胺甲噁唑片和亚胺培南西司他丁钠抗感染治疗,经过治疗患者病情好转出院。病例 2:乔治教堂诺卡菌对环丙沙星和阿莫西林/克拉维酸耐药,其余 7 种药物敏感。临床改用复方磺胺甲噁唑片抗感染治疗,患者经治疗明显好转出院。病例 3:豚鼠耳炎诺卡菌对亚胺培南、头孢曲松和阿莫西林/克拉维酸耐药,其余 6 种药物均敏感。由于患者病情较重,未得到有效治疗。

### 3 讨论

诺卡菌隶属于放线菌纲、放线菌目、诺卡菌科,广泛分布于自然界中。临床上多由外伤进入皮肤或经呼吸道吸入引起局部皮肤或肺部感染<sup>[3]</sup>,主要发生于伴有基础疾病以及免疫功能低下者、免疫功能正常者也可患病<sup>[4]</sup>。诺卡菌属为临床不常见病原菌,感染症状缺乏特异性,实验室的检测技术能力有限,且该菌生长缓慢,培养阳性率低,极易造成漏诊、误诊<sup>[5]</sup>。在中国,最常见的诺卡菌是星形诺卡菌和巴西诺卡菌<sup>[6-7]</sup>。本报道中发现的这 3 株诺卡菌为临床少见的诺卡菌。

皮疽诺卡菌多引起亚急性或慢性化脓性炎症,尤其是细胞免疫低下患者,是诺卡菌中较为少见但最容易引起播散性感染的亚种<sup>[8]</sup>。据 MOYLETT 等<sup>[9]</sup>报道,其随访的 30 多例患者中有 1/3 涉及中枢神经系统,病例 1 中的患者与其报道相似。该患者类风湿性关节炎多年,长期服用糖皮质激素,合并糖尿病、营养不良,属于免疫低下人群,此次脑部多发脓肿,肺部感染虽未明确致病菌,但在脑部脓液中培养出了皮疽诺卡菌,为临床诊断提供了明确的病原菌。该菌的药物敏感性试验对亚胺培南、莫西沙星、复方磺胺甲基异噁唑、环丙沙星、头孢曲松、阿莫西林/克拉维酸、米诺环素、利奈唑胺、阿米卡星 9 种抗菌药物均敏感,与 CLSI M24<sup>[10]</sup>中报告的基本一致。临床采用手术治疗,配合复方磺胺甲噁唑和亚胺培南西司他丁钠联合治疗,患者病情好转出院。

乔治教堂诺卡菌广泛分布于土壤中,临床报道较少,该菌引起的肺诺卡菌病临床表现多样,缺乏特异性<sup>[11]</sup>。病例 2 中的患者咳嗽、咳痰半年余,肺 CT 示肺部多发感染灶。临床医生根据患者的病情,通过纤维支气管镜检查,送支气管肺泡灌洗液细菌培养,结果两份支气管肺泡灌洗液均培养出大于  $10^5$  cfu/mL 的乔治教堂诺卡菌。该菌的药物敏感性试验对环丙沙星和阿莫西林/克拉维酸耐药,其余 7 种药物敏感。

临床根据微生物报告调整用药,患者病情明显好转,整个诊断过程为 7 d。对于肺诺卡菌病而言,细菌培养和鉴定是诊断肺诺卡菌病的金标准<sup>[11]</sup>。

豚鼠耳炎诺卡菌引起人类感染的报道相对较少,可能与其致病力低、土壤中分布不广泛或病例漏报有关<sup>[12]</sup>。该菌引起的诺卡菌病的发生和传播途径与机体的抵抗力有密切关系<sup>[13]</sup>。病例 3 中的患者患有肿瘤,且合并多种基础疾病,属于机体免疫严重低下患者,肺部感染较重。本实验室在痰涂片中发现疑似诺卡菌并电话回报,由于患者病情较重,家属放弃治疗,最终未得到有效治疗。诺卡菌生长缓慢,呼吸道标本中易受到正常菌群的干扰,极易造成漏检。因此,实验室对于临床疑似诺卡菌的标本,应重视标本的直接涂片,及时发现可能存在的不易生长的细菌,延长培养时间。该菌对亚胺培南、头孢曲松和阿莫西林/克拉维酸耐药,其余 6 种药物敏感,与 CLSI M24<sup>[10]</sup>中报告的一致。

诺卡菌感染目前缺乏特异的诊断指标,对临床可疑诺卡菌病的患者应多次、多部位采集标本进行病原学检查,必要时进行有创检查采集标本。临床医生或检验科人员怀疑诺卡菌感染时,应互相沟通,互相协助。诺卡菌的菌落形态和革兰染色没有明显的差异,仅凭细菌培养及生化鉴定很难鉴定到种,质谱分析仪有助于提高诺卡菌的鉴定,但目前 16S rRNA 测序仍是鉴定诺卡菌最可靠的方法<sup>[14]</sup>。诺卡菌属的抗菌药物敏感性因种类不同而异<sup>[15]</sup>,本报道中除 1 例患者家属放弃治疗外,其余 2 例医生根据药物敏感性试验结果,临床治疗有效。临床医生应根据患者的临床症状体征、实验室检查、影像学检查、结合有创检查,如纤维支气管镜等,早期做出诊断并治疗,对患者的疗程和预后至关重要。

### 4 结论

质谱仪有助于提高诺卡菌菌种的鉴定水平。诺卡菌属的抗菌药物敏感性因菌种不同而异,临床医生应结合药物敏感性试验结果指导临床治疗。

### 参考文献

- [1] 王辉,马筱玲等译.临床微生物学手册[M].11版.北京:中华医学电子音像出版社,2017:642.
- [2] 尚红,王毓三,申子瑜.临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2015:679.
- [3] 李云,刘立翠,冯伟,等.腹水穿刺液皮疽诺卡菌的鉴定[J].齐鲁医学杂志,2016,31(4):493-496.
- [4] 赵莲蓬,农光民.肺奴卡菌病 2 例并文献复习[J].中国现代药物应用,2018,12(24):129-131.
- [5] 夏玉朝,杨萱,班立芳,等.10 例奴卡菌感(下转第 461 页)

- [2] 孙泽刚,冯泽瑞,许迎春,等. 心肌缺血再灌注致急性肺损伤的机制与二丁酰环磷腺苷钙的保护效应[J]. 中国循证心血管医学杂志,2016,8(7):846-849.
- [3] 潘庆丽. 二丁酰环磷腺苷钙联合尼可地尔治疗急性 ST 段抬高型心肌梗死的临床研究[J]. 现代药物与临床,2018,33(7):1579-1582.
- [4] 刘玉峰,耿召华. 心肌营养素 1 与慢性心力衰竭的研究新进展[J]. 心血管病学进展,2013,34(4):516-519.
- [5] 陈祥杰,吴同利,张亚琴,等. 缬沙坦干预对慢性心力衰竭患者循环血中脑钠肽、 $\beta$ -内啡肽、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白介素-10 水平的影响[J]. 疑难病杂志,2012,11(5):337-340.
- [6] 付长庚,高铸焯,王培利,等. 冠心病血瘀证诊断标准研究[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(9):1285-1286.
- [7] 黄国英. 心力衰竭的诊断和处理[J]. 中国循证儿科杂志,2008,3(7):56-59.
- [8] 胡勇钧,彭定凤,唐哨勇,等. 环磷腺苷葡胺联合培哌普利治疗慢性心力衰竭疗效分析[J]. 中华急诊医学杂志,2014,23(4):439-442.
- [9] 王岩飞,次旺. 高原地区住院病人慢性心力衰竭病因分析[J]. 中国医师杂志,2011,13(4):515-516.
- [10] 姚峰,刘波,刘敏,等. 尼可地尔治疗慢性缺血性心脏病患者心力衰竭的临床疗效观察[J]. 中国临床医生杂志,2016,44(1):30-32.
- [11] 黄伟胜,罗森华,罗伟祥. 尼可地尔对慢性缺血性心脏病合并心力衰竭患者的临床疗效及安全性研究[J]. 实用医学杂志,2016,32(15):2544-2547.
- [12] 韩宇东,张旭光,胡中耀. 二丁酰环磷腺苷钙联合丹参川芎嗪注射液治疗慢性心力衰竭的临床观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(15):1859-1861.
- [13] 李文秀,李永东. 二丁酰环磷腺苷钙在冠心病中的作用[J]. 医学综述,2017,23(5):985-988.
- [14] 任明芬,殷国田,王朝清,等. 老年急性冠状动脉综合征合并心力衰竭患者心肌营养素-1 的变化[J]. 中国老年学杂志,2015,35(18):5135-5137.
- [15] 李晓恒,李燕平,王亚宏. 慢性心力衰竭患者血浆  $\beta$ -内啡肽及神经肽 Y 水平与心功能的关系研究[J]. 陕西医学杂志,2012,41(12):1591-1593.
- [16] 董政. 二丁酰环磷腺苷钙治疗扩张型心肌病心力衰竭的临床观察[J]. 北方药学,2016(10):101.
- [17] 李翔. 二丁酰环磷腺苷钙对 75 例冠心病心力衰竭患者左心室泵血功能的影响[J]. 上海医药,2013(17):22-24.
- [18] 张冬梅. 二丁酰环磷腺苷钙联合左卡尼丁辅助治疗心力衰竭的临床观察[J]. 中国基层医药,2019,26(5):564-567.

(收稿日期:2019-06-12 修回日期:2019-10-20)

(上接第 456 页)

- 染病例的临床特点及治疗[J]. 中国感染控制杂志,2017,16(5):453-457.
- [6] 宋秀杰,路聪哲,顾珏,等. 84 例肺奴卡菌病文献回顾性分析 1979-2011[J]. 临床肺科杂志,2013,18(12):2280-2282.
- [7] 谢祎,候雪新,徐帅,等. 53 例诺卡菌感染病例的临床特征分析[J]. 疾病监测,2015,30(1):14-18.
- [8] 高源,李娟,牟江,等. 尘肺合并皮疽诺卡菌肺部感染 1 例[J]. 中国感染与化疗杂志,2018,18(6):655-657.
- [9] MOYLETT E H, PACHECO S E, BROWN-ELLIOTT B A, et al. clinical experience with linezolid for the treatment of nocardia infection[J]. Clin Infect Dis, 2003, 36(3):313-318.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes. Approved standard, second edition; M24-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.
- [11] 候伟伟,江涟,李冬. 乔治教堂诺卡菌感染肺诺卡菌病 1 例并文献复习[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(21):2717-2720.
- [12] 徐静,解宝君,蔡庆岭. 豚鼠耳炎诺卡菌引起儿童颌下皮肤感染 1 例[J]. 临床检验杂志,2018,36(5):399-400.
- [13] 张薇,彭国钧,刘佳,等. 罕见豚鼠耳炎奴卡菌的鉴定及其药物敏感性分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(10):1320-1325.
- [14] LIU C, FENG M, ZHU J, et al. Severe pneumonia due to Nocardia otitidiscaviarum identified by mass spectroscopy in a cotton farmer: a case report and literature review[J]. Medicine, 2017, 96(13):6526.
- [15] HIRAYAMA T, TAKAZONO T, HORAI Y, et al. Pulmonary nocardiosis caused by Nocardia concava with a literature review[J]. Intern Med, 2016, 55(9):1213-1217.

(收稿日期:2019-05-09 修回日期:2019-09-22)