

诺卡菌感染的菌种和药敏试验回顾性分析*

周佳¹,金博^{1#},黄磊¹,孙立颖¹,肖楠^{2△}

(1. 北京大学第一医院检验科 100034; 2. 北京清华长庚医院检验科 102218)

[摘要] **目的** 回顾性研究北京大学第一医院 2007—2017 年分离的诺卡菌的感染途径、菌种分布和药敏情况。**方法** 纳入北京大学第一医院从 2007 年 1 月至 2017 年 7 月住院患者标本分离得到的 10 株诺卡菌,使用高分辨飞行时间质谱 MALDI-TOF 进行菌种鉴定,进行 16s RNA 和 rpoB 测序。用 etest 试纸法进行药敏试验。**结果** 10 株诺卡菌,分别是 4 株盖尔森基兴诺卡,3 株脓肿诺卡,2 株巴西诺卡和 1 株皮疽诺卡。其中,4 株分离自痰液,2 株分离自肺泡灌洗液,肺脓肿脓液、皮肤疖肿、关节腔液和腹腔引流液各有 1 株。10 株诺卡菌的药物敏感度最高的是利奈唑胺、复方磺胺甲噁唑和阿米卡星,均在 100%;庆大霉素和头孢曲松可以达到 90%,亚胺培南只有 40%;最低的是环丙沙星(0%)和克林霉素(10%)。**结论** 分离的诺卡菌以盖尔森基兴诺卡和脓肿诺卡为主,肺部感染是主要感染方式;最敏感的药物为复方磺胺甲噁唑、阿米卡星和利奈唑胺。

[关键词] 微生物敏感性试验;诺卡菌;种属鉴定;药敏特征**[中图分类号]** R446.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)19-2545-04

Retrospective analysis of bacterial strains and drug susceptibility test in nocardia infection*

ZHOU Jia¹, JIN Bo^{1#}, HUANG Lei¹, SUN Liying¹, XIAO Nan^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, Beijing 102218, China)

[Abstract] **Objective** To retrospectively study the infection route, bacterial strain distribution and drug susceptibility of isolated nocardia in the First Hospital of Peking University. **Methods** Ten strains of nocardia isolated from the inpatients in the First Hospital of Peking University from Jan. to Jul. 2017 were included in this study. The species was identified by using the high resolution matrix-associated laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) and the sequencing of 16sRNA and rpoB was performed. The drug susceptibility test was conducted by using etest test paper. **Results** Ten strains of nocardia including 4 strains of *Nocardia cyriacigeorgica*, 3 strains of *Nocardia abscessus*, 2 strains of *Nocardia brasiliensis* and 1 strain of *Nocardia farcinica*. Among them, 4 strains were isolated from the sputum, 2 strains were isolated from bronchoalveolar lavage fluid, and other 4 strains were isolated from the fester of lung abscess, skin furuncle, articular cavity fluid and peritoneal drainage respectively. The highest drug sensitivities in 10 strains of nocardia were linezolid, trimethoprim sulfamethoxazole and amikacin, all were 100%; gentamycin and ceftriaxone could reach to 90%, imipenem was only 40%, the lowest was ciprofloxacin(0%) and clindamycin (10%). **Conclusion** The isolated nocardia are mainly *Nocardia cyriacigeorgica* and *Nocardia abscessus*. The most sensitive drugs are trimethoprim sulfamethoxazole, amikacin and linezolid.

[Key words] microbial sensitivity tests; nocardia; species identification; drug susceptibility characteristic

诺卡菌是一类具备弱抗酸阳性特征的分枝状革兰阳性菌,可以导致免疫抑制患者的各种机会感染。其多数情况下是在土壤、腐败的植物和新鲜水源中发现。诺卡菌和罗氏菌都属于需氧放线菌亚目,诺卡菌科亚目还包括分枝杆菌、棒杆菌、戈登菌和冢村菌属^[1]。随着分子生物学技术的进步,诺卡菌的分型在近年来有了很大的变革^[2]。在如今各种慢性病和免

疫抑制情况日渐增多,诺卡菌感染率逐渐上升的背景下^[3],本研究用新的技术方法回顾性研究北京大学第一医院 2007—2017 年分离的诺卡菌的感染途径、菌种分布和药敏情况,对这一罕见疾病的特点做归纳和总结。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究纳入北京大学第一医院从

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81502391)。 作者简介:周佳(1977—),主管技师,本科,主要从事临床微生物检查及细菌耐药机制的研究; # 共同第一作者:金博(1985—),助理研究员,博士,主要从事分子生物学研究。 △ 通信作者, E-mail: xna01053@btch.edu.cn。

2007 年 1 月至 2017 年 7 月自住院患者标本分离得到的共计 10 株诺卡菌,并记录了患者的年龄性别和标本来源。标本接种于血平皿(OXOID,英国),在 35 ℃ 条件下培养 72 h,取特征菌落分离;菌种保存于一 70 ℃,甘油菌悬液法保存菌种。复苏菌种于血平皿接种 35 ℃ 培养 48 h 后取特征菌落分离。

1.2 方法 (1)种属鉴定:按厂商推荐方法制备细菌样本悬液,使用高分辨飞行时间质谱 MALDI-TOF (IVD DALDI Biotyper 2.3, Bruker, 德国)进行菌种鉴定。并进行弱抗酸染色,弱抗酸染液购自贝索(中国)。同时送菌悬液进行 16srRNA 和 rpoB 测序,以便最终确定细菌的种属。本研究采用的 16S rRNA (1 090 bp)和 rpoB(352 bp)测序方法是依照 Carrasco 的文献提供的引物和方法进行,16S rRNA 测序的正向引物和反向引物分别是 5'-GCT TAA CAC ATG CAA GTC G-3' 和 5'-GAA TTC CAG TCT CCC CTG-3', rpoB 测序的正向引物和反向引物分别是 5'-CGA CCA CTT CGG CAA CCG-3' 和 5'-TCG ATC GGG CAC ATC CGG-3' [4]。(2)药敏测定:对所有诺卡菌进行药敏试验,药敏方法为 etest 试纸法(安图生物,中国)。药敏折点均参考文献[5]。

2 结 果

2.1 诺卡菌种和感染部位分布 本研究共纳入 10

株诺卡菌,分别是 4 株盖尔森基兴诺卡,3 株脓肿诺卡,2 株巴西诺卡和 1 株皮疽诺卡。其中,4 株分离自痰液,2 株分离自肺泡灌洗液,肺脓肿脓液、皮肤疖肿、关节腔液和腹腔引流液各有 1 株。呼吸道来源的标本占 70%。

2.2 患者特点 患者年龄 18~89 岁,其中女 3 例,男 7 例。其中有 6 例患有糖尿病(Ⅱ型糖尿病和类固醇性糖尿病),4 例患自身免疫性疾病(天疱疮、类风湿关节炎、白癜风、红斑狼疮),3 例患Ⅱ型呼吸衰竭,1 例患有肝癌(表 1)。

2.3 药敏试验 本研究分离的盖尔森基兴诺卡除了克林霉素和环丙沙星之外的药物都是敏感的;而 3 株脓肿诺卡对亚胺培南中介,2 株对克林霉素耐药,1 株对其敏感,全部对环丙沙星耐药;巴西诺卡菌对亚胺培南不敏感,对克林霉素和环丙沙星耐药;皮疽诺卡对亚胺培南中介,对头孢曲松、克林霉素、氨苄西林和环丙沙星耐药。从菌种来看,耐药率最高的是皮疽诺卡,只有复方磺胺甲噁唑、利奈唑胺和阿米卡星是敏感,其余药物皆中介和耐药。10 株诺卡菌的综合药物敏感度,最高的是利奈唑胺、复方磺胺甲噁唑和阿米卡星,均在 100%;头孢曲松可以达到 90% 的敏感度。最低的是环丙沙星(0)和克林霉素(10%),见表 2。

表 1 患者特征和诺卡菌菌种

病例号	性别	年龄(岁)	标本种类	鉴定结果	既往史
1	女	72	痰	脓肿诺卡菌 1	高血压、Ⅱ型糖尿病、高脂血症
2	男	60	肺泡灌洗液	盖尔森基兴诺卡菌 1	Ⅱ型糖尿病、高脂血症
3	男	77	痰	巴西诺卡菌 1	高血压、Ⅱ型糖尿病、高脂血症、Ⅱ型呼吸衰竭
4	女	18	皮肤疖肿脓液	脓肿诺卡菌 2	红斑狼疮
5	男	60	腹腔引流液	皮疽诺卡菌	大疱型类天疱疮、口腔念珠菌感染、高血压、房室传导阻滞
6	男	48	关节腔液	巴西诺卡菌 2	肝癌
7	男	59	肺泡灌洗液	盖尔森基兴诺卡菌 2	重症肺炎、Ⅱ型呼吸衰竭、大疱型类天疱疮、类固醇性糖尿病、白癜风
8	男	76	肺脓肿脓液	脓肿诺卡菌 3	肺结核、类风湿关节炎、Ⅱ型糖尿病、大量胸腔积液
9	女	55	痰	盖尔森基兴诺卡菌 3	高脂血症Ⅱ型糖尿病
10	男	89	痰	盖尔森基兴诺卡菌 4	高血压、下壁心肌梗死、高脂血症、胆结石、胆囊炎、Ⅱ型呼吸衰竭

表 2 10 株诺卡菌的 etest 药敏结果和综合药物敏感度

药物名称	盖尔森基兴诺卡菌 1		盖尔森基兴诺卡菌 2		盖尔森基兴诺卡菌 3		盖尔森基兴诺卡菌 4		脓肿诺卡菌 1		脓肿诺卡菌 2	
	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果
头孢曲松	1.50	S	0.75	S	1.00	S	0.75	S	0.19	S	0.19	S
亚胺培南	0.19	S	0.75	S	0.19	S	0.13	S	8.00	I	10.00	I
克林霉素	2.00	I	64.00	R	4.00	R	1.50	I	0.25	S	>256.00	R
利奈唑胺	1.00	S	0.50	S	1.00	S	0.25	S	0.50	S	0.50	S
氨苄西林	4.00	S	12.00	I	8.00	I	4.00	S	0.38	S	0.09	S
环丙沙星	3.00	I	12.00	R	6.00	R	3.00	I	4.00	R	2.00	I
复方磺胺甲噁唑	0.50	S	0.50	S	0.38	S	0.09	S	0.32	S	0.19	S
庆大霉素	0.75	S	0.75	S	0.50	S	0.50	S	0.48	S	0.06	S
阿米卡星	0.75	S	4.00	S	1.00	S	0.75	S	0.48	S	0.13	S

续表 2 10 株诺卡菌的 etest 药敏结果和综合药物敏感度

药物名称	脓肿诺卡菌 3		巴西诺卡菌 1		巴西诺卡菌 2		皮疽诺卡菌		平均敏感率 (%)	平均中介率 (%)	平均耐药率 (%)
	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果	MIC 值	药敏结果			
头孢曲松	0.75	S	0.38	S	1.00	S	>32.00	R	90	0	10
亚胺培南	8.00	I	16.00	R	8.00	I	8.00	I	40	50	10
克林霉素	>256.00	R	64.00	R	4.00	R	>256.00	R	10	20	70
利奈唑烷	1.50	S	1.00	S	1.50	S	6.00	S	100	NS	0
氨苄西林	4.00	S	6.00	S	4.00	S	>256.00	R	70	20	10
环丙沙星	2.00	I	>32.00	R	4.00	R	>32.00	R	0	40	60
复方磺胺甲噁唑	0.50	S	0.38	S	0.50	S	0.75	S	100	0	0
庆大霉素	0.75	S	0.75	S	1.50	S	6.00	I	90	10	0
阿米卡星	2.00	S	1.00	S	0.75	S	3.00	S	100	0	0

S:敏感;I:中介;R:耐药

3 讨 论

3.1 诺卡菌菌种组成 本研究从 2007—2017 年,共纳入 10 株诺卡菌,其中占比最多的是盖尔森基兴诺卡菌(40.0%),其次是脓肿诺卡菌(30.0%)。最近有研究同样显示,最高比例的诺卡菌种是盖尔森基兴诺卡菌(46.4%),其次是皮疽诺卡菌(21.4%),脓肿诺卡菌占比为 7.1%^[6],这一结果和本文结论相近。虽然需要进一步数据支持,但是这可能说明北京地区的诺卡菌是盖尔森基兴诺卡菌占比较多。国外的研究结果则有所不同,比利时的文献报告皮疽诺卡菌占比最多(44.0%),其次是新星诺卡菌(22.0%)和盖尔森基兴诺卡菌(15.0%)^[7]。日本的文献则也报道了皮疽诺卡菌(23.3%)和新星诺卡菌(20.0%)占比最高,盖尔森基兴诺卡菌(13.3%)和星形诺卡菌(13.3%)一样多^[8],国外和国内的诺卡菌种类分布的可能差异还需进一步研究证实。

3.2 诺卡菌感染者基本状况 诺卡菌感染的性别差异的报道异质性比较大,推测可能该疾病并不存在性别差异性^[6]。本研究中 70%是中老年男性,但是由于样本量太小,差异并无统计学意义。本研究纳入的患者,全部患有可能导致免疫抑制的基础疾病,最常见的是糖尿病——50%的患者都患有 II 型糖尿病,还有 1 例长期使用糖皮质激素治疗大疱型类天疱疮的患者患有类固醇性糖尿病。而有 4 例患者患有自身免疫疾病,分别是类天疱疮、红斑狼疮、白癜风和类风湿性关节炎,还有呼吸衰竭和癌症,还有相当比例的高血脂高血压患者。这一发现和诺卡菌感染易发生于免疫抑制患者的特征相一致^[9]。本研究中大部分患者的基础状况都很差,受到疾病和用药治疗的影响,炎性反应可能遭到抑制,导致诊断不及时^[10]。而伊朗的研究则显示医院环境可能存在着多种诺卡菌,容易造成免疫力低下的患者发生感染^[11]。

3.3 诺卡菌感染途径特点 不同诺卡菌的感染部位和途径有所差异,例如,脓肿诺卡菌、皮疽诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌主要造成肺部感染和播散性感染^[12],

巴西诺卡菌则常见于皮肤感染^[1]。本研究的 10 株菌株,有 7 株都是分离自呼吸道标本,软组织和皮肤感染则各有 1 株,播散性感染来源是 1 株。肺诺卡菌病是诺卡菌感染的重要形式,慢性呼吸系统疾病,如慢性阻塞性肺疾病和支气管炎,均是肺诺卡菌感染的危险因素^[13-14]。日本的研究表明,虽然肺诺卡菌病是机会感染,但是感染后 1 年生存率只有 55.4%^[8]。因此对免疫抑制并且有呼吸道基础疾病的患者,如果出现无法确诊的肺部结节、肺部脓肿或是疑似肺癌,应考虑肺诺卡菌病的可能^[8,13]。

3.4 诺卡菌药敏型别和特点 诺卡菌的药敏主要分为 6 个型别和 3 种未归类型^[5],脓肿诺卡菌属于 I 型,对氨苄西林、头孢曲松、利奈唑胺和阿米卡星敏感,大部分对亚胺培南耐药,耐环丙沙星和克拉霉素;皮疽诺卡菌属于 V 型,耐氨苄西林、头孢菌素和克拉霉素,耐除阿米卡星之外的所有氨基糖苷类抗菌药物,对环丙沙星、利奈唑胺和亚胺培南敏感;盖尔森基兴诺卡菌属于 VI 型,耐氨苄西林、阿莫西林克拉维酸和环丙沙星;巴西诺卡菌属于未归类型,对米诺环素、氨苄西林克拉维酸和复方磺胺甲噁唑敏感,耐卡那霉素和克拉霉素。

本研究的药敏表型和种属鉴定结果和文献大致相符,只有皮疽诺卡菌的亚胺培南和环丙沙星药敏结果和文献报道相异——导致 10 株诺卡菌亚胺培南的敏感率只有 40%,环丙沙星敏感率为 0(表 2)。因此虽然有文献认为亚胺培南是重要的替代治疗药物,但由本研究结果来看,亚胺培南可能对于诺卡菌感染的治疗效果并不是十分理想^[14]。诺卡菌临床治疗一线药物为复方磺胺甲噁唑。使用复方磺胺甲噁唑治疗之前,播散性诺卡菌感染的病死率接近 100%。目前脑脓肿的治愈率为 50%,肺脓肿治愈率为 90%,而皮肤软组织感染治愈率 100%^[5],本研究的药敏结果显示除了复方磺胺甲噁唑之外,阿米卡星和利奈唑胺治疗诺卡菌感染的敏感率也很高,都是 100%。最低的敏感率出现在环丙沙星和克林霉素,基本没有疗效。

本研究有 1 株皮疽诺卡菌,仅对利奈唑胺、复方磺胺甲噁唑和阿米卡星敏感,这种诺卡菌被认为具有高致病性^[15]和高度耐药性^[16],虽然比例不大,但是及时的鉴别诊断和正确的治疗方案是治愈的关键。

综上所述,北京大学第一医院分离的诺卡菌以盖尔森基兴诺卡菌和脓肿诺卡菌为主,肺部感染是主要感染方式,其次是皮肤软组织感染。最敏感的药物为复方磺胺甲噁唑、阿米卡星和利奈唑胺。这些特性基本和文献^[1]报道内容相符。诺卡菌感染随着免疫抑制状态和高龄患者的增多有上升的趋势,需要医务工作者提高对这种病症的诊断鉴别能力。

参考文献

- [1] BROWN-ELLIOTT B, BROWN J M, CONVILLE P S, et al. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2006, 19(2): 259-282.
- [2] RAFIEI N, PERI A M, RIGHI E, et al. Central nervous system nocardiosis in Queensland: A report of 20 cases and review of the literature[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(46): e5255.
- [3] SAUBOLLE M A, SUSSLAND D. Nocardiosis: review of clinical and laboratory experience[J]. *J Clin Microbiol*, 2003, 41(10): 4497-4501.
- [4] CARRASCO G, VALDEZATE S, GARRIDO N, et al. Identification, typing, and phylogenetic relationships of the main clinical nocardia species in Spain according to their *gyrB* and *rpoB* genes[J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(11): 3602-3608.
- [5] LARRUSKAIN J, IDIGORAS P, MARIMÓN JM, et al. Susceptibility of 186 *Nocardia* sp. isolates to 20 antimicrobial agents[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(6): 2995-2998.
- [6] WEI M, WANG P, QU J, et al. Identification and antimicrobial susceptibility of clinical *Nocardia* species in a tertiary hospital in China[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2017, 11(11): 183-187.

- [7] WAUTERS G, AVESANI V, CHARLIER J, et al. Distribution of nocardia species in clinical samples and their routine rapid identification in the laboratory[J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(6): 2624-2628.
- [8] TAKIGUCHI Y, ISHIZAKI S, KOBAYASHI T, et al. Pulmonary nocardiosis: a clinical analysis of 30 cases[J]. *Intern Med*, 2017, 56(12): 1485-1490.
- [9] SHARIF M, GUNASEKARAN J. Pulmonary nocardiosis: review of cases and an update[J]. *Can Respir J*, 2016: 7494202.
- [10] ZHU N, ZHU Y, WANG Y I, et al. Pulmonary and cutaneous infection caused by *Nocardia farcinica* in a patient with nephrotic syndrome: a case report[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(24): e7211.
- [11] RAHDAR H A, AZADI D, SHOJAEI H, et al. Molecular analysis and species diversity of *Nocardia* in the hospital environment in a developing country, a potential health hazard[J]. *J Med Microbiol*, 2017, 66(3): 334-341.
- [12] YASSIN A F, RAINEY F A, MENDROCK U, et al. *Nocardia abscessus* sp. nov[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000, 50(Pt 4): 1487-1493.
- [13] YILDIZ O, DOGANAY M. Actinomycoses and nocardia pulmonary infections[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2006, 12(3): 228-234.
- [14] MARTÍNEZ R, REYES S, MENÉNDEZ R. Pulmonary nocardiosis: risk factors, clinical features, diagnosis and prognosis[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2008, 14(3): 219-227.
- [15] TORRES O H, DOMINGO P, PERICAS R, et al. Infection caused by *Nocardia farcinica*: case report and review[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000, 19(3): 205-212.
- [16] KUMAR V A, AUGUSTINE D, PANIKAR D, et al. *Nocardia farcinica* brain abscess: epidemiology, pathophysiology, and literature review[J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2014, 15(5): 640-646.

(收稿日期:2017-09-22 修回日期:2017-12-11)

(上接第 2544 页)

- [11] 刘晓峰,熊鹰,徐莹. 尿视黄醇结合蛋白、尿微量白蛋白、尿 β_2 微球蛋白、尿 NAG 酶联合检测在糖尿病早期肾损伤诊断中的意义[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(10): 1474-1475.
- [12] KOKSAL A R, ALKIM H, BOGA S, et al. Value of Cystatin C-Based e-GFR Measurements to Predict Long-Term Tenofovir Nephrotoxicity in Patients With Hepatitis B[J/OL]. (2016-10-04)[2018-03-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Value+of+Cystatin+C-Based+e-GFR+Measurements+to+Predict+Long-Term+Tenofovir+Nephrotoxicity+in+Patients+With+Hepatitis+B>.

- [13] ZEBA S, RITU K, ANUPAMA K, et al. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin c as early markers of diabetic nephropathy[J]. *Ann Afr Med*, 2017, 16(3): 101-106.
- [14] Tacke F, Kroy D C. Treatment for hepatitis B in patients with drug resistance[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(18): 334.
- [15] Fernandez-Fernandez B, Montoya-Ferrer A, Sanz AB, et al. Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update[J]. *AIDS Res Treat*, 2011: 354908.

(收稿日期:2017-11-18 修回日期:2018-02-21)